

# 科技部補助

## 大專學生研究計畫研究成果報告

\* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \*  
\* 計畫 : G 蛋白偶聯的雌激素受體與紅血球生成素基因型對於 \*  
\* 名稱 : 台灣人肺癌發生的單獨與交互作用 \*  
\* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \*

執行計畫學生： 邵宣文  
學生計畫編號： MOST 106-2813-C-040-030-B  
研究期間： 106 年 07 月 01 日至 107 年 02 月 28 日止，計 8 個月  
指導教授： 翁瑞宏

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 107 年 04 月 16 日

**G 蛋白偶聯的雌激素受體與紅血球生成素基因型**

**對於台灣人肺癌發生的單獨與交互作用**

學生：邵宣文

指導老師：翁瑞宏教授

## 摘要

在不抽菸的人群之中，女性罹患肺癌 (lung cancer) 的危險性較男性為高；同樣地，抽菸女性的肺癌發生危險性亦較男性為高。如此之結果建議著內源性雌激素 (estrogen) 可能促進癌症的發展。進一步地，香菸可能誘導肺部細胞的雌激素表現；重要的是，G蛋白偶聯的雌激素受體1 (G protein-coupled estrogen receptor 1 [GPER1]) 快速地進行著雌激素非基因組作用。紅血球生成素 (erythropoietin [EPO]) 與其受體EPOR (erythropoietin receptor [EPOR]) 之表現則受到雌激素所調節；重要的是，EPO與EPOR的訊息傳遞在癌細胞的增生、轉移、侵襲和細胞凋亡等若干機制具有重要的作用。研究也已經顯示細胞核外的訊息傳遞調控著癌細胞的增生、存活和侵襲，而GPER1表現和EPO/EPOR系統之間可能具有相互關聯，因此雌激素的膜性受體和EPO或EPOR可能獨立或共同相關於癌症的發展；然而，目前並沒有關於GPER1與EPO或EPOR表現對於肺癌發展的確切證據。因此，本研究設計一項病例對照研究以探討GPER rs3808350、rs3808351、以及EPO rs576236基因型與肺癌的發生危險性之相關，並且分析抽菸、GPER基因型與EPO基因型分別對於肺癌發生的交互作用；進一步地，如此的相關效應也將在同年齡的男女分層之間進行比較，希望所得的結果可以有助於了解台灣人之肺癌發生的性別差異。

前言：

肺癌是世界各地的主要癌症之一，並且從1982年起便是台灣癌症相關死亡率的主要成因。在不抽菸的人群之中，女性罹患肺癌的危險性較男性為高；在抽菸暴露量一致的情況下，抽菸女性的肺癌發生危險性亦較男性高出兩倍以上。在非小細胞癌患者當中，老年男性的肺癌組織之雌激素濃度比停經女性為高；在臨床上，使用抗雌激素藥物亦被指出可以改善女性肺癌患者的預後。因此，內源性雌激素可能促進了肺癌的發展；但是，雌激素在肺癌發展中的角色仍不清楚，因此值得加以瞭解。

雌激素受體可與雌激素結合，調控著不同性別的各種生理功能。研究觀察到香菸可能誘導肺部細胞的雌激素表現，並且雌激素受體在非小細胞肺癌的表現與病患的預後具有統計相關。跨膜的G蛋白偶聯雌激素受體主要是透過表皮生長因子受體轉活後的蛋白激酶途徑來傳導快速非基因組作用，最終誘導細胞增殖與分化等多種功能。此外，紅血球生成素與其受體之表現則受到雌激素所調節；重要的是，紅血球生成素與其受體的訊息傳遞在癌細胞的增生、轉移、侵襲和細胞凋亡等若干機制具有重要的作用。研究也已經顯示細胞核外的訊息傳遞調控著癌細胞的增生、存活和侵襲，而G蛋白偶聯雌激素受體表現和紅血球生成素與其受體系統之間可能具有相互關聯，因此雌激素的膜性受體和EPO或EPOR可能獨立或共同相關於癌症的發展；然而，目前並沒有關於GPER1與EPO或EPOR表現對於肺癌發展的確切證據。

本研究探討GPER rs3808350、rs3808351、以及EPO rs576236基因型與肺癌的發生危險性之相關，並且分析抽菸、GPER基因型與EPO基因型分別對於肺癌發

生的交互作用；進一步地，如此的相關效應也將在同年齡的男女分層之間進行比較，希望所得的結果可以有助於了解台灣人之肺癌發生的性別差異。

材料與方法：

### 研究對象

本計畫將是審核通過後始執行的。總計，共有150位原發性肺癌（國際疾病分類第10版，ICD10代碼C33-C34）病患將從台中童綜合醫院與台中澄清醫院被納入至本研究中，這些醫院對於來自所有社會經濟階層的病患皆具有可近性。全部病例也將由合格的病理學家執行一系列的病理階段檢查；腫瘤的類型和階段將依據世界衛生組織 (World Health Organization) 的分類方式來決定 [40]。同時，300位潛在的對照將是從不具癌症病史的病患中隨機選取，他們將是在相同的教學醫院執行身體檢查。在本研究中，採用1：2之病例與對照的配對比例，對照將個別地與病例的年齡 ( $\pm 5$ 歲) 及性別進行配對。

