

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

以縱貫式研究方法探討煉焦工人 PAHs 暴露之基因氧化傷害

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC94-2314-B-040-035-

執行期間：94年08月01日至95年07月31日

執行單位：中山醫學大學公共衛生系

計畫主持人：胡瓊文

共同主持人：吳焜裕

計畫參與人員：侯敏婷

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫涉及專利或其他智慧財產權，2年後可公開查詢

中 華 民 國 95 年 10 月 27 日

## 以縱貫式研究方法探討煉焦工人 PAHs 暴露之基因氧化傷害(2/2)

計劃主持人: 胡瓊文

### 摘要

多環芳香烴化合物 (PAHs)是已知的人類致癌物。煉焦工人由於長期暴露在高濃度的 PAHs 中，許多流行病學的研究已經發現到煉焦工人罹癌的機率較一般人高。其一可能致癌的原因是 PAHs 暴露造成的基因氧化傷害。PAHs 在體內代謝的過程中會產生許多活性含氧物質(ROS)有可能導致基因氧化傷害。8-羥基去氧鳥糞嘌呤核 (8-OHdG, so called 8-oxodGuo)是常見的基因氧化傷害且其定量已被廣泛用來當做體內基因氧化傷害的生物標記。過去的研究已發現到煉焦工人的尿液中的 8-OHdG 明顯高於一般控制組。然而甚少研究探討尿液中 8-oxodGuo 與 PAHs 尿液代謝物(1-羥基芘,1-OHP)兩者間的相關性。

對於生物體內中 8-oxodGuo 之定量，在過去已發展許多分析方法來準確定量，包括高效液相層析儀配合電化學偵測(HPLC-ECD)，氣相層析質譜儀(GC-MS)，液相層析串聯質譜儀(LC-MS/MS)及酵素連結免疫吸附分析 (enzyme-link immunosorbent assay, 簡稱 ELISA)。其中以 LC-MS/MS 分析方法其特異性及敏感性高、樣品前處理簡單加上可配合使用同位素稀釋法(isotope dilution)，所以此方法可說是當前最精準的定量方法。

本研究中將以 60 位煉焦廠員工為測試對象。以縱貫式研究方法 (longitudinal study) 探討煉焦工人 PAHs 暴露之基因氧化傷害，同時試圖瞭解基因氧化傷害與 1-羥基芘 (1-OHP) 的相關性。計畫執行時間共需兩年。第一年主要是採用貫時性的追蹤調查研究方法，針對煉焦爐工廠各暴露族群進行上工前下工後連續尿液採樣、個人空氣採樣分析(PAHs) 與問卷調查。並同時開發 8-oxodGuo 自動化連線固相萃取方法(on-line solid phase extraction)，樣本經自動萃取後連線可直接注入 LC-MS/MS 進行分析。第二年主要將已開發的分析方法大量運用於尿液中 8-oxodGuo 的定量來探討：

1. PAHs 暴露下，體內 DNA 氧化傷害隨工作週期的變化
2. PAHs 體內代謝物(1-OHP)與 DNA 氧化傷害的相關性 (兩者出現在尿液中的時程與順序)
3. 下一工作週期上工前，尿液中 8-oxodGuo 及 1-OHP 的含量是否能降回到上一工作週期上工前的背景值
4. 尿液中基因氧化傷害指標 8-oxodGuo 與尿液急毒性間之關連性

關鍵字：8-oxodGuo; 尿液; 煉焦工廠; 多環芳香烴化合物; 基因多型性; 致突變性

# **A longitudinal study of oxidative DNA damage for PAHs exposed coke oven workers**

Chiung-Wen Hu

## **Abstract**

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are considered human carcinogens. Coke oven workers are occupationally exposed to high concentrations of PAHs. Epidemiologic studies demonstrate increased cancer incidence among the workers exposed to PAHs, probably through cumulative oxidative DNA damage. It has been suggested that various reactive oxygen species (ROS) can be generated and can further cause oxidative DNA damage during PAHs metabolism. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG, so called 8-oxodGuo) is one of the major oxidative DNA damage formed by radical-induced damage at C-8 position of guanine and has been regard as the biomarker of oxidative stress. Previous studies have showed that a significant increase of 8-oxodGuo in urine among coke oven workers. However, little information was found in the association between the level of 8-oxodGuo and the major urinary metabolite of PAHs (1-OHP).

Several methods have been applied for analysis of 8-oxodGuo, such as high performance liquid chromatography with electrochemical detection (HPLC-ECD), gas chromatography with mass spectrometry (GC-MS), liquid chromatography with tandem mass (LC-MS/MS), and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Among these methods, LC-MS/MS has a high sensitivity and selectivity, and can be applied with the isotope-dilution method, such analytical technique is the most accurate and reliable analytical method. However, it was noted that most previous efforts on the determining of 8-oxodGuo was made by ELISA rather than LC-MS/MS.

