RRPC89020082 (6.P)

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

遠隔轉移及侵入正常組織之癌細胞之錳超氧化物歧化酶

Manganese Superoxide Dismutase in Metastatic Carcinoma Cells and in Carcinoma Cells Invading Normal Tissues

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC89-2314-B-038-032

執行期限：88年8月1日至89年7月31日

計畫主持人：賴 銘堂

共同主持人：周幸華　李文森

執行單位：台北醫學院醫學系耳鼻喉科

中 華 民 國 八十九 年 十 月 九 日

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

遠隔轉移及侵入正常組織之癌細胞之錳超氧化物歧化酶

Manganese Superoxide Dismutase in Metastatic Carcinoma Cells and in Carcinoma Cells Invading Normal Tissues

計畫編號：NSC88-2314-B-038-032
執行期限：88年8月1日至89年7月31日

計畫主持人：賴 銘堂　台北醫學院醫學系耳鼻喉科
共同主持人：周 幸華　台北醫學院牙醫學系
李 文森　台北醫學院醫學系醫學研究所

一、中文摘要

時下的研究認為superoxide radical (O_2^-)與細胞的癌化及癌細胞的轉移可能有關 (1~3)；因此在研究癌的發生、轉移及治療之機轉方面，O_2^-及具消除O_2^-能力之超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase ; SOD) 逐成為受人囑目的課題。近年的文獻報告顯示，SOD及O_2^-可影響in vitro之癌細胞的活動性 (motility) 及侵犯性 (invasiveness) (4)。但癌細胞對實體組織之侵犯性及癌細胞發生遠隔轉移之行為是否與SOD或O_2^-有關則至今未明。本研究以高敏感度、高特異性免疫組織化學染色法檢測比較63件受鱗狀癌細胞侵入之人類頭頸部組織，及21件有鱗狀癌細胞轉移之人類頭頸部淋巴結內各類細胞之錳超氧化物歧化酶(manganese SOD; MnSOD)的相對含量。並比較原發病灶之鱗狀癌細胞與發生遠隔轉移及侵入正常組織之鱗狀癌細胞間MnSOD含量之差異。結果發現不僅原發病灶之人類頭頸部鱗狀癌細胞內可檢測出強烈的MnSOD陽性染色，侵入人類頭頸部組織之鱗狀癌細胞及發生遠隔轉移至人類頭頸部淋巴結內之鱗狀癌細胞內亦可檢測出強烈的MnSOD陽性染色。此強烈的MnSOD陽性染色的特徵不因鱗狀癌細胞發生遠隔轉移或侵入正常組織而喪失之特點，除顯示鱗狀癌細胞於發生遠隔轉移或侵入正常組織時仍具強力消除O_2^-之能力之外，亦意味著發生遠隔轉移或侵入正常組織之鱗狀癌細胞保有與原發病灶之鱗狀癌細胞相似的強烈MnSOD陽性染色之表現特性。

關鍵詞：鱗狀細胞癌，轉移，侵入，錳超氧化物歧化酶

Abstract

Recent studies revealed that superoxide radicals (O_2^-) are possibly impliated in the carcinogenesis and invasiveness of carcinoma cells. Studies on O_2^- and superoxide dismutase (SOD), which can catalyze the dismutation of O_2^-, are thus considered to be important in revealing the possible implication of O_2^- SOD and in the mechanism of carcingenesis, metastasis of carcinoma cells, and management of carcinoma. It has been reported that suppression of intracellular CuZnSOD (copper-zinc SOD) activity results in enhanced motility and invasiveness of human squamous carcinoma cells in vitro. The suppressive effect of MnSOD (manganese SOD) on human breast cancer cells in vitro has also been reported. However, whether the change of SOD levels is implicated in the metastasis and invasion of carcinoma cells remains unknown. Sixty-three specimens of squamous cell carcinoma of human head and neck and twenty-one specimens of cervical lymph nodes containing metastatic squamous carcinoma cells were used in this study for detecting and comparing the MnSOD levels in carcinoma cells at original foci, invaded tissues and metastatic sites by immunohistochemical method. The

results showed that metastatic squamous carcinoma cells and invading squamous carcinoma cells possess similar high levels of MnSOD as the squamous carcinoma cells in original foci do. The high levels of MnSOD in squamous carcinoma cells implicate the higher ability of squamous carcinoma cells in scanvanging the $O_2^{\cdot}$-. The results suggests that squamous carcinoma cells may be more resistant to $O_2^{\cdot}$, and that invading and metastatic squamous carcinoma cells possess similar high MnSOD levels as squamous carcinoma cells in original foci.
Keywords：squamous cell carcinoma ; metastasis ; invasion ; manganese superoxide dismutase

