

中文摘要

在癌細胞中，常發現有染色體異常的現象，而且異常的狀況常與癌細胞轉移有密切的關係 [1]，但對於口腔癌卻較少有這方面的研究。本研究採用 G-banding 的技術 [2]，得到口腔鱗狀細胞癌細胞株中染色體的變化，並探討染色體變化與轉移的關係。以細胞培養的方式，培養兩株口腔鱗狀細胞癌細胞株，GNM（有頸淋巴結轉移）與 TSCCa（無頸淋巴結轉移）[3]，使用 G-banding 的技術排出其核型 (karyotypes)，比較其異常及相異處。結果顯示 GNM 主要在第 1,2,3,5,7,10,19,21 對染色體異常（ $\geq 90\%$ ），異常情況主要是染色體數目及染色體缺失；而 TSCCa 主要在第 3,5,7,10,19,21 對染色體異常（ $\geq 90\%$ ），異常情況主要是染色體數目及染色體缺失。並且由過去文獻得知，第 3 對染色體異常在口腔鱗狀細胞癌中是具有指標性的意義 [4-11]，並指出在 1p 和 2q 的位址上有許多和基底膜 (basement membrane) 形成有關的抑癌基因 [12-17]；而 Gelatinase A 是和基底膜溶解有關，基底膜溶解又和癌細胞遠端轉移有關 [18-21]。本實驗結果發現，GNM 與 TSCCa 的第 3 對染色體異常，確實是有較高的發生率；在 1p 和 2q 的異常方面，GNM 的發生率比 TSCCa 來得高，並且 GNM 的 Gelatinase A 的活性也比 TSCCa 高，所以由本研究可以得到進一步的暗示，第 1 對與第 2 對染色體異常有可能是癌細胞是否會有頸淋巴結轉移的重要訊息。

關鍵詞：G-banding、核型、頸淋巴結轉移、1p、2q、抑癌基因、Gelatinase A。

ABSTRACT

The chromosomal aberrations were often observed in cancer cells and the aberrations had close relationship with cancer metastasis [1]. But in head and neck squamous cell carcinoma, there were a few researches about oral squamous cell carcinoma (OSCC). In this study, we observed the karyotypes of two kinds of cultured OSCC cell lines (GNM and TSCCa) [3] by G-banding technique [2] and investigated the relationships between the chromosomal aberrations and metastasis. GNM metastasized in lymph node of neck but TSCCa did not. We found GNM was abnormal on chromosome 1, 2, 3, 5, 7, 10, 19, 21 and TSCCa was abnormal on chromosome 3, 5, 7, 10, 19, 21 frequently ($\geq 90\%$). Many studies have indicated that the chromosome 3 aberration was the important guideline in OSCC especially of 3q26 [4-11], and there were many tumor suppressor genes in 1p and 2q about growth factor of basement membrane [12-17]; The basement membrane lysis was an important factor about metastasis, and gelatinase A is the kind of factors of lysing basement membrane [18-21]. In this study, the chromosome 3 aberration was equal in GNM and TSCCa but 1p, 2q aberration occurred frequently in GNM. Gelatinase A was more active in GNM than TSCCa. So, we obtained the hint of metastatic potential of 1p and 2q aberration in this research.

Keywords : G-banding; karyotypes; metastasis; 1p; 2q; tumor suppressor genes; Gelatinase A.

總目錄

中文摘要	I
英文摘要	II
總目錄	III
表目錄	IV
圖目錄	V
壹、前 言	1
貳、相關理論	3
2-1 腫瘤之一般特性	3
2-2 腫瘤之蔓延	4
2-3 腫瘤轉移	4
2-4 口腔癌之臨床分期	6
參、實驗材料與方法	8
3-1 實驗材料	8
3-2 實驗方法	8
3-2-1 G-banding 技術	8
3-2-2 Gelatinase A 活性測試	10
肆、結 果	14
伍、討 論	16
陸、參考文獻	39
中華牙醫學會年會學術研討會投稿資料	54

表目錄

表 1-1. 民國八十八年 台灣男性及女性十大癌症發生率	20
表 1-2. 民國八十八年十大癌症發生率以及 口腔不同部位癌症發生率	21
表 2. GNM 與 TSCCa 染色體異常比較	22
表 3. GNM 與 TSCCa 在 1p、1q、2p、2q、3p、3q 的異常情況	22

圖目錄

圖 1. 民國 82-88 年台灣地區口腔癌年齡別發生率	23
圖 2. GNM 細胞生長曲線	24
圖 3. TSCCa 細胞生長曲線	25
圖 4. GNM 細胞株培養情況---細胞外觀 (400×)	26
圖 5. TSCCa 細胞株培養情況---細胞外觀 (400×)	27
圖 6. 正常核型	28
圖 7. GNM 異常染色體核型	29
圖 8. TSCCa 異常染色體核型	30
圖 9. GNM 染色體異常情況	31
圖 10. TSCCa 染色體異常情況	31
圖 11. GNM 與 TSCCa 染色體異常比較	32
圖 12. GNM 與 TSCCa 在 1p、1q、2p、2q、3p、3q 的異常情況	33
圖 13. GNM 與 TSCCa 在 1p、1q、2p、2q、3p、3q 的異常情況	34
圖 14. GNM 第一對染色體異常情況與抑癌基因的位置比較	35
圖 15. GNM 第二對染色體異常情況與抑癌基因的位置比較	36
圖 16. GNM 與 TSCCa 第三對染色體異常情況與抑癌基因位置	37
圖 17. MMP-2/Gelatinase A 活性實驗	38
附圖—資料來源 NCBI 的 Gene Map	44

壹、前 言

在歐美地區，口腔鱗狀細胞癌致病因素主要是因為喝酒和抽煙；但對南亞及東南亞地區而言，因為檳榔的特有嚼食文化，而成爲另一個重要的致癌因素。在台灣，1999 年衛生署的統計，口腔癌佔全國發生率第八，爲男性發生率第四。由此可知，口腔癌已成爲國人重要的疾病（表 1、圖 1）。

然而，由文獻得知 [1]，在不同癌細胞中，染色體常有不同的變化。爲了得知有無淋巴結轉移的口腔癌染色體不同變化，我們使用 G-banding 的技術來分析兩株口腔癌細胞株（TSCCa 與 GNM）。並比較有頸淋巴結轉移（GNM）和無頸淋巴結轉移（TSCCa）的染色體異常有無不同。並期待能找出異常的規則，預期癌症惡性轉移的情況，對於臨床上的治療，有較大的預測性。

在許多的癌症中，如 Neuroblastoma、Breast carcinoma 等，染色體異常情況和惡性轉移及存活率有關 [1]。但對於口腔癌而言，卻較少這方面的研究。因此，本研究採用 G-banding 的技術，得到口腔鱗狀細胞癌細胞株中染色體的變化，並探討染色體變化與轉移的關係。以細胞培養的方式，培養兩株口腔鱗狀細胞癌細胞株，GNM（有頸淋巴結轉移）與 TSCCa（無頸淋巴結轉移），比較其異常及相異處。

Banding 的技術對於人類染色體的鑑定與分析是一大突破，藉由這些技術，人類可進一步了解染色體異常與疾病的關係。可提早對疾病作預測與治療。例如，產前羊水檢查。而 banding 主要可分爲以下四種技術，其中 G-banding 的使用較爲普遍 [2,33]。

1. Q-banding (Caspersson et al.1970)

2. G-banding (Serbright 1971; Wang and Fedoroff 1972)

3. R-banding (Dutrillux and Lejeune 1971)

4. C-banding (Arrighi and Hsu 1971)

G-banding 的技術，是經由 trypsin 和 Giemsa stain 處理，將染色體染出明暗帶，藉以定位出染色體的位址，以了解染色體結構上的異常。本實驗便採用 G-banding 的技術，獲得癌細胞的核型 (karyotypes) [2]。

在癌細胞的惡性轉移過程中，Matrix metalloproteinases (MMPs) 扮演了重要的角色，MMPs 是退化 extracellular matrix (ECM) 的重要蛋白酶，尤其是 MMP-2，和癌細胞的侵入性和轉移有關 [18-21]。其 gelatinase A 是基底膜 (basement membrane) 組成中 Type IV 膠原蛋白的溶解酶。

因此，在此次實驗中，除了要得到癌細胞染色體的變化外，還要了解兩株細胞株的 MMPs 活性，以了解兩株細胞株轉移能力是否不同。

貳、相關理論

2-1 腫瘤 (tumors) 之一般特性

大體形態：腫瘤通常呈現結節狀 (nodular)，或瀰漫性 (diffuse) 發育。腫瘤的形狀不一，在器官或組織表面者，有蕈狀 (fungoid)、息肉狀 (polypoid)、乳頭狀 (papillary)、疣狀 (arborescent)、花椰菜狀 (cauliflower-like) 等。而在其他器官或組織內者，大都為結節狀。腫瘤與周圍組織之界限有清晰者，亦有模糊者。腫瘤組織壞死時，常形成表面潰瘍或中心空洞，以惡性瘤居多 [32]。

腫瘤顏色普遍為灰色，但其顏色與含血量多寡有關，如出血者多為深紅色，發生脂肪病變性者則帶黃色，亦也呈黑色 (如痣或黑色素瘤 melanoma) 或綠色 (綠色瘤 chloroma) 者 [32]。

腫瘤之硬度亦各有所不同，普通與結締組織之多寡有關。纖維多者甚硬，纖維少而腫瘤細胞特多者較軟，惡性腫瘤大多如是。其次，腫瘤組織之變性可影響其軟硬度，如壞死或軟化者較軟;而鈣化者最硬，如骨軟骨瘤 (osteochondroma) [32]。

腫瘤之構造：腫瘤含基質 (stroma) 與實質 (parenchyma) 而成。實質即腫瘤之固有成份，而基質普通為結締組織纖維，多含有毛細血管以供給營養。實質與基質的關係有的混合得非常均勻，不易區分;有的彼此分離，一見即知，端視兩者之組織由來是否同屬一個系統而定，如同則易混合，不同者則不相混合。而個體組織可分別為上皮性與非上皮性兩大組織，腫瘤亦然。若腫瘤實質與基質同屬非上皮性組織 (如纖維肉瘤與纖維基質) 便混合得很密切;如實質為上皮性組織 (如表皮樣癌或腺癌) 兩者便不相混合，實質形成細胞集團孤立於基

質中。因此，由實質與基質區分之明瞭與否，大體可以鑑別腫瘤實質為上皮性或非上皮性 [32]。

2-2 腫瘤之蔓延 (Spread of tumors)

蔓延可分作兩種，一種是連續性，以原發部為中心，而向周圍膨脹和浸潤，浸潤性對於惡性腫瘤特別重要，如舌癌之直接浸潤到口腔底部。一是不連續性蔓延，即腫瘤的一部分與原發部分脫離，運往遠處，又從新發育者，最重要的為轉移 (metastasis)。轉移可分為淋巴轉移 (lymphatic metastasis) 及血行轉移 (hematogenous metastasis) 兩種。淋巴轉移首先發生於局部淋巴腺，如舌癌轉移到側頸或顎下淋巴腺。血行轉移多發生於肺、腦、骨及肝臟等 [32]。

2-3 腫瘤轉移 (metastasis)

腫瘤轉移是由原發瘤中的惡性細胞脫落後經過一系列步驟到達遠端增殖形成新的腫瘤病灶過程。首先腫瘤必須從原發腫瘤中脫落才發生轉移 [22]，現已証實腫瘤細胞的脫落是腫瘤細胞粘附性降低所致 [23]。其次，脫落的腫瘤細胞必須進入血管或淋巴管並在循環系統中運行和滯留。腫瘤細胞必須要解決一系列組織障礙才能形成轉移的通道從而進入血管或淋巴管。目前許多証據表示腫瘤細胞能產生一系列酶對基質和基底組織的溶解，並証實酶的水平與轉移潛能相平行 [24-25]。當腫瘤細胞進入血管或淋巴管後，宿主的免疫防禦系統必然會殺傷腫瘤細胞，這些免疫細胞主要是成熟的 T 淋巴細胞或 NK 細胞。最後腫瘤細胞由遠端器官的血管或淋巴管穿出，增殖形成新的轉

移瘤。腫瘤細胞在血管或淋巴管運行，究竟是什麼器官處形成轉移瘤呢？目前認為腫瘤轉移有特異性，即不同類型的腫瘤具有在特異性器官中停留，穿出血管壁，最後腫瘤細胞增殖成轉移瘤，這與臨床上發生的情況相一致。由此可見腫瘤轉移是一個相當複雜的過程。

在原發腫瘤中是不是所有的腫瘤細胞都能轉移成轉移瘤呢？1939 年 Kock 首次提出在原發腫瘤中可能有高轉移潛能的腫瘤細胞，只有這些細胞才能發生轉移，直到 1977 年，Fidler 和 Kripke 通過一系列實驗證實惡性腫瘤是由不同轉移潛能的腫瘤細胞所組成 [3]。他們應用皮下生長的小鼠 B₁₆ 黑色素瘤母細胞系，可分離 17 個單細胞克隆，以克隆化的細胞做靜脈注射觀察肺部實驗性轉移病灶 [3]。實驗結果表明，各形成的肺部病灶無論數量或體積均不同，證明克隆間在轉移能力上存在著明顯的差異。一個瘤體由多種表型不同的細胞所組成，例如型態結構、分化程度、生長行爲、生化特性、染色體核型、免疫性以及對藥物、放射性線、熱療的敏感性等，也包括轉移能力上的不同，所有這些構成腫瘤組成的特異性。Fidler 等學者認為腫瘤轉移過程不是隨機發生的，只有那些有能力的腫瘤細胞才會產生轉移病灶 [3]。

在腫瘤生長和轉移的過程中，宿主是一個不可忽略的因素，腫瘤細胞一直面臨著宿主個體各種各樣的因素產生的選擇，並最終導致產生了具有不同表型的細胞亞群，包括含有轉移能力不同的細胞亞群，同樣，在同一宿主的不同病灶中得到的克隆表型也可能不同。

產生腫瘤特異性的根本原因可能是腫瘤細胞的遺傳特異性。與正常細胞相比，腫瘤細胞在遺傳學上更不穩定，更可能發生基因及其

調控的改變 [26-31]，腫瘤細胞的突變率比正常細胞高得多，而高度轉移性的腫瘤細胞比惡性低的腫瘤細胞有較高的自發突變率 [14]。因此，可將轉移過程看作為轉移性惡性細胞的篩選過程。而目前，對於腫瘤轉移的治療方式主要以化療為主，並無更有效的治療方式。

2-4 口腔癌之臨床分期

近年來，身體各部位癌之臨床分期對病人之處置上有著很重要的作用。臨床分期乃是在未治療前對癌範圍之評估，其目的在選擇最適當的治療，及對不同來源的報告結果作一有意義的比較。

目前所用的分期法乃是所謂的 TNM 系統（T 表源發腫瘤；N 表局部淋巴腺；M 表遠處轉移）[32]。分期表如下：

T 表源發腫瘤

- T0：表原發灶
- T1：小於 2 cm
- T2：2 ~ 4 cm
- T3：大於 4cm

N 表區域淋巴結轉移

- N0：無轉移
- N1：疑有轉移，臨床上同側頸淋巴腺可摸到。未固著。
- N2：臨床上反側或兩側頸淋巴腺可摸到，但未固著。
疑有轉移。
- N3：臨床上反側或兩側頸淋巴腺可摸到，有固著。

M 表有無遠端轉移

- M0：無遠端轉移
- M1：有遠端轉移

※ 用 TNM 來進行診斷的適當時機：在第一次就診時，且沒有用過化療、放射治療。

- 第一期：T1N0M0
- 第二期：T2N0M0
- 第三期：T3N0M0，T1N1M0，T2N1M0，T3N1M0
- 第四期：T1N2M0，T2N2M0，T3N2M0，T1N3M0，T2N3M0，T3N3M0，或有 M1 之任何 T 或 N 項。

參、實驗材料與方法

3-1 實驗材料

主要使用兩株口腔鱗狀細胞癌細胞株 GNM 與 TSCCa，其中 GNM 的癌細胞有頸淋巴結轉移，TSCCa 沒有頸淋巴結轉移。細胞株來源來自中國湖北武漢大學附設醫院 [3]。以下為兩株細胞株來源之基本資料：