### 問卷訪視

研究對象的流行病學資料將是使用標準化問卷執行面對面訪談所收集，問卷所涵蓋的問題包括人口學特質與生活型態，如同先前所執行的研究 [41]。研究對象的抽菸習慣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來計算，亦即每天的包數乘以抽菸的年數。綠茶飲用之調查包括是否飲用綠茶、飲用綠茶的頻率以及年數；水果及蔬菜的攝取也將從普遍可獲得並且一般被攝取的種類中，計算出最近三年的每週標準化平均餐數。對於烹飪的暴露，研究對象將是

被詢問使用各種烹飪方法的頻率，特別是他們平常的炒菜方式。肺癌家族史，則將是定義為研究對象之一等親親屬具有肺癌者。對於女性對象，荷爾蒙補充療法 (hormone replacement therapy [HRT]) 和避孕藥物的累積持續時間、分娩、流產、以及停經狀態也都將進一步地詢問。荷爾蒙補充療法的使用被定義為雌激素補充療法持續時間為至少三個月，避孕藥物的使用亦被定義為治療持續時間至少三個月。

### GPER 基因型以及 EPO 基因型

所有研究對象之靜脈血將被收集在含有抗凝血劑 (heparin) 的採血管中，並且將被分離成為血漿、白血球和紅血球，這些樣本將在同一天被處理並儲存於-80°C 下。基因體 DNA 是使用 Genomic DNA Isolation Kit (Qiagen Inc., Hilden, Germany) 來純化。

根據Giess等人 [36] 的研究，一段包含GPER rs3808350基因多形性的基因體 DNA 片段將被增幅，用以增幅GPER基因的引發子序列為P1: 5'-CTA TTT TTA AGT GAC ATG TCG CA-3', P2: 5'-ATA AAA ATT CAA ACC TTG AAA TAT CC-3', P3:5'- CAG TAC AAG TTA CTT ACC CGC C-3', P4: 5'-ATA TGT ACC TTT TTG TAT TTG GAT GAT A-3'。0.5 µl 的DNA將被加至包含200 ng的引發子、1.5 mM MgCl<sub>2</sub>、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，最後總體積將調整為50 µl。PCR循環參數組成為94°C下10分鐘之先前培養，接續進行於94°C下30秒之變性、69°C下30秒之黏合、以及72°C下1分鐘之延展，共38回合循環，反應於最後的72°C 5分鐘之延展後終止。PCR產物將在3.0%之瓊膠中以EB染色後判讀，攜帶GPER rs3808350 A對偶基因型個體將顯現出205 bp產物片段，攜帶G對偶基因

型者則有294 bp產物片段。一段包含GPER rs3808351基因多形性的基因體DNA片段也將被增幅，用以增幅GPER基因的引發子序列為P1: 5'-GGC TTG GGG GGC CTC GCT ATG-3', P2: 5'-CGA TGG CCG CCC CAT GAG TGT-3', P3: 5'-CTC ATA CTC AGC GGA CAA AGG ATC ACT CAG C-3', P4: 5'- CTG CTC ATG GTT GCG GAT TTC ACA GTC T-3'。PCR循環參數組成為95°C下5分鐘之先前培養，接續進行於95°C下30秒之變性、60°C下90秒之黏合、以及72°C下40秒之延展，共35回合循環，反應於最後的72°C 10分鐘之延展後終止。PCR產物將在2%之瓊膠中以EB染色後判讀，攜帶GPER rs3808351 A對偶基因型個體將顯現出231 bp產物片段，攜帶G對偶基因型者則有196 bp產物片段。

用以增幅EPO rs576236基因的引發子 [39]，序列將為5'-TAG CCT CCT GCA TAT TTG GGI-3'以及5'-CTT GAG CCC TCA ATG TCC TC-3'。PCR循環參數為95°C下五分鐘之先前培養，接續於95°C下30秒之變性步驟、60°C下30秒之黏合、以及72°C下30秒之延展，共35回合循環，反應於最後的72°C十分鐘之延展後終止。該PCR產物的長度為280 bp，PCR的產物將再於37°C下進行限制酶Hpy166 III消化24小時。同型TT基因型的個體表現出一段280 bp的產物片段，同型CC基因型的個體顯示出一段280 bp以及一段22 bp的產物片段，而異型CT基因型的個體則具有三段產物片段。

#### 統計分析

對於病例組與對照組的性別、收案時之人口學變項、生活型態、賀爾蒙補充療法、肺癌家族史、GPER基因型以及EPO基因型之比較，若是連續性變項將以平均值 ± 標準差表示，並以Student's t-test進行檢定；若為類別性變項則將以個數

