

台灣地區女性肺腺癌之分子流行病學

研究

成果報告

計劃主持人：陳建仁教授

計劃編號：NSC 88-2314-B-002-084-M39

執行期間：85/8/1-88/7/31

執行機構：國立台灣大學流行病學研究所

壹、中文摘要

為探討台灣地區肺癌之多重危險因子，本計畫收集 179 例之女性肺癌(八成以上是肺腺癌)及 279 名健康檢查個案對照；結構式問卷進行標準化訪視，蒐集可能致癌之危險因子，如主動吸菸、被動吸菸、烹調方式、油煙暴露、飲食因子、過去病史、用藥史、交通污染及月經史等資料。本計畫也收集血液檢體，利用血球去氧核糖核酸以聚合酵素鏈鎖反應進行 N-乙醯轉移酵素 NAT1、NAT2、麩胺硫轉移酵素 M1、T1 及 P，細胞色素酵素 1A1、2E1，和 p53 之基因多形型之測定。最後將以邏輯斯迴歸進行模型建構，作單變項及多變項分析，以了解各危險因子之暴露和女性肺腺癌之相關。結果方面，我們可以看到：在年齡之分布上，病例組以 60-69 歲組的人數最多，達到 27.4%；小於 50 歲的個案約佔四分之一。在對照組中，年齡平均來說較病例組年輕，高峰出現在 50-60 歲組。至於其他危險因子分析，我們發現抽菸家族史、荷爾蒙相關之危險因子、廚房油煙相關之危險因子和女性肺癌之發生有顯著之相關。若將這些變數作多變項分析，結果發現各變項和女性肺癌之相對危險性病無太大之改變，但荷爾蒙因素因為未達統計顯著意義，所以無法進入模式。至於基因多形型和女性肺癌之相關，初步的結論發現在這些基因當中，只有 CYP2E1 C2C2、p53 (W/M,M/M)、NAT2 slow acetylator 和女性肺

癌之發生達統計顯著相關。在不同基因之交互作用分析上，我們可以發現 CYP1A1 及 CYP2E1、 NAT1 及 NAT2 對女性肺癌之發生有交乘作用。而在基因多形型和環境暴露對於女性肺癌發生之交互作用方面，我們可以發現在有二手菸暴露之個案中，p53 異接合子基因型和同接合子突變型比同接合子野生型的相對危險性為 1.3 倍，而在無二手菸暴露之個案中，p53 異接合子基因型和同接合子突變型比同接合子野生型的相對危險性為 4.0 倍，可見二手菸暴露對於 p53 和女性肺癌發生的相關性有很強之效用修飾作用。另外，我們探討二手菸及 p53 及 NAT1、NAT2 之交互作用，結果發現：在無二手菸暴露之個案中，p53 之不同基因型並不會影響 NAT1 及 NAT2 fast & slow 基因型比上 slow or fast 基因型對於發生女性肺癌之相對危險性(分別為 2.5, 2.0 倍)。而在有二手菸暴露之個案中，p53 之不同基因型會影響 NAT1 及 NAT2 fast & slow 基因型比上 slow or fast 基因型對於發生女性肺癌之相對危險性(分別為 0.9, 3.8 倍)。由此可見，二手菸暴露也會修飾 p53 和 NAT1、NAT2 之間的交互作用。由本研究之結果，我們可以釐清：在女性肺癌發生之過程中，危險因子、基因多形型、基因和基因之交互作用，及外在環境暴露和基因多形型之交互作用個別扮演之角色，從而對女性肺癌之防治有所貢獻。

貳、研究計畫之背景、重要性、及國內外有關之計畫

隨著抽菸的盛行，肺癌自本世紀中開始出現了世界性的大流行(1)。這股流行的風潮從歐洲、北美擴展到開發中國家。八十年代中期，肺癌已經超越胃癌(2)，成為世界死亡率最高的癌症。因此肺癌研究及肺癌防制在公共衛生上的重要性不言可喻。

有關於肺癌危險因子的探討最確定無疑的當數香菸了。五十年代初期，Doll 和 Hill 在英國 (1951)(26)，Wynder 和 Graham 在美國(1950)(27) 同時發表香菸的危害之後，這個問題才開始受到真正的重視。接著，美國癌症協會及世界各地進行了幾個大型的前瞻性研究，得到下列結論：香菸和肺癌有明顯的劑量效應關係，抽菸者發生肺癌的相對危險性是不抽菸者的 10 倍左右，而重度吸菸者的相對危險性更高達 15-25 倍左右(28)。危險性會隨著吸菸的年數、每天吸菸量、吸入的深度、焦油含量的增加而增加(29)。在大多數的國家中，80% 以上的肺癌可歸因於香菸(30)。二手菸的危害首見於 Hirayama 在 1981 年所發表針對在日本的 29 州，26 萬人的世代所做的研究(31)，發現配偶吸菸者比不吸菸者得到肺癌之相對危險性為二倍。Trichopoulos (32) 在希臘的病例對照研究也得到相似的結論。但 Garfinkel(33)在美國的研究則發現並無相關。後

續的研究陸續展開，但結論頗不一致。1986年，美國 National Research Council 整合了10個病例對照研究及3個世代追蹤研究，得到下列結論(34)：13個研究綜合的結果，二手菸的相對危險性為1.34 (1.18-1.53 95%CI)，二手菸的危害方正式為眾所公認。

雖然有關香菸和肺癌的關係已經十分確定，但歷年來對台灣肺癌流行病學的研究，卻發現有下列特點：肺癌的男、女每十萬人口年齡標準化死亡率，從1955年的2.67、1.25增加到1991年的25.42、10.85。性比例約保持在1.6-2.1，三十年來沒有太大的改變，是世界最低的地區(3,4,6,7)。三十年來，男女性肺癌幾乎都增加8倍，是世界上增加最快的地區。和其他癌症比較，也是增加率最快的癌症。目前在台灣的癌症死亡率，男性僅次於肝癌；女性則已超過子宮頸癌，排行第一(3,4)：腺癌佔所有肺癌的比例，三十多年來始終高居第一。尤其在女性非抽菸者，有更高比例的腺癌患者(3,4)。在男性，79%的肺癌可歸因於吸菸；但女性只有15%的肺癌可歸因於吸菸(4)。女性吸菸的比例在一般族群只有3%。城市和鄉村地區吸菸比例相似，但肺癌的發生率卻相差四倍；山胞吸菸的比例比平地還高，但肺癌的發生率相當低(3,4,7,8,9)。由這些研究結果顯示，台灣肺癌的流行病學特徵的確有相當特殊的一面，可能除了吸菸之外尚有重要之危險因子。可惜分析性的流病研究，

並未得到一致的結論。這也是進行本篇研究的主要目的。

台灣歷年來對吸菸和肺癌之研究不多，而且得到吸菸的相對危險性歧異頗大(3,5,10,11)。但和歐美國家比較相對危險性皆較低，可能的解釋有三：代謝基因之多形型導致易罹癌性的不同、尚有其他重要致病因素未發現、及未控制二手菸之負向干擾因素。然而根據楊等人的研究，婦女肺癌有 85%不能由吸菸解釋(3)。即使把二手菸的因素加入考慮，仍然暗示著我們有相當重要的危險因子有待發現。

有人認為烹調用油和肺癌有關。這可以部份解釋為何中國婦女很少抽菸，卻好發腺癌。在中國大陸上海的研究發現(23)：肺癌和烹調的方式（煎、炒、煮），烹調的餐數，烹調時的油煙大小，烹調用油，尤其是油菜子油(rape seed oil)都有相關。另外對烹調油煙的分析中發現其中含有致癌物的成分(24)，這些證據都可部份支持此假說。而在葛(10)等人的研究中發現，如果用煤煮飯，會有更高的危險性。目前烹調和肺癌之相關，大都持肯定的態度。但可歸因比例到底多少，目前尚未有較精確的估計。但中國人已經烹調了數千年，為何最近肺癌才突然增加，目前並無較好之解釋。會不會和瓦斯的使用有關，仍待研究。荷爾蒙也是另一個值得注意的因子，因為有人發現在肺腺癌組織周圍可以發現荷爾蒙受器(25)。另外有

人發現月經週期較短的女性比月經週期較長的女性得肺癌的危險性較高(23)。而在非抽煙的族群中，女性發生肺癌的比例比男性高。這些證據顯示荷爾蒙在肺癌的致病機轉上，的確扮演著某種角色。據研究人體代謝基因，例如CYP1A1，可能會被女性荷爾蒙活化。這會不會是一個可能之機轉，仍待研究。

曾有相當多的報告提及肺癌和其他的疾病的關係。肺結核是常被提及的一個疾病(20,21)。因為肺結核目前的治療具有相當的成效，死於肺結核的危險性已大為下降。但藥物的順從性不高，使得肺部長期處於慢性發炎的狀態而無法根治。再加上抗結核藥isoniazid 已知具有致癌性，所以在機轉上有令人信服的證據。在台灣，葛(10)的研究發現肺結核和鱗狀細胞癌有相關。李(22)的研究顯示肺結核病有5.72 倍的危險性。台灣原住民女性肺癌發生率幾乎和男性相當，這和山地肺結核盛行是否有關，仍待進一步研究。

在體質的易罹癌性上，以往研究的結果，多在探討代謝基因的多形型和抽煙對肺癌發生有無交互作用。人體之代謝系統可分為兩大類：一類為第一階段酵素 (phase I enzyme)，是以人類細胞色素P-450 (cytochrome P-450s)為主。另一類為第二階段酵素 (phase II enzyme)，常見的有麩胺硫轉移酵素(Glutathione S-

transferase, GST) 及氮-乙醯轉移酵素(N-acetyl transferase) 等。外來物質先經第一階段酵素進行氧化、水解，再進行第二階段酵素催化接和 (conjugation) 之作用，使異種物質順利排出體外，而不會造成人體傷害。細胞色素P450酵素 1A1 (*CYP1A1*) 基因位於第十五對染色體15q22位置上，1991年 Kawajiri 等人研究發現 *CYP1A1* 可被多環芳香族碳氫化合物 (polycyclic aromatic hydrocarbon) 所誘導表現，例如 benzo(a)pyrene (41)。*CYP1A1* 基因 3'-flanking region 上有一 C->G 的突變，可以被 MspI 限制酵素辨識，切斷後產生之對偶基因稱為稀有基因 m2，反之為 m1，共組成三種基因型：A (m1/m1)、B (m1/m2)、C (m2/m2)。同年 Hayashi (42) 等人的研究亦發現在 *CYP1A1* 基因 exon 7 上有一 A->G 點突變，導致異白胺酸由絲胺酸取代。Petersen (43) 等人進行家族研究，發現 *CYP1A1* 之 MspI 基因多形型和多環碳氫化合物 (aryl hydrocarbon hydroxylase) 可誘導性有關，推論具有 m2 對偶基因可能使 *CYP1A1* 誘導性增加。在流行病學方面，以日本之族群進行的肺癌病例對照研究發現具有基因型 C (m2/m2) 者比具有基因型 A (m1/m1) 有顯著較高的機會罹患肺癌。然而在芬蘭進行的肺癌病例對照研究結果，*CYP1A1* 基因型和肺癌危險性無顯著相關存在(44)。就 C 基因型分佈而言，在日本人約佔 10%、北歐國

