

行政院國家科學委員會專題研究計畫 期末報告

第十一型基質金屬蛋白酵素在口腔癌致癌過程的表現及其 機制探討

計畫類別：個別型
計畫編號：NSC 101-2314-B-040-019-
執行期間：101年10月01日至102年07月31日
執行單位：中山醫學大學口腔科學研究所

計畫主持人：林巧雯
共同主持人：陳穆寬、楊順發
計畫參與人員：博士班研究生-兼任助理人員：蘇俊文

報告附件：出席國際會議研究心得報告及發表論文

公開資訊：本計畫涉及專利或其他智慧財產權，1年後可公開查詢

中華民國 102年10月28日

中文摘要：癌症為台灣地區十大死亡原因之冠，在台灣，口腔癌在十大癌症死因中排名第五名，特別在男性中口腔癌死亡率更是排名第四位，由此可見口腔癌在台灣地區造成的高死亡率，近年來更有逐年上升的趨勢。在過去的研究中發現，基質金屬蛋白酶 11(Matrix metalloproteinase 11; MMP-11) 可以增加腫瘤所引起的血管新生，或是藉由調控細胞的增殖、轉移、侵襲、凋亡，對腫瘤的生長與癌症的發展有密切的相關。經由臨床檢體的證明，在各個器官的原發性腫瘤中，MMP-11 大量表現的患者在治療後會有較差存活率及預後。所以，本研究中我們選取了 595 位口腔癌患者以及 561 位健康對照組，蒐集年齡、性別、嚼食檳榔、飲酒以及抽菸情形的資料後，萃取其血液中的 DNA 檢體利用即時定量聚合酶連鎖反應(Real-time PCR)進行對於 MMP-11 基因 rs738791、rs2267029、rs738792 以及 rs28382575 的基因多型性進行分析，同時更進一步納入口腔癌病人其臨床血清指標以及癌症分期，嘗試分析以上基因其多型性與口腔癌發展之相關性。結果發現，在臨床參數的分析中，MMP-11 基因 rs738792 的基因多型性攜帶 CC/CT 基因型相較於 TT 基因型的患者對腫瘤在淋巴結轉移可能存在較高的危險。然而，MMP-11 基因多型性如何影響口腔癌患者淋巴結轉移的機制仍尚未明瞭，需要更多對於基因多型性的研究同時結合對機制的探討來進一步釐清 MMP-11 基因多型性在口腔癌中所扮演的角色。相信若能釐清這兩者之間的相關及其中詳細的機制，對於口腔癌的防治以及治療上必定有很大的幫助。

中文關鍵詞：基質金屬蛋白水解酶 11，口腔癌

英文摘要：Oral squamous cell carcinoma (OSCC), a common malignant cancer, is the 4th common cancer in males and the 5th leading cause of cancer death in Taiwan. According to the official statistics, the death rate caused by OSCC has been increased in recent years. In previous studies, matrix metalloproteinase 11 (MMP-11) has been shown to increase the angiogenesis and regulate cancer cells proliferation, metastasis, invasion, and apoptosis. In addition to those studies, some clinical information indentified the high MMP-11 expression level in original tumors cause poor survival rate and prognosis. In this study, we recruited 595 OSCC patients as the cased group and 561 non-cancer individuals as the control group and collected the information about age, sex, betel-quid

chewing, alcohol consumption and tobacco use. To analysis allelic discrimination of the rs738791, rs2267029, rs738792 and rs22382575 polymorphisms of the MMP-11 gene, we used DNA samples from both groups and analyzed by real-time polymerase chain reaction. As the results, we found that the rs738792 polymorphism of MMP-11 gene in OSCC patients might increase the risk of lymph node metastasis. However, the reliable mechanism regulates the lymph node metastasis of OSCC by MMP-11 gene polymorphisms still unclear. To understand the relationship between MMP-11 polymorphisms and metastasis of OSCC and the underlying mechanism may provide a helpful prevention and medical therapy for OSCC.

英文關鍵詞： MMP-11 , oral cancer

Association between polymorphisms of matrix metalloproteinase 11 and oral cancer.

Chiao-Wen Lin

Institute of Oral Sciences, Chung Shan Medical University, Taichung, Taiwan

Institute of Oral Sciences, Chung Shan Medical University, 110, Section 1,
Chien-Kuo N. Road, Taichung, Taiwan, ROC

Tel: +886-4-24730022#55503;

Fax +886-4-24723229;

E-mail: cwlin@csmu.edu.tw

中文摘要

癌症為台灣地區十大死亡原因之冠，在台灣，口腔癌在十大癌症死因中排名第五名，特別在男性中口腔癌死亡率更是排名第四位，由此可見口腔癌在台灣地區造成的高死亡率，近年來更有逐年上升的趨勢。在過去的研究中發現，基質金屬蛋白酶 11(Matrix metalloproteinase 11；MMP-11) 可以增加腫瘤所引起的血管新生，或是藉由調控細胞的增殖、轉移、侵襲、凋亡，對腫瘤的生長與癌症的發展有密切的相關。經由臨床檢體的證明，在各個器官的原發性腫瘤中，MMP-11 大量表現的患者在治療後會有較差存活率及預後。所以，本研究中我們選取了 595 位口腔癌患者以及 561 位健康對照組，蒐集年齡、性別、嚼食檳榔、飲酒以及抽菸情形的資料後，萃取其血液中的 DNA 檢體利用即時定量聚合酶連鎖反應(Real-time PCR)進行對於 MMP-11 基因 rs738791、rs2267029、rs738792 以及 rs28382575 的基因多型性進行分析，同時更進一步納入口腔癌病人其臨床血清指標以及癌症分期，嘗試分析以上基因其多型性與口腔癌發展之相關性。結果發現，在臨床參數的分析中，MMP-11 基因 rs738792 的基因多型性攜帶 CC/CT 基因型相較於 TT 基因型的患者對腫瘤在淋巴結轉移可能存在較高的危險。然而，MMP-11 基因多型性如何影響口腔癌患者淋巴結轉移的機制仍尚未明瞭，需要更多對於基因多型性的研究同時結合對機制的探討來進一步釐清 MMP-11 基因多型性在口腔癌中所扮演的角色。相信若能釐清這兩者之間的相關及其中詳細的機制，對於口腔癌的防治以及治療上必定有很大的幫助。

Introduction

基質金屬蛋白酶 11 (Matrix metalloproteinase 11; MMP-11)，最早是在 1990 年由人類乳癌細胞的切片所建立起的 cDNA 基因庫中所發現的，而 MMP-11 是位於在 22 號染色體 q11.23 的位置上，同時也被稱為基質溶解酵素 3 (Stromelysin 3) [1]。MMP-11 作為基質金屬蛋白酶家族的成員之一，同樣的，可以降解細胞外基質，也可以增加由腫瘤所引起的血管生成，或是調控細胞的遷移、增殖、凋亡以及結締組織的退化 [2,3]。然而，MMP-11 不同於基質金屬蛋白酶家族中的其餘成員，它有兩個特點，第一，它是直接以活化態的形式被分泌出來[4]；第二，大部分 MMPs 家族成員可以水解 laminin、fibronectin 與 elastin，但 MMP-11 卻是催化例如 serine proteinase inhibitor、 α 1-antitrypsin 和 insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1)的降解[5]，甚至造成 adipocytes 的去分化[6]。此外，MMP-11 並非由腫瘤細胞直接分泌出來的，而是經由腫瘤細胞旁的基質細胞，包含了類纖維母細胞以及脂肪細胞等所合成的。因此，在原發性腫瘤中，MMP-11 會表現在腫瘤細胞以及基質細胞的交界處[5,7]。而目前的研究指出，MMP-11 會出現在人類癌症的致癌過程中，其中包含了子宮頸癌、乳癌[8-10]、胃癌[11]、甲狀腺癌[12]、前列腺癌[13]、腦癌[14]以及非小細胞肺癌[15]等癌症中，且經由臨床相關統計資料的證明，位於各個器官的原發性腫瘤中，MMP-11 表現量增加時會有較差的預後[16]，以此表示 MMP-11 與腫瘤細胞的形成有密切關係。

有文獻指出，MMP-11 高度表現在人類腫瘤細胞周圍的纖維母細胞旁[17]，以分泌的方式促進腫瘤細胞的生成[12]。當 MMP-11 在腫瘤細胞周圍的纖維母細胞表現時，會導致腫瘤細胞的擴散且增加癌細胞轉移的能力[18]。也有許多文獻指出，在癌細胞的侵襲以及病變的過程中，MMP-11 的表現量會增加，並且表現在不同型態的腫瘤其侵襲及轉移的模式中[19-22]。另外有文獻證實利用免疫組織染色顯示在乳癌病人 MMP-11 蛋白表現與細胞增生有關，並且與病人的存活率有相關性[6]。也有文獻發現，MMP-11 表現量的上升會影響乳癌細胞的侵襲與轉移[10]。MMP-11 除了與乳癌的病程較為密切相關外，近年來也發現與其他癌症

