

科技部補助專題研究計畫成果報告 期末報告

大鼠在妊娠及授乳期間飲用含壬基苯酚的水對其子孫成年
時代謝的作用機轉

計畫類別：個別型計畫
計畫編號：NSC 102-2221-E-034-013-
執行期間：102年08月01日至103年07月31日
執行單位：中國文化大學化學工程與材料工程學系

計畫主持人：張玲玲
共同主持人：王錫崗

處理方式：

1. 公開資訊：本計畫可公開查詢
2. 「本研究」是否已有嚴重損及公共利益之發現：否
3. 「本報告」是否建議提供政府單位施政參考：否

中華民國 103 年 07 月 31 日

中文摘要：化學物質被人類廣泛的利用，帶來了方便的生活，然而無可避免的會釋放到環境中。這類因子具有模仿、加強、干擾、抵抗生物體內賀爾蒙的活動，當它進入生物體內，會形成假性賀爾蒙干擾原本的內分泌機制，被通稱為「外因性內分泌干擾化學物質 (environmental endocrine disrupting)」，「壬基苯酚」(nonylphenol, NP)就是其中的一種。

Barker 提出，胚胎在子宮內的環境會是其長大成年引發疾病產生的次要原因，因此提出「健康和疾病發展起源 (developmental origins of health and disease)」理論。在母體不利的環境下，會影響胚胎在子宮內細胞分裂、分化，以致於破壞器官或組織的正常發展。胚胎的改變是因胚胎的附基因(epigenetic)發生變化，雖沒辦法改變 DNA 序列但能影響基因的表現。相當多的數據懷疑人類或動物成年時得心血管疾病、第二類型糖尿病及高血壓等慢性疾病，跟其胚胎在母體子宮的營養及暴露在不利的环境相關。根據研究母體懷孕暴露在 diethylstilbestrol 和 bisphenol-A 會影響胚胎的發展，然而壬基苯酚對胚胎的影響機轉並不清楚。根據本人的研究，壬基苯酚會刺激雄性大鼠腎上腺皮質細胞，分泌皮質脂酮和醛固酮。長期血漿類皮質糖增加，造成 Cushing 氏徵候羣，其症狀類似代謝症候症，而且醛固酮更是高血壓的指標，因此本研究擬探討大鼠在妊娠及授乳期間飲用含壬基苯酚的水對其子孫雄性大鼠成年時代謝的作用機轉。

中文關鍵詞：壬基苯酚、健康和疾病發展起源、代謝

英文摘要：Nonylphenol (NP) is an environmental endocrine-disrupting chemical (EDC) that has been detected in human cord blood and milk. It is unavoidable that human fetus and infant exposure to this environmental contaminant. According to 'fetal origins adult disease' hypothesis, the biological impact and healthcare will encounter unavoidable impact. We previously observed that developmental NP exposure led to increased body weight, elevated plasma ACTH, higher production and concentrations of corticosterone and aldosterone, and more 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase I (11 β -HSD1) expression/activity during the first generation at the adult stage. With these phenomena, is human going to evolution to a heavier with metabolic syndrome

state or back to ' default state' after generation(s) of hygienic up. This study addressed the possibility of recovering from NP exposure. Female rats were timed-mated in this experiment. Throughout gestation and lactation, one group of pregnant females was given a 2 ㎍/ml NP drinking solution and another group was given water. The litters were marked as first-generation F1 NP or F1 Veh offspring. At approximately 13 weeks of age, the F1 females were timed-mated with non-sibling F1 males from identical prenatal and neonatal treatment groups. The females were not manipulated in any way. The resulting litters were designated as the second-generation F2 NP or F2 Veh offspring. At 13 weeks of age, the male offspring from each F1 and F2 group were decapitated. The experimental results showed that NP exposure resulted in F1 offspring hyperadrenalism and weight increases. These effects were not observed in the F2 offspring. The F2 generation status was set back to the 'default' stage, which shows the elevated body weight and hyperadrenalism returned to normal. This study indicates developmental exposure to NP results in life long impact. The recovery to ' default state' is possible only after generation(s) suffer with expensive healthcare burden.

英文關鍵詞： nonylphenol, developmental origin of health and disease, metabolism

科技部補助專題研究計畫成果報告

(期中進度報告/期末報告)

(計畫名稱)

大鼠在妊娠及授乳期間飲用含壬基苯酚的水對其子孫成年時代謝
的作用機轉

計畫類別：個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：MOST 102-2221-E-034-013-

執行期間：102年08月01日至103年07月31日

執行機構及系所：中國文化大學

計畫主持人：張玲玲

共同主持人：王錫崗

計畫參與人員：李介豪

本計畫除繳交成果報告外，另含下列出國報告，共 ____ 份：

執行國際合作與移地研究心得報告

出席國際學術會議心得報告

期末報告處理方式：

1. 公開方式：

非列管計畫亦不具下列情形，立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權，一年二年後可公開查詢

2. 「本研究」是否已有嚴重損及公共利益之發現：否 是

3. 「本報告」是否建議提供政府單位施政參考 否 是，____(請
列舉提供之單位；本部不經審議，依勾選逕予轉送)

中 華 民 國 103 年 7 月 31 日

目錄	頁碼
中文摘要	II
英文摘要	III
內容	1-9
前言	1
研究目的	2
研究方法及進行步驟	3,4
結果與討論	5-9

中文摘要

關鍵詞：壬基苯酚、健康和疾病發展起源、代謝

化學物質被人類廣泛的利用，帶來了方便的生活，然而無可避免的會釋放到環境中。這類因子具有模仿、加強、干擾、抵抗生物體內賀爾蒙的活動，當它進入生物體內，會形成假性賀爾蒙干擾原本的內分泌機制，被通稱為「外因性內分泌干擾化學物質 (environmental endocrine disrupting)」，「壬基苯酚」(nonylphenol, NP)就是其中的一種。

