

# 行政院國家科學委員會專題研究計劃成果報告

## 以生物學的方法驗證木質材料機能改良的效果

The benefits of wood-made construction material:

A biological model.

計劃編號：88-2313-B-002-114-A09

執行期限：87 年 8 月 1 日至 88 年 7 月 30 日

主持人：張紹光

執行機構及單位名稱：國立台灣大學獸醫學系

### 一、 中文摘要：

年度計劃柳杉材中不同萃取成份對小鼠之注射毒性試驗的結果而言，其在血液生化學上雖然可見肝、腎等酵素的活性的改變，但血液離子參數均未能呈明顯的變化。酵素中僅有 AST、ALT、lipase 和 amylase 等項於暴露後會有暫時性的升高，而此一升高隨著暴露次數的增加而趨於顯著；對劑量而言，高劑量組之影響顯著高於低劑量組；比較萃取物的成份，對血液生化學參數的影響則為：正己烷萃取物類似於乙酸乙酯萃取物而較剩餘之甲醇不溶物顯著。對吸入性之暴露而言，小鼠暴露於不同成份之萃取物後，血中酵素亦僅見暫時的變化，而其對暴露次數、劑量和成份之影響亦不如腹腔注射明顯。在組織病理學方面，大部分器官在兩種暴露方式下，除肝與肺外均無明顯之病理變化。在木陶磁複合材料之隔音試

驗中，木陶磁複合材料所建之小屋放置之方向明顯影響小鼠在其中停留的時間，此一結果相似於上述之聲音刺激試驗結果，即距離音源愈遠或小屋開口不直接面對音源之小屋，小鼠停留較久，且劑量愈高愈保持安靜而無任何探索動作。關鍵字:ICR 小鼠 生殖表現 墊料 痙攣 動物模式

### Abstract

Keyword: ICR, Reproductive performance, Bedding, Convulsion

The results of the third year studies indicated that both intraperitoneal and inhalation exposure of the extractions from the *Cryptomeria japonica* D. Don. were not significantly effect on the blood chemistry parameters of the mice. AST, ALT, amylase and lipase were the enzymes temperately increased. This increasing of enzyme activity has the positive correlation with the dosages and the exposure numbers. Generally, the hexane and ethyl acetate extractions have more enzymatic effects than the methanol insoluble parts of extraction. There have no characteristics gross and histopathological changes were seen. In the second part of these experiments, the ICR or DBA/2J mice

showed the significantly individual variations. However, the wood-ceramic composite material demonstrated the same trends as the kindling effect. The results of these studies can provide the information and effects of the chemicals, which release from different bedding material. Besides, the animal model results may be used to support a biological evidence of the benefits of wood-made construction material.

## 二、緣由與目的：

本子計劃前二年之實驗，主要偏重於木材的物理性質對生物體生活環境及生殖表現的影響。因此第一年研究以小鼠生殖表現為指標，比較不材質小屋（木質、金屬及水泥小屋），與整合計劃所選定之樹種（柳杉、紅柳桉、美國鐵杉、楓木）所製造的墊料，對 ICR 小鼠生殖的影響。由第一年實驗結果得知，小屋的材質和不同樹種的墊料均有顯著的影響。因此第二年進一步探討外界環境溫度、溼度和光照強度週期性的變化，對不同材質小屋內微環境的影響，並同時測試小鼠對不同材質的小屋，或不同樹種所製造的墊料之自主選擇性。期望於第二年試驗結束後，除了能解釋第一年小屋組生殖表現差異外，並且能與子計劃的部份實驗結果相互對照，證明材質的不同除了可對生活環境和生物體產生影響外，更可了解實驗動物生殖表現或動物自主選擇行為模式和人類對材質選擇的相關性。因此，本子計畫第三年之研究，第一部份將沿用小鼠生殖表現模式，使用不同暴露方式，探討不同樹種所自製的墊料中，到底是那一類化學成份造成小鼠繁殖表現的差異，並將以配合測試其它子計劃所作的材質改善為主，以動物試驗證明，木質或複合材料在經材質機能改善後，在日常運生活中的實用性。綜觀上述，本年度子計畫擬以探討墊料成份對小鼠生殖影響的研究，縱向連貫本子計畫前二年所作之實驗，完整解釋不同材質小屋和不同墊料成份對以生殖指數為指標的小鼠模式之影

