

※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※  
※ ※  
※環境中氮氧化物和多環芳香烴化合物之共同毒性效應評估(III) ※  
※ ※  
※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※

計畫主持人：宋鴻樟

☐赴國外出差或研習心得報告一份

☐赴大陸地區出差或研習心得報告一份

☐出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份

☐國際合作研究計畫國外研究報告書一份

中 華 民 國 九 十 一 年 十 月 十 六 日

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

## 環境中氮氧化物和多環芳香烴化合物之共同毒性效應評估(III)

Combined toxic effect of environmental nitric oxide and polycyclic aromatic hydrocarbon

計畫編號：NSC 90-2621-Z-002-028

執行期限：90 年 8 月 1 日至 91 年 7 月 31 日

主持人：宋鴻樟 sung@ha.mc.ntu.edu.tw

計畫參與人員：研究生 莊淳宇

執行機構及單位名稱：台灣大學公共衛生學院環境衛生研究所

### 一、摘要

氮氧化物(NOx)和多環芳香烴化合物(PAHs)是常見的環境污染物。若 PAHs 與 NOx 同時作用則可能形成致癌性更強之硝基衍生物(nitro derivations; nitroarenes)。本計畫第一年度以動物模式探討 NOx 與 PAHs 形成硝基衍生物的毒性表現，結果顯示同時暴露 pyrene 和 NaNO<sub>2</sub> 會比單獨暴露 pyrene 的致突變毒性高。第二年度進行人類族群暴露情況和身體健康狀況調查，有 95 位男性計程車司機和 75 位男性社區居民為對照組參與本研究，每位受試者皆採集血液和尿液樣本並自行填寫問卷一份。結果發現計程車司機血漿中 NOx 平均濃度為 45.6 μM、對照組為 40.0 μM，尿中 1-羥基芘(1-hydroxypyrene; 1-OHP)平均濃度分別為 0.33 和 0.20 μg/g creatinine。本年度以 8-羥基去氧鳥糞嘌呤核(8-hydroxydeoxyguanosine; 8-OHdG)濃度探討體內 PAHs 和 NOx 暴露量造成 DNA 氧化傷害的情形，以及感受性基因 CYP1A1 MspI/HincII 和 GST M1/T1 的基因多形性對於體內暴露濃度和 DNA 氧化傷害程度之間的影響。進行多變項線性迴歸分析結果發現，控制抽菸、GSTM1 基因型和其它因素影響下，8-OHdG 濃度與 1-OHP 濃度有相關性，但與 NOx 濃度無相關性。所以計程車司機從汽機車排放廢氣中暴露到 NOx 和 PAHs，使得體內有較高的 NOx 和 1-OHP 濃度，尿液中 8-OHdG 濃度可能可以反映出暴露 PAHs 所造成氧化傷害的效應。

**關鍵詞：**氮氧化物、多環芳香烴化合物、1-羥基芘、8-羥基去氧鳥糞嘌呤核)、計程車司機

### Abstract

This project attempted to investigate the toxic effect of nitrogen oxides (NOx) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). They are environmental pollutants commonly found in the exhaust released from incomplete combustion. In addition, NOx may attack PAHs to form potent mutagenic nitro derivatives. First year, we investigated combined effects of NOx and PAHs in animal models. We found that the mutagenicity of combined exposure was higher than that of pyrene exposure alone. Second year, we measured the levels of plasma NOx and urinary 1-hydroxypyrene (1-OHP) for the taxi drivers and the referent groups. We recruited ninety-five male taxi drivers and 75 male community residents as the referents. With consent, subjects provided blood and urine samples and completed a self-reported questionnaire. Significant difference in the average NOx level was observed between drivers and referents (45.6 vs. 40.0 μM). The drivers had higher level of 1-hydroxypyrene (1-OHP) compared with the referents (0.33 vs. 0.20 μg/g creatinine). We used urinary 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) as an effective biomarker on DNA damage due to NOx and PAHs exposure from traffic exhaust, and susceptible gene MspI/HincII and GST M1/T1 polymorphism related to exposure level and DNA oxidative damage. In the multiple linear regression, after adjusting for smoking, GSTM1 genotype and other associate variables, there was a significant correlation between the levels of urinary 8-OHdG and 1-OHP but not NOx. This study supports that taxi drivers had higher levels of NOx and 1-OHP due to

traffic exhaust exposure and 8-OHdG level may serve as a sensitive biomarker of induce oxidative damage associated with PAHs exposure.

**Keywords:** Nitrogen oxides, Polycyclic aromatic hydrocarbons, 1-Hydroxypyrene, 8-hydroxydeoxyguanosine, taxi drivers

## 二、緣由與目的

近年來汽機車排放廢氣仍然是個都市化的問題，根據行政院交通部統計台灣地區的機動車輛至民國 89 年 9 月止，汽車車輛數為四百六十多萬輛，機車車輛為一千一百多萬輛，自民國 80 年起每年汽車增加的數目約二十萬輛，機車約四十萬輛；至民國 85 年每平方公里的汽車數和機車數分別為 137.9 輛和 256.6 輛，比較其他各國密度高出許多[1]。呼吸系統疾病，如急慢性呼吸道發炎、氣喘、肺癌，與空氣污染的相關已有許多報導[2,3]。肺癌也在民國 86 年躍居為十大死因第一位惡性腫瘤中首位。有許多流行病學研究顯示在都市地區肺癌的比率較鄉鎮地區高，由於沒有實際測定體內的暴露量，空氣污染是否與肺癌發生有關仍是個未知數。