In the present study, our aim is to investigate the association between the level of 8-oxodGuo and exposure biomarker of PAHs (1-OHP). We will conduct a longitudinal study in coke oven workers. Preshift and postshift urine samples were collected consecutively and analyzed for 8-oxodGuo and 1-OHP. The level of 8-oxodGuo will be measured by our newly developed isotope dilution LC-MS/MS method. This two-years project is aimed to answer the following questions:

1. The variation of oxidative DNA damage in coke oven workers during working period.
2. The association between urinary 1-OHP and 8-oxodGuo in coke oven workers, including
  - the time and order of appearance after exposed to PAHs
  - the relative amounts
3. The association between urinary toxicity and oxidative DNA damage in coke oven workers

*Keywords:* 8-oxodGuo; urine; coke-oven plant; PAHs; polymorphism; toxicity

## 一、 研究目的

### 第一年

建立 "液相層析串聯質譜儀(LC-MS/MS)配合同位素稀釋法" 之分析技術能夠準確分析生物樣本之 8-oxodGuo 含量

1. 合成 8-oxodGuo 之同位素內標準品  $^{15}\text{N}_5$ -8-oxodGuo。(因分析樣本數量需再合成)
2. 運用 LC-MS/MS 配合同位素稀釋法分析 8-oxodGuo 之方法建立。(已成功建立)
3. 開發 8-oxodGuo 連線固相萃取方法(on-line solid phase extraction), 樣本經自動萃取後連線直接注入 LC-MS/MS 進行分析。未來尿樣加入同物素內標後, 不需經前處理可直接上機分析, 大大節省分析之時間與耗材, 同時可快速連續分析大量樣本。
4. 採用貫時性的追蹤調查研究(longitudinal study)方法, 針對煉焦爐工廠各暴露族群進行尿液採樣、個人空氣採樣分析(PAH)與問卷調查。

### 第二年

運用建立的「連線固相萃取法」搭配「同位素稀釋-LC-MS/MS 分析法」, 分析煉焦爐爐頂工人(高暴露族群) 以及爐側工人(低暴露族群)各連續時間點之尿液 8-oxodGuo 含量。同時與其他分析資料比對, 以探討以下幾點:

1. 不同程度的 PAHs 暴露下(高、低暴露), 體內 DNA 氧化傷害隨工作週期的變化
2. PAHs 體內代謝物與 DNA 氧化傷害的相關性; 兩者出現在尿液中的時程與順序;
3. 下一工作週期上工前, 尿液中 8-oxodGuo 及 1-OHP 的含量是否能降回到上一工作週期 上工前的背景值。
4. 探討尿液中基因氧化傷害指標 8-oxodGuo 與尿液毒性間之關連性, 試圖瞭解 PAHs 暴露者若尿液有較高的毒性是否在代謝過程中同時也造成體內較嚴重的氧化傷害。(未來將與中山醫學大學職安系趙木榮博士合作)

## 二、 研究方法

本研究將以煉焦爐爐頂工人(高暴露族群) 以及爐側工人(低暴露族群)為研究族群, 並採集不同時間點之尿液, 以進行 8-oxodGuo 分析。藉以比較在不同程度 PAHs 暴露之下尿液中 8-oxodGuo 含量的改變, 同時觀察尿液中 8-oxodGuo 含量及 PAHs 代謝物隨著採樣時間點的變化。

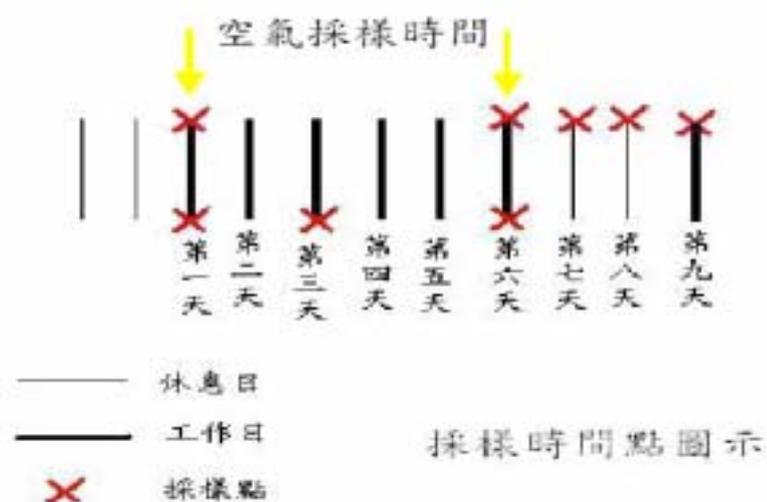
### 研究族群

本計畫研究的高暴露組與低暴露組皆來自高雄市中鋼公司的男性員工。各採 30-50 位員工。高、低暴露組分別為中國鋼鐵公司煉焦爐爐頂以及爐側的男性員工, 包括外包廠商(得亨公司), 此為主要之 PAHs 暴露族群。

### 收樣規劃

由於中鋼煉焦爐員工工作週期為工作六天休息兩天, 為採集代表不同時間點之尿液樣本, 因此選定採樣時間點為「休息兩天後第一天上工前、第一天下工後、第三天下工後、第六天上工前、第六天下工後、第七天未上班早上、第八天未上班早上以及第九天上班前」共八個時間點的樣本(如下圖所示)。同時於第一天及第六天進行個人空氣採樣以分析

