

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

代謝基因在農藥暴露所導致的神經毒性之角色

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC91-2320-B-040-041-

執行期間：91年08月01日至92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：翁瑞宏

計畫參與人員：呂宗學 張郁芬

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 92 年 11 月 1 日

代謝基因在農藥暴露所導致的神經毒性之角色

中文摘要

雖然農藥暴露對於人體所產生的神經毒性關係雖已被建立，但是代謝基因在農藥所導致神經毒性機制上的角色卻仍不清楚。動物研究顯示，有機磷主要是經由肝臟細胞色素 P450 (cytochrome P450) 的代謝，形成具有高度活性的代謝產物 organophosphorus-oxon，這是一個比有機磷更容易與乙醯膽鹼酯酶結合的抑制物。然而，organophosphorus-oxon 可能進一步地被 paraoxonase 水解，或是在麩胺基硫轉移酶 (glutathione S-transferases [GSTs]) 的催化下，與麩胺基硫 (glutathione [GSH]) 接合。*PON1* 以及 *GSTM1*、*GSTT1*、與 *GSTP1* 代謝基因多形性是否與暴露於農藥的農民之神經毒性效應具有修飾作用，仍不得而知。研究對象由 96 名農藥暴露農民，與 81 名對照所組成；利用問卷收集研究對象詳細的抽菸、飲酒以及職業史。血清乙醯膽鹼酯酶濃度以及尺神經的傳導潛時、電位振幅以及神經傳導速度則被測定當作神經效應指標。*PON1*、*GSTM1*、*GSTT1* 和 *GSTP1* 基因型則是以聚合酶鏈鎖反應 (polymerase chain reaction [PCR]) 加以判定。結果顯示農藥暴露與乙醯膽鹼酯酶濃度以及尺神經的傳導潛時、電位振幅以及神經傳導速度變化呈現顯著相關。在調整性別、年齡、抽菸狀態、飲酒狀態與農藥暴露的效應後，迴歸模式 (general liner model [GLM]) 分析也顯示尺運動神經近端電位振幅與 *GSTT1* ($P < 0.01$) 具有統計顯著相關，而 *PON1* ($P = 0.74$)、*GSTM1* ($P = 0.98$) 與 *GSTP1* ($P = 0.14$) 則並未具有顯著相關。因此，易感受性的 *GSTT1* 代謝基因型，可能對於農藥所導致的神經傷害，具有增加的危險。

關鍵詞：農藥、神經毒性、*PON1* 基因、*GSTM1* 基因、*GSTT1* 基因、*GSTP1* 基因

Abstract

The relationship between pesticide exposure and human neurotoxicity is established although, the role of metabolic gene in the mechanism of pesticide-related neurotoxicity remain indistinct. An animal study has revealed that organophosphate is primarily metabolized in the liver by cytochrome P450 enzymes into active intermediate organophosphorus-oxon, an acetylcholinesterase inhibitor which is more potent than the parent organophosphate pesticides. Whilst organophosphorus-oxon may then be hydrolyzed by paraoxonase, or conjugated to glutathione (GSH) with the catalysis by glutathione S-transferases (GSTs). *PON1*, *GSTM1*, *GSTT1*, and *GSTP1* metabolic genetic polymorphism whether with the modification effect on the pesticides-induced neurotoxicity in farmers is unknown. Study subjects comprised 96 farmers having experienced pesticide exposure and 81 controls. Questionnaires were administered to obtain detailed histories of cigarette-smoking habits, alcohol consumption behavior, and occupation. The level of serum acetylcholinesterase, and conductive latency, and amplitude of evoked potential, and nerve conduction velocity on ulnar nerve were measured as neurological effect indicators. Genotypes of *PON1*, *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1* were identified by the polymerase chain reaction (PCR). Our results demonstrated that pesticide exposure were obviously associated with the variations of serum acetylcholinesterase level, and conductive latency, and amplitude of evoked potential, and nerve conduction velocity on ulnar nerve. After adjusting the effects of gender, age, smoking, alcohol drinking, and pesticide exposure, a general linear model also revealed that proximal amplitude of evoked potential on ulnar nerve was statistically associated with *GSTT1* ($P < 0.01$), but *PON1* ($P = 0.74$), *GSTM1* (P

= 0.98, and *GSTP1* ($P = 0.14$) didn't significantly influence proximal amplitude of evoked potential in individuals. These results suggest that individuals with susceptible metabolic *GSTT1* genotype may experience an increased risk of neurological damage elicited by pesticide exposure.

