

台灣二〇〇五年國際科學展覽會

科 別：醫學與健康科學

作品名稱：吸菸、喝酒與嚼檳榔之基因毒性研究

學 校：臺北市立建國高級中學

作 者：張晏溥

作者簡介



我的名字叫做張晏溥，目前就讀建國中學三年級。我的生活多采多姿，除了讀書外，彈鋼琴、繪畫、下棋、打牌都是我十分喜愛的活動，電玩遊戲尤其是我的最愛；而運動方面，我最喜歡桌球，由於曾受到教練紮實的指導，我已擺脫當初玩票性質的球技，在與同學較勁中已有勝局呢！

從小，我就是一個好奇寶寶，凡事喜歡追根究底，自然科學類的書籍相當吸引我，但歷史和地理我也喜歡。高中幸運地進入數理資優班就讀，不僅遇到許多思考邏輯和自己十分契合的同學，且各科教學均較具深度與彈性，聽演講、參訪、專題研究、競賽等活動讓我們的視野更為寬廣，也陸續發現了自己的潛力。雖然高一入學時，我曾打定主意過平凡的高中生活，想不到高三時卻已身經百戰，選上數學校隊、得到台北市中等學校學生科學研究獎助化學科佳作，以及通過這次台灣國際科展的初選等。這些日子邊準備學測，邊整理科展資料的日子，應該是一段很深刻的記憶，我已盡力，希望能有好的成果！

英文摘要(Abstract)

Genotoxicity between tobacco, alcohol and betel quid users

Epidemiological studies showed that the incidence of oral cancer increased significantly in recent years. The purpose of this study is to evaluate the genotoxicity of cigarette smoke, alcohol and betel quid use as well as the interaction effect between these three risk factors.

The study subjects were selected from residents lived in a mountain area of Tao-Yuan county. We used questionnaire as a tool of exposure measurement. The exfoliated oral buccal cells and blood samples were collected for the assay of micronucleus frequency (MNF) and comet assay. We find that there are higher MNF in smokers, alcohol drinkers, and betel quid users compared with nonusers. However, a significant difference can not be found because of small sample size. The relationship between MNF and three risk factors was strongest in betel quid use, however, for smokers the parameters in comet assay were more sensitive than MNF. There is a tendency of additive effect between cigarette, alcohol and betel quid although without statistical significance. Advanced statistical analysis is suggested to find stronger evidence in the genotoxicity biomarker.

中文摘要

吸菸、喝酒與嚼檳榔之基因毒性研究

流行病學資料顯示，近年來口腔癌發生率明顯增加。本研究之目的是探討口腔黏膜細胞微核發生頻率及彗星分析法之基因傷害指標是否與菸、酒、檳榔暴露有關，以及是否可以看到菸、酒、檳榔之交互作用。

研究對象為桃園地區山地鄉之民眾，利用問卷收集個人之菸、酒、檳榔及干擾因子之暴露資料，再採集樣本之口腔黏膜細胞及血液樣本，進行基因傷害評估。

結果顯示，口腔黏膜之微核發生率與檳榔之暴露相關性最大，可以解釋 12.6%；然而，彗星尾部動量和尾部長度則以香菸暴露解釋力最大；同時，檳榔與香菸的基因傷害交互作用似乎存在。因此我們認為，口腔黏膜細胞之微核發生頻率對於檳榔暴露者應是不錯的基因傷害指標，而香菸暴露則以彗星分析法之指標較為敏感。

目 錄

壹、前言	4
一、研究動機	
二、研究目的	
三、文獻探討	
貳、材料與方法	11
一、研究樣本選擇	
二、暴露效應評估	
三、結果統計分析	
參、結果與討論	15
一、研究樣本描述	
二、基因毒性指標分析結果	
三、暴露效應分析	
四、研究限制	
肆、結論與應用	23
伍、致謝	23
陸、參考文獻	24
附件一(問卷)	27

壹、前言

一、研究動機

菸、酒、檳榔是國人的普遍嗜好，但長期暴露對身體造成很多傷害，除慢性疾病之外還有科學證據顯示，他們會產生基因傷害而增加致癌機率，然而，癮君子們大多不在意。如果能夠找到好的基因毒性指標，能較簡單且早期偵測到傷害，讓菸、酒、檳榔嗜好者感受到潛在致癌危險性，或許有助於疾病之預防工作。

二、研究目的

1. 探討口腔黏膜細胞微核發生頻率及彗星分析法之基因傷害指標是否與菸、酒、檳榔暴露有關。
2. 探討菸、酒、檳榔三項危險因子間對基因傷害是否有加成效應。

三、文獻探討

1. 菸、酒、檳榔對口腔細胞之傷害性

口腔癌是臺灣地區近年來成長十分快速的癌症，不僅患者逐年激增，發病年齡也大為降低（Lin et al., 2002）。根據民國九十一年衛生署的統計資料，口腔癌為男性十大癌症死因的第五位，死亡率為每十萬人 13.09 人，且死亡率逐年上升。相較於男性其他癌症死因，排名前四名的肝癌、肺癌、結腸直腸癌及胃癌，20 年來都增加不到一倍；然而，口腔癌則增加達數倍之多。（行政院衛生署衛生統計資訊網）

臺灣嚼檳榔的人口超過二百萬，其中嚼檳榔又有抽菸者將近 90%。而臺灣檳榔最普遍的吃法是檳榔加荖花和石灰，檳榔的化學組成中，含量最多的是檳榔素，其具有細胞毒性及基因毒性；荖花的成份中，含量最多的是黃樟素，一粒檳榔約有 0.3 g 荖花，其黃樟素含量達 5000 ppm，而黃樟素是已公認的致癌物質，也具有細胞毒性及基因毒性，會抑制細胞DNA合成；檳榔加荖花等於是致癌物加上促癌物；此外石灰會使檳榔某些成分釋放出游離基，因此由上述這種組合的致突變性最強。而在嚼檳榔過程中，口腔黏膜會和檳榔成分中不同濃度的生物鹼及多種亞硝基胺化合物接觸。而亞硝基胺化合物已被認為是引起口腔黏膜病變的一種基本因子，也是種致癌物質。如果嚼檳榔同時加菸葉會加速檳榔生物鹼和亞硝基胺化合物反應。這也就是嚼檳榔同時又吸菸者得口腔癌的機會比單獨嚼檳榔者高的原因。至於菸的內含物中，尼古丁會抑制細胞的

生長及附著，且會增強檳榔素的細胞毒性。（謝典華，2003）國際癌症研究中心 (International Agency for Research on Cancer; IARC) 在 1985 年就已經將咀嚼含菸草的檳榔塊或咀嚼檳榔塊伴隨抽菸列為危險性最高的第一類致癌物。（吳逸秋，2003；簡暉慈，2003）

關於菸、酒、檳榔分別或同時對口腔黏膜細胞傷害的嚴重程度，近年來國內已有一些流行病學及細胞學方面的研究。高雄醫學大學葛應欽教授的一研究指出：若不喝酒、不抽菸及不嚼食檳榔得口腔癌的機率為一，則喝酒得口腔癌的機率為十，抽菸得口腔癌的機率為十八，嚼食檳榔得口腔癌的機率為二十八，抽菸又喝酒得口腔癌的機率為二十二，喝酒又嚼食檳榔得口腔癌的機率為五十四，抽菸又嚼食檳榔得口腔癌的機率為八十九，抽菸及嚼食檳榔又喝酒得口腔癌的機率為一百二十三。高雄醫學大學牙醫學研究所的一項研究指出，約有百分之五至十之口腔黏膜纖維化症或白斑會轉變成癌，而危險因子與口腔黏膜下纖維化病變間的相關性大小，依序為檳榔>菸>酒（謝典華，2003）。高雄醫學大學口腔衛生科學研究所的研究也顯示，口腔黏膜疾病盛行率以同時有嚼食檳榔及抽菸者為最高（44.7%），其次為嚼食檳榔者（37.0%），僅抽菸者再次之（17.2%）。曾有嚼食檳榔習慣者得OSF及acanthosis的機率高於抽菸及喝酒習慣者；有抽菸習慣者得hyperorthokeratosis的機率高於嚼食檳榔或喝酒習慣者，且抽菸數量大於兩包者得此病的機率越高，而喝酒習慣者與口腔黏膜病變種類並無顯著差異。（呂秀珠，2003；連玉金，2003）