GNM

GNM 是以上頷牙齦癌頸淋巴結轉移癌為標本，採用組織培養方法。組織來源為一名 63 歲的易女士，從事工行業，於 1996 年 1 月 31 日中國湖北武漢大學附設醫院接受右上頷牙齦癌切除術及右肩胛舌骨上清掃術。病理診斷為頸淋巴結轉移性鱗狀細胞癌。

TSCCa

TSCCa 以人類舌癌組織為標本，接種於小鼠皮下形成移植瘤。組織來源為一名年約 49 歲的左女士，於 1995 年 4 月 11 日中國湖北武漢大學附設醫院接受舌頸聯合根治術，右舌緣疼痛性潰瘍長達兩個月，術前未做化療。病理診斷為鱗狀細胞癌（Squamous Cell Carcinoma）。

3-2 實驗方法

本研究主要採用兩種技術---- G-banding 與 Gelatinase A 活性測試。

3-2-1 G-banding 技術實驗步驟

1. 先求出兩株細胞株的生長曲線，以找出細胞倍增時間，取得最多有絲分裂期的細胞（因為細胞只有在有絲分裂期才見得到染色體）--- 使用血球計數板計數法
 - a. 取生長良好的細胞，採用胰蛋白酶，製成細胞懸液，使之為 10^4 / ml，將細胞分別接種於 30 個 10ml 培養瓶內，每瓶 2ml。
 - b. 每天取出 3 瓶細胞進行計數，每瓶計數 3 次，然後計算平均值，連續計數 10 天。
 - c. 每 4 天給未計數的細胞換培養液。
 - d. 以培養時間為橫軸，細胞數為縱軸，劃成細胞生長曲線。
2. 獲得兩株細胞株染色體

將兩株細胞株培養在培養液（DMEM 88% + FBS 10% + PSN 2%）中，在溫度 37°C、CO₂ 濃度 5% 的培養箱中培養。

GNM

■ Harvest

細胞繼代培養 31 小時

加 Colcemid 100 λ 放入培養箱

再加 KCl 0.56% 放入培養箱

噴片

■ 將玻片放在 37°C slide warmer 烘兩天

■ G-banding

將玻片放入 KH₂PO₄ (pH=6.8) 中並且放在水浴槽中 8 分鐘

(56°C)

用 Trypsin 0.05 %處理

用 0.5ml wright's +2ml buffer 染色

TSCCa

■ Harvest

細胞繼代培養 34 小時

加 Colcemid 100 λ 放入培養箱

再加 KCL 0.42%放入培養箱

噴片

■ 將玻片放在 65°C slide warmer 烘 1 天

■ G-banding

將玻片放入 KH_2PO_4 (pH=6.8)中並且放在水浴槽中 8 分鐘

(56°C)

用 Trypsin 0.05%處理

用 0.5ml wright's +2ml buffer 染色

3-2-2 Gelatinase A 活性測試實驗步驟

1. 溶解培養的細胞

a. 用冷的 PBS 洗有細胞的培養皿兩次，洗去培養液

b. 用 1ml 的 PBS 刮下培養皿的細胞，倒入離心管

c. 放在離心機 (14000 rpm) 離心 5 分鐘

d. 加入 extraction buffer 100-200 μ l :

I. 加入 100 μ l 的 TNE lysis buffer

50mM Tris-HCL

150mM Nacl

0.1%SDS

1%NP-40

0.5% Sodium deoxycholate

II. 加入 10 μ l 的 10mM PMSF.

III. 加入 1 μ l 的 10mg/ml aprotinin.

e. 放在冰上 30 分鐘

f. 離心 15 分鐘 (15000 rpm) 吸取上清液到 fresh tube 中，
並保存在-20 $^{\circ}$ C 或-80 $^{\circ}$ C 冰箱中

2. Bradford total protein assay 定量蛋白質

實驗步驟與方式是參考由 BIO-RAD 公司所提供的 Bradford Protein assay [34]。實驗原理是利用 standard protein 與染劑 (Coomassie Brilliant Blue R250) 結合之後，經由吸光值可以測出 standard protein 的濃度，並且可以做出一條標準曲線 (standard curve)，再由標準曲線推算出樣品的蛋白質濃度。

a. 染料試劑的配製 (preparation of dye reagent)

I. 將 100mg 的染劑 Coomassie Blue R250 加入到 50ml 甲醇 (methanol) 中

II. 等待染劑 Coomassie Blue R250 完全溶解後，再加入 100ml 的 85% 磷酸溶液 (phosphate solution)

III. 加入二次水 (d_2H_2O) 直到 1000ml

b. BSA 的標準曲線 (stander curve)

Conc.	Blank 0	1.6	3.2	6.4	9.6	12.8
BSA	0	4	8	16	24	32
H ₂ O	800	796	792	784	776	768
Dye	200					

c. 測量樣品的濃度

- I. 取樣品 100 μ l
- II. 二次水 (d₂H₂O) 700 μ l
- III. 配製好的染劑 200 μ l

再將以上三項混合均勻置放 30 分鐘後於 595nm 的光波長下測吸光值 (OD value)

3. Zymography

- a. 配製 0.1 % gelatin/SDS-PAG (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)

成分如下：

7.5% Separating gel space: 0.5mm

Total volume	10.0 ml
Distilled water	2.5 ml
40% acrylamide/ bis	1.875 ml
10% SDS	100 μ l
0.75 M Tris, pH 8.0	5.0 ml
150 mg/ml ammonium persulfate	100 μ l
2% Gelatin	0.5 ml
TEMED	10 μ l

4.5% Stacking gel: 0.5 mm

Total volume	2.0 ml
Distilled water	1.22 ml
40% Acrylamide/ bis	225 μ l
10% SDS	20 μ l
0.5 M Tris, pH 8.8	0.5 ml
150 mg/ml ammonium persulfate	40 μ l
TEMED	4 μ l

b. 跑膠

肆、結 果

細胞培養情況

在細胞培養過程中，得到 GNM 細胞株細胞形態為扁平的多角形上皮細胞，具有惡性腫瘤細胞的一般特性；核大，核/漿比例大，核畸形，核分裂情況多，細胞生長曲線能反映潛伏期、對數生長期和平台期三個時期，細胞倍增時間為 31 小時（圖 2、圖 4）。TSCCa 細胞株細胞形態也是為扁平的多角形上皮細胞，具有惡性腫瘤細胞的一般特性；核大，核/漿比例大，核畸形，核分裂情況多，細胞生長曲線能反映潛伏期、對數生長期和平台期三個時期，細胞倍增時間為 34 小時（圖 3、圖 5）。兩株細胞株都培養在培養液（DMEM 88% + FBS 10% + PSN 2%）中，放在溫度 37°C、CO₂ 濃度 5% 的培養箱。

染色體分析

從 GNM 與 TSCCa 細胞株各 20 組染色體核型中發現 GNM 細胞株染色體數目為 65-67 個，平均是 66 個，屬於 hypotriploidy，異常情況主要是染色體數目及染色體缺失，主要在第 1,2,3,5,7,10,19,21 對染色體異常（圖 6、圖 7、圖 9），尤其是 1p、2q 與 3q 染色體缺失。TSCCa 細胞株染色體數目為 61-65 個，平均是 64 個，屬於 hypotriploidy，異常情況主要也是染色體數目及染色體缺失，主要在第 3,5,7,10,19,21 對染色體異常（圖 6、圖 8、圖 10），尤其是 3q 染色體缺失。

因此，從 GNM 細胞株與 TSCCa 細胞株染色體核型的比較發現，GNM 的第一與第二對染色體異常情況比較嚴重（表 2、圖 11）。尤

其是 1p、2q（表 3、圖 12、圖 13）。而第三對染色體異常對於 GNM 與 TSCCa 是同樣嚴重（圖 11）。其他對異常染色體（5,7,10,19,21）異常情況都相似，以染色體缺失為主。

Gelatinase A 活性測試

在與轉移能力有關的 Gelatinase A 活性測試發現，GNM 的 0.1% gelatin/SDS-PAGE（sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis）的 62kDa（activeMMP-2/gelatinase A）結果比 TSCCa 活性好，而 72kDa（proMMP-2）的結果一樣，表示 GNM 的 gelatinase A 活性較高（圖 17），能將 0.1% gelatin/SDS-PAGE 中的 gelatin 溶解。

伍、討 論

由衛生署的統計資料得知，口腔癌已成為國人主要的癌症之一，尤其對男人而言，有逐年增加的趨勢（表 1、圖 1）。但是國內在分子生物學研究中，卻較少有這方面的研究。於是作此研究，以期能了解口腔癌細胞的染色體變化與癌症的關係，希望進而達到預防、預測及治療口腔癌的境界。

細胞培養情況

由細胞培養情況可發現 GNM 與 TSCCa 同樣是細胞形態為扁平的多角形上皮細胞，具有惡性腫瘤細胞的一般特性；核大，核/漿比例大，核畸形，核分裂情況多，細胞生長曲線能反映潛伏期、對數生長期和平台期三個時期。GNM 細胞株細胞倍增時間為 31 小時；TSCCa 細胞株細胞倍增時間為 34 小時（圖 2、圖 3、圖 4、圖 5）。藉由細胞倍增時間，我們可得到細胞株有最多有絲分裂期的時間，得到最多的染色體核型（因為細胞只有在有絲分裂期才見得到染色體）。

染色體分析

在 GNM 與 TSCCa 的核型中發現，染色體數目都屬於 hypotriploidy，異常情況主要是染色體數目及染色體缺失。GNM 主要在第 1,2,3,5,7,10,19,21 對染色體異常（圖 6、圖 7、圖 9）；TSCCa 主要在第 3,5,7,10,19,21 對染色體異常（圖 6、圖 8、圖 10）。而 GNM 的第一與第二對染色體的高異常率，是明顯的引人注意（表 2、圖 11）。尤其是 1p、2q（表 3、圖 12、圖 13）。1p 主要異常情況（圖

14) 爲 $\text{ins}(1;6)(\text{p}22;\text{q}21\text{q}27)$; $\text{del}(1)(\text{p}31\text{q}10)$ 。2q 主要異常情況 (圖 15) 爲 $\text{del}(2)(\text{q}24\text{q}37)$ 。其他對異常染色體 (5,7,10,19,21) 異常情況都相似, 以染色體缺失爲主。

由 J L Berg'e-Lefranc, 等學者在 1997 年發表的文獻中指出常在 breast cancer、neuroblastoma、pheochromocytoma、primary hepatomas 發生缺失 [15], 與癌症惡性轉移活性有關。由 J.S. Smith, 等學者在 1999 年發表的文獻中得知 $1\text{p}36(\text{D}1\text{S}468\text{-D}1\text{S}612)$ 的缺失與 gliomas 的低存活率有關 [16]。S.C. Kaul 等學者在 2000 年發表的文獻中指出 $1\text{p}31(\text{Gros}1)$ 常在 neuroblastomas、meningiomas、pheochromocytomas、medullary thyroid carcinomas、neuroendocrine carcinoma、T cell acute lymphoblastic leukemia、colorectal carcinoma、mesothelioma、hepatoma、endometrial carcinoma、breast carcinomas 中發生缺失 [17], 並指出 Gros1 與基底膜合成有關, 而基底膜合成又與惡性轉移有關。C. Krona 等學者在 2003 年發表的文獻中亦發現到 $1\text{p}36(\text{D}1\text{S}80\text{-D}1\text{S}244)$ 的缺失與 neuroblastoma 的低存活率有關 [13]。由 J. Takita1 等學者在 2001 年發表的文獻中發現 $2\text{q}33(\text{D}2\text{S}115\text{-}2\text{S}307)$ 常在 lung cancer、head and neck cancer、follicular thyroid carcinoma、neuroblastomas 中發生缺失 [12], 其中含有與惡性轉移有關的抑癌基因。所以, 在 1p 與 2q 的異常, 與惡性轉移是有很大的關係。

而且由 NCBI 的 Gene Map 中得知, 在 1p 與 2q 有許多與惡性轉移有關的抑癌基因, 和低存活率有關 [12-17]。而且, $1\text{p}31(\text{Gros}1)$ 與基底膜合成有關, 而基底膜合成又與惡性轉移有關, 因爲要轉移,

必先破壞基底膜 [17];而2q33(D2S115- 2S307) 常在lung cancer、head and neck cancer、follicular thyroid carcinoma、neuroblastomas中發生缺失。因此，GNM與TSCCa的比較結果，GNM是比較有惡性轉移的潛力。

在3q的變異方面，GNM與TSCCa是同樣居高不下，尤其是del(3)(q10)（圖16）。經由過去文獻得知，許多惡性腫瘤與3q的異常有關，尤其是3q26對於許多癌症是具有指標性的意義，如head and neck cancer、lung cancer、breast carcinomas等。

Gelatinase A 活性測試

在癌細胞的惡性轉移過程中，MMPs扮演了重要的角色，如MMP-2（gelatinase A），然而proMMP-2（72kDa）是MMP-2的前身，須經由細胞表面的membrane-type 1 matrix metalloproteinase（MT1-MMP）活化成MMP-2 [20,21]；而MMP-2（gelatinase A）在癌細胞的侵入性與惡性轉移能力上，扮演著很重要的角色。因為gelatinase A會溶解基底膜，而基底膜的溶解情況，又與癌細胞的惡性轉移能力有極大的相關性。

由0.1%gelatin/SDS-PAGE 實驗結果得知，proMMP-2(72kDa) 在GNM與TSCCa的活性相似，但MMP-2(62kDa) 的活性，在GNM中卻高出很多（圖17）。因此，我們可由gelatinase A的活性實驗中了解，GNM確實是具有較高的惡性轉移能力。

由B.L. Ziober, 等學者在2000年所發表的文獻中發現MMP-1與組成基底膜的Type I 膠原蛋白溶解有關 [19]，而基底膜的溶解又與

癌細胞的侵入性和轉移能力有關。比較正常細胞與口腔癌細胞中 MMP-1 的濃度，口腔癌細胞的 MMP-1 濃度確實高出許多。並指出 MMPs 的濃度與口腔癌惡性轉移是有相當大的關係；由 Y. Tokumaru, 等學者在 2000 年所發表的文獻中發現 matrix metalloproteinase-2(MMP-2/gelatinase A) 在頭頸部鱗狀細胞癌的惡性頸淋巴結轉移癌細胞中，有極高的含量 [18]。並且 gelatinase A 可溶解基底膜中 type IV 膠原蛋白，可幫助癌細胞遠端轉移。

就整個實驗結果來探討，GNM的惡性轉移能力是比TSCCa來得高。但相同是口腔鱗狀細胞癌，為什麼GNM的轉移能力卻比較高？經由兩株細胞株核型的比較結果發現，GNM的第一與第二對染色體的高異常率，是明顯的引人注意，而且由NCBI的Gene Map中發現，在1p與2q上，有許多與惡性轉移有關的抑癌基因，尤其是1p31(Gros1)與基底膜合成有關，而基底膜的合成情況，又與癌細胞的惡性轉移能力有極大的相關性。

因此由本實驗推斷，1p與2q的異常，有可能是口腔鱗狀細胞癌惡性轉移能力的重要指標

表 1-1. 民國八十八年 台灣男性及女性十大癌症發生率
 口腔癌發生率在男性排名第四
 資料來源---行政院衛生署網站

民國八十八年男性十大癌症發生率

順位 ¹	ICD-O-FT	原發部位別	個案數 (人)	粗發生率 ²	年齡標準化 發生率 ^{2,3}
1	155	肝及肝內膽管	5,659	50.02	50.28
2	162	肺、支氣管及氣管	4,368	38.61	38.15
3	153-4	結腸及直腸	3,871	34.22	34.24
4	140-9	口腔（含口咽及下咽）	2,869	25.36	25.31
5	151	胃	2,230	19.71	19.62
6	185	攝護腺	1,777	15.71	15.42
7	188	膀胱	1,209	10.69	10.57
8	173	皮膚	933	8.25	8.34
9	147	鼻咽	946	8.36	8.05
10	150	食道	881	7.79	7.83
		非何杰金氏淋巴瘤	705	6.23	6.20
	140-199	全癌症	30,189	266.86	265.95

註：1. 依據年齡標準化發生率排序。 2. 「粗發生率」、「年齡標準化發生率」之單位：每十萬人口。
 3. 年齡標準化發生率係使用2000年世界標準人口為標準人口。