Keywords: Pesticide, Neurotoxicity, *PONI* gene, *GSTM1* gene, *GSTT1* gene, *GSTP1* gene

前言：

農藥 (pesticide) 依其化學性質可區分為有機氯 (organochlorines)、有機磷 (organophosphates) 和氨基甲酸鹽類 (carbamates) 農藥。許多研究已經顯示 [1, 2], 不論是有機氯、有機磷或氨基甲酸鹽類農藥皆可在神經突觸 (synapses) 及神經肌肉接合處 (neuro-muscular junction) 抑制乙醯膽鹼酯酶 (acetylcholinesterase) 的酵素活性, 導致乙醯膽鹼 (acetylcholine) 無法水解成乙酸及膽鹼 (choline), 進而造成神經產生過度興奮, 神經元在反覆性電荷失調下, 容易表現出感覺異常、對刺激敏感、震顫和抽攣等現象; 進而導致神經損傷。然而, 根據 Leng 及 Lewalter [3] 在德國所進行的研究顯示, 暴露在相同濃度的混合農藥 (有機磷及氨基甲酸鹽) 之工人, 並未具有相同的血液乙醯膽鹼酯酶濃度表現, 這暗示著農藥暴露對於個人之效應可能需要考慮易感受性。

雖然農藥對於人體所產生的神經毒性是非常明確 [1, 2], 但是代謝基因在農藥所導致神經毒性機制上所伴演的角色, 卻仍不清楚。以台灣使用最多的有機磷農藥為例, 早期一項動物研究顯示, 有機磷農藥的代謝主要是在肝臟, 經由細胞色素 P450 (cytochrome P450) 的活化 [4], 形成具有高度活性的代謝產物 organophosphorus-oxon [5]。而 organophosphorus-oxon 則比有機磷更容易與乙醯膽鹼酯酶結合, 抑制乙醯膽鹼酯酶酵素活性; 但是, organophosphorus-oxon 若能進一步地在 paraoxonase 水解下形成 diethyl phosphate [5, 6]; 或是在麩胺基硫轉移酶 (glutathione S-transferases [GSTs]) 的催化下 [7, 8], 與麩胺基硫 (glutathione [GSH]) 接合, 這些代謝物就很容易地可以經由尿液排出體外, 因此也可能影響到農藥代謝物與乙醯膽鹼酯酶的結合。

在人體第七對染色體上的 *PONI* 代謝基因已經被證實具有基因多形性 [9], 其第 192 個密碼子上具有點變異, 使 *GC* 被置換成 *AT*, 相對地使原先的氨基酸應為 glutamate 轉變成 arginine; *Gln* 基因座者較 *Arg* 基因座者具有較高的 paraoxonase 酵素活性, 因此較容易水解 organophosphorus-oxon [6, 10]。*PONI* 代謝基因多形性也被一些研究証實了與心血管疾病 [11, 12] 及第二型糖尿病 [13] 具有關聯。最近, 然而, *PONI* 代謝基因多形性是否與暴露於農藥的台灣農民之神經病變效應具有修飾作用, 仍不得而知。麩胺基硫轉移酶可催化 GSH 與親電子性的反應物進行接合反應 [14]; 哺乳動物的 GSTs 酵素依其蛋白結構上的差異, 至少可被分為五大類: alpha、pi、mu、theta、sigma, 然而並非所有人身上皆有這種酵素活性的表現 [14]。有些人完全沒有 GST μ 的酵素活性 [15], 原因在於其第一對染色體 exon 4 到 exon 5 之間兩股對偶基因皆有一大段 *GSTM1* 基因的缺失, 即所謂的無效基因型 (null genotype)。許多研究, 包括肺癌 [16, 17]、石棉塵肺症 [18]、膀胱癌 [19]、胃癌 [20] 及大腸腺瘤 [21] 均發現可能與 *GSTM1* 的多形性有關, 且缺乏 GST μ 活性者的危險性均較高。GST θ 的調控基因 *GSTT1* 基因是位於第二十二對染色體上, 而 *GSTT1* 也有多形性的表現 [22, 23], 即 *GSTT1* 無效基因型缺乏酵素活性, 而 *GSTT1* 非無效基因型具有酵素活性。GST π

的調控基因 *GSTP1* 的基因多形性也已被認為可能會影響醛類的代謝，並且與肺癌、卵巢癌以及膀胱癌等具有關聯 [24, 25]。約有 30% 的歐洲人其 *GST*π 酵素活性較低 [24, 25]，原因是位於第十一對染色體上的 *GSTP1* 基因，其第 105 個密碼子產生點變異，使 *AT* 被置換成 *GC*，相對地使原先的氨基酸應為 isoleucine 轉變成 valine。

研究目的：

因此本計畫利用分子職業流行病學嘗試瞭解台灣農民暴露於農藥下，是否 *PONI*、*GSTM1*、*GSTT1*、以及 *GSTP1* 代謝基因對於其血液乙醯膽鹼酯酶濃度，以及神經病變具有修飾作用。

材料與方法：

研究對象與流行病學資料

本研究配合台中縣東勢鎮社區健康營造計畫，以當地農會產銷班的 96 名農民為暴露組研究對象。另選取 81 名職業登記為非農民且自述未曾接觸過農藥及未從事農藥噴灑工作者之當地居民為對照，並且排除糖尿病、甲狀腺疾病、慢性肝病等對象；合計研究對象共 177 名。

