

## 壹. 中文摘要

惡性腫瘤從 1982 年以來一直是國人十大死因之首，其中肺癌及大腸癌的死亡率分別高居台灣癌症死亡的第一、三位。過去研究已指出抽菸會導致癌症的發生，其中又以肺癌和抽菸的關係最為密切，在歐美有近九成肺癌的發生與抽菸有關。在台灣抽菸女性人口雖僅占 3 % 左右，但肺癌的死亡率竟高居女性癌症死亡率的第一位，顯示除了抽菸之外，尚有其它的因子參與台灣女性肺癌的形成。有研究指出廚房油煙與台灣女性罹患肺癌有關。過去研究顯示高溫烹調肉類所產生的油煙和肉類食品中含有異環胺類化合物。而這類化合物在動物實驗中，已被證實會引起實驗動物發生肺癌和大腸癌，因此推測異環胺類化合物暴露與台灣肺癌及大腸癌的發生可能有些相關。異環胺類化合物在人體主要是經由 CYP1A2 和 NAT2 這兩種酵素進行代謝活化，因此本研究選取 178 位肺癌患者、102 位大腸癌患者分別和 167 位非癌症患者，利用 PCR-RFLP 的方法分析這兩種代謝酵素基因多形性，並進一步探討這些基因多形性，是否與經由呼吸或飲食這兩種不同暴露形式所引起的癌症有關？結果發現表現型為 NAT2 fast acetylator 者，罹患肺癌及大腸癌的危險性分別為 slow acetylator 的 3.10 倍及 1.95 倍，而在女性族群中更增加為 4.05 倍及 7.12 倍。由於

本研究未收集到大腸癌患者之抽菸資料，因此只將肺癌研究族群分為不抽菸及抽菸男、女性四組進行分析，結果發現不抽菸女性之 NAT2 fast acetylator 罹患肺癌的危險性較 slow acetylator 高 3.48 倍，其他三組則皆未達統計上之差異，由以上之結果顯示 NAT2 fast acetylator 與台灣不抽菸女性較抽菸與不抽菸男性罹患肺癌之相關性為高。由於在台灣大多是女性在廚房準備三餐，因此推測暴露油煙的量，可能較男性為高。當分析 CYP1A2 及 NAT2 基因型交互作用與罹患肺癌與大腸癌之相關性時發現，CYP1A2 high or low +NAT2 fast 基因型較單獨考慮 NAT2 基因型時有較高罹患肺癌的危險性，但在大腸癌病患中則無此現象，推測此差異應與肺及大腸暴露異環胺類的途徑及暴露量不同有關。綜合以上的結果推測，在台灣，罹患肺癌及大腸癌與異環胺類化合物之暴露都有些相關性，然而女性對來自香菸、油煙或食物中異環胺類致癌物的易感性似乎高於男性。除了女性較男性有較高暴露廚房油煙的機會外，是否還有其他環境致癌物需要 CYP1A2 與 NAT2 代謝活化而引起台灣女性罹患肺癌或大腸癌，則需進一步的研究。

關鍵字:女性肺癌、大腸癌、異環胺類化合物、廚房油煙、CYP1A2、  
NAT2

## 貳、文獻綜論

### 一. 肺癌與大腸癌之流行病學及形成機制

#### 1. 肺癌的流行病學特徵

惡性腫瘤從 1982 年以來一直是國人十大死因之首，其中又以肺癌死亡率增加最快。在 1982 年台灣男性與女性肺癌死亡率分別為每十萬人口 16.7 及 7.8 人，到了 2002 年，男性肺癌死亡率增為 41.1 人，女性肺癌死亡率則增為 19.4 人。肺癌死亡率分佔男（佔所有男性癌症的 21.4%，僅次於肝癌）、女（佔所有女性癌症的 17.3%）癌症死亡的第三及第一位（衛生署，2002）。在歐美地區，肺癌的死亡率也呈增加的趨勢。先前許多研究指出抽菸可能是導致肺癌的主因，但是在台灣女性抽菸的比率僅佔女性總人口 3% 左右（其中女性肺癌病患中抽菸者僅佔 10% 左右，遠低於歐美女性肺癌患者的 70-90% (Ko et al., 1997)）。Lee 等人 (2000) 將台灣女性吸菸率與女性肺癌死亡率加以比較，發現台灣女性肺癌死亡率逐年提升，但吸菸率卻沒有同樣增加趨勢（如 Fig. 1 所示），顯然台灣女性肺癌可能無法以吸菸來解釋其致病原因。

## 1.1 肺癌的組織學形態

根據世界衛生組織的分類，原發性肺癌主要分為非小細胞肺癌 (non-small cell lung cancer ; NSCLC，約佔肺癌的75%) 及小細胞肺癌 (small cell lung cancer: SCLC，約佔25%)，其中非小細胞癌包括鱗狀細胞癌、腺癌、大細胞癌，而在所有的肺癌中以鱗狀細胞癌及腺癌最多。過去的研究顯示抽菸主要會造成鱗狀細胞癌，但近年來在台灣地區隨著抽菸量的降低，以及大部分的台灣婦女皆為不抽菸，使得鱗狀細胞癌的比例有下降的趨勢，而肺腺癌的比例則有逐漸升高的情形 (衛生署, 1984-2000)，由以上的結果可知，雖然香菸是引起肺癌最主要的原因，但在台灣可能還有其他的環境因子參與，尤其是不抽煙者之肺癌形成。

## 1.2 香菸與肺癌形成的相關性

至目前為止，香菸和肺癌形成的關係無論在流行病學、臨床或基礎研究上皆可得到一致結論。最早對香菸是否會引起癌症的研究，始於 1761 年 Dr. Hill 對兩名因吸鼻煙而罹患鼻癌病例之研究 (Redmond et al., 1970)。之後的研究大多著重於香菸中多環芳香烴類化合物，例

如 BaP 與肺癌形成關係之探討。由過去研究發現，抽菸會累積高量之 PAH-DNA adduct 於肺組織而得到證實。在其他香菸中之致癌物尚有如 tobacco-specific nitrosamine (NNK) 及 heterocyclic amines (例如:PhIP) 等化合物。這些化合物皆在動物試驗中被證實會造成實驗動物肺部腫瘤的發生。由以上研究結果得知，造成肺癌的主要致病原因和香菸中所含得多種致癌物暴露有關。因此在歐美，一般認為大約有 80% 的肺癌發生與抽菸有關。

### 1.3 其他環境暴露與肺癌形成之相關性

雖然許多研究均指出導致肺癌發生最重要的危險因子乃是吸菸 (Zaridze *et al.*, 1986; Schneiderman *et al.*, 1989)，但據統計，台灣地區女性抽菸比率僅 3% 左右，但女性肺癌死亡率竟高達每十萬人有 19.4 人。而男性吸菸人口高達 50-60%，但其肺癌死亡率僅較女性高出一倍左右，約 41.1 人 (衛生署, 2002)。從台灣的肺癌患者之抽菸習慣來分析，約有 80% 之男性肺癌其致病因可歸於抽菸行為，然而對於女性肺癌則有 85% 以上之患者，無法以抽菸行為來解釋。近年來台灣地區由於抽菸量降低，與抽菸有關之鱗狀上皮細胞肺癌確有逐年下降的趨勢，但是肺腺癌之發病率卻逐年增加 (衛生署, 1984 - 2000)，因此

抽菸無法說明台灣女性為何有較高罹患肺癌之危險性。這些數據均顯示，雖然香菸是引起肺癌的最主要因子，但在台灣應有其他的環境因子參與不抽菸者之肺癌的形成。

### 1.3.1 廚房油煙

台灣女性（尤其是中年以上的婦女）大多會在廚房為家人烹煮三餐，其中利用傳統的煎、炒、炸等高溫方式來烹調肉品的方式常會產生大量的油煙，而此油煙中含有許多致癌物，其中主要包括多環芳香類化合物（例如 BaP）(Chiang et al., 1997；1999)及異環芳香類化合物（例如 MeIQx 及 PhIP）(Thiebaut et al., 1994；1995；Yang et al., 1998)。這些化合物無論在微生物或動物身上皆被證實具有致突變性與致癌性 (Sugimura & Sato, 1983；Felton et al., 1986；Ohgaki et al., 1991；Adamson et al., 1990;Sugimura et al., 1996)。同時流行病學的研究指出，婦女烹飪三餐的時間越長，發生肺癌的危險性就越高，若廚房未使用排油煙機，有較高罹患肺癌的機率 (Ko et al., 1997)，由此可知廚房油煙可能是肺癌的危險因子之一。

### 1.3.2 其他影響肺癌發生的因子

除了抽菸及廚房油煙之外，與肺癌有關之環境污染源，還包括二手菸、汽機車排放物、點燃拜香及蚊香所產生的煙霧等 (Lee et al., 1988 ; Lofroth et al., 1991 ; Li et al., 1993)。最近的研究指出二手菸的成分大致和主動吸入之香菸成分相似。但因燃燒溫度較低，許多致癌物之濃度甚至比主動吸入之濃度還高。因此二手菸引起之細胞毒性及致突變性，較主動吸入之香菸為高 (Adlkofer et al., 2001)。另一方面，有關於蚊香的研究結果顯示，點燃蚊香所產生的煙霧與肺鱗狀上皮癌及肺腺癌有關，尤其是夜晚入睡時持續點燃蚊香與肺癌發生有顯著相關 (Chen et al., 1990)。本研究室研究發現拜香對哺乳類細胞之基因毒性並不低於二手菸，因此在室內點燃拜香有可能引起健康危害(Chen et al., 1996)。最近本研究室的研究結果發現，若婦女肺組織能偵測到高危險型人類乳突瘤病毒 (HPV 16, 18) DNA 者，其罹患肺癌的危險性較一般未感染者高 (Cheng et al., 2001)。因此在肺癌病人的血液中偵測到高危險型人類乳突瘤病毒的 DNA 可作為評估是否易罹患肺癌的危險性指標 (Chiou et al., 2003)，以上生活習慣及 HPV 感染與台灣女性肺癌之相關性之研究，或許可用來解釋一部份女性，為何大多數的台灣女性不抽菸卻有高的肺癌死亡率，但以上因子皆須更進一步探

討，以釐清它們與肺癌發生的相關性。

## 2. 大腸癌的流行病學特徵

大腸癌目前在世界癌症發生排名第四位，但在美國，大腸癌是所有癌症中排名之第二位，僅次於肺癌。在台灣，隨著西方飲食文化的普及，國人罹患大腸癌的比例不斷的提升，由民國 83 年的第 4 名(總死亡率為 9.99 人/每十萬人) 上升至民國 91 年的第 3 名(男性為 18.5 人/每十萬人，女性為 13.9 人/每十萬人，總死亡率為 16.2 人/每十萬人)，其死亡率僅次於肺癌及肝癌 (衛生署, 1994-2002)。已知除了少數為家族性多瘻肉症 (Familial Adenomatous Polyposis, FAP)、遺傳性非多瘻肉性大腸直腸癌(Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer, HNPCC) 或本身具有大腸癌家族史等基因缺陷，或長期的潰瘍性結腸炎所引起之大腸癌之外，大腸癌的成因目前尚未非常明確。

流行病學的研究發現，大腸癌的發生與許多環境因子及基因之間的互動有關，其中以飲食習慣與大腸癌發生的關係最密切。根據研究指出攝取高纖蔬菜，例如綠色蔬菜及十字花科蔬菜，可以有效的降低大腸直腸癌罹患率 (Trock et al., 1990 ; Fuchs et al., 1999)，其它如鈣 (Bostick et al., 1995)、Vitamin D 及 E 的攝取等，皆能降低大腸癌的罹



患率。有研究指出高脂質及大量肉類的攝取，尤其是紅肉的攝取，若再加上高溫烹調，例如煎、炒、炸處理的肉類所產生的異環胺類化合物，皆會增加大腸直腸癌的罹患率。有關高溫烹調的肉類所產生的致癌前驅物與大腸直腸癌發生關係在下面的章節有詳細的討論。

另外適度的活動 (Potter et al., 1993)、賀爾蒙替代療法(HRT：Hormone replacement therapy) (Newcomb et al., 1995)、非固醇類抗發炎藥物 (NSAID：Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs) 的使用 (Giovannucci et al., 1995)皆會降低大腸癌的發生。另外，如長期吸菸 (Giovannucci et al., 1994a; Giovannucci et al., 1994b)及酗酒(Potter et al., 1993) 亦會增加大腸直腸癌的發生。由以上的流行病學資料顯示內、外在環境因子皆會參與大腸癌的形成。因此將來應著重於探討這些內、外在因子與參與大腸癌化基因之間是否有相關性，以進一步釐清基因與內、外環境因子間的互動對大腸癌發生的影響。

### 3.性別差異與肺癌、大腸癌發生之相關性

#### 3.1 性別差異與肺癌發生之相關性

已知抽菸是導致肺癌發生的最主要原因，許多的研究皆指出女性對

於抽菸致癌物的敏感性高於男性 (Osann et al., 1993; Risch et al., 1993)。可能原因包括：一、女性對於尼古丁的代謝能力較低，此現象在大鼠的研究中已被證實 (Kyerematen et al., 1988)；二、賀爾蒙的影響，賀爾蒙與肺癌的發生目前尚無明顯的定論，然而在動物實驗上已證明將 estradiol、deoxycorticosterone、cortisone、progesterone 注射天竺鼠體內，會造成天竺鼠肺臟產生腫瘤 (Lupulescu et al., 1983)。

Kato 等人 (1974) 的研究發現，賀爾蒙會影響肝臟細胞色素 P-450 酵素表現，進而影響致癌物的代謝活化能力。因此推測賀爾蒙可能是造成男、女性肺癌形成機制不同的原因之一。過去研究指出，抽菸與鱗狀上皮癌發生有關，然而最近卻發現無論在抽菸及不抽菸者罹患肺腺癌的比例均明顯上升，目前已超越鱗狀上皮癌，成為主要的肺癌細胞形態。尤其是台灣女性大多屬肺腺癌，因此女性為何好發肺腺癌之研究已成為肺癌研究的主題之一。已知烹調肉類所產生的油煙中含有許多異環胺類化合物 (Ko et al., 1997; Yang et al., 1998)，此類化合物在許多動物實驗中已被證實會誘發癌症的發生 (Table 5)。因此推測台灣婦女相較於男性，肺臟可能暴露較高量之異環胺類化合物，或許是台灣女性肺癌發生之危險因子之一。

### 3.2 性別差異與大腸癌發生之相關性

Fraumeni 等人 (1969) 的研究發現，修女有較高罹患大腸癌及乳癌的危險性。另外有研究指出，未生育過小孩的女性有較高罹患大腸癌的機率，但皆未討論其可能原因。McMichael 和 Potter 等人(1980) 提出愈早生育第一胎的女性以及使用避孕藥的女性，罹患大腸癌的機率較低。Weiss 等人 (1981) 首次提出賀爾蒙替代療法 (HRT) 與大腸癌之間並無顯著的相關性。隨後 Potter 等人 (1983) 發現，經常服用高劑量雌性素的女性，罹患大腸直腸癌的機率有明顯降低的現象。之後陸續有許多此類研究繼續進行，雖然結果不盡相同，但是皆顯示 HRT 的使用會影響大腸癌的發生。最近的研究結果則較偏向長期使用 HRT 會降低大腸癌的發生 (Newcomb et al., 1995; Potter et al., 1996; Woodson et al., 2001)。Potter 等人 (1995) 指出 ER 基因發生過甲基化會抑制 ER 基因之表現，可能是造成大腸癌發生的原因之一，Eugene 等人 (2000) 進一步發現在大腸癌患者之腫瘤組織中無法偵測到 ER- $\beta$  蛋白的表現。由以上的研究結果推測，雌性素及雌性素受體在女性大腸癌的形成可能扮演重要的角色，然而雌性素及雌性素受體如何調控大腸癌發生仍需進一步的釐清。

## 二.異環胺類致癌物與癌症發生之相關性

### 1. 異環胺類致癌物的來源與種類

#### 1.1 食物

在 1978 年 Commoner 等人即發現烹煮的牛肉中可分離出具有致突變物，另一群日本的科學家發現這些物質主要是由一些 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH)、nitrosamine 及 heterocyclic amines (HCA) 所組成，這些物質在 Ames/Salmonella test (TA98 with S-9) 中顯現致突變性 (Sugimura & Sato, 1983 ; Felton et al., 1986)。其中以 heterocyclic amines 類化合物的致突變性最強。HCA 這一類的化合物主要分為三大類，分別為 imidazoquinolines (IQ、MeIQ)、imidazoquinoxalines (MeIQx、DiMeIQx) 及 imidazopyridines (PhIP) (Fig. 3)。此類化合物主要是由於一些醣類、胺基酸及 creatinine 或 creatine 在高溫作用下所產生 (Jagerstad et al., 1991 ; Skog et al., 1992 ; Robbana-Barnat et al., 1996)，且產生 HCA 的種類隨著烹煮的時間、溫度及肉的種類不同而異 (Felton et al., 1990 ; Felton et al., 1991 ; Gross et al., 1992 ; Sinha et al., 1995)。最常見的主要為

2-amino-3,8-dimethylimidazo [ 4,5-f ] quinoxaline (MeIQx) 、  
2-amino-3,4,8 -trimethylimidazo [ 4,5-f ] quinoxaline (DiMeIQx) 以及  
2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [ 4,5-b ] pyridine (PhIP) 這三種  
HCAs。此類 HCAs 主要存在於高溫煮熟的肉類中，尤其是紅肉中含  
量最高，而未煮食的肉類中幾乎不含此類化合物。除了在體外對細菌  
所做的致突變性外，許多研究也發現 HCA 對於大白鼠、小鼠 (Ohgaki  
et al., 1991； Sugimura et al., 1996) 及猴子 (Adamson et al., 1990) 皆具有  
致癌性，同時也可偵測到 HCA-DNA adducts 的存在，且在不同品系  
間，不同的 HCAs 產生致癌性的標的器官也不同，見 Table 5 所示。  
而在人類大腸、直腸、腎臟組織中亦發現有 HCA-DNA adducts 的存  
在 (Friesen et al., 1994; Totsuka et al., 1996)。流行病學上的研究中指出高  
量燒烤、油炸肉類的攝取，會增加大腸癌的罹患率，因此推測 HCA  
可能是引起人類癌症的致癌物之一。

## 1.2 廚房油煙

許多研究皆指出廚房中高溫烹調產生的油煙中含有許多致癌物  
質，和癌症的發生有關，尤其是肺癌 (Rappaport et al., 1979； Mumford  
et al., 1987； Berg et al., 1988； Lofroth et al., 1991, 1994； Qu et al.,

1992)。先前有實驗指出一般家庭使用的食用油(例如:椰子油、植物油、玉米油等)在高溫下所產生的油煙中所含的成分主要是 PAHs 類的化合物,以 benzo[ a ]pyrene (BaP)、dibenz[ a,h ]anthracence (DBahA)、benzo [ b ] fluoranthene (BbFA) 及 benzo [ a ] anthracene ( BaA ) 四類為主(Chiang et al., 1997,1999)。而本實驗室及其它的研究則發現高溫煎魚或肉類所產生的油煙中含有大量的異環胺類致癌物,且產生 HCAs 的種類及含量隨著煎煮的溫度、時間及煎煮肉類的種類不同而不同。其中煎肉(牛肉及豬肉)產生的油煙主要是以 PhIP 的含量最高,其次是 MeIQx 及 DiMeIQx;而煎魚產生的油煙主要以 MeIQx 的含量最高,且隨著煎煮的溫度越高,所產生的 HCAs 數量及毒性也愈高 (Y Thiebaud et al., 1994, 1995;ang et al., 1998)。由此可知,廚房烹煮所產生的油煙也是 HCAs 主要來源之一。

