

行政院國家科學委員會補助
大專學生參與專題研究計畫研究成果報告

* ***** *
* 計 畫 : 抽菸、綠茶飲用與 Survivin 基因多形性對於肺癌發生 *
* 名 稱 : 之相關 *
* ***** *

執行計畫學生： 連玉惠
學生計畫編號： NSC 98-2815-C-040-028-B
研究期間： 98年07月01日至99年02月28日止，計8個月
指導教授： 李輝

處理方式： 本計畫可公開查詢

執行單位： 中山醫學大學公共衛生學系（所）

中華民國 99年03月31日

行政院國家科學委員會補助

大專學生參與專題研究計畫研究成果報告

* 計畫 *
* :抽菸、綠茶飲用與 Survivin 基因多形性對於肺癌發生之相關 *
* 名稱 *

執行計畫學生：連玉惠

學生計畫編號：NSC 98-2815-C-040-028-B

研究期間：98年7月1日至 99年2月底止，計8個月

指導教授：李輝

處理方式(請勾選)：立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權，一年二年後可公開查詢

執行單位：中山醫學大學公共衛生學系(所)

中華民國 99年 3月 30日

抽菸、綠茶飲用與 Survivin 基因多形性對於肺癌發生之相關

摘要：

肺癌 (lung cancer)，是世界各地的主要癌症之一。茶多酚是種強抗氧化物，它們可能預防致突變性和基因毒性，抑制腫瘤的起始、促進、以及細胞增生，並且清除致癌物的活化代謝產物。此外，Survivin為細胞凋零蛋白抑制者 (Inhibitor of apoptosis proteins [IAPs]) 家族成員，而茶多酚可以藉由直接或者間接的作用去抑制Survivin，進而影響抗增生 (antiproliferative) 和促進細胞凋零 (proapoptotic) 兩種分子機制。因此，我們設計一個病例對照研究來評估抽菸、綠茶飲用和Survivin基因多形性對於肺癌發生危險的效應。總計，有172名病例與344名對照被納入本研究分析中。人口學特質、生活型態如抽菸習慣、綠茶飲用、食用水果和蔬菜，實際烹煮情形以及肺癌家族史是由問卷訪視所獲得；Survivin基因多形性是以聚合酶鏈鎖反應 (polymerase chain reaction [PCR]) 來進行判定。在我們的多變項條件式對數迴歸模式 (multiple conditional logistic model) 中，抽菸、綠茶飲用每天少於一杯、暴露於炒菜油煙每天超過三小時以及肺癌家族史是相關於增加的肺癌危險。調整炒菜油煙暴露和肺癌家族史之效應後，沒有飲用綠茶的抽菸者相較於每天飲用綠茶大於一杯之未抽菸者有顯著較高的肺癌危險 (OR = 5.99; 95% C.I. = 3.58-10.02)；抽菸與綠茶飲用對於肺癌危險性的顯著交互作用也被觀察到。進一步地，相較於攜帶Survivin CC基因型之飲用綠茶量每天大於一杯者、以及攜帶Survivin CC基因型之飲用綠茶超過十年者，攜帶Survivin GG與GC基因型之綠茶飲用量愈多者 (≥ 1 杯/天, OR = 0.56; 95% C.I. = 0.34-0.93) 與愈久者 (> 10 年, OR = 0.33; 95% C.I. = 0.14-0.77) 也具有顯著減少的肺癌發生危險。我們的結果建議著，攜帶降低啟動子活性的Survivin基因型且飲用較多綠茶者是具有

較顯著的肺癌保護效應。

關鍵詞：抽菸、綠茶、Survivin、肺癌

前言：

肺癌與抽菸和環境二手菸之穩定相關已經被廣泛地建立，並且也預估戒菸可預防超過90%以上的肺癌 [1]。實際上，香煙是一種包含數千種化合物的複雜混合物，其中很多是已知或者是疑似人類致癌物 [2, 3]。香煙的焦油 (tar) 部分已經被顯示是苯醌 (quinone)/對苯二酚 (hydroquinone) 氧化還原反應的複雜混合物 [3-5]，具有催化產生過氧化陰離子的能力。氣態煙則包含穩定濃度的游離基，可導致氮氧化物對於在煙流中之低分子量碳氫化合物引動自發性氧化反應 [4]。因此，氧化物/抗氧化物間的不平衡可能在個人暴露於香煙之肺癌致癌機制上具有一定的角色。

茶是世界上最廣為飲用的飲料，而茶與癌症危險的相關性也已經是重要的公共衛生議題。所有的茶是由茶樹 (*Camellia sinensis*) 而衍生，並且茶在亞洲國家是被大量地飲用，例如日本、中國和台灣 [6]。茶多酚 (tea polyphenols)，即已知的兒茶素 (catechins)，通常在沖泡的綠茶中佔固體乾重的30-42% [7]；而茶 (發酵過之產物) 中主要的多酚類成分是茶黃素 theaflavins (1-3%的乾重) 和茶紅素 thearubigins (10-40%的乾重)。與飲茶相關的潛在健康效益，已經部分被歸因於茶多酚的抗氧化特性 [8, 9]；因為在許多不同的族群中，吸菸和飲茶是非常地普遍，許多研究也加以探討茶對於吸菸所導致之肺癌形成的可能抑制效應 [10, 11]。從實驗研究而得的資訊已經一致地顯示，綠茶可能抑制許多物理性及化學

性所引發的癌症 [12]。多酚明顯地是種強抗氧化物，可以有效地清除自由基；它們也可能預防致突變性和基因毒性，抑制腫瘤的起始、促進、以及細胞增生；調控去毒性酵素，並且清除活化致癌物的活化代謝產物 [12-15]。