研究對象的個人特徵資料，是在獲取所有參與者的同意書後，經由面對面的問卷訪視所收集。結構式問卷所涵蓋的問題包括：人口學特質、生活型態如吸菸及飲酒習慣、以及詳細工作史。研究對象的抽菸史包括每天抽菸支數及抽菸年數；累積抽菸量是以抽菸包年計算，亦即每天的包數乘以抽菸的年數。因為台灣人的飲酒量相對於西方人較少，所以習慣性喝酒的定義為每週飲酒至少一次，並且每週飲用酒精克數在 80 克以上者。工作史則除了調查目前農藥使用情形（農藥種類、使用季節、使用時間、使用面積及數量、最近 15 天內的噴灑狀況、防護具的使用）外，並回溯開始從事農藥暴露工作前所曾從事的工作，以作為暴露評估的依據。並且根據研究對象的使用農藥之面積與使用時間乘積，計算其中位數，農藥暴露的農民再被區分成農藥高暴露與低暴露組。

神經傳導測試與基因多型性分析

神經傳導測試是由神經科專科醫師利用神經肌肉傳導儀 (Neurostar MS92B Complete Clinical EMG System)，來量測受測者上肢神經傳導速度變化情形。檢查部位及條件依據 Pransky 等人之方法 [26]；為防止腕道症候群 (carpal tunnel syndrome) 干擾上肢正中神經測定結果，因此選擇尺神經 (ulnar nerve) 進行量測。測定項目包括近端及遠端傳導潛時 (proximal and distal latency)、電位振幅 (amplitude of evoked potential) 以及神經傳導速度 (nerve conduction velocity)。靜脈血收集之後冷藏於 4°C 冰桶，於當日運送至實驗室。血清乙醯膽鹼酯酶濃度，係委託中山醫學大學附設醫院檢驗醫學部進行。而 *PONI* 基因多型性的分析是根據 Humbert 等人 [9] 的研究來進行聚合酶鍊鎖反應 (polymerase chain reaction [PCR])。 *GSTM1* 及 *GSTT1* 基因型的決定是同時進行 PCR 反應 [22, 27]。 *GSTP1* 基因多型性的分析是根據 Harries 等人 [25] 的研究來進行 PCR 反應。

統計分析

以分層分析評估血液乙醯膽鹼酯酶濃度及神經傳導測試在不同農藥暴露狀態與各種影響因子分組間的分佈；Student's *t*-test 則被執行來檢驗年齡、性別、

抽菸狀態、習慣性飲酒及代謝基因型對於血液乙醯膽鹼酯酶濃度及神經傳導測試的相關。各種變項與血液乙醯膽鹼酯酶濃度及神經傳導測試的相關，再進一步以迴歸模式 (general linear model [GLM]) 分析。

結果：

九十六名具有農藥暴露之農民及 81 名對照，被納入本研究分析。所有研究對象的平均年齡為 53.8 ± 0.8 (標準誤) 歲，男性共 86 名 (48.6%)，20.3% 的研究對象為現今抽菸者，27.1% 的研究對象為習慣性飲酒者。平均年齡 ($P < 0.01$, ANOVA)、性別 ($P < 0.01$, χ^2 -test)、現今抽菸者 ($P = 0.01$)、習慣性飲酒者的比例 ($P < 0.01$)，在農藥高低暴露與對照組間具有統計上顯著差異；然而，累積抽菸量在農藥高低暴露與對照組間並未具有統計上顯著差異 ($P = 0.38$)。此外，從事農業時間 ($P < 0.01$) 與個人使用農藥之面積 ($P < 0.01$) 在農藥高低暴露組間具有統計上顯著差異，而近 15 天有暴露到農藥者的比例 ($P = 0.83$)，則在農藥高低暴露組間未呈現出統計上的顯著差異。

以不同農藥暴露狀態進行分層，分析個人之乙醯膽鹼酯酶濃度、尺感覺神經及運動神經效應表現之差異；在本研究中，農藥高暴露組之個人，具有最低的乙醯膽鹼酯酶濃度， 9960 ± 321 (IU/L)；並且相較於農藥低暴露組與對照組之個人，其乙醯膽鹼酯酶濃度分別為 11082 ± 323 、 10753 ± 298 ，濃度差異在三組間呈現統計邊際顯著性 ($P = 0.06$, ANOVA)。並且，農藥高暴露組之個人也相較於農藥低暴露組與對照組之個人，具有顯著較高的尺感覺神經遠端潛時 (2.5 vs. 2.5、2.3 msec, $P = 0.05$)、尺運動神經近端潛時 (7.6 vs. 7.2、6.9 msec, $P < 0.01$) 和遠端潛時 (3.1 vs. 2.9、2.8 msec, $P < 0.01$)、以及顯著較低的尺感覺神經近端電位振幅 (11.0 vs. 14.2、16.9 μ v, $P < 0.01$) 與遠端電位振幅 (22.9 vs. 30.4、34.3 μ v, $P < 0.01$)、尺運動神經近端電位振幅 (2144.2 vs. 2190.4、2856.2 μ v, $P = 0.02$) 及遠端電位振幅 (2816.0 vs. 2988.1、3386.5 μ v, $P = 0.06$)、以及顯著較低的尺感覺神經傳導速度 (59.4 vs. 65.1、65.9 m/sec, $P < 0.01$) 與尺運動神經傳導速度 (57.2 vs. 60.0、60.5 m/sec, $P < 0.01$)。雖然，農藥高暴露組者尺運動神經的尺感覺神經具有較高的近端潛時，但相較於農藥低暴露組與對照組之個人，並無顯著差異 (6.4 vs. 6.3、6.1, $P = 0.17$)。特別的是，相較於對照組之個人，農藥高暴露組者其感覺神經近端電位振幅下降 34.9%，農藥低暴露組者則下降 16.0%；農藥高暴露組者其運動神經近端電位振幅也下降 24.9%，農藥低暴露組者則下降 23.3%；是所有指標中差異變化最大者。