香菸中亦含有大量的異環胺類化合物 (如 PhIP) (Manabe et al., 1991),有研究指出抽菸會活化 hamster 肝中 CYP1A1/1A2 代謝 HCAs 的能力,由此可知抽菸不但是 HCAs 的重要來源,也是 HCAs 活化重要的促進者。

## 2. 異環胺類致癌物在體內代謝機制之探討

在先前人類或動物實驗的研究中指出，無論 HCAs 是以口服、靜脈注射或肌肉注射給予，九成以上的 HCAs 皆會在體內進行代謝，只有少量 (2-5%) 未被代謝的 HCAs 經由尿液排出體外 (Gooderham et al., 1987, 1991; Murray et al., 1989; Lynch et al., 1992)，且大部分的 HCAs 在二十四小時內會被代謝並排出體外，顯示 HCAs 在生物體內是被高度代謝的化合物。

在生物體內，HCAs 首先大部分是經由肝臟 cytochrome P450 酵素進行氧化 (N-hydroxylation)。先前許多研究指出此氧化步驟主要由 CYP1A subfamily 來進行 (Watanabe et al., 1982; McManus et al., 1989; Turteltaub et al., 1989; Turesky et al., 1991; Watkins et al., 1991a, b; Rich et al., 1992; Zhao et al., 1994)，其中以 CYP1A2 對於 HCAs 進行 N-hydroxylation 的專一性及能力最強 (Yamazoe et al., 1983; Hayashi et al., 1985; Thompson et al., 1991; Rich et al., 1992; Frandsen et al., 1994; Shimada et al., 1989; Yanagawa et al., 1994; Edwards et al., 1994)，其它的 cytochrome P450s，如 CYP1A1、CYP3A4、CYP2C9/10、CYP2A3 以及 CYP1B1，它們對 HCAs 行 N-hydroxylation 的能力皆不如 CYP1A2 (Aoyama et al., 1990; McManue et al., 1990; Yamazaki et al.,

1995 ; Sadrieh et al., 1995 ; Crofts et al., 1997 ; Hellmold et al., 1998) 。

被氧化後的 N-hydroxy HCAs 通常水溶性會增加，易經由人體的血液循環進入其它器官( Kaderlik et al., 1994 ; Ghoshal et al., 1995)或排出體外。它不會直接和核酸進行鍵結，通常必須經由位於細胞質的 phase II 酵素，如 N-acetyltransferase 、 sulfotransferase 以及 phosphorylase 的作用形成 N-acetoxy, N-sulfonyloxy 以及 N-phosphatyl ester 不穩定的衍生物 (Kato et al., 1986 ; Buonarati et al., 1990 ; Minchin et al., 1992 ; Chou et al., 1995)，進而經由水解作用在 ester bond 的位置斷裂，形成帶正電的化合物 (nitrenium ion) 攻擊核酸，造成 DNA 鍵結物的產生。有些研究指出 HCAs 也可直接在一些肝外的器官，例如肺、腎、乳腺細胞、胰臟細胞中直接進行氧化，再經由 phase II 酵素進行 esterification，經水解形成 DNA 鍵結物 (Aune et al., 1986 ; Hellmold et al., 1993 ; Davis et al., 1994 ; Carmichael et al., 1996)。有研究指出 HCAs 並無法直接被 NATs，包括 NAT1 及 NAT2 進行乙醯化，必須先經由 CYP1A2 氧化為 N-hydroxy HCAs，而此氧化物僅有 NAT2 可進行 O-acetylation 形成高度活性的 acetoxy esters (Toxicology, 6th; Hein et al., 2002)，而經由 O-acetylation 形成的 acetoxy ester compounds 比其它 phase II 酵素形成的 ester compounds 更容易攻擊核酸形成鍵結物 (Gooderham et al., 2001)。目前發現的 HCA-DNA adducts 主要位



於 guanine 的 C8 的位置。其它較次要的位置，如 guanine N2 的 DNA adduct 亦被發現，如 Fig. 4 所示 (Snyderwine et al., 1988 ; Lin et al., 1992 ; Turesky et al., 1992,1994,1996 ; Frandsen et al., 1992,1994 ; Tada et al., 1994)。因此 HCAs 主要經由 CYP1A2-NAT2 代謝路徑進行活化，形成 DNA 鍵結物。

### 3. 異環胺類致癌物與肺癌及大腸癌發生之相關性

先前許多研究皆證實以 HCAs 餵食大、小鼠會導致許多器官的癌化，其中包括肺及大腸，見 Table 5 (Sugimura et al., 2002)。許多研究結果顯示，HCAs DNA 鍵結物的形成量與特定作用的標的器官之間並無一致的相關性。以 IQ 餵食 Fischer-344 大鼠為例，偵測到的 IQ-DNA 鍵結物量依次為肝、肺、腎、胃、大腸、白血球、小腸 (Schut et al., 1994)，其中肝、大腸、小腸理應為 IQ 的標的器官，但大腸、小腸的 IQ-DNA 鍵結物量反而低於肺、腎、胃及白血球這些非標的器官，由此可知 DNA 鍵結物的量與作用器官間的相關性並非如此單純，必須考慮其它因子，例如血液循環的影響。

在肺癌組織中最常發現 *p53*、*K-ras* 基因發生突變，而大腸癌則以 *p53*、*K-ras*、*APC*、*β-catenin* 最常發生突變，已有許多研究指出 HCAs

所誘發的老鼠癌組織中皆可發現這些基因發生突變 (Makino et al., 1992; Ushijima et al., 1995; Tachino et al., 1995; Kakiuch et al., 1995; Dashwood et al., 1998)。有研究發現在大腸癌組織中，可偵測到 PhIP-DNA 鍵結物的存在 (Friesen et al., 1994)，由以上的研究推測 HCAs 確實可能參與肺癌及大腸癌的形成。

### 三. CYP1A2 與 NAT2 基因多形性與癌症相關之研究

#### 1. Cytochrome P450 1A2 簡介

Cytochrome P450 為體內負責進行氧化代謝的酵素，屬於 phase I 酵素之一。Cytochrome P450 這一類的酵素在肝臟的表現量最高，在其它組織也有一定的表現，以負責藥物及外來物的代謝。Cytochrome P450 在體內參與的反應包括 (1) hydroxylation of an aliphatic or aromatic carbon. (2) epoxidation of a double bond. (3) heteroatom ( *O-*, *S-*, *N-* and *Si-* ) oxygenation and N-hydroxylation. (4) heteroatom ( *O-*, *S-*, *N-* and *Si-* ) dealkylation. (5) oxidative group transfer (6) cleavage of esters. (7) dehydrogenation. (Toxicology, 6th )。

Cytochrome P450 根據其胺基酸序列可區分為許多家族、次家族。其中在肝臟主要以 CYP1、CYP2、CYP3、CYP4 這四個家族

為主 (Wrighton and Stevens et al., 1992;Guengerich et al., 1994)，而在其它呼吸道及腸胃道 (例如肺及大腸) 亦可偵測到此類酵素的表現 (Shimada et al., 1996；Zeldin et al., 1996；Guidice et al., 1997；Mace et al., 1998；Raunio et al., 1999；Su et al., 2000；Rylander et al., 2001;Wei et al, 2001, 2002)。而這些在肺臟有表現的 cytochrome P450 酵素除了 CYP 2A13、2F1、2S1、3A5、4B1 之外其餘表現量皆低於肝臟。在大腸方面的研究指出，主要表現 CYP1A1、1A2 及 CYP3A 次家族 (Mercurio et al., 1995；Zeldin et al., 1997)，如 Table 3 所示，但這些 CYPs 酵素的表現量，在不同的個體有不同的表現，且在不同的研究所得到的結果，並不完全一致，因此未來需要進一步探討，以釐清它們之間的相關性。雖然這些 CYPs 在肝外組織 (肺臟、大腸) 的表現量較低，但是它們在肺臟和大腸活化或去活化藥物的機制中扮演關鍵性的角色，也與藥物或致癌物在肺臟或大腸等肝外組織是否會產生毒性或造成癌化有關。

CYP1A2 和 CYP1A1 一樣皆為 CYP1A 的酵素，其中 CYP1A2 主要在肝臟表現，而 CYP1A1 主要在肺臟表現。有些研究指出在肺及大腸組織中可偵測到 CYP1A2 的 mRNA 或蛋白的表現 (Mercurio et al., 1995；Mace et al., 1998;Wei et al, 2001, 2002)，雖然表現量較肝臟為低，但 CYP1A2 在這兩種器官的代謝化合物，仍扮演重要的

角色。和它的 CYPs 酵素相比，CYP1A2 對異環類胺化合物具有較高及較專一的氧化能力 (N-hydroxylation) (Aoyama et al., 1990 ; McManue et al., 1990 ; Yamazaki et al., 1995 ; Sadrieh et al., 1995 ; Crofts et al., 1997 ; Hellmold et al., 1998)，能將 HCAs 氧化成活化態的 hydroxyl-HCAs 進而經由 phase II 酵素催化形成 ester compounds，經過水解反應，產生帶正電的 Aryl nitrenium ion，造成 DNA 鍵結物的產生。由以上機制之推測 CYP1A2 代謝能力的強弱似乎與肺癌及大腸癌或其它與 HCAs 相關的癌症形成有關。

## 2. CYP1A2 之基因多形性與癌症之相關性研究

CYP1A2 基因位於人類第 15 對染色體上，基因全長 7.8 kb，其中含有 6 個 introns 及 7 個 exons (Ikeya et al., 1989)。根據先前研究指出 CYP1A2 和 CYP1A1 一樣可被特定化合物所誘導活化，例如抽菸 (Kalow et al., 1991)、TCDD (Postlind et al., 1993)、燒烤食物 (Vistisen et al., 1992)、含咖啡因的飲料 (Vistisen et al., 1992 ; Chen et al., 1996) 及激烈運動 (Vistisen et al., 1992) 等皆能誘發 CYP1A2 酵素之表現量，許多研究指出此表現量的增加和 CYP1A2 的基因多形性有關。目前已知的 CYP1A2 基因多形性主要有位於 CYP1A2

5'-flanking region 的 T-3605 insertion、G-3595T、T-3591G (Katherine et al., 2000)、G-2964A (Nakajima et al., 1999)、位於 exon 1 的 C734A (Sachse et al., 1999) 以及位於 exon 2 及 exon 7 (Macleod et al., 1998)，其中以位於 5'-flanking region 的 G-2964A 及位於 intron 1 的 C734A 這兩個基因多形性位置與 CYP1A2 的代謝能力及被誘導表現最為相關 (Nakajima et al., 1999；Sachse et al., 1999)，且這現象在抽菸及不抽菸者中皆可觀察到 (Han et al., 2001)。而其它的基因多形性位置，則對於 CYP1A2 酵素活性沒有明顯的影響。對 G-2964A 這個基因多形性位置，以含 G allele (wild type) 代謝咖啡因 (3-demethylation) 能力較含 A allele 者強；然而在 C734A 這個基因多形性位置，則以含 A allele (mutant) 者代謝咖啡因的能力較含 C allele 者強。除了基因形會影響 CYP1A2 的酵素活性，其它如十字花科的食物、抑制胃酸分泌的胃潰瘍用藥-omeprazole 等，皆會誘導 CYP1A2 的表現，因此探討 CYP1A2 與致癌物之代謝活化是否與癌症之形成有關，尤其是 CYP1A2 與肺癌及大腸癌的研究綜合整理於 Table 1、2 中。

### 3. NAT2 簡介

N-acetyltransferase 為在哺乳動物中常見的酵素，主要存在於細胞質。此酵素基因位於人類染色體 8p22 的位置 (Blum et al., 1990 ; Hickman et al., 1994)，全長 870 bp，為一 intronless 的基因，轉譯出 290 個胺基酸 (Blum et al., 1990 ; Vatsis ey al., 1991)。在人類主要存在 NAT1 及 NAT2 兩種 isozymes，此兩種 isozymes 基因序列約有 87 %的相似性 (約有 55 個胺基酸的差異) (Blum et al., 1990 ; Ebisawa et al., 1991)。先前的研究指出 NAT1 在大部份的組織中皆會表現，而 NAT2 主要表現在肝及小腸，但在大腸、肺臟、支氣管及肺泡末梢亦可偵測到 NAT2 之 RNA 與其蛋白的表現 (Mace et al., 1998; Kelly et al., 2000)。此類酵素主要催化的受質為 aromatic amine 及 hydrazine 類的化合物。利用其酵素催化中心的 cysteine 胺基酸 (amino acid 68) (Dupret et al., 1992) 藉由將 acetyl-coenzyme 上的乙醯基 (acetyl group: -COCH<sub>3</sub>) 置換到 cysteine 上 ( $E-SH + CoA-S-COCH_3 \rightarrow E-S-COCH_3 + CoA-SH$ )，再將接在 cysteine 上的 acetyl group 轉換到 aromatic amine (R-NH<sub>2</sub>)及 hydrazine (R-NH-NH<sub>2</sub>)上的 amine group 進行乙醯化，使其轉化為 aromatic amides (R-NH-COCH<sub>3</sub>)及 hydrazides (R-NH-NH-COCH<sub>3</sub>)。NAT1 及 NAT2 在不同的品系之間其所代謝的物質亦有不

同。在人類主要是以 bicyclic aromatic amines 及 heterocyclic aromatic amines 為主，NAT 可進行 N-acetylation (detoxification- inactivation) 或 O- or N,O-acetylation (toxification- activation)。先前的研究指出，NAT1 及 NAT2 皆可對 bicyclic aromatic amines 及 N-hydroxy aromatic amines 進行 N-acetylation (detoxification)及 O-acetylation (toxification)；然而 heterocyclic aromatic amines 直接被 NAT1 及 NAT2 乙醯化(N-acetylation)的親和性低，其需要先經由 CYP1A2 進行氧化，形成 N-hydroxy heterocyclic aromatic amines，NAT2 對此代謝物具有較高的專一性進行 O-acetylation (Hein et al., 1994,2002；Toxicology, 6th)，然而此反應是 toxification 的步驟，進一步將 N-hydroxy heterocyclic aromatic amines 活化成具致癌性的 ester compounds，產生對核酸具有高反應性的 nitrenium ion，形成 DNA 鍵結物，造成特定基因發生突變，進而造成癌化的發生。由以上可知 NAT2 是主要參與 heterocyclic aromatic amine 代謝活化形成致癌物質的酵素。

#### 4. NAT2 之基因多形型與癌症之相關研究

在 NAT2 的 coding region 上已發現 11 個 SNPs 位置，其中包括七個 missense (G191A、T341C、A434C、G590A、A803G、A845C、G857A)

及四個 silent 取代位置 (T111C、C282T、C481T、C759T)，由這 11 個 SNP 可組成 26 種不同 NAT2 alleles (見 Table.4) (Vatsis et al., 1995)。根據 International Gene Nomenclature Committee (<http://www.louisville.edu/medschool/pharmacology/NAT.html>)的定義，將含有 T341C SNP site 定為 M1 allele (又稱 NAT2\*5allele)，含有 G590A 者稱為 M2 allele (NAT2\*6)，G857A 為 M3 allele (NAT2\*7)、G191A 為 M4 allele (NAT2\*14)，而不具有以上四種變異對偶基因者稱為野生型對偶基因(wild type allele)。有研究指出 M1-M4 這四種變異對偶基因，皆會導致 NAT2 胺基酸的改變及酵素活性的降低。其中 M1 變異對偶基因，會導致最大反應速率( $V_{max}$ )的降低，M2 及 M3 則是會導致蛋白穩定性的降低 (Vatsis et al., 1995)，M4 allele 則主要存在於非洲裔族群。據統計超過 95% 的 NAT2 酵素表現型，可利用此四個對偶基因區分為快 (fast) 或慢 (slow) N-acetylation 活性 (Blum et al., 1991 ; Ferguson et al., 1994 ; Hein et al., 1995 ; Leff et al., 1999)。有研究發現中東地區的人種 slow acetylator genotype 所佔的比例最高，例如埃及、沙烏地阿拉伯、摩洛哥等地區，約 70% 左右；其次是白種人，例如美國、澳大利亞、歐洲，約 50% 左右；而亞洲人種最低，例如中國、日本、韓國，僅約有 20-30% 左右。目前在流行病學的研究發現，NAT2 slow acetylator genotype 主要與膀胱癌有關，這



可能是由於造成膀胱癌的致癌物 bicyclic aromatic amines (benzidine, 2-aminonaphthalene, and 4-aminobiphenyl)，可直接經由 NAT2 進行 N-acetylation (detoxification)，因此慢速乙醯化基因型的人，其對於 bicyclic aromatic amines 的解毒能力較差，因此有較高罹患膀胱癌之危險性。而 fast acetylator genotype 則主要與大腸癌的發生有關，這可能是由於 heterocyclic amines 的暴露與大腸癌的發生有關，而暴露之 heterocyclic amines 並無法直接經由 NAT2 進行解毒作用，而必須先經由 CYP1A2 的活化 (N-hydroxylation)，再經由 NAT2 進行 O-acetylation，而此為活化致癌物的步驟，因此具快速乙醯化能力者，有較高罹患大腸癌的機率 (Evans et al., 1992；Kadlubar et al., 1994；Hirvonen et al., 1999；Hein et al., 2000)。然而在不同的癌症，如肺癌、乳癌、頭頸癌、前列腺癌等的研究結果卻是眾說紛紜，此現象說明了除基因多形性外，在不同種族、地區生活習慣、飲食、生活環境上的差異之間與基因的互動皆會影響癌症的發生。

有關於 NAT2 基因型與癌症間之相關性在各國及不同種族間的過去研究整理於 Table 1、2 中。

### 參. 研究動機

根據衛生署 91 年度公布，台灣地區癌症主要死亡原因中肺癌及大腸癌分別佔所有癌症死亡的第一位及第三位。已知癌症形成是長期基因和環境因子互動所致，除了個體基因的缺失之外，環境因子的影響也扮演重要的角色。已知高溫烹調的肉類食品中含有許多異環胺類化合物，而此類化合物已在動物實驗中證實與肺癌和大腸癌形成有關。又知主要參與代謝異環胺類的酵素 CYP1A2 及 NAT2 之基因多形性與肺癌和大腸癌發生有關，但在不同國家及種族間的研究結果並不一致。而在台灣尚無相關研究發表，因此本研究將探討這兩種參與異環胺類化合物代謝酵素的基因多形性，是否與台灣肺癌和大腸癌發生有關？尤其是不抽菸之台灣女性罹患這兩種癌症之相關性，以釐清參與代謝活化異環胺類之 CYP1A2 與 NAT2 基因型與台灣肺癌和大腸癌發生之可能關係。

已知抽菸是誘發肺癌之最主要危險因子，最近發現大腸癌與抽菸亦有相關。然而在台灣女性肺癌患者 90% 以上為不抽菸者，因此推測除了抽菸之外，尚有其它因子參與台灣女性肺癌的發生。許多流行病學研究結果顯示，烹調油煙暴露與台灣女性肺癌發生有關。本研究室發現高溫烹調魚肉，所產生的油煙中含有異環胺類化合物。而此類化

合物已在細菌及動物實驗證實具有高度致突變性和致癌性。而在台灣大多是婦女在廚房為家人烹調食物，因此暴露相當量之油煙中之異環胺類化合物。若又具有較高酵素活性之 CYP1A2 和 NAT2 的基因型，則可能有較高之罹患肺癌和大腸癌的危險性。因此本研究擬探討 CYP1A2 及 NAT2 之基因多形性與肺癌和大腸癌發生的相關性，以推測經由不同路徑進入人體的異環胺類化合物在這兩種癌症發生上是否都扮演著重要的角色。

## 肆.材料與方法

### 一.檢體收集

本研究是採取病例對照研究(case-control study)。所選取非小細胞肺癌病患血液分別來自於中山醫學大學附設醫院胸腔內科及台中榮民總醫院胸腔科，肺癌病患周邊正常組織檢體由台中榮民總醫院及彰化基督教醫院所提供。大腸直腸癌病患周邊正常組織則是由中山醫學大學附設醫院大腸直腸科所提供。而非癌症控制組則是由一大型體檢(彰化縣芳苑鄉衛生所)及中山醫學大學附設醫院體檢組所提供之血液檢體，基本資料列於 Table 6。