有關。例如乳突性甲狀腺癌(Papillary thyroid carcinoma)[12]與星形細胞瘤[14]。在非小細胞肺癌的晚期病人中發現到 MMP-11 表現量較高[15]。也有文獻指出，利用組織微陣(Tissue array)偵測前列腺癌病人檢體，並比對病人詳細病史，可以發現當 MMP-11 表現量較高時，病人有較高的復發率[13]。同時有文獻證實，胃癌病人血清中的 MMP-11 蛋白表現量也較正常對照組來的高[11]。因此，MMP-11 確實在不同癌症之間扮演著重要的角色。在口腔癌部分，2000 年美國學者觀察 20 個頭頸癌病人周圍的組織，比較了 MMP-3、-7、-10、-11、-14，以及 TIMP-1、-2、-3、-4 的基因表現，發現 MMP-11 確實有表現在腫瘤組織，但並未探討其相關的分子機制與臨床意義[23]。

MMP-11 已在多種人類癌症的致癌過程中所發現，並且在各個器官的原發性腫瘤中，當 MMP-11 的表現量增加時，會有較差的預後。

目前的研究也發現在乳癌、胃癌、甲狀腺癌、肺癌等癌症中 MMP-11 的表現量會增加。但到目前為止，對於 MMP-11 與口腔癌之間的相關性並不是非常明瞭。因此，本篇研究藉由比較口腔癌患者以及健康對照者之間 MMP-11 基因不同位置的基因多型性，並參考其臨床數據，希望釐清 MMP-11 其基因多型性與口腔癌之間的關係。

Materials and methods

1. 研究族群及檢體來源 (Study population and samples collection)

本實驗的檢體來源為台中中山醫學大學附設醫院與彰化基督教醫院耳鼻喉科門診診斷為口腔鱗狀細胞癌(oral squamous cell carcinoma；OSCC)的病人。一共收集了 595 位口腔鱗狀細胞癌患者的檢體，其中含有 573 位男性患者與 22 位女性患者。健康對照組檢體來源為台中中山醫學大學附設醫院家庭醫學科所提供，共 561 人，包含了 457 位男性與 104 位女性，本實驗經中山醫學大學附設醫院人體試驗委員會審核通過(IRB No. CS12137)，並經受試者同意之後，分別採取其血液檢體。

2. 血液檢體之 DNA 萃取 (DNA extraction from blood sample)

萃取血液檢體中的 DNA 做為聚合酶連鎖反應的模板。取全血或全血之中間層 buffy coat 進行血液 DNA 萃取。參照 QIAGEN 之 QIAamp DNA Blood Kit 的 protocol：先預熱 heating blocker 至 56°C。取 20 µL QIAGEN Protease (Protease K) 至 1.5 mL 離心管，加入 200 µL 之血液檢體於離心管中，混合均勻 (若檢體量不足 200 µL 則以 PBS 補足)，再加 200 µL Buffer AL 於檢體中，震盪 15 秒，使其均質化，並確保有充分的溶解。加熱 56°C，10 分鐘後，短暫離心以去除蓋內殘餘。加入 200 µL ethanol (96-100%) 於檢體中，再次混合震盪 15 秒後，短暫離心以去除蓋內殘餘。取 QIAamp spin column 至 2 mL collection tube 中，再將全部混合液放入 column 中，蓋上蓋子，離心 8000 rpm，1 分鐘，將 QIAamp spin column 移到新的 2 mL collection tube 中，丟掉含有濾液的 tube。小心打開 QIAamp spin column，加入 500 µL Buffer AW1，蓋上蓋子，離心 8000 rpm，1 分鐘 (若取 buffy coat 則離心 14000 rpm，1 分鐘)，將 QIAamp spin column 移到新的 2 mL collection tube 中，丟掉含有濾液的 tube。小心打開 QIAamp spin column，加 500 µL Buffer AW2，蓋上蓋子，離心 14000 rpm，3 分鐘。倒掉濾液，將 QIAamp spin column 裝回 2 mL collection tube 中，再次離心 14000 rpm，1 分鐘，確保 AW2 沒有殘留。將 QIAamp spin column 移到 1.5 mL 離心管，丟掉含有濾液的 tube，小心打開並加入 200 µL Buffer AE，室溫下作用 1 分鐘，離心 8000 rpm，1 分鐘，丟掉 QIAamp spin column，剩下之混合液即為 DNA 萃取液。DNA 萃取液置於 -20°C 或 -80°C 冰箱保存，可保存一年以上。

3. 即時定量聚合酶連鎖反應 (Real-time PCR)

在 MMP-11 基因 rs738791、rs2267029、rs738792 以及 rs28382575 的基因多型性分析，使用的是即時定量聚合酶連鎖反應 (Real-time PCR)。

MMP-11 基因 rs2267029 基因多形性的引子為 5'-GGCCTGAAA GCTCCCTTCTAGCTGC[A/G]ACTTCTGTTTTACCATTAAAGCCT-3'。其中括

號內 A 對偶基因接上一個 VIC 的綠色螢光探針，G 對偶基因則是接上一個 FAM 的藍色螢光；同型 TT 基因型的個體會表現出較強的綠色螢光訊號，同型 CC 基因型的個體會表現出較強的藍色螢光訊號，異形 TC 基因型則會表現出相似強度的螢光訊號。

MMP-11 基因 rs738792 基因多形性的引子為 5'-TCATGTCATC CTCCTGCCTAGGACG[C/T]CCACCACCTCCATGCCGAGAGGAGG-3'。其中括號內 C 對偶基因接上一個 VIC 的綠色螢光探針，T 對偶基因則是接上一個 FAM 的藍色螢光；同型 GG 基因型的個體會表現出較強的綠色螢光訊號，同型 AA 基因型的個體會表現出較強的藍色螢光訊號，異形 AG 基因型則會表現出相似強度的螢光訊號。

MMP--11 基因 rs28382575 基因多形性的引子為 5'-AAGGCTTC CCCCCTCTCGTGGGTCC[C/T]GACTTCTTTGGCTGTGCCGAGCCTG-3'。其中括號內 C 對偶基因接上一個 VIC 的綠色螢光探針，T 對偶基因則是接上一個 FAM 的藍色螢光；同型 GG 基因型的個體會表現出較強的綠色螢光訊號，同型 AA 基因型的個體會表現出較強的藍色螢光訊號，異形 AG 基因型則會表現出相似強度的螢光訊號。

4. 統計分析

將口腔癌患者與健康對照組進行年齡、性別、嚼食檳榔、飲酒以及抽菸做配對，利用 Student's T test、Chi-square (χ^2 -test)以及 Fisher's exact test 做檢定；當 P 值 < 0.05 時，在統計學上具有顯著的差異。再分別將口腔癌患者與健康對照組其 MMP-11 基因 rs738791、rs2267029、rs738792 以及 rs28382575 的基因多型性，以及在口腔癌患者部分特別將癌症期數、腫瘤大小、淋巴結轉移、遠處轉移以及腫瘤分化情形等生化指標，利用邏輯斯回歸(logistic regression models)計算出其對比值(odds ratios[OR])以及 95%信賴區間(95% confidence intervals[CI])；再利用多項式邏輯斯回歸(multiple logistic regression models)，在控制了年齡、性別、嚼食檳榔、飲酒以及抽菸之後，計算出其危險對比值(adjusted odds ratios[AOR])以

及 95%信賴區間。OR 值是在推估兩者變數的相對危險性，並且調整掉分佈上有差異的變數，所得到調整過後的 OR 值就是 AOR 值。

Results

1. 健康對照者與口腔癌患者之臨床特質相關性分析

此次研究中包含了 561 名健康對照者以及 595 名口腔癌患者。年齡、性別、是否抽菸、喝酒與嚼食檳榔的資料如 Table 1.