所有研究對象 *PONI Arg* 和 *Gln* 基因座 (allele) 的比例分別是 59.6% 和 40.4%；而 *GSTM1* 無效基因型 (null-type) 的比例為 52.5%，而非無效基因型 (non-null type) 的比例則為 47.5%；雖然在對照組中，無效基因型的個數是較多於其他暴露分組 ($P = 0.01$, χ^2 -test)。此外，*GSTT1* 無效基因型的比例為 23.7%；而 *GSTP1 Ile* 和 *Val* 基因座的比例分別是 86.7% 和 13.3%。

進一步以不同農藥暴露狀態進行分層，分析個人之乙醯膽鹼酯酶濃度與不同影響因子的關係。結果顯示男性較女性具有較高的乙醯膽鹼酯酶濃度；而個人的年齡、抽菸習慣、以及習慣性飲酒，並無影響其乙醯膽鹼酯酶濃度的表現。因為具有至少一個 *PONI Arg* 基因座的人，相較於具有 *PONI Gln* 基因座的人，有較低的 paraoxonase 酵素活性 [10]，所以具有至少一個 *PONI Arg* 基因座的人，被歸類為 *PONI Arg-Arg/Arg-Gln* 基因型；若攜帶 *PONI Arg-Arg/Arg-Gln* 基因型的農藥高暴露者，相較於攜帶 *Gln-Gln* 基因型的農藥高暴露者，被發現具有較低的

乙醯膽鹼酯酶濃度 (9615 vs. 10487, $P = 0.14$; t -test)。同樣地, 若攜帶 *GSTM1* 無效基因型的農藥高暴露者, 相較於攜帶非無效基因型的農藥高暴露者, 具有較低的乙醯膽鹼酯酶濃度 (9610 vs. 10282, $P = 0.30$); 相反地, 若攜帶 *GSTT1* 無效基因型的農藥高暴露者, 相較於攜帶非無效基因型的農藥高暴露者, 具有較高的乙醯膽鹼酯酶濃度 (10985 vs. 9579, $P = 0.051$), 在農藥低暴露組中也具有相似的結果 (12043 vs. 10762, $P = 0.09$)。此外, 因為具有至少一個 *GSTP1 Val* 基因座的人, 相較於具有 *GSTP1 Ile* 基因座的人, 有較低的酵素活性 [28], 所以具有至少一個 *GSTP1 Val* 基因座的人, 被歸類為 *GSTP1 Ile-Val / Val-Val* 基因型; 而若攜帶 *GSTP1 Ile-Val / Val-Val* 基因型的農藥高暴露者, 相較於攜帶 *Ile-Ile* 基因型的農藥高暴露者, 也被發現具有較低的乙醯膽鹼酯酶濃度 (9677 vs. 10054, $P = 0.62$)。

因為相較於對照組之個人, 農藥暴露者其感覺神經與運動神經的近端電位振幅, 是所有指標中差異變化最大者。因此, 同樣地以不同農藥暴露狀態進行分層, 分析個人之尺感覺神經近端電位振幅與不同影響因子的關係。結果顯示男性較女性具有較低的尺感覺神經近端電位振幅 (10.8 vs. 18.2, $P < 0.01$; t -test); 而個人的年齡 ($P < 0.01$)、抽菸習慣 ($P < 0.01$)、以及習慣性飲酒 ($P < 0.01$), 皆顯著影響其尺感覺神經近端電位振幅的表現。若攜帶 *PON1 Arg-Arg / Arg-Gln* 基因型者相較於攜帶 *Gln-Gln* 基因型者, 並未被發現具有較低的尺感覺神經近端電位振幅的表現 (15.0 vs. 14.0, $P = 0.41$); 同樣地, 攜帶 *GSTM1* (14.8 vs. 14.3, $P = 0.70$) 或 *GSTT1* (14.4 vs. 14.7, $P = 0.86$) 無效基因型者, 分別相較於攜帶非無效基因型者, 也未具有較低的尺感覺神經近端電位振幅的表現; 而攜帶 *GSTP1 Ile-Val / Val-Val* 基因型者相較於攜帶 *Ile-Ile* 基因型者, 其尺感覺神經近端電位振幅的表現也未具差異 (14.9 vs. 13.6, $P = 0.35$)。

