



中國醫藥大學
醫學研究所
碩士學位論文

台灣前列腺癌病人基因多型性之研究

**E-Cadherin Gene 3'-UTR C/T and IL-2 Gene C/T
Polymorphisms are Associated with Prostate Cancer
Patients in Taiwan**

指導教授：陳汶吉 副教授

研究生：吳肇毅

中華民國九十六年七月
中國醫藥大學 醫學研究所

中文摘要

細胞黏著蛋白 (CDH-1) 是一種細胞與細胞間黏著的分子，它能維持細胞的完整性和傳達細胞內與細胞外的訊息，所以 CDH-1 被認為可能與癌症的生成或是轉移有關。另一方面，細胞激素-介白素(IL)被指出與前列腺癌的免疫抑制或生成有關。我們的目的是要研究 CDH-1、IL-2 和 IL-2R β 基因的多型性與前列腺癌之間的關係。我們將 96 位前列腺癌的病人和 114 位在住在相同區域的正常受試者做 CDH-1、IL-2 和 IL-2R β 基因多型性的比較，且追蹤病人的狀況長達五年。CDH-1 和 IL-2 基因在前列腺癌的病人與正常受試者做比較，在基因型的分佈上有明顯的差異 (各別為 $p < 0.001$ 和 $p = 0.017$)，但在 IL-2R β 基因型的分佈上並沒有明顯的差異 ($p = 0.388$)。根據病人的年齡、病理分級、臨床分級和荷爾蒙治療的反應與基因型的分佈比較，並沒有明顯的差異。另外，IL-2 基因多型性與前列腺癌的病人追蹤五年的存活分析之間的比較也無明顯的差異 (log rank test, $p = 0.19$)。因此我們認為 CDH-1 和 IL-2 基因可能是造成台灣族群形成前列腺癌的基因。

關鍵字：細胞黏著蛋白 (CDH-1)、介白素 2 (IL-2)、介白素 2 受體 β (IL-2R β)、

前列腺癌、單核苷酸多型性 (SNPs)

英文摘要

E-cadherin (CDH-1) is a cell-cell adhesive molecule which maintains cell integrity and communication between the intracellular and extracellular environment. CDH-1 may consequently be related to carcinogenesis or metastasis. And cytokines are reported to be associated with the inhibition of cancer or formation of prostate cancer. Our aim was to investigate 3'-UTR of the CDH-1 gene, C/T polymorphisms of the interleukin-2 (IL-2) gene and interleukin-2 receptor β (IL-2R β) gene are associated with prostate cancer. We compared the frequency of the polymorphisms of CDH-1 gene, IL-2 gene and IL-2 R β gene between 96 patients with prostate cancer and 114 healthy male volunteers from the same area (age >60 years). They were followed for at least 5 years. There was a significant difference in distribution of the genotype of the CDH-1 ($p < 0.001$) and IL-2 ($p = 0.017$) gene polymorphism between the prostate cancer group and the control group. There was no significant difference in the distribution of the genotype of the IL-2R β gene polymorphism between controls and cancer patients ($p = 0.388$). There was also no significant difference according to age, pathological grading, clinical staging, and responsiveness to hormone therapy among patients. However, no significant statistical difference was found between the polymorphism of the IL-2 gene and prostate cancer in survival analysis during a 5-year follow up period (log rank test $p = 0.19$). This study suggests that the CDH-1

and IL-2 gene may be associated with susceptibility to prostate cancer in the Taiwan population.

Keywords: E-cadherin (CDH-1), interleukin-2 gene (IL-2), interleukin-2 receptor β gene (IL-2R β), prostate cancer, single nucleotide polymorphisms (SNPs)



誌謝辭

首先我要將最深最誠摯的感謝獻給恩師陳汶吉老師，因著他的指導以及無私的給予，否則我不可能完成碩士學業；在我悶著頭瞎撞的時候，他伸出溫暖的雙手引領我走向光明的終點，當然也是人生的另一個起點。

另外也一定要謝謝夏德椿老師；一開始就是他鼓勵我報考碩士班，若沒有他就沒有今日的我。一路走來都有著他亦師亦兄的扶持，支持著我到最後。

謝謝醫院裡所有愛護我支持我的長官們，也謝謝整形外科、美容中心、高壓氧中心的所有同事們；謝謝你們的體諒，我必須有時要把心思放在課業上，而你們總可以讓我沒有後顧之憂。

最後要謝謝我的妻子美虹，還有我的孩子若忻；和你們再一起是我最快活的日子，看到你們的笑靨是我繼續衝下去的動力，謝謝你們！



目錄

中文摘要	I
英文摘要	II
誌謝辭	IV
目錄	V
第一章 前言	1
第一節 前列腺的構造與功能	2
第二節 前列腺癌	3
第三節 前列腺癌的治療	7
第四節 前列腺癌預防及治療的展望	9
第五節 單核苷酸多型性 (SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM)	11
第六節 細胞黏著蛋白與前列腺癌的關係	12
第七節 細胞激素與前列腺癌的關係	13
第八節 研究目的	14
第二章 材料與方法	16
第一節 病人的篩選	17
第二節 PCR-RFLP 分析	18
第三節 KAPLAN-MEIER SURVIVAL ANALYSIS	19
第四節 統計方法	20
第三章 結果	21
第一節 CDH-1 基因多型性分析的結果	22
第二節 IL-2 基因多型性分析的結果	23
第四章 討論	25
第一節 CDH-1 基因多型性分析的討論	26
第二節 IL-2 基因多型性分析的討論	28
第三節 研究限制以及未來的展望	30
參考文獻	32

表與圖 39

Table 1. CDH-1 基因 3'-UTR C/T、IL-2 基因 exon 1, position +114 G/T 和 IL-2R β 基因 C/T 進行 RFLP 的反應條件	40
Table 2. 前列腺病人與正常人 CDH-1、IL-2、IL-2R β 基因多型性基因型分佈的情形。	41
Table 3. 前列腺病人的年齡、臨床分級、病理分級和賀爾蒙治療反應與 CDH-1 C/T 基因型的分佈情形。	42
Table 4. 前列腺病人的年齡、臨床分級、病理分級和賀爾蒙治療反應與 IL-2 G/T 基因型的分佈情形。	43
Figure 1. CDH-1 3'-UTR C/T 定序的結果。(a)箭頭的位置表示並序的結果為 C/T (b)箭頭的位置表示並序的結果為 C (c)箭頭的位置表示並序的結果為 T	44
Figure 2. CDH-1 3'-UTR C/T 基因經 PCR 放大後的片段利用限制酶 <i>Pml</i> I 作用後所得的電泳圖。	45
Figure 3. IL-2 T/G 基因經 PCR 放大後的片段利用限制酶 <i>Mwo</i> I 作用後所得的電泳圖。	46
Figure 4. IL-2R β C/T 基因經 PCR 放大後的片段利用限制酶 <i>Hae</i> III 作用後所得的電泳圖。	47
Figure 5. 利用 Kaplan-Meier 存活曲線分析前列腺癌病人的存活率與 IL-2 (figure 1a, Log rank test, p=0.310)、IL-2R β (figure 1b, Log rank test, p=0.915) 基因多型性的關係。	48

第一章 前言



第一節 前列腺的構造與功能

健康的男性其前列腺的大小較核桃略大一點，位於骨盆腔的底部—膀胱下，尿道上；恥骨後，直腸前。其它的前列腺生理功能還有控制排尿與射精的功能。前列腺包圍在尿道外側，與膀胱頸接近，構成了近端尿道壁，其環狀平滑肌纖維圍繞尿道前列腺部，構成尿道內括約肌。排尿時，伴隨著逼尿肌的收縮，內括約肌則鬆弛，使排尿順利進行。前列腺實質內有尿道和兩條射精管穿過，當射精時，精囊與輸精管壺腹部的肌肉收縮，將輸精管和精囊腺中的精液經射精管壓入後尿道，因而造成後尿道內壓急遽上升，引發前列腺尿道劇烈收縮和內括約肌關閉膀胱頸，進而使精液射出體外。因此前列腺和男性的生殖與排尿功能是密不可分的。

前列腺是男性生殖系統中的一個器官，屬外分泌腺。前列腺的主要功能是製造、儲存和分泌前列腺液，它分泌的前列腺液，含有抗菌因子保護尿道，每天以 0.5-2 毫升的量，經前列腺腺管，排到後尿道，再隨著尿液排出體外。前列腺管腔內則儲存有前列腺液。前列腺液在射精時與精子混合成精液，可以溶解因精囊分泌蛋白而凝固的精液，以利於受孕，達成傳宗接代的使命。前列腺液中含有果酸和氨基酸，是精子活動的能源；另外含有大量的檸檬酸、鋅、磷酸、鉀、鈉、鎂、鈣等物質可使精液呈微鹼性，可緩和陰道的酸性環境，提高精子的生存率和活力。此外前列腺還是一個內分泌腺，它所分泌的酸性磷酸酶與前列腺特異抗原

(prostate specific antigen, PSA) 在青春期後增加並達到穩定，只有在前列腺癌發生時，酸性磷酸酶與 PSA 才會明顯增高，所以醫學上以酸性磷酸酶和 PSA 的變化來診斷前列腺癌。

第二節 前列腺癌

只有男性會罹患前列腺癌，而且最常發生於 50 歲以上的人，前列腺癌是發生於前列腺的惡性腫瘤，若前列腺其中有細胞的基因突變導致增殖失控，就成為癌症。惡性細胞除了體積擴大或侵犯鄰近器官，也可能轉移到身體其他部位，尤其是骨頭和淋巴結。前列腺癌可能造成下腹或是下背疼痛、排尿困難、勃起功能不全等症狀；在發病初期常是泌尿道的一些非典型症狀，也有可能完全沒有症狀。在西方國家，前列腺癌是男性第二常見的癌症，因而喪生的人數僅次於肺癌。然而也有許多前列腺癌的患者終其一生沒有症狀，從未治療，死因也不是前列腺癌，若不是檢查工具的發展，很多人可能都不知患了此症。

