

國立臺灣大學醫學院分子醫學研究所



碩士論文

Institute of Molecular Medicine

College of Medicine

National Taiwan University

Master Thesis

比較卵巢癌病患化療敏感性族群和化療抗藥性族群間
的基因表現量差異

Genetic expression in ovarian cancer : Comparison of
chemo-sensitive and chemo-resistant groups

魯筱筠

Hsiao-Yun Lu

指導教授：李建南/鄭文芳 博士

Advisor : Chien-Nan Lee / Wen-Fang Cheng, Ph.D.

中華民國 107 年 6 月

June, 2018



國立臺灣大學 (碩) 博士學位論文
口試委員會審定書

比較卵巢癌病患化療敏感性族群和化療抗藥性族群間的基因
表現量差異

Genetic expression in ovarian cancer : Comparison of
chemo-sensitive and chemo-resistant groups

本論文係魯筱筠君 (P05448004) 在國立臺灣大學分子醫學研究所完成之碩 (博) 士學位論文，於民國 107 年 06 月 12 日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明

口試委員：

李建南

(簽名)

鄭文芳 (指導教授)

陳守立

系主任、所長

李思仁 (簽名)

致謝

這篇論文能夠順利完成，首先感謝我的老闆鄭文芳醫師，願意給我學習的機會攻讀碩士班，感謝老師在論文指導上所花費的精力與時間，從老師身上學到做研究認真的態度和嚴謹的精神，不僅在學業上也在工作上傳授我很多的知識和經驗，讓我能不斷的學習成長。感謝李建南醫師，願意擔任我的指導教授，提供我許多專業的意見，給予指導，讓我獲益良多。謝謝陳宇立醫師，願意擔任我的口試委員，在實驗的分析上，提供我許多方向，並耐心地指導我。

感謝江盈澄醫師，在論文的撰寫上，給予我很多珍貴的意見，幫助我釐清問題。感謝盧子彬老師，因為從沒接觸過程式的東西，所以在寫程式下載資料時，很感謝老師提供我許多資料讓我學習，並親切的教導我。感謝謝淑芬博士，針對統計方面的問題，總是非常有耐心的教導我如何計算，解決我遇到的許多困難，並且在整理臨床資料時給予我許多幫助。謝謝實驗室的同事們，謝謝阿毛、歐眇、秀萍指導我如何操作實驗，並解決我實驗操作上遇到的問題。謝謝威哥，針對我的實驗給予我意見。謝謝王琚在我忙到無法分身時，可以及時給予我幫助，當我遇到問題時，能提供我許多建議。謝謝婕縈，在我壓力很大時，能陪我聊天放鬆心情，給我鼓勵。感謝一起奮鬥的研究所同學，大家一路走來，互相扶持，分享經驗，讓我在求學的道路上不孤單。

最後還要感謝我的父母，不論我做的任何決定，永遠選擇在我身後給予支持和鼓勵，讓我能無後顧之憂繼續往前進。謝謝我的好朋友們，總是在我心情低落時，給我加油打氣，陪伴在我身邊。

回首兩年的碩士生活，受益良多，再次對關心、幫助過我的所有人表示衷心地感謝，由於你們的幫助和支持，我才能克服一個一個的阻礙和困難，最終完成碩士學業。

中文摘要

本論文的研究目的是將卵巢癌病患分為兩個族群:化療敏感性(Chemo-sensitive)和化療抗藥性(Chemo-resistant),比較兩個族群間十個基因表現量的差異,以及利用計算風險分數(Risk score)和總體得分(Overall score),評估這樣的計分方式是否能夠作為預測卵巢上皮細胞癌的化療反應和預後之指標。

研究共收集 149 位卵巢癌病患的組織檢體,包含 75 位化療敏感性(Chemo-sensitive)的卵巢癌病患和 74 位化療抗藥性(Chemo-resistant)的卵巢癌病患,紀錄患者的臨床病理特徵,並利用即時定量聚合酶連鎖反應(Quantitative real-time polymerase chain reaction, QRT-PCR)偵測十個基因的表現量,十個基因包括: *GPC1*、*CYPB*、*MSLN*、*LIMK2*、*DOCK4*、*STK31*、*IGF1*、*CHI3L1*、*Survivin*、*CBAP*。另外,利用計算病患的風險分數(Risk score)和總體得分(Overall score)評估病患對於化療反應(Chemo-response)、疾病復發(Disease relapse)和存活狀況(Disease-related death)的相關性,最後進一步分析總體得分的高低與病患的五年無病存活期(Disease free survival, DFS)和整體存活期(Overall survival, OS)之關聯性。

