

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫 期中進度報告

砷甲基化能力、香菸及代謝酵素基因多形性、DNA 損傷及細胞增生生物標記與泌尿上皮細胞癌之相關性研究(1/3)

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC94-2314-B-038-023-

執行期間：94 年 08 月 01 日至 95 年 07 月 31 日

執行單位：臺北醫學大學公共衛生學科

計畫主持人：薛玉梅

報告類型：精簡報告

報告附件：出席國際會議研究心得報告及發表論文

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 95 年 7 月 10 日

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫  成果報告  
 期中進度報告

(計畫名稱)

砷甲基化能力、香菸及代謝酵素基因多形性、DNA 損傷及細胞增生生物標記與泌尿上皮細胞癌之相關性研究

Arsenic methylation capability, cigarette smoking and metabolic enzymes polymorphism, DNA damage, cell proliferation biomarker and urothelial carcinoma

計畫類別： 個別型計畫  整合型計畫

計畫編號：NSC 94-2314-B-038-023 (1/3)

執行期間：94 年 8 月 1 日至 95 年 7 月 31 日

計畫主持人：薛玉梅

共同主持人：

計畫參與人員：

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)： 精簡報告  完整報告

本成果報告包括以下應繳交之附件：

赴國外出差或研習心得報告一份

赴大陸地區出差或研習心得報告一份

出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份

國際合作研究計畫國外研究報告書一份

處理方式：除產學合作研究計畫、提升產業技術及人才培育研究計畫、列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權， 五年後可公開查詢

執行單位：台北醫學大學醫學系公共衛生學科

中 華 民 國 95 年 7 月 10 日

## 砷甲基化能力、香菸及代謝酵素基因多形性、DNA 損傷及細胞增生生物標記 與泌尿上皮細胞癌之相關性研究

### 前言

無機砷被認為是人類皮膚癌與肺癌之致癌物。最近研究發現長期經由食入與吸入暴露無機砷會增加膀胱癌與腎臟癌的危險性，特別是移行細胞癌(Chiou et al. 2001)。無機砷甲基化過去被認為是去毒作用，但是，最近有研究指出無機砷甲基化也許是致毒作用而非去毒作用。因為在代謝過程中產生的三價的甲基化代謝物如三價的單甲基砷酸、三價的雙甲基砷酸和少量的三價的三甲基砷酸也許比無機砷毒性更大(Lin et al. 1999; Petrick et al. 2000; Styblo et al. 1997)。臺灣烏腳病盛行地區居民尿液無機砷百分比隨年齡增加而增加，而單甲基砷酸百分比、雙甲基砷酸百分比隨年齡增加而減少。女性尿液無機砷與單甲基砷酸百分比比男性偏低而雙甲基砷酸百分比比男性偏高，顯示女性代謝能力比男性好(Hsueh et al. 1998)。臺灣西南沿海烏腳病盛行地區研究，亦發現累積砷暴露越高且尿液中單甲基砷酸百分比越高者，皮膚癌危險性顯著偏高(Hsueh et al. 1997)。臺灣的醫院收集之膀胱癌病例對照研究中也發現二級砷代謝指標(雙甲基砷酸百分比/單甲基砷酸百分比)較差且慢性砷暴露較高者罹患膀胱癌之危險性較高(Chen et al. 2003)。

在人類細胞(Schwerdtle et al. 2003)與動物細胞(Kessel et al. 2002)體外試驗均可觀察到砷誘發氧化性 DNA 傷害。雖然許多機轉被提出，但砷如何誘發氧化性 DNA 傷害尚未清楚。氧化性 DNA 傷害的代謝產物，8-hydroxydeoxyguanine (8-OHdG)在尿液排出，不僅可作為 DNA 修復而且亦可作為 DNA 氧化傷害的生物標記(Cooke et al. 2000; Helbock et al. 1999)。有研究利用 enzyme-linked immunosorbent (ELISA)測定尿液 8-OHdG 濃度，發現膀胱癌與胰臟癌病患尿液中 8-OHdG 濃度顯著高於健康對照者(Chiou et al. 2003a)。最近也有研究利用 ELISA 測定尿液 8-OHdG 濃度(Saito et al. 2000)，發現急性三價砷或慢性五價砷暴露者尿液中 8-OHdG 濃度增加(Yamauchi et al. 2004)。然而這些研究其樣本數較少且低砷暴露者是否也會增加 8-OHdG 濃度，而與泌尿上皮細胞癌之危險性有關應深入探討。

很多的癌細胞是因為細胞生長調控失衡而使細胞不斷生長導致腫瘤增生，在調控細胞生長過程中，cyclin 隨著 G1、S、G2 與 M 細胞週期而變動，是一個控制細胞週期相當重要的蛋白。不同型態的 cyclin 在不同的細胞週期出現，當任務完成時 cyclin 就會被分解或失去活性。細胞生長週期 G1 到 S 期生長調控相關基因若失去平衡，細胞會不停增生，導致腫瘤發生(Obaya and Sedivy 2002)。調控細胞生長週期 G1 到 S 期相關的基因有 cyclin D1 (CCND1)、cyclin dependent kinase 4 (CDK4)、cyclin-dependent kinase inhibitor 1a (CDKN2A, p21/p14)、retinoblastoma (RB)與 p53。有報告指出致癌性金屬會影響細胞內訊息傳遞與細胞週期(Chen and Shi 2002)。

P53 Arg/Arg 基因型比 Pro/Pro 基因型更有效的誘發細胞凋亡且抑制細胞轉形(Thomas et al. 1999)，顯示 Pro/Pro 基因型較 Arg/Arg 基因型更具癌症易感性，其中包括攝護腺癌。由於 P53 在控制細胞週期扮演重要角色，它或許也參與泌尿上皮細胞癌的癌化過程是應值得研究。*P21*(W/CIP1)是一個 cyclin-dependent kinase inhibitor，是 P53 抑癌基因下游調控細胞週期的因子(Xiong et al. 1993)。*P21* 基因改變也許能中斷 P53 所調控之細胞週期停止而增加癌症的易感性。*P21* 在 codon 31 發現 C→A 的基因多形性，產生 serine (Ser)轉變成 arginine (Arg)(Mousses et al. 1995)。最近研究發現 *P21* 在 codon 31 Arg/Arg 基因型與攝護腺癌發生有關(Huang et al. 2004)。*P21* 在 codon 31 的基因多形性是否與砷或抽菸造成之泌尿上皮細胞癌癌化過程有關是有趣的課題。

最近分子基因研究發現累積活化致癌基因與抑制抑癌基因會導致膀胱癌的發生與惡化(Reznikoff et al. 2000b)。膀胱癌癌化過程的標的是在細胞週期的 G1-S 期進展失調，而 G1 至 S 期是由 cyclin、cyclin-dependent kinases 與其抑制劑調控(Reznikoff et al. 2000a)。Cyclin D1 是 G1/S 期很重要的調控者且與許多人類癌症有關(Hunter and Pines 1994)。Cyclin D1 基因位於染色體 11q13 上，在第 807 位置有 A/G 的基因多形性，這個基因多形性會影響到基因的 splicing(Betticher et al. 1995)，膀胱癌經常偵測到此染色體位置有增殖現象(Habuchi et al. 1994; Proctor et al. 1991)。在流行病學研究中，兩股皆帶有 G allele 的人比帶有 AG 或 AA 基因型的人直腸癌發生的年齡較低且存活率較高(Kong et al. 2000)。而 AA 基因型的高加索人罹患直腸癌的危險性是帶有 GG 基因型的 2.68 倍(Kong et al. 2001)。在夏威夷研究中日本人、白人與夏威夷人等不同種族間，CCND1 (A807G)帶 AG 或 AA 基因型者直腸癌的危險性比 GG 基因型者較高，但僅發現在夏威夷族群(Le Marchand et al. 2003b)。CCND1 A allele 與膀胱移行細胞癌的危險性增加有關，特別是發生在沒有抽菸的男性且其與疾病的嚴重程度有關(Wang et al. 2002)。CCND1 A allele 是否與砷或抽菸造成之泌尿上皮細胞癌有關是有趣的課題。

### 材料與方法

自民國九十一年五月到九十三年十二月間，至臺大醫院與台南縣奇美醫院泌尿科門診就診或複診之泌尿上皮細胞癌患者共 323 人(臺大醫院 201 人，奇美醫院 122 人)為病例組。由醫師轉介，訪員進行患者面訪，同時採取血液及尿液加以冷凍儲存。所有研究對象皆有簽署同意書。預計從九十四年八月至九十七年七月繼續收案 200 位泌尿上皮細胞癌患者。

自臺大醫院與奇美醫院泌尿科門診就診無癌症之年齡與性別配對的對象經由醫師轉介，此外並從台北醫學大學附設醫院與萬芳醫院健康住院檢查者之年齡與性別配對之健康對照為對照組，由訪員面訪並收集其血液尿液。所有研究對象皆有簽署同意書。九十一年五月到九十三年十二月間共收案 465 人，預計從九十四年八月至九十七年七月繼續收案 300 位健康對照。每位研究對象由受過標準化訪視訓練的訪員利用結構式問卷進行訪視。問卷內容包括社會人口學資料、職業史、居住史、抽菸與喝酒等生活習慣、個人及家族疾病史等。

尿液經濾膜與 C<sub>18</sub> 前處理後，利用高效能液相層析儀分離尿液中三價砷酸、五價砷酸、單甲基砷酸與雙甲基砷酸等砷物種，連結氫化器與原子吸收光譜儀進行各砷物種濃度定量。

測定 8-OHdG 的方法為高效能液相層析儀(Wood et al. 2000)，而有另一種 enzyme-linked immunosorbent (ELISA)測定方法(Yin et al. 1995)。尿液檢體經 1500 rpm 離心十分鐘，上清液以備 8-OHdG 測定。離心後尿液上清液(1:5 in PBS) 50µl 放入 96 孔盤上，加 50µl 8-OHdG 抗體(1:150000 in PBS 含 1%BSA)，室溫下震盪一小時，利用緩衝液洗四次，每個孔中加入 50µenzyme-linked secondary 抗體，室溫下培養一小時，清洗後每個孔中加 100µl 的 tetramethylbenzidine，加入 100µl 的 0.5 mol/l H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 將反應停止五分鐘後，450 nm 波長測定吸光值(Chiou et al. 2003b)。