與百分比呈現，以 $\chi^2$ -test檢定類別性變項之分布。隨後，在不同的性別分層中，分別檢定GPER基因型與EPO基因型在病例組與對照組之頻率差異。使用多變項條件邏輯迴歸 (multiple conditional logistic regression) 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 [CI])。進一步地，likelihood ratio  $\chi^2$ -test也將被執行以檢定抽菸狀況、GPER基因型、以及EPO基因型分別對於肺癌發生危險性之交互作用。所有的P值皆將以雙尾檢定來計算，全部數據以SAS 9.4分析。

## 結果

總計，共有772名研究對象參與本研究，其特徵整理於表一。在組織學確認為原發性肺癌之257名病例中，155名 (60.1%) 為肺腺癌以及55名 (21.3%) 為鱗狀細胞癌。在研究對象中，男性所佔比例為60.5%，女性為39.5%；肺癌病患的平均年齡為64.9歲，對照為63.8歲。如同我們所預期的，相較於對照，肺癌病例具有較多抽菸者 (52.3% vs. 30.2%；OR = 2.51，95% C.I. = 1.84-3.41)；32.6%的病例抽菸超過40包年，而在對照中此數值是15.9% (OR = 3.00，95% C.I. = 2.08-4.33)。在飲用綠茶的部分，肺癌病例相較於對照有較高比率之未飲用綠茶者 (77.5% vs. 64.5%)；在飲用綠茶的時間上，病例組也僅有10.9%的比率超過十年，相較於對照組的比率 (18.2%) 是具有顯著的差異。此外，病例組與對照組在蔬果攝取頻率上呈現顯著的差異，病例組相較於對照組也具有顯著較高比例的炒菜油煙暴露以及肺癌家族史。

研究對象之 GPER1 rs3808351基因型的盛行率，顯示在表二。在病例組中，GPER1 rs3808351的 G 與 A 對偶基因頻率分別是72.9%以及27.1%，而對照組的



G 與 A 對偶基因頻率分別是67.6%以及32.4%，並且 G 對偶基因型之頻率分佈在病例組與對照組之間呈現顯著差異 (OR = 1.29, 95% C.I. = 1.02-1.62)。由於 GPER1 rs3808351 AA 基因型的個數較為稀少，因此 AA 基因型者將與 AG 基因型者進一步地在後續的統計分析中被合併計算。而相較於 GPER1 rs3808351 AG+AA 基因型者，攜帶 GG 基因型者具有顯著較高的肺癌發生危險性 (OR = 1.53, 95% C.I. = 1.13-2.08)。

在調整年齡、抽菸包年、綠茶飲用、蔬果攝取、炒菜油煙暴露與肺癌家族史之干擾效應後，相較於攜帶 GPER1 rs3808351 AG+AA 基因型之女性 (OR = 1.00)，攜帶 GG 基因型之女性呈現出顯著較高的肺癌發生危險 (OR = 1.76, 95% C.I. = 1.06-2.92)。然而，相較於攜帶 GPER1 rs3808351 AG+AA 基因型之男性 (OR = 1.00)，則攜帶 GG 基因型之男性並未展現出顯著較高的肺癌發生危險 (OR = 1.32, 95% C.I. = 0.85-2.01)。進一步地，當以攜帶 GPER1 rs3808351 AG+AA 基因型之男性為參考組，則攜帶 AG+AA 基因型之女性具有較高的肺癌發生危險性 (OR = 1.73, 95% C.I. = 0.99-2.93)，攜帶 GG 基因型之女性則具有更高的肺癌發生危險性 (OR = 3.07, 95% C.I. = 1.74-5.43)。然而，在全體研究對象之中，性別與 GPER1 rs3808351 基因型對於肺癌發生危險性並未呈現顯著的交互作用存在 (P = 0.36)。

隨後，我們分別分析抽菸狀況、抽菸包年以及 GPER1 rs3808351 基因型對於肺癌發生危險之合併效應 (表四)。在調整干擾因子的效應後，相較於攜帶 GPER1 rs3808351 AG+AA 基因型者之非抽菸者 (OR = 1.00)，則攜帶 GPER1 rs3808351 GG 基因型之非抽菸者具有1.59倍 (95% C.I. = 3.04-13.20) 的肺癌發生危險；攜帶 GPER1 rs3808351 AG+AA 基因型之抽菸者具有5.92倍 (95% C.I. = 3.49-10.04)