二、緣由與目的

1995年Muramatsu等的in vitro實驗顯示投與$O_2^{\cdot}$或抑制細胞內CuZnSOD (coppor-zinc SOD) 的活性可使鱗狀細胞癌之癌細胞的活動性及侵犯性增強(4)。此一文獻報告顯示癌細胞之行為表現可以受$O_2^{\cdot}$及SOD影響。1997年Kanomori等的實驗發現$O_2^{\cdot}$與嗜中性白血球 (neutrophil) 從血行移行到組織之作用有關 (5)。同年Oinuma等發現CuZnSOD可抑制平滑肌細胞之移動(migration) (6)。根據這些文獻報告，吾人認為$O_2^{\cdot}$及SOD可能與癌細胞在侵入正常組織及進行遠隔轉移(distant metastasis)時所發生的組織侵入行為有關。1998年Li等的in vitro實驗亦顯示人類乳癌細胞的侵犯能力 (invasion ability) 可因癌細胞內MnSOD之增強而受壓制(7)。這些文獻報告雖然顯示了癌細胞在in vitro內的行為表現受細胞內SOD的影響，但癌細胞在實體組織內之行為表現與其消除$O_2^{\cdot}$的能力是否有關則至今未見文獻報告。吾人認為若能檢測比較實體組織內原發病灶之癌細胞與侵入正常組織內之癌細胞及與受癌細胞侵入之組織細胞間消除$O_2^{\cdot}$的能力之差異，將有助於解明癌細胞對$O_2^{\cdot}$之消除能力在癌細胞之組織侵入機轉上所可能扮演的角色；並為癌之防治提供新的思考方向。

三、結果與討論

免疫組織化學染色結果顯示人類頭頸部鱗狀癌細胞不論位於原發病灶、或侵入其他組織、或發生遠隔轉移，均可見相同的強烈MnSOD陽性反應染色結果(圖一至四)。相同染色結果可見於本研究之63件受鱗狀癌細胞侵入之人類頭頸部組織，及21件有鱗狀癌細胞轉移之人類頭頸部淋巴結標本。

本研究結果顯示侵入不同正常組織之人類頭頸部鱗狀癌細胞具有與原發病灶之鱗狀癌細胞相似之MnSOD強烈陽性染色之特性。吾人因此推論:(1) 侵入正常組織之人類頭頸部鱗狀癌細胞比正常組織細胞含有較高量之MnSOD;(2) 人類頭頸部鱗狀癌細胞對$O_2^{\cdot}$之消除能力可能高於正常組織細胞。(3) 對由$O_2^{\cdot}$而來之傷害，人類頭頸部鱗狀癌細胞可能比正常組織細胞有較高的耐受性。(4) 高含量之SODs可能為人類頭頸部鱗狀癌細胞的特性之一，且此特性亦可見於侵入不同正常組織及發生遠隔轉移之鱗狀癌細胞。

人類頭頸部鱗狀癌細胞於組織內的行為表現與SODs及$O_2^{\cdot}$的相關性至今未明，本研究解明了人類頭頸部鱗狀癌細胞具有MnSOD強烈陽性染色的特性，且此特性未因鱗狀癌細胞發生組織侵犯或遠隔轉移而減弱。