P53 codon 72 基因多形性測定方法，利用正向引子 5'-TTGCCGTCCCAAGCAATGGATGA-3' 及反向引子 5'-TCTGGGAAGGGACAGAAGATGAC-3' 夾出所需基因片段，利用聚合酵素連鎖反應增幅此一基因片段。增幅條件為 one cycle 94°C，5 min; 35 cycles，94°C，40s，68°C 30s，72°C，40s; 及 one cycle 72°C，10 min。利用限制酵素 *Bst*UI

分解，電泳圖出現 113-bp 與 86-bp 片段者為 Arg allele，出現 199-bp 片段者為 Pro allele，出現 113-bp、86-bp 與 199-bp 片段者為 Arg/Pro 基因型(Fan et al. 2000)。

*P21* codon 31 基因多形性測定方法，利用正向引子 5'-GTCAGAACCGGATGGGGATG-3' 及反向引子 5'-CTCCTCCCAACTCATAAAGG-3' 夾出所需基因片段，經由聚合酵素連鎖反應增幅此一基因片段。增幅條件為 one cycle 94°C，5 min; 35 cycles，94°C，40s，60.3°C 30s，72°C，40s;及 one cycle 72°C，10 min。利用限制酵素 *BlnI* 分解，電泳圖出現 89-bp 與 183-bp 片段者為 Ser allele，出現 272-bp 片段者為 Arg allele，89-bp、183-bp 與 272-bp 片段者為 Ser/Arg 基因型(Li et al. 1995)。

*CCND1* 基因多形性測定方法，基因多形性主要以 Le Marchand 等人的方法為主再加以修飾，利用正向引子 5'-AGTTCATTTCCAATCCGCCC-3' 與反向引子 5'-TTTCCGTGGCACTAGGTGTC-3' 夾出所需基因片段，經由聚合酵素連鎖增幅此一基因片段。增幅條件為 94 °C 起始 denature 5 分鐘，再以 94 °C 30、60 °C 30 秒與 72 °C 30 秒循環 35 次，最後停留在 72 °C 10 分鐘。放大的基因再以限制酵素 *Moraxella* species (*MspI*)作用之後以 3%凝膠電泳辨識 *CCND1* 基因多形性 (Le Marchand et al. 2003a)。

## 討論

泌尿道上皮癌危險對比值與教育程度呈負相關，父母親氏族為外省人者危險性比閩南人顯著偏低。抽菸者泌尿道上皮癌危險對比值顯著比非抽菸者偏高，農藥暴露者泌尿道上皮癌危險對比值顯著比非暴露者偏高，偶而喝酒者有較低的危險性。隨著抽菸年數、包數與年包數的增加泌尿道上皮癌危險對比值顯著增加。

雖然本研究對象屬於一般飲用自來水之族群，而自來水中砷的含量在過去是 50 ppb，自 2000 年降為 10 ppb。雖然研究個案的總砷濃度比高砷暴露地區居民高，但是個體對於砷甲基化能力的差異仍會影響疾病的發展。單甲基砷酸百分比較高者或雙甲基砷酸百分比較低者泌尿道上皮癌危險對比值顯著增加。抽菸與砷甲基化能力對泌尿道上皮癌危險對比有交互作用。本研究中抽菸與尿液中 8-OHdG 濃度無關，抽菸並非增加尿液中 8-OHdG 含量的重要來源。然而隨著總砷濃度增加，尿液中 8-OHdG 含量顯著增加。尿液中 8-OHdG 含量與泌尿道上皮癌危險對比值呈顯著正相關。*p21* codon 31 基因型與泌尿道上皮癌有關。隨著基因型異常個數增加泌尿道上皮癌危險對比值增加。基因型與尿液砷物種之間對泌尿道上皮癌危險對比值有交互作用，但統計上並無顯著性。

本研究是一個病例對照研究，而病患為盛行病例，尿液和血液檢體的取得是在疾病診斷後，因此除了與生俱來的特性，如性別及遺傳基因等之外，在因果時序性上較不易辨明。未來須待發生病例探討 8-OHdG 和砷甲基化能力與泌尿道上皮癌的相關性。總而言之，抽菸、砷甲基化能力差及 DNA 氧化傷害較高是泌尿道上皮癌的重要危險因子。飲用水中含砷量降為 10ppb 之後，砷甲基化能力與泌尿道上皮癌的相關有待釐清。減少外來環境暴露所造成的氧化壓力，應能有效降低疾病發生的危險性。

結果

表 1 泌尿道上皮癌病例組與對照組之社會人口學特性

變項		病例組 共 172 人 人數 (%)	對照組 共 405 人 人數 (%)	年齡性別調整 危險對比值 (95%信賴區間)
性別	女性	49 (28.49)	126 (31.11)	1.00
	男性	123 (71.51)	279 (68.89)	1.12 (0.75-1.65) <sup>a</sup>
年齡 (歲)		61.98 ± 1.08	61.52 ± 0.71	1.00 (0.99-1.02) <sup>b</sup>
血型	A	46 (26.74)	96 (23.70)	1.00
	B	38 (22.09)	85 (20.99)	0.90 (0.54-1.53)
	O	62 (36.05)	180 (44.44)	0.71 (0.45-1.12)
	AB	12 (6.98)	22 (5.43)	1.13 (0.51-2.49)
婚姻狀況	未婚	12 (6.98)	22 (5.43)	1.00
	已婚	136 (79.07)	322 (79.51)	0.73 (0.34-1.56)
	離婚分居	6 (3.49)	21 (5.19)	0.52 (0.16-1.66)
	鰥寡	18 (10.47)	39 (9.63)	0.80 (0.30-2.18)
教育程度	小學以下	66 (38.37)	74 (18.27)	1.00
	國中高中	67 (38.95)	138 (34.07)	0.47 (0.30-0.75) <sup>**</sup>
	大專以上	39 (22.67)	190 (46.91)	0.19 (0.11-0.31) <sup>***</sup>
父親氏族	台閩	125 (72.67)	219 (54.07)	1.00
	客家	16 (9.30)	45 (11.11)	0.65 (0.35-1.19)
	外省籍	31 (18.02)	138 (34.07)	0.36 (0.22-0.57) <sup>***</sup>
	原住民	0 (0.00)	2 (0.49)	
母親氏族	台閩	126 (73.26)	229 (56.54)	1.00
	客家	16 (9.30)	45 (11.11)	0.67 (0.36-1.24)
	外省籍	30 (17.44)	127 (31.36)	0.39 (0.24-0.62) <sup>***</sup>
	原住民	0 (0.00)	3 (0.74)	

病例組於血型變項有 14 人遺漏值，而對照組於血型變項有 22 人、教育程度變項有 3 人及婚姻狀況和父母親氏族等變項皆各有 1 人遺漏值

<sup>a</sup> 調整年齡 <sup>b</sup> 調整性別

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$

表 2 泌尿道上皮癌病例組與對照組之生活型態和化學物質暴露分佈

變項		病例組	對照組	年齡性別調整 危險對比值 (95%信賴區間)
		共 172 人 人數 (%)	共 405 人 人數 (%)	
抽菸	無	80 (46.51)	257 (63.46)	1.00
	有	92 (53.49)	147 (36.30)	2.50 (1.60-3.90)***
喝酒	無	101 (58.72)	208 (51.36)	1.00
	有	42 (24.42)	65 (16.05)	1.20 (0.74-1.97)
	偶爾	29 (16.86)	131 (32.35)	0.43 (0.27-0.71)***
喝茶	無	66 (38.37)	123 (30.37)	1.00
	有	71 (41.28)	160 (39.51)	0.81 (0.53-1.23)
	偶爾	35 (20.35)	121 (29.88)	0.54 (0.34-0.88)*
喝咖啡	無	112 (65.12)	200 (49.38)	1.00
	有	31 (18.02)	88 (21.73)	0.64 (0.40-1.02) <sup>#</sup>
	偶爾	29 (16.86)	116 (28.64)	0.45 (0.28-0.72)***
染劑	無	170 (98.84)	397 (98.02)	1.00
	有	2 (1.16)	6 (1.48)	0.77 (0.15-3.85)
油漆或噴漆	無	159 (92.44)	380 (93.83)	1.00
	有	13 (7.56)	23 (5.68)	1.36 (0.66-2.78)
農藥	無	144 (83.72)	389 (96.05)	1.00
	有	27 (15.70)	14 (3.46)	5.25 (2.67-10.33)***
印刷油品	無	166 (96.51)	392 (96.79)	1.00
	有	5 (2.91)	11 (2.72)	1.08 (0.37-3.17)
服用止痛消炎藥	無	93 (54.07)	253 (62.47)	1.00
	有	79 (45.93)	152 (37.53)	1.44 (1.00-2.07)*

病例組於農藥和印刷油品變項各有 1 人遺漏值，而對照組於抽菸、喝酒、喝茶及喝咖啡等變項各有 1 人遺漏值，染劑、油漆或噴漆、農藥和印刷油品等變項則各有 2 人遺漏值

<sup>#</sup> 0.05 < p < 0.1, \* p < 0.05, \*\* p < 0.01, \*\*\* p < 0.001



表 3 抽菸年數、抽菸包數和累積抽菸量與泌尿道上皮癌之多變項迴歸分析

變項	病例組 人數 (%)	對照組 人數 (%)	危險對比值 <sup>a</sup> (95%信賴區間)	危險對比值 <sup>b</sup> (95%信賴區間)
抽菸年數 (年)			1.02 (1.01-1.03) <sup>***</sup>	1.02 (1.01-1.03) <sup>**</sup>
0	80 (49.08)	257 (65.73)	1.00	1.00
≤ 30.8	31 (19.02)	66 (16.88)	1.82 (1.03-3.22) <sup>*</sup>	1.31 (0.68-2.54)
> 30.8	52 (31.90)	68 (17.39)	3.14 (1.85-5.33) <sup>***</sup>	2.74 (1.44-5.20) <sup>**</sup>
			$P_{trend} < 0.001$	$P_{trend} < 0.01$
抽菸包數 (包/天)			1.96 (1.38-2.78) <sup>***</sup>	1.40 (0.92-2.13)
0	80 (48.19)	257 (64.57)	1.00	1.00
≤ 0.9	32 (19.28)	63 (15.83)	2.01 (1.16-3.51) <sup>*</sup>	1.86 (0.98-3.52) <sup>#</sup>
> 0.9	54 (32.53)	78 (19.60)	2.78 (1.67-4.61) <sup>***</sup>	2.01 (1.09-3.71) <sup>*</sup>
			$P_{trend} < 0.001$	$P_{trend} < 0.05$
累積抽菸量 <sup>c</sup> (包年數)			1.02 (1.01-1.03) <sup>***</sup>	1.01 (1.00-1.02) <sup>*</sup>
0	80 (49.69)	257 (65.90)	1.00	1.00
≤ 23.7	29 (18.01)	65 (16.67)	1.76 (1.00-3.11) <sup>*</sup>	1.49 (0.78-2.84)
> 23.7	52 (32.30)	68 (17.44)	3.09 (1.84-5.20) <sup>***</sup>	2.48 (1.30-4.71) <sup>**</sup>
			$P_{trend} < 0.001$	$P_{trend} < 0.01$

