

吸菸與口、咽、喉癌

第一章 緒論

第二章 吸菸與咽、喉癌相關之流行病學研究

第三章 吸菸與口、咽、喉癌相關基因病變及其他致癌機轉

第一節 菸導致口、咽、喉癌基因病變之研究

第二節 菸致癌物與口、咽、喉癌個體易感受性基因學研究

第四章 結論與建議

吸菸與口、咽、喉癌

摘要

口、咽、喉癌的發生率，在台灣最近幾年一直在增加中，由於菸草煙霧含有 4,800 多種化學物質，其中有 69 種致癌成分，因此吸菸被公認是口、咽、喉癌重要的誘因之一，尤其對於喉癌而言。絕大部分口、咽、喉癌流行病學之研究，發現吸菸可增加罹患口、咽、喉癌的機會：吸菸量越多，菸草濃度越高，吸菸時間越久，罹患口、咽、喉癌的相對危險率越高；將煙吸入咽喉及不用濾嘴者，罹患口、咽、喉癌的相對危險率也越高；戒菸時間越久，罹患口、咽、喉癌的相對危險率則越低。菸草內的尼古丁可使口腔表皮細胞增生，尼古丁經亞硝化劑作用後，會形成菸草特有的亞硝胺，如 NNK 或 NNN，會使得 DNA 發生甲基化，造成 DNA 複製時產生轉同或轉異突變。另外菸草產生的化學物質 polycyclic aromatic hydrocarbon，如 benzo(a)pyrene，容易使 p53 基因產生點突變。菸草的煙霧內含有很多化合物，包括誘變劑、致癌物及自由基，可抑制 DNA 的複製與修補，會增加淋巴球的 sister chromatid exchange，可使單股 DNA 斷裂，抑制 DNA 合成，可增加肺癌者脆弱點 FRA3B 的斷裂，可使口腔癌者 FHIT mRNA 異常，FHIT 蛋白質減少或消失，肺腺癌者的致癌基因 K-ras 也會出現突變。藥物或致癌物質的代謝，在人體內是經兩階段的代謝酵素完成的，第一相(phase I) 的代謝酵素以 cytochrome P450 為主，可使惰性的內源性或外來致癌物質，活化成有毒性或致癌性的中間產物，而和核酸或蛋白質共價鍵結，造成基因的破壞。第二相(phase II)的代謝酵素包括 glutathione S-transferase，N-acetyl transferase，UDP glucuronosyl transferase，epoxide hydrolase 等，可使活化的中間產物形成親水性物質，而被排出體外，具有解毒作用。大部分代謝酵素的活性有差異性，每個人有不同程度的酵素活性，因而決定不同的代謝能力及致癌感受性。如果吸菸量增加，第一相活化酵素能力強，而第二相酵素解毒或修補 DNA 的能力低，則罹患與吸菸有關的癌症之危險性大增；反之，若吸菸量少，第一相活化酵素能力弱，而第二相酵素解毒或修補 DNA 的能力強，則罹患與吸菸有關的癌症之危險性便大為減少。除了代謝酵素的能力之外，DNA 修補能力的好壞，也與致癌的差異性有關，修補能力較差的變異型基因，可增加罹患口、咽、喉癌的危險性。

關鍵詞：口咽喉癌、吸菸、p53 基因、基因多型性

Smoking and Oro-Pharyngo-Laryngeal Cancers

Abstract

The incidence of oro-pharyngo-laryngeal cancers in Taiwan is increasing in the recent years. Among 4,800 chemical substances found in the cigarette smoke, there are 69 compounds carcinogenic to humans. Cigarette smoke is thought to be one of the important risk factors for oro-pharyngo-laryngeal cancers, especially for laryngeal cancers. Most epidemiological studies show that cigarette smoking may increase the risk for oro-pharyngo-laryngeal cancers. The more packs-years of black cigarettes are consumed, the more relative risks for oro-pharyngo-laryngeal cancers are found. Smoke inhalation without a filter may increase the risk for oro-pharyngo-laryngeal cancers also. The longer the quitting of smoking is, the lower risk for oro-pharyngo-laryngeal cancers will be. The nicotine in the cigarette can induce hyperplasia of oral mucosa. After nitrosating, the nicotine becomes the tobacco-specific nitrosamine: NNK or NNN. They will induce DNA methylation and produce nucleotide transition or transversion during replication. Besides, the polycyclic aromatic hydrocarbon, such as benzo(a)pyrene produced during smoking will damage the *p53* gene via point mutation. The cigarette smoke contains many compounds, including mutagens, carcinogens and free radicals. They may inhibit DNA replication and repair, increase sister chromatid exchange in lymphocytes, induce single strand DNA break and inhibit DNA synthesis. The patients of lung cancers with smoking habit have more DNA breaks in fragile FRA3B. Multiple molecular alterations of *FHIT*, including aberrant mRNA and decreasing expression of FHIT protein are found in smoking-associated oral cancers. Cigarette smoking is strongly associated with mutation of the *K-ras* gene in patients with primary adenocarcinoma of the lung. Drugs or carcinogens are metabolized by two phases of enzymes in human. The principal phase I enzyme: cytochrome P450 will activate inert endogenous or exogenous procarcinogens, which turn out to be active intermediates and form DNA adducts. The phase II enzymes include glutathione S-transferase, N-acetyl transferase, UDP glucuronosyl transferase, epoxide hydrolase etc. The active intermediates will become hydrophilic and excreted through the

metabolism of the phase II enzymes. The activities of most enzymes are variable and different individually. Genetic polymorphism determines the susceptibility of carcinogenesis. It, therefore, follows that exposure to the cigarette smoke in a 'high phase I, low phase II metabolism' individual might lead to more toxicity or oro-pharyngo-laryngeal cancers than that in a 'low phase I, high phase II' individual. In addition to the activities of metabolic enzymes, the repair of DNA is important for surveillance of carcinogenesis. The polymorphic gene with poor repair activity will enhance the risk of oro-pharyngo-laryngeal cancers.

Key Words: oro-pharyngo-laryngeal cancers, cigarette smoking, *p53* gene, genetic polymorphism

第一章 緒論

根據國際疾病分類腫瘤學試用版(International Classification of Diseases for Oncology-Field Trial, ICD-O-FT)，每種癌症有一個編碼，其編碼和第九版國際疾病分類(ICD-9)相同，如解剖學上的口腔(oral cavity)，包括上下唇(140)、齒齦(143)、頰黏膜(145.0)、口底(144)、舌前 2/3(141)、硬腭(145.2, 145.3, 145.5)、白齒後三角區(145.6)；咽部(pharynx)包括鼻咽(nasopharynx)(147)、口咽(oropharynx)(146)及下咽(hypopharynx)(148)，149 是指咽和唇、口腔及咽之分界不明部位〔1〕。其中鼻咽癌和外界致癌物質關係不大，不在此介紹，口咽包括軟腭、舌根部、扁桃區及後咽壁；下咽包括梨形窩、環狀軟骨後區及食道以上的後咽壁；喉部(larynx)(161)包括聲門上區(supraglottis)(含有聲室、假聲帶、杓狀軟骨、舌骨之上及之下會厭軟骨、杓會厭襞)、聲門區(glottis)、聲門下區(subglottis)。在法國喉上癌(epilaryngeal cancer)有其獨特的自然發展過程，故喉上部(epilarynx)被獨立出來，它是聲門上喉部的一部分，包括會厭軟骨的邊緣(epiglottis free border)、舌骨上會厭軟骨的後面(posterior surface of supra-hyoid epiglottis)、杓狀軟骨(arytenoid)、杓狀軟骨間聯合(inter-arytenoid incisure)及杓會厭襞(ary-epiglottic fold)，其他剩下的聲門上喉部、聲門區(glottis)、聲門下區則合稱為喉內部(endolarynx)〔2〕。

衛生署統稱的口腔惡性腫瘤(140-149，除了 142，147)，包括口腔癌、口咽癌、下咽癌，它和吸菸、喝酒、嚼檳榔有顯著關係，單獨吸菸、喝酒、嚼檳榔罹患口腔癌的危險性，分別是沒有任何嗜好的 18、10、28 倍；合併吸菸和喝酒、吸菸和嚼檳榔、喝酒和嚼檳榔，罹患口腔惡性腫瘤的危險性，分別是沒有任何嗜好的 22、89、54 倍；同時具有吸菸、喝酒、嚼檳榔三種習性者，罹患口腔惡性腫瘤的危險性，是沒有任何嗜好的 123 倍〔3〕。口腔惡性腫瘤的發生率，在台灣最近幾年一直在增加中，民國 80 年躍居男性十大癌症發生率的第五名，超越鼻咽癌，而為台灣最常見的頭頸部癌症。民國 69 年，口腔惡性腫瘤發生個案數共計 516 人(男性 424 人，女性 92 人，民國 80 年)，口腔惡性腫瘤發生個案數已達 1,209 人(男性 1,059 人，女性 150 人)，粗發生率：每十萬人口男性 10.00，女性 1.51；年齡標準化發生率：每十萬人口男性 10.79，女性 1.63，到民國 87 年，口腔惡性腫瘤發生個案數共計 2,731

人(男性 2,473 人,女性 258 人),佔全部惡性腫瘤發生個案數的 5.23%,發生率的排名於男性為第四位、女性為第十八位。年齡中位數:男性 51 歲,女性 58 歲;粗發生率:每十萬人口男性 22.07,女性 2.43;年齡標準化發生率:每十萬人口男性 20.90,女性 2.25;性別比(年齡標準化發生率):男女比 9.29:1。其中口腔癌有 2,106 人(男性 1,922 人,女性 189 人),口咽癌有 253 人(男性 199 人,女性 54 人),下咽癌有 372 人(男性 352 人,女性 15 人),短短 7 年,每十萬人口男性口腔惡性腫瘤的粗發生率,便增為 2.2 倍;18 年之間,口腔惡性腫瘤的總人數,便增為 5.3 倍。87 年死因為口腔惡性腫瘤者共計 1,167 人。另外,喉癌於民國 69 年發生個案數才 190 人(男性 180 人,女性 10 人),民國 80 年發生個案數增為 280 人(男性 259 人,女性 21 人),民國 87 年發生個案數共計 398 人(男性 384 人,女性 14 人),發生率的排名為頭頸部癌症的第三位,僅次於口腔癌及鼻咽癌(共計 1348 人,男性 972 人,女性 376 人)〔1〕。

口腔癌的臨床表徵是難癒合的潰瘍或突出的潰爛硬塊,常伴有頸部淋巴結轉移。手術切除是治療口腔癌最重要的步驟,口腔癌的 5 年存活率在第一期可達 72%,第二期降為 38.9%,第三期再降為 26.7%,第四期只有 11.8%〔4〕。口咽癌的扁桃癌之治療以放射治療為主,早期(第一、二期)扁桃癌的 5 年存活率有 50%,晚期(第三、四期)存活率則降為 37.5%〔5〕。下咽癌不易早期發現,晚期病人佔有 88%,預後不好,治療以手術加放射治療為主,整體而言,5 年存活率只有 27%,口咽癌與下咽癌的症狀以咽部疼痛、咽部異物感和頸部腫塊為主〔6〕。喉癌的預後較好,早期症狀為聲音沙啞,第一期喉癌以手術或放射治療的 5 年存活率有 76%,第二期喉癌以手術治療的 5 年存活率有 70%,晚期喉癌以喉全切除術的 5 年存活率介於 63%到 65%之間,喉癌的病人吸菸(每日十支以上)、喝酒、嚼檳榔的比率分別是 77.9%、33.6%、12.2%〔7〕,吸菸公認是喉癌的最重要誘因〔8-12〕,由於女性吸菸人口較少,喉癌的男女比高達 27:1,可是女性一旦罹患喉癌,往往都是有吸菸習性的,日本女性喉癌患者的吸菸率就高達 84.6%〔10〕,可見吸菸對喉癌的重要性。

由於解剖位置的關係,嚼檳榔時,檳榔汁在口腔與口咽的停留時間較長,等到吞嚥時,檳榔汁很快經過下咽進入食道,因此對下咽的影響較少,當然和喉部沒有任何接觸;喝酒時,酒由口腔與口咽經下咽進入食道,一樣和喉部沒有任何接觸;反之吸菸時,菸草煙霧由口腔與口咽經下咽和喉部,被吸入肺部,和上述各器官都有接觸,

由於菸草煙霧含有超過 4000 種化學物質，其中至少有 43 種致癌成分，包括：benzene、4-aminobiphenyl、2-naphthylamine、nickel、polonium-210 等〔13〕，因此吸菸是造成口、咽、喉癌的重要因素。