許多因素，包括基因和飲食，據信都和前列腺癌有關，但目前尚無法預防此一疾病。到目前為止，導致前列腺癌的原因，國內的文獻中並無明確之討論。只是從種種流行病學的數據上可以看出歐美的發生率比臺灣高，年齡高者罹患率及死亡率較高，居住在院轄市等高度開發地區者之死亡率比住在平地或山地鄉村之居民高，而且近年來之發生率及死亡率都還有逐漸升高之趨勢。所以有報告推

論這可能和基因體質、環境、飲食等方面有關聯[1,2]。

近年來前列腺癌有上升之趨勢，台灣男性罹患癌症排行第二位的為前列腺癌，這也是在泌尿系統最常發生的癌症，上升的原因有可能是偵測工具進步的關係。前列腺特異抗原（prostate specific antigen, PSA）是用來檢查前列腺癌最佳的腫瘤標誌，前列腺癌大多是在例行的健康檢查或抽血（如 PSA）篩檢發現的。當前列腺產生腫瘤時，血液中的 PSA 會增加；即使沒有上述泌尿道的症狀，也可以從血中的 PSA 值的變化發現前列腺癌。然而，前列腺肥大症、急性前列腺炎等病症也會使 PSA 值上升。因此，若要檢測前列腺癌，不能單只靠 PSA 值，還需要配合其它的檢查結果加以判斷。雖然關於前列腺特異抗原（即 PSA）的準確性和專一性目前仍有一些疑慮，不過它仍是現今應用最廣泛的前列腺癌篩選工具。若發現有疑似前列腺癌的個案時，應先做經直腸切片檢查，才能確立診斷。其他進一步檢查如 X 光、電腦斷層掃描、核磁共振和骨骼掃描等，則有助於了解前列腺癌是有否有外擴散。

前列腺癌發病遍佈世界各地。發病率各地不同。美國的發病率是世界最高，歐洲次之（歐洲各地發病率也不同），東亞與南亞最低。從人種來看，黑人前列腺癌發病率最高，白種人其次，黃種人前列腺癌發病率最低。生活在本土的黃種人比移居北美地區者發病率低，但美國的數字較高也許是因為美國地區的偵測率及受檢率較高。然而，近十年來在美國前列腺癌已經超越肺癌成為美國男性最常見的內在器官惡性腫瘤，在台灣前列腺癌的發生率雖不像美國那麼高，但也是年

年不斷地增加。因前列腺癌而死亡者在 1986 年有 127 人，在泌尿道癌症的死亡人數上僅次於膀胱癌和腎臟癌[1]。根據臺北及臺中榮民總醫院統計 1988 年全年罹癌病患，前列腺癌之發生占男性癌病第 10 位[3]。

前列腺癌在年齡標準化的死亡率中發現 1971 年為每十萬人口中 1.14 人；至 1974-1978 年間增加為 1.28 人；在 1979-1983 年為 1.38 人；1984-1988 年升高為 1.86 人；而到了 1989-1991 年更是爬升至每十萬人口 2.24 人[4]。由此可以看出在台灣過去二十幾年來前列腺癌之死亡率呈穩定增加之趨勢。在年齡別死亡率中，前列腺癌已經知道是好發於老年男性的惡性腫瘤，而其死亡率在 65 歲以後也有陡然上升的趨勢。在 1989-1991 年間，每十萬個年齡介於 60-64 歲的男性死於前列腺癌者有 3.89 人；同時期每十萬個年齡 65-69 歲的男性死於前列腺癌者有 11.28 人，而年齡 70 歲以上的男性死於前列腺癌者更高達 40.59 人。而以不同時期來比較，也可看出前列腺癌的死亡率愈來愈高；例如每十萬名 70 歲以上的男性在 1974-1978 年間死於前列腺癌者有 21 人，到了 1984-1988 年則增加至 30.88 人。

死亡率與居住地區之關係中，從 1982-1991 年每十萬人口年齡標準死亡率來看，居住在院轄市者死於前列腺癌的有 2.65 人，遠高於住在平地鄉和山地鄉的 1.78 人和 1.03 人。而從縣市別來看，居住在臺北市、臺中市及彰化市的男性其前列腺癌的死亡率遠高於住在其他縣市者[4]。

在前列腺癌的分期上，目前臺灣常用有美國泌尿科醫學會制(AUA System)和 TNM 制兩種，其間可以互通，主要依據腫瘤侵犯程度來分。高醫[5]的 42 例前列腺癌患者中有 5 例屬於 A 期(潛伏前列腺癌)，19 例屬於 B 期(前列腺被膜完整)，2 例屬 C 期(被膜已被侵犯)，和 16 例 D 期(有轉移)。三總王約翰[6]分析的 68 例中，有 8 例為 A 期，24 例為 B 期，6 例 C 期，30 例為 D 期。榮總[7]252 位前列腺癌患者中有 154 為求診時就已診斷為 D 期。由此可見有相當高比例的前列腺癌患者求診時都已有轉移的發生。依王[6]的研究，A 期和 B 期的前列腺癌其細胞多呈良好至中度分化；而 D 期前列腺癌則有相當多呈低度分化。

台灣的前列腺癌其侵犯轉移的情形，依榮總[7]統計 154 位轉移的患者發現，以骨骼轉移(77%)占最多，其次為淋巴結侵犯(36%)，另有 10%轉移到肺部，5%轉移到肝臟。在骨骼轉移中常為多處轉移，好發之部位則為脊柱(腰椎及胸椎)、骨盆骨、肋骨及胸骨。而骨轉移的表現方式有 73-90%為造骨型轉移[6,7]。另有報告顯示當經尿道前列腺切除術所取出之組織塊中有四分之三以上含有癌細胞時，其有骨骼轉移的可能性高達 90% [8]。在許等[9]的報告中，21 位臨床分期為局限型的前列腺癌中(C 期以下)，在手術時發現有 11 位已經有顯微鏡下的骨盆腔淋巴結轉移；且格氏分級中分化差的腫瘤較易有骨盆腔淋巴結轉移。

臺灣前列腺癌的病理組織型態與國外的報告並無二致。就腫瘤的組織型態而言，絕大多數為腺細胞癌，少數非腺細胞癌的病例幾乎全為個案病歷報告，這些包括有黏液細胞癌、惡性肉瘤、鱗狀上皮細胞癌、及移行上皮細胞癌[6,10,11]。

王[6]的報告中發現腺癌在光學顯微鏡下是由兩種細胞(亮細胞：含泡狀胞質，核染色淡；濃細胞：含濃密嗜鹼胞質)共同或其中之一種組成。在電子顯微鏡下的特徵為胞質中粒線體，高爾氏器增加且變大，分泌空泡；胞核呈多形性變化且變大，核仁明顯染色質濃染，核膜不規則。而黏液多醣的染色反應上每一例腺癌可含有中性或酸性不同種類的黏多醣類，但其分佈和分化與預後無特殊關係，故無特殊之診斷價值。

在腺癌的組織分級上大都以其退行性分化的程度和腺管成形能力為依據，目前在臺灣常用者為 Gleason(格氏)和 Mostofi(莫氏)的分法；前者分為五級，後者分為三級。王[6]依莫氏的分法來檢視三軍總醫院 106 位前列腺癌病人，結果其中有 1/4 為分化良好，1/4 為中度分化，而有近一半為低度分化的腺癌。以免疫化學方法來染組織中的前列腺酸性磷酸酶(PAP)和前列腺特異抗原(PSA)發現分化良好的腺癌其染色強；而低度分化的腺癌其染色弱。

第三節 前列腺癌的治療

前列腺癌的治療方法包括手術、放射治療、荷爾蒙治療，有時也做化學治療，這幾種療法可以合併運用。患者本身的年齡和健康狀況、癌細胞的擴散程度、顯微鏡所見的細胞形態，和初期治療的效果都關係到患者的預後。由於前列腺癌主要發生於老年男性，而前列腺癌的進展速度在癌症裡算是慢的，所以常有許多

患者在癌細胞造成症狀之前就已經死於其他原因。對適當的治療方案的選擇（包括選擇是否打算治癒），即為病患對於治療方案的正面與負面效果之間的取捨。

因臺灣的前列腺癌以往病例並不多，所以有系統地研究治療方法與結果的報告並沒有很多。王[6]報告的 68 位病人中，雖各期的病人都有，但治療上只做經尿道前列腺切除術(69%)或恥骨上(後)前列腺切除術(19%)，均非根治性之療法。榮總李等[12]對 26 位前列腺癌病患行根治性前列腺切除併骨盆腔淋巴結清除術，結果其病理分期分別為 A1:2 位，A2:1 位，B1:3 位，B2:2 位，C:7 位，D:11 位。而其所報告之手術後遺症包括直腸膀胱瘻管(1 位)，應力性尿失禁(13 位-其中 10 位以藥物治療痊癒，3 位以尿道旁鐵弗龍注射治療)，膜狀部尿道狹窄(1 位)，淋巴囊腫(1 位)。許等[9]發現在臨床分期為 B1 的前列腺癌，若有淋巴結轉移，都是侵犯到該腫瘤結節同側的骨盆腔淋巴結。在根除手術的技巧上，長庚醫院吳等[13]發表了以 Foley 尿管及金屬通條來引導前列腺切除後尿道基部與膀胱口之縫合的方法，此法相當易行有效且特別適用於尿道口徑較小的病患。

以放射治療來處理前列腺癌是另一種治療方式的選擇，依前列腺癌的分期治療目標會有不同：A2-B 期著眼於完全治癒而 C-D 期則期望局部的病情得到控制 [14]，目前臺灣在這方面並無較有規模的結果報告。張等[15]在放射治療的經驗中發現大多數病人在治療後第一年內 PSA 值會下降至正常值，而預後與治療前及治療後的 PSA 值有關。如果治療後 PSA 其值仍大於 4ng/ml，則預後不好。在治療後追蹤時 PSA 值若上升，要強烈地懷疑治療失敗或復發。