研究結果顯示在化療抗藥性族群之 10 個基因表現量皆比化療敏感性族群高,並在病患的風險分數和總體得分的分析中,發現化療抗藥性族群的總體得分分佈要較化療敏感性族群高。驗證得到以總體得分的計分方式對於化療反應(Chemo-response)、疾病復發(Disease relapse)和存活狀況(Disease-related death)的鑑別性是好的。也觀察到當總體得分高的時候,會有較差的無病存活期和整體存活期。

總體而言,應用總體得分的計分方式,當總體得分愈高,病患的預後愈差,因此,可以作為有發展潛能的生物指標,用來預測卵巢癌的化療反應和預後。

關鍵字:卵巢癌、預後指標、化療敏感性、化療抗藥性、基因表現、風險分數、總體得分

Abstract

The purpose of the study was to compare the genetic expression in ovarian cancer between chemo-sensitive and chemo-resistant groups. In addition, evaluating whether the scoring method calculating the risk score and overall score could be a biomarker of chemo-response and prognosis in ovarian cancer.

Total 147 ovarian cancer patients were enrolled in this study, including 75 patient of chemo-sensitive and 74 patients of chemo-resistant. We collected clinicopathological characteristics of patients and determined genetic expression by Quantitative real-time polymerase chain reaction (QRT-PCR). There are ten genes, including *GPC1*, *CYPB*, *MSLN*, *LIMK2*, *DOCK4*, *STK31*, *IGF1*, *CHI3L1*, *Survivin*, *CBAP*. In addition, evaluating correlations between chemo-response, disease relapse, and disease-related death by calculating the risk score and overall score. Then, we analyzed the relationship between overall score, disease free survival(DFS) and overall survival(OS) further.

The genetic expression of patient in chemo-resistant group was higher than in chemo-sensitive group. The distribution of overall score was also higher in chemo-resistant group than in chemo-sensitive group. Good correlations between overall score, chemo-response, disease relapse, and disease-related death by scoring method. Patients with higher overall score had a shorter disease free survival(DFS) and overall survival(OS).

These results suggest that the patients with higher overall score had worse clinical outcome. Therefore, scoring system for calculating the overall score of clinical risk evaluation shows potential to predict the chemo-response and outcome in ovarian cancer.

Key words : ovarian cancer, prognostic biomarker, chemo-sensitive, chemo-resistant, genetic expression, risk score, overall score.

目錄



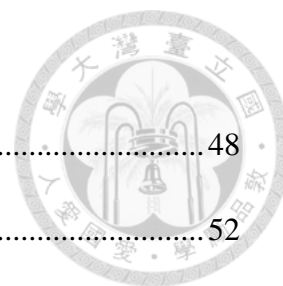
口試委員會審定書.....	i
致謝.....	ii
中文摘要.....	iii
英文摘要.....	iv
前言.....	1
材料與方法.....	10
實驗結果.....	15
討論.....	24
參考文獻.....	30

表目錄



表一、卵巢癌病人臨床資料特徵.....	39
表二、十個卵巢癌相關基因在化療敏感組和化療抗藥組別基因表現量的差異..	40
表三、十個卵巢癌相關基因對於化療反應影響的風險程度.....	41
表四、卵巢癌病人總體得分的分佈比例.....	42
表五、總體得分對於化療反應的最佳切點.....	43
表六、總體得分對於疾病復發的最佳切點.....	44
表七、總體得分對於存活狀況的最佳切點.....	45
表八、卵巢癌病人對於化療反應之預後因子分析.....	46
表九、TCGA 卵巢癌病人臨床資料特徵.....	47