第二章 吸菸與咽、喉癌相關之流行病學研究

根據 WHO 1976 的報告，在歐洲，喉癌的死亡率以法國、義大利及西班牙最高，每十萬男性大於 9，在瑞士是 4.8，而在北歐及英國只低於 3。在法國 Calvados 地區 1978-1980 的口咽癌的盛行率，每十萬人口分別是男：12.7，女：0.73；下咽癌的盛行率，每十萬人口分別是男：16.11，女：0.18；喉癌的盛行率，每十萬人口分別是男：10.93，女：0.13；瑞士日內瓦(1973-1977)的口咽癌盛行率，每十萬人口分別是男：5.70，女：0.90；下咽癌者分別是男：4.20，女：0.10；喉癌者分別是男：10.10，女：0.80；西班牙 Navarra(1973-1977) 的口咽癌盛行率，每十萬人口分別是男：1.00，女：0.20；下咽癌者分別是男：0.20，女：0.00；喉癌者分別是男：15.00，女：0.20；義大利 Varese(1976-1977) 的口咽癌盛行率，每十萬人口分別是男：4.10，女：0.10；下咽癌者分別是男：3.20，女：0.00；喉癌者分別是男：16.00，女：0.50〔2〕。(表 5)

表 5：歐洲五大城市口咽癌、下咽癌、喉癌的盛行率

每十萬人口年齡標準化盛行率	喉癌 ICD161		下咽癌 ICD148		口咽癌 ICD146	
	男	女	男	女	男	女
Calvados (法國) (1978-1980)	10.93	0.13	16.11	0.18	12.76	0.73
Geneva (瑞士) (1973-1977)	10.10	0.80	4.20	0.10	5.70	0.90
Navarra (西班牙) (1973-1977)	15.00	0.20	0.20	0.00	1.00	0.20
Zaragoza (西班牙) (1973-1977)	12.00	0.20	0.40	0.00	3.90	0.10
Varese (義大利) (1976-1977)	16.00	0.50	3.20	0.00	4.10	0.10

資料來源：Tuyns AJ, Esteve J, Raymond L, Berrino F, Benhamou E, Blanchet F, et al: Cancer of the larynx/hypopharynx, tobacco and alcohol: IARC international case-control study in Turin and Varese (Italy), Zaragoza and Navarra (Spain), Geneva (Switzerland) and Calvados (France). Int J Cancer 1988;41:483-91.

在法國，Lefebvre 等〔37〕比較 232 名喉上癌(epilaryngeal cancer)，1351 名口咽癌，652 名下咽癌及 372 名喉內癌(endolaryngeal cancer)病患的喝酒、吸菸習慣，發現喉上癌者，比喉內癌病患喝更多量的酒，接近咽癌者的喝酒量，但吸菸量和喉內癌者差別不大，喉上癌者比喉內癌病患較低比率出現肺癌，喉上癌者和咽癌者類似，有較低比率出現肺癌；喉上癌、喉內癌及咽癌的五年存活率，分別是 27%、43%及 13%，顯示喉上癌比較像下咽癌的自然發展史，值得分開獨立視之。吸菸是被認為最重要的致癌因素，和其他地區一樣，男、女喉癌罹患率之比常大於 20，IARC 在義大利、西班牙、瑞士及法國的一大型研究，分析 1147 名喉/下咽癌男性及 3057 名對照例的喝酒吸菸習慣，結果吸菸的量與罹患喉內癌或喉上癌或下咽癌的相對危險性成正向關係；喝酒的情形也一樣，喝酒量與任一癌症的相對危險性都有正向關係，但是喝酒量和喉上癌及下咽癌的關係比喉內癌者更密切。(表 6)

表 6：喝酒吸菸習慣喝酒吸菸習慣與罹患喉內癌或喉上癌或下咽癌的關係

	喉內癌			喉上癌/下咽癌		
	相對危險性	95% CI	病例數	相對危險性	95% CI	病例數
吸菸量 支/天						
0	1	-	22	1	-	9
1-7	2.37	1.3-4.3	28	4.18	1.9-9.3	23
8-15	6.68	4.2-10.7	147	10.79	5.3-21.8	108
16-25	13.69	8.7-21.6	357	15.80	7.9-30.6	177
> 26	16.42	10.1-26.6	173	16.11	7.9-33.0	92
曾經吸菸者	9.91	6.4-15.4	705	12.37	6.3-24.4	400
喝酒量 克/天						
0-20	1	-	83	1	-	17
21-40	0.94	0.7-1.3	106	1.23	0.7-2.3	28
41-80	1.06	0.8-1.5	191	2.3	1.4-4.2	99
81-120	1.71	1.2-2.4	164	5.19	3.0-9.0	109
> 120	2.56	1.8-3.6	183	11.37	6.6-19.6	156
> 80	2.05	1.7-2.5	347	4.28	3.4-5.4	265

資料來源：Tuyns AJ, Esteve J, Raymond L, Berrino F, Benhamou E, Blanchet F, et al: Cancer of the larynx/hypopharynx, tobacco and alcohol: IARC international case-control study in Turin and Varese (Italy), Zaragoza and Navarra (Spain), Geneva (Switzerland) and Calvados (France). Int J Cancer 1988;41:483-91.

如果戒菸 5 年後，所有癌症的危險性都降低，但戒菸對喉上癌/下咽癌的好處比喉內癌者較早出現；只用濾嘴吸菸者得咽、喉癌的危險性是不用濾嘴的一半；吸黑色菸草者，罹患咽、喉癌的危險性是吸白色菸草的兩倍，黑、白色菸草都吸者，其危險性增加 50%；煙不吸入者，罹患喉內癌的危險性較低，但對罹患喉上癌/下咽癌者沒有助益。(表 7)

表 7：戒菸、濾嘴使用情形、菸草顏色、煙吸入情形與罹患喉內癌或喉上癌或下咽癌的關係

	喉內癌			喉上癌/下咽癌		
	相對危險性	95% CI	病例數	相對危險性	95% CI	病例數
戒菸年數						
0	1	-	470	1	-	270
1-4	1.5	1.2-2.0	155	1.09	0.8-1.5	81
5-9	0.52	0.3-0.8	35	0.28	0.1-0.5	14
> 10	0.28	0.2-0.4	45	0.32	0.2-0.5	35
濾嘴使用情形						
不用濾嘴	1	-	218	1	-	193
不用濾嘴>使用濾嘴	0.87	0.7-1.2	220	0.68	0.5-0.9	81
不用濾嘴<使用濾嘴	1.03	0.8-1.4	216	0.60	0.4-0.9	56
只用濾嘴	0.49	0.3-0.8	33	0.47	0.3-0.8	20
菸草顏色						
只吸白色菸草	1	-	32	1	-	12
吸白色菸草>吸黑色菸草	1.58	0.9-2.7	79	1.31	0.5-3.2	15
吸白色菸草<吸黑色菸草	1.66	1.0-2.7	149	1.71	0.8-3.6	45
只吸黑色菸草	1.98	1.2-3.2	417	2.16	1.1-4.2	316
煙吸入情形						
吸入	1	-	614	1	-	242
不吸入	0.66	0.5-0.9	69	0.87	0.6-1.3	82

資料來源：Tuyns AJ, Esteve J, Raymond L, Berrino F, Benhamou E, Blanchet F, et al: Cancer of the larynx/hypopharynx, tobacco and alcohol: IARC international case-control study in Turin and Varese (Italy), Zaragoza and Navarra (Spain), Geneva (Switzerland) and Calvados (France). Int J Cancer 1988;41:483-91.

從 15-20 歲便開始吸菸者，罹患咽、喉癌的相對危險性，是從 15 歲便開始吸菸者的 0.70，從 21 歲以後才開始吸菸者的相對危險性是 0.8。若考慮吸菸與喝酒的共同效應，喉上癌/下咽癌者的喝酒的效應較大，吸菸的效應較不明顯；在喉內癌者吸菸的效應比喝酒更重要〔2〕。

在法國，每年每十萬男性有 50 名新的上呼吸消化道癌，是歐洲最高的，女性則只有 5 名，其死亡率佔男性癌症死亡的 12%，尤其是法國北部的 Somme 地區，上呼吸消化道是男性最常見的癌症，男性喉癌的死亡率每年每十萬人口是 18.2〔38〕。Luce 等〔39〕報告口咽癌的男女比分別是 25.0：25.9；下咽癌的男女比分別是 14.4：4.4；喉癌的男女比分別是 18.4：9.2；喉上癌的男女比分別是 8.5：3.3。上述四種癌症的女性患者，沒吸菸、沒喝酒的百分比在口咽癌是 17.1%，在下咽癌是 42.8%，在喉癌是 27.6%，在喉上癌是 0%，沒吸菸、沒喝酒者的年齡平均是 64.6±3.12 歲，比吸菸、喝酒者(56.4±1.5 歲)年長，女性吸菸者每天平均吸 22 克菸草，比男性(28 克)少。相對地，Brugere 等〔40〕指出巴黎地區男性口咽、下咽、聲門上、聲門及喉上癌者，

沒吸菸的百分比則相當低，分別是口咽癌者1.6%，下咽癌者0.6%，聲門上癌者0.4%，聲門癌者3.7%及喉上癌者1.9%，每天菸的消耗量平均是28克，上述五種癌症者每天吸10-19克菸的相對危險性，分別是4.0，7.1，6.1，3.0，1.7；吸20-29克菸的相對危險性，分別是7.6，12.6，19.6，9.5，6.7；吸大於30克菸的相對危險性，分別是15.2，35.1，48.8，28.4，14.8。(表8)

表8：吸菸量與罹患口咽、下咽、聲門上、聲門及喉上癌的關係

位置	吸菸量						
	0-9克	10-19克		20-29克		≥30克	
		相對危險性	95% CI	相對危險性	95% CI	相對危險性	95% CI
口咽癌	1	4.0	2.4-6.5	7.6	4.8-12.1	15.2	9.3-24.9
下咽癌	1	7.1	3.1-15.8	12.6	5.8-27.4	35.1	16.2-75.9
聲門上癌	1	6.1	2.3-16.1	19.6	8.1-47.3	48.8	20.1-118.6
聲門癌	1	3.0	1.2-7.4	9.5	4.9-18.2	28.4	14.8-54.4
喉上癌	1	1.7	0.7-3.9	6.7	3.4-13.5	14.8	7.3-29.8

資料來源：Brugere J, Guenel P, Leclerc A, Rodriguez J: Differential effects of tobacco and alcohol in cancer of the larynx, pharynx, and mouth, Cancer 1986;57:391-5.

在印度的孟買(Bombay)因盛行嚼菸、吸菸，上呼吸消化道癌幾乎佔男性所有癌症的50%，每年每十萬男性咽癌的年齡標準化發生率是16.6〔41〕，口咽癌者有吸菸和/或嚼菸的百分比是84%，下咽及喉癌者則有75%，口咽、下咽、喉癌者只嚼菸的相對危險性，分別是3.30，6.21，4.58，只吸菸者的相對危險性，分別是11.83，3.62，7.74，吸菸和嚼菸者的相對危險性分別是31.72，16.86，20.09〔42〕。(表9)

表9：吸菸、嚼菸習性與罹患口咽、下咽、喉癌的關係

習性	相對危險性		
	口咽癌	下咽癌	喉癌
只嚼菸	3.30	6.21	4.58
只吸菸	11.83	3.62	7.74
吸菸和嚼菸	31.72	16.86	20.09

資料來源：Jayant K, Balakrishnan V, Sanghvi LD, Jussawalla DJ: Quantification of the role of smoking and chewing tobacco in oral, pharyngeal, and oesophageal cancers. Br J Cancer 1977;35:232-5.

至於泰國北部的清邁(Chiang Mai)，咽喉癌的比率佔所有癌症的18.4%，遠高於中部曼谷地區的3.7%，在清邁地區民眾常吸兩種當地雪茄：Khii yoo及Yaa muan，前者長14-22公分，重3-8公克，菸草有添加物，以香蕉葉包裹，每克菸草平均含尼古丁15毫克；後者較小，8-10公分，重1-2公克，菸草沒有添加物，以香蕉葉或檳榔樹的纖維片包裹，每克菸草平均含尼古丁26毫克，男、女性喉及下咽癌者吸

Khii yoo的百分比分別是9.5%、25%；吸Yaa muan的百分比分別是92.9%、58.3%。吸Khii yoo的相對危險性是1.17；吸Yaa muan的相對危險性是2.97〔43〕。(表10)

表10：吸Khii yoo、Yaa muan與罹患口及口咽癌或喉及下咽癌的關係

	相對危險性		
	口及口咽癌		喉及下咽癌
危險因子	男性	女性	男性
吸Khii yoo	0.61	1.06	1.17
吸Yaa muan	2.70	1.53	2.97

資料來源：Simarak S, de Jong UW, Breslow N, Dahl CJ, Ruckphaopunt K, Scheelings P, MacLennan R: Cancer of the oral cavity, pharynx/larynx and lung in north Thailand: case-control study and analysis of cigar smoke. Br J Cancer 1977;36:130-40.