第四節 前列腺癌預防及治療的展望

到目前為止，導致前列腺癌的原因仍未知，所以無所謂預防。但是考慮到45-61%的病患來診時就已有轉移(D期)，而其預後都較不好；所以目前最重要的問題在於如何在病人仍沒有症狀時早期診斷出來，如此才有較大的機會治癒病人，減少前列腺癌的死亡率。前面提到過以肛門指診(DRE)，經直腸前列腺超音波(TRUS)和血清中前列腺特異抗原(PSA)三者合用，其診斷的勝算比最大。而單一使用時以經直腸超音波敏感度最高。但要考慮當要拿來作大規模篩檢的方法時，其經濟效益又如何？較實際可行的方法為40歲以上的男性，每年至少應作一次肛門指診。對於一些高危險族群如有家族病史以及55至70歲之男性，則考慮加上PSA測定，甚至是經直腸超音波來增加診斷之正確性。此外，發展一些有用的生物標記(biomarker)作為篩選疾病、分析治療成效、存活分析與預後評估，亦是一個當務之急。

臺灣的前列腺癌發生率比美國少，但從一些統計數據看來，近幾年來似有增加的傾向[1,16]。但是因為前列腺癌初期常沒有明顯的症狀，且腫瘤的發展速度也不算快，所以臺灣目前前列腺癌的真正發生率究竟是多少，仍沒有可靠而令人信服的數據。這方面需要有關單位與醫界配合選定幾個區域做大規模的篩檢工作，加上落實癌症登記制度，並將各醫院屍體解剖的前列腺癌出現率整合，才能

使我們對臺灣前列腺癌發生的情形有進一步的了解。

另外一個值得我們深思的問題為臺灣的前列腺癌之生物行徑(biological behavior)是否與歐美國家的前列腺癌都一樣?因為目前的診斷和治療標準都依照歐美研究的結果，我們本土的資料不是太少就是不完整，而我們發生率與存活率都與歐美不同，是否有細胞特性上的差別。因此在臺灣前列腺癌的治療與預後研究上，最好有自己本土的生物標記、存活分析、癌細胞的生物特性，如此本土性的資料才會有統計上的意義與實用上的價值。

台灣身處年齡老化的現象，而老化正是發生前列腺癌的最高危險因子，不分東西方人種，七十歲以上男性約有一半左右會有前列腺癌，但大部份卻沒有任何臨床症狀，血液雄性素濃度則是影響這些隱藏性病灶是否會展現出臨床症狀的重要因素。除了種族因素外，飲食習慣也會影響到血液雄性素濃度，一般而言，食用飽合性／動物性脂肪、肉食、牛奶和奶製品的人，其雄性素濃度會比素食者高，所以罹患前列腺癌的機會也較高。因此在預防上是否可以由此著手？

另外前列腺癌患者的兄弟罹患前列腺癌的機會比同一年齡男性高出四倍左右，其它如飲酒、咖啡和茶等飲料與前列腺癌並無相關聯。所以一般建議多攝食蔬菜，減少攝食動物性食物以減少前列腺癌的發生。而超過六十歲的男性應定期接受經直腸指診，必要時得檢驗血液前列腺特殊抗原濃度和加做經直腸之前列腺超音波檢查，以期早期診斷，並藉此得到最好治療效果。

第五節 單核苷酸多型性 (single nucleotide polymorphism)

人類有 23 對染色體，在染色體上帶有遺傳密碼，使得人類可以藉由攜帶的密碼一代傳給一代，這些暗藏遺傳特性的功能是寄託在六十億個鹼基中，這由四種不同的核苷酸排列出多彩多姿的密碼世界，使得人類產生多樣性的特質。單核苷酸多型性(Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs)則是人類基因多樣性最豐富的形式，它代表了人與人某個基因上單一鹼基的多樣化。在核苷酸序列上鹼基的不同可以造成蛋白質上氨基酸的不同、促進子的不同、插入序列的不同、或者只是單純鹼基的不同，代表來自於父母所賦予的不同，由於帶有連鎖標記的特性，是尋找常見複雜疾病基因遺傳最好的資源，可以收集疾病相關的基因多形性分布的數據，透過統計及分析，可以了解各種基因之變異所佔的可能發生機率，常見疾病或許可以用此方法深入探討其致病基因。

單核苷酸多型性在人口上有特定的比例，且比傳統遺傳學上使用的衛星或微衛星的重複序列數(microsatellite)多樣性穩定，不會因世代的傳遞而消失；因此它不只代表可能的氨基酸改變而功能改變，而影響了此基因的功能，同時與環境的互動上產生不同的反應能力。除此之外，它也可能連鎖了某個疾病的基因，使病患容易得這個疾病 (susceptibility)。在這幾年被使用於檢測複雜性疾病，廣泛使用成基因組上的遺傳標記 (marker)，以搜尋可能的疾病病因或其連鎖基因。

基於上述原理，SNPs 以族群遺傳學的方式提供一個新的研究方法，它需要很多對平均分布的標記去檢驗人口中該多型性的比例。要找尋一些穩定、快速和精確的標記並不是容易的工作，但當累積大量資料後，適合的標記就會逐步出現。出現之後，統計工作可以幫忙分析疾病的相關基因、疾病與環境之間的互動、藥物治療疾病時不同反應與基因多型性的關係、研發新藥，甚至可以來預測某族群的得病機率與種族遷移的分布。

雖然如此，以單核苷酸多型性的方式尋找疾病基因的連鎖關係仍然是困難重重的；它並非萬靈丹，需要大量的病人群以排除誤差，要考慮基因在生殖時有重組的現象；同時人類的基因太多了，無法一一檢測；何況疾病本身就很複雜，這些也增加了困難度。目前在前列腺癌症的單核苷酸多型性研究僅只有少數的研究報告而已，因此尋找一組穩定且完整的相關基因多型性是刻不容緩的工作。如果能夠大量篩檢相關的基因，才可能找出合適的基因，將來可以運用在分子生物學上的細胞表現及臨床表現，或可幫忙找出癌症的疾病基因。

第六節 細胞黏著蛋白與前列腺癌的關係

癌細胞的生長與發展與細胞間黏著的破壞有關，此結果容易造成癌細胞的轉移。因此細胞附著分子的功能對腫瘤新生來說是非常重要的。細胞附著分子在細胞內外的訊息傳遞上也扮演非常重要的角色，這些訊號能夠調控正常細胞和腫

瘤的生長。因此，細胞附著蛋白的功能可能對腫瘤新生和腫瘤發展有關[17,18]。

Cadherin 是細胞內接合蛋白的家族之一，它能夠調節細胞的黏著和從細胞外間質傳遞訊息到細胞質[19]；而 E-cadherin (CDH-1) 是一個幾乎表現在所有上皮細胞包括前列腺的上皮細胞接合蛋白，且非散在分布，而是局限於細胞間的 zonula junction，使得細胞間以一種像拉鍊的型態來緊密結合[20-22]。CDH-1 在維持上皮的發展、組織和細胞的完整中扮演一個重要的角色，且需鈣的存在才可以完整運作[23]。細胞結合之間的一些互動可以維持細胞的極性及組織的結構；同時可以調節訊號的傳遞，細胞的成長、分化，特殊位置基因的表現，組織外觀的形成，免疫反應，細胞活動，傷口癒合及發炎反應。而細胞結合的傷害可能是造成腫瘤形成和轉移的原因，無怪乎 CDH-1 基因的下游調控(down-regulation)被視為腫瘤形成和轉移的可能原因[24]。CDH-1 基因位於染色體的 16q22.1 上且從 3'-UTR +54 C/T 到終止密碼子之間都有多型性的存在[25]。已有研究證實這些多型性與結石的疾病有關，但與癌症的關連則還在研究的階段[26]。

第七節 細胞激素與前列腺癌的關係

介白素 2 (IL-2) 基因位在染色體的 4q26 上，IL-2 是一種免疫調節的細胞激素，IL-2 及其受體系統的結合可以調節 T 細胞 (cytotoxic T cell 和 regulatory T cell) 的免疫反應；而 IL-2 及其受體系統的改變會導致免疫系統的官能不良，例如

像是自體免疫的疾病[27-29]。細胞激素基因的多型性可通過抗腫瘤免疫和/或血管形成途徑來影響腫瘤的發生[30]。研究指出細胞激素 (cytokine) 與前列腺癌的形成和治療有關[31]。亦有研究指出 IL-2 在前列腺癌中有抗腫瘤的效果，Dolman 等人研究嚴重複合性免疫不全的老鼠其 IL-2 能有效地抑制人類前列腺腫瘤的生長、肺的散播和骨髓的轉移[32]。因此，IL-2 及其受體的功能可能影響前列腺癌的生長。Royuela 等人的相對半定量免疫組織化學研究發現 IL-2 的免疫反應在前列腺癌的樣本比正常的前列腺還高[33]。結果顯示前列腺癌組織可能對 IL-2 的調控有反應。我們知道老鼠的 IL-2 基因的編碼序列有高度多樣性會影響不同物種專一性同種抗原免疫球蛋白的活性[34-36]；最近幾個人類的 IL-2 基因多型性已被確定，一個位於啟動子區域-384 的位置，另一個位於第一個外顯子從起始密碼子數來第 114 個位置，其氨基酸沒有改變[37]。

第八節 研究目的

單核苷酸多型性 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 是人類基因體中常見的差異，而以 SNPs 做為遺傳標記尋找疾病的相關基因是一個快速又精確的工具。在已經發表的文獻中，我們知道相關基因 SNPs 與前列腺癌關係的研究進展；例如前列腺癌相關酶類-如 COX-2, KLK10, HSD3Bs, CYP1A1、激素與受體-如 leptin, PPAR- γ 、前列腺特異性抗原的應對元件、細胞週期調節蛋白- 如

CDKN1B, CCND1、細胞因子與黏附分子-如 CDH-1, VEGF, IL 等[38]。而根據前人的研究發現 CDH-1 和 IL-2 基因與癌症的形成有關，故在此概念下，挑選了 CDH-1 和 IL-2 基因位點，以單核苷酸多型性的方法探討基因與前列腺癌的形成是否有明顯的相關性。