圖目錄



圖一、十個基因及 house-keeping gene 的 QRT-PCR 代表圖.....	48
圖二、化療敏感組和化療抗藥組別間總體得分的分布.....	52
圖三、總體得分對於化療反應的 ROC 曲線.....	53
圖四、總體得分對於疾病復發的 ROC 曲線.....	54
圖五、總體得分對於存活狀況的 ROC 曲線.....	55
圖六、卵巢癌病人五年的無病存活期.....	56
圖七、卵巢癌病人五年的整體存活期.....	57
圖八、達到最佳減積手術之卵巢癌病人五年的無病存活期.....	58
圖九、達到最佳減積手術之卵巢癌病人五年的整體存活期.....	59
圖十、未達到最佳減積手術之卵巢癌病人五年的無病存活期.....	60
圖十一、未達到最佳減積手術之卵巢癌病人五年的整體存活期.....	61
圖十二、TCGA 化療敏感組和化療抗藥組別間總體得分的分布.....	62
圖十三、TCGA 卵巢癌病人的整體存活期.....	63

前言


卵巢癌的流行病學

卵巢癌是世界上排名第七最常見的婦女癌症，發生率在近幾年逐年的攀升並且具有較高的致死率[1-4]，因此逐漸成為一個越來越受重視的癌症[4,5]，每年全世界估計有 239000 的新案例和 152000 案例的死亡，其中東歐和中歐地區所占比例最高。疾病的五年存活率在 30%-40% 間，且自 1995 年以來，疾病的五年存活率，只有非常微小幅度的成長(2%-4%)[1]。因為沒有明顯的早期症狀、缺少準確的腫瘤標記、以及不明顯的病理特徵及不明確的卵巢癌生物學等因素，造成其發現多為晚期，且預後較差的情形[6]。大多數的卵巢癌病患(75%)診斷出來時已經是卵巢癌後期(Stage III 和 Stage IV)[2]，當診斷為早期卵巢癌(Stage I 和 Stage II)，病人 5 年存活率約 70-90%；診斷為卵巢癌後期(Stage III 和 Stage IV)，病人 5 年存活率大約只剩 20-30%[3]。

在台灣，根據衛生福利部國民健康署的統計，1979 年卵巢癌年齡標準化發生率(每十萬人口)為 2.08，僅有 129 名婦女被診斷出卵巢癌，平均年齡為 46.73 歲。到了 2014 年，發生率攀升為 9.12，大約有 1447 名婦女被診斷出卵巢癌，平均年齡為 52.65 歲。隨著卵巢癌發生率逐年的攀升，在 2014 年甚至超越了子宮頸癌(發生率為 8.5)，因此在婦癌領域，卵巢癌逐漸成為一個愈來愈受重視的癌症。另外統計 2005-2008 年的卵巢癌病患，細胞型態為漿液性佔 40.56%、黏液性佔 17.78%、子宮內膜性佔 16.88%、亮細胞性佔 18.13%，其中以漿液性卵巢癌所佔的比例最高[4]。

卵巢癌的分期

卵巢癌的分期是依據世界婦產科聯盟 FIGO - The International Federation of Gynecology and Obstetrics 定義:第一期腫瘤局限於卵巢或輸卵管，細分為 IA:腫瘤局限於一側卵巢或一側輸卵管，卵巢或輸卵管表面沒有腫瘤，腹水或腹腔沖洗液中沒有惡性細胞。IB:腫瘤局限於雙側卵巢或雙側輸卵管，卵巢或輸卵管表面沒有腫瘤，腹水或腹腔沖洗液中沒有惡性細胞。IC1:腫瘤局限於一側或雙側卵巢或



輸卵管，手術中導致腫瘤破裂。IC2:腫瘤局限於一側或雙側卵巢或輸卵管，術前腫瘤包膜破裂，或者卵巢或輸卵管表面出現腫瘤。IC3:腫瘤局限於一側或雙側卵巢或輸卵管，腹水或腹腔沖洗液中出現惡性細胞。第二期腫瘤擴及一側或雙側卵巢或輸卵管，並且擴散到骨盆腔，細分為 IIA:腫瘤擴散至子宮和輸卵管。IIB:腫瘤擴散至骨盆腔和其他腹膜組織。第三期腫瘤擴及一側或雙側卵巢或輸卵管，並且擴散到骨盆腔以外的腹腔器官轉移或轉移至後腹腔或鼠蹊部淋巴結，細分為 IIIA1(i):只有後腹腔淋巴結轉移且大小不超過 10 毫米。IIIA1(ii):只有後腹腔淋巴結轉移且大小超過 10 毫米。IIIA2:不論有無後腹腔淋巴結轉移，組織病理檢查已證實骨盆腔外腹膜轉移。IIIB:不論有無後腹腔淋巴結轉移，骨盆腔外腹膜轉移病灶的最大徑小於兩公分。IIIC:不論有無後腹腔淋巴結轉移，骨盆腔外腹膜轉移病灶的最大徑大於兩公分或肝臟表淺轉移。第四期腫瘤擴及一側或雙側卵巢或輸卵管，且有腹腔之外的遠處轉移。IVA:細胞學檢查胸水為陽性。IVB:實質轉移至肝、脾臟、骨盆腔及腹腔以外器官的轉移[7]。