細胞凋零蛋白抑制者 (Inhibitor of apoptosis proteins [IAPs]) 是抗細胞凋零蛋白家族，其功能為藉由抑制細胞凋零途徑中的硫胱氨酸蛋白酶 (caspases) 來達到抑制細胞凋零的作用 [16]。而 Survivin 屬於 IAP 家族成員，可藉由抑制細胞凋零途徑中的啟動者 (initiator) caspase-9 和作用者 (effector) caspase-3 和 7 來抑制細胞凋零 [17]；Survivin 也會在細胞週期的 G2/M 期表現，當有絲分裂開始時，Survivin 會和紡錘絲的微小管 (microtubule) 結合。當 Survivin-微小管這個複合體結構瓦解時，Survivin 即會失去抑制細胞凋零的功能，並且增加 caspase-3 的活性，進而誘發細胞走向計畫性死亡的路徑。這些結果推測，在細胞 G2/M 期中的 Survivin 可以對抗細胞凋零的誘導 [18]。人體中，Survivin 在分裂旺盛的細胞含量較多，在癌細胞上的表現量高於正常的細胞 [19, 20]，並且胚胎細胞和胎兒細胞上也有大量的表現量；而正常細胞的表現量僅是微量。特別的是，茶多酚 (特別是表沒食子兒茶素酸酯 epigallocatechin gallate) 可以藉由直接或者間接的作用去抑制 Survivin，進而影響抗增生 (antiproliferative) 和促進細胞凋零 (proapoptotic) 兩種分子機制 [21]。

人類 Survivin 基因，位於染色體 17q25 的位置上 [22]；Survivin 基因上啟動子的調控與細胞週期依賴性元件 (cell cycle-dependent elements [CDE]) 及細胞週期同源區域 (cell cycle homology region [CHR]) 有關 [23, 24]。在 Survivin 啟動子起始者 ATG -31 核苷酸包含一個 C 至 G 的轉換，此段區域是 CDE/CHR 抑制子 (repressor) 的位置；此變異可能會抑制 Survivin 基因的轉錄 [25]。重要的是，

Jang 等人 [26] 指出攜帶-31C 對偶基因者會顯著地增加啟動子的活性，進而產生大量的 Survivin，進而提升肺癌的危險；然而，Survivin 基因多形性是否為台灣人之肺癌的易感受性因子仍不清楚。

對於Survivin在人類肺癌上的分子角色所能獲得的資訊是有限的。進一步地，較不飲用綠茶並且具有Survivin較高啟動子活性基因型的抽菸者，可能具有增加的肺癌危險。因此，我們設計一個病例對照研究來評估抽菸、綠茶飲用和Survivin基因多形性對於肺癌發生危險的效應。

材料與方法：

研究對象

總計有172名原發性肺癌（國際疾病分類第9版；ICD9代碼162）病患從台灣彰化基督教醫院被納入至本研究中，全部病例也由合格的病理學家執行一系列的病理階段檢查；腫瘤的類型和階段也依據世界衛生組織（World Health Organization [WHO]）的分類方式來決定 [27]。同時，344名潛在的對照是從不具癌症病史的病患中隨機選取。他們是在相同的教學醫學中心執行身體檢查。在本研究中，採用1:2之病例與對照的配對比例；對照個別地與病例的年齡（±5歲）及性別進行配對。

流行病學資料

所有參與者的同意書被獲取。結構式問卷所涵蓋的問題包括：人口學特質、生活型態如抽菸習慣、綠茶飲用、食用水果和蔬菜、實際烹煮情形以及肺癌家族史。研究對象的抽菸史包括每天抽菸的支數和抽菸年數；累積抽菸量是以抽菸包

年計算，亦即每天的包數乘以抽菸的年數。水果及蔬菜的攝取也從當地普遍可獲得並且一般被攝取的種類中，計算出最近三年前的每週標準化平均餐數。肺癌家族史，則是定義為研究對象之一等親親屬具有肺癌。此外，過去家戶的烹飪暴露也被評估；而烹飪的暴露，研究對象被詢問關於各種烹飪方法的使用頻率，特別是他們平常的炒菜方式。

在台灣，茶壺裝盛每批茶葉的乾重約為3-5克，再倒入熱水沖泡（約150-250毫升），並且不加入任何的糖或牛奶等添加物，從茶壺沖泡出來的茶液再倒入茶杯中飲用。通常沖泡的第一泡茶液會被倒出不飲，第二泡約浸泡2-3分鐘後倒出，第三、四泡則約浸泡5分鐘後倒出飲用；同一批茶葉大約會回沖3-4次。在台灣用來飲茶的茶杯體積較小（30-50毫升），故在面訪時依研究對象所描述之飲茶量轉換成標準容器的體積量（100-120毫升）。在我們的研究中，關於綠茶飲用的調查分為幾個回應做為分類。首先研究對象會被詢問是否有飲用綠茶，回應為“曾經飲用綠茶者”則進一步地被詢問飲用綠茶量以及飲用綠茶年數。綠茶飲用的頻率則是從五個可能得到的答覆去評估，即每天一杯以上、一週三到四杯、一週一到二杯、一個月一到二杯或更少；接續詢問習慣飲用綠茶的年數。對於每天飲用綠茶者，每天所飲用的杯數被進一步地確認。我們也針對問題的答覆，根據先前的一項追蹤研究，區分成五項類別：每天少於一杯、每天一至二杯、每天三至四杯、每天五至九杯、每天十杯以上 [28]。