第二章 材料與方法



第一節 病人的篩選

在 1995 至 1999 年間，我們於中國醫藥大學附設醫院收集了前列腺癌的病人和正常受試者共 210 位。其中前列腺癌的病人占 96 位，年齡介於 49 到 96 歲之間，平均年齡為 70.6 ± 8.97 歲；正常受試者 114 位，年齡介於 60 到 87 歲之間，平均年齡為 66.5 ± 5.08 歲，且藉由肛門指檢（digital rectal examination, DRE）顯示並沒有罹患前列腺癌。正常受試者必須接受血清 PSA 濃度的測試，以放射免疫分析（radioimmunoassay）測量，且濃度要低於 4 ng/dl。若正常受試者的 PSA 值異常就必須從對照組中排除或者是接受更進一步的檢查包括前列腺切片檢查以排除任何前列腺疾病的情況發生。藉由經直腸超音波導引細針切片檢查或根治性前列腺切除手術從前列腺癌的病人取得樣本來進行病理組織檢驗。病理的分級是根據 WHO 的標準和 Gleason pattern。Gleason pattern 是 Donald F Gleason 在 1966 年時對前列腺癌之病理組織結構，研發之獨特分級系統[39,40]。因為容易學習，個人判斷的差異也較少，因此被廣泛接受及使用。此系統將前列腺癌細胞的生長型態及分化程度分為一到五分；腺體的排列方式最接近正常，分化最成熟為一分，依次類推腺體的排列方式最凌亂，分化最不成熟的為五分。於切片時，依標本中佔最大面積及次多面積的分數相加，即得到最終的 Gleason score。以 Gleason score 來定義 well、moderately 和 poorly differentiated 的細胞分別為 2-4、5-7 和 8-10。以 Tumor-Node-Metastatic（TNM）系統將臨床和病理的階段分成 localized（T1-T2b）（前列腺被膜完整）、advanced（T3-T4）（前列腺被膜已被侵犯

破壞)和 metastatic (N+ and/or M+) (淋巴或遠處器官轉移)三組[41]。屬於 T1-T2b 的病人接受 radical prostatectomy 或 radiotherapy 所以不適合做藥物的治療；而屬於 T3-T4 和 N+ and/or M+ 的病人則使用荷爾蒙療法治療。在荷爾蒙療法治療後的第三個月和第六個月再對病人進行評估。評估的項目包括血清 PSA 的測量、肛門指檢和治療反應進行後症狀的評估。前列腺癌的病人在荷爾蒙治療後有反應的定義為六個月內追蹤血清 PSA 的量在最低點或小於 4 ng/dl。在開始治療時會記錄病人的年齡，並將病人分成 \geq 或 $<$ 70 歲兩組。本研究執行前皆告知病人並得到病人的同意。

第二節 PCR-RFLP 分析

進行聚合酶鏈反應的總體積為 50 μ l，包含 10-20 ng 的 genomic DNA、正反股引子各 2 μ l (2-6 pmol)、1X Taq polymerase buffer (1.5 mM MgCl₂) 5 μ l 和 AmpliTaq DNA 聚合酶 (Perkin Elmer, Foster City, USA) 0.25 units，PCR 的反應使用 GeneAmp PCR System 2400 聚合酶連鎖反應器(Perkin Elmer)。CDH-1 基因 3'-UTR C/T 引子的反應條件為：一開始升溫至 94°C 五分鐘，接著進行 35 個循環包含 94°C 三十秒、56°C 三十秒、72°C 三十秒和最後延長 72°C 七分鐘。PCR 的產物為 172 bp，再使用 2 units 的限制酶 *Pml* I 在 37°C 作用三小時後，若基因型為 TT 則為 172 bp，基因型為 CC 則為 146+26 bp，基因型為 CT 則為 172+146+26

bp。位於 exon 1 第 114 個位置的 IL-2 基因 G/T 引子的反應條件為：一開始升溫至 94°C 五分鐘，接著進行 35 個循環包含 94°C 三十秒、57°C 三十秒、72°C 三十秒和最後延長 72°C 七分鐘。PCR 的產物為 262 bp，再使用 2 units 的限制酶 *Mwo* I 在 60°C 作用三小時後，若基因型為 TT 則為 262 bp，基因型為 GG 則為 151+111 bp，基因型為 TG 則為 262+151+111 bp。IL-2R β 基因 C/T 引子的反應條件與上述 IL-2 的相同，但在 annealing 的溫度為 62°C，每個循環降 0.5°C，直到降至 52°C。PCR 的產物為 101 bp，再使用 2 units 的限制酶 *Hae* III 在 37°C 作用三小時後，若基因型為 TT 則為 101 bp，基因型為 CC 則為 63+38 bp，基因型為 CT 則為 101+63+38 bp。PCR 和限制酶作用後的產物進行電泳反應均使用 3% 的洋菜膠體，並使用 ethidium bromide (EtBr) 染色後置於 UV 燈下觀察 DNA 片段的大小。各引子的序列、PCR 反應溫度、使用的限制酶和限制酶作用溫度均整理於 Table 1。

第三節 Kaplan-Meier survival analysis

所有的病人在一開始診斷出為前列腺癌後，我們就開始追蹤病人的存活狀況長達五年的時間。病人存活率是根據病人存活的時間使用 Kaplan-Meier survival analysis 的 log-rank test 來計算。

第四節 統計方法

統計分析方法包括卡方檢定 (χ^2 test) 和費雪氏檢定 (Fisher's exact test)。

以 Statistical Package for the Social Science system (SPSS, Chicago, IL, USA) 統計

軟體做資料的分析，統計的結果 p value 應小於 0.05 才有顯著的差異。



第三章 結果



第一節 CDH-1 基因多型性分析的結果

前列腺癌的病人與正常人 CDH-1 基因的基因型的分佈見表二，定序和電泳圖分別為圖一和圖二。CDH-1 基因在前列腺癌的病人與正常人之間有顯著的差異 (Table 2, $p < 0.001$)。前列腺癌的病人 (51.0%) 帶有 CDH-1 基因 CC 基因型的比例遠高於正常人 (10.5%)，且帶有 C 對偶基因的勝算比 (odds ratio) 為 2.896 (95% CI 介於 1.908-4.396 之間)。在大於 70 歲的前列腺癌的病人 (46 人) 與小於 70 歲的病人 (50 人) 其基因型的分佈上並沒有顯著的差異 (Table 3, $p = 0.757$)。根據病理上組織的分級 well-differentiated 有 28 人，moderately-differentiated 有 30 人，poorly-differentiated 有 38 人。若依照病理的分級觀察 CDH-1 三種基因型的分佈，在統計上並沒有差異 (Table 3, $p = 0.987$)。根據臨床上腫瘤的分級，localized 有 53 人、advanced 有 20 人、metastasis 的有 23 人。然而，依照臨床的分級觀察 CDH-1 三種基因型的分佈，在統計上也是沒有差異 (Table 3, $p = 0.065$)；而依 C 或 T 分開之 carrier rate，在統計上也是沒有差異 (Table 3, $p = 0.289$)。54 位病人經外科手術診斷出為不可切除或無法進行放射治療的腫瘤後皆進行荷爾蒙的治療，在治療後的第三個月和第六個月再對病人進行評估。評估的項目包括血清 PSA 的測量、肛門指檢和治療反應進行後症狀的評估。前列腺癌的病人在荷爾蒙治療後有反應的定義為，六個月內追蹤血清 PSA 的量在最低點或小於 4 ng/dl。結果分為有反應的 42 人，沒有反應的 12 人，而 CDH-1 三種基因型在這兩組的分佈，在統計上也沒有差異 (Table 3, $p = 0.474$)。在仔細的看過病人們的

病史後，我們發現有 3 個病人 (3.1%) 曾經罹患尿石症 (urolithiasis) 且受過 endourological procedure 或體外震波碎石 (extracorporeal shock wave lithotripsy) 的治療。在這三個病人中，有兩人是 CT 異型合子，一人是 CC 同型合子。

第二節 IL-2 基因多型性分析的結果

前列腺癌的病人與正常人 IL-2 基因的基因型的分佈見表二，電泳圖見圖三和圖四。前列腺癌的病人 IL-2 的基因型有 21 人為 GG 同型合子，31 人為 TT 同型合子，44 人為 TG 異型合子。IL-2 基因在前列腺癌的病人與正常人之間有顯著的差異 (Table 2, $p=0.017$) 且列腺癌的病人 (31 人，32.3%) 帶有 IL-2 基因 TT 基因型的比例遠高於正常人 (17 人，16.2%)。在 5 年的追蹤時間，帶有 IL-2 的 GG 基因型的病人有 3 人死亡，TT 基因型的病人有 7 人死亡，TG 基因型的病人有 17 人死亡。以 Kaplan-Meier survival analysis 分析 IL-2 基因 C/T 與 IL-2R β 基因 T/G 的多型性與病人的存活率的結果如 Figure 1 所示。以 IL-2 基因 C/T (long-rank test, $p=0.310$) 和 IL-2R β 基因 T/G (long-rank test, $p=0.915$) 的三種基因型與前列腺癌的病人 5 年的存活時間來看，兩者之間在統計上並沒有意義。根據病理上組織 Gleason score 的分級 well-differentiated 有 29 人，moderately-differentiated 有 30 人，poorly-differentiated 有 37 人。若依照病理的分級觀察 IL-2 三種基因型的分佈，在統計上並沒有差異 (Table 4, $p=0.987$)。根據