民國八十八年女性十大癌症發生率

順位 ¹	ICD-O-FT	原發部位別	個案數 (人)	粗發生率 ²	年齡標準化 發生率 ^{2,3}
1	180	子宮頸	6,341	58.82	55.66
		子宮頸原位癌	3,638	33.75	31.43
		子宮頸侵襲癌	2,703	25.08	24.23
2	174	女性乳房	4,405	40.86	38.78
3	153-4	結腸及直腸	2,810	26.07	26.37
4	155	肝及肝內膽管	2,070	19.20	19.74
5	162	肺、支氣管及氣管	1,947	18.06	18.31
6	151	胃	1,126	10.45	10.49
7	193	甲狀腺	913	8.47	7.89
8	173	皮膚	747	6.93	7.03
9	183	卵巢、輸卵管及寬韌帶	654	6.07	5.84
10	182	子宮體	508	4.71	4.66
		非何杰金氏淋巴瘤	509	4.72	4.67
	140-199	全癌症	26,134	242.44	238.01

註：1. 依據年齡標準化發生率排序。 2. 「粗發生率」、「年齡標準化發生率」之單位：每十萬人口。
 3. 年齡標準化發生率係使用2000年世界標準人口為標準人口。

表 1-2. 民國八十八年十大癌症發生率以及口腔不同部位癌症發生率
資料來源---行政院衛生署網站

順位 ¹	ICD-O-FT	原發部位別	個案數 (人)	粗發生率 ²	年齡標準化 發生率 ^{2,3}
1	180	子宮頸	6,341	58.82	55.66
		子宮頸原位癌	3,638	33.75	31.43
		子宮頸侵襲癌	2,703	25.08	24.23
2	174	女性乳房	4,405	40.86	38.78
3	155	肝及肝內膽管	7,729	34.98	35.25
4	153-4	結腸及直腸	6,681	30.24	30.41
5	162	肺、支氣管及氣管	6,315	28.58	28.64
6	185	攝護腺	1,777	15.71	15.42
7	151	胃	3,356	15.19	15.20
8	140-9	口腔 (含口咽及下咽)	3,176	14.38	14.17
9	173	皮膚	1,680	7.60	7.69
10	188	膀胱	1,656	7.50	7.52
	140-199	非何杰金氏淋巴瘤 全癌症	1,131 56,323	5.12 254.94	5.08 252.80

註：1. 依據年齡標準化發生率排序。
2. 「粗發生率」、「年齡標準化發生率」之單位：每十萬人口。
3. 年齡標準化發生率係使用2000年世界標準人口為標準人口。

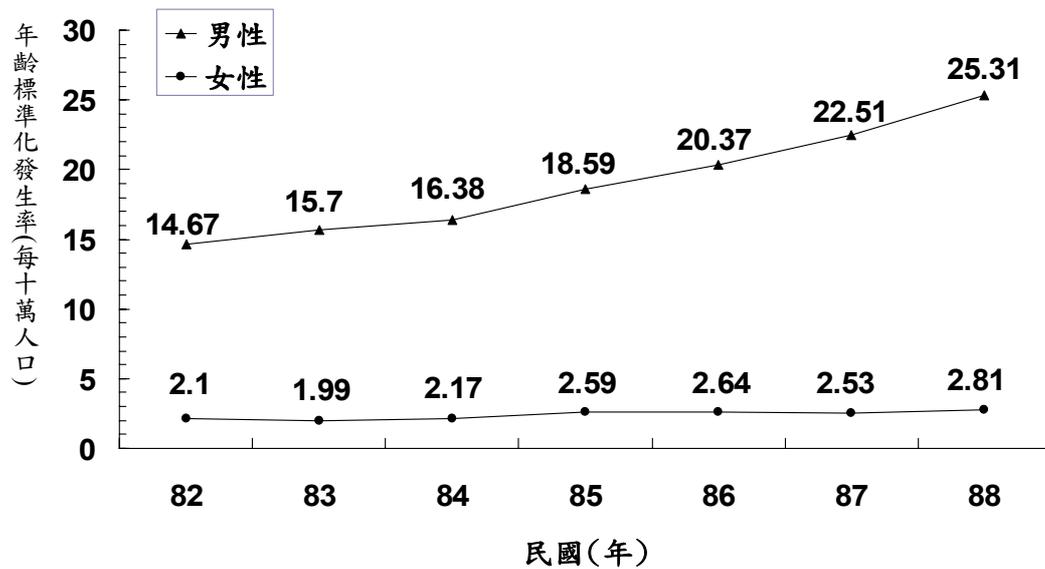
部位別	男性		女性	
	發生個案	年齡標準化發生率	發生個案	年齡標準化發生率
唇、口腔及咽 (T140-9,142, 147例外)	2,869	25.31	307	2.81
唇 (T140)	110	1.01	14	0.12
舌 (T141)	772	6.63	125	1.13
齒齦 (T143)	172	1.57	31	0.29
口底 (T144)	81	0.74	8	0.07
口腔 (T145)	1,117	9.86	76	0.71
頰黏膜 (T145.0)	697	6.12	30	0.28
齶 (T145.2, T145.3, T145.5)	159	1.45	18	0.17
白後區 (T145.6)	48	0.42	5	0.05
頰黏膜、齶及白後區除外之口腔其他及詳細說明部位 (T145.1, T145.4, T145.8, T145.9)	213	1.87	23	0.22
口咽 (T146)	237	2.1	39	0.37
下咽 (T147)	354	3.18	12	0.11
咽和唇、口腔及咽之分界不明部位 (T149)	26	0.23	2	0.02

表 2. GNM 與 TSCCa 染色體異常比較

位置	n value	X value	TSCCa %	X value	GNM %
1	20	0	0.00	20	100.00
2	20	2	10.00	19	95.00
3	20	18	90.00	20	100.00
4	20	4	20.00	4	20.00
5	20	20	100.00	20	100.00
6	20	10	50.00	13	65.00
7	20	19	95.00	18	90.00
8	20	6	30.00	10	50.00
9	20	7	35.00	12	60.00
10	20	20	100.00	19	95.00
11	20	8	40.00	6	30.00
12	20	5	25.00	8	40.00
13	20	2	10.00	5	25.00
14	20	7	35.00	9	45.00
15	20	11	55.00	11	55.00
16	20	13	65.00	17	85.00
17	20	3	15.00	3	15.00
18	20	3	15.00	3	15.00
19	20	20	100.00	20	100.00
20	20	11	55.00	12	60.00
21	20	20	100.00	20	100.00
22	20	7	35.00	10	50.00
X 染色體	20	1	5.00	1	5.00
Y 染色體	20	0	0.00	0	0.00

表 3. GNM 與 TSCCa 在 1p、1q、2p、2q、3p、3q 的異常情況

Chromosome arm	N	GNM		TSCCa	
		異常數	異常數百分比 (%)	異常數	異常數百分比 (%)
1p	20	18	90.00	0	0.00
1q	20	10	50.00	0	0.00
2p	20	8	40.00	2	10.00
2q	20	15	75.00	2	10.00
3p	20	2	10.00	2	10.00
3q	20	20	100.00	20	100.00



