RRPC88030420 (5.P) PC8803-0420

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

人類頭頸部鱗狀細胞癌之超氧化物歧化酶

Superoxide Dismutase in the Squamous Cell Carcinoma of Human Head and Neck

計畫編號：88-2314-B-038-103

執行期限：87年8月1日至88年7月31日

主持人：賴 銘堂　　台北醫學院醫學系耳鼻喉科

一、中文摘要

超氧化物自由基（superoxide radical；O_2^-）被認爲和癌症的發生及病理機制有關係。在研究癌細胞的發生及治療機轉方面，O_2^-及具消除O_2^-能力的超氧化物歧化酶（superoxide dismutase；SOD）遂成爲受人矚目的課題。若干文獻曾報告癌組織細胞可檢測出不同活性之SOD；然而SOD在各類癌組織細胞內的實際存在情形及其含量大都不明。本研究以免疫組織化學法檢測32件人類頭頸部鱗狀細胞癌組織內SOD的存在情形，並檢測鱗狀細胞癌組織內各類細胞之SOD的相對含量。結果發現人類頭頸部鱗狀細胞癌之癌細胞內可檢測出高含量之SOD，而癌細胞以外之組織細胞之SOD含量則相對偏低。鱗狀細胞癌組織內之癌細胞所含SOD量較其他組織細胞爲高，除表現出其代謝率較高的特性外，亦顯示其俱強力消除O_2^-之能力，故推測可能對O_2^-所產生之傷害較其他組織細胞更俱耐受性。

關鍵詞：鱗狀細胞癌，超氧化物自由基，超氧化物歧化酶

Abstract

Superoxide dismutase (SOD), which can catalyze the dismutation of superoxide radical (O_2^-), are thus considered to play an important role in the mechanism of treatment and the pathogenesis of recurrent of carcinoma. Several types of cancer cell have been demonstrated to process different levels of SOD. However, the distribution and the levels of SOD in different carcinoma tissue cells remain to be unknown. This study is designed to detect the distribution of SOD in the squamous cell carcinoma of human head and neck, and to detect the relative SOD levels in different cell types of the carcinoma tissues by an immunohistochemical method. The results showed that cancer cells of squamous cell carcinoma possess higher levels of SOD than other types of tissue cells in the carcinoma tissue. This may represent the high metabolic characteristic of cancer cells and suggests the higher ability of the cancer cells to scavange the O_2^-. The results also suggested that squamous cancer cells may be more resistant to O_2^- damage than other types of tissue cells.

Keywords：squamous cell carcinoma ; superoxide radical ; superoxide dismutase

二、緣由與目的

超氧化物自由基爲氧在其代謝過程中所產生帶有不成對電子之不穩定代

謝產物；因易與其他物質作電子交換，故能將致癌前驅物轉換成致癌物質、且可對DNA鏈造成損傷，是以被認爲和癌症的發生有關係[1-3]。在研究癌細胞的病理機制及治療後再發之機轉方面，具摧化O_2^-進行歧化能力的超氧化物歧化酶（superoxide dismutase；SOD）遂成爲重要研究項目之一。近年即有若干文獻報告腫瘤組織細胞內可測出不同含量的SOD[4-7]；但由於人類頭頸部鱗狀細胞癌組織標本及高敏感度抗人類SOD抗體取製不易，故人類各類頭頸部鱗狀細胞癌組織內SOD之詳細存在情形，及SOD在人類頭頸部鱗狀細胞癌組織內各類細胞的相對含量至今大都不明。

我們曾經以生化法及免疫組織化學法從事解析哺乳類動物組織細胞內SOD之存在、分佈、活性及其含量的研究工作，發現不僅不同的組織細胞所含之SOD分佈情形及活性不同；甚至同一組織內之不同類細胞所含的SOD量亦不同[8-11]。據此可推測不同的組織細胞對由O_2^-造成的傷害，可能俱有不同的耐受性。至於人類頭頸部鱗狀細胞癌組織內之SOD含量是否亦因細胞種類之不同而有差異?則尚有待研究。

三、結果與討論

特異性之檢定結果顯示使用稀釋2000倍之兔抗人SOD抗體，爲可穩定獲得陽性反應之最低有效抗體濃度；供對照用之組織中動脈血管壁細胞及橫紋肌細胞內之SOD可以此濃度之兔抗人SOD抗體清晰染出(圖1、2)。免疫組織化學染色結果則顯示SOD大量存在於人類頭頸部鱗狀細胞癌組織內之癌細胞內(圖3-6)；除橫紋肌細胞及血管壁細胞外癌組織內其他細胞之SOD含量相對的稀少。相同染色結果可見於本研究之32件人類頭頸部鱗狀細胞癌組織標本。