家約 1-2%、其餘白種人約 2%、美國黑人約 3.5%；綜觀之，*CYP1A1* 基因多形型對癌症的影響可能在亞洲人中比在歐美國家扮演較重要之角色。然而至今在台灣地區尚未有 *CYP1A1* 基因型和肺癌的相關研究發表。

CYP2E1 代謝一些較小的化合物，其中包括一些已知的致癌物，如：N-nitroso-amines, benzene, urethane，而且其活性可被酒精誘導、目前可用限制酵素 RsaI、PstI、DraI 來辨識出幾種不同之基因型。在日本的研究，DraI 三種基因型的分佈(DD、CD、CC)在肺癌病例組和對照組身上有顯著的不同(45)然而後續的研究卻顯示出種族的差異性在芬蘭的研究發現稀有之基因型 (CC)之頻率比日本少很多，而且在肺癌病例組和對照組上的分布並沒有顯著之差異(46)。Persson 在 1993 所作的研究也得到類似的結論(47)。另外 PstI 和 RsaI 限制酵素可以辨識出 *CYP2E1* 基因 5'flanking region 的多形型 (c1c1、c1c2、c2c2)。Kato 等人在 1992 年對白種人所作的研究發現：RsaI 得不同之基因型和肺癌發生之危險性並無顯著相關(48)。然而 Persson 在 1993 於瑞典所作之研究卻發現 RsaI 稀有基因型(c2c2)者發生肺癌的危險性顯著下降(47)。Wu 等人於 1997 年在美国所作之研究也得到類似之結論(49)。由上所述可以了解 *CYP2E1* 的基因多形型和肺癌之關係目前仍存在許多之歧

異。值得注意的是目前已知 *CYP 2E1* 基因之變異都在非譯碼區。這也增加了在解釋可能之致病機轉上的困難。

麩胺硫轉移酵素(Glutathione S-transferase, GST)爲人體解毒酵素之一，在不同的組織中含有不同的同功效素分佈(14)。此種酵素的作用在催化許多嗜電性化合物(electrophils) 與體內還原型麩胺基硫(reduced glutathione)接合法除其毒性後排出體外。這些毒性物質包括許多已經證實的致癌物(carcinogen)及致突變物質(mutagen)等，例如香菸中的多環芳香碳氫化合物(polycyclic aryl hydrocarbon)。麩胺硫轉移酵素基因群包括四個非相連的基因位置： α 、 π 、 μ 、 θ ，其所產生的酵素具有不同的生化特性。日本的研究者發現 GST M1 缺陷型會增加肺癌的危險性，而和鱗狀細胞癌關係較強(15)。而在北歐相關的研究，則發現 GST M1 基因缺陷型會增加肺癌的危險性，而和腺癌的關係較強(16)。而 GST T1 同結合子缺損型和姊妹染色分體交換頻率增加有關(17)。因此 GST M1、T1同結合子缺損基因型可能會增加環境致癌物對基因損害的情形。根據以往的研究，GST M1 基因缺陷型於不同的民族所佔的比例大概介於 30%-60% 之間，台灣地區無效型基因比例大概約 62%(18)。而 GST T1 基因缺陷型所佔之比例，迄今研究結果仍屬稀少，根據一篇研究指出：無效基因型於華人族群約佔 64%(19)。

這種較高比例的無效基因型，是否和台灣地區肺腺癌較高有關，也是本篇研究有興趣的課題。GST P在身體很多器官都有分布；在以往的研究曾發現該基因在人類或老鼠的腫瘤或腫瘤前期之病變上會過度表現(50)。然而因為以前並未發現 GST P有基因多形型，所以也無法探討基因型變異和癌症之相關性。Harries 等人在1997發現 GST P基因 cDNA 第313 nucleotide 的點突變會改變基因之活性(51)；而此基因多形型和膀胱癌、前列腺癌及睪丸癌之發生有相關。我們知道在人類的肺臟中，所有的 GST 中以 GST P 的表現最多(52)。因此探討肺癌發生之危險性及 GST P多形型之相關，也是相當有趣之課題。

氮-乙醯轉移酵素(N-acetyl transferase) 是 Phase II 酵素之一種，主要的受質是環胺類(arylanine)，並負責多種藥物的代謝。臨床上常發現，對不同的病人給同樣的藥，治療的效果有時會有很大的差別，代謝基因之多形型往往是主要原因。NAT 活性的差異主要是由兩組基因來決定：NAT1 和 NAT2。NAT2 主要在肝臟表現，以往的研究發現 NAT2 的活性在人群中呈雙峰分佈。若我們取適當的切點，可將一個人的表現型依活性大小分成 slow acetylator及 rapid acetylator。目前至少已經發現四種以上不同的突變可以導致酵素不表現、不穩定、或活性低，而成為 slow

acetylator。不同的民族突變的頻率有相當的差異。NAT1的酵素活性在人群中呈單相分佈，以往一直認為並沒有基因多形型。然而在較近的研究中(40)卻發現在非譯碼區有基因的多形型，而且此突變型會增加酵素活性。NAT1不只在肝臟可以表現，在許多肝外的組織，如大腸、膀胱、及肺也有酵素的活性。環境中有些環胺類，如香菸中的NNK和NNN等環胺類化合物，都具有致癌性，所以人體不同的代謝能力是否和特殊的癌症有關，也是研究的焦點。以往的研究發現 slow acetylator會增加膀胱癌的危險性(35-36)；rapid acetylator會增加大腸直腸癌的危險性(37-38)；而和肺癌的相關研究較少，而且並未發現表現型的差異會影響發生肺癌的危險性(39)。Cascorbi等人於 1996年在德國所作之研究，以測定基因型之方式來探討 NAT2基因多形型和肺癌之相關，結果發現 NAT2同接合子快速基因型 (NAT2*4/*4) 是肺癌發生的一個危險因子(53)。NAT不管是在測定表現型或基因型上都有明確的方法，而且在不同民族頻率的分布有明顯的差異，可惜以往探討 NAT 和肺癌之相關研究較少，這也是本研究另一個有興趣的課題。

p53 基因突變 (germ line mutation) 如 Li-Fraumeni 症候群，使得人類在生命之早期易罹患各種不同之癌症 (64)。以 p53 基因多形型來當作易感性指標也是有趣的方向。目前已知 p53 基因

在 exon 4 上， codon 72 處有多形型(Arginine / Proline)。1993 年 Kawajiri 等人在日本研究抽菸和肺癌之相關性，發現 p53 基因的 exon 4 上 codon 72 位置上同型結合子 (Pro/Pro) 和癌症之危險性 (65)。Sjalander 在 1995-1998 年也發現 p53 之基因型和 haplotype 在結直腸癌及乳癌之危險性有顯著之相關 (66)。在卵巢癌子宮頸癌之研究方面，Rosenthal 等人則發現，與 p53 基因上同型結合子 (Arg/Arg) 並無相關。目前已知 p53 扮演抑癌基因之角色，和人類癌症的發生有相當重要之關係。所以探討 p53 基因多形型和癌症之發生之關係，應該是相當有趣之議題。目前較難解釋的是 exon 4 上 codon 72 位置之基因多形型並不會影響蛋白質之活性。所以此多形型究竟透過何種機轉來影響癌症之發生，還待進一步之研究。

近來基因多型型和癌症之研究主要偏向三個方向。第一個方向是不同基因型組合，尤其是Phase I和 Phase II酵素對癌症發生之交互作用。這方面的研究尤其以 *CYP 1A1* 和 *GST M1* 對肺癌發生之相關性研究最多(54-56)。第二個方向是探討外在環境暴露對基因型危害之修飾作用(effect modification)，最常見的分析是按照吸菸的有無或劑量大小來作分層分析，看在不同層中基因多型型和癌症的關係是否有所不同(57-58)。第三個方向是探討基因多

形型對癌症病人存活之影響。如1996年在日本針對非小細胞肺癌病人所作之研究，發現*CYP 1A1* (m2/m2)基因型和 GST M1缺損型的病人存活時間顯著縮短(59)。而這些新的研究方向也都是本研究中重要之課題。

參、材料及方法

(一)、研究目的

1. 探討吸菸、二手菸對女性肺腺癌發生的影響，估計相對危險性。
2. 探討其它危險因子，如：烹調方式、烹調用油、肺結核、飲食因子及月經週期對女性肺腺癌之影響。
3. 探討 N-acetyl transferase 及*CYP1A1*、*CYP2E1*、GSTM1、GST T1、GST P 基因多形型和女性肺腺癌之相關。
4. 探討 N-acetyl transferase 及*CYP1A1*、*CYP2E1*、GSTM1、GST T1、GST P 基因多形型和環境致癌物（香菸、油煙）的交互作用在女性肺腺癌致癌過程所扮演之角色。

(二)、研究假說

1. 台灣地區婦女肺腺癌病患的吸菸率、二手菸暴露率、油煙暴露率、顯著高於對照組。

2. 台灣地區婦女肺腺癌病患的代謝酵素GST M1、GST T1、GSTP、NAT1、NAT2、*CYP1A1*、*CYP2E1*的基因多形型頻率分佈和對照組有顯著的不同。

3. 吸菸、二手煙、油煙暴露對肺癌之危害，在不同之代謝基因多形型有不同大小之影響。

(三)、研究材料及方法

本研究係採病例對照研究，探討各種可能因子和女性肺腺癌的關係，並探討代謝基因在環境致癌物致癌過程的修飾作用。以下分別針對材料及方法分述之：

(1). 研究設計

本研究擬採病例對照研究法。病例取自於臺大醫院新診斷之女性肺腺癌病患；對照組為健檢個案對照，取自台大健檢病房。

(2). 研究個案之選取

a. 病例組研究對象之選取

本研究病例取自於臺大醫院內科、腫瘤科新診斷之女性肺癌病患，須由病理專科醫師經病理組織確定診斷。預計以三年時

間完成個案收集。

b. 對照組研究對象之選取

針對每一名病例我們將選取兩名健檢個案對照:擬自來
台大健檢中心做健康檢查的個案中隨機取樣兩名性別
相同之之個案為對照組

(3). 危險因子之資料收集

每名研究對象進入研究時，均由嚴格訓練過的訪員，以結構式問卷進行標準化訪視。問卷內容包括：

- a. 基本人口學資料：如身份證字號、性別、年齡、住址、籍貫等。
- b. 社經地位資料：教育程度、職業、婚姻狀況、居住史等。
- c. 飲食習慣：飲食狀態、素食習慣、飲酒史等飲用習慣。
- d. 個人及家族病史，月經史：有無肺結核、慢性阻塞性肺炎、其他重大器官之疾病、服用藥物史、月經週期、生育史等。
- e. 抽菸、嚼檳榔、油煙暴露、及職業暴露之詳細資料：吸菸年數、每天幾包、戒斷與否、二手菸暴露、烹調用油、烹調方式、烹調頻率。

