

國立臺灣大學公共衛生學院職業醫學與工業衛生研究所

碩士論文

Graduated Institute of Occupational Medicine and Industrial Hygiene

College of Public Health

National Taiwan University

Master Thesis

大氣微粒於第一型糖尿病大鼠動物模式

糖尿病腎病變之研究

Diabetes Nephropathy in Type 1 Diabetes Animal Model

Exposed to Ambient Particulate Matter

羅鎧

Lo, Kai

指導教授：鄭尊仁 博士

Advisor: Cheng, Tsun-Jen, MD, Sc.D.

中華民國 99 年 7 月

July, 2010

## 致謝

這篇致謝文的開始，我要感謝主耶穌基督，藉由王榮德老師介紹讓我進到鄭尊仁實驗室。

感謝老師的指導，隨時敞開大門讓學生進去跟他討論，我印象中從來沒有被老師拒絕過，所以鄭老師實驗室是沒有 office hour 的。其次是老師對於每個我們進行的實驗都會仔細的討論，給予指導且告訴我核心的知識。在實驗結束的時候，不因學生實驗失敗怒罵學生，而是要我去思考哪個環節出現問題要我去解決，寫下討論報告，並語重心長的告訴我我做錯了甚麼。

站在巨人的肩膀上可以看得更遠，是牛頓說的，在我現階段的人生中遇到了我智識上的巨人，他甘願讓我踩在他的肩膀上，只為了使我看得更遠，想的更多，老師是真實去實踐用生命去感動生命。也給我一個榜樣讓我相信科學的真善美。

感謝實驗室的夥伴亭亭，雖然你的脾氣不好，但也是個真性情的人，在你的面前絲毫不能說客套話，都是要說濺血濺淚的真心話，也辛苦你容忍我優柔寡斷和閒適的個性，雖然我不太懂你的實驗，可是我想你大概需要一個人傾聽你做了甚麼，希望我可以幫到忙。直到今天我都覺得真是交到一個好朋友跟實驗夥伴。

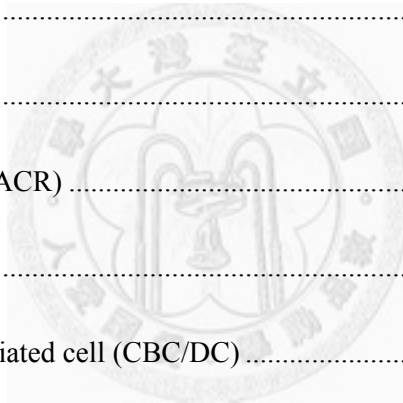
最後感謝實驗的其他成員，蓉燕、哲雯、元鴻學長、雅如提供我實驗上的幫助，還有乖巧的學妹們小阮、安琪，在我的犧牲實驗上提供極大的幫忙。以及我的父母他們提供我精神和經濟上的支柱讓我專心致力於實驗。

羅鎧致謝

# 目錄

目錄.....	I
圖目錄.....	III
表目錄.....	IV
摘要.....	V
Abstract .....	VII
一、前言.....	1
二、文獻回顧.....	2
2-1 微粒空氣汙染與糖尿病之流行病學研究.....	2
2-2 微粒空氣汙染與心血管、糖尿病之毒理學研究.....	5
2-3 糖尿病之病理生理學.....	8
2-4 糖尿病造成之慢性腎病變.....	11
2-5 腎功能異常指標 .....	12
2-6 第一型糖尿病疾病動物模式.....	13
三、研究方法.....	15
3-1 實驗設計流程 .....	15
3-2 實驗動物 .....	16
3-2-1 實驗動物飼養條件 .....	16
3-2-2 第一型糖尿病大鼠誘發 .....	16
3-3 測量方法 .....	16

3-3-1 常規測量 .....	16
3-3-2 大鼠犧牲、抽血、臟器組織處理 .....	17
3-4 微粒暴露和監測 .....	19
3-5 統計方法 .....	20
四、結果 .....	21
4-1 暴露資料 .....	21
4-2 體重 .....	21
4-3 24-hr飲水量 .....	21
4-4 血糖 .....	22
4-5 24-hr尿量 .....	22
4-6 Albumin creatinine ratio (ACR) .....	22
4-7 24-hr total albumin .....	23
4-8 Cell blood count/ differentiated cell (CBC/DC) .....	23
4-9 Biochemical markers .....	25
五、討論 .....	27
六、表與圖 .....	34
七、參考文獻 .....	63



## 圖目錄

圖 1	Body weight measurement .....	34
圖 2	Location of NTU school of public health.....	37
圖 3	Drinking water measurement on the 4th, 8th, 12th week.....	38
圖 4	Blood glucose measurement on the 4th, 8th, 12th week .....	39
圖 5	Urine volume measurement on the 4th, 8th, 12th week .....	40
圖 6	ACR measurement on the 0th,4th, 8th, 12th week.....	41
圖 7	24hr total albumin measurement on the 0th,4th, 8th, 12th week.....	42
圖 8	Red blood cell related indicators .....	43
圖 9	Platelet related indicators.....	44
圖 10	Hemoglobin related indicators.....	45
圖 11	White blood cell related indicators .....	46
圖 12	Biological indicators.....	49

## 表目錄

表 1	PM mess concentration in exposure cage and ambient environment..	50
表 2	Daily drinking amount (ml/day).....	51
表 3	Fasted glucose (ug/dL) .....	52
表 4	Urine volume (ml/day) .....	53
表 5	Albumin creatinine ratio (ACR) (mg/g).....	54
表 6	Total albumin(mg/day) .....	55
表 7	Red blood cell related indicators .....	56
表 8	Platelet related indicators.....	57
表 9	Hemoglobin related indicators .....	58
表 10	White blood cell related indicators.....	59
表 11	Biological indicators.....	60

## 摘要

**目的：**建立糖尿病腎病變動物模式並探討亞慢性暴露週遭大氣微粒對於第一型糖尿病腎臟之健康效應。

**方法：**(Sprague-Dawley)SD 大鼠注射 Streptozotocin(STZ)(55mg/kg body weight)後造成胰島組織受損而無法分泌胰島素，作為第一型糖尿病大鼠動物模式。施打後以血糖高於 300mg/dL 做為標準，視為誘發成功。使用此糖尿病動物去進行為期 16 週的亞慢性大氣微粒暴露。每四週採 24 小時尿液，最後於 16 週犧牲取其血液、尿液以及器官。

**結果：**血糖、胰島素以及糖化血色素(HbA1c)等糖尿病相關之生理指標均達到糖尿病標準。此外代表腎功能的白蛋白肌酐酸比值(ACR)在糖尿病組均顯著高於控制組，我們斷定在第一型糖尿病腎病變大鼠動物模式誘導成功。以全身性暴露腔 Individual Ventilation Chamber (IVC)做為媒介，使大鼠進行長期大氣微粒全身性呼吸暴露(24hr/day, 7days/week,共 16 週)，並以呼吸過濾空氣之大鼠做為對照組。結果發現大氣微粒對於糖尿病大鼠在腎功能上-白蛋白肌酐酸比值(ACR)具有負面健康效應( $160.86 \pm 117.73 \text{mg/g}$  vs  $267.74 \pm 433.17 \text{mg/g}$ )，但不具有統計上的顯著效應。但是 HbA1c 卻發現在暴露組顯著高於控制組，僅觀察到這樣的現象但詳細的機制仍然不明。

**結論：**雖然大氣微粒並未對糖尿病大鼠在腎病變上具有顯著的負面健康效應，但可稍微觀察到趨勢，此外經過暴露後糖尿病大鼠的 HbA1c 有顯著上升，然後無血糖資料以及其他資料支持，機制仍然不明，但可做為未來亞慢性大氣微粒暴露於易感族群研究的參考。

**關鍵字：**第一型糖尿病，腎病變，亞慢性呼吸暴露，腎絲球，大氣微粒。





## Abstract

**Objective:** to establish successful type 1 diabetes nephropathy animals and explore the health effect of ambient particulate matter by this model

**Method:** male SD rats received 55mg/kg body weight STZ by intravenous injection to induce and become type 1 diabetes. Blood glucose being 300mg/dL is the standard for discriminating it is diabetic or not. And we used this model to deal with 16 weeks subchronic inhalation exposure study.

**Results:** we observed that insulin and HbA1c reach to the criteria of diabetes mellitus (DM) level and the albumin creatinine ratio(ACR) was significantly higher in DM group than in healthy group. Thus, we consider the type 1 diabetes nephropathy animal model was established successfully. The ambient air particulate matter (PM) was conducted by individual ventilation cage (IVC) system. The whole body inhalation exposure was ongoing (24hr/day, 7days/week and 16 weeks).The diabetes rats in exposed group were compared to non-exposed group and we found that ACR in exposed group was slight higher than non-exposed group but without significant difference( $160.86 \pm 117.73$ mg/g vs  $267.74 \pm 433.17$ mg/g), but we observed HbA1c was higher in exposed group than in control group. However the detailed mechanism is still unclear.

**Conclusions:** Our results have shown that ambient air PM has no significant negative health effect but we observe HbA1c is elevated in diabetes exposed rats. Even though the mechanism of increased HbA1c is unclear in exposed group ,we can take this to be the reference in the future study.

**key words:** type 1 diabetes, Diabetes nephropathy, subchronic inhalation exposure, glomerulus, ambient air particulate matter

## 一、前言

在流行病學研究中發現，大氣微粒和多種心血管相關疾病的死亡率和住院率有高度相關，雖然從人類活動所排放的大氣微粒對於正常健康個體不具有威脅性，但許多文獻指出有心血管方面疾病患者對於大氣微粒具有高度的敏感性，然而近幾年來易感受族群研究已經轉向糖尿病等新陳代謝異常的議題，過去流行病學和毒理學研究指出，糖尿病患者或是糖尿病動物模式本身就具有多重併發症的危險性，糖尿病也和心血管疾病分享部分的致病機轉，但是仍有許多部分尚待釐清。此外我們知道糖尿病除了對於大直徑血管的傷害之外，對於腎臟上的小型血管也具有傷害力，有許多研究也指出糖尿病藉由傷害腎絲球體上的小血管進而改變腎臟的腎功能甚至導致腎臟功能喪失。因此本實驗利用第一型糖尿病疾病動物模式，藉由亞慢性呼吸使動物暴露於周遭大氣微粒，因而去探討大氣微粒對於循環系統中較小直徑血管的衝擊-糖尿病腎病變。因此本實驗探討下列幾個研究：

研究一：第一型糖尿病腎病變大鼠是否誘導成功。

研究二：經由呼吸暴露後，比較健康大鼠和糖尿病大鼠的對於周遭大氣微粒的健康效應。

研究三：進行大氣微粒慢性暴露實驗，藉由定期追蹤糖尿病大鼠白蛋白肌酐酸比值或是 24 小時總蛋白尿判斷糖尿病大鼠腎病程度。

研究四：大鼠犧牲後觀察白血球產生情況、糖化血色素、肝功能、脂質資料等，去判斷大氣微粒的其他健康效應。

## 二、文獻回顧

### 2-1 微粒空氣污染與糖尿病之流行病學研究

空氣污染造成的長期健康效應有以下:Pope等人發表於1999年的研究,針對90位平均年齡77歲的老人,時間是1995-96年間,地點在Utah valley, USA。兩個心血管生理指標被使用,其一是血氧飽和度,其二是心跳率。所觀察暴露物質為PM<sub>10</sub>(微粒粒徑小於10um)。結果發現PM<sub>10</sub>在暴露前一日每上升100ug/m<sup>3</sup>和心跳率上升0.78beat/min有統計上相關。進一步研究指出PM<sub>10</sub>前一日每上升100ug/m<sup>3</sup>和心跳率上升5beat/min或10beat/min的勝算比分別是1.29和1.95倍並且有統計上顯著(Pope *et al.*,1999)。

Pope等人發表於2002年研究,針對全美500000筆的死因資料和空氣污染物比對,結果發現PM<sub>10</sub>重量濃度上升10ug/m<sup>3</sup>則全死因風險上升4%,心肺死因風險上升6%,肺癌上升8%。Pope等人在2004運用同一筆族群資料分析,結果發現PM<sub>10</sub>重量濃度上升10ug/m<sup>3</sup>則鬱血性心臟病,心律不整,心衰竭,和心震顫之風險上升8%-18%不等(Pope *et al.*,2002)。

空氣污染造成的短期健康效應,最著名的是美國NMMAPS(National Morbidity, Mortality, and Air Pollution Study): Samet等人發表在2000年的研究,針對美國20個大都市的死亡率,觀察暴露物質為美國環保署公告持續監測的五大污染物,PM<sub>10</sub>, 臭氧, 二氧化氮, 二氧化硫, 一氧化碳。結果發現PM<sub>10</sub>重量濃度上升10ug/m<sup>3</sup>則全死因(total death)估算相對死亡率(estimated relative mortality)上升0.51%, 此外PM<sub>10</sub>重量濃度上升10ug/m<sup>3</sup>則心血管和呼吸道估算相對死亡率(estimated relative mortality)上升0.68%(Samet,2000)。

短期效應探討短期死亡率、住院率、急診次數、症狀惡化程度(多和呼吸道有

關)。關於短期死亡率研究，Schwartz發表在2000年的研究指出，PM<sub>10</sub>五天的動平均(moving average)重量濃度每上升10ug/m<sup>3</sup>死亡率上升1.4%，但若是看PM<sub>10</sub>四天動平均或是單天的平均值重量濃度會低估暴露造成的死亡率效應(Schwartz,2000)。

關於住院率研究，Linn等人發表在2000年的研究指出，每增加一個一氧化碳的四分位距(quartile)，因心血管疾病住院率上升4%，NO<sub>2</sub>、PM<sub>10</sub>都有同樣顯著的住院率增加，但是O<sub>3</sub>卻具有保護效應(Linn *et al.*,2000)。關於急診次數研究，Delfino等人發表在1997年研究指出每一單位的O<sub>3</sub>平均值增加，則因呼吸道急診次數上升21%，每一單位的PM<sub>10</sub>, PM<sub>2.5</sub>, 和附著在微粒上的SO<sub>4</sub>平均值增加則分別造成急診次數分別上升12%、16%、6%，健康效應相較臭氧較低。關於症狀惡化程度研究(Delfino *et al.*,1997)，Schwartz等在1994年研究指出，對象為美國六城市中1844位學童，暴露物質為PM<sub>10</sub>和PM<sub>2.5</sub>，發現PM<sub>10</sub>的增加和下呼吸道病症以及咳嗽事件都有顯著相關(Schwartz *et al.*,1994)。

短期效應除了上述的呼吸道疾病之外，也有微粒和心血管方面的研究，這些部分包含缺血性心臟病、心震顫、心衰竭。Hoek等人發表在2001年的研究指出，腦血管病變、心震顫、心肌梗塞、心衰竭，和微粒空氣污染有較高的相關性。而在微粒空氣污染和心血管死因研究中發現，這四種死因相較於總心血管死因的相對風險(relative risk)為四到五倍(Hoek *et al.*,2001)。在台灣的研究，Tsai等人發表於2003年，本研究使用因腦內出血產生的住院率當作健康效應，發現PM<sub>10</sub>和NO<sub>2</sub>上升會造成腦內出血這項健康效應的相對風險上升(Tsai *et al.*,2003)。最近的大型研究也顯示，個人疾病狀況會對微粒造成的死亡有修飾效應(modified effect)(Zeka *et al.*,2006)。

從上述的幾項研究針對心血管相關疾病造成的長期效應和短期效應進行研究，而這些研究似乎都指向心血管疾病患者相較於其他種類病患對於空氣污染或

是空氣當中的微粒，例如PM<sub>2.5</sub>或是較大尺度微粒PM<sub>10</sub>有較高的易感受性。Goldberg等人發表在2001年的研究，觀察的暴露污染物為PM<sub>2.5</sub>和硫化物，結果發現糖尿病患和呼吸疾病病患產生的死亡率和暴露污染物有高度相關性。Zanobetti等人發表在2001年研究中，針對心血管疾病患者區分為有糖尿病和無糖尿病患者，結果發現空氣中微粒濃度每上升10ug/m<sup>3</sup>有糖尿病的心血管病患的住院率為無心血管病患住院率的兩倍，此篇研究認定糖尿病為心血管疾病的修飾因子(Zanobetti *et al.*,2001)。Zanobetti等人發表在2002研究指出糖尿病與非糖尿病患者相比，有2倍的PM<sub>10</sub>微粒相關心血管疾病住院率(Zanobetti *et al.*,2002)。O'Neill等人發表在2005年研究，四種污染指標被研究分別是PM<sub>2.5</sub>、微粒數目、碳黑微粒、硫酸化合物，結果發現當這些微粒濃度上升，則糖尿病病患的血管反應下降，其中PM<sub>2.5</sub>和硫酸化合物環境濃度上升，則物理性壓迫方法血管舒張或是硝化甘油方法血管舒張能力均下降(O'Neill *et al.*,2005)，Gold等人發表2000年研究指出PM<sub>2.5</sub>濃度上升對於糖尿病患的HRV有減少的效應(Gold *et al.*,2000)。Seaton等人在1999年的文章指出，空氣污染物會造成肺部的發炎，進一步影響血液的黏滯性(viscosity)，而造成心血管疾病(Seaton *et al.*,1999)。Schwartz等人發表於2001年研究，使用美國第三次全國健康和營養調查資料庫，去比對血液中的指標和污染物的相關性，發現血液中凝血原(fibrinogen)、白血球數量(WBC)、血小板(platelet)這些和發炎及凝血相關的血液因子和PM<sub>10</sub>、碳黑微粒、硫酸化合物有顯著相關性(Schwartz,2001)。Sprager等人研究指出第二型糖尿病患者血液中的發炎指標譬如IL-6和TNF- $\alpha$ 有顯著的高出正常人數值(Schwartz,2001；Seaton *et al.*,1999; Spranger *et al.*,2003)。因此從上述幾篇文獻的回顧可以推敲，微粒造成的發炎反應，和糖尿病造成的發炎反應似乎產生共伴效應，也使得受其一影響或兩者影響的易感族群在死亡率、住院率等健康效應上較正常人有顯著的上升。

糖尿病是全世界高盛行的慢性病影響超過兩億人(Wild *et al.*,2004)，根據衛生署國民營養健康狀況變遷調查研究顯示，糖尿病盛行率已達9.2%，較前一次「三

高調查」大幅提高近3個百分點；其中尤以65歲以上男性最為嚴重，最近三次調查的糖尿病盛行率由13.1%、17.6%到28.5%。根據2007年統計，台灣地區每10萬人有44.6人死於糖尿病，在十大死因中排名第四，死亡率較5年前增加了14%；其中男性死亡率為十萬分之43.1，比5年前增加了18%；女性為十萬分之46.2，比5年前增加了10%。健保局也公布糖尿病醫療費用支出名列第五，顯見糖尿病在台灣是個急需關注的議題。

糖尿病併發症包括小血管(microvascular)及大血管(macrovascular)併發症。大血管併發症包括冠狀動脈與腦血管粥狀動脈硬化(atherosclerosis)、周邊血管疾病、中風、甚至是截肢，Creager等人2003文獻回顧提到，糖尿病會造成內皮細胞nitrogen oxide(NO)下降endothelin-1(ET-1)上升產生血管收縮無法放鬆的健康效應，此外過高的血糖和NO下降也會引發發炎物質的產生(Creager *et al.*,2003)，此外組織因子和Plasminogen阻斷因子上升會造成血栓產生進而造成粥狀動脈硬化(Creager *et al.*,2003)。小血管併發症則包括視網膜病變(retinopathy)，神經病變(neuropathy)，以及腎病變(diabetic nephropathy, DN)。糖尿病腎病變是造成末期腎病需接受腎臟透析治療的最大原因(Zimmet *et al.*,2001)，台灣也因洗腎人口快速增加，造成相當大的健保負擔，釐清微粒空氣污染與糖尿病腎病變之間的關連，並且利用他的關連減少空氣汙染在糖尿病腎病變的修飾作用，在公共衛生上有重大意義。目前微粒相關研究都以大血管病變為主，對於小血管病變較少探討，且小血管相較於大血管對於糖尿病的衝擊較無抵擋能力，這也是本實驗有興趣的地方。

## 2-2 微粒空氣汙染與心血管、糖尿病之毒理學研究

目前微粒空氣汙染物相關毒理研究主要針對心血管和糖尿病機制，毒理研究證據指出 PM<sub>10</sub> 可能會造成粥狀動脈硬化的進展，Suwa 等人發表於 2002 年研究，先天性高血脂兔作為本實驗動物模式，組織切片觀察和白血球計數兩種方法被使

用，結果發現 PM<sub>10</sub> 暴露組的系統性多核白血球的數目上升，此外 PM<sub>10</sub> 暴露組也使的粥狀性動脈硬化產生的血管損壞在觀察上更顯著，最後作者發現冠狀動脈硬化損壞程度和肺部巨噬細胞所吞噬的 PM<sub>10</sub> 數量有顯著相關性(Suwa *et al.*,2002)。