的肺癌發生危險，攜帶 GG 基因型之抽菸者則具有 7.88 倍 (95% C.I. = 4.51-14.40) 的肺癌發生危險；但抽菸狀況與 GPER1 rs3808351 基因型對於肺癌發生危險性並未具有顯著的交互作用存在 (P = 0.61)。我們也以 0、1-39、以及大於 40 包年之累積抽菸量分層來加以評估，同樣地選取攜帶 GPER1 rs3808351 AG+AA 基因型之抽菸包年為 0 包年者做為參考組 (OR = 1.00)，則攜帶 GPER1 rs3808351 GG 基因型之抽菸包年為大於 40 包年者 (OR = 9.57, 95% C.I. = 4.87-18.84)、以及攜帶 AG+AA 基因型之抽菸包年為大於 40 包年者 (OR = 6.72, 95% C.I. = 3.73-12.12) 分別具有顯著較高的肺癌發生危險性；而攜帶 GPER1 rs3808351 GG 基因型之抽菸包年為 1-39 包年者 (OR = 6.46, 95% C.I. = 3.10-13.49)、以及攜帶 AG+AA 基因型之抽菸包年為 1-39 包年者 (OR = 4.96, 95% C.I. = 2.58-9.52) 亦分別具有顯著較高的肺癌發生危險性。然而，累積抽菸量與 GPER1 rs3808351 基因型對於肺癌發生危險性並未具有顯著的交互作用存在 (P = 0.21)。

接續，我們分別分析綠茶飲用狀況、綠茶飲用年數以及 GPER1 rs3808351 基因型對於肺癌發生危險之合併效應 (表五)。在調整干擾因子的效應後，相較於攜帶 GPER1 rs3808351 AG+AA 基因型之飲用綠茶者 (OR = 1.00)，攜帶 GG 基因型之飲用綠茶者具有 1.44 倍 (95% C.I. = 0.76-2.73) 的肺癌發生危險，然而差距並未達到統計顯著性；此外，攜帶 GPER1 rs3808351 AG+AA 基因型之未飲用綠茶者 (OR = 1.95, 95% C.I. = 1.21-3.15)、以及攜帶 GG 基因型之未飲用綠茶者 (OR = 2.91, 95% C.I. = 1.76-4.79) 皆呈現出顯著較高的肺癌發生危險。當選取攜帶 GPER1 rs3808351 AG+AA 基因型之綠茶飲用年數大於 10 年者做為參考組 (OR = 1.00) 時，則攜帶 GPER1 rs3808351 GG 基因型且綠茶飲用年數小於等於 10 年者具有 2.97 倍 (95% C.I. = 1.54-5.61) 的肺癌發生危險。然而，綠茶飲用與 GPER1

rs3808351基因型對於肺癌發生危險性並未呈現顯著的交互作用存在。

另外，關於IGF-1基因型、以及GPER rs11544331基因型之相關結果仍待分析。

## 討論

現今的研究觀察到，攜帶 GPER1 rs3808351 GG 基因型者相較於攜帶 GPER1 rs3808351 GA 與 AA 基因型者具有較高的肺癌發生危險性。相較於正常的肺組織，過去的研究觀察到在肺腺癌、鱗狀細胞癌、以及大細胞肺癌細胞中之 GPER1 皆有高度表現 [21]。在 GPER1 基因啟動子 rs3808351 的位置，G 至 A 的鹼基置換會降低乳癌大腫瘤的機率 [36]，但是常見於精母細胞瘤 [37]；因此，如此的基因變異可能相關於 GPER1 的表現改變。

特別地是，我們的研究結果顯示 GPER1 rs3808351 基因型對於肺癌發生的效應主要呈現於女性之中，而並未呈現於男性。進一步地，當以 GPER1 rs3808351 基因型以及性別進行合併效應分析，則攜帶 GG 基因型之女性具有最高的肺癌發生危險性；雖然，性別與 GPER1 rs3808351 基因型對於肺癌發生危險性並未呈現顯著的交互作用。重要的是，在不抽菸的人群之中，女性罹患肺癌的危險性較男性為高 [8]。多項病例對照研究指出在抽菸暴露量一致的情況下，抽菸女性的肺癌發生危險性亦較男性高出兩倍以上 [9,10]。如此的證據建議著，一旦女性相同地擁有男性所暴露的條件，其罹患肺癌的危險性較男性為高；然而，攜帶 GPER1 rs3808351 GG 基因型的女性則更可能因為雌激素透過細胞膜上的雌激素受體來產生非基因組作用，例如透過 EGFR 轉活後的蛋白激酶途徑來傳導快速非基因組作用，最終誘導肺部細胞增生與分化 [21]。