(4). 血液檢體收集

本研究在研究個案進入研究及接受檢查時，先經過研究個案之同意，然後利用加有抗凝血劑 (EDTA) 的真空採血管，採集個案血液 20 ml (分兩次採集)。並於 12 小時內，以每秒 3000 轉，20 分鐘完成離心之後，依標準程序分別將白血球、血漿、及紅血球分離，貼好標籤，分裝於 -70°C 液態氮冷凍櫃中儲存。以未加有抗凝血劑的真空採血管，採集個案血液 5 ml。並於 12 小時內以每秒 3000 轉，20 分鐘完成離心之後，將血清裝在 2 ml 小瓶中，貼好標籤，裝於 -70°C 液態氮冷凍櫃中儲存。

(5). 實驗方法

1. 萃取 DNA

將白血球檢體由冰箱取出，解凍

- (1) 加入 10 ml blood washing solution, 將其均勻混合, 以轉速 3500 rpm 離心 20 分鐘.
- (2) 將上層液體倒掉, 保留管底沈澱物.
- (3) 加入 1 ml blood washing solution, 搖動混合.
- (4) 加入 1 ml 水, 搖動混合.

- (5) 加入 4 ml lysing solution, 放置在 68°C 水槽內 10 分鐘.
- (6) 倒入 gel tube 內, 加入 6.5 ml chloroform, 用重複倒置方法輕輕混合.
- (7) 3500 rpm 轉速離心 25 分鐘.
- (8) 將上層液體倒入另一新的 15 ml 試管.
- (9) 加入 8 ml precipitation solution, 用重複倒置方法輕輕混合, 3000 rpm 轉速離心 5 至 10 分鐘, 留下沈澱物.
- (10) 加入 4 ml ionic exchange solution 及 8 ml ethanol, 用重複倒置方法輕輕混合, 轉速離心 5 至 10 分鐘.
- (11) 將沈澱物倒出, 加入 1 ml 70% ethanol, 在 4000 rpm 轉速離心 10 分鐘, 放置在空氣中陰乾. 此乃萃取出之 DNA.
- (12) 將 DNA 加入水溶解, 以備進行聚合酵素鏈鎖反應.

2. CYP1A1 基因多形型測定

採用 Hayashi et al. 方法 (42), 以 Msp I digestion 定 CYP 1A1 (46) 之基因型. CYP 1A1 使用的 primer 是 (5'-CAG TGA AGA GGT GTA GCC GCT-3') 和 (5'-TAG GAG TCT TGT CTC ATG CCT-3'), PCR 的條件為: 94°C (30 秒), 55°C (30 秒), 72°C (1 分鐘) 共 35 次循環, 72°C (5 分鐘) 後冷卻至室溫. 本研究以 8% 聚丙

烯醯胺硫 (polyacrylamide gel) 進行電泳分析，8% 聚丙烯醯胺硫 (polyacrylamide gel) 總體積 50ml，包含：40 acrylamide 10ml、10 倍 TBE (含 0.9M Tris、0.9 M Borate 及 0.02 M EDTA，pH=8.3)、緩衝溶液 5 毫升、10% APS (amino persulfate) 400 μ l、TEMED (N',N',N',N'-Tetra-methyl-ethylene-diamine) 15 μ l 及二次水 34.6ml。同一批 PCR 反應產物以同一片凝膠進行分析，同時置入 DNA 標記 Phix174 RF DNA (HT biotech®) 以判定 PCR 產物是否正確。以一倍 TEE 為電泳介質，在 200 伏特及 300 安培電流下進行 1 小時 30 分電泳。電泳結束後，將膠片放入溴乙化錠 (ethidium bromide) 中染色，10 分鐘後取出，以清水稍作清洗，再以紫外線照射判讀，並以顯像電腦軟體進行照相及保存。

3. CYP2E1 基因多形型測定

採用 Hayashi et al. 方法，以 Rsa I digestion 定 CYP 2E1 基因型(60)。CYP 2E1 使用的 primer 是 (5'-CCA GTC GAG TCT ACA TTG TCA) 1370-1349 和 (5'-TTC ATT CTG TCT AAC TGG) 999-978，PCR 的條件為：95°C (1 min) 共 35 次循環，每個樣本取出 20 μ l，在 37°C 3 小時，以 10 uni: Rsa I digestion。產物 loading 於 8% Polyacrylamide gel 後進行電泳分析。另外，

採用 Uematsu et al. 方法, 以 Dra I digestion 定 CYP 2E1 基因型(45). 使用的 primer 是 (5'-TCG TCA GTT CCT GAA AGC AGG) 和 (5'-GAG CTC TGA TGC AAG TAT CGCA), PCR 的條件為: 95°C (1 min), 55°C (2 min), 70°C (2 min) 共 35 次循環, 每個樣本取出 20 μ l, 在 37°C 3 小時, 以 10 units Dra I digestion. 產物 loading 於 8% Polyacrylamide gel 後進行電泳分析.

4. GST M1 基因多形型測定

GSTM1 基因多形型測定是將 Bell et al.(18) 的方法以 Differential PCR (是一種半定量之技術) 稍微修改如下:

#1. Genomic DNA 加入一 PCR 混合液中含各約 400 ng 的 GSTM1 primer (G5-5'-GAA CTC CCT GAA AAG CTA AAG C-3'; G6-5'-GTT GGG CTC AAA TAT ACG GTC G-3') 和 β -globulin primer (PC04-5'-CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC-3'; GH20-5'-GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC-3'), 200 μ M 的 dNTP, 1X PCR buffer 和 1.5 mM 的 MgCl₂, 並加水使最終體積達 100 μ L.

#2. 加熱到 94°C, 維持 5 分鐘, 使 DNA 變性分離 (denature).

#3. 於 80°C 時 (hot start PCR), 加入 Tag polymerase (AmpliTag, Perkin-Elmer Cetus, Norwalk, CT), 開始
進
行反應. 接著步驟是 primer annealing 55°C (1 min)、
p olymerization 72°C (3 min) 、及 denaturation 94
°C (1
min) 共 40 循環, 之後溫度降至 72°C, 再降至 4°C, 以
備
電泳分析.

#4. 調配 8% polyacrylamide gel.

#5. 取 10 μ l PCR 產物加上藍色素, loading 入 8% poly-
acrylamide gel, 進行電泳分析 (90 min).

#6. 電泳分析後之 gel, 以 ethidium bromide 染色, 可見到經
過增幅之後的 β -globulin 基因呈現 268 bp band. 而經
過增幅之後的 GSTM1 基因呈現在 215 bp band.

5. GST T1 基因多形型測定

GSTT1 基因多形型測定是參考 Pemble et al.(61)的方法, 用

GSTT1 primer 及 β -globulin primer, 和上述方法類似的步驟進行聚合酵素鏈鎖反應, 完成基因增幅, 跑電泳, 染色之後, 可見到經過增幅之後的 β -globulin 基因呈現 268 bp band. 而經過增幅之後的 GSTT1 基因呈現在 480 bp band.

#1. Genomic DNA 加入一 PCR 混合液中含各約 400 ng 的 GSTT1 primer(G5-5'-TTC CTT ACT 3GT CCT CAC ATC TC-3'; G6-5'-TCA CCG GAT CAT GGC CAG CA-3')和 β -globulin primer(PC04-5'-CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC-3'; GH20-5'-GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC-3'), 200 μ M 的 dNTP, 1X PCR buffer 和 1.5 mM 的 $MgCl_2$, 並加水使最終體積達 100 μ L.

#2. 加熱到 94°C, 維持 5 分鐘, 使 DNA 變性分離 (denature).

#3. 於 80°C 時 (hot start PCR), 加入 Tag polymerase (AmpliTag, Perkin-Elmer Cetus, Norwalk, CT), 開始進行反應. 接著步驟是 primer annealing 55°C (1 min)、polymerization 72°C (3 min)、及 denaturation 94°C (1

min) 共 40 循環，之後溫度降至 72°C，再降至 4°C，以備

電泳分析。

#4. 調配 8% polyacrylamide gel.

#5. 取 10 μ l PCR 產物加上藍色素，loading 入 8% polyacrylamide gel, 進行電泳分析 (90 min).

#6. 電泳分析後之 gel, 以 ethidium bromide 染色, 可見到經過增幅之後的 β -globulin 基因呈現 268 bp band. 而經過增

幅之後的 GSTT1 基因呈現在 480 bp band.

6. NAT1 基因多形型測定

採用 Bell et al. 的方法 (62). 在 NAT1 基因之增幅方面，每管中包含個案基因體 DNA, dNTP, Tag 聚合酵素, 10X 聚合酵素緩衝溶液，及一段引發子 (primer):

N1208F-5'-GAC TCT GAG TGA GGT AGA AAT A-3' 及 N1536NR-5'-ATA ACC ACA GGC CAT CTT TAG AA-3'. 得到 PCR 產物約 351 bp. 若以 Mbo II 酵素進行 RFLP, 可以分辨出 NAT1*4、NAT*11、

NAT*10. 但是 NAT*10 和 NAT*3 無法分辨出來, 所以還要再進行 Allele-specific PCR. NAT*3 的對引子:

N1232-5'-TAA AAC AAT CTT GTC TAT TTG-3'

V₁k-5'-GCC ATC TTT AAAA ATA CAT TTA-3'

NAT*10 的對引子:

N1232-5'-TAA AAC AAT CTT GTC TAT TTG-3'

V₂T-5'-GCC ATC TTT AAA ATA CAT TTT-3'

這兩對引子用來區分 NAT*3 及 NAT*10 基因型所增幅之基因序列皆為 226 bp. 至於 PCR 及電泳照相之步驟均和前述同。

7. NAT2 基因多形型測定

採用 Bell et al. 的方法 (63). 在 NAT2 基因之增幅方面, 每管中包含個案基因體 DNA, dNTP, Tag 聚合酵素, 10X 聚合酵素緩衝溶液, 及一段引發子 (primer):

N4-5'-TCT AGC ATG AAT CAC TCT GC-3' 及 N5-5'-GGA ACA AAT TGG ACT TGG-3' 得到 PCR 產物約 1093 bp. 然後再將反應成功之產物分別用三種限制酵素 Kpn I、Taq I、BamH I 去消化除了 Taq I 需要在 65°C 至少 3 小時或隔夜其餘皆在 37°C 至少 3 小時或隔夜. 將 Kpn I、BamH I 消化好的產物以 2% 的 agarose

gel 跑電泳,將 Taq I 消化好的產物以 3% 的 agarose gel 跑電泳,最後再染色照相.