卵巢癌的細胞分化程度

卵巢癌腫瘤細胞的分化程度是依據 International Union Cancer Criteria 分為三級:分化良好 (Grade 1)、分化中等 (Grade 2)、分化不良 (Grade 3)，且通常將分類簡化為腫瘤細胞分化佳: Grade 1 和 Grade 2，腫瘤細胞分化差:Grade 3。

卵巢癌的病理組織分類

卵巢癌依照病理組織分類，可分為三大類:其中超過90%為上皮細胞癌 (Epithelial carcinoma)、5%-6%為間質細胞瘤(Cord stromal tumor)、2%-3%生殖細胞瘤(Germ cell tumor) [8]。因為超過90%為卵巢上皮細胞癌，所以目前大多數的研究著重在卵巢上皮細胞癌。卵巢上皮細胞癌又可依組織學分類:高度漿液性 (High-grade serous, HGSOC; 佔70%)、子宮內膜性(Endometrioid, ENOC; 佔10%)、亮細胞性(Clear cell, CCOC; 佔10%)、黏液性(Mucinous, MOC; 佔3%)、低度漿液性(Low-grade serous, LGSOC; <5%)。關於卵巢癌發生的致病機轉目前仍不是很清楚，但有趣的是我們發現大部分的腫瘤是源自於其他組織，而非卵巢本身。

其中高度漿液性卵巢癌(HGSOC)和低度漿液性卵巢癌(LGSOC)源自於輸卵管上皮細胞(Fallopian tube epithelium)、亮細胞性卵巢癌(CCOC)跟子宮內膜性卵巢癌(ENOC)和子宮內膜異位囊腫(Endometriotic cysts)相關、黏液性卵巢癌(MOC)則是來自輸卵管間皮的移行細胞[1]。

卵巢癌的症狀

卵巢癌為婦科癌症致死率高之其中之一，因為早期症狀不明顯，晚期症狀不具特異性，因此難被診斷，可發生在任何年齡之女性，最常見是在 55-64 歲之間已停經的婦女被診斷出來，約 90% 的腫瘤屬於卵巢上皮細胞癌。生殖細胞瘤(Germ cell tumor)主要發生在 20 歲出頭的女性身上。間質細胞瘤(Cord stromal tumor)則會分泌 sex steroids，可發生在任何年齡，常見於 50 歲的女性。症狀包括腹脹、腹部或骨盆腔疼痛、食慾不振、便秘等。除了非特異性症狀外，可能出現腫瘤伴生徵候群(Paraneoplastic syndrome): 亞急性小腦變性(Subacute cerebellar degeneration)、脂漏性角化症(Seborrheic keratosis)、特魯索綜合症(Trousseau syndrome)等。隨著疾病的進展，症狀也會變得更加明顯和嚴重，可能伴隨局部擴散或轉移，出現腸道或輸尿管的阻塞(Bowel or ureteral obstruction)、呼吸窘迫(Shortness of breath)等症狀[9]。

卵巢癌的篩檢

卵巢癌的篩檢可透過個人病史、家族史的評估，以及利用陰道超音波、核磁共振和檢測血清中的 CA-125 來診斷，其中 CA-125 是卵巢癌常用之生物指標，也常用來當作監控卵巢癌病人對於化療反應的指標，是一種卵巢癌細胞表面的相關蛋白。一般而言，80% 的卵巢癌患者，CA-125 會升高，然而一些良性的疾病，像是子宮內膜異位症(Endometriosis)、子宮肌瘤(Uterine myoma)、或是處於月經周期時，也會使 CA-125 的升高，造成偽陽性，因此 CA-125 並不能當作診斷卵巢癌的特異性指標[9]。