民國82~88年台灣地區口腔癌（含口咽及下咽）年齡別發生率

註：年齡標準化率係使用2000年世界標準人口為標準人口，單位：每十萬人口。

圖 1. 民國 82-88 年台灣地區口腔癌年齡別發生率
資料來源---行政院衛生署網站

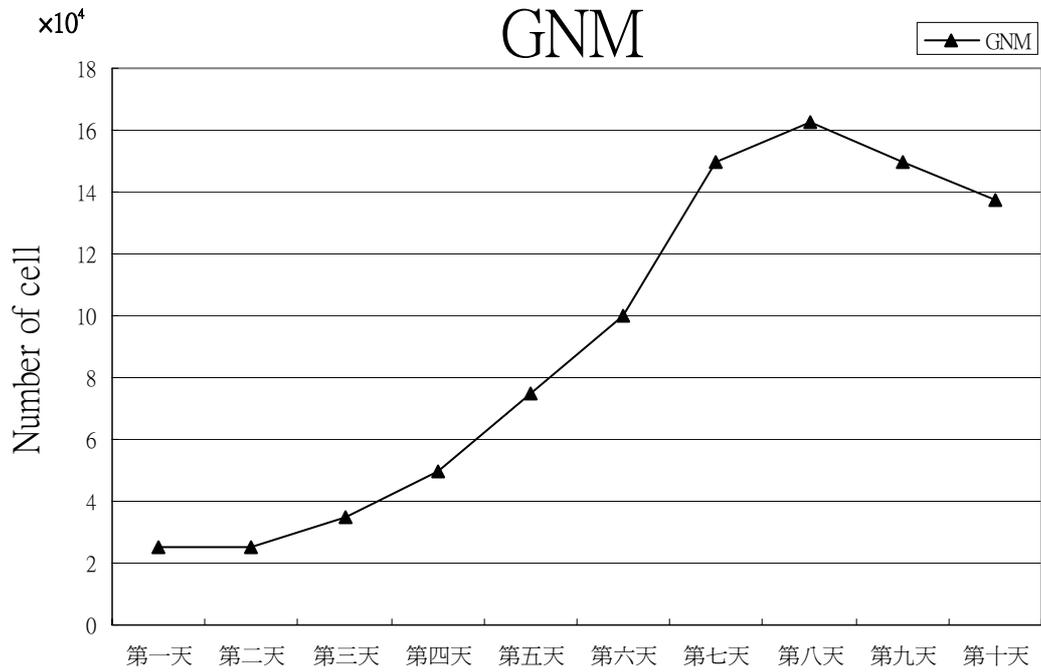


圖 2. GNM 細胞生長曲線

第 1, 2 天生長緩慢，第 3 天生長快速，第 8 天後開始下降，可以反映出腫瘤細胞的生長規律，有潛伏期&對數生長期&平台期，細胞倍增時間約為 31 小時。

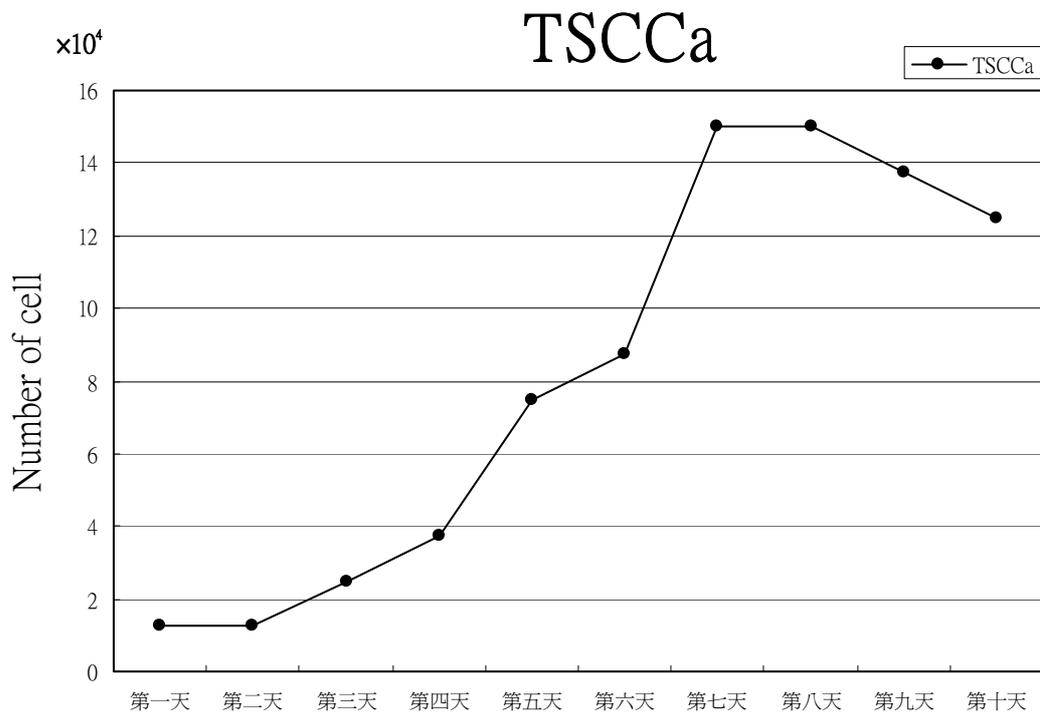


圖 3. TSCCa 細胞生長曲線

第 1, 2 天生長緩慢，第 3 天生長快速，第 7 天後開始下降，可以反映出腫瘤細胞的生長規律，有潛伏期&對數生長期&平台期，細胞倍增時間約為 34 小時。

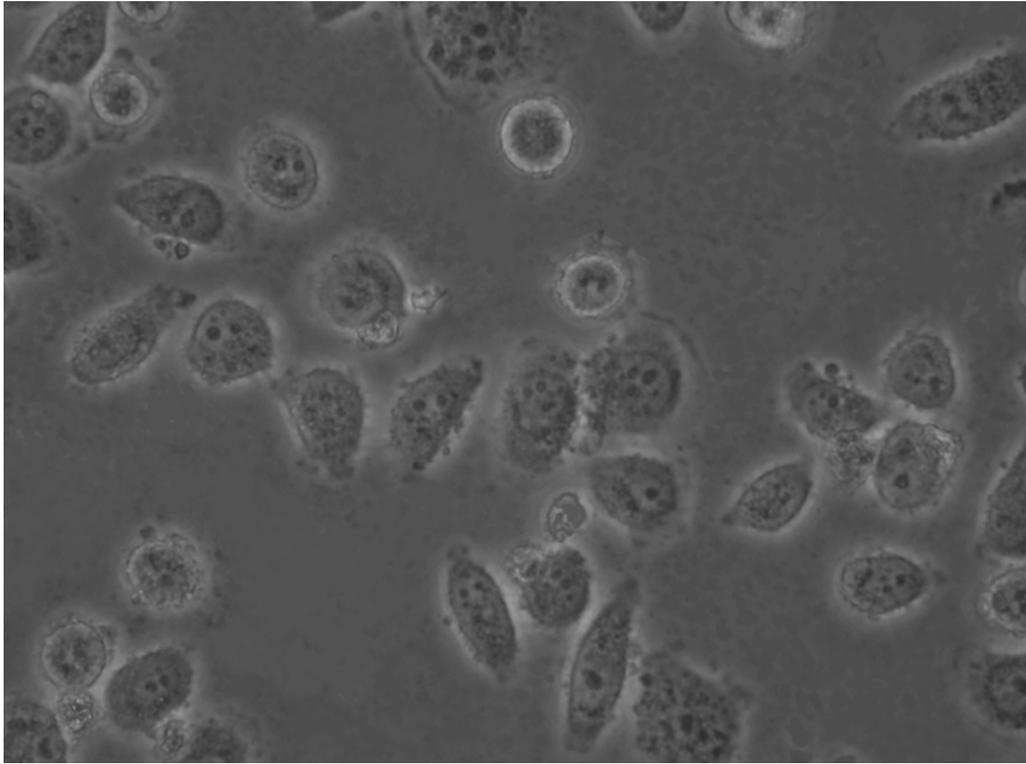


圖 4. GNM 細胞株培養情況---細胞外觀（400×）

GNM 細胞株細胞形態為扁平的多角形上皮細胞，具有惡性腫瘤細胞的一般特性；核大，核/漿比例大，核畸形，核分裂情況多。

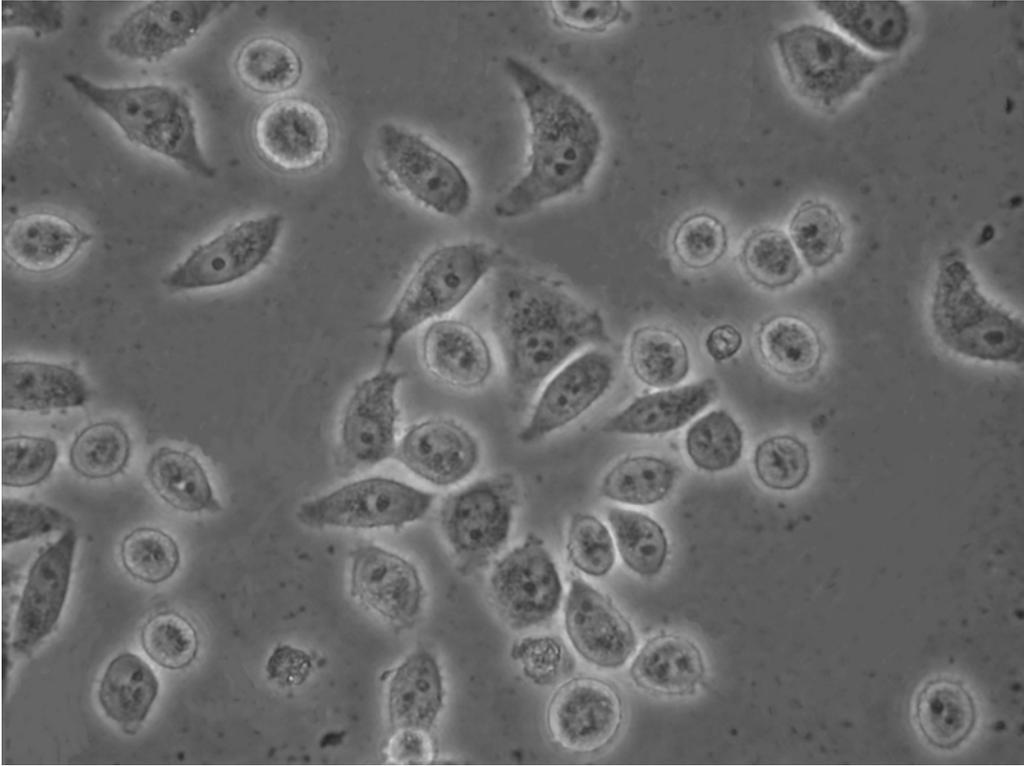


圖 5. TSCCa 細胞株培養情況---細胞外觀（400×）

TSCCa 細胞株細胞形態為扁平的多角形上皮細胞，具有惡性腫瘤細胞的一般特性；核大，核/漿比例大，核畸形，核分裂情況多。

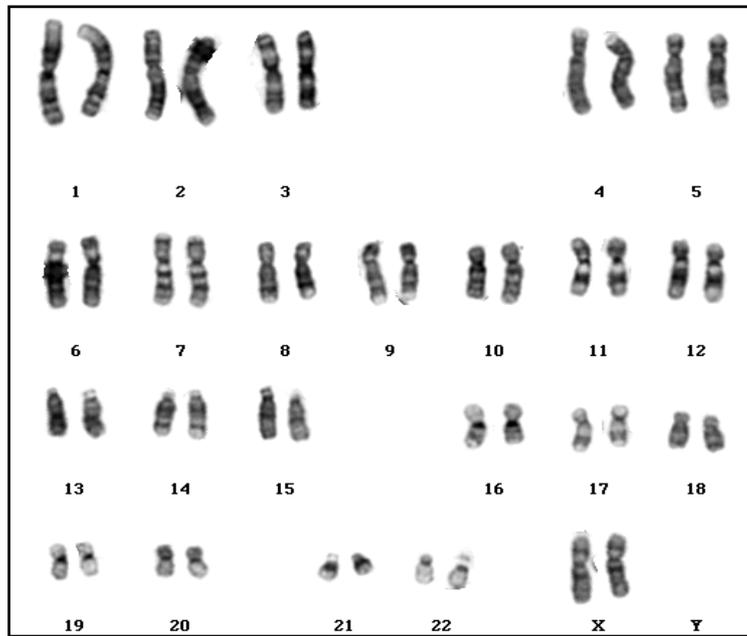


圖 6. 正常核型
此為正常的女性染色體核型。

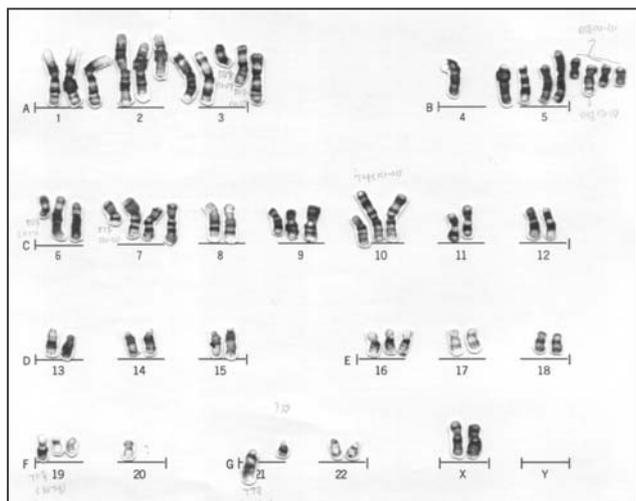
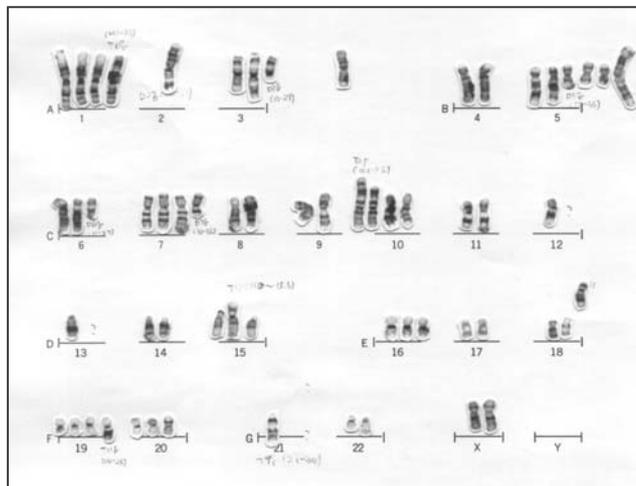
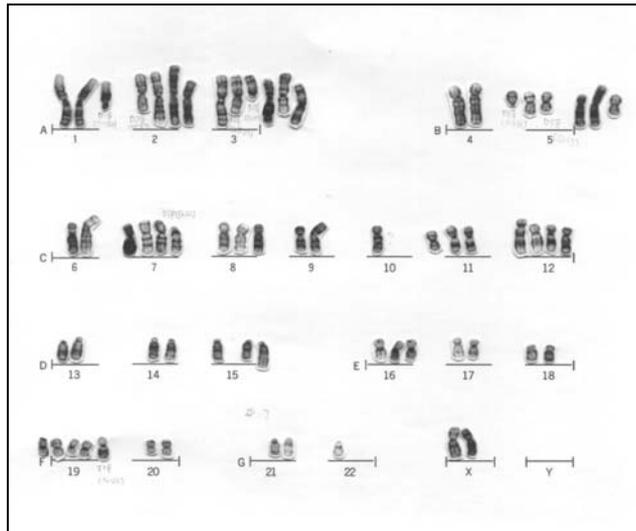


圖 7. GNM 異常染色體核型

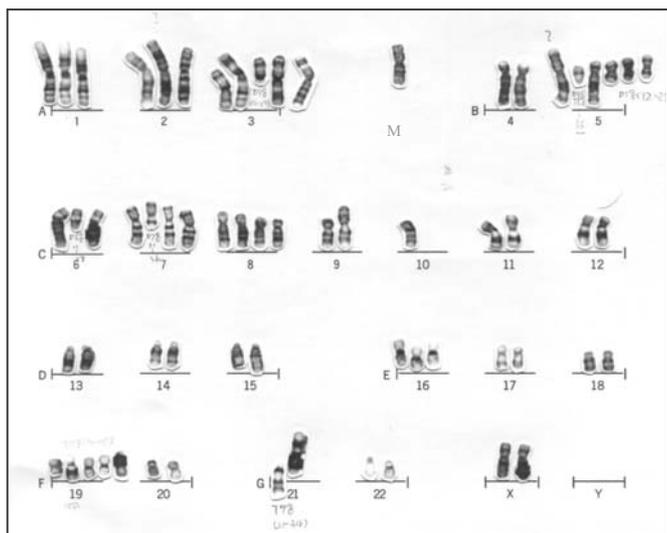
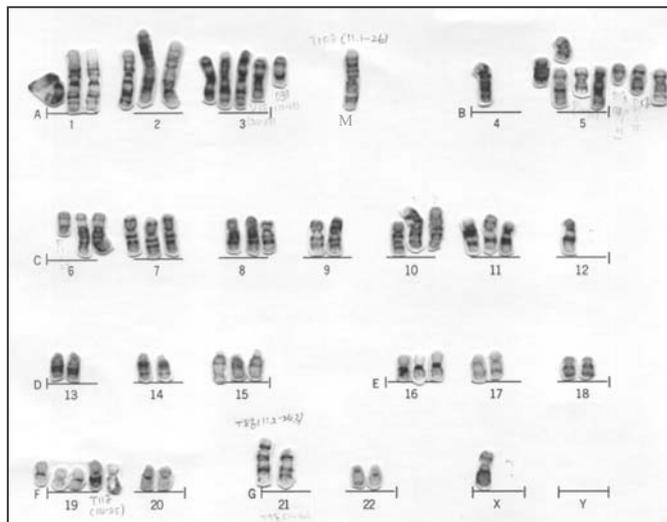
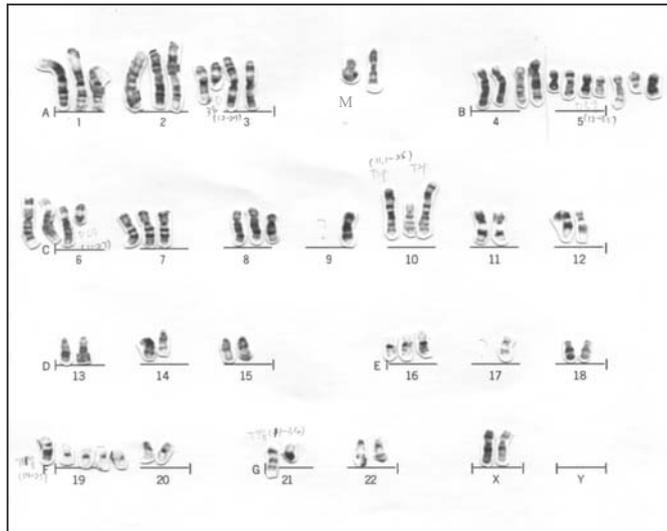