Survivin基因多形性檢測

所有研究對象之靜脈血被收集在含有抗凝血劑 (heparin) 的採血管中，並且被分離成為血漿、buffy coat和紅血球。這些樣本在同一天內被處理，並儲存於

-70°C下；基因型的測定是從buffy coat萃取出DNA來進行。

根據Wang等人 [29] 所描述對於Survivin基因多形性之分析方法，執行聚合酶鏈鎖反應 (polymerase chain reaction [PCR]) 增幅後，以限制片段長度多形性 (restriction fragment length polymorphism [RFLP]) 分析來辨識在Survivin基因之EcoO109I於啟動子限制酶辨識點的差異。一段包含此基因多形性的341 bp之基因體DNA片段被增幅，用以增幅Survivin基因的引發子 (primers) 序列為5'-GTT CTT TGA AAG CAG TCG AG-3' 和5'-GCC AGT TCT TGA ATG TAG AG-3'。0.5 µl的DNA被加至包含200 ng的引發子、1.5 mM MgCl₂、0.2 mM的dNTPs、50 mM KCl、10 mM Tris-HCl (pH = 8.3) 和0.1%的BSA的PCR緩衝劑中，最後總體積調整為50 µl。PCR循環參數組成為95°C下五分鐘之先前培養，接續於95°C下30秒之變性步驟、58°C下90秒之重鍊、以及72°C下90秒之延展，共35回合循環，反應於最後的72°C五分鐘之延展後終止。PCR產物也在37°C下以EcoO109I酵素消化16小時，消化產物在4%之瓊膠中以ethidium bromide染色後判讀。攜帶同型的Survivin -31 CC基因型個體顯現出341 bp一段產物片段，同型的GG基因型個體表現出236和105 bp二段產物片段；而異型的Survivin -31 GC基因型者則有341、236和105 bp三段產物片段。

統計分析

對於病例組與對照組的性別、收案時之年齡、教育程度、抽菸狀況、抽菸包年、綠茶飲用量、蔬菜與水果的攝取量、過往烹煮的暴露、與肺癌家族史之比較，若是連續性變項是以Student's *t*-test檢定；若是類別性變項則以 χ^2 -test或Fisher's exact test檢定。 χ^2 -test也被執行以檢定在病例組與對照組中Survivin G-31C基因型

的盛行率。另外，分層分析被執行以檢定綠茶飲用量、抽菸狀況、及Survivin基因多形性之間是否具有交互作用；使用多變項條件對數模式 (multiple conditional logistic model) 求取每個變項的調整後危險對比值 (adjusted odds ratio [OR]) 以及95%信賴區間 (95% confidence interval [C.I.])。所有的P值皆以雙尾檢定來計算。

結果：

總計，共有516名研究對象 (315名男性與201名女性) 參與本研究，年齡範圍從38歲至90歲，其特徵整理於表一。在具有組織學確認為原發性肺癌之172名病例中，94名 (54.7%) 為肺腺癌以及47名 (27.3%) 為鱗狀細胞癌。研究對象中男性所佔的比例為61.0%，女性為39.0%；肺癌病患的平均年齡為66.2歲，對照為64.6歲。如同我們所預期的，相較於對照，肺癌病例中具有較多抽菸者 (54.7% vs. 27.6%； $P < 0.01$)；37.8%的病例抽菸超過40包年，而在對照中此數值是15.1% ($P < 0.01$)。並且在飲用綠茶的部分，肺癌病例相較於對照有較高比率之非綠茶飲用者 (84.9% vs. 66.3%； $P < 0.01$)；在飲用綠茶的時間上，病例組也僅有5.2%超過十年，相較於對照組的16.6%是具有顯著的差異 ($P < 0.01$)。然而，蔬果攝取 ($P = 0.33$) 在病例與對照組間並沒有顯著的差異。此外，相較於對照，炒菜油煙暴露 ($P < 0.01$) 以及肺癌家族史 ($P = 0.01$) 在病例組有較高的比例，並且此差異達到統計上的顯著性。

研究對象之Survivin G-31C 基因型的盛行率，顯示在表二。在病例組中，Survivin的G與C對偶基因的頻率分別是50.0%以及50.0%，而對照組的G與C對偶基因的頻率分別是49.9%以及50.1%；基因型頻率分佈在病例組與對照組間並沒

有顯著的差異 ($P = 0.36$)。

以肺癌發生為依變項，抽菸包年、綠茶飲用量、炒菜油煙暴露、肺癌家族史以及Survivin基因型為自變項之多變項對數迴歸模式，呈現於表三。相較於未抽菸者，個人抽菸大於40包年 ($OR = 5.08$; $95\% C.I. = 2.95-8.76$) 以及1-39包年 ($OR = 4.00$; $95\% C.I. = 2.20-7.22$) 具有較高的肺癌危險。未飲用綠茶者 ($OR = 4.90$; $95\% C.I. = 2.09-11.47$) 以及飲用每天少於一杯者 ($OR = 4.15$; $95\% C.I. = 1.61-10.72$) 也具有較高的肺癌危險，相較於飲用綠茶每天大於一杯者。炒菜油煙暴露與肺癌發展危險間，也被觀察到每週暴露大於三小時以上者相較於每週暴露小於一小時者，具有2.09倍的肺癌發生危險 ($95\% C.I. = 1.05-4.18$)，並且達到統計上的顯著差異。具有肺癌家族史者也相較於無肺癌家族史者，呈現顯著較高的肺癌發生危險性 ($OR = 2.25$; $95\% C.I. = 1.01-5.02$)。而Survivin基因型在我們的研究對象中，並沒有被觀察到對於肺癌發生危險的關係。