### 二.材料與藥品

#### 1. 血液 DNA 萃取

GenoMaker Kit 購自台灣真興公司，NaOAc (sodium citrate) 購自德國 Merck 公司，Phenol, chloroform, ethanol 則購自台灣皓峰公司。

## 2. 組織 DNA 萃取

SDS (sodium dodecyl sulfate), EDTA (ethylenedinitrilo-tetra-acetic-disodium salt), NaCl (sodium chloride), NaOH (sodium hydroxide), NaOAc (sodium citrate) 以及 Tris-base 等化學藥品均購自德國 Merck 公司。Phenol, chloroform, ethanol 則購自台灣皓峰公司。Proteinase K 購自德國 Boehringer-Mannheim 公司。

## 3. 基因多形性 (genetic polymorphism) 及序列分析(RFLP)

DNA polymerase ( DyNAzyme TM II ) 選自美國 Bio-Labs 公司及台灣真興公司。基因多形性分析所需之限制酶如 KpnI、TaqI、AluI、MspI (NAT2)、DdeI (CYP1A2) 購自美國 Bio-Lab 公司；BamHI 則選自日本 TaKaRa 公司。

## 三.實驗方法

### 1. 肺癌及非癌症病患之血液 DNA 萃取。

在 2 ml 的全血中加入 6ml 的 1X 紅血球 lysis buffer (whole blood : 1X lysis buffer = 1:3)，混合均勻後，置於冰上 30 分鐘後，將紅血球水解，以 3,000rpm 離心 15 分鐘，離心後倒掉上清液。以 1X PBS

重複洗三次。剩下的白色沉澱物即為白血球，利用此方法將白血球分離出來。取 1 ml 的 GenoMaker 將白色沉澱物沖散，置於室溫 30 分鐘，使白血球蛋白分解。之後分成 2 管，各 500  $\mu$ l，以傳統的 phenol/chloroform 法除去蛋白質。先加入 500  $\mu$ l 的 phenol/chloroform (24:1) 充分混合使蛋白變性，以 12,000 rpm 離心 15 分鐘，取上清液再加入 50  $\mu$ l 3M NaOAc (pH 5.2) 及 1 ml 的 100% 冰酒精於  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱作用 30 分鐘，藉以將 DNA 沉澱出。以 12,000 rpm 離心 20 分鐘後倒掉上清液，並加入 500  $\mu$ l 的 75% 酒精洗去殘留之鹽類，12,000 rpm 離心 20 分鐘後倒掉上清液，並以真空抽乾殘餘的水分，所得之白色沉澱物即為 DNA。將沉澱出來之 DNA 以無菌水溶解並以紫外線光譜儀測定 DNA 在 260 nm 和 280 nm 的吸光值，其  $A_{260}/A_{280}$  比值應在 1.6 到 1.8 之間。若比值小於 1.6 則表示蛋白含量過高，應再以 proteinase K 處理後重複上述萃取步驟；若比值大於 1.8 則表示 RNA 含量過高，則應再以 RNase 處理後重複上述萃取步驟。DNA 的濃度以下列的公式計算： $\text{DNA } (\mu\text{g/ml}) = A_{260} \times 50 \times \text{稀釋倍數}$ 。DNA 萃取完成後，溶成濃度為 1  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  置於  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱保存，以利於基因多形性之分析。

## 2. 肺癌及大腸直腸癌病患周邊正常組織 DNA 萃取

將 50-100 mg 的肺腫瘤組織加入少量液態氮並加以研磨後，加入 500  $\mu$ l 的 lysis buffer (10mM Tris-HCl, pH 8.0, 0.1M NaCl, 25mM EDTA 及 0.5% SDS) 將組織完全水解，再加入 5  $\mu$ l proteinase K (10mg/ml)於 56°C 作用 12-18 小時，之後以傳統的 phenol/chloroform 法除去蛋白質。首先加入 500  $\mu$ l 的 phenol/ chloroform / isoamyl alcohol (25:24:1)充分混合使蛋白變性，以 12,000 rpm 離心 15 分鐘，取上清液再加入 500 $\mu$ l chloroform / isoamyl alcohol (24:1) 洗去殘餘之 phenol，充分混合後以 12,000 rpm 離心 15 分鐘，取上清液加入 50  $\mu$ l 3M NaOAc (pH 5.2)及 1 ml 的 100%冰酒精於-80°C 冰箱作用 30 分鐘，藉以將 DNA 沉澱出。其後步驟同於血液 DNA 萃取。

## 3. NAT2 基因多形性之分析

NAT2 基因多形性之分析是利用 PCR-RFLP (polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism)方法 (參考 Bell et al. 1993)，取 500ng DNA 為模板進行 PCR 反應，PCR 反應條件如下：500 ng DNA、0.5 mM dNTP、5  $\mu$ l PCR 10 $\times$ reaction buffer、2.5U Taq polymerase, 以及 0.5 mM primer，最後以滅菌水將體積補到 50  $\mu$ l。PCR 反應步驟依序為一開始先 94°C denature 10 分鐘，後 denaturing: 94°C 1 分鐘，annealing: 52°C 2 分鐘，elongation:72°C 1 分 30 秒，此循環重複 35 次，最後以 72°C 反應 10 分鐘，得到一個 1093

bp 的片段(見 Fig.6a)。將所得之 PCR 產物取 10  $\mu$ l, 10 $\times$ reaction buffer 2  $\mu$ l 及限制酵素 0.5 ul, 補滅菌水至 20ul, 於 30 $^{\circ}$ C (BamHI), 37 $^{\circ}$ C (KpnI、AluI/MspI) 或 65 $^{\circ}$ C (TaqI) 中反應 10 小時, 以 2 or 3% agarose 膠體電泳進行結果分析, primer 序列及限制酵素之使用如下列所示:

NAT2 primer: N4(As) 5'-TCTAGCATGAATCACTCTGC

N5(S) 5'-GGAACAAATTGGACTTGG

PCR product: 1093 bp

Restriction enzyme: KpnI (M1 allele- T341C)、TaqI (M2

allele-G590A)、BamHI (M3 allele-G857A)、

AluI/MspI (M4 allele-G191A)

結果判讀如下所示 ( Fig. 6b、c、d、e)

NAT2\*4 (Wild type)

NAT2\*5 (M1) - T/T: 660+433 bp, C/C : 1093 bp

NAT2\*6 (M2)- G/G: 380+317+226+170 bp, A/A: 396+380+317 bp

NAT2\*7(M3) - G/G: 811+282 bp, A/A: 1093 bp

NAT2\*14(M4) - G/G: 759+189+91+53 bp, A/A: 759+280+53 bp

☆NAT2\*5、6、7、14- low activity alleles

☆若個體具有一個以上野生型對偶基因 (wild type allele) 則訂為

fast acetylator; 若個體同時具有兩個變異對偶基因, 則訂為 slow

acetylator。



#### 4. CYP1A2 基因多形性之分析

CYP1A2 基因多形性之分析是利用 PCR-RFLP (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism) 方法 (參考 Nakajima, M. et al. 1999), 取 200ng DNA 為模板進行 PCR 反應, PCR 反應條件如下: 200 ng DNA、0.5 mM dNTP、5  $\mu$ l PCR 10 $\times$ reaction buffer、2.5U Taq polymerase, 以及 0.5 mM primer, 最後以滅菌水將體積補到 50  $\mu$ l。PCR 反應步驟依序為一開始先 94 $^{\circ}$ C denature 10 分鐘, 後 denaturing: 94 $^{\circ}$ C, 40 秒, annealing: 56 $^{\circ}$ C, 30 秒, elongation: 72 $^{\circ}$ C, 40 秒, 此循環重複 35 次, 最後以 72 $^{\circ}$ C 反應 10 分鐘, 得到一個 596 bp 的片段(見 Fig.7a)。將所得之 PCR 產物取 10  $\mu$ l, 10 $\times$ reaction buffer 2  $\mu$ l 及限制酵素 0.5  $\mu$ l, 補滅菌水至 20 $\mu$ l。於 37 $^{\circ}$ C 反應 10 小時, 以 2% agarose 膠體電泳進行結果分析, primer 序列及限制酵素之使用如下列所示:

CYP1A2 primer: S 5'-GCTACACATGATCGAGCTATAC  
As 5'-CAGGTCTCTTCACTGTAAAGTTA

PCR product: 596 bp

Restriction enzyme: DdeI

結果判讀如下所示: (Fig. 7b)

homozygous wild type (G/G): 596 bp

heterozygous wild type (G/A): 596 bp, 464 bp, 132 bp product

homozygous mutant type (A/A): 464 bp, 132 bp product

## 5. 統計分析

本研究之統計是以 SPSS 11.0 統計軟體針對 NAT2 及 CYP1A2 基因多形性進行病例對照研究(case-control study)。以多變項邏輯式迴歸方式 (multiple logistic regression analysis) 分析 NAT2 及 CYP1A2 基因多形性在肺癌及大腸癌病患與非癌症對照組間在不同性別及抽菸習慣之間評估其罹患癌症的相對危險性。

## 伍. 結果與討論:

### 一. 肺癌

#### 1. CYP1A2 及 NAT2 基因型分析中，肺癌個案與對照組之年齡、性別、抽菸與否分佈

本研究以病例與對照組探討 CYP1A2 與 NAT2 基因多形性與肺癌之相關性。其中對照組有 167 個非癌症個案，而病例組有 178 個肺癌個案。分別利用平均年齡、性別、抽菸與否進行單變項邏輯式回歸分析發現，除年齡之外，性別及抽菸與否這兩變項在統計上與肺癌發生並無顯著的相關性。若對男、女性抽菸與否進行分析結果發現，女性抽菸者似乎有較高罹患肺癌的趨勢 (OR= 2.96, 95%CI, 0.58- 15.08)，而男性則無此現象 (Table 6)。

#### 2. 代謝酵素 CYP1A2 及 NAT2 基因型與肺癌危險性之分層分析

Table 7 將代謝酵素 CYP1A2 及 NAT2 基因型與肺癌發生之危險性進行分層分析。結果發現 CYP1A2 之 G 野生型對偶基因，於病例組中之出現率為 71.1%，對照組出現率為 72.8%，A 非野生型對位基因於病例組中之出現率為 28.9%，對照組出現率為 27.2%，其間並無顯著的差異。而 NAT2 之 M1、M2、M3 及 M4 非野生型對位基因，於病例組中之出現率分別為 1.1%、13.8%、13.5% 及 0%，於對照組為 2.4%、16.5%、9.9% 及 0%，依其基因型組合可區分為 fast、intermediate、slow 三種表現型，發現帶有 fast、intermediate 乙醯化表現型者罹患肺癌的危險性分別為 slow 表現型 3.76、2.43 倍，達到顯著的差異。

#### 3. 肺癌病患 CYP1A2 之基因多形性分析

Nakajima 等人 (1999) 指出，CYP1A2 於 (G-2964A) 位置基因突變會顯著影響 CYP1A2 酵素活性的誘發能力。Nakajima 利用偵測酵素活性的表現，來評估受測者 CYP1A2 對 caffeine 3-demethylation 的代謝活性能力，發現 CYP1A2 -2964 位置為 G allele 的活性較具有 A allele 者強。-2964 位置為 G 者，在亞洲人約佔 70%。在本研究則直接偵測 CYP1A2 之基因型，將具有二個在 -2964 含 G allele

(野生型對位基因)者，即 G/G 具有較高酵素活性為 CYP1A2 high(高氧化能力)，而 G/A+A/A 為 CYP1A2 low(低氧化能力)。由 Table 8 的結果得知，CYP1A2 基因型 high vs. low，不論在所有肺癌患者及對照組中或是在女性及男性以及在抽菸及不抽菸族群中分別做比較發現，各組均沒有達到統計學上之差異。當研究對象分為抽菸和不抽菸男性以及抽菸與不抽菸女性等四組做比較時，結果發現除抽菸女性這一組因人數太少無法進行分析之外，CYP1A2 的基因型在其它三組也都沒有差異 (Table 8)。Seow 等人 (2001) 在新加坡利用直接偵測酵素活性表現之方法來測量 CYP1A2 的表現型及 allele-specific PCR 偵測 NAT2 基因型，結果發現在新加坡之中國婦女具有 NAT2 slow 及 CYP1A2 high 者，罹患肺腺癌的危險性為具有 NAT2 fast 及 CYP1A2 low 者的 6.9 倍 (95%CI, 1.3-37.6)，此研究選用 25 位肺癌患者及 98 位對照組。但是若僅分析 CYP1A2 基因型與肺癌之相關性時，亦沒有顯著相關。但廖等人 (2002) 亦利用直接偵測 CYP1A2 基因型的方法(PCR-RFLP)則發現，具有 CYP1A2 G/G+G/A 的女性罹患肺腺癌的危險性為 A/A 者的 6.5 倍 (95%CI, 1.6-29)。本研究曾參考廖等人 (2002) 的分析模式做分析發現，僅有不抽菸女性組之 OR 值達到 5.62 (95%CI, 0.60-53.10)，其它組皆未達統計上的差異 (data not shown)。廖等人的研究主要以女性肺腺癌為主，共選用了 165 個女性肺腺癌患者及 277 位女性對照組，而得到具有統計意義的結果，即 CYP1A2 酵素活性較高之基因型者，具有較高罹患肺腺癌之風險。這顯示本研究若增加樣本數，CYP1A2 酵素活性較高之基因型 (G/G+G/A)與不抽菸女性肺癌之發生可能會達到統計上有意義的相關性。由以上的結果顯示參與代謝活化異環胺類致癌物的 CYP1A2 G/G+G/A 基因型與台灣女性肺腺癌發生可能有關。

#### 4. 肺癌病患 NAT2 之基因多形性分析

根據 Bell 等人 (1993) 研究指出，NAT2 基因型至少含有一個以上野生型對偶基因 (例如 W/W or W/ M)，其乙醯化 (N-acetylation) 的能力較具有兩個突變 (mutant, M) 對偶基因(M/M) 強，因此本研究將具有 W/W or W/M 基因型者界定為 fast acetylator 基因型；而 M/M 基因型界定為 slow acetylator。

由 Table 9 結果顯示，所有肺癌患者及對照組中具有 NAT2 fast acetylator 罹患肺癌的危險為 slow acetylator 的 3.10 倍。而在女性族群中，發現具有 fast acetylator 罹患肺癌的危險是 slow acetylator 的 4.05 倍 (95%CI, 1.87-8.78)；而在男性族群中，同樣發現 fast acetylator 有較高之危險，但其危險性低於女性，僅達到 2.70 倍 (95%CI,

1.10-6.61)。若將樣本分為不抽菸及抽菸這兩組來比較，結果發現不抽菸組具有 fast acetylator 者，罹患肺癌的危險為 slow acetylator 的 3.29 倍 (95%CI, 1.67-6.48)，而抽菸組之危險較高，為 4.51 倍 (95%CI, 1.25-16.22)。

若進一步將所有樣本分為男性不抽菸、男性抽菸、女性不抽菸及女性抽菸四組來進行分析，結果發現除了不抽菸女性組 fast acetylator 者，罹患肺癌的危險是 slow acetylator 的 3.48 倍，而其他三組皆沒有統計意義。由以上之結果顯示，NAT2 fast acetylator 基因型主要與台灣不抽菸女性之罹患肺癌之危險性有關，而與抽菸與不抽菸男性罹患肺癌較沒有相關。

過去研究顯示高溫烹調肉類以及肉類所產生的油煙中都含有許多異環胺類化合物，而這些化合物無論在細菌或是動物實驗皆被證實具有致突變性。Thiebaut 等人 (1995) 發現在煎牛肉或豬肉所產生的油煙中含有大量的異環胺類化合物，例如 PhIP、MeIQx 及 DiMeIQx；本研究室發現，煎魚油煙所產生的異環胺類化合物以 MeIQx 為主，在煎魚時每分鐘產生異環胺類的量為 0.25ng MeIQx / g of meat，平均每盤煎魚約產生 268.1 ng 的 MeIQx (Yang et al., 1998)。李等人 (1994) 的研究指出，在中國傳統的烹調方式-滷，所產生的肉汁中分別含有 IQ、MeIQ 及 MeIQx，其含量為每克肉中分別含有 3.7、1.2 及 4.1 ng。除了高溫烹煮的肉類及油煙中含有異環胺類化合物之外，Manabe et al. (1991) 指出香菸中亦含有異環胺類化合物- PhIP (16.4 ng / cigarette)，由以上得知，我們生活在含有異環胺類化合物之環境中，尤其是以傳統烹調方式處理肉類食品，使台灣家庭主婦暴露異環胺類化合物之機會可能較西方國家婦女為多。由本研究結果發現，參與代謝異環胺類致癌物之 CYP1A2 及 NAT2 之基因多形性與女性肺癌之發生較有關，因此推測異環胺類致癌物不僅能由烹調油煙獲得，同時亦可能由飲食中得到更多的異環胺類化合物。這些異環胺類化合物主要經由肝臟中這兩種酵素 CYP1A2 與 NAT2 代謝為活性代謝物，然後經由血液循環進入肺臟造成 DNA 傷害，最後引起肺腫瘤。以上推測已在實驗動物得到證明，當餵食異環胺化合物予動物，不僅能引起肝臟，大腸腫瘤，同時也會引起動物肺腫瘤 (Table 5)。有研究指出在肺臟支氣管、肺泡末端及大腸等正常組織，可偵測到 CYP1A2 及 NAT2 的表現 (Mercurio et al., 1995; Mace et al., 1998; Windmill et al., 2000)，雖然在這些器官酵素的表現量不如肝臟，但在代謝活化異環胺類化合物可能扮演重要角色，因此推測異環胺類化合物直接經由吸入的烹調油煙和香菸進入肺臟，有可能經由肺臟中之 CYP 1A2、NAT2 代謝活化，進而造成肺臟支氣管、肺泡末

端部位的腫瘤化。先前許多研究指出，女性對於香菸所誘發產生肺癌的敏感性較男性高 (Edity et al., 1996)，其原因可能和女性對於尼古丁的敏感性、代謝酵素基因多形性以及荷爾蒙等因素有關，由 Table 9 得知女性 fast acetylator 者，罹患肺癌的危險性較 slow acetylator 高 4.05 倍，此危險性顯著高於男性的 2.70 倍。由 Table 9 發現當單獨分析不抽菸女性時發現 fast acetylator 亦有 3.48 倍的危險性，而在不抽菸男性中則看不到此現象 (OR=2.93, 95%CI, 0.68-12.57)。因此推測女性對異環胺類致癌物之易感性似乎高於男性，另外，可能是台灣女性有較高之異環胺類化合物之暴露，例如二手菸和烹調油煙。許多流行病學研究均指出，二手煙與烹調油煙暴露與台灣女性肺癌發生有關。本研究發現 NAT2 fast acetylator 基因型與女性肺癌發生有關，似乎反映過去流行病學之發現上述兩種環境暴露與不抽菸女性肺癌之相關性是可能的。另一方面，由 Table 9 發現不抽菸族群 fast acetylator 者，罹患肺癌的危險性是 slow acetylator 者的 3.29 倍，然而此危險性較不抽菸女性族群 fast acetylator 的危險性稍低 (3.48 倍)。這危險性降低的原因，可能是不抽菸男性較少有油煙的暴露。而使得整體不抽菸族群 fast acetylator 者罹患肺癌的危險性降低。