空氣中 PAHs 濃度，以瞭解個人暴露的實際狀況。



圖一 採樣時間

### 問卷調查

同時請員工填寫問卷，問卷內容主要如下：

1. 基本資料：  
包括員工的姓名、出生年月、身高、體重、學歷等資料。
2. 作業狀況：  
包括最近進出廠區的情形、是否佩帶防護口罩、工作輪班情形、以及之前是否有相關暴露之工作經驗。
3. 身體狀況：  
主要為詢問員工身體之各部位、器官之健康情形，可分為肝臟、膽囊、皮膚、呼吸以及其他 等項目。
4. 吸菸、檳榔、飲酒史和其他：  
包括吸菸、吃檳榔、飲酒的習慣(或是戒掉以前之習慣)、最近一星期的吸菸、吃檳榔、飲酒之情形。
5. 工作狀況：  
包括現在所在單位、職稱、開始工作的時間、工作時環境的情形、工作中是否佩帶防護具 等資料。
6. 其他  
過去吃保健藥品、維他命的情形、上班交通工具以及家離公司的距離 等資料。

### 個人空氣採樣與分析

空氣中個人 PAHs 之採樣與分析，主要參考 1994 年美國 NIOSH (NIOSH, 5515) 及 Tsai et al. (2001) 之建議方法，係以 IOM 個人可吸入性氣膠採樣器串聯結合 XAD-2 捕集管，收集氣固相 PAHs。PAHs 之樣本分析程序主要包括萃取、濃縮、淨化、再濃縮並利用 GC/MS，分析所採集之 PAHs。

本研究主要針對空氣樣本中 16 種 PAHs 進行分析(標準品採用 Supelco EPA 610 PAHs Mix) , 包含 Naphthalene、Acenaphthylene、Acenaphthene、Fluorene、Phenanthrene、Anthracene、Fluoranthene、Pyrene、Benz(a)anthracene、Chrysene、Benzo(b)fluoranthene、Benzo(k)fluoranthene、Benzo(a)pyrene、Indeno(1,2,3-cd)pyrene、Dibenz(a,h)anthracene 、 Benzo(ghi)perylene。

### 尿液中 8-oxodGuo 分析

尿液中 8-oxodGuo 分析方法是依照新建立的「連線固相萃取法」搭配「同位素稀釋-LC-MS/MS」分析法 (Hu et al., 2006)。尿液稀釋 10 倍後加入同位素內標準品  $^{15}\text{N}_5$ -8-oxodGuo 後上機分析。其相關細節詳述於“研究成果與討論”。

本研究中所使使用的貴重儀器 LC-MS/MS 由國家衛生研究院環境衛生與職業醫學研究組提供。其組成由一個 PE 200 之自動取樣器及二個 PE 200 micro pump 所組成 (Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA)連接一三段式四極棒串聯質譜儀(API 3000, Applied Biosystem)。

### 尿液中 1-OHP 分析

尿液中 1-OHP 分析方法是參考 Tsai et al., (2001)所建立的分析方法。主要是利用高效液相層析儀-螢光偵測器(HPLC-FLD)。其分析條件如下：

**表一 尿液中 1-OHP HPLC-FLD 分析條件**

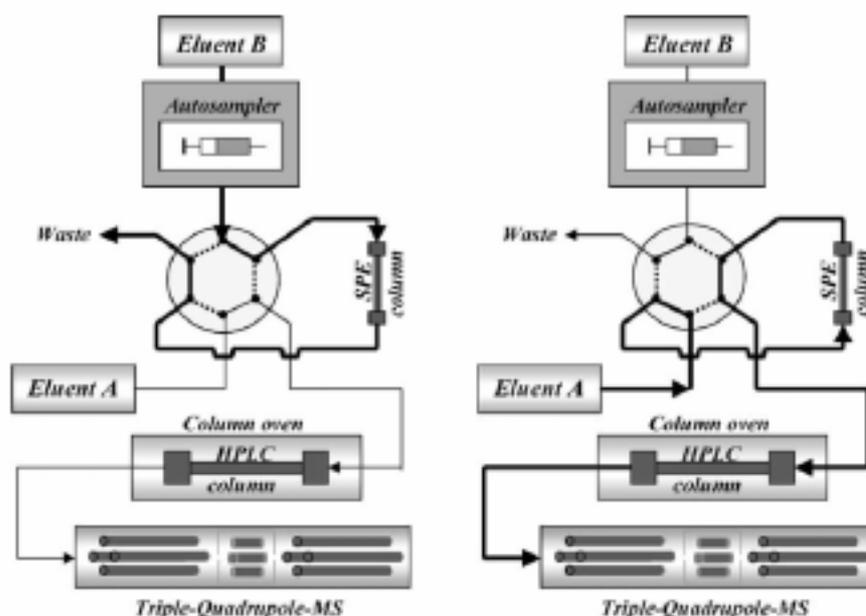
HPLC (autosampler/pump)	Hitachi L-7200
Hitachi L-6200 Fluorescence detector	Hitachi F-1080
Flow rate	1.5 ml/min
Injection volume	10 $\mu\text{l}$
Mobile phase	70% acetonitrile
Wave length (nm)	Ex: 241 ; Em: 388

### 三、 研究成果與討論

#### 第一年

##### 1. 8-oxodGuo 連線固相萃取方法開發

如下圖所示，連線固相萃取方法(on-line solid phase extraction)的原理主要是利用在高效液相層析儀的分析管柱前加裝另一支固相萃取管柱(SPE column)與一轉換閥(Switching valve)，樣本注入後可自動萃取且連線直接進入 LC-MS/MS 進行分析。尿樣添加同位素內標後直接置於自動注射系統(Autosampler)上，樣本在注射進入系統後，先被 Eluent B 帶至固相萃取管柱(SPE column)進行吸附與淨化。接著藉由轉換閥轉位，利用 Eluent A 將待測物反沖提而出並進入 LC-MS/MS 系統分析。