另一方面，過去的研究也觀察到香菸可能誘導肺部細胞的雌激素表現 [42]。

有趣的是，現今的研究在抽菸與 GPER1 rs3808351 基因型之合併效應中，觀察到攜帶 GPER1 rs3808351 GG 基因型之抽菸者具有最高的肺癌發生危險性；雖然，抽菸狀況與 GPER1 rs3808351 基因型對於肺癌發生危險性並未具有顯著的交互作用。我們也以累積抽菸量分層來加以評估，最高的肺癌發生危險性也在攜帶 GPER1 rs3808351 GG 基因型之抽菸包年為大於40包年者中觀察到。抽菸和 GPER1 表現之間的關係尚不清楚，但是抽菸可能會影響 GPER1 的生理學，進而影響再循環系統或細胞層次的 GPER1 的濃度。無論如何，大量抽菸所造成的累積劑量可藉由增加暴露於致癌物的機會，同時增加雌激素或 GPER1 的濃度，進而提升了肺癌的危險性。雖然，現今的結果顯示抽菸與 GPER1 基因型對於肺癌之發生並未具有顯著的交互作用；但是，抽菸、雌激素濃度、以及 GPER1 基因型對於肺癌發生危險的可能相關機制仍然須要進一步地調查。

許多實驗研究報告顯示，綠茶可能抑制許多致癌物所引發的癌症 [43]；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 [44,45]。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 [43,46]。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 [47,48]。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。在現今的，我們並未觀察到綠茶與 GPER1 rs3808351 基因型對於肺癌發生危險性之交互作用，原因可能是因為我們研究對象的樣本數不足，限制了相關的統計檢定力。此外，我們並無法實際評估茶多酚於人體中之生物利用度。未來的研究應該致力於瞭解 GPER1 基因型對於綠茶抑制肺癌之相關效應，並且評估綠茶飲用對於雌

激素表現與肺癌發生關係之影響。

許多人類的觀察研究建議著蔬果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，一項於西班牙所執行的病例對照研究並沒有發現蔬果攝取對於肺癌具有保護效應 [49]；在我們的現今研究中，亦無觀察到蔬果攝取對於肺癌發生具有顯著相關性。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。在烹飪油煙的複雜成分中，芳香雜環化合胺 (aromatic heterocyclic amines) 是主要的致癌物，並且與肺癌相關 [50]。在我們的研究中，每週暴露於炒菜油煙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。另外，我們也詢問病例以及對照其肺癌家族史，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。

在我們的研究之中，健康對照的GPER1 rs3808351 A基因型頻率為32.4%，相近於過去於土耳其人所進行之研究所報告的頻率則為30.3% [51]；然而，我們現今健康對照之GPER1 rs3808351基因多形性的頻率亦不符合哈溫平衡。因此，現今的結果仍待與其他研究相互比較，以證實我們基因型技術的可信性。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，會限制基因型與肺癌發生危險相關判定的檢定力；並且使用問卷詢問綠茶飲用量以及茶品種類的錯誤分類，可能無法準確評估綠茶實際攝取的劑量。因此，未來仍需增加研究對象的樣本數以及設計更有效的研究方法，以更確立我們的結果。

我們的結果建議著，GPER1 rs3808351 GG 基因型相對於較高的肺癌發生危險性，並且此基因型對於肺癌發生的效應主要呈現於女性之中，而並未呈現於男性。

致謝：

感謝翁瑞宏老師、賴重佑醫師、蔡慶宏醫師、以及黃家禎學姊的協助，以及科技部的補助。

#### 參考文獻

1. Ferlay J. Soerjomataram I. Dikshit R. et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 136:E359-86, 2015.
2. Department of Health. Executive Yuan. Republic of China (1982-2015). *Health statistics*. vol. II. Vital statistics 1981-2014. Taipei: Department of Health.
3. Boyle P. Maisonneuve P. Lung cancer and tobacco smoking. *Lung Cancer*. 12:167-81, 1995.
4. Hoffmann D. Djordjevic MV. Hoffmann I. et al. The changing cigarette. *Prev Med*. 26:427-34, 1997.
5. Church DF. Pryor WA. Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ Health Perspect*. 64:111-26, 1985.
6. Pryor WA. Prier DG. Church DF. et al. 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.

7. Pryor WA. Hales BJ. Premovic PI. et al. The radicals in cigarette tar: their nature and suggested physiological implications. *Science*. 220:425-7, 1983.
8. Hecht SS. Cigarette smoking: cancer risks, carcinogens, and mechanisms. *Langenbecks Arch Surg*. 391:603-13, 2006.
9. Chen KY. Chang CH. Yu CJ. et al. Distribution according to histologic type and outcome by gender and age group in Taiwanese patients with lung carcinoma. *Cancer*. 103: 2566-74, 2005.
10. Thun MJ. Hannan LM. Adams-Campbell LL. et al. Lung cancer occurrence in never-smokers: an analysis of 13 cohorts and 22 cancer registry studies. *PLoS Med*. 5:e185, 2008.
11. Papadopoulos A. Guida F. Leffondré K. et al. Heavy smoking and lung cancer: are women at higher risk? Result of the ICARE study. *Br J Cancer*. 110:1385-91, 2014.
12. Powell HA. Iyen-Omofoman B. Hubbard RB. et al. The association between smoking quantity and lung cancer in men and women. *Chest*. 143:123-9, 2013.
13. Moore KA. Mery CM. Jaklitsch MT. et al. Menopausal effects on presentation, treatment, and survival of women with non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg*. 76:1789-95, 2003.
14. Niikawa H. Suzuki T. Miki Y. et al. Intratumoral estrogens and estrogen receptors in human non-small cell lung carcinoma. *Clin Cancer Res*. 14:4417-26, 2008.
15. Hsu LH. Liu KJ. Tsai MF. et al. Estrogen adversely affects the prognosis of patients with lung adenocarcinoma. *Cancer Sci*. 106:51-9, 2015.
16. Bouchardy C. Benhamou S. Schaffar R. et al. Lung cancer mortality risk among