2. 以微細胞核作為基因傷害指標

(1)微細胞核的發現與命名

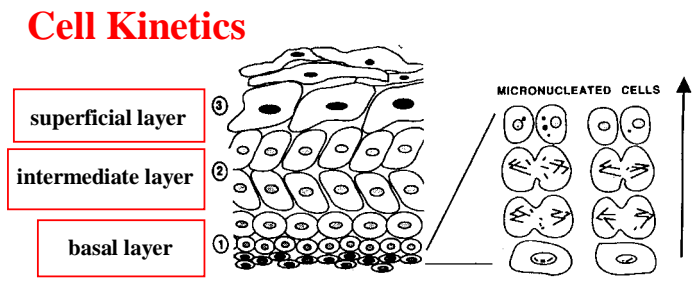
1891年Howell學者最先發現在老鼠紅血球細胞中有比細胞核小的核狀顆粒，其染色性質相近細胞核，別於一般胞器，故推測其組成由染色體構成的機率最大；1905年Jolly學者進一步將這種在老鼠紅血球細胞中發現較細胞核小的核狀顆粒，正式命名為微細胞核 (Micronucleus; MN)，為了紀念這兩位學者的研究貢獻，後人也將微細胞核稱之為 “Howell-Jolly body” (Jensen, 1982)。

(2)微細胞核形成機轉探討

細胞分裂時，經基因毒性物質攻擊，使得部份染色體無隨著紡錘體向兩極移動，而產生染色體整條脫落 (Whole Chromosome Loss) 或段片 (Fragments)，隨著細胞分裂而移至子細胞細胞質中，形成核膜後以微小細胞核型態出現，我們稱之為「微細胞核」(Fenech et al., HUMN International Project, 1999^a)。

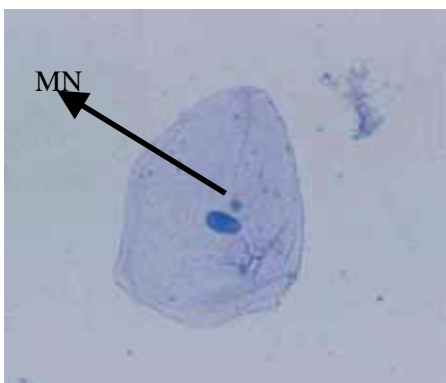
可能導致微核形成 (Micronucleus Formation)的原因：一為直接或間接誘導染色體異常，該攻擊物稱之為「致染色體變異物」(Clastogen)，如：X Ray、亞砷酸鈉(Solium Arsenite, NaAsO₂)。二為破壞紡錘絲正常功能，如：秋水仙鹼 (Colchicine) (Eastmond et al., 1989)。

上皮細胞脫落與微核形成之過程

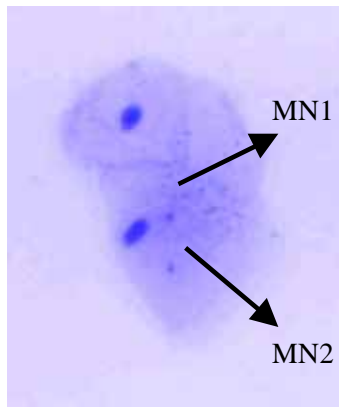


In general, cells take 7-16 days to emerge to the surface and exfoliate. (*Tolbert et al., 1992)

顯微鏡下的影像--有一個微核的上皮細胞



(* Chen, Fong and Ho, 2002)



顯微鏡下的影像 一有**二個**微核的上皮細胞

(* Chen, Fong and Ho, 2002)

(3) 脫落上皮細胞之微細胞核試驗

脫落上皮細胞易於從口腔、鼻腔與膀胱收集，別於傳統血樣的侵入性收集。一般說來，90%癌症來自於上皮組織，我們可以用上皮細胞微核發生率來評估特定基因毒性物質攻擊該標的組織的生物劑量效應，因此脫落上皮細胞之微核試驗被科學家認為是握有很大潛力的生物偵測工具。(Fenech et al., HUMN International Project, 1999^a)。其試驗方法如下：

a. 收集樣本：

上皮細胞收集的標準程序分兩種，第一種是口腔或鼻腔黏膜，可用壓舌板或口腔刷刮取黏膜細胞取得樣本，第二種是收集中段尿液，經由離心取得脫落之膀胱上皮細胞，完成收集細胞後，再經由抹片或滴定技術來完成玻片的製備 (Stich et al., 1983)。

b. 細胞固定與染色：

接著以甲醇與冰醋酸進行細胞固定後，通常以 Giemsa 或 Chromatin-specific Dyes (如：Feulgen) 和螢光染色法 (如：Hoechst 33258 或 propidium iodide) 染色後，再進行細胞讀數與微核判讀 (Moore, 1993; Titenko-Holland, 1996; Casartelli et al., 1997; Surreales, 1997)。

c. 計讀細胞數目：

然而計讀細胞的準確數目仍未被統一定義，大多數學者認為數目約 1,500-2,000 個細胞即可 (Fenech et al., HUMN International Project, 1999^a)，另外有部分學者認為有需要數到 10,000 細胞，才可以觀察到統計顯著增加

50% 微核發生率，然而要計數這麼多細胞，非一般人力可達成，需要自動化計數機協助執行研究的進行(Automation; Belien et al., 1995)。

d. 分辨退化性細胞：

一般說來，脫落的上皮細胞中包括大量退化性細胞，因此分辨出退化性細胞與具完整核構造的正常細胞是一項非常重要的工作。一般說來，核分裂(Karyorrhexis)、核溶解(Karyolysis)、核皺縮 (Pycnosis)、核質濃縮 (Condensed Chromatin) 四種現象被推測是細胞受到基因毒性物質傷害後，壞死而導致細胞死亡 (Shklar,1968; Pindborg et al., 1980; Wyllie et al., 1981; Sarto et al., 1987; Tolbert et al., 1992; Casartelli et al., 1997)。核破裂(Broken Eggs)被推測可能和細胞分裂第三期有關，此種不正常主核發生來源與意義仍然未知 (Tolbert et al., 1992) 。而雙核細胞 (Binucleates)則被推測是細胞不完全分裂的結果，並可能牽涉干擾細胞分裂晚期，但正確意義仍是未知的 (Tolbert et al., 1992) 。

下列六種疑似退化性細胞：① 核分裂 (Karyorrhexis)；② 核溶解 (Karyolysis)；③ 核皺縮(Pycnosis)；④ 核質濃縮 (Condensed Chromatin)；⑤ 核破裂 (Broken Eggs)；⑥ 雙核細胞 (Binucleates)，易干擾微核判讀，造成高估微核發生率，因此學者進一步建議應排除此類額外異常核體細胞 (Sarto et al., 1987; Tolbert et al., 1992; 任敏華，2000) 。其細胞特徵如下述：

e. 微核判讀標準：

- a.) 微核大小需小於主核 1/3 。
- b.) 所在位置與主核在同一平面上。
- c.) 與細胞核同色、同質、及同折射率。
- d.) 為圓形或橢圓形。
- e.) 與細胞核明顯分離。