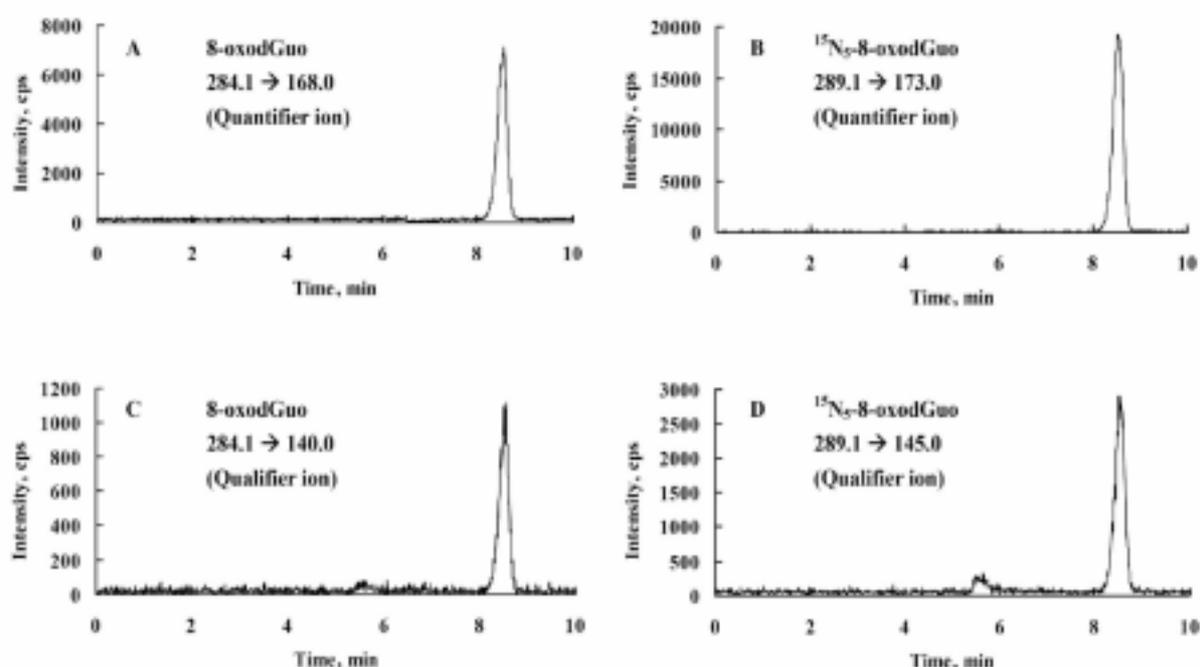
圖二 On-line SPE-HPLC-MS/MS 系統示意圖 (Koal et al., 2004)

本研究已成功建立「連線固相萃取」搭配「同位素稀釋-LC-MS/MS 分析法」(On-line SPE-LC-MS/MS)於尿液 8-oxodGuo 之分析。其相關研究成果已發表於知名國際期刊 (Clinical Chemistry, 2006; SCI, Impact Factor = 7.717)。此分析方法具高敏感度及特異性。此方法擁有極佳的偵測極限(5.7 ng/L; 2.0 fmol on column)與再現性(inter- and intraday impression < 5%)。尿液樣本經適度稀釋再加入同位素內標後不需前處理即可上機分析，分析時間只需 10 min，可大大節省分析之時間與耗材且能快速連續處理大量樣本。另外因所需尿液量甚少(~20 $\mu$ L)，亦可減少樣本儲存所需空間。未來甚至可廣泛運用在臨床檢驗分析上。其分析條件及層析圖譜分別列於如下表及圖。

表二 尿液 8-oxodGuo 之 On-line SPE LC-MS/MS 分析條件

Time, min	Eluent I (trap column)		Eluent II <sup>c</sup> (analytical column)	Valve position	Flow rate, mL/min	Remarks
	Solvent Ia, <sup>a</sup> %	Solvent Ib, <sup>b</sup> %				
0	100	0	100	A	1	Injection and washing of sample
4	100	0	100	B	1	Start of elution to the analytical column
6	100	0	100	A	1	End of elution; trap column cleanup and reconditioning
8	0	100	100	A	1	
9	100	0	100	A	1	
10	100	0	100	A	1	

<sup>a</sup> 50 mL/L methanol-1 mL/L FA.  
<sup>b</sup> 500 mL/L methanol-1 mL/L FA.  
<sup>c</sup> 850 mL/L methanol-1 mL/L FA.