Barker 提出，胚胎在子宮內的環境會是其長大成年引發疾病產生的次要原因，因此提出「健康和疾病發展起源(developmental origins of health and disease)」理論。在母體不利的環境下，會影響胚胎在子宮內細胞分裂、分化，以致於破壞器官或組織的正常發展。胚胎的改變是因胚胎的附基因(epigenetic)發生變化，雖沒辦法改變 DNA 序列但能影響基因的表現。相當多的數據懷疑人類或動物成年時得心血管疾病、第二類型糖尿病及高血壓等慢性疾病，跟其胚胎在母體子宮的營養及暴露在不利的环境相關。根據研究母體懷孕暴露在 diethylstilbestrol 和 bisphenol-A 會影響胚胎的發展，然而壬基苯酚對胚胎的影響機轉並不清楚。

根據本人的研究，壬基苯酚會刺激雄性大鼠腎上腺皮質細胞，分泌皮質脂酮和醛固酮。長期血漿類皮質糖增加，造成 Cushing 氏徵候羣，其症狀類似代謝症候症，而且醛固酮更是高血壓的指標，因此本研究擬探討大鼠在妊娠及授乳期間飲用含壬基苯酚的水對其子孫雄性大鼠成年時代謝的作用機轉。

Abstract

Key Words: nonylphenol, developmental origin of health and disease, metabolism

Nonylphenol (NP) is an environmental endocrine-disrupting chemical (EDC) that has been detected in human cord blood and milk. It is unavoidable that human fetus and infant exposure to this environmental contaminant. According to “fetal origins adult disease” hypothesis, the biological impact and healthcare will encounter unavoidable impact. We previously observed that developmental NP exposure led to increased body weight, elevated plasma ACTH, higher production and concentrations of corticosterone and aldosterone, and more 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase I (11 β -HSD1) expression/activity during the first generation at the adult stage. With these phenomena, is human going to evolution to a heavier with metabolic syndrome state or back to “default state” after generation(s) of hygienic up. This study addressed the possibility of recovering from NP exposure.

Female rats were timed-mated in this experiment. Throughout gestation and lactation, one group of pregnant females was given a 2 μ g/ml NP drinking solution and another group was given water. The litters were marked as first-generation F₁ NP or F₁ Veh offspring. At approximately 13 weeks of age, the F₁ females were timed-mated with non-sibling F₁ males from identical prenatal and neonatal treatment groups. The females were not manipulated in any way. The resulting litters were designated as the second-generation F₂ NP or F₂ Veh offspring. At 13 weeks of age, the male offspring from each F₁ and F₂ group were decapitated. The experimental results showed that NP exposure resulted in F₁ offspring hyperadrenalism and weight increases. These effects were not observed in the F₂ offspring. The F₂ generation status was set back to the ‘default’ stage, which shows the elevated body weight and hyperadrenalism returned to normal. This study indicates developmental exposure to NP results in life long impact. The recovery to “default state” is possible only after generation(s) suffer with expensive healthcare burden.

一、前言

化學物質被人類廣泛的發明、生產與利用，帶來了方便的生活，然而化學產品從生產到使用、廢棄的過程中無可避免地會釋放到環境中，造成地下水、空氣、土壤的污染。在過去環境污染物的研究當中，主要是針對物質的毒性，例如：綠牡蠣、鎊米、甚至令人聞之色變的世紀之毒戴奧辛...等，這些都是常見的環境污染，可由巨觀的直接觀察，到微觀的藉由檢測儀器檢測出。當科學進入分子層面探討時，過去未曾察覺的環境污染因子即被發現了，這類因子的影響不似其他的因子來得直接，亦非以直接的毒性對生物造成影響，而是有更深遠的效果，具有模仿、加強、干擾、拮抗生物體內賀爾蒙的正常活動。當這一類的物質進入生物體內，會行成假性賀爾蒙產生類似賀爾蒙的作用或干擾原本的內分泌機制，這類因子被通稱為「內分泌干擾化學物質」(endocrine disrupting chemicals) (EDC)，Diethylstilbestrol (DES)、bisphenol-A (BPA)、「壬基苯酚」(nonylphenol, NP)都是環境普遍存在的 EDC。早在二十年前 Barker(2007)就提出，胚胎在子宮內的環境會是其長大成年引發疾病產生的次要原因，因此提出「developmental origins of health and disease」理論。胚胎在母體不利的環境因子刺激下，會影響在子宮內細胞分裂、分化，以致破壞器官或組織的正常發展。這些胚胎的改變是因胚胎的附基因(epigenetic)發生變化，這變化包含 DNA 甲基化及 histone 的改變，附基因改變雖沒辦法改變基因 DNA 序列但能調節基因的表現。胚胎在子宮的環境訊號包含營養(McMillen and Robinson, 2005)、心理及生理壓力(Lazinski et al., 2008)、母體和胚胎內分泌系統的不平衡(Seckl, 2004)。胚胎為適應此不利環境，必須改變組織的結構或功能(例如細胞的數目或型態)(Langley-Evans, 2006)，以致影響其日後的生理功能，引發疾病，這種程序稱為「programming」(Langley-Evans, 2006)。由人體或動物的實驗證明，胚胎在子宮內的營養或環境，與其長大成年引發心血管疾病、第二類型糖尿病、高血壓等慢性病是相關的(Godfrey and Barker, 2000)。環境存在的「endocrine-disrupting chemicals」(EDC)是類似離體或活體的內分泌荷爾蒙(Morrison et al., 2003)，能破壞人體正常發展(Colborn et al., 1993)，尤其在器官分化的重要時刻，若長期暴露在 EDC，會干擾荷爾蒙訊號傳遞，影響器官基因的表現。Diethylstilbestrol (DES)、bisphenol-A (BPA)、壬基苯酚(nonylphenol, NP)都是環境普遍存在的 EDC。「壬基苯酚」本身的毒性並不高，然而其具有雌性激素(estrogen)的活性(Schwaiger et al., 2002)。Newbold et al. (2007, 2008, 2009) 提出「內分泌干擾化學物質」會影響正常脂質之發展(Grun and Blumberg, 2006)造成肥胖。而肥胖及過重等代謝症候群是二十世紀人類重要議題(Ogden et al., 2007)，代謝症候群易引起糖尿病、高血壓、高血脂、胰島素阻抗、心血管疾病及一些癌症等病症(Collins, 2005)，並且發現到過重的小孩長大後往往也是肥胖的成人。根據本人先前的研究，發現壬基苯酚會刺激雄性大鼠腎上腺皮質束網狀細胞和束球狀細胞，分泌皮質脂酮和醛固酮(Chang et al., 2010, 2012a)。人類腎上腺皮質分泌的類皮質糖以皮質醇(cortisol)為主，但是在大鼠則以分泌皮質脂酮(corticosterone)為主。類皮質糖除對醣類和蛋白質代謝有廣泛的作用外，也是壓力狀態下維持身體恆定和應付外來壓力所必須的激素。長期血漿類皮質糖增加造成 Cushing 氏徵候羣，其引起的症狀類似代謝症候症，而且高醛固酮更是高血壓的指標，因此更激發本人進一步研究大鼠在懷孕和授乳期飲用含壬基苯酚的水，是否影響其子孫成年時的代謝。