由 Table 9 可發現，抽菸男性族群具有 fast acetylator 者，與肺癌的發生沒有顯著相關 (OR=3.16, 95%CI, 0.85-11.79)，而在抽菸女性這一組雖然因人數太少而無法統計分析，但可發現抽菸女性肺癌患者卻都屬 NAT2 fast acetylator 基因型者，因此抽菸族群中 fast acetylator 者，罹患肺癌的危險性是 slow acetylator 的 4.51 倍。因此推測無論是來自於香菸或炒菜油煙所產生的異環胺類化合物，台灣女性對於此類致癌物的敏感性似乎都較男性為高。

## 5. 肺癌病患 CYP1A2 和 NAT2 基因多形性之交互影響

由於異環胺類化合物必須先經由 CYP1A2 hydroxylation，然後再經由 NAT2 乙醯化，形成帶正電的 nitrenium ions，攻擊 DNA 形成 DNA 鍵結物，而造成基因突變而終致腫瘤形成，為了探討這兩種基因多形性的交互影響，因此同時分析這兩個基因之基因多形性間之交互作用是否與肺癌發生有關？首先在 Table 10 中分別探討年齡、性別、抽菸與否、CYP1A2 及 NAT2 基因型這些因子單獨對於肺癌發生的影響。結果發現，除了單獨考慮 NAT2 genotype 時發現 fast acetylator genotype 罹患肺癌的危險性是 slow acetylator 的 3.35 倍

(95% CI, 1.87-6.00) 之外，其它因子單獨與肺癌之相關性，都未達到統計學上之差異。進一步同時分析 CYP1A2 及 NAT2 兩種基因之基因多形性之交互影響 (Table 11)，在此以 CYP1A2 low 及 NAT2 slow 這兩個低酵素基因型組合當作基準值 (1)，結果發現在所有肺癌患者及對照組中具有 CYP1A2 high+NAT2 fast 及具有 CYP1A2 low+NAT2 fast 基因型者罹患肺癌的危險性，分別為具有 CYP1A2 low +NAT2 slow 基因型者的 2.94 倍 (95%CI, 1.30-6.67) 及 3.34 倍 (95%CI, 1.48-7.55)。在女性族群中則發現具有 CYP1A2 high +NAT2 fast 及具有 CYP1A2 low+NAT2 fast 基因型者，其罹患肺癌的危險性增加為 5.12 倍 (95%CI, 1.57-16.66) 及 4.87 倍 (95%CI, 1.51-15.68)；而男性族群具有 CYP1A2 high +NAT2 fast 基因型及 CYP1A2 low +NAT2 fast 基因型者，罹患肺癌的危險性分別為 1.89 倍 (95%CI, 0.58-6.18) 及 2.43 倍 (95%CI, 0.74- 7.96)，但皆未達統計學上的意義。當研究對象區分為不抽菸及抽菸兩族群做比較時發現，不抽菸的族群具有 CYP1A2 high +NAT2 fast 基因型及 CYP1A2 low +NAT2 fast 基因型者，罹患肺癌的危險性分別為 3.11 倍 (95%CI, 1.11-8.69) 及 3.01 倍 (95%CI,1.07-8.51)；而在抽菸的族群具有 CYP1A2 high +NAT2 fast 基因型者及具有 CYP1A2 low +NAT2 fast 基因型者，罹患肺癌的危險性分別為 4.25 倍 (95%CI, 0.92-19.64) 及 6.82 倍 (95% CI, 1.51-30.71)。以上的結果發現，在女性族群中，當同時考慮 CYP1A2 及 NAT2 基因多形性間之交互作用時，無論是 CYP1A2 high +NAT2 fast 或 CYP1A2 low +NAT2 fast 這兩種基因型組合，皆比單獨考慮 NAT2 基因型時，有較高罹患肺癌的危險性，且以 CYP1A2 high+NAT2 fast 這種基因型組合，有最高之罹患肺癌的危險性。

已知台灣女性大多不抽菸，推測在女性或不抽煙族群之異環胺類化合物暴露，可能主要經由直接吸入烹調油煙或食入烹調肉類食品而獲得。由本研究中發現，女性族群中無論是具有 CYP1A2 high+NAT2 fast 基因型組合或是 CYP1A2 low+NAT2 fast 基因型組合，罹患肺癌的危險性皆高於只單獨考慮 NAT2 基因型 (OR = 5.12, CYP1A2 high +NAT2 fast 基因型組合；4.87, CYP1A2 low+NAT2 fast 基因型組合 vs 4.05, NAT2 genotype alone)，然而在不抽菸族群中則無法觀察到危險性增加的情形，推測可能是由於不抽菸族群中，有一部分是男性的原因，由以上的結果推測，在台灣不抽菸的女性罹患肺癌的原因，可能與異環胺類化合物的暴露，進而經由 CYP1A2 及 NAT2 活化所形成之致癌物有關。

過去研究指出抽菸會誘導 CYP1A2 酵素的活化 (Butler et al.,

1992)，而此誘導能力和 CYP1A2 5'-flanking region (G-2964A) 基因多形性有關 (Nakajima et al., 1999)。由 Table 11 可觀察到無論在有較高比例抽菸之男性族群或抽菸族群，都是具有 CYP1A2 low + NAT2 fast 基因型組合者，有較高罹患肺癌的危險性，尤其在抽菸族群更發現其危險性竟高達 6.82 倍 (95%CI, 1.51-30.71)，此 OR 值遠高於在抽菸族群中只單獨考慮 NAT2 acetylator 基因型的 4.51 倍 (Table 9)。而具有 CYP1A2 high+ NAT2 fast 基因型組合之危險性 (OR = 4.25, 95%CI, 0.92-19.64) 和 NAT2 acetylator 基因型 (OR = 4.51, 95%CI, 1.25-16.22) 則沒有太大差異。在本實驗中觀察到 CYP1A2 low + NAT2 fast 這種基因型組合具有最高罹患肺癌的危險，推測抽菸這種高劑量暴露形式中所含 HCAs 遠高於來自於食物及油煙中的含量，導致高劑量暴露之抽菸者似乎較偏向經由 CYP1A2 low + NAT2 fast 這種基因型組合代謝異環胺類化合物。因此無論 CYP1A2 代謝活性的高低，皆會產生過量的 N-hydroxy 異環胺化合物，進而經由 NAT2 快速進行乙醯化反應，而造成抽菸組 CYP1A2 low + NAT2 fast 具有較高之罹患肺癌之危險性。另一可能性來自於香菸中除了異環胺類化合物之外，另外含有大量 PAHs 類化合物 (ex:BaP) 及 nitrosamine 類化合物 (ex:NNK)，這些大量的致癌物及其相關代謝基因之多形性亦被廣泛證實與肺癌的發生有關，因此這些物質暴露的干擾及其它代謝基因間的影響很可能亦是造成此結果的重要因素之一。

Seow 等人 (1999,2001) 在新加坡婦女所做的研究指出，具有 NAT2 slow 以及同時具有 CYP1A2 high + NAT2 slow 基因型組合的婦女，罹患肺癌的危險性分別為 2 倍 (95%CI, 1.1-3.7) 以及 6.9 倍 (95% CI, 1.3-37.6)。但本研究發現 NAT2 fast acetylator 當其 CYP1A2 基因型為 “high” 時會增加不抽菸女性罹患肺癌的危險性，這可能



是實驗方法及研究族群不同所致。但是根據先前的研究指出，異環胺類化合物被 NAT1 或 NAT2 直接催化的親和性皆很低，這兩種 NATs 並不會直接對異環胺類化合物進行 N-acetylation (detoxification)，而必須先經由 CYP1A2 進行 N-hydroxylation 活化之後，再經由 NAT2 進行 O-acetylation (toxification)，此步驟主要由 NAT2 進行，NAT1 較少參與，而後產生的酯類化合物，再經由水解產生 aryl nitrenium ions 攻擊 DNA 造成基因突變。而只有 bicyclic aromatic amines 才會直接被 NAT1 及 NAT2 直接進行 N-acetylation (detoxification) (Toxicology, 6th)。本研究所得之結果和異環胺類化合物代謝活化路徑一致，暗示異環胺類化合物可能在台灣肺癌之發生，尤其是不抽菸之女性肺癌上可能扮演重要的角色。

## 二. 大腸癌

### 1. CYP1A2 及 NAT2 基因型分析中，大腸癌個案與對照組之年齡、性別分佈

本研究包含了 167 個非癌症個案 (對照組) 與 102 個大腸癌個案，分別利用平均年齡、性別 (缺乏抽菸資料) 進行單變項邏輯式回歸分析時發現，除年齡之外，性別在統計上與大腸癌發生並無顯著的相關性 (Table 12)。

### 2. 代謝酵素 CYP1A2 及 NAT2 基因型與大腸癌危險性之分層分析

在 Table 13 中將代謝酵素 CYP1A2 及 NAT2 基因型與大腸癌發生之危險性進行分層分析。結果發現，CYP1A2 酵素之 G 野生型對偶基因於病例組中之出現率為 72.1%，對照組出現率為 72.8%，A 非野生型對位基因於病例組中之出現率為 27.9%，對照組出現的率為 27.2%。兩組間並無顯著差異。NAT2 酵素之 M1、M2、M3 及 M4 非野生型對位基因於病例組中之出現率分別為 2.5%、39.2%、6.4% 及 0.98%，對照組的比例為 2.4%、16.5%、9.9% 及 0%，依其基

因型組合可區分為 fast、intermediate、slow 三種表現型，發現帶有 fast 乙醯化表現型者罹患肺癌的危險性分別為 slow 表現型 2.53 倍，達到統計上顯著的差異，而 intermediate 乙醯化表現型則未達統計上顯著的差異(OR=1.63, 95%CI, 0.84-3.18)。

### 3. 大腸癌病患 CYP1A2 之基因多形性分析

由 Table 14 的結果得知，CYP1A2 基因型 G/G vs. G/A+ A/A 在所有大腸癌患者及對照組中或是在女性及男性之基因型間均無顯著差異。

### 4. 大腸癌病患 NAT2 之基因多形性分析

由 Table 15 結果顯示，所有大腸癌患者及對照組之 NAT2 fast acetylator 者，罹患大腸癌的危險性為 slow acetylator 的 1.95 倍 (95%CI, 1.05-3.63)。而在女性族群中，具有 fast acetylator 者，罹患大腸癌的危險性是 slow acetylator 的 7.12 倍 (95%CI, 2.34-21.64)；而在男性族群中，NAT2 基因型與大腸癌的發生並無相關性 (OR = 0.79, 95% CI, 0.35 – 1.77)。

由於本研究之大腸癌病患無抽菸及飲食等相關資料，因此尚無法分析這些影響因子對於大腸癌的影響。在台灣男、女性生活習慣有相當的不同，主要女性花相當時間在廚房煮飯，因此推測暴露油煙的量可能較男性為高，由 Table 15 的結果顯示，只有在女性族群中可觀察到 fast acetylator 者罹患大腸癌的危險性是 slow acetylator 的 7.12 倍，而在男性族群則無此差異 (OR = 0.79, 95%CI 0.35 – 1.77)，因此推測廚房油煙中所含異環胺類化合物可能是造成此差異性的重要因素之一。

### 5. 大腸癌病患 CYP1A2 和 NAT2 基因多形性之交互影響

在 table 16. 中先分別探討年齡、性別、CYP1A2 及 NAT2 基因型這些因子單獨對於大腸癌發生的影響。結果發現，除了單獨考慮 NAT2 genotype 時發現 fast acetylator genotype 罹患大腸癌的危險性是 slow acetylator 的 2.03 倍 (95% CI, 1.08-3.79) 之外，其它因子單獨與大腸癌發生做探討時並未發現達統計上顯著之相關性。

進一步在 Table 17. 同時分析兩種基因的多形性，以了解其間之交互影響，是否會影響罹患大腸癌之危險性。結果發現大腸癌患者及對

照組具有 CYP 1A2 high+NAT2 fast 者，罹患大腸癌的危險性是 CYP 1A2 low +NAT2 slow 基因型者的 1.99 倍 (95%CI, 1.01- 3.94)。在女性族群中具有 CYP1A2 high +NAT2 fast 基因型及 CYP1A2 low +NAT2 fast 基因型者，罹患大腸癌的危險性分別是 CYP1A2 low +NAT2 slow 基因型者的 6.82 倍 (95%CI, 2.03-22.87) 及 7.39 倍 (95%CI, 2.25-24.32)；而在男性族群中 CYP1A2 與 NAT2 基因型組合並不會影響大腸癌發生的危險性。

過去研究顯示經常食用高溫烹調之肉類，CYP1A2 及 NAT2 基因型皆為快速型者，有較高罹患大腸直腸癌的危險 (Le Marchand et al., 2001)。高溫煎熟的肉類含有許多異環胺類化合物，例如：IQ、MeIQx 等，須先經由 CYP1A2 進行 N-hydroxylation 活化後，再經由 NAT2 進行 O-acetylation 活化之後產生 nitrenium ions 造成大腸直腸癌的產生。

本研究結果發現，CYP1A2 基因多形性對於大腸癌發生的危險性似乎無顯著的加成作用，與單獨考慮 NAT2 基因型時的危險性相近，由此推測大腸組織對於所暴露異環胺類化合物的代謝機制主要以 NAT2 基因型的影響較大，這可能和大腸及肺臟這兩個器官異環胺類化合物之暴露來源及暴露量有關。而在 Table 15. 得知在女性族群具有 NAT2 fast acetylator 者，罹患大腸癌的危險性是 slow acetylator 的 7.12 倍，然而在男性族群則觀察不到此現象，由此推測女性對於活化的異環胺類化合物導致大腸癌的敏感性高於男性，此情形和在肺癌患者所觀察到的情形相似。

綜合以上的結果推測，台灣肺癌及大腸癌發生與異環胺類化合物之暴露均有相關性，然而女性似乎對於來自香菸、油煙或食物中異環胺類致癌物的易感性顯著高於男性，然而除了女性較男性有較高暴露廚房油煙的機會外，是否還有其他環境暴露因子造成台灣女性對於異環胺類化合物較敏感仍需進一步的研究。

在本研究族群中觀察到抽菸女性似乎有較高罹患肺癌的趨勢，然而在男性族群中則無法觀察到此情形，推測這可能是由於在收集實驗肺癌個案及對照組時將抽菸這個危險因子進行配對，因而導致此結果，因此未來將藉由增大研究樣本數，並補齊結直腸癌患者的抽菸資料來進行分析，以釐清 CYP1A2 及 NAT2 基因多形性與肺癌及結直腸癌發生間的相關性。

## 陸.參考文獻

- 林明陽。1993。長時間煮沸豬肉汁中主要 IQ 型致突變物的鑑定及可能參與形成的化學成分之研究。私立中山醫學院醫學研究所碩士論文。
- 林淑瑗。2002。煎魚油煙誘發人類肺腺癌 CL-3 細胞產生之 DNA 氧化性傷害及槲皮酮之保護機轉。國立中興大學食品科學系博士論文。
- 雲天福。1998。煎魚油煙以氣管內注入給予大白鼠對其肺臟之生物標記的影響。私立中山醫學院毒理學研究所碩士論文。
- 廖國盟。2002。台灣地區女性肺腺癌分子流行病學研究。國立台灣大學公共衛生研究所博士論文。
- 鄭雅文。2002。環境致癌物暴露和人類乳突瘤病毒感染與台灣女性肺癌形成之研究。私立中山醫大學毒理學研究所博士論文。
- Abernethy, D. R. and E. L. Todd (1985). "Impairment of caffeine clearance by chronic use of low-dose oestrogen-containing oral contraceptives." *Eur J Clin Pharmacol* 28(4): 425-8.
- Adamson, R. H., U. P. Thorgeirsson, et al. (1990). "Carcinogenicity of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline in nonhuman primates: induction of tumors in three macaques." *Jpn J Cancer Res* 81(1): 10-4.
- Adlkofer, F. (2001). "Lung cancer due to passive smoking--a review." *Int Arch Occup Environ Health* 74(4): 231-41.
- Aitchison, K. J., F. J. Gonzalez, et al. (2000). "Identification of novel polymorphisms in the 5' flanking region of CYP1A2, characterization of interethnic variability, and investigation of their functional significance." *Pharmacogenetics* 10(8): 695-704.
- Aoyama, T., H. V. Gelboin, et al. (1990). "Mutagenic activation of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline by complementary DNA-expressed human liver P-450." *Cancer Res* 50(7): 2060-3.
- Augustsson, K., K. Skog, et al. (1999). "Dietary heterocyclic amines and cancer of the colon, rectum, bladder, and kidney: a population-based study." *Lancet* 353(9154): 703-7.
- Aune, T. and K. T. Aune (1986). "Mutagenic activation of IQ and Me-IQ by liver and lung microsomes from rabbit and mouse, and with isolated lung cells from the rabbit." *Carcinogenesis* 7(2): 273-6.
- Bell, D. A., J. A. Taylor, et al. (1993). "Genotype/phenotype discordance for human arylamine N-acetyltransferase (NAT2) reveals a new slow-acetylator allele common in African-Americans." *Carcinogenesis* 14(8): 1689-92.
- Berg, I., E. Overvik, et al. (1988). "Mutagenic activity in smoke formed during broiling of lean pork at 200, 250 and 300 degrees C." *Mutat Res* 207(3-4): 199-204.

- Blum, M., D. M. Grant, et al. (1990). "Human arylamine N-acetyltransferase genes: isolation, chromosomal localization, and functional expression." *DNA Cell Biol* 9(3): 193-203.
- Blum, M., A. Demierre, et al. (1991). "Molecular mechanism of slow acetylation of drugs and carcinogens in humans." *Proc Natl Acad Sci U S A* 88(12): 5237-41.
- Bos, J. L., E. R. Fearon, et al. (1987). "Prevalence of ras gene mutations in human colorectal cancers." *Nature* 327(6120): 293-7.
- Bostick, R. M., L. Fosdick, et al. (1995). "Calcium and colorectal epithelial cell proliferation in sporadic adenoma patients: a randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial." *J Natl Cancer Inst* 87(17): 1307-15.
- Buonarati, M. H. and J. S. Felton (1990). "Activation of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) to mutagenic metabolites." *Carcinogenesis* 11(7): 1133-8.
- Buonarati, M. H., K. W. Turteltaub, et al. (1990). "Role of sulfation and acetylation in the activation of 2-hydroxyamino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine to intermediates which bind DNA." *Mutat Res* 245(3): 185-90.
- Butler, M. A., N. P. Lang, et al. (1992). "Determination of CYP1A2 and NAT2 phenotypes in human populations by analysis of caffeine urinary metabolites." *Pharmacogenetics* 2(3): 116-27.
- Carmichael, P. L., E. M. Stone, et al. (1996). "Metabolic activation and DNA binding of food mutagens and other environmental carcinogens in human mammary epithelial cells." *Carcinogenesis* 17(8): 1769-72.
- Chen, C. C. and H. Lee (1996). "Genotoxicity and DNA adduct formation of incense smoke condensates: comparison with environmental tobacco smoke condensates." *Mutat Res* 367(3): 105-14.
- Chen, L., F. Y. Bondoc, et al. (1996). "Caffeine induces cytochrome P4501A2: induction of CYP1A2 by tea in rats." *Drug Metab Dispos* 24(5): 529-33.
- Cheng, Y. W., H. L. Chiou, et al. (2001). "The association of human papillomavirus 16/18 infection with lung cancer among nonsmoking Taiwanese women." *Cancer Res* 61(7): 2799-803.
- Chiang, T. A., P. F. Wu, et al. (1997). "Mutagenicity and polycyclic aromatic hydrocarbon content of fumes from heated cooking oils produced in Taiwan." *Mutat Res* 381(2): 157-61.
- Chiang, T. A., P. F. Wu, et al. (1999). "Identification of carcinogens in cooking oil fumes." *Environ Res* 81(1): 18-22.
- Chiou, H. L., M. F. Wu, et al. (2003). "The presence of human papillomavirus type 16/18 DNA in blood circulation may act as a risk marker of lung cancer in Taiwan." *Cancer* 97(6): 1558-63.