臨床上腫瘤的分級，localized 有 53 人、advanced 有 20 人、metastasis 的有 23 人。

然而，依照臨床的分級觀察 IL-2 三種基因型的分佈，在統計上也是沒有差異

(Table 4, $p=0.552$)。前列腺癌的病人接受荷爾蒙的治療，可將結果分為有反應

的 42 人，沒有反應的 12 人，而 IL-2 三種基因型在這兩組的分佈，在統計上也

沒有差異 (Table 4, $p=0.36$)。若以年齡分成兩組 (≤ 70 或 > 70 歲)，IL-2 三種基

因型在這兩組的分佈，在統計上也沒有差異 (Table 4, $p=0.55$)。IL-2R β 基因 T/G

在前列腺癌的病人與正常人之間並沒有顯著的差異 (Table 2, $p=0.388$)。



第四章 討論



第一節 CDH-1 基因多型性分析的討論

在 CDH-1 基因 3'-UTR C/T 的部分，我們分析的數據顯示這個基因的多型性與罹患前列腺癌有相關性。在前列腺癌的病人中，帶有 CC 同型合子的佔 51%，明顯地高於正常人的 10.5%。但是，在賀爾蒙治療的反應上，有反應和沒有反應這兩組分析的結果並沒有顯著上的差異 ($p=0.474$)。這結果可能是因為 CDH-1 並不是癌細胞變異和時期發展的主要角色，所以我們應該要增加病人的數目才能證實這個結果。

在本研究中，對照組帶有 CC 同型合子的佔 10.5%，這個結果與我們結石的研究中的對照組有相似的分佈情形 (4.9%) [26]。在我們結石的研究中，在結石的病人顯著的基因型為 TT 同型合子 (27.7%)，且我們回顧所有病人的病史發現前列前癌病人有出現尿石症的比例相當低 (3.1%)。這結果顯示不同的基因型在不同的疾病中，對照組的部分卻有非常相似的基因型分佈，這是一個令人關注的研究主題。研究指出前列腺癌病人出現結石疾病的發生率比一般的族群還要低 (14.5%) [42]。而且我們先前的研究顯示，結石病人 CDH-1 基因的基因型有不同的分佈[26]。這些發現可能指出結石病人發展成前列腺癌的相對風險相當低。另一方面，這個現象有可能只是一個巧合反而限制了病人的數目。

其實在很多研究中證實了 E-cadherin 是抑制腫瘤侵犯鄰近組織及遠處轉移的因子[43,44]。而且經由許多免疫組織學的實驗很多種類的腫瘤會因 E-cadherin

的調降使得病理分級更為 poor differentiation 及更具侵犯性。[45-47]。所以我們在思考何以我們的研究無法在 CDH-1 與前列腺癌之病理分類、臨床分級、發生年齡、survival rate 產生關聯；有可能 CDH-1 在前列腺癌之鄰近侵犯及遠處轉移僅扮演輔佐的角色，需與 catenin 鍵結才能發揮完全的作用[48]。此點有待我們作 catenin 的基因多型性與前列腺癌的關係來證實。

已經有許多的研究發表前列腺癌與 CDH-1 基因之間的關係。文獻發現，E-cadherin 的一個 80kDa 片段會在轉移的組織中大量表現但在正常組織和局部前列腺癌中並不表現[49]。然而，實驗證明 E-cadherin 有中斷腫瘤入侵和轉移的功能，也就是說 E-cadherin 在調控前列腺癌細胞侵入的過程中扮演一個重要的角色[50]。當然 E-cadherin 也受到其他因子，尤其是缺氧所調控，所以 E-cadherin 對腫瘤的影響因是多因子的(multiple factors)[51]。

但是我們在自己的研究中並未發現 CDH-1 3'-UTR C/T 基因多型性與腫瘤時期、病理等級和化學治療的反應有關。雖然 Hsu 等人發現 E-cadherin 在中國病人前列腺癌組織中異常表現[20]，但他們並未發現 E-cadherin 與病理等級的關係，與我們的研究結果可謂遙相呼應。

有許多的研究指出 CDH-1 基因多型性與許多腫瘤形成的危險性有關[52-54]。在前列腺癌與 E-cadherin -160 C/A 多型性的研究指出，前列腺癌的病人帶“A”對偶基因的比例比帶“C”對偶基因還要高[52]。Jonsson 等人的研究發現得

到遺傳性前列腺癌的瑞典病人帶”A”對偶基因的比例較高[53]。可是，帶”A”對偶基因的病人與前列腺癌之間的關係在偶發的或家族的前列腺癌中並未發現。雖然我們的研究顯示 CDH-1 3'-UTR C/T 基因多型性與前列腺癌有關，但是在 Tsukino 等人的研究並未發現 E-cadherin -160 promoter region 多型性與日本前列腺癌的病人有關[55]。綜上所述，在 CDH-1 基因多型性的研究中產生矛盾的結果，我們推論可能是病人挑選的誤差、病人人數的限制、基因的不同位置或人種上的差異所致。

基因多型性的研究對前列腺癌腫瘤的生成和腫瘤的評估可能出現一道曙光 [54]。許多研究和分析指出前列腺癌可能與雄激素受體、PSA 和細胞色素 P450 家族基因的多型性有關[56-59]。在我們的研究中，結論是帶有 CDH-1 3'-UTR C/T 的”C”對偶基因的人比起帶有非”C”對偶基因的人其形成前列腺癌有更高的發生率（2.8 倍）。而曾經罹患結石的病人其前列腺癌有較低的發生率，也是未來值得研究的地方。

第二節 IL-2 基因多型性分析的討論

研究 IL-2 基因多型性與前列腺癌之間相關性的論文發表的並不多，而在本研究中，我們發現 IL-2 基因型和前列腺癌有相關性。在 exon 1 的第 114 個位置的基因型分佈在病人與正常人之間有明顯的差異。前列腺癌的病人帶有 TT 同型

合子的比例比正常人高，但是在臨床特徵-腫瘤時期、病理等級和化學治療的反應，與 IL-2 基因多型性之間並無相關。此外 IL-2R β 基因 C/T 多型性在前列腺癌的病人與正常人之間並無明顯的差異。因此根據我們研究結果推論，IL-2 基因可能只與腫瘤的形成有關而與腫瘤的發展無關；但有許多他人的研究顯示 IL-2 基因與前列腺癌的發展有關。Moody 等人使用動物模型發現給予局部高濃度的 IL-2 能刺激前列腺癌除去多數的局部負擔[60]。這個去除作用導致一個虛弱的但能偵測的系統免疫反應而能跟野生型的前列腺癌做比較。Hrouda 等人是第一個發表治療前列腺癌可能用 IL-2 基因療法[61]。從那時後，許多 IL-2 基因療法階段 I 和階段 II 的研究來處理前列腺癌的病人。例如，Belldegrun 等人進行第一次 IL-2 基因療法階段 I 的臨床試驗且證明在治療後能降低瞬間的 PSA 到底線濃度[62]。Triest 等人使用異種皮移殖腫瘤模型 (xenograft tumor model)，研究系統的 IL-2 治療在轉移前列腺腫瘤的效果，且發現系統的 IL-2 治療能誘發前列腺腫瘤的抗腫瘤反應並能控制它們的生長和轉移[63]。Hautmann 等人也為前列腺癌的治疗發表了一個有效且無毒作用的 IL-2 免疫療法[64]。

雖然 Royuela 等人發現在前列腺癌組織其 IL-2 和 IL-2 受體的表現量高於正常前列腺組織，這個結果顯示前列腺癌與 IL-2 受體之間有絕對的相關性[33]，但在其他的研究中並未清楚證明前列腺癌與 IL-2 受體之間的相關性。例如，Lloyd 等人並未發現 IL-2 受體的表現與對腫瘤細胞調節免疫反應的程度有絕對的相關性[65]。而我們的結果則證實 Lloyd 的發現。

IL-2 基因多型性在文獻上的論述極少，更不用說提到 IL-2 基因多型性與癌症的關係了；有一篇中國的文章提及 IL-2 基因多型性與食道或是胃幽門腫瘤無關 [66]。Dr.Scarel-Caminaga 研究 IL-2 基因多型性與牙周病的關係，發現 IL-2 基因多型性與牙周病的發生無關，但在牙周病的病人身上 IL-2 基因多型性則與嚴重度相關 [67]。

我們對 IL-2 多型性與前列腺癌關係的研究，其結果在前人的研究中比較難找到相近的佐證。就我們結果的分析可以看到前列腺癌的發生與 IL-2 多型性有正相關，卻與 IL-2 受體多型性無關。另外在前列腺癌病人裡 IL-2 與 IL-2 受體多型性與前列腺癌之病理分類、臨床分級、發生年齡、survival rate 沒有關係。就此猜測 IL-2 輔助 T 細胞抑制前列腺癌最有效是在發生期，而且與 IL-2 受體的高低與療效無關。另外 IL-2 對前列腺癌之病理分類、臨床分級之療效沒有關係，所以只是一種輔助治療的工具並且不具專一性。

第三節 研究限制以及未來的展望

在這本研究中有很多的限制，例如：我們的病人數目太少且集中在台灣的中部。我們的資料可能屬於有限的數值，因此聯合台灣各大醫學中心以增加更多病患對研究是必要的。但我們不能確定增加病患數目後能發現 IL-2R C/T 基因多型性與前列腺癌之間有明顯的關連。不過，在看少的樣本數目時，必須記住 Type

II 錯誤的可能性。另外絕對不能忽略人種的差異。

前列腺癌病人的 IL-2 基因 C/T 或 IL-2R 基因 G/T 多型性對存活的時間並沒有明顯的差異。未來的研究應批准把存活時間延長超過十年，或許就可以看出差異。就結果來說 IL-2 基因 C/T 及 CDH-1 3'-UTR C/T 基因多型性與前列腺癌有關，且能把這個基因當作是研究前列腺癌腫瘤新生的一個可能的遺傳標記。這樣我們需要對帶有此種基因多型性的人群訂下更嚴格之前列腺癌之篩選時間及條件；或更能早期發現及找對方法治療前列腺癌。