圖三 8-oxodGuo 連線固相萃取層析圖譜

## 2. 個人空氣採樣及 PAHs 分析

本研究族群為高雄中國鋼鐵公司之煉焦爐工人，煉焦爐工人為此鋼鐵公司主要 PAHs 暴露族群，又依其工作位置不同分為爐頂及爐側。我們與高雄醫學大學職安所吳明蒼醫師及中山醫學大學職安系趙木榮博士合作，進行空氣 PAHs 採樣與分析，同時工作週期內連續收集尿液。參與本研究空氣樣本採樣的人員：爐頂工人（高暴露組）共計 18 人；爐側工人（低暴露組）共計 41 人。空氣採樣時間點有兩點，分別為每位工人工作週期的第一個以及最後一個工作天，共得 108 個空氣樣本（有十位工人於採樣期間曾請假一次）。經過萃取後分析，爐頂工人 pyrene 平均暴露濃度為 481.89 ng/m<sup>3</sup>，total PAHs 平均暴露量則為 8357.44 ng/m<sup>3</sup>。爐側工人 pyrene 平均暴露濃度為 72.17 ng/m<sup>3</sup>，total PAHs 平

均暴露為 1196.81 ng/m<sup>3</sup>。(如下表三所示)

爐頂工人由於其工作位於煉焦爐之頂端且設有開口，當開口打開時，大量氣、粒狀 PAHs 會由開口噴出。煉焦爐爐頂空氣中大部分的 PAHs (包含 pyrene) 濃度明顯高於爐側。因此，本研究是將爐頂工人設定為高暴露族群，爐側工人則是低暴露族群應為合理(如下圖四、五所示)。當然可以預期的，爐頂工人尿液中可能也會有較高的 pyrene 代謝物 1-hydroxypyrene (1-OHP)。

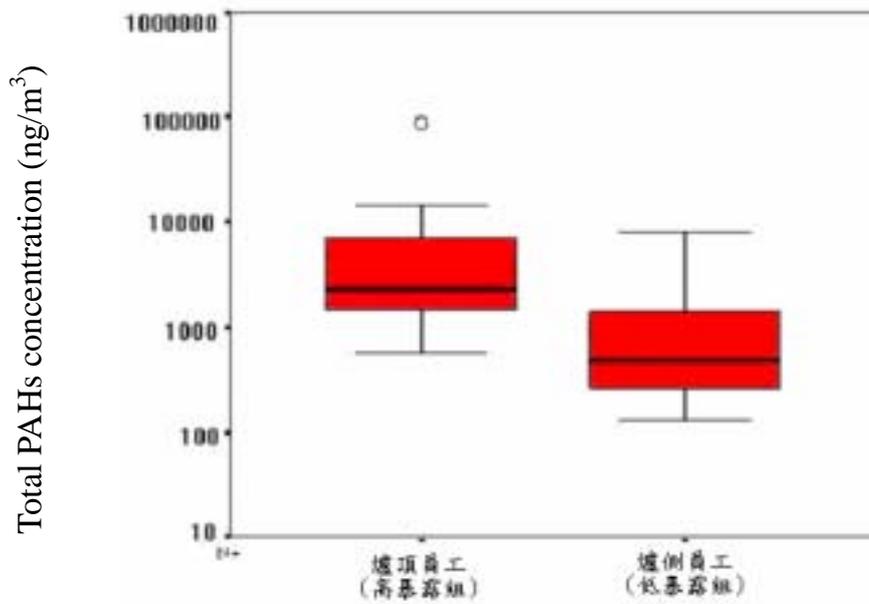
**表三 煉焦族群可吸入性粉塵 PAHs 暴露分析**

PAHs	爐頂工人 (高暴露組)	爐側工人 (低暴露組)	p-value
Naphthalene	33.92 ± 4.14	85.36 ± 40.39	0.169
Acenaphthylene	2.18 ± 1.30	0.67 ± 0.38	0.01*
Acenaphthene	n.d.	1.72 ± 0.76	-
Fluorene	4.93 ± 1.40	3.34 ± 0.98	0.002*
Phenanthrene	88.91 ± 28.91	44.33 ± 9.26	0.027*
Anthracene	29.45 ± 12.31	13.27 ± 3.20	0.034*
Fluoranthene	585.35 ± 353.74	76.25 ± 17.53	0.003*
Pyrene	481.89 ± 277.86	72.17 ± 16.16	0.003*
Benzo(a)anthracene	1101.21 ± 632.17	96.06 ± 22.14	0.002*
Chrysene	794.86 ± 376.84	93.45 ± 23.80	< 0.001*
Benzo(b)fluoranthene	1667.04 ± 802.24	221.61 ± 49.42	0.002*
Benzo(k)fluoranthene	587.09 ± 256.70	78.70 ± 15.77	0.003*
Benzo(a)pyrene	1307.24 ± 714.75	131.57 ± 34.87	0.003*
Indeno(1,2,3-cd)pyrene	891.03 ± 447.72	133.58 ± 35.60	0.003*
Dibenzo(a,h)anthracene	227.15 ± 126.71	32.50 ± 9.13	0.005*
Benzo(g,h,i)perylene	555.25 ± 244.62	111.21 ± 29.38	0.003*
Total PAHs	8357.44 ± 4261.46	1196.82 ± 265.56	0.002*