- Chou, H. C., N. P. Lang, et al. (1995). "Metabolic activation of N-hydroxy arylamines and N-hydroxy heterocyclic amines by human sulfotransferase(s)." *Cancer Res* 55(3): 525-9.
- Commoner, B., A. J. Vithayathil, et al. (1978). "Formation of mutagens in beef and beef extract during cooking." *Science* 201(4359): 913-6.
- Crofts, F. G., P. T. Strickland, et al. (1997). "Metabolism of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) by human cytochrome P4501B1." *Carcinogenesis* 18(9): 1793-8.
- Dashwood, R. H., M. Suzui, et al. (1998). "High frequency of beta-catenin (ctnnb1) mutations in the colon tumors induced by two heterocyclic amines in the F344 rat." *Cancer Res* 58(6): 1127-9.
- Davis, C. D., A. Ghoshal, et al. (1994). "Metabolic activation of heterocyclic amine food mutagens in the mammary gland of lactating Fischer 344 rats." *Cancer Lett* 84(1): 67-73.
- Dupret, J. M. and D. M. Grant (1992). "Site-directed mutagenesis of recombinant human arylamine N-acetyltransferase expressed in *Escherichia coli*. Evidence for direct involvement of Cys68 in the catalytic mechanism of polymorphic human NAT2." *J Biol Chem* 267(11): 7381-5.
- Ebisawa, T. and T. Deguchi (1991). "Structure and restriction fragment length polymorphism of genes for human liver arylamine N-acetyltransferases." *Biochem Biophys Res Commun* 177(3): 1252-7.
- Edwards, R. J., B. P. Murray, et al. (1994). "Contribution of CYP1A1 and CYP1A2 to the activation of heterocyclic amines in monkeys and human." *Carcinogenesis* 15(5): 829-36.
- Felton, J. S., M. G. Knize, et al. (1984). "Isolation and characterization of new mutagens from fried ground beef." *Carcinogenesis* 5(1): 95-102.
- Felton, J. S., M. G. Knize, et al. (1986). "Identification of the mutagens in cooked beef." *Environ Health Perspect* 67: 17-24.
- Felton, J. S., M. G. Knize, et al. (1986). "The isolation and identification of a new mutagen from fried ground beef: 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)." *Carcinogenesis* 7(7): 1081-6.
- Felton, J. S. and M. G. Knize (1990). "New mutagens from cooked food." *Prog Clin Biol Res* 347: 19-38.
- Felton, J. S. and M. G. Knize (1991). "Occurrence, identification, and bacterial mutagenicity of heterocyclic amines in cooked food." *Mutat Res* 259(3-4): 205-17.
- Ferguson, R. J., M. A. Doll, et al. (1994). "Cloning, expression, and functional characterization of two mutant (NAT2(191) and NAT2(341/803)) and wild-type human polymorphic N-acetyltransferase (NAT2) alleles." *Drug*

- Metab Dispos 22(3): 371-6.
- Foley, E. F., A. A. Jazaeri, et al. (2000). "Selective loss of estrogen receptor beta in malignant human colon." *Cancer Res* 60(2): 245-8.
- Frandsen, H., S. Grivas, et al. (1992). "Reaction of the N2-acetoxy derivative of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) with 2'-deoxyguanosine and DNA. Synthesis and identification of N2-(2'-deoxyguanosin-8-yl)-PhIP." *Carcinogenesis* 13(4): 629-35.
- Frandsen, H., P. A. Nielsen, et al. (1994). "Microsomal metabolism of the food mutagen 2-amino-3,4,8-trimethyl-3H-imidazo[4,5-f]quinoxaline to mutagenic metabolites." *Mutagenesis* 9(1): 59-65.
- Frandsen, H., S. Grivas, et al. (1994). "Formation of DNA adducts by the food mutagen 2-amino-3,4,8-trimethyl-3H-imidazo[4,5-f]quinoxaline (4,8-DiMeIQx) in vitro and in vivo. Identification of a N2-(2'-deoxyguanosin-8-yl)-4,8-DiMeIQx adduct." *Carcinogenesis* 15(11): 2553-8.
- Fraumeni, J. F., Jr., J. W. Lloyd, et al. (1969). "Cancer mortality among nuns: role of marital status in etiology of neoplastic disease in women." *J Natl Cancer Inst* 42(3): 455-68.
- Friesen, M. D., K. Kaderlik, et al. (1994). "Analysis of DNA adducts of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine in rat and human tissues by alkaline hydrolysis and gas chromatography/electron capture mass spectrometry: validation by comparison with <sup>32</sup>P-postlabeling." *Chem Res Toxicol* 7(6): 733-9.
- Fuchs, C. S., E. L. Giovannucci, et al. (1999). "Dietary fiber and the risk of colorectal cancer and adenoma in women." *N Engl J Med* 340(3): 169-76.
- Ghoshal, A., C. D. Davis, et al. (1995). "Possible mechanisms for PhIP-DNA adduct formation in the mammary gland of female Sprague-Dawley rats." *Carcinogenesis* 16(11): 2725-31.
- Giovannucci, E., G. A. Colditz, et al. (1994). "A prospective study of cigarette smoking and risk of colorectal adenoma and colorectal cancer in U.S. women." *J Natl Cancer Inst* 86(3): 192-9.
- Giovannucci, E., E. B. Rimm, et al. (1994). "A prospective study of cigarette smoking and risk of colorectal adenoma and colorectal cancer in U.S. men." *J Natl Cancer Inst* 86(3): 183-91.
- Giovannucci, E., K. M. Egan, et al. (1995). "Aspirin and the risk of colorectal cancer in women." *N Engl J Med* 333(10): 609-14.
- Gooderham, N. J., S. Murray, et al. (2001). "Food-derived heterocyclic amine mutagens: variable metabolism and significance to humans." *Drug Metab Dispos* 29(4 Pt 2): 529-34.
- Gross, G. A. and A. Gruter (1992). "Quantitation of mutagenic/carcinogenic

- heterocyclic aromatic amines in food products." *J Chromatogr* 592(1-2): 271-8.
- Guengerich, F. P., T. Shimada, et al. (1994). "Interactions of ingested food, beverage, and tobacco components involving human cytochrome P4501A2, 2A6, 2E1, and 3A4 enzymes." *Environ Health Perspect* 102 Suppl 9: 49-53.
- Guidice, J. M., D. Marez, et al. (1997). "Evidence for CYP2D6 expression in human lung." *Biochem Biophys Res Commun* 241(1): 79-85.
- Han, X. M., D. S. Ou-Yang, et al. (2001). "Plasma caffeine metabolite ratio (17X/137X) in vivo associated with G-2964A and C734A polymorphisms of human CYP1A2." *Pharmacogenetics* 11(5): 429-35.
- Hayashi, S., M. E. Moller, et al. (1985). "Genotoxicity of heterocyclic amines in the Salmonella/hepatocyte system." *Jpn J Cancer Res* 76(9): 835-45.
- Hein, D. W., T. D. Rustan, et al. (1994). "Metabolic activation of aromatic and heterocyclic N-hydroxyarylamines by wild-type and mutant recombinant human NAT1 and NAT2 acetyltransferases." *Arch Toxicol* 68(2): 129-33.
- Hein, D. W., M. A. Doll, et al. (1995). "Metabolic activation of N-hydroxyarylamines and N-hydroxyarylamides by 16 recombinant human NAT2 allozymes: effects of 7 specific NAT2 nucleic acid substitutions." *Cancer Res* 55(16): 3531-6.
- Hein, D. W. (2000). "N-Acetyltransferase genetics and their role in predisposition to aromatic and heterocyclic amine-induced carcinogenesis." *Toxicol Lett* 112-113: 349-56.
- Hein, D. W. (2002). "Molecular genetics and function of NAT1 and NAT2: role in aromatic amine and carcinogenesis." *Mutation Res* 506-507: 65-77
- Hellmold, H., E. Overvik, et al. (1993). "Cytochrome P450 forms in the rodent lung involved in the metabolic activation of food-derived heterocyclic amines." *Carcinogenesis* 14(9): 1751-7.
- Hellmold, H., M. Magnusson, et al. (1998). "Identification of CYP2A3 as a major cytochrome P450 enzyme in the female peripubertal rat breast." *Mol Pharmacol* 53(3): 475-82.
- Hickman, D., A. Risch, et al. (1994). "Chromosomal localization of human genes for arylamine N-acetyltransferase." *Biochem J* 297 ( Pt 3): 441-5.
- Hirvonen, A. (1999). "Polymorphic NATs and cancer predisposition." *IARC Sci Publ*(148): 251-70.
- Huang, C. S., H. D. Chern, et al. (1999). "Association between N-acetyltransferase 2 (NAT2) genetic polymorphism and development of breast cancer in post-menopausal Chinese women in Taiwan, an area of great increase in breast cancer incidence." *Int J Cancer* 82(2): 175-9.
- Ikeya, K., A. K. Jaiswal, et al. (1989). "Human CYP1A2: sequence, gene



- structure, comparison with the mouse and rat orthologous gene, and differences in liver 1A2 mRNA expression." *Mol Endocrinol* 3(9): 1399-408.
- Kaderlik, K. R., R. F. Minchin, et al. (1994). "Metabolic activation pathway for the formation of DNA adducts of the carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in rat extrahepatic tissues." *Carcinogenesis* 15(8): 1703-9.
- Kakiuchi, H., M. Watanabe, et al. (1995). "Specific 5'-GGGA-3'-->5'-GGA-3' mutation of the Apc gene in rat colon tumors induced by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine." *Proc Natl Acad Sci U S A* 92(3): 910-4.
- Kalow, W. and B. K. Tang (1991). "Caffeine as a metabolic probe: exploration of the enzyme-inducing effect of cigarette smoking." *Clin Pharmacol Ther* 49(1): 44-8.
- Kato, R. (1974). "Sex-related differences in drug metabolism." *Drug Metab Rev* 3(1): 1-32.
- Ko, Y. C., C. H. Lee, et al. (1997). "Risk factors for primary lung cancer among non-smoking women in Taiwan." *Int J Epidemiol* 26(1): 24-31.
- Koo, L. C. and J. H. Ho (1990). "Worldwide epidemiological patterns of lung cancer in nonsmokers." *Int J Epidemiol* 19 Suppl 1: S14-23.
- Kyerematen, G. A., G. F. Owens, et al. (1988). "Sexual dimorphism of nicotine metabolism and distribution in the rat. Studies in vivo and in vitro." *Drug Metab Dispos* 16(6): 823-8.
- Lang, N. P., M. A. Butler, et al. (1994). "Rapid metabolic phenotypes for acetyltransferase and cytochrome P4501A2 and putative exposure to food-borne heterocyclic amines increase the risk for colorectal cancer or polyps." *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 3(8): 675-82.
- Lang, N. P., M. A. Butler, et al. (1994). "Rapid metabolic phenotypes for acetyltransferase and cytochrome P4501A2 and putative exposure to food-borne heterocyclic amines increase the risk for colorectal cancer or polyps." *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 3(8): 675-82.
- Le Marchand, L., J. H. Hankin, et al. (2001). "Combined effects of well-done red meat, smoking, and rapid N-acetyltransferase 2 and CYP1A2 phenotypes in increasing colorectal cancer risk." *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 10(12): 1259-66.
- Lee, H., M. Y. Lin, et al. (1994). "Formation and identification of carcinogenic heterocyclic aromatic amines in boiled pork juice." *Mutat Res* 308(1): 77-88.
- Lee, C. H., Y. C. Ko, et al. (2000). "Lifetime environmental exposure to

- tobacco smoke and primary lung cancer of non-smoking Taiwanese women." *Int J Epidemiol* 29(2): 224-31.
- Leff, M. A., A. J. Fretland, et al. (1999). "Novel human N-acetyltransferase 2 alleles that differ in mechanism for slow acetylator phenotype." *J Biol Chem* 274(49): 34519-22.
- Li, R., L. Yang, et al. (1993). "Site-specific DNA-binding proteins important for replication and transcription have multiple activities." *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 58: 403-13.
- Lin, D., K. R. Kaderlik, et al. (1992). "Identification of N-(Deoxyguanosin-8-yl)-2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b]pyridine as the major adduct formed by the food-borne carcinogen, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine, with DNA." *Chem Res Toxicol* 5(5): 691-7.
- Lofroth, G., C. Stensman, et al. (1991). "Indoor sources of mutagenic aerosol particulate matter: smoking, cooking and incense burning." *Mutat Res* 261(1): 21-8.
- Lofroth, G. (1994). "Airborne mutagens and carcinogens from cooking and other food preparation processes." *Toxicol Lett* 72(1-3): 83-6.
- Mace, K., E. D. Bowman, et al. (1998). "Characterisation of xenobiotic-metabolising enzyme expression in human bronchial mucosa and peripheral lung tissues." *Eur J Cancer* 34(6): 914-20.
- Makino, H., Y. Ishizaka, et al. (1992). "Rat p53 gene mutations in primary Zymbal gland tumors induced by 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline, a food mutagen." *Proc Natl Acad Sci U S A* 89(11): 4850-4.
- Manabe, S., K. Tohyama, et al. (1991). "Detection of a carcinogen, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP), in cigarette smoke condensate." *Carcinogenesis* 12(10): 1945-7.
- McManus, M. E., J. S. Felton, et al. (1989). "Activation of the food-derived mutagen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine by rabbit and human liver microsomes and purified forms of cytochrome P-450." *Carcinogenesis* 10(2): 357-63.
- McManus, M. E., W. M. Burgess, et al. (1990). "Metabolism of 2-acetylaminofluorene and benzo(a)pyrene and activation of food-derived heterocyclic amine mutagens by human cytochromes P-450." *Cancer Res* 50(11): 3367-76.
- McMichael, A. J. and J. D. Potter (1980). "Reproduction, endogenous and exogenous sex hormones, and colon cancer: a review and hypothesis." *J Natl Cancer Inst* 65(6): 1201-7.
- Mercurio, M. G., S. J. Shiff, et al. (1995). "Expression of cytochrome P450 mRNAs in the colon and the rectum in normal human subjects." *Biochem*

- Biochem Biophys Res Commun 210(2): 350-5.
- Minchin, R. F., P. T. Reeves, et al. (1992). "N- and O-acetylation of aromatic and heterocyclic amine carcinogens by human monomorphic and polymorphic acetyltransferases expressed in COS-1 cells." *Biochem Biophys Res Commun* 185(3): 839-44.
- Miyaki, M., T. Iijima, et al. (1999). "Frequent mutation of beta-catenin and APC genes in primary colorectal tumors from patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer." *Cancer Res* 59(18): 4506-9.
- Mumford, J. L., X. Z. He, et al. (1987). "Lung cancer and indoor air pollution in Xuan Wei, China." *Science* 235(4785): 217-20.
- Muscat, J. E. and E. L. Wynder (1994). "The consumption of well-done red meat and the risk of colorectal cancer." *Am J Public Health* 84(5): 856-8.
- Nakajima, M., T. Yokoi, et al. (1999). "Genetic polymorphism in the 5'-flanking region of human CYP1A2 gene: effect on the CYP1A2 inducibility in humans." *J Biochem (Tokyo)* 125(4): 803-8.
- Newcomb, P. A. and B. E. Storer (1995). "Postmenopausal hormone use and risk of large-bowel cancer." *J Natl Cancer Inst* 87(14): 1067-71.
- Ohgaki, H., S. Takayama, et al. (1991). "Carcinogenicities of heterocyclic amines in cooked food." *Mutat Res* 259(3-4): 399-410.
- Osann, K. E., H. Anton-Culver, et al. (1993). "Sex differences in lung-cancer risk associated with cigarette smoking." *Int J Cancer* 54(1): 44-8.
- Postlind, H., T. P. Vu, et al. (1993). "Response of human CYP1-luciferase plasmids to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and polycyclic aromatic hydrocarbons." *Toxicol Appl Pharmacol* 118(2): 255-62.
- Potter, J. D., M. L. Slattery, et al. (1993). "Colon cancer: a review of the epidemiology." *Epidemiol Rev* 15(2): 499-545.
- Potter, J. D. (1995). "Hormones and colon cancer." *J Natl Cancer Inst* 87(14): 1039-40.
- Potter, J. D., R. M. Bostick, et al. (1996). "Hormone replacement therapy is associated with lower risk of adenomatous polyps of the large bowel: the Minnesota Cancer Prevention Research Unit Case-Control Study." *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 5(10): 779-84.
- Qu, Y. H., G. X. Xu, et al. (1992). "Genotoxicity of heated cooking oil vapors." *Mutat Res* 298(2): 105-11.
- Rappaport, S. M., M. C. McCartney, et al. (1979). "Volatilization of mutagens from beef during cooking." *Cancer Lett* 8(2): 139-45.
- Raunio, H., J. Hakkola, et al. (1999). "Expression of xenobiotic-metabolizing CYPs in human pulmonary tissue." *Exp Toxicol Pathol* 51(4-5): 412-7.
- Redmond, D. E., Jr. (1970). "Tobacco and cancer: the first clinical report,

- 1761." N Engl J Med 282(1): 18-23.
- Rich, K. J., B. P. Murray, et al. (1992). "N-hydroxy-MeIQx is the major microsomal oxidation product of the dietary carcinogen MeIQx with human liver." *Carcinogenesis* 13(12): 2221-6.
- Risch, H. A., G. R. Howe, et al. (1993). "Are female smokers at higher risk for lung cancer than male smokers? A case-control analysis by histologic type." *Am J Epidemiol* 138(5): 281-93..
- Robbana-Barnat, S., M. Rabache, et al. (1996). "Heterocyclic amines: occurrence and prevention in cooked food." *Environ Health Perspect* 104(3): 280-8.
- Rost, K. L. and I. Roots (1994). "Accelerated caffeine metabolism after omeprazole treatment is indicated by urinary metabolite ratios: coincidence with plasma clearance and breath test." *Clin Pharmacol Ther* 55(4): 402-11.
- Rylander, T., E. P. Neve, et al. (2001). "Identification and tissue distribution of the novel human cytochrome P450 2S1 (CYP2S1)." *Biochem Biophys Res Commun* 281(2): 529-35.
- Sachse, C., J. Brockmoller, et al. (1999). "Functional significance of a C-->A polymorphism in intron 1 of the cytochrome P450 CYP1A2 gene tested with caffeine." *Br J Clin Pharmacol* 47(4): 445-9.
- Sadrieh, N. and E. G. Snyderwine (1995). "Cytochromes P450 in cynomolgus monkeys mutagenically activate 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ) but not 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx)." *Carcinogenesis* 16(7): 1549-55.
- Schneiderman, M. A., D. L. Davis, et al. (1989). "Lung cancer that is not attributable to smoking." *Jama* 261(18): 2635-6.
- Schut, H. A., C. R. Herzog, et al. (1994). "Accumulation of DNA adducts of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f] quinoline (IQ) in tissues and white blood cells of the Fischer-344 rat after multiple oral dosing." *Carcinogenesis* 15(7): 1467-70.
- Seow, A., B. Zhao, et al. (2001). "Cytochrome P4501A2 (CYP1A2) activity and lung cancer risk: a preliminary study among Chinese women in Singapore." *Carcinogenesis* 22(4): 673-7.
- Shimada, T., M. Iwasaki, et al. (1989). "Human liver microsomal cytochrome P-450 enzymes involved in the bioactivation of procarcinogens detected by umu gene response in *Salmonella typhimurium* TA 1535/pSK1002." *Cancer Res* 49(12): 3218-28.
- Shimada, T., H. Yamazaki, et al. (1996). "Characterization of microsomal cytochrome P450 enzymes involved in the oxidation of xenobiotic chemicals in human fetal liver and adult lungs." *Drug Metab Dispos* 24(5): 515-22.