2. MMP-11 基因型在健康對照者與口腔癌患者的相關性分析

分別從健康對照者和口腔癌患者的血液檢體中萃取出 DNA，檢測 MMP-11 的基因型在 561 位的健康對照者及 595 位口腔癌患者的分佈頻率，利用 real-time PCR 的方式分別檢視了四個不同的 MMP-11 的位置，rs738791、rs2267029、rs738792 以及 rs28382575。

2-1. MMP-11 rs738791 基因型在健康對照者與口腔癌患者的相關性分析

rs738791 是位於內含子(Intron)，分為 C/C、C/T 及 T/T 三種基因型，分析不同的基因型在健康對照者和口腔癌患者的分佈情形及相關性，結果顯示在健康對照者中 C/C (wild type) 有 241 人占有對照者的 43.0%，口腔癌患者有 239 人占有所有口腔癌患者的 40.2%；C/T (heterozygote) 在健康對照者中有 273 人占有健康對照者 48.7%，口腔癌患者有 295 人占有所有口腔癌患者的 49.6%，與 wild type 的 C/C 做比較，其 OR 值是 1.090 倍 (0.854-1.390)，其 AOR 值是 1.131 倍 (0.798-1.604)，在統計學上並沒有顯著差異；T/T (variant type)在健康對照者中有 47 人占有所有健康對照者 8.3%，口腔癌患者有 61 人占有所有口腔癌患者的 10.2%，與 wild type 的 C/C 做比較，其 OR 值是 1.309 倍 (0.860-1.993)，其 AOR 值是 1.438 倍 (0.781-2.647)，在統計學上並沒有顯著差異；C/T + T/T 在健康對照者中有 320 人占有所有健康對照者 57.0%，口腔癌患者有 356 人占有所有口腔癌患者的 59.8%，與 wild type 的 C/C 做比較，其 OR 值是 1.122 倍 (0.888-1.418)，其 AOR 值是 1.175 倍 (0.840-1.644)，在統計學上並沒有顯著差異 (Table 2)。

2-2. MMP-11 rs2267029 基因型在健康對照者與口腔癌患者的相關性分析

rs2267029 是位於內含子(Intron)，分為 G/G、G/A 及 A/A 三種基因型，分析不同的基因型在健康對照者和口腔癌患者的分佈情形及相關性，結果顯示在健康對照者中 G/G (wild type) 有 316 人占有所有對照者的 56.3%，口腔癌患者有 343 人占有所有口腔癌患者的 57.6%；G/A (heterozygote) 在健康對照者中有 207 人占有所有健康對照者 36.9%，口腔癌患者有 208 人占有所有口腔癌患者的 35.0%，與 wild type 的 G/G 做比較，其 OR 值是 0.926 倍 (0.724-1.184，其 AOR 值是 0.775 倍 (0.542-1.106)，在統計學上並沒有顯著差異；A/A (variant type)在健康對照者中有 38 人占有所有健康對照者 6.8%，口腔癌患者有 44 人占有所有口腔癌患者的 7.4%，與 wild type 的 G/G 做比較，其 OR 值是 1.067 倍 (0.673-1.690)，其 AOR 值是 0.967 倍 (0.497-1.882)，在統計學上並沒有顯著差異；G/A + A/A 在健康對照者中有 245 人占有所有健康對照者 43.7%，口腔癌患者有 252 人占有所有口腔癌患者的 42.4%，與 wild type 的 G/G 做比較，其 OR 值是 0.948 倍 (0.751-1.196)，其 AOR 值是 0.804 倍 (0.574-1.126)，在統計學上並沒有顯著差異(Table 2)。

2-3. MMP-11 rs738792 基因型在健康對照者與口腔癌患者的相關性分析

rs738792 是位於 MMP-11 第二個外顯子 (Exon 2)上，並且有胺基酸的置換，其胺基酸的置換會從 A[Ala]置換為 V[Val]，rs738792 分為 T/T、T/C 及 C/C 三種基因型，分析不同的基因型在健康對照者和口腔癌患者的分佈情形及相關性，結果顯示在健康對照者中 T/T (wild type) 有 303 人占有所有對照者的 54.0%，口腔癌患者有 317 人占有所有口腔癌患者的 53.3%；T/C (heterozygote) 在健康對照者中有 214 人占有所有健康對照者 38.2%，口腔癌患者有 230 人占有所有口腔癌患者的 38.7%，與 wild type 的 T/T 做比較，其 OR 值是 1.027 倍 (0.805-1.311)，其 AOR 值是 0.939 倍 (0.662-1.332)，在統計學上並沒有顯著差異；C/C (variant type)在健康對照者中有 44 人占有所有健康對照者 7.8%，而口腔癌患者有 48 人占有所有口腔癌患者的 8.0%，與 wild type 的 T/T 做比較，其 OR 值是 1.043 倍 (0.673-1.616)，其 AOR 值是 0.867 倍 (0.460-1.633)，在統計學上並沒有顯著差異；T/C + C/C 在健康對

照者中有 258 人占有所有健康對照者 46.0%，口腔癌患者有 278 人占有所有口腔癌患者的 46.7%，與 wild type 的 T/T 做比較，其 OR 值是 1.030 倍 (0.817-1.298)，其 AOR 值是 0.926 倍 (0.665-1.290)，在統計學上並沒有顯著差異(Table 2)。

2-4. MMP-11 rs28383575 基因型在健康對照者與口腔癌患者的相關性分析

rs28382575 是位於 MMP-11 第八個外顯子 (Exon 8) 上，並沒有胺基酸的置換，分為 T/T、T/C 及 C/C 三種基因型，分析不同的基因型在健康對照者和口腔癌患者的分佈情形及相關性，結果顯示在健康對照者中 T/T (wild type) 有 544 人占有所有對照者的 97.0%，口腔癌患者有 567 人占有所有口腔癌患者的 95.3%；T/C (heterozygote) 在健康對照者中有 17 人占有所有健康對照者 3.0%，口腔癌患者有 27 人占有所有口腔癌患者的 4.5%，與 wild type 的 T/T 做比較，其 OR 值是 1.524 倍 (0.821-2.827)，其 AOR 值是 1.259 倍 (0.516-3.071)，在統計學上並沒有顯著差異；而在 C/C (variant type) 中健康對照者為 0 人，而口腔癌患者也只有 1 人占有所有口腔癌患者的 0.2%，與 wild type 的 T/T 做比較，因為其中參數有 0 的出現，無法計算其 OR 值以及 AOR 值，所以無法計算；T/C + C/C 在健康對照者中有 17 人占有所有健康對照者 3.0%，口腔癌患者有 28 人占有所有口腔癌患者的 4.7%，與 wild type 的 T/T 做比較，其 OR 值是 1.580 倍 (0.855-2.920)，其 AOR 值是 1.285 倍 (0.530-3.113)，在統計學上並沒有顯著差異(Table 2)。

3. MMP-11 基因型與口腔癌患者的臨床病理參數相關性分析

在 595 位口腔癌患者中依照不同 MMP-11 的基因型，與腫瘤的臨床期數、腫瘤大小、淋巴結是否轉移、腫瘤是否進行遠處轉移以及細胞分化的情形做相關性分析。

3-1. MMP-11 rs738791 基因型對於口腔癌患者的臨床參數相關性分析

在 595 名口腔癌患者中，於 MMP-11 rs738791 這個基因的位置上，其中帶有 C/C 基因型的患者有 239 名，帶有 C/T 與 T/T 基因型的患者有 356 名。接著，在腫瘤的臨床分期上，第 I 期及第 II 期口腔癌患者裡，C/C 基因型的患者有 106 名，在帶有 C/C 基因型的人數中占 44.4%，而 C/T 與 T/T 基因型的患者有 155

名，在帶有 C/T 與 T/T 基因型的人數占 43.5%；第 III 期及第 IV 期口腔癌患者裡，C/C 基因型的患者有 133 名，在帶有 C/C 基因型的人數中占 55.6%，而 C/T 與 T/T 基因型的患者有 201 名，在帶有 C/T 與 T/T 基因型的人數占 56.5%。帶有 C/T 與 T/T 之病人相較於 C/C 患者由第 I/II 期進展到第 III/IV 期，其 OR 值是 1.034 倍(0.743-1.438)， $p=0.845$ ；其 AOR 值是 1.116 倍(0.770-1.618)， $p=0.561$ ，在統計學上並沒有顯著的差異。

接著，依照惡性腫瘤的 TNM 分期去比對 MMP-11 基因型。所謂 TNM 指的是癌症的分期標準，主要在描述一個人其癌症的程度。T 指的是腫瘤的大小以及是否侵襲周邊組織，N 指的是腫瘤附近淋巴結的轉移，M 指的是癌細胞進行遠處轉移。比對 MMP-11 rs738791 的基因型，在腫瘤大小的部分， $\leq T2$ 的人數在 C/C 基因型有 152 人，占 C/C 基因型人數的 63.6%，帶有 C/T 與 T/T 基因型有 211 人，占 C/T 與 T/T 基因型人數的 59.3%； $>T2$ 的人數在 C/C 基因型有 87 人，占 C/C 基因型人數的 36.4%，在 C/T 與 T/T 基因型有 145 人，占 C/T 與 T/T 基因型人數的 40.7%。帶有 C/T 與 T/T 之病人相較於 C/C 患者由 $\leq T2$ 進展到 $>T2$ ，其 OR 值是 1.201 倍(0.856-1.683)， $p=0.289$ ；其 AOR 值是 1.392 倍(0.947-2.046)， $p=0.092$ ，在統計學上並沒有顯著的差異。接著在淋巴結是否轉移的部分，淋巴結沒有轉移的人數在 C/C 基因型有 146 人，占 C/C 基因型人數的 61.1%，帶有 C/T 與 T/T 基因型有 233 人，占 C/T+T/T 基因型人數的 65.4%；淋巴結有轉移的人數在 C/C 基因型有 93 人，占 C/C 基因型人數的 38.9%，在 C/T 與 T/T 基因型有 123 人，占 C/T 與 T/T 基因型人數的 34.6%。帶有 C/T 與 T/T 之病人相較於 C/C 患者淋巴結由未轉移到轉移，其 OR 值是 0.829 倍(0.590-1.164)， $p=0.278$ ；其 AOR 值是 0.937 倍(0.641-1.368)， $p=0.734$ ，在統計學上並沒有顯著的差異。遠端轉移的部分，沒有遠端轉移的人數在 C/C 基因型有 235 人，占 C/C 基因型人數的 98.3%，帶有 C/T 與 T/T 基因型有 352 人，占 C/T 與 T/T 基因型人數的 98.9%；有遠端轉移的人數在 C/C 基因型有 4 人，占 C/C 基因型人數的 1.7%，帶有 C/T 與 T/T 基因型有 4 人，占 C/T 與 T/T 基因型人數的 1.1%。帶有 C/T 與

