

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

發展整合型的母幼鼠急性反應測試方法來檢測多氯聯苯之毒性 (II)

Development of Female Rats Integrated Acute Responses Assay to Examine the Toxicity of PCB Congeners

計畫編號：NSC 89-2320-B-002-213

執行期限：89年8月1日至90年7月31日

主持人：李美慧 台灣大學地理環境資源學系

協同主持人：郭育良 國立成功大學環境醫學研究所

許昺奇 國立高雄第一科技大學環境與安全衛生工程系

林維昭 嘉南藥理科技大學化妝品應用與管理系

一、中文摘要

最近兩三年環境荷爾蒙對人及野生動物之影響受到各界重視，因此發展標準的測試環境荷爾蒙的方法乃為世界各先進國家的當務之急。本研究希望能發展出整合型的母幼鼠急性反應測試方法，不僅只是可檢測環境污染物所具有之雌性荷爾蒙特性，還可檢測出對肝臟酵素系統、甲狀腺素與神經系統之影響。第二年本研究是利用此生物測試系統檢驗多氯聯苯PCB 132 (2,2',3,3',4,6'-hexachlorobiphenyl) 及PCB 149 (2,2',3,4'5'6-hexachlorobiphenyl) 對母幼鼠甲狀腺荷爾蒙及大腦的神經化學物質多巴胺(dopamine)的影響。從研究結果發現PCB132及PCB149在測試的三個劑量下，都沒有造成母幼鼠的大腦的神經化學物質多巴胺(dopamine)降低的情形。所檢測的PCB 132對母幼鼠甲狀腺荷爾蒙沒有顯著影響。PCB 149對母幼鼠甲狀腺素(T₄)影響較大，在32mg/kg劑量下造成母幼鼠的甲狀腺素顯著低於控制組(P ≤ 0.05)約30%的情形。

關鍵詞：多氯聯苯、甲狀腺荷爾蒙、多巴胺、母幼鼠、急性反應測試方法

Abstract

Recently, there is increasing public and scientific concern that some environmental pollutants may cause hormone disruption in human and wildlife. Therefore, there is an urgent need to develop an effective assay which can detect environmental hormone. In this study, an integrated bioassay which using acute responses of prepubertal female rats will be expanded and developed to examine effects of PCB 132 (2,2',3,3',4,6'-hexachlorobiphenyl) and PCB 149 (2,2',3,4'5'6-hexachlorobiphenyl) on estrogenicity, hepatic enzyme activities, thyroxine, and brain dopamine levels. Second year of this project, it was focused to standardize the methods of the thyroid hormones as well as cerebral dopamine levels. The result of this study showed that PCB 132 and PCB 149 did not affect dopamine levels in cerebral cortex of prepubertal female rats between 8 and 96 mg/kg. PCB 132 did not cause any significant changes in serum thyroid hormones of prepubertal female rats. However, there was a significant 30% decrease thyroxine levels at prepubertal female rats administered PCB 149 at 32 mg/kg. .

Keywords: Polychlorinated biphenyl,

Thyroid hormone, dopamine, Prepubertal female rats, Acute response bioassay

二、計畫緣由與目的

環境荷爾蒙是指外來或人造化學物質當其進入生物體內會影響其內分泌系統，產生類似荷爾蒙的影響或是破壞干擾原有內分泌系統的平衡及功能，進而對生物的成长、發育、生殖等產生不良之影響。就目前相關研究資料顯示，許多常見農藥、工業化合物、環境污染物皆屬於環境荷爾蒙¹。以農藥來說，如DDT、靈丹(Lindane)、巴拉松(Parathion)、地特靈(Dieldrin)、飛佈達(Heptachlor)、加保利(Carbaryl)、得滅克(Aldicarb)等。而工業化合物及環境污染物包括塑膠及洗潔劑中的物質、染料、phthalate、styrenes、戴奧辛(dioxin)、多氯聯苯(polychlorinated biphenyls)、鉛、汞、鎘等等。