病例組於抽菸年數有 9 人遺漏值，抽菸包數有 6 人遺漏值，累積抽菸量有 11 人遺漏值；對照組於抽菸年數有 14 人遺漏值，抽菸包數有 7 人遺漏值，累積抽菸量則有 15 人遺漏值

<sup>a</sup> 調整年齡、性別

<sup>b</sup> 調整年齡、性別、教育程度、父母親氏族、喝酒、農藥和總砷濃度

<sup>c</sup> 累積抽菸量 = (抽菸包數 / 天) × 抽菸年數

<sup>#</sup>  $0.05 < p < 0.1$ , <sup>\*</sup>  $p < 0.05$ , <sup>\*\*</sup>  $p < 0.01$ , <sup>\*\*\*</sup>  $p < 0.001$

表 4 尿液總砷濃度及砷甲基化能力指標與社會人口學特性之比較

變項	總砷 (µg/g creatinine)	無機砷百分比	單甲基砷酸百分比	雙甲基砷酸百分比	一級甲基化指標	二級甲基化指標
性別 <sup>a</sup>						
男性	24.68 ± 1.30	6.63 ± 0.36	10.01 ± 0.52	83.36 ± 0.64	3.44 ± 0.54	21.68 ± 4.98
女性	29.23 ± 1.93 <sup>#</sup>	8.00 ± 0.91	7.26 ± 0.55 <sup>***</sup>	84.74 ± 1.00	2.49 ± 0.34	21.13 ± 2.76
年齡 (歲) <sup>b</sup>						
≤ 54	20.55 ± 1.83 <sup>cd</sup>	8.47 ± 0.74 <sup>c</sup>	9.88 ± 0.87	81.66 ± 1.10 <sup>c</sup>	2.35 ± 0.29	16.40 ± 2.31
55-69	30.24 ± 2.44 <sup>c</sup>	7.05 ± 0.73	8.89 ± 0.61	84.06 ± 0.94	2.69 ± 0.37	27.44 ± 9.91
> 69	27.36 ± 1.17 <sup>**d</sup>	5.64 ± 0.46 <sup>**c</sup>	8.69 ± 0.57	85.67 ± 0.71 <sup>**c</sup>	4.42 ± 1.08 <sup>#</sup>	20.87 ± 3.75
教育程度 <sup>b</sup>						
小學以下	33.91 ± 1.74 <sup>c</sup>	6.57 ± 0.64	10.34 ± 0.78 <sup>c</sup>	83.10 ± 1.05	2.82 ± 0.38	16.82 ± 3.74
國中高中	27.33 ± 2.02 <sup>d</sup>	6.89 ± 0.69	9.98 ± 0.64	83.13 ± 0.92	4.55 ± 1.00 <sup>c</sup>	23.00 ± 8.56
大專以上	20.08 ± 1.65 <sup>***cd</sup>	7.47 ± 0.60	7.82 ± 0.67 <sup>*c</sup>	84.70 ± 0.86	2.14 ± 0.32 <sup>*c</sup>	23.31 ± 3.85
父親氏族 <sup>b</sup>						
台閩	29.58 ± 1.67 <sup>c</sup>	7.22 ± 0.53	9.32 ± 0.56	83.47 ± 0.74	2.79 ± 0.40	23.65 ± 5.72
客家	23.98 ± 1.86	6.93 ± 0.87	9.89 ± 1.10	83.17 ± 1.52	3.18 ± 0.97	13.86 ± 2.16
外省籍	19.87 ± 1.11 <sup>***c</sup>	6.56 ± 0.60	8.65 ± 0.65	84.80 ± 0.85	3.95 ± 1.04	20.19 ± 3.60
母親氏族 <sup>b</sup>						
台閩	29.11 ± 1.63 <sup>c</sup>	7.12 ± 0.51	9.18 ± 0.54	83.71 ± 0.72	2.76 ± 0.38	23.13 ± 5.53
客家	23.65 ± 1.86	7.22 ± 0.87	9.87 ± 1.15	82.90 ± 1.58	3.03 ± 0.97	16.72 ± 3.74
外省籍	20.43 ± 1.17 <sup>**c</sup>	6.66 ± 0.64	8.81 ± 0.68	84.52 ± 0.91	4.16 ± 1.12	20.08 ± 3.83

<sup>a</sup> *t* 檢定 <sup>b</sup> ANOVA <sup>cd</sup> 事後檢定, *p* < 0.05

<sup>#</sup> 0.05 < *p* < 0.1, \* *p* < 0.05, \*\* *p* < 0.01, \*\*\* *p* < 0.001

表 5 尿液總砷濃度及砷甲基化能力指標與泌尿道上皮癌之相關性

變項		病例組	對照組	危險對比值 <sup>a</sup>	危險對比值 <sup>b</sup>	危險對比值 <sup>c</sup>
		人數 (%)	人數 (%)	(95%信賴區間)	(95%信賴區間)	(95%信賴區間)
總砷 (µg/g creatinine)	≤ 12.18	13 (7.56)	135 (33.33)	1.00	1.00	1.00
	12.19-22.81	40 (23.26)	135 (33.33)	3.80 (1.89-7.65) <sup>***</sup>	3.10 (1.51-6.34) <sup>**</sup>	3.78 (1.78-8.02) <sup>***</sup>
	> 22.81	119 (69.19)	135 (33.33)	12.66 (6.45-24.88) <sup>***</sup>	9.12 (4.53-18.35) <sup>***</sup>	10.34 (4.94-21.64) <sup>***</sup>
			<i>P</i> <sub>trend</sub> < 0.001	<i>P</i> <sub>trend</sub> < 0.001	<i>P</i> <sub>trend</sub> < 0.001	
無機砷百分比	≤ 2.86	44 (25.58)	135 (33.33)	1.00	1.00	1.00
	2.87-6.05	53 (30.81)	135 (33.33)	1.19 (0.74-1.89)	1.35 (0.83-2.21)	1.17 (0.70-1.94)
	> 6.05	75 (43.60)	135 (33.33)	1.72 (1.10-2.69) <sup>*</sup>	1.75 (1.09-2.80) <sup>*</sup>	1.51 (0.93-2.46) <sup>#</sup>
			<i>P</i> <sub>trend</sub> < 0.05	<i>P</i> <sub>trend</sub> < 0.05	<i>P</i> <sub>trend</sub> = 0.10	
單甲基砷酸百分比	≤ 3.32	35 (20.35)	135 (33.33)	1.00	1.00	1.00
	3.33-9.10	35 (20.35)	135 (33.33)	1.01 (0.60-1.71)	0.84 (0.48-1.45)	0.83 (0.47-1.47)
	> 9.10	102 (59.30)	135 (33.33)	2.87 (1.82-4.52) <sup>***</sup>	2.52 (1.56-4.07) <sup>***</sup>	2.35 (1.44-3.85) <sup>***</sup>
			<i>P</i> <sub>trend</sub> < 0.001	<i>P</i> <sub>trend</sub> < 0.001	<i>P</i> <sub>trend</sub> < 0.001	
雙甲基砷酸百分比	≤ 83.23	90 (52.33)	135 (33.33)	1.00	1.00	1.00
	83.24-91.46	47 (27.33)	134 (33.09)	0.54 (0.35-0.83) <sup>**</sup>	0.52 (0.33-0.83) <sup>**</sup>	0.50 (0.31-0.81) <sup>**</sup>
	> 91.46	35 (20.35)	136 (33.58)	0.39 (0.25-0.62) <sup>***</sup>	0.39 (0.24-0.63) <sup>***</sup>	0.43 (0.26-0.71) <sup>***</sup>
			<i>P</i> <sub>trend</sub> < 0.001	<i>P</i> <sub>trend</sub> < 0.001	<i>P</i> <sub>trend</sub> < 0.001	
一級甲基化指標	≤ 0.65	38 (23.75)	121 (33.15)	1.00	1.00	1.00
	0.66-2.10	48 (30.00)	122 (33.42)	1.24 (0.75-2.03)	1.03 (0.61-1.75)	1.05 (0.61-1.81)
	> 2.10	74 (46.25)	122 (33.42)	1.90 (1.19-3.03) <sup>**</sup>	1.63 (1.00-2.68) <sup>#</sup>	1.61 (0.96-2.69) <sup>#</sup>
			<i>P</i> <sub>trend</sub> < 0.01	<i>P</i> <sub>trend</sub> < 0.05	<i>P</i> <sub>trend</sub> = 0.06	
二級甲基化指標	≤ 7.37	82 (57.34)	107 (33.23)	1.00	1.00	1.00
	7.38-15.54	43 (30.07)	107 (33.23)	0.54 (0.34-0.85) <sup>**</sup>	0.49 (0.30-0.80) <sup>**</sup>	0.48 (0.28-0.80) <sup>**</sup>
	> 15.54	18 (12.59)	108 (33.54)	0.22 (0.12-0.40) <sup>***</sup>	0.21 (0.11-0.39) <sup>***</sup>	0.22 (0.12-0.42) <sup>***</sup>
			<i>P</i> <sub>trend</sub> < 0.001	<i>P</i> <sub>trend</sub> < 0.001	<i>P</i> <sub>trend</sub> < 0.001	

<sup>a</sup>調整年齡、性別 <sup>b</sup>調整年齡、性別、教育程度、父母親氏族 <sup>c</sup>調整年齡、性別、教育程度、父母親氏族、抽菸、喝酒和農藥