環境中多環芳香烴與氮氧化物共存的情形很多，例如石化工廠燃燒排放氣體、汽機車排放廢氣或引擎剛發動尚未熱機不完全燃燒時的廢氣、香菸燃燒過程、烹飪過程、瓦斯爐的使用、燒烤食物等[4]，又如以  $\text{NaNO}_2$  防腐之食物經燒烤烹調[5]，因此我們每天都有可能會同時暴露到  $\text{NO}_2$  和 PAHs，若 PAHs 與  $\text{NO}_2$  作用則可能形成致癌性更強之硝基多環芳香烴化合物(nitro-PAHs)或含硝基衍生物(nitro derivations; nitroarenes)[6]。目前有許多針對環境中多環芳香烴化合物中有致癌性的 beno(a)pyrene (BaP)或是更具致突變性的硝基多環芳香烴化合物作基因毒性方面研究，但是忽略其他廣泛存在環境中而無致癌性之多環芳香烴化合物(polycyclic aromatic hydrocarbons; PAHs)和氮氧化物(nitrogen oxides;  $\text{NO}_x$ )間作用後可能產生硝基衍生物(nitroarene)之毒性。

有關  $\text{NO}_2$  和 PAHs 共同毒性效應方面的研究尚不多見[7,8]。本研究目的是先以動物模式探討  $\text{NO}_x$  與 PAHs 形成硝基衍生物的毒性表現，再探討人類族群暴露和效應情形。

## 三、方法及執行情形

第二年度研究結果計程車司機血漿中  $\text{NO}_x$  平均濃度為 45.6  $\mu\text{M}$ 、對照組為 40.0  $\mu\text{M}$ ，尿中 1-hydroxypyrene (1-OHP)平均濃度分別為 0.33 和 0.20  $\mu\text{g/g creatinine}$ 。在控制抽菸後，司機體內  $\text{NO}_x$  和 1-OHP 濃度都高於對照組，表示職業暴露會影響體內濃度。今年度繼續進行以 8-羥基去氧鳥糞嘌呤核(8-hydroxydeoxyguanosine; 8-OHdG 濃度)評估 DNA 氧化傷害的情形和感受性基因 CYP1A1 MspI/HincII 和 GST M1/T1 多形性之探討。

### <尿液中 8-hydroxydeoxyguanosine 測定>

一般以 HPLC 連接電化學偵測器測量 8-OHdG，本研究參考 Yin 等人[9]發表之酵素結合免疫吸附分析法(enzyme linked immunosorbent assay; ELISA)偵測之。使用 OXIS research<sup>TM</sup> 8-OHdG ELISA 試劑組測定，其原理是利用競爭型抑制法 ELISA 來偵測 8-OHdG，步驟如下：50  $\mu\text{L}$  尿液和 50  $\mu\text{L}$  一次抗體(8-OHdG 特定單株抗體)，37°C 培養 1 小時，以 250  $\mu\text{L}$  pH 7.4 磷酸鹽緩衝溶液(phosphate buffered saline; PBS)清洗 3 次去除結合物，加入 100  $\mu\text{L}$  二次抗體(以山葵根過氧化氫(horseradish peroxidase)標幟之抗體)，37°C 培養 1 小時，以 250  $\mu\text{L}$  PBS 清洗 3 次去除未結合物，加入 100  $\mu\text{L}$  呈色劑(3,3',5,5'-tetramethylbenzidine)，避光，室溫下 15 分鐘，產生淡藍色，加入 100  $\mu\text{L}$  中止劑(1 M 磷酸(phosphoric acid))顏色變為黃色，反應 3 分鐘，測 450 nm 吸光值，30 分鐘內判讀完畢。呈色吸光值與 8-OHdG 濃度成反比，取 8-OHdG 標準溶液 0.5、2、8、20、80 和 200 ng/mL 濃度之 log 值與吸光值作圖，再以樣本之吸光值換算出濃度，結果以  $\mu\text{g/g creatinine}$  表示。

<CYP1A1 基因多形性分析[10]>

(i) MspI 基因多形性

PCR 反應每支總體積為 25  $\mu$ L

- 1) 1.5  $\mu$ L DNA
- 2) 聚合酵素 Taq 0.4  $\mu$ L (5 unit/ $\mu$ L)
- 3) Taq 之 10 $\times$ 緩衝溶液 2.5  $\mu$ L
- 4) 25 mM dNTP 0.2  $\mu$ L
- 5) 25  $\mu$ M primer 各 0.4  $\mu$ L  
5'-TAGGAGTCTTGTCTCATGCCT-3'  
5'-CAGTGAAGAGGTGTAGCCGCT-3'
- 6) 滅菌之二次水 19.6  $\mu$ L
- 7) PCR 反應步驟  
94  $^{\circ}$ C, 5 min  
重複 35 次  
Denaturation : 94  $^{\circ}$ C, 1 min  
Annealing: 60  $^{\circ}$ C, 1 min  
Elongation: 72  $^{\circ}$ C, 2 min  
72  $^{\circ}$ C, 7 min  
4  $^{\circ}$ C, 24 hr
- 8) 取出 8  $\mu$ L PCR 產物加入 1.6  $\mu$ L 6 $\times$ 追蹤染劑, 以 100 bp ladder 為 DNA 標記, 以 2% agarose gel 進行電泳, 1 $\times$  TAE buffer 當介質。
- 9) 進行 50 min 電泳
- 10) UV light 下判讀, 確認有 340 bp 片段