8. GST P 基因多形型測定

方法參考 Harries et al.(51). 在 GST P 基因之增幅方面,每管中包含個案基因體 DNA, dNTP, Tag 聚合酵素, 10X 聚合酵素緩衝溶液, 及一段引發子 (primer):

P105F-5'-ACC CCA GGG CTC TAT G-3' 及 P105R-5'-TGA GGG CAC AAG AAG CCC CT-3'. 再以 U Alw261 酵素進行 RFLP, 再放至 3.5% agarose gel 上跑電泳最後染色呈相.

9. p53 exon 4 基因多形型測定

方法參考 Kawajiri et al.(65). 在 p53 基因之增幅方面,每管中包含個案基因體 DNA, dNTP, Tag 聚合酵素, 10X 聚合酵素緩衝溶液, 及一段引發子 (primer):

P53-1 5'-ATC TAC AGT CCC CCT TGC CG-3'

P53-2 5'-GCA ACT GAC CGT GCA AGT CA-3'. 再以 Bst U1 酵素進行 RFLP, 再放至 2.5% agarose gel 上跑電泳, 最後染色呈相。

(四) 統計檢力及樣本數之推估

假設 GSTM1 無效基因型發生肺腺癌的相對危險性為 2，GSTM1 無效基因型的基因頻率在台灣為 40-60%，若顯著水準訂在 0.05、檢力訂在 0.8，則須要 115-133 名病人。若檢力訂在 0.95，則須要 144-166 名病人。本研究擬收集 150 名病例，檢力預計可達 0.8 以上。

(五) 資料建檔及實驗室品質管制

資料以 DBASE III plus 建檔。所有問卷資料於收取當時，經過兩次檢查確定無邏輯上之錯誤後，方譯碼鍵入電腦檔中。所有實驗室分析工作均由同一名研究生操作，且每名研究個案結果均照相保存。而個案檢體之排序，則委託另一名助理完成。分析者並不知個案排序情形。

(六) 資料分析

將問卷及實驗室資料檔合併之後利用 SAS 及 EGRET 軟體進行資料分析

1. 以條件邏輯斯迴歸(conditional logistic regression) 進行模型建構，作單變項及多變項分析，以了解各危險因子之暴露和女性 肺腺癌之相關。
2. 以條件邏輯斯迴歸(conditional logistic regression)

進行模型建構，作單變項及多變項分析，以了解各基因多形型和女性肺腺癌之相關，以及基因多形型之交互作用。

3. 根據不同基因型作分層分析，以了解基因多形型及相關危險因子之暴露對肺腺癌發生之交互作用。

(七) 研究限制及可能遭遇之困難

1. 病例及對照組訊息取得不對等

問卷訪談將耗費相當時間，病例組可在住院期間詳細詢問，配合意願預期會較高。但健檢對照組是否有同樣的意願接受訪談，是我們較為擔心的地方。

2. 對照組可能和病例組來自不同氏族團體

對基因易罹癌性的研究，若病例組及對照組若來自不同之氏族團體，則會得到偏差的結論。我們較為擔心的是：病例組可能來自全台灣，而健檢對照組可能僅來自北台灣。則有可能造成病例組及對照組氏族團體組成不一樣，使得對基因易罹癌性的研究，得到偏差的結論。

3. 被動吸菸之暴露不易測定

單純地詢問配偶有無吸菸，對於被動吸菸的估計，可能過

於粗糙而且可能有回憶偏差。利用生物指標測定，可能較為精準但測定的也只能代表近期的暴露。

4. 油煙暴露資料不易收集

油煙暴露資料更難詢問。到烹調現場取樣可能是一個方法，但我們還是很難知道個案幾十年前油煙暴露的狀況。

肆、研究結果

一、危險因子分析

本研究包括 179 名女性肺癌個案(8 成以上是肺腺癌)，及 279 名健檢對照組。根據表一，我們可以看到：在年齡之分布上，病例組以 60-69 歲組的人數最多，達到 27.4%；但是我們也可以看到小於 50 歲的個案約佔四分之一。由這樣之年齡分布，我們可以判斷：台灣地區女性肺腺癌之年齡曲線，大致上呈現雙高峰分布；其中一個高峰較小，大約在 30-50 歲；另一個高峰較大，大約在 60-70 歲。由這樣一個結果，讓我們產生一個想法：究竟早發性女性肺腺癌之危險因子是否和晚發性女性肺腺癌之危險因子相同？這也是後續分析中將解答之問題。另外我們可以看到：在對照組中，年齡平均來說較病例組年輕，高峰出現在 50-60 歲組。因為病例和對照組年

齡之差異，受到研究設計上選取對照組方式之影響（本研究選取健檢對照），所以我們不將年齡視為危險因子來分析，僅將之視為干擾因子，在後續之危險因子分析中予以調整。至於在教育程度上，我們也可以看到：病例組大多數是小學以下（62.7%），而對照組則以專科以上較多（38.4%）。同樣的，這也僅反映出健檢族群之特殊性（教育程度較高），所以我們也不將教育程度視為危險因子來分析，僅將之視為干擾因子，在後續之危險因子分析中予以調整。而父親的籍貫上，我們可以看到病例及對照組都是以閩南族群佔大多數，然而病例組客家族群之比例較對照組客家族群之比例少（7% v.s 10.5%），客家人發生肺腺癌之相對危險性為閩南人的 0.5 倍，達邊際顯著意義。至於身體肥胖指數（body mass index）（發病前），我們可以看到：愈肥胖者，發生女性肺腺癌之機會似乎愈低。BMI 在 22-25 組或 BMI>25 組，發生癌症之比例都只有 BMI <22 組的 0.3 倍。這樣的結果可能之原因有兩個：1. 發病前可能是在前臨床期，有可能癌症早已發生，只是臨床上並未偵測出來，所以病患體重已經開始下降。2. 可能較肥胖者體內脂肪組織較多，進而影響雌性荷爾蒙之濃度，而影響癌症之發生。抽菸方面，我們看到病例組之吸菸率達到 10.9%，而對照組吸菸率只有 1.8%，相對危險性高達 5.2 倍，達統計顯著意義。然而此估計值高於以往之研究

結果(OR 約 3)，最可能的原因是：我們所選取之對照組之吸菸率低於一般族群，所以導致高估相對危險性所致。另外在煮食方面，我們發現病例及對照組都有相當高的比例有煮食之經驗(91.7% vs 91.3%)；然而，在排油煙機之使用方面，病例組及對照組卻有顯著之不同 (60% v.s. 21%)，相對危險性高達 3.5 倍，達統計顯著意義。所以我們可以知道，似乎大多數的研究個案都有煮食經驗，但使用抽油煙機與否才對致病有影響。在初經年齡方面，我們發現：初經較晚的個案(14-15 歲或 16 歲以上)相對於初經較早的個案(小於 14 歲)，有較低的癌症發生率(OR 約 0.6)。在停經年齡方面，我們發現：停經較晚的個案(46-51 歲或 52 歲以上)相對於停經較早的個案(小於 46 歲)，有較低的癌症發生率(OR 約 0.6-0.7)。而在自然流產方面，我們發現：病例組曾經自然流產之比例達到 18.2%，遠大於對照組之自然流產比例 (0%)，雖然因為模式建構之關係，無法求出相對危險性，但是這麼巨大之差異，背後應該隱含著某些意義。或許荷爾蒙之因素是女性肺癌尤其是肺腺癌之重要決定因子。另外，在哺乳時間之長短方面，哺乳時間愈短，發生肺癌之機會越大，相對危險性達 1.6 倍。在外源性荷爾蒙方面，不管是口服避孕藥使用或荷爾蒙補充治療，相對危險性都為 0.5。由以上之分析可以看到：荷爾蒙因素在女性肺癌之致病過程扮演著某種角色，

但是詳細之機轉還不清楚。在過去病史方面，肺結核和肺癌之關係一直是大家所討論之重點，本研究以病史詢問之方式來決定是否曾罹患肺結核。結果發現：罹患肺結核者比未曾罹患患者發生肺癌之比例高 1.7 倍。而其他之疾病，如氣喘、慢性阻塞性肺病及糖尿病等，和肺癌之發生並無顯著之相關。在家族史方面，我們發現：父親是否罹患肺癌，並不會影響個案發生肺癌之機率；但母親罹患肺癌，卻會增加為 7.5 倍之危險性。手足罹患肺癌也會增加為 5.1 倍之危險性，且達到統計顯著意義。若以所有之一等親來看，我們可以發現：一等親患肺癌，會增加為 2.3 倍之危險性。可見家族史也是一個重要之影響因素。若我們對廚房油煙之因素作更進一步分析，我們可以發現：開始煮食年紀方面，越早開始煮食者(<25 歲)比較晚開始煮食者(≥ 25 歲)之發生肺癌之相對危險性為 1.6 倍，達邊際顯著意義。另外，如果我們以開始煮食年齡和是否使用排油煙機作交互作用之分析，可以發現：若有使用排油煙機則較早開始煮食並不會增加發生肺癌之危險而若沒有使用排油煙機且較早開始煮食發生肺癌之危險性是有使用排油煙機且較慢開始煮食的 4.1 倍。如果我們以開始煮食時間和是否使用排油煙機作交互作用之分析，可以發現：若有使用排油煙機，則煮食時間較長(≥ 20 年)並不會增加發生肺癌之危險(OR=1.4)；而若沒有使用排油煙機，且煮食時間較

長，則發生肺癌之危險性是有使用排油煙機且煮食時間較短的 5.2 倍。煮食燃料方面，使用煤炭和使用木柴或木炭者發生肺癌之危險性分別為使用瓦斯的 3 倍及 4 倍，這可能和煤炭及木炭中含有 PAH 有關。如果我們以煮食燃料和是否使用排油煙機來作交互作用分析，可以發現：若有使用排油煙機，則煮食燃料使用煤炭或木炭並不會增加發生肺癌之危險；但是若沒有使用排油煙機，則煮食燃料使用煤炭或木炭會明顯增加發生肺癌之危險性(OR=6.5 及 10.1)。而煮食用油方面，使用動物性油脂者發生肺癌之危險性為使用植物性油脂者的 3.8 倍。如果我們以煮食用油和是否使用排油煙機作交互作用分析，可以發現：若有使用排油煙機，則煮食用油使用動物性油脂僅略為增加發生肺癌之危險(OR=2.3)；但是若沒有使用排油煙機，則煮食用油使用動物性油脂會明顯增加發生肺癌之危險(OR=11.2)。由以上進一步之交互作用分析，我們可以知道：開始煮食年紀、煮食時間、煮食燃料、煮食用油和肺癌之相關性，只有在沒有使用排油煙機之狀況下才達顯著意義。換句話說，也只有沒有使用排油煙機之狀態下，廚房油煙之危害才會顯現出來。由以上之危險因子分析，我們可以知道：抽菸家族史、荷爾蒙相關之危險因子、廚房油煙相關之危險因子和女性肺癌之發生有顯著之相關。所以我們將這些變數作多變項分析(見表二)，結果發現：各變