# 0.05 < *p* < 0.1, \* *p* < 0.05, \*\* *p* < 0.01, \*\*\* *p* < 0.001

表 6 泌尿道上皮癌病例組與對照組之 *p53* codon 72 基因型分佈

基因型	病例組	對照組	危險對比值 <sup>a</sup> (95%信賴區間)	危險對比值 <sup>b</sup> (95%信賴區間)
	共 172 人 人數 (%)	共 405 人 人數 (%)		
Arg/Arg	47 (27.33)	134 (33.09)	1.00	1.00
Arg/Pro	89 (51.74)	196 (48.40)	1.30 (0.85-1.97)	1.23 (0.76-2.00)
Pro/Pro	36 (20.93)	75 (18.52)	1.40 (0.83-2.35)	1.25 (0.69-2.27)
Arg/Arg	47 (27.33)	134 (33.09)	1.00	1.00
Arg/Pro+Pro/Pro	125 (72.67)	271 (66.91)	1.32 (0.89-1.97)	1.24 (0.79-1.95)
Arg	183 (53.20)	464 (57.28)	1.00	1.00
Pro	161 (46.80)	346 (42.72)	1.19 (0.92-1.54)	1.13 (0.84-1.51)

<sup>a</sup> 調整年齡、性別

<sup>b</sup> 調整年齡、性別、教育程度、父母親氏族、抽菸、喝酒、農藥和總砷濃度

表 7 泌尿道上皮癌病例組與對照組之 *p21* codon 31 基因型分佈

基因型	病例組 <sup>†</sup>	對照組	危險對比值 <sup>a</sup> (95%信賴區間)	危險對比值 <sup>b</sup> (95%信賴區間)
	共 171 人 人數 (%)	共 405 人 人數 (%)		
Ser/Ser	44 (25.73)	98 (24.20)	1.00	1.00
Ser/Arg	75 (43.86)	216 (53.33)	0.76 (0.48-1.18)	0.69 (0.42-1.15)
Arg/Arg	52 (30.41)	91 (22.47)	1.26 (0.77-2.07)	1.25 (0.71-2.21)
Ser/Ser+Ser/Arg	119 (69.59)	314 (77.53)	1.00	1.00
Arg/Arg	52 (30.41)	91 (22.47)	1.52 (1.02-2.28) <sup>*</sup>	1.59 (1.00-2.53) <sup>#</sup>
Ser	163 (47.66)	412 (50.86)	1.00	1.00
Arg	179 (52.34)	398 (49.14)	1.13 (0.88-1.46)	1.13 (0.84-1.51)

<sup>†</sup> 病例組 1 人之 PCR 反應不成功

<sup>a</sup> 調整年齡、性別

<sup>b</sup> 調整年齡、性別、教育程度、父母親氏族、抽菸、喝酒、農藥和總砷濃度

<sup>#</sup>  $0.05 < p < 0.1$ , <sup>\*</sup>  $p < 0.05$

表 8 泌尿道上皮癌病例組與對照組之 *CCND1* G870A 基因型分佈

基因型	病例組	對照組	危險對比值 <sup>a</sup> (95%信賴區間)	危險對比值 <sup>b</sup> (95%信賴區間)
	共 172 人 人數 (%)	共 405 人 人數 (%)		
G/G	34 (19.77)	89 (21.98)	1.00	1.00
G/A	84 (48.84)	202 (49.88)	1.07 (0.67-1.72)	1.02 (0.60-1.75)
A/A	54 (31.40)	114 (28.15)	1.21 (0.73-2.02)	1.20 (0.66-2.17)
G/G	34 (19.77)	89 (21.98)	1.00	1.00
G/A+A/A	138 (80.23)	316 (78.02)	1.12 (0.72-1.75)	1.08 (0.65-1.80)
G	152 (44.19)	380 (46.91)	1.00	1.00
A	192 (55.81)	430 (53.09)	1.10 (0.86-1.42)	1.10 (0.82-1.47)

<sup>a</sup> 調整年齡、性別

<sup>b</sup> 調整年齡、性別、教育程度、父母親氏族、抽菸、喝酒、農藥和總砷濃度

表 9 危險基因型個數與泌尿道上皮癌之相關性

變項	病例組 / 對照組	危險基因型個數 <sup>c</sup>	危險對比值 <sup>a</sup> (95%信賴區間)	危險對比值 <sup>b</sup> (95%信賴區間)
<i>p53</i> codon 72	0 <sup>c</sup>	9/22	1.00	1.00
<i>p21</i> codon 31	1	40/131	0.76 (0.32-1.78)	0.68 (0.24-1.91)
<i>CCND1</i> G870A	2	93/209	1.08 (0.48-2.45)	0.92 (0.34-2.48)
	3	29/43	1.66 (0.67-4.12)	1.56 (0.52-4.65)
			$P_{trend} < 0.05$	$P_{trend} = 0.06$

<sup>a</sup> 調整年齡、性別

<sup>b</sup> 調整年齡、性別、教育程度、父母親氏族、抽菸、喝酒、農藥和總砷濃度

<sup>c</sup> *p53* codon 72 基因型為 Arg/Pro+Pro/Pro、*p21* codon 31 基因型為 Arg/Arg 及 *CCND1* G870A 基因型為 G/A+A/A

表 10 砷甲基化能力指標和 *p21* codon 31 基因型與泌尿道上皮癌之交互作用

變項	<i>p21</i> codon 31 基因型	病例組 / 對照組	危險對比值 <sup>a</sup> (95%信賴區間)	危險對比值 <sup>b</sup> (95%信賴區間)
總砷 (µg/g creatinine)				
≤ 16.6	Ser/Ser+Ser/Arg	20/155	1.00	1.00
	Arg/Arg	10/47	1.67 (0.72-3.85)	1.90 (0.77-4.67)
> 16.6	Ser/Ser+Ser/Arg	99/159	5.70 (3.27-9.94) <sup>***</sup>	4.68 (2.59-8.47) <sup>***</sup>
	Arg/Arg	42/44	8.74 (4.53-16.84) <sup>***</sup>	6.47 (3.20-13.08) <sup>***</sup>
			$P_{trend} < 0.001$	$P_{trend} < 0.001$
相加模式之協同指數 (S)			1.44 (0.79-2.63)	1.19 (0.59-2.42)
無機砷百分比				
≤ 4.28	Ser/Ser+Ser/Arg	54/155	1.00	1.00
	Arg/Arg	18/47	1.11 (0.59-2.07)	1.23 (0.62-2.41)
> 4.28	Ser/Ser+Ser/Arg	65/159	1.19 (0.78-1.83)	1.11 (0.69-1.76)
	Arg/Arg	34/44	2.28 (1.32-3.97) <sup>**</sup>	2.00 (1.08-3.70) <sup>*</sup>
			$P_{trend} < 0.05$	$P_{trend} = 0.10$
單甲基砷酸百分比				
≤ 6.06	Ser/Ser+Ser/Arg	32/157	1.00	1.00
	Arg/Arg	16/45	1.74 (0.88-3.47)	1.78 (0.83-3.82)
> 6.06	Ser/Ser+Ser/Arg	87/157	2.65 (1.66-4.22) <sup>***</sup>	2.29 (1.39-3.77) <sup>*</sup>
	Arg/Arg	36/46	3.83 (2.14-6.87) <sup>***</sup>	3.13 (1.67-5.84) <sup>*</sup>
			$P_{trend} < 0.001$	$P_{trend} < 0.001$
雙甲基砷酸百分比				
> 87.98	Ser/Ser+Ser/Arg	30/160	1.00	1.00
	Arg/Arg	13/43	1.60 (0.77-3.33)	1.64 (0.74-3.61)
≤ 87.98	Ser/Ser+Ser/Arg	89/154	3.06 (1.91-4.90) <sup>***</sup>	2.61 (1.57-4.34) <sup>***</sup>
	Arg/Arg	39/48	4.42 (2.47-7.92) <sup>***</sup>	3.67 (1.96-6.88) <sup>***</sup>
			$P_{trend} < 0.001$	$P_{trend} < 0.001$
一級甲基化指標				
≤ 1.3	Ser/Ser+Ser/Arg	36/144	1.00	1.00
	Arg/Arg	19/38	2.08 (1.07-4.05) <sup>*</sup>	2.08 (1.00-4.35) <sup>#</sup>
> 1.3	Ser/Ser+Ser/Arg	75/141	2.15 (1.35-3.42) <sup>**</sup>	1.86 (1.12-3.08) <sup>*</sup>
	Arg/Arg	29/42	2.85 (1.55-5.23) <sup>***</sup>	2.43 (1.26-4.69) <sup>**</sup>
			$P_{trend} < 0.001$	$P_{trend} < 0.01$
二級甲基化指標				
> 10.9	Ser/Ser+Ser/Arg	21/121	1.00	1.00
	Arg/Arg	8/40	1.17 (0.48-2.86)	1.08 (0.41-2.87)
≤ 10.9	Ser/Ser+Ser/Arg	79/126	3.57 (2.07-6.17) <sup>***</sup>	3.28 (1.82-5.90) <sup>***</sup>
	Arg/Arg	34/35	5.77 (2.95-11.29) <sup>***</sup>	4.80 (2.34-9.85) <sup>***</sup>
			$P_{trend} < 0.001$	$P_{trend} < 0.001$
相加模式之協同指數 (S)			1.74 (0.79-3.83)	1.61 (0.64-4.03)

<sup>a</sup>調整年齡、性別 <sup>b</sup>調整年齡、性別、教育程度、父母親氏族、抽菸、喝酒和農藥  
<sup>#</sup> 0.05 <  $p$  < 0.1, \*  $p$  < 0.05, \*\*  $p$  < 0.01, \*\*\*  $p$  < 0.001

表 11 泌尿道上皮癌病例組與對照組尿液中氧化傷害指標之比較

變項	病例組		對照組		<i>t</i> 檢定 <sup>†</sup>
	人數	平均值±標準誤	人數	平均值±標準誤	<i>p</i> 值
8-OHdG 濃度 (ng/mg creatinine)	170	7.48 ± 0.97	402	5.95 ± 0.21	0.03

病例組 2 人和對照組 3 人之尿液遺漏

<sup>†</sup> 8-OHdG 濃度以 Log<sub>10</sub> 轉換

表 12 尿液中氧化傷害指標與泌尿道上皮癌之相關性

變項	危險對比值 <sup>a</sup> (95%信賴區間)	危險對比值 <sup>b</sup> (95%信賴區間)	危險對比值 <sup>c</sup> (95%信賴區間)
Log <sub>10</sub> 8-OHdG 濃度 (ng/mg creatinine)	2.19 (1.16-4.13)*	2.09 (1.10-3.99)*	1.50 (0.77-2.95)