n.d. 低於儀器偵測極限

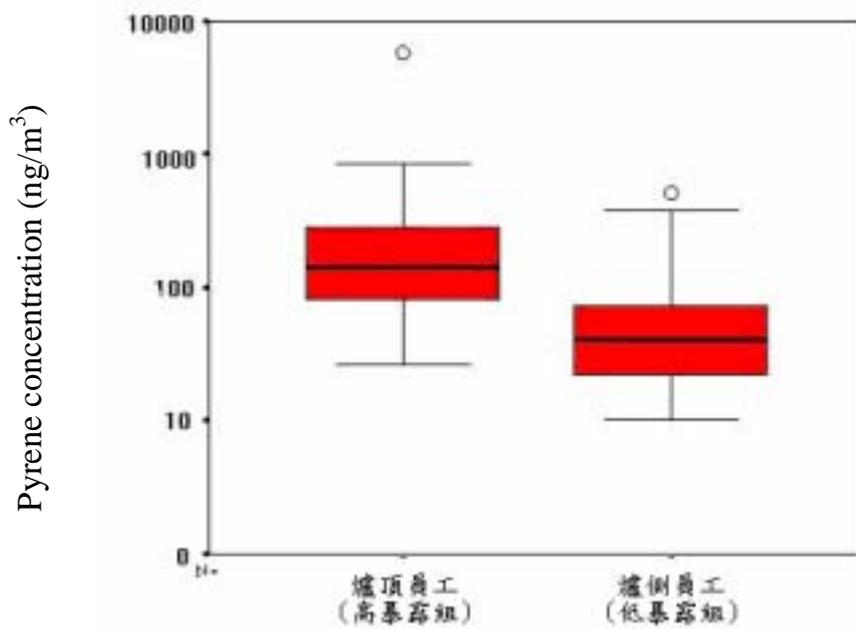
單位：mean ± SE (ng/m<sup>3</sup>)

\* p < 0.05



圖四 爐頂與爐側工人之總 PAHs 暴露比較(包含偏離值)

\*兩組之差異達顯著意義：p = 0.02



圖五 爐頂與爐側工人之 pyrene 暴露比較(包含偏離值)

\*兩組之差異達顯著意義：p = 0.003

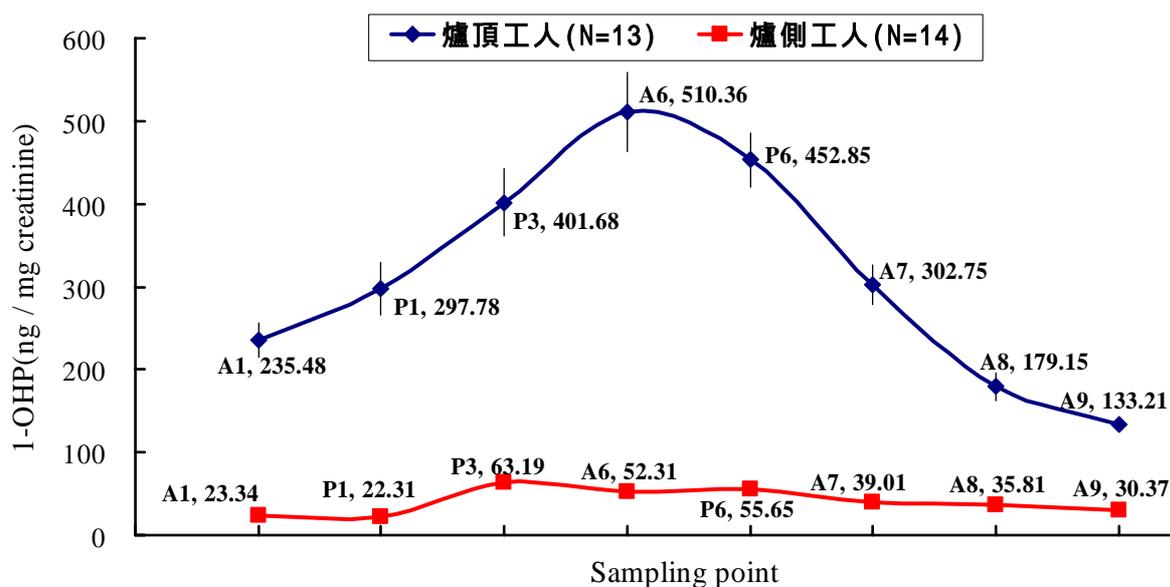
## 第二年

### 3. 縱貫式追蹤煉焦工人尿液中 1-OHP 變化

我們以縱貫式的追蹤調查研究法(longitudinal study)，針對煉焦工人各暴露族群收集尿液並進行 1-OHP 及 8-oxodGuo 分析，以探討 PAHs 暴露造成基因氧化傷害在時間序列上的變化。

圖六為煉焦工人尿液 1-OHP 在經過 creatinine 校正後之分析結果。爐頂工人 8 個時間點尿液中的 1-OHP 平均濃度介於 133.21 ~ 510.36 ng / mg creatinine，爐側工人則為 22.31 ~ 63.19 ng / mg creatinine。8 個時間點平均的 1-OHP 濃度，爐頂工人皆顯著高於爐側工人 ( $P < 0.01$ )。爐頂工人第一天開始上班後，體內 1-OHP 即開始逐漸累積，從第一天上班前的 235.48 ng / mg creatinine，可升到最高點 510.36 ng / mg creatinine (第六天上班前)。直到第七天開始休息，體內 1-OHP 才明顯降低，到了第九天上班前，1-OHP 在體內的濃度又回到與第一天相近的濃度。即爐頂工人在第一天上班前與第九天上班前之尿液 1-OHP 濃度並未達顯著之差異 ( $P = 0.15$ )。相對於爐頂工人，爐側工人尿液中 1-OHP 變化較不明顯，其最高值為 63.19 ng / mg creatinine (第三天下班前)，最低值為 22.31 ng / mg creatinine (第一天下班前)。同樣地，爐側工人在第一天上班前與第九天上班前尿液中 1-OHP 濃度也未達到顯著的差異 ( $P = 0.074$ )。