項和女性肺癌之相對危險性病無太大之改變，但荷爾蒙因素因為未達統計顯著意義，所以無法進入模式。但這可能僅是因為樣本數太少，造成信賴區間過寬所導致，並不能排除荷爾蒙因素在女性肺癌致病過程所扮演之角色。

二、基因多形型之分析

在附錄中列出了不同基因遺傳多形型之命名方式。我們在這次的研究中，一共進行了 CYP1A1 MspI, CYP2E1 RsaI, GSTM1, GSTT1, GSTP1, NAT1 3、4、10、11, NAT2 M1,M2,M3, p53 codon72 等八個基因之多形型和女性肺癌之相關性分析。其結果可以看表三。由表三，我們可以看到：單純看基因多形型和女性肺癌發生之關係，在 CYP1A1 MspI 多形型方面，同接合子突變型發生肺癌之相對危險性為同接合子野生型的 1.6 倍，達邊際顯著意義。而異接合子基因型發生肺癌之相對危險性為同接合子野生型的 1.4 倍，未達統計顯著意義。在 CYP2E1 RsaI 多形型方面，同接合子突變型發生肺癌之相對危險性，為同接合子野生型的 3.9 倍，達統計顯著意義。而異接合子基因型發生肺癌之相對危險性為同接合子野生型的 1.4 倍，未達統計顯著意義。由以上之分析可知，CYP2E1 和肺癌發生之相關性比 CYP1A1 來的強。在 Glutathione S-transferase 方面，在 GSTM1 方面，虛無基因型和非虛無基因型發生肺癌比例似乎無明顯之差別。

(OR=1.2)。在 GSTT1 方面，虛無基因型和非虛無基因型發生肺癌比例也無明顯之差別(OR=1.1)。而在 GSTP1 方面，我們可以看到。同接合子突變型或異接合子基因型發生肺癌之相對危險性為同接合子野生型的 1.2 倍，未達統計顯著意義。由以上之分析，我們可以看到：在 Glutathione S-transferase 方面，單純之基因多形型和女性肺癌之分析，我們並沒有看到明顯之相關。而在 p53 基因方面，我們可以看到：同接合子突變型或異接合子基因型發生肺癌之相對危險性為同接合子野生型的 2.4 倍，達統計顯著意義。而在 N-acetyl transferase 之分析，NAT1 方面，我們可以看到快乙醯化基因型發生女性肺癌之相對危險性為慢乙醯化基因型的 1.2 倍；而在 NAT2 方面，慢乙醯化基因型發生女性肺癌之相對危險性為快乙醯化基因型的 3.1 倍。由表三之基因多形型和女性肺癌之相關，我們得到初步的結論：在這些基因當中 只有 CYP2E1 C2C2、 p53 (W/M,M/M)、 NAT2 slow acetylator 和女性肺 癌之發生達統計顯著相關。

在表四，我們進行不同基因之間的交互作用分析。結果發現：若將 CYP1A1 及 CYP2E1(同為 Cytochrome p450 group) 作不同基因型之組合，可以發現：CYP1A1| CYP2E1 是 M/M, W/M | C2C2 的這組比 W/W | C1C1 組發生肺癌之相對危險性為 4.3 倍。顯示 CYP1A1

及 CYP2E1 對女性肺癌之發生有交乘作用(synergistic effect)。

若將 GSTM1 及 GSTT1 (同為 GST group) 作不同基因型之組合，結果發現：GSTM1 及 GSTT1 同為虛無基因型並不會增加發生肺癌之危險性。另外若將 NAT1 及 NAT2 (同為 N-acetyl transferase) 作不同基因型之組合，可以發現：NAT1|NAT2 是 slow|fast 的這組比 fast |slow 組發生肺癌之相對危險性為 2.9 倍，顯示 NAT1 及 NAT2 對女性肺癌之發生有交乘作用。由表四，我們可以得到一個簡單的結論：在不同基因之交互作用分析上，我們可以發現 CYP1A1 及 CYP2E1、NAT1 及 NAT2 對女性肺癌之發生有交乘作用。

而表五，我們則是將 GST group 的三個基因 GSTM1、GSTT1、GSTP1 作交互作用分析。結果我們同樣看到：三者的各種基因組合，對女性肺癌之發生也沒有呈現加成或交乘之作用。而在表六，我們則是將 p53 及 GSTM1、GSTT1 作交互作用分析。結果發現在 p53 基因同接合子野生型的個案中，GSTM1|GSTT1 的各種基因型組合中 null & null 比上 non-null or non-null 發生女性肺癌之相對危險性為 2.4 倍；而在 p53 基因同接合子突變型及異接合子型的個案中，GSTM1|GSTT1 null & null 比上 non-null or non-null 發生女性肺癌之相對危險性為 0.9 倍。可見，p53 之不同基因型對於 GSTT1 & GSTM1 和女性肺癌之相關性有效用修飾 (effect

modification) 之作用。如果將 p53 及 GSTM1、GSTT1、GSTP1 作交互作用分析，我們可以發現：在 p53 基因同接合子野生型的個案中，GSTM1 | GSTT1 | GSTP1 的各種基因型組合中，null & null & W/M, M/M 比上 non-null or non-null or W/W 發生女性肺癌之相對危險性為 5.3 倍，而在 p53 基因同接合子突變型及異接合子型的個案中，GSTM1 | GSTT1 | GSTP1 的各種基因型組合中，null & null & W/M, M/M 比上 non-null or non-null or W/W 發生女性肺癌之相對危險性為 0.9 倍。可見 p53 之不同基因型對於 GSTT1、GSTM1、GSTP1 和女性肺癌之相關性有效用修飾 (effect modification) 之作用。

在表八，我們則是探討 p53 及 NAT1、NAT2 之交互作用分析。我們可以發現：在 p53 基因同接合子野生型的個案中，NAT1 | NAT2 的各種基因型組合中，fast & slow 比上 slow or fast 發生女性肺癌之相對危險性為 2.0 倍；而在 p53 基因同接合子突變型及異接合子型的個案中，NAT1 | NAT2 的各種基因型組合中，fast & slow 比上 slow or fast 發生女性肺癌之相對危險性為 2.9 倍。可見 p53 之不同基因型對於 NAT1、NAT2 和女性肺癌之相關性無效用修飾 (effect modification) 之作用。

在表九，我們則是再加上 CYP2E1 的交互作用。若 CYP2E1 是同

接合子，則我們可以發現：在 p53 基因同接合子野生型的個案中，NAT1|NAT2 的各種基因型組合中，fast & slow 比上 slow or fast 對於發生女性肺癌之相對危險性為 1.4 倍。p53 基因同接合子突變型及異接合子型的個案中，NAT1|NAT2 的各種基因型組合中，fast & slow 比上 slow or fast 對於發生女性肺癌之相對危險性為 2.8；在 CYP2E1 是同接合子型的個案中，p53 之不同基因型對於 NAT1、NAT2 和女性肺癌之相關性有效用修飾作用。若 CYP2E1 是同接合子突變型或異接合子型，則我們可以發現：在 p53 基因同接合子野生型的個案中，NAT1|NAT2 的各種基因型組合中，fast & slow 比上 slow or fast 對於發生女性肺癌之相對危險性為 1.1 倍；而在 p53 基因同接合子突變型及異接合子型的個案中，NAT1|NAT2 的各種基因型組合中，fast & slow 比上 slow or fast 對於發生女性肺癌之相對危險性為 4.5 倍。可見在 CYP2E1 是同接合子突變型或異接合子型的個案中，p53 之不同基因型對於 NAT1、NAT2 和女性肺癌之相關性的效用修飾作用比 CYP2E1 是同接合子野生型更加明顯。

三、基因多形型和環境暴露對於女性肺癌發生之交互作用

在表十，我們則是看基因多形型和環境暴露對於女性肺癌發生之交互作用。我們可以發現：在有二手菸暴露之個案中，NAT2 慢

乙醯化基因型比快乙醯化基因型的相對危險性為 3.3 倍；而在無二手菸暴露之個案中，NAT2 慢乙醯化基因型比快乙醯化基因型的相對危險性為 2.8 倍，兩者並無很大之差異。在表十一中，我們則是看二手菸和 p53 基因多形型於女性肺癌發生之交互作用。我們可以發現：在有二手菸暴露之個案，p53 異接合子基因型和同接合子突變型比同接合子野生型的相對危險性為 1.3 倍，而在無二手菸暴露之個案中，p53 異接合子基因型和同接合子突變型比同接合子野生型的相對危險性為 4.0 倍，可見二手菸暴露對於 p53 和女性肺癌發生的相關性有很強之效用修飾作用。

在表十二中，我們則是探討二手菸及 p53 及 NAT1、NAT2 之交互作用分析。我們可以發現：在無二手菸暴露之個案中，p53 之不同基因型並不會影響 NAT1 或 NAT2 fast & slow 基因型比上 slow or fast 基因型對於發生女性肺癌之相對危險性(分別為 2.5, 2.0 倍)。而在有二手菸暴露之個案中，p53 之不同基因型會影響 NAT1 或 NAT2 fast & slow 基因型比上 slow or fast 基因型對於發生女性肺癌之相對危險性(分別為 0.9, 3.8 倍)。由此可見，二手菸暴露也會修飾基因之間的交互作用。

在表十三中，我們則是探討油煙暴露及 CYP2E1 之交互作用分析。我們可以發現：在使用排油煙機之個案中，CYP2E1 同接合子

突變型、異接合子型比上同接合子野生型發生肺癌之相對危險性分別為 7.2, 0.9 倍。而在未使用排油煙機之個案中，CYP2E1 同接合子突變型、異接合子型比上同接合子野生型發生肺癌之相對危險性分別為 1.4, 1.7 倍。可見 CYP2E1 基因多形型對發生肺癌之相對危險性受到油煙暴露之修飾作用。由以上之結果，我們可以釐清：在女性肺癌發生之過程中，危險因子、基因多形型、基因和基因之交互作用，及外在環境暴露和基因多形型之交互作用個別扮演之角色，從而對女性肺癌之防治有所貢獻。