Donaldson 等人發表於 2002 的文獻回顧中使用許多毒理證據說明微粒造成心血管惡性健康效應可能機制，微粒或是過度金屬在吸入後產生氧化壓力，而氧化壓力會產生兩種子效應，一是低密度脂肪酸氧化，進而產生粥狀脂肪斑塊，而這些斑塊的剝離是造成缺血性心血管疾病的主因；二是氧化壓力產生 NF- $\kappa$ B，進而刺激肝臟產生 CRP，CRP 也會影響粥狀脂肪斑塊的產生；除了刺激 CRP 產生，肝臟也會在氧化壓力的影響下促進凝血現象，凝血現象容易增高血液黏滯性等，進一步造成血管阻塞的現象；而氧化壓力也會造成發炎反應，發炎反應會造成更多的氧化壓力，因此形成互相促進的關係(Donaldson *et al.*,2001)。而以上的影響最終可能導致缺血性心臟病、惡性心室心律不整、增加血塊剝離機會、增加因急性栓塞引起的冠心病症狀。Sirivelu 等人研究，使用卵巢白蛋白(OVAs)引發呼吸道過敏大鼠，此大鼠暴露於濃縮大氣微粒(CAPs)，結果發現在吸入 CAPs 這組或是單卵巢白蛋白所引發呼吸道過敏大鼠下視丘室旁核(PVN)均顯著的產生腎上腺素，甚至大鼠血漿中的可體松也顯著上升，作者認為 CAPs 影響了神經系統(Sirivelu *et al.*,2006)。

Gurgueira 等人研究，SD 大鼠被使用，將其暴露於 CAPs 和控制組做對照，發現暴露組的心臟和肺臟有較高的氧化壓力(Gurgueira *et al.*,2002)，雷等人研究也指出，暴露於濃縮大氣微粒之下，大鼠呼吸次數下降，潮氣量增加，在 Methacholine 的作用下，老鼠搏動產生變化，結論為在 CAPs 的影響下會增加呼吸系統的過敏程度(Lei *et al.*,2004)。而鄭等人研究指出大鼠暴露 CAPs 在心血管方面會造成心跳、血壓改變(Chang *et al.*,2005; Cheng *et al.*,2003)。鄭等人研究指出，將自發性高血壓大鼠暴露於 CAPs 五小時候，大鼠的 RMSSD 從原本下降 15%變成下降 60%，此研究證實 CAPs 會改變自發性高血壓大鼠的心跳變異性(Chang *et al.*,2005)。Nadziejko 等人所做的動物實驗證實，在暴露 CAPs 四小時後，實驗動物和暴露前的自己比較

發現，delayed beat 有顯著的增加，結論認為 CAPs 會造成心律的異常(Nadziejko *et al.*,2004)，Wellenius 等人使用狗做為實驗動物，在暴露 CAPs 五小時後，發現實驗狗缺血性心臟病情況惡化，作者認為大氣微粒是造成急性缺血性心臟病的原因之一(Wellenius *et al.*,2003)。

微粒在動物毒理的研究多半是關注心血管方面的效應，然而糖尿病也是微粒的易感受因子之一。Sun等人在2005研究中，使用ApoE基因剔除小鼠，這種先天性基因缺陷小鼠是以C57BL/6J為背景發展的品系，此基因剔除小鼠對於體內脂肪酸的運輸和儲存能力下降，造成過多的游離脂肪酸存在循環系統中，因此易造成粥狀動脈硬化；暴露濃縮大氣微粒六個月後，將暴露組與過濾空氣組(filtered air)相比，結果發現主大動脈組織切片染色暴露組都較實驗組的粥狀動脈硬化程度較多，此外發炎反應也較劇烈，因為較多的巨噬細胞出沒；在測試主大動脈的收縮程度也發現暴露組的收縮程度較劇烈，但放鬆程度下降，本實驗的其他結果也顯示，暴露在PM<sub>2.5</sub>的環境下會造成主大動脈的氧化壓力上升，結論認為長期低濃度的PM<sub>2.5</sub>微粒暴露，大動脈在某種程度，因為上皮細胞受損造成血管收縮放鬆能力出現異常 (Sun *et al.*, 2005)。在這個研究中，微粒加速動脈大血管壁粥狀硬化的效應，可能可以用內皮細胞異常來解釋。過去的研究也指出，微粒會在健康成人造成急性動脈收縮(Brook *et al.*, 2002)。Sun等人發表在2009研究，使用C57BL/6J小鼠動物模式，此一動物模式被認為是從事和新陳代謝相關研究較好的選擇；本研究探討的污染源為CAPs，將小鼠暴露24週後進行犧牲，本實驗的結果發現，實驗動物出現全身性的胰島素阻抗現象，系統性的發炎現象，腹部脂肪肥大；此外，進一步測量內皮細胞對於胰島素的敏感度，結果發現胰島素訊息傳遞鏈出現對胰島素的阻抗現象(Sun *et al.*,2009)。

微粒對於心臟及大血管病變效應的機轉研究，目前已經受到重視。可能的機轉包括自律神經系統，或是對心肌的直接毒性(Brook *et al.*,2004)。另外的假說包



括，微粒在易感族群引起肺部發炎，進一步造成系統性發炎，而增加心臟及大血管病變疾病風險(Seaton *et al.*,1995)。原因可能是由於血液高凝固狀態，或是因為動脈粥狀硬化斑塊的形成和不穩定(Brook *et al.*,2004)。然而目前微粒對於血管病變的研究多集中在大血管，微粒對小血管病變之效應及機轉尚不清楚，我們最近的研究發現，微粒會造成糖尿病大鼠腎臟病理的變化，值得進一步研究。本研究將比較微粒對健康大鼠與糖尿病大鼠腎病變之效應，探討糖尿病是否對微粒相關小血管病變具有易感性。

## 2-3 糖尿病之病理生理學

糖尿病的高血糖使 (1)polyol路徑強化(2)hexosamine路徑的活性增加(3)protein kinase C的活化和(4)advance glycation endproduct大量產生等四條路徑造成心血管傷害。Polyol路徑的強化，肇因葡萄糖大量出現在循環系統中且不被儲存，造成酒精還原酶大量使用NADPH去轉化葡萄糖為sorbital，NADPH在體內是擔任以氧化Glutathione的還原劑，Glutathione是體內重要的還原物質如此體內的氧化壓力變無法移除。Hexosamine路徑的增強會造成發炎物質PA-1和TGF- $\beta$ 的產生。PKC的活化會造成一連串加重糖尿病事件產生如: NO下降ET-1上升，造成內皮細胞異常，TGF- $\beta$ 發炎物質的產生。最後advanced glycated end products (AGE)的大量產生會造成氧化壓力的產生，進一步產生NF- $\kappa$ B為發炎前驅物(Brownlee,2001)。高血糖只能解釋部分大血管病變，研究顯示除了高血糖的影響下，胰島素抵抗也會造成大血管病變，Hanley等人針對胰島素抵抗是否會增加罹患心血管疾病研究，透過游離脂肪酸的釋放，跟高血糖一樣引發氧化壓力的增加，過去許多報告指出胰島素抵抗之族群使用LDL、HDL、收縮壓、三酸甘油酯這些因子校正後，發現胰島素抵抗為增加心血管疾病風險因子，Du等人研究中，使用細胞實驗和動物實驗證明以下機制：游離脂肪酸會造成組織氧化壓力上升，游離脂肪酸也會造成胰島素抵抗現

象，作用和高血糖一樣，結論為高血脂會同時導致粥狀動脈硬化甚至心臟病以及胰島素阻抗引發第二型糖尿病(Du *et al.*,2006; Hanley *et al.*,2002)。Hannes等人所做研究指出三點，第一點游離脂肪酸增多確實與肥胖個體有顯著相關，第二在食用抗游離血脂藥物Enalapril (angiotensin converting enzyme inhibitor)確實可以降低因胰島素阻抗現象而不彰的脂肪代謝現象。第三點在胰島素作用下脂肪氧化作用被抑止的現象在肥胖個體非常明顯。另外內皮細胞上的訊息傳遞鏈失調也是造成胰島素阻抗以及接下來糖尿病病程發展的重要原因，De Vriese等人的文獻回顧中，提到藉由上皮細胞分泌的血管舒張素如NO以及ET-1，這些體內化學物質的異常都會導致身體新陳代謝的異常。第二型糖尿病可能較第一型糖尿病有較高的大血管病變風險，高血糖，游離脂肪酸以及胰島素阻抗都會在內皮細胞造成傷害，包括氧化壓力增加，訊息傳遞的混亂以及糖化氧化基分子受體(RAGE)的活化(De Vriese *et al.*,2000; Hennes *et al.*,1996)。

糖尿病本身不會造成直接死亡率，但易伴隨其他併發症，常見造成高死亡率之併發症為心血管疾病，而氧化壓力被認為可能是造成糖尿病發生，以及糖尿病併發症的重要角色(Giugliano *et al.*,1996)。體內的高血糖、高血脂情況會導致大分子例如蛋白質醣化和葡萄糖自動氧化(glucose auto-oxidation)及脂質過氧化(lipid peroxidation)，而這些過度的氧化會造成體內產生許多自由基，這些自由基會進一步傷害大小血管上的上皮細胞(Baynes,1991)，而氧化壓力本身自由基的身分會去產生更多的自由基，此外氧化壓力會使內皮功能失常，造成血管傾向收縮，另一方面發炎反應增，會引來巨噬細胞而造成更強烈的發炎反應，加速血栓形成使得動脈容易形成粥狀動脈硬化，而粥狀動脈硬化是造成心肌梗塞、多種腦血管疾病等的主要病因。

高血糖和過多游離脂肪酸的釋放和胰島素阻上現象，這些造成上皮細胞產生負面的健康效應。同時也產生氧化壓力，擾亂細胞內的訊息傳遞，和活化 AGE 產

物的受器(De Vriese *et al.*,2000)。氧化壓力會作用在許多器官上包括血管，造成糖尿病發生或是心血管疾病(Giugliano *et al.*,1996)。氧化壓力肇因體內在產生和清除之間失去平衡，糖尿病本身因為蛋白質的醣化現象以及過多的葡萄糖進行代謝產生自由基，甚至進一步高糖、高脂飲食，使體內產生過多的游離脂肪酸，在代謝過程中就產生了自由基(Baynes,1991)。這些現象都無形的增加了氧化壓力，而氧化壓力因此去損害內皮細胞功能、導致血管收縮、增加發炎現象、增加血栓風險，這些可能機制也同時引發粥狀動脈硬化(Bell *et al.*,1983)。

糖尿病患通常也同時有內皮細胞功能異常之現象，包含了過度或是過少的施放體內所需物質，改變了膜的屏障，降低抵抗血栓產生的功能。而損壞的內皮細胞功能導致其底下的肌肉細胞產生分化，而這樣一來血管的結構會因此而產生改變，粥狀動脈硬化風險因此大增。

內皮細胞所施放的物質當中最重要物質為 NO，本身是血管放鬆因子，此外可抑止血小板活動防止血栓形成，其藉著阻止巨噬細胞登入內皮細胞表面以及滲入其底層的肌肉組織進而限制了發炎反應。不論是第一型或第二型糖尿病患者都有內皮細胞受損和 NO 施放異常的病理現象。因此 NO 的降低施放可能對粥狀動脈硬化貢獻很大。除了 NO 和他結抗的 ET-1 也會因為內皮細胞之受損而異常施放，ET-1 會造成血管收縮，除了血管收縮外他也會造成發炎，可以促使血管平滑肌收縮以及增生。NO 降低和 ET-1 增加會導致血管收縮、肌肉增生，最後可能產生粥狀動脈硬化。

糖尿病會產生以及增強發炎反應，發炎活性增加導致上皮細胞異常進而增高粥狀動脈血栓形成的風險。而氧化壓力會導致和發炎相關的轉錄因子NF- $\kappa$ B，而NF- $\kappa$ B會導致TNF- $\alpha$ 產生，進而產生IL-6等發炎物質，此外也會產生activator protein (AP-1)而引發發炎物質，並且加強leukocyte attracting chemokines的表現。C-reactive protein (CRP)，interleukin-6 (IL-6)和tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )在糖尿病患者都會增加(Spranger *et al.*,2003)。

## 2-4 糖尿病造成之慢性腎病變

糖尿病腎病變是西方國家中末期腎臟病的頭號原因，在台灣因為糖尿病盛行率上升，加上醫療發達因而延長了病患的壽命，糖尿病腎病變的也越來越多，甚至有追上慢性腎絲球腎炎，而成爲末期腎臟病最主要的病因。糖尿病併發腎病變之後，病人的死亡率遠大於未併發腎病變的病人，其中最主要的死因是心臟血管疾病。即使是進入末期腎臟病，糖尿病病人之預後也遠比其他非糖尿病末期腎臟病人爲差。這些種種皆形成沉重的醫療與社會負擔，顧了解病預防期發生成爲今日醫學的重要課題。

糖尿病腎病變之演變，以第一型糖尿病的情形研究的較清楚，其病程的進展較有規律性，依循時間有固定階段性的變化。至於第二型糖尿病，因確實發病時間常無法確定且病患本身常有許多其他病症，糖尿病腎病變的病程研究就相對的匱乏。不過一班的看法認爲第一型與第二型糖尿病腎病變的變化進程大致是類似的。以第一型糖尿病爲例，腎病變分爲以下五個階段：

第一階段，糖尿病剛發病時，此時腎絲球過濾率(GFR)較同年齡正常人上升20-40%，腎臟血流(renal plasma flow)上升9-14%，這就是所謂的高過濾現象(hyperfiltration)。在顯微構造下，可發現腎絲球肥厚(hypertrophy)、腎小管及間質(interstitium)增生，腎臟體積變大。此時變化均爲可逆，若控制好血糖可讓上述變化回復至正常。

第二階段，對第一型糖尿病而言，發病一年半至兩年半後幾乎所有病人均進入此一階段。生理變化同上，檢測尿液中白蛋白含量也正常(<30mg/day)，但在病理上已出現腎絲球基底膜變厚及間質(mesengium)增加之變化，一般此階段維持約5-15年。在此階段，控制好血糖仍可讓高過濾現象(hyperfiltration)改善，避免腎功

能進一步惡化。

第三階段，此階段稱為微量蛋白尿(microalbuminuria)階段，尿中白蛋白為30-300mg/24hr，此時用一般的驗尿試紙檢測仍為陰性反應，唯有收集尿液做定量分析方能得之。之前所述的病理變化持續加重，一般進行至此階段，糖尿病已有6至15年以上病史。

第四階段，此階段稱為明確腎病變(overt nephropathy)階段，用一般驗尿試紙即可檢出蛋白尿，此時的尿中白蛋白大於300mg/24hr(相當於尿中總蛋白量500mg/24hr)。進行至此階段，糖尿病已有15至18年之病史。由此階段起，腎絲球過濾率(GFR)約以每年10ml/min之速度下降。

第五階段，末期腎病變(end stage renal disease)。第四階段經過七年或糖尿病發病25年以上，即進入末期腎臟病而需要透析治療。

## 2-5 腎功能異常指標

### Microalbumin

尿液中的蛋白質包括以下幾種：白蛋白(albumin)，大約有20%；其它的成分還有亨利氏管上皮細胞所分泌的 Tamm-Horsfall mucoprotein 和一些免疫球蛋白輕鏈(immunoglobulin light chain)及  $\beta$ 2-microglobulin 所組成。

腎絲球的過濾增加主要是因為腎絲球的通透性(permeability)改變所造成的。正常的腎絲球血管屏障會限制分子量較大的陰離子像 albumin 的濾過。物質要通過腎絲球血管屏障主要取決於過濾物的 size 和 charge 來決定。高血糖及腎絲球腎炎會造成 large pores 的數目上升及腎絲球血管屏障上的 heparan sulfate (charge barrier 的主要成分，是一種 polyanion)減少，而造成通透性的改變，在這樣的改變之下，白蛋白就會藉由腎絲球體進入腎小管，因此就可以在患者的尿液中測得不正常濃度

的白蛋白。

### $\beta$ 2-microglobulin

正常情況下，一些較小的蛋白質像  $\beta$ 2-microglobulin，免疫球蛋白輕鏈及氨基酸會通過腎絲球血管屏障。這些物質會在近端腎小管被重吸收。在腎小管疾病與腎臟間質性疾病時，重吸收會出現障礙，而造成蛋白質的流失。這一類的蛋白質流失量會比腎絲球過濾率增加所造成的蛋白尿輕微。

### Creatinine clearance (Ccr)

Ccr 此試驗廣泛地被用來當作是替代評估腎小球過濾率(GFR)的方法，理論上，此試驗的結果是可信賴的，但常常會因為尿液的收集不完全而影響到結果。肌氨酸酐清除率的計算是藉由測量尿中肌氨酸酐的濃度(Ucr[mg/dL])、血漿或血清中肌氨酸酐的濃度(Pcr [mg/dL])，和尿流量的速率(V[ml/dL])，增加的情況發生於：高心輸出量、運動、肢端肥大症、糖尿病(早期)、感染、甲狀腺功能低下症。降低的情況發生於：急性或慢性腎衰竭、腎血流量降低(休克、出血、脫水、充血性心臟衰竭)。

### KIM-1

腎臟受損分子在健康腎臟是偵測不到，他本身是跨膜蛋白質，在細胞受損時會釋出，在近端腎小管產生毒害或是缺氧時，這個蛋白質就會釋出於尿液中，他被認為是早期腎小管產生傷害所代表的生理指標。

### Smad 1

Smad 1 是 collagen 4 的轉錄因子，當腎絲球體發生病變時，便發大量產生，進而去控制 collagen 4 的轉錄、轉譯造成基底膜的增厚，被認為是一個新興的腎功能指標可以更精確預測第一階段和第二階段的腎病變(Toshio Doi 2008)。

### 2-6 第一型糖尿病疾病動物模式

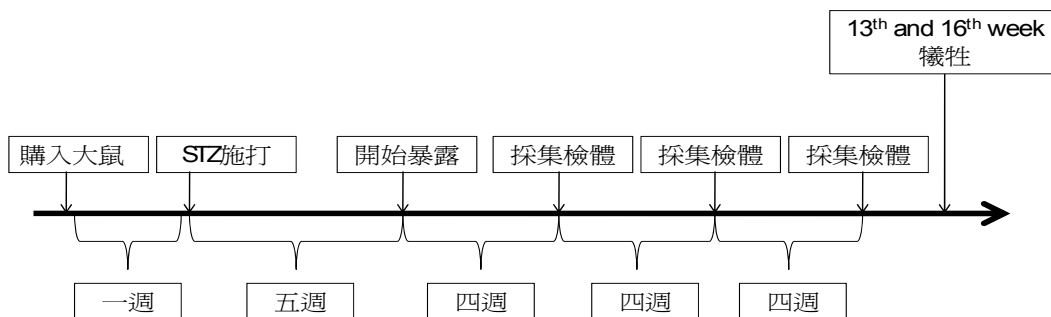
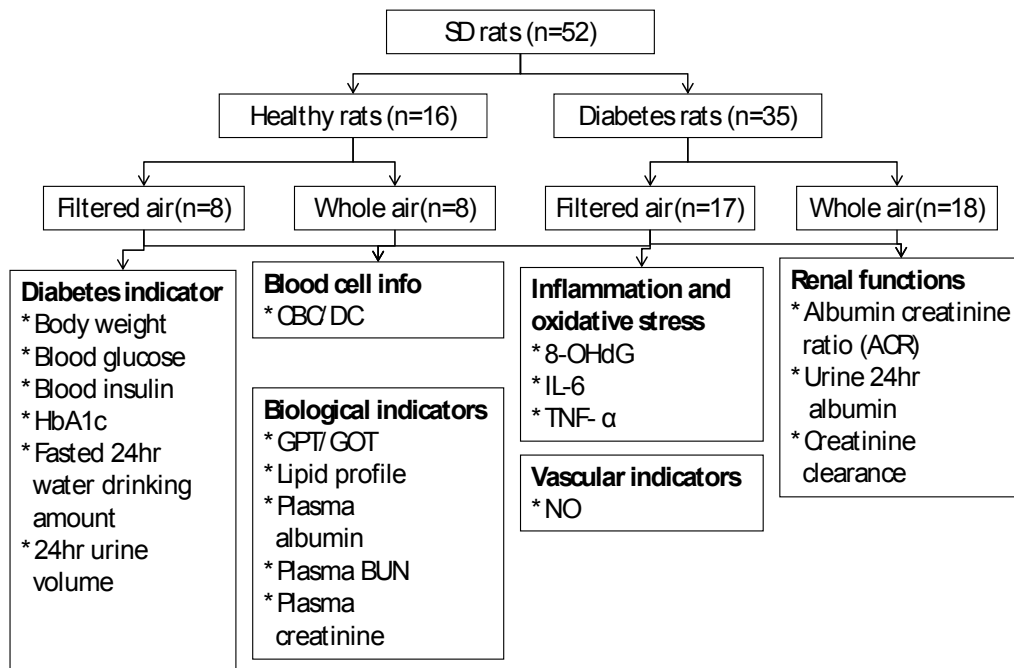
Streptozotocin 是土壤微生物 *Streptomyces Achromogenes* 的代謝物，於 1963 年第

一次使用於糖尿病之動物毒理研究(Bell *et al.*,1983)。Streptozotocin 會直接作用在胰島組織的 beta 細胞上產生毒害，主要的功能：結構類似葡萄糖，會替代葡萄糖接應到胰島組織表面的 Beta 細胞的細胞膜，使 Beta 細胞無法傳遞分泌胰島素的訊息，此外此毒素會破壞 Beta 細胞的細胞膜造成其功能喪失，Bell 等人關於糖尿病大鼠動物模式建議施打 STZ 劑量為 65mg/kg body weight，然後約莫維持 6 個星期，模式生物的血糖即有恢復現象，使用 Streptozotocin 誘發之糖尿病大鼠被發現 Glutathione 在紅血球細胞和胰島細胞數量減少現象，他也同時抑止了 SOD，此活性酶為清除體內自由基，在施打高劑量的 Streptozotocin 的 10-12 小時之後，大鼠體內的血糖會升高，緊接著大鼠的血糖會維持在 300mg/dL 或是更高，但血糖會在六個月後下降，研究也發現在施打 Streptozotocin 十二周後，大鼠的血壓和心律會有顯著下降。這個動物模式已經被使用在各種糖尿病病理之研究並且行之數年。