Boffetta等〔44,〕在美國New Jersey州，蒐集44名軟腭癌及49名扁桃前腭弓癌的退伍軍人，對照2280名非癌症者，分析彼此的吸菸、喝酒習慣，以每天吸菸1-5支以下為基準，算出吸菸引起口咽癌的勝算比(O.R.)，結果軟腭癌及扁桃前腭弓癌都有很高的勝算比，比其他的口腔癌更高。(表11)

表11：吸菸量與罹患軟腭癌或前腭弓癌的關係

吸菸量 支/天	軟腭癌		前腭弓癌	
	勝算比	95% CI	勝算比	95% CI
1-5	1.0	-	1.0	-
6-15	5.1	1.1-22.9	2.4	0.5-11.8
16-25	6.1	1.4-26.0	2.5	0.6-11.3
26-35	9.7	2.2-42.1	4.1	0.9-19.1
> 35	4.9	1.1-21.5	2.2	0.5-10.4
p 值	0.08		0.35	
曾經吸菸	0.9	0.1-6.2	0.4	0.0-4.5

資料來源：Boffetta P, Mashberg A, Winkelmann R, Garfinkel L: Carcinogenic effect of tobacco smoking and alcohol drinking on anatomic sites of the oral cavity and oropharynx. Int J Cancer 1992;52:530-3.

一般一支雪茄、煙斗相當4支、2支捲菸的量，如果抽雪茄及吸菸斗軟腭癌的勝算比是2.3(95% CI= 0.7-7.6)，也比口腔癌高，顯示口咽較易受雪茄及煙斗的傷害，可歸因於吸入的煙與口咽接觸較久之故。此外，美國一個前瞻性，為期12年的研究(American Cancer Society's Cancer Prevention Study II)，追蹤分析137,243名美國男性抽雪茄與菸草相關癌症的死亡率之關係(用Cox proportional hazards models)，排除曾經吸菸或吸菸斗的男性，且將年齡、喝酒、嚼菸等特性調整後，發現目前抽雪茄者，比從未吸菸者有較高的危險性死於口腔/咽癌(RR=4.0, 95% CI= 1.5-10.3)，及喉癌(RR=10.3, 95% CI=2.6-41.0)〔45〕。

另外Blot等〔46〕分析美國New Jersey州、Atlanta、Los Angeles、San Francisco的373名口咽、下咽癌患者，對照1268名非癌症者的菸、酒習性，結果經調整喝酒的因素後，口咽癌的危險性與吸菸的量、時間成正向關係，但與開始吸菸的年齡較少關係；戒菸1-9年後勝算比便由3.4降為1.1，戒菸20年以上勝算比可降為0.7。(表12)

表12：口咽癌的危險性與吸菸的量、時間之關係

	男性				女性			
	病例數	對照例數	勝算比	95% CI	病例數	對照例數	勝算比	95% CI
從未吸菸	50	185	1.0	-	54	202	1.0	-
只抽雪茄或煙斗	52	56	1.9	1.1-3.4	0	0	-	-
吸菸者	659	593	1.9	1.3-2.9	298	229	3.0	2.0-4.5
吸菸量(支/天)								
1-19	80	173	1.2	0.7-1.8	60	104	1.8	1.1-2.9
20-39	312	288	2.1	1.4-3.1	145	94	3.6	2.3-5.8
> 40	262	130	2.8	1.8-4.4	93	31	6.2	3.6-11.3
吸菸年數								
1-19	45	138	0.8	0.5-1.3	15	59	1.0	0.5-1.9
20-39	286	281	1.9	1.2-2.8	127	105	2.9	1.8-4.6
> 40	313	171	3.6	2.3-5.6	153	64	5.0	3.0-8.3
開始吸菸年齡								
< 17	325	258	2.1	1.4-3.2	89	59	2.9	1.7-4.9
17-24	279	285	1.8	1.2-2.7	153	116	3.1	2.0-4.9
> 25	38	47	1.8	0.9-3.3	54	54	2.8	1.6-4.8
戒菸年數								
0	485	239	3.4	2.3-5.1	258	129	4.7	3.0-7.3
1-9	64	98	1.1	0.7-1.9	24	39	1.8	0.9-3.6
10-19	56	114	1.1	0.7-1.9	10	35	0.8	0.4-1.9
> 20	43	141	0.7	0.4-1.2	4	26	0.4	0.1-1.4

資料來源：Blot WJ, McLaughlin JK, Winn DM, Austin DF, Greenberg RS, Preston-Martin S, et al: Smoking and drinking in relation to oral andpharyngeal cancer. Cancer Res 1988;48:3282-7

另外，男性只用濾嘴吸菸者，罹患咽癌的危險性是不用濾嘴吸菸者的50%(95% CI= 30-80%)，有時用濾嘴、有時不用濾嘴吸菸者之危險性是80%(95% CI= 60-140%)；在女性，用濾嘴者看不出有任何好處；男性只吸雪茄者勝算比為1.6，且與吸雪茄的量成正比，如果每週吸40次上的雪茄，勝算比高達16.7(95% CI= 3.7-76.7)，每週抽40次以上的煙斗，勝算比為3.1(95% CI= 1.1-8.7)。(表13)

表13：男、女性吸菸量與罹患咽癌的關係

	男性	女性
	咽癌勝算比	咽癌勝算比
吸菸量		

從未吸菸	1.0	1.0
少量或曾經吸菸	1.5	1.6
1-19支/天, > 20年	1.5	9.7
20-39支/天, > 20年	3.4	14.3
> 40支/天, > 20年	5.8	36.7
只吸菸斗或雪茄	1.6	-
病例數	273	100

資料來源：Blot WJ, McLaughlin JK, Winn DM, Austin DF, Greenberg RS, Preston-Martin S, et al: Smoking and drinking in relation to oral andpharyngeal cancer. Cancer Res 1988;48:3282-7

第三章 吸菸與口、咽、喉癌相關基因的基因病變及其他致癌機轉

第一節 導致口、咽、喉癌基因病變之研究

對於吸菸導致口、咽、喉癌致癌機轉的基因病變研究，有關於草直接造成的基因毒性方面，以 IARC 所提出的的致癌物 (carcinogens) 為主要依據，分為：Group 1 為對人類有致癌性 (carcinogenic to humans) 共 78 種，Group 2A 為對人類確實可能有致癌性 (probably carcinogenic to humans) 共 63 種，Group 2B 為對人類可能有致癌性 (possibly carcinogenic to humans) 共 235 種，Group 3 為對人類無法分類為有致癌性 (not classifiable as to carcinogenic to humans) 共 483 種，Group 4 為對人類無法確實可能有致癌性 (probably not carcinogenic to humans) 共 1 種 [49,50,51]。目前到 2000 年文獻可由菸草內分離出 4800 多種化合物[47]，其中有 10 大類共 69 種物質屬 IARC Group 1、2A、2B；屬 Group 1 共有 10 種分別為 benzene、cadmium、arsenic、nickel、chromium、2-naphthylamine、vinyl chloride、4-aminobiphenyl、beryllium 和 ethylene oxide，Group 2A 共有 8 種分別為 formaldehyde、benzo(a)anthracene (B(a)P)、dibenz(a,h)anthracene(DB(a,h)A)、N-nitrosodiethylamine(DEN)、benz(a)anthracene (B(a)A)、N-nitrodimenthylamine (DMN)、acrylonitrile、2-amino-3-methyl-3H-imidazo [4,5-f] -quinoline (IQ)。其中 1,3-butadiene，acrylamide 在早先有列入 Group 2A 但 2001 年 Hoffmann 把它歸為 Group 2B。以上的物質和口腔癌有關的化合物是以 Nitrosamine 這群的 N-nitrosornicotine(NNN，屬 Group 2B)、4-(methylnitrosamine)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK，屬 Group 2B) 為主，polynuclear aromatic hydrocarbons (PAH) 為輔。而和喉癌有關的是以 PAH 和 NNK 為主，210Po、formaldehyde、acetaldehyde、butadiene、metals (Cr,Cd,Ni) [47] 為輔。

N-nitrosamine 從 1956 年由 Magee 和 Barn 等 [52] 發現 DMN 和老鼠肝癌有關開始，到目前的研究共有 200 多種的化合物，其中直接和菸草有關屬 IARC Group 1

到 2B 有 10 種 [48,53]，但集合世界各地研究，由於發現在菸草內含有大量 tobacco-alkaloid-derived nitrosamine，提出了“tobacco-specific nitrosamine”這個名詞，目前有 NNN、NNK、NNAL、NAT、NAB、iso-NNAL 和 iso-NNAC 被分離出來 [48]；其中以 NNN 和 NNK 及其代謝衍生物最常被文獻提到和癌症有關。NNK 和 NNN 來自尼古丁(nicotine)的 nitrosation，但 NNN 也可來自 nornicotine 和 myosmine 的 nitrosation [54]。

除了“tobacco-specific nitrosamine”內的 NNN 和 NNK 及其代謝衍生物和基因造成點突變與癌症有關之外，尼古丁也和口腔黏膜內受器結合造成的傷害。口腔黏膜有兩種 acetylcholine(Ach)受器：尼古丁受器及 muscarine 受器。尼古丁 acetylcholine 受器(nAChR)是一種離子管道，主司鈉、鈣離子的進入及鉀離子的排出細胞外，heteromeric nAChR 是由 $\alpha 3$ ， $\alpha 5$ ， $\beta 2$ 及 $\beta 4$ 次單位所構成；homomeric nAChR 則由幾個 $\alpha 7$ 或 $\alpha 9$ 次單位所構成。同時暴露於尼古丁及高濃度氧氣，可在倉鼠(hamster)產生腫瘤 [67]。當培養的人類正常口腔表皮細胞，接觸 $10\mu\text{M}$ 的尼古丁 24 小時後，nAChR 的結合處之總數目幾乎增為兩倍，同時尼古丁和 nAChR 的結合能力也增為 1.5 倍，另外，nAChR 的次單位 $\alpha 3$ ， $\alpha 5$ ， $\alpha 7$ ， $\beta 2$ 及 $\beta 4$ 的 mRNA 和蛋白質也增為 1.5-2.9 倍，與細胞週期進行有關的 Ki-67(細胞週期進行中都存在的一種核蛋白)，cyclin D1(可誘發及控制有絲分裂)，PCNA(proliferating cellular nuclear antigen，大部分表現在 G1-S 期)，及細胞分化指標的 filaggrin，loricrin，cytokeratin 1，cytokeratin 10 之合成都增加，顯示口腔表皮細胞的增生與分化完成。

但是如果在大鼠或小鼠口腔內給予 aged and diluted sidestream cigarette smoke (ADSS) 三星期，反而使 Ki-67，cyclin D1，PCNA 的量減少，但轉譯出 cyclin D1，PCNA 及 $\alpha 3$ ， $\alpha 5$ ， $\alpha 7$ ， $\beta 2$ 和 $\beta 4$ 的 mRNA 卻增加，這種矛盾的現象顯示尼古丁作用的複雜性 [68]。

在尼古丁對胰臟細胞作用的研究，發現尼古丁使 nAChR 活化後，鈣離子會進入細胞內，另外 nAChR 經活化後，可使 inositol phosphate 及 1, 2-diacylglycerol 釋放出，前者可使鈣離子移動，而增加細胞內鈣離子的濃度，造成細胞毒性及死亡 [69]。

在大鼠腦內 nucleus accumbens 的研究，發現尼古丁作用在 nAChR 後，platelet-derived growth factor receptor-alpha (PDGFRA)，fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1)，insulin-like growth factor 1 receptor (IGF1R)，leukemia inhibitory factor (LIF，功能類似 ciliary neurotrophic factor, CNTF) 基因的表現，增為 1.35-1.8 倍，另外 NF- κ B 及 JNK 訊息傳遞的途徑也受到活化，如：NF- κ B inducing kinase (NIK)，MAP kinase kinase kinase 10 (MAP3K10，MLK2)，MAP4K2 (GCK)，NCK adaptor protein 1 (NCK1) 基因的表現也都增加，而提高神經細胞的存活。此外也可使 ICAM5 (telecephalin) 增加，使得神經纖維往外生長；chondroitin sulfate proteoglycan 4 (CSPG4) 基因的表現也增加，刺激神經細胞的生長達 1.8 倍以上 [70]。

表15：尼古丁造成的傷害

部位	尼古丁效應
----	-------

口腔黏膜短期暴露	nAchR 的次單位 $\alpha 3$, $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\beta 2$ 及 $\beta 4$, Ki-67, PCNA, filaggrin, loricrin, cytokeratin 1, cytokeratin 10 之合成增加
胰臟細胞 大鼠腦內	增加細胞內鈣離子的濃度，造成細胞毒性及死亡 PDGFRA, FGFR1, IGF1R, NIK, MAP3K10, GCK, NCK1, CSPG4 基因表現增加