參考文獻：

- 1 Kenneth S, Jan S. Lung cancer- A worldwide health problem. Chest: 96 (supp), 1s-4s, 1988.
- 2 Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimate of the worldwide incidence of eighteen major cancers In 1985. Int J Cancer: 54, 594-606, 1993.
- 3 Yang SP, Luh KT. Chronological observation of epidemiological characteristics of lung cancer in Taiwan with etiological consideration- A 30 year consecutive study. Jpn J Clin Oncol: 1, 7-19, 1984.
- 4 Luh KT, Chuang TB. Primary lung cancer in Taiwan. J Formos Med Assoc: 91 (suppl), s1-s6, 1992.
- 5 Judith M, Aronchick MD. Lung cancer. Epidemiology and risk Factors. Seminars in Roetgenol: 25, 5-11, 1990.
- 6 Tay SC, Tsai SF, Lee SS, et al. Epidemiologic characteristics of malignant neoplasms in Taiwan. IV: lung cancer. Natl Public Health Assoc (ROC): 8(3), 189-201, 1988.
- 7 Luh KT, Kuo SW, Lin CC, et al. Primary lung cancer in Taiwan. J Formos Med Assoc: 73, 129-146, 1974.
- 8 Lee LT, Lee WC, Lin RS, et al. Age-Period-Cohort analysis of lung cancer mortality in Taiwan, 1966-1990. Anticancer Res: 14, 673-676, 1994.
- 9 蕭光明.台灣地區肺癌之流行病學特徵.臨床醫學: 29, 347-352, 1992.
- 10 Ger LP, Hsu WL, Chen KT, et al. Risk factors of lung cancer by histological category in Taiwan. Anticancer Res: 13, 1491-1500, 1993.
- 11 Liu ZY. Smoking and lung in China combined analysis of eight case-control studies. Int J Epidemiol: 21, 197-201, 1992.
- 12 Alexandrie AK, Sundberg MI, Seidegard J, et al. Genetic susceptibility to lung cancer with special emphasis on *CYP1A1* and *GSTM1*: a study on host factors in relation to age at onset, gender and histological cancer types. Carcinogenesis: 15(9), 1785-90, 1994.
- 13 Nakachi K, Imai K, Hayashi S, et al. Polymorphisms of the *CYP1A1* and glutathione S-transferase genes associated with susceptibility to lung cancer in relation to cigarette dose on a Japanese population. Cancer Res: 53(13), 2994-2999, 1993.
- 14 Hayes PC, et al. Glutathione S-transferase in humans in health and disease. Gut, 1991
- 15 Masahiro K, Masako K, Kazumasa N, et al. Increased risk of lung cancer in Japanese smokers with class mu glutathione S-transferase gene deficiency. Cancer Letters: 71, 151-155, 1993.
- 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, 751-753, 1986.

- 17 Wiencke JK ,et al. Gene deletion of glutathione S-transferase T: Correlation with induced genetic damage and potential role in endogeneous mutagenesis. *Cancer epidemiology, Biomarker and Prevention*,1995
- 18 Bell DA. Genetic monitoring of human polymorphisms in cancer susceptibility genes by polymerase chain reaction: application to glutathione transferase u. *Environmental Health Perspectives*,1992
- 19 Nelson HH, et al .Ethnic differences in the prevalence of the homozygous deleted genotype of glutathione S-transferase theta.*Carcinogenesis*,1995
- 20 Hackl H.Lungtuberkulose und Bronchuskarinom. *Tuberkulosearzt*: 13,643,1959
- 21 Bobrowitz ID, Elkin M, Evans JC, et al. Effect of Direct Irradiation on the Course of Pulmonary Tuberculosis (using cancerocidal doses). *Dis Chest* :40,397,1961
- 22 李龍騰博士論文.Epidemiologic Characteristics of Pulmonary Tuberculosis and Association Between Pulmonary Tuberculosis and Lung Cancer in Taiwan .Graduate Institute of Public Health, National Taiwan University
- 23 Gao YT, William JB, Zheng W, et al. Lung Cancer among Chinese Women. *Int J Cancer*:40,604-609,1987
- 24 Li Shuguang. Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Cooking Oil Fumes. *Arch of Environm Health* :49(2),119-122,1994
- 25 Chaudhuri PK, Thomas PA, Walker MJ, et al. Steroid receptors in Human Lung Cancer Cytosols. *Cancer Letters*:16,327-332,1982
- 26 Doll R, Hill AB: Mortality in Relation to Smoking: Ten years' of observations of British Doctors. *Br Med J*:1,1399-1410,1460-1467,1964
- 27 Wynder EL, Graham EA. Tobacco Smoking as a Possible Etiologic Factor in Bronchogenic Carcinoma: A Study of 654 Proved cases.*JAMA*:143,329-336,1950
- 28 The Health Consequences of Smoking: Cancer. A Report of the Surgeon General. Rockville, Maryland: U.S. DHHS, Public Health Service,1982
- 29 IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans, Tobacco Smoking, Vol 38.
- 30 Doll R, Peto R. The Causes of Cancer: Quantitative Estimates of Avoidable Risks of Cancer in the United States Today. *J Natl Cancer Inst*: 66(6), 1193-1261,1981
- 31 Hirayama T: Non-smoking Wives of Heavy Smokers Have a Higher Risk for Lung Cancer:A Study from Japan.*Br Med J*:282,p183,1981
- 32 Trichopoulos D, Kalandidi A, Sparros L,et al. Lung Cancer and Passive Smoking. *Int J Cancer*:27,1-4,1981
- 33 Garfinkel L. Time trends in Lung Cancer Mortality in Non-smokers and a Note on Passive Smoking.*JNCI*:66,1061-1066,1981.
- 34 National Reseach Council (1986).Environmental Tobacco Use: Measuring the Exposure and Assessing Health Effects. Report from Committee on Passive smoking . Washington : National Academy Presss
- 35 Lower GM, Nilsson T, Nelson CE, et al. N-acetyl transferase phenotype and risk in urinary bladder: approaches in molecular epicemiology. Preliminary results in Sweden and Denmark. *Environ Hlth Persp*: 29, p71-79, 1979
- 36 Beland FA, Beranek DT, Dooley KL, et al. Arylamine-DNA adducts in vivo and in vitro: Their role in bacterial mutagenesis and urinary bladder carcinogenesis. *Environ Health Persp*: 49, p125-134, 1983

37. Lang NP, Chu DZ, Hunter CF, et al. Role of aromatic amine acetyltransferase in human colorectal cancer. *Arch Surg*: 121, p1259-1261, 1986
38. Flammang TJ, Yamazoe Y, Guengerich FP, et al. The S-acetyl coenzyme A-dependent metabolic activation of the carcinogen N-hydroxy-2-aminofluorene by human liver cytosols and its relationship to the aromatic amine N-acetyltransferase. *Carcinogenesis*: 8, p1967-1970, 1987
39. Roots I, Drakoulis N, Ploch M, et al. Debrisoquine hydroxylation phenotype, acetylation phenotype, and ABO blood groups as genetic host factors of lung cancer risk. *Kli Wochenschr*: 66(supp.XI), p87-97, 1988
40. Alaa F, Badawi, Ari Hirvonen, Douglas A. Bell, et al. Role of aromatic amine acetyltransferases, NAT1 and NAT2, in carcinogen-DNA adduct formation in the human urinary bladder. *Cancer Res*: 55, 5230-5237, 1995.
41. Daly AK, Cholerton S, Armstrong M, et al. Genotyping for polymorphisms in xenobiotic metabolism as a predictor of disease susceptibility. *Environ Health Persp*: 102(suppl 9), 55-61, 1994.
42. Hayashi S, Watanabe J, Nakachi K, et al. Genetic linkage of lung cancer-associated MspI polymorphisms with amino acid replacement in the heme binding region of the human cytochrome P450 1A1 gene. *J Biochem*: 110, 407-411, 1991.
43. Petersen DD, McKinney CE, Ikeya K, et al. Human CYP 1A1 gene: Cosegregation of the enzyme inducibility phenotype and an RFLP. *Am J Genet*: 48, 720-725, 1991.
44. Hirvonen A, Husgafvel-Pursiainen K, Anttila S, et al. Polymorphisms in CYP1A1 and CYP2D6 genes: Possible association with susceptibility to lung cancer. *Environ health Persp*: 101(suppl 3), 109-112, 1993.
45. Uematsu F, Kikuchi H, Motomiya M, et al. Association between restriction fragment length polymorphism of human cytochrome P450 III β gene and susceptibility to lung cancer. *Jpn J Cancer Res*: 87, 254-256, 1991. a Swedish population
46. Hirvonen A, Husgafvel-Pursiainen K, Anttila S, et al. The human CYP2E1 gene and lung cancer: DraI and RsaI restriction fragment length polymorphism in a Finnish population. *Carcinogenesis*: 14, 85-88, 1993.
47. Persson I, Johansson I, Bergling H et al. Genetic polymorphism of cytochrome P450 IIE in a Swedish population. Relation to incidence of lung cancer. *FEBS Lett*.: 319, 207-211, 1993.
48. Kato S, Shield PG, Caporaso NE, et al. Cytochrome P450 IIE genetic polymorphism racial variation and lung cancer risk. *Cancer Res*: 52, 6712-6715, 1992.
49. Wu X, Shi H, Jiang H, et al. Association between cytochrome P450 IIE genotype, mutagen sensitivity, cigarette smoking and susceptibility to lung cancer. *Carcinogenesis*: 18, 967-973, 1997.
50. Sato K. Glutathion S-transferases as markers of a preneoplasia and neoplasia. *Adv Cancer Res*: 52, 205-255, 1989.
51. 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, 641-644, 1997.
52. Ketterer B, Harris JM, Talaska G, et al. The human glutathione S-transferase supergene family, its polymorphism, and its effects on susceptibility to lung cancer. *Environ health Persp*: 98, 87-94, 1992.
53. Cascorbi I, Brockmoller J, Mroziliewicz PM, et al. Homozygous Rapid Arylamine