### 三、研究方法

#### 3-1 實驗設計流程





## 3-2 實驗動物

### 3-2-1 實驗動物飼養條件

本實驗嚴格控制之溫度( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ )、溼度、通風及12小時光照週期切換，充分供給乾淨之飼料及飲水，每日換墊料及清理排泄物，並每日檢視動物外觀皮毛，行為及活動，測量體重，實驗須收集尿液時改換置於專用代謝籠，並記錄其尿量。

### 3-2-2 第一型糖尿病大鼠誘發

第一型糖尿病大鼠，使用7週大雄性Sprague-Dawley (SD rats)大鼠(樂斯科生物科技股份有限公司)，在大鼠8週大時，靜脈注射55mg/kg-body weight劑量的Streptozotocin(STZ, Sigma, St Louis, MO, USA)，將大鼠誘導成第一型糖尿病大鼠動物，於暴露前一周監測血糖，血糖高於300mg/dL為誘導成功。40隻糖尿病大鼠於施打STZ後有4隻死亡，1隻於暴露後第11週死亡，1隻未達標準遭淘汰，失敗率為15%。

## 3-3 測量方法

### 3-3-1 常規測量

大鼠在暴露前以及之後的奇數週均有測量其體重變化，此外每次收集尿液同時均統計其飲水量以及尿液量。每組動物均於暴露前，開始暴露後第4，8，12，16周，分別置於由專用代謝籠中，經禁食但飲水不受限制的清醒情況下，收取24

小時尿液，所取得的尿液檢體於2500rpm離心十分鐘去除雜質後，進行以下分析。取5ml尿液，利用全自動分析儀，進行尿液常規檢查(Urine routine)。尿液常規檢測包含尿液白蛋白和尿液肌肝酸，尿中白蛋白肌肝酸比值(ACR)即為上述二者之比值。而此外我們將尿中白蛋白濃度乘上總尿液量得到尿中白蛋白待24小時內總白蛋白量。在尿液收集完畢後，由實驗大鼠尾部採血，使用羅氏快速血糖儀測空腹血糖值(Accu-Check；Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)。

### 3-3-2 大鼠犧牲、抽血、臟器組織處理

本實驗是選擇暴露結束的時間點是根據大鼠的健康狀況決定，體重過度減輕、以及表現出外表可視之痛苦狀態，即結束我們的暴露實驗，暴露終止時間是定在16週，但在13週時有部分老鼠體重過輕，本實驗室擔心因此會產生死亡率因此在13週為亞慢性實驗的最低需求時間點犧牲一批，我們在這個時間點選擇體重過輕的糖尿病大鼠16隻(暴露組8隻，控制組8隻)以及做對照的健康大鼠4隻(暴露組2隻，控制組2隻)，而剩下之大鼠則在計畫的16週這個時間點進行犧牲，會選擇16週乃是考慮到大鼠體重過輕可能會造成死亡率。暴露結束後馬上以腹腔方式給予大鼠55mg/kg劑量pentobarbital，待昏迷後剪開其腹腔，抽腹主動脈血液，2ml置於含有EDTA的採血管中送至台大動物中心測CBC/DC(Medonic CA620, Sweden)，剩餘一半血液樣本未含EDTA採血管在4 °C靜置兩小時後，3500rpm離心10分鐘，取上清液冰入-80°C冰箱中此為血清部分。另一半血液樣本放入含有EDTA採血管當充分搖晃均勻，避免凝血現象，一樣3500rpm離心10分鐘，取上清液此為血漿，取血漿送至台大實驗動物中心實驗室，使用乾式生化儀分析血液中Creatinine、GPT/GOT、BUN、creatinine、albumin、glucose、lipid profile (Arkray SP4410, Japan)。其餘血漿和血清以200µl為單位分裝於ependorf中並保存於-80 °C冰箱中。Fibrinogen使用專門採血管採血，送至嘉義基督教醫院檢驗科進行分析。HbA1c送至國泰醫院檢驗

科生化組進行檢測，使用HPLC高效率液相層析儀去檢測(Bio-Rad, USA)HbA1c。其他IL-6(R&D, USA)、TNF- $\alpha$ (R&D, USA)、NO(R&D, USA)和Insulin(Mercodia, USA)利用血清以及ELISA去定量分析。此外檢測尿中8-OHdG送至吳焜裕老師實驗室協助分析，使用UPLC-MS/MS(Thermo TSQ Quantum Access, USA)

乾式生化儀其原理乃是利用試紙吸附樣本，再透過不同波長的可見光去照射試紙，利用不同受測物質在試紙上光吸收的程度不同，去分析待測物質的濃度。高效率層析分離法(HPLC)是分析化學中極重要的一種分析方法，主要是藉由流動相將待測樣品帶入層析分離管，再藉由樣品中各個成分與分離管中的填充物表面的靜止相之親和力或作用力的不同，而依序先後流出分離管，此時，若連接一適當的偵測器，則每一成分在流出分離管後流經偵測器時，都可分別得到一偵測信號。由每一信號出現的時間(即滯留時間)之不同，可做為定性判定是何種成分物之依據，而信號的大小則可做為定量測定含量之依據。酵素連結免疫吸附分(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)，可以測定抗原或抗體。酵素連結免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)的原理是依據螢光抗體方法發展出來的，它是將酵素連接到抗原或抗體分子上來偵測抗原抗體反應，最後加上酵素的受質，依其呈色強弱來表示。

組織和器官於採血後即剪下，用PBS浸洗，以下方式儲存：

器官	處理	器官	處理
腎臟	福馬林 冰上 電顯液 -80 °C	肺臟	福馬林 冰上 -80°C
心臟	福馬林 冰上 電顯液 -80 °C	肝臟	福馬林 冰上 -80°C

腹主動脈	福馬林 冰上 電顯液 -80°C	大腸	-80°C
眼球	福馬林 -80°C	肌肉	福馬林 冰上 -80°C
大腦	福馬林 冰上 -80°C	睪丸	福馬林 -80°C

檢體的部分有四種處理方式，依照儲存方式將檢體等分，一部分放入福馬林作之後組織包埋使用，一部分放置冰上做冷凍包埋使用，以及泡入電顯液做電顯用切片，最後部分放入-80°C冰箱中。

### 3-4 微粒暴露和監測

本研究使用 IVC 系統(Individually ventilated cage system; Tecniplast Inc., Exton, PA)，執行大氣微粒之動物暴露實驗，可直接將大氣及其微粒(Whole air, WA)引入暴露腔中供實驗動物吸入(Inhalation study)。IVC 系統設置於台灣大學公衛學院九樓暴露實驗室，由窗邊直接引入大氣，經過一條引流管(口徑 10 公分、長度 7.5 公尺)後進入空氣處理器，處理器出口端分支成四條獨立的不鏽鋼導管，大氣最終經由這些不鏽鋼導管進入各暴露腔中。對照組暴露腔的入口空氣閥前端加裝高效能濾網(High-Efficiency Particulate Air, HEPA)過濾裝置，以濾除大氣中之空氣微粒污染物，使對照組大鼠呼吸的為過濾空氣(Filtered air, FA)。空氣處理單元將大氣總抽氣流量控制在  $79 \pm 1 \text{ m}^3/\text{h}$  範圍內，同時監測各暴露腔的氣流流量，各暴露腔入口端的空氣閥(Air valve)調控腔內空氣擴散呈穩定低速( $< 0.15 \text{ m/s}$ )狀態。

動物暴露期間，暴露腔將使用微粒濃度監測器(model 1.108; Grimm Labortechnik Ltd., Ainring, Germany)進行質量濃度連續監測。本實驗將一台微粒監

測器放入隨機選取的一個暴露腔中，監測器每一分鐘紀錄一筆微粒平均濃度值，微粒粒徑監測範圍為  $<10$ 、 $<2.5$  及  $<1 \mu\text{m}$  三種粒徑( $\text{PM}_{10}$ 、 $\text{PM}_{2.5}$  及  $\text{PM}_{1.0}$ )。而監測時間由 2009 年 12 月 21 日到 2010 年 4 月 9 日共 16 週，該微粒監測器可同時進行濾紙採樣，所收集之濾紙樣本將進行微粒成分分析。除此之外我們也使用公衛大樓四周鄰近的三個測站(古亭、萬華、中山)，將這些測站在 2009 年 12 月 21 日到 2010 年 4 月 9 日共 16 週的  $\text{PM}_{10}$  和  $\text{PM}_{2.5}$  濃度資料平均起來，得到一平均值代表環境微粒濃度資料。

### 3-5 統計方法

本研究以 SPSS 17.0 for window evaluation version 版統計軟體，進行暴露組與控制組，和健康大鼠及糖尿病大鼠在各項生理指標、腎功能指標、發炎指標的分析，實驗數據以平均值加減標準差 ( $\text{mean} \pm \text{SE}$ ) 表示。不同組間(控制組與暴露組以及糖尿病組與健康組)使用 Mann-Whitney test 檢定，同一組不同時間點使用 Wincoxon matched paired test 檢定，此兩種檢定均為無母數統計檢定，無母數統計針對樣本數目小且不符合常態分布的族群所使用， $\text{P-value} < 0.05$  視為有統計上顯著差異。

## 四、結果

### 4-1 暴露資料

本次暴露時程為 2009/12/22 至 2010/4/9 共計 16 週，本次實驗暴露資料如下：  
PM<sub>10</sub> 為 13.68±11.76 µg/m<sup>3</sup>, PM<sub>2.5</sub> 是 13.65±11.75 µg/m<sup>3</sup> 而 PM<sub>1</sub> 為 12.99±11.15 µg/m<sup>3</sup>。

### 4-2 體重

健康大鼠控制組和暴露組在暴露大氣微粒前測重分別為 424.4±28g 和 408.1±29.1g，在經過 13 週後體重變為 540±30g 和 577.5±43.8g，體重顯著增加 (P<0.01)。糖尿病大鼠控制組和暴露組在暴露大氣微粒前測重分別為 269.2±34.3g 和 264.4±31.8g，在經過 13 週後體重變為 300.0±45.6g 和 292.5±35.6g 顯著的增加 (p<0.05)。健康大鼠的控制組和暴露組在整個實驗過程中體重變化都沒有差異，糖尿病大鼠也是一樣，然而健康大鼠和糖尿病大鼠體重間有顯著差異(P<0.01)(圖 1)。

### 4-3 24-hr飲水量

本次實驗每四個禮拜收集尿液時會測量一次大鼠的飲水量，此喝水量是在禁食情況下測量。健康大鼠控制組在第四週測量的飲水量 16.8±10.0ml 到了第十二週降至 7.9±4.5ml，健康大鼠暴露組在第四週飲水量為 20.4±2.3ml 至第十二週降至 5.3±4.7ml。糖尿病大鼠控制組在第四週飲水量為 14.1±8.7ml 到第十二週升至 20.2±8.6ml，糖尿病大鼠暴露組第四週為 17.7±12.5ml 至第十二週升至 30.2±18.8ml。健康大鼠飲水量和糖尿病大鼠飲水量每周各組間沒有差異，健康大鼠控制組和暴露組之間沒有差異，糖尿病大鼠於第十二週飲水量暴露組高於控制組且具有統計上差異(P<0.05)，第四和第八周沒有差異性(圖 3,表 2)。

#### 4-4 血糖

健康大鼠控制組和暴露組於第四週為  $93.0 \pm 5.4 \text{mg/dL}$  和  $96.4 \pm 15.6 \text{mg/dL}$ ，到了第十二週則為  $95.1 \pm 6.1 \text{mg/dL}$  和  $93.0 \pm 7.8 \text{mg/dL}$ ，前後週沒有變化。糖尿病大鼠控制組和暴露組於第四週為  $436.3 \pm 73.8 \text{mg/dL}$  和  $432.0 \pm 65.0 \text{mg/dL}$  至第十二週為  $391.1 \pm 80.7 \text{mg/dL}$  和  $359.6 \pm 82.5 \text{mg/dL}$ 。控制組和暴露組於第四週和第十二週比較，血糖均顯著的下降( $P < 0.05$ )。健康大鼠和糖尿病大鼠各週各組比較，糖尿病各組較健康大鼠各組血糖有顯著的差異，而健康大鼠或糖尿病大鼠暴露組或控制組彼此比較則沒有差異性(圖 4,表 3)。

#### 4-5 24-hr尿量

健康大鼠控制組和暴露組 24-hr 尿量在暴露前分別為  $27.3 \pm 14.8 \text{ml}$  和  $19.4 \pm 7.4 \text{ml}$ ，在第十二週分別為  $17.8 \pm 11.6 \text{ml}$  和  $17.6 \pm 2.8 \text{ml}$ ，有減少的趨勢但沒有統計上的顯著。糖尿病大鼠控制和暴露組暴露前分別為  $40.5 \pm 11.1 \text{ml}$  和  $38.9 \pm 17.7 \text{ml}$ ，糖尿病大鼠在實驗前和第十二週尿液量都沒有差異。健康大鼠和糖尿病大鼠相較尿液有顯著性的較少( $P < 0.1$ )(圖 5,表 4)。

#### 4-6 Albumin creatinine ratio (ACR)

健康大鼠控制組和暴露組白蛋白肌酐酸比值(ACR)變化在暴露前分別為  $16.2 \pm 10.0 \text{mg/g}$  和  $11.2 \pm 2.7 \text{mg/g}$ ，在經過十二個禮拜後白蛋白肌酐酸比值(ACR)變為  $46.4 \pm 56.8 \text{mg/g}$  和  $32.9 \pm 30.0 \text{mg/g}$ ，有增加的趨勢，控制組沒有顯著上改變，暴露組有顯著上改變( $p < 0.05$ )。糖尿病大鼠控制組和暴露組暴露前測量值為  $109.3 \pm 173.0 \text{mg/g}$  和  $79.1 \pm 80.9 \text{mg/g}$ ，經過十二周後糖尿病大鼠控制組和暴露組測量值為  $169.0 \pm 120.2 \text{mg/g}$  和  $267.7 \pm 433.2 \text{mg/g}$ ，兩組均有增加趨勢且均具有統計上的顯著( $P < 0.05$ )。健康大鼠控制組和暴露組相互比較，在各週的測量值都沒有差異

性，而糖尿病大鼠控制組和暴露組在各週的測量值，暴露組有高於控制組趨勢但為達統計上顯著。而糖尿病大鼠兩組測量值均高於健康大鼠測量值且達統計上顯著( $P<0.05$ )(圖 6,表 5)。

#### 4-7 24-hr total albumin

健康大鼠控制組和暴露組變化在暴露前分別為  $2.1\pm 1.8\text{mg/day}$  和  $1.1\pm 0.3\text{mg/day}$ ，在經過十二個禮拜後變為  $9.2\pm 12.5\text{mg/day}$  和  $4.9\pm 3.9\text{mg/day}$ ，有增加的趨勢，控制組沒有顯著上改變，暴露組有顯著上改變( $p<0.05$ )。糖尿病大鼠控制組和暴露組暴露前測量值為  $5.3\pm 5.5\text{mg/day}$  和  $4.4\pm 2.5\text{mg/day}$ ，經過十二周後糖尿病大鼠控制組和暴露組測量值為  $8.1\pm 5.3\text{mg/day}$  和  $13.5\pm 20.4\text{mg/day}$ ，兩組均有增加趨勢且均具有統計上的顯著( $P<0.05$ )。健康大鼠控制組和暴露組相互比較，在各週的測量值都沒有差異性，而糖尿病大鼠控制組和暴露組在各週的測量值，暴露組有高於控制組趨勢但未達統計上顯著。而糖尿病大鼠兩組測量值均高於健康大鼠測量值且達統計上顯著( $P<0.05$ )(圖 7,表 6)。

#### 4-8 Cell blood count/ differentiated cell (CBC/DC)

CBC/DC 分成四大部分，紅血球、血小板、血紅蛋白和白血球。紅血球部分(圖 8,表 7)，在數量濃度上糖尿病控制組和暴露組均低於健康大鼠控制組和暴露組且達到統計上顯著( $7.8\pm 0.7$  vs.  $8.3\pm 4.5 \times 10^6/\text{mm}^3$  and  $7.7\pm 0.8$  vs.  $8.3\pm 4.3 \times 10^6/\text{mm}^3$ ,  $p<0.05$ )。但是健康大鼠控制組和暴露組比較沒有統計上顯著差異，同樣情況也在糖尿病大鼠上觀察到。平均血球容積(MCV)顯示，糖尿病大鼠控制組和健康大鼠控制組之間有顯著差異( $51.0\pm 2.2$  vs.  $48.9\pm 26.2\mu\text{m}^3$ ,  $p<0.05$ )，但是糖尿病暴露組和健康大鼠暴露組之間沒有顯著差異。健康大鼠控制組和暴露組之間也沒有顯著差異，這樣的情況在糖尿病大鼠上面也是一樣。在紅血球寬度(RDW)指標中，糖尿病大鼠控制組和健康大鼠控制組有顯著差異( $37.8\pm 2.5$  vs.  $34.5\pm 18.5\mu\text{m}^3$ ,  $p<0.05$ )，但



是這樣的現象在糖尿病暴露組以及控制組間沒有看到，不論健康大鼠或是糖尿病大鼠在其暴露組和控制組之間都沒有看到差異性。紅血球血容比(HCT)為紅血球佔總血液的體積百分比，若是短少代表貧血，本實驗中糖尿病大鼠暴露組和健康大鼠暴露組有顯著的差異( $40.0\pm 3.7$  vs.  $40.7\pm 21.8$ ,  $p<0.05$ )，在糖尿病控制組和健康大鼠控制組沒有看到差異性。不論健康大鼠或糖尿病大鼠在暴露組和控制組之間均沒有差異性。血紅蛋白在糖尿病暴露組以及健康大鼠暴露組之間有顯著較低( $13.8\pm 1.0$  vs.  $15.2\pm 7.9$  g/dl)，在健康大鼠控制組和糖尿病大鼠控制組之間沒有差異性，健康大鼠和糖尿病大鼠之間無論控制組或是暴露組沒有差異性。血紅蛋白的大小(MCH)四組均沒有差異性。平均血紅蛋白濃度(MCHC)在四組也沒有差異性。

第二部分是血小板部分(圖 9,表 8)，血小板總數糖尿病大鼠無論在控制組或是暴露組均顯著低於健康大鼠控制組和暴露組( $662.1\pm 179.6$  vs.  $868.0\pm 466.9$   $10^3/\text{mm}^3$  and  $683.7\pm 163.6$  vs.  $881.3\pm 457.3$   $10^3/\text{mm}^3$ ,  $p<0.05$ )，而健康大鼠和糖尿病大鼠暴露組和控制組之間沒有差異性。血小板平均體積(MPV)，糖尿病大鼠控制組和暴露組，健康大鼠控制組和暴露組四組之間沒有差異性。血小板的大小分布(PDW)也是同平均血小板容積四組之間沒有差異性。大血小板也是同 MPV 以及 PDW 四組之間並無差異。血小板血容百分比(PCT)糖尿病大鼠無論在控制組或是暴露組均顯著低於健康大鼠控制組和暴露組( $0.5\pm 0.1$  vs.  $0.6\pm 0.3$  % and  $0.5\pm 0.1$  vs.  $0.6\pm 0.3$  %,  $p<0.05$ )，而健康大鼠和糖尿病大鼠暴露組和控制組之間沒有差異性。

第三部分是血紅蛋白(圖 10,表 9)，其中血紅蛋白重量濃度糖尿病暴露組顯著高於健康大鼠暴露組( $13.5\pm 1.3$  g/dL vs.  $15.2\pm 7.9$  g/dL,  $p<0.05$ )，其他分組未有差異性，此外糖化血紅色素糖尿病控制組顯著高於健康控制組( $5.7\pm 2.4$  % vs.  $2.5\pm 1.3$ %,  $p<0.05$ )，此外糖尿病大鼠暴露組顯著高於糖尿病大鼠控制組( $7.4\pm 3.1$  % vs.  $5.7\pm 2.4$ %,  $p<0.05$ )。

第四部分是白血球部分(圖 11,表 10)，白血球總數糖尿病大鼠無論控制組或是暴露組均低於健康大鼠( $3.3\pm 2.2$  vs.  $4.0\pm 2.4$   $10^3/\text{mm}^3$  and  $2.3\pm 1.5$  vs.  $3.0\pm 1.8$   $10^3/\text{mm}^3$ )

在其他組之間均沒有差異。淋巴球細胞百分比(LYMF%)糖尿病大鼠無論是控制組或是暴露組均低於健康大鼠( $49.1\pm 21.2$  vs.  $63.0\pm 35.1\%$  and  $46.1\pm 20.4$  vs.  $59.9\pm 34.4\%$ )，但在健康大鼠和糖尿病大鼠控制組和暴露組之間沒有顯著差異。顆粒性白血球比例(GRAN%)糖尿病控制組和暴露組均高於健康大鼠( $41.1\pm 19.8$  vs.  $30.0\pm 18.0$  and  $42.3\pm 19.2$  vs.  $31.2\pm 20.0\%$ )，但是健康大鼠控制組和暴露組之間沒有差異，糖尿病大鼠兩組之間也沒有差異。其餘白血球種類比例(MID%)糖尿病控制組和暴露組較健康大鼠控制組和暴露組比例顯著較高( $9.8\pm 3.6$  vs.  $7.1\pm 4.2\%$  and  $11.5\pm 4.4$  vs.  $8.9\pm 5.7\%$ )，但糖尿病大鼠控制組和暴露組之間以及健康大鼠控制組和暴露組之間沒有差異。