我們進一步地分析不同的飲用綠茶量與抽菸狀況對於肺癌發生之相關 (表四)。將抽菸的狀態分成非抽菸者和抽菸者，結果顯示在兩個分層中飲用較少綠茶量的人 (每天喝少於一杯或沒有飲用綠茶的人) 有顯著地影響著對於肺癌的危險性 (P for trend < 0.01)。在調整炒菜油煙暴露與肺癌家族史的效應後，選取非抽菸者且飲用綠茶每天大於或等於一杯者為參考族群 ($OR = 1.00$)，在沒有飲用綠茶的非抽菸者呈現1.90倍 ($95\% C.I. = 0.63-5.73$) 的肺癌發生危險。而我們也選取抽菸者且飲用綠茶每天大於或等於一杯者為參考族群 ($OR = 1.00$)，飲用綠茶每天少於一杯之抽菸者相較於參考族群有6.18倍 ($95\% C.I. = 2.99-12.77$) 的肺癌發生危險；而在沒有飲用綠茶的抽菸者中則具有5.99倍 ($95\% C.I. = 3.58-10.02$) 的肺癌發生危險。當非抽菸者且飲用綠茶大於十年者被選取為參考族群 ($OR =$

1.00)，則沒有飲用綠茶的非抽菸者呈現3.12倍 (95% C.I. = 0.74-13.18) 的肺癌發生危險；而沒有飲用綠茶的抽菸者比起飲用綠茶超過十年的抽菸者具有顯著增加的肺癌危險性 (OR = 4.74；95% C.I. = 2.94-7.60)。在上述結果中，我們也發現在抽菸狀態和綠茶飲用量對於肺癌危險性具有交互作用的存在。更進一步地，將飲用綠茶狀況與肺癌發生危險性之相關也以0、1-39以及大於40包年之抽菸量分層加以評估 (表五)。綠茶飲用量和肺癌危險性間的關係特別在超過40包年的分層上有明顯的相關，抽菸超過40包年且沒有飲用綠茶的人具有最高之3.72倍肺癌發生危險性 (95% C.I. = 2.37-5.83)。從這些結果，可以看出一個顯著的合併效應存在於抽菸的劑量及飲用綠茶對於肺癌發生危險性之相關。

我們也分析不同綠茶飲用狀況與 Survivin 基因多形性對於肺癌發生之合併效應 (表六)，分別以攜帶 Survivin CC 基因型之飲用綠茶量每天大於一杯者、以及攜帶 Survivin CC 基因型之飲用綠茶超過十年者為參考族群 (OR = 1.00)，在調整抽菸包年、炒菜油煙暴露和肺癌家族史的效應後，我們發現相較於參考族群，攜帶 Survivin GG 與 GC 基因型之綠茶飲用量愈多者 (≥ 1 杯/天，OR = 0.56；95% C.I. = 0.34-0.93) 以及愈久者 (> 10 年，OR = 0.33；95% C.I. = 0.14-0.77) 具有顯著減少的肺癌發生危險。

討論：

在本研究中，我們觀察到未具有飲用綠茶習慣者，相較於每天飲用一杯以上綠茶者具有顯著較高的肺癌危險。進一步地，沒有飲用綠茶之抽菸者，相較於經常飲用綠茶之未抽菸者具有更為顯著的肺癌危險；而有飲用綠茶習慣者中，攜帶 Survivin GG 與 GC 基因型者相較於 CC 基因型者，具有顯著較低的肺癌發生危險。

許多實驗研究報告顯示，綠茶可能抑制許多由物理性及化學性致癌物所引發的癌症 [12]；而與飲茶相關的潛在健康效益，已經部分被歸因於茶多酚的抗氧化特性 [8, 9]。茶多酚明顯地是種強抗氧化物並且可以有效地清除自由基；它們也可能預防致突變性和基因毒性，抑制腫瘤的起始、促進、以及細胞增生；調控去毒性酵素，並且清除致癌物的活化代謝產物 [12]。茶多酚也已經被顯示，可抑制體內肺癌細胞的生長以及從過氧化氫產生所造成的細胞凋零 [14, 15]。這些證據支持著我們的結果，未飲用綠茶者相較於飲用綠茶者具有較高的肺癌發生危險，並且在抽菸者中更為明顯。此外，我們也觀察到在抽菸狀態和綠茶飲用量對於肺癌危險性之間有交互作用的關係。如此的結果建議著，多飲用綠茶是可能有效地降低因抽菸而導致的肺癌危險。雖然實驗研究已經一致地顯示，茶多酚可能抑制多種癌症的發生，包括肺癌 [12]；然而，飲茶和癌症的流行病學研究則是有限的，並且結果也尚未明確 [30-37]。Goldbohm 等人 [30] 執行一項前瞻性的世代追蹤研究以評估飲茶與癌症發生之關係，雖然調整抽菸包年此重要因子，但是忽略了年代與世代效應和回憶偏差所造成的影響；因此在此研究中並無法觀察到飲茶與肺癌的相關性。在一項於日本族群所執行的世代研究中，也沒有發現到綠茶飲用量與肺癌之間的關聯性 [38]，原因可能是因為研究的統計變異程度或者是呈現於研究中的各種偏差所導致。飲用綠茶與健康的生活型態有關，像是少抽菸以及食用較多新鮮的蔬果 [39]。雖然我們控制了幾個關鍵的危險因子，但是仍可能有一些生活習慣的因素未被考量到；而回憶性偏差、綠茶飲用量計算或茶品種類的錯誤分類，是病例對照研究必須謹慎考慮的部分。