另外一個菸草產生化學物質 polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)，會直接造成基因毒性的證據可由來自其對 *p53* 基因的突變，菸草所產生 PAH 中的 benzo(a)pyrene，容易使 *p53* 基因中產生 G→T 轉異的點突變〔71〕。Benzo(a)pyrene 屬 bay-region diol epoxide 衍生物 (derivatives)，由於 subtle steric 和 conformational difference 會結合具生物活性的分子；它在體內被代謝成 benzo(a)pyrene diol epoxide (B(a)PDE)，Yoon〔72〕研究中發現易在 DNA methylated CpG 發生轉異突變，尤其 trans-7,8 dihydroxy-anti-9,10 epoxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo〔a〕pyrene 型式比其它三個型式更易產突變生〔73〕。有關 BPDE 易在 *p53* 突變熱點 (hotspots)，如 codons 154, 157*, 158*, 245*, 248*, 273*，形成 DNA adduct，* 代表肺癌 *p53* G 轉為 T 突變有關 methylated CpG 發生突變熱點〔73〕；Smith 等〔74〕也發現其他的 PAH，如 5-methylchrysene, 6-methylchrysene, benzo(g)chrysene, benzo(c)phenanthrene 的活化物，也容易在 codons 154, 156-159, 237, 245, 248, 273 的 guanine 形成 DNA adduct。Hainaut 等〔75〕蒐集 IARC 共 14,051 筆有關 *p53* 突變的資料，發現吸菸者和不吸菸者的 *p53* 突變情形不一樣，G→T 轉異在吸菸者有 30%，對照不吸菸者只有 10%，有統計意義的差別 ($p < 0.0001$)，肺癌者大部分是 G→T 轉異，但在非肺癌者大多是 G→A 轉同。Ayan 等〔76〕發現 30 名健康老煙槍的口腔黏膜，93% 有增生現象，共有 20% (6/30) 的 *p53* 免疫染色顯示異常，可見 *p53* 異常是吸菸的早期傷害。Brennan 等〔77〕發現頭頸癌有 39%-42% 會出現 *p53* 基因突變，其中吸菸者高達 58%，但不吸菸的癌症者只有 17% 有 *p53* 基因突變。Liloglou 等〔78〕蒐集 13 個口腔、15 個喉、20 個下咽、12 個口咽癌及 5 個淋巴結轉移癌組織，依病人吸菸量分為四組：30 名老煙槍 (≥ 20 支/天)，13 名吸菸中量 (< 20 支/天)，8 名曾經吸菸 (已戒 5-18 年)，14 名不吸菸，觀察癌細胞 *p53* 基因的突變情形，結果 20 個標本 (31%) 有 *p53* 基因突變，G→A 轉同為主，頭頸癌 *p53* 基因的突變情形，類似非小細胞癌者。14 名不吸菸者只有 1 名 (7%) 有 *p53* 基因突變，51 名吸菸者有 19 名 (37%) 有 *p53* 基因突變 ($p < 0.02$)。Hsieh 等〔79〕的報告發現 75 名有吸菸、喝酒、嚼檳榔的口腔癌者，其中 43 名 (57.3%) 有 *p53* 基因突變；51 名有吸菸、嚼檳榔的口腔癌者，其中 15 名 (29.4%)；16 名有吸菸、喝酒的口腔癌者，其中 7 名 (43.7%)；以及 15 名只吸菸的口腔癌者，其中 9 名 (60%) 有 *p53* 基因突變。而且 22 名有 *p53* 基因 G→T 轉異者，有 20 名 (90.9%) 是吸菸者。

但是本國其他學者的報告顯示吸菸和 *p53* 異常的關係不大，Kuo 等〔80〕作 37 個口腔癌的 *p53* 序列分析，發現 4 名只吸菸者當中，1 名有 C→T 轉同，7 名都沒吸菸嚼檳榔者，只有 1 名有 G→A 轉同，23 名又吸菸又嚼檳榔者以及 3 名嚼檳榔者，都沒有 *p53* 異常。Wong 等〔81〕發現 13 名吸菸者只有 4 名，以及 36 名又吸菸又嚼檳榔者只有 8 名，有 *p53* 點突變，比國外平均 46% 的口

腔癌有 *p53* 突變之比率低。

另外 Ahrendt 等〔82〕的報告，發現 106 名肺腺癌當中有 40 名(38%)的致癌基因 *K-ras* 有突變，而且只出現於吸菸者(吸菸者：不吸菸者=43%：0%， $p=0.001$)。Westra 等〔83〕也發現目前仍在吸菸，以前曾吸菸，以及都不吸菸的肺腺癌者，其 *K-ras* codon 12 點突變的比率分別是 30%，32%，7%，以前曾吸菸的肺腺癌者的突變也是以 G→T 轉異居多。Slebos 等〔84〕蒐集各 27 名吸菸及不吸菸肺腺癌者，發現前者有 8 名，後者有 2 名的 *K-ras* codon 12 有突變。1996 Paterson 等〔85〕比較東、西方口腔癌(ICD141,143-145)基因的改變，發現 *p53* 基因突變率在西方口腔癌患者相當高 47.6%，而在東方口腔癌患者相當低只有 7.3%；但相反的為 *ras* 基因突變率在西方口腔癌患者相當低，而在東方口腔癌患者相當高以 *H-ras* 基因而言突變率 35%。在此研究中也發現西方口腔癌患者 *p53* 基因突變以 codon 205 到 248 最常見，而 G→A、G→T、C→T、A→G 為最常見點突變，其中 G→T 約占 15%。

nicotine 和 B(a)P 的研究除了上述提到的 DNA adducts 之外，Wang 等〔86〕研究也發現 Nicotine 和 B(a)P 會影響倉鼠頰黏膜的 epidermal growth factor(EGF)，明顯減少唾液腺 EGF 含量；用 nicotine 和 B(a)P 處理過的倉鼠，其 EGF 接受器會增加，但其由 EGF 刺激後的 170kDa 和 150kDa 磷酸化的蛋白質卻是明顯減少，是否影響下游的反應，需更進一步研究。

菸草的煙霧內邊含有很多化合物，包括誘變劑、致癌物及自由基〔71〕，體外的實驗，發現暴露於尼古丁或菸草煙霧的萃取物，可抑制 DNA 的複製與修補〔87〕；體內的實驗，發現週邊血液淋巴球的 sister chromatid exchange 會增加〔88〕，焦油萃取物與菸草的煙霧可產生單股 DNA 缺口，而抑制 DNA 合成〔89〕。Stein 等蒐集 12 名健康吸菸者(5-80 pk-yrs; 中位數 30 pk-yrs)，11 名健康不吸菸者，10 名小細胞肺癌，已戒菸 3 星期到 25 年者(中位數 1 年)，觀察淋巴球培養加入 aphidicolin(可抑制 DNA 合成)後，染色單體出現脆弱點斷裂的情形，結果吸菸者比不吸菸及已戒菸的肺癌者，都有很高比率的脆弱點斷裂，包括位於 3p14.2 抑癌基因 *FHIT* (fragile histidine triad) 的 FRA3B， p 值分別是 0.0126，0.0003，顯示持續吸菸可增加脆弱點斷裂，且該斷裂是短暫及可逆的，支持菸草致癌物可增加染色體脆弱點斷裂的假說〔90〕。Chang 等〔91〕的報告雖然 *FHIT* 基因的點缺失或突變的比率低(8%)，但另外蒐集 31 名口腔癌病患(81%有嚼檳榔及吸菸習性)，分析其癌組織 *FHIT* 基因的 mRNA 及蛋白質表現情形，結果 11 名(36%)有不正常的 mRNA(4 名沒有轉錄的 mRNA，2 名有縮短的 mRNA，5 名有變異的 mRNA)，其中 10 名都有嚼檳榔及吸菸習性。口腔癌組織有 41%之 *FHIT* 的免疫染色較淡或消失。van Heerden 等〔92〕的報告也顯示，71%(12/17)口腔癌 *FHIT* 的免疫染色較淡或消失，其中 50%(6/12)的 *FHIT* mRNA 有異常。Tanimoto 等〔93〕發現 2/7 的口腔癌前病變也有不正常的 *FHIT* mRNA，其中一名在追蹤 3 年後變成口腔癌。但是有的報告顯示原發頭頸癌 *FHIT* 基因的變化之比率低於 6%〔94〕。

另有一些研究在探討 heat 和 burn 菸草時，所產生煤焦(tar)對細胞影響，發現在菸草產生的低煤焦對細胞間溝通的 gap junction 有抑制作用，而抑制細胞間溝通的 gap junction 會促成腫瘤成長“tumor promoter”〔95〕。

表 16：菸草煙霧中致癌物質造成的傷害

作者(年代)	基因傷害
Rasmussen et al (1975)	抑制 DNA 的複製與修補
Hopkin et al (1980)	淋巴球的 SCE 會增加
Borish et al (1987)	單股 DNA 斷裂，抑制 DNA 合成
Stein et al (2002)	肺癌者增加脆弱點 FRA3B 斷裂
Chang et al (2002)	口腔癌者 50% <i>FHIT</i> mRNA 異常，71% <i>FHIT</i> 蛋白質減少或消失
Kisielewski et al (1998)	低於 6%的頭頸癌者 <i>FHIT</i> 基因有變化
Eisenstadt et al (1996)	<i>p53</i> 基因產生 G→T 轉異點突變
Hainaut et al (2001)	<i>p53</i> 基因 G→T 轉異在吸菸者有 30%，不吸菸者只有 10%
Brennan et al (1995)	<i>p53</i> 基因突變頭頸癌吸菸者 58%，不吸菸的癌症者 17%
Liloglou et al (1997)	<i>p53</i> 基因突變頭頸癌吸菸者有 37%，不吸菸者有 7%
Hsieh et al (2001)	15 名只吸菸的口腔癌者，其中 9 名(60%)有 <i>p53</i> 基因突變。而且 22 名有 <i>p53</i> 基因 G→T 轉異者，有 20 名(90.9%)是吸菸者
Kuo et al (1999)	4 名只吸菸者當中，1 名有 C→T 轉同，7 名都沒吸菸嚼檳榔者，只有 1 名有 G→A 轉同
Wong et al (1998)	口腔癌 4/13 吸菸者以及 8/36 又吸菸又嚼檳榔者，有 <i>p53</i> 點突變
Ahrendt et al (2001)	肺腺癌者 38%有致癌基因 <i>K-ras</i> 突變，只出現於吸菸者
Westra et al (1993)	肺腺癌吸菸者 30%- 32% <i>K-ras</i> codon 12 有點突變
Slebos et al (1991)	肺腺癌吸菸者 8/27 <i>K-ras</i> codon 12 有點突變

第二節 菸致癌物與口、咽、喉癌個體易感受性基因學研究

個人獨一無二的基因組合對於內致癌物質的感受性

人類基因組的三萬個基因大致可分為三群：(1)代謝基因：主司內源性或外來物質的代謝。(2)訊息傳遞基因：轉譯出 kinases, phosphatases, transcription factors, cell surface receptors, receptors for drug metabolizing enzyme 之基因。(3)infrastructure genes：負責細胞結構的完整。

藥物或致癌物質的代謝，在人體內是經兩階段的代謝酵素完成的，原先這兩代謝過程幾乎等於肝臟的解毒系統，1960 以後，發現在肺臟、腎臟及胃腸道都有這些代謝作用。第一相(phase I) 的代謝酵素以 cytochrome CYP (CYP) 為主，

可使惰性的內源性或外來致癌物質(如：菸草煙霧中的benzo(a)pyrene)，加上有活性的氫氧根(-OH)，因而活化成有毒性或致癌性的中間產物，可和核酸或蛋白質共價鍵結，造成基因的破壞。第二相(phase II)的代謝酵素(drug-metabolizing enzymes, DMEs)包括glutathione S-transferase (GST)，N-acetyl transferase (NAT)，UDP glucuronosyl transferase，epoxide hydrolase等，可使用glutathione，glucuronic acid，sulfate，cysteine或acetate，和活化的中間產物結合，使之形成為親水性物質，而被排出體外，具有解毒作用。偶而GST和NAT也可如第一相代謝酵素，具有活化某些致癌物的性質〔96〕。

a. 第一相代謝酵素

人類的CYP含有一百種以上的酵素，根據基因序列的相似性，可分為10族，又可分為16亞族(CYP 1A, 2A, 2B, 2C, 2D, 2E, 2F, 3A, 4B, 7, 11A, 11B, 17, 19, 21A, 27)，負責活化致癌物的是CYP 1, 2, 3，又名drug-metabolizing CYP，大部分CYP的酵素活性有差異性，每個人有不同程度的酵素活性，因而決定不同的代謝能力及致癌感受性。