響，並以小鼠對材質自由選擇的結果，解釋動物模式和人類模式的相互關係。以‘痙攣’為指標的實驗動物模式，輔證木質材料機能性改善後之效果，並協助因材質改良而造成木質材料化學特性改變之可能毒性試驗，橫向聯繫其他子計畫與其他主持人共同合作，達到整合的目的。

## 三.材料與方法：

### 壹. 實驗材料:

試驗所需的藥品將購自 Sigma 公司(U. S. A.); 音源器(噪音產生器; RION SF-05)、噪音計量計(Quest Q-200)、及紅外線溫度計(Comark KM-826)，將購自本地之儀器廠商; 一切稀釋所需要的水均為二次蒸餾水或滅菌的生理食鹽水; 甲醇、正己烷、乙酸乙酯等萃取或溶解樣品所需的溶劑則為分析級產品。實驗動物(ICR 與 DBA/2J mice)、小鼠所需之飼料(PMI; Purina mill-5001)和硬質木屑墊料(Harwood; Beta-Chip)將購自國科會國家實驗動物繁殖及研究中心; 鞋盒式飼養盒、水瓶等附件，將購自信德儀器公司; 飼養所需的空間或費用、血液生化分析、病理切片製作等所需之試藥、儀器均將依規定付費使用本系現有設備，或協同主持人之設施。實驗所需不同材質的木質材料抽出物，則利用極性的不同依甲醇、丙酮、正己烷等有機溶劑，依極性順序抽取高極性、中等極性及低極性的化合物，再經減壓濃縮、吹乾等手續後備用。

### 貳. 實驗方法：

一.爾後所述之一般餵養管理、血液生化與屍體解剖等步驟，均將使用於所有的試驗並以一般標準方法施行。

二.不同樹種墊料萃取成份對小鼠生殖的影響

#### (1) 腹腔注射:

為確定公、母種鼠具有良好生殖哺育能力，因此，試驗將於母鼠所產之第二胎仔鼠離乳後開始進行。公或母鼠將以腹腔注射的方式給予不同萃取物，以每週投藥的方式連續投與三週，投藥前、投藥 10 天後與投藥結束後，於各萃取物組，隨機選取三對小鼠進行血液化學及屍體解剖，對各器官系統進行肉眼及組織病理檢查。剩餘之小鼠則繼續飼養、觀察生殖表現。

#### (2) 呼吸道暴露：

對於吸入方式的暴露而言，是將動物置於暴露室中 (Exposure Chamber)，並將不同木材的粉末或抽出物定量置於加熱板上加熱，使之揮發，將揮發之氣體經由一導管收集，導入暴露室中。本部份實驗亦為每週一天的方式連續暴露三週，暴露結束後，如同腹腔暴露法，實驗動物亦將安樂死，進行血液生化及組織切片檢查，觀察其可能發生之變化。剩餘之小鼠則繼續飼養、觀察生殖表現。

### 三.木材經處理後機能性改變的生物證明

#### (1) 隔音材質的生物證明：

經誘導之 ICR 或 12-14 日齡之 DBA/2J 小鼠將購自南港國家試驗動物繁殖及研究中心，購入後，將於本實驗室中適應一週後，ICR 小鼠經誘導後 (DBA/2 未經誘導；18-22 日齡)，再行使用。小鼠及噪音計之探頭將先行置入未經或經機能改良的木質材料或複合材料所製造的密閉木盒中，為模擬樓板衝擊音及環境間的噪音，噪音的產生將由直接撞擊木盒之盒壁或將木盒至於一壓克力製的暴露箱中，以音源器產生約 90dB (頻率為 15KHz) 的噪音連續暴露 15 30 秒，然後觀察小鼠反應，並由上述計分