(Sarto et al., 1987; Tolbert et al., 1992; Casartelli et al., 1997; 葉錦瑩，1997；盧志朋，2000)

(4). 上皮細胞微核試驗的優缺點

1). 優點

- a. 可重複多次採樣，較無侵入性，比抽血和組織切片易為研究族群接受。
- b. 可反應一到二星期前，發生在基底層的基因毒性事件。

- c. 比姊妹染色體互換或染色體變異更方便、易上手且便宜。
- d. 不必細胞培養。
- e. 可直接評估標的組織相關的癌症風險。

2). 缺點

- a. 仍需排除干擾因子，如：性別、年齡、工作及環境中化學物質暴露、抽煙、喝酒及飲食狀況等。
- b. 上皮細胞中型態似微細胞核的退化性細胞，易干擾微核判斷。

(Stich et al., 1983; Pincu et al., 1984; Fenech et al., 1986; Sarto et al., 1987; 任敏華, 2000)

3. 以彗星分析法偵測基因傷害

(1)彗星分析法的發展

較早期，染色體變異 (chromosomal aberration, CA)、姊妹染色分體交換 (sister chromatid exchange, SCE)、和微核 (micronuclei, MN) 等細胞遺傳學標記被用來評估致癌物質暴露所致的基因毒性，但有低敏感度和費時的問題。彗星分析法/單一細胞膠體電泳 (comet assay/ single cell gel electrophoresis) 是近年來發展的另一種 DNA 傷害測定方法，Ostling 以及 Jahanson 在 1984 年發現將細胞中的 DNA 嵌入低熔點的洋菜膠進行電泳，將會依 DNA 所受到的傷害程度呈現不同的圖形。此後彗星試驗因其可定量性、簡易性與高敏感度，成為試驗 DNA 傷害程度時常用的方法。(Ostling & Johanson; 1984; Singh et al., 1988; Klaude et al., 1996; Kassie et al., 2000) 因此，除了口腔黏膜微核分析外，本研究再嘗試利用彗星分析法評估菸、酒、檳榔暴露的基因毒性。

(2)彗星分析法的原理

a. 分離膠的製作

彗星分析法是設計用來評估單一個細胞 DNA 受損的情形，所以細胞間必須要能分開，才能進行評估。分離膠的製作，目的就是要讓細胞彼此分離；製作分離膠最重要的是要盡量平穩，以避免 DNA 位於不同水平面而產生模糊的彗星影像。

b. 浸泡溶解緩衝液

目的是去除細胞膜，核膜極大部分的蛋白質，同時還可以將 DNA 雙股斷裂 (double strand breakage[DSB]) 展開形成單股斷裂 (single strand breakage[SSB]) 以增加分析的敏感性：溶解緩衝液的濃度，酸鹼值及浸泡時間等因素都會影響細胞的溶解程度。

c. Fpg(formamidopyrimidine glycosylase)酵素反應

Fpg 是細菌的鹼基切除 (bacterial base excision) 的修補酵素，可將受到傷害的鹼基進行移除。切除的鹼基，可經由 endonuclease 轉變成 DNA 單股斷裂。

d. 浸泡電泳液

因為浸泡溶解緩衝液後，DNA 會殘留部分鹽類，鹽類可中和 DNA 的磷酸根，進而抑制 DNA 的電泳情形。當浸泡溶解緩衝液後，玻片上所殘留的鹽類比電泳液中多，則此時鹽類會自玻片移至電泳液中，而增加電泳液的電流。因此位於分離膠上層的細胞會因為鹽類流失較快，而減少鹽類對於磷酸根的中和作用，所以其 DNA 的移動較不受影響；但是位於分離膠下層的細胞相較就比較不會移動，如此便會增加實驗的變異性。為了減小此問題，可在電泳前先讓細胞浸泡電泳液以平衡兩者之鹽類。

e. 電泳

DNA 單股斷裂可因為電泳槽中電極的驅使而自 DNA 團塊中被拖引出來，經由適當的染劑染色後，在螢光顯微鏡下可以看到一個長得很像彗星的影像

f. 影像分析與計算

隨機選取 50 個彗星影像，於螢光顯微鏡下觀察，條件為 ISO100、曝光時間 1.3 秒、於 400X 下照相，並計算尾部長度百分比(% of tail length)、尾部亮度百分比 (% of tail intensity)、和尾部動量 (tail moment)等參數。

其中：

尾部 DNA 長度 (tail length, TL)

=彗星影像全長－頭部區域長度

尾部區域長度百分比 (% of tail length, %TL)

=(尾部 DNA 長度 / 彗星影像全長)×100

尾部亮度百分比 (% of tail intensity, %TI)

=[(彗星影像總亮度和－頭部區域亮度) / 彗星影像總亮度和]×100

尾部動量 (tail moment, TM)

=尾部長度百分比×尾部亮度百分比

貳、材料與方法

一、研究樣本選擇

與衛生署桃園醫院之復興鄉民眾肝病篩檢計畫結合，提供口腔健檢服務，並經由同意採集口腔黏膜樣本，共得到 40 個口腔黏膜樣本；同時，由篩檢計畫提供上述樣本之血液檢體。

二、暴露效應評估

A. 樣本暴露劑量評估

本研究係以結構式問卷為樣本暴露劑量評估工具，問卷內容包括：人口學基本資料（性別、年齡、籍貫、教育程度及職業等），樣本之菸、酒、檳榔暴露史，並收集與基因傷害有關之其他干擾因子（詳如附件一）。問卷由研究人員親自面訪，於進行樣本口腔檢查及黏膜採集時同時執行。

B. 口腔黏膜微核試驗

1. 口腔黏膜細胞之採集

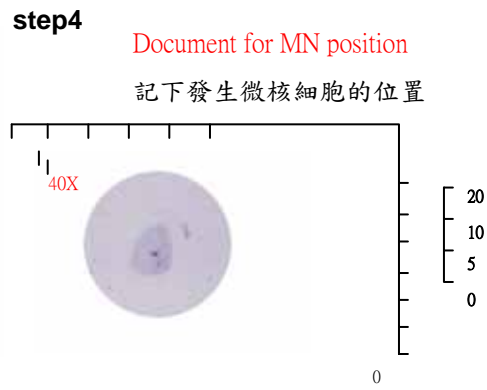
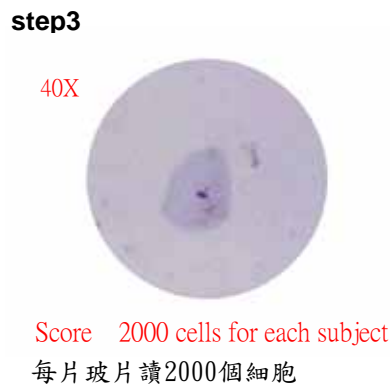
採樣時以壓舌板刮取受測者口腔黏膜細胞，塗抹於玻片上待其自然風乾，以 2%Giemsa 染色。

2. 口腔黏膜細胞微核數觀察

經染色後的玻片用顯微鏡來觀察，先以 400 倍放大倍率來觀察微核，若發現微核後再以 600 倍放大倍率來確認。當細胞超過 2000 個以上，該玻片才被視為有效玻片。微核細胞詳細的判定標準如下（Sarto et al.,1987）：

- (1)微核大小需小於 1/3 細胞核大小。
- (2)所在位置需於同一平面上。
- (3)與細胞核同色同質及同折射率。
- (4)為圓形或橢圓形。
- (5) 與細胞核明顯分離。