- Sinha, R., N. Rothman, et al. (1995). "High concentrations of the carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo- [4,5-b]pyridine (PhIP) occur in chicken but are dependent on the cooking method." *Cancer Res* 55(20): 4516-9.
- Snyderwine, E. G., P. P. Roller, et al. (1988). "Reaction of N-hydroxylamine and N-acetoxy derivatives of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline with DNA. Synthesis and identification of N-(deoxyguanosin-8-yl)-IQ." *Carcinogenesis* 9(6): 1061-5.
- Srivastava, S., M. Verma, et al. (2001). "Biomarkers for early detection of colon cancer." *Clin Cancer Res* 7(5): 1118-26.
- Su, T., Z. Bao, et al. (2000). "Human cytochrome P450 CYP2A13: predominant expression in the respiratory tract and its high efficiency metabolic activation of a tobacco-specific carcinogen, 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone." *Cancer Res* 60(18): 5074-9.
- Sugimura, T. and S. Sato (1983). "Bacterial mutagenicity of natural materials, pyrolysis products and additives in foodstuffs and their association with genotoxic effects in mammals." *Dev Toxicol Environ Sci* 11: 115-33.
- Sugimura, T. and S. Takayama (1983). "Biological actions of nitroarenes in short-term tests on Salmonella, cultured mammalian cells and cultured human tracheal tissues: possible basis for regulatory control." *Environ Health Perspect* 47: 171-6.
- Sugimura, T. and S. Sato (1983). "Mutagens-carcinogens in foods." *Cancer Res* 43(5 Suppl): 2415s-2421s.
- Sugimura, T., M. Nagao, et al. (1996). "Carcinogenicity of food mutagens." *Environ Health Perspect* 104 Suppl 3: 429-33.
- Syngal, S., D. Schrag, et al. (2000). "Phenotypic characteristics associated with the APC gene I1307K mutation in Ashkenazi Jewish patients with colorectal polyps." *Jama* 284(7): 857-60.
- Tachino, N., R. Hayashi, et al. (1995). "Evidence for ras gene mutation in 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline-induced colonic aberrant crypts in the rat." *Mol Carcinog* 12(4): 187-92.
- Tada, A., M. Ochiai, et al. (1994). "Identification of N-(deoxyguanosin-8-yl)-2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline (dG-C8-MeIQ) as a major adduct formed by MeIQ with nucleotides in vitro with DNA in vivo." *Carcinogenesis* 15(6): 1275-8.
- Thiebaut, H. P., M. G. Knize, et al. (1995). "Airborne mutagens produced by frying beef, pork and a soy-based food." *Food Chem Toxicol* 33(10): 821-8.
- Thompson, L. H., R. W. Wu, et al. (1991). "Introduction of cytochrome P450IA2 metabolic capability into cell lines genetically matched for DNA

- repair proficiency/deficiency." *Proc Natl Acad Sci U S A* 88(9): 3827-31.
- Totsuka, Y., Fukutome, K., et al., (1996). "Presence of  $N^2$ -(deoxyguanosin-8-yl)-2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (Dg-C8-MeIQx) in human tissue." *Carcinogenesis*, 17, 1029-1934.
- Travis, W. D., J. Lubin, et al. (1996). "United States lung carcinoma incidence trends: declining for most histologic types among males, increasing among females." *Cancer* 77(12): 2464-70.
- Trock, B., E. Lanza, et al. (1990). "Dietary fiber, vegetables, and colon cancer: critical review and meta-analyses of the epidemiologic evidence." *J Natl Cancer Inst* 82(8): 650-61.
- Turesky, R. J., J. S. Wishnok, et al. (1983). "Qualitative and quantitative characterization of mutagens in commercial beef extract." *Carcinogenesis* 4(7): 863-6.
- Turesky, R. J., J. Markovic, et al. (1991). "The effect of dose and cytochrome P450 induction on the metabolism and disposition of the food-borne carcinogen 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f] quinoxaline (MeIQx) in the rat." *Carcinogenesis* 12(10): 1847-55.
- Turesky, R. J., S. C. Rossi, et al. (1992). "Characterization of DNA adducts formed in vitro by reaction of N-hydroxy-2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline and N-hydroxy-2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline at the C-8 and N2 atoms of guanine." *Chem Res Toxicol* 5(4): 479-90.
- Turesky, R. J. and J. Markovic (1994). "DNA adduct formation of the food carcinogen 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline at the C-8 and N2 atoms of guanine." *Chem Res Toxicol* 7(6): 752-61.
- Turesky, R. J., E. Gremaud, et al. (1996). "DNA adduct formation of the food-derived mutagen 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline in nonhuman primates undergoing carcinogen bioassay." *Chem Res Toxicol* 9(2): 403-8.
- Turteltaub, K. W., M. G. Knize, et al. (1989). "The metabolic disposition of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine in the induced mouse." *Food Chem Toxicol* 27(10): 667-73.
- Ushijima, T., H. Makino, et al. (1995). "Mutation, loss of heterozygosity, and recombination of the p53 gene in mouse forestomach tumors induced by 2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline." *Mol Carcinog* 12(1): 23-30.
- Vatsis, K. P., K. J. Martell, et al. (1991). "Diverse point mutations in the human gene for polymorphic N-acetyltransferase." *Proc Natl Acad Sci U S A* 88(14): 6333-7.
- Vatsis, K. P., W. W. Weber, et al. (1995). "Nomenclature for N-acetyltransferases." *Pharmacogenetics* 5(1): 1-17.

- Vistisen, K., H. E. Poulsen, et al. (1992). "Foreign compound metabolism capacity in man measured from metabolites of dietary caffeine." *Carcinogenesis* 13(9): 1561-8.
- Watanabe, J., K. Kawajiri, et al. (1982). "Immunological analysis of the roles of two major types of cytochrome P-450 in mutagenesis of compounds isolated from pyrolysates." *Biochem Biophys Res Commun* 104(1): 193-9.
- Watkins, B. E., M. Suzuki, et al. (1991). "The effect of dose and enzyme inducers on the metabolism of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in rats." *Carcinogenesis* 12(12): 2291-5.
- Watkins, B. E., H. Esumi, et al. (1991). "Fate and distribution of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in rats." *Carcinogenesis* 12(6): 1073-8.
- Wei, C., R. J. Caccavale, et al. (2001). "CYP1A2 is expressed along with CYP1A1 in the human lung." *Cancer Lett* 171(1): 113-20.
- Wei, C., R. J. Caccavale, et al. (2002). "Induction of CYP1A1 and CYP1A2 expressions by prototypic and atypical inducers in the human lung." *Cancer Lett* 178(1): 25-36.
- Weiss, N. S., J. R. Daling, et al. (1981). "Incidence of cancer of the large bowel in women in relation to reproductive and hormonal factors." *J Natl Cancer Inst* 67(1): 57-60.
- Westra, W. H., R. J. Slebos, et al. (1993). "K-ras oncogene activation in lung adenocarcinomas from former smokers. Evidence that K-ras mutations are an early and irreversible event in the development of adenocarcinoma of the lung." *Cancer* 72(2): 432-8.
- Willett, W. C., M. J. Stampfer, et al. (1990). "Relation of meat, fat, and fiber intake to the risk of colon cancer in a prospective study among women." *N Engl J Med* 323(24): 1664-72.
- Woodson, K., E. Lanza, et al. (2001). "Hormone replacement therapy and colorectal adenoma recurrence among women in the Polyp Prevention Trial." *J Natl Cancer Inst* 93(23): 1799-805.
- Wrighton, S. A. and J. C. Stevens (1992). "The human hepatic cytochromes P450 involved in drug metabolism." *Crit Rev Toxicol* 22(1): 1-21.
- Yamazaki, H., Y. Inui, et al. (1995). "Procarcinogen activation by cytochrome P450 3A4 and 3A5 expressed in *Escherichia coli* and by human liver microsomes." *Carcinogenesis* 16(9): 2167-70.
- Yamazoe, Y., M. Shimada, et al. (1983). "Microsomal activation of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline, a pyrolysate of sardine and beef extracts, to a mutagenic intermediate." *Cancer Res* 43(12 Pt 1): 5768-74.

- Yanagawa, Y., M. Sawada, et al. (1994). "Stable expression of human CYP1A2 and N-acetyltransferases in Chinese hamster CHL cells: mutagenic activation of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline and 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline." *Cancer Res* 54(13): 3422-7.
- Yang, C. C., S. N. Jenq, et al. (1998). "Characterization of the carcinogen 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline in cooking aerosols under domestic conditions." *Carcinogenesis* 19(2): 359-63.
- Zaridze, D. G., V. V. Dvoirin, et al. (1986). "Smoking patterns in the USSR." *IARC Sci Publ*(74): 75-86.
- Zeldin, D. C., J. Foley, et al. (1996). "CYP2J subfamily P450s in the lung: expression, localization, and potential functional significance." *Mol Pharmacol* 50(5): 1111-7.
- Zeldin, D. C., J. Foley, et al. (1997). "CYP2J subfamily cytochrome P450s in the gastrointestinal tract: expression, localization, and potential functional significance." *Mol Pharmacol* 51(6): 931-43.
- Zhao, K., S. Murray, et al. (1994). "Metabolism of the food derived mutagen and carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo(4,5-b)pyridine (PhIP) by human liver microsomes." *Carcinogenesis* 15(6): 1285-8.



柒:表與圖

Table 1. Genetic polymorphism studies of CYP1A2 and NAT2 relevant to lung cancer

Ethnic Group	Case		Control		Result	Reference
	Fast n(%)	Slow n(%)	Fast n(%)	Slow n(%)		
NAT2:						
Caucasian Sample size: (USA)	39.8%	60.2%	40%	60%	NAT2, fast genotype/slow genotype (OR=0.96, 95% CI, 0.79-1.16)	Zhou et al., Cancer Epidemiology, Biomarker & Prevention 2002
Caucasian (Germany)	151(38.9)	237(61.1)	149(43.1)	196(56.9)	NAT2 alone, slow/fast ( OR=1.15,95% CI 0.75-1.77) NAT1 fast/NAT2 slow ( OR=2.22, 95% CI 1.03-4.81 ) elevated adenocarcinoma risk	Wikman et al., Pharmacogenetic,2001
Caucasian (Germany)	151(38.9)	237(61.1)	149(43.1)	196(56.8)	NAT2, fast genotype/slow genotype (OR=1.15, 95% CI, 0.75-1.77)	Wikman et al., Pharmacogenetics 2000
Caucasian (Norwegian man)	112(39.9)	169(60.1)	138(36.8)	237(63.2)	NAT2, slow/fast ( ≤63 years, smoker- PY ≤30) (OR=2.8, 95%CI , 1.3-5.7)	Hou et al., Carcinogenesis , 2000

Table 1.Continued.

Ethnic Group	Case		Control		Result	Reference
	Fast n(%)	Slow n(%)	Fast n(%)	Slow n(%)		
Chinese women (Singapore)	93(60.8)	60(39.2)	105(74.5)	36(25.5)	NAT2, slow genotype/fast genotype (OR=2.0, 95% CI, 1.1-3.7)	Seow et al., Carcinogenesis,1999
Caucasian (Sweden)	70(37.8)	113(62.2)	62(37.8)	96(62.2)	NAT2, slow genotype/fast genotype (OR=1.0 , 95% CI, 0.6-1.5 )	Nyberg et al., Cancer Epidemiology, Biomarker & Prevention 1998
Caucasian (France)	64(42.7)	86(57.3)	81(47.1)	91(53)	NAT2, FF genotype/SS genotype (OR=1.5, 95% CI, 0.6-4.2) FS genotype/SS genotype (OR=0.8, 95% CI, 0.5-1.4)	Bouchardy et al., Pharmacogenetics,1998
Caucasian (Germany)	68(43.9)	87(56.1)	116(41.7)	162(58.3)	Phenotyping study: (caffeine test) NAT2, fast/slow (OR=1.05, 95% CI , 0.81-1.36) Genotyping study: NAT2*4/*4 (OR=3.04, 95% CI, 1.37-6.75)	Cascorbi et al., Cancer research, 1996

Table 1.Continued.

Ethnic group	Case		Control		Result	Reference
	Fast n (%)	Slow n (%)	Fast n(%)	Slow n(%)		
<b>CYP1A2:</b>						
Chinese women (Singapore)	26(48)	28(52)	6(49)	88(51)	1. CYP1A2,high/low ( OR=0.8, 95% CI , 0.4-1.5) 2. CYP1A2 high/NAT2 slow Vs CYP1A2 low/NAT2 fast ( OR=6.9, 95% CI 1.3-37.6 )	Seow et al., Carcinogenesis,2001

Table 2. Genetic polymorphism studies of CYP1A2 and NAT2 relevant to colorectal cancer

Ethnic group	Case		Control		Result	Reference
	Fast n(%)	Slow n(%)	Fast n(%)	Slow n(%)		
Caucasian (Sweden)	NAT2: 186(38)    304(62)		243(41)    349(59)		1. No association between NAT2 genotype and red meat consumption . 2. NAT2 fast/slow acetylator (OR 0.89, 95% CI 0.67-1.17)	Barrett et al., Carcinogenesis, 2003
Caucasian (USA)	NAT2 64(44.8)    79(55.2)		98(47.1)    110(52.9)		NAT2 fast/slow (OR=0.91,95% CI 0.57-1.45)	Ishibe et al., Pharmacogenetics,2002
	CYP1A2 (phenotyping) 26(18.6)    114(81.4)		27(12.9)    183(87.1)		CYP1A2 fast/slow (OR=1.46, 95% CI 0.75-1.23)	
Asian (Japan)	NAT2: 98(95.2)    5(4.8)		115(94.3)    7(5.7)		1. NAT2 slow/fast genotype (OR=0.8, 95% CI 0.23-2.65) 2. Heavy smoker: NAT1*10 (OR=4.24, 95% CI 0.87-20.6)	Katoh et al., Int. J. Cancer, 2000

Table 2.Continued.

Ethnic group	Case		Control		Result	Reference
	Fast n(%)	Slow n(%)	Fast n(%)	Slow n(%)		
Japanese (60%)	NAT2 419(77.2)	124(22.8)	497(76)	157(24)	1.All study population: CYP1A2 fast/NAT2 fast/well-done meats (OR=3.3, 95% CI 1.3-8.1 ) 2. Ever smoker: CYP1A2 fast/NAT2 fast/well-done meats (OR=8.8, 95% CI 1.7-44.9)	Marchand et al., Cancer Epidemiology,Biomarker & Prevention 2001
Caucasian (26%)	CYP1A2(Phenotyping) 245(70.2)	104(29.8)	311(66.6)	156(33.4)		
Hawaiian (14%) (Hawaii)						
Caucasian (USA)	NAT2: 694(42.7)	930(57.3)	807(41)	1156(59)	High meat mutagen intake/ fast vs Low meat mutagen intake/ fast (OR=1.3, 95% CI 1.0-1.7)	Kampman et al., Cancer Epidemiology,Biomarker & Prevention 1999
Caucasian (Portugal)	NAT2: 66(57.9)	48(42.1)	81(40.3)	120(59.7)	In male: NAT2*4/4 (OR=7.48, P<0.001) In female: NAT2*4/4	Gil et al., Carcinogenesis, 1998 (OR=1.51, P=0.521)

Table 2.Continued.

Ethnic group	Case		Control		Result	Reference
	Fast n(%)	Slow n(%)	Fast n(%)	Slow n(%)		
Caucasian (England)	NAT2:				Over all, fast acetylator: case/ control ( OR=0.95, 95% CI 0.61-1.49 ) Fried meat > twice a week, fast acetylator: Case/control ( OR=6.0, 95% CI 1.34-55 )	Welfare et al., Carcinogenesis, 1997
	73(42)	101(58)	75(42.5)	99(57.5)		
Caucasian (England)	NAT2:				No association between NAT2 genotype and the presence of colorectal cancer. (p>0.05) * NAT2 locus is not commonly deleted in colorectal cancer (6%).	Hubbard et al., Gut, 1997
	100(36)	175(64)	140(61)	203(59)		

Table 3. Expressions of different human cytochrome P450 genes in various parts of the respiratory and gastrointestinal tracts.

Organ	CYPs detected <sup>a</sup>
Nasal mucosa	2A6,2A13,2B6,2C,2J2,3A
Trachea	2A6,2A13,2B6,2S1
Lung	1A1,1A2,1B1,2A6,2A13,2B6, 2C8,2C18,2D6,2E1,2F1
Esophagus	1A1,1A2,2A,2E1,2J2,3A5
Stomach	1A1,1A2,2C,2J2,2S1,3A4
Small intestine	1A1,1B1,2C9,2C19,2D6,2E1, 2J2,2S1, 3A4,3A5
Colon	1A1,1A2,1B1,2J2,3A4,3A5

<sup>a</sup> Either mRNA or protein

(Xinxin et al., 2002)

Table 4. Human NAT2 alleles

Human *NAT2* alleles<sup>a</sup>

<i>NAT2</i> allele	Nucleotide change(s)	Amino acid change(s)
<i>NAT2*4</i>	None	None
<i>NAT2*5A</i>	T <sup>341</sup> C, C <sup>481</sup> T	Ile <sup>114</sup> → Thr
<i>NAT2*5B</i>	T <sup>341</sup> C, C <sup>481</sup> T, A <sup>803</sup> G	Ile <sup>114</sup> → Thr, Lys <sup>268</sup> → Arg
<i>NAT2*5C</i>	T <sup>341</sup> C, A <sup>803</sup> G	Ile <sup>114</sup> → Thr, Lys <sup>268</sup> → Arg
<i>NAT2*5D</i>	T <sup>341</sup> C	Ile <sup>114</sup> → Thr
<i>NAT2*5E</i>	T <sup>341</sup> C, G <sup>590</sup> A	Ile <sup>114</sup> → Thr, Arg <sup>197</sup> → Gln
<i>NAT2*5F</i>	T <sup>341</sup> C, C <sup>481</sup> T, C <sup>759</sup> T, A <sup>803</sup> G	Ile <sup>114</sup> → Thr, Lys <sup>268</sup> → Arg
<i>NAT2*6A</i>	C <sup>282</sup> T, G <sup>590</sup> A	Arg <sup>197</sup> → Gln
<i>NAT2*6B</i>	G <sup>590</sup> A	Arg <sup>197</sup> → Gln
<i>NAT2*6C</i>	C <sup>282</sup> T, G <sup>590</sup> A, A <sup>803</sup> G	Arg <sup>197</sup> → Gln, Lys <sup>268</sup> → Arg
<i>NAT2*6D</i>	T <sup>111</sup> C, C <sup>282</sup> T, G <sup>590</sup> A	Arg <sup>197</sup> → Gln
<i>NAT2*7A</i>	G <sup>857</sup> A	Gly <sup>286</sup> → Glu
<i>NAT2*7B</i>	C <sup>282</sup> T, G <sup>857</sup> A	Gly <sup>286</sup> → Glu
<i>NAT2*10</i>	G <sup>499</sup> A	Glu <sup>167</sup> → Lys
<i>NAT2*11</i>	C <sup>481</sup> T	None
<i>NAT2*12A</i>	A <sup>803</sup> G	Lys <sup>268</sup> → Arg
<i>NAT2*12B</i>	C <sup>282</sup> T, A <sup>803</sup> G	Lys <sup>268</sup> → Arg
<i>NAT2*12C</i>	C <sup>481</sup> T, A <sup>803</sup> G	Lys <sup>268</sup> → Arg
<i>NAT2*13</i>	C <sup>282</sup> T	None
<i>NAT2*14A</i>	G <sup>191</sup> A	Arg <sup>64</sup> → Gln
<i>NAT2*14B</i>	G <sup>191</sup> A, C <sup>282</sup> T	Arg <sup>64</sup> → Gln
<i>NAT2*14C</i>	G <sup>191</sup> A, T <sup>341</sup> C, C <sup>481</sup> T, A <sup>803</sup> G	Arg <sup>64</sup> → Gln, Ile <sup>114</sup> → Thr, Lys <sup>268</sup> → Arg
<i>NAT2*14D</i>	G <sup>191</sup> A, C <sup>282</sup> T, G <sup>590</sup> A	Arg <sup>64</sup> → Gln, Arg <sup>197</sup> → Gln
<i>NAT2*14E</i>	G <sup>191</sup> A, A <sup>803</sup> G	Arg <sup>64</sup> → Gln, Lys <sup>268</sup> → Arg
<i>NAT2*14F</i>	G <sup>191</sup> A, T <sup>341</sup> C, A <sup>803</sup> G	Arg <sup>64</sup> → Gln, Ile <sup>114</sup> → Thr, Lys <sup>268</sup> → Arg
<i>NAT2*14G</i>	G <sup>191</sup> A, C <sup>282</sup> T, A <sup>803</sup> G	Arg <sup>64</sup> → Gln, Lys <sup>268</sup> → Arg
<i>NAT2*17</i>	A <sup>434</sup> C	Gln <sup>145</sup> → Pro
<i>NAT2*18</i>	A <sup>845</sup> C	Lys <sup>282</sup> → Thr
<i>NAT2*19</i>	C <sup>190</sup> T	Arg <sup>64</sup> → Trp

<sup>a</sup> From <http://www.louisville.edu/medschool/pharmacology/NAT.html>.