#### 4-9 Biochemical markers

肝功能指標中(圖 12,表 11)，GPT 糖尿病大鼠控制組高於健康大鼠控制組，同樣的情況再糖尿病大鼠暴露組和健康大鼠暴露組上看到( $129.6\pm 79.1$  vs.  $44.4\pm 13.4$  IU/L and  $119.0\pm 47.7$  vs.  $39.7\pm 11.8$  IU/L)。健康大鼠控制組和暴露組之間沒有差異，糖尿病大鼠同健康大鼠。GOT 糖尿病大鼠暴露組高於健康大鼠暴露組( $160.5\pm 71.8$  vs.  $68.0\pm 25.4$  IU/L,  $p<0.05$ )，這樣的現象在糖尿病控制組和健康控制組沒有看到，此外健康大鼠暴露和控制組之間沒有差異，並且糖尿病大鼠暴露和控制組之間沒有差異。

血液中的尿氮(BUN)，糖尿病控制組顯著高於健康控制組( $32.6\pm 15.9$  vs.  $10.2\pm 4.6$  mg/dL,  $p<0.05$ )，這樣的現象也出現在糖尿病暴露組和健康暴露組上( $31.4\pm 14.9$  vs.  $10.2\pm 4.6$  mg/dL,  $p<0.05$ )，而其中健康大鼠暴露組高於健康控制組( $14.0\pm 5.8$  vs.  $10.2\pm 4.6$ ,  $p<0.05$ )，在其他的糖尿病控制組與暴露組間沒有差異。血液中的肌酐酸(Crea)僅在糖尿病控制組高於健康控制組( $1.6\pm 0.5$  vs.  $1.0\pm 0.3$  mg/dL)，但這樣的現象不見於糖尿病暴露組和健康暴露組，而另一方面健康大鼠控制組和暴

露組之間以及糖尿病控制組和暴露組之間均沒有差異。

血糖部分，糖尿病組均高於健康組：糖尿病控制組高於健康控制組(668.8±117.0 vs. 170.3±41.6 mg/dL,  $p<0.05$ )，在糖尿病暴露組和健康暴露組(670.8±125.1 vs. 174.9±29.1 mg/dL,  $p<0.05$ )，在健康大鼠控制和暴露組間就沒有差異，同樣情況再糖尿病控制和暴露組間也沒有差異。

脂質資料分成四個部分，第一部分總膽固醇(T-cho)，糖尿病控制組高於健康控制組(106.2±33.5 vs. 58.3±11.8 mg/dL,  $p<0.05$ )，糖尿病暴露組顯著高於健康暴露組(111.6±44.3 vs. 57.1±7.1 mg/dL,  $p<0.05$ )，健康大鼠控制組與暴露組間沒有差異，糖尿病大鼠控制組與暴露組間沒有差異。第二部分為三酸甘油酯(TG)，糖尿病控制組高於健康控制組(257.1±96.1 vs. 29.3±20.9 mg/dL,  $p<0.05$ )，糖尿病暴露組高於健康暴露組(235.6±74.9 vs. 62.3±25.3 mg/dL,  $p<0.05$ )，健康暴露組高於健康控制組(62.3±25.3 vs. 29.3±20.9 mg/dL,  $p<0.05$ )，但在糖尿病大鼠暴露組和控制組間沒有差異性。第三部分是高密度脂蛋白，糖尿病控制組和健康大鼠控制組沒有差異性，且健康暴露組和控制組間以及糖尿病暴露組和控制組間也沒有差異性。

在代表腎功能的肌酐過濾率(Ccr)，糖尿病大鼠控制組低於健康大鼠控制組(0.3±0.2 vs. 1.4±0.6 ml/min,  $p<0.05$ )，糖尿病大鼠暴露組顯著低於健康大鼠暴露組(0.3±0.2 vs. 1.2±0.7 ml/min,  $p<0.05$ )，但在健康大鼠暴露組與控制組間以及糖尿病大鼠暴露組與控制組間沒有顯著差異。本次在氧化壓力和發炎反應部分(表 12)，氧化壓力即 8-OHdG 我們發現糖尿病大鼠較健康大鼠高，但在暴露組和控制組之間沒有差異。其他發炎反應各組均沒有差異性。

## 五、討論

健康 SD 大鼠在施打 STZ 一週後，成功誘發成爲第一型糖尿病大鼠，其血糖濃度均高過 300mg/dL。而將此大鼠進行爲期 16 週大氣微粒暴露實驗，最終發現糖尿病暴露組 HbA1c 顯著高於控制組。

Shen 等人研究使用此一建議劑量施打，維持八週所造成之死亡率約 27%，此實驗對於糖尿病誘發成功之定義爲血糖超過 16.7mmol/l 約 300mg/dL(Shen *et al.*,2009)，Hartner 等人研究使用更高的劑量 70mg/kg body weight，其對糖尿病誘發成功的定義爲血糖值超過 250mg/dL，其實驗維持到 16 週時死亡率約爲 50%(Hartner *et al.*,2007)。本實驗雖使用較低劑量 55mg/kg body weight 但是對於糖尿病誘發成功定義爲血糖值超過 300mg/dL，因此經過 16 週的暴露期總死亡率爲 12.5%，可以斷定 STZ 施打劑量越高所伴隨的死亡率越高，因此本次實驗證實不需施打如此高之劑量也可以得到高血糖的動物模式，降低死亡率以及延長實驗時間，爲本實驗優於其他實驗之處。

探討糖尿病大鼠動物模式是否建立成功，從三個指標探討，一是體重，二是血糖，三是胰島素。體重的部分可以從本實驗數據看到糖尿病大鼠組顯著低於健康大鼠組，驗證第一型糖尿病因爲沒有辦法儲存糖分導致體重減輕。而無法儲存血糖的原因是因爲胰島素的分泌不足，本實驗數據顯示在未禁食的情況下第一型糖尿病大鼠胰島素仍然顯著低於健康大鼠，而進一步造成血液中有過量的葡萄糖游離，本實驗中也驗證糖尿病大鼠的血糖遠高於健康大鼠。糖尿病大鼠是否建立成功最直接是觀察其血糖值，大部分文章都定 250mg/dL 血糖值做爲誘發糖尿病成功的標準(Shen *et al.*,2009)，也有部分文章定 300mg/dL 血糖值做爲標準(Hartner *et al.*,2007)，本實驗於施打 STZ 後有 5 隻死亡，1 隻未通過 300mg/dL 因此排除實驗。這樣的高血糖肇因低胰島素分泌的因素，從實驗數據可以觀察到胰島素分泌糖尿

病大鼠其分泌量為一般健康大鼠的 20%，推斷其分泌胰島素的功能喪失八成，如此低的分泌量也造成高血糖的產生。異常的新陳代謝也造成體重的異常，Shen 等人的研究發現健康大鼠會隨著時間增重，但糖尿病大鼠在過了八週體重沒有大幅的上升(Shen *et al.*,2009)，這樣的狀況也在本實驗看到，在 Hertner 等人的實驗中也看到，其中 Hertner 等人認為是 STZ 造成大鼠體重不增加的原因(Hartner *et al.*,2007)。此外糖尿病個體顯著特徵是三多：吃多喝多尿多在本實驗都有觀察到，在吃多的部分我們沒有量化的數據，但在尿多部分我們觀察到糖尿病大鼠控制組在十二週顯著高於健康控制組( $39.7 \pm 11.6$  vs.  $17.8 \pm 11.6$  ml,  $p < 0.05$ )，這樣的現象也可以在暴露組看到。且在糖尿病大鼠這組有增大的趨勢，認為在糖尿病的病情有惡化的趨勢。喝多部分，糖尿病大鼠的喝水量在十二周時較健康大鼠來的大量( $20.1 \pm 8.3$  vs.  $7.9 \pm 4.5$  ml,  $p < 0.05$ )。大量喝水可能原因為因為體內無法留住血糖，大量進食導致的口渴所致。

針對糖尿病腎病變之研究，因此從觀察尿中白蛋白來去判斷糖尿病腎病變之程度。糖尿病透過高血糖導致的高氧化壓力造成對大小血管產生健康效應，其中小血管的併發症是值得關注，通常在較嚴重的 CVD 產生之前都是小血管的病變，例如：視網脈病變、神經病變、腎病變。而高血糖透過氧化壓力增加腎臟上面的基質(mesengial matrix)增厚，或是破壞腎臟上面的足細胞以及改變腎臟的通透性，進而使腎過濾能力下降甚至無尿，這些都和腎臟功能相關(Brownlee,2001)。在腎臟功能的指標主要有兩項一是腎過濾率，本實驗使用非侵入性的肌酐清除率(Ccr)代替，結果看到糖尿病大鼠的腎過濾率有顯著下降。另一個指標是尿中白蛋白，尿中白蛋白有兩種算法一種是將尿中白蛋白以尿中肌酐酸校正為白蛋白肌酐酸比值(ACR)，部份的研究使用此一方法做為其判定糖尿病腎病變嚴重程度之依據，本實驗糖尿病大鼠其白蛋白肌酐酸比值(ACR)從暴露第 0 週開始即顯著高於控制組，且隨著時間白蛋白肌酐酸比值(ACR)增高。Hertner 等人所做的研究施打 STZ 70mg/kg body weight 於健康大鼠，於第五周犧牲大鼠，其第五周的糖尿病大鼠之

白蛋白肌酐酸比值(ACR) (約 1g/g)高於本實驗(約 0.1g/g)，可能原因為其施打高劑量 STZ 導致胰島 beta 細胞破壞更多，進而使血糖在第五周高於本實驗同週數值，其平均約多出本實驗 100mg/dL 因此推斷多出之高血糖造成腎臟功能更加的惡化 (Hartner *et al.*,2007)。

另一種表達腎病變程度的指標為蒐集 24 小時老鼠尿液，測其中的 24 小時總白蛋白量，Mima 等人將 SD 大鼠施打 STZ 55mg/kg body weight 約四週後犧牲，並測量其尿液中總白蛋白其值和本實驗相仿，此實驗並沒有測量大鼠的血糖變化而是以其 HbA1c 表示，HbA1c 是一個代表近三個月內體內血糖變化的指標，也和本實驗相仿(Mima *et al.*,2006)。可以推測 STZ 的多寡和血糖高低有相關性且會影響到腎功能。

在肝功能的部分，糖尿病大鼠的 GPT 和 GOT 都高於健康大鼠，(140.1±104.0 vs. 44.4±13.4IU/L,  $p < 0.05$  and 204.6±165.3 vs. 105.3±52.8IU/L)，GPT/GOT 參與體內的糖質新生作用，Mori 等人推測由於肝臟的肝糖儲存量消失導致 GPT/GOT 爲了要補償而大量轉譯(Mori *et al.*,2003)。Salimuddin 等人從事實驗證實，若是 Insulin 的治療可以讓 GPT/GOT 恢復正常，證實異常的新陳代謝會導致肝功能指數上升 (Salimuddin *et al.*,1996)。但也有科學家認爲肝功能指數的增加和 STZ 引發的肝臟發炎相關(Jeong *et al.*,2010)，由於本實驗沒有對肝臟發炎作進一步研究所以這方面機制仍不清楚。因此可以推斷本實驗符合其他實驗的結果。

血球資料部分，紅血球的總數糖尿病大鼠較健康大鼠低(7.9±0.7 vs. 8.3±4.510<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>)，可能和血球製造量不足有關，但機制仍然不清楚。同樣的現象在血小板也看到。白血球部分，淋巴球數量濃度糖尿病大鼠顯著低於健康大鼠(1.7±1.1 vs. 2.6±1.8 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>,  $p < 0.05$ )，根據 Tabata 等人發現在施打高劑量 STZ 於大鼠體內會導致胸腺的萎縮，而使淋巴球的製造產生問題，但是 STZ 本身的不穩定性所以不易產生慢性毒害，加上使用胰島素治療就可使胸腺萎縮情況減緩，推斷胸腺萎縮和淋巴球數量下降和低胰島素相關，但是相關機制仍然不清楚(Tabata *et*

al.,1984)。因此本實驗由於淋巴球數目低導致整體白血球數量糖尿病大鼠顯著低於健康大控制組( $3.4 \pm 2.2$  vs.  $4.0 \pm 2.4 \times 10^3/\text{mm}^3$ ,  $p < 0.05$ )，這樣的現象也在暴露組看見。

脂質的部分，總膽固醇、三酸甘油酯糖尿病大鼠高於健康大鼠，而高密度脂蛋白和總膽固醇比值兩組之間沒有差異。高總膽固醇和高三酸甘油酯和糖尿病病症有高度相關，因此本實驗也有觀察到這樣的現象(Jeong *et al.*,2010)。從上述的生理指標推斷，實驗的第一部分糖尿病大鼠模式建立是成功的。

實驗暴露大氣微粒部分，本實驗連續暴露了16週，使用IVC系統，此系統原做為飼養動物的空氣循環機，將進氣處接到外界，外界的空氣便可以穩定流入IVC系統本次實驗大鼠暴露。暴露實驗過去會使用氣管灌注，氣管灌注的好處是可以控制濃度，方便易操作，缺點是局限於急性暴露，若要進行慢性暴露實驗勢必得做數次氣管灌注，可能會產生死亡率。除了氣管灌注實驗之外，毒理實驗也使用大氣微粒濃縮器，濃縮機的好處是可以將大氣中所需粒徑的微粒濃縮數倍導引進暴露室中，優點是其暴露方式較符合微粒呼吸暴露的途徑(route)，且可以提高暴露濃度，其缺點是維持儀器需要較高的人力和財力支持，暴露時間也有限制。Sirivelu等人研究，使用卵巢白蛋白(OVAs)引發呼吸道過敏大鼠，此大鼠暴露於濃縮大氣微粒(CAPs)，結果發現在吸入CAPs這組或是單卵巢白蛋白所引發呼吸道過敏大鼠下視丘室旁核(PVN)均顯著的產生腎上腺素，甚至大鼠血漿中的可體松也顯著上升。鄭等人研究指出，將自發性高血壓大鼠暴露於CAPs五小時，大鼠的RMSSD從原本下降15%變成下降60%，此研究證實CAPs會改變自發性高血壓大鼠的心跳變異性(Chang,2005)。Sun等人發表在2009研究，使用C57BL/6J小鼠動物模式，本研究探討污染源為CAPs，將小鼠暴露24週後進行犧牲，此實驗的結果發現，實驗動物出現全身性的胰島素阻抗現象，系統性的發炎現象，腹部脂肪肥大；此外，進一步測量內皮細胞對於胰島素的敏感度，結果發現胰島素訊息傳遞鏈出現對胰島素的阻抗現象(Sun Q, 2009)。以濃縮大氣微粒為架構的實驗下均看到健康效應，而IVC暴露實驗優點是可以進行全天候24小時一整周的暴露，且暴露濃度與外

界週遭濃度相仿。此外過去濃縮大氣微粒有觀察到健康效應，因此本實驗想進一步去證實一般週遭大氣微粒之濃度是否會造成第一型糖尿病大鼠產生糖尿病腎病變。

暴露時間從2009年12月21日至2010年4月9日止，共是16個禮拜。暴露評估使用可攜式微粒監測器(DUST-check, model 1.108; Grimm Labor technik Ltd., Germany)，使用可攜式監測器，可獲得每分鐘的資料，一天會有1440筆資料，因此將每天1440筆資料每週七天16週的資料平均得一總平均值為此實驗之微粒暴露濃度，發現外界引進空氣中， $PM_{10}$ 短少了70%重量濃度， $PM_{2.5}$ 短少了50%重量濃度，然而監測站未提供 $PM_{10}$ 濃度資料因此無法得知 $PM_{10}$ 在導入暴露腔內的短少有多少，推測粒徑較大之大氣微粒於輸送過程中撞擊輸送管壁因而短少，導致暴露腔內的濃度無法完全和週遭微粒濃度的大小一致乃本實驗之限制。此外，公衛大樓鄰近的三個監測站都位於地面進行採樣，本實驗的場所位於公衛大樓九樓，不得而知公衛大樓地面和九樓的微粒分部結構和分布濃度是否一致，也是未來在進行暴露評估時可以考量實驗因素，可在公衛大樓地面或是九樓進行微粒的暴露評估而非使用監測站的推估值。在處理三個測站和可攜式監測器資料上，實驗的過程中資料缺少的情況：三個測站沒有資料短少現象，可攜式監測器在110天的監測中有21天是有問題(19.5%)，這21天的資料沒有納入整體濃度的平均值中，在整體實驗上是可以接受，主因為本實驗為一亞慢性暴露實驗，可以忍受實驗中的波動性，若是考量急性的健康效應變化則資料的缺少會成為實驗的限制。在整個暴露期間大氣微粒的濃度如下 $PM_{10}$ 為 $13.3 \pm 8.7 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ， $PM_{2.5}$ 是 $13.3 \pm 8.7 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 而  $PM_{10}$ 為 $12.7 \pm 8.2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ，因此判定本次實驗所引進之大氣微粒 $PM_{10}$ 所貢獻的顆粒濃度最大。然而本研究中暴露組大鼠無論是健康大鼠或是糖尿病大鼠所吸入的大氣微粒均低於外界實際值，其中大粒徑大氣微粒譬如 $PM_{10}$ 在進入IVC系統中時已損失70%，細粒徑大氣微粒 $PM_{2.5}$ 則是損失50%，因此總大氣微粒濃度為 $13.68 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 甚小於台大公衛大樓附近的空氣品質監測站(中山、萬華、古亭，圖2)所測得濃度。此外所引進的大氣微粒為大台



北地區的空氣微粒，大台北地區的空氣微粒組成以交通汙染源為主，台北市區內並無大型工業區的存在。

本次實驗雖然進行了 16 個禮拜的暴露，結果無論在體重、血糖、尿量、或是腎功能指標白蛋白肌酐酸比值(ACR)發現健康大鼠在暴露組和其控制組沒有差異性，再進一步看糖尿病大鼠除了喝水量有顯著差異和白蛋白肌酐酸比值(ACR)在暴露組有較高的趨勢之外，其他生物指標體重、血糖、尿量均沒有差異性。探討大氣微粒對於糖尿病之腎病研究，雖然糖尿病控制組之白蛋白肌酐酸比值(ACR)和 24hr 總白蛋白有顯著高於健康組，但我們未在糖尿病暴露組和控制組之間看到差異性，因此我們無法證實週遭大氣微粒影響糖尿病大鼠腎病變程度，有文獻認為白蛋白肌酐酸比值(ACR)和 24hr 總尿蛋白量是較不敏感指標，建議未來可以使用較敏感的生理指標，譬如 smad 1：Smad 1 是 collagen 4 的轉錄因子，當腎絲球體發生病變時，便大量產生進而去控制 collagen 4 的轉錄、轉譯造成基底膜的增厚，被認為是一個新興的腎功能指標可以更精確預測第一階段和第二階段的腎病變 (Toshio Doi 2008)。此外我們未在糖尿病大鼠暴露組看到較高的血糖或是較低的胰島素分泌，其他的生理指標例如肝功能或是脂質都未見顯著差異性。

糖化血色素上有看到大氣微粒造成之健康效應，大氣微粒造成糖尿病大鼠糖化血色素較高，但無其他證據可以解釋這樣的現象。推斷大氣微粒依據某種機制影響到糖化血色素的表現，糖化血色素為一慢性指標，可以代表近三個月體內血糖的變化，相較於禁食後血糖值來的穩定不易變動，若是偏高表示體內血糖是偏高，過去 Chuang 等人在流行學研究上發現 PM<sub>10</sub> 和 O<sub>3</sub> 都會造成較高的糖化血色素，但實際上詳細的機制仍不清楚(Chuang *et al.*,2010)。

本次實驗在誘發糖尿病大鼠相當成功，各項生理指標都符合糖尿病實際病理狀況，且低死亡率以及維持長時間是本實驗相較其他實驗最成功的地方。但在大氣微粒之於腎病變部分未見顯著效應，其他生理指標也是，然而在糖化血色素卻反映大氣微粒造成的健康效應，實驗結果指出大氣微粒仍可能是造成糖尿病惡化