二、研究目的

近來不肖商人在食品添加可塑劑引起很大爭議，大家擔心吃下的可塑劑除了對自己的健康造成影響，懷孕或授乳婦女在妊娠期或授乳期間飲用含可塑劑的食品，可塑劑是否會透過胎盤或乳汁影響下一代健康，甚至更下一代的健康，一直是大家所關心的議題。根據 Drake et al. (2005)的研究，母鼠從懷孕的第 15 天開始注射食鹽水含乙醇（控制組）或類皮質糖（實驗組）直至第 21 天，出生的第一代分別為 F1(Veh)(控制組), F1(Dex)(實驗組)，第一代長大至成鼠時，F1(Veh), F1(Dex)之雌鼠與相對應組別之雄鼠交配，懷孕期間均不注射乙醇或類皮質糖的食鹽水溶液，所生的第二代分別為 F2(Veh), F2(Dex)。第二代長大至成鼠時，F2(Veh), F2(Dex)之雌鼠與相對應組別之雄鼠交配，懷孕期間亦均不注射，所生的第三代分別為 F3(Veh), F3(Dex)。他們發現 F2(Dex)之雄鼠其在 glucose tolerance test 之血糖及胰島素均較 F2(Veh)高，但到第三代其差異消失。由此可知，母體在懷孕或授乳期間處在不好的環境，會透過胎盤或乳汁影響其子代健康，甚至影響孫代健康。因此本研究主要是探討大鼠在懷孕和授乳期飲用含壬基苯酚的水，是否影響其子孫雄性大鼠成年時之代謝。希望本研究能對環境保護能提供一些意見。

三、研究方法及進行步驟

實驗一探討壬基苯酚是否透過胎盤影響雄性大鼠日後成長後之肥胖及代謝異常之症狀

(一)實驗動物

由陽明大學動物中心購得 Sprague-Dawley(SD)種系，八週齡之雌鼠及雄鼠各 4 隻，雌雄兩兩交配。為了探討壬基苯酚是否透過胎盤傳給胎鼠，影響其日後成鼠肥胖或代謝異常症狀。將交配之母鼠分為兩組，從懷孕的第一天，第一組喝正常飲用水，第二組喝含壬基苯酚 (2 $\mu\text{g/ml}$) 之飲用水，每組 2 隻。母鼠生產完畢，授乳期間飲用水依舊直至分籠。雌、雄幼鼠分籠(約生產後 22-25 天)後各分為二組第一組是正常母鼠生的 (F_1 Veh)，第二組是喝壬基苯酚飲用水的母鼠生的 (F_1 NP)。以上動物飼養於每日 14 小時 (06:00-20:00)人工照明及空調設備($22\pm 1^\circ\text{C}$)之動物室，每 3-4 天紀錄其體重變化，飲水及飼料不限。

(二)實驗步驟

F_1 (Veh)、 F_1 (NP)之雄性大鼠分別在分籠後 9 週至 10 週約(13 週至 14 週齡)以 pentobarbital (30 mg/ml/kg,以十倍生理水稀釋)麻醉，斷頭犧牲收集血液，並立即取出肝臟、腹部脂肪及腎上腺。血液經離心後抽取血漿於 -80°C 冷凍，以放射免疫法測取血漿皮質脂酮、醛固酮、ACTH、prolactin 的濃度。取出之肝臟等組織先以鹽水清洗再以液態氮急速冷凍，最後在 -80°C 冰凍以便日後使用。組織加入 lysis 組織緩衝液用小剪剪碎，再用研磨機打碎，經離心後抽取上清液之蛋白質，一方面利用 Western blotting 之技術分別測量各組大鼠肝臟內 11 β -HSD1 的蛋白質表現；脂肪組織內 PPAR γ 的蛋白質表現及腎上腺內 StAR 的蛋白質表現。另一方面肝臟、脂肪組織抽取之蛋白質，用 immunoassay (McCormick et al., 2006) 進一步檢測 11 β -HSD1 之活性，並比較其差異。脂肪組織並且萃取組織內皮質脂酮，以放射免疫法檢測其含量。

實驗二探討在懷孕及授乳期間飲用壬基苯酚的水，是否會影響其雄性孫代之代謝異常

(一)實驗動物

由陽明大學動物中心購得 Sprague-Dawley(SD)種系，八週齡之雌鼠及雄鼠各 4 隻，雌雄兩兩交配。為了探討壬基苯酚是否透過胎盤傳給胎鼠，影響其孫代日後成鼠肥胖或代謝異常症狀。將交配之母鼠分為兩組，從懷孕的第一天，第一組喝正常飲用水，第二組喝含壬基苯酚 (2 $\mu\text{g/ml}$) 之飲用水，每組 2 隻。母鼠在懷孕及授乳期間飲用水不變。第一子代雌、雄幼鼠分籠後，各分為二組，第一組是正常母鼠生的子代 (F_1 (Veh))，第二組是喝壬基苯酚飲用水母鼠生的子代 (F_1 (NP))。這兩組雌、雄大鼠日後均正常飲用水，直至出生三個月後，第一組雌、雄大鼠 F_1 (Veh)兩兩交配，同樣地第二組雌、雄大鼠 F_1 (NP)亦兩兩交配。懷孕後的母鼠不管是 F_1 (Veh)或 F_1 (NP)於懷孕及授乳期間均正常飲用水，其分別所生之幼鼠為第二代孫代，雌、雄幼鼠分籠後，各分為二組，第一組其父、母親為(F_1 (Veh)是 F_2 (Veh)，第二組其父、母親為(F_1 (NP)是 F_2 (NP)。以上動物飼養於每日 14 小時(06:00-20:00)人工照明及空調設備($22\pm 1^\circ\text{C}$)之動物室，每 3-4 天紀錄其體重變化，飲水及飼料不限。