Table 5. Carcinogenicities of HCAs in rats and mice

Chemical	Species	Dose (%) in diet	Target organs
Trp-P-1	Rats	0.015	Liver
	Mice	0.02	Liver
Trp-P-2	Rats	0.01	Liver, urinary bladder
	Mice	0.02	Liver
Glu-P-1	Rats	0.05	Liver, small and large intestines, Zymbal gland, clitoral gland
	Mice	0.05	Liver, blood vessels
Glu-P-2	Rats	0.05	Liver, small and large intestines, Zymbal gland, clitoral gland
	Mice	0.05	Liver, blood vessels
A $\alpha$ C	Mice	0.08	Liver, blood vessels
MeA $\alpha$ C	Rats	0.02, 0.01	Liver
	Mice	0.08	Liver, blood vessels
IQ	Rats	0.03	Liver, small and large intestines, Zymbal gland, clitoral gland skin
	Mice	0.03	Liver, forestomach, lung
MeIQ	Rats	0.03	Large intestine, Zymbal gland, skin, oral cavity, mammary gland
	Mice	0.04, 0.01	Liver, forestomach
MeIQx	Rats	0.04	Liver, Zymbal gland, clitoral gland, skin
	Mice	0.06	Liver, lung, hematopoietic system
PhIP	Rats	0.04	Large intestine, mammary gland, prostate
	Mice	0.04	Lymphoid tissue

(Sugimura et al., 2002)

Table 6. Characteristics of subjects in the case-control study of lung cancer

Parameter	Cases (n=178)	Controls (n=167)	OR value (95% CI)
Age (yr ±SD)	63.4±11.2	59.2±11.8	1.03(1.01-1.05)
Gender			
Female	84	79	1.00(0.65-1.52)
Male	94	88	1.00
Smoking			
Yes	63	56	1.09(0.70-1.69)
No	115	111	1.00
Smoking habit in female			
Yes	6	2	2.96(0.58-15.08)
No	78	77	1.00
Smoking habit in male			
Yes	57	54	0.97(0.53-1.76)
No	37	34	1.00
Tumor type			
AD	119		
SQ	59		

Table 7. Differences in *CYP1A2* and *NAT2* genotype distribution between lung cancer patients and controls.

	Cases (n=178)	Controls (n=167)	Non-adjusted		Adjusted	
			OR	95%CI	OR <sup>a</sup>	95%CI
<i>CYP1A2</i> RFLP						
DdeI						
G/G	86(48.3)	85(50.9)	0.76	0.30-1.89	0.81	0.32-2.03
G/A	80(44.9)	73(43.7)	0.82	0.33-2.06	0.89	0.35-2.25
A/A	12(6.8)	9(5.4)	1.00		1.00	
<i>NAT2</i> RFLP						
KpnI						
W/W	174(97.8)	159(95.2)	2.19	0.65-7.41	2.19	0.64-7.46
W/M1	4(2.2)	8(4.8)	1.00		1.00	
TaqI						
W/W	132(74.2)	119(71.3)	2.59	0.65-10.23	2.25	0.56-9.11
W/M2	43(24.2)	41(24.6)	2.45	0.59-10.1	1.94	0.46-8.23
M2/M2	3(1.6)	7(4.1)	1.00		1.00	
BamHI						
W/W	133(74.8)	139(83.2)	1.60	0.37-6.80	1.91	0.43-8.43
W/M3	42(23.6)	23(13.8)	3.04	0.67-13.9	3.51	0.74-16.60
M3/M3	3(1.6)	5(3)	1.00		1.00	
AluI/MspI						
W/W	178(100)	167(0)	-	-	-	-
W/M4	0(0)	0(0)	-	-	-	-

Multiple logistic regression analysis was used for statistical analysis.

<sup>a</sup> Adjustment for age.

Table 8. OR for different gender, smoking status and *CYP1A2* polymorphism. in lung cancer subjects.

<i>CYP1A2</i> polymorphism	Cases n(%)	Controls n(%)	OR <sup>a</sup> (95% CI)
<b>All subjects</b>	<b>178</b>	<b>167</b>	
G/G	86(48.3)	85(50.9)	0.90(0.58-1.38)
G/A+A/A	92(51.7)	82(49.1)	1.00
<b>Female</b>	<b>84</b>	<b>79</b>	
G/G	43(51.2)	39(49.4)	1.06(0.56-2.00)
G/A+A/A	41(48.8)	40(50.6)	1.00
<b>Male</b>	<b>94</b>	<b>88</b>	
G/G	43(45.7)	46(52.3)	0.77(0.43-1.38)
G/A +A/A	51(54.3)	42(47.7)	1.00
<b>Nonsmoker</b>	<b>115</b>	<b>111</b>	
G/G	63(54.8)	61(55)	0.94(0.54-1.64)
G/A +A/A	52(45.2)	50(45)	1.00
<b>Smoker</b>	<b>63</b>	<b>56</b>	
G/G	23(36.5)	24(42.9)	0.81(0.38-1.7)
G/A+A/A	40(63.5)	32(57.1)	1.00
<b>Nonsmoking male</b>	<b>37</b>	<b>34</b>	
G/G	21(56.8)	22(64.7)	0.65(0.22-1.94)
G/A+A/A	16(43.2)	12(35.3)	1.00
<b>Smoking male</b>	<b>57</b>	<b>54</b>	
G/G	22(38.6)	24(44.4)	0.82(0.38-1.79)
G/A+A/A	35(61.4)	30(55.6)	1.00
<b>Nonsmoking</b>			
<b>Female</b>	<b>78</b>	<b>77</b>	
G/G	42(53.8)	39(50.6)	1.12(0.58-2.13)
G/A +A/A	36(46.2)	38(49.4)	1.00
<b>Smoking female</b>	<b>6</b>	<b>2</b>	
G/G	1(16.7)	0(0)	201.38(0-1.4E+87)
G/A +A/A	5(83.3)	2(100)	1.00

Multiple regression analysis was used for statistical analysis.

<sup>a</sup>OR has been adjusted for age.

Table 9. OR for different gender, smoking status and *NAT2* polymorphism. in lung cancer subjects..

<i>NAT2</i> polymorphism	Cases n(%)	Controls n(%)	OR <sup>a</sup> (95% CI)
<b>All subjects</b>	<b>178</b>	<b>167</b>	
Fast	157(88.2)	116(69.5)	3.10(1.75-5.47)
Slow	21(11.8)	51(30.5)	1.00
<b>Female</b>	<b>84</b>	<b>79</b>	
Fast	71(84.5)	46(58.2)	4.05(1.87-8.78)
Slow	13(15.5)	33(41.8)	1.00
<b>Male</b>	<b>94</b>	<b>88</b>	
Fast	86(91.5)	70(79.5)	2.70(1.10-6.61)
Slow	8( 8.5)	18(20.5)	1.00
<b>Nonsmoker</b>	<b>115</b>	<b>111</b>	
Fast	98(85.2)	71(64)	3.29(1.67-6.48)
Slow	17(14.8)	40(36)	1.00
<b>Smoker</b>	<b>63</b>	<b>56</b>	
Fast	59(93.7)	45(80.3)	4.51(1.25-16.22)
Slow	4(6.3)	11(19.7)	1.00
<b>Nonsmoking male</b>	<b>37</b>	<b>34</b>	
Fast	33(89.2)	25(73.5)	2.93(0.68-12.57)
Slow	4(10.8)	9(26.5)	1.00
<b>Smoking male</b>	<b>57</b>	<b>54</b>	
Fast	53(93)	45(83.3)	3.16(0.85-11.79)
Slow	4(7)	9(16.7)	1.00
<b>Nonsmoking</b>			
<b>Female</b>	<b>78</b>	<b>77</b>	
Fast	65(83.3)	46(59.7)	3.48(1.60-7.58)
Slow	13(16.7)	31(40.3)	1.00
<b>Smoking female</b>	<b>6</b>	<b>2</b>	
Fast	6(100)	0(0)	-
Slow	0(0)	2(100)	-

Multiple logistic regression analysis was used for statistical analysis.

<sup>a</sup>OR has been adjusted for age.

Table 10. Adjusted OR and 95% CI for various risk factors for lung cancer.

	Cases (n=178)	Controls (n=167)	Adjusted OR	95% CI
Age (yr ±SD)	63.4±11.2	59.2±11.8	1.03	1.01-1.06
Gender				
Female	84	79	1.35	0.77-2.37
Male	94	88	1.00	
Smoking				
Yes	63	56	0.88	0.49-1.59
No	115	111	1.00	
<i>CYP1A2</i>				
G/G	86	85	0.89	0.57-1.39
G/A+A/A	92	82	1.00	
<i>NAT2</i>				
Fast	157	116	3.35	1.87-6.00
Slow	21	51	1.00	

Multiple logistic regression analysis was used for statistical analysis.

Table 11. OR for various combination of *CYP1A2* and *NAT2* polymorphism in lung cancer subjects.

<i>NAT2/CYP1A2</i> polymorphism	Cases n(%)	Controls n(%)	OR (95% CI) <sup>a</sup>
<b>All subjects</b>	<b>178</b>	<b>167</b>	
<i>CYP1A2</i> G/G+ <i>NAT2</i> fast	75(42.1)	59(35.3)	2.94(1.30-6.67)
<i>CYP1A2</i> G/A+A/A+ <i>NAT2</i> fast	82(46.1)	57(34.1)	3.34(1.48-7.55)
<i>CYP1A2</i> G/G+ <i>NAT2</i> slow	11(6.1)	26(15.6)	1.03(0.37-2.88)
<i>CYP1A2</i> G/A+A/A+ <i>NAT2</i> slow	10(5.7)	25(15.0)	1.00
<b>Female</b>	<b>84</b>	<b>79</b>	
<i>CYP1A2</i> G/G+ <i>NAT2</i> fast	35(41.7)	22(27.8)	5.12(1.57-16.66)
<i>CYP1A2</i> G/A+A/A+ <i>NAT2</i> fast	36(42.9)	24(30.4)	4.87(1.51-15.68)
<i>CYP1A2</i> G/G+ <i>NAT2</i> slow	8(9.5)	17(21.5)	1.45(0.37-5.6)
<i>CYP1A2</i> G/A+A/A+ <i>NAT2</i> slow	5(5.9)	16(20.3)	1.00
<b>Male</b>	<b>94</b>	<b>88</b>	
<i>CYP1A2</i> G/G+ <i>NAT2</i> fast	40(42.6)	37(42.0)	1.89(0.58-6.18)
<i>CYP1A2</i> G/A+A/A+ <i>NAT2</i> fast	46(48.9)	33(37.6)	2.43(0.74-7.96)
<i>CYP1A2</i> G/G+ <i>NAT2</i> slow	3(3.2)	9(10.2)	0.59(0.11-3.25)
<i>CYP1A2</i> G/A+A/A+ <i>NAT2</i> slow	5(5.3)	9(10.2)	1.00

Table 11.Continued.

<i>NAT2/CYP1A2</i> polymorphism	Cases n(%)	Controls n(%)	OR(95% CI) <sup>a</sup>
<b>Nonsmoker</b>	<b>115</b>	<b>111</b>	
<i>CYP1A2</i> G/G+ <i>NAT2</i> fast	53(46.1)	37(33.3)	3.11(1.11-8.69)
<i>CYP1A2</i> G/A+A/A+ <i>NAT2</i> fast	45(39.1)	34(30.6)	3.01(1.07-8.51)
<i>CYP1A2</i> G/G+ <i>NAT2</i> slow	10(8.7)	24(21.6)	0.89(0.27-2.96)
<i>CYP1A2</i> G/A+A/A+ <i>NAT2</i> slow	7(6.1)	16(14.5)	1.00
<b>Smoker</b>	<b>63</b>	<b>56</b>	
<i>CYP1A2</i> G/G+ <i>NAT2</i> fast	22(34.9)	22(39.3)	4.25(0.92-19.64)
<i>CYP1A2</i> G/A+A/A+ <i>NAT2</i> fast	37(58.7)	23(41.1)	6.82(1.51-30.71)
<i>CYP1A2</i> G/G+ <i>NAT2</i> slow	1(1.6)	2(3.6)	2.71(0.15-48.25)
<i>CYP1A2</i> G/A+A/A+ <i>NAT2</i> slow	3(4.8)	9(16.0)	1.00

Multiple regression analysis was used for statistical analysis.

<sup>a</sup>OR has been adjusted for age.



Table 12: Characteristics of subjects in the case-control study of colorectal cancer.

Parameter	Case (n=102)	Control (n=167)	OR value (95% CI)
Age (yr $\pm$ SD)	64.7 $\pm$ 12.7	59.2 $\pm$ 11.8	1.04(1.02-1.06)
Gender			
Female	49	79	1.03(0.63-1.69)
Male	53	88	1.00

Table 13. Differences in *CYP1A2* and *NAT2* genotype distribution between colorectal cancer patients and controls

	Case (n=102)	Control (n=167)	Non-adjusted		Adjusted	
			OR	95%CI	OR <sup>a</sup>	95%CI
<i>CYP1A2</i> RFLP						
DdeI						
G/G	54	85	0.64	0.24-1.70	0.76	0.28-2.08
G/A	39	73	0.53	0.20-1.46	0.62	0.22-1.71
A/A	9	9	1.00		1.00	
<i>NAT2</i> RFLP						
KpnI						
W/W	97	159	0.81	0.27-2.40	0.86	0.28-2.60
W/M1	5	8	1.00		1.00	
TaqI						
W/W	69	119	0.58	0.20-1.72	2.25	0.56-9.11
W/M2	26	41	0.63	0.20-2.02	1.94	0.46-8.23
M2/M2	7	7	1.00		1.00	
BamHI						
W/W	89	139	315.40	0-9.24E+10	1421.99	0-6.83E+16
W/M3	13	23	278.42	0-8.22E+10	1188.90	0-5.75E+16
M3/M3	0	5	1.00		1.00	
AluI/MspI						
W/W	101	167	-	-	-	-
W/M4	1	0	-	-	-	-

Multiple regression analysis was used for statistical analysis.

<sup>a</sup>OR has been adjusted for age. .

Table 14. OR for different gender and *CYP1A2* polymorphism in colorectal cancer subjects.

<i>CYP1A2</i> polymorphism	Cases n(%)	Controls n(%)	OR <sup>a</sup> (95% CI)
All subjects	102	167	
G/G	54(52.9)	85(50.9)	1.15(0.70-1.91)
G/A+A/A	48(47.1)	82(49.1)	1.00
Female	49	79	
G/G	25(51.0)	39(49.4)	1.02(0.47-2.22)
G/A+A/A	24(49.0)	40(50.6)	1.00
Male	53	88	
G/G	29(54.7)	46(52.3)	1.15(0.57-2.30)
G/A +A/A	24(45.3)	42(47.7)	1.00

Multiple logistic regression analysis was used for statistical analysis.

<sup>a</sup>OR has been adjusted for age..

Table 15. OR for different gender and *NAT2* polymorphism in colorectal cancer subjects.

<i>NAT2</i> polymorphism	Cases n(%)	Controls n(%)	OR <sup>a</sup> (95% CI)
All subjects	102	167	
Fast	84(82.3)	116(69.5)	1.95(1.05-3.63)
Slow	18(17.7)	51(30.5)	1.00
Female	49	79	
Fast	44(89.8)	46(58.2)	7.12(2.34-21.64)
Slow	5(10.2)	33(41.8)	1.00
Male	53	88	
Fast	40(75.5)	70(79.5)	0.79(0.35-1.77)
Slow	13(24.5)	18(20.5)	1.00

Multiple logistic regression analysis was used for statistical analysis.

<sup>a</sup> OR has been adjusted for age.

Table 16. Adjusted OR and 95% CI for various risk factors among colorectal cancer cases and controls

	Case (n=102)	Control (n=167)	Adjusted OR <sup>a</sup>	95% CI
Age (yr ±SD)	64.7±12.7	59.2±11.8	1.04	1.02-1.06
Gender				
Female	49	79	1.36	0.80-2.31
Male	53	88	1.00	
<i>CYP1A2</i>				
G/G	54	85	1.20	0.72-2.00
G/A+A/A	48	82	1.00	
<i>NAT2</i>				
Fast	84	116	2.03	1.08-3.79
Slow	18	51	1.00	

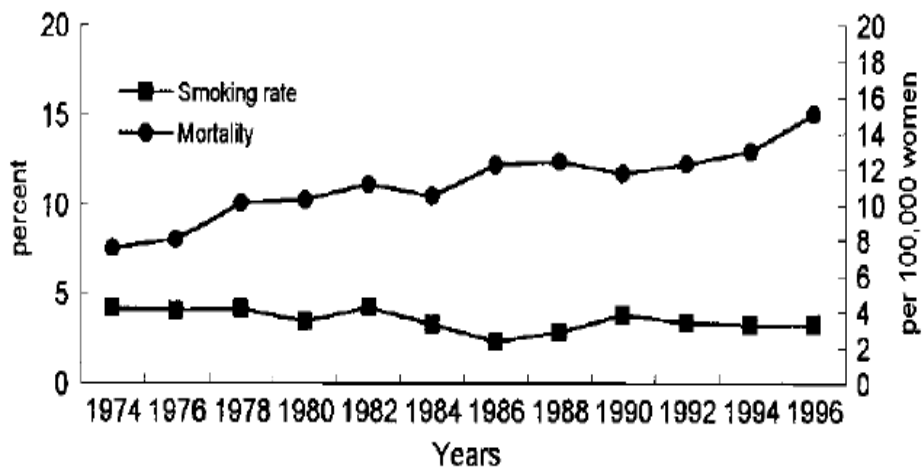
Multiple logistic regression analysis was used for statistical analysis

Table 17. The OR for various combination of *CYP1A2* and *NAT2* polymorphism in colorectal cancer subjects.