的危險因子，進一步的機制待未來深入探討。



六、表與圖

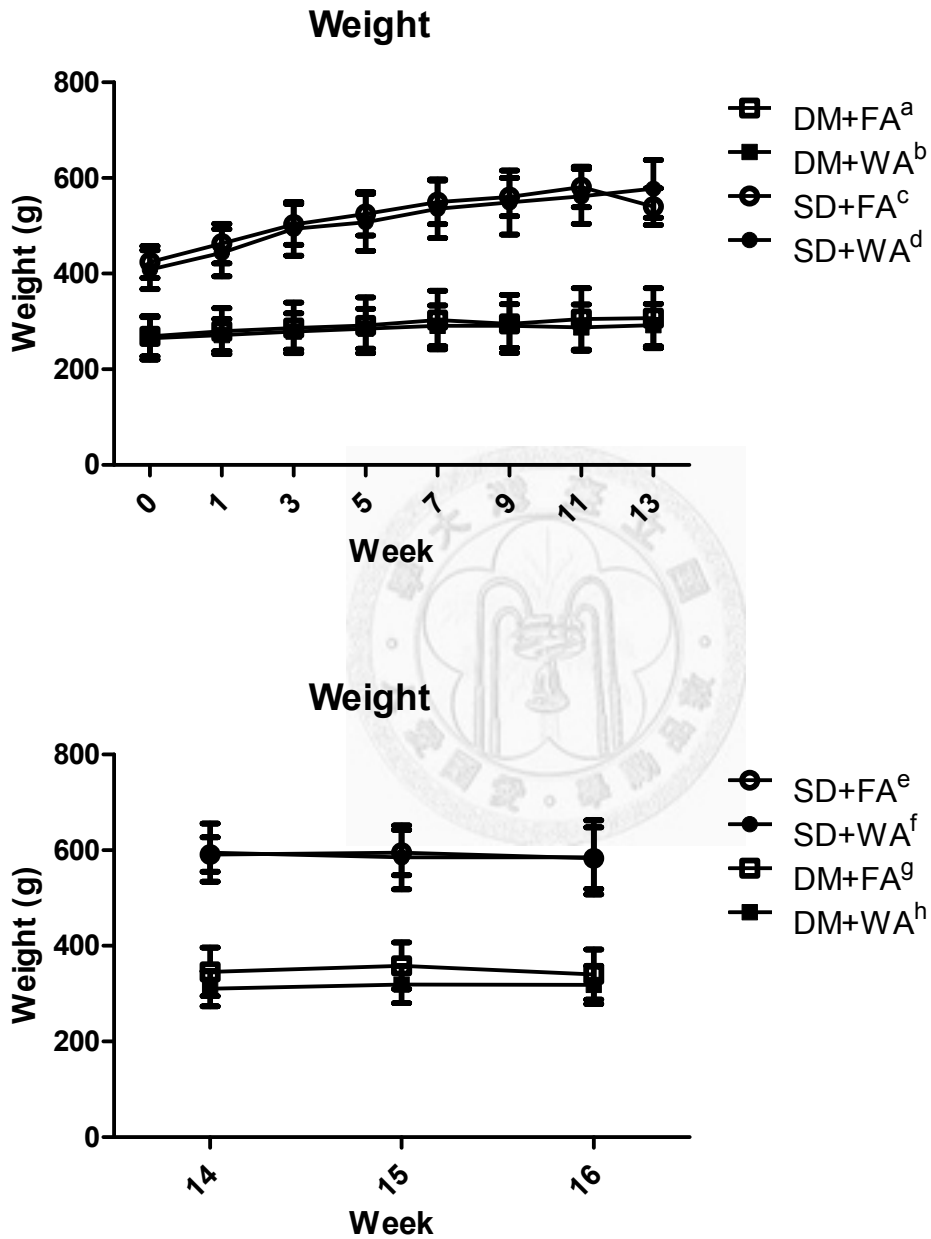
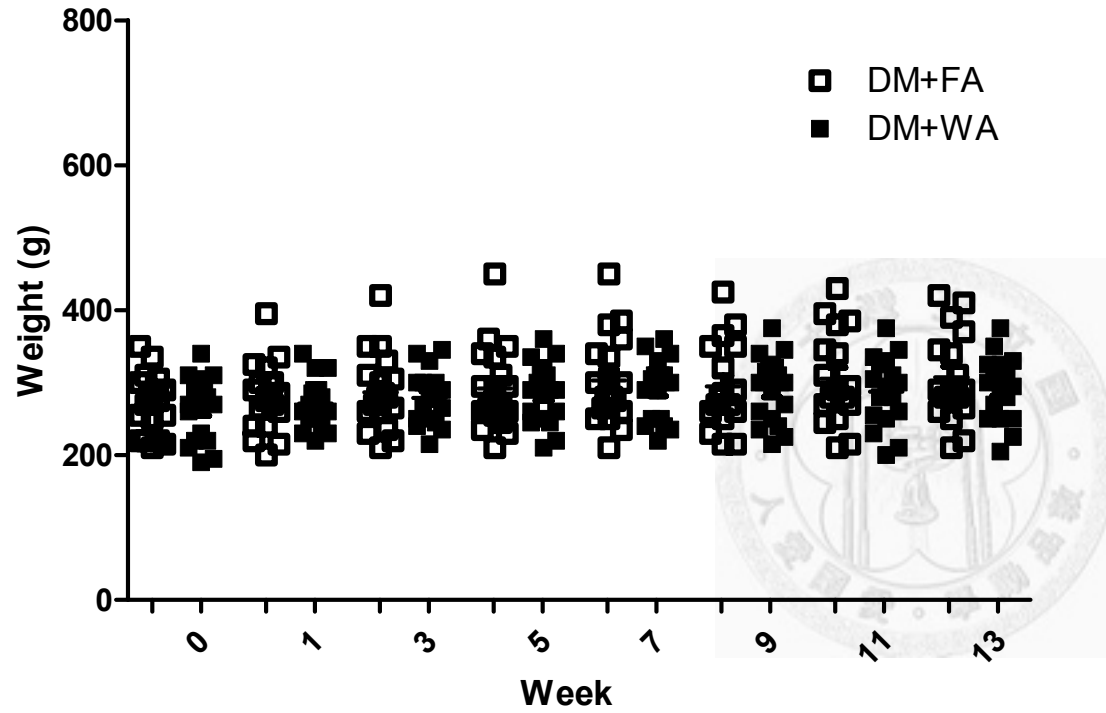
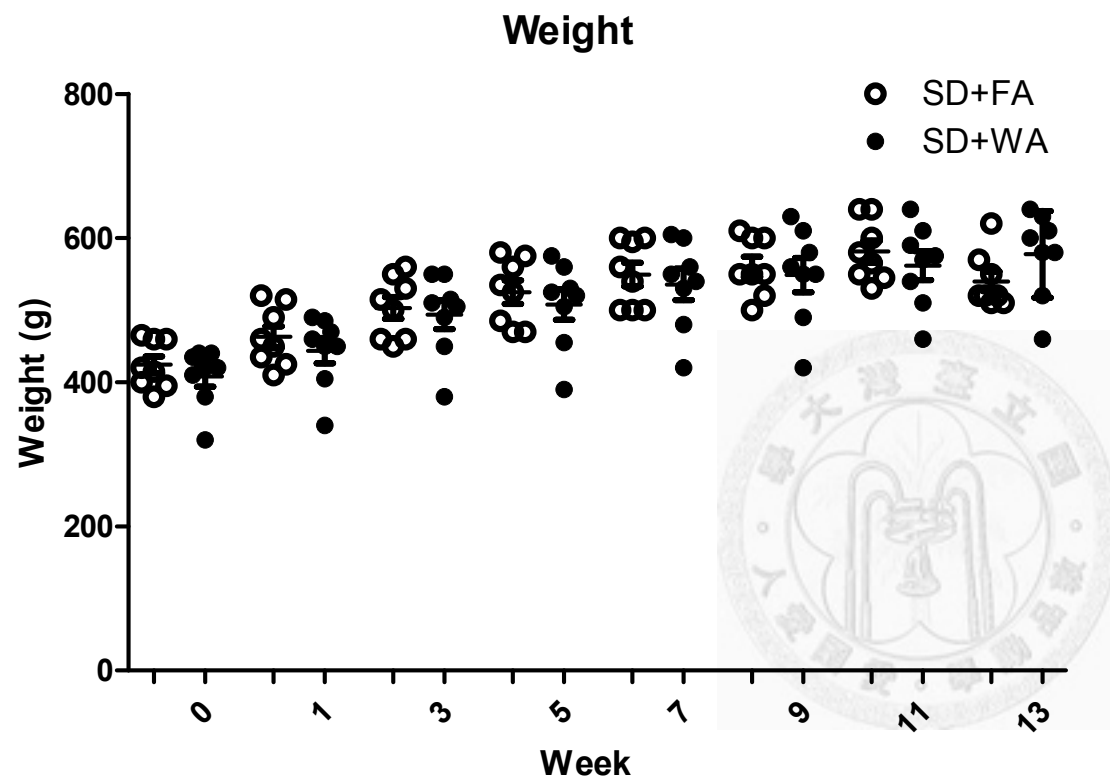


圖 1 Effects of diabetes and particulate matter on body weight measured in four different groups in every two weeks till the end of exposure experiment  
 DM: diabetes rats, FA: filtered air, WA: whole air, SD: healthy rat  
 a: n=17, b: n=18, c: n=8, d: n=8, e: n=9, f: n=10, g: n=6, h: n=6

# Weight





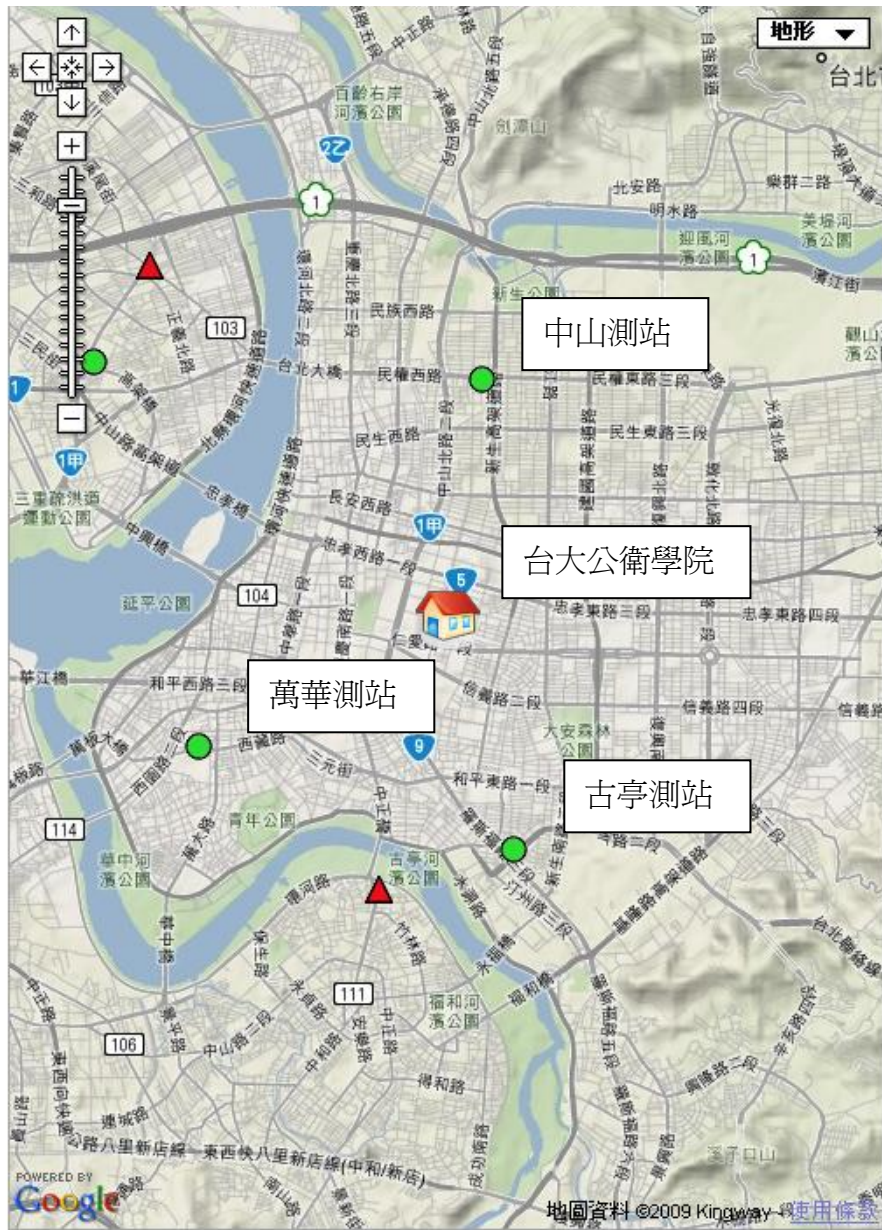
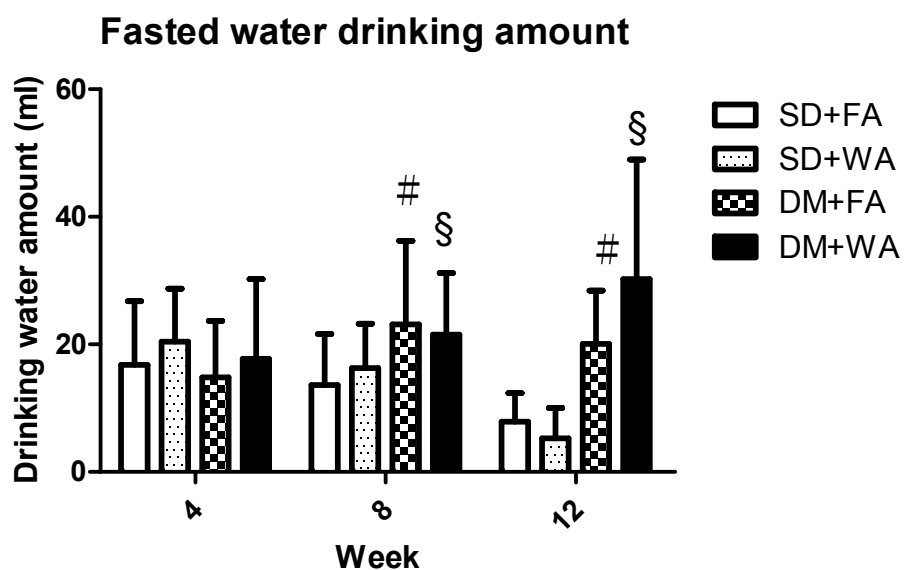


圖 2 Location of NTU school of public health and three nearest monitoring stations



# :  $p < 0.05$  as compared to SD+FA, §:  $p < 0.05$  as compared to SD+WA

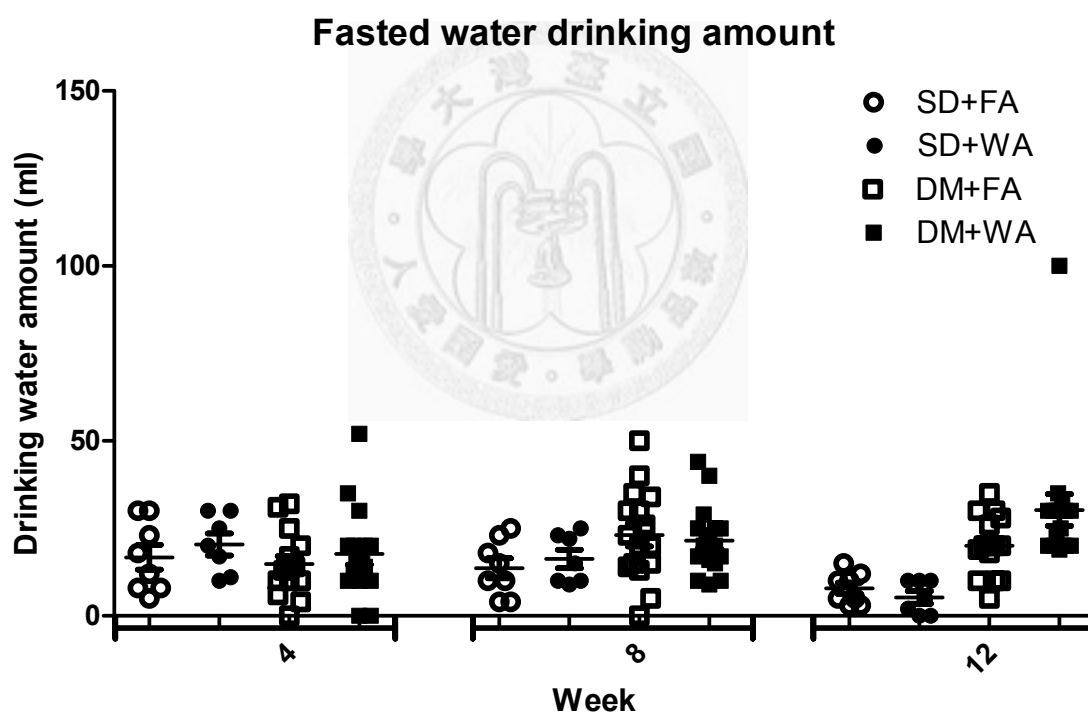


圖 3 Effects of diabetes and particulate matter on drinking water measured in four different groups on the 4th, 8th, 12th week after exposure experiment  
DM: diabetes rats, FA: filtered air, WA: whole air, SD: healthy rat

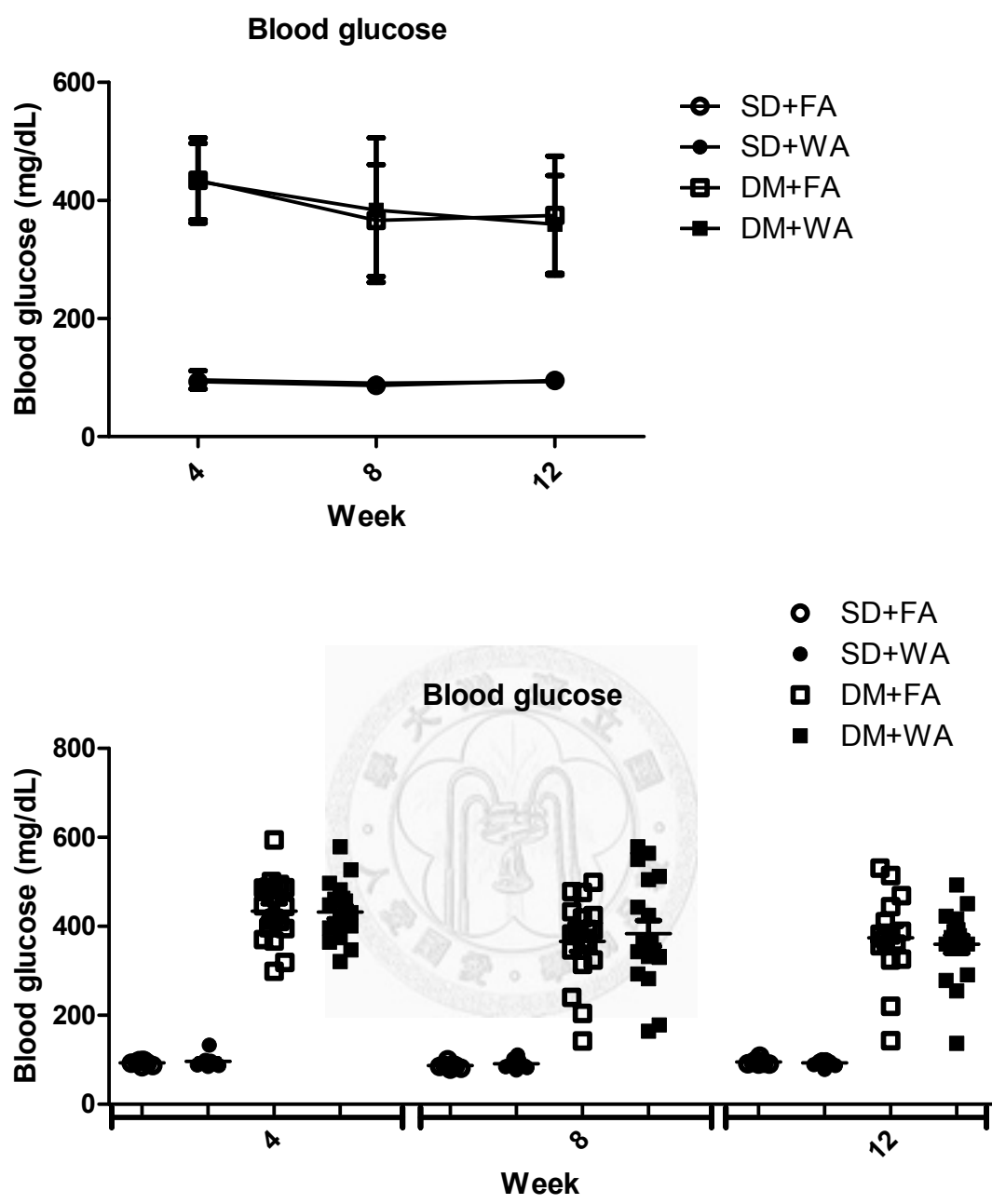


圖 4 Effects of diabetes and particulate matter on blood glucose measured in four different groups on the 4th, 8th, 12th week after experiment  
 DM: diabetes rats, FA: filtered air, WA: whole air, SD: healthy rat