(二)實驗步驟

第二代雄性孫代兩組之大鼠分別在分籠後 9 週至 10 週約(13 週至 14 週齡)以 pentobarbital (30 mg/ml/kg,以十倍生理水稀釋)麻醉，斷頭犧牲收集血液，並立即

取出肝臟、腹部脂肪及腎上腺。血液經離心後抽取血漿於 -80°C 冷凍，以放射免疫法測取血漿皮質脂酮、醛固酮、ACTH、prolactin 的濃度。取出之肝臟等組織先以鹽水清洗再以液態氮急速冷凍，最後在 -80°C 冰凍以便日後使用。組織加入 lysis 組織緩衝液用小

剪剪碎，再用研磨機打碎，經離心後抽取上清液之蛋白質，一方面利用 Western blotting 之技術分別測量各組大鼠肝臟內 11β -HSD1 的蛋白質表現；脂肪組織內 PPAR γ 的蛋白質表現及腎上腺內 StAR 的蛋白質表現。另一方面肝臟、脂肪組織抽取之蛋白質，用 immunoassay (McCormick et al., 2006) 進一步檢測 11β -HSD1 之活性，並比較其差異。脂肪組織並且萃取組織內皮質脂酮，以放射免疫法檢測其含量。

(三)放射免疫法

以放射免疫法(Chang et al., 2012b)測量血漿 ACTH、prolactin、皮質脂酮、醛固酮濃度及酵素 11β -HSD1 產生之皮質脂酮。

(三)Western blotting

將電泳裝置組合並上緊旋鈕，把 8-15 % resolving gel 加入兩玻片間至所需高度，加上薄薄一層 butanol。等待 gel 凝固，倒掉上層液體，以三次水緩緩沖洗，用濾紙吸去多餘水份。然後加入 stacking gel 至玻片頂端，放入梳子，置於 4°C 一夜。隔天取出梳子，將電泳槽裝置好，中央及外側加入 running buffer。將 sample 加入 gel 之凹槽中，以 75V 的電壓跑 15 分鐘，再以 150V 的電壓跑 40 分鐘。接著將 transfer blot 裝置備妥。取厚濾紙，浸入 transfer buffer 後，置於板上，再將 Immobilon-P membrane 浸 transfer buffer，置於濾紙上。取出 gel，浸入 transfer buffer 後，再置於 membrane 上，最後蓋上一層浸過 transfer buffer 的厚濾紙，以玻棒輕輕滾過表面，趕出氣泡。以 0.06 A 的電流進行 transfer 35 分鐘。gel transfer 完成後，取出 membrane，浸入 5%脫脂牛奶中，慢速搖晃 2 小時。取出 membrane，置入塑膠袋中，加入 7 ml 5%脫脂牛奶與適量稀釋之 primary Ab，封好，置於 4°C 慢速搖晃一夜。隔天 membrane 在 TBST buffer 中 wash 15 分鐘，再 wash 5 分鐘連續 3 次。取出 membrane，置入塑膠袋中，加入 7 ml 5%脫脂牛奶與適量稀釋之 2nd Ab，封好，慢速搖晃一小時。取出 membrane 在 TBST buffer 中 wash 15 分鐘，再 wash 5 分鐘連續 3 次。最後取出 membrane 置於保鮮膜上，加入 ECL reagent (黑：白=1：1，各 1 ml/片) 反應 30 秒，在於 X-ray 底片上曝光。

(四)酵素活性測定 (McCormick et al., 2006)

試管內加入 20 μ l 的 50 mM sodium phosphate buffer (pH 7.4) (含 1 mM EDTA, 1 M sodium chloride, 40% glycerol (wt/vol) and 0.4% Triton X-100 (wt/vol), 10 μ l NADPH (2.4 mM) 及 10 μ l 11 -dehydrocorticosterone (1 mM)，先在 37°C 水浴槽作用 3 分鐘，再加入 60 μ l 組織蛋白質萃取液 (含 0.5 to 1.0 mg 蛋白質)，在 37°C 水浴槽反應一小時，反應完畢，立即插在冰上終止反應。利用放射免疫法檢測產物皮質脂酮的產量。酵素活性的表示法為每小時每毫克蛋白質產生若干皮質脂酮。

(五)組織萃取皮質脂酮 (Shukla VH et al., 2000)

脂肪組織先用冰的 isolation media (含 0.25 M sucrose, 10 mM Tris-HCL, pH7.4, 1mM EDTA, and 0.25 mg BSA/ml) 清洗，以去除血液，擦乾，秤約 0.1-0.05 g 之組織，加入 1-0.5 毫升 isolation media，先用小剪剪碎，再用 homogenizer 打得更碎，然後在 4°C 離心機轉速 13,000 g 下，離心 15 分鐘，上清液用十倍體積的乙醚萃取所含類固醇荷爾蒙，再用放射免疫檢測所含的皮質脂酮。