而以不同農藥暴露狀態進行分層, 分析個人之尺運動神經近端電位振幅與不同影響因子的關係時, 結果顯示個人的年齡對於尺運動神經近端電位振幅的表現顯示出統計顯著差異 (2480.4 vs. 2793.0, $P < 0.01$); 而性別 ($P = 0.99$)、抽菸習慣 ($P = 0.14$)、以及習慣性飲酒 ($P = 0.62$) 對於尺運動神經近端電位振幅的表現並未顯示出差異。若攜帶 *PON1 Arg-Arg / Arg-Gln* 基因型者相較於攜帶 *Gln-Gln* 基因型者, 其尺感覺神經近端電位振幅的表現也未具差異 (2518.5 vs. 2441.8, $P = 0.82$); 同樣地, 攜帶 *GSTM1* (2519.4 vs. 2441.8, $P = 0.74$) 或 *GSTP1 Ile-Val / Val-Val* 基因型者 (2561.7 vs. 2243.2, $P = 0.13$), 分別相較於攜帶 *GSTM1* 非無效基因型者以及 *GSTP1 Ile-Ile* 基因型者, 其尺感覺神經近端電位振幅的表現也未具差異; 而攜帶 *GSTT1* 非無效基因型者相較於攜帶無效基因型者, 則具有較低的感覺神經近端電位振幅的表現 (2280.0 vs. 3133.6, $P = 0.04$), 無論是暴露組或對照組也是具有相同的結果。

執行多變項迴歸模式分析, 分別以乙醯膽鹼酯酶、尺感覺神經近端電位振幅及尺運動神經近端電位振幅為應變項, 性別、年齡、抽菸狀態、習慣性飲酒、農藥暴露以及 *PON1*、*GSTM1*、*GSTT1* 及 *GSTP1* 基因型為自變項, 結果如同表一所示 (GLM)。農藥高暴露組農民相較於對照者, 有 1200.8 單位乙醯膽鹼酯酶濃度的顯著差異被發現 ($P = 0.02$), 而農藥低暴露組農民相較於對照者, 其乙醯膽鹼酯酶濃度則未具有顯著差異 ($P = 0.98$); 此外, 不同的 *PON1* ($P = 0.63$)、*GSTM1* ($P = 0.45$)、*GSTT1* ($P = 0.15$) 及 *GSTP1* ($P = 0.87$) 基因型也未影響到個體乙醯膽鹼酯酶濃度的表現。當以尺感覺神經近端電位振幅取代乙醯膽鹼酯酶濃度為應變項時, 結果顯示研究對象為性別為男性 ($P < 0.01$) 以及研究對象收案時年齡大於

53 歲 ($P < 0.01$)，與尺感覺神經近端電位振幅呈現顯著相關；農藥高暴露組農民相較於對照者，尺感覺神經近端電位振幅有 2.1 微伏特 (μV) 的減少被發現 ($P = 0.12$)，而農藥低暴露組農民相較於對照者，其尺感覺神經近端電位振幅有 0.7 微伏特 (μV) 的減少被發現 ($P = 0.60$)。然而，不同的 *PONI* ($P = 0.27$)、*GSTMI* ($P = 0.72$)、*GSTT1* ($P = 0.75$) 及 *GSTP1* ($P = 0.22$) 基因型也未影響到個體尺感覺神經近端電位振幅的表現。進一步地以尺運動神經近端電位振幅取代尺感覺神經近端電位振幅為應變項時，結果顯示研究對象收案時年齡大於 53 歲 ($P = 0.04$) 以及具有抽菸習慣 ($P = 0.02$)，與尺運動神經近端電位振幅具有統計顯著相關；農藥高暴露組農民相較於對照者，尺運動神經近端電位振幅有 628.6 微伏特 (μV) 的顯著減少被發現 ($P = 0.04$)，而農藥低暴露組農民相較於對照者，其尺感覺神經近端電位振幅有 769.7 微伏特 (μV) 的顯著減少被發現 ($P = 0.01$)。此外，不同的 *PONI* ($P = 0.74$)、*GSTMI* ($P = 0.98$) 及 *GSTP1* ($P = 0.14$) 基因型也未影響到個體尺運動神經近端電位振幅的表現。有趣的是，相較於 *GSTT1* 無效基因型者，顯著較低的尺運動神經近端電位振幅也在 *GSTT1* 非無效基因型者中被發現 ($P < 0.01$)。

討論：

本研究中發現代謝 *GSTT1* 基因型、年齡、抽菸以及農藥暴露是顯著相關於尺運動神經近端電位振幅；然而，乙醯膽鹼酯酶濃度僅與農藥高暴露具有顯著相關。

過去研究已經顯示 [1, 2]，不論是有機氯、有機磷或氨基甲酸鹽類農藥皆可在神經突觸及神經肌肉接合處的酵素活性，而我們的研究也觀察到相同的結果。乙醯膽鹼酯酶一旦遭受抑制將可導致乙醯膽鹼無法水解成乙酸及膽鹼，進而造成神經產生過度興奮，神經元在反覆性電荷失調下，容易表現出感覺異常、對刺激敏感、震顫和抽搐等現象。而本研究也觀察到長期農藥暴露所造成的神經反應變化，農藥高暴露組之個人相較於農藥低暴露組與對照組之個人，具有顯著較高的尺感覺神經遠端潛時、尺運動神經近端潛時和遠端潛時、以及顯著較低的神經近端電位振幅與遠端電位振幅、以及傳導速度。如此的結果建議著長期農藥暴露可同時導致周邊神經的軸突病變 (axonopathy) 以及髓鞘病變 (demyelination)，與 Ruijten 等人的觀察一致 [29]。