MspI-RFLP 分析:

PCR 反應每支總體積為 15  $\mu$ L

- 1) PCR 產物 8  $\mu$ L
- 2) MspI 限制  $\div$  2.0  $\mu$ L (10 unit/ $\mu$ L)
- 3) 10 $\times$ 緩衝溶液 1.5  $\mu$ L
- 4) 10 $\times$  BSA (bovin serum albumin) 1.5  $\mu$ L
- 5) 滅菌之二次水 2.0  $\mu$ L
- 6) 37  $^{\circ}$ C, 12hr
- 7) 15  $\mu$ L  $\div$  切產物加入 3  $\mu$ L 6 $\times$ 追蹤染劑, 以 100 bp ladder 為 DNA 標記, 以 3% agarose gel 進行電泳, 1 $\times$  TAE buffer 當介質。
- 8) 進行 60 min 電泳
- 9) UV light 下判讀 340 bp、200 bp、140 bp 片段  
m1/m1: 340 bp  
m1/m2: 340 bp, 200 bp, 140 bp  
m2/m2: 200 bp, 140 bp

(ii) Val 基因多形性

PCR 反應每支總體積為 25  $\mu$ L

- 1) 1.5  $\mu$ L DNA
- 2) 聚合酵素 Taq 0.4  $\mu$ L (5 unit/ $\mu$ L)
- 3) Taq 之 10 $\times$ 緩衝溶液 2.5  $\mu$ L
- 4) 25 mM dNTP 0.2  $\mu$ L
- 5) 25  $\mu$ M primer 各 0.4  $\mu$ L  
5'-GGACTGCCACTTCAGCTGTCT-3'  
5'-GAGAAAGACCTCCAAGCGGTCA-3'
- 6) 滅菌之二次水 19.6  $\mu$ L
- 7) PCR 反應步驟  
94  $^{\circ}$ C, 5 min  
重複 35 次  
Denaturation : 94  $^{\circ}$ C, 1 min  
Annealing: 56  $^{\circ}$ C, 1 min  
Elongation: 72  $^{\circ}$ C, 2 min  
72  $^{\circ}$ C, 7 min  
4  $^{\circ}$ C, 24 hr
- 8) 取出 8  $\mu$ L PCR 產物加入 1.6  $\mu$ L 6 $\times$ 追蹤染劑, 以 100 bp ladder 為 DNA 標記, 以 2% agarose gel 進行電泳, 1 $\times$  TAE buffer 當介質。
- 9) 進行 50 min 電泳
- 10) UV light 下判讀, 確認有 189 bp 片段

HincII-RFLP 分析:

PCR 反應每支總體積為 15  $\mu$ L

- 1) PCR 產物 8  $\mu$ L
- 2) HincII 限制  $\div$  1  $\mu$ L (10 unit/ $\mu$ L)
- 3) 10 $\times$ 緩衝溶液 1.5  $\mu$ L
- 4) 100 $\times$  BSA (bovine serum albumin) 0.15  $\mu$ L
- 5) 滅菌過二次水 4.35  $\mu$ L
- 6) 37  $^{\circ}$ C, 12hr
- 7) 15  $\mu$ L  $\div$  切產物加入 3  $\mu$ L 6 $\times$ 追蹤染劑, 以 100 bp ladder 為 DNA 標記, 以 3% agarose gel 進行電泳, 1 $\times$  TAE buffer 當介質。
- 8) 進行 60 min 電泳
- 9) UV light 下判讀 141 bp、120 bp、48 bp 片段  
Ile/ Ile: 141 bp  
Ile /Val: 141 bp, 120 bp  
Val/Val: 120 bp