  

變項	危險對比值 <sup>d</sup> (95%信賴區間)	危險對比值 <sup>e</sup> (95%信賴區間)	危險對比值 <sup>f</sup> (95%信賴區間)
Log <sub>10</sub> 8-OHdG 濃度 (ng/mg creatinine)	2.01 (1.01-4.00)*	1.99 (1.00-3.97) <sup>#</sup>	1.41 (0.69-2.91)

病例組 2 人和對照組 3 人之尿液遺漏

<sup>a</sup>調整年齡、性別 <sup>b</sup>調整年齡、性別、抽菸 <sup>c</sup>調整年齡、性別、總砷濃度 <sup>d</sup>調整年齡、性別、教育程度、父母親氏族、喝酒和農藥 <sup>e</sup>調整年齡、性別、教育程度、父母親氏族、抽菸、喝酒、農藥 <sup>f</sup>調整年齡、性別、教育程度、父母親氏族、抽菸、喝酒、農藥和總砷濃度

<sup>#</sup> 0.05 < *p* < 0.1, \* *p* < 0.05

表 13 尿液砷物種濃度與尿液中氧化傷害指標之多變項迴歸分析

變項	氧化傷害指標 Log <sub>10</sub> 8-OHdG 濃度 (ng/mg creatinine)						
	β 值 (SE) <sup>a</sup>	β 值 (SE) <sup>b</sup>	β 值 (SE) <sup>c</sup>	β 值 (SE) <sup>d</sup>	β 值 (SE) <sup>e</sup>	病例組	對照組
						β 值 (SE) <sup>a</sup>	β 值 (SE) <sup>a</sup>
砷物種濃度 (μg/g creatinine)							
三價無機砷	0.02 (0.01)	0.02 (0.01)	0.01 (0.01)	0.01 (0.01)	0.01 (0.01)	-0.004 (0.02)	0.02 (0.01)
五價無機砷	0.01 (0.006) <sup>#</sup>	0.01 (0.006) <sup>#</sup>	0.01 (0.007)	0.01 (0.007)	0.009 (0.007)	0.02 (0.008) <sup>**</sup>	-0.007 (0.01)
單甲基砷酸	0.005 (0.003)	0.005 (0.003)	0.003 (0.003)	0.004 (0.003)	0.003 (0.003)	-0.002 (0.003)	0.02 (0.007) <sup>**</sup>
雙甲基砷酸	0.002 (0.0005) <sup>**</sup>	0.002 (0.0005) <sup>**</sup>	0.001 (0.0005) <sup>**</sup>	0.002 (0.0005) <sup>**</sup>	0.001 (0.0006) <sup>*</sup>	0.001 (0.0006)	0.003 (0.001) <sup>*</sup>
總砷	0.002 (0.0005) <sup>***</sup>	0.002 (0.0005) <sup>***</sup>	0.001 (0.0005) <sup>**</sup>	0.001 (0.0005) <sup>**</sup>	0.001 (0.0005) <sup>**</sup>	0.0008 (0.0005)	0.003 (0.001) <sup>**</sup>

<sup>a</sup>調整年齡、性別 <sup>b</sup>調整年齡、性別、抽菸 <sup>c</sup>調整年齡、性別、泌尿道上皮癌 <sup>d</sup>調整年齡、性別、教育程度、父母親氏族、抽菸、喝酒和農藥 <sup>e</sup>調整年齡、性別、教育程度、父母親氏族、抽菸、喝酒、農藥和泌尿道上皮癌

<sup>#</sup> 0.05 < p < 0.1, <sup>\*</sup> p < 0.05, <sup>\*\*</sup> p < 0.01, <sup>\*\*\*</sup> p < 0.001

表 14 抽菸年數、抽菸包數和累積抽菸量與尿液中氧化傷害指標之多變項迴歸分析

變項	氧化傷害指標 Log <sub>10</sub> 8-OHdG 濃度 (ng/mg creatinine)						
	β 值 (SE) <sup>a</sup>	β 值 (SE) <sup>b</sup>	β 值 (SE) <sup>c</sup>	β 值 (SE) <sup>d</sup>	β 值 (SE) <sup>e</sup>	病例組	對照組
						β 值 (SE) <sup>a</sup>	β 值 (SE) <sup>a</sup>
抽菸年數 (年)	-0.0002 (0.0007)	-0.0003 (0.0007)	-0.0005 (0.0008)	-0.0008 (0.0008)	-0.0009 (0.0008)	0.001 (0.001)	-0.001 (0.0009)
抽菸包數 (包/天)	0.006 (0.02)	-0.003 (0.02)	-0.004 (0.02)	-0.02 (0.03)	-0.02 (0.03)	0.07 (0.04) <sup>#</sup>	-0.03 (0.03)
累積抽菸量 <sup>f</sup> (包年數)	-0.0004 (0.0006)	-0.0006 (0.0006)	-0.0007 (0.0006)	-0.001 (0.0007)	-0.001 (0.0007)	0.001 (0.001)	-0.002 (0.0009) <sup>*</sup>

<sup>a</sup>調整年齡、性別 <sup>b</sup>調整年齡、性別、總砷濃度 <sup>c</sup>調整年齡、性別、泌尿道上皮癌 <sup>d</sup>調整年齡、性別、教育程度、父母親氏族、喝酒、農藥和總砷濃度 <sup>e</sup>調整年齡、性別、教育程度、父母親氏族、喝酒、農藥、總砷濃度和泌尿道上皮癌

<sup>f</sup> 累積抽菸量 = (抽菸包數 / 天) × 抽菸年數

<sup>#</sup> 0.05 < p < 0.1, <sup>\*</sup> p < 0.05



表 15 尿液中氧化傷害指標和危險基因型個數與泌尿道上皮癌之交互作用

8-OHdG 濃度 (ng/mg creatinine)	危險基因型 個數 <sup>b</sup>	病例組 / 對照組	危險對比值 <sup>a</sup> (95%信賴區間)	危險對比值 <sup>a</sup> (95%信賴區間)
≤ 5.20	0 <sup>c</sup>	2/14	1.00	1.00
	1	16/68	1.06 (0.20-5.48)	1.18 (0.22-6.43)
	2	51/101	1.90 (0.39-9.27)	2.61 (0.50-13.71)
	3	15/18	3.09 (0.55-17.47)	3.58 (0.59-21.87)
				<i>P</i> <sub>trend</sub> < 0.05
> 5.20	0 <sup>b</sup>	7/8	2.56 (0.34-19.36)	1.00
	1	24/63	1.19 (0.23-6.17)	0.36 (0.08-1.63)
	2	41/107	1.19 (0.24-5.91)	0.41 (0.09-1.76)
	3	13/23	2.14 (0.38-12.14)	0.73 (0.14-3.69)
			<i>P</i> <sub>trend</sub> = 0.75	<i>P</i> <sub>trend</sub> = 0.63

<sup>a</sup> 調整年齡、性別、教育程度、父母親氏族、抽菸、喝酒、農藥和總砷濃度

<sup>b</sup> *p53* codon 72 基因型為 Arg/Pro+Pro/Pro、*p21* codon 31 基因型為 Arg/Arg 及 *CCND1* G870A 基因型為 G/A+A/A

表 16 危險因子個數與泌尿道上皮癌之相關性

變項	危險因子	個數	病例組 / 對照組	危險對比值 <sup>a</sup> (95%信賴區間)	危險對比值 <sup>b</sup> (95%信賴區間)
抽菸狀態	0	10/52	1.00	1.00	
	無機砷百分比	1	48/140	1.71 (0.81-3.65)	1.64 (0.74-3.63)
	<i>p21</i> codon 31 基因型	2	48/89	2.80 (1.29-6.05)**	2.32 (1.02-5.31)*
	8-OHdG 濃度	3	30/54	2.85 (1.25-6.51)*	2.38 (0.96-5.90) <sup>#</sup>
	4	12/11	5.56 (1.89-16.34)**	3.75 (1.17-12.07)*	
				<i>P</i> <sub>trend</sub> < 0.001	<i>P</i> <sub>trend</sub> < 0.05
單甲基砷酸百分比	0	3/48	1.00	1.00	
	1	41/156	4.13 (1.22-13.94)*	3.48 (1.01-12.04)*	
	<i>p21</i> codon 31 基因型	2	51/76	10.61 (3.09-36.43)***	9.65 (2.71-34.34)***
	8-OHdG 濃度	3	37/63	9.53 (2.73-33.22)***	6.94 (1.92-25.12)**
	4	10/11	14.74 (3.41-63.72)***	9.73 (2.12-44.59)**	
				<i>P</i> <sub>trend</sub> < 0.001	<i>P</i> <sub>trend</sub> < 0.001
二級甲基化指標	0	3/44	1.00	1.00	
	1	33/127	3.66 (1.07-12.56)*	3.34 (0.95-11.71) <sup>#</sup>	
	<i>p21</i> codon 31 基因型	2	51/85	8.37 (2.44-28.71)***	7.33 (2.06-26.09)**
	8-OHdG 濃度	3	40/69	8.16 (2.34-28.42)**	6.88 (1.89-25.00)**
	4	14/10	19.48 (4.60-82.54)***	12.44 (2.78-55.76)**	
				<i>P</i> <sub>trend</sub> < 0.001	<i>P</i> <sub>trend</sub> < 0.001

危險因子包括抽菸、無機砷百分比 > 4.28、單甲基砷酸百分比 > 6.06、二級甲基化指標 ≤ 10.9、*p21* codon 31 基因型為 Arg/Arg 及氧化傷害指標 8-OHdG 濃度 > 5.20 (ng/mg creatinine)

<sup>a</sup> 調整年齡、性別

<sup>b</sup> 調整年齡、性別、教育程度、父母親氏族、喝酒、農藥

<sup>#</sup> 0.05 < *p* < 0.1, \* *p* < 0.05, \*\* *p* < 0.01, \*\*\* *p* < 0.001

