

計畫名稱：特定污染源微粒之細胞毒性與動物毒性比較

執行單位：國立陽明大學環境衛生研究所

計畫編號：93-EPA-Z-010-001

子計畫主持人：黃嵩立

共同主持人：趙馨

總計畫主持人：詹長權

中文摘要

本子計畫的目的，是比較常見的幾種燃燒污染源（包括拜香、香菸、稻草、公車、發電廠），以及超級測站之微粒的細胞毒性。本年度工作是以各種不同的細胞反應來評估微粒毒性、並且以細胞反應和動物實驗結果相比較。本子計畫的共同主持人的研究，則是細菌內毒素（endotoxin）分析方法的開發。本計畫以 impinger 來採集常見空氣污染源之微粒，並以 Moudi 採樣器進行採樣。採樣後將微粒濃度定量，以用來刺激細胞或用於動物實驗。初步結果：細胞進行微粒暴露 8 小時後，收集細胞進行 MTT 分析；拜香微粒在 30 g/ml 以上就會顯著降低細胞存活率到 70% 以下；燃燒稻草及香菸微粒，則在 50 g/ml 以下都不會顯著降低細胞存活率。在不會造成細胞大量死亡的濃度（25 g/ml 以下），拜香微粒所導致的 IL-8 釋出高於稻草燃燒微粒，又高於香菸微粒（其差別皆達到統計顯著意義）在氧化壓力的部份，各種微粒在無細胞系統所測得的氧化壓力指標，與細胞受微粒刺激後的立即反應（superoxide 產生），以及累積氧化傷害（lipid peroxidation）之間有吻合的結果；以三種方法測量，稻草燃燒微粒所造成的氧化壓力大於拜香微粒，又大於香菸微粒。動物實驗的結果，灌注拜香、稻草、香菸等微粒，都造成顯著的肺部白血球浸潤，且以稻草 > 香菸 > 拜香。白血球的分類計數，則發現稻草和香菸造成的白血球中有顯著增高的嗜中性白血球比例，但拜香雖造成白血球浸潤，但浸潤細胞係以巨噬細胞為主，並沒有嗜中性球比例增高的情況。在肺部的 8-OH dG 部份，則僅有香菸暴露造成高於對照組的氧化傷害。比較細胞與動物試驗的結果，似乎指出微粒的氧化壓力和動物體內實驗的結果相符。

英文摘要

The purpose of this project is to compare the toxicity of several particulate pollutants, including incense, rice stalk, cigarette smoke, diesel engine from buses, and diesel engine generator, as well as ambient particles at the supersite. We compared the toxicity using several cellular endpoints, and the results will be compared with animal study to identify the most suitable endpoint. The associate investigator is developing methodology for analyzing bacterial endotoxin in particles. We collected incense, rice stalk, and cigarette burning particles by an impinger, and collected ambient particles at the supersite by Moudi samplers. After sampling, the particles in suspension was used to treat cells or instilled into animals. We found that in terms of cell survival, incense particles at 30 g/ml lowered survival to below 70%, while other particles did not significantly affect survival up to 50 g/ml. In concentrations not causing cytotoxicity (below 25 g/ml), incense particles induced IL-8 production more than rice stalk, which in turn was higher than cigarette smoke. In terms of oxidative stress, the potency of oxidative stress was in the same order when assessed in a cell-free system, in the immediate superoxide response, and in lipid peroxidation measured 5 hours after particle stimulation. In every system, rice stalk particles caused more oxidative stress/injury than incense particles, which in turn was more than cigarette particles. In animal study, instilling particles into rats caused significant leukocyte infiltration into the lungs, with rice stalk causing higher number of cells than cigarette, which was in turn higher than incense. With leukocyte differential analysis, the results showed that rice and cigarette particles caused the most significant neutrophils. Incense particles, on the other hand, caused primarily macrophage infiltration. With 8-OH dG in lung homogenates, only cigarette particles caused higher levels than controls. The

results seem to indicate that oxidative stress measured in vitro corresponded better with animal studies.