#### <GST M1/T1 基因多形性分析[11]>

PCR 每支總體積為 25  $\mu$ L

- 1) 1.5  $\mu$ L DNA
- 2) 聚合酵素 Taq 0.4  $\mu$ L (5 unit/ $\mu$ L)
- 3) Taq 之 10 $\times$ 緩衝溶液 2.5  $\mu$ L
- 4) 25 mM dNTP 0.2  $\mu$ L
- 5) 25  $\mu$ M GSTM1 primer 各 0.4  $\mu$ L  
5'-CTGCCCTACTTGATTGATGGG-3'  
5'-CTGGATTGTAGCAGATCATGC-3'
- 6) 25  $\mu$ M GSTT1 primer 各 0.4  $\mu$ L  
5'-TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC-3'  
5'-TCACCGGATCATGGCCAGCA-3'
- 7) 25  $\mu$ M  $\beta$ -globin primer 各 0.4  $\mu$ L  
5'-ACACAAGTGTGTTCACTAGC-3'  
5'-CAACTTCATCCACGTTTACC-3'
- 8) 滅菌之二次水 18.0  $\mu$ L
- 9) PCR 反應步驟  
94  $^{\circ}$ C, 3 min  
重複 35 次  
Denaturation: 94  $^{\circ}$ C, 45 sec  
Annealing: 60  $^{\circ}$ C, 30 sec  
Elongation: 72  $^{\circ}$ C, 90 sec  
72  $^{\circ}$ C, 10 min  
4  $^{\circ}$ C, 24 hr
- 10) 取出 8  $\mu$ L PCR 產物加入 1.6  $\mu$ L 6 $\times$ 追蹤染劑，以 100 bp ladder 為 DNA 標記，以 2% agarose gel 進行電泳，1 $\times$  TAE buffer 當介質。
- 11) 進行 45 min 電泳
- 12) UV light 下判讀基因片段  
由於 null type 不會有基因片段產生，以 $\beta$ -globin 產物 100 bp 當作內部對照 (internal control)，確定 PCR 反應之正確性和 DNA 之完整性。  
GSTM1 (-): 100 bp  
GSTM1 (+): 100 bp, 273 bp  
GSTT1 (-): 100 bp  
GSTT1 (+): 100 bp, 480 bp

#### <統計方法>

運用 Spss 10.0 for windows 進行統計分析。先進行計程車司機和社區居民兩組組內和組間單變項分析，以 t-test 和 one-way ANOVA 檢定之。比較兩組之 8-OHdG 濃度分別依基本人口學資料、生活習慣、工作

暴露狀況和基因多形性等變項分層比較。

接著以多變項線性迴歸分析影響 NO<sub>x</sub>、1-OHP 和 8-OHdG 濃度的變項，例如：研究對象、抽菸、飲酒、嚼食檳榔、生活習慣、基因多形性。

#### 四、結果與討論

研究對象分組比較尿液中 8-OHdG 濃度與相關變項和基因多形性之關係如表 1。計程車司機之平均 8-OHdG 濃度比社區居民高出 2.9  $\mu$ g/g creatinine，以年齡分層分析時，雖然司機之 8-OHdG 濃度均高於居民，但不顯著；控制研究對象將司機或居民各自比較時，年齡並不影響 8-OHdG 濃度。以抽菸習慣分層分析時，只有在不抽菸者中，司機之 8-OHdG 濃度高於居民；控制研究對象將司機或居民各自比較時，抽菸顯著影響 8-OHdG 濃度。以嚼檳榔習慣分層分析時，在沒有嚼檳榔習慣下，司機之 8-OHdG 濃度高於居民；控制研究對象將司機或居民各自比較時，有無嚼檳榔的影響不顯著。

以全部研究對象之 NO<sub>x</sub> 濃度中位數和 1-OHP 濃度中位數，分別將 NO<sub>x</sub> 和 1-OHP 濃度分為高低兩組，觀察 8-OHdG 濃度的高低是否與 NO<sub>x</sub> 和 1-OHP 濃度有關。以 NO<sub>x</sub> 濃度高低分層分析時，只有當 NO<sub>x</sub> 濃度高於中位數時司機之 8-OHdG 濃度高於居民；控制研究對象將司機或居民各自比較時，只有在司機族群中 NO<sub>x</sub> 濃度愈高時，8-OHdG 濃度也愈高。以 1-OHP 濃度高低分層分析時，只有當 1-OHP 濃度低於中位數時司機之 8-OHdG 濃度高於居民；控制研究對象將司機或居民各自比較時，只有在社區居民中 1-OHP 濃度愈高時，8-OHdG 濃度也愈高。

以 CYP1A1 MspI/HincII 和 GST M1/T1 各基因型分層分析時，分別在 CYP1A1 MspI 之基因型 m1/m1 和 m2/m2、CYP1A1 HincII 之基因型 Ile/Ile、GSTM1 之基因型 non-null type，以及 GSTT1 之基因型 null type 中，可以觀察到司機之 8-OHdG 濃度高於居民；控制研究對象將司機或居民各自比較時，只有社區居民和計程車司機之

GSTM1 基因型為 null type 者之 8-OHdG 濃度較高，其餘如 CYP1A1 MspI/HincII 和 GSTT1 之各基因型則不影響 8-OHdG 濃度。

影響尿液中 8-OHdG 濃度之變項和基因多形性，進行多變項線性迴歸分析(表 2)。結果發現有無抽菸習慣和 GSTM1 基因多形性與尿液中 8-OHdG 濃度有顯著相關性。在控制其他變項影響下，抽菸者則比非抽菸者高出 3.69  $\mu\text{g/g creatinine}$ ，研究對象帶有 GSTM1 基因型為 non-null type 者，其 8-OHdG 濃度較低。此外，年齡越大、教育程度越高、暴露二手菸情形和嚼食檳榔習慣會使 8-OHdG 濃度上升，喝酒和拜香習慣則使 8-OHdG 濃度下降，不過都沒有達到統計上顯著差異。CYP1A1 MspI/HincII 和 GSTT1 基因型對於 8-OHdG 濃度沒有影響。