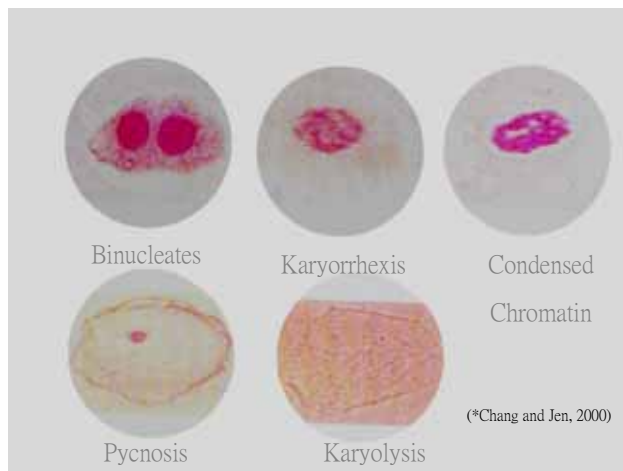
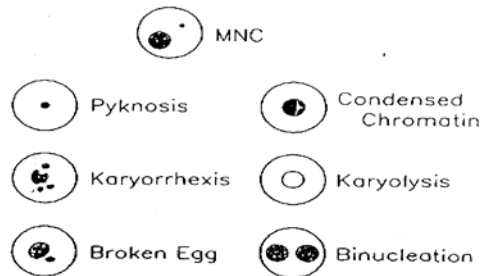
微核判讀步驟 (scoring procedure)



Excluding six kinds of cells
with abnormal nucleus

step 5

以下六種異常微核需排除不計



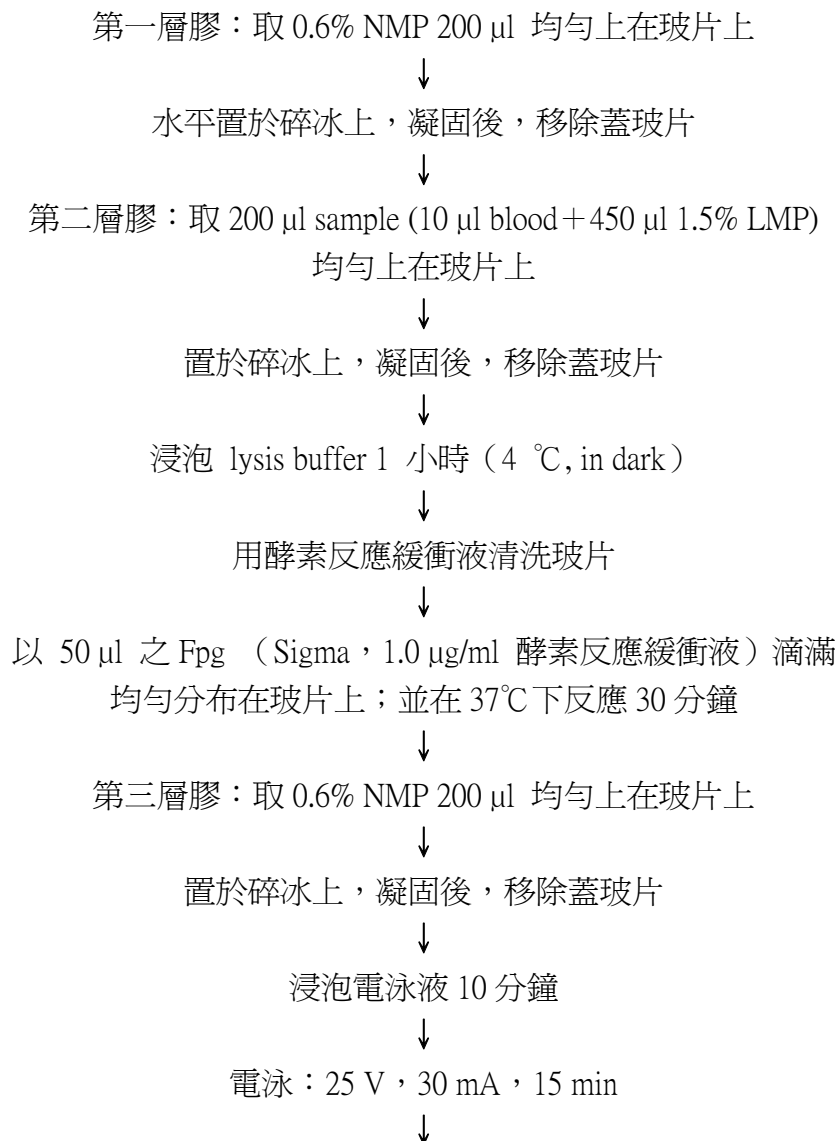
3. 細胞微核出現頻率計算

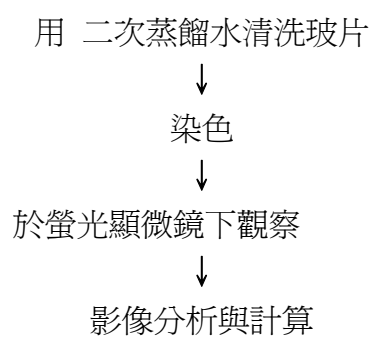
微核細胞出現頻率之計算採 MNF 法，即每一千個細胞中出現微核之細胞數，計算公式如下：

$$\text{微核發生率(MNF)} = \frac{\text{有微核之細胞總數(MNCs)}}{\text{計讀細胞總數(NCs)}} (\%)$$

C. 血液樣本彗星分析

研究對象的血液樣本由體檢抽血檢查單位提供，分析步驟如下：





三、結果統計分析

本研究之問卷、微核判讀與彗星分析結果以 EXCEL 建檔後，以 SPSS10.0 中文版統計軟體進行統計分析，比較樣本不同菸、酒、檳榔暴露情形下之基因毒性差異。

叁、結果與討論

一、研究樣本描述

分析問卷資料，發現本研究樣本男女約各半（男性 47.5%，女性 52.5%），多數已婚，平均年齡為 46.9 歲，教育程度及家庭收入偏低（詳見表一、表二）。研究樣本的菸、酒、檳榔嗜好及使用營養補充劑及服用藥物情形如表三所示，表四為樣本的職業及特殊危害暴露情形，我們可以看到，樣本中以目前無工作（包括家庭主婦、失業及退休）者最多（40.0%），有工作者以農民最多，佔了 27.5%，因此農藥為其主要的化學品暴露。

二、基因毒性指標分析結果

表五為研究樣本口腔黏膜細胞微核發生率，我們發現：微核發生率男性高於女性；原住民高於非原住民；抽菸者高於戒菸半年以上者、戒菸半年以上者又高於非抽菸者；經常喝酒者高於戒酒半年以上者、戒酒半年以上者又高於非經常喝酒者；嚼檳榔者高於不嚼檳榔者；且經常吃維他命者也較低。上述結果似乎可以看到，菸、酒、檳榔的暴露量與微核發生率有正相關傾向，而經常吃維他命則有降低微核發生率的保護效果，不過由於樣本數較小，且個別差異性大，因此，各變項之差異均未達到統計上顯著水準。表六為研究對象血液樣本彗星分析法結果，我們發現所有變項，包括：性別、種族及菸、酒、檳榔的暴露等分組間，在三個 DNA 傷害指標—尾部長度百分比(% of tail length)、尾部亮度百分比 (% of tail intensity)、和尾部動量 (tail moment)都看不出明顯的差異。