圖 8. TSCCa 異常染色體核型

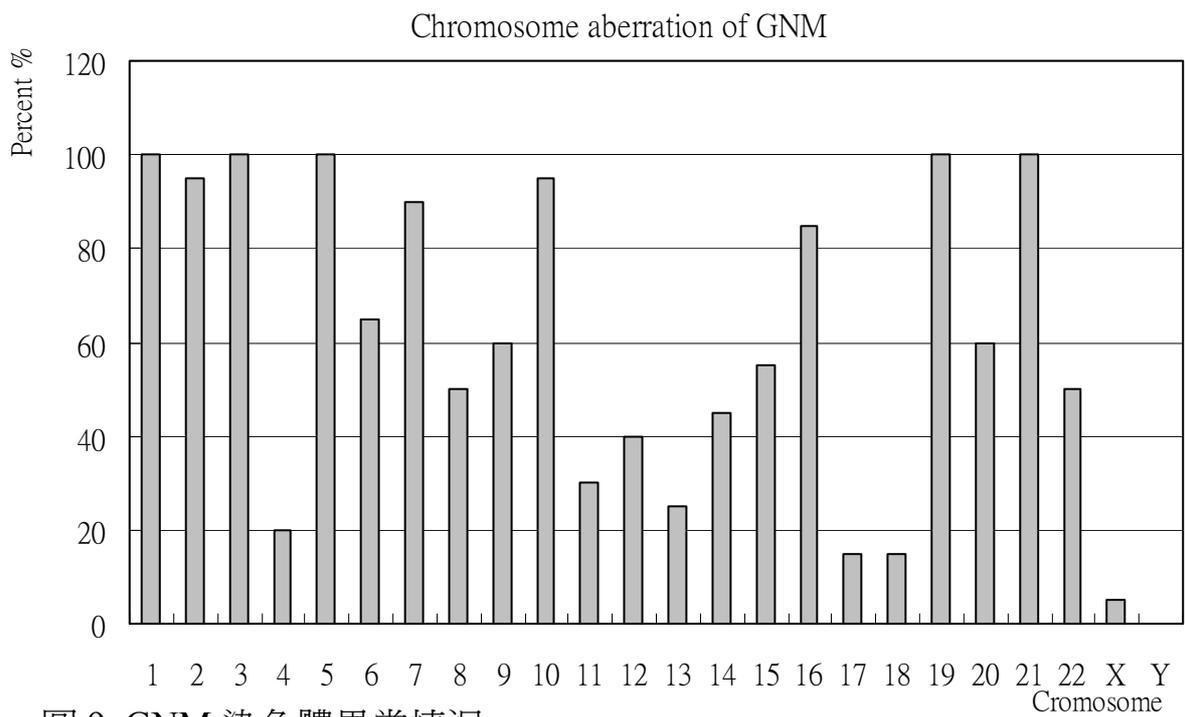


圖 9. GNM 染色體異常情況

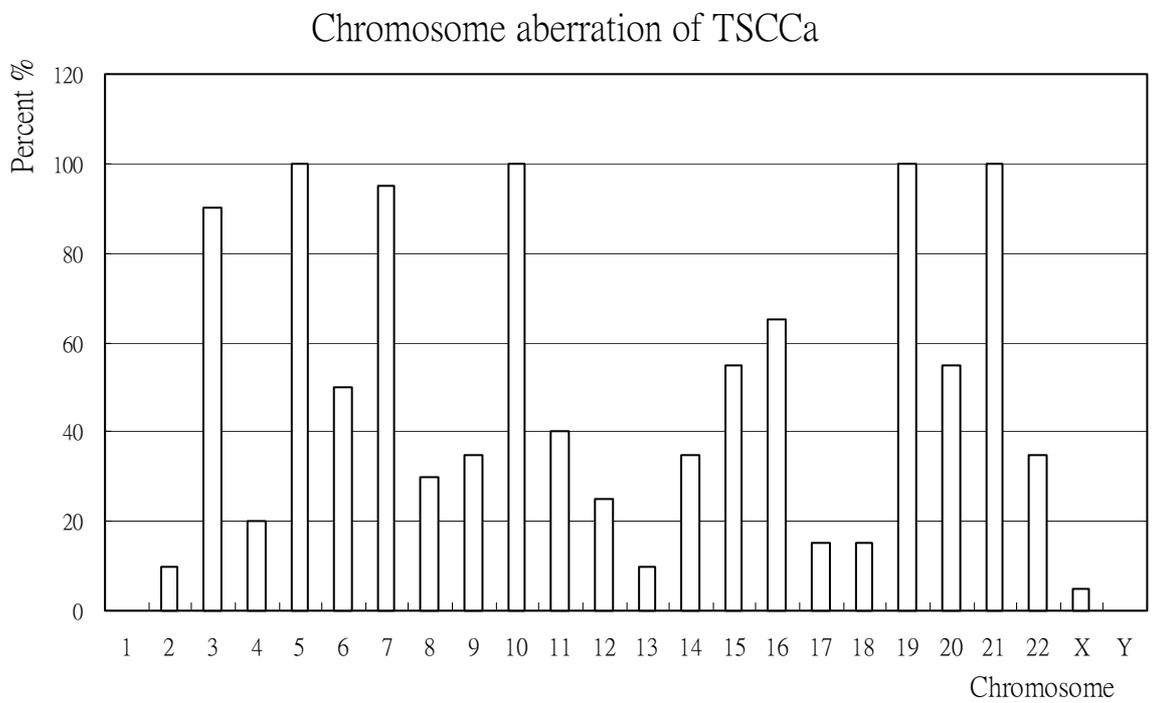


圖 10. TSCCa 染色體異常情況

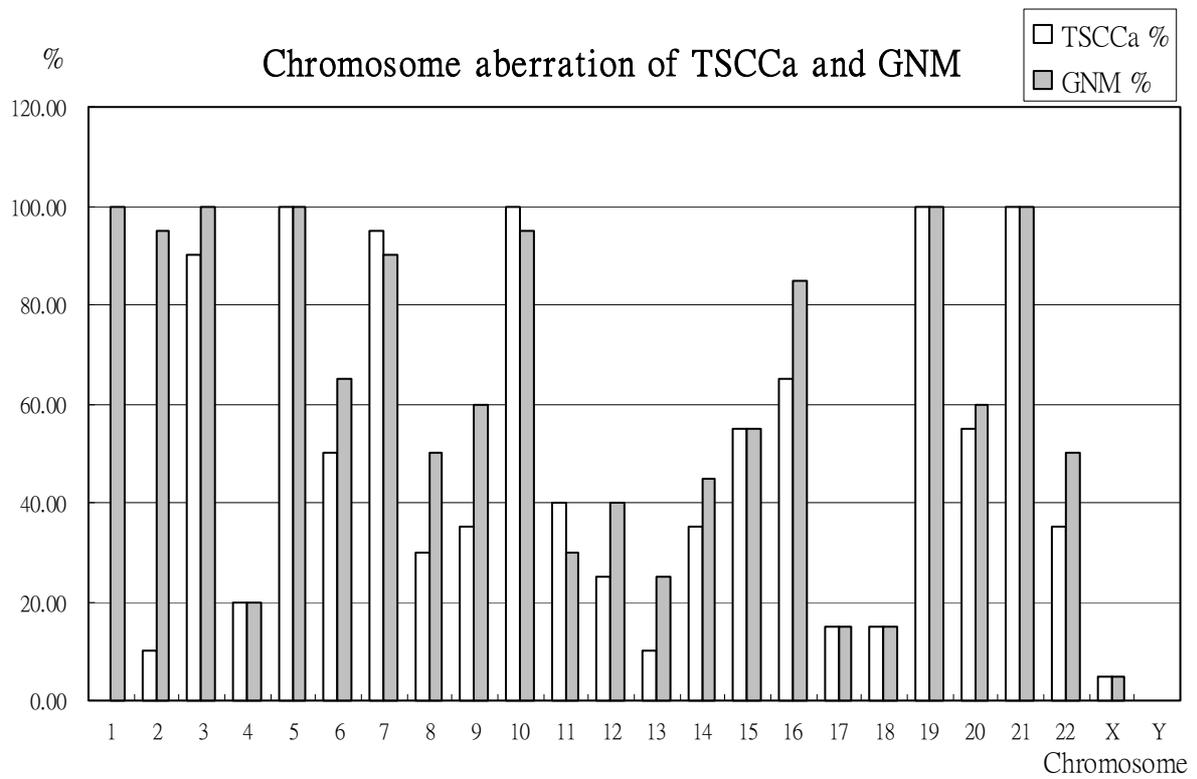


圖 11. GNM 與 TSCCa 染色體異常比較

由圖中可知 GNM 與 TSCCa 的核型 (karyotypes) 比較情況，GNM 的第一對與第二對染色體異常情況嚴重。

Chromosoms aberration of GNM

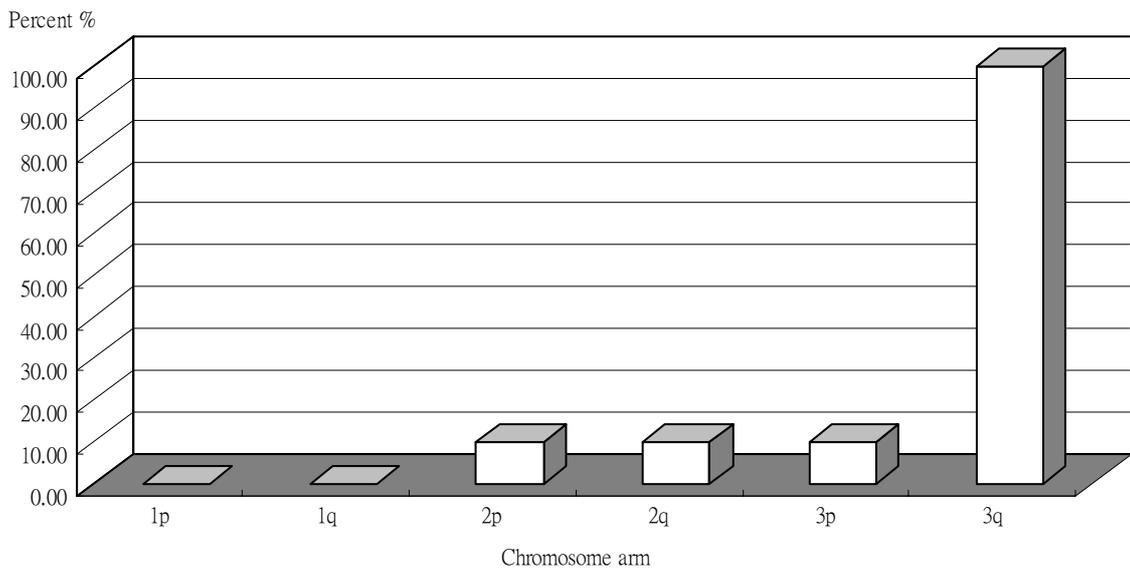
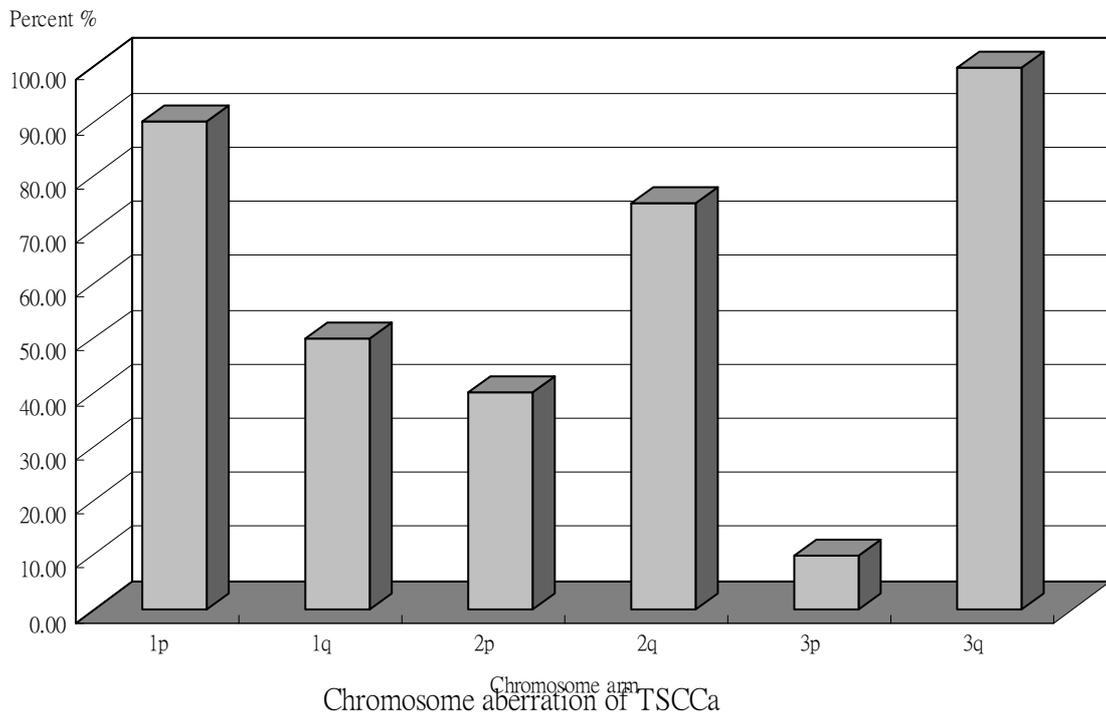


圖 12. GNM 與 TSCCa 在 1p、1q、2p、2q、3p、3q 的異常情況

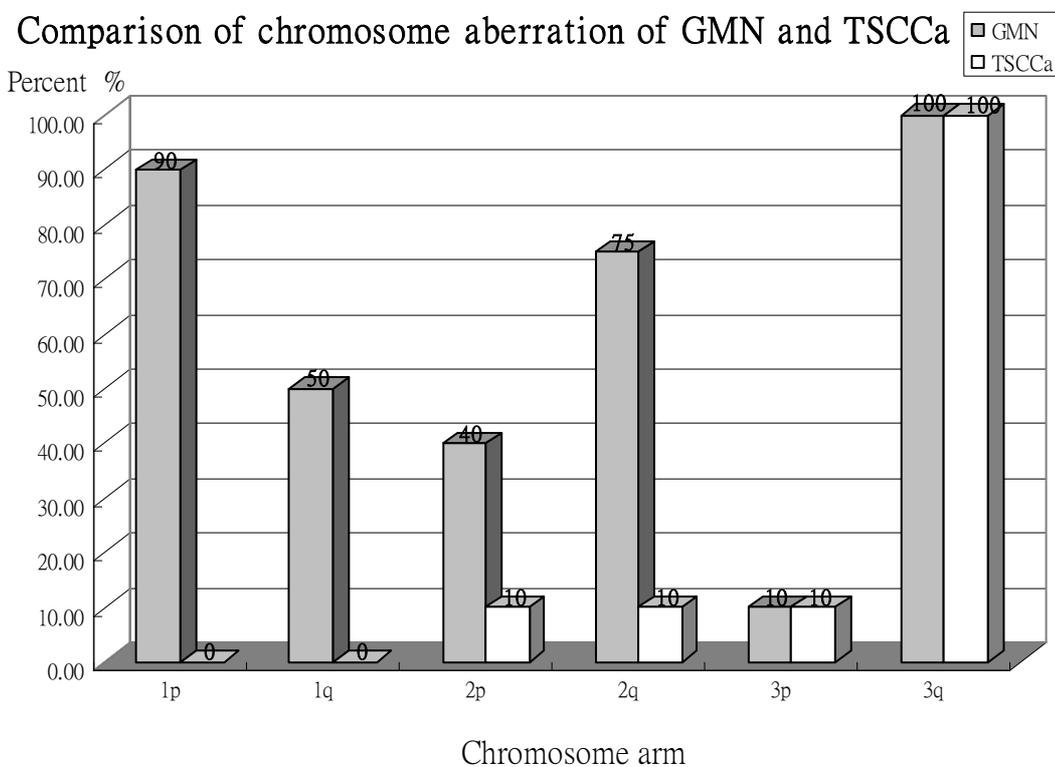


圖 13. GMN 與 TSCCa 在 1p、1q、2p、2q、3p、3q 的異常情況比較
 由表中可發現 GMN 在 1p、2q 的異常情況比 TSCCa 嚴重，而
 3q 的異常情況相同。

正常染色體

異常染色體

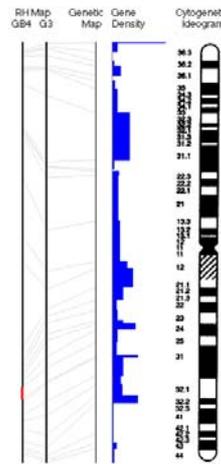
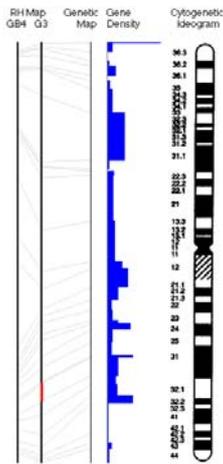


Normal chromosome 1

del(1)(p31q10)

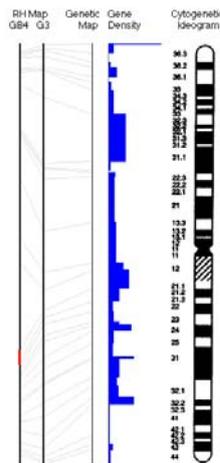
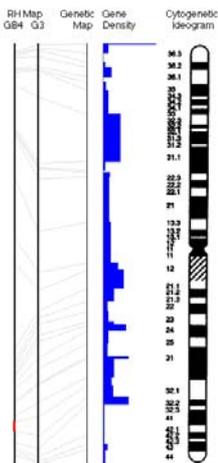
ins(1;6)(p22;q21q27)

抑癌基因的位置



Chromosome 1 D1S306-D1S491

Chromosome 1 D1S461-D1S2622



Chromosome 1 D1S474-D1S439

Chromosome 1 D1S2635-D1S2844

Chromosome 1 D1S2843-D1S417

圖 14. GNM 第一對染色體異常情況與抑癌基因的位置比較

資料來源 NCBI 的 Gene Map

正常染色體

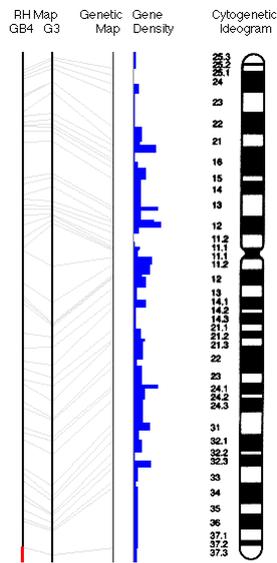
異常染色體



Normal chromosome 2

del (2) (q24q37)

抑癌基因的位置



Chromosome 2 D2S125-qTEL

圖 15. GNM 第二對染色體異常情況與抑癌基因的位置比較
資料來源 NCBI 的 Gene Map

正常染色體

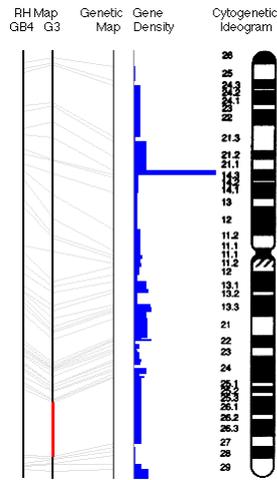
異常染色體



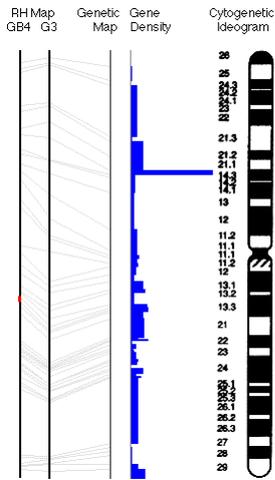
Normal chromosome 3

del (3) (q10)

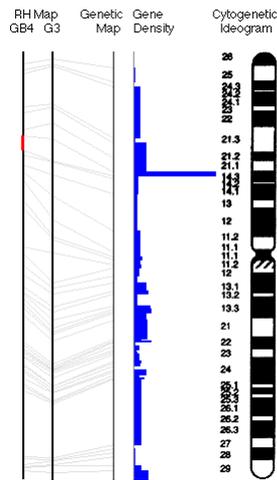
抑癌基因的位置



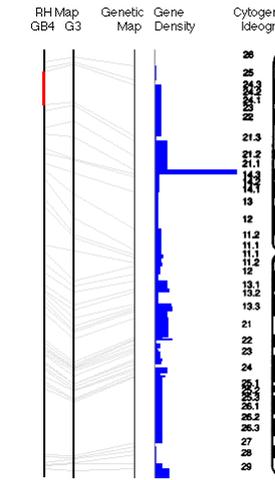
Chromosome 3 D3S1553-D3S1580



Chromosome 3 D3S3576-D3S1267



Chromosome 3 D3S3582-D3S1588



Chromosome 3 D3S3591-D3S1283

圖 16. GNM 與 TSCCa 第三對染色體異常情況與抑癌基因的位置比較
資料來源 NCBI 的 Gene Map

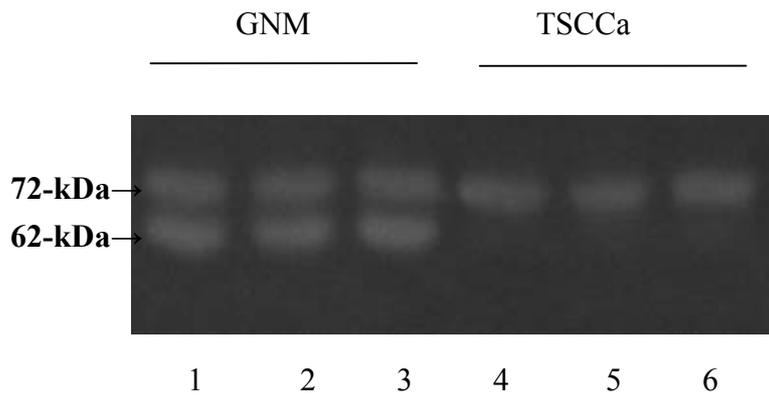


圖 17. MMP-2/Gelatinase A 活性實驗

1、2、3 組是 GNM；4、5、6 組是 TSCCa。由結果得知，GNM 與 TSCCa 的 72kDa (proMMP-2) 的活性一樣高；但 GNM 的 62kDa (activeMMP-2/gelatinase A) 活性結果比 TSCCa 高，顯示 GNM 的 activeMMP-2/gelatinase A 活性較高，遠端轉移能力也較高。