CYP1A1 (aryl hydrocarbon hydroxylase, AHH, benzo(a)pyrene-3-hydroxylase)基因位於15q22-ter，CYP1A1有512個胺基酸，在人類主要出現於肝臟外的肺臟，淋巴球，胎盤。吸菸者比不吸菸者在肺臟有更多CYP1A1的mRNA，以Msp I可切成不同大小的片段，而有restriction fragment length polymorphism (RFLP)，有Msp I切點者，是稀少的等位基因(rare allele)，有純合子稀少的等位基因(genotype C)者罹患肺癌的危險性會增加〔97〕。

CYP1A2 (arylamine hydroxylase)有516個胺基酸，在人類不同個人間含量差異達十倍，可活化aromatic amine前致癌物(2-aminoanthracene, 2-aminofluorene, 2-acetylaminofluorene, 4-ABP, 2-NA，以及菸內的nitrosamine，如：NNK)，heterocyclic amine和aflatoxin B1，也可使caffeine進行demethylation。該酵素主要位於肝臟內，也可因吸菸而在胃腸、大腦誘導出，酵素活性的基因型有3種：高/高，高/低，低/低。

CYP2D6在肝臟可氧化debrisoquine(一種腎上腺抑制劑，用於降血壓)，有兩種表現型：不良的代謝者(poor metabolisers, PM)及廣泛的代謝者(extensive metabolisers, EM)，EM的排泄效力是PM的10-200倍。最常見的PM型，在白種人是於CYP2D6 intron 3/exon 4交界處，出現G→A的transition，導致不正常的捻接(splicing)，因而缺乏debrisoquine-4-hydroxylase的活性。

CYP2E1有493個胺基酸，存在於培養的人類口腔表皮細胞及大鼠口腔黏膜和舌頭，可活化一些潛在、重要的致癌物，如：benzene, butadiene, carbon tetrachloride, vinyl chloride, NDMA及菸內專有的nitrosamine：NNK，它可被乙醇誘發出，也參與aniline，乙醇及丙酮的代謝，依有無Rsa I或Pst I的限制酶切點而有多型性，常見的正常型(wild type)：Rsa I(+)/Pst I(-)，定為c1，是高表現型(high expression, HE)；變異型c2：Rsa I(-)/Pst I(+)是低表現型(low expression, LE)。

CYP3A在人類不同個人間含量差異達5-10倍，主要在肝臟參與藥物的代謝，如nifedipine, cyclosporin, 17 α -ethynylestradiol, erythrocine，目前有四種：CYP3A3, CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7，其中CYP3A4是aflatoxin B1, aflatoxin G1的主要活化酶〔98, 99〕。

在Hecht〔48〕文獻中曾提到有關nitrosamine 氧化代謝過程中和CYP有著密切的關係。在老鼠實驗中提到carbonyl reduction的代謝和CYP無關，pyridine oxidation的代謝和CYP 2B1有較強證據和CYP1A2、3A也有關， α -methylene hydroxylation的代謝和CYP 2B1、1A2、3A、1A、2A1有較強證據而2A、2F也有關， α -methyl hydroxylation的代謝和CYP 1A2、2A1、3A有較強證據而2B1、2A也有關。在人類的肝和肺有關nitrosamine 氧化代謝過程中和CYP之間研究如表14。至於PAH與CYP之間研究主要以CYP1A1為主〔100,101,102,103,104〕，CYP2C9和CYP3A4也有文獻提到〔103〕；另外Heidel等〔105〕研究在骨髓內PAH 7.12-dimethylbenz(a)anthracene和CYP1B1有關。CYP1A1與PAH代謝aryl hydrocarbon hydroxylase enzyme有關〔102〕，最早由Nakachi等〔106〕提到當CYP1A1的第462胺基酸由isoleucine轉變為valine時和與菸草引起的肺癌的流行病學研究有相關性。

在文獻探討中，有關第一相(phase I) 的代謝酵素以cytochrome CYP (CYP)和口、咽、喉癌相關性並不多，Liu等〔107〕比較171名高加索或非裔美國人，罹患口腔、口咽、喉癌者，和399名非癌症者的CYP2E1基因型，發現在吸菸 ≤ 24 pack-years組，口腔、口咽、喉癌者基因型為CYP2E1 c1/c1的比率，比非癌症者高(100% vs 92%， $p = 0.033$)，顯示c1等位基因可能增加罹患口腔、口咽、喉癌的危險性；在吸菸 > 24 pack-years組無差異。CYP1A1和口、咽、喉癌研究其勝算比從1.50到4.19都有報告〔100,101,102,108,109〕，且Sato等〔109〕研究在低量使用菸草情況下CYP1A1^{val}對口腔癌有較高的影響力。另有些研究提及CYP1A1^{val}和null GSTM1對口腔癌的發生具加成性〔109,110〕如Sato等〔109〕研究同時具有CYP1A1^{val}和null GSTM1其勝算比為10.2 (95%CI 2.70~38.52)，但各別的勝算比分別為4.19(95%CI 1.59~11.1) 和2.24(95%CI 1.39~3.61)。

表17：人類CYPs的特性

CYP 代號	染色體位置	胺基酸個數	所在器官	活化對象
CYP1A1	15q22-qter	512	肝外	B(a)P, 2-AAF等
1A2	15	516	肝臟	2-AAF, 4-ABP, Glu-P-1, IQ, AFB ₁ , Typ-P-2, 2-AF等
CYP2A6	19q13.1-13.2	494	肝臟	AFB ₁ , NDEA等
2B7	19q12-q13.2	491	肝臟	AFB ₁ ,
2C8		490	肝臟	

2C9	10q24.1-24.3	490	肝臟	
2C10		490	肝臟	
2D6	22q11.2-qter	497	肝臟	
2E1	10	493	肝臟	NDMA, NDEA 等
2F1	19q12-13.2	491	肺臟	
CYP3A3		504	肝臟	AFB ₁
3A4		503	肝臟	AFB ₁ , B(a)P-7, 8-diol, 6-AC等
3A5	7q21.3-q22	502	肝臟	
3A7		503	肝臟	AFB ₁ , IQ
CYP4B1	1p12-p34	511	胎盤 肺臟	
CYP7		504	肝臟	
CYP11A1	15	521	steroidgenic	
11B1	8q21-22	503	腎上腺	
CYP17	10	508	steroidgenic	
CYP19	15q21.1-21.3	503	steroidgenic	
CYP21A2	6p21.3	494	腎上腺	
CYP27	2q33-qter	499	肝臟	

資料來源：Kawajiri K, Fujii-Kuriyama Y: CYP and human cancer. Jpn J Cancer Res 1991;82:1325-35.

b. 第二相代謝酵素

GST也包含一群酵素，其催化作用很強，只要0.1 mM的glutathione便可還原一些被CYP活化的致癌中間產物，以加速排出體外，達到解毒作用。人類GSTs有四類：Alpha, Mu, Pi, Theta。GSTM1、GSTM3、GSTP1和GSTT1都參與菸內致癌物之代謝，如：benzo(a)pyrene 及其他polycyclic aromatic hydrocarbon， monohalomethane和ethylene oxide。GST-mu (GSTM)族是最常見，其中的GSTM1有三型：GSTM1*0, GSTM1*A, GSTM1*B。GSTM1*0為無效力型 (null GSTM1)，解毒能力弱，可增加罹患肝癌、膀胱癌、喉癌、大腸癌、皮膚癌、黑色素瘤及、口腔癌的危險性；但有的報告發現null GSTM1罹患口咽癌的危險性並不顯著。Hung等〔111〕比較41名口腔癌及123名非癌症者，以multiple logistic regression analysis，發現有GSTM1和/或GSTT1為無效力型者，會比GSTM1和GSTT1都為正常型者，增加罹患口腔癌的危險性，勝算比是4.6 (95% CI = 0.9-23.7, $p = 0.08$)；在不嚼檳榔者，基因型為CYP2E1 c1/c2或c2/c2，比c1/c1罹患口腔癌的危險性高，勝算比是4.7 (95% CI = 1.1-20.2, $p = 0.08$)。

GSTM3有正常型(GSTM3*A) 及變異型(GSTM3*B)，代謝能力不一樣，GSTM3AA基因型可能增加罹患口咽癌的危險性〔112〕。

GSTP1除了正常型GSTP1*A 之外，有GSTP1*B、GSTP1*C兩變異型，兩變異型在第313個核苷酸都有A→G transition，使得isoleucine (Ile)變成valine (val)，而改變其代謝活性。

GST θ 有兩型：GSTT1, GSTT2。人類有38%沒有GSTT1基因表現，因而無法代謝dihalomethanes，GSTT1對1-chloro-2, 4-dinitrobenzene (CDNB)

的代謝速率很慢，但可代謝GSTM1不易代謝的diepoxybutane（菸內1,3-butadiene的代謝物），也代謝alkyl halides, ethylene oxide, dihalomethanes, monoepoxybutene。GSTT2有244個胺基酸，GSTT2位於染色體22q11.2〔113,114〕。無效力型的GSTT1可增加罹患腦癌及大腸直腸癌的危險性〔115,116〕。

N-acetyltransferase(NAT)在人類有兩個有作用的基因：NAT1、NAT2，及一個假基因(pseudogene)：NATP，都位於染色體8 ter-q11，彼此很接近。NAT2存在於人體很多組織內，可代謝arylamines, aromatic amines及caffeine，正常型是rapid acetylator (RA)，變異型是slow acetylator (SA)，最常見分別在基因的341, 803核苷酸出現 T→C, A→G transition，第二常見的SA基因是在第590核苷酸出現G→A transition，因而活性降到正常的24%。SA者對經CYP活化的致癌物之解毒能力較低，因此罹患頭頸癌、膀胱癌、乳癌的危險性較高，但是也有一些RA者，罹患大腸直腸癌或肺癌的危險性較高，可能NAT又可經由N, O-transacetylation及O-acetylation，而活化一些致癌物的代謝產物〔117,118,119〕。

因此若吸菸量增加，第一相活化酵素能力強，而第二相酵素解毒或修補DNA的能力低，則罹患與吸菸有關的癌症之危險性大增；反之，若吸菸量少，第一相活化酵素能力弱，而第二相酵素解毒或修補DNA的能力強，則罹患與吸菸有關的癌症之危險性便大為減少〔99〕。

GST與菸草代謝有關是GSTM1、GSTM3、GSTP1和GSTT1〔120〕，目前研究以GSTM1和GSTT1跟口腔癌有較高相關性，Geisler等〔121〕收集了從1993年到2000年有關GSTM1和GSTT1跟頭頸部鱗狀上皮細胞癌的文獻共24篇，發現GSTM1對喉癌勝算比從1.9到4.7都有報告，而GSTM1對口、咽癌勝算比13篇從0.9到1.3，剩下8篇從1.4到3.9；GSTT1對口、咽、喉癌研究存6篇勝算比從1.4到2.6，其餘的研究文獻GSTT1對口、咽、喉癌勝算比皆落在0.5到1.2。文中也提到中國人其null GSTM1從35%到63%而GSTT1基因缺陷為38%。另有研究提及在低量使用菸草情況下null GSTM1對口腔癌有較高的影響力〔100,122〕。Cheng等〔123〕研究發現GSTM1和GSTT1同時基因缺陷時對頭頸部鱗狀上皮細胞癌發生具有加成性。

Deakin等〔124〕蒐集40名口腔癌，108名肺癌，136名胃癌，252名大腸直腸癌都是吸菸者，和577名非癌症者(49%不吸菸)，比較GSTM1 and GSTT1的基因型，發現在口腔癌，肺癌，胃癌者，無效力型的GSTT1之比率並不增加。癌症者都有無效力型的GSTT1和GSTM1之百分比是11.9%，對照組是9.4%，無效力型的GSTT1和GSTM1之間，也沒有顯著的加成作用。Jourenkova-Mironova等〔125〕蒐集121名口腔癌，咽癌者，和172名非癌症者，比較GSTM1, GSTM3, GSTP1和GSTT1的基因型，發現GSTP1(AG或GG) 基因型的勝算比是1.6 (95% CI = 1.0-2.8, $p = 0.07$)，GSTT1無效力型的勝算比是2.0 (95% CI = 1.0-4.0, $p = 0.05$)，上兩種基因型的效應，在吸菸超過30年者更明顯，勝算比分別是2.0 (95% CI = 1.0-3.9)，3.3 (95% CI = 1.3-8.1)；相反地，無效力型的GSTM1或GSTM3AA型，並不增加罹患口、咽癌的危險性，勝算比分別是0.9 (95% CI = 0.5-1.5)，1.3 (95% CI = 0.7-2.3)。Gonzalez等〔126〕蒐集35名咽癌，35名喉癌，5名口腔底癌者，和200名非癌症者，比較CTP2E1,