由於培養的癌細胞其生存環境與癌細胞在宿主組織內真正的生存環境有異，而以生化方法檢測磨碎之癌組織內的SOD含量又無法真正表現出組織內癌細胞與其他細胞的SOD含量之差異。再者，哺乳類動物的細胞內含有兩類SOD：一爲主要存在於細胞質之copper,zinc-SOD(CuZnSOD)；另一爲存在粒線體內的manganese-SOD(MnSOD)15,16；要從同一組織內將不同細胞內之不同類SOD之不同含量以生化方法測定，目前尚有技術上的困難。故本研究採用免疫組織化學染色法，以抗人類SOD抗體直接檢測手術時取自舌鱗狀細胞癌患者之癌組織內各類細胞的SOD存在情形，得以直接比較SOD在人類頭頸部鱗狀細胞癌組織內各類細胞內的相對含量。

人類頭頸部鱗狀細胞癌組織內SOD的真正存在情形至今大都不明，本研究解明了人類頭頸部鱗狀細胞癌組織內SOD的分佈情形，及人類頭頸部鱗狀細胞癌組織內各類細胞之SOD的相對含量。依實驗結果吾人推論：(1) 人類舌鱗狀細胞癌組織內不同類細胞對消除O_2^-的能力應有差異；(2) 人類舌鱗狀細胞癌組織內不同類細胞對由O_2^-造成的傷害可能俱有不同的耐受性。

四、計畫成果自評

由於癌細胞與宿主組織細胞對O_2^-的消除能力之差異，有可能影響癌細胞之致病機制，甚至可能爲影響癌細胞是否能在放射線治療或化學治療後殘存的重要因素之一。故解明癌組織內SOD之分布情形，及癌組織內各類細胞內SOD之相對含量，除了有助於瞭解癌細胞對O_2^-的消除能力外，亦有助於進一步研究癌細胞與宿主組織細胞間對由O_2^-所造成之傷害耐受能力之比較。

依據吾人在SOD領域的研究經驗推測，由於癌細胞本身有較高的代謝率，故應可產生爲量不少由代謝產生的O_2^-，爲保護癌細胞本身免受O_2^-之傷害，癌細胞含的SOD應不在少量。則癌細胞所能大量產生的O_2^-及癌細胞本身所擁有之歧化O_2^-的能力，是否讓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?而癌細胞所持有制御O_2^-的能力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?癌組織內SOD的分佈特徵，及癌組織內各類細胞的SOD含量差異，是否會影響放射線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: 8622-863.
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. Oberley TD, Oberley LW. Antioxidant enzyme levels in cancer. Histol Histopathol 1997; 12: 525-535
5. Westman NG, Marklund SL. Copper- and zinc- containing superoxide dismutase in human tissues and human malignant tumors. Cancer Res 1981; 41: 2962-2966.
6. Satomi A, Murakami S, Hashimoto t, et al. Significance of superoxide dismutase (SOD) in human colorectal cancer tissue: correlation with malignant intensity. J Gastroenterol 1995; 30: 177-182.
7. Jaruga P, Zastawny TH, Skokowski J, et al. Oxidative DNA base damage and antioxidant enzyme activities in human lung cancer. FEBS Lett 1994; 341: 59-64.
8. Lai M-T, Ohmichi T, Egusa K, et al. Immunohistochemical localization of manganese superoxide dismutase in the rat cochlea. Eur Arch Oto-rhino-laryngol 1996; 253: 273-277.
9. Lai M-T, Ohmichi T, Miyahara S, et al. Superoxide dismutases in human palatine tonsils. Acta Otolaryngol (stockh) 1996; suppl 523: 120-123.
10. Lai M-T, Ohmichi T, Yorizane S, et al. Immunohistochemical localization of manganese superoxide dismutase in the rat vestibular dark cell regions. Ann Otol Rhinol Laryngol 1997; 106: 69-74.
11. Lai M-T, Ohmichi T, Ogawa T, et al. Electron spin resonance spin trapping assay and immunohistochemical localization of superoxide dismutases in the rat nasal mucosa. Acta Otolaryngol (stockh) 1997; 117: 437-446.