四、結果與討論

第一、二代雄性大鼠從雌雄分籠，每隔三、四天測量體重，其體重變化見圖 1(A)、(B)。週齡 13-14 週第一、二代雄性大鼠經麻醉犧牲後其血漿皮質脂酮、醛固酮、ACTH、prolactin 的濃度，肝臟、脂肪組織抽取之蛋白質並檢測 11 β -HSD1 之活性，及萃取脂肪組織內皮質脂酮，其結果見表 1。第一、二代雄性大鼠經麻醉犧牲後，利用 Western blotting 之技術分別測量各組大鼠肝臟內 11 β -HSD1 的蛋白質表現；脂肪組織內 PPAR γ 的蛋白質表現及腎上腺內 StAR 的蛋白質表現其結果見圖 2(A)、(B)，圖 3(A)、(B)，及圖 4(A)、(B)。由圖表可看出母鼠在懷孕及授乳期間飲用壬基苯酚飲用水其所生子代 (F₁ NP) 統計上明顯 (p<0.05) 較正常組 (F₁ Veh) 增加體重；血漿皮質脂酮、醛固酮、ACTH 濃度；肝臟組織 11 β -HSD1 活性及蛋白質表現；脂肪組織內皮質脂酮含量；及腎上腺內 StAR 的蛋白質表現。但母鼠在懷孕及授乳期間飲用壬基苯酚飲用水其所生孫代 (F₂ NP) 不管體重、血漿濃度、肝臟組織 11 β -HSD1 活性及蛋白質表現、脂肪組織內皮質脂酮含量，及腎上腺內 StAR 的蛋白質表現在統計上跟正常組 (F₂ Veh) 沒有差異。

壬基苯酚是環境荷爾蒙，透過食物鏈污染食物如牛奶 (Ademollo et al., 2008; Chen et al., 2010)。人類受壬基苯酚影響，並不限於成人時期，胎兒在發育時期，如母親受到壬基苯酚的影響，亦可透過臍帶影響胚胎附基因的表現。在本研究發現，母鼠在懷孕及授乳期間飲用壬基苯酚飲用水，其所生雄性子代體重較正常組增加，且造成腎上腺過旺症，這些現象跟代謝症候群相似。但母鼠在懷孕及授乳期間飲用壬基苯酚飲用水，其所生雄性孫代跟正常組在統計上沒差異。換句話說，母體在懷孕及授乳期間接觸環境荷爾蒙雖然影響胚胎附基因表現，進而影響其成年代謝機能，但只要受影響的子代不再接觸環境荷爾蒙其所生子孫慢慢會恢復正常。

參考文獻：

Ademollo N, Ferrara F, Delise M, Fabietti F, Funari E. Nonylphenol and octylphenol in human breast milk. *Environ Int* 2008; 34:984-987.

Barker DJ. The origins of the developmental origins theory. *J Intern Med* 2007; 261:412-417.

Chang LL, Wun Alfred WS, Wang PS. Effects and Mechanisms of nonylphenol on corticosterone release in rat zona fasciculata-reticularis cells. *Toxicol Sci* 2010; 118:411-419.

Chang LL, Wun Alfred WS, Wang PS. Effects and of nonylphenol on aldosterone release from rat zona glomerulosa cells. *Chem-Biol Interact* 2012a; 195:11-17.

Chang LL, Wun A WS, Wang PS. In utero and neonate exposure to nonylphenol develops hyperadrenism and metabolic syndrome later in life. I. First generation rats (F₁). *Toxicology* 2012b, 301: 40-49.

Chen GW, Ding WH, Ku HY, Chao HR, Chen HY, Huang MC, Wang SL. Alkylphenols in human milk and their relations to dietary habits in central Taiwan. *Food Chem Toxicol* 2010; 48:1939-1944.

Colborn T, vom Saal FS, Soto AM. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ Health Perspect* 1993; 101:378-384.

Collins S. Overview of clinical perspectives and mechanisms of obesity. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2005; 73:470-471.

Drake AJ, Walker BR, Seckl JR. Intergenerational consequences of fetal programming by in utero exposure to glucocorticoids in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 288:R34-R38.

Godfrey KM, Barker DJ. Fetal nutrition and adult disease. *Am J Clin Nutr* 2000; 71(Suppl

5):1344S-1352S.

Grun F, Blumberg B. Environmental obesogens: organotins and endocrine disruption via nuclear receptor signaling. *Endocrinology* 2006; 147 (6 suppl):550-555.

Langley-Evans SC. Developmental programming of health and disease. *Proc Nutr Soc* 2006; 65:97-105.

Lazinski MJ, Shea AK, Steiner M. Effects of maternal prenatal stress on offspring development: a commentary. *Arch Womens Ment Health* 2008; 11:363-375.

McCormick KL, Wang X, Mick GJ. Evidence that the 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase (11 β -HSD1) is regulated by pentose pathway flux. Studies in rat adipocytes and microsomes. *J Biol Chem* 2006; 281:341-347.

McMillen IC, Robinson JS. Developmental origins of the metabolic syndrome prediction, plasticity, and programming. *Physiol Rev* 2005; 85:571-633.

Morrison AG, Callanan JJ, Evans NP, Aldridge TC, Sweeney T. Effects of endocrine disrupting compounds on the pathology and oestrogen receptor α and β distribution in the uterus and cervix of ewe lambs. *Domest Anim Endocrinol* 2003; 25:329-343.

Newbold RP, Padilla-Banks E, Synder RJ, Phillips TM, Jefferson WN. Developmental exposure to endocrine disruptors and the obesity epidemic. *Reprod Toxicol* 2007; 23:290-296.

Newbold RP, Padilla-Banks E, Jefferson WN, Heindel JJ. Effects of endocrine disruptors on obesity. *Int J Androl* 2008; 31:201-208.

Newbold RP, Padilla-Banks E, Jefferson WN. Environmental estrogens and obesity. *Mol Cell Endo* 2009; 304:84-89.

Ogden CL, Yanovski SZ, Carroll MD, Flegal KM. The epidemiology of obesity. *Gastroenterology* 2007; 132:2087-2102.

Schwaiger J, Mallow U, Ferling H, Knoerr S, Braunbeck Th, Kalbfus W, Negele RD. How estrogenic is nonylphenol? A transgenerational study using rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as a test organism. *Aquat Toxicol* 2002; 59:177-189.