以尿液中 8-OHdG 濃度當作依變項，血漿 NOx 和尿液中 1-OHP 濃度以及相關變項和基因多形性作為自變項，進行多變項線性迴歸分析(表 3)。結果發現 1-OHP 濃度和 GSTM1 基因多形性與尿液中 8-OHdG 濃度有顯著相關性。在控制其他變項影響下，研究對象之 1-OHP 濃度每增加 1  $\mu\text{g/g creatinine}$ ，8-OHdG 濃度增加 7.93  $\mu\text{g/g creatinine}$ ，若 GSTM1 基因型為 non-null type 者，其 8-OHdG 濃度會減少 1.33  $\mu\text{g/g creatinine}$ 。此外，年齡越大、有運動、喝酒習慣、NOx 濃度較低和 CYP1A1 MspI 基因型為 m1/m2 或 m2/m2 者會降低 8-OHdG 濃度，嚼食檳榔則使 8-OHdG 濃度上升，不過都沒有達到統計上顯著差異。

本研究中發現尿液中 8-OHdG 濃度則與 GSTM1 基因多形性有關(表 1)。Wu 等人[12]指出煉煤鍋爐工人之 CYP1A1 MspI 基因型為 variant homozygous genotype (m2/m2) 的 1-OHP 濃度會高於基因型為 wild type (m1/m1) 和 heterozygous type (m1/m2) 的 2 倍。在煉鋁工人中也發現帶有 CYP1A1 HincII 基因型 Val/Val 之 1-OHP 濃度高於基因型為 Ile/Ile 和 Ile/Val[13]。有研究指出 GSTM1 基因型若為 null type 會有較高濃度的 1-OHP[14]，而有些研究沒有

同樣的發現[15-17]。Zhang 等人[18]發現煉煤鍋爐工人之 CYP1A1 HincII 基因型為 variant homozygote (Val/Val) 之 1-OHP 濃度會高於其它基因型，但沒有發現 1-OHP 濃度與 GSTM1、GSTP1 和 GSTT1 有關。Lee 等人[19]發現垃圾焚化爐工人尿液中 1-OHP 濃度與 GSTM1 基因型有關而與 CYP1A1 MspI/HincII 和 GSTT1 基因型無關。Hong 等人[20]發現母親懷孕時暴露二手菸，母親尿中 1-OHP 濃度較高，新生兒尿中 8-OHdG 濃度也較高，尤其是 GSTM1 基因型為 null type 而且母親有二手菸暴露之新生兒的 8-OHdG 濃度最高，GSTM1 基因型為 non-null type 而且母親沒有二手菸暴露之新生兒的 8-OHdG 濃度最低。

在本研究中，沒有控制影響 NOx、1-OHP 和 8-OHdG 濃度的變因下，NOx、1-OHP 和 8-OHdG 彼此之間有正相關性(表 4)。Kano 等人[21]發現在氮氧化物污染嚴重的地區，學童尿液中 1-OHP 濃度高於低污染地區，表示有氮氧化物污染情形存在時也會伴隨著 PAHs 污染。另外也有研究指出外源性 PAHs 暴露會活化 NO synthase 誘發內皮細胞合成 NO [22]。但是在控制司機和社區居民二組間有明顯差異的變項，包括研究對象組別、年齡、教育程度、抽菸、嚼檳榔和運動習慣，可能分別對 NOx、1-OHP 和 8-OHdG 濃度之影響後，只有 1-OHP 和 8-OHdG 之間有相關性，這可能與 NOx、1-OHP 和 8-OHdG 代謝反應機制有關。外源性 NOx 毒性是屬於急性呼吸道反應，代謝速度快，而內生性 NOx 有多樣化的生理功能與作用[23]；1-OHP 濃度代表的是尿液樣本採集前約 1.5 天 PAHs 暴露的情形[24]；8-OHdG 是暴露後所造成的傷害，經修復作用後的 DNA 損害狀況，所以反映出來的是較長時間的 DNA 傷害情形[25]。

本研究中雖然計程車司機血漿中 NOx 和尿液中 1-OHP 濃度高於社區居民，由於沒有實際對研究對象做環境上的偵測，很難說是因為駕駛計程車所暴露的空氣污染物質所導致，尤其是氮氧化物除了外在暴露來源之外，體內本身也會生成，所以無

法很確切地說明交通空氣污染物質 NO<sub>x</sub> 就是造成血漿中 NO<sub>x</sub> 濃度上升的來源。一般會暴露到 PAHs 的途徑如職業、抽菸、拜香和飲食等，來源都屬於體外暴露，體內本身不會合成，所以體內測量到 1-OHP 濃度應該就是代表暴露 PAHs 的情形。

在人類族群研究方面，從事計程車駕駛和抽菸分別都會使血漿中 NO<sub>x</sub>、尿液中 1-OHP 和 8-OHdG 濃度上升。研究對象帶有 CYP1A1 MspI 基因型為 m1/m2 或 m2/m2 和 GSTM1 基因型為 null type 會有較高的 1-OHP 濃度，8-OHdG 濃度與 GSTM1 基因型有關。雖然其他空氣污染物質如活性氧化物種、苯、一氧化碳、臭氧和懸浮微粒等也會影響 8-OHdG 生成，但經由多變項線性迴歸分析結果發現，控制抽菸、GSTM1 基因型和其他因素影響下，1-OHP 濃度與 8-OHdG 濃度有相關性，表示尿液中 8-OHdG 濃度可能可以反映出暴露 PAHs 所造成氧化傷害的效應。