CYP2D6, NAT2, GSTM1的基因型，發現CYP2E1, CYP2D6基因型和頭頸癌無關，GSTM1缺失的比率在兩組也沒差別(58% vs 54%)；NAT2-SA表現型者罹患頭頸癌的危險性最高($p < 0.002$)，最常見的SA基因型(純合子NAT2*5)之百分比，在癌症和對照組分別是27%，15% ($p < 0.04$)，第二常見的SA基因型(純合子NAT2*6)之百分比，在癌症和對照組分別是11%，5% ($p < 0.04$)，吸菸量低於平均的癌症者，比吸菸量高於平均的癌症者，有較高比率的NAT2-SA表現型，顯示NAT2-SA表現型，是罹患與吸菸有關之頭頸癌的危險因子。

Abdel-Rahman等〔127〕研究45吸菸且得肺癌病人和47對照組的人，發現NAT1*10 heterozygous allele得肺癌勝算比為3.7和NAT1*10 homozygous allele得肺癌勝算比為3.9。Kato等〔128〕研究日本口腔癌患者62人和對照組122人發現任何一種NAT1*10 allele為NAT1*3或NAT1*4得口腔癌勝算比為3.6，但以吸菸分群，不吸菸這群NAT1*10 allele為NAT1*3或NAT1*4得口腔癌勝算比為5.5，吸菸這群NAT1*10 allele為NAT1*3或NAT1*4得口腔癌勝算比為3.1，兩群間則沒有統計上差異。NAT2的研究則可發現NAT2-SA為NAT2-RA得口腔癌勝算比為2.1。

除了代謝酵素的能力之外，DNA 修補能力的好壞，也與致癌的差異性有關，DNA 修補基因 XRCC1 的變異型，可增加頭頸癌的危險性〔129〕。另外 XPD/ERCC2 是一種 helicase，為核苷酸切除修補 (nucleotide excision repair)所必須，可修補菸內致癌物所造成的基因破壞，Sturgis 等〔130〕蒐集 189 名頭頸癌者(70 名口腔癌，75 名口咽/下咽癌，44 名喉癌)，對照 496 名非癌症者，以 multivariate logistic regression analysis，看看是否 XPD 的兩變異型(22541A, 35931C)罹患頭頸癌的危險性較高，結果 22541AA 型在癌症病人的比率，反而比對照組低 (15.9% vs 20.4%)；35931CC 型在癌症病人的比率為 16.4%，對照組者有 11.5%，危險性稍微增加 OR = 1.55 (95% CI = 0.96-2.52)，如果只比較 65 歲以上的老年人或最近仍在吸菸者，則 35931CC 型者罹患頭頸癌的勝算比分別是 2.22 (95% CI = 1.03-4.80)，1.83 (95% CI = 0.79-4.27)。

表 18：菸致癌物與口、咽、喉癌個體易感受性基因學研究

作者(年代)	癌症	基因型	罹癌危險性
Liu et al(2001)	口腔、口咽、喉 癌 吸菸 ≤ 24 pack-years 者	CYP2E1 c1/c1	增加
Hung et al (1997)	口腔癌	null GSTM1 和/或 null GSTT1	增加
	口腔癌 不嚼檳 榔者	CYP2E1 c1/c2 或 c2/c2	增加
Matthias et al (1998)	口咽癌	GSTM3AA	增加
Elexpuru-Camiruag a et al (1995)	腦癌	null GSTT1	增加
Deakin et al (1996)	大腸直腸癌	null GSTT1	增加

	口腔癌，肺癌， 胃癌	null GSTT1	不變
Jourenkova-Mironova et al (1999)	口腔癌，咽癌	<i>GSTP1</i> (AG 或 GG)	稍微增加
		null GSTT1	增加
		Null <i>GSTM1</i> 或 <i>GSTM3AA</i>	不變
Gonzalez et al (1998)	咽癌，喉癌，口 底癌	<i>CTP2E1</i> , <i>CYP2D6</i> null <i>GSTM1</i>	不變
Sturgis et al (1999)	頭頸癌	NAT2-SA	增加
Sturgis et al (2000)	口腔癌，口咽/ 下咽癌，喉癌	<i>XRCC1</i> 變異型 XPD 變異型 22541AA	增加 減少
		XPD 變異型 35931CC 型	稍微增加

第四章 結論與建議

菸草內含有4800多種化合物，其中有69種的確是對人類有致癌性或很有可能是致癌性的，因此菸草是最重要的致癌物質之一，已是無庸置疑。流行病學的研究，發現吸菸的量與罹患口、咽、喉癌成正向關係，戒菸後罹患口、咽、喉癌的危險性也會降低，在動物實驗及人體外人體內的實驗，顯示菸草內含致癌物，可造成細胞增生或細胞毒性，以及染色體斷裂，抑制DNA複製與修補等。此外，吸菸也會導致p53 RAS基因的突變，造成抑癌基因的去活化，以及致癌基因的過度活化，有助腫瘤的形成。

因為菸草內的致癌物是屬於前致癌物，必須經過體內代謝酵素的活化，才有致癌性，體內第一相代謝酵素，如CYP，可活化前致癌物，而第二相代謝酵素，如GST，可有解毒效果，由於每個人體內第一相代謝酵素及第二相代謝酵素的活性，幾乎都不一樣，因此對於致癌物質的感受性因人而異，若吸菸量增加，第一相活化酵素能力強，而第二相酵素解毒或修補DNA的能力低，則罹患與吸菸有關的癌症之危險性大增；反之，若吸菸量少，第一相活化酵素能力弱，而第二相酵素解毒或修補DNA的能力強，則罹患與吸菸有關的癌症之危險性便大為減少。所以對於禁菸的宣導，應該強調，以目前的科技，還無法了解一個人體內所有代謝酵素活性的強弱，即使癌症家族，也不是每一個人都會罹癌，也是有的成員身體非常健康，因此幾乎無法斷定那些人，易受致癌物質傷害，必須經過長期吸菸，看看有無罹癌，才得以知道那些人易感受，罹癌者就是所謂體質不好的，不罹癌者就是所謂體質好的，可是代價實在太大了。因此必須呼籲民眾，不要看到少數所謂好體質者，一輩子吸菸都沒罹患癌症，便心存僥倖，能夠儘量減少菸草內致癌物的暴露，就儘量減少，以免增加第二相代謝酵素的負擔，萬一解毒能力不好，多少一定會對體內產生傷害的。

參考文獻：

1. 行政院衛生署國民健康局：中華民國八十七年癌症登記報告。民國九十年十二月。
2. Tuyns AJ, Esteve J, Raymond L, et al: Cancer of the larynx/hypopharynx, tobacco and alcohol: IARC international case-control study in Turin and Varese (Italy), Zaragoza and Navarra (Spain), Geneva (Switzerland) and Calvados (France). Int J Cancer 1988; 41: 483-91.
3. Ko YC, Huang YL, Lee CH, Chen MJ, et al: Betel quid chewing, cigarette smoking and alcohol consumption related to oral cancer in Taiwan. J Oral Pathol Med 1995; 24: 450-3.
4. 國家衛生研究癌症研究組：口腔癌治療共識 Taipie, 1998: 1-14.
5. 謝地：扁桃惡性腫瘤。台灣醫誌 1963; 62: 92-7.
6. 張燕良、徐茂銘、謝地：下咽癌之治療—10年間治療結果之統計分析。中耳醫誌 1980; 15: 19-25.
7. 蕭自佑、洪敏捷、謝地：喉癌之治療—10年間治療結果之統計分析。中耳醫

- 誌 1987; 22: 22-7.
8. Hiranandana LH: Panel on Epidemiology and Etiology of Laryngeal Carcinoma. *Laryngoscope* 1975; 85: 1197-1207.
 9. Wynder L: Toward the Prevention of Laryngeal Cancer. *Laryngoscope* 1975; 85: 1190-5.
 10. Iwamoto H: An Epidemiological Study of Laryngeal Cancer in Japan (1960-1969). *Laryngoscope* 1975; 85: 1162-72.
 11. Atkinson L: Some Features of the Epidemiology of Cancer of the Larynx in Australia and Papua, New Guinea. *Laryngoscope* 1975; 85: 1173-84.
 12. Brandenburg JH: Aryl Hydrocarbon Hydroxylase Inducibility in Laryngeal Carcinoma. *Arch Otolaryngol* 1978; 104: 151-2.
 13. Tam EK: Passive smoking, active measures. *Pulmonary Perspectives* 1999; 16: 3-5.
 14. 陳金勝, 陳中和. 口腔鱗狀上皮細胞癌之統計分析報告. *kaohsiung J Med Sci* 11:1995,582-588.
 15. 蔡崇弘, 邱清華. 台灣地區口腔癌發生率研究. *Chin Dent J(中華牙誌)* September 1990 9: 104-115.
 16. Ho PS, Ko YC, Yang YH, et al: The incidence of oropharyngeal cancer in Taiwan: an endemic betel quid chewing area. *J Oral Pathol Med* 2002; 31: 213-9.
 17. Yang CY, Hsieh YL: The relationship between population density and cancer mortality in Taiwan. *Jpn J Cancer Res* 1998; 89: 355-60.
 18. Franceschi S, Bidoli E, Herrero R, et al: Comparison of cancers of the oral cavity and pharynx worldwide: etiological clues. *Oral Oncol* 2000; 36: 106-15.
 19. Levi F, Lucchini F, Negri E, et al: Cancer mortality in Europe, 1990-1994, and an overview of trends from 1955 to 1994. *Eur J Cancer* 1999; 35: 1477-516.
 20. Hammon EC, Horn D: Smoking and death rates-report on forty-four months of follow up of 187,783 men. *JAMA* 1958; 166: 1294-1308
 21. Liaw KM, Chen CJ: Mortality attributable to cigarette smoking in Taiwan: a 12-year follow-up study. *Tob Control* 1998; 7:141-8.
 22. Llewellyn CD, Johnson NW, Warnakulasuriya KA: Risk factors for squamous cell carcinoma of the oral cavity in young people--a comprehensive literature review. *Oral Oncol* 2001; 37: 401-18.
 23. Mackenzie J, Ah-See K, Thakker N, et al: Increasing incidence of oral cancer amongst young persons: what is the aetiology? *Oral Oncol* 2000; 36: 387-9.
 24. Schildt EB, Eriksson M, Hardell L, et al: Oral snuff, smoking habits and alcohol consumption in relation to oral cancer in a Swedish case-control study. *Int J Cancer* 1998; 77: 341-6.
 25. La Vecchia C, Tavani A, Franceschi S, et al: Epidemiology and prevention of oral cancer. *Oral Oncol* 1997; 33: 302-12.
 26. Takezaki T, Hirose K, Inoue M, et al: Tobacco, alcohol and dietary factors associated with the risk of oral cancer among Japanese. *Jpn J Cancer Res* 1996; 87: 555-62.
 27. Lu CT, Yen YY, Ho CS, et al: A case-control study of oral cancer in Changhua County, Taiwan. *J Oral Pathol Med* 1996; 25: 245-8.
 28. De Stefani E, Boffetta P, Oreggia F, et al: Smoking patterns and cancer of the oral cavity and pharynx: a case-control study in Uruguay. *Oral Oncol* 1998; 34: 340-6.

29. Zavras AI, Douglass CW, Joshipura K, et al: Smoking and alcohol in the etiology of oral cancer: gender-specific risk profiles in the south of Greece. *Oral Oncol* 2001; 37: 28-35.
30. Moreno-Lopez LA, Esparza-Gomez GC, Gonzalez-Navarro A, et al: Risk of oral cancer associated with tobacco smoking, alcohol consumption and oral hygiene: a case-control study in Madrid, Spain. *Oral Oncol* 2000; 36: 170-4.
31. Andre K, Schraub S, Mercier M, et al: Role of alcohol and tobacco in the aetiology of head and neck cancer: a case-control study in the Doubs region of France.
Eur J Cancer B Oral Oncol 1995; 31B: 301-9.
32. Yu GP, Zhang ZF, Hsu TC, et al: Family history of cancer, mutagen sensitivity, and increased risk of head and neck cancer. *Cancer Lett* 1999; 146: 93-101.
33. Balaram P, Sridhar H, Rajkumar T, et al: Oral cancer in southern India: the influence of smoking, drinking, paan-chewing and oral hygiene. *Int J Cancer* 2002; 98: 440-5.
34. Macfarlane GJ, Zheng T, Marshall JR, et al: Alcohol, tobacco, diet and the risk of oral cancer: a pooled analysis of three case-control studies. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 1995; 31B: 181-7.
35. Chen YK, Huang HC, Lin LM, et al: Primary oral squamous cell carcinoma: an analysis of 703 cases in southern Taiwan. *Oral Oncol* 1999; 35: 173-9.
36. Kim MS, Shin KH, Baek JH, et al: HPV-16, tobacco-specific N-nitrosamine, and N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in oral carcinogenesis. *Cancer Research* 1993; 53: 4811-6.
37. Lefebvre JL, Buisset E, Coche-Dequeant B, et al: Epilarynx: pharynx or larynx? *Head Neck* 1995; 17: 377-81.
38. Peng J, Raverdy N, Ganry O, et al: Descriptive epidemiology of upper aerodigestive tract cancers in the department of Somme. *Bull Cancer* 2000; 87: 201-6. In French; English abstract.
39. Luce D, Guenel P, Leclerc A, et al: Alcohol and tobacco consumption in cancer of the mouth, pharynx, and larynx: a study of 316 female patients. *Laryngoscope* 1988; 98: 313-6.
40. Brugere J, Guenel P, Leclerc A, et al: Differential effects of tobacco and alcohol in cancer of the larynx, pharynx, and mouth, *Cancer* 1986; 57: 391-5.
41. Jayant K, Yeole BB: Cancers of the upper alimentary and respiratory tracts in Bombay, India: A study of incidence over two decades. *Br J Cancer* 1987; 56: 847-52.
42. Jayant K, Balakrishnan V, Sanghvi LD, et al: Quantification of the role of smoking and chewing tobacco in oral, pharyngeal, and oesophageal cancers. *Br J Cancer* 1977; 35: 232-5.
43. Simarak S, de Jong UW, Breslow N, et al: Cancer of the oral cavity, pharynx/larynx and lung in north Thailand: case-control study and analysis of cigar smoke. *Br J Cancer* 1977; 36: 130-40.
44. Boffetta P, Mashberg A, Winkelmann R, et al: Carcinogenic effect of tobacco smoking and alcohol drinking on anatomic sites of the oral cavity and oropharynx. *Int J Cancer* 1992; 52: 530-3.
45. Shapiro JA, Jacobs EJ, Thun MJ: Cigar smoking in men and risk of