- breast cancer patients treated with anti-estrogens. *Cancer*. 117:1288-95, 2011.
17. Lothar SA. Harding GA. Musto G. et al. Antiestrogen use and survival of women with non-small cell lung cancer in Manitoba, Canada. *Horm Cancer*. 4:270-6, 2013.
  18. Nelson LR. Bulun SE. Estrogen production and action. *J Am Acad Dermatol*. 45(3 Suppl):S116-24, 2001.
  19. Lombardi G. Zarrilli S. Colao A. et al. Estrogens and health in males. *Mol Cell Endocrinol*. 178:51-5, 2001.
  20. Chen GG. Zeng Q. Tse GM. Estrogen and its receptors in cancer. *Med Res Rev*. 28:954-74, 2008.
  21. Wang D. Hu L. Zhang G. et al. G protein-coupled receptor 30 in tumor development. *Endocrine*. 38:29-37, 2010.
  22. Lombardero M. Kovacs K. Scheithauer BW. Erythropoietin: a hormone with multiple functions. *Pathobiology*. 78:41-53, 2011.
  23. Nekoui A. Blaise G. Erythropoietin and nonhematopoietic effects. *Am J Med Sci*. 353:76-81, 2017.
  24. Kuhrt D. Wojchowski DM. Emerging EPO and EPO receptor regulators and signal transducers. *Blood*. 125:3536-41, 2015.
  25. Hedley BD. Allan AL. Xenocostas A. The role of erythropoietin and erythropoiesis-stimulating agents in tumor progression. *Clin Cancer Res*. 17:6373-80, 2011.
  26. Debeljak N. Solár P. Sytkowski AJ. Erythropoietin and cancer: the unintended consequences of anemia correction. *Front Immunol*. 5:563, 2014.



27. Saintigny P. Besse B. Callard P. et al. Erythropoietin and erythropoietin receptor coexpression is associated with poor survival in stage I non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 13:4825-31, 2007.
28. Crawford J. Kosmidis PA. Hirsch FR. et al. Targeting anemia in patients with lung cancer. *J Thorac Oncol.* 1:716-25, 2006.
29. Bertout JA. Patel SA. Simon MC. The impact of O<sub>2</sub> availability on human cancer. *Nat Rev Cancer.* 8:967-75, 2008.
30. Paul I. Lappin TR. Maxwell P. et al. Pre-operative plasma erythropoietin concentration and survival following surgery for non-small cell lung cancer. *Lung Cancer.* 51:329-34, 2006.
31. Rades D. Setter C. Dahl O. et al. Prognostic impact of erythropoietin expression and erythropoietin receptor expression on locoregional control and survival of patients irradiated for stage II/III non-small-cell lung cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 80:499-505, 2011.
32. Yokomizo R. Matsuzaki S. Uehara S. et al. Erythropoietin and erythropoietin receptor expression in human endometrium throughout the menstrual cycle. *Mol Hum Reprod.* 8:441-6, 2002.
33. Prossnitz ER, Barton M. The G-protein-coupled estrogen receptor GPER in health and disease. *Nat Rev Endocrinol.* 7:715-26, 2011.
34. Mizukami Y. In vivo functions of GPR30/GPER-1, a membrane receptor for estrogen: from discovery to functions in vivo. *Endocrine J.* 57:101-7, 2010.
35. Jala VR. Radde BN. Haribabu B. et al. Enhanced expression of G-protein coupled estrogen receptor (GPER/GPR30) in lung cancer. *BMC Cancer.* 12:624, 2012.