## Reference List

- Betticher DC, Thatcher N, Altermatt HJ, Hoban P, Ryder WD, Heighway J. 1995. Alternate splicing produces a novel cyclin D1 transcript. *Oncogene* 11: 1005-1011.
- Chen F, Shi X. 2002. Intracellular signal transduction of cells in response to carcinogenic metals. *Crit Rev Oncol Hematol* 42: 105-121.
- Chen YC, Su HJ, Guo YL, Hsueh YM, Smith TJ, Ryan LM, et al. 2003. Arsenic methylation and bladder cancer risk in Taiwan. *Cancer Causes Control* 14: 303-310.
- Chiou CC, Chang PY, Chan EC, Wu TL, Tsao KC, Wu JT. 2003a. Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine and its analogs as DNA marker of oxidative stress: development of an ELISA and measurement in both bladder and prostate cancers. *Clin Chim Acta* 334: 87-94.
- 2003b. Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine and its analogs as DNA marker of oxidative stress: development of an ELISA and measurement in both bladder and prostate cancers. *Clin Chim Acta* 334: 87-94.
- Chiou HY, Chiou ST, Hsu YH, Chou YL, Tseng CH, Wei ML, et al. 2001. Incidence of transitional cell carcinoma and arsenic in drinking water: a follow-up study of 8,102 residents in an arseniasis-endemic area in northeastern Taiwan. *Am J Epidemiol* 153: 411-418.
- Cooke MS, Evans MD, Herbert KE, Lunec J. 2000. Urinary 8-oxo-2'-deoxyguanosine--source, significance and supplements. *Free Radic Res* 32: 381-397.
- Fan R, Wu MT, Miller D, Wain JC, Kelsey KT, Wiencke JK, et al. 2000. The p53 codon 72 polymorphism and lung cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9: 1037-1042.
- Habuchi T, Kinoshita H, Yamada H, Kakehi Y, Ogawa O, Wu WJ, et al. 1994. Oncogene amplification in urothelial cancers with p53 gene mutation or MDM2 amplification. *J Natl Cancer Inst* 86: 1331-1335.
- Helbock HJ, Beckman KB, Ames BN. 1999. 8-Hydroxydeoxyguanosine and 8-hydroxyguanine as biomarkers of oxidative DNA damage. *Methods Enzymol* 300: 156-166.
- Hsueh YM, Chiou HY, Huang YL, Wu WL, Huang CC, Yang MH, et al. 1997. Serum beta-carotene level, arsenic methylation capability, and incidence of skin cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 6: 589-596.
- Hsueh YM, Huang YL, Huang CC, Wu WL, Chen HM, Yang MH, et al. 1998. Urinary levels of inorganic and organic arsenic metabolites among residents in an arseniasis-hyperendemic area in Taiwan. *Journal of Toxicology & Environmental Health Part A* 54: 431-444.

Huang SP, Wu WJ, Chang WS, Wu MT, Chen YY, Chen YJ, et al. 2004. p53 Codon 72 and p21 Codon 31 Polymorphisms in Prostate Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 13: 2217-2224.

Hunter T, Pines J. 1994. Cyclins and cancer. II: Cyclin D and CDK inhibitors come of age. *Cell* 79: 573-582.

Kessel M, Liu SX, Xu A, Santella R, Hei TK. 2002. Arsenic induces oxidative DNA damage in mammalian cells. *Mol Cell Biochem* 234-235: 301-308.

Kong S, Amos CI, Luthra R, Lynch PM, Levin B, Frazier ML. 2000. Effects of cyclin D1 polymorphism on age of onset of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cancer Res* 60: 249-252.

Kong S, Wei Q, Amos CI, Lynch PM, Levin B, Zong J, et al. 2001. Cyclin D1 polymorphism and increased risk of colorectal cancer at young age. *J Natl Cancer Inst* 93: 1106-1108.

Le Marchand L, Seifried A, Lum-Jones A, Donlon T, Wilkens LR. 2003a. Association of the cyclin D1 A870G polymorphism with advanced colorectal cancer. *JAMA* 290: 2843-2848.

----- . 2003b. Association of the cyclin D1 A870G polymorphism with advanced colorectal cancer. *JAMA* 290: 2843-2848.

Li YJ, Laurent-Puig P, Salmon RJ, Thomas G, Hamelin R. 1995. Polymorphisms and probable lack of mutation in the WAF1-CIP1 gene in colorectal cancer. *Oncogene* 10: 599-601.

Lin S, Cullen WR, Thomas DJ. 1999. Methylarsenicals and arsinothiols are potent inhibitors of mouse liver thioredoxin reductase. *Chemical Research in Toxicology* 12: 924-930.

Mousses S, Ozcelik H, Lee PD, Malkin D, Bull SB, Andrulis IL. 1995. Two variants of the CIP1/WAF1 gene occur together and are associated with human cancer. *Hum Mol Genet* 4: 1089-1092.

Obaya AJ, Sedivy JM. 2002. Regulation of cyclin-Cdk activity in mammalian cells. *Cell Mol Life Sci* 59: 126-142.

Petrick JS, Ayala-Fierro F, Cullen WR, Carter DE, Vasken AH. 2000. Monomethylarsonous acid (MMA(III)) is more toxic than arsenite in Chang human hepatocytes. *Toxicology & Applied Pharmacology* 163: 203-207.

Proctor AJ, Coombs LM, Cairns JP, Knowles MA. 1991. Amplification at chromosome 11q13 in transitional cell tumours of the bladder. *Oncogene* 6: 789-795.

Reznikoff CA, Sarkar S, Julicher KP, Burger MS, Puthenveetil JA, Jarrard DF, et al. 2000a. Genetic alterations and biological pathways in human bladder cancer pathogenesis. *Urol Oncol* 5: 191-203.

----- 2000b. Genetic alterations and biological pathways in human bladder cancer pathogenesis. *Urol Oncol* 5: 191-203.

Saito S, Yamauchi H, Hasui Y, Kurashige J, Ochi H, Yoshida K. 2000. Quantitative determination of urinary 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OH-dg) by using ELISA. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 107: 39-44.

Schwerdtle T, Walter I, Mackiw I, Hartwig A. 2003. Induction of oxidative DNA damage by arsenite and its trivalent and pentavalent methylated metabolites in cultured human cells and isolated DNA. *Carcinogenesis* 24: 967-974.

Styblo M, Serves SV, Cullen WR, Thomas DJ. 1997. Comparative inhibition of yeast glutathione reductase by arsenicals and arsenothiols. *Chem Res Toxicol* 10: 27-33.

Thomas M, Kalita A, Labrecque S, Pim D, Banks L, Matlashewski G. 1999. Two polymorphic variants of wild-type p53 differ biochemically and biologically. *Mol Cell Biol* 19: 1092-1100.

Wang L, Habuchi T, Takahashi T, Mitsumori K, Kamoto T, Kakehi Y, et al. 2002. Cyclin D1 gene polymorphism is associated with an increased risk of urinary bladder cancer. *Carcinogenesis* 23: 257-264.

Wood SG, Gedik CM, Collins AR. 2000. Controlled oxidation of calf thymus DNA to produce standard samples for 8-oxodeoxyguanosine analysis; effects of freeze-drying, storage and hydrolysis conditions. *Free Radic Res* 32: 327-332.

Xiong Y, Hannon GJ, Zhang H, Casso D, Kobayashi R, Beach D. 1993. p21 is a universal inhibitor of cyclin kinases. *Nature* 366: 701-704.

Yamauchi H, Aminaka Y, Yoshida K, Sun G, Pi J, Waalkes MP. 2004. Evaluation of DNA damage in patients with arsenic poisoning: urinary 8-hydroxydeoxyguanine. *Toxicol Appl Pharmacol* 198: 291-296.

Yin B, Whyatt RM, Perera FP, Randall MC, Cooper TB, Santella RM. 1995. Determination of 8-hydroxydeoxyguanosine by an immunoaffinity chromatography-monoclonal antibody-based ELISA. *Free Radic Biol Med* 18: 1023-1032.

# 行政院國家科學委員會補助國內專家學者出席國際學術會議報告

95 年 4 月 30 日

附件三

報告人姓名	薛玉梅	服務機構及職稱	臺北醫學大學 醫學系公共衛生學科
會議時間地點	2006.4.1-4.6. Washington Convention Center, Washington, DC, USA	本會核定補助文號	NSC-94-2314-B038-023
會議名稱	(中文)第九十七屆美國癌症研究學會年會 (英文) American Association for Cancer Research 97 <sup>th</sup> Annual Meeting		
發表論文題目	(中文) 血清微量營養元素及砷甲基代謝能力與泌尿道上皮細胞癌之相關性研究 (英文) The Relationship among Plasma Micronutrients, Antioxidant Enzyme Genetic Polymorphism, Arsenic Methylation Capability and Urothelial Carcinoma		

報告內容應包括下列各項：

一、 參加會議經過

「第九十七屆美國癌症研究學會年會」於民國九十五年四月一日至四月五日在美國 Washington Convention Center, Washington, DC 舉行。此會議由美國癌症研究學會主辦。參加會議人士來自世界各地醫師、專家、學者，共計約 10000 人與會。

本人與公衛所博士班學生鍾季容與公衛系主任邱弘毅教授及中研院生醫所李德章教授一行十四人於三月三十一日早上八時二十分搭乘西北班機，三月三十一日晚間約十二點，抵達華盛頓，住進 Golden Tulip Bethesda Court Hotel。四月一日至會場報到，領了會議議程日程表與會議摘要論文集。本次會議內容針對細胞與分子生物學(cellular and molecular biology)、腫瘤生物學(tumor biology)、致癌過程(carcinogenesis)、化學(chemistry)、臨床試驗(clinical research)、內分泌學(endocrinology)、流行病學(epidemiology)、實驗與分子治療(experimental and molecular therapeutics)、免疫學(immunology)、預防研究(prevention research)等領域分別進行討論。

本人於四月四日上午八點以海報發表論文，題目為” The Relationship among Plasma Micronutrients, Antioxidant Enzyme Genetic Polymorphism, Arsenic Methylation Capability and Urothelial Carcinoma” 論文。發表時，與會多位學者極表興趣，並與本人進行廣泛討論與交換意見。美國學者看到本人論文中在非暴露區飲用自來水也發現無機砷代謝能力與膀胱癌有關，非常關切，認為微量砷暴露所造成的健康危害應值得繼續深入研究。