在 Survivin 啟動子起始者 ATG -31 核苷酸包含一個 C 至 G 的轉換，此段區域是 CDE/CHR 抑制子 (repressor) 的位置；此變異已經被證實相關於 Survivin

mRNA 與蛋白在癌細胞中之過度表現 [25]，也相關於大腸直腸癌 [40]、子宮頸癌 [41] 和卵巢癌 [42] 之發生。進一步地，Han 等人 [42] 也觀察到攜帶 Survivin -31C 對偶基因的卵巢癌病患具有較早的發病情況。此外，攜帶-31 CC 基因型的希臘大腸直腸癌病患其 Survivin mRNA 的表現量，相較於攜帶 GC 和 GG 基因型的病人高出將近 1.6 倍的表現 [40]；而攜帶-31C 對偶基因的韓國肺癌病患也相較於攜帶-31G 對偶基因的病患，有顯著增加的啟動子活性 [26]。這些結果推測 Survivin -31 G/C 基因多形性可能會影響 Survivin 蛋白的表現；而 Survivin 是一個已知的細胞凋零抑制者，因此，其功能受到改變後，即可能影響癌症的發展。但是在我們的研究中，Survivin -31 G/C 基因多形性與肺癌的單獨相關性並沒有被觀察到；其可能的原因為種族間的遺傳表現和腫瘤型態不同而導致頻率有所差異。一項先前的韓國人肺癌研究指出，肺癌病患的鱗狀細胞癌比例佔多數（腺癌佔 35.8%與鱗狀細胞癌佔 47.2%）[26]。然而，我們的肺癌病患之腺癌與鱗狀細胞癌比例分別為 54.7%與 27.3%。Jang 等人 [26] 更指出，Survivin -31 G/C 基因多形性可能與肺腺癌有特定的關係，而且不同的病理型態可能由不同的細胞凋零路徑所影響 [43-45]。因此，Survivin 基因多形性在肺癌的不同病理型態中，可能有著特定的相關性；而未來的研究需要納入更多的肺腺癌病患，進一步地去釐清 Survivin -31 G/C 基因多形性與肺腺癌間的特異性相關。此外，在我們的對照中，Survivin G-31C C 對偶基因的頻率為 50.1%，相似於華人 (49.1%) [46] 和韓國人 (50.0%) 之頻率 [26]；我們研究對象之 Survivin 基因多形性的頻率也符合哈溫定律，證實著我們基因型技術的可信性和成果。

進一步地，我們分析 Survivin -31 G/C 基因多形性與綠茶飲用量對於肺癌發生的合併效應；觀察到無論是在每天飲用綠茶大於一杯或是飲用綠茶超過十年者

中，攜帶 Survivin GG 與 GC 基因型者相較於 CC 基因型者具有顯著降低的肺癌發生之危險。Tang 等人 [21] 指出，茶多酚可以藉由直接或者間接的作用去抑制 Survivin，進而影響抗增生 (antiproliferative) 和促進細胞凋零 (proapoptotic) 兩種分子機制 [21]。茶多酚中的 EGCG 可以藉由 AKT 路徑讓 Survivin 的表現量降低 [21]，也可以藉由 RhoA (Ras homolog gene family, member A) 的向下調節抑制 Survivin 對於放射線的抵抗力 [47]。我們的結果顯示綠茶和肺癌危險性間可能存在著反向的相關性，特別的是，綠茶飲用量對於肺癌發生的保護作用特別在 Survivin 降低啟動子活性的基因型上特別明顯。然而，仍需要更多研究來加以驗證我們的結果。

許多人類的觀察研究建議蔬果的攝取對於肺癌的預防是有益的，大部分的證據傾向於蔬果攝取與肺癌危險呈現反向關係；但是在一項西班牙的病例對照研究中，並沒有發現蔬果攝取對於肺癌具有保護效應 [48]。我們的結果顯示，蔬果攝取與肺癌危險並沒有相關存在。可能的原因是利用問卷去估計蔬果攝取量是無法準確評估實際的攝取量，並且造成估計上的偏差；對於多數研究對象而言，估計特定種類的蔬果攝食頻率是有困難的。蔬果攝取量與肺癌危險之間的關係，仍有待進一步的研究來加以釐清。烹飪油煙的複雜成分中，芳香雜環化合物 (aromatic heterocyclic amines [HCAs]) 是主要的致癌物，並且與肺癌相關 [49]。在我們的研究中，炒菜油煙每週暴露的時間對於肺癌發生危險有一個趨勢關係存在；特別在炒菜油煙每週暴露大於三小時以上者具有較高的肺癌發生危險。在我們的研究中，病例以及對照也被詢問其肺癌家族史，並且病例相較於對照具有較高比例的肺癌家族史。這項結果顯示，肺癌的家族危險性可能是歸因於遺傳因子或是共同的環境因子。

我們的結果建議著，茶多酚可明顯有效地減少抽菸相關的肺癌發生。而攜帶增加啟動子活性之 Survivin 基因型的人，可能藉由抑制細胞凋零而促使肺癌細胞生長，因此是較不具保護作用的；然而，Survivin 基因多形性與綠茶對於癌症預防上的效應目前尚未明確，未來仍須有更多的研究去進一步地確立三者之間的關係。在本研究中，我們的研究對象樣本數較少，因此經過分層分析後，會限制統計檢定力對於肺癌發生危險相關的判定；並且使用問卷詢問綠茶飲用量以及茶品種類的錯誤分類，可能無法準確地評估綠茶實際的攝取量。因此，未來仍需增加研究對象的數目以及設計更準確的評估方法，來更確立我們的結果。

致謝：

本研究感謝國科會 (NSC-98-2815-C-040-028-B) 的贊助，也感謝教授翁瑞宏老師、何明霖醫師、陳俊傑醫師、黃駿煌學長、林宜心學姊、鄧雅如學姊、徐啟文同學、何宥豪同學、黃家禎同學、蔡巧湄同學、林雨萱同學的協助。

參考文獻：

1. Boyle P. Maisonneuve P. Lung cancer and tobacco smoking. *Lung Cancer*. 12:167-81, 1995.
2. Hoffmann D. Djordjevic MV. Hoffmann I. The changing cigarette. *Prev Med*. 26:427-34, 1997.
3. Church DF. Pryor WA. Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ Health Perspect*. 64:111-26, 1985.
4. Pryor WA. Prier DG. Church DF. Electron-spin resonance study of mainstream and sidestream cigarette smoke: nature of the free radicals in gas-phase smoke