參考文獻



1. 于大雄, 張聖原、馬正平: 中華民國台灣省泌尿道惡性腫瘤死亡率之變遷. 中華泌尿醫誌, 1990.1: 168-174.
2. 台灣前列腺癌的現況:
http://Formosan.mc.ntu.edu.tw/medical_data/taiwan13.htm
3. 主編(陳光耀): 臺北榮民總醫院癌病治療中心癌資料室: 臺北榮民總醫院癌病資訊年度報告. 1988.
4. 主持人(陳建仁): 臺灣地區癌症死亡率地圖集: 八十二年研究報告 (DOH82-HP-123-4M17). 行政院衛生署, 1993.
5. 陳黎明, 江金培, 黃俊雄: 前列腺癌: 42 例之分析. 臺灣醫誌 1990.89:238-41.
6. 王約翰: 前列腺癌之臨床病理研究. 國防醫學院醫學研究所碩士論文 1985.
7. Wu TT, Chen KK, Chen MT, Huang JK, Chang LS: *Distribution of distant metastases in patients with advanced adeno-carcinoma of the prostate*. J Urol ROC, 1993.4: 985-990.
8. Fan K, Peng CF: *Histological grading of carcinoma of prostate in predicting the probability of bone metastasis: A retrospective correlative analysis of 72 autopsy cases with antemortem TUR-Prostate specimen*. 長庚醫學, 1982.5:236-42.
9. Hsu YS, Chen KK, Chen MT, Huang JK, Lin ATL, Lee YH, Chang YH, Chang LS: *The pelvic lymph nodes metastasis in cancer of prostate-preliminary report*. J Urol ROC, 1992.2: 682-687.
10. 何偉宗, 賴達三, 勞漢信, 丘祖毅, 蔡宗璋, 王經綸, 許德金, 謝有福, 江萬煊: 前列腺惡性腫瘤之十二年報告. 中華民國外科醫學會雜誌, 1978.11(2): 120-25.
11. Lin BH, Hsiao IJ, Lee SH, Kuo HT, Lee MJ, Lee SH, Chen HC, Huang TW: *Squamous cell carcinoma of the prostate*. J Urol ROC, 1992.2: 722-27.
12. 李維菁, 陳光國, 陳明村, 張心湜: 根除性攝護腺癌切除的臨床經驗. 中華泌尿醫學會年會摘要, 1992.A29: 77.
13. Wu CCJ, Lai MK, Lin CC: *Urethral suture guide using a Foley catheter and a wire stylet for radical prostatectomy or cystoprostatectomy*. J Surg Assoc ROC, 1993.26: 1541-44.

14. 劉文山, 吳永平: 攝護腺癌的放射治療. 臨床醫學, 1990.26: 265-270.
15. 張樹人, Good J, Kassabian VS: 攝護腺癌經放射線治療後以血中攝護腺癌特異性抗原測其疾病之惡化. 中華泌尿醫學會年會摘要, 1993.A43: 79.
16. Chiu TY, Huang HS, Chen J, Law HS, Hsieh TS, Chen SC, Hsieh JT, Yu HJ, Lin MC, Lin SP, Wang CJ: *Prostate Cancer: retrospective comparison of digital rectal examination, transrectal ultrasonography and prostate-specific antigen*. J Urol ROC, 1993.4: 1206-1211.
17. Birchmeier W, Behrens J: *Cadherin expression in carcinomas: role in the formation of cell junctions and the prevention of invasiveness*. Biochim Biophys Acta, 1994. 1198(1): 11-26.
18. Okegawa T, Pong RC, Li Y, Hsieh JT: *The role of cell adhesion molecule in cancer progression and its application in cancer therapy*. Acta Biochim Pol, 2004. 51(2): 445-457.
19. Aberle H, Schwartz H, Kemler R: *Cadherin-catenin complex: protein interactions and their implications for cadherin function*. J Cell Biochem, 1996. 61(4): 514-523.
20. Hsu YS, Wang JS, Wu TT: *E-cadherin expression in prostate adenocarcinomas in Chinese and its pathological correlates*. Urol Int, 2004.3(1): 36-40.
21. Krill D, Thomas A, Wu SP, Dhir R, Becich MJ: *E-cadherin expression and PSA secretion in human prostate epithelial cells*. Urol Res, 2001.29(4): 287-292.
22. Shimoyama Y, Hirohashi S, Hirano S, Noguchi M, Shimosato Y, Takeichi M, Abe O: *Cadherin cell-adhesion molecules in human epithelial tissues and carcinomas*. Cancer Res, 1989.49(8): 2128-2133.
23. Gumbiner BM: *Cell adhesion: the molecular basis of tissue architecture and morphogenesis*. Cell, 1996.84(3): 345-357.
24. Harington KJ, Syrigos KN: *The role of E-cadherin-catenin complex: more than an intercellular glue?* Ann Surg Oncol, 2000.7(10): 783-788
25. Becker KF, Reich U, Schott C, Hofler H: *Single nucleotide polymorphisms in the human E-cadherin gene*. Hum Genet, 1995. 96(6): 739-740.
26. Tsai FJ, Wu HC, Chen HY, Lu HF, Hsu CD, Chen WC: *Association of*

- E-cadherin gene 3'-UTR C/T polymorphism with calcium oxalate stone disease.* Urol Int,2003.**70**(4): 278-281.
27. Horak I: *Immunodeficiency in IL-2-knockout mice.* Clin Immunol Immunopathol, 1995.**76**: S172-S173.
 28. Matesanz F, Fedetz M, Collado-Romero M, Fernandez O, Guerrero M, Delgado C, Alcina A: *Allelic expression and interleukin-2 polymorphisms in multiple sclerosis.* J Neuroimmunol,2001.**119**(1): 101-105.
 29. Sadlack B, Lohler J, Schorle H, Klebb G, Haber H, Sickle E, Noelle RJ, Horak I: *Generalized autoimmune disease in interleukin-2-deficient mice is triggered by an uncontrolled activation and proliferation of CD4+ T cells.* Eur J Immunol, 1995.**25**(11): 3053-3059.
 30. McCarron SL, Edwards S, Evans PR, Gibbs R, Dearnaley DP, Dowe A, Southgate C, Easton DF, Eeles RA, Howell WM. *Influence of cytokine gene polymorphisms on the development of prostate cancer.* Cancer Res,2002.**62**(12): 3369-3372
 31. Harris DT, Matyas GR, Gomella LG, Taylor E, Winship MD, Spitler LE, Mastrangelo MJ: *Immunologic approaches to the treatment of prostate cancer.* Semin Oncol, 1999.**26**(4): 439-447.
 32. Dolman CS, Mueller BM, Lode HN, Xiang R, Gillies SD, Reisfeld RA: *Suppression of human prostate carcinoma metastases in severe combined immunodeficient mice by interleukin 2 immunocytokine therapy.* Clin Cancer Res, 1998.**4**(10): 2551-2557.
 33. Royuela M, De Miguel MP, Bethencourt FR, Frail B, Arenas MI, Paniagua R: *IL-2, its receptors, and bcl-2 and bax genes in normal, hyperplastic and carcinomatous human prostates: immunohistochemical comparative analysis.* Growth Factors, 2000.**18**(2): 135-146.
 34. Matesanz F, Alcina A: *Induction of autoantibodies to different interleukin-2 allotypes.* J Autoimmun, 1999.**12**(3): 221-227.
 35. Matesanz, F, Alcina A, Pellicer A: *A new cDNA sequence for the murine interleukin-2 gene.* Biochim Biophys Acta, 1992.**1132**(3): 335-336.
 36. Matesanz, F, Alcina A, Pellicer A: *Existence of at least five interleukin-2 molecules in different mouse strains.* Immunogenetics, 1993.**38**(4): 300-303.

37. Matesanz F, Delgado C, Fresno M, Alcina A: *Allelic selection of human IL-2 gene*. Eur J Immunol, 2000.**30**(12): 3516-3521.
38. 王署奎,王自正,黃宇烽:單核苷酸多型性與前列腺癌關係的研究進展.中華男科學雜誌,2005.**11**(8):605-610.
39. Gleason DF: *Classification of prostatic carcinomas*. Cancer Chemother Rep, 1966.**50**: 125-128.
40. Gleason DF, Mellinger GT: *Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging*. J Urol, 1974.**11**: 58-64.
41. Aus G, Abbou CC, Pacik D, Schmid HP, vanPoppel H, Wolff JM, Zattoni F: *EAU guidelines on prostate cancer*. Eur Urol, 2001.**40**(2): 97-101.
42. Lee YH, Huang WC, Tsai JY, Lu CM, Chen WC, Lee MH, Hsu HS, Huang JK, Chang LS: *Epidemiological studies on the prevalence of upper urinary calculi in Taiwan*. Urol Int, 2002.**68**(3): 172-177.
43. Takeichi M: *Cadherin in cancer: implications for invasion and metastasis*. Curr Opin Cell Biol,1993.**5**: 806-811,
44. Mareel M,Bracke M, Van-Roy F: *Invasion promoter versus invasion suppressor molecules: the paradigm of e-cadherin*. Mol Biol Rep,1994.**19**: 45-47.
45. Karatzas G, Karayiannakis AJ, Syrigos KN,Chatzigianni E, Papanikolaou S, Riza F, Papanicolaou D: *E-cadherin expression correlates with tumor differentiation on colorectal cancer*. HepatoGastroenterology,1999.**46**: 232-235.
46. Seery JP, Syrigos KN, Karayiannannakis AJ, Valizadeh A, Pignatelli M: *Abnormal expression of the E-cadherin-catenin complex in dysplastic Barrett' s oesophagus*. Acta Oncol,1999.**38**: 945-948.
47. Syrigos KN, Harrington K, Waxman J, Krausz T, Pignatelli M: *Altered γ -catenin expression correlates with poor survival in patients with bladder cancer*. J Urol,1998.**160**: 1889-1893.
48. Gumbiner BM, McCrea PD: *Catenin as mediators of the cytoplasmic functions of cadherins*. J Cell Sci,1993.**17**: 155-158.
49. Kuefer R, Hofner MD, Gschwend JE, Pienta KJ, Sanda MG, Chinnaiyan AM,