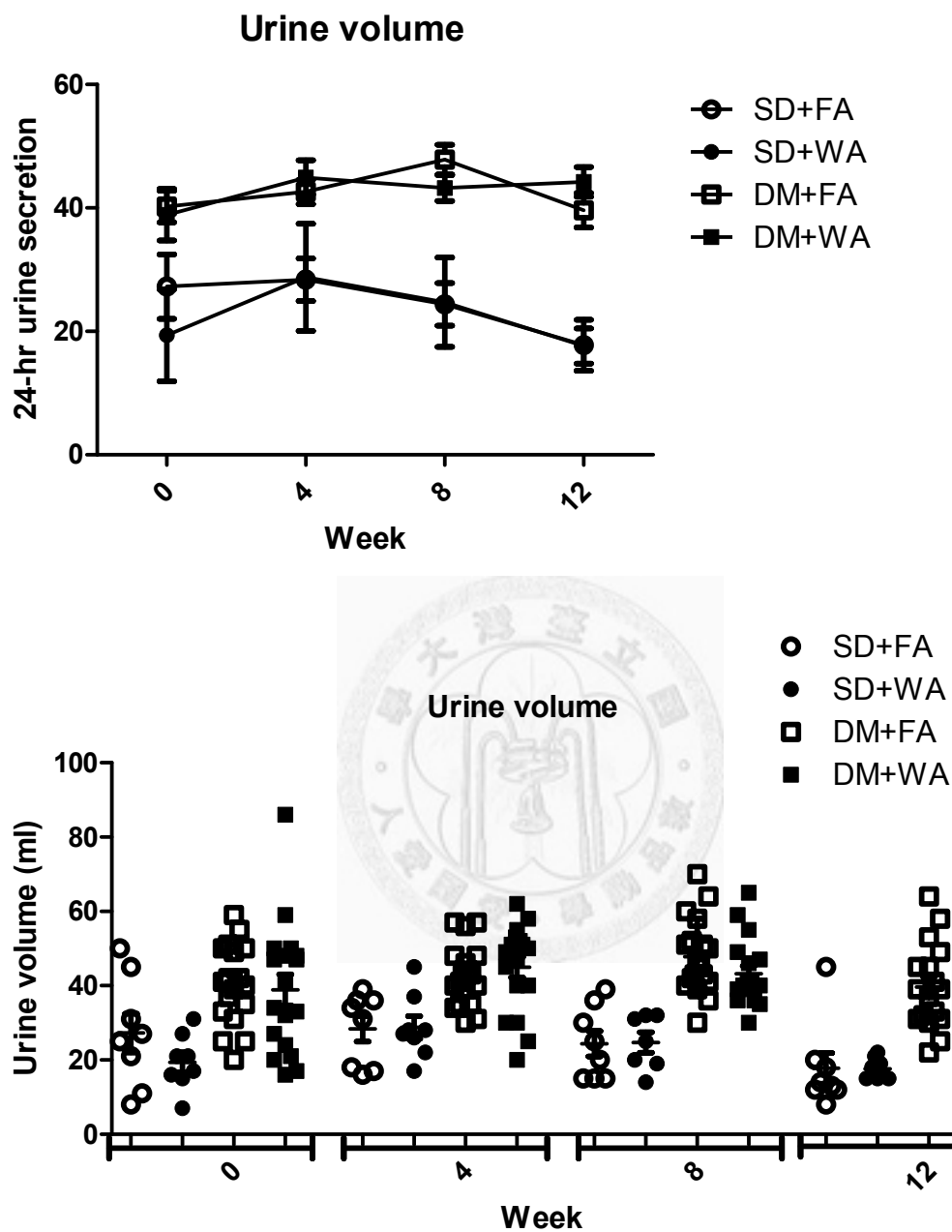
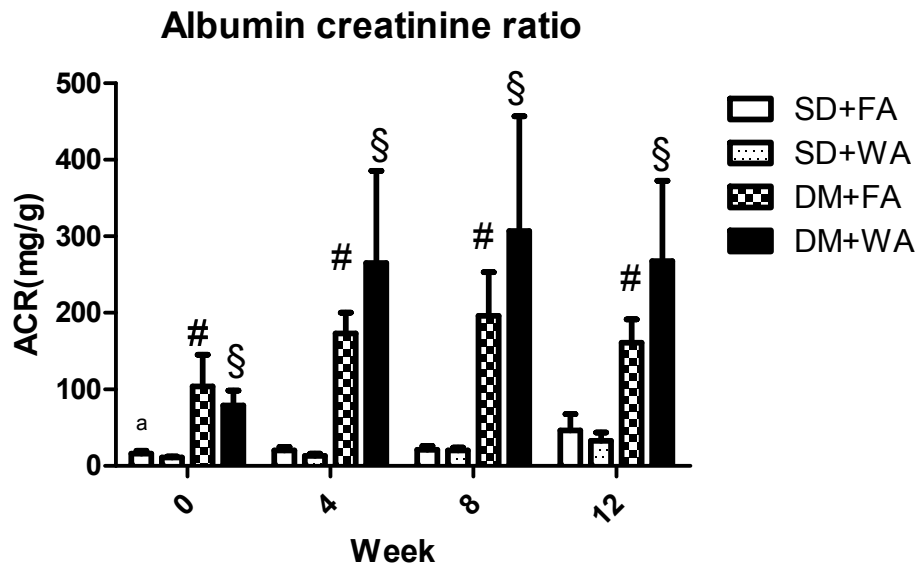


圖 5 Effects of diabetes and particulate matter on urine volume measured in four different groups on the 4th, 8th, 12th week in four different groups after experiment

DM: diabetes rats, FA: filtered air, WA: whole air, SD: healthy rat



a: mean+SEM, #:  $p < 0.05$  as compared to SD+FA, §:  $p < 0.05$  as compared to SD+WA

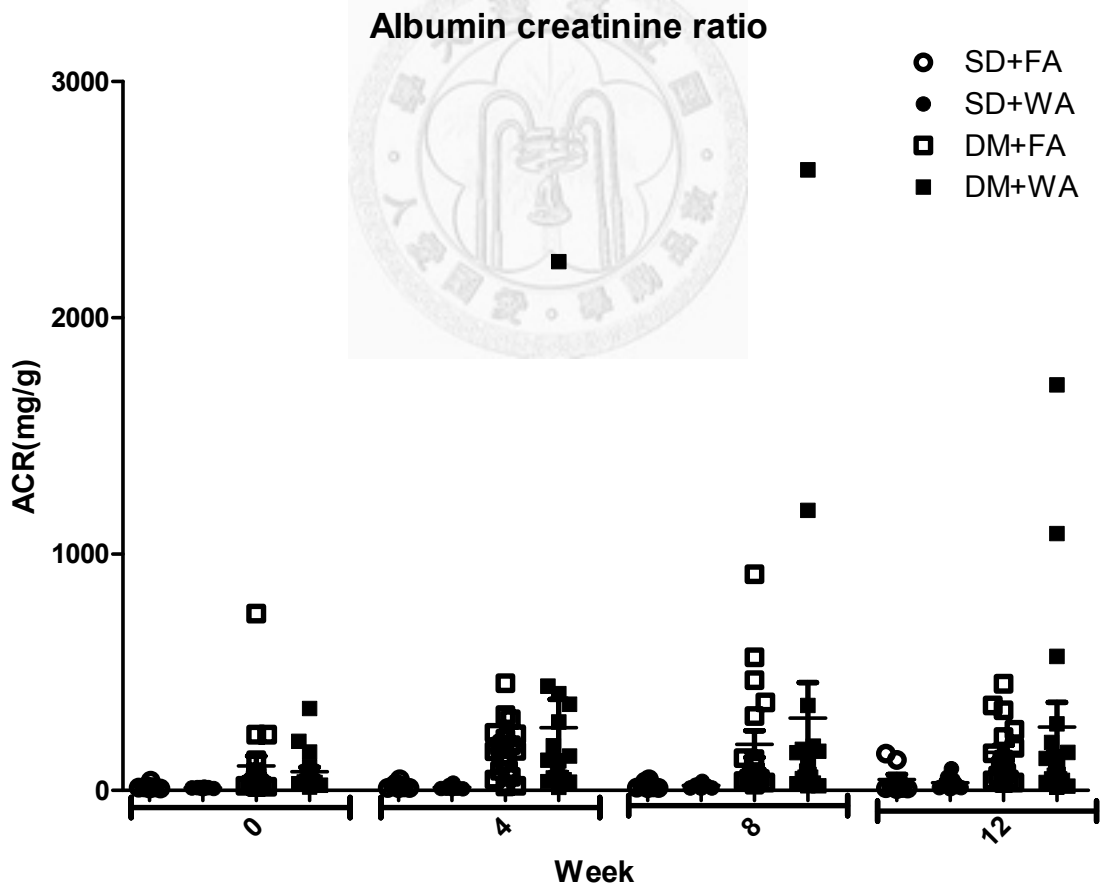
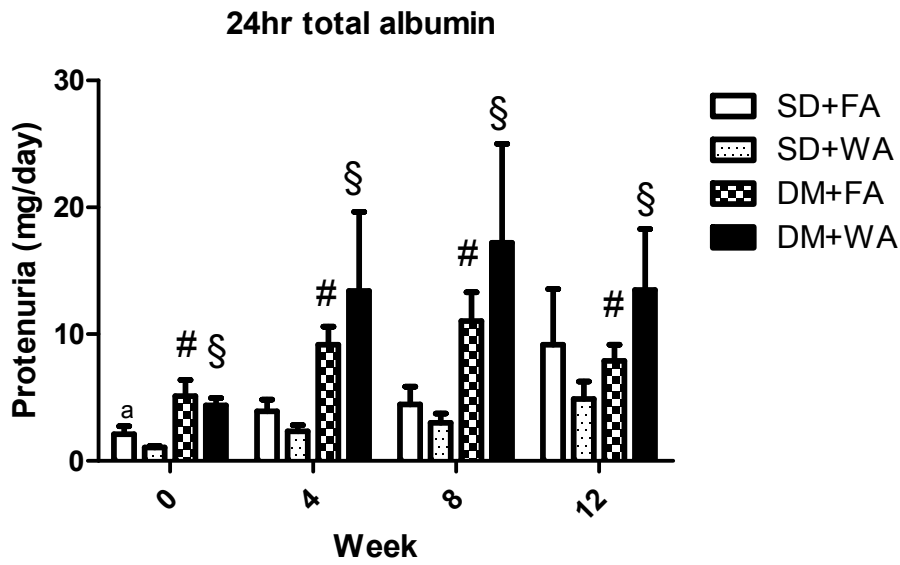


圖 6 Effects of diabetes and particulate matter on ACR measured in four different groups on the 0th, 4th, 8th, 12th week after experiment  
DM: diabetes rats, FA: filtered air, WA: whole air, SD: healthy rat



a: mean+SEM, #: p<0.05 as compared to SD+FA, §: p<0.05 as compared to SD+WA

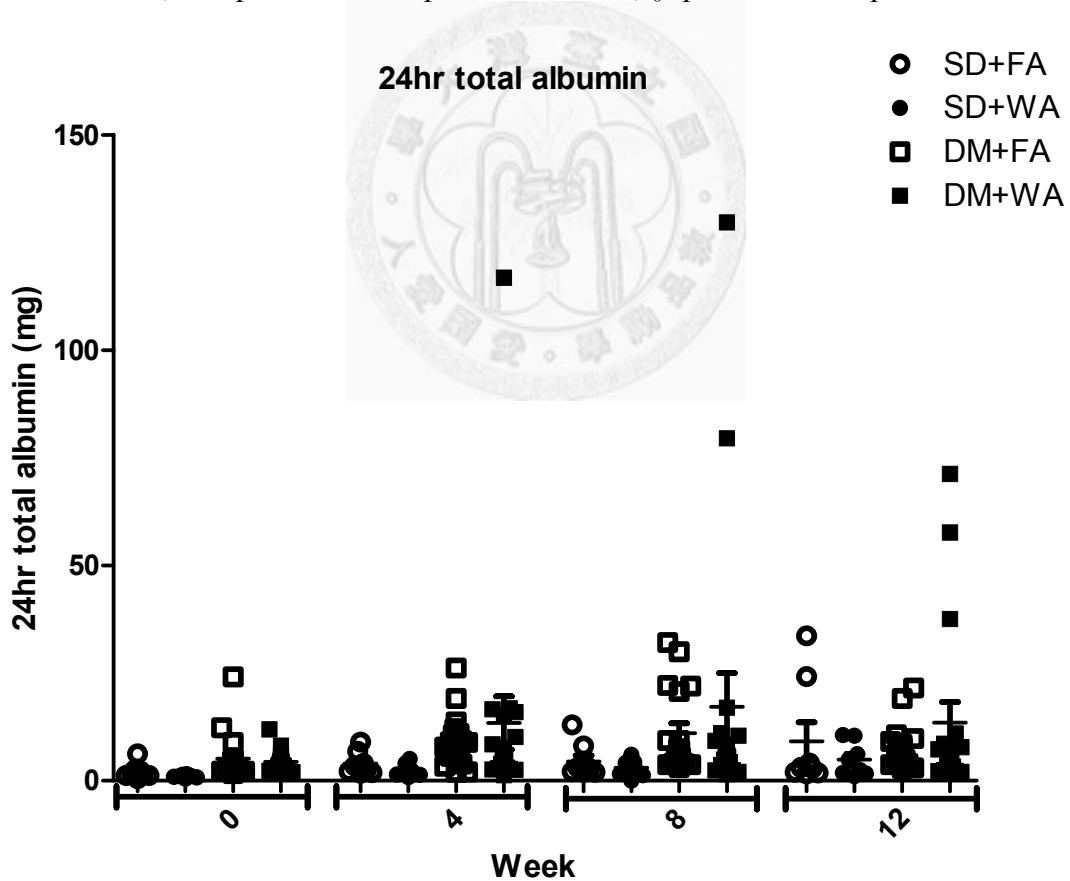


圖 7 Effects of diabetes and particulate matter on 24-hr total albumin measured in four different groups on the 0th,4th, 8th, 12th week after experiment  
 DM: diabetes rats, FA: filtered air, WA: whole air, SD: healthy rat

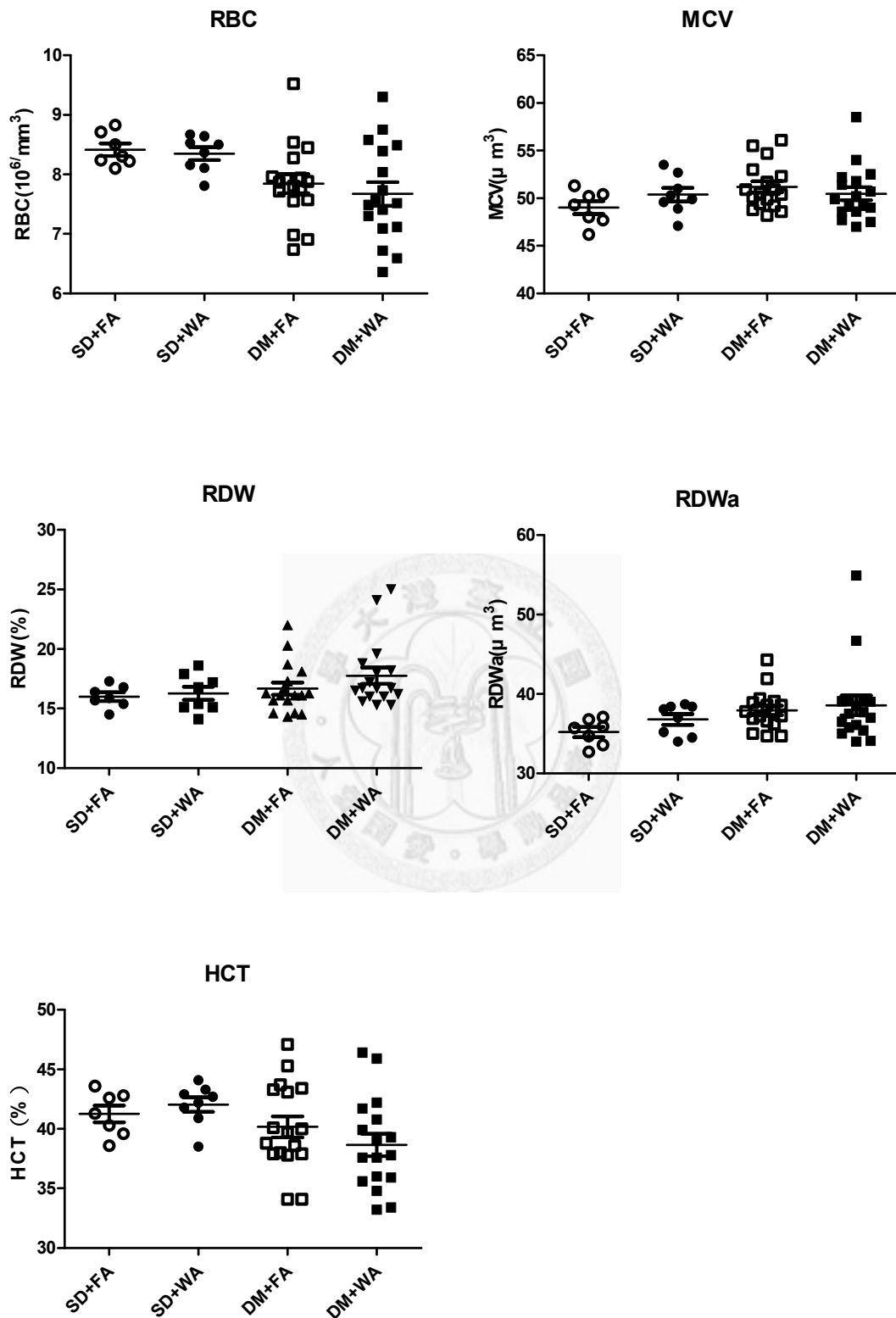


圖 8 Effects of diabetes and particulate matter on red blood cell related indicators in four different groups after sacrifice

DM: diabetes rats, FA: filtered air, WA: whole air, SD: healthy rat

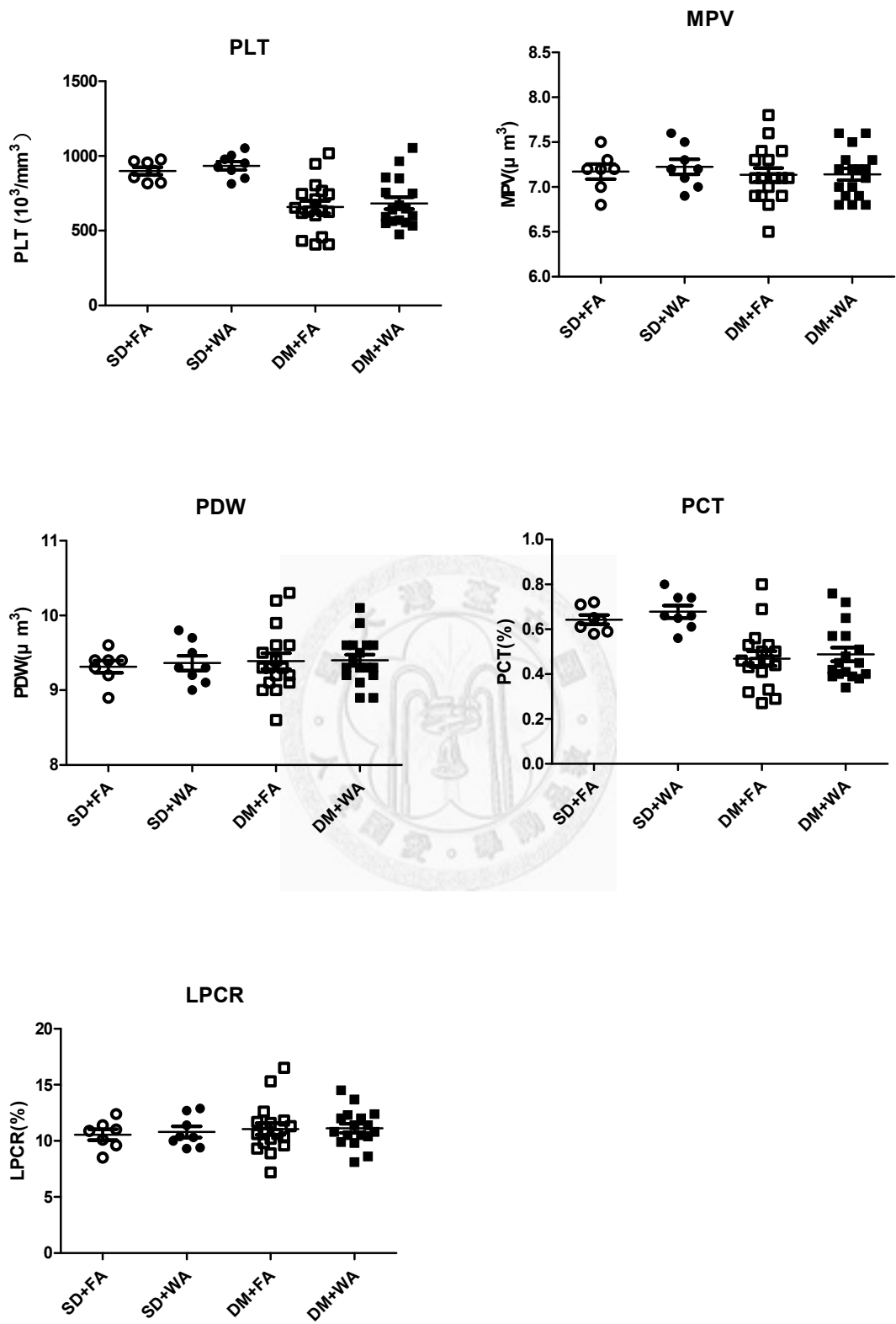


圖 9 Effects of diabetes and particulate matter on platelet related indicators in four different groups after sacrifice  
 DM: diabetes rats, FA: filtered air, WA: whole air, SD: healthy rat