多氯聯苯(polychlorinated biphenyl)是含有聯苯結構之分子，而在其聯苯的十個碳位置上，可鍵結氯或氫原子，因此排列組合不同數目的氯原子及不同位置，總共有209種異構物(congener)，為環境中常見之重要污染物。從1966年Jensen²報導多氯聯苯存在於環境中，至今已超過30年，其間發生過兩次人類多氯聯苯中毒事件，一次是1968年在日本發生Yusho中毒事件，一次是1979年在台灣發生米糠油中毒事件(Yu-Cheng)。在這30多年間有關多氯聯苯的研究非常之多，但是至今我們對多氯聯苯的毒性卻不是很清楚地了解³⁻⁵。造成此現象的原因主要有下列幾點：(1)多氯聯苯的毒性非常廣泛，包括影響肝臟功能、荷爾蒙系統、神經系統、免疫系統、生殖系統、呼吸及消化系統等等³，一般的毒性研究常只是針對某項功能或系統進行觀察，因此無法完整了解其實際影響；(2)過去多氯聯苯的相關研究多僅限於“與戴奧辛類似”之毒性(dioxin-like effect)探討，

忽略其他”不與戴奧辛類似”之毒性(non-dioxin-like effect)，如對荷爾蒙系統及神經系統之影響等；(3)集中於對某些特定的多氯聯苯異構物或是工業產品之混合物(像是美國Monsanto 化學公司所生產的Aroclor)之毒性研究，尤其是一些與“戴奧辛類似”毒性之異構物(如coplanar congeners)，而忽略對其他常出現在環境中的多氯聯苯異構物之毒性研究。

針對上述之問題，本研究將從下列幾個角度來探討多氯聯苯異構物的毒性，以改善目前多氯聯苯毒性研究上的缺失，以便能更正確地評估或預測多氯聯苯之可能毒害。(1)考慮生物體內不同的交互作用，同時檢測多氯聯苯對生物體內不同系統之可能影響，而非只是就單一類系統進行觀察；(2)選擇常在環境中出現且目前並無其毒性資料的重要多氯聯苯異構物進行研究，以增加對多氯聯苯異構物毒性的新資料；(3)同時探討“與戴奧辛類似”之毒性與“不同與戴奧辛”之毒性，以避免一些常被遺漏之毒性測量。另外，最近兩三年環境荷爾蒙(尤其是模擬(mimic)女性荷爾蒙(estrogen)之物質)對人及野生動物之影響受到各界重視，以美國為例，美國國會要求其環保署與相關單位在1998年8月前要發展出相關的測試環境荷爾蒙之方法與策略，以便於1999年8月能制定相關法令來要求執行測試環境污染物質⁶。因此發展標準的測試環境荷爾蒙的方法乃為世界各先進國家的當務之急。而本研究希望能發展出整合型的生物測試方法，不僅只是可檢測雌性荷爾蒙特性(estrogenicity)，還可檢測出對肝臟酵素系統、甲狀腺素、神經系統之影響，只要能標準化本測試動物模式，證明其有效性及敏感性，將會受到國際間的重視及採用。

本研究是希望利用幼母鼠之急性反應(acute response)來檢驗多氯聯苯PCB 132 (2,2',3,3',4,6'-hexachlorobiphenyl)及PCB 149 (2,2',3,4',5',6'-hexachlorobiphenyl)的毒性，並進而發展出整合型的生物測試方

法測試環境中常見污染物質之毒性。第一年的研究是在於了解PCB 132與PCB 149對母幼鼠肝臟酵素活性影響及是否具女性荷爾蒙特性。而第二年的研究目的則是集中在PCB 132與PCB 149對母幼鼠甲狀腺荷爾蒙及在大腦的神經化學物質多巴胺(dopamine)的影響。

另外，在本年度的研究中並加入PCB 52(2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl) 及 PCB 77(3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl)來檢測幼母鼠之急急性反應測試法之靈敏度及有效性。

三、結果與討論

甲狀腺荷爾蒙:本研究檢測的PCB 132對母幼鼠甲狀腺荷爾蒙(T₄及T₃)沒有顯著影響(圖一)。PCB 149對母幼鼠甲狀腺素(T₄)影響較大，在32mg/kg劑量下造成母幼鼠的甲狀腺素顯著低於控制組(P ≤ 0.05)約30%的情形。同樣地，PCB 149對母幼鼠三碘甲腺原氨酸(T₃)也沒有顯著影響。另外如預期的PCB 77在0.4 mg/kg到8mg/kg劑量下對母幼鼠甲狀腺素(T₄)都有顯著減少作用。PCB 52在96mg/kg劑量下及PCB 77在8mg/kg劑量下對母幼鼠三碘甲腺原氨酸(T₃)有顯著降低的作用。