三、暴露效應分析

為瞭解基因傷害指標是否與菸、酒、檳榔之暴露有劑量效應存在，嘗試以其使用量及使用年數和微核發生率 (MN)、彗尾長度 (TL)、彗尾亮度 (TI) 和彗星動量 (TM) 等進行相關性分析，結果均未達統計顯著性。但是，我們仍嘗試看看各種危害因子的線性迴歸可以解釋 MN、TL、TI 及 TM 的程度 (R^2)，結果如表七所示。口腔黏膜之微核發生率與檳榔之暴露相關性最大，可以解釋 12.6%，這與其他研究之發現，檳榔對口腔黏膜影響最明顯一致（謝典華，2003；呂秀珠，2003；連玉金，2003）；然而，彗星尾部動量和尾部長度則以香菸暴露解釋力最大。此結果可以解釋，檳榔的基因傷害主要來自於對黏膜的一再摩擦刺激，而香菸的基因傷害為其中所含之有害成分被吸收後造成的傷害。進一步看交互作用，發現不論哪種基因毒性指標，在菸、酒、檳榔三種危害暴露同時存在時，均有最大的解釋力；不過，除彗星亮度強度外，檳榔和菸二種因子存在的解釋力等於菸、酒、檳榔三種因子的解釋力，顯然，酒的影響力相對較弱，這和研究對象經常喝酒者並不多可能也有關係。

有時候，暴露效應會受到干擾因子的影響而被遮蔽，因此我們嘗試利用多變項線性迴歸模式 (multiple linear regression)，控制一些可能干擾結果的因子 (如：族別、年齡、農藥暴露、吃煙燻食品、吃維他命、照射 X 光等) 後，看菸、酒、檳榔暴露是否能有意義的解釋基因傷害程度。

結果顯示，微核發生率的預測模式中，其迴歸係數僅檳榔累積暴露量、和吃煙燻品頻率達顯著相關性，迴歸模式之 F 值為 4.316 (p=0.013)。

所得複迴歸線性模式，其方程式如下：

$$Y = \alpha + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3$$

其中，Y：微核發生率(‰)

X₁：族別

X₂：吃煙燻品頻率

X₃：檳榔累積暴露量

$$\alpha = 1.388$$

$$\beta_1 = -0.533 \quad \beta_2 = 1.645 \quad \beta_3 = 7.189E-3$$

(方程式檢定：F=4.316, p=0.013, Adjusted R-square = 0.265)

也就是說，研究對象為原住民、常吃煙燻食品 and 吃檳榔累積量較高者，微核發生率較高，這三個預測因子可以共同解釋 26.5% 的微核發生率。

彗尾長度的預測模式中，其迴歸係數僅菸的累積暴露達顯著性 (p=0.046)，迴歸模式之 F 值為 4.293 (p=0.046)。

所得複迴歸線性模式，其方程式如下：

$$Y = \alpha + \beta_1 X_1$$

其中，Y：彗尾長度

X₁：香菸累積根數

$$\alpha = 36.321$$

$$\beta_1 = 1.845E-6$$

(方程式檢定：F=4.293, p=0.046, Adjusted R-square = 0.084)

亦即，研究對象吸菸累積量較高者，彗尾長度較大(基因傷害程度較大)，但香菸累積暴露的解釋力只有 8.4%。

四、研究限制

1. 研究對象口腔習慣不佳，影響口腔黏膜細胞的判讀

1999 年 Fenech 等學者建議上皮組織微核試驗之單一樣本細胞計讀總數需達 1,500-2,000，才可視為有效樣本。而本研究發現：以”乾壓舌板”刮取兩頰口腔黏膜細胞，由整片玻片所觀察的平均細胞數介於 1,500- 2,000 之間；以浸泡過生理食鹽水的濕壓舌板

進行採樣，由整片玻片所觀察的平均細胞數增加許多，可達 3,000 以上，因此本研究選用浸泡過生理食鹽水的壓舌板進行口腔黏膜之採樣。但可能由於採樣技術仍不純熟，雖壓舌板已浸泡過生理食鹽水對口腔黏膜細胞的吸附能力較佳，仍有部分樣本細胞數太少而無法成爲有效樣本。另本研究選擇的採樣對象部份爲原住民，且知識水平較低，口腔衛生習慣多半不良，雖然我們在採樣前已要求要先漱口，但取得的樣本仍有許多雜質，造成判讀的困難。

2.本研究受限於人力，樣本數不夠大，影響統計效力。

3.菸酒檳榔嗜好者重疊性高，不易釐清單獨效應。

研究樣本中有很多家庭主婦並非菸酒檳榔嗜好者，加上菸酒檳榔多有重複嗜好，因此不易釐清單獨效應。

4.這是一項人體試驗，檢體無法再得，結果如不理想，只有再進行另一次的研究。

表一、研究樣本人口學特性之一 (N=40)

變項	樣本數	百分率 (%)
性別		
男	19	47.5
女	21	52.5
種族		
原住民	24	60.0
非原住民	16	40.0
教育程度		
未曾入學	4	10.0
小學	10	25.0
國初中	12	30.0
高中職	11	27.5
大學 (專)	3	7.5
研究所以上	0	0.0
婚姻		
未婚	3	7.5
已婚	34	85.0
分居、離婚、喪偶	3	7.5
家中平均收入/月		
無收入	7	17.5
三萬以下	23	57.5
三至五萬	8	20.0
五萬以上	2	5.0

表二、研究樣本人口學特性之二 (N=40)

變項	男性 (n=19)		女性 (n=21)		合計	
	Mean (SD)	Range	Mean (SD)	Range	Mean (SD)	Range
身高 (公分)	165.2 (4.6)	153-174	155.4 (6.8)	141-169	159.5 (8.0)	141-174
體重 (公斤)	71.4 (7.2)	60-88	58.1 (9.0)	47-80	64.4 (10.6)	47-88
年齡 (歲)	45.8 (15.6)	19.3-67.3	47.9 (14.0)	27.5-75.1	46.9 (14.6)	19.3-75.1

表三、研究樣本健康行為頻率表 (N=40)

變項	樣本數	百分率 (%)
喝酒習慣 (*n=39)		
目前有喝酒習慣	13	33.3
以前每星期至少有喝一次，但已經戒半年以上	3	7.7
沒有喝酒習慣	23	59.0
自己曾被診斷為酒精依賴	1	2.5
家人曾被診斷為酒精依賴	4	10.0
抽菸習慣 (n=40)		
沒抽過菸	27	67.5
只有嘗試性的抽過幾次	0	0.0
已經戒半年以上	6	15.0
目前還有抽菸習慣	7	17.5
同住宅中是否有人抽菸	15	37.5
嚼檳榔的習慣 (*n=39)		
沒嚼過檳榔	27	69.2
只有嘗試性的嚼過幾次	1	2.6
已經戒半年以上	0	0.0
目前還有嚼檳榔的習慣	11	28.2
是否服用營養補充劑 (n=40)		
無服用營養補充劑	35	87.5
綜合維他命	5	12.5
鐵劑	0	0.0
服用營養補充劑的時間 (*n=38)		
無服用營養補充劑	35	92.1
小於一年	1	2.6
一至三年	1	2.6
三到五年	0	0.0
大於五年	1	2.6
服用藥物 (*n=39)		
無服用藥物	18	46.2
服用西藥	15	38.5
服用中藥	3	7.7
服用中藥與西藥	3	7.7

*n=39, 遺漏值：1

表四、研究樣本特殊危害暴露頻率表 (N=40)

變項	樣本數	百分率 (%)
目前工作狀況		
公務員	3	7.5
教員	1	2.5
農	11	27.5
商	4	10.0
漁	1	2.5
自由業	1	2.5
工	2	5.0
無(包括：家管，失業和退休)	16	40.0
其他	1	2.5
工作中有接觸化學物質		
農藥	16	40.0
清潔劑、漂白水	13	32.5
裝潢材料	1	2.5
汽油、機油	1	2.5
	1	2.5
近半年居家或工作場所重新裝潢或購置木製家具	3	7.5
近一年有接受 X 光檢查	21	52.5