陸、參考文獻

1. N.A. Bergamo, S.R. Rogatto, R.C. Poli-Frederico, P.P. Reis, et. al. Comparative Genomic Hybridization Analysis Detects Frequent Over-Representation of DNA Sequences at 3q, 7p, and 8q in Head and Neck Carcinomas. *Cancer Genet Cytogenet* 2000;119:48-55.
2. D.E. Rooney, Human cytogenetics: Constitutional analysis. Oxford University Press, 2001.
3. 金輝喜，人口鱗癌頸淋巴結轉移癌細胞系和人舌鱗癌細胞系的建立及其生物學特性分析，湖北醫科大學口腔醫學院，1997年五月十日。
4. T. Maeda, A. Jikko, H. Hiranuma, H. Fuchihata. Analysis of genomic instability in squamous cell carcinoma of the head and neck using the random amplified polymorphic DNA method. *Cancer Letters* 1999;138:183-188.
5. C. Scully, J.K. Field, H. Tanzawa. Genetic aberrations in oral or head and neck squamous cell carcinoma (SCCHN): 1. Carcinogen metabolism, DNA repair and cell cycle control. *Oral Oncology* 2000;36:256-263.
6. S.-C. Lin, Y.-J. Chen, S.-Y. Kao, M.-T. Hsu, C.-H. Lin, S.-C. Yang, et. al. Chromosomal changes in betel-associated oral squamous cell carcinomas and their relationship to clinical parameters. *Oral Oncology* 2002; 38: 266-273.
7. R.P. Hogg, S. Honorio, A. Martinez, A. Agathangelou, A. Dallol, P. Fullwood, et. al. Frequent 3p allele loss and epigenetic inactivation of the *RASSF1A* tumour suppressor gene from region 3p21.3 in head and

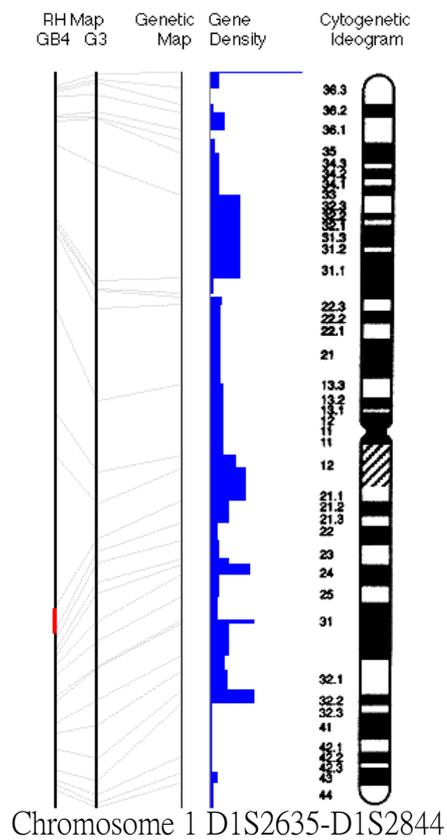
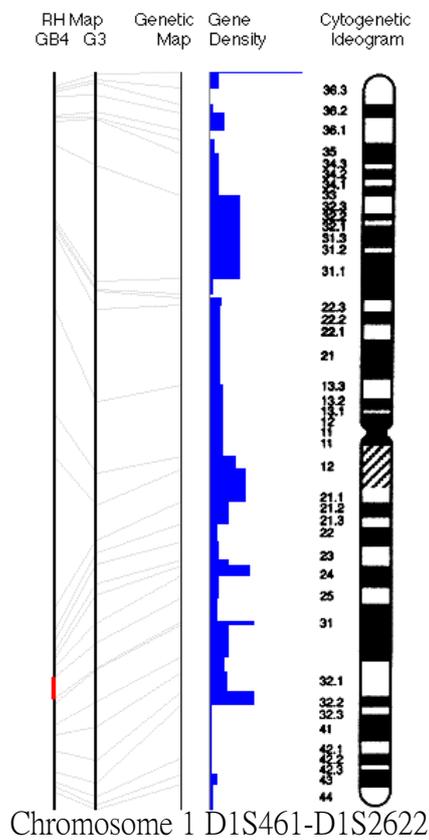
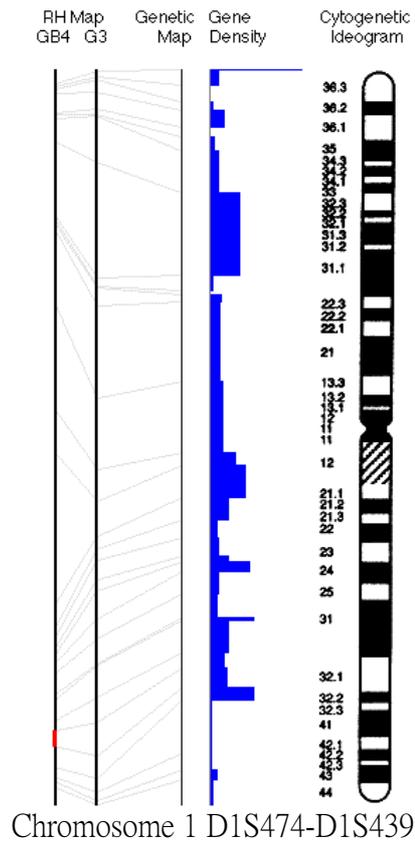
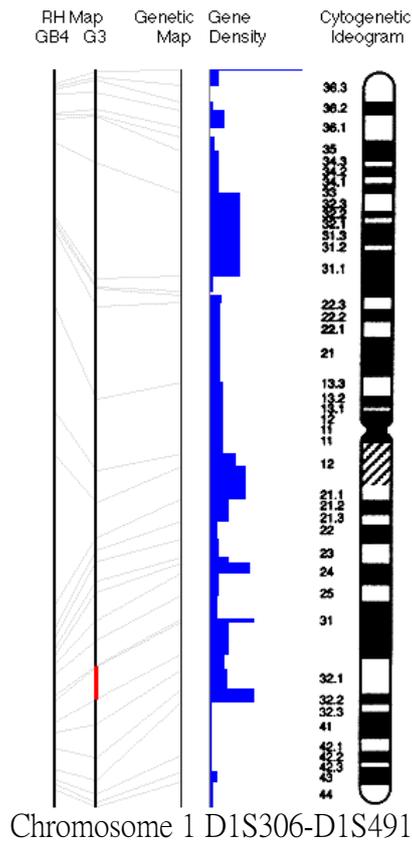
- neck squamous cell carcinoma. *European Journal of Cancer* 2002;38:1585-1592.
8. Q. Huang, G.P. Yu, S.A. McCormick, J. Mo, B. Datta, et. al. Genetic Differences Detected by Comparative Genomic Hybridization in Head and Neck Squamous Cell Carcinomas From Different Tumor Sites: Construction of Oncogenetic Trees for Tumor Progression. *GENES, CHROMOSOMES & CANCER* 2002;34:224–233.
 9. H. Ai, J.E. Barrera, Z. Pan, A.D. Meyers. M. Varella-Garcia. Identification of individuals at high risk for head and neck carcinogenesis using chromosome aneuploidy detected by fluorescence in situ hybridization. *Mutation Research* 1999;439: 223-232.
 10. J.A. Squire, J. Bayani, C. Luk, L. Unwin. Molecular cytogenetic of head and neck squamous carcinoma: By comparative genomic hybridization, spectral karyotyping, and expression array analysis. *Head & Neck* 2002;24:874-888.
 11. T. Ried, M. Liyanage, S.D. Manoir, K. Heselmeyer, et. al. Tumor cytogenetics revisited: comparative genomic hybridization and special karyotyping. *J Mol Med* 1997;75:801-814.
 12. J. Takita¹, H.W. Yang, Y.Y. Chen¹, R. Hanada, K. Yamamoto, T. Teitz, V. Kidd, Y. Hayashi. Allelic imbalance on chromosome 2q and alterations of the caspase 8 gene in neuroblastoma *Oncogene* 2001;20: 4424-4432
 13. C. Krona, K. Ejeskär, F. Abel, P. Kogner. Screening for gene mutations in a 500 kb neuroblastoma tumor suppressor- candidate region in chromosome 1p; mutation and stage-specific expression in

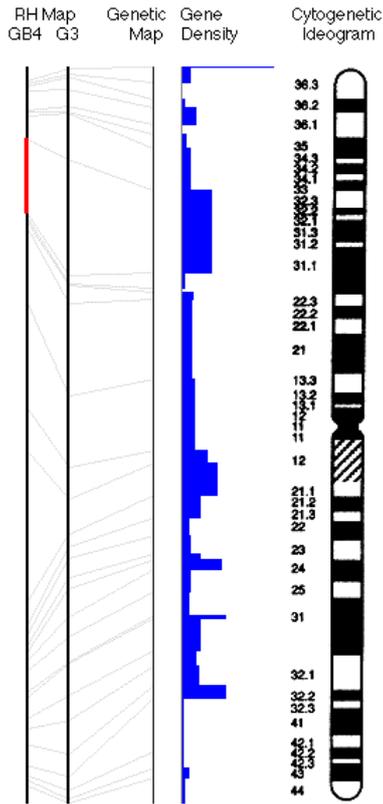
- UBE4B/UFD2. *Oncogene* 2003;22:2343-2351.
- 14.M. Manchester, M.K. Liszewski, J.P. Atkinson, M.B.A. Oldstone. Multiple isoforms of CD46 (membrane cofactor protein) serve as receptors for measles virus. *Medical Sciences* 1994;91:2161-2165.
- 15.P. Jay, J.L. Bergé-Lefranc, C. Marsollier, C. Méjean, et. al. The human growth factor-inducible immediate early gene, CYR61, maps to chromosome 1p. *Oncogene* 1997;14:1753-1757.
- 16.J.S. Smith, B. Alderete, Y. Minn, T.J. Borell, et. al. Localization of common deletion regions on 1p and 19q in human gliomas and their association with histological subtype. *Oncogene* 1999;18:4144-4152.
- 17.S.C. Kaul, T. Sugihara, A. Yoshida, H. Nomura, et. al. Gros1, a potential growth suppressor on chromosome 1: Its identity to basement membrane-associated proteoglycan, leprecan. *Oncogene* 2000;19:3576-3583.
- 18.Y. Tokumaru, M. Fujii, Y. Otani, K. Kameyama, Y. Imanishi, N. Igarashi, et. al. Activation of matrix metalloproteinase-2 in head and neck squamous cell carcinoma: studies of clinical samples and in vitro cell lines co-cultured with fibroblasts. *Cancer Letters* 2000; 150: 15-21.
- 19.B.L. Ziober, M.A. Turner, J.M. Palefsky, M.J. Band, R.H. Kramer. Type I collagen degradation by invasive oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncology* 2000;36:365-372.
- 20.P. O-charoenrat, P.H. Rhys-Evans, D.J. Archer, S.A. Eccles. *C-erbB* receptors in squamous cell carcinomas of the head and neck: clinical significance and correlation with matrix metalloproteinases and vascular endothelial growth factors. *Oral Oncology* 2002;38:73-80.

- 21.H. Kumamoto, K. Yamauchi, M. Yoshida, K. Ooya. Immunohistochemical detection of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med* 2003;32:114-120.
- 22.E.V. Sugarbaker. Current problems in cancer. Yearbook Medical publishers. Chicago. 1979:3-59.
- 23.I.J. Fidler, D.M. Gersten, C.W. Giggs. Relationship of host immune status to tumor cell arrest, distribution, and survival in experimental metastasis. *Cancer* 1977;40:46.
- 24.G. Yogeewaran, A. Gronberg, M. Hansson. Correlation of glycosphingolipids and sialic acid in YAC-1 lymphoma variants with their sensitivity to natural killer-cell-mediated lysis. *Int J Cancer* 1981;28:517.
- 25.L. Ossowski . In vivo invasion of modified chorioallantoic membrane by tumor cells: the role of cell surface-bound Urokinase. *J Cell Biol* 1988;107:2437.
- 26.Y. Kudo, T. Takata, I. Ogawa, M. Zhao, S. Sato, T. Takekoshi, et. al. Reduced expression of p27^{Kip1} correlates with an early stage of cancer invasion in oral squamous cell carcinoma. *Cancer Letters* 2000;151:217-222.
- 27.C. Schneeberger, S. Eder, H. Swoboda, R. Ullrich, R. Zeillinger. A differential PCR system for the determination of *CCND1* (Cyclin D1) gene amplification in head and neck squamous cell carcinomas. *Oral Oncology* 1998;34:257-260.
- 28.A. Mahale, D. Saranath. Microsatellite alterations on chromosome 9 in chewing tobacco-induced oral squamous cell carcinomas from India.

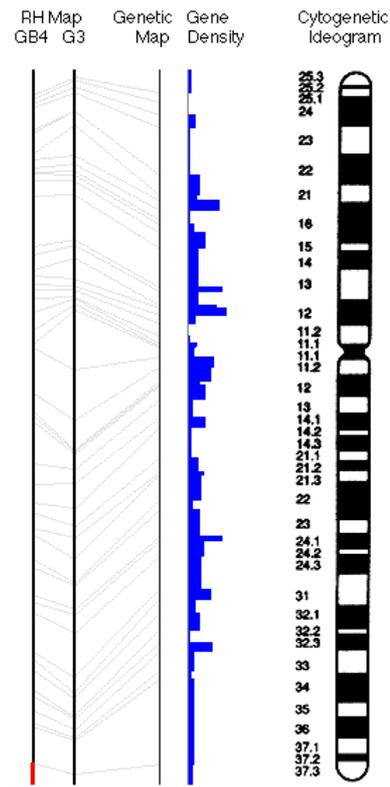
- Oral Oncology 2000;36:199-206.
- 29.E.J. Shillitoe. Gene therapy for oral cancer: recent progress in research. Oral Oncology 1998;34:157-160.
- 30.C. Jin, Y. Jin, J. Wennerberg, J. Åkervall, M. Dictor, F. Mertens. Karyotypic heterogeneity and clonal evolution in squamous cell carcinomas of the head and neck. Cancer Genetics and Cytogenetics 2002;132:85-96.
- 31.N. McNeil, T. Ried. Novel molecular cytogenetic techniques for identifying complex chromosomal rearrangements: technology and applications in molecular medicine. <http://www-ermm.cbcu.cam.ac.uk>
- 32.Shafer et. al. 關學婉校閱，許輝吉編譯，林正仲校對，口腔病理學，環球書社，中華民國八十一年三月初版八印。
- 33.The Diagram Group 原著，陳吉平 編譯，遺傳學與細胞生物學，合記圖書出版社，西元 2002 年 2 月 10 日初版一刷。
- 34.Ausubel, et.al. 10.1.1 ;BIO-RAD Protein Assay Kit Instructions ;Anal. Biochem 1976;72:248-254.