方式給予計分，量化改良後材質的特性改變。

#### 四、結果與討論:

柳杉材中不同萃取成份對小鼠之注射毒性試驗的結果而言，其在血液生化學上雖然可見肝、腎等酵素的活性的改變，但血液離子參數均未能呈明顯的變化。酵素中僅有 AST、ALT、lipase 和 amylase 項於暴露後會有暫時性的升高，而此一升高隨著暴露次數的增加而趨於顯著；對劑量而言，高劑量組之影響顯著高於低劑量組；比較萃取物的成份，對血液生化學參數的影響則為：正己烷萃取物類似於乙酸乙酯萃取物而較剩餘之甲醇不溶物顯著。對吸入性之暴露而言，小鼠暴露於不同成份之萃取物後，血中酵素亦僅見暫時的變化，而其對暴露次數、劑量和成份之影響亦不如腹腔注射明顯。

上述不同暴露方式之結果顯示，不同成份及劑量之木材抽出物對小鼠確有影響，但由於此二種暴露均採每週一次的總量暴露方式，此和小鼠於日常生活中，時時刻刻暴露於墊料之中揮發性化學物質之長期暴露情況仍有差異。此外，對小鼠生殖表現而言，上述總量暴露和以前實驗結果，並不吻合，即暴露試驗其在“小鼠生殖表現”上並無明顯的差異，而長期暴露於柳杉墊料則相反。因此，研究者推論，本年度試驗之暴露方式（即每週一次之暴露）應較相似單一生理刺激之毒性試驗，而長期連續低劑量（即墊料中緩慢釋放）之暴露則可能涉及下視丘-腦下線軸與性腺間的互動關係產生變化，進而影響其生殖表現。

在組織病理學方面，大部分器官在兩種暴露方式下，均無明顯之病理變化，在腹腔注射試驗僅在肝臟可見門脈區域有白血球之浸潤及變性，此變化可能由於不同萃取溶劑之局部刺激所致；對吸入性之暴露而言，亦有白血

球之浸潤及偶見在部份肺部組織有塌陷之病理變化，由於上述之病變均非特徵性的變化，且可造成的原因眾多，因此並不具實質的診斷意義。

本年度另一部份之試驗，即嘗試以 ICR 小鼠為模式，在使用中樞神經誘導劑後，以不同之音量誘導其痙攣的發作，用以測試新發展之木陶磁複合材料之隔音效果，這一部份試驗在預備試驗時，即遭遇小鼠在生理上之差異的困擾，即使是同胎同齡之小鼠，其中亦即有明顯不同之表現，而此個體差異在高劑量中樞神經誘導劑組最為明顯，對不同藥品而言，在蓄木鱉鹼較印度防己鹼與 pentylene tetrazole 明顯，但三藥均無法如其它已發表報告的計量，明顯誘導小鼠痙攣，但小鼠在給藥後對聲音之敏感度可見明顯之差異，控制組之小鼠對 80~120 分貝之全頻噪音全無反應，自由遊走於試驗箱中進行探索之動作，小鼠經給藥後，隨劑量的增加，其愈安靜且互相推擠伏疊於試驗箱中離音源最遠之角落。“聲音”為一外在刺激源，小鼠似以減少活動的方式減低外界刺激，避免中樞神經過度刺激誘發痙攣，是但音源刺激其強度似嫌不足，因如給予小鼠身體直接接觸之刺激或正向反射，則仍可明顯引起痙攣，此一表現可表示中樞神經興奮劑確有其固有之藥效。此外，研究者亦曾使用對聲音敏感之 DBA/2 鼠種，其結果相似於 ICR 小鼠，即個體差異明顯影響 DBA/2 小鼠之表現，此在高劑量組最為明顯，其誘導痙攣發作之時間的差異可由最快的 18 秒開始痙攣發作，(約在發作後 40 秒後強直死亡)，到完全無反應，不同批小鼠之表現亦明顯不同。小鼠之排便量(顆料數)亦有統計，但並無明顯之統計學上之差異。