本研究之部份結果已於下列學會發表:

1. 77th General Session & Exhibition of the Internal Association for Dental Research (1999年3月10-13日): Immunohistochemical Characterization of Manganese Superoxide Dismutase Level in Squamous Cell Carcinoma of Human Tongue.

2. 中華民國耳鼻喉科醫學會第65屆學術演講會(1998年10月31日): 人類舌鱗狀細胞癌之超氧化物歧化酶。

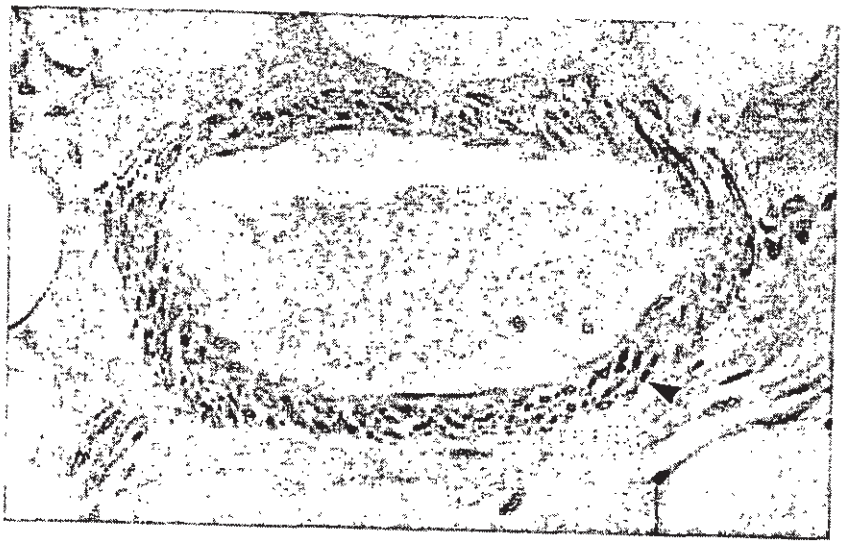

圖 1. 人類小動脈管壁細胞之超氧化物歧化胸染色結果(箭頭所指)(250)。

圖 2. 人類橫紋肌細胞之超氧化物歧化胸染色結果(箭頭所指)(250)。

圖 3.舌鱗狀細胞癌之超氧化物歧化胸染色結果(箭頭所指)(250)。

圖 4. 上顎鱗狀細胞癌之超氧化物歧化酶染色結果(箭頭所指)(100 x 2.5 倍)。

圖 5. 外耳道鱗狀細胞癌之超氧化物歧化酶染色結果(箭頭所指)(250 倍)。

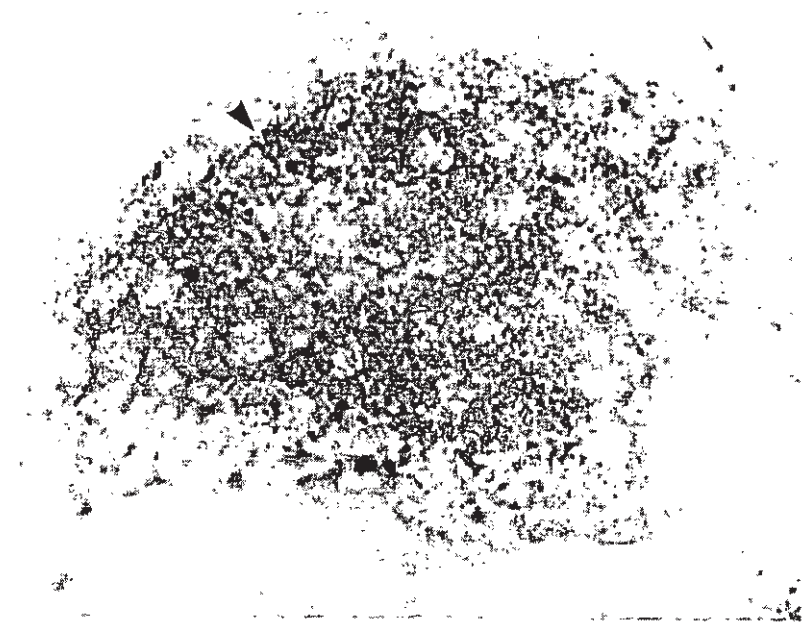

圖 6. 喉鱗狀細胞癌之超氧化物歧化酶染色結果(箭頭所指)(250 倍)。