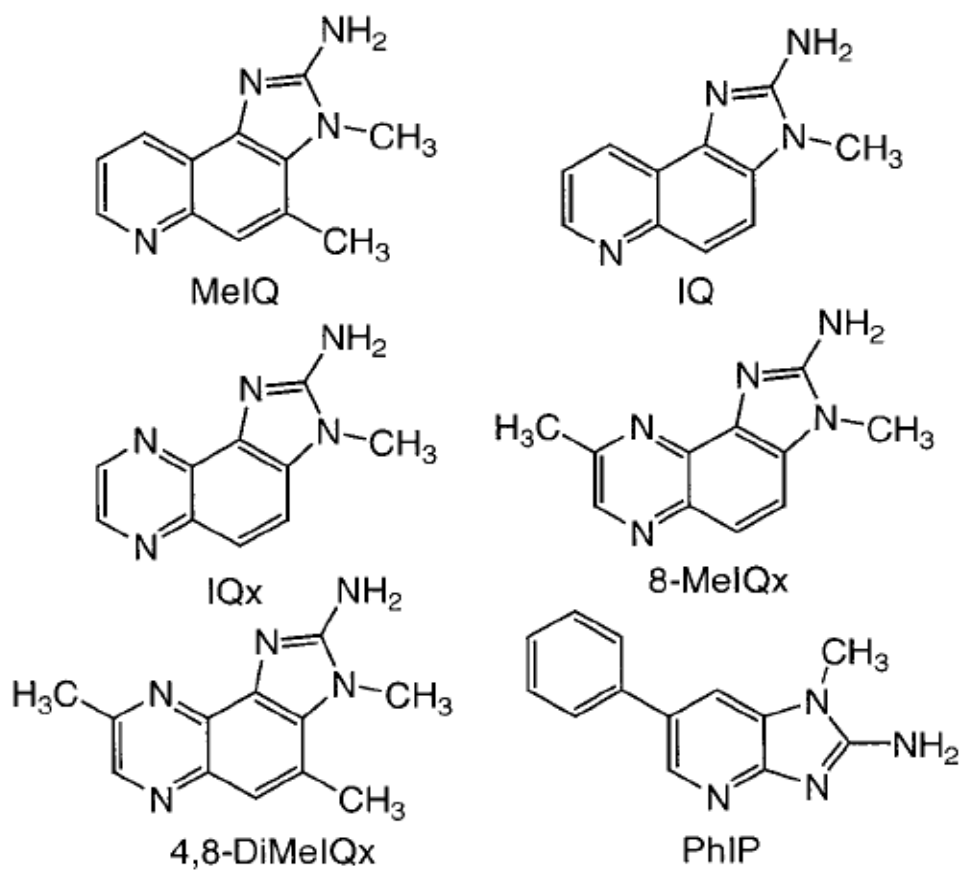
<i>CYP1A2/NAT2</i> polymorphism	Cases n(%)	Controls n(%)	OR(95% CI) <sup>a</sup>
<b>All subjects</b>	<b>102</b>	<b>167</b>	
<i>CYP1A2</i> G/G+ <i>NAT2</i> fast	42(41.2)	59(35.3)	1.99(1.01-3.94)
<i>CYP1A2</i> G/A+A/A+ <i>NAT2</i> fast	42(41.2)	57(34.1)	1.91(0.96-3.80)
<i>CYP1A2</i> + <i>NAT2</i> slow	18(17.6)	51(30.6)	1.00
<b>Female</b>	<b>49</b>	<b>79</b>	
<i>CYP1A2</i> G/G+ <i>NAT2</i> fast	20(40.8)	22(27.8)	6.82(2.03-22.87)
<i>CYP1A2</i> G/A+A/A+ <i>NAT2</i> fast	24(49.0)	24(30.4)	7.39(2.25-24.32)
<i>CYP1A2</i> + <i>NAT2</i> slow	5(10.2)	33(41.8)	1.00
<b>Male</b>	<b>53</b>	<b>88</b>	
<i>CYP1A2</i> G/G+ <i>NAT2</i> fast	22(41.5)	37(42.0)	0.83(0.34-2.03)
<i>CYP1A2</i> G/A+A/A+ <i>NAT2</i> fast	18(34.0)	33(37.6)	0.73(0.29-1.84)
<i>CYP1A2</i> + <i>NAT2</i> slow	13(24.5)	18(30.0)	1.00

Multiple regression analysis was used for statistical analysis.

<sup>a</sup> The difference in age has been adjusted.



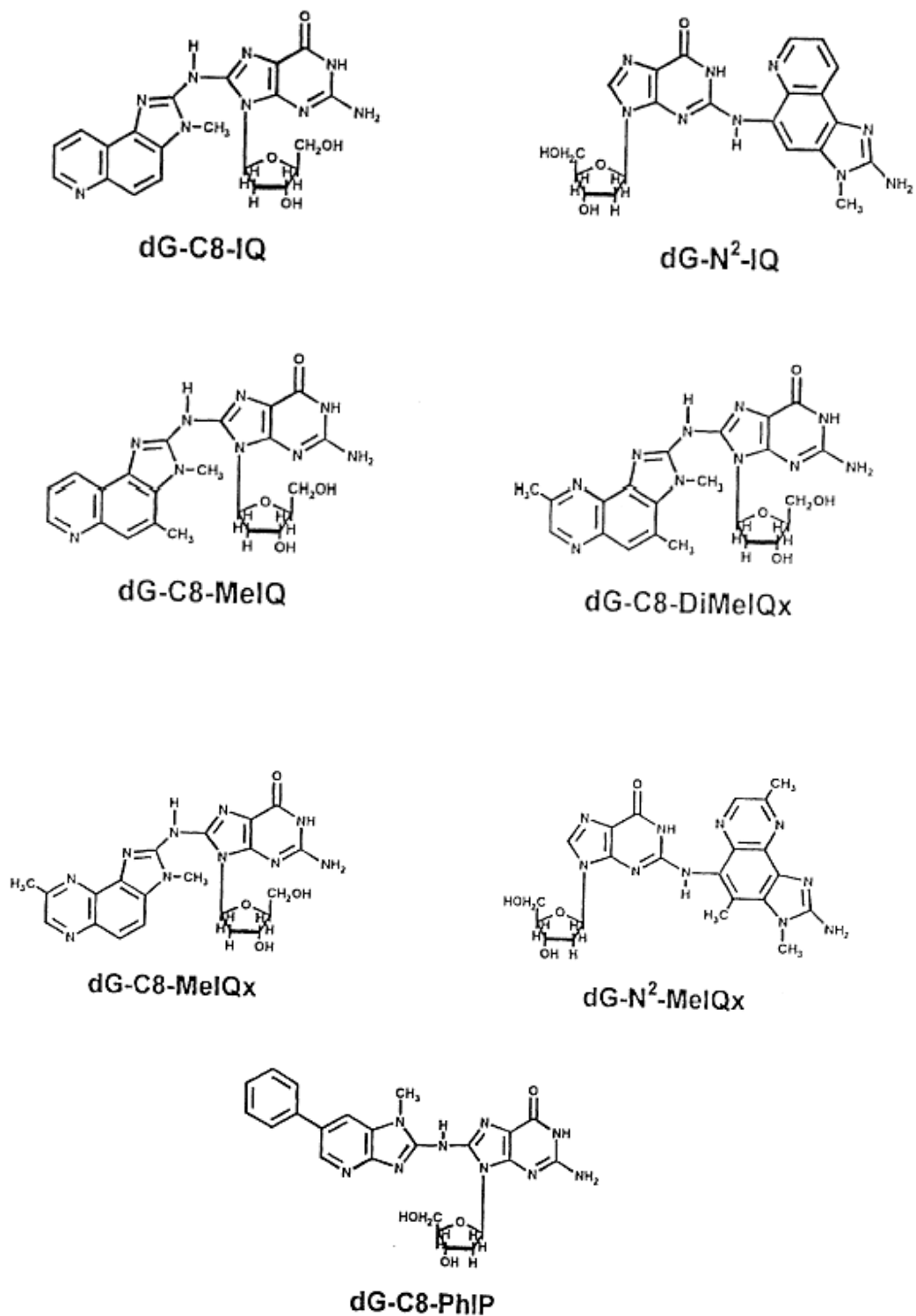
**Figure 1** Smoking rate (%) and age-adjusted mortality rate (per 100 000 women) of lung cancer for women in Taiwan, 1974–1996



**Fig 2. Chemical structures of heterocyclic amines**

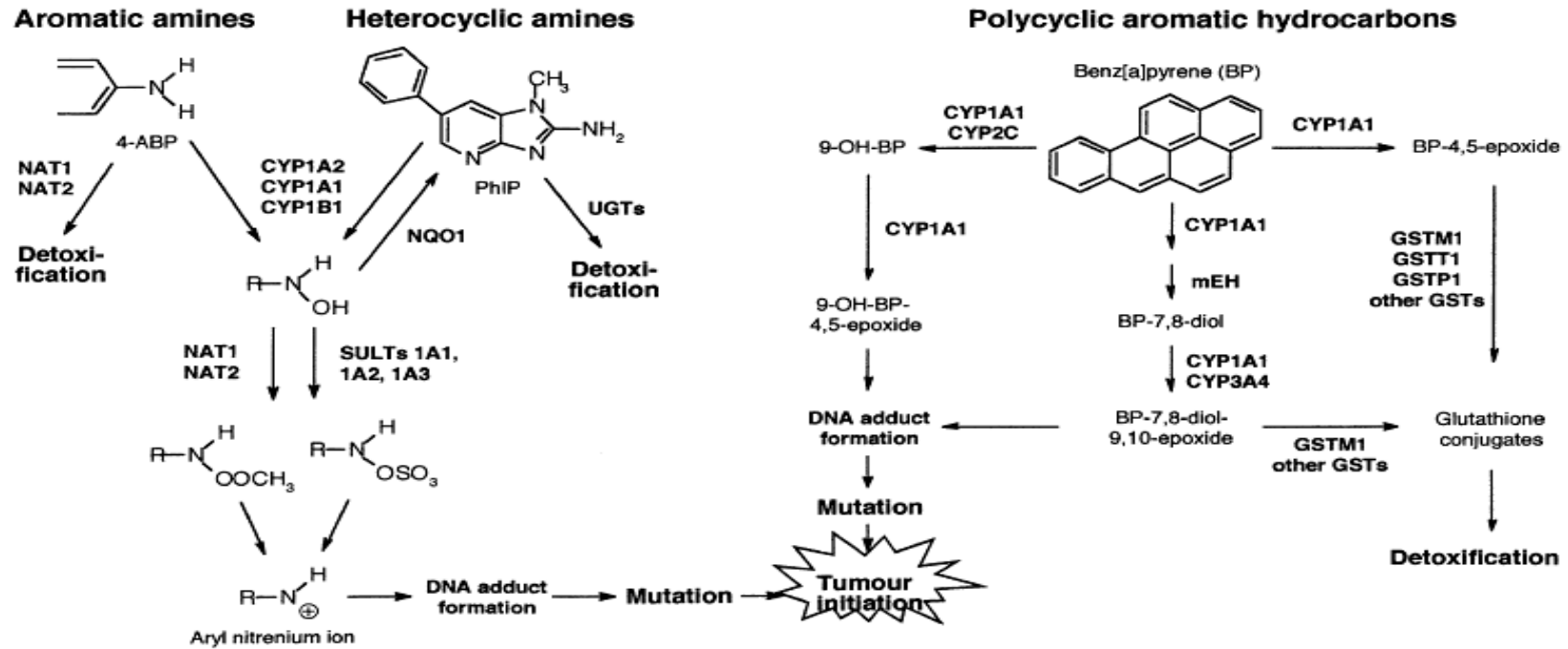
**(Nigel et al., 2001)**





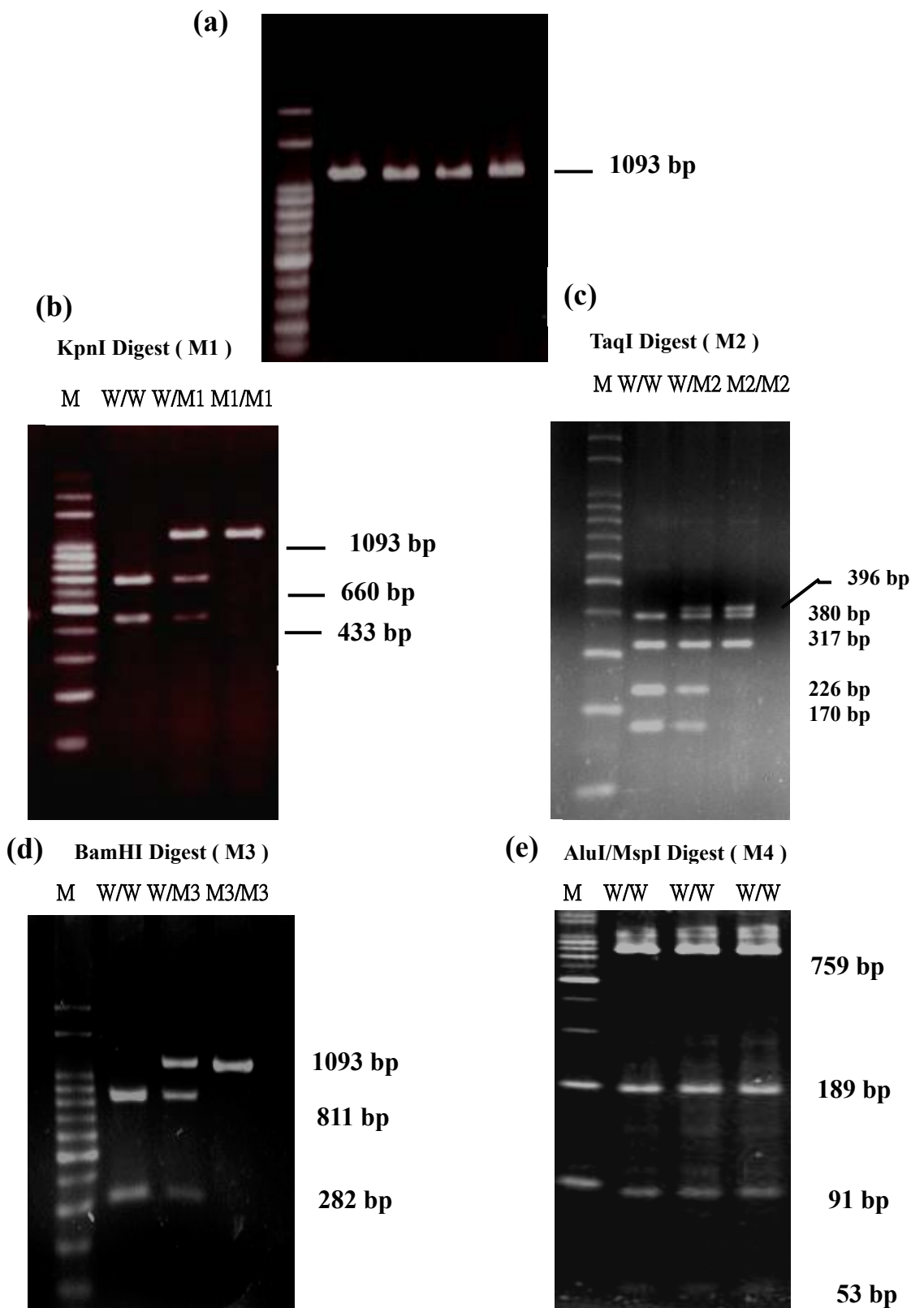
**Fig 3. Structures of HCA-DNA adducts characterized to date.**

**( Herman et al., 1999 )**

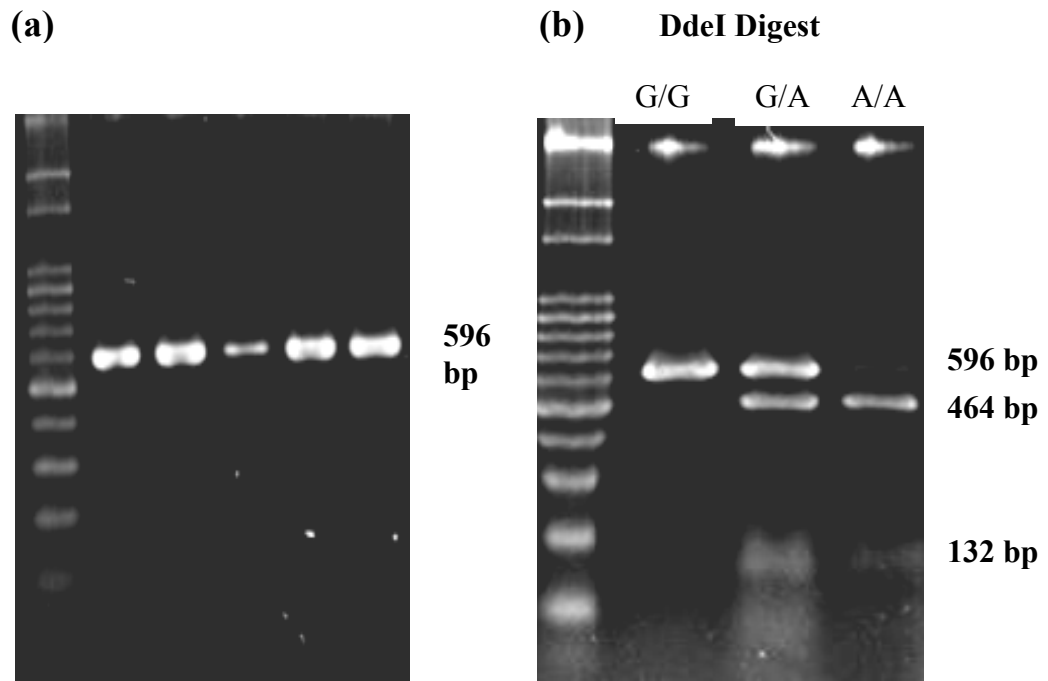


**Fig 4. Involvement of various polymorphic drug metabolizing enzymes in the metabolism and activation of AAs,HCAs,and PAHs.For simplicity,not all pathways of metabolism are shown. (UGTs: UDP glucuronosyltransferases.)**

(Sachse et al., 2002)



**Fig 5. PCR-RFLP analysis for NAT2 genotype.**



**Fig 6. PCR-RFLP analysis for CYP1A2 genotype**

## 捌.英文摘要

Lung and colorectal cancers have been the leading causes of cancer death in Taiwan, especially in women. Previously studies indicated that smoking is a contributive factor for various cancers, especially for lung cancer since about 90% lung cancer incidence in western countries occurrence was associated with cigarette smoking. However, the unique epidemiological characteristics of female lung cancer patients in Taiwan, extremely low smoking population but high cancer mortality, have indicated that in addition to cigarette smoking, there may be other environmental factors being involved in lung tumorigenesis in Taiwan. Previous studies indicated that cooked meats and generated cooking oil fumes both contained various heterocyclic amines which had been confirmed to be able to induce lung cancer and colorectal cancer in animal model, therefore, exposure to heterocyclic amines may be associated with lung and colorectal tumorigenesis in Taiwan. CYP1A2 and NAT2 are two major enzymes involved in the metabolism of heterocyclic amines, therefore, 178 lung cancer patients, 102 colorectal cancer patients and 167 non-cancer controls were recruited into this study and subjected to genotype analysis by PCR-RFLP to investigate the relationships between the genetic polymorphism of these two metabolic enzymes and these two heterocyclic amines-related cancers. Compared with slow acetylator genotype, the OR of individuals with NAT2 fast acetylator genotype for lung cancer and colorectal cancer was 3.10 and 1.95, respectively, and was even increased to 4.05 and 7.12 in female populations. Due to lacking smoking-related information of colorectal cancer patients, lung cancer patients were divided into 4 groups, based on gender and smoking status, for further analysis. The results showed that the OR of non-smoking female with NAT2 fast acetylator genotype for lung cancer was as high as 3.48. This result indicated nonsmoking female with NAT2 fast acetylator had a higher lung cancer risk than male in

Taiwan. A possible explanation for such higher risk may be that Taiwanese women spent a long cooking time in kitchen and therefore, may be exposed to a higher amount of cooking oil fumes than male. From a further analysis for the interaction of CYP1A2 and NAT2 genotype, it was found that the coexistence of CYP1A2 high or low and NAT2 fast genotype resulted in an even higher risk for lung cancer than just considering NAT2 genotype only, however, such relationship was not found for colorectal cancer. Such difference could be due to different exposure routes and exposure levels. In conclusion, the occurrence of lung cancer and colorectal cancer may be associated with heterocyclic amines exposure, however, the females appear to be more susceptible than male to exposure heterocyclic amines. In addition to the longer time spent on cooking in the kitchen, other environmental factors that may contribute to the higher susceptibility of Taiwanese females to heterocyclic amines exposure need to be further studied.