卵巢癌的治療

卵巢癌的主要治療方式是進行腫瘤減積手術，利用手術方式盡可能最大程度

切除所有位於卵巢的腫瘤及擴散或轉移至卵巢外的組織，最終的目標是達成最佳減積手術(Optimal debulking surgery)，其定義為病人體內剩餘的腫瘤體積直徑要小於 1 公分。經由手術切除的組織檢體需透過病理科醫師的檢查判定，才能確認患者的癌症分期，給予患者正確的輔助性化學治療[10-14]。

在減積手術後，大部分的病患須接受輔助性化學治療，利用靜脈注射的方式，每三週一個療程，通常進行六個療程。目前第一線標準化學治療藥物為紫杉醇(Paclitaxel)和鉑類化合物(Carboplatin)[15]，尚無理想的第二線化學治療藥物，可考慮使用 liposomal doxorubicin、topotecan、etoposide、ifosfamide 等[16]。癌細胞的特性之一是無法正常調控細胞凋亡機制，使細胞過度增生，而化學治療的主要機制是抑制腫瘤細胞的分裂能力，進而影響細胞凋亡，但通常病患對於化療藥物是會產生抗藥性的[20]。卵巢癌患者對於化療藥物反應分為兩種:化療敏感性(Chemo-sensitive)-完成首次治療後，超過 6 個月才復發的患者或超過 6 個月尚未復發的患者；化療抗藥性(Chemo-resistant)-完成首次治療後，6 個月內就發生復發或疾病持續進展的患者。卵巢癌患者使用化療藥物，初期患者反應率為 80%，晚期患者反應率則為 40-60%，且大部分患者在兩年內會復發，因此病人對於化療藥物的抗藥性在腫瘤的復發與惡化扮演重要的腳色[17]，若患者對化療藥物有抗性，則預後往往較差，並因疾病逐漸進展而死亡。

卵巢癌的風險因子

1. 家族史:主要是家族內有兩個或以上的親戚(包括母、女、姊妹、姑姨、祖母、外婆等)罹患相關癌症。據估計，有家族史的卵巢癌患者約佔所有患者的 7%，這種遺傳性的卵巢癌遵循體染色顯性的遺傳模式，大多數可歸因為與乳癌相關之 *BRCA1* 和 *BRCA2* 的基因突變[18]。*BRCA1*、*BRCA2* 基因的突變，造成 DNA 修復機制的錯誤配對，當對偶基因其中的一條發生突變，即會使罹癌風險升高，佔卵巢癌的 10%。數據顯示，70 歲以上具有 *BRCA1* 基因突變的人，罹患卵巢癌的風險高達 44%、具有 *BRCA2* 基因突變的人，風險則是 27%。此外，也與遺傳性非瘰肉症結直腸癌(HNPCC, Hereditary Non-Polyposis


Colorectal Cancer)參與之基因(*hMLH1*、*hMSH2*、*hPMS1*、*hPMS2*、*hMSH6*)發生突變有關，佔卵巢癌的2%[19]。

2. 賀爾蒙:雌激素(Estrogen)和黃體激素(Progesterone)與促進卵巢癌的發生有關。目前有兩種假說，一種是 incessant ovulation:排卵周期的增加，使的細胞不斷進行分裂，因而提高細胞發生突變的機率，進而造成癌症的病變。第二種假說則是 gonadotropin hypothesis:由於黃體生成素(Luteinizing hormone)和濾泡刺激素(Follicle-stimulating hormone)過度分泌刺激卵巢上皮細胞，導致細胞增生和癌化[20]。懷孕婦女因停止排卵和抑制垂體促性腺激素(Pituitary gonadotropins)的分泌，可降低罹患卵巢癌的風險，研究顯示生育過之婦女(Parous women)得到卵巢癌之風險要低於未生育之婦女(Nulliparous women)30%-60%。另外像是不孕症、較晚生育、或是停經較晚的婦女，以上條件會造成罹患卵巢癌的機率增加，而使用口服避孕藥、哺乳則會降低罹患卵巢癌的風險[19]。
3. 肥胖:兩個最近的研究結果(US hospital-based case - control study 和 Systematic review and meta-analysis)指出停經前(<50 歲)過度的肥胖，會造成罹患卵巢癌的風險增高[21,22]。
4. 年齡:多數卵巢癌患者年齡超過 50 歲，較少年輕患者罹患卵巢癌。

