

第三章、基本理論

3.1 毒性物質劑量反應模式

以毒理學的角度而言，劑量與反應關係(dose-response relationship) 是探討化學物質對生物體所造成影響之基礎。美國國家科學院將劑量—反應關係定義為：一種物質給予或接受的劑量與在暴露族群中某種健康效應之發生率的關係之特性描述，並且以人類暴露到此物質來估計此效應的發生率之過程。

所有的物質皆可能有毒，是否為毒性物質最主要差別在所暴露之劑量。毒性研究主要可以分成模式推估及實驗驗證兩大部分。若從數據分析的部分來看：在毒性試驗過程中，實驗物種受毒性物質作用時，所造成生物體 50%受抑制（或死亡）時所表現出的的毒性物質濃度，即稱做 EC_{50} ；而由受影響或死亡的百分率所迴歸出的 S 曲線關係，稱為劑量-反應曲線圖（Dose-response curve）；這些在於毒性評估方面皆為相當重要。

欲從 S 型曲線求得 EC_{50} 或 EC_{10} 並不容易，因此必須藉由數學關係式將 S 型轉為直線型以便求取，此種數學轉換模式便稱為劑量反應關係模式，不同的模式根據的理論基礎互有出入，因此同一組數據，經由各種不同模式的分析，其結果可能有所差異；以生物試驗來講，不同生物甚至不同觀測參數（Endpoint）對毒性物質容忍度不盡相同，若以不適當之反應模式計算，實驗點與理論點間變異過大，則所得結果則相當可議，尤其在所求為外插情況下，變異波動更加明顯，因此數據處理程序中往往需要作適合度分析，以判斷最適合之使用模式。

一般常見的毒性物質劑量-反應模式為有三種，包括了：Probit、Weibull 及 Logit 模式，皆是依據不同的假設發展而成；Probit 模式為假設毒性物質

對於受體生物的容忍度為一常態分布，因此以常態分佈函數來表示毒物對生物抑制率 P 對毒物濃度 (劑量) Z 的濃度 (劑量) 反應曲線。Weibull 模式則是符合毒性物質與受體生物間產生化學鍵結的假設，為機率-反應機制基礎 (Mechanistic-Probability basis) 模式，發展根據毒性物質分子與受測試生物之受體分子間化學鍵關係所推演而來。至於 Logit 模式則與 Monod Equation 相似，由人口成長研究所發展而出的另一種模式，描述毒性反應中的某種酵素反應 (Enzyme Reaction)，適用於自催化 (autocatalysis) 之化學反應。Table 3.1.1 為三種劑量反應曲線之數學轉換關係式。

其中，Probit 模式，為毒性試驗報告中最常見的劑量-反應模式，主要是由實驗經驗，再加上理論基礎所得的一個模式，其係假設生物對毒性物質的容忍度分布為常態分布 (Log-normal distribution)，其主要以毒性物質濃度之 log 值與反應率之 NED (Normal equivalent deviation) 具有線性關係為基礎，其中反應率即測試生物對毒性物質之反應比率 (如死亡率等)。此模式將劑量-反應模式之 S 型曲線，轉換成 NED 尺度上的一直線，原來劑量-反應曲線在抑制率於 50% 之處對應到 NEDscale 上為 0，84.1% 反應率之處對應為 1，而 NED scale 之座標值加 5 即為 Probit 的座標，Probit 單位與反應率與毒性物質劑量間之轉換關係如下：

$$Y = A + B \log Z$$
$$P = 0.5 \left[1 + \operatorname{erf} \left[\frac{(Y - 5)}{\sqrt{2}} \right] \right]$$

其中 Y 為 Probit 單位，A、B 為劑量-反應曲線之截距與斜率，Z 為毒性物質劑量濃度 (單位：mg/L)；P 為測試物種對毒性物質之反應率 (如死亡率等，單位：%)，erf 為 error function。