T/T 之病人相較於 C/C 患者由非遠端轉移至遠端轉移，其 OR 值是 0.668 倍 (0.165-2.696)， $p=0.568$ ；其 AOR 值是 0.761 倍(0.135-4.284)， $p=0.757$ ，在統計學上並沒有顯著的差異。

最後比較細胞分化的情形，細胞分化較好的人數在 C/C 基因型有 38 人，占 C/C 基因型人數的 15.9%，帶有 C/T 與 T/T 基因型有 42 人，占 C/T 與 T/T 基因型人數的 11.8%；在細胞分化中度或是較差的人數在 C/C 基因型有 201 人，占 C/C 基因型人數的 84.1%，帶有 C/T 與 T/T 基因型有 314 人，占 C/T 與 T/T 基因型人數的 88.2%。帶有 C/T 與 T/T 之病人相較於 C/C 患者由細胞分化佳變成分化差，其 OR 值是 1.413 倍(0.881-2.269)， $p=0.150$ ；其 AOR 值是 1.492 倍(0.888-2.506)， $p=0.130$ ，在統計學上並沒有顯著的差異。(Table 3)

3-2. MMP-11 rs2267029 基因型對於口腔癌患者的臨床參數相關性分析

在 MMP-11 rs2267029 這個基因的位置，其中帶有 G/G 基因型的患者有 343 名，含有 G/A 與 A/A 基因型的患者有 252 名。在腫瘤的臨床分期上，第 I 期及第 II 期口腔癌患者裡，G/G 基因型的患者有 153 名，在帶有 G/G 基因型的人數中占 44.6%，G/A 與 A/A 基因型的患者有 108 名，在帶有 G/A 與 A/A 基因型的人數占 42.9%；第 III 期及第 IV 期口腔癌患者裡，G/G 基因型的患者有 190 名，在帶有 G/G 基因型的人數中占 55.4%，而 G/A 與 A/A 基因型的患者有 144 名，在帶有 G/A 與 A/A 基因型的人數占 57.1%。帶有 G/A 與 A/A 之病人相較於 G/G 患者由第 I/II 期進展到第 III/IV 期，其 OR 值是 1.074 倍(0.773-1.490)， $p=0.671$ ；其 AOR 值是 1.043 倍(0.722-1.508)， $p=0.822$ ，在統計學上並沒有顯著的差異。

接著，依照惡性腫瘤的 TNM 分期去比對 MMP-11 rs2267029 的基因型，在腫瘤大小的部分， $\leq T2$ 的人數在 G/G 基因型有 205 人，占 G/G 基因型人數的 59.8%，帶有 G/A 與 A/A 基因型有 158 人，占 G/A 與 A/A 基因型人數的 62.7%；而 $>T2$ 的人數在 G/G 基因型有 138 人，占 G/G 基因型人數的 40.2%，帶有 G/A 與 A/A 基因型有 94 人，占 G/A 與 A/A 基因型人數的 37.3%。帶有 G/A 與 A/A 之病人相較於 G/G 患者由 $\leq T2$ 進展到 $>T2$ ，其 OR 值是 0.884 倍(0.633-1.235)， $p=0.469$ ；

其 AOR 值是 0.772 倍(0.529-1.125), $p=0.178$, 在統計學上並沒有顯著的差異。在淋巴結是否轉移的部分, 淋巴結沒有轉移的人數在 G/G 基因型有 227 人, 占 G/G 基因型人數的 66.2%, 帶有 G/A 與 A/A 基因型有 152 人, 占 G/A 與 A/A 基因型人數的 60.3%; 而淋巴結有轉移的人數在 G/G 基因型有 116 人, 占 G/G 基因型人數的 33.8%, 帶有 G/A 與 A/A 基因型有 100 人, 占 G/A 與 A/A 基因型人數的 39.7%。帶有 G/A 與 A/A 之病人相較於 G/G 患者淋巴結由未轉移到轉移, 其 OR 值是 1.287 倍(0.919-1.804), $p=0.142$; 其 AOR 值是 1.332 倍(0.914-1.942), $p=0.136$, 在統計學上並沒有顯著的差異。遠端轉移的部分, 沒有遠端轉移的人數在 G/G 基因型有 337 人, 占 G/G 基因型人數的 98.3%, 帶有 G/A 與 A/A 基因型有 250 人, 占 G/A 與 A/A 基因型人數的 99.2%; 有遠端轉移的人數在 G/G 基因型有 6 人, 占 G/G 基因型人數的 1.7%, 帶有 G/A 與 A/A 基因型有 2 人, 占 G/A 與 A/A 基因型人數的 0.8%。帶有 G/A 與 A/A 之病人相較於 G/G 患者由非遠端轉移至遠端轉移, 其 OR 值是 0.449 倍(0.090-2.245), $p=0.317$; 其 AOR 值是 0.323 倍(0.053-1.983), $p=0.222$, 在統計學上並沒有顯著的差異。

最後比較細胞分化的情形, 細胞分化較好的人數在 G/G 基因型有 46 人, 占 G/G 基因型人數的 13.4%, 帶有 G/A 與 A/A 基因型有 34 人, 占 G/A 與 A/A 基因型人數的 13.5%; 而細胞分化中度或是較差的人數在 G/G 基因型有 297 人, 占 G/G 基因型人數的 86.6%, 帶有 G/A 與 A/A 基因型有 218 人, 占 G/A 與 A/A 基因型人數的 86.5%。帶有 G/A 與 A/A 之病人相較於 G/G 患者由細胞分化佳變成分化差, 其 OR 值是 0.993 倍(0.617-1.599), $p=0.977$; 其 AOR 值是 1.021 倍(0.608-1.175), $p=0.936$, 在統計學上並沒有顯著的差異。(Table 4)

3-3. MMP-11 rs738792 基因型對於口腔癌患者的臨床參數相關性分析

接著比對 MMP-11 rs738792 這個基因的位置, 其中帶有 T/T 基因型的患者有 317 名, 帶有 T/C 與 C/C 基因型的患者有 278 名。在腫瘤的臨床分期上, 第 I 期及第 II 期口腔癌患者裡, T/T 基因型的患者有 140 名, 在帶有 T/T 基因型的人數中占 44.2%, T/C 與 C/C 基因型的患者有 121 名, 在帶有 T/C 與 C/C 基因型的

人數占 43.5%；在第 III 期及第 IV 期口腔癌患者裡，T/T 基因型的患者有 177 名，在帶有 T/T 基因型的人數中占 55.8%，而 T/C 與 C/C 基因型的患者有 157 名，在帶有 T/C 與 C/C 基因型的人數占 56.5%。帶有 T/C 與 C/C 之病人相較於 T/T 患者由第 I/II 期進展到第 III/IV 期，其 OR 值是 1.026 倍(0.742-1.420)， $p=0.875$ ；其 AOR 值是 1.049 倍(0.730-1.509)， $p=0.795$ ，在統計學上並沒有顯著的差異。

依照惡性腫瘤的 TNM 分期去比對 MMP-11 rs738792 的基因型，在腫瘤大小的部分， $\leq T2$ 的人數在 T/T 基因型有 183 人，占 T/T 基因型人數的 57.7%，帶有 T/C 與 C/C 基因型有 180 人，占 T/C 與 C/C 基因型人數的 64.7%； $>T2$ 的人數在 T/T 基因型有 134 人，占 T/T 基因型人數的 42.3%，帶有 T/C 與 C/C 基因型有 98 人，占 T/C 與 C/C 基因型人數的 35.3%。帶有 T/C 與 C/C 之病人相較於 T/T 患者由 $\leq T2$ 進展到 $>T2$ ，其 OR 值是 0.744 倍(0.533-1.036)， $p=0.080$ ；其 AOR 值是 0.757 倍(0.552-1.022)， $p=0.082$ ，在統計學上並沒有顯著的差異。淋巴結是否轉移的部分，淋巴結沒有轉移的人數在 T/T 基因型有 216 人，占 T/T 基因型人數的 68.1%，帶有 T/C 與 C/C 基因型有 163 人，占 T/C 與 C/C 基因型人數的 58.6%；而淋巴結有轉移的人數在 T/T 基因型有 101 人，占 T/T 基因型人數的 31.9%，帶有 T/C 與 C/C 基因型有 115 人，占 T/C 與 C/C 基因型人數的 41.4%。帶有 T/C 與 C/C 之病人相較於 T/T 患者淋巴結由未轉移到轉移，其 OR 值是 1.509 倍(1.078-2.111)， $p=0.016$ ；其 AOR 值是 1.624 倍(1.115-2.364)， $p=0.011$ ，在統計學上具有顯著的差異。遠端轉移的部分，沒有遠端轉移的人數在 T/T 基因型有 312 人，占 T/T 基因型人數的 98.4%，帶有 T/C 與 C/C 基因型有 275 人，占 T/C 與 C/C 基因型人數的 98.9%；而有遠端轉移的人數在 T/T 基因型有 5 人，占 T/T 基因型人數的 1.6%，帶有 T/C 與 C/C 基因型有 3 人，占 T/C 與 C/C 基因型人數的 1.1%。帶有 T/C 與 C/C 之病人相較於 T/T 患者由非遠端轉移至遠端轉移，其 OR 值是 0.681 倍(0.161-2.875)， $p=0.599$ ；其 AOR 值是 0.547 倍(0.106-2.835)， $p=0.473$ ，在統計學上並沒有顯著的差異。