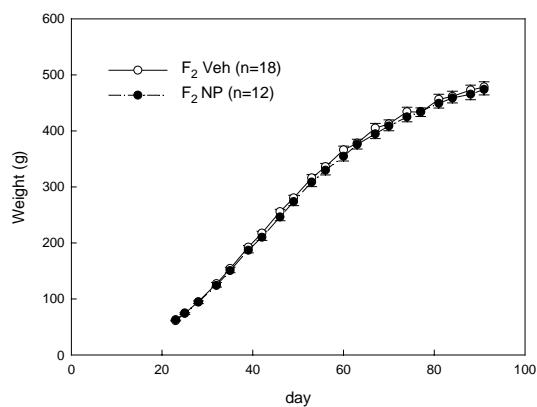
Seckl JR. Prenatal glucocorticoids and long-term programming. *Eur J Endocrinol* 2004; 151 (suppl 3):U49-U62.

Shukla VH, Dave KR, Katyare SS. Effect of catecholamine depletion on oxidative energy metabolism in rat liver, brain and heart mitochondria; use of reserpine. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2000; 127:79-90.

	Vehicle group	NP group	p value
1 st generation (n=11-18)			
ACTH (ng/ml)	0.407±0.037	0.565±0.076	p < 0.05
prolactin (ng/ml)	16.011±1.725	18.322±1.497	p > 0.05
corticosterone (ng/ml)	66.75±14.39	107.99±18.90	p < 0.05
aldosterone (ng/ml)	0.163±0.038	0.252±0.031	p < 0.05
11β-HSD1 activity in liver (ng/h/g protein)	1067.23±114.47	1388.88±84.46	p < 0.05
11β-HSD1 activity in adipose (ng/h/ g protein)	1822.75±46.75	1792.34±82.34	p > 0.05
corticosterone content in adipose (ng/g adipose)	16.41±2.42	23.30±2.99	p < 0.05
2 nd generation (n=11-18)			
ACTH (ng/ml)	0.260±0.030	0.259±0.030	p > 0.05
prolactin (ng/ml)	14.469±1.352	13.945±1.183	p > 0.05
corticosterone (ng/ml)	74.61±16.93	91.73±18.62	p > 0.05
aldosterone (ng/ml)	0.281±0.042	0.274±0.053	p > 0.05
11β-HSD1 activity in liver (ng/h/ g protein)	1929.28±99.94	1761.07±73.42	p > 0.05
11β-HSD1 activity in adipose (ng/h/ g protein)	906.34±114.61	926.26±130.01	p > 0.05
corticosterone content in adipose (ng/g adipose)	16.65±1.37	20.76±2.02	p > 0.05

Table 1. The concentration of ACTH, prolactin, corticosterone and aldosterone in plasma and enzyme activity or adipose corticosterone content for F₁ and F₂ offspring. The concentrations are measured by RIA. Values are shown as mean ± S.M.E. p value was compared with vehicle group in the same generation.

(A)



(B)