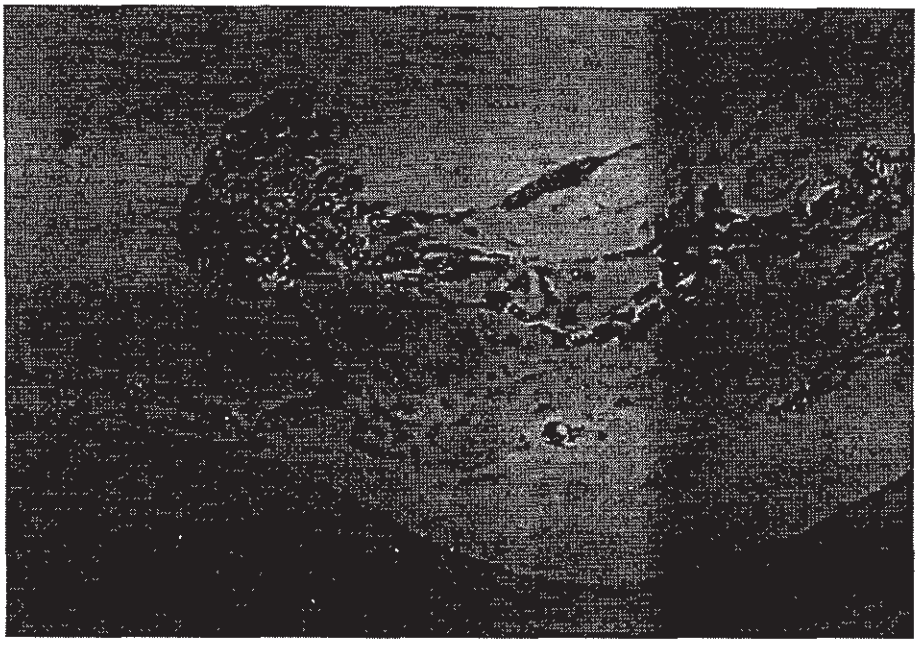
四、計畫成果自評

本研究的結果證實遠隔轉移及侵入正常組織之人類頭頸部鱗狀癌細胞具有與原發病灶內之鱗狀癌細胞相同之強烈MnSOD 陽性染色之特性。若經更大量之標本檢測均可得相同之染色結果，則此強烈 MnSOD 陽性染色之特性或可供標誌人類頭頸部鱗狀癌細胞之用。再

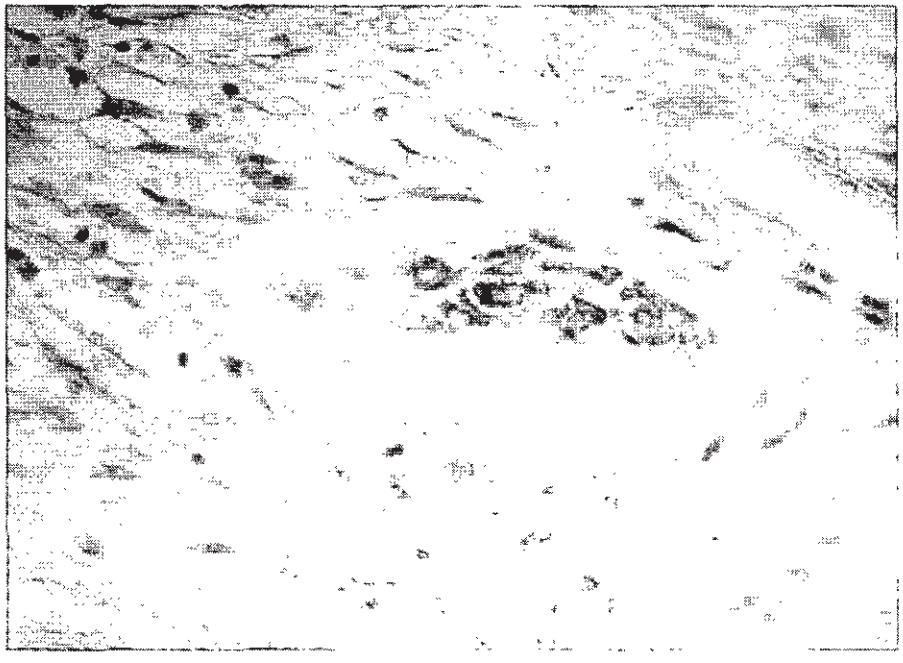
者，若人類頭頸部鱗狀癌細胞對 O_2^-的強大消除能力有助於其遠隔轉移及其對正常組織之侵犯性，則在尋求對人類頭頸部鱗狀細胞癌之進一步診治之道時，如何設法抑制癌細胞消除 O_2^-的能力，亦即抑制其 SOD 活性，或許會是另一個有建設性的研究方向。已知人類頭頸部鱗狀癌細胞所能大量產生的 O_2^-，及本研究結果證實之人類頭頸部鱗狀癌細胞本身所擁有之高含量 SOD，是否讓人類頭頸部鱗狀癌細胞同時擁有能以 O_2^-侵害其他組織細胞以利於其本身進行侵潤及轉移，又能以 SOD 防護自身使免於內生性與外生性 O_2^-傷害的能力？而人類頭頸部鱗狀癌細胞本身所擁有之高含量 SOD 是否亦提供了癌細胞抵抗由放射線或化學治療所產生的 O_2^-侵害的機會?此高含量 SOD 之特性是否影響放射線治療或化學治療後癌細胞的殘存及再發?這些將是後續系列研究的重點。