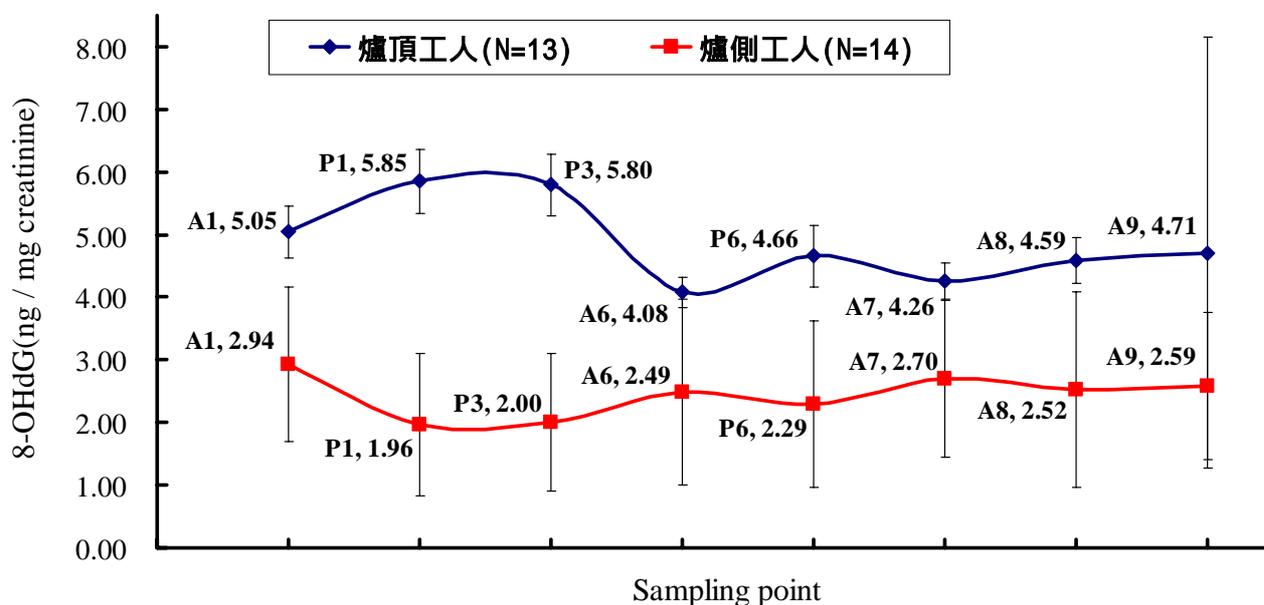
本研究中爐頂與爐側工人尿液 1-OHP 濃度與 Wu 等人於 1998 年所做的煉焦爐研究結果相近。其所測得爐頂工人與爐側工人尿液中 1-OHP 濃度分別為 334 ng / mg creatinine 及 57 ng / mg creatinine。至於非煉焦工人體內 1-OHP 值，根據 Jongeneelen 等人(1990)所做研究發現，一般沒有抽煙民眾其體內 1-OHP 濃度值約為 0.3265 ng / mg creatinine；抽煙者則為 0.9795 ng / mg creatinine。根據上述文獻，煉焦工人體內 1-OHP 濃度，遠比一般非職業暴露吸煙者高許多。這表示煉焦行業所造成的 PAHs 暴露遠高於吸煙行為，將嚴重危及工人健康。



圖六 爐頂與爐側工人之尿液 1-OHP 時序變化

#### 4. 縱貫式追蹤煉焦工人尿液中 8-oxodGuo 變化

如圖七所示，尿液中 8-oxodGuo 隨暴露時序而變化。爐頂工人在整個工作週期，其尿液 8-oxodGuo 平均濃度介於 4.08~5.85 ng/mg creatinine，爐側工人平均濃度則介於 1.96~2.94 ng/mg creatinine。當使用 Student *t*-statistic 探討兩族群 8 個時間點的 8-oxodGuo 平均值，爐頂工人顯著高於爐側工人( $P < 0.01$ )。顯示爐頂工人在整個工作週期內皆遭受明顯較高的基因氧化傷害。然而相較於爐頂工人 1-OHP 的明顯變化，8-oxodGuo 在整個工作週期內則差異不大。這可能導因於：1.PAHs 在體內具有累積性，其所造成的基因氧化傷害可能是長期性的，因此無法在工作週期內反映出明顯變化；2.爐頂暴露所造成的基因氧化傷害過大，遠超過體內的 DNA 修復能力(repair capacity)，因此尿液中的 8-oxodGuo 只能反映出體內修復能力的變化。此外圖七結果同時顯示，爐頂工人在連續兩天休息的期間，其尿液的 8-oxodGuo 值並沒有明顯的下降 ( $P = 0.43$ )。亦即對於爐頂工人而言，兩天的休息似乎是不夠的，並無法有效的降低體內基因氧化傷害。