- death from tobacco-related cancers. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 333-7.
46. Blot WJ, McLaughlin JK, Winn DM, et al: Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res* 1988; 48: 3282-7.
 47. Dietrich Hoffmann, Ilse Hoffmann, Karam El-Bayoumy: The Less Harmful Cigarette: A Controversial Issue. A Tribute to Ernst L. Wynder. *Chem Res Toxicol* 2001; 14: 767-790.
 48. Hecht SS: Biochemistry, biology, and carcinogenicity of tobacco-specific N-nitrosamines. *Chem Res Toxicol* 1998; 11: 559-603.
 49. Smith CJ, Livingston SD, Doolittle DJ: An international literature survey of "IARC Group I carcinogens" reported in mainstream cigarette smoke. *Food Chem Toxicol* 1997; 35: 1107-30.
 50. Smith CJ, Perfetti TA, Rumple MA, et al: "IARC group 2A Carcinogens" reported in cigarette mainstream smoke. *Food Chem Toxicol* 2000; 38: 371-83.
 51. Montesano R, Hall J: Environmental causes of human cancers. *Eur J Cancer* 2001; 37: S67-87.
 52. Magee PN, Barnes JM: The production of malignant primary hepatic tumors in the rat by feeding dimethylnitrosamine. *Br J Cancer* 1956; 10: 114-22.
 53. Hecht SS, Hoffmann D: Tobacco-specific nitrosamines, an important group of carcinogens in tobacco and tobacco smoke. *Carcinogenesis* 1988; 9: 875-84.
 54. Wilp J, Zwickenspflug W, Richter E: Nitrosation of dietary myosmine as risk factor of human cancer. *Food Chem Toxicol* 2002; 40: 1223-8.
 55. Hecht SS, Young R, Chen CB: Metabolism in the F344 rat of 4-(N-methyl-nitrosamine)-1-(3-pyridyl)-1-butanone, a tobacco specific carcinogen. *Cancer Res* 1980; 40: 4144-50.
 56. Castonguay A, Pepin P, Briere N: Modulation of 4-(N-methyl-nitrosamine)-1-(3-pyridyl)-1-butanone demethylation and denitrosation by rat liver microsomes. *Cancer Lett* 1991; 59: 67-74.
 57. Patten C, Smith T, Friesen M, et al: Evidence for cytoplasmic CYP 2A6 and 3A4 as major catalysts for N-nitrosornicotine α -hydroxylation by human liver microsomes. *Carcinogenesis* 1997; 18: 1623-30.
 58. Hecht SS, Chen CB, Hoffmann: Metabolic β -hydroxylation and N-oxidation of N-nitrosornicotine. *J Med Chem* 1980; 23: 1175-8.
 59. International Agency for Center for Nutrition and Research on Cancer (WHO) and Toxicology (Karolinska Institute): DNA adducts identification and biological significance: IARC Scientific Publications. 1994; 125: 73-84.
 60. Peterson LA, Liu XK, Hecht, et al: Pyridyloxobutyl DNA adducts inhibit the repair of O⁶-methylguanine. *Cancer Res* 1993; 53: 2780-5.
 61. International Agency for Research on Cancer Tobacco smoking: IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals of humans. 1986; 38: 136-9.
 62. Hecht SS, Rivenson A, Braley J, et al: Induction of oral cavity tumors in F344 rats by tobacco-specific nitrosamines and snuff. *Cancer Res* 1986; 46: 4162-6.
 63. International Agency for Research on Cancer Tobacco smoking. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals of humans, Vol.38 p139
 64. Murphy SE, Heiblum R, Trushin N: Comparative metabolism of N'-nitrosornicotine and 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone by

- cultured F344 rat oral tissue and esophagus. *Cancer Res* 1990; 50: 4685-91.
65. Murphy SE, Heiblum R: Effect of nicotine and tobacco-specific nitrosamines on the metabolism of N'-nitrosonornicotine and 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone. rat oral tissue Carcinogenesis 1990; 11: 1663-6.
 66. Liu Y, Sundqvist K, Belinsky SA, Castonguay A, Tjalve H, Grafstrom RC. Metabolism and macromolecular interaction of the tobacco-specific carcinogen 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone in cultured explants and epithelial cells of human buccal mucosa. *Carcinogenesis* 1993; 14(11): 2383-8.
 67. Schuller HM, McGavin MD, Orloff M, et al: Simultaneous exposure to nicotine and hyperoxia causes tumors in hamsters. *Lab Invest* 1995; 73: 448-56.
 68. Arredondo J, Nguyen VT, Chernyavsky AI, et al: A receptor-mediated mechanism of nicotine toxicity in oral keratinocytes. *Lab Invest* 2001; 81: 1653-68.
 69. Chowdhury P, MacLeod S, Udupa KB, et al: Pathophysiological effects of nicotine on the pancreas: An update. *Exp Biol Med* 2002; 227: 445-54.
 70. Li MD, Konu O, Kane JK, et al: Microarray technology and its application on nicotine research. *Mol Neurobiol* 2002; 25: 265-85.
 71. Stedman RL: The chemical composition of tobacco and tobacco smoke. *Chem Rev* 1968; 68: 153-98.
 72. Yoon JH, Smith LE, Feng Z, et al: Methylated CpG dinucleotides are the preferential targets for G-to-T transversion mutations induced by benzo [a] pyrene diol epoxide in mammalian cells: similarities with the p53 mutation spectrum in smoking-associated lung cancers. *Cancer Res* 2001; 61: 7110-7.
 73. Cosman M, Ibanez V, Geacintov NE, et al: Preparation and isolation of adducts in high yield derived from the binding of two benzo [a] pyrene-7,8-dihydroxy-9,10-oxide stereoisomers to the oligonucleotide d(ATATGTATA). *Carcinogenesis* 1990; 11: 1667-72.
 74. Smith LE, Denissenko MF, Bennett WP, et al: Targeting of lung cancer mutational hotspots by polycyclic aromatic hydrocarbons. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 782-3.
 75. Hainaut P, Pfeifer GP: Patterns of p53 G→T transversions in lung cancers reflect the primary mutagenic signature of DNA-damage. tobacco smoke *Carcinogenesis* 2001; 22: 367-74.
 76. Ayan N, Ayan I, Alatli C, et al: P53 overexpression in normal oral mucosa of heavy smokers. *J Exp Clin Cancer Res* 2000; 19: 525-9.
 77. Brennan JA, Boyle JO, Koch WM: Association between cigarette smoking and mutation of the p53 gene in squamous cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 1995; 332: 712-7.
 78. Liloglou T, Scholes AGM, Spandidos DA, et al: p53 mutations in squamous cell carcinoma of the head and neck predominate in a subgroup of former and present smokers with a low frequency of genetic instability. *Cancer Res* 1997; 57: 4070-4.
 79. Hsieh LL, Wang PF, Chen IH, et al: Characteristics of mutations in the p53 gene in oral squamous cell carcinoma associated with betel quid chewing and cigarette

- smoking in Taiwanese. *Carcinogenesis* 2001; 22: 1497-1503.
80. Kuo MYP, Huang JS, Hsu HC, et al: Infrequent p53 mutations in patients with areca quid chewing-associated oral squamous cell carcinomas in Taiwan. *Oral Pathol Med* 1999; 28: 221-5.
 81. Wong YK, Liu TY, Chang KW, et al: p53 alterations in betel quid-and tobacco-associated oral squamous cell carcinomas from Taiwan. *Oral Pathol Med* 1998; 27: 243-8.
 82. Ahrendt SA, Decker PA, Alawi EA, et al: Cigarette smoking is strongly associated mutation of the *K-ras* gene in patients with primary adenocarcinoma of the lung. *Cancer* 2001; 92: 1525-30.
 83. Westra WH, Slebos RJC, Offerhaus GJA, et al: *K-ras* oncogene activation in lung adenocarcinomas from former smokers. *Cancer* 1993; 72: 432-8.
 84. Slebos RJC, Hruban RH, Dalesio O, et al: relationship between *K-ras* oncogene activation and adenocarcinoma of the human lung. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83: 1024-7.
 85. Paterson IC, Eveson JW, Prime SS: Molecular changes in oral cancer may reflect aetiology and ethnic origin. *Eur J Cancer B Oral Oncol.* 1996; 32B: 150-3.
 86. Wang SL, Feng J, Correa A, et al: Effects of in vivo treatments of nicotine and benzo [a] pyrene on the epidermal growth factor receptor in hamster buccal pouch. *Toxicology* 1996; 107: 31-8.
 87. Rasmussen RE: Inhibition of DNA replicative synthesis and DNA repair synthesis in human and mouse cells in culture by cigarette smoke condensate fractions. *Life Sci* 1975; 17: 767-73.
 88. Hopkin JM, Evans HJ: Cigarette smoke-induced DNA damage and lung cancer risks. *Nature* 1980; 283: 388-90.
 89. Borish ET, Pryor WA, Venugopal S, et al: DNA synthesis is blocked by cigarette tar-induced DNA single strand breaks. *Carcinogenesis* 1987; 8: 1517-20.
 90. Stein CK, Glover TW, Palmer JL, et al: Direct correlation between *FRA3B* expression and cigarette smoking. *Genes Chromosomes Cancer* 2002; 34: 333-40.
 91. Chang KW, Kao SY, Tzeng RJ, et al: Multiple molecular alterations of *FHIT* in betel-associated oral carcinoma. *J Pathol* 2002; 196: 300-6.
 92. van Heerden WF, Swart TJ, Robson B, et al: *FHIT* RNA and protein expression in oral squamous cell carcinomas. *Anticancer Res* 2001; 21: 2425-8.
 93. Tanimoto K, Hayashi S, Tsuchiya E, et al: Abnormalities of the *FHIT* gene in human oral carcinogenesis. *Br J Cancer* 2000; 82: 838-43.
 94. Kisielewski AE, Xiao GH, Liu SC, et al: Analysis of the *FHIT* gene and its product in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Oncogene* 1998; 17: 83-91.
 95. McKarns SC, Bombick DW, Morton MJ, et al: Gap junction intercellular communication and cytotoxicity in normal human cells after exposure to smoke condensates from cigarettes that burn or primarily heat tobacco. *Toxicol In Vitro* 2000; 14: 41-51.
 96. Nebert DW, McKinnon RA, Puga A: Human drug-metabolizing enzyme polymorphisms: effects on risk of toxicity and cancer. *DNA Cell Biol* 1996; 15: 273-80.