五、參考文獻

1. Cerutti P. Oxy-radicals and cancer. Lancet 1994; 34: 862-863.
2. Nakanuma Y, Gindhart TD, Winterstein D, et al. Early superoxide dismutase-sensitive event promotes neoplastic transformation in mouse epidermal JB6 cells. Carcinogenesis 1988; 9: 203-207.
3. Cerutti P. Prooxidant states and tumor promotion. Science 1985; 227: 375-381.
4. Muramatsu H, Kagawa K, Tanaka M, et al. Superoxide dismutase in SAS human tongue carcinoma cell line is a factor defining invasiveness and cell motility. Cancer Res 1995; 55: 6210-6214.
5. Kanomori Y, Niwa M, Kohno K, et al. Migration neutrophils from blood to tissue : alteration of modulatory effects of prostanoid on superoxide generation in rabbits and humans. Life Sciences 1997; 60: 1407-1417.
6. Oinuma T, Yamada T, Sakurai I. Effects of copper – zinc superoxide dismutase on the proliferation and migration of cultured vascular smooth muscle cells in duced by oxidized low density lipoprotein. J. Atherosclerosis & Thrombosis 1997; 4: 79-84.
7. Li JJ, Colburn NH, Oberely LW. Maspin gene expression in tumor suppression induced by overexpressing manganese – containing superoxide dismutase cDNA in human breast cancer cells. Carcinogenesis 1998; 15: 833-839.

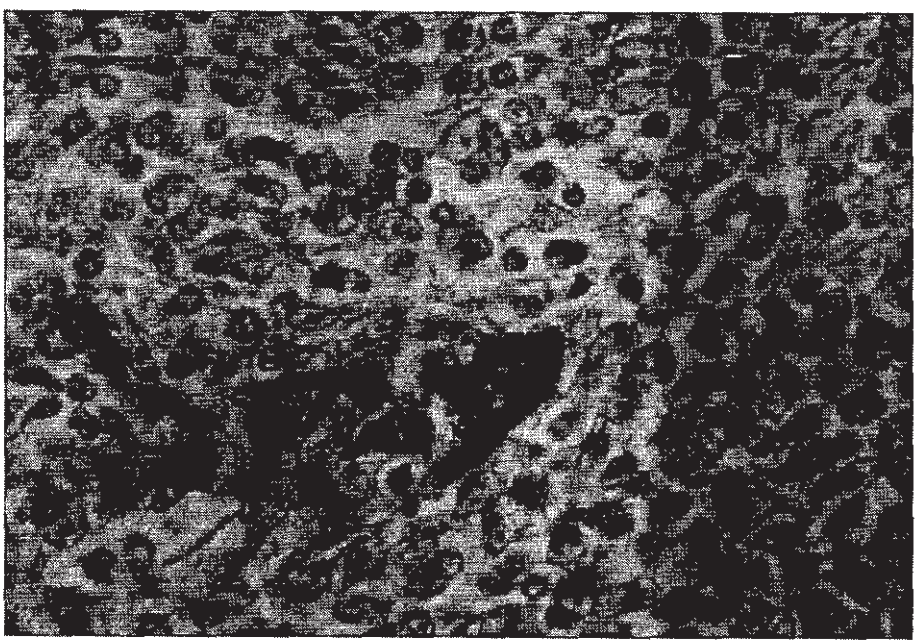


圖一. 侵入顎骨之人類頭頸部鱗狀癌細胞內可見MnSOD的強烈黃褐色陽性染色，骨及其他組織細胞則未見此MnSOD的強烈陽性染色。



圖二. 侵入喉組織之人類頭頸部鱗狀癌細胞內可見MnSOD的強烈黃褐色陽性染色，骨及其他組織細胞則未見此MnSOD的強烈陽性染色。

圖三. 侵入舌組織之人類頭頸部鱗狀癌細胞及橫紋肌細胞內可見MnSOD的強烈黃褐色陽性染色，其他組織細胞則未見此MnSOD的強烈陽性染色。



圖四. 遠隔轉移至淋巴腺組織之人類頭頸部鱗狀癌細胞內可見MnSOD的強烈黃褐色陽性染色，其他淋巴腺組織細胞則未見此MnSOD的強烈陽性染色。