最後比較細胞分化的情形，細胞分化較好的人數在 T/T 基因型有 38 人，占

T/T 基因型人數的 12.0%，帶有 T/C 與 C/C 基因型有 42 人，占 T/C 與 C/C 基因型人數的 15.1%；而細胞分化中度或是較差的人數在 T/T 基因型有 279 人，占 T/T 基因型人數的 88.0%，在 T/C 與 C/C 基因型有 236 人，占 T/C 與 C/C 基因型人數的 84.9%。帶有 T/C 與 C/C 之病人相較於 T/T 患者由細胞分化佳變成分化差，其 OR 值是 0.765 倍(0.477-1.227)， $p=0.266$ ；其 AOR 值是 0.745 倍(0.445-1.246)， $p=0.262$ ，在統計學上並沒有顯著的差異。(Table 5)

3-4. MMP-11 rs28382575 基因型對於口腔癌患者的臨床參數相關性分析

最後比對 MMP-11 rs28382575 這個基因的位置，其中帶有 T/T 基因型的患者有 567 名，帶有 T/C 與 C/C 基因型的患者有 28 名。在腫瘤的臨床分期上，第 I 期及第 II 期口腔癌患者裡，T/T 基因型的患者有 247 名，在帶有 T/T 基因型的人數中占 43.6%，T/C 與 C/C 基因型的患者有 14 名，在帶有 T/C 與 C/C 基因型的人數占 50.0%；第 III 期及第 IV 期口腔癌患者裡，T/T 基因型的患者有 320 名，在含有 T/T 基因型的人數中占 56.4%，而 T/C 與 C/C 基因型的患者有 14 名，在帶有 T/C 與 C/C 基因型的人數占 50.0%。帶有 T/C 與 C/C 之病人相較於 T/T 患者由第 I/II 期進展到第 III/IV 期，其 OR 值是 0.772 倍(0.361-1.649)， $p=0.503$ ；其 AOR 值是 0.671 倍(0.274-1.646)， $p=0.384$ ，在統計學上並沒有顯著的差異。

依照惡性腫瘤的 TNM 分期去比對 MMP-11 rs28382575 的基因型，在腫瘤大小的部分， $\leq T2$ 的人數在 T/T 基因型有 342 人，占 T/T 基因型人數的 60.3%，帶有 T/C 與 C/C 基因型有 21 人，占 T/C 與 C/C 基因型人數的 75.0%；而 $>T2$ 的人數在 T/T 基因型有 225 人，占 T/T 基因型人數的 39.7%，帶有 T/C 與 C/C 基因型有 7 人，占 T/C 與 C/C 基因型人數的 25.0%。帶有 T/C 與 C/C 之病人相較於 T/T 患者由 $\leq T2$ 進展到 $>T2$ ，其 OR 值是 0.507 倍(0.212-1.212)， $p=0.120$ ；其 AOR 值是 0.698 倍(0.252-1.1662)， $p=0.086$ ，在統計學上並沒有顯著的差異。淋巴結是否轉移的部分，淋巴結沒有轉移的人數在 T/T 基因型有 362 人，占 T/T 基因型人數的 63.8%，帶有 T/C 與 C/C 基因型有 17 人，占 T/C 與 C/C 基因型人數的 60.7%；而淋巴結有轉移的人數在 T/T 基因型有 205 人，占 T/T 基因型人數的 36.2%，帶

有 T/C 與 C/C 基因型有 11 人，占 T/C 與 C/C 基因型人數的 39.3%。帶有 T/C 與 C/C 之病人相較於 T/T 患者淋巴結由未轉移到轉移，其 OR 值是 1.143 倍(0.525-2.486)， $p=0.737$ ；其 AOR 值是 1.161 倍(0.486-2.776)， $p=0.736$ ，在統計學上並沒有顯著的差異。遠端轉移的部分，沒有遠端轉移的人數在 T/T 基因型有 560 人，占 T/T 基因型人數的 98.8%，在 T/C 與 C/C 基因型有 27 人，占 T/C 與 C/C 基因型人數的 96.4%；有遠端轉移的人數在 T/T 基因型有 7 人，占 T/T 基因型人數的 1.2%，帶有 T/C 與 C/C 基因型有 1 人，占 T/C 與 C/C 基因型人數的 3.6%。帶有 T/C 與 C/C 之病人相較於 T/T 患者由非遠端轉移至遠端轉移，其 OR 值是 2.963 倍(0.352-24.947)， $p=0.295$ ；而其 AOR 值是 12.612 倍(0.867-183.467)， $p=0.064$ ，在統計學上並沒有顯著的差異。

最後比較細胞分化的情形，細胞分化較好的人數在 T/T 基因型有 74 人，占 T/T 基因型人數的 13.1%，帶有 T/C 與 C/C 基因型有 6 人，占 T/C 與 C/C 基因型人數的 21.4%；而細胞分化中度或是較差的人數在 T/T 基因型有 493 人，占 T/T 基因型人數的 86.9%，帶有 T/C 與 C/C 基因型有 22 人，占 T/C 與 C/C 基因型人數的 78.6%。帶有 T/C 與 C/C 之病人相較於 T/T 患者由細胞分化佳變成分化差，其 OR 值是 0.550 倍(0.216-1.402)， $p=0.205$ ；其 AOR 值是 0.461 倍(0.157-1.355)， $p=0.159$ ，在統計學上並沒有顯著的差異。(Table 6)

Discussion

口腔癌是指發生於口腔內惡性腫瘤的總稱，90% 屬於鱗狀上皮細胞癌，好發於舌部。口腔鱗狀上皮細胞癌一般預後較差，而藉由多種蛋白水解酶，像是 MMPs 的作用和血管的新生，其容易造成局部的浸潤和進行遠端轉移[24]，而早期研究已利用免疫組織化學染色發現，在腫瘤的侵襲及轉移的過程中，腫瘤細胞會大量表現 MMPs [25]，除了先前研究指出 MMP-2 及 MMP-9 在腫瘤的侵襲及轉移的過程中扮演著重要的角色[26]，近期研究也發現到在腫瘤轉移及侵襲的過程中有 MMP-11 的參與[18]。MMP-11 最大的不同在於它的結構類

似 stromelysins，所以又被稱為 stromelysin-3，不同於 MMPs 家族的其他成員，MMP-11 是以活化狀態被分泌出來的[4]，且表現在腫瘤細胞以及周圍的基質細胞之間，所以 MMP-11 的發現在 MMPs 的家族中被視為新的一群存在。

MMP-11 已被發現與許多人類癌症有關，有文獻指出降低 MMP-11 的表現可以抑制胃癌的增殖及侵襲[27]；也有研究發現增加 MMP-11 基因的表現會增加頭頸部的鱗狀細胞癌的侵襲能力[28]；在 2003 年這篇文獻中，利用 RT-PCR 去檢測喉癌患者的癌細胞與正常細胞，可以發現在癌細胞的部分其 MMP-11 的表現量比較高，在蛋白的表現部分，在第 III/IV 期口腔癌患者與第 I/II 期口腔癌患者以及淋巴結有轉移的患者和淋巴結未轉移的患者做比較，其 MMP-11 相對高出許多[29]。由此可以看出在癌症患者其 MMP-11 的表現量比正常人的表現量高出許多。因此，本篇研究主要探討在口腔癌病患以及正常對照組中其 MMP-11 不同的基因位置的基因多型性，以及其罹患口腔癌的易感性是否有差異。