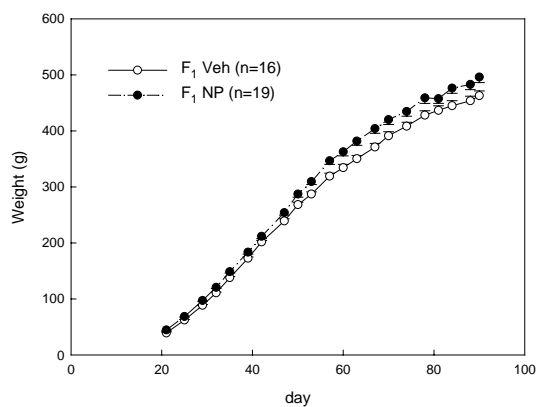


Fig. 1 F₁ (A) 、F₂ (B) 雄性大鼠體重變化

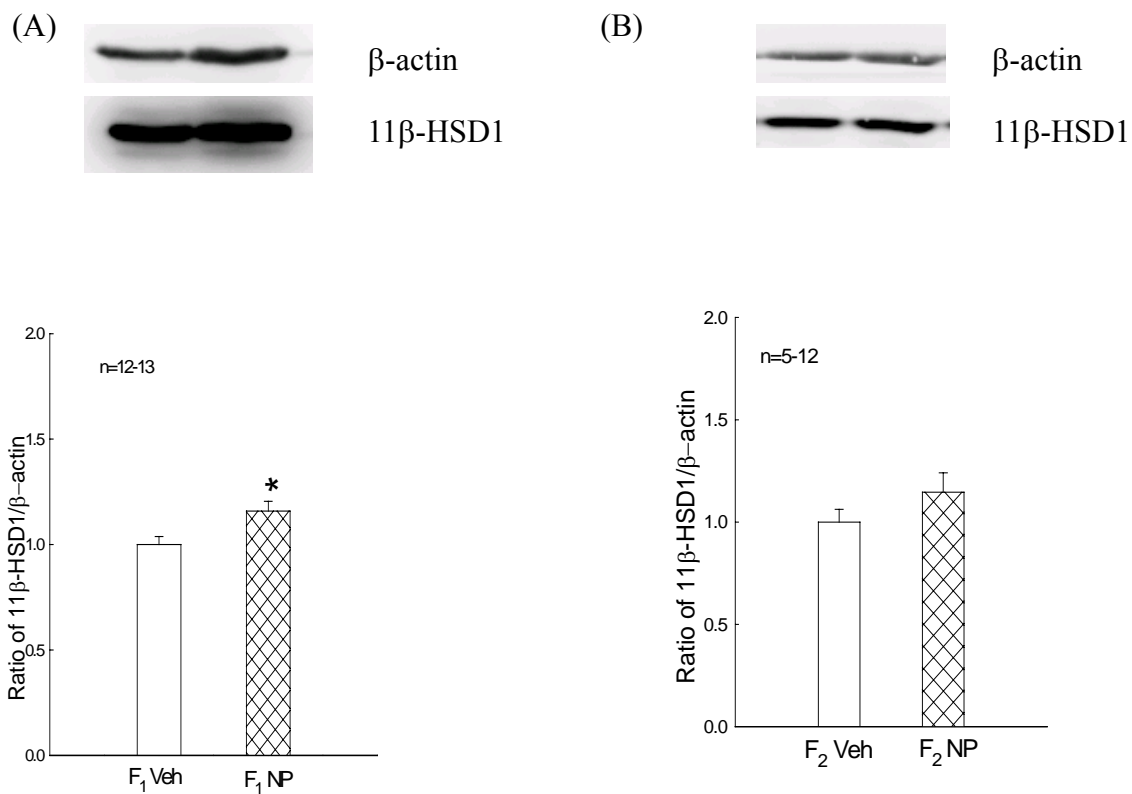


Fig. 2 F₁ (A) 、F₂ (B) 雄性大鼠肝臟蛋白質表現

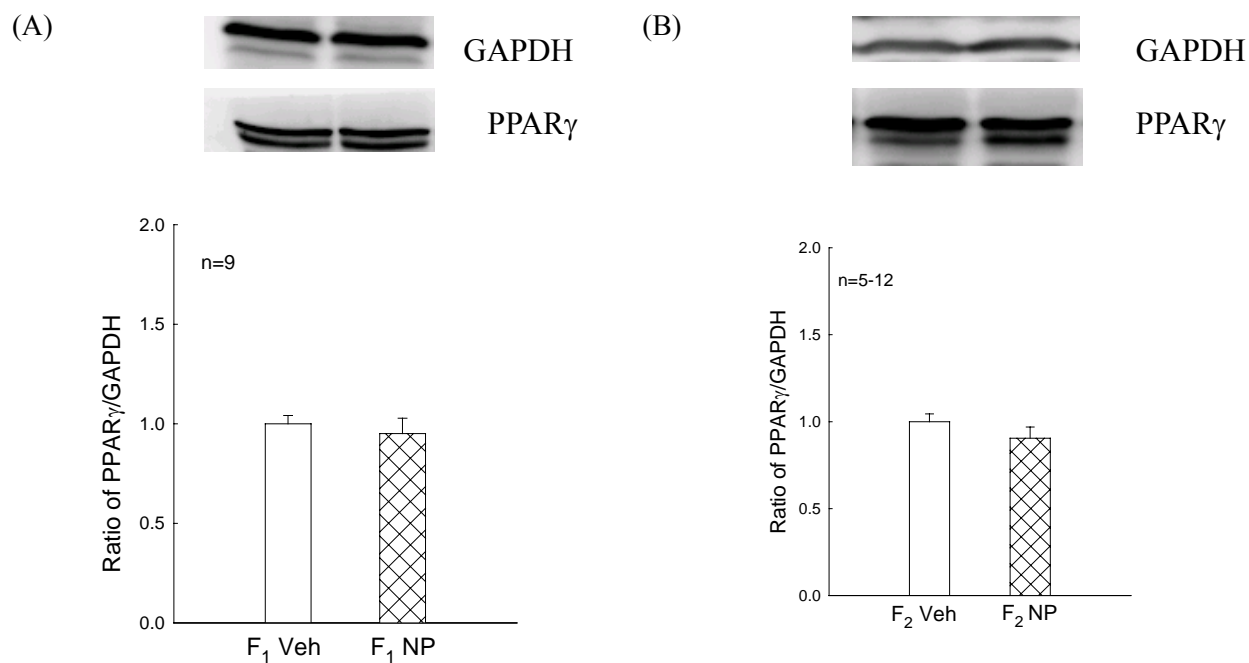


Fig. 3 F₁ (A) 、F₂ (B) 雄性大鼠脂肪組織蛋白質表現

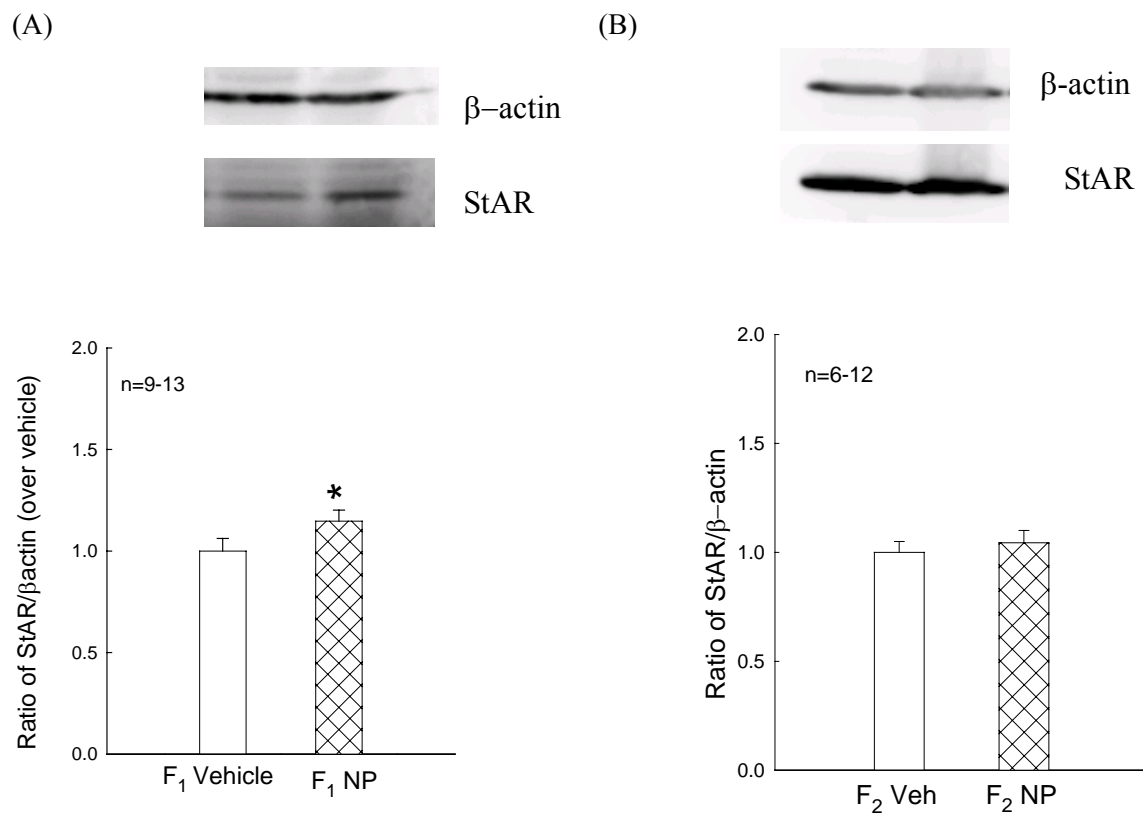


Fig 4 F₁(A) 、F₂(B)雄性大鼠腎上腺蛋白質表現

科技部補助專題研究計畫成果報告自評表

請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況、研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）、是否適合在學術期刊發表或申請專利、主要發現（簡要敘述成果是否有嚴重損及公共利益之發現）或其他有關價值等，作一綜合評估。