表五、研究樣本口腔黏膜細胞微核發生率(N=30)

變項	樣本數	平均值±標準差
性別		
男	13	0.97±0.98
女	17	0.66±0.91
種族		
原住民	17	1.077±1.081
非原住民	13	0.435±0.575
抽菸		
抽菸者	5	1.332±1.329
已戒菸半年以上	4	1.000±1.155
非抽菸者	21	0.633±0.790
喝酒		
經常喝酒者	10	1.100±1.150
已戒酒半年以上	3	0.720±0.255
非經常喝酒者	16	0.675±0.889
嚼檳榔		
嚼檳榔者	8	1.145±1.082
不嚼檳榔者	21	0.705±0.886
營養補充劑		
吃綜合維他命	3	0.167±0.289
不吃營養補充劑	27	0.869±0.965
X 光暴露;		
近期有 X 光照射	13	0.320±0.336
近期無 X 光照射	17	1.165±1.092

表六、研究樣本彗星分析法結果(N=40)

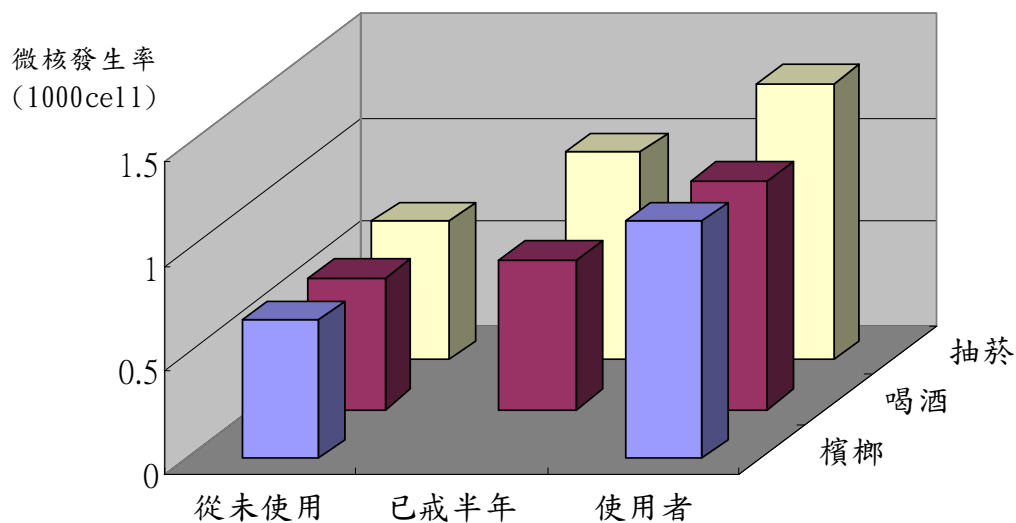
變項	樣本數	Tail length (%, mean±S.D.)	Tail intensity (%, mean±S.D.)	Tail moment (mean±S.D.)
性別				
男	19	36.42±0.89	6.28±1.62	0.38±0.08
女	21	36.61±0.15	5.98±2.1	0.36±0.08
種族				
原住民	24	36.40±1.09	6.07±0.41	0.39±0.09
非原住民	16	36.70±0.93	6.20±0.40	0.34±0.06
抽菸				
抽菸者	7	36.90±0.64	6.37±0.67	0.34±0.05
已戒菸半年以上	6	36.70±0.96	6.69±1.40	0.37±0.07
非抽菸者	27	36.38±1.11	5.93±2.11	0.37±0.09
喝酒				
經常喝酒者	13	36.06±0.67	5.75±1.63	0.36±0.02
已戒酒半年以上	3	37.40±0.47	7.21±1.24	0.38±0.11
非經常喝酒者	23	36.58±1.08	6.11±2.01	0.37±0.09
嚼檳榔				
嚼檳榔者	11	36.50±0.92	6.11±1.35	0.36±0.06
不嚼檳榔者	28	36.46±1.02	6.06±2.03	0.37±0.09
營養補充劑				
吃綜合維他命	5	36.65±1.37	5.64±2.65	0.37±0.08
不吃營養補充劑	35	36.50±0.99	6.19±1.74	0.35±0.10
X 光暴露				
近期有 X 光照射	21	36.37±1.06	5.86±1.87	0.36±0.08
近期無 X 光照射	19	36.69±0.99	6.42±1.81	0.38±0.07

表七、菸、酒、檳榔之基因毒性交互作用

基因毒性指標	暴露						
	菸+酒 +檳榔	菸+酒	酒+檳榔	檳榔+菸	酒	檳榔	菸
微核發生頻率 MN(‰)	0.188	0.000	0.127	0.188	0.000	0.126	0.000
彗星尾部動量 (Tail moment)	0.055	0.019	0.007	0.055	0.000	0.007	0.019
彗星亮度強度 (Tail intensity)	0.051	0.043	0.042	0.017	0.040	0.002	0.004
彗星尾部長度 (Tail length)	0.106	0.091	0.006	0.106	0.002	0.004	0.070

註：格內之數字表各種危害因子組合對基因毒性之解釋能力(迴歸判定係數， R^2)

圖一 抽菸、喝酒及嚼檳榔之微核發生率



肆、結論與應用

本研究結果顯示，口腔黏膜微核發生率男性高於女性，原住民高於非原住民，抽菸者高於非抽菸者，經常喝酒者高於非經常喝酒者，嚼檳榔者高於不嚼檳榔者，但各變項之差異均未達到統計上顯著水準。進一步的暴露效應相關性分析發現，口腔黏膜之微核發生率與檳榔之暴露相關性最大，可以解釋 12.6%；然而，彗星尾部動量和尾部長度則以香菸暴露解釋力最大。利用多變項線性迴歸預測模式法，控制干擾因子後所得結果也一致。此結果可以解釋，檳榔的基因傷害主要來自於對黏膜的一再摩擦刺激，而香菸的基因傷害為其中所含之有害成分被吸收後造成的傷害。四種基因毒性指標，在菸、酒、檳榔三種危害暴露同時存在時，均有最大的解釋力；不過，除彗星亮度強度外，檳榔和菸二種因子存在的解釋力等於菸、酒、檳榔三種因子的解釋力，顯然，酒的影響力在此處並未顯現。

綜合上述，我們認為，口腔黏膜細胞之微核發生頻率對於檳榔暴露者應是不錯的基因傷害指標；而香菸暴露者以彗星分析法較為敏感；檳榔與香菸的交互作用似乎存在。

伍、致謝

本研究承蒙 前署立桃園醫院蕭敦仁醫師在研究對象的提供，中山醫學大學公共衛生學系翁瑞宏助理教授在彗星分析法的指導與儀器借用，以及台北醫學大學公共衛生學系陳叡瑜副教授的全程指導，謹此致謝。此外，中山醫學大學的林聖凱哥哥、黃珮琳姊姊，台北醫學大學的何容君姊姊和洪世龍醫師，分別在收樣和實驗上指導與協助很多，也在此致上我的最大謝意。另感謝國立台灣科學教育館「二〇〇四年中學生參與科學專題研究計畫」補助本研究之部分經費。