- and in cigarette tar. *Environ Health Perspect.* 47:345-55, 1983.
5. Pryor WA. Hales BJ. Premovic PI. Church DF. The radicals in cigarette tar: their nature and suggested physiological implications. *Science.* 220:425-7, 1983.
 6. Graham HN. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. *Prev Med.* 21:334-50, 1992.
 7. Balentine DA. Wiseman SA. Bouwens LC. The chemistry of tea flavonoids. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 37:693-704, 1997.
 8. Wiseman SA. Balentine DA. Frei B. Antioxidants in tea. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 37:705-18, 1997.
 9. Rice-Evans C. Implications of the mechanisms of action of tea polyphenols as antioxidants in vitro for chemoprevention in humans. *Proc Soc Exp Biol Med.* 220:262-6, 1999.
 10. Xu Y. Ho CT. Amin SG. Han C. Chung FL. Inhibition of tobacco-specific nitrosamine-induced lung tumorigenesis in A/J mice by green tea and its major polyphenol as antioxidants. *Cancer Res.* 52:3875-9, 1992.
 11. Wang ZY. Hong JY. Huang MT. Reuhl KR. Conney AH. Yang CS. Inhibition of N-nitrosodiethylamine- and 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced tumorigenesis in A/J mice by green tea and black tea. *Cancer Res.* 52:1943-7, 1992.
 12. Yang CS. Wang ZY. Tea and cancer. *J Natl Cancer Inst.* 85:1038-49, 1993.
 13. Ahmad N. Mukhtar H. Green tea polyphenols and cancer: biologic mechanisms and practical implications. *Nutr Rev.* 57:78-83, 1999.
 14. Yang GY. Liao J. Li C. Chung J. Yurkow EJ. Ho CT. et al. Effect of black and green tea polyphenols on c-jun phosphorylation and H₂O₂ production in transformed and non-transformed human bronchial cell lines: possible

- mechanisms of cell growth inhibition and apoptosis induction. *Carcinogenesis*. 21(11):2035-9, 2000.
15. Yang GY. Liao J. Kim K. Yurkow EJ. Yang CS. Inhibition of growth and induction of apoptosis in human cancer cell lines by tea polyphenols. *Carcinogenesis*. 19(4):611-6, 1998.
 16. Schimmer AD. Inhibitor of apoptosis proteins: translating basic knowledge into clinical practice. *Cancer Res*. 64:7183-90, 2004.
 17. Hao Y. Sekine K. Kawabata A. Nakamura H. Ishioka T. Ohata H. et al. Apollon ubiquitinates SMAC and caspase-9, and has an essential cytoprotection function. *Nat Cell Biol*. 6:849-60, 2004.
 18. Li F. Ambrosini G. Chu EY. Plescia J. Tognin S. Marchisio PC. et al. Control of apoptosis and mitotic spindle checkpoint by survivin. *Nature*. 396:580-4, 1998.
 19. Tanabe H. Yagihashi A. Tsuji N. Shijubo Y. Abe S. Watanabe N. Expression of survivin mRNA and livin mRNA in non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer*. 46:299-304, 2004.
 20. Nasu S. Yagihashi A. Izawa A. Saito K. Asanuma K. Nakamura M. et al. Survivin mRNA expression in patients with breast cancer. *Anticancer Res*. 22:1839-43, 2002.
 21. Tang Y. Zhao DY. Elliott S. Zhao W. Curiel TJ. Beckman BS. et al. Epigallocatechin-3 gallate induces growth inhibition and apoptosis in human breast cancer cells through survivin suppression. *Int J Oncol*. 31:705-11, 2007.
 22. Ambrosini G. Adida C. Sirugo G. Altieri DC. Induction of apoptosis and inhibition of cell proliferation by survivin gene targeting. *J Biol Chem*. 273:11177-82, 1998.
 23. Otaki M. Hatano M. Kobayashi K. Ogasawara T. Kuriyama T. Tokuhisa T. Cell

- cycle-dependent regulation of TIAP/m-survivin expression. *Biochim Biophys Acta*. 1493:188-94, 2000.
24. Li F. Altieri DC. The cancer antiapoptosis mouse survivin gene: characterization of locus and transcriptional requirements of basal and cell cycle-dependent expression. *Cancer Res*. 59:3143-51, 1999.
 25. Xu Y. Fang F. Ludewig G. Jones G. Jones D. A mutation found in the promoter region of the human survivin gene is correlated to overexpression of survivin in cancer cells. *DNA Cell Biol*. 23:419-29, 2004.
 26. Jang JS. Kim KM. Kang KH. Choi JE. Lee WK. Kim CH. et al. Polymorphisms in the survivin gene and the risk of lung cancer. *Lung Cancer*. 60:31-9, 2008.
 27. Anonymous. *Histological typing of lung tumors* (2nd ed.). WHO, Geneva, 1981.
 28. Tsubono Y. Nishino Y. Komatsu S. Hsieh CC. Kanemura S. Tsuji I. et al. Green tea and the risk of gastric cancer in Japan. *N Engl J Med*. 344:632-6, 2001.
 29. Wang YH. Chiou HY. Lin CT. Hsieh HY. Wu CC. Hsu CD. et al. Association between Survivin gene promoter -31 C/G polymorphism and urothelial carcinoma risk in Taiwanese population. *Urology*. 73(3):670-4, 2008.
 30. Goldbohm RA. Hertog MG. Brants HA. van Poppel G. van den Brandt PA. Consumption of black tea and cancer risk: a prospective cohort study. *J Natl Cancer Inst*. 88(2):93-100, 1996.
 31. Koo LC. Dietary habits and lung cancer risk among Chinese females in Hong Kong who never smoked. *Nutr Cancer*. 11(3):155-72, 1988.
 32. Zheng W. Doyle TJ. Kushi LH. Sellers TA. Hong CP. Folsom AR. Tea consumption and cancer incidence in a prospective cohort study of postmenopausal women. *Am J Epidemiol*. 144(2):175-82, 1996.
 33. Mettlin C. Milk drinking, other beverage habits, and lung cancer risk. *Int J*