3.2 G test 與 NOEC 值

一般毒性試驗為了具體表示實驗系統的敏感度，一般選擇以其 EC 值來表示，然而在數據的處理上，即使相同的數據選用不同的劑量反應關係模式計算也會得到不同的 EC 值，而一般常用的劑量反應關係模式如 Probit、Weibull 與 Logit 所計算出的 EC 值又以 EC₅₀ 較為接近，故實驗系統的敏感度又多以 EC₅₀ 表示之。然而超過或低於 EC₅₀ 的 EC 值例如 EC₉₀ 或 EC₁₀ 會因為信賴區間的變大而影響可信度，為了降低往後分析的不確定性，進行 G test (goodness of fit)，經由對重複試驗的每一處理組與期望值的誤差比較，所得絕對值最小之 G 值可為適合的最佳模式。G 值的計算公式如下：

$$G = 2 \sum_{i=1}^a f_i \ln \left(\frac{f_i}{\hat{f}_i} \right)$$

其中 a 是重複組次數， f_i 是處理組實驗值，而 \hat{f}_i 是對應模式之期望值。

另外為了能夠對生態環境提供更好的保護，NOEC (No Observed Effect Concentration) 以及 EC₁₀ 也是常用來比較的參數。NOEC 代表毒性物質對於生物不具影響的最高濃度，而 EC₁₀ 為根據劑量反應關係模式所求取的毒性物質對生物造成 10% 抑制的濃度。為了計算 NOEC 值，Dunnett's test 是常用以跟控制組比較的統計方法。本實驗所進行 Dunnett's test 是觀察重複組之間的差異以及控制組和處理組的差距以定義 NOEC。然而 NOEC 值常受到試驗濃度的設定以及實驗的變異而有所影響，而被認為比起 EC₁₀ 未能明確表示毒性物質對生物的實際效應，儘管如此，NOEC 在風險評估上仍然佔有相當的重要性。

本研究將針對 EC_{10} 以及 NOEC 進行討論，並提出平均中斷值 (cut-of value) 作為選擇 NOEC 或是 EC_{10} 之參考點。中斷值與一組試驗的組內變異之平方根成正比，因此組內變異較小的精確試驗有較小的平均中斷值，由於中斷值的濃度大於 NOEC 而小於 LOEC，故中斷值亦指出 NOEC 所能達到之保護程度的極限，其計算公式如下：

$$\text{平均中斷值(\% reduction)} = \frac{T}{X_c} \times S_w \sqrt{\frac{1}{n_c} + \frac{1}{n_i}} \times 100$$

其中 T 為查表所得(以 one-tail Dunnett's test 在顯著程度為 5% 之表)， X_c 為控制組之平均值， S_w 是組內變異之平方根， n_c 與 n_i 為控制組與處理組重複試驗次數。



Table 3.1.1 Weibull、Probit 與 Logit 容忍度分布模式

Type	Transformation	Probability density	Probibility of response P
Weibull	$u = \ln(k) + \eta \ln(z)$	$\exp(t - e^t)$	$1 - \exp(-kz^\eta) = 1 - \exp(-e^u)$
Probit	$Y = \alpha + \beta \log(z)$	$\frac{1}{\sqrt{2\pi}} \exp(-\frac{t^2}{2})$	$\int_{-\infty}^{Y-5} \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \exp(-\frac{t^2}{2}) dt = \frac{1}{2} (1 + \operatorname{erf}(\frac{Y-5}{\sqrt{2}}))$
Logit	$1 = \theta + \phi \ln(z)$	$\frac{1}{4 \cosh^2(\frac{t}{2})}$	$\frac{1}{1 + e^{-\theta} z^{-\phi}} = \frac{1}{1 + e^{-t}}$

Type	Probility of no-response Q	Transform vs P	Transform vs Q
Weibull	$\exp(-kz^\eta) = \exp(-e^u)$	$u = \ln(-\ln(1 - P))$	$u = \ln(-\ln Q)$
Probit	$\int_{Y-5}^{\infty} \exp(-\frac{t^2}{2}) dt = \frac{1}{2} (1 - \operatorname{erf}(\frac{Y-5}{\sqrt{2}}))$	$Y = 5 + \sqrt{2} \operatorname{erf}^{-1}(2p - 1)$	$Y = 5 + \sqrt{2} \operatorname{erf}^{-1}(1 - 2Q)$
Logit	$\frac{1}{1 + e^{\theta} z^{-\phi}} = \frac{1}{1 + e^t}$	$1 = \ln(\frac{P}{1 - P})$	$1 = \ln(\frac{1 - Q}{Q})$