神經化學物質:PCB 132及PCB 149對母幼鼠的大腦多巴胺沒有顯著影響(表一)，另外，值得注意地是PCB 52在目前的測試條件下，並未如預期影響大腦多巴胺，可能顯示在目前測試條件，並非是最佳情況來檢測污染物質對大腦神經化學物質的影響。

四、計畫成果自評

達成預期目標情況:

本研究已達到第二年預期完成之工作項目:

1. 建立完整母幼鼠急性反應之生物測試法，利用PCB 52及PCB 77來檢測此生物測試法之靈敏度及有效性。

2. 檢驗PCB 132與PCB 149對甲狀腺荷爾蒙及神經化學物質多巴胺(dopamine)的影響。

由於PCB 132及PCB 149對母幼鼠急性反應之影響並不是非常顯著，沒有必要再將此兩種多氯聯苯進一步分離為左及右旋之異構物，來研究左及右旋之多氯聯苯異構物之毒性的需要。因此，原本預計三年的計畫，也就進行到本年度(第二年)為止，沒有繼續提出第三年之研究計畫。

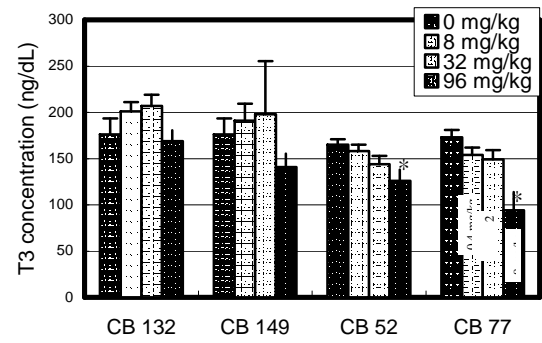
論文發表:第一年及第二年部分之研究成果已發表於2001年出版 Archives of Environmental Contamination and Toxicology (SCI 期刊)第41期381-385頁。綜合二年之研究結果也將在2001年11月1-2號日本金澤所舉辦之SETAC/AP 20 Symposium 2001之研討會以海報方式發表。

五、參考文獻

1. Colborn, T., Vom Saal, F.S., and Soto, A.M. 1993. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. Environ. Health Perspect. 101: 378-384.
2. Jensen, S. 1966. Report of a new chemical hazard. New Scientist 32:612.
3. Li, M.H. and Hansen, L.G. 1997. Consideration of enzyme and endocrine interactions in the risk assessment of PCBs. Rev. in Toxicol. 1:71-156.
4. Wolff, M.S., Camann, D., Gammon, M., Stellman, S.D. 1997. Proposed PCB congener groupings for epidemiological studies. Environ. Health Perspect. 105:13-14.
5. Hansen, L. G. 1998. Stepping backward to improve assessment of PCB congener toxicities. Environ. Health Perspect. 106: 171-189.
6. Patlak, M. 1996. A testing deadline for endocrine disrupters. Environ. Sci. Technol. 30: 540A-544A.

表一 不同的多氯聯苯對母幼鼠的大腦多巴胺(dopamine)的影響

Treatment	Dose (mg/kg)	n	大腦多巴胺 (ng/mg)
Control	0	7	2.18 ± 0.29
Estradiol	0.04	5	1.21 ± 0.46
CB 132	8	5	2.00 ± 0.69
CB 132	32	5	2.17 ± 0.83
CB 132	96	5	2.30 ± 1.00
Control	0	4	2.10 ± 0.47
Estradiol	0.04	6	1.39 ± 0.41
CB 149	8	3	4.09 ± 2.39
	32	5	5.85 ± 1.38
	96	5	1.56 ± 0.22
Control	0	5	2.31 ± 0.35
Estradiol	0.04	4	2.15 ± 0.45
CB 52	8	4	3.01 ± 1.42
	32	4	2.04 ± 0.92
	96	4	2.07 ± 0.87
Control	0	12	2.01 ± 0.28
Estradiol	0.04	10	1.79 ± 0.27
CB 77	0.4	4	0.97 ± 0.25
	2	4	1.32 ± 0.47
	8	6	1.35 ± 0.36



圖一 不同的多氯聯苯對母幼鼠甲狀腺荷爾蒙的影響 [*:表示與控制組有顯著差異利用 Dunnett's t test (P<0.05)]