在本篇研究的結果中，探討了口腔癌患者比對健康對照組在年齡、性別、嚼食檳榔、飲酒以及抽菸，之間是否有差異；接著比對口腔癌患者與健康對照組之間與 MMP-11 不同位置的基因型是否有差異，在比對了四個不同基因位置，分別是 rs738791、rs2267029、rs738792 以及 rs28382575，結果其 OR 值並沒有顯著的差異，在排除了其他干擾因子，包含了年齡、性別、嚼食檳榔、飲酒以及抽菸，其 AOR 值也並沒有顯著的差異。再分別探討這四個不同基因位置的基因型與癌症的臨床分期、腫瘤大小、淋巴結是否轉移、是否有遠端轉移以及細胞分化之間做比較，經過統計之後，其 OR 值以及 AOR 值在統計學上都沒有顯著的差異；然而 rs738792 這個基因型在癌細胞是否有遠端轉移在統計學上有顯著的差異，意指帶有 T/C 與 C/C 基因型的患者相較於帶有 T/T 基因型的患者，淋巴結由未轉移到轉移，其 OR 值是 1.509 倍(1.078-2.111)， $p=0.016$ ；而其 AOR 值是 1.624 倍(1.115-2.364)， $p=0.011$ ，在統計學上具有顯著的差異。另外在 Table 6. 中 rs28382575 的基因多型性與癌症遠端轉移的相關性，TC+CC 基因型的患者在有

遠端轉移的人數太少，可能是導致 AOR 值較大以及 95 信賴區間的範圍太大的原因。

本研究發現在台灣族群中 MMP-11 rs738792 的基因多型性與口腔癌患者是淋巴結的轉移有顯著相關。然而，MMP-11 其基因多型性如何影響口腔癌患者淋巴結的轉移其機制目前仍不清楚，在未來若能釐清 MMP-11 不同位置的基因多型性與口腔癌的分子機制，對於口腔癌的防治與治療上必有很大的助益。

References

1. Basset P, Bellocq JP, Wolf C, Stoll I, Hutin P, et al. (1990) A novel metalloproteinase gene specifically expressed in stromal cells of breast carcinomas. *Nature* 348: 699-704.
2. Vazquez-Ortiz G, Pina-Sanchez P, Vazquez K, Duenas A, Taja L, et al. (2005) Overexpression of cathepsin F, matrix metalloproteinases 11 and 12 in cervical cancer. *BMC Cancer* 5: 68.
3. Bartolome RA, Ferreiro S, Miquilena-Colina ME, Martinez-Prats L, Soto-Montenegro ML, et al. (2009) The chemokine receptor CXCR4 and the metalloproteinase MT1-MMP are mutually required during melanoma metastasis to lungs. *Am J Pathol* 174: 602-612.
4. Pei D, Weiss SJ (1995) Furin-dependent intracellular activation of the human stromelysin-3 zymogen. *Nature* 375: 244-247.
5. Andarawewa KL, Motrescu ER, Chenard MP, Gansmuller A, Stoll I, et al. (2005) Stromelysin-3 is a potent negative regulator of adipogenesis participating to cancer cell-adipocyte interaction/crosstalk at the tumor invasive front. *Cancer Res* 65: 10862-10871.
6. Pei D, Majmudar G, Weiss SJ (1994) Hydrolytic inactivation of a breast carcinoma cell-derived serpin by human stromelysin-3. *J Biol Chem* 269: 25849-25855.

7. Motrescu ER, Rio MC (2008) Cancer cells, adipocytes and matrix metalloproteinase 11: a vicious tumor progression cycle. *Biol Chem* 389: 1037-1041.
8. Mellick AS, Blackmore D, Weinstein SR, Griffiths LR (2003) An assessment of MMP and TIMP gene expression in cell lines and stroma - tumour differences in microdissected breast cancer biopsies. *Tumour Biol* 24: 258-270.
9. Takeuchi T, Adachi Y, Nagayama T, Furihata M (2011) Matrix metalloproteinase-11 overexpressed in lobular carcinoma cells of the breast promotes anoikis resistance. *Virchows Arch* 459: 291-297.
10. Kwon YJ, Hurst DR, Steg AD, Yuan K, Vaidya KS, et al. (2011) Gli1 enhances migration and invasion via up-regulation of MMP-11 and promotes metastasis in ERalpha negative breast cancer cell lines. *Clin Exp Metastasis* 28: 437-449.
11. Yan D, Dai H, Liu JW (2011) Serum levels of MMP-11 correlate with clinical outcome in Chinese patients with advanced gastric adenocarcinoma. *BMC Cancer* 11: 151.
12. Wasenius VM, Hemmer S, Kettunen E, Knuutila S, Franssila K, et al. (2003) Hepatocyte growth factor receptor, matrix metalloproteinase-11, tissue inhibitor of metalloproteinase-1, and fibronectin are up-regulated in papillary thyroid carcinoma: a cDNA and tissue microarray study. *Clin Cancer Res* 9: 68-75.
13. Escaff S, Fernandez JM, Gonzalez LO, Suarez A, Gonzalez-Reyes S, et al. (2010) Study of matrix metalloproteinases and their inhibitors in prostate cancer. *Br J Cancer* 102: 922-929.
14. Thorns V, Walter GF, Thorns C (2003) Expression of MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-10 and MMP-11 in human astrocytic and oligodendroglial gliomas. *Anticancer Res* 23: 3937-3944.

15. Kren L, Goncharuk VN, Krenova Z, Stratil D, Hermanova M, et al. (2006)
Expression of matrix metalloproteinases 3, 10 and 11 (stromelysins 1, 2 and 3) and matrix metalloproteinase 7 (matrilysin) by cancer cells in non-small cell lung neoplasms. *Clinicopathologic studies. Cesk Patol* 42: 16-19.
16. Basset P, Bellocq JP, Lefebvre O, Noel A, Chenard MP, et al. (1997)
Stromelysin-3: a paradigm for stroma-derived factors implicated in carcinoma progression. *Crit Rev Oncol Hematol* 26: 43-53.
17. Okada A, Saez S, Misumi Y, Basset P (1997) Rat stromelysin 3: cDNA cloning from healing skin wound, activation by furin and expression in rat tissues. *Gene* 185: 187-193.
18. Selvey S, Haupt LM, Thompson EW, Matthaei KI, Irving MG, et al. (2004)
Stimulation of MMP-11 (stromelysin-3) expression in mouse fibroblasts by cytokines, collagen and co-culture with human breast cancer cell lines. *BMC Cancer* 4: 40.
19. Delebecq TJ, Porte H, Zerimech F, Copin MC, Gouyer V, et al. (2000)
Overexpression level of stromelysin 3 is related to the lymph node involvement in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 6: 1086-1092.
20. Mueller J, Brebeck B, Schmalfeldt B, Kuhn W, Graeff H, et al. (2000)
Stromelysin-3 expression in invasive ovarian carcinomas and tumours of low malignant potential. *Virchows Arch* 437: 618-624.
21. Munck-Wikland E, Heselmeyer K, Lindholm J, Kuylenstierna R, Auer G, et al. (1998) Stromelysin-3 mRNA expression in dysplasias and invasive epithelial cancer of the larynx. *Int J Oncol* 12: 859-864.
22. Stojic J, Hagemann C, Haas S, Herbold C, Kuhnel S, et al. (2008) Expression of matrix metalloproteinases MMP-1, MMP-11 and MMP-19 is correlated with the WHO-grading of human malignant gliomas. *Neurosci Res* 60: 40-49.

23. Birkedal-Hansen B, Pavelic ZP, Gluckman JL, Stambrook P, Li YQ, et al. (2000) MMP and TIMP gene expression in head and neck squamous cell carcinomas and adjacent tissues. *Oral Dis* 6: 376-382.
24. Myoung H, Hong SP, Yun PY, Lee JH, Kim MJ (2003) Anti-cancer effect of genistein in oral squamous cell carcinoma with respect to angiogenesis and in vitro invasion. *Cancer Sci* 94: 215-220.
25. Shuman Moss LA, Jensen-Taubman S, Stetler-Stevenson WG (2012) Matrix metalloproteinases: changing roles in tumor progression and metastasis. *Am J Pathol* 181: 1895-1899.
26. Sun Y, Dong LJ (2003) [Role of matrix metalloproteinases in the pathogenesis and therapy of leukemia]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi* 11: 316-320.
27. Kou YB, Zhang SY, Zhao BL, Ding R, Liu H, et al. (2013) Knockdown of MMP11 inhibits proliferation and invasion of gastric cancer cells. *Int J Immunopathol Pharmacol* 26: 361-370.
28. Muller D, Wolf C, Abecassis J, Millon R, Engelmann A, et al. (1993) Increased stromelysin 3 gene expression is associated with increased local invasiveness in head and neck squamous cell carcinomas. *Cancer Res* 53: 165-169.
29. Duan S, Guo Y (2008) [Expression and clinical significance of stromelysin-3 in laryngeal cancer]. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi* 22: 104-107.
30. Ban JY, Kim SK, Kang SW, Yoon KL, Chung JH (2010) Association between polymorphisms of matrix metalloproteinase 11 (MMP-11) and Kawasaki disease in the Korean population. *Life Sci* 86: 756-759.

Table 1. The distributions of demographical characteristics in 561 controls and 595 patients with oral cancer.