然而，根據 Leng 及 Lewalter [3] 在德國所進行的研究顯示，暴露在相同濃度的混合農藥 (有機磷及氨基甲酸鹽) 之工人，並未具有相同的血液乙醯膽鹼酯酶濃度表現，這暗示著農藥暴露對於個人之效應可能需要考慮易感受性。重要的是，早期一項動物研究顯示，有機磷農藥的代謝主要是在肝臟，其高度活性的代謝產物 organophosphorus-oxon 則比有機磷更容易與乙醯膽鹼酯酶結合 [5]，抑制乙醯膽鹼酯酶酵素活性；但是，organophosphorus-oxon 若能進一步地在 paraoxonase 水解下形成 diethyl phosphate [5, 6]；或是在麩胺基硫轉移酶的催化下 [7, 8]，與麩胺基硫 (GSH) 接合，這些代謝物就很容易地可以經由尿液排出體外，因此也可能影響到農藥代謝物與乙醯膽鹼酯酶的結合。此外，Scarpato 等人 [30] 指出 *GSTT1* 非無效基因型的花農比較起 *GSTT1* 無效基因型的花農，具有較高的姐妹染色體交換頻率；Menegon 等人 [31] 在澳洲所進行的巴金森氏症的病例對照研究則更進一步地指出，擁有 *GSTP1 B* 基因座者較擁有 *GSTP1 A* 基因座者，對於巴金森氏症的發生具有較高的可能性；重要的是，過去農藥暴露者對於巴金森氏症的產生具有 2.3 倍的危險性。在我們的研究中，*GSTMI* 基因型並未影響到個體乙醯膽鹼酯酶濃度以及尺神經近端電位振幅的表現。有趣的是，

GSTT1 非無效基因型者較無效基因型者減少 626.5 單位的乙醯膽鹼酯酶濃度，雖然未達到統計的顯著差異，但是在尺運動神經近端電位振幅表現方面，*GSTT1* 非無效基因型者則較無效基因型者具有顯著較低的表現；此外，*GSTP1 Ile-Ile* 基因型者相較於 *Ile-Val/Val-Val* 基因型者也具有較低的尺運動神經近端電位振幅表現，但是並未達到統計的顯著差異。如此的結果建議著農藥可經由麩胺基硫轉移酶的催化，與麩胺基硫後形成更具活性的代謝物。

最近，*PONI* 代謝基因多形性也被一些研究証實了與心血管疾病 [11, 12] 及第二型糖尿病 [13] 具有關聯。然而，*PONI* 代謝基因多形性是否與暴露於農藥的台灣農民之神經病變效應具有修飾作用，仍不得而知。Li 等人 [10] 指出 *Gln* 基因座者較 *Arg* 基因座者具有較高的 paraoxonase 酵素活性，因此較容易水解 organophosphorus- oxon；Costa 等人 [6] 的研究也指出，具有不同 *PONI* 基因多形性的之個人，其酵素活性表現可能差距 15 倍。但是在本研究中，我們分析 *PONI* 基因在第 192 個密碼子上的變異，並未發現與農藥暴露者的乙醯膽鹼酯酶濃度以及尺神經近端電位振幅的表現有關；這也可能暗示著 *PONI* 基因在不同密碼子上的變異與農藥暴露所導致的神經病變，是值得進一步地加以探討。

PONI 192Gln 基因座的比例 (40.4%) 在我們的研究中，是接近於原先一個以華人所進行的研究結果 (38%) [32]；*GSTM1* 無效基因型的比例是 52.5%，類似於原先以台灣地區民眾所執行的研究發現 (53.4%) [33]；*GSTT1* 無效基因型 (23.7%) 則是較低於過去在台灣族群中探討肝細胞癌的研究所選取的對照組比例 (51.4%) [34]；而在本研究中 *GSTP1 Val* 基因座的比例 (13.3%)，也接近於原先一個以華人所進行的研究結果 (18%) [35]。

我們的研究也發現，年齡與抽菸相關於尺運動神經近端電位振幅表現。相較於年輕的個體，年長的個體也被報告具有軸突退化之趨勢；在年長的研究對象中觀察到所增加的軸突退化之趨勢，可能來自未能辨識到的神經毒性物質之長期暴露所導致的累積傷害，或者是與其他如神經細胞老化的相關因子有關，像是神經纖維修補。許多研究已經顯示抽菸能夠導致軸突退化；香菸中包含著許多物質，包括多環芳香族化合物 (polycyclic aromatic hydrocarbons [PAHs]) 以及醛類衍生物，因此，香菸被一致認為對於神經毒性是個強誘導劑。此外，針對個人過去的農藥暴露進行評估是較為困難的，主要原因是農民每人所種植的作物不是單一種類，而且生長季節重疊也可能使用不同農藥；由於農藥種類眾多，噴灑時農民可能會混合多種農藥使用。因此在本研究中，對於過去的暴露資料總是缺乏，不足以對過去的累積暴露進行定量估計。我們利用序位式的暴露替代指標，來進行暴露程度與神經效應之間的分析。