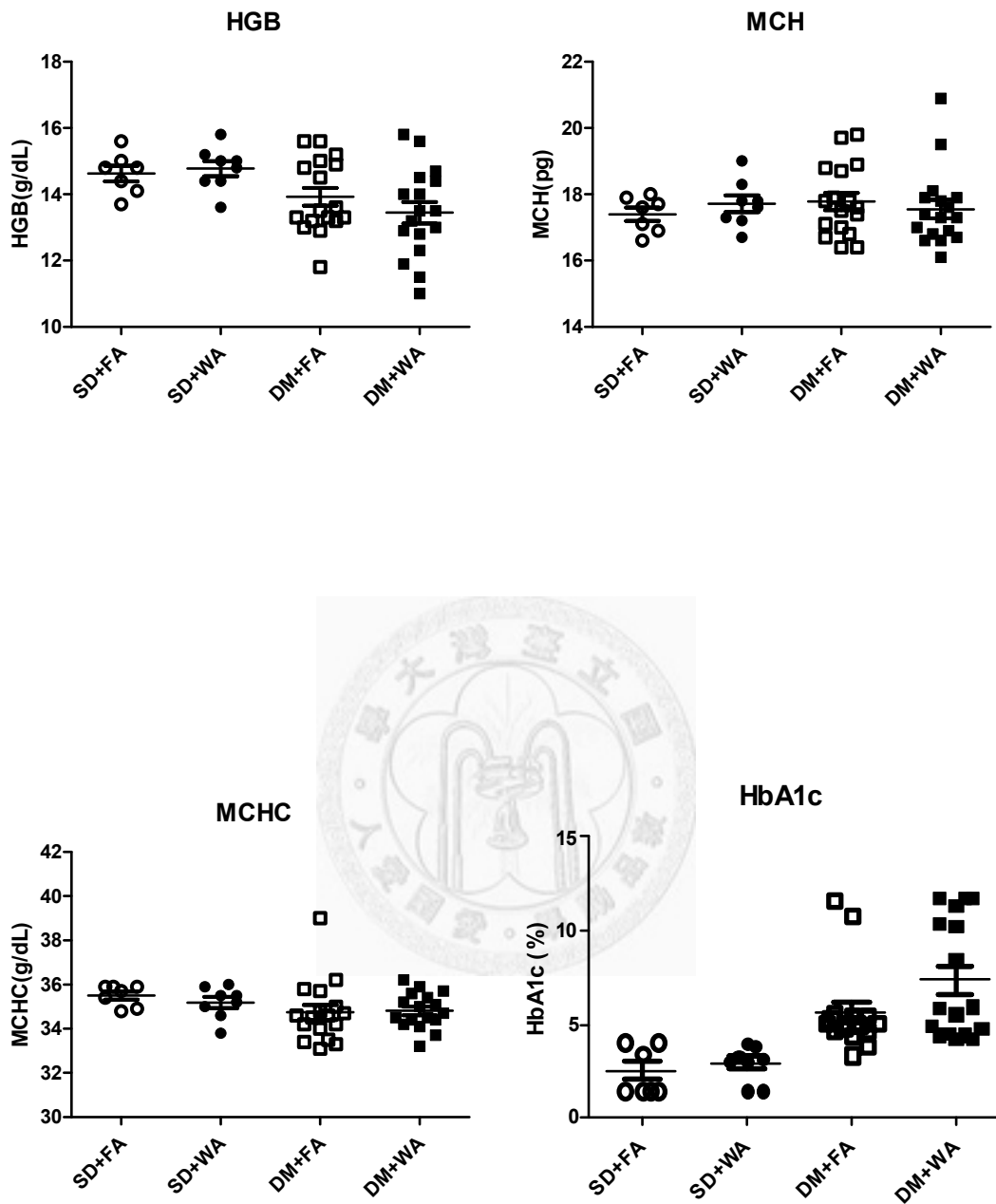


圖 10 Effects of diabetes and particulate matter on hemoglobin related indicators in four different groups after sacrifice

DM: diabetes rats, FA: filtered air, WA: whole air, SD: healthy rat

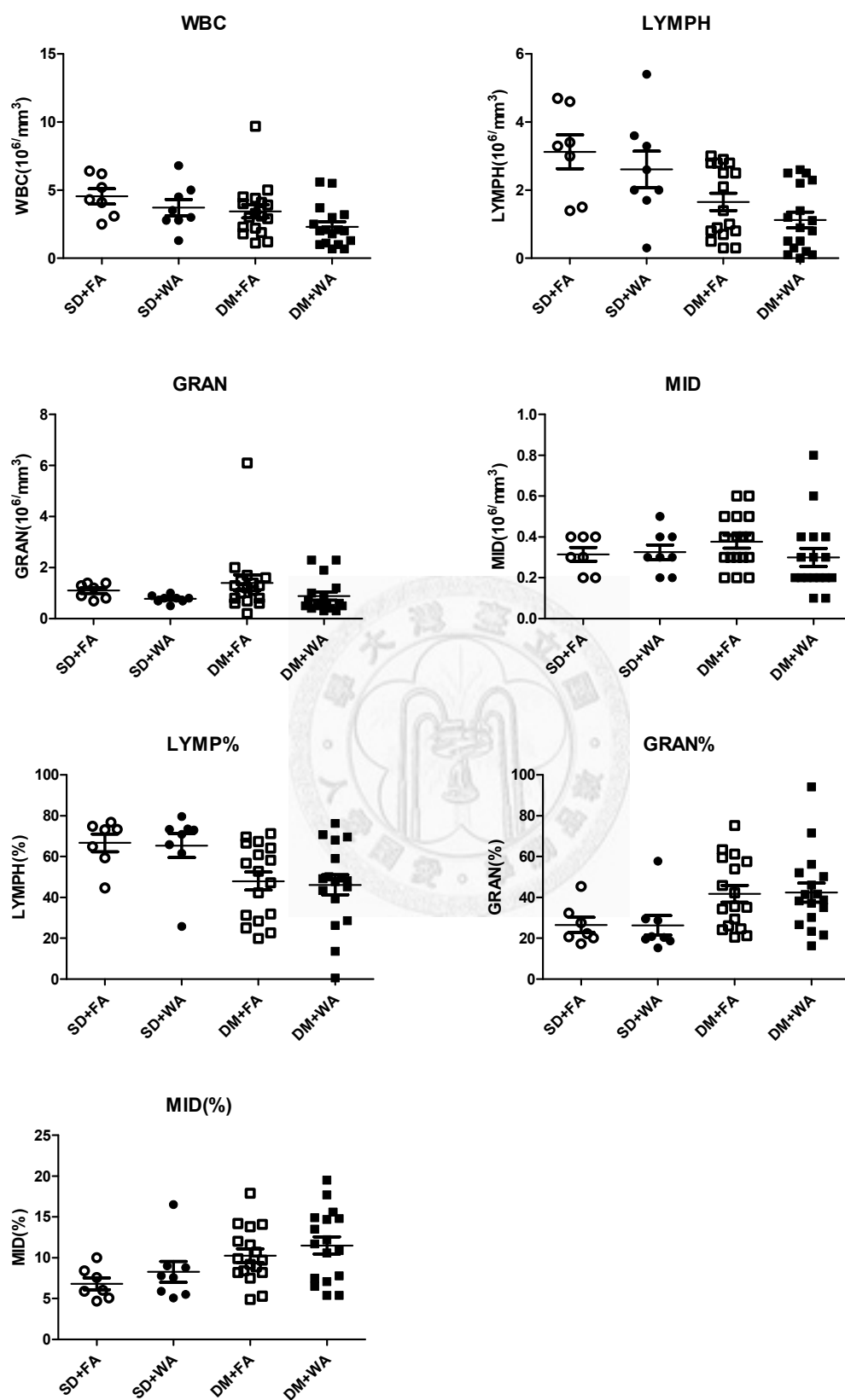
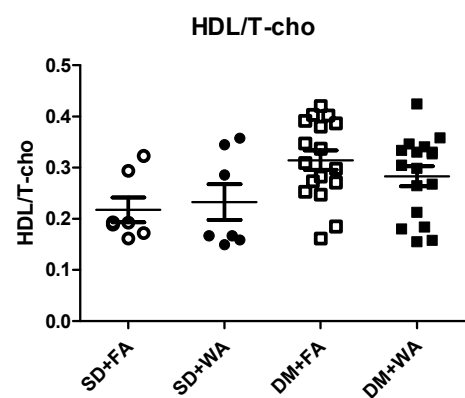
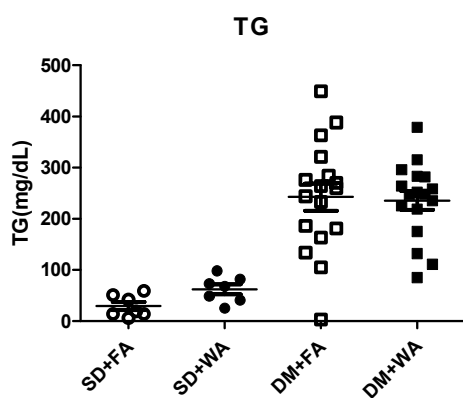
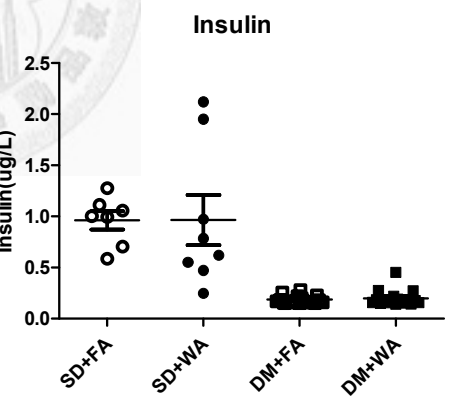
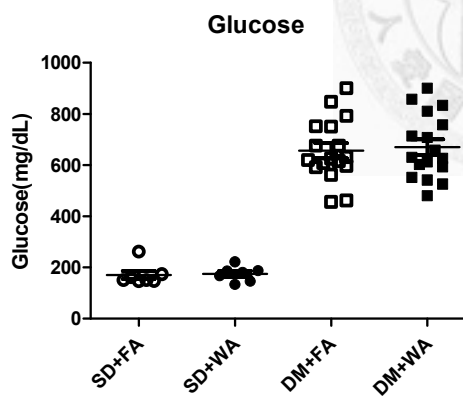
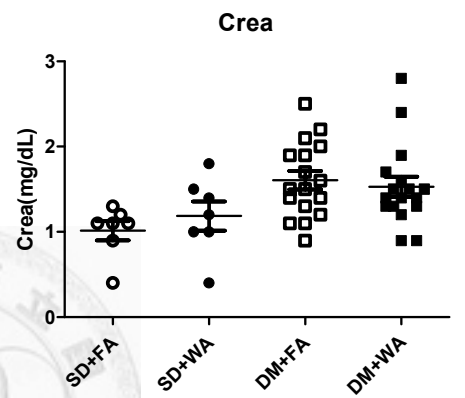
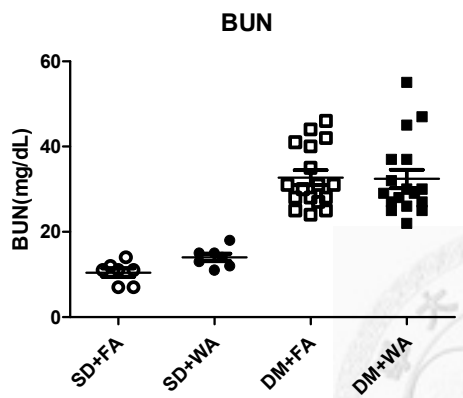
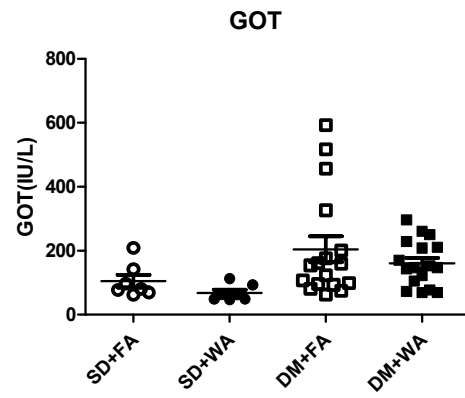
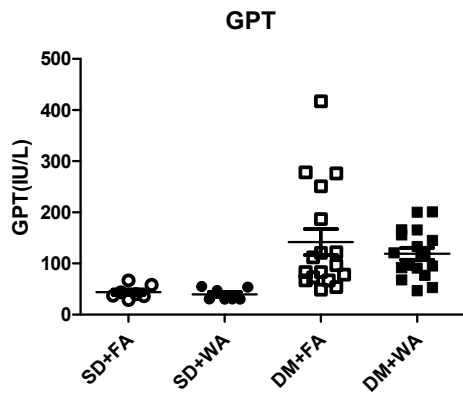


圖 11 Effects of diabetes and particulate matter on white blood cell related indicators in four different groups after sacrifice

DM: diabetes rats, FA: filtered air, WA: whole air, SD: healthy rat







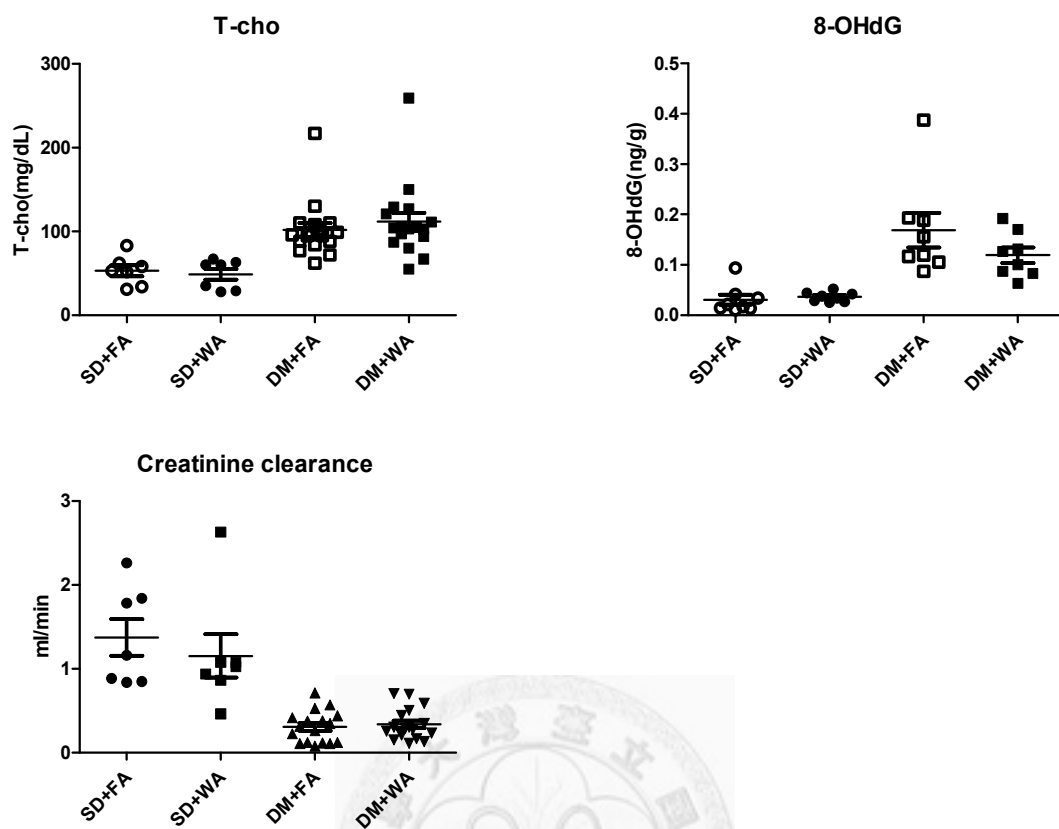


圖 12 Effects of diabetes and particulate matter on biological indicators in four different groups after sacrifice

DM: diabetes rats, FA: filtered air, WA: whole air, SD: healthy rat

表 1 PM mess concentration in exposure cage and ambient environment during the exposure experiment

<b>Pollutant</b>	<b>unit</b>	<b>In-cage</b>	<b>Ambient</b>
Particulate Matter (PM <sub>10</sub> )	μg/m <sup>3</sup>	13.33 (8.67)	72.18 (82.10)
Particulate Matter (PM <sub>2.5</sub> )	μg/m <sup>3</sup>	13.30 (8.65)	38.12 (17.61)
Particulate Matter (PM <sub>1.0</sub> )	μg/m <sup>3</sup>	12.65 (8.16)	—

Values are means ( SD)



表 2 Daily drinking amount (ml/day)

	Week 4	Week 8	Week 12
<b>SD<sup>a</sup>+FA<sup>b</sup></b> (n=17)	16.8±10.0 <sup>e</sup>	13.6±8.0	7.9±4.5
<b>SD+WA<sup>c</sup></b> (n=18)	20.4±8.3	16.3±6.9	5.3±4.7
<b>DM<sup>d</sup>+FA</b> (n=8)	14.1±8.7	22.3±13.1 <sup>#</sup>	20.2±±8.7 <sup>#</sup>
<b>DM+WA</b> (n=8)	17.7±12.5	21.5±9.6 <sup>§</sup>	30.2±18.8 <sup>§*</sup>

Values are means±SD

a: Healthy rat, b: Filtered air, c: Whole air, d: Diabetes rat, e: Mean±SD

# : p<0.05 as compared to SD+FA

§: p<0.05 as compared to SD+WA

\* : p<0.05 as compared to DM+FA



表 3 Fasted glucose (ug/dL)

	<b>Week 4</b>	<b>Week 8</b>	<b>Week 12</b>
<b>SD<sup>a</sup>+FA<sup>b</sup>(n=17)</b>	93.0±5.4 <sup>e</sup>	86.7±6.8	95.1±6.1
<b>SD+WA<sup>c</sup>(n=18)</b>	96.4±15.6	90.9±11.6	93.0±7.8
<b>DM<sup>d</sup>+FA(n=8)</b>	436.3±73.8 <sup>#</sup>	375.6±88.2 <sup>#</sup>	391.1±80.7 <sup>#</sup>
<b>DM+WA(n=8)</b>	432.0±65.0 <sup>§</sup>	383.8±122.7 <sup>§</sup>	359.6±82.5 <sup>§</sup>

Values are means±SD

a: Healthy rat, b: Filtered air, c: Whole air, d: Diabetes rat, e: Mean±SD

# : p<0.05 as compared to SD+FA

§: p<0.05 as compared to SD+WA



表 4 Urine volume (ml/day)

	<b>Week 0</b>	<b>Week 4</b>	<b>Week 8</b>	<b>Week 12</b>
<b>SD<sup>a</sup>+FA<sup>b</sup></b> (n=17)	27.3±14.8 <sup>c</sup>	28.4±9.7	24.4±9.7	17.8±11.6
<b>SD+WA<sup>c</sup></b> (n=18)	19.4±7.4	28.8±8.7	24.7±7.3	17.6±2.8
<b>DM<sup>d</sup>+FA</b> (n=8)	40.5±11.1 <sup>#</sup>	42.3±8.5 <sup>#</sup>	47.6±10.5 <sup>#</sup>	40.6±11.3 <sup>#</sup>
<b>DM+WA</b> (n=8)	38.9±17.7 <sup>§</sup>	45.0±11.8 <sup>§</sup>	43.2±8.9 <sup>§</sup>	44.2±10.2 <sup>§</sup>

Values are means±SD

a: Healthy rat, b: Filtered air, c: Whole air, d: Diabetes rat, e: Mean±SD

# : p<0.05 as compared to SD+FA

§: p<0.05 as compared to SD+WA



表 5 Albumin creatinine ratio (ACR) (mg/g)

	<b>Week 0</b>	<b>Week 4</b>	<b>Week 8</b>	<b>Week 12</b>
<b>SD<sup>a</sup>+FA<sup>b</sup></b> (n=17)	16.2±10.0 <sup>c</sup>	20.1±12.2	21.0±13.1	46.4±56.8
<b>SD+WA<sup>c</sup></b> (n=18)	11.2±2.7	13.1±8.5	20.4±10.0	32.9±30.0
<b>DM<sup>d</sup>+FA</b> (n=8)	109.3±173.0 <sup>#</sup>	182.0±108.5 <sup>#</sup>	200.2±238.3 <sup>#</sup>	169.0±120.2 <sup>#</sup>
<b>DM+WA</b> (n=8)	79.1±80.9 <sup>§</sup>	265.1±496.5 <sup>§</sup>	306.7±619.8 <sup>§</sup>	267.7±433.2 <sup>§</sup>

Values are means±SD

a: Healthy rat, b: Filtered air, c: Whole air, d: Diabetes rat, e: Mean±SD

# : p<0.05 as compared to SD+FA

§: p<0.05 as compared to SD+WA



表 6 Total albumin(mg/day)

	<b>Week 0</b>	<b>Week 4</b>	<b>Week 8</b>	<b>Week 12</b>
<b>SD<sup>a</sup>+FA<sup>b</sup></b> (n=17)	2.1±1.8 <sup>c</sup>	3.9±2.7	4.5±4.0	9.2±12.5
<b>SD+WA<sup>c</sup></b> (n=18)	1.1±0.3	2.3±1.5	3.0±2.0	4.9±3.9
<b>DM<sup>d</sup>+FA</b> (n=8)	5.3±5.5 <sup>#</sup>	9.5±6.0 <sup>#</sup>	11.4±9.8 <sup>#</sup>	8.1±5.3 <sup>#</sup>
<b>DM+WA</b> (n=8)	4.4±2.5 <sup>§</sup>	13.4±26.4 <sup>§</sup>	17.2±33.2 <sup>§</sup>	13.5±20.4 <sup>§</sup>

Values are means±SD

a :Healthy rat, b :Filtered air, c:Whole air, d:Diabetes rat, e:Mean±SD

# : p<0.05 as compared to SD+FA

§ : p<0.05 as compared to SD+WA





表 7 Red blood cell related indicators

	SD <sup>a</sup> +FA <sup>b</sup>	SD+WA <sup>c</sup>	DM <sup>d</sup> +FA	DM+WA
<b>RBC<sup>f</sup></b> (10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	8.3(4.5) <sup>e</sup>	8.3(4.3)	7.8(0.7) <sup>#</sup>	7.7(0.8) <sup>§</sup>
<b>MCV<sup>g</sup></b> (μm <sup>3</sup> )	48.9(26.2)	51.6(26.7)	50.9(2.2) <sup>#</sup>	50.5(2.8)
<b>RDW%<sup>h</sup></b> (%)	15.4(8.2)	15.5(8.0)	16.8(2.1)	17.8(2.8)
<b>RDW<sup>a</sup><sub>i</sub></b> (μm <sup>3</sup> )	34.5(18.5)	37.1(19.2)	37.8(2.5) <sup>#</sup>	38.6(5.1)
<b>HCT<sup>j</sup></b> (%)	40.7(21.8)	42.9(22.2)	40.0(3.7)	38.7(3.9) <sup>§</sup>

Values are means±SD

a: Healthy rat, b: Filtered air, c: Whole air, d: Diabetes rat, e: Mean±SD, f: red blood cell, g: mean corpuscular volume, h: RBC distribution width, i: RBC distribution width absolute, j: hemotocrit