36. Giess M. Lattrich C. Springwald A. et al. GPR30 gene polymorphisms are associated with progesterone receptor status and histopathological characteristics of breast cancer patients. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 118:7-12, 2010.
37. Chevalier N. Paul-Bellon R. Camparo P. et al. Genetic variants of GPER/GPR30, a novel estrogen-related G protein receptor, are associated with human seminoma. *Int J Mol Sci.* 15:1574-89, 2014.
38. Maiese K. Li F. Chong ZZ. New avenues of exploration for erythropoietin. *JAMA.* 293(1):90-5, 2005.
39. Zhang C. Li Z. Cao Q. et al. Association of erythropoietin gene rs576236 polymorphism and risk of adrenal tumors in a Chinese population. *J Biomed Res.* 28:456-61, 2014.
40. Anonymous. *Histological typing of lung tumors (2nd ed.).* World Health Organization. Geneva, 1981.
41. Lin IH. Ho ML. Chen HY. et al. Smoking, green tea consumption, genetic polymorphisms in the insulin-like growth factors and lung cancer risk. *PLoS One.* 7:e30951, 2012.
42. Meireles SI. Esteves GH. Hirata R Jr. et al. Early changes in gene expression induced by tobacco smoke: Evidence for the importance of estrogen within lung tissue. *Cancer Prev Res.* 3:707-17, 2010.
43. Yang CS. Wang ZY. Tea and cancer. *Natl Cancer Inst.* 85:1038-49, 1993.
44. Wiseman SA. Balentine DA. Frei B. Antioxidants in tea. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 37(8):705-18, 1997.
45. 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(4):262-6, 1999.

46. Ahmad N. Mukhtar H. Green tea polyphenols and cancer: biologic mechanisms and practical implications. *Nutr Rev.* 57(3):78-83, 1999.
47. ang GY. Liao J. Li C. et al. Effect of black and green tea polyphenols on c-jun phosphorylation and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production in transformed and non-transformed human bronchial cell lines: possible mechanisms of cell growth inhibition and apoptosis induction. *Carcinogenesis.* 21:2035-9, 2000.
48. Yang GY. Liao J. Kim K. et al. Inhibition of growth and induction of apoptosis in human cancer cell lines by tea polyphenols. *Carcinogenesis.* 19:611-6, 1998.
49. Ruano-Ravina A. Figueiras A. Dosil-Diaz O. et al. A population-based case-control study on fruit and vegetable intake and lung cancer: a paradox effect? *Nutr Cancer.* 43(1):47-51, 2002.
50. Seow A. Poh WT. Teh M. et al. Fumes from meat cooking and lung cancer risk in Chinese women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 9(11):1215-21, 2000.
51. Korkmaz HA. Edgünlü T. Eren E. et al. GPR30 gene polymorphisms are associated with gynecomastia risk in adolescents. *Horm Res Paediatr.* 83(3):177-82, 2015.

表一：肺癌病例與對照之人口學特徵的頻率分佈

變項	病例	對照	OR (95% C.I.) <sup>a</sup>
	N = 257	N = 515	
性別			
女	102 (39.5%)	204 (39.5%)	1.00
男	155 (60.5%)	311 (60.5%)	1.00 (0.74-1.36)
年齡 (歲, 平均 ± 標準差)	64.9 ± 11.8	63.8 ± 11.6	
≤ 50	31 (12.0%)	62 (12.0%)	1.00
51-59	50 (19.4%)	115 (22.3%)	0.87 (0.51-1.50)
≥ 60	176 (68.6%)	338 (65.7%)	1.04 (0.65-1.67)
抽菸狀況			
無	123 (47.7%)	359 (69.8%)	1.00
有	134 (52.3%)	156 (30.2%)	2.51 (1.84-3.41) <sup>***</sup>
抽菸包年			
0	123 (47.7%)	359 (69.8%)	1.00
1-39	50 (19.8%)	74 (14.3%)	2.02 (1.34-3.04) <sup>***</sup>
≥ 40	84 (32.6%)	82 (15.9%)	3.00 (2.08-4.33) <sup>***</sup>
飲用綠茶 (杯/天)			
≥ 1	19 (7.4%)	108 (20.9%)	1.00
< 1	39 (15.1%)	75 (14.6%)	2.96 (1.59-5.51) <sup>***</sup>
0	199 (77.5%)	332 (64.5%)	3.41 (2.03-5.73) <sup>***</sup>
飲用綠茶年數 (年)			
> 10	28 (10.9%)	94 (18.2%)	1.00
≤ 10	30 (11.6%)	89 (17.3%)	1.13 (0.63-2.04)
0	199 (77.5%)	332 (64.5%)	2.02 (1.28-3.18) <sup>**</sup>
蔬果攝取 (餐/週)			
≥ 21	120 (46.5%)	263 (51.0%)	1.00
15-20	62 (24.0%)	79 (15.3%)	1.72 (1.16-2.56) <sup>**</sup>
≤ 14	75 (29.5%)	173 (33.7%)	0.96 (0.68-1.35)
炒菜油煙暴露 (時/週)			
< 1	205 (79.8%)	465 (90.3%)	1.00
1-3	23 (8.9%)	27 (5.2%)	1.93 (1.08-3.44) <sup>*</sup>
≥ 3	29 (11.2%)	23 (4.5%)	2.85 (1.61-5.05) <sup>***</sup>
肺癌家族史			
無	234 (91.1%)	500 (97.1%)	1.00
有	23 (8.9%)	15 (2.9%)	1.64 (1.20-2.25) <sup>**</sup>
病理型態			
腺癌	155 (60.1%)		
鱗狀細胞癌	55 (21.3%)		
其他 <sup>b</sup>	47 (18.6%)		