97. Kawajiri K, Nakachi K, Yoshii A, et al: Identification of genetically high risk individuals to lung cancer by DNA polymorphisms of the cytochrome P4501A1 gene. *FEBS Lett* 1990; 263: 131-3.
98. Kawajiri K, Fujii-Kuriyama Y: CYP and human cancer. *Jpn J Cancer Res* 1991; 82:1325-35.
99. Nebert DW, Roe AL: Ethnic and genetic differences in metabolism genes and risk of toxicity and cancer. *Sci Total Environ* 2001; 274: 93-102.
100. Sato M, Sato T, Izumo T, et al: Genetic polymorphism of drug-metabolizing enzymes and susceptibility to oral cancer. *Carcinogenesis* 1999; 20: 1927-31.
101. Park JY, Muscat JE, Ren Q, et al: CYP1A1 and GSTM1 polymorphisms and oral cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997; 6: 791-7.
102. Katoh T, Kaneko S, Kohshi K, et al: Genetic polymorphisms of tobacco- and alcohol-related metabolizing enzymes and oral cavity cancer. *Int J Cancer* 1999; 83: 606-9.
103. Rojas M, Cascorbi I, Alexandrov K, et al: Modulation of benzo[a]pyrene diolepoxide-DNA adduct levels in human white blood cells by CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 polymorphism. *Carcinogenesis* 2000; 21: 35-41.
104. Tanimoto K, Hayashi S, Yoshiga K, et al: Polymorphisms of the CYP1A1 and GSTM1 gene involved in oral squamous cell carcinoma in association with a cigarette dose. *Oral Oncol* 1999; 35: 191-6.
105. Heidel SM, MacWilliams PS, Baird WM, et al: Cytochrome CYP1B1 mediates induction of bone marrow cytotoxicity and preleukemia cells in mice treated with 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. *Cancer Res* 2000; 60: 3454-60.
106. Nakach K, Imai K, Hayashi S, et al. Polymorphism of the CYP1A1 and glutathione S-transferase genes associate with susceptibility to lung cancer in relation to cigarette dose in a Japanese population. *Cancer Res* 1993; 53: 2994-9.
107. Liu S, Park JY, Schantz S, et al: Elucidation of CYP2E1 5' regulatory Rsa I/Pst I allelic variants and their role in risk for oral cancer. *Oral Oncol* 2001; 37: 437-45.
108. Morita S, Yano M, Tsujinaka T, et al: Genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes and susceptibility to head-and-neck squamous-cell carcinoma. *Int J Cancer* 1999; 80: 685-8.
109. Sato M, Sato T, Izumo T, et al: Genetically high susceptibility to oral squamous cell carcinoma in terms of combined genotyping of CYP1A1 and GSTM1 genes. *Oral Oncol* 2000; 36: 267-71.
110. Park JY, Muscat JE, Ren Q, et al: CYP1A1 and GSTM1 polymorphisms and oral cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997; 6: 791-7.
111. Hung HC, Chuang J, Chien YC, et al: Genetic polymorphism of CYP2E1, GSTM1 and GSTT1; Environmental factors and risk of oral cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997; 6: 901-5.
112. Matthias C, Bockmuhl U, Jahnke V, et al: Polymorphism in cytochrome CYP CYP2D6, CYP1A1, CYP2E1 and glutathione S-transferase GSTM1, GSTM3, GSTT1 and susceptibility to tobacco-related cancers: studies in upper aerodigestive tract cancers. *Pharmacogenetics* 1998; 8: 91-100.
113. Ketterer B: Protective role of glutathione transferase in mutagenesis and carcinogenesis. *Mutatio Res* 1988; 202: 343-61.

114. Tan KL, Webb GC, Baker RT, et al: Molecular cloning of cDNA and chromosomal localization of human theta-class glutathione s-transferase gene (GSTT2) to chromosome 22. *Genomics* 1995; 25: 381-7.
115. Elexpuru-Camiruaga J, Buxton N, Kandula V, et al: Susceptibility to astrocytoma and meningioma: influence of allelism at glutathione S-transferase (GSTT1 and GSTM1) and cytochrome P-450 (CYP2D6) loci. *Cancer Res* 1995; 55: 4237-9.
116. Deakin M, Elder J, Hendrickse C, et al: Glutathione S-transferase GSTT1 genotypes and susceptibility to cancer: studies of interactions with GSTM1 in lung, oral, gastric, and colorectal cancers. *Carcinogenesis* 1996; 17: 881-4.
117. Risch A, Wallace DMA, Bathers S, et al: Slow N-acetylation genotype is a susceptibility factor in occupational and smoking related bladder cancer. *Hum Mol Genet* 1995; 4: 231-6.
118. Ilett KF, David BM, Detchon P: Acetylation phenotype in colorectal cancer. *Cancer Res* 1987; 47: 1466-9.
119. Ambrosone CB, Freudenheim JL, Graham S, et al: Cigarette smoking, N-acetyltransferase 2 genetic polymorphisms, and breast cancer. *JAMA* 1996; 276: 1494-501.
120. Jourenkova-Mironova N, Voho A, Bouchardy C, Wikman H, Dayer P, et al: Glutathione S-transferase GSTM1, GSTM3, GSTP1 and GSTT1 genotypes and the risk of smoking-related oral and pharyngeal cancers. *Int J Cancer* 1999; 81: 44-8.
121. Geisler SA, Olshan AF: GSTM1, GSTT1, and the risk of squamous cell carcinoma of the head and neck: a mini-HuGE review. *Am J Epidemiol* 2001; 154: 95-105.
122. Jourenkova N, Reinikainen M, Bouchardy C, et al: Larynx cancer risk in relation to glutathione S-transferase M1 and T1 genotypes and tobacco smoking. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 7: 19-23.
123. Cheng L, Sturgis EM, Eicher SA, et al: Glutathione-S-transferase polymorphisms and risk of squamous-cell carcinoma of the head and neck. *Int J Cancer* 1999; 84: 220-4.
124. Deakin M, Elder J, Hendrickse C, et al: Glutathione S-transferase GSTT1 genotypes and susceptibility to cancer: studies of interactions with GSTM1 in lung, oral, gastric, and colorectal cancers. *Carcinogenesis* 1996; 17: 881-4.
125. Jourenkova-Mironova N, Voho A, Bouchardy C, et al: Glutathione S-transferase GSTM1, GSTM3, GSTP1 and GSTT1 genotypes and the risk of smoking-related oral and pharyngeal cancers. *Int J Cancer* 1999; 81: 44-8.
126. Gonzalez MV, Alvarez V, Pello MF, et al: Genetic polymorphism of N-acetyltransferase-2, glutathione S-transferase-M1, and cytochromes CYP11B1 and CYP11B2 in susceptibility to head and neck cancer. *J Clin Pathol* 1998; 51: 294-8.
127. Abdel-Rahman SZ, El-Zein RA, Zwischenberger JB, et al: Association of the NAT1*10 genotype with increased chromosome aberrations and higher lung cancer risk in cigarette smokers. *Mutat Res* 1998; 398: 43-54.
128. Katoh T, Kaneko S, Boissy R, et al: A pilot study testing the association between N-acetyltransferases 1 and 2 and risk of oral squamous cell carcinoma in Japanese people. *Carcinogenesis* 1998; 19: 1803-7.

129. Sturgis EM, Castillo EJ, Li L, et al: Polymorphism of the DNA repair gene *XRCC1* in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Carcinogenesis* 1999; 20: 2125-9.
130. Sturgis EM, Zheng R, Li L, et al: XPD/ERCC2 polymorphism and risk of head and neck: a case control analysis. *Carcinogenesis* 2000; 21: 2219-23.
131. MMWR: Annual smoking-attributable mortality, Years of Potential Life Lost, and Economic Costs----United States, 1995-1999. 2002; 51: 300-3003.
132. van Agthoven, M., van Ineveld, B.M., et al: The costs of head neck oncology: Primary tumours, recurrent tumors and long-term follow-up. *European Journal of Cancer* 2001; 37: 2204-2211.
133. Zavras A, Andreopoulos N, Katsikeris N, et al: Oral cancer treatment costs in Greece and the effect of advanced disease. *BMC Public Health* 2002; 2: 12.
134. Lightwood J, Collins D, Lapsley H, et al: Estimating the cost of tobacco use. Chapter 4. in Prabhat Jha., and Frank Chaloupka., *Tobacco control in developing countries*. World bank 2000; 64-103.
135. Schoenbaum M: Do smokers understand the mortality effects of smoking? Evidence from the health and retirement survey. *American Journal of public Health* 1997; 87: 755-9.
136. Single E, Collin SD, Easton B, et al: International guidelines for estimating the cost of substance abuse at <http://www.ccsa.ca/intguide.htm>. Ottawa, Canada Canadian Centre on Substance Abuse, Accessed January, 1999. 1996.
137. Collins D, Lapsley HM: Estimating and disaggregating the social cost of tobacco. In the economics of tobacco control: towards an optimal policy mix (ed I Abedian. R. van der Merwe, N. Wiklins, and P. Jha.). Cape Town. Applied Fiscal research Centre: University of Cape Town. 1998: 155-78.
138. Gold M, Siegal JE, Russell LB, et al: (ed) *Cost-effectiveness in health and medicine*. New York, Oxford University press. 1996.
139. Xie X, Rehm J, Single E, et al: The economic costs of alcohol, tobacco, and illicit drug abuse in Ontario: 1992. Toronto, Addiction Research Function. 1996.
140. Kaiserman MJ: The cost of smoking in Canada, health Canada--chronic disease in Canada, 1991. 1997; 18(1): 1997
141. Lemieux, Pierre: The world bank's tobacco economic. *Regulation* 2001; Fall: 16-19.
142. Rice DP, Hodgson TA, Sinsheimer P, et al: The economic costs of the health effects of smoking. *Milbank Q* 1986; 64: 489-547.
143. Penner M, Penner S 9n: Excess insured Health care costs from tobacco-using employees in a large group plan. *J Occp Med* 1990; 32: 521-3.
144. Freebom DK, Mullooly JP, Pope CR, et al: Smoking and consistently high use of medical care among older HMO members. *Am J Public health* 1990; 80: 603-5.
145. Vogt TM, Schweitzer SO: Medical costs of cigarette in a health maintenance organization. *Am J Epidemiol* 1985; 122: 1060-6.
146. Ashord JR: Smoking and the use of the health services. *Br J Prev Soc Med* 1973; 27: 8-17.
147. Pope CR: Life-style, health status and medical care utilization. *Med Care* 1982; 20: 402-13.
148. 江東亮和林瑞雄：吸菸是否增加利用醫療服務？*中華衛誌* 1994;13(3):214-22。

149. Phelps CE: Health economics, 2nd ed., New York: Addison-Wesley, 1997; 9-10: 520-523.
150. Maning WG, et al: The taxes of sin: Do smokers and drinkers pay their way? JAMA 1989; 17: 1604-9.
151. Santerre RE, Neun SP: Health economics: theories, insurance, and industry studies, the 1st ed., Chicago: IRWIN, 1997: 244-254.
152. 盧瑞芬和謝啟瑞: 醫療經濟學。第一版。台北: 學富文化文化事業有限公司。2000:112-6。
153. Chaloupka EJ, Waner K: The economics of smoking” Chapter 29 in A.J. Culyer, J.P., eds., Handbook of health Economics, Elsevier Science. North Holland 1B, 2000: 1539-1627,.
154. 徐茂雄和謝啟瑞。菸需、菸稅與反菸：實證文獻回顧與台灣個案。人文及社會科學集刊 1999;11(3):301-34。
155. Sung HY, Tech W, Keeler TE: Cigarette taxation and demand: an empirical model. Contemporary Economic Policy 1994; 12: 9-100.
156. Hu TW, Sung HY: Reducing cigarette consumption in California: tobacco taxes vs an anti-smoking media campaign. Am J Pub Heal 1995; 85: 1218-22.
157. Keeler TE, Hu TW, Barnett PG, et al: Do cigarette producers price: Discriminate by state? An empirical analysis of local cigarette and taxation. J Heal Econom 1996; 15: 499-512.
158. Harris JE: The 1983 increase in the federal cigarette excise tax in L. Summers, ed., Cambridge, MA: NBER and MTT Press, Tax Policy and the Economy, 1987;1: 87-111.
159. Hu TW, Ren QF, Keeler TE, et al: The demand for cigarettes in California and Behavioral Risk Factors. Health Economic 1995; 4: 7-14.
160. Hsieh CR, Hu TW, Lin, et al: The demand for cigarettes in Taiwan: domestic versus imported cigarettes paper presented at the 72nd Annual Conference of Western Economic Association, Seattle, U.S.A. 1997;July: 9-13.
161. Warner K: Tobacco taxation as health policy in third world. Am J pub Heal 1990; 80: 529-30.
162. Viscusi WK: Tobacco taxation as health policy in third world. Am J Pub Heal 1995; 80: 529-30.
163. Chaloupka EJ, Wechsler H: Price, tobacco control policies and smoking among young adults. Journal of health Economics 1997; 16: 359-73.
164. Becker ER, Dunn D, Hsiao WC: Relative cost differences among physicians' specialty practices. JAMA 1988; 260: 2397-2402.
165. Becker GS, Grossman M, Murphy KM: An empirical analysis of cigarette addition . American Economic Review 1994; 84, 396-418.
166. Chaloupka FJ: Rational addition behavior and cigarette smoking. J Political Economy 1991; 99: 722-42.
167. Moore MJ: Death and tobacco taxes. Rand Journal of Economics 1996; 27: 415-28.
168. Lightwood JM, Phibbs C S, Glantz SA: Short-term health and economic benefits of smoking cessation: low birth weight. Pediatrics 1999; 104: 1312-20.
169. Jha P, Beyer J de, Heller PS: Dearth and taxes: economics of tobacco Control. Finance development 1999; 36: 12.