- Rubin MA, Day ML: *The role of an 80 kDa fragment of E-cadherin in the metastatic progression of prostate cancer*. Clin Cancer Res,2003.**9**(17): 6447-6452.
50. Chunthapong J, Seftor EA, Khalkhali-Ellis Z, Seftor RE, Amir S, Lubaroff DM, Heidger PM, Hendrix MJC: *Dual roles of E-cadherin in prostate cancer invasion*. J Cell Biochem,2004.**91**(4): 649-661.
 51. Beaveon IRG. *Regulation of E-cadherin: does hypoxia initiate the metastasis cascade?* J Clin Pathol: Mol Pathol,1999.**52**: 179-188.
 52. Verhage BA, van Houwelingen K, Ruijter TE, Kiemeny LA, Schalken JA: *Single-nucleotide polymorphism in the E-cadherin gene promoter modifies the risk of prostate cancer*. Int J Cancer,2002.**100**(6): 683-685.
 53. Jonsson BA, Adami HO, Hagglund M, Bergh A, Goransson I, Stattin P, Wiklund F, Gronberg H: *-160C/A polymorphism in the E-cadherin gene promoter and risk of hereditary, familial and sporadic prostate cancer*. Int J Cancer,2004.**109**(3): 348-352.
 54. Gsur A, Feik E, Madersbacher S: *Genetic polymorphisms and prostate cancer risk*. World J Urol,2004.**21**(6): 414-423.
 55. Tsukino H, Kuroda Y, Imai H, Nakao H, Qiu D, Komiya Y, Inatomi H, Hamasaki T, Kohshi K, Osada Y, Katoh T: *Lack of evidence for the association of E-cadherin gene polymorphism with increased risk or progression of prostate cancer*. Urol Int,2004.**72**(3): 203-207.
 56. Gsur A, Preyer M, Haidinger G, Zidek T, Madersbacher S, Schatzl G, Marberger M, Vutuc C, Micksche M: *Polymorphic CAG repeats in the androgen receptor gene, prostate-specific antigen polymorphism and prostate cancer risk*. Carcinogenesis,2002.**23**(10): 1647-1651.
 57. Irvine RA, Yu MC, Ross RK, Coetzee GA: *The CAG and GGC microsatellites of the androgen receptor gene are in linkage disequilibrium in men with prostate cancer*. Cancer Res,1995.**55**(9): 1937-1940.
 58. Lunn RM, Bell DA, Mohler JL, Taylor JA: *Prostate cancer risk and polymorphism in 17 hydroxylase (CYP17) and steroid reductase (SRD5A2)*. Carcinogenesis,1999.**20**(9): 1727-1731.
 59. Xue W, Irvine RA, Yu MC, Ross RK, Coetzee GA, Ingles SA: *Susceptibility to prostate cancer: interaction between genotypes at the androgen receptor*

- and prostate-specific antigen loci. Cancer Res,2000.60(4): 839-841.*
60. Moody DB, Robinson JC, Ewing CM, Lazenby AJ, Isaac WB: *Interleukin-2 transfected prostate cancer cells generate a local antitumor effect in vivo. Prostate,1994.24(5): 244-251.*
 61. Hrouda D, Dalglish AG: *Gene therapy for prostate cancer. Gene Ther,1996. 3(10): 845-852.*
 62. Beldegrun A, Tso CL, Zisman A, Naitoh J, Said J, Pantuck AJ, Hinkel A, deKernion J, Figlin R: *Interleukin 2 gene therapy for prostate cancer: phase I clinical trial and basic biology. Hum Gene Ther,2001.12(8): 883-892.*
 63. Triest JA, Grignon DJ, Cher ML, Kocheril SV, Montecillo EJ, Talati B, Tekyi-Mensah S, Pontes JE, Hillman GG: *Systemic interleukin 2 therapy for human prostate tumors in a nude mouse model. Clin Cancer Res,1998.4(8): 2009-2014.*
 64. Hautmann SH, Huland E, Huland H: *Local intratumor immunotherapy of prostate cancer with interleukin-2 reduces tumor growth. Anticancer Res,1999. 19(4A): 2661-2663.*
 65. Lloyd SN, McClinton S, brown IL, Miller ID, Kirk D, Eremin D, Moffat LE, Leake RE: *Epidermal growth factor receptor, nuclear proliferation antigen and interleukin-2 receptor expression in prostatic cancer. J Clin Lab Immunol,1990. 32(2): 55-58.*
 66. Savage SA , Abnet CC , Haque K, Mark SD, Qiao YL, Dong ZW, Dawsey SM, Taylor PR , Chanock SJ: *Polymorphisms in interleukin-2,-6,and-10 are not associated with gastric cardia or esophageal cancer in a high risk Chinese population. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2004.13: 1547-1549.*
 67. Scarel-Caminaga RM, Trevilatto PC, Souza AP, Brito RB, Line SR, Sergio R P: *Investigation of an IL-2 ploymorphism in patients with different levels of chronic periodontitis. J Clini Periodontol,2002.29(7): 287-91.*

表與圖



Table 1. CDH-1 基因 3'-UTR C/T、IL-2 基因 exon 1, position +114 G/T 和 IL-2R β 基因 C/T 進行 RFLP 的反應條件

基因名稱	引子	片段大小		Annealing 溫度	限制酶	限制酶作用溫度
CDH-1 3'-UTR C/T	5'-CAGACAAAGACCAGGACTAT-3' 5'-AAGGGAGCTGAAAAACCACCAGCCAC-3'	172 bp 146+26 bp	T C	56°C	<i>Pml</i> I	37°C
IL-2 G/T (AF228636)	5'-TGGGAAGCACTTAATTATCA-3' 5'-TAACCTCAACTCCTGCCACA-3'	262 bp 151+111 bp	T G	57°C	<i>Mwo</i> I	60°C
IL-2R β C/T	5'-AAGGACACCATTCCGTGGCT-3' 5'-CCGGTGTTCCTGCAGTTGAT-3'	101 bp 63+38 bp	T C	62 to 52°C touch-down	<i>Hae</i> III	37°C

Table 2. 前列腺病人與正常人 CDH-1、IL-2、IL-2R β 基因多型性基因型分佈的情形。

	Cancer patients	Control	<i>p</i> value*
E-cadherin [†]			<0.001
CC	49 (51.0%)	12 (10.5%)	
CT	46 (47.9%)	92 (80.7%)	
TT	1 (1.1%)	10 (8.8%)	
Total	96 (100.0%)	114 (100.0%)	
IL-2			0.017
TT	31 (32.3%)	17 (16.2%)	
TG	44 (45.8%)	66 (62.9%)	
GG	21 (21.9%)	22 (20.9%)	
Total	96 (100%)	105 (100%)	
IL-2R β			0.388
TT	29 (30.2%)	41 (39.0%)	
TC	39 (40.6%)	35 (33.3%)	
CC	28 (29.2%)	29 (27.7%)	
Total	96 (100%)	105 (100%)	

* χ^2 test [†]Odds ratio for 'C' allele= 2.896 (95% CI= 1.908-4.396)

Table 3. 前列腺病人的年齡、臨床分級、病理分級和賀爾蒙治療反應與 CDH-1 C/T

基因型的分佈情形。

Genotype	CC	CT	TT	Total	<i>p</i> value*
Grading					0.987
Well differentiated	15	13	0	28	
Moderately differentiated	15	15	0	30	
Poorly differentiated	19	18	1	38	
Staging					0.065
Local	22	31	0	53	(0.289)
Advanced	13	7	0	20	
Metastasis	14	8	1	23	
Age					0.757
≤70	25	25	0	50	
>70	24	21	1	46	
Responsiveness					0.474
Response	25	16	1	42	
No response	5	7	0	12	

* Fisher's exact test

Table 4. 前列腺病人的年齡、臨床分級、病理分級和賀爾蒙治療反應與 IL-2 G/T

基因型的分佈情形。

Genotype	CC	CT	TT	Total	<i>p</i> value*
Grading					0.936
Well differentiated	11	12	6	29	
Moderately differentiated	9	15	6	30	
Poorly differentiated	11	17	9	37	
Staging					0.552
Local	20	24	9	53	
Advanced	6	8	6	20	
Metastasis	5	12	6	23	
Age					0.55
≤70	13	22	12	50	
>70	18	22	9	46	
Responsiveness					0.36
Response	9	22	11	42	
No response	5	5	2	12	

* Fisher's exact test

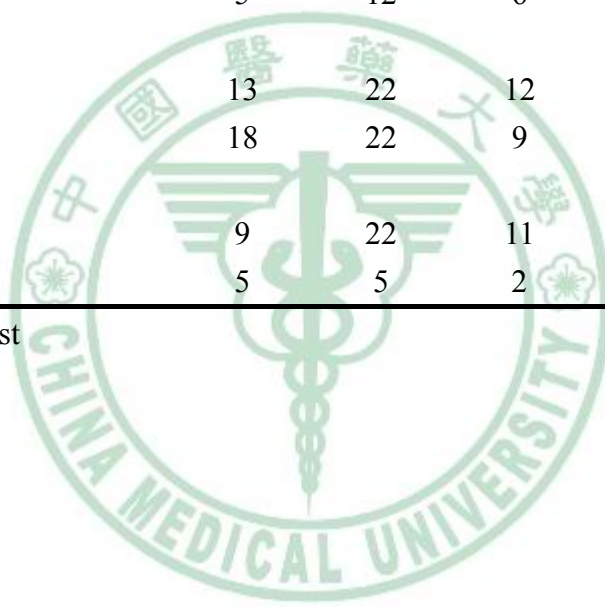


Figure 1. CDH-1 3'-UTR C/T 定序的結果。(a)箭頭的位置表示並序的結果為 C/T (b)