在木陶磁複合材料之隔音試驗中，木陶磁複合材料所建之小屋放置之方向明顯影小鼠在其中停留的時間，此一結果相似於上述之

聲音刺激試驗結果，即距離音源愈遠或小屋開口不直接面對音源之小屋，小鼠滯留較久，且劑量愈高愈保持安靜而無任何探索動作。

總結試驗結果，單一木材萃取不能影響小鼠血液參數及特徵組織病理變化，此一結果相似於研究者其它試驗之結果。因此為了解柳杉對小鼠生殖的影響，各成份萃取物的長期低劑量暴露試驗將成為爾後研究的方向；此外，公母鼠發情週期(荷爾蒙)及性慾等參數亦將一併加入爾後之研究，以助現有結果之串連。至於木陶磁複合材料隔音效果試驗，首需克服試驗動物個體差異方能準確，此外，隔音小屋內部的設計和試驗空間之吸音效果亦應加以改善，才可知道真正的隔音效果。

#### 五 成果自評:

在年度試驗中，柳杉不同萃取成分的連續暴露雖無法見明顯之毒性或生殖影響，但和以往試驗結果比較，使研究者得知長期低劑量暴露為爾後試驗之趨勢；而噪音誘導痙攣之模式並適用於木質材料機能改善的研究。如需以‘痙攣’為指標的生物模式則需趨向不同之誘導劑及試驗動物之標準化努力。

#### 六、參考文獻

1. Amabeoku GJ and Chikuni O. Cimetidine-induced seizures in mice. *Biochemical Pharmacology*. 46(12):2171-2175, 1993.
2. Blom HJ, Van Tintelen G, Van Vorstenbosch CJ, Baumans V, and Beynen AC. Preference of mice and rats for types of bedding materials. *Laboratory Animals* 30 (3):234-244, 1996.
3. Ferguson HC. Effect of red cedar chip bedding on hexobarbital and pentobarbital sleeptime. *Journal of Pharmacological Science*. 55:1142-1148, 1966

4. Gardiner KA, Laming PR and Blumsom NL. Brain amino acid levels are related to seizure propensity in the gerbil (*Meriones unguiculatus*). Comparative Biochemical Physiology. 106B(4):799-804, 1993.
5. Grecksch G, Becker A and Matthies H. Threshold to elicit seizures by picrotoxin is lowered in pentylenetetrazol-kindled mice. Neuropharmacology. 29(11): 1073-1074, 1990.
6. Hertz L, Schousboe A, Formby B, and Lennox-Buchtal M. Some age-dependent biochemical changes in mice susceptible to seizure. Epilepsia. 15:619-631, 1974.
7. MacFarland HN. Design and operation characteristics of inhalation exposure equipment- a review. Fundamental and Applied Toxicology. 3:603-613, 1983.
8. Mathis C, Barry JD and Ungerer A. NMDA antagonist properties of  $\gamma$ -L-glutamyl-L-aspartate demonstrated on chemically induced seizures in mice. European Journal of Pharmacology. 185:53-59, 1990.
9. Phalen, RF, Mannix RC, and Drew RT. Inhalation exposure methodology. Environmental Health Perspective. 56:23-34, 1984.
10. Santos FA, Rao VSN and Silveira ER. The leaf essential oil of *psidium guyanensis* offers protection against pentylenetetrazole-induced seizures. Planta Medica. 63:133-135, 1997.
11. Seto-ohshima A, Ito M, Kudo T and Mizutani A. Intrinsic and drug-induced seizures of adult and developing gerbils. Acta Neurol Scandnavia. 85:311-317, 1992.
12. Vlahakis G. Possible carcinogenic effects of cedar shavings in bedding of C3H-Avy fB mice. Journal of National Cancer Institute. 58(1): 149-150, 1977.
13. Wade AE, Holl JE, Hilliard CC. Alternation of drug metabolism in rats and mice by an environment of cedar wood. Pharmacology 1:317-328, 1968.
14. Williams PD and Helton DR. The proconvulsive activity of quinolone antibiotics in an animal model. Toxicology Letters. 58:23-28, 1991.