美國環境保護署目前也在內蒙古砷暴露地區，進行調查飲用地下含砷水所引起的人體健康危害，故本研究發表時被詢問臺灣砷研究經驗獲極高的肯定。與會中並與長期合作夥伴哈佛大學 David Christiani 教授針對砷代謝能力指標測定問題交換意見。此外，此會議更邀請許多儀器廠商與書商展示最新儀器與新書，讓與會者獲得各領域新知。一行人於四月六日中午十二時二十分搭乘西北航空公司班機經底特律、大阪返回台灣，於四月七凌晨二點三十分左右安全返抵國門。

## 二、 與會心得

參加本次國際會議，使筆者有機會與世界各國從事流行病學研究的知名學者專家交換意見，對未來泌尿細胞癌研究工作有極大的助益。在流行病學領域研討會中，得知目前生物標記在探討疾病病因上有很大助益。大部分研究都在探討基 DNA 修復基因多形性、環境暴露與癌症之關係。此外，並探討不同突變點的 SNP 之 haplotype 與癌症之關係；強調基因與基因之交互作用與基因與環境暴露之交互作用。此外並討論如何利用生物資訊探討大量基因體與蛋白質體學資料與癌症之關係。此次會議中感觸最深為國外研究都是團體戰(team work)，利用多中心(multicenter)收集研究對象，所以癌症病人動輒上千或甚至上萬人，國內應有類似的合作群體能共同收集癌症病患，以大樣本探討基因與環境因子之機制，才能與國外競爭，並能在國際盛名之期刊雜誌投稿順利。

## 三、 考察參觀活動(無是項活動者省略)

在每天五點起床，搭乘地鐵約四十分鐘，七時趕至會場聽 sunrise section 至晚間六點半，辛苦的參與三天之研討會，獲新知洗禮後，與博士生至 National mold、國會、華盛頓紀念碑、傑佛遜紀念堂，放鬆心情旅遊並欣賞盛開的櫻花及瞭解美國的風土人情。

## 四、 建議

過去數十年台灣烏腳病盛行地區無機砷健康危害研究，有關癌症危害結果備受國際重視，美國環境保護局並以台灣的研究結果訂定水質標準。目前全世界尚有許多國家如美國、中國大陸、日本、德國、阿根廷、墨西哥、印度、孟加拉、智利等均有相同之砷暴露問題。希望政府能大力支持無機砷致病機制的研究，並鼓勵整合大型研究，收集大樣本並將分子生物醫學之技術應用在台灣地區研究，以便能傳承過去癌症流行病學研究之光榮歷史領先其他國家。並以臺灣經驗分享於世界其他國家，進而對世界各地日益增多地下水砷污染及砷誘發之健康危害事件有實質的幫助。

## 五、 攜回資料名稱及內容

- 1.會議議程日程表
- 2.會議摘要論文集

## 六、其他

# “The Relationship among Plasma Micronutrients, Antioxidant Enzyme Genetic Polymorphism, Arsenic Methylation Capability and Urothelial Carcinoma”

Y Y.M. Hsueh<sup>1</sup>, Y.T. Chen<sup>2</sup>, H.J. Tsai<sup>1</sup>, C.J. Chung<sup>3</sup>, Y.K. Huang<sup>2</sup>, Y.S. Pu<sup>4</sup>, C.J. Chen<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Department of Public Health, School of Medicine, Taipei Medical University, Taipei, Taiwan, <sup>2</sup>Graduate Institute of Medical Sciences, Taipei Medical University, Taipei, Taiwan, <sup>3</sup>School of Public Health, Taipei Medical University, Taipei, Taiwan, <sup>4</sup>Department of Internal Medicine, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, and College of Medicine and <sup>5</sup>Graduate Institute of Epidemiology, College of Public Health, National Taiwan University, Taipei, Taiwan.

## Abstract

This study is to examine the potential role and interaction among the antioxidant enzyme polymorphism, plasma micronutrient, arsenic methylation capability, cigarette smoking, oxidative damage 8-OHdG levels and urothelial carcinoma (UC). There were 152 patients with pathologically proven UC were recruited from the Department of Urology, National Taiwan University Hospital (NTUH) between September 2002 and May 2005. Age and gender matched 158 study subjects without UC were collected from adult health examination at Taipei Municipal WanFang Hospital. Well-trained interviewers did the standardized personal interviews for study subjects who gave their consent based on structural questionnaire and recruited their blood and urine samples. Obtained information including the demographic characteristics, cigarette smoking and alcohol drinking habits, occupational exposure history, and personal and family disease history. DNA was extracted from buffy coat to analyze the manganese superoxide dismutase (MnSOD) and catalase polymorphism utilizing polymerase chain reaction (PCR) and the restriction fragment length polymorphism (RFLP). The urinary concentration of 8-OHdG was assayed by enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA). Urine samples were examined by high-performance liquid chromatography (HPLC) to separate arsenite (As<sup>III</sup>), arsenate (As<sup>V</sup>), monomethylarsonic acid (MMA), and dimethylarsinic acid (DMA) and then quantified by hydride generator combined with atomic absorption spectrometry. Plasma samples were examined by HPLC to analyze micronutrients (retinol,  $\alpha$ -tocopherol,  $\beta$ -carotene and lycopene). We found that arsenic methylation capability in case group was significantly worse than control group. We also found the  $\alpha$ -tocopherol concentration was inversely related to UC risk. The lower  $\alpha$ -tocopherol and the lower secondary methylation capability was the high UC risk. Cigarette smoker with higher MMA percentage had significant UC risk. It is shown a highly significant UC risk exposed in three risk factors (higher total arsenic concentration, lower  $\alpha$ -tocopherol concentration and ever cigarette smoker) than non risk factor exposed. The Odds ratio was elevated to 16.67 (95%

CI 4.78-58.21). The relationship among MnSOD and catalase genetic polymorphisms and 8-OHdG and UC will be presented in the conference.

## **Introduction**

In Taiwan, urothelial carcinoma (UC) was ranked as the 7<sup>th</sup> and 10<sup>th</sup> most common cancer for males and for both sexes, respectively in 2000. The incidence rates of UC have been progressively increased in the past decades in Taiwan; with the age-specific rates for males and females in 2000 were 10.2 and 4.4 per 10<sup>5</sup>, respectively. It was found a clear dose-response relationship between arsenic water levels and UC mortality and incidence in an arseniasis endemic area in Taiwan. The capability to metabolize inorganic arsenic differs among individuals. Whether individual capability of arsenic methylation affects risks of UC among subjects exposed to a previously accepted safe level (50 µg/L) of arsenic is an important issue. Endogenous defense against ROS includes catalase, and superoxide dismutase (SOD). Micronutrients are antioxidant against ROS. To examine the potential role and interaction among the antioxidant enzymes genetic polymorphisms, plasma micronutrients, arsenic methylation capability, cigarette smoking, oxidative damage 8-OHdG levels and urothelial carcinoma (UC).

## **Material and Methods**

### **Study Subjects and questionnaire interview**

One hundred and forty-three patients with pathologically proven UC (age 24 to 93 years) were recruited from the Department of Urology, National Taiwan University Hospital (NTUH) between September 2002 and May 2004. Age and gender matched 143 control subjects without UC were collected from a hospital-based pool including those with benign diseases (benign prostatic hyperplasia, urolithiasis, urinary tract infection, voiding dysfunctions, etc) from the Department of Urology, NTUH, those receiving senior citizen health examination at Taipei Medical University Hospital and those receiving adult health examination at Taipei Municipal WanFang Hospital.

Well-trained personnel carried out the standardized personal interview that was based on a structured questionnaire. Information obtained included demographic and socioeconomic characteristics, consumption of alcohol, cigarette smoking, occupational and environmental exposure to possible carcinogens, chronic medication history, and personal and familial history of urological diseases. Study subjects who gave their informed consent were subjected to questionnaire interview and the collection of peripheral blood and urine. Urine samples were collected on-site and stored at -20°C. Blood samples were separated into the plasma and buffy coat and stored at -80°C.

### **Determination of urinary arsenic species**



Frozen urine samples were thawed at room temperature, dispersed by ultrasonic wave, filtered through Sep-Pak C<sub>18</sub> column. An aliquot of 200 µL urine was used for separation of arsenic species by high performance liquid chromatography and was quantified by hydride generator-atomic absorption spectrometer (HG-AAS). Arsenic methylation capability was assessed by the percentages of various arsenic species, the primary methylation index (PMI) defined as the ratio between MMA and inorganic arsenic (As<sup>III</sup> + As<sup>V</sup>) levels, and the secondary methylation index (SMI) defined as the ratio between DMA and MMA.

### **Determination of serum antioxidant micronutrient level**

Levels of  $\alpha$ -carotene,  $\beta$ -carotene, lycopene,  $\alpha$ -tocopherol and retinol of serum samples will be measured by high performance liquid chromatography (HPLC) according to the procedure described previously (63). Analysis will be carried out by using reversed-phase HPLC (Hitachi), mobile phase will be methanol: acetonitrile: chloroform = 47: 48 :5, and multiwavelength monitoring. Retinol will be detected at 325 nm,  $\alpha$ -tocopherol at 280 nm, and lycopene,  $\alpha$ - and  $\beta$ -carotene at 466 nm. Serum samples for each case-control set will be thawed from -70°C refrigerator in the dim light at room temperature and assayed on the same day to ensure that temporal variability in the laboratory assays would equally affect cases and controls. All laboratory personnel will be unaware of disease status of subjects whose serum samples were tested. In order to obtain reliable analytical result, strict quality control procedures, such as blank analysis, duplicate test, spiked analysis will be carried out.

### **MnSOD gene polymorphism assay**

Genotyping of MnSOD polymorphism (a T to C substitution in the mitochondria targeting sequence) was performed by PCR amplification procedure using the primer set of 5'-GCACCAGCAGGCAGCTGGCGCCGG-3' and 5'-TGCGCGTTGATGTGAGGTTCCAG-3'. The amplified products were digested with Turbo<sup>TM</sup> Nae I (ProgeMa) and analyzed by electrophoresis on a 10% polyacrylamide gel. The wild-type allele had no Nae I site and was characterized by a 112 base pair(bp) fragment on gel. 90 and 22 bp fragments on gel characterized the mutant allele. The heterozygous genotype had both alleles and was characterized by 112, 90 and 22 bp fragments.

### **Catalase Genetic Polymorphism Determination**

Genotyping of *catalase* polymorphism (a C-to-T substitution of the C262T polymorphic site located on chromosome 11 p 13) was performed by PCR amplification following digestion with *Sma* I, and analyzed by 4% agarose gel electrophoresis as previously described (Forsberg et al., 2001). Two fragments of 155 and 30 bp were characterized as the wild-type allele and a 185-bp fragment as the mutant allele.