箭頭的位置表示並序的結果為 C (c)箭頭的位置表示並序的結果為 T

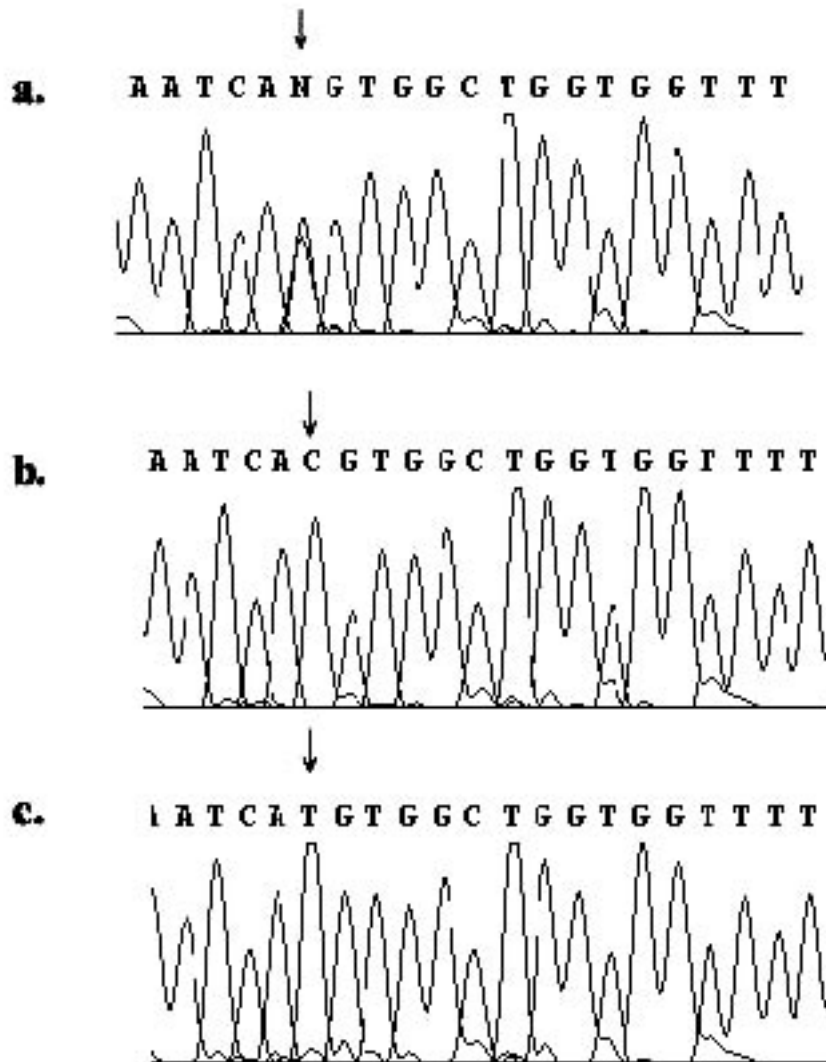


Figure 2. CDH-1 3'-UTR C/T 基因經 PCR 放大後的片段利用限制酶 *Pml*I 作用後所得的電泳圖。

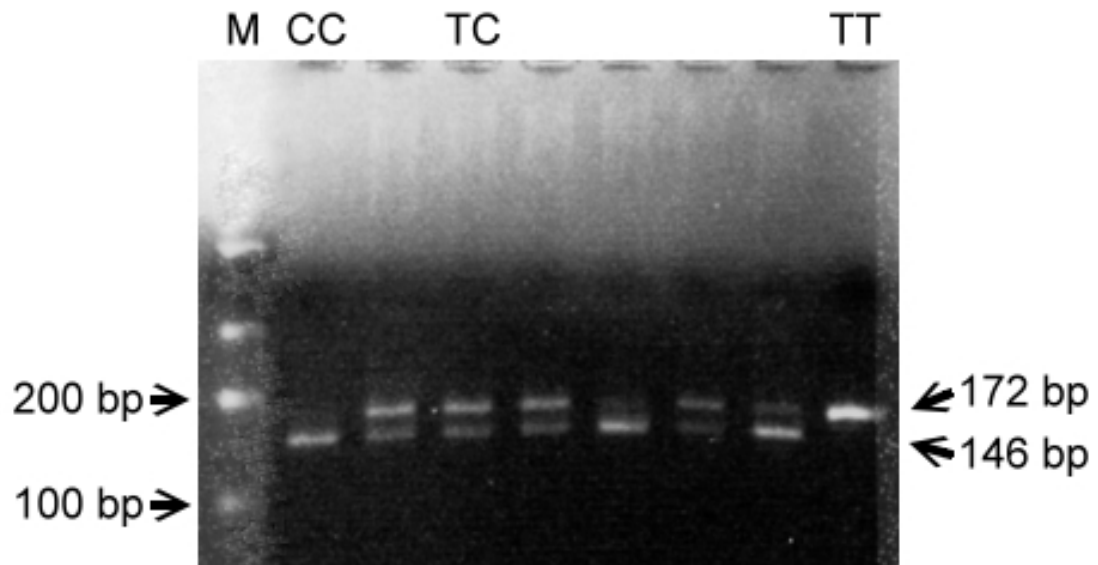


Figure 3. IL-2 T/G 基因經 PCR 放大後的片段利用限制酶 *Mwo* I 作用後所得的電泳圖。

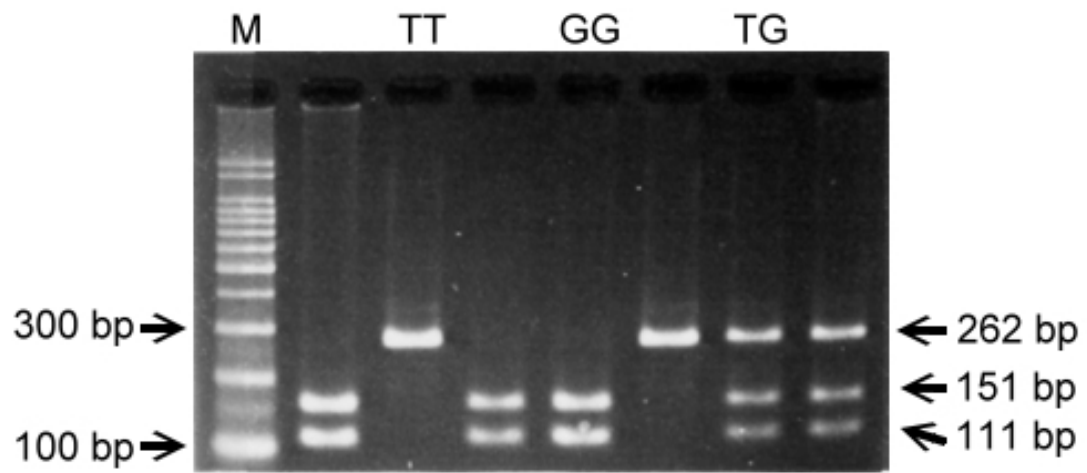


Figure 4. IL-2R β C/T 基因經 PCR 放大後的片段利用限制酶 *Hae* III 作用後所得的電泳圖。

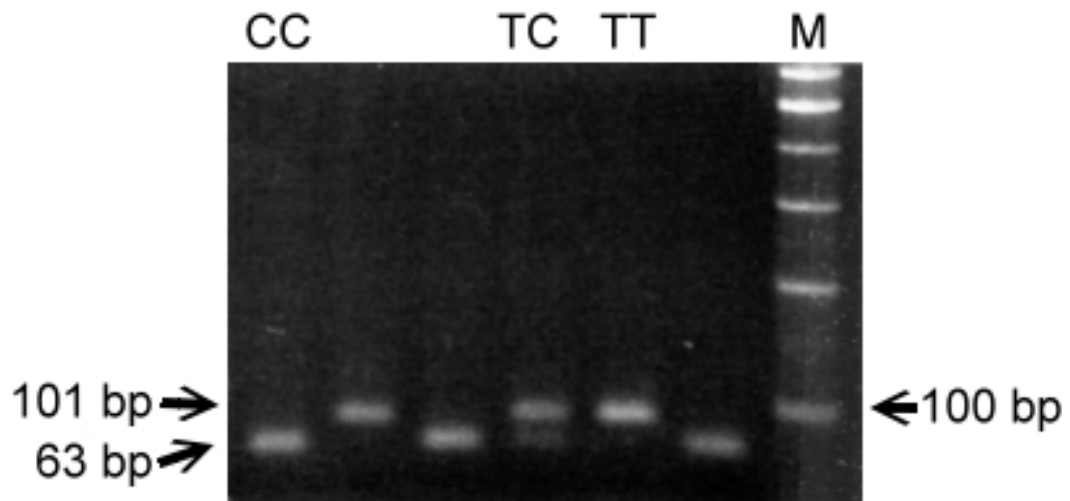
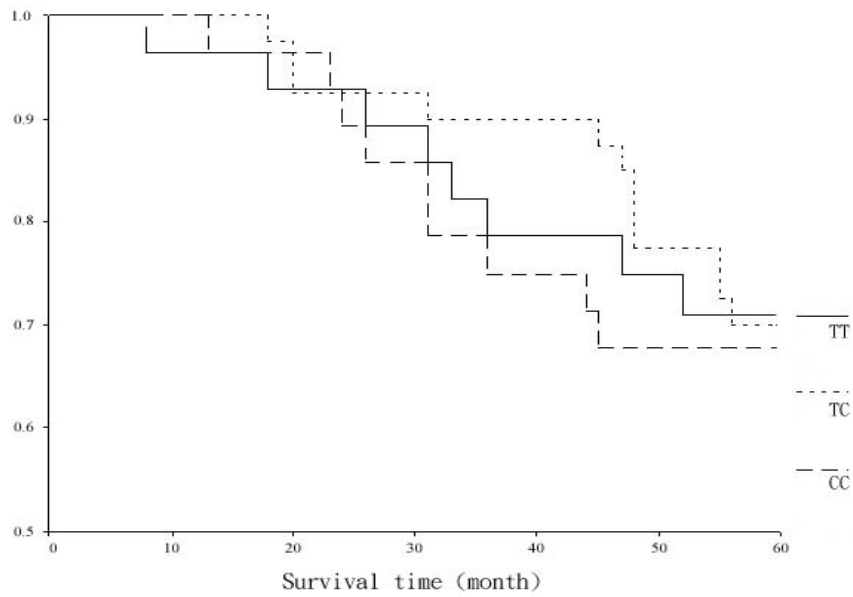


Figure 5. 利用 Kaplan-Meier 存活曲線分析前列腺癌病人的存活率與 IL-2(figure 1a, Log rank test, $p=0.310$)、IL-2R β (figure 1b, Log rank test, $p=0.915$) 基因多型性的關係。

a.



b.