## 五、參考文獻

1. 行政院環保署，台灣地區空氣品質監測報告。
2. van der Zee S, Hoek G, Boezen HM, et al. Acute effects of urban air pollution on respiratory health of children with and without chronic respiratory symptoms. *Occup Environ Med* 1999;56:802-12.
3. Rusin M, Butkiewicz D, Malusecka E, et al. Molecular epidemiological study of non-small-cell lung cancer from an environmentally polluted region of Poland. *Br J Cancer* 1999;80:1445-52.
4. Kaden DA, Hites RA, Thilly WG. Mutagenicity of soot and associated polycyclic aromatic hydrocarbons to *Salmonella typhimurium*. *Cancer Res* 1979;39:4152-9.
5. Kamm JJ, Dashman T, Conney AH, et al. Protective effect of ascorbic acid on hepatotoxicity caused by sodium nitrite plus aminopyrene. *Proc Nat Acad Sci USA* 1973;70:747-9.
6. Arey J, Zielinska B, Atkinson R, et al. The formation of nitro-PAH from the gas-phase reactions of fluoranthene and pyrene with the OH radical in the presence of NO<sub>2</sub>. *Atmos Environ* 1986;12:2339-45.
7. Kanoh T, Fukuda M, Mizoguchi I, et al. Detection of mutagenic compounds in the urine of mice administered pyrene during exposure to NO<sub>2</sub>. *Jpn J Cancer Res (Gann)* 1987;78:1057-62.
8. Kanoh T, Fukuda M, Hayami E, et al. Nitro reaction in mice injected with pyrene during exposure to nitrogen dioxide. *Mutat Res* 1990;245:1-4.
9. Yin B, Whyatt RM, Perera FP, Randall MC, Cooper TB, Santella RM. Determination of 8-hydroxydeoxyguanosine by an immunoaffinity chromatography-monomoclonal antibody-based ELISA. *Free Radic Biol Med* 18:1023-1032, 1995.
10. Hayashi S, Watanabe J, Nakachi K, Kawajiri K. Genetic linkage of lung cancer-associated MspI polymorphisms with amino acid replacement in the heme binding region of the human cytochrome P450IA1 gene. *J Biochem* 110:407-411, 1991.
11. Comstock KE, Sanderson BJS, Clafin G, Henner WD. GST1 gene deletion determined by polymerase chain reaction. *Nucleic Acids Res* 18:3670, 1990.
12. Wu MT, Huang SL, Ho CK, Yeh YF, Christiani DC. Cytochrome P450IA1 MspI polymorphism and urinary 1-hydroxypyrene concentrations in coke-oven workers. *Cancer Epidemiol Biomarker Prev* 7:823-829, 1998.
13. Alexandrie A, Warholm M, Carstensen U et al. CYP1A1 and GSTM1 polymorphisms affect urinary 1-hydroxypyrene levels after PAH exposure. *Carcinogenesis* 21:669-76, 2000.
14. Hong YC, Leem JH, Park HS et al. Variations in urinary 1-hydroxypyrene glucuronide in relation to smoking and the modification effects of GSTM1 and GSTT1. *Toxicol Lett* 108:217-223, 1999.

15. Merlo F, Andreassen A, Weston A et al. Urinary excretion of 1-hydroxypyrene as a marker for exposure to urban air levels of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 7:147-55, 1998.
16. Ovrebo S, Ryberg D, Haugen A, Leira HL. Glutathione S-transferase M1 and P1 genotypes and urinary excretion of 1-hydroxypyrene in coke oven workers. *Sci Total Environ* 220:25-31, 1998.
17. Van Delft JHM, Steenwinkel MJST, Van Asten JG et al. Biological monitoring the exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons of coke oven workers in relation to smoking and genetic polymorphisms for GSTM1 and GSTT1. *Ann Occup Hyg* 45:395-408, 2001.
18. Zhang J, Ichiba M, Hara K et al. Urinary 1-hydroxypyrene in coke oven workers relative to exposure, alcohol consumption, and metabolic enzymes. *Occup Environ Med* 58:716-721, 2001.
19. Lee J, Kang D, Lee KH et al. Influence of GSTM1 genotype on association between aromatic DNA adducts and urinary PAH metabolites in incineration workers. *Mutat Res* 514:213-221, 2002.
20. Hong YC, Kim H, Im MW, Lee KH, Woo BH, Christiani DC. Maternal genetic effects on neonatal susceptibility to oxidative damage from environmental tobacco smoke. *J Natl Cancer Inst* 93:645-647, 2001.
21. Kanoh T, Fukuda M, Onozuka H, Kinouchi T, Ohnishi Y. Urinary 1-hydroxypyrene as a marker of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in environment. *Environ Res* 62:230-41, 1993.
22. Kang JJ, Cheng YW. Polycyclic aromatic hydrocarbons induced vasorelaxation through induction of nitric oxide formation in endothelium of rat aorta. *Toxicol Lett* 93:39-45, 1997.
23. Victorin K. Review of the genotoxicity of nitrogen oxides. *Mutat Res* 317:43-55, 1994.
24. Jongeneelen FJ, Anzion RB, Scheepers PT et al. 1-Hydroxypyrene in urine as a biological indicator of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in several work environments. *Ann Occup Hyg* 32:35-43, 1988.
25. Shigenaga MK, Gimeno CJ, Ames BN. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biological marker of in vivo oxidative DNA damage. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:9697-701, 1989.