另外預防性的手術切除可以降低罹患卵巢癌的風險，研究顯示，預防性雙側卵巢切除術(Bilateral prophylactic oophorectomy)可至少減低 90%罹患卵巢癌的風險，除此之外，子宮切除術(Hysterectomy)和輸卵管結紮手術(Tubal ligation)也都有研究指出與降低罹患卵巢癌風險有關[19]。

卵巢癌的預後因子

1. 年齡:年齡是卵巢癌常見的一項預後因子，一般來說，當診斷的年齡愈小，預後愈佳，反之年齡愈大，疾病復發和死亡的風險也會提高，研究顯示疾病的平均存活期，年齡小於 65 歲的病患要比年齡大於 65 歲的病患多兩年[23]。

- 
2. 日常體能狀態(Performance status, PS): 根據美國東岸癌症臨床研究合作組織(Eastern Cooperative Oncology Group, ECOG)和世界衛生組織(World Health Organization)評分標準: 0分無症狀; 1分:有症狀, 但不需臥床可自行走動; 2分:有症狀, 待在床上的時間沒超過12小時; 3分:有症狀, 待在床上的時間超過12小時; 4分:長期臥床。當分數愈低, 對於進行手術和化療的反應效果也愈好[24]。
 3. 卵巢癌分期和手術治療後剩餘腫瘤體積也是影響卵巢癌預後的重要因子, 晚期的病人, 因疾病的進展擴散, 相對於早期病人, 較難達到最佳減積手術, 因而有較差的預後, 而是否達到最佳減積手術, 是藉由殘餘腫瘤的大小來判斷, 與預後有密切的關係[25]。
 4. 腫瘤細胞分化程度: 一直以來被認為是會影響腫瘤的行為和存活的因子, 分化能力愈差的細胞, 會進行高度異常的有絲分裂, 造成腫瘤細胞進一步的惡性侵犯[25]。
 5. 組織學分型: 研究顯示低度漿液性(Low-grade serous carcinoma)有較好的預後, 反之, 黏液型(Mucinous)和亮細胞型(Clear cell)的預後較差[26]。
 6. 免疫因子: 免疫系統的保護能力能提升疾病的存活率, 我們發現當病患有著較高的CD8⁺細胞數目, 預後佳。另外, 表現CD4⁺和CD25⁺的T細胞則是因為會造成免疫抑制反應, 而有不好的預後結果[27]。
 7. 除此之外, 研究指出腫瘤抑制基因 *p53*、致癌基因 *EGFR* (Epidermal growth factor receptor)和 *HER-2/neu* (Human epidermal growth factor receptor 2)與病患之預後狀況有相關聯性[28]。

因為卵巢癌的高死亡率, 目前作為預後參考, 包括利用卵巢癌分期、組織學分型、腫瘤細胞分化程度、手術治療後剩餘腫瘤體積等, 然而以上的資料都沒有辦法完整的提供卵巢癌病人預後的指標, 因此找尋一個能評估卵巢癌治療方針及預後的指標是一項重要的課題[25]。

研究動機

卵巢上皮細胞癌在癌化、侵入及轉移的相關基因，作為卵巢上皮細胞癌新的治療策略及預後的指標，一直是卵巢癌主要的研究目標之一，因此挑選了十個致癌基因，這些基因參與細胞的生長、調控、凋亡等作用，也與一些癌症的進程有關連性，所以想進一步探討這些基因與卵巢上皮細胞癌的關聯性[29]。

GPC1(Glypican-1)，位於染色體 2q35-q37，是 Heparan sulfate proteoglycans(HSPGs)家族的成員，藉由 glycosyl-phosphatidylinositol(GPI)來鍵結細胞膜，包含 *GPC1-GPC6*，與癌細胞的生長、轉移、血管新生(Angiogenesis)等過程有關，研究顯示 *GPC1* 在胰臟的腫瘤會有明顯的升高，可當作早期診斷、篩檢胰腺癌的潛在指標[30,31]。

CYPB(Cyclophilin B)，位於染色體 15q22.31，產物是一個 21-kDa 的蛋白，屬於 cyclophilin 家族，*CYPB* 被發現在人體各處皆可看到，參與調控細胞的增生和腫瘤的生成，因為和 cyclosporin A (CsA)有很高的親和力，被認為與 cyclosporin A 所調控的免疫抑制反應有關。另外，先前的研究也指出，*CYPB* 表現的升高，與乳癌的進展有相關性[32,33]，但目前在卵巢癌中所扮演的角色則還不清楚。