1. 請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況作一綜合評估

達成目標

未達成目標（請說明，以 100 字為限）

實驗失敗

因故實驗中斷

其他原因

說明：因為本計畫只通過一年，所以關於母鼠在懷孕及授乳期間飲用壬基苯酚飲用水，對所生雄性子代引起其肥胖及腎上腺過旺症之基因變化沒有探討。

2. 研究成果在學術期刊發表或申請專利等情形：

論文： 已發表 未發表之文稿 撰寫中 無

專利： 已獲得 申請中 無

技轉： 已技轉 洽談中 無

其他：（以 100 字為限）

3. 請依學術成就、技術創新、社會影響等方面，評估研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性），如已有嚴重損及公共利益之發現，請簡述可能損及之相關程度（以 500 字為限）

根據本人研究發現，大鼠在懷孕及授乳期間飲用壬基苯酚飲用水，其所生雄性子代體重較正常組增加，且造成腎上腺過旺症，這些現象跟代謝症候群相似。但母鼠在懷孕及授乳期間飲用壬基苯酚飲用水，其所生雄性孫代跟正常組在統計上沒差異。換句話說，母體在懷孕及授乳期間接觸環境荷爾蒙雖然影響胚胎附基因表現，進而影響其成年代謝機能，但只要受影響的子代不再接觸環境荷爾蒙其所生子孫慢慢會恢復正常。

科技部補助計畫衍生研發成果推廣資料表

日期:2014/07/31

科技部補助計畫	計畫名稱: 大鼠在妊娠及授乳期間飲用含壬基苯酚的水對其子孫成年時代謝的作用機轉
	計畫主持人: 張玲玲
	計畫編號: 102-2221-E-034-013- 學門領域: 生化及生醫工程
無研發成果推廣資料	

102 年度專題研究計畫研究成果彙整表

計畫主持人：張玲玲		計畫編號：102-2221-E-034-013-				計畫名稱：大鼠在妊娠及授乳期間飲用含壬基苯酚的水對其子孫成年時代謝的作用機轉	
成果項目		量化			單位	備註（質化說明：如數個計畫共同成果、成果列為該期刊之封面故事...等）	
		實際已達成數（被接受或已發表）	預期總達成數（含實際已達成數）	本計畫實際貢獻百分比			
國內	論文著作	期刊論文	0	0	100%	篇	
		研究報告/技術報告	1	0	100%		
		研討會論文	0	0	100%		
		專書	0	0	100%		
	專利	申請中件數	0	0	100%	件	
		已獲得件數	0	0	100%		
	技術移轉	件數	0	0	100%	件	
		權利金	0	0	100%	千元	
	參與計畫人力（本國籍）	碩士生	1	0	100%	人次	
		博士生	0	0	100%		
		博士後研究員	0	0	100%		
		專任助理	0	0	100%		
國外	論文著作	期刊論文	1	0	100%	篇	
		研究報告/技術報告	0	0	100%		
		研討會論文	0	0	100%		
		專書	0	0	100%	章/本	
	專利	申請中件數	0	0	100%	件	
		已獲得件數	0	0	100%		
	技術移轉	件數	0	0	100%	件	
		權利金	0	0	100%	千元	
	參與計畫人力（外國籍）	碩士生	0	0	100%	人次	
		博士生	0	0	100%		
		博士後研究員	0	0	100%		
		專任助理	0	0	100%		

<p>其他成果 (無法以量化表達之成果如辦理學術活動、獲得獎項、重要國際合作、研究成果國際影響力及其他協助產業技術發展之具體效益事項等，請以文字敘述填列。)</p>	<p>無</p>
----------------------------------------------------------------------------------------	----------

	成果項目	量化	名稱或內容性質簡述
科 教 處 計 畫 加 填 項 目	測驗工具(含質性與量性)	0	
	課程/模組	0	
	電腦及網路系統或工具	0	
	教材	0	
	舉辦之活動/競賽	0	
	研討會/工作坊	0	
	電子報、網站	0	
	計畫成果推廣之參與(閱聽)人數	0	

科技部補助專題研究計畫成果報告自評表

請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況、研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）、是否適合在學術期刊發表或申請專利、主要發現或其他有關價值等，作一綜合評估。

1. 請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況作一綜合評估

達成目標

未達成目標（請說明，以 100 字為限）

實驗失敗

因故實驗中斷

其他原因

說明：

因為本計畫只通過一年，所以關於母鼠在懷孕及授乳期間飲用壬基苯酚飲用水，對所生雄性子代引起其肥胖及腎上腺過旺症之基因變化沒有探討。

2. 研究成果在學術期刊發表或申請專利等情形：

論文： 已發表 未發表之文稿 撰寫中 無

專利： 已獲得 申請中 無

技轉： 已技轉 洽談中 無

其他：（以 100 字為限）

3. 請依學術成就、技術創新、社會影響等方面，評估研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）（以 500 字為限）

根據本人研究發現，大鼠在懷孕及授乳期間飲用壬基苯酚飲用水，其所生雄性子代體重較正常組增加，且造成腎上腺過旺症，這些現象跟代謝症候群相似。但母鼠在懷孕及授乳期間飲用壬基苯酚飲用水，其所生雄性孫代跟正常組在統計上沒差異。換句話說，母體在懷孕及授乳期間接觸環境荷爾蒙雖然影響胚胎附基因表現，進而影響其成年代謝機能，但只要受影響的子代不再接觸環境荷爾蒙其所生子孫慢慢會恢復正常。