Keywords: particles, toxicity, oxidative stress, incense, rice stalk, cigarette

結論與建議

- (1) 細胞研究發現，四種微粒都可以造成顯著的細胞毒性。微粒造成氧化壓力的三種指標之間有顯著的相關，但是與細胞毒殺和 IL-8 分泌等指標之間，則出現不一致的現象。由於燃燒的情況會影響微粒特性，所以本研究不能直接表現四種微粒的毒性，但研究結果仍指出，微粒毒性無法以單一指標來呈現。本研究之重要結論如下：首先，三種氧化壓力指標之間彼此關連良好；其次，細胞毒殺指標和細胞激素兩種指標之間關係良好；第三，上述兩套指標之間，則沒有一致性。究竟哪一種指標比較能預測微粒對於動物和人體的毒性，仍需要進一步的研究。實驗結果顯示特定污染源在細胞造成毒殺、並引發細胞激素分泌，這兩項結果雖然顯示拜香的毒性最強，但是與微粒的氧化壓力指標之間則並不相符；後者指出稻草微粒所造成的氧化壓力高於拜香，又高於香菸；
- (2) 由動物實驗之血球分類計數與兩種發炎指標結果可推測，本研究採集之三種微粒暴露皆會造成肺部血球細胞聚集，且稻草及濃菸微粒可能因嗜中性球被活化而釋放更多的發炎前趨激素或增加血管通透性造成實驗動物產生較嚴重的發炎，但這樣的情況在拜香微粒暴露時並不明顯，原因可能由於 IL-1 B 並非淋巴球之主要產物，肺部淋巴球的聚集不會造成 IL-1 B 顯著增加。動物實驗的結果顯示三種微粒都可以造成大鼠的肺部發炎反應，但是動物實驗的各種指標之間也不完全一致；大致上看來，稻草引發了最嚴重的發炎反應，似乎與在細胞引發的氧化壓力之間有一致的結果，但是若以微粒造成的 8-OH dG 而言，卻又以香菸為最高，但香菸微粒在體外試驗中卻一直顯示其毒性低於稻草和拜香；
- (3) 研究中發現，以水震盪濾紙時，大部分微粒中的元素濃度均降低，亦即這些元素可被水震盪下來，但不同的元素種類有不同可震盪比例；另外不同的微粒排放源，也會有不同的震盪效率。尤其在排放源種類差異性大時更容易觀察到此一情況。例如 K、Cl 在拜香、稻草及香菸微粒中，可震盪比例都高達 80% 以上，但在發電機及四行程機車微粒上，可震盪比例只有 20~60%。所以微粒排放源種類會影響元素的可震盪比例。
元素成分僅佔微粒質量的小部分，最高僅佔微粒質量之 7.48%（以 ED-XRF 分析 impactor 採集稻草微粒），而以 ICP-MS 分析 18 種元素總質量，所佔微粒質量也不超過 2%；因此濾紙震盪前後之震盪效率，所代表應是佔微粒質量中大部分的其他組成所被震盪下之比例，如碳成分 (EC、OC) 及其他陰陽離子 (SO_4^{2-} 、 NH_4^+ ...) 等。
- (4) 在粒徑分析的結果中，可以得知拜香、稻草、濃菸及淡菸的微粒粒徑屬於 $1\ \mu\text{m}$ 以下的佔 90% 以上，而粒徑大小對於使用不同採樣方式的收集效率而言是有所差異的，尤其以 impinger 方式採樣（流量 2.0 LPM）時，當粒徑 $< 1\ \mu\text{m}$ ，收集效率約只有 20%，也就是說只採集到排放源所產生微粒其中的 20%，其代表性可能較差。由於 MOUDI 採集微粒需要採集時間長，方能得到需求的重量，但氣候不穩定中斷採樣，隔一段時間再採的情況，中間無法得知在中斷採樣的前後大氣中微粒的特性是否有改變，因此未來的採樣，應以 MOUDI 採集不同排放源所產生的微粒，在提高微粒濃度的前提下，縮短採樣時間，才能減少氣候條件改變的變異。
- (6) 環境樣本因受限於採樣器流量及採樣時間，因此內毒素濃度低於本方法偵測極

- 限，未來若要監測環境採樣中之內毒素濃度應改用流量較高之採樣器。
- (7) 本研究的結果認為並沒有單一的指標能夠完全代表微粒的毒性