結果自評:

本研究所獲得之結果，對於環境職業醫學及毒理學的研究具有基礎面的貢獻，並且對勞工健康保護機構在制訂相關法規時，可提供參考性的數據資料，使得制度法規的程序更完整。並且在國家傳統農業經濟轉向生物技術開發導向，本研究結果也可提供未來相關產業從事者中，易感受族群鑑定的參考依據

參考文獻：

1. Keifer M. Rivas F. Moon JD. et al. Symptoms and cholinesterase activity among rural residents living near cotton fields in Nicaragua. *Occupational Environmental Medicine*. 53:726-9, 1996.

2. Eriksson P. Talts U. Neonatal exposure to neurotoxic pesticides increases adult susceptibility: a review of current findings. *Neurotoxicology*. 21:37-47, 2000.
3. Leng G. Lewalter J. Role of individual susceptibility in risk assessment of pesticides. *Occupational Environmental Medicine*. 56:449-53, 1999.
4. Levi PE. Hodgson E. Oxidation of pesticides by purified cytochrome P-450 isozymes from mouse liver. *Toxicology Letters*. 24:221-8, 1985.
5. Mutch E. Blain PG. Williams FM. The role of metabolism in determining susceptibility to parathion toxicity in man. *Toxicology Letters*. 107:177-87, 1999.
6. Costa LG. Li WF. Richter RJ. et al. The role of paraoxonase (*PON1*) in the detoxication of organophosphates and its human polymorphism. *Chemico-Biological Interactions*. 119-120:429-38, 1999.
7. Di Ilio C. Sacchetta P. Iannarelli V. et al. Binding of pesticides to alpha, mu and pi class glutathione transferase. *Toxicology Letters*. 76:173-7, 1995.
8. Di Ilio C. Sacchetta P. Angelucci S. et al. Interaction of glutathione transferase P1-1 with captan and captafol. *Biochemical Pharmacology*. 52:43-8, 1996.
9. Humbert R. Adler DA. Disteche CM. et al. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. *Nature Genetics*. 3:73-6, 1993.
10. Li WF. Costa LG. Furlong CE. Serum paraoxonase status: a major factor in determining resistance to organophosphates. *Journal of Toxicology Environmental Health*. 40:337-46, 1993.
11. Aynacioglu AS. Kepekci Y. The human paraoxonase *Gln-Arg192 (Q/R)* polymorphism in turkish patients with coronary artery disease. *International Journal of Cardiology*. 74:33-7, 2000.
12. Odawara M. Tachi Y. Yamashita K. Paraoxonase polymorphism (*Gln192-Arg*) is associated with coronary heart disease in Japanese noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*. 82:2257-60, 1997.
13. Koch M. Hering S. Barth C. et al. Paraoxonase 1 192 *Gln/Arg* gene polymorphism and cerebrovascular disease: interaction with type 2 diabetes. *Experimental Clinical Endocrinology Diabetes*. 109:141-5, 2001.
14. Hayes JD. Pulford DJ. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Critical Reviews in Biochemistry Molecular Biology*. 30:445-600, 1995.
15. Seidegard J. Vorachek WR. Pero RW. et al. Hereditary differences in the expression of the human glutathione transferase active on trans-stilbene oxide are due to a gene deletion. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 85:7293-7, 1988.
16. Seidegard J. Pero RW. Miller DG. et al. A glutathione transferase in human leukocytes as a marker for the susceptibility to lung cancer. *Carcinogenesis*. 7: 751-3, 1986.
17. Hirvonen A. Husgafvel-Pursiainen K. Anttila S. et al. The *GSTM1* null genotype as a potential risk modifier for squamous cell carcinoma of the lung. *Carcinogenesis*. 14:1479- 81, 1993.
18. Smith CM. Kelsey KT. Wiencke JK. et al. Inherited glutathione-S-transferase deficiency is a risk factor for pulmonary asbestosis. *Cancer Epidemiology, Biomarkers Prevention*. 3:471-7, 1994.
19. Bell DA. Taylor JA. Paulson DF. et al. Genetic risk and carcinogen exposure: a common inherited defect of the carcinogen- metabolism gene glutathione