MSLN(Mesothelin)，位於染色體 16p13.3，一開始從間皮細胞上發現，是一種細胞膜上的分泌性蛋白[34]，被認為可以當作間皮瘤和卵巢癌的一種新的腫瘤抗原[35,36]，在其他像是胰臟癌、胃癌和子宮內膜癌，*MSLN* 也被發現有過量的表現[37-39]，一些研究指出 *MSLN* 與癌症的進程有關，可以當作腫瘤指標[40,41]。另外，*MSLN* 被發現可藉由抑制 paclitaxel 所誘發的凋亡反應，進而造成卵巢癌病人的化療抗藥性[42]。

LIMK2(LIM Domain Kinase 2)，位於染色體 22q12.2，屬於 LIM kinase 的家族，包含 *LIMK1* 和 *LIMK2*，50%的胺基酸序列與 *LIMK1* 一致，可藉由磷酸化來調控 cofilin，抑制 actin-depolymerizing 的活性[43-46]，但因位於不同的位置，*LIMK1* 和 *LIMK2* 調控的機制也不同，進一步，*LIMK2* 也可以是一種化療藥物抗性的預測性指標，在具抗藥性的癌細胞會有升高的表現[47]，然而對於產生化療抗藥性的機轉還不是很了解。

Dock4(Dedicator of cytokinesis 4)，位於染色體 7q31.1，是 GEF(Guanine nucleotide exchange factor)蛋白家族的一部分，藉由活化 small G 蛋白參與細胞訊號的傳遞，也影響促進癌細胞的分離和侵襲，此外 *Dock4* 也會活化 RAP GTPase，促進 adherens junctions 的形成。其他研究則顯示在腫瘤進展期間，*Dock4* 在骨骼肌、前列腺、和卵巢有較高的表現[48]，不過但到目前為止其調控癌症相關訊息傳遞路徑尚不清楚。

STK31(Serine/Threonine Kinase 31)，位於染色體 7p15.3，參與細胞週期的調控，先前的研究也發現和黑色素瘤、白血病、胃癌和大腸直腸癌有關[49-52]，在大腸直腸癌中影響控制癌細胞的分化[53]，並且當作一種生物標記。在卵巢亮細胞癌中，對於化療反應、疾病的預後、復發有不同的表現，但儘管如此，對於 *STK31* 的功能仍然不是很清楚。

IGF1(Insulin-like growth factor-1)，位於染色體 12q23.2，參與調控細胞的生長發育，類胰島素生長因子家族是由是由兩個 ligands(IGF-1 和 IGF-2)、三個膜蛋白受器(IGF-1R、IGF-2R and insulin receptor)、六個高親和性連接蛋白(IGFBP1-6)所組成[54]。在直腸癌細胞，影響 E-cadherin 和 beta-catenin 的交互作用、造成 tyrosine 的磷酸化，導致細胞的 migration 和 transformation。另外 *IGF-1* 也被發現會增強肺癌、乳癌的生長[55,56]，藉由抑制癌細胞的凋亡，造成癌細胞的增生，也在多種癌症發現與化療的抗藥性有關[57]。

CHI3L1(Chitinase 3-like 1)，位於染色體 1q32.1，產物為 YKL-40，是一個 40-kDa 的醣蛋白，可以由像是內皮細胞、軟骨細胞、發炎細胞和癌細胞分泌，與細胞的增生、分化、凋亡、血管生成、發炎反應有關[58]。先前也有研究顯示，血清中升高的 YKL-40 與卵巢癌、乳癌、腦癌和肺癌相關連[59-67]。

Survivin，位於染色體 17q25.3，是 IAP (Inhibitor of apoptosis protein)家族的成員之一，與細胞凋亡的抑制和細胞週期的調控有關[68,69]，使細胞不受控制，異常的進展，因此發現在很多人類常見的癌症中，*Survivin* 會有不正常的表現[70]，而在腫瘤組織不正常的表現，也會造成較差的預後和化療抗藥性[71-78]，另外，