Variable	Controls (N=561)	Patients (N=595)	p value
Age (yrs)	Mean ± S.D. 51.81 ± 14.71	Mean ± S.D. 54.36 ± 11.31	<i>p</i> =0.001*
Gender	n (%)	n (%)	
Male	457 (81.5%)	573 (96.3%)	
Female	104 (18.5%)	22 (3.7%)	<i>p</i> <0.0001*
Betel nut chewing			
No	468 (83.4%)	139 (23.4%)	
Yes	93 (16.6%)	456 (76.6%)	<i>p</i> <0.0001*
Alcohol consumption			
No	347 (61.9%)	243 (40.8%)	
Yes	214 (38.1%)	352 (59.2%)	<i>p</i> <0.0001*
Tobacco consumption			
No	341 (60.8%)	88 (14.8%)	
Yes	220 (39.2%)	507 (85.2%)	<i>p</i> <0.0001*

Student's T test, χ^2 -test and Fisher's exact test was used between healthy controls and patients with oral cancer. *, *p* value < 0.05 as statistically significant.

Table 2. Distribution frequency of *MMP-11* genotypes in 561 healthy controls and 595 oral cancer patients.

Variable	Controls (N=561) n (%)	Patients (N=595) n (%)	OR (95% CI)	AOR (95% CI)
rs738791				
CC	241 (43.0%)	239 (40.2%)	1.00	1.00
CT	273 (48.7%)	295 (49.6%)	1.090 (0.854-1.390)	1.131 (0.798-1.604)
TT	47 (8.3%)	61 (10.2%)	1.309 (0.860-1.993)	1.438 (0.781-2.647)
CT+TT	320 (57.0%)	356 (59.8%)	1.122 (0.888-1.418)	1.175 (0.840-1.644)
rs2267029				
GG	316 (56.3%)	343 (57.6%)	1.00	1.00
GA	207 (36.9%)	208 (35.0%)	0.926 (0.724-1.184)	0.775 (0.542-1.106)
AA	38 (6.8%)	44 (7.4%)	1.067 (0.673-1.690)	0.967 (0.497-1.882)
GA+AA	245 (43.7%)	252 (42.4%)	0.948 (0.751-1.196)	0.804 (0.574-1.126)
rs738792				
TT	303 (54.0%)	317 (53.3%)	1.00	1.00
TC	214 (38.2%)	230 (38.7%)	1.027 (0.805-1.311)	0.939 (0.662-1.332)
CC	44 (7.8%)	48 (8.0%)	1.043 (0.673-1.616)	0.867 (0.460-1.633)
TC+CC	258 (46.0%)	278 (46.7%)	1.030 (0.817-1.298)	0.926 (0.665-1.290)
rs28382575				
TT	544 (97.0%)	567 (95.3%)	1.00	1.00
TC	17 (3.0%)	27 (4.5%)	1.524 (0.821-2.827)	1.259 (0.516-3.071)
CC	0 (0%)	1 (0.2%)	---	---
TC+CC	17 (3.0%)	28 (4.7%)	1.580 (0.855-2.920)	1.285 (0.530-3.113)

The odds ratios (ORs) and with their 95% confidence intervals (CIs) were estimated by logistic regression models. The adjusted odds ratios (AORs) with their 95% confidence intervals (CIs) were estimated by multiple logistic regression models after controlling for age, gender, betel nut chewing, tobacco and alcohol consumption.

Table 3. Distribution frequency of clinical status and *MMP-11* rs738791 genotype frequencies in 595 patients with oral cancers

Variable	genotypic frequencies			
	CC (N=239) n (%)	CT+ TT (N=356) n (%)	OR (95% CI)	AOR (95% CI)
Clinical Stage				
Stage I/II	106 (44.4%)	155 (43.5%)	1.00	1.00
Stage III/IV	133 (55.6%)	201 (56.5%)	1.034 (0.743-1.438)	1.116 (0.770-1.618)
			<i>p</i> = 0.845	<i>p</i> = 0.561
Tumor size				
≤ T2	152 (63.6%)	211 (59.3%)	1.00	1.00
> T2	87 (36.4%)	145 (40.7%)	1.201 (0.856-1.683)	1.392 (0.947-2.046)
			<i>p</i> = 0.289	<i>p</i> = 0.092
Lymph node metastasis				
No	146 (61.1%)	233 (65.4%)	1.00	1.00
Yes	93 (38.9%)	123 (34.6%)	0.829 (0.590-1.164)	0.937 (0.641-1.368)
			<i>p</i> = 0.278	<i>p</i> = 0.734
Distant metastasis				
No	235 (98.3%)	352 (98.9%)	1.00	1.00
Yes	4 (1.7%)	4 (1.1%)	0.668 (0.165-2.696)	0.761 (0.135-4.284)
			<i>p</i> = 0.568	<i>p</i> = 0.757
Cell differentiation				
Well	38 (15.9%)	42 (11.8%)	1.00	1.00
Moderately or poorly	201 (84.1%)	314 (88.2%)	1.413 (0.881-2.269)	1.492 (0.888-2.506)
			<i>p</i> = 0.150	<i>p</i> = 0.130

The ORs with 95% CIs were estimated by logistic regression models.

The AORs with 95% CIs were estimated by multiple logistic regression models after controlling for age, gender, betel quid chewing, alcohol consumption, and tobacco use.

> T2: tumor size > 2 cm in the greatest dimension.

Table 4. Distribution frequency of clinical status and *MMP-11* rs2267029 genotype frequencies in 595 patients with oral cancers

Variable	genotypic frequencies			
	GG (N=343) n (%)	GA+ AA (N=252) n (%)	OR (95% CI)	AOR (95% CI)
Clinical Stage				
Stage I/II	153 (44.6%)	108 (42.9%)	1.00	1.00
Stage III/IV	190 (55.4%)	144 (57.1%)	1.074 (0.773-1.490)	1.043 (0.722-1.508)
			<i>p</i> = 0.671	<i>p</i> = 0.822
Tumor size				
≤ T2	205 (59.8%)	158 (62.7%)	1.00	1.00
> T2	138 (40.2%)	94 (37.3%)	0.884 (0.633-1.235)	0.772 (0.529-1.125)
			<i>p</i> = 0.469	<i>p</i> = 0.178
Lymph node metastasis				
No	227 (66.2%)	152 (60.3%)	1.00	1.00
Yes	116 (33.8%)	100 (39.7%)	1.287 (0.919-1.804)	1.332 (0.914-1.942)
			<i>p</i> = 0.142	<i>p</i> = 0.136
Distant metastasis				
No	337 (98.3%)	250 (99.2%)	1.00	1.00
Yes	6 (1.7%)	2 (0.8%)	0.449 (0.090-2.245)	0.323 (0.053-1.983)
			<i>p</i> = 0.317	<i>p</i> = 0.222
Cell differentiation				
Well	46 (13.4%)	34 (13.5%)	1.00	1.00
Moderately or poorly	297 (86.6%)	218 (86.5%)	0.993 (0.617-1.599)	1.021 (0.608-1.715)
			<i>p</i> = 0.977	<i>p</i> = 0.936

The ORs with 95% CIs were estimated by logistic regression models.

The AORs with 95% CIs were estimated by multiple logistic regression models after controlling for age, gender, betel quid chewing, alcohol consumption, and tobacco use.

> T2: tumor size > 2 cm in the greatest dimension.

Table 5. Distribution frequency of clinical status and *MMP-11* rs738792 genotype frequencies in 595 patients with oral cancers

Variable	genotypic frequencies			
	TT (N=317) n (%)	TC+ CC (N=278) n (%)	OR (95% CI)	AOR (95% CI)
Clinical Stage				
Stage I/II	140 (44.2%)	121 (43.5%)	1.00	1.00
Stage III/IV	177 (55.8%)	157 (56.5%)	1.026 (0.742-1.420)	1.049 (0.730-1.509)
			<i>p</i> = 0.875	<i>p</i> = 0.795
Tumor size				
≤ T2	183 (57.7%)	180 (64.7%)	1.00	1.00
> T2	134 (42.3%)	98 (35.3%)	0.744 (0.533-1.036)	0.757 (0.552-1.022)
			<i>p</i> = 0.080	<i>p</i> = 0.082
Lymph node metastasis				
No	216 (68.1%)	163 (58.6%)	1.00	1.00
Yes	101 (31.9%)	115 (41.4%)	1.509 (1.078-2.111)	1.624 (1.115-2.364)
			<i>p</i> = 0.016*	<i>p</i> = 0.011*
Distant metastasis				
No	312 (98.4%)	275 (98.9%)	1.00	1.00
Yes	5 (1.6%)	3 (1.1%)	0.681 (0.161-2.875)	0.547 (0.106-2.835)
			<i>p</i> = 0.599	<i>p</i> = 0.473
Cell differentiation				
Well	38 (12.0%)	42 (15.1%)	1.00	1.00
Moderately or poorly	279 (88.0%)	236 (84.9%)	0.765 (0.477-1.227)	0.745 (0.445-1.246)
			<i>p</i> = 0.266	<i>p</i> = 0.262

The ORs with 95% CIs were estimated by logistic regression models.