- Cancer. 43(4):608-12, 1989.
34. Kinlen LJ. Willows AN. Goldblatt P. Yudkin J. Tea consumption and cancer. *Br J Cancer*. 58(3):397-401, 1988.
 35. Tewes FJ. Koo LC. Meisgen TJ. Rylander R. Lung cancer risk and mutagenicity of tea. *Environ Res*. 52(1):23-33, 1990.
 36. Ohno Y. Wakai K. Genka K. Ohmine K. Kawamura T. Tamakoshi A. et al. Tea consumption and lung cancer risk: a case-control study in Okinawa, Japan. *Jpn J Cancer Res*. 86(11):1027-34, 1995.
 37. Mendilaharsu M. De Stefani E. Deneo-Pellegrini H. Carzoglio JC. Ronco A. Consumption of tea and coffee and the risk of lung cancer in cigarette-smoking men: a case-control study in Uruguay. *Lung Cancer*. 19(2):101-7, 1998.
 38. Li Q. Kakizaki M. Kuriyama S. Sone T. Yan H. Nakaya N. et al. Green tea consumption and lung cancer risk: the Ohsaki study. *Br J Cancer*. 99(7):1179-84, 2008.
 39. Schwarz B. Bischof HP. Kunze M. Coffee, tea, and lifestyle. *Prev Med*. 23(3):377-84, 1994.
 40. Gazouli M. Tzanakis N. Rallis G. Theodoropoulos G. Papaconstantinou I. Kostakis A. et al. Survivin -31G/C promoter polymorphism and sporadic colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis*. 24(2):145-50, 2009.
 41. Borbely AA. Murvai M. Szarka K. Konya J. Gergely L. Hernadi Z. et al. Survivin promoter polymorphism and cervical carcinogenesis. *J Clin Pathol*. 60(3):303-6, 2007.
 42. Han CH. Wei Q. Lu KK. Liu Z. Mills GB. Wang LE. Polymorphisms in the survivin promoter are associated with age of onset of ovarian cancer. *Int J Clin Exp Med*. 2(4):289-99, 2009.

43. Soini Y. Paakko P. Lehto VP. Histopathological evaluation of apoptosis in cancer. *Am J Pathol.* 153(4):1041-53, 1998.
44. Joseph B. Ekedahl J. Sirzen F. Lewensohn R. Zhivotovsky B. Differences in expression of pro-caspases in small cell and non-small cell lung carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun.* 262(2):381-7, 1999.
45. Shivapurkar N. Toyooka S. Eby MT. Huang CX. Sathyanarayana UG. Cunningham HT. et al. Differential inactivation of caspase-8 in lung cancers. *Cancer Biol Ther.* 1(1):65-9, 2002.
46. Yang L. Zhu H. Zhou B. Gu H. Yan H. Tang N. et al. The association between the survivin C-31G polymorphism and gastric cancer risk in a Chinese population. *Dig. Dis. Sci.* 54(5):1021-8, 2009.
47. McLaughlin N. Annabi B. Bouzeghrane M. Temme A. Bahary JP. Moumdjian R. et al. The Survivin-mediated radioresistant phenotype of glioblastomas is regulated by RhoA and inhibited by the green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate. *Brain Res.* 1071(1):1-9, 2006.
48. Ruano-Ravina A. Figueiras A. Dosil-Diaz O. Barreiro-Carracedo A. Barros-Dios JM. A population-based case-control study on fruit and vegetable intake and lung cancer: a paradox effect?. *Nutr Cancer.* 43(1):47-51, 2002.
49. Seow A. Poh WT. Teh M. Eng P. Wang YT. Tan WC. et al. Fumes from meat cooking and lung cancer risk in Chinese women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 9(11):1215-21, 2000.

表一：肺癌病例與對照之特徵的頻率分佈

變項	病例	對照	P值 ^a
	N = 172	N = 344	
性別			
男性	105 (61.0%)	210 (61.0%)	1.00
女性	67 (39.0%)	134 (39.0%)	
年齡 (平均 ± SD)	66.2 ± 10.7	64.6 ± 10.8	0.10
≤ 50	17 (9.9%)	36 (10.5%)	0.50
51-59	28 (16.3%)	70 (20.3%)	
≥ 60	127 (73.8%)	238 (69.2%)	
抽菸狀況			
無	78 (45.3%)	249 (72.4%)	< 0.01
有	94 (54.7%)	95 (27.6%)	
抽菸包年			
0	78 (45.3%)	250 (72.7%)	< 0.01
1-39	29 (16.9%)	42 (12.2%)	
≥ 40	65 (37.8%)	52 (15.1%)	
綠茶飲用量 (杯/天)			
≥ 1	7 (4.1%)	66 (19.2%)	< 0.01
< 1	19 (11.0%)	50 (14.5%)	
0	146 (84.9%)	228 (66.3%)	
綠茶飲用量 (年)			
> 10	9 (5.2%)	57 (16.6%)	< 0.01
≤ 10	17 (9.9%)	59 (17.1%)	
0	146 (84.9%)	228 (66.3%)	
蔬果攝取 (餐/週)			
≥ 21	87 (50.6%)	175 (50.9%)	0.33
15-20	42 (24.4%)	67 (19.5%)	
≤ 14	43 (25.0%)	102 (29.6%)	
炒菜油煙 (時/週)			
< 1	138 (80.2%)	317 (92.1%)	< 0.01
1-3	17 (9.9%)	15 (4.4%)	
≥ 3	17 (9.9%)	12 (3.5%)	
肺癌家族史			
無	162 (94.2%)	338 (98.3%)	0.01
有	10 (5.8%)	6 (1.7%)	
病理型態			
腺癌	94 (54.7%)		