表 1 尿液中 8-OHdG 濃度以研究對象分組與相關變項和基因多形性之比較

| 變 項                  | 計程車司機            | 社區居民             | 合計               | <i>p</i> -value |
|----------------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|
| 8-OHdG               | 13.4 ± 4.7 (95)  | 11.5 ± 4.7 (75)  | 12.6 ± 4.8 (170) | 0.008           |
| 年齡(歲)                |                  |                  |                  |                 |
| 30-34                | 14.8 ± 4.6 (12)  | 11.5 ± 5.3 (9)   | 13.4 ± 5.1 (21)  | 0.148           |
| 35-39                | 14.1 ± 6.0 (30)  | 10.4 ± 4.4 (9)   | 13.3 ± 5.8 (39)  | 0.090           |
| 40-44                | 12.6 ± 3.5 (40)  | 11.7 ± 3.9 (18)  | 12.3 ± 3.6 (58)  | 0.367           |
| 45+                  | 13.1 ± 4.5 (13)  | 11.6 ± 5.1 (39)  | 12.0 ± 4.9 (52)  | 0.349           |
|                      | <i>p</i> = 0.400 | <i>p</i> = 0.904 | <i>p</i> = 0.523 |                 |
| 抽菸習慣                 |                  |                  |                  |                 |
| 有                    | 14.3 ± 5.3 (55)  | 13.3 ± 4.4 (32)  | 13.9 ± 5.0 (87)  | 0.350           |
| 無                    | 12.2 ± 3.4 (40)  | 10.1 ± 4.5 (43)  | 11.1 ± 4.1 (83)  | 0.021           |
|                      | <i>p</i> = 0.020 | <i>p</i> = 0.004 | <i>p</i> < 0.001 |                 |
| 嚼食檳榔習慣               |                  |                  |                  |                 |
| 有                    | 13.0 ± 4.6 (66)  | 13.3 ± 4.9 (12)  | 14.4 ± 4.9 (36)  | 0.355           |
| 無                    | 14.9 ± 4.9 (24)  | 11.2 ± 4.6 (62)  | 12.1 ± 4.7 (128) | 0.026           |
|                      | <i>p</i> = 0.098 | <i>p</i> = 0.158 | <i>p</i> = 0.014 |                 |
| NO <sub>x</sub> (μM) |                  |                  |                  |                 |
| > 42.4               | 14.4 ± 4.9 (55)  | 11.4 ± 4.8 (30)  | 13.3 ± 5.0 (85)  | 0.008           |
| ≤ 42.4               | 12.1 ± 4.0 (40)  | 11.5 ± 4.7 (45)  | 11.8 ± 4.4 (85)  | 0.544           |
|                      | <i>p</i> = 0.018 | <i>p</i> = 0.907 | <i>p</i> = 0.036 |                 |
| 1-OHP(μg/creatinine) |                  |                  |                  |                 |
| > 0.22               | 14.0 ± 5.0 (32)  | 14.2 ± 4.4 (24)  | 14.0 ± 4.8 (87)  | 0.822           |
| ≤ 0.22               | 12.4 ± 3.8 (63)  | 10.2 ± 4.3 (51)  | 11.0 ± 4.2 (83)  | 0.021           |
|                      | <i>p</i> = 0.119 | <i>p</i> = 0.001 | <i>p</i> < 0.001 |                 |
| CYP1A1 MspI          |                  |                  |                  |                 |
| m1/m1                | 13.2 ± 4.5 (59)  | 11.5 ± 4.6 (51)  | 12.4 ± 4.6 (110) | 0.057           |
| m1/m2                | 14.2 ± 5.0 (23)  | 13.0 ± 5.0 (13)  | 13.7 ± 5.0 (38)  | 0.480           |
| m2/m2                | 13.1 ± 4.9 (13)  | 8.8 ± 3.5 (9)    | 11.3 ± 4.8 (22)  | 0.033           |
|                      | <i>p</i> = 0.669 | <i>p</i> = 0.100 | <i>p</i> = 0.150 |                 |
| CYP1A1 HincII        |                  |                  |                  |                 |
| Ile/Ile              | 13.4 ± 4.9 (59)  | 11.0 ± 4.1 (46)  | 12.3 ± 4.7 (105) | 0.012           |
| Ile/Val              | 13.2 ± 4.4 (26)  | 11.7 ± 5.4 (24)  | 12.4 ± 4.9 (50)  | 0.280           |
| Val/Val              | 14.5 ± 4.2 (10)  | 14.8 ± 5.7 (5)   | 14.6 ± 4.5 (15)  | 0.279           |
|                      | <i>p</i> = 0.724 | <i>p</i> = 0.238 | <i>p</i> = 0.221 |                 |
| GSTM1                |                  |                  |                  |                 |
| Null                 | 14.2 ± 5.3 (51)  | 12.5 ± 4.9 (40)  | 13.4 ± 5.2 (91)  | 0.128           |
| Present              | 12.6 ± 3.7 (44)  | 10.3 ± 4.2 (35)  | 11.6 ± 4.0 (79)  | 0.013           |
|                      | <i>p</i> = 0.093 | <i>p</i> = 0.042 | <i>p</i> = 0.009 |                 |
| GSTT1                |                  |                  |                  |                 |
| Null                 | 13.7 ± 4.9 (58)  | 11.4 ± 4.7 (48)  | 12.6 ± 4.9 (106) | 0.016           |
| Present              | 13.1 ± 4.4 (37)  | 11.7 ± 4.8 (27)  | 12.5 ± 4.6 (64)  | 0.235           |
|                      | <i>p</i> = 0.543 | <i>p</i> = 0.791 | <i>p</i> = 0.843 |                 |