附圖—資料來源 NCBI 的 Gene Map

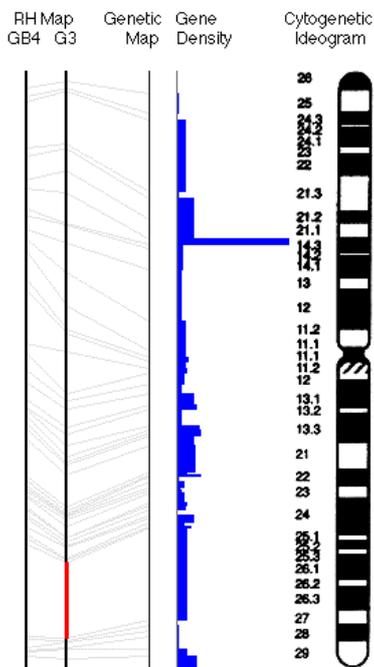




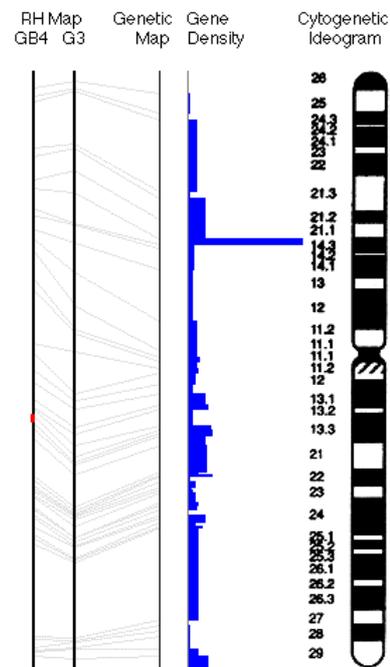
Chromosome 1 D1S2843-D1S417



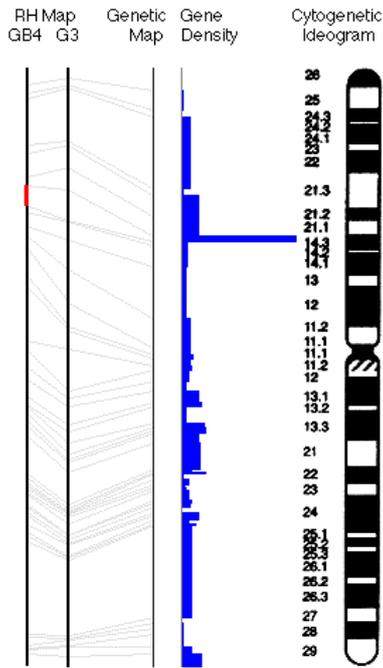
Chromosome 2 D2S125-qTEL



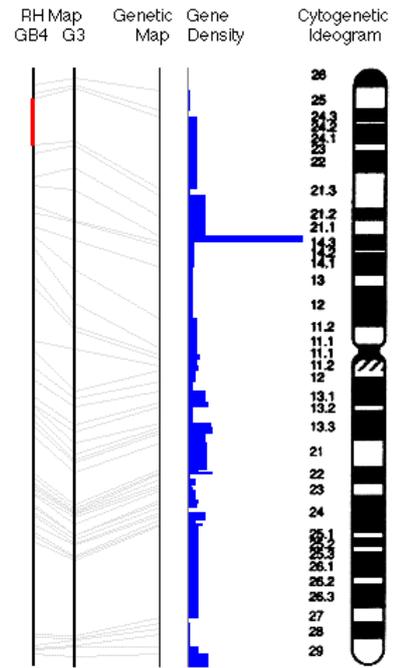
Chromosome 3 D3S1553-D3S1580



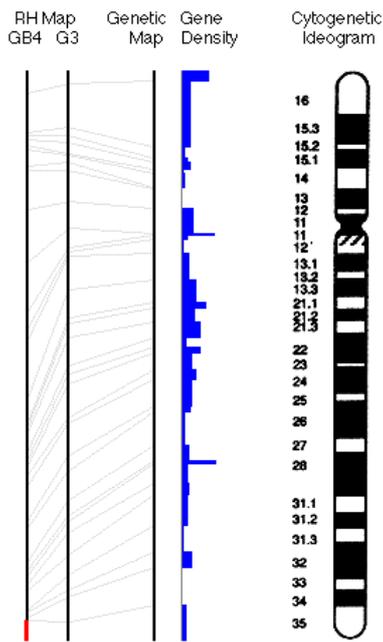
Chromosome 3 D3S3576-D3S1267



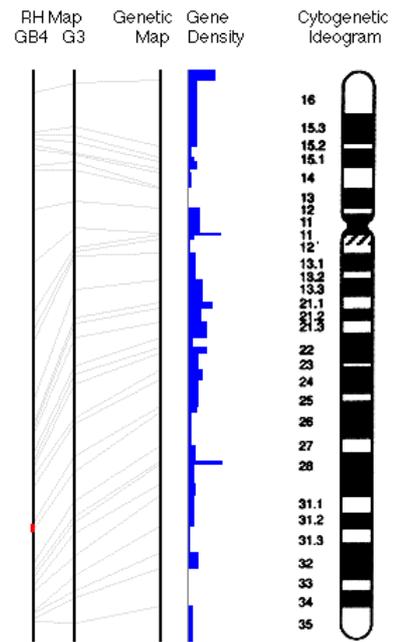
Chromosome 3 D3S3582-D3S1588



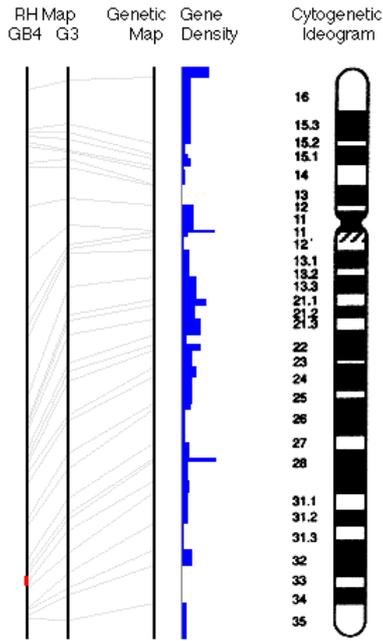
Chromosome 3 D3S3591-D3S1283



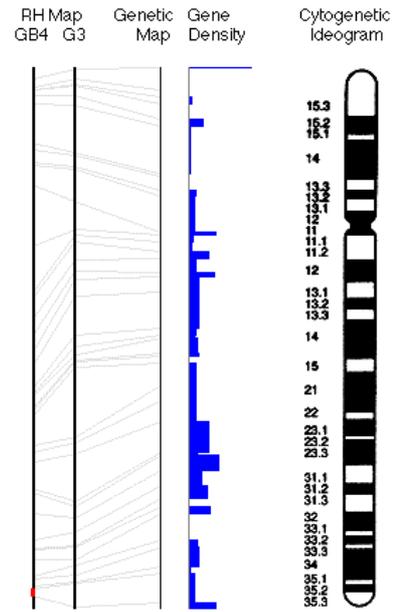
Chromosome 4 D4S408-qTEL



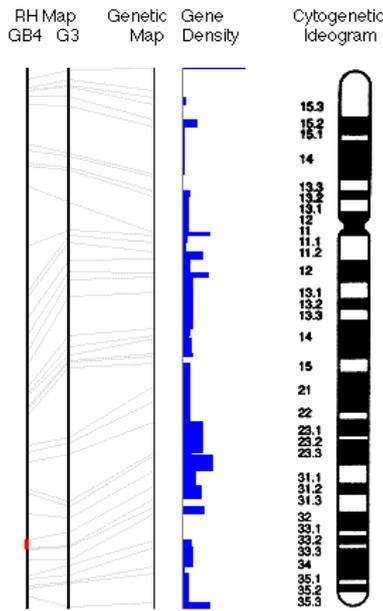
Chromosome 4 D4S430-D4S1615



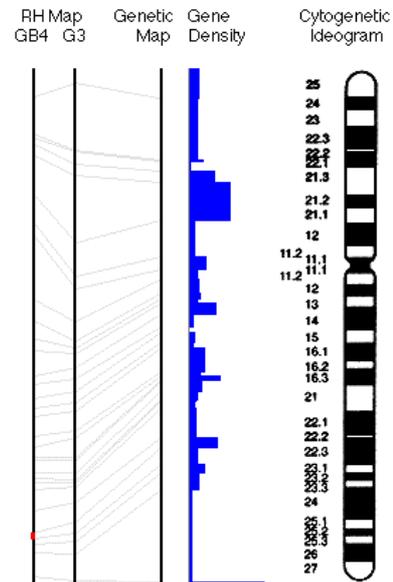
Chromosome 4 D4S1586-D4S1548



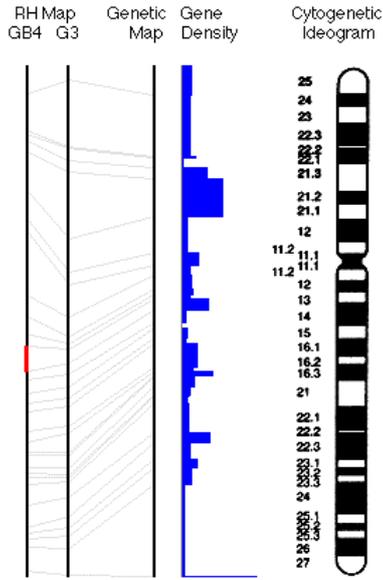
Chromosome 5 D5S498-D5S408



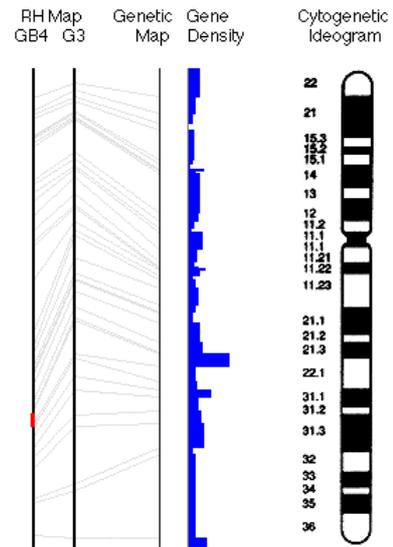
Chromosome 5 D5S470-D5S487



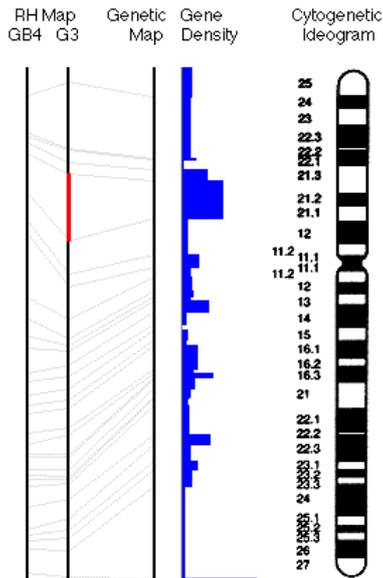
Chromosome 6 D6S311-D6S440



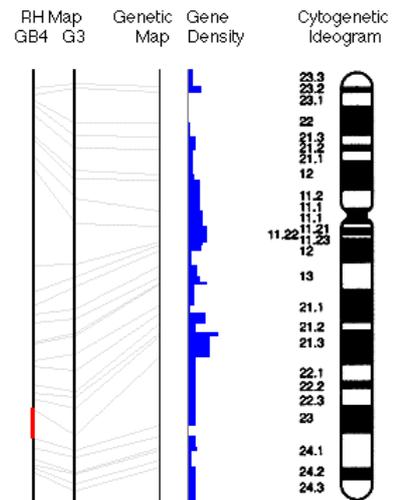
Chromosome 6 D6S445-D6S1644



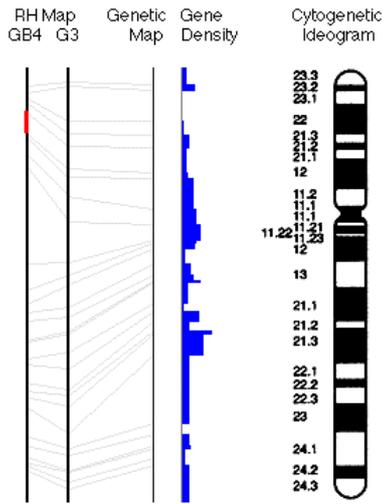
Chromosome 7 D7S479-D7S2545



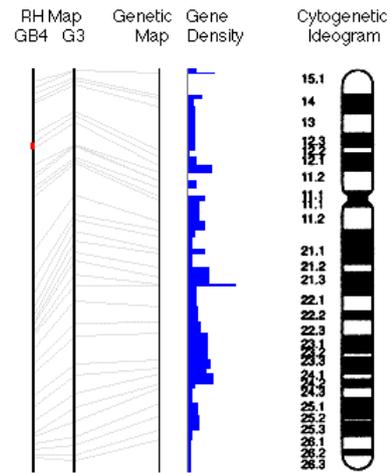
Chromosome 6 D6S1558-D6S1616



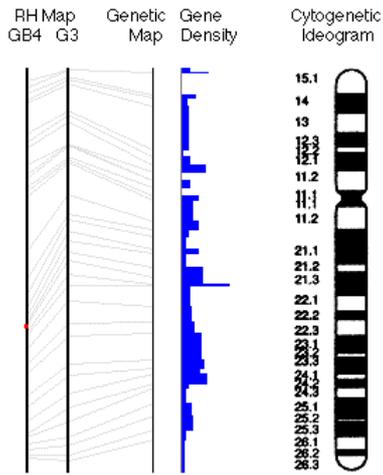
Chromosome 8 D8S257-D8S508



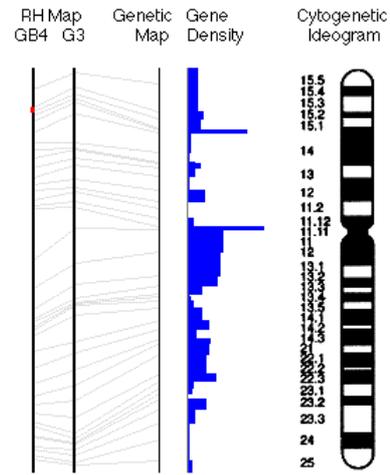
Chromosome 8 D8S549-D8S258



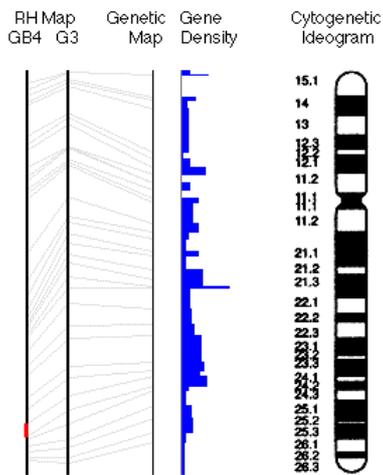
Chromosome 10 D10S1763-D10S548



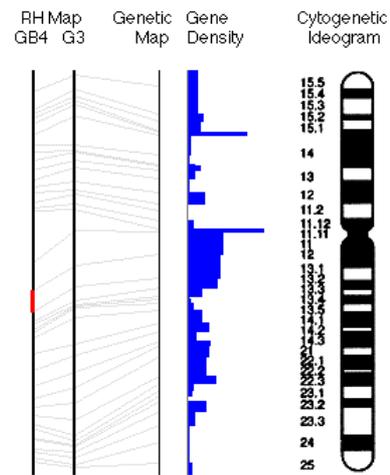
Chromosome 10 D10S210-D10S537



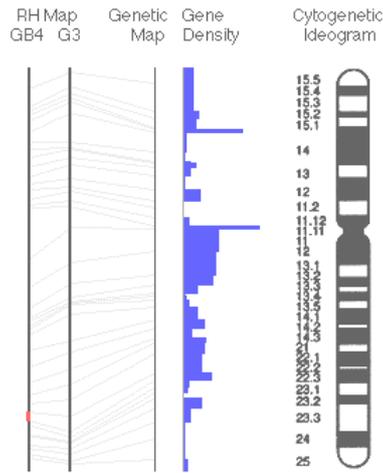
Chromosome 11 D11S909-D11S4194



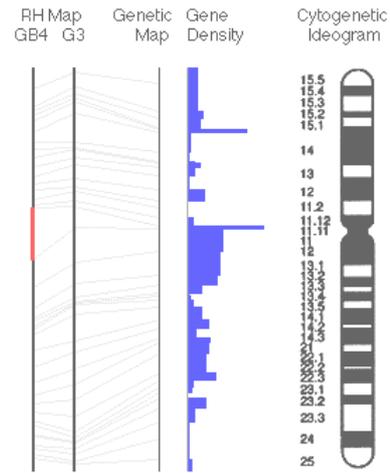
Chromosome 10 D10S597-D10S1681



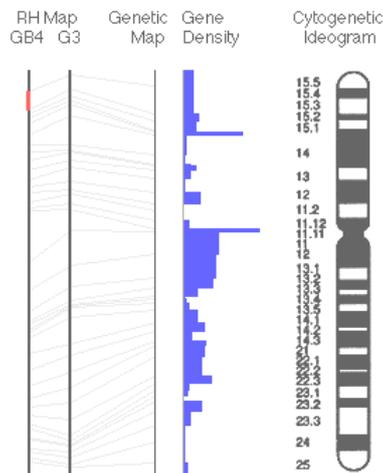
Chromosome 11 D11S913-D11S916



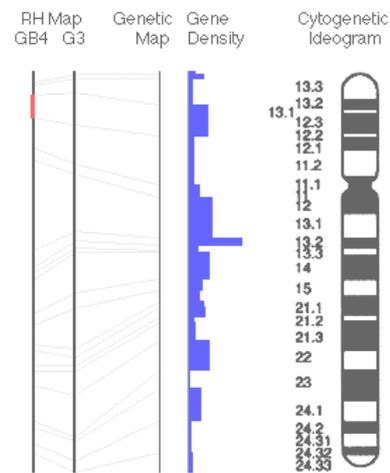
Chromosome 11 D11S939-D11S924



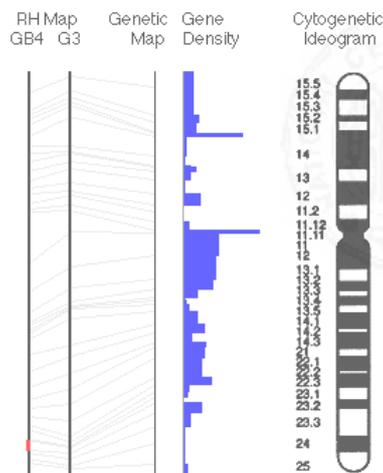
Chromosome 11 D11S1361-D11S1357



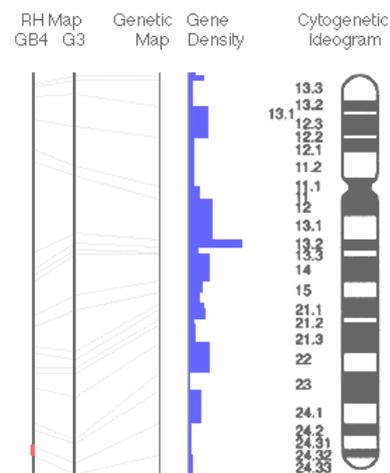
Chromosome 11 D11S1318-D11S909



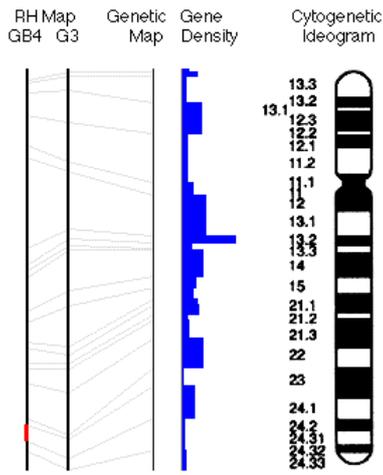
Chromosome 12 D12S99-D12S358



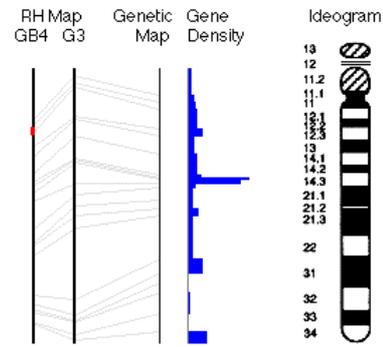
Chromosome 11 D11S1353-D11S934



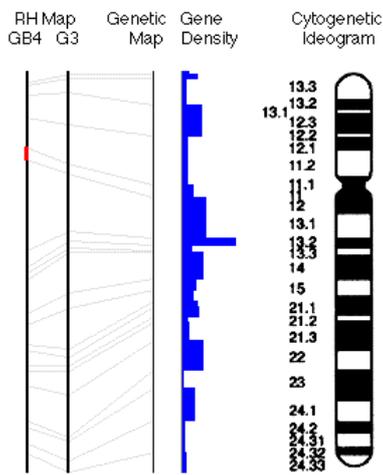
Chromosome 12 D12S340-D12S97



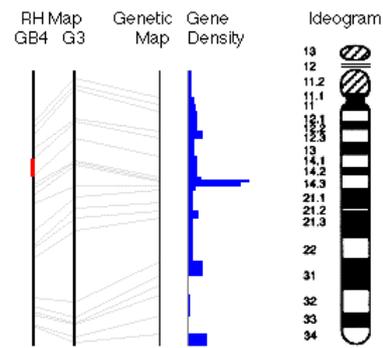
Chromosome 12 D12S366-D12S340



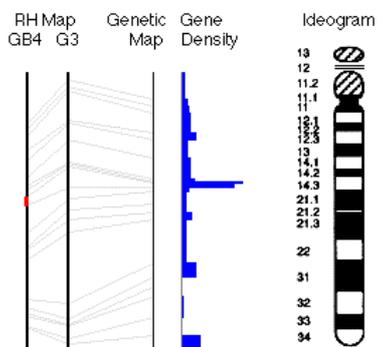
Chromosome 13 D13S221-D13S1244



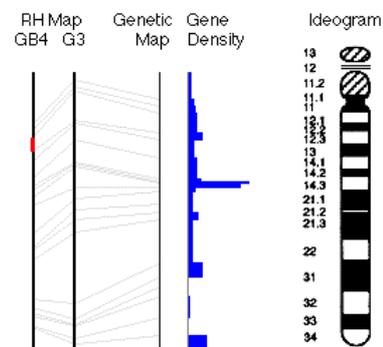