1. <sup>a</sup>以邏輯斯迴歸模式計算。

2. <sup>b</sup>其他包括小細胞癌 (n = 11)、大細胞癌 (n = 1)、混和細胞癌 (n = 4) 與未分類 (n = 32)。

3. \*0.01 < P < 0.05, \*\*0.001 < P < 0.01, \*\*\*P < 0.001。

4. 表二：肺癌病例與對照之 GPER1 rs3808351 基因型的頻率分佈

變項	病例	對照	OR (95% C.I.) <sup>a</sup>
	N = 257	N = 515	
GPER1 rs3808351			
AA	1 (0.4%)	3 (0.6%)	0.52 (0.05-5.04)
AG	137 (53.5%)	327 (63.6%)	0.65 (0.48-0.89)**
GG	119 (46.1%)	185 (35.8%)	1.00
GG	119 (46.1%)	185 (35.8%)	1.53 (1.13-2.08)**
AG+AA	138 (53.9%)	330 (64.2%)	1.00
G對偶基因	375 (72.9%)	697 (67.6%)	1.29 (1.02-1.62)*
A對偶基因	139 (27.1%)	333 (32.4%)	1.00

5. <sup>a</sup> 以條件式邏輯斯迴歸模式計算。

6. \*P = 0.04, \*\*P < 0.01。

7. 表三：性別與 GPER1 rs3808351 基因型對於肺癌發生危險之交互作用

變項	GG 基因型			AG+AA 基因型		
	病例	對照	OR (95% C.I.) <sup>a</sup>	病例	對照	OR (95% C.I.) <sup>a</sup>
性別						
女	53	73	1.76 (1.06-2.92)*	49	131	1.00
男	66	112	1.32 (0.85-2.01)	89	199	1.00
女	53	73	3.07 (1.74-5.43)**	49	131	1.73 (0.99-2.93)
男	66	112	1.27 (0.83-1.96)	89	199	1.00
交互作用檢定	$\chi^2 = 0.86$ (1 df); P = 0.36					

8. <sup>a</sup>以邏輯斯迴歸模式計算，並且調整年齡、抽菸包年、綠茶飲用、蔬果攝取、炒菜油煙暴露和肺癌家族史的效應。

9. \*0.01 < P < 0.05, \*\*P < 0.01。

10. 表四：抽菸與 GPER1 rs3808351 基因型對於肺癌發生危險之交互作用

變項	GG 基因型			AG+AA 基因型		
	病例	對照	OR (95% C.I.) <sup>a</sup>	病例	對照	OR (95% C.I.) <sup>a</sup>
抽菸狀況						
抽菸者	57	54	7.88 (4.42-14.06)**	77	102	5.92 (3.49-10.04)**
非抽菸者	62	131	1.59 (1.02-2.46)*	61	228	1.00
交互作用檢定			$\chi^2 = 0.27$ (1 df); P = 0.61			
抽菸包年						
≥ 40	34	28	9.57 (4.87-18.84)**	50	54	6.72 (3.73-12.12)**
1-39	23	26	6.46 (3.10-13.49)**	27	48	4.96 (2.58-9.52)**
0	62	131	1.58 (1.02-2.44)*	61	228	1.00
交互作用檢定			$\chi^2 = 1.56$ (2 df); P = 0.21			

11. <sup>a</sup>以條件式邏輯斯迴歸模式計算，以性別與年齡進行配對，並且調整綠茶飲用、蔬果攝取、炒菜油煙暴露和肺癌家族史的效應。

12. \*0.05 < P < 0.01, \*\*P < 0.01。

13. 表五：綠茶飲用與 GPER1 rs3808351 基因型對於肺癌發生危險之交互作用

變項	GG 基因型			AG+AA 基因型		
	病例	對照	OR (95% C.I.) <sup>a</sup>	病例	對照	OR (95% C.I.) <sup>a</sup>
綠茶飲用狀況						
未飲用者	95	130	2.91 (1.76-4.79)**	104	202	1.95 (1.21-3.15)**
飲用者	24	55	1.44 (0.76-2.73)	34	128	1.00
交互作用檢定			$\chi^2 = 0.01$ (1 df); $P = 0.92$			
綠茶飲用年數						
≤ 10	107	154	2.97 (1.57-5.61)**	122	267	1.89 (1.02-3.51)*
> 10	12	31	1.29 (0.52-3.17)	16	63	1.00
交互作用檢定			$\chi^2 = 0.16$ (1 df); $P = 0.69$			

14. <sup>a</sup>以條件式邏輯斯迴歸模式計算，以性別與年齡進行配對，並且調整抽菸包年、蔬果攝取、炒菜油煙暴露和肺癌家族史的效應。

15. \*0.01 < P < 0.05, \*\*P < 0.01。