數值表示方式為平均值±標準差(人數)，單位 μg/g creatinine。

表 2 多變項線性迴歸分析影響尿液中 8-OHdG 濃度之變項和基因多形性

| 變 項                           | 迴歸係數( $\beta$ ) | 標準誤(SE) | Force-in<br>$p$ -value | Stepwise<br>$p$ -value |
|-------------------------------|-----------------|---------|------------------------|------------------------|
| 截距                            | 10.24           | 3.63    | 0.005                  |                        |
| 研究對象 <sup>a</sup>             | 1.51            | 0.83    | 0.071                  | 0.024                  |
| 年齡(歲)                         | -0.005          | 0.07    | 0.946                  |                        |
| 教育程度(年)                       | 0.01            | 0.34    | 0.976                  |                        |
| 抽菸習慣(有 vs. 無)                 | 3.69            | 0.94    | 0.001                  | 0.001                  |
| 二手菸暴露(有 vs. 無) <sup>b</sup>   | 2.04            | 1.01    | 0.064                  | 0.043                  |
| 飲酒習慣(有 vs. 無)                 | -1.06           | 1.11    | 0.344                  |                        |
| 嚼食檳榔(有 vs. 無)                 | 0.76            | 1.05    | 0.473                  |                        |
| 拜香習慣(有 vs. 無)                 | -0.37           | 0.83    | 0.656                  |                        |
| <i>Genotypes</i>              |                 |         |                        |                        |
| CYP1A1 MspI:                  |                 |         |                        |                        |
| m1/m2 & m2/m2 vs. m1/m1       | -0.46           | 0.85    | 0.586                  |                        |
| CYP1A1 HincII:                |                 |         |                        |                        |
| Ile/Val & Val/Val vs. Ile/Ile | 0.60            | 0.80    | 0.453                  |                        |
| GSTM1: present vs. null       | -1.71           | 0.76    | 0.026                  | 0.026                  |
| GSTT1: present vs. null       | 1.00            | 0.77    | 0.196                  |                        |

$n = 160$ ,  $R^2 = 0.203$ ,  $p = 0.001$

<sup>a</sup> 分為計程車司機與社區居民二組

<sup>b</sup> 非抽菸者二手菸暴露情形

表 3 多變項線性迴歸分析影響尿液中 8-OHdG 濃度與血漿中 NOx 和尿液中 1-OHP 濃度及相關變項和基因多形性

| 變 項                               | 迴歸係數( $\beta$ ) | 標準誤(SE) | Force-in<br>$p$ -value | Stepwise<br>$p$ -value |
|-----------------------------------|-----------------|---------|------------------------|------------------------|
| 截距                                | 12.10           | 3.38    | 0.001                  |                        |
| 年齡(歲)                             | -0.06           | 0.06    | 0.385                  |                        |
| 運動習慣(有 vs. 無)                     | -0.15           | 0.77    | 0.846                  |                        |
| 飲酒習慣(有 vs. 無)                     | -0.34           | 1.12    | 0.764                  |                        |
| 嚼食檳榔(有 vs. 無)                     | 1.44            | 0.95    | 0.134                  |                        |
| NOx ( $\mu$ M)                    | -0.03           | 0.04    | 0.439                  |                        |
| 1-OHP ( $\mu$ g/g creatinine)     | 7.93            | 2.14    | 0.001                  | 0.001                  |
| <i>Genotypes</i>                  |                 |         |                        |                        |
| CYP1A1 MspI:                      |                 |         |                        |                        |
| m1/m2 & m2/m2 vs. m1/m1           | -1.02           | 0.78    | 0.194                  |                        |
| GSTM1: present vs. null           | -1.33           | 0.74    | 0.048                  | 0.048                  |
| $n = 160, R^2 = 0.170, p = 0.001$ |                 |         |                        |                        |

表 4 血漿中 NOx 濃度、尿液中 1-OHP 濃度和 8-OHdG 濃度之相關性

| 全部研究對象 | 8-OHdG                     |                             | 1-OHP                      |                             |
|--------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
|        | 粗相關                        | 校正後相關 <sup>a</sup>          | 粗相關                        | 校正後相關 <sup>a</sup>          |
| NOx    | 0.130 (170)<br>$p = 0.046$ | -0.047 (151)<br>$p = 0.281$ | 0.250 (170)<br>$p = 0.001$ | -0.116 (151)<br>$p = 0.078$ |
| 1-OHP  | 0.391 (170)<br>$p < 0.001$ | 0.239 (156)<br>$p = 0.002$  |                            |                             |

數值表示方式為皮爾森相關係數(Pearson correlation coefficient) (人數)

<sup>a</sup> 校正研究對象組別、年齡、教育程度、抽菸、嚼食檳榔和運動習慣