陸、參考文獻

行政院衛生署衛生統計資訊網 <http://www.doh.gov.tw/statistic/index.htm>

任敏華：桃園大漢溪河床土壤鉍 137 污染及居民尿液中微核頻率研究，國立陽明大學公共衛生學研究所碩士論文，2000。

呂秀珠：嚼食檳榔及抽菸情形與口腔黏膜病變關係之探討，高雄醫學大學口腔衛生科學研究所碩士在職專班碩士論文，2003。

吳逸秋：檳榔萃取成份對口腔癌細胞血管內皮生長因子-D和介白素-8 的影響，國立陽明大學藥理學研究所，碩士論文，2003。

葉錦瑩：染料製造業員工職業流行病學研究，國立台灣大學公共衛生學院流行病學研究所博士論文，1997。

連玉金，口腔黏膜病變與嚼食檳榔、抽菸、喝酒之相關研究，高雄醫學大學口腔衛生科學研究所碩士在職專班碩士論文，2003。

簡暉慈：台灣地區口腔鱗狀上皮細胞癌基因體不穩定特徵，中山醫學大學毒理學研究所，碩士論文，2003。

盧志朋：醫學生甲醛暴露與口腔黏膜細胞微核發生頻率之相關性研究，台北醫學院公共衛生學研究所碩士論文，2000。

謝典華：檳榔塊成分對人類口腔粘膜纖維化及癌化之影響，高雄醫學大學牙醫學研究所博士論文，2003。

Belien JA. Copper MP. Braakhuis BJ. Snow GB. Baak JP. Standardization of counting micronuclei: definition of a protocol to measure genotoxic damage in human exfoliated cells. *Carcinogenesis*. 16(10):2395-400, 1995.

Casartelli G. Monteghirfo S. De Ferrari M. Bonatti S. Scala M. Toma S. Margarino G. Abbondandolo A. Staining of micronuclei in squamous epithelial cells of human oral mucosa. *Analytical & Quantitative Cytology & Histology*. 19(6):475-81, 1997.

Daza P. Torreblanca J. Moreno FJ. The comet assay differentiates efficiently and rapidly between genotoxins and cytotoxins in quiescent cells. *Cell Biology International*. 28:497-502, 2004.

Eisen EA. Wegman DH. Kriebel D. Woskie SR. Hu X. An epidemiologic approach to the study of acute reversible health effects in the workplace. *Epidemiology*. 2(4):263-70, 1991.

Fenech M. Holland N. Chang WP. Zeiger E. Bonassi S. The HUman MicroNucleus Project--An international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. *Mutation Research*. 428(1-2):271-83, 1999.

Hininger I. Chollat-Namy A. Sauvaigo S. Osman M. Faure H. Cadet J. Favier A. Roussel AM. Assessment of DNA damage by comet assay on frozen total blood: method and evaluation in smokers and non-smokers. *Mutation Research*. 558:75-80, 2004.

Kassie F. Parzefall W. Knasmuller S. Single cell gel electrophoresis assay: a new technique for human biomonitoring studies. *Mutation Research*. 463(1):13-31, 2000

Klaude M. Eriksson S. Nygren J. Ahnstrom G. The comet assay: mechanisms and technical considerations. *Mutation Research*. 363(2):89-96, 1996.

Jensen D. Sister Chromatid Exchange: the induction of micronuclei. New York: 47-63.

Lin SC, Chen YJ, Hsu MD, Chang CS, Liu TY, Lin CH and Chang KW* The chromosomal changes of oral squamous cell carcinoma associated with betel quid use. *Oral Oncol* 38: 266-73, 2002.

Moore LE. Titenko-Holland N. Quintana PJ. Smith MT. Novel biomarkers of genetic damage in humans: use of fluorescence in situ hybridization to detect aneuploidy and micronuclei in exfoliated cells. *Journal of Toxicology & Environmental Health*. 40(2-3):349-57, 1993.

Ostling O. Johanson KJ. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 123(1):194-191, 1984.

Pincu M. Bass D. Norman A. An improved micronuclear assay in lymphocytes. *Mutation Research*. 139:61-5, 1994

Sardas S. Walker D. Akyol D. Karakaya AE. Assessment of smoking-induced DNA damage in lymphocytes of smoking mothers of newborn infants using the alkaline single-cell gel electrophoresis technique. *Mutation Research*. 335:213-217, 1995

Sarto F. Finotto S. Giacomelli L. Mazzotti D. Tomanin R. Levis AG. The micronucleus assay in exfoliated cells of the human buccal mucosa. *Mutagenesis*. 2(1):11-7, 1987.

Shklar G. Patterns of keratinization in oral leukoplakia. *Archives of Otolaryngology*. 87 : 400-4, 1968

Singh NT, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*. 175(1):184-91, 1988..

Stich HF. San RH. Rosin MP. Adaptation of the DNA-repair and micronucleus tests to human cell suspensions and exfoliated cells *Annals of the New York Academy of Sciences*. 407:93-105, 1983.

Surralles J. Autio K. Nylund L. Jarventaus H. Norppa H. Veidebaum T. Sorsa M. Peltonen K. Molecular cytogenetic analysis of buccal cells and lymphocytes from benzene exposed workers. *Carcinogenesis*. 18: 817-823, 1997.

Titenko-Holland N. Levine AJ. Smith MT. Quintana PJ. Boeniger M. Hayes R. Suruda A. Schulte P. Quantification of epithelial cell micronuclei by fluorescence in situ hybridization (FISH) in mortuary science students exposed to formaldehyde. *Mutation Research*. 371(3-4):237-48, 1996.

Tolbert PE. Shy CM. Allen JW. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mutation Research*. 271(1):69-77, 1992.

Valverde M. López MC. López I. Sánchez I. Fortoul TI. Ostrosky-Wegman P. Rojas E. DNA damage in leukocytes and buccal and nasal epithelial cells of individuals exposed to air pollution in Mexico city. 30:147-152, 1997.

Wyllie A. *Cell Death in Biology and Pathology*. Cell death : a new classification separating apoptosis from necrosis. I.B.A.R. Lockshin. London, Chapman and Hall : 1-34, 1981

菸酒檳榔使用情形與口腔黏膜健康相關性研

同 意 書

本人同意授權衛生署署桃園醫院及中山醫學大學公共衛生學系，基於研究之需要利用本次體檢之檢體，並於需要時調閱本人之病歷，以作為綜合診療及研究之參考。

立書人_____簽名

一、個人基本資料

1. 籍貫_____ (填寫下列代碼)
①閩南 ②客家 ③外省籍 ④布農族 ⑤卑南族 ⑥泰雅族 ⑦排灣族
⑧阿美族 ⑨雅美族 ⑩賽夏族 ⑪曹(紹)族 ⑫魯凱族 ⑬其他 _____
2. 性別：1. 男 2. 女
3. 出生日期：民國_____年_____月_____日
4. 身高：_____ cm 體重：_____ kg
5. 幾位兄弟姊妹？兄_____位、姊_____位、弟_____位、妹_____位
6. 電話：() _____，行動電話：_____
7. 住址：桃園縣復興鄉_____村_____鄰(路) _____號
8. 所受的最高教育程度為：
0. 未曾入學 1. 小學 2. 國初中 3. 高中職
4. 大專、大學 5. 研究所(含)以上
9. 您的婚姻狀況為：
1. 未婚 2. 已婚 3. 已婚分居 4. 離婚 5. 喪偶
10. 您整個家庭每個月的總收入：
0. 無收入 1. 三萬元以下 2. 三-五萬元 3. 五-七萬元
4. 七-十萬元 5. 十萬元以上
11. 請問您過去是否曾經被醫師診斷出疾病？
0. 否
1. 是 (請問是什麼疾病，可複選)
1. 脂肪肝 2. 肝功能異常 3. 急性肝炎 4. 肝硬化 5. 肝癌
6. 高血壓 7. 痛風 8. 糖尿病 9. 心臟病 10. 膽結石或膽道結石
11. 食道癌 12. 口腔纖維化 13. 口腔癌 14. 胃潰瘍 15. 胃癌
16. B型肝炎 17. C型肝炎 18. 其他(請說明) _____
12. 請問您過去是否曾經被醫師診斷為酒精依賴？
0. 否 1. 是
13. 請問您的家人中是否有人曾經被醫師診斷為酒精依賴？
0. 否 1. 是，請問是誰(可複選)：