## Data analyses and statistical methods

Student's *t* test was used to compare the differences in urinary arsenic profile between cases and controls. Univariate logistic regression was performed to compare the distributions of gender, age, cigarette smoking history, the frequencies of alleles and genotypes between cases and controls. Multivariate logistic regression analysis to adjust for age and cigarette smoking history was performed to calculate odds ratio (OR), and 95% confident interval (CI). SAS Version 8.2 was used for all statistical analyses.

## Conclusion

Our study is shown that higher total arsenicals, inorganic arsenics and MMA% in cases than those in controls and the  $\alpha$ -tocopherol concentration was inversely related to UC risk. After adjusting for other risk factors, study subjects who are cigarette smoker or have poor arsenic methylation capability with lower VitE or lycopene concentration had significantly higher UC risk. We did not find a relationship among MnSOD and catalase gene polymorphisms, 8-OHdG and UC risk.

**Table 1. Sociodemographic characteristics, the MnSOD and catalase genotype distribution in UC cases and healthy controls**

	UC Cases (n=152)	Control (n=158)	Adjusted OR <sup>a</sup> (95%CI)
Age (Mean±SE)	63.6 ± 1.08	61.3 ± 1.11	1.01 (0.99-1.03)
Sex (%)			
Female	28.9	29.1	1.03 (0.63-1.68)
Educational level (%)			
Elementary school and below	36.8	22.8	1.00
High school	40.2	39.3	0.62 (0.32-1.21)
University and above	23.0	37.9	0.38 (0.20-0.72)
Smoking (%)			
Never	47.4	59.5	1.00
Former	37.5	26.6	2.12 (1.16-3.88)
Current	15.1	13.9	1.68 (0.81-3.48)
Alcohol (%)			
Never	59.2	48.7	1.00
Former	23.7	13.9	1.32 (0.68-2.54)
Current	17.1	37.4	0.37 (0.21-0.66)
MnSOD genotype (%)			
WW	74.3	72.8	1.00
WM+MM	25.7	27.2	0.93 (0.56-1.54)
Catalase genotype (%)			
WW	95.4	93.7	1.00
WM+MM	4.6	6.3	0.71 (0.26-1.90)

<sup>a</sup> After adjustment for age and sex.

**Table 2. Distribution of urinary arsenic index, 8-OHdG and micronutrients concentrations in UC patients and health controls**

	No.	UC Cases	Control	P value
<i>Arsenic species</i> ( $\mu$ g/g creatinine)				
Total	152/158	38.31 ± 3.29	26.01 ± 1.33	< 0.01
As <sup>3+</sup>	152/158	0.86 ± 0.10	0.64 ± 0.09	0.11
As <sup>5+</sup>	152/158	1.27 ± 0.16	0.60 ± 0.10	< 0.01
MMA%	152/158	13.03 ± 1.05	9.72 ± 0.65	< 0.01
DMA%	152/158	80.27 ± 1.17	85.26 ± 0.82	< 0.01
8-OHdG	81/81	6.52 ± 0.51	5.99 ± 0.42	0.42
<i>(ng/mg Creatinine)</i>				
<i>Micronutrients</i> ( $\mu$ g/dL)				
VitA	152/158	106.8 ± 4.2	92.0 ± 2.0	< 0.01
VitE	152/158	1061.8 ± 54.2	1174.4 ± 38.1	0.09
Lycopene	152/158	9.3 ± 0.9	12.8 ± 1.0	0.01
-carotene	152/158	26.0 ± 2.4	26.5 ± 2.1	0.87

**Table 3. The interaction among antioxidants enzymes polymorphisms, smoking status and micronutrients concentration for UC risk.**

	<i>MnSOD</i> genotype	Adjusted-OR <sup>a</sup> (95%CI)	<i>Catalase</i> genotype	Adjusted-OR <sup>a</sup> (95%CI)	Smoking status	Adjusted-OR <sup>b</sup> (95%CI)
<b>VitA (µg/dL)</b>						
≥ 90.21	WW	1.00	WW	1.00	Never	1.00
≥ 90.21	WM+MM	0.61(0.29-1.29)	WM+MM	0.50(0.12-2.11)	Ever	1.76(0.89-3.48)
< 90.20	WW	0.62(0.35-1.09)	WW	0.81(0.50-1.29)	Never	0.72(0.39-1.36)
< 90.20	WM+MM	0.93(0.44-2.00)	WM+MM	0.78(0.19-3.26)	Ever	1.75(0.84-3.61)
<b>VitE (µg/dL)</b>						
≥ 1112.41	WW	1.00 <sup>#</sup>	WW	1.00 <sup>#</sup>	Never	1.00 <sup>#</sup>
≥ 1112.41	WM+MM	0.77(0.32-1.86)	WM+MM	0.58(0.11-3.03)	Ever	1.26(0.55-2.88)
< 1112.40	WW	2.28(1.27-4.07)	WW	2.56(1.55-4.23)	Never	1.95(1.02-3.73)
< 1112.40	WM+MM	2.48(1.14-5.41)	WM+MM	2.18(0.54-8.75)	Ever	4.69(2.23-9.77)
<b>Lycopene (µg/dL)</b>						
≥ 8.25	WW	1.00	WW	1.00	Never	1.00 <sup>#</sup>
≥ 8.25	WM+MM	0.81(0.36-1.82)	WM+MM	0.21(0.02-1.78)	Ever	2.73(1.24-6.00)
< 8.24	WW	1.14(0.65-1.99)	WW	1.29(0.80-2.09)	Never	1.82(0.97-3.44)
< 8.24	WM+MM	1.18(0.55-2.52)	WM+MM	1.61(0.42-6.07)	Ever	2.71(1.35-5.43)
<b>β-carotene (µg/dL)</b>						
≥ 17.23	WW	1.00	WW	1.00	Never	1.00
≥ 17.23	WM+MM	0.63(0.29-1.38)	WM+MM	0.80(0.23-2.78)	Ever	2.26(1.06-4.81)
< 17.22	WW	0.69(0.39-1.20)	WW	0.93(0.57-1.50)	Never	0.99(0.52-1.88)
< 17.22	WM+MM	0.92(0.43-1.96)	WM+MM	0.46(0.08-2.66)	Ever	1.85(0.93-3.67)

<sup>a</sup>After adjustment for age, sex, smoking status, alcohol drinking and education.; <sup>b</sup>After adjustment for age, sex, alcohol drinking and education.; <sup>#</sup>Trent P value<0.05

**Table 4. The interaction among antioxidants enzymes polymorphisms, smoking status and micronutrients concentration for UC risk.**

	<i>Total arsenicals</i> (µg/g creatinine)	Adjusted-OR <sup>a</sup> (95%CI)	<i>Inorganic arsenic</i> (µg/g creatinine)	Adjusted-OR <sup>a</sup> (95%CI)	<i>PMI</i>	Adjusted-OR <sup>a</sup> (95%CI)	<i>SMI</i>	Adjusted-OR <sup>a</sup> (95%CI)
<b>VitA (µg/dL)</b>								
≥ 90.21	< 22.13	1.00	< 3.63	1.00	< 1.76	1.00	< 9.78	1.00
≥ 90.21	22.13	2.66(1.29-5.46)	3.63	1.88(0.97-3.63)	1.76	0.86(0.43-1.71)	9.78	3.16 (1.46-6.86)
< 90.20	< 22.13	1.05(0.48-2.32)	< 3.63	1.02(0.49-2.14)	< 1.76	0.60(0.29-1.25)	< 9.78	0.93 (0.39-2.24)
< 90.20	22.13	1.05(1.02-4.87)	3.63	1.23(0.62-2.41)	1.76	1.03(0.48-2.19)	9.78	2.52 (1.14-5.59)
<b>VitE (µg/dL)</b>								
≥ 1112.41	< 22.13	1.00 <sup>#</sup>	< 3.63	1.00 <sup>#</sup>	< 1.76	1.00 <sup>#</sup>	< 9.78	1.00 <sup>#</sup>
≥ 1112.41	22.13	2.84(1.17-6.92)	3.63	0.58(0.40-1.83)	1.76	1.40(0.60-3.25)	9.78	1.89 (0.78-4.56)
< 1112.40	< 22.13	2.91(1.18-7.22)	< 3.63	1.50(0.72-3.12)	< 1.76	2.86(1.28-6.42)	< 9.78	1.65 (0.67-4.06)
< 1112.40	22.13	8.23(3.38-20.04)	3.63	3.15(1.58-6.31)	1.76	3.62(1.59-8.28)	9.78	6.55(2.80-15.33)
<b>Lycopene (µg/dL)</b>								
≥ 8.25	< 22.13	1.00 <sup>#</sup>	< 3.63	1.00	< 1.76	1.00	< 9.78	1.00 <sup>#</sup>
≥ 8.25	22.13	2.26(1.09-4.71)	3.63	1.46(0.72-2.96)	1.76	1.38(0.64-2.95)	9.78	3.87 (1.66-9.02)
< 8.24	< 22.13	1.11(0.51-2.43)	< 3.63	1.14(0.55-2.39)	< 1.76	1.70(0.80-3.64)	< 9.78	1.63 (0.66-3.99)
< 8.24	22.13	2.82(1.38-5.79)	3.63	1.76(0.91-3.56)	1.76	1.91(0.87-3.95)	9.78	3.93 (1.71-9.05)
<b>β-carotene (µg/dL)</b>								
≥ 17.23	< 22.13	1.00	< 3.63	1.00	< 1.76	1.00	< 9.78	1.00
≥ 17.23	22.13	2.67(1.32-5.41)	3.63	1.36(0.70-2.66)	1.76	1.23(0.60-2.52)	9.78	3.30 (1.49-7.29)
< 17.22	< 22.13	0.90(0.41-1.90)	< 3.63	0.74(0.36-1.53)	< 1.76	0.85(0.46-2.09)	< 9.78	1.07 (0.44-2.59)
< 17.22	22.13	2.00(0.99-4.01)	3.63	1.25(0.63-2.52)	1.76	1.12(0.53-2.37)	9.78	2.81 (1.22-6.46)

<sup>a</sup>After adjustment for age, sex, smoking status, alcohol drinking and education.; <sup>#</sup>Trent P value<0.05