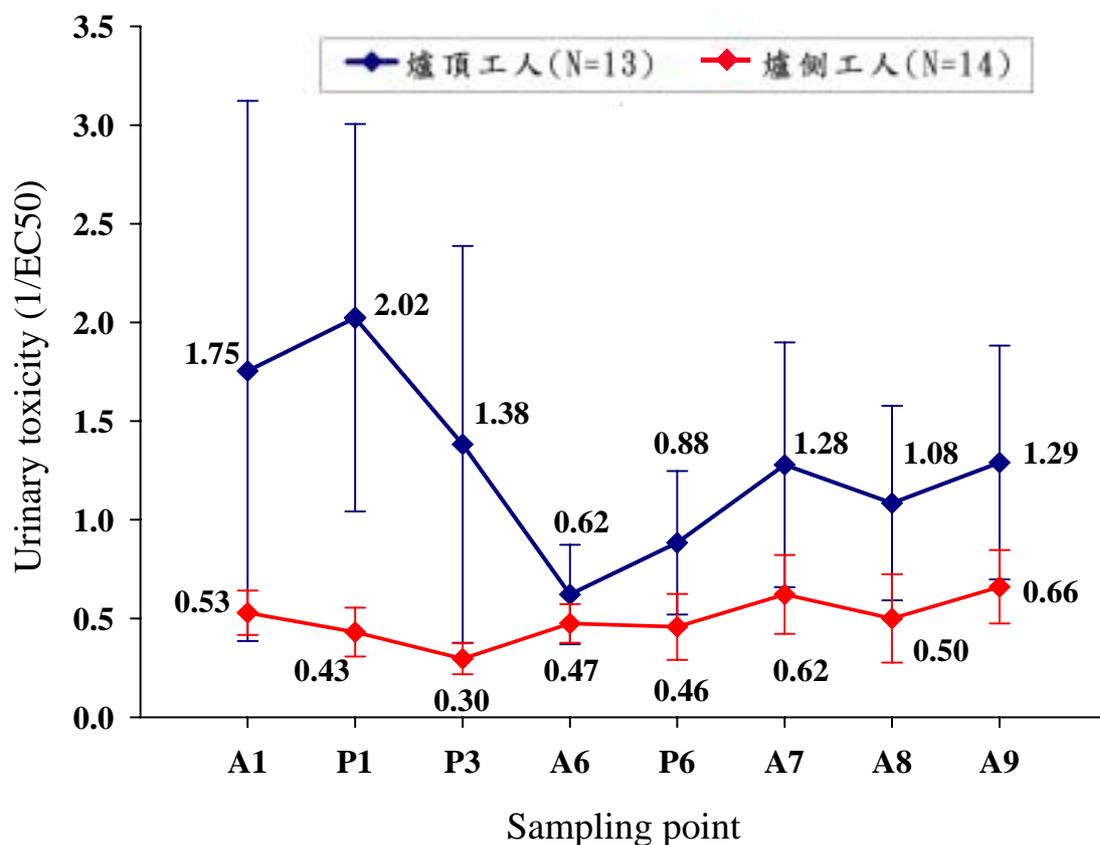


圖七 爐頂與爐側工人之尿液 8-oxodGuo 時序變化

#### 5. 縱貫式追蹤煉焦工人尿液毒性變化

圖八顯示煉焦工人尿液毒性時序變化。此部份研究是與中山醫學大學職安系趙木榮博士合作，主要是利用螢光菌毒性測試系統(Microtox)評估其尿液急毒性。爐頂工人在整個工作週期，其尿液毒性平均介於 0.62~2.02 TU(1/EC50)，爐側工人平均濃度則介於 0.30~0.66 TU(1/EC50)。當使用 Student *t*-statistic 探討兩族群 8 個時間點的尿液毒性平均值，爐頂工人顯著高於爐側工人( $P < 0.01$ )。顯示爐頂工人在整個工作週期內因職業暴露而造成尿液中皆呈現出較高的急毒性。然而相較於爐頂工人 1-OHP 的明顯變化，尿液毒

性在整個工作週期內則差異不大且與尿液 8-oxodGuo 變化相似。相似之處包括:1.最低點皆發生在 A6 (第六天上工前)、 2. 最高點發生在 P1(第一天下工後)、3.連續兩天休息的期間，其尿液的 8-oxodGuo 值與毒性皆沒有明顯的下降 ( $P>0.05$ )。由這結果可推測煉焦工人在工作場所暴露到毒性物質且毒性物質本身或在體內代謝過程中會導致基因的氧化傷害增加。



圖八 爐頂與爐側工人之尿液毒性時序變化

#### 四、計畫結果自評

本計畫執行兩年，研究結果共計已發表 1 篇 SCI 期刊、3 篇國內外會議論文、另有部份結果尚在撰寫中。成果豐碩。本研究初步嘗試以不同於先前的縱貫式研究法來進行尿液採樣，以探討 PAHs 體內代謝物(劑量)與 DNA 氧化傷害(反應)在時序上的相關性。結果證實高暴露族群因高外在暴露劑量造成體內基因氧化傷害相較於低暴露族群嚴重。本研究曾嘗試以使用 Repeat measurement 統計分析法進一步探討 PAHs 體內代謝物(劑量)與 DNA 氧化傷害(反應)兩者出現在尿液中的時程與順序，結果發現隨著時間的變化尿液中 1-OHP 濃度值會明顯的影響 8-oxodGuo 的量( $P < 0.01$ )。由於 PAHs 的代謝與尿液 8-oxodGuo 的形成機制迥異，未來的研究可以試著加入中暴露族群或拉長休息時間，方能進一步確認 1-OHP 與 8-oxodGuo 在時間序列上的劑量反應關係。