其他很多研究也顯示 *Survivin* 不同的表現量，與卵巢癌的進程與預後有相關聯 [79-81]。

TMEM102(TRANSMEMBRANE PROTEIN 102) ，位在染色體 17p3.1，產物為 CBAP(Common Beta-Chain Associated Protein)，研究指出在細胞模式下 CBAP 會大量表現在人類淋巴球細胞內，為 GM-CSF/IL-3/IL-5 受體相關的穿膜蛋白，可作為一個抑制凋亡分子，當環境沒有 GM-CSF 存在會誘導進行細胞凋亡[82-84]，反之，研究發現癌細胞生長會分泌大量 GM-CSF/IL-3/IL-5[85]，而 CBAP 與其受體有關，因此 CPAB 被認為與癌細胞的生長、擴散有相關聯性。

研究目的

本論文的研究目的是將卵巢癌病患分為兩個族群:化療敏感性(Chemo – sensitive)和化療抗藥性(Chemo – resistant)，比較兩個族群間十個基因表現量的差異，以及利用計算風險分數(Risk score)和總體得分(Overall score)，評估這樣的計分方式是否能夠作為預測卵巢癌的化療反應和預後之指標。

材料與方法



一、病人與樣本的收集

本研究經國立臺灣大學醫學院附設醫院研究倫理委員會的 IRB 審查通過。收集從 2000 年 1 月 1 日至 2016 年 6 月 30 日的病人檢體，共 149 名臺大醫院病患，包括 75 名對化療有敏感性(Chemo-sensitive)的卵巢癌病患、74 名對化療有抗藥性(Chemo-resistant)的卵巢癌病患，在進行手術後取得組織檢體，並將有病變的檢體放入裝有 1 ml RNA later 的抗凍管中，保存在 4 °C 冰箱內，隔天再將 RNA later 吸掉，且把裝有檢體之抗凍管放置於 -80 °C 冰箱保存。另外，詳細記錄個案的出生日期、手術日期、是否達到最佳減積手術、卵巢癌分期、組織病理分類、腫瘤細胞分化程度、家族史、疾病史、化療過程、復發日期、死亡日期等臨床資料，並持續追蹤病患時間至 2017 年 2 月 15 日。達到最佳減積手術為術後體內殘餘腫瘤體積小於一公分。卵巢癌分期是依據世界婦產科聯盟 International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) 的定義，分為四期，第一及第二期為早期(Early stage)、第三及第四為晚期(Advance stage) [7]。腫瘤細胞分化程度則根據 International Union Against Cancer Criteria 分為三級，且通常將分類簡化為腫瘤細胞分化佳:Grade 1、Grade 2、腫瘤細胞分化差:Grade 3。臨床定義腫瘤復發:(1)臨床影像學偵測到腫瘤(包括超音波、電腦斷層、核磁共振攝影)且病理組織切片、細胞學檢查證實。(2) 臨床影像學偵測不到腫瘤，但腫瘤指數(CA-125)持續上升。此外，定義無病存活期(Disease free survival ,DFS)為患者接受完整治療後至確認復發的時間，整體存活期(Overall survival ,OS)則是患者接受完整治療後至因卵巢癌死亡的時間。

二、病例對照研究(Case control study)

本研究將 149 名卵巢癌病患，分為兩組：一組為化療敏感性(Chemo-sensitive)的病患 75 名、另一組為化療抗藥性(Chemo-resistant)的病患 74 名。並且定義化療敏感性(Chemo-sensitive):在完成首次治療後，超過六個月才復發的患者；化療抗藥性(Chemo-resistant):在完成首次治療後，六個月內就復發的患者。

設計兩個族群的病患，將年齡、是否到最佳減積手術、組織病理分類、卵巢癌分期、腫瘤細胞分化程度等影響因子作出盡可能的配對，讓兩個族群的條件達到一致。在條件一致的情況下，分析基因的表現，對於兩個族群影響的差別。

三、RNA 萃取

將冷凍的檢體組織取出，利用研碎研磨的方式，將組織磨成粉末狀後，按照標準實驗操作流程萃取 RNA。

實驗步驟:

- (1) 將磨成粉末狀的組織，加入 1ml TRIzol RNA Isolation Reagent (Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA)，於研碎中混和均勻，並移入 1.5ml 的離心管中
- (2) 加入 200 μ l 氯仿(Chloroform)至離心管中與之混和，上下翻轉約 20 次，當液體呈現淡粉紅