- N-acetyltransferase (NAT2) genotype as a susceptibility factor for lung cancer. *Cancer Res*: 56, 3961-3966, 1996.
54. Nakachi K, Imai K, Hayashi S, et al. Polymorphisms of the CYP1A1 and glutathione S-transferase genes associated with susceptibility to lung cancer in relation to cigarette dose in a Japanese population. *Cancer Res*: 53, 2994-2999, 1993.
 55. Alexandrie AK, Sundberg MI, Seidegard J, et al. Genetic susceptibility to lung cancer with special emphasis on CYP1A1 and GSTM1: a study on host factors in relation to age at onset gender and histological cancer types. *Carcinogenesis*: 15, 1785-1790, 1994.
 56. Kihara M, Kihara M, Noda K, et al. Risk of smoking for squamous and small cell carcinoma of the lung modulated by combinations of CYP1A1 and GSTM1 gene polymorphisms in a Japanese population. *Carcinogenesis*: 16, 2331-2336, 1995.
 57. Yu MW, Gladek-Yarborough A, Chiamprasert S, et al. Cytochrome P450 2E1 and glutathione S-transferase M1 polymorphisms and susceptibility to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*: 109, 1266-1273, 1995.
 58. Bouchardy C, Benhamou S, Dayer P, et al. The effect of tobacco on lung cancer risk depends on CYP 2D6 activity. *Cancer Res*: 56, 25-253, 1996.
 59. Gato I, Yoneda S, Yamamoto M, et al. Prognostic significance of germ line polymorphisms of the CYP1A1 and glutathione S-transferase genes in Patients with non-small cell lung cancer. *Cancer Res*: 56, 3725-3730, 1996.
 60. Hayashi S, Watanabe J, Kawajiri K. Genetic polymorphism in the 5'-flanking region change transcription regulation of the human cytochrome P450 IIE1 gene. *J Biochem*: 100, 559-564, 1991.
 61. Pemble S, Schroeder KR, Spencer SR, et al. Human glutathione S-transferase theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *J Biochem*: 300, 271-276, 1994.
 62. Bell DA, Stephans EA, Castronio T, et al. Polyadenylation polymorphisms in the acetyltransferase 1 gene (NAT1) increases risk of colorectal cancer. *Cancer Res*: 55, 3537-3542, 1995.
 63. Bell DA, Taylor JA, Butler MA, et al. Genotype/phenotype discordance for human arylamine N-acetyltransferase reveals a new slow-acetylator allele common in African-Americans. *Carcinogenesis*: 14, 1689-1692, 1993.
 64. Malkin D. p53 and the Li-Fraumeni syndrome. *Cancer Genet Cytogenet*: 39, 549-550, 1993.
 65. Kawajiri K, Nakachi K, Imai K, et al. Germ line polymorphism of p53 and CYP 1A1 genes involved in human lung cancer. *Carcinogenesis*: 14, 1085-1089, 1993.
 66. Sonoda Y, Saigo PE, Boyd J. p53 and genetic susceptibility to cervical cancer. *J Natl Cancer I*: 91(6), 557, 1999.

CYP 1A1	W/W	RsaI polymorphism
	W/M	W: wild type allele
	M/M	M: mutated type allele

CYP2E1	C1C1	RsaI polymorphism
	C1C2	C1: wild type allele
	C2C2	C2: mutated type allele

表一、重要致病危險因子和女性肺癌之相關性分析(調整年齡、教育程度)

重要致病危險因子	分組	病例組	對照組	OR (95% C. I)
年齡	<40	23(12.9)	34(12.1)	
	40-49	26(14.5)	72(25.8)	
	50-59	39(21.8)	110(39.4)	
	60-69	49(27.4)	44(13.8)	
	>=70	42(23.5)	19(6.8)	
教育程度	小學以下	112(62.7)	84(30.1)	
	國中高中高職	45(25.1)	88(31.5)	
	專科以上	22(12.1)	107(38.4)	
父親籍貫	閩南人	129(82.2)	210(75.8)	1
	外省人	17(10.8)	38(13.7)	0.8(0.4-1.5)
	客家人	11(7.0)	29(10.5)	0.5 ⁺ (0.2-1.1)
BMI	<=22	39(21.8)	82(29.4)	1
	22-25	41(22.9)	106(38.0)	0.3*(0.2-0.6)
	>=25	99(55.3)	91(32.6)	0.3*(0.2-0.5)
抽菸與否	否	142(89.3)	272(98.2)	1
	是	17(10.9)	5(1.8)	5.2*(1.7-15.7)
配偶抽菸與否	否	57(36.8)	142(51.3)	1
	是	98(63.2)	135(48.7)	1.3(0.8-2.0)
煮食與否	否	13(8.3)	24(3.7)	1
	是	144(91.7)	253(91.3)	0.6(0.2-1.3)
煮食者是否使用排油煙機	是	56(44.0)	200(79.1)	1
	否	84(60.0)	53(21.0)	3.5*(2.0-6.2)
初經年齡	<14	56(31.3)	68(24.4)	1
	14-15	62(34.6)	134(48.0)	0.6(0.4-1.1)
	>=16	61(34.1)	77(27.6)	0.6*(0.3-1.0)

表一(續二)

重要致病危險因子	分組	病例組	對照組	OR 值 及 P 值
停經年齡	<=45	84(46.9)	148(53.1)	1
	46-51	65(36.3)	81(29.0)	0.7(0.4-1.2)
	>=52	30(16.8)	50(17.9)	0.5*(0.3-0.9)
自然流產	無	126(81.8)	257(100.0)	1
	曾經	28(18.2)	0	114
哺乳時間	>18 月	87(49.2)	64(23.3)	1
	<=18 月	90(50.9)	211(76.7)	1.6 ⁺ (0.9-2.6)
口服避孕藥使用	否	132(84.9)	204(73.9)	1
	是	23(15.0)	72(26.0)	0.5*(0.3-0.9)
荷爾蒙補充治療	否	123(79.5)	208(75.3)	1
	是	32(20.5)	68(24.7)	0.5*(0.3-0.9)
曾患肺結核與否	否	139(89.7)	263(95.0)	1
	是	16(10.3)	14(5.1)	1.7(0.8-3.8)
曾患氣喘與否	否	144(92.3)	263(95.0)	1
	是	12(7.7)	14(5.1)	1.1(0.5-2.6)
曾患糖尿病與否	否	141(90.4)	252(91.0)	1
	是	15(9.6)	25(9.0)	0.6(0.3-1.3)
父親患肺癌與否	否	144(94.7)	265(95.7)	1
	是	8(5.3)	12(4.3)	1.1(0.4-2.9)
母親患肺癌與否	否	147(96.7)	176(99.6)	1
	是	5(3.3)	1(0.4)	7.5 ⁻ (0.8-70.0)
手足患肺癌與否	否	146(94.2)	275(99.3)	1
	是	9(5.8)	2(0.7)	5.1*(1.1-24.7)

表一(續三)

重要致病危險因子	分組	病例組	對照組	OR 值 及 P 值
一等親患肺癌與否	否	133(86.9)	263(95.0)	1
	是	20(13.7)	14(5.1)	2.3*(1.9-5.0)
廚房油煙之進一步分析				
開始煮食年紀	>=25	38(21.2)	102(36.6)	1
	<25	141(78.8)	177(63.4)	1.6* (1.0-2.6)
開始煮食年紀 / 排油煙機	>=25/有	21(15.0)	86(34.0)	1
	<25/有	35(25.0)	114(45.1)	1.0(0.5-1.9)
	>=25/無	16(11.4)	16(3.3)	2.6*(1.0-6.5)
	<25/無	68(48.6)	37(14.6)	4.1*(1.8-9.1)
煮食時間/ 排油煙機	<20/有	37(26.4)	151(59.7)	1
	>=20/有	19(13.6)	49(19.4)	1.4(0.7-2.7)
	<20/無	34(24.3)	29(11.5)	3.3*(1.6-6.7)
	>=20/無	50(35.7)	24(9.5)	5.2*(2.4-11.4)
煮食燃料	瓦斯	47(30.2)	185(72.1)	1
	煤炭	27(17.4)	17(7.0)	3.0*(1.7-5.5)
	木柴及木炭	69(44.4)	51(21.0)	4.0*(1.8-8.6)
煮食燃料/ 排油煙機	瓦斯/有	39(27.9)	164(65.1)	1
	煤炭/有	13(9.3)	25(9.9)	1.7(0.8-3.9)
	木柴,炭/有	4(2.9)	10(4.0)	1.6(0.5-5.6)
	瓦斯/無	8(5.7)	20(7.9)	1.5(0.6-3.8)
	煤炭/無	54(38.6)	26(10.3)	6.5*(2.9-14.6)
	木柴,炭/無	22(15.7)	7(2.8)	10.1*(3.5-29.3)

表一(續四)

重要致病危險因子	分組	病例組	對照組	OR 值 及 P 值
煮食用油	植物油	57(40.1)	200(79.0)	1
	動物油	85(59.9)	53(21.0)	3.8*(2.3-6.2)
煮食用油/ 排油煙機	植物油/有	35(25.2)	164(65.1)	1
	動物油/有	20(14.4)	35(13.9)	2.3*(1.2-4.7)
	植物油/無	21(15.1)	35(13.9)	2.1*(1.0-4.4)
	動物油/無	63(45.5)	18(7.1)	11.1*(5.1-24.3)

表二、多變項分析

重要危險因子	分組	模式一	模式二	模式三
抽菸與否	否	1	1	1
	是	4.8(1.4-16.7)	5.2(1.5-18.3)	5.0(1.4-17.4)
手足患肺癌與否	否	1	1	1
	是	5.1(1.0-26.1)	4.8(0.9-25.2)	4.7(0.9-25.4)
BMD	<=22	1	1	1
	22-25	0.4(0.3-0.8)	0.4(0.3-0.8)	0.5(0.3-0.8)
	>=25	0.3(0.2-0.6)	0.3(0.2-0.6)	0.3(0.2-0.6)
煮食者是否使用 排油煙機	是	1		
	否	3.3(1.8-6.1)		
煮食時間/ 排油 煙機	<20/有		1	
	>=20/有		1.4(0.7-2.8)	
	<20/無		3.0(1.4-6.3)	
	>=20/無		5.3(2.3-12.2)	
開始煮食年紀 / 排油煙機				1
	>=25/有			0.9(0.4-1.7)
	< 25/有			2.2(0.8-5.8)
	>=25/無			3.5(1.5-8.2)
	<25/無			

Table 1. Notation and interpretation of respective genotype

Enzyme	Notation	Interpretation
CYP 1A1	W/W	Msp I polymorphism
	W/M	W: wild type allele
	M/M	M: mutated type allele
CYP2E1	C1C1	RsaI polymorphism
	C1C2	C1: wild type allele
	C2C2	C2: mutated type allele
GST M1	Non-null	GST M1 1/1 or 1/0
	Null	GST M1 0/0
GST T1	Non-null	GST T1 1/1 or 1/0
	Null	GST T1 0/0
GST P1	W/W	Codon 105 polymorphism
	W/M	W: wild type allele
	M/M	M: mutated type allele
NAT1	Fast	NAT1 10/10, 3, 4,11
	Slow	others
NAT2	Fast	NAT2 W/W 或 M1, M2 ,M3 僅有一個突變
	Slow	NAT2 M1, M2 ,M3 有兩一 個以上突變
p53	W/W	Codon 72 polymorphism
	W/M	W: wild type allele
	M/M	M: mutated type allele