鱗狀細胞癌	47 (27.3%)
其他 ^b	31 (18.0%)

^a類別性變項以 χ^2 -test或Fisher's exact test進行檢定，連續性變項以 t -test進行檢定。^b其他包括小細胞癌 (n = 8)、大細胞癌 (n = 1)、混合細胞癌 (n = 6)、與未分類 (n = 16)。

表二：肺癌病例及对照其 Survivin -31 基因型之分佈

基因型	病例	对照	P值 ^a
	n = 172	n = 344	
Survivin -31			
GG	48 (27.9%)	84 (24.4%)	0.36
GC	76 (44.2%)	175 (50.9%)	
CC	48 (27.9%)	85 (24.7%)	
G 偶基因	172 (50.0%)	343 (49.9%)	0.96
C 偶基因	172 (50.0%)	345 (50.1%)	

^a 數據以 χ^2 -test 進行檢定。

表三：肺癌之各種危險因子在調整後之危險對比值

變項	多變項調整後之 OR	95% C.I.
抽菸包年		
0	1.00	
1-39	4.00	2.20-7.22 ^{***}
≥ 40	5.08	2.95-8.76 ^{***}
綠茶飲用量 (杯/天)		
≥ 1	1.00	
< 1	4.15	1.61-10.72 ^{**}
0	4.90	2.09-11.47 ^{***}
炒菜油煙 (時/週)		
< 1	1.00	
1-3	2.00	1.05-3.81 [*]
≥ 3	2.09	1.05-4.18 [*]
肺癌家族史		
無	1.00	
有	2.25	1.01-5.02 [*]
Survivin -31 基因型		
GG	1.00	
GC	0.93	0.61-1.41
CC	0.98	0.61-1.57

^a資料以性別與年齡所配對，並以多變項條件式對數迴歸模式計算。

* $0.01 < P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

表四：不同飲用綠茶與抽菸狀況對於肺癌發生之相關

變項	抽菸狀況					
	非抽菸者			抽菸者		
	病例	對照	OR (95% C.I.) ^a	病例	對照	OR (95% C.I.) ^a
綠茶飲用量 (杯/天)						
≥ 1	4	32	1.00	3	34	1.00
< 1	3	38	0.71 (0.15-3.48)	16	12	6.18 (2.99-12.77)**
0	71	179	1.90 (0.63-5.73)	75	49	5.99 (3.58-10.02)**
P for trend			0.004			< 0.001
交互作用檢定			$\chi^2 = 21.39$ (1 df); $P < 0.001$			
綠茶飲用量 (年)						
> 10	2	29	1.00	7	27	1.00
≤ 10	5	41	1.81 (0.33-9.85)	12	18	3.12 (1.44-6.78)*
0	71	179	3.12 (0.74-13.18)	75	49	4.74 (2.94-7.60)**
P for trend			0.002			< 0.001
交互作用檢定			$\chi^2 = 24.75$ (1 df); $P < 0.001$			

^a資料以性別與年齡所配對，以多變項條件式對數迴歸模式計算，並且調整炒菜油煙暴露和肺癌家族史的效應。

* $0.01 < P < 0.05$, ** $P < 0.001$ 。

表五：不同飲用綠茶與抽菸包年對於肺癌發生之相關

變項	抽菸包年								
	0			1-39			≥ 40		
	病例	對照	OR (95% C.I.) ^a	病例	對照	OR (95% C.I.) ^a	病例	對照	OR (95% C.I.) ^a
綠茶飲用量 (杯/天)									
≥ 1	4	32	1.00	2	17	1.00	1	17	1.00
< 1	3	39	0.70 (0.14-3.40)	8	4	2.72 (1.22-6.07)*	8	8	3.27 (1.40-7.66)*
0	71	179	1.87 (0.63-5.55)	19	21	1.85 (1.08-3.20)*	56	28	3.72 (2.37-5.83)**
P for trend			0.003			0.03			< 0.001
交互作用檢定	$\chi^2 = 22.12$ (1 df); $P < 0.001$								
綠茶飲用量 (年)									
> 10	2	29	1.00	4	11	1.00	3	17	1.00
≤ 10	5	42	1.82 (0.34-9.91)	6	10	1.32 (0.54-3.22)	6	8	3.18 (1.19-8.51)*
0	71	179	3.13 (0.74-13.26)	19	21	1.79 (1.04-3.08)*	56	28	3.57 (2.29-5.56)**
P for trend			0.001			0.23			< 0.001
交互作用檢定	$\chi^2 = 25.85$ (1 df); $P < 0.001$								

^a資料以性別與年齡所配對，以多變項條件式對數迴歸模式計算，並且調整炒菜油煙暴露和肺癌家族史的效應。

* $0.01 < P < 0.05$, ** $P < 0.001$ 。

表六：不同飲用綠茶與 Survivin 基因多形性對於肺癌發生之相關

變項	Survivin -31CC 基因型			Survivin -31GG + GC 基因型		
	病例	對照	OR (95% C.I.) ^a	病例	對照	OR (95% C.I.) ^a
綠茶飲用量 (杯/天)						
< 1	41	57	1.00	105	171	1.36 (0.94-1.96)
≥ 1	7	28	1.00	19	88	0.56 (0.34-0.93)*
綠茶飲用量 (年)						
≤ 10	45	73	1.00	118	214	1.36 (0.93-1.99)
> 10	3	12	1.00	6	45	0.33 (0.14-0.77)*

^a資料以性別與年齡所配對，以多變項條件式對數迴歸模式計算，並且調整抽菸包年、炒菜油煙暴露和肺癌家族史的效應。

* $0.01 < P < 0.05$, ** $P < 0.001$ 。