1. 父 2. 母 3. 兄弟姊妹
4. 祖父母 5. 外祖父母 6. 其他(請說明)_____

二、生活型態

17. 飲食習慣

	不吃或 每週小 於一份	每週 1~3 份	每週 4~6 份	每天 1 份	每天 2 份 或以上
您吃腦、肝、腸、腎... 等動物內臟嗎? (一份約 1/2 手掌大)	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4
您吃豬、牛、羊... 等紅肉嗎? (一份約 1/2 手掌大)	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4
您吃魚、雞、鴨、鵝... 等白肉嗎? (一份約 1/2 手掌大)	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4
您吃香腸、熱狗嗎?(一份一支)	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4

18. 服用健康食品的習慣

- ① 是否有服用營養補充劑? 0. 否 1. 綜合維他命(如善存) 2. 鐵劑 3. 其他: _____
 ② 服用多久時間了? 0. 無 1. 小於 1 年 2. 1~3 年 3. 3~5 年 4. 大於 5 年

19. 捐血習慣

- ① 您曾經捐過血嗎? 0. 沒有(請跳答問題 20) 1. 有(請續答)
 ② 您第一次捐血時是____歲, 您總共捐了____次血
 ④ 平均多久捐一次血? 1. 一年 1 次或更少 2. 一年 2~3 次 3. 一年 4~6 次
 ⑤ 最近一次捐血是多久以前? 1. 一個月內 2. 1~6 個月內 3. 半年以上

【 請問您 】

20. 是否有喝酒的習慣:

- ①、是, 一星期喝幾次? _____次,

(1) 最常喝什麼酒(第一種酒)?(請勾選)

1. 啤酒 2. 保力達 B、三洋威士忌 3. 葡萄酒、玫瑰紅.
4. 紹興、花雕、紅露、烏梅 5. 米酒 6. 五加皮、竹葉青
7. 高粱、茅台 8. 大麴 9. 白蘭地、威士忌、蘭姆
10. 其他: _____(請註明)

一次喝幾瓶? _____瓶, 或酒杯幾杯? _____杯, 喝了幾年? _____年

(那一種瓶子_____), (那一種杯子_____) 《請填代碼》

(1)小酒杯 30c. c (2)汽水杯 150c. c (3)啤酒鋁罐 350c. c (4)台灣啤酒玻璃罐 600c. c

(2) 其次常喝什麼酒(第二種酒)? _____(請依據上述選項填寫)

一次喝幾瓶? _____瓶, 或酒杯幾杯? _____杯, 喝幾年了? _____年

- ②、以前每週至少喝一次, 一星期喝_____次, 但已戒酒半年以上了

以前大部份喝什麼酒？_____（請依據上題選項填寫）

一次喝幾瓶？_____瓶，或酒杯幾杯？_____杯，喝幾年了？_____年

③、沒有

21. 您的酒量如何？

①. 很差(即使僅僅一杯啤酒或葡萄酒,也會讓你不舒服)

②. 尚可(喝一兩杯啤酒或葡萄酒,不會讓你不舒服)

③. 不錯(喝個幾瓶啤酒或葡萄酒尚可應付,不會醉)

④. 很好(酒國英雄,幾乎不曾有過醉的經驗)

22. 請問您有抽菸的習慣嗎？(每週至少抽一次者,才算是有抽菸的習慣)

0. 從沒抽過菸 (請跳答問題 26)

1. 只有嘗試性的抽過幾次(請跳答問題 26)

2. 已經戒半年以上了 (接下來的問題,請依過去的狀況回答)

3. 目前有抽菸的習慣 (接下來的問題,請依目前的狀況回答)

【 請問您 】

23. 幾歲開始抽菸？ _____ 歲

24. 平均一天抽多少菸？ _____ 支或 _____ 包

25. 若您目前已經戒菸,請問您大約幾歲完全戒菸？ _____ 歲

(目前未戒菸者,此項目不需填答)

26. 請問與您同處於相同住宅的家人是否有人抽菸？

0. 否 (請跳答問題 28) 1. 是 (請續答)

27. 如果家人有抽菸,請問是誰、平均一天抽幾支菸、已經抽了幾年、與您同住在一起幾年？

他/她是我的 _____, 平均一天抽 _____ 支菸, 抽了 _____ 年, 與我同住 _____ 年

他/她是我的 _____, 平均一天抽 _____ 支菸, 抽了 _____ 年, 與我同住 _____ 年

他/她是我的 _____, 平均一天抽 _____ 支菸, 抽了 _____ 年, 與我同住 _____ 年

28. 請問您有嚼檳榔的習慣嗎？(每週至少嚼一次者,才算是有嚼檳榔的習慣)

0. 從來沒嚼過檳榔(請跳答問題 35)

1. 只有嘗試性的嚼過幾次(請跳答問題 35)

2. 已經戒半年以上了 (接下來的問題,請依過去的狀況回答)

3. 目前有嚼檳榔的習慣(接下來的問題,請依目前的狀況回答)

【 請問您 】

29. 幾歲開始嚼檳榔？ _____ 歲

30. 最常嚼哪一種檳榔？

1. 檳榔子 + 白石灰 + 荖葉 (俗稱包葉仔、荖葉檳榔塊)

2. 檳榔子 + 紅灰 + 荖花 (俗稱荖仔、荖花檳榔塊)

3. 檳榔子 + 硬荖藤

4. 檳榔子、無其他配料

5. 其他(請說明) _____

31. 一星期中約有多少天嚼檳榔？ _____ 天

32. 嚼檳榔的那天,一整天下來,約嚼多少顆？ _____ 顆

33. 如何處理嚼食檳榔時產生的檳榔汁？

0. 全吐掉 1. 第一口吐掉,之後全吞下 2. 全吞下 3. 有時吐掉有時吞下

34. 幾歲停止嚼檳榔？ _____ 歲
(目前仍在嚼檳榔者，此項目不需填答)

三、個人工作史

35. 目前工作狀況

1. 就學中 2. 公務員 3. 教員 4. 農 5. 商 6. 漁 7. 牧 8. 軍 9. 自由業
10. 工 11. 家管 12. 已退休 13. 無失業 14. 其他(請說明) _____

36. 工作中，是否會接觸到有機溶劑：

0. 否 1. 是，(請說明) _____， _____

37. 您目前是否有在吃藥？

1. 沒有
2. 有 我在吃中藥 治療 _____， 藥名 _____。
我在吃西藥 治療 _____， 藥名 _____。

四、生活環境

1. 請問這半年您居家或工作場所有無重新裝潢或購置木製傢俱？

- ① 無 ② 有， _____ 年 _____ 月

2. 請問您曾居住(或工作)於輻射污染建築物嗎？

- ① 無 ② 有

3. 請問您一年，有接受 X 光檢查嗎？請註明照射部位

- ① 無

- ② 有

第一次時間 _____ 年 _____ 月 (頭頸部，含口腔部位 其他 _____)

第二次時間 _____ 年 _____ 月 (頭頸部，含口腔部位 其他 _____)

第三次時間 _____ 年 _____ 月 (頭頸部，含口腔部位 其他 _____)

五、牙科檢查

口 腔

- 無異常 蛀牙 口腔衛生不良 牙結石
牙周病 咬合不正
其他 _____