# : p<0.05 as compared to SD+FA

§: p<0.05 as compared to SD+WA

\* : p<0.05 as compared to DM+FA

表 8 Platelet related indicators

	SD <sup>a</sup> +FA <sup>b</sup>	SD+WA <sup>c</sup>	DM <sup>d</sup> +FA	DM+WA
<b>PLT<sup>f</sup></b> (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	868.0(466.9) <sup>e</sup>	881.3(457.3)	662.1(179.6) <sup>#</sup>	683.7(163.6) <sup>§</sup>
<b>MPV<sup>g</sup></b> (μm <sup>3</sup> )	7.2(3.8)	7.1(3.7)	7.2(0.3)	7.1(0.3)
<b>PDW<sup>h</sup></b> (μm <sup>3</sup> )	9.4(5.0)	9.2(4.7)	9.4(0.4)	9.4(0.3)
<b>PCT<sup>i</sup></b> (%)	0.6(0.3)	0.6(0.3)	0.5(0.1) <sup>#</sup>	0.5(0.1) <sup>§</sup>
<b>LPCR<sup>j</sup></b> (%)	10.7(5.8)	9.9(5.1)	11.2(2.2)	11.1(1.6)

Values are means±SD

a: Healthy rat, b: Filtered air, c: Whole air, d: Diabetes rat, e: Mean±SD, f: platelets, g: mean platelet volume, h: platelet distribution width, i: plateletcrit, j: large platelet cell ratio

# : p<0.05 as compared to SD+FA

§: p<0.05 as compared to SD+WA

\* : p<0.05 as compared to DM+FA

表 9 Hemoglobin related indicators

	SD <sup>a</sup> +FA <sup>b</sup>	SD+WA <sup>c</sup>	DM <sup>d</sup> +FA	DM+WA
<b>HGB<sup>f</sup></b> (g/dl)	14.4(7.7) <sup>e</sup>	15.2(7.9)	13.8(1.0)	13.5(1.3) <sup>§</sup>
<b>MCH<sup>g</sup></b> (pg)	17.4(9.3)	18.3(9.5)	17.7(1.0)	17.6(1.2)
<b>MCHC<sup>h</sup></b> (g/dl)	35.5(19.0)	35.5(18.4)	34.7(1.4)	34.8(0.8)
<b>HbA1c(%)</b>	2.5(1.3) <sup>e</sup>	3.0(1.0)	5.7(2.4) <sup>#</sup>	7.4(3.1) <sup>§*</sup>

Values are means±SD

a: Healthy rat, b: Filtered air, c: Whole air, d: Diabetes rat, e: Mean±SD, f: hemoglobin, g: mean corpuscular hemoglobin, h: mean corpuscular-hemoglobin concentration

# : p<0.05 as compared to SD+FA

§: p<0.05 as compared to SD+WA

\* : p<0.05 as compared to DM+FA

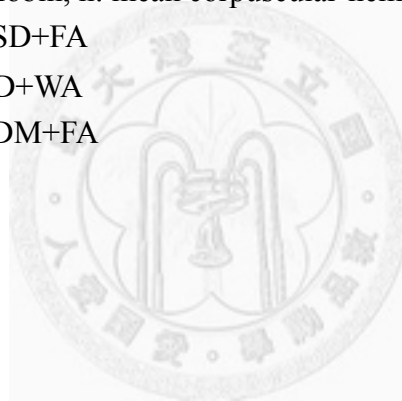


表 10 White blood cell related indicators

	SD <sup>a</sup> +FA <sup>b</sup>	SD+WA <sup>c</sup>	DM <sup>d</sup> +FA	DM+WA
<b>WBC</b> (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	4.0(2.4)	3.0(1.8)	3.3(2.2)	2.3(1.5) <sup>§*</sup>
<b>LYMF</b> (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	2.6(1.8)	2.0(1.3)	1.6(1.1) <sup>#</sup>	1.1(0.9) <sup>§</sup>
<b>GRAN</b> (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	1.1(0.6)	0.8(0.4) <sup>#</sup>	1.3(1.4)	0.9(0.7)
<b>MID</b> (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	0.3(0.2)	0.3(0.2)	0.4(0.2)	0.3(0.2)
<b>LYMF%</b> (%)	63.0(35.1)	59.9(34.4)	49.0(21.2) <sup>#</sup>	46.1(20.4) <sup>§</sup>
<b>GRAN%</b> (%)	30.0(18.0)	31.2(20.0)	41.1(20.1) <sup>#</sup>	42.3(19.2) <sup>§</sup>
<b>MID%</b> (%)	7.1(4.2)	8.9(5.7)	9.9(3.7) <sup>#</sup>	11.5(4.4) <sup>§</sup>

Values are means±SD

a: Healthy rat, b: Filtered air, c: Whole air, d: Diabetes rat, e: Mean±SD, f: Red blood cell, g: White blood cell, h: Lymphocyte, i: Granulocyte

# : p<0.05 as compared to SD+FA

§: p<0.05 as compared to SD+WA

\* : p<0.05 as compared to DM+FA

表 11 Biological indicators

	SD <sup>a</sup> +FA <sup>b</sup>	SD+WA <sup>c</sup>	DM <sup>d</sup> +FA	DM+WA
<b>GPT</b>				
<b>(IU/L)</b>	44.4(13.4)	39.7(11.8)	147.6(104.9) <sup>#</sup>	119.0(47.7) <sup>§</sup>
<b>GOT</b>				
<b>(IU/L)</b>	105.3(52.8)	68.0(25.4)	212.3(167.5)	160.5(71.8) <sup>§</sup>
<b>BUN</b>				
<b>(mg/dl)</b>	10.2(4.6)	14.0(5.8) <sup>#</sup>	31.9(15.4) <sup>#</sup>	40.2(20.7) <sup>§</sup>
<b>Crea<sup>f</sup></b>				
<b>(mg/dl)</b>	1.0(0.3)	1.2(0.4)	1.6(0.5) <sup>#</sup>	1.5(0.5)
<b>Glucose</b>				
<b>(mg/dl)</b>	170.3(41.6)	174.9(29.1)	655.5(125.0) <sup>#</sup>	670.8(125.1) <sup>§</sup>
<b>Insulin</b>				
<b>(µg/l)</b>	1.0(1.0)	1.0(0.7)	0.2(0.03) <sup>#</sup>	0.2(0.07) <sup>§</sup>
<b>T-cho<sup>g</sup></b>				
<b>(mg/dl)</b>	58.3(11.8)	57.1(7.1)	104.4(33.1) <sup>#</sup>	111.6(44.3) <sup>§</sup>
<b>TG<sup>h</sup></b>				
<b>(mg/dl)</b>	29.3(20.9)	62.3(25.3) <sup>#</sup>	257.6(92.8) <sup>#</sup>	235.6(74.9) <sup>§</sup>
<b>HDL-c/</b>				
<b>T-cho</b>	0.2(0.06)	0.2(0.09)	0.3(0.1)	0.3(0.08)
<b>Ccr<sup>i</sup></b>				
<b>(ml/min)</b>	1.4(0.6)	1.2(0.7)	0.3(0.2) <sup>#</sup>	0.3(0.2) <sup>§</sup>

Values are means±SD

a:Healthy rat, b: Filtered air, c: Whole air, d: Diabetes rat, e: Mean±SD, f: Creatinine, g: Total cholesterol, h: Triglyceride, i: Creatinine clearance

# : p<0.05 as compared to SD+FA

§: p<0.05 as compared to SD+WA

\* :  $p < 0.05$  as compared to DM+FA



表 12 Oxidative stress, inflammation, and vascular indicators

	SD <sup>a</sup> +FA <sup>b</sup>	SD+WA <sup>c</sup>	DM <sup>d</sup> +FA	DM+WA
<b>8-OhdG</b> (ng/g)	3.3(2.7) <sup>e</sup>	3.6(1.0)	16.9(9.6) <sup>#</sup>	11.9(4.5) <sup>§</sup>
<b>TNF-<math>\alpha</math></b> (pg/mL)	17.3(1.1)	16.8(0.4)	23.4(21.6)	17.2(1.0)
<b>IL-6</b> (pg/mL)	-	-	-	-
<b>NO</b> (pg/mL)	-	-	-	-

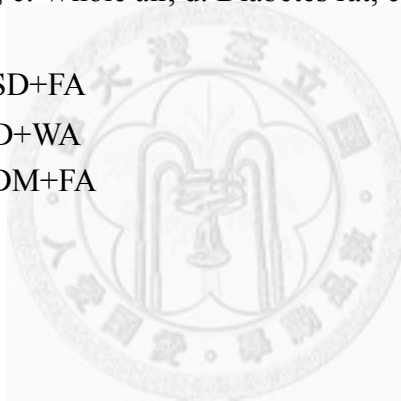
Values are means $\pm$ SD

a: Healthy rat, b:Filtered air, c: Whole air, d: Diabetes rat, e: Mean $\pm$ SD, -: under detection limit

# : p<0.05 as compared to SD+FA

§: p<0.05 as compared to SD+WA

\* : p<0.05 as compared to DM+FA



## 七、參考文獻

- Baynes, J. W. (1991). Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* **40**, 405-412.
- Bell, R. H. and Hye, R. J. (1983). Animal-models of diabetes-mellitus - physiology and pathology. *Journal of Surgical Research* **35**, 433-460.
- Brook, R. D., Franklin, B., Cascio, W., Hong, Y. L., Howard, G., Lipsett, M., Luepker, R., Mittleman, M., Samet, J., Smith, S. C. and Tager, I. (2004). Air pollution and cardiovascular disease - A statement for healthcare professionals from the expert panel on population and prevention science of the American Heart Association. *Circulation* **109**, 2655-2671.
- Brownlee, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* **414**, 813-820.
- Chang, C. C., Hwang, J. S., Chan, C. C., Wang, P. Y., Hu, T. H. and Cheng, T. J. (2005). Effects of concentrated ambient particles on heart rate variability in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Occupational Health* **47**, 471-480.
- Chang, C. C., Hwang, J.S., Chan, C.C., Wang, P.Y., Hu, T.H., Cheng, T.J., (2005). Effects of concentrated ambient particles on heart rate variability in spontaneously hypertensive heart rats. *J. Occup. Health* **47**, 471-480.
- Cheng, T. J., Hwang, J. S., Wang, P. Y., Tsai, C. F., Chen, C. Y., Lin, S. H. and Chan, C. C. (2003). Effects of concentrated ambient particles on heart rate and blood pressure in pulmonary hypertensive rats. *Environmental Health Perspectives* **111**, 147-150.
- Chuang, K. J., Yan, Y. H. and Cheng, T. J. (2010). Effect of Air Pollution on Blood Pressure, Blood Lipids, and Blood Sugar: A Population-Based Approach. *Journal of*



*Occupational and Environmental Medicine* **52**, 258-262.

Creager, M. A., Luscher, T. F., Cosentino, F. and Beckman, J. A. (2003). Diabetes and vascular disease - Pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: Part I. *Circulation* **108**, 1527-1532.

De Vriese, A. S., Verbeuren, T. J., Van de Voorde, J., Lameire, N. H. and Vanhoutte, P. M. (2000). Endothelial dysfunction in diabetes. *British Journal of Pharmacology* **130**, 963-974.

Delfino, R. J., MurphyMoulton, A. M., Burnett, R. T., Brook, J. R. and Becklake, M. R. (1997). Effects of air pollution on emergency room visits for respiratory illnesses in Montreal, Quebec. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **155**, 568-576.

Donaldson, K., Stone, V., Seaton, A. and MacNee, W. (2001). Ambient particle inhalation and the cardiovascular system: Potential mechanisms. *Environmental Health Perspectives* **109**, 523-527.

Du, X. L., Edelstein, D., Obici, S., Higham, N., Zou, M. H. and Brownlee, M. (2006). Insulin resistance reduces arterial prostacyclin synthase and eNOS activities by increasing endothelial fatty acid oxidation. *Journal of Clinical Investigation* **116**, 1071-1080.

Giugliano, D., Ceriello, A. and Paolisso, G. (1996). Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* **19**, 257-267.

Gold, D. R., Litonjua, A., Schwartz, J., Lovett, E., Larson, A., Nearing, B., Allen, G., Verrier, M., Cherry, R. and Verrier, R. (2000). Ambient pollution and heart rate variability. *Circulation* **101**, 1267-1273.

Gurgueira, S. A., Lawrence, J., Coull, B., Murthy, G. G. K. and Gonzalez-Flecha, B. (2002). Rapid increases in the steady-state concentration of reactive oxygen species

- in the lungs and heart after particulate air pollution inhalation. *Environmental Health Perspectives* **110**, 749-755.
- Hanley, A. J. G., Williams, K., Stern, M. P. and Haffner, S. M. (2002). Homeostasis model assessment of insulin resistance in relation to the incidence of cardiovascular disease - The San Antonio Heart Study. *Diabetes Care* **25**, 1177-1184.
- Hartner, A., Cordasic, N., Klanke, B., Wittmann, M., Veelken, R. and Hilgers, K. F. (2007). Renal injury in streptozotocin-diabetic Ren2-transgenic rats is mainly dependent on hypertension, not on diabetes. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* **292**, F820-F827.
- Hennes, M. M. I., Oshaughnessy, I. M., Kelly, T. M., LaBelle, P., Egan, B. M. and Kissebah, A. H. (1996). Insulin-resistant lipolysis in abdominally obese hypertensive individuals - Role of the renin-angiotensin system. *Hypertension* **28**, 120-126.
- Hoek, G., Brunekreef, B., Fischer, P. and van Wijnen, J. (2001). The association between air pollution and heart failure, arrhythmia, embolism, thrombosis, and other cardiovascular causes of death in a time series study. *Epidemiology* **12**, 355-357.
- Jeong, S. C., Jeong, Y. T., Yang, B. K., Islam, R., Koyyalamudi, S. R., Pang, G., Cho, K. Y. and Song, C. H. (2010). White button mushroom (*Agaricus bisporus*) lowers blood glucose and cholesterol levels in diabetic and hypercholesterolemic rats. *Nutrition Research* **30**, 49-56.
- Lei, Y. C., Chen, M. C., Chan, C. C., Wang, P. Y., Lee, C. T. and Cheng, T. J. (2004). Effects of concentrated ambient particles on airway responsiveness and pulmonary inflammation in pulmonary hypertensive rats. *Inhalation Toxicology* **16**, 785-792.
- Linn, W. S., Szlachcic, Y., Gong, H., Kinney, P. L. and Berhane, K. T. (2000). Air pollution and daily hospital admissions in metropolitan Los Angeles. *Environmental Health Perspectives* **108**, 427-434.

- Mima, A., Matsubara, T., Arai, H., Abe, H., Nagai, K., Kanamori, H., Sumi, E., Takahashi, T., Iehara, N., Fukatsu, A., Kita, T. and Doi, T. (2006). Angiotensin II-dependent Src and Smad1 signaling pathway is crucial for the development of diabetic nephropathy. *Laboratory Investigation* **86**, 927-939.
- Mori, D. M., Baviera, A. M., Ramalho, L. T. D., Vendramini, R. C., Brunetti, I. L. and Pepato, M. T. (2003). Temporal response pattern of biochemical analytes in experimental diabetes. *Biotechnology and Applied Biochemistry* **38**, 183-191.
- Nadziejko, C., Fang, K. J., Narciso, S., Zhong, M. H., Su, W. C., Gordon, T., Nadas, A. and Chen, L. C. (2004). Effect of particulate and gaseous pollutants on spontaneous arrhythmias in aged rats. *Inhalation Toxicology* **16**, 373-380.
- O'Neill, M. S., Veves, A., Zanobetti, A., Sarnat, J. A., Gold, D. R., Economides, P. A., Horton, E. S. and Schwartz, J. (2005). Diabetes enhances vulnerability to particulate air pollution - Associated impairment in vascular reactivity and endothelial function. *Circulation* **111**, 2913-2920.
- Pope, C. A., Burnett, R. T., Thun, M. J., Calle, E. E., Krewski, D., Ito, K. and Thurston, G. D. (2002). Lung cancer, cardiopulmonary mortality, and long-term exposure to fine particulate air pollution. *Jama-Journal of the American Medical Association* **287**, 1132-1141.
- Pope, C. A., Dockery, D. W., Kanner, R. E., Villegas, G. M. and Schwartz, J. (1999). Oxygen saturation, pulse rate, and particulate air pollution - A daily time-series panel study. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **159**, 365-372.
- Salimuddin, K. C. U. and Baquer, N. Z. (1996). Effects of vanadate and insulin on the activities of selected enzymes of amino acid metabolism in alloxan diabetic rat kidney. *Biochemistry and Molecular Biology International* **40**, 853-860.
- Samet, J. M., Dominici, F., Curriero, F.C., Coursac, I., Zeger, S.L., (2000). Fine

- particulate air pollution and mortality in 20 U.S. cities, 1987-1994. *N. Engl. J. Med.* **343**, 1742-1749.
- Schwartz, J. (2000). The distributed lag between air pollution and daily deaths. *Epidemiology* **11**, 320-326.
- Schwartz, J. (2001 ). Air pollution and blood markers of cardiovascular risk. *Environmental Health Perspectives* **109**, 405-409.
- Schwartz, J., Dockery, D. W., Neas, L. M., Wypij, D., Ware, J. H., Spengler, J. D., Koutrakis, P., Speizer, F. E. and Ferris, B. G. (1994). ACUTE EFFECTS OF SUMMER AIR-POLLUTION ON RESPIRATORY SYMPTOM REPORTING IN CHILDREN. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **150**, 1234-1242.
- Seaton, A., Macnee, W., Donaldson, K. and Godden, D. (1995). Particulate air-pollution and acute health-effects. *Lancet* **345**, 176-178.
- Seaton, A., Soutar, A., Crawford, V., Elton, R., McNerlan, S., Cherrie, J., Watt, M., Agius, R. and Stout, R. (1999). Particulate air pollution and the blood. *Thorax* **54**, 1027-1032.
- Shen, J. G., Yao, M. F., Chen, X. C., Feng, Y. F., Ye, Y. H. and Tong, Z. H. (2009). Effects of puerarin on receptor for advanced glycation end products in nephridial tissue of streptozotocin-induced diabetic rats. *Molecular Biology Reports* **36**, 2229-2233.
- Sirivelu, M. P., MohanKumar, S. M. J., Wagner, J. G., Harkema, J. R. and MohanKumar, P. S. (2006). Activation of the stress axis and neurochemical alterations in specific brain areas by concentrated ambient particle exposure with concomitant allergic airway disease. *Environmental Health Perspectives* **114**, 870-874.
- Spranger, J., Kroke, A., Mohlig, M., Hoffmann, K., Bergmann, M. M., Ristow, M.,

- Boeing, H. and Pfeiffer, A. F. H. (2003). Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes - Results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam study. *Diabetes* **52**, 812-817.
- Sun Q, Y. P., Deiluiis JA et al. (2009). Ambient air pollution exaggerates adipose inflammation and insulin resistance in a mouse model of diet-induced obesity. *Circulation* **119**, 538-46.
- Sun, Q. H., Yue, P., Deiluiis, J. A., Lumeng, C. N., Kampfrath, T., Mikolaj, M. B., Cai, Y., Ostrowski, M. C., Lu, B., Parthasarathy, S., Brook, R. D., Moffatt-Bruce, S. D., Chen, L. C. and Rajagopalan, S. (2009). Ambient Air Pollution Exaggerates Adipose Inflammation and Insulin Resistance in a Mouse Model of Diet-Induced Obesity. *Circulation* **119**, 538-U91.
- Suwa, T., Hogg, J. C., Quinlan, K. B., Ohgami, A., Vincent, R. and van Eeden, S. F. (2002). Particulate air pollution induces progression of atherosclerosis. *Journal of the American College of Cardiology* **39**, 935-942.
- Tabata, T., Okuno, Y., Fujii, S., Kimura, S. and Kinoshita, Y. (1984). Maturation impairment of thymic lymphocytes in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Cellular Immunology* **89**, 250-258.
- Toshio Doi, A. M., Takeshi Matsubara, Tatsuya Tominaga, Hidenori Arai, Hideharu Abe (2008). The current clinical problems for early phase of diabetic nephropathy and approach for pathogenesis of diabetic nephropathy. *Diabetes research and clinical practice* **82s**.
- Tsai, S. S., Goggins, W. B., Chiu, H. F. and Yang, C. Y. (2003). Evidence for an association between air pollution and daily stroke admissions in Kaohsiung, Taiwan. *Stroke* **34**, 2612-2616.

- Wellenius, G. A., Coull, B. A., Godleski, J. J., Koutrakis, P., Okabe, K., Savage, S. T., Lawrence, J. E., Murthy, G. G. K. and Verrier, R. L. (2003). Inhalation of concentrated ambient air particles exacerbates myocardial ischemia in conscious dogs. *Environmental Health Perspectives* **111**, 402-408.
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R. and King, H. (2004). Global prevalence of diabetes - Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* **27**, 1047-1053.
- Zanobetti, A. and Schwartz, J. (2001). Are diabetics more susceptible to the health effects of airborne particles? *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **164**, 831-833.
- Zanobetti, A. and Schwartz, J. (2002). Cardiovascular damage by airborne particles: Are diabetics more susceptible? *Epidemiology* **13**, 588-592.
- Zeka, A., Zanobetti, A. and Schwartz, J. (2006). Individual-level modifiers of the effects of particulate matter on daily mortality. *American Journal of Epidemiology* **163**, 849-859.
- Zimmet, P., Alberti, K. and Shaw, J. (2001). Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature* **414**, 782-787.