The AORs with 95% CIs were estimated by multiple logistic regression models after controlling for age, gender, betel quid chewing, alcohol consumption, and tobacco use.

> T2: tumor size > 2 cm in the greatest dimension.

* *p*-value < 0.05 as statistically significant.

Table 6. Distribution frequency of clinical status and *MMP-11* rs28382575 genotype frequencies in 595 patients with oral cancers

Variable	genotypic frequencies			
	TT (N=567) n (%)	TC+ CC (N=28) n (%)	OR (95% CI)	AOR (95% CI)
Clinical Stage				
Stage I/II	247 (43.6%)	14 (50.0%)	1.00	1.00
Stage III/IV	320 (56.4%)	14 (50.0%)	0.772 (0.361-1.649)	0.671 (0.274-1.646)
			<i>p</i> = 0.503	<i>p</i> = 0.384
Tumor size				
≤ T2	342 (60.3%)	21 (75.0%)	1.00	1.00
> T2	225 (39.7%)	7 (25.0%)	0.507 (0.212-1.212)	0.698 (0.252-1.166)
			<i>p</i> = 0.120	<i>p</i> = 0.086
Lymph node metastasis				
No	362 (63.8%)	17 (60.7%)	1.00	1.00
Yes	205 (36.2%)	11 (39.3%)	1.143 (0.525-2.486)	1.161 (0.486-2.776)
			<i>p</i> = 0.737	<i>p</i> = 0.736
Distant metastasis				
No	560 (98.8%)	27 (96.4%)	1.00	1.00
Yes	7 (1.2%)	1 (3.6%)	2.963 (0.352-24.947)	12.612 (0.867-183.467)
			<i>p</i> = 0.295	<i>p</i> = 0.064
Cell differentiation				
Well	74 (13.1%)	6 (21.4%)	1.00	1.00
Moderately or poorly	493 (86.9%)	22 (78.6%)	0.550 (0.216-1.402)	0.461 (0.157-1.355)
			<i>p</i> = 0.205	<i>p</i> = 0.159

The ORs with 95% CIs were estimated by logistic regression models.

The AORs with 95% CIs were estimated by multiple logistic regression models after controlling for age, gender, betel quid chewing, alcohol consumption, and tobacco use.

> T2: tumor size > 2 cm in the greatest dimension.

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

102年10月28日

報告人姓名	林巧雯	服務機構 及職稱	中山醫學大學口腔科學研究所 助理教授
會議時間 會議地點	2013/03/20-2013/03/23 美國-西雅圖	本會核定 補助文號	
會議 名稱	(中文) 第九十一屆世界牙醫學會會議 (英文) 91th General Session and Exhibition of the International Association for Dental Research		
發表論文 題目	(中文) Kaemferol 藉由調控 MMP-2 的表現抑制口腔癌細胞的轉移機制 (英文) Kaempferol Abrogates Oral Cancer Cell Invasion by Modulating MMP-2		

報告內容應包括下列各項：

一、參加會議經過

於3月20日抵達美國-西雅圖後即前往會議地點(Washington State Convention Center) 報到及領取大會議程及摘要手冊，將準備好的論文海報於3月21日張貼於指定位置。並於會議尚未開始的時間參觀會場內其他相關發表。

二、與會心得

此次的會議舉辦地點在西雅圖的國際會議中心，在市中心且交通方便，因此參與會議者眾多。在會場也遇到許多熟識的國內學者與外國學者。而除了在會場中觀摩展示海報發表的研究內容外，也參與多場口頭報告發表，聆聽國外學者對口腔癌發表的最新研究。藉由參與國際大型會議，可認識國際上頂尖的研究學者，了解大師級的思維，對平日教學與研究頗有助益。

三、建議

國內也應增加舉辦如此大型會議、增加補助出國額度、或盡量補助教師與學生出國開會或短期研究之經費，讓我們有機會與國際經驗豐富學識淵博的學者交流。

四、攜回資料名稱及內容

會議議程手冊

國科會補助計畫衍生研發成果推廣資料表

日期:2013/10/28

國科會補助計畫	計畫名稱: 第十一型基質金屬蛋白酶在口腔癌致癌過程的表現及其機制探討
	計畫主持人: 林巧雯
	計畫編號: 101-2314-B-040-019- 學門領域: 牙醫學
無研發成果推廣資料	

101 年度專題研究計畫研究成果彙整表

計畫主持人：林巧雯		計畫編號：101-2314-B-040-019-					
計畫名稱：第十一型基質金屬蛋白酶在口腔癌致癌過程的表現及其機制探討							
成果項目		量化			單位	備註（質化說明：如數個計畫共同成果、成果列為該期刊之封面故事...等）	
		實際已達成數（被接受或已發表）	預期總達成數（含實際已達成數）	本計畫實際貢獻百分比			
國內	論文著作	期刊論文	0	0	100%	篇	
		研究報告/技術報告	0	0	100%		
		研討會論文	0	0	100%		
		專書	0	0	100%		
	專利	申請中件數	0	0	100%	件	
		已獲得件數	0	0	100%		
	技術移轉	件數	0	0	100%	件	
		權利金	0	0	100%	千元	
	參與計畫人力（本國籍）	碩士生	0	0	100%	人次	
		博士生	1	1	100%		
		博士後研究員	0	0	100%		
		專任助理	0	0	100%		
國外	論文著作	期刊論文	0	0	100%	篇	
		研究報告/技術報告	0	0	100%		
		研討會論文	1	1	100%		
		專書	0	0	100%		章/本
	專利	申請中件數	0	0	100%	件	
		已獲得件數	0	0	100%		
	技術移轉	件數	0	0	100%	件	
		權利金	0	0	100%	千元	
	參與計畫人力（外國籍）	碩士生	0	0	100%	人次	
		博士生	0	0	100%		
		博士後研究員	0	0	100%		
		專任助理	0	0	100%		

<p>其他成果 (無法以量化表達之成果如辦理學術活動、獲得獎項、重要國際合作、研究成果國際影響力及其他協助產業技術發展之具體效益事項等，請以文字敘述填列。)</p>	<p>無</p>
--	----------

	成果項目	量化	名稱或內容性質簡述
科 教 處 計 畫 加 填 項 目	測驗工具(含質性與量性)	0	
	課程/模組	0	
	電腦及網路系統或工具	0	
	教材	0	
	舉辦之活動/競賽	0	
	研討會/工作坊	0	
	電子報、網站	0	
	計畫成果推廣之參與(閱聽)人數	0	

國科會補助專題研究計畫成果報告自評表

請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況、研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）、是否適合在學術期刊發表或申請專利、主要發現或其他有關價值等，作一綜合評估。

1. 請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況作一綜合評估

達成目標

未達成目標（請說明，以 100 字為限）

實驗失敗

因故實驗中斷

其他原因

說明：

2. 研究成果在學術期刊發表或申請專利等情形：

論文： 已發表 未發表之文稿 撰寫中 無

專利： 已獲得 申請中 無

技轉： 已技轉 洽談中 無

其他：（以 100 字為限）

3. 請依學術成就、技術創新、社會影響等方面，評估研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）（以 500 字為限）

癌症為台灣地區十大死亡原因之冠，在台灣，口腔癌在十大癌症死因中排名第五名，特別在男性中口腔癌死亡率更是排名第四位，由此可見口腔癌在台灣地區造成的高死亡率，近年來更有逐年上升的趨勢。在過去的研究中發現，基質金屬蛋白酶 11(Matrix metalloproteinase 11; MMP-11) 可以增加腫瘤所引起的血管新生，或是藉由調控細胞的增殖、轉移、侵襲、凋亡，對腫瘤的生長與癌症的發展有密切的相關。經由臨床檢體的證明，在各個器官的原發性腫瘤中，MMP-11 大量表現的患者在治療後會有較差存活率及預後。所以，本研究中我們選取了 595 位口腔癌患者以及 561 位健康對照組，蒐集年齡、性別、嚼食檳榔、飲酒以及抽菸情形的資料後，萃取其血液中的 DNA 檢體利用即時定量聚合酶連鎖反應(Real-time PCR)進行對於 MMP-11 基因 rs738791、rs2267029、rs738792 以及 rs28382575 的基因多型性進行分析，同時更進一步納入口腔癌病人其臨床血清指標以及癌症分期，嘗試分析以上基因其多型性與口腔癌發展之相關性。結果發現，在臨床參數的分析中，MMP-11 基因 rs738792 的基因多型性攜帶 CC/CT 基因型相較於 TT 基因型的患者對腫瘤在淋巴結轉移可能存在較高的危險。然而，MMP-11 基因多型性如何影響口腔癌患者淋巴結轉移的機制仍尚未明瞭，需要更多對於基因多型性的研究同時結合對機制的探討來進一步釐清 MMP-11 基因多型性在口腔癌中所扮演的角色。相信若能釐清這兩者之間的相關及其中詳細的機制，對於口腔癌的防治以及治療上必定有很大的幫助。