Chromosome 12 D12S1596-D12S333



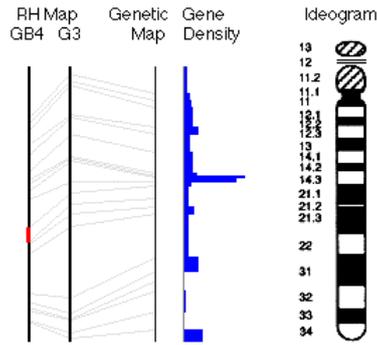
Chromosome 13 D13S267-D13S1253



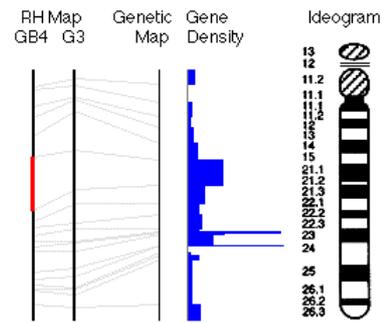
Chromosome 13 D13S153-D13S163



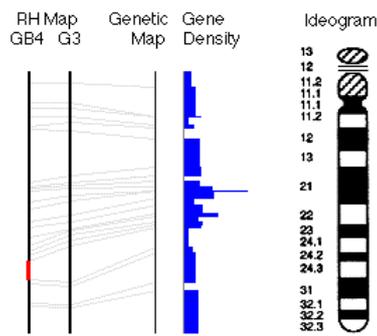
Chromosome 13 D13S1244-D13S260



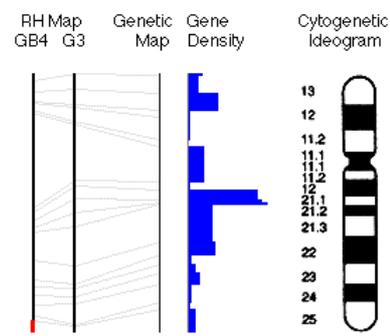
Chromosome 13 D13S1260-D13S152



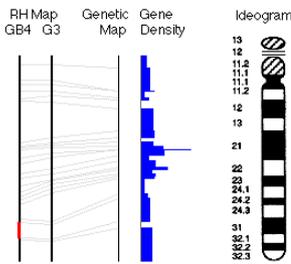
Chromosome 15 D15S146-D15S117



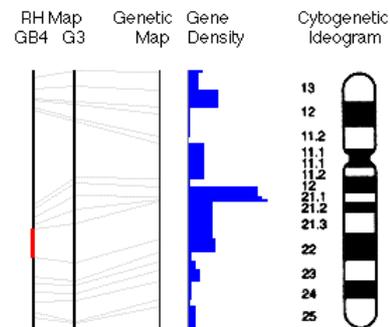
Chromosome 14 D14S74-D14S67



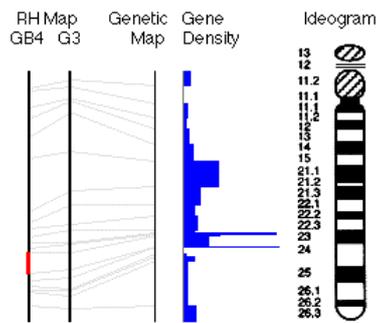
Chromosome 17 D17S784-qTEL



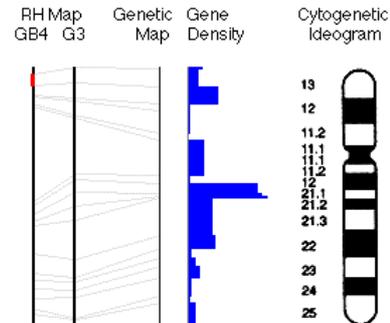
Chromosome 14 D14S1066-D14S265



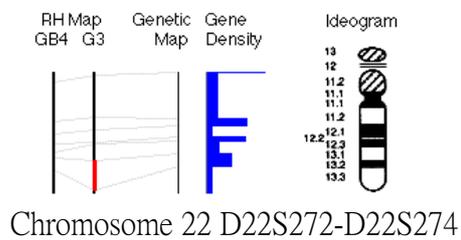
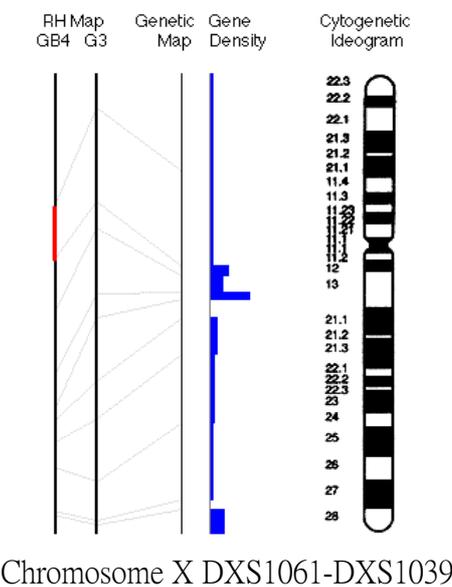
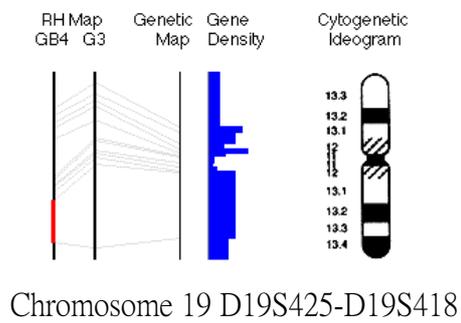
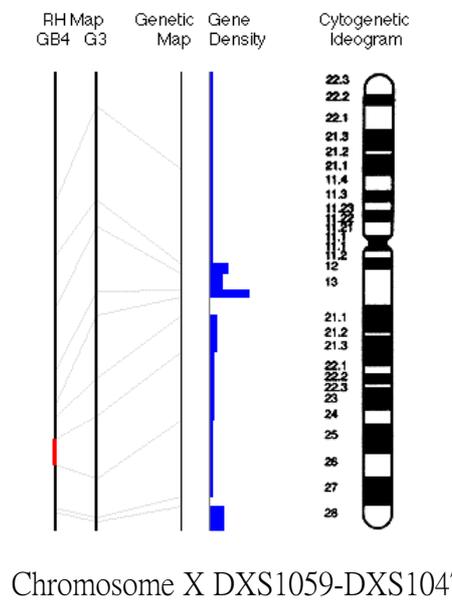
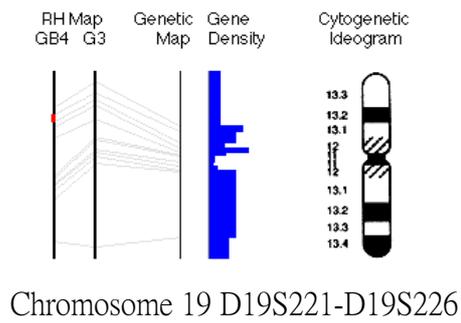
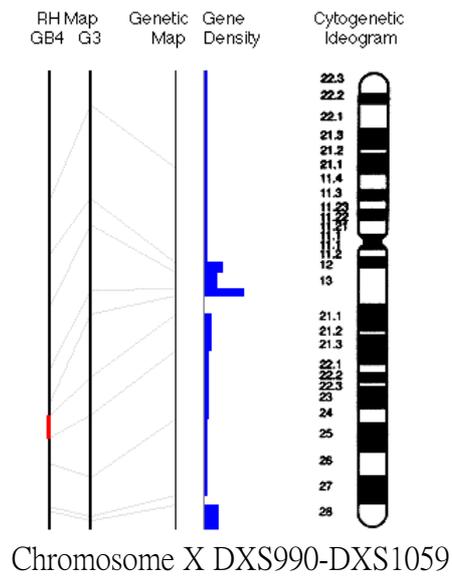
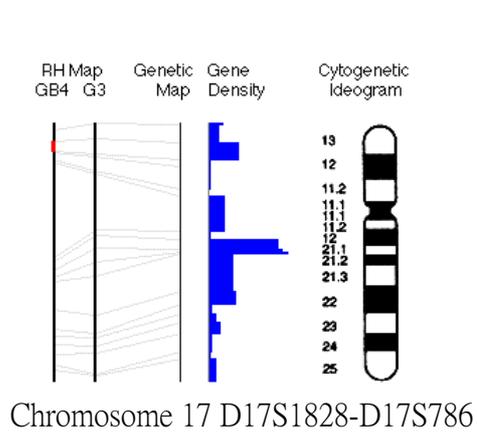
Chromosome 17 D17S791-D17S794



Chromosome 15 D15S114-D15S115



Chromosome 17 D17S849-D17S1828



中華牙醫學會年會學術研討會摘要稿紙

請將摘要原稿完整打字於下面框內；表格勾選方式在□上用滑鼠左鍵快點兩下即可

人類口腔鱗狀細胞癌染色體異常與轉移的關係 Relationship between the chromosomal aberration and metastasis in human oral squamous cell carcinoma

黃天龍▲(Huang TL) 李月君(Li YC) 林齊強(Lin CC) 張育超(Chang YC) 廖容慧(Liao JH)
劉玉惠(Liu YH) 周明勇(Chou MY)

中山醫學大學牙醫系 口腔醫學研究所

在癌細胞中，常發現有染色體異常的現象，而且異常的狀況常與癌細胞轉移有密切的關係，但對於口腔癌，卻較少有這方面的研究。本研究採用 G-banding 的技術，得到口腔鱗狀細胞癌細胞株中染色體的變化，並探討染色體變化與轉移的關係。以細胞培養的方式，培養兩株口腔鱗狀細胞癌細胞株，GNM(有頸淋巴結轉移)與 TSCCa(無頸淋巴結轉移)，使用 G-banding 的技術排出其染色體，比較其異常及相異處。結果顯示 GNM 主要在第 1,2,3,5,7,10,19,21 對染色體異常，異常情況主要是染色體數目及染色體缺失；而 TSCCa 主要在第 3,5,7,10,19,21 對染色體異常，異常情況主要是染色體數目及染色體缺失，並且經由過去文獻得知，第 3 對染色體異常在口腔鱗狀細胞癌中是具有指標性的意義。而在本實驗結果中，GNM 與 TSCCa 的第 3 對染色體異常，確實是有較高的發生率，並且由 GNM 的染色體得知，第 1 對與第 2 對染色體異常有可能是癌細胞是否會有頸淋巴結轉移的重要訊息。

1. 論文負責人姓名： 周明勇

通訊處：台中市南區建國北路一段 110 號

電話：24718668-5142 傳真：27459065

電子信箱：smallpig1023@yahoo.com.tw

2. 摘要分類（請勾選一項）：

口頭報告 貼示報告 桌面示範

3. 發表者姓名：黃天龍

通訊處：台中市南區建國北路一段 110 號

電話：24718668-5142 傳真：27459065

電子信箱：smallpig1023@yahoo.com.tw

身份： 會員 非會員（待入會）

4. 審查結果（學會專用）

接受 婉拒

5. 摘要分科（請勾選一項）：

- 1) 口腔生物學
- 2) 口腔組織暨材料科學
- 3) 口腔病理學
- 4) 口腔植體學
- 5) 口腔顎面外科學
- 6) 牙周病學
- 7) 牙髓病學
- 8) 牙體復形學
- 9) 兒童牙科學
- 10) 預防暨家庭牙醫學
- 11) 齒顎矯正學
- 12) 廣復補綴學
- 13) 其他

收件處：106/台北市新生南路三段 52 號 4 樓

電話：02-2366-1342

傳真：02-2366-1344

電子信箱：<mailto:ads.tw@msa.hinet.net>

請以電子郵件投稿或以磁片郵寄本會