Table 3. ORs for female lung cancer with CYP1A1, CYP2E1, GSTM1, GSTT1, GSTP1, NAT1, NAT2, p53 genotypes

	Case (%)	Control (%)	OR(95% C.I)
CYP1A1			
W/W	44(30.3)	101(39.2)	1
W/M	67(46.2)	109(42.3)	1.4(0.9-2.3)
M/M	34(23.5)	48(18.6)	1.6 ⁺ (0.9-2.9)
CYP2E1			
C1C1	72(50.0)	163(62.7)	1
C1C2	53(36.8)	86(33.1)	1.4(0.9-2.2)
C2C2	19(13.2)	11(4.2)	3.9*(1.8-8.6)
GSTM1			
Non-null	54(40.9)	120(44.6)	1
Null	78(59.1)	149(55.4)	1.2(0.8-1.8)
GSTT1			
Non-null	48(36.4)	106(39.4)	1
Null	84(63.6)	163(60.6)	1.1(0.7-1.8)
GSTP1			
W/W	96(61.2)	180(65.0)	1
W/M or M/M	61(38.9)	97(35.6)	1.2(0.8-1.8)
P53			
W/W	27(18.2)	94(35.3)	1
W/M	121(81.8)	172(64.7)	2.4*(1.5-4.0)
NAT1			
Slow	33(25.2)	72(28.0)	1
Fast	98(74.8)	185(72.0)	1.2(0.8-1.9)
NAT1			
Fast	64(58.2)	198(81.2)	1
Slow	46(41.8)	46(18.9)	3.1*(1.9-5.1)

⁺ means p<0.1 , * means p<0.05

Table 4. ORs for female lung cancer with combined genotypes

	Case (%)	Control (%)	OR(95% C.I)
CYP1A1/ CYP2E1			
W/W C1C1	27(19.7)	69(26.7)	1
W/W C1C2	13(9.5)	28(10.9)	1.2(0.5-2.6)
W/W C2C2	4(2.9)	4(1.6)	2.6(0.6-11.0)
M/M, W/M C1C1	45(32.9)	93(36.1)	1.2(0.7-2.2)
M/M, W/M C1C2	38(27.7)	58(22.5)	1.7(0.9-3.1)
M/M, W/M C2C2	10(7.3)	5(2.3)	4.3*(1.4-12.9)
W/W C1C1	27(19.7)	69(26.7)	1
W/W C1C2, C2C2	17(12.4)	32(12.4)	1.4(0.6-2.8)
W/W, W/M C1C1	45(32.9)	93(36.1)	1.2(0.7-2.2)
W/W, W/M C1C2, C2C2	48(35.0)	64(24.8)	1.9*(1.1-3.4)
GST M1 GST T1			
Non-null non-null	20(15.2)	55(20.5)	1
Non-null null	34(25.8)	65(24.2)	1.4(0.7-2.8)
Null non-null	28(21.2)	51(19.0)	1.5(0.8-3.0)
Null null	50(37.9)	93(36.4)	1.4(0.8-2.6)
NAT1 NAT2			
Slow fast	16(16.3)	49(20.8)	1
Fast fast	46(46.9)	142(60.2)	1.0(0.5-1.9)
Slow slow	9(9.2)	16(6.8)	1.7(0.6-4.6)
Slow fast	27(27.6)	29(12.3)	2.9*(1.3-6.2)

附錄. Notation and interpretation of respective genotype

Enzyme	Notation	Interpretation
CYP 1A1	W/W	Msp I polymorphism
	W/M	W: wild type allele
	M/M	M: mutated type allele
CYP2E1	C1C1	RsaI polymorphism
	C1C2	C1: wild type allele
	C2C2	C2: mutated type allele
GST M1	Non-null	GST M1 1/1 or 1/0
	Null	GST M1 0/0
GST T1	Non-null	GST T1 1/1 or 1/0
	Null	GST T1 0/0
GST P1	W/W	Codon 105 polymorphism
	W/M	W: wild type allele
	M/M	M: mutated type allele
NAT1	Fast	NAT1 10/10, 3, 4,11
	Slow	others
NAT2	Fast	NAT2 W/W 或 M1, M2 ,M3 僅有一個突變
	Slow	NAT2 M1, M2 ,M3 有兩一 個以上突變
p53	W/W	Codon 72 polymorphism
	W/M	W: wild type allele
	M/M	M: mutated type allele

Table 5. ORs for female lung cancer with combined genotypes (續 2)

Genotype	GSTM1 non-null		GSTM1 null	
	GST T1 non-null	GST T1 null	GST T1 non-null	GST T1 null
GST Pi W/W				
Case	13	22	13	30
Control	34	43	32	68
OR(95% C.I.)	1	1.3 (0.6-3.0)	1.1(0.4-2.6)	1.2(0.5-2.5)
GST Pi W/M or M/M				
Case	7	12	15	20
Control	21	22	18	30
OR(95% C.I.)	0.9(0.3-2.5)	1.4(0.6-3.7)	2.6(0.9-5.6)	1.7(0.7-4.1)

Table 6. ORs for female lung cancer with combined genotypes (續 3)

Genotype	P53 Arg/Arg		P53 Arg/Pro or Pro/Pro	
	GST T1 non-null or GST M1 non-null	GST T1 null & GST M1 null	GST T1 non-null or GST M1 non-null	GST T1 null & GST M1 null
Case	11	12	66	38
Control	63	29	104	64
OR(95% C.I.)	1	2.4 (0.9-6.0)	3.6(1.8-7.4)	3.4 (1.6-7.2)

Table 7. ORs for female lung cancer with combined genotypes (續 4)

Genotype	P53 Arg/Arg		P53 Arg/Pro or Pro/Pro	
	GST T1 non-null or GST M1 non-null or GST Pi Ile/Ile	GST T1 null & GST M1 null & GST Pi non-Ile/Ile	GST T1 non-null or GST M1 non-null or GST Pi Ile/Ile	GST T1 null & GST M1 null & GST Pi non-Ile/Ile
Case	16	7	91	13
Control	85	7	144	23
OR(95% C.I.)	1	5.3 (1.6-17.2)	5.4(1.9-6.1)	3.0(1.3-7.1)

Table 8. ORs for female lung cancer with combined genotypes (續 5)

Genotype	P53 Arg/Arg		P53 Arg/Pro or Pro/Pro		
	NAT1 slow fast	or NAT2	NAT1 fast and NAT2 slow	NAT1 slow fast or NAT2	NAT1 fast and NAT2 slow
Case	13		4	56	20
Control	72		11	134	18
OR(95% C.I.)	1		2.0(0.6-7.3)	1	2.9(1.3-5.4)

Table 9. ORs for female lung cancer with combined genotypes (續 6)

Genotype	P53 Arg/Arg		P53 Arg/Pro or Pro/Pro			
	NAT1 slow or fast	NAT2	NAT1 fast and NAT2 slow	NAT1 slow or fast	NAT2	NAT1 fast and NAT2 slow
CYP2E1 W/W						
Case	8		2	28		11
Control	37		5	91		13
OR(95% C.I)	1		1.4 (0.2-8.0)	1		2.8(1.2-6.8)
CYP2E1 W/M or M/M						
Case	3		1	21		7
Control	27		5	36		3
OR(95% C.I)	1		1.1(0.1-10.8)	1		4.5(1.1-18.2)

Table 10. ORs for female lung cancer with passive smoking and genotypes

	Passive smoking		Non-passive smoking	
	NAT2 fast	NAT2 slcw	NAT2 fast	NAT2 slow
Case	29	26	22	12
Control	88	24	108	22
OR(95%CI)	1	3.3(1.6-6.6)	1	2.8(1.2-6.2)

Table 11. ORs for female lung cancer with passive smoking and genotypes (續 1)

	Passive smoking		Non-passive smoking	
	GST T1 non-null	GST T1 null	GST T1 non-null	GST T1 null
Case	22	49	18	23
Control	53	74	53	87
OR(95%CI)	1	1.6(0.9-2.9)	1	0.8(0.4-1.6)

Table 11. ORs for female lung cancer with passive smoking and genotypes (續 1)

	Passive smoking		Non-passive smoking	
	p53 W/W	p53 W/M, M/M	P53 W/W	p53 W/M, M/M
Case	16	61	29	21
Control	33	95	99	43
OR(95%CI)	1	1.3(0.7-2.6)	1	4.0(1.8-9.3)

Table 12. ORs for female lung cancer with passive smoking and genotypes (續 2)

Genotype	P53 Arg/Arg		P53 Arg/Pro or Pro/Pro	
	NAT1 slow or NAT2 fast	NAT1 fast and NAT2 slow	NAT1 slow or NAT2 fast	NAT1 fast and NAT2 slow
Non-passive smoker				
Case	4	1	20	5
Control	49	5	63	8
OR(95% C.I.)	1	2.5(0.2-26.4)	1	2.0(0.6-6.7)
Passive smoker				
Case	8	2	22	12
Control	22	6	70	10
OR(95% C.I.)	1	0.9 (0.2-5.5)	1	3.8 (1.5-10.5)

Table 13. ORs for female lung cancer with ventilator usage and genotypes

	Use ventilator in kitchen				No using ventilator in kitchen			
	CYP2E1 W/W	CYP2E1 W/M	CYP2E1 M/M	CYP2E1 M/M	CYP2E1 W/W	CYP2E1 W/M	CYP2E1 M/M	CYP2E1 M/M
Case	25	12	6	33	28	8		
Control	120	66	4	35	17	6		
OR(95%CI)	1	0.9(0.4-1.8)	7.2(1.9-27.4)	1	1.7(0.8-3.8)	1.4(0.4-4.5)		

Table 15. ORs for female lung cancer with ventilator usage and genotypes (續 1)

	Use ventilator in kitchen		No using ventilator in kitchen		
	GST M1 non-null	GST M1 null	GST M1 non-null	GST M1 null	GST M1 null
Case	9	32	32	29	
Control	91	104	24	38	
OR(95%CI)	1	3.1(1.4-6.9)	1	0.6(0.3-1.2)	

Table 16. ORs for female lung cancer with passive smoking and genotypes (續 2)

Genotype	P53 Arg/Arg		P53 Arg/Pro or Pro/Pro	
	NAT1 slow or NAT2 fast	NAT1 fast and NAT2 slow	NAT1 slow or NAT2 fast	NAT1 fast and NAT2 slow
Non-ventilator usage				
Case	7	0	21	10
Control	13	3	30	4
OR(95% C.I.)	1	-	1.3(0.4-3.8)	4.6(1.1-20.4)
Use ventilator				
Case	5	20	5	12
Control	8	32	4	7
OR(95% C.I.)	1	5.3 (0.8-37.6)	4.0(1.1-14.4)	9.3(2.0-42.7)