- S-transferase M1 (*GSTM1*) that increases susceptibility to bladder cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. 85: 1159-64, 1993.
20. Harada S. Misawa S. Nakamura T. et al. Detection of *GST1* gene deletion by the polymerase chain reaction and its possible correlation with stomach cancer in Japanese. *Human Genetics*. 90:62-4, 1992.
 21. Lin HJ. Probst-Hensch NM. Ingles SA. et al. Glutathione transferase (*GSTM1*) null genotype, smoking, and prevalence of colorectal adenomas. *Cancer Research*. 55:1224-6, 1995.
 22. Pemble S. Schroeder KR. Spencer SR. et al. Human glutathione S-transferase theta (*GSTT1*): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochemical Journal*. 300:271-6, 1994.
 23. Kempkes M. Golka K. Reich S. et al. Glutathione S-transferase *GSTM1* and *GSTT1* null genotypes as potential risk factors for urothelial cancer of the bladder. *Archives of Toxicology*. 71:123-6, 1996.
 24. Ryberg D. Skaug V. Hewer A. et al. Genotypes of glutathione transferase M1 and P1 and their significance for lung DNA adduct levels and cancer risk. *Carcinogenesis*. 18:1285-9, 1997.
 25. Harries LW. Stubbins MJ. Forman D. et al. Identification of genetic polymorphisms at the glutathione S-transferase Pi locus and association with susceptibility to bladder, testicular and prostate cancer. *Carcinogenesis*. 18:641-4, 1997.
 26. Pransky G. Long R. Hammer K. et al. Screening for carpal tunnel syndrome in the workplace. An analysis of portable nerve conduction devices. *Journal of Occupational Environmental Medicine*. 39:727-33, 1997.
 27. Comstock KE. Sanderson BJ. Clafflin G. et al. *GST1* gene deletion determined by polymerase chain reaction. *Nucleic Acids Research*. 18:3670, 1990.
 28. Watson MA. Stewart RK. Smith GB. et al. Human glutathione S-transferase P1 polymorphisms: relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution. *Carcinogenesis*. 19:275-280, 1998.
 29. Ruijten MW. Salle HJ. Verberk MM. et al. Effect of chronic mixed pesticide exposure on peripheral and autonomic nerve function. *Archives of Environmental Health*. 49:188-95, 1994.
 30. Scarpato R. Migliore L. Hirvonen A. et al. Cytogenetic monitoring of occupational exposure to pesticides: characterization of *GSTM1*, *GSTT1*, and *NAT2* genotypes. *Environmental Molecular Mutagenesis*. 27:263-9, 1996.
 31. Menegon A. Board PG. Blackburn AC. et al. Parkinson's disease, pesticides, and glutathione transferase polymorphisms. *Lancet*. 352:1344-6, 1998.
 32. Padungtod C. Niu T. Wang Z. et al. Paraoxonase polymorphism and its effect on male reproductive outcomes among Chinese pesticide factory workers. *American Journal of Industrial Medicine*. 36:379-87, 1999.
 33. Hsieh LL. Huang RC. Yu MW. et al. *L-myc*, *GSTM1* genetic polymorphism and hepatocellular carcinoma risk among chronic hepatitis B carriers. *Cancer Letters*. 103:171-6, 1996.
 34. Chen CJ. Yu MW. Liaw YF. et al. Chronic hepatitis B carriers with null genotypes of glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms who are exposed to aflatoxin are at increased risk of hepatocellular carcinoma. *American Journal of Human Genetics*. 59:128-34, 1996.
 35. Watson MA. Stewart RK. Smith GB. et al. Human glutathione S-transferase P1 polymorphisms: relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution. *Carcinogenesis*. 19:275-280, 1998.

表一：乙醯膽鹼酯酶、尺感覺神經近端電位振幅及尺運動神經近端電位振幅之多變項迴歸模式

變項	乙醯膽鹼酯酶			尺感覺神經近端電位振幅			尺運動神經近端電位振幅			
	迴歸係數	標準誤	P 值	迴歸係數	標準誤	P 值	迴歸係數	標準誤	P 值	
截距	10728.5	558.2	< 0.01	20.7	1.6	< 0.01	3760.6	339.7	< 0.01	
性別	男 vs. 女	861.3	471.7	0.07	-5.4	1.3	< 0.01	1.8	287.0	0.99
年齡	≥ 53 歲 vs. < 53 歲	109.2	403.3	0.79	-4.7	1.1	< 0.01	-502.7	245.4	0.04
抽菸習慣	有 vs. 無	-383.9	559.6	0.49	-1.4	1.6	0.37	786.6	340.6	0.02
習慣性飲酒	有 vs. 無	236.2	393.4	0.55	-1.4	1.1	0.21	-275.4	239.4	0.25
農藥暴露	高暴露組 vs. 對照組	-1200.8	493.5	0.02	-2.1	1.4	0.12	-628.6	300.3	0.04
	低暴露組 vs. 對照組	9.5	479.7	0.98	-0.7	1.3	0.60	-769.7	291.9	0.01
基因型										
<i>PON1</i>	<i>Gln-Gln</i> vs. <i>Arg-Arg/Arg-Gln</i>	188.7	385.6	0.63	1.2	1.1	0.27	77.7	234.6	0.74
<i>GSTM1</i>	非無效基因型 vs. 無效基因型	290.2	383.6	0.45	0.4	1.1	0.72	7.0	233.4	0.98
<i>GSTT1</i>	非無效基因型 vs. 無效基因型	-626.5	437.7	0.15	-0.4	1.2	0.75	-907.9	266.4	< 0.01
<i>GSTP1</i>	<i>Ile-Ile</i> vs. <i>Ile-Val/Val-Val</i>	-68.2	431.2	0.87	-1.5	1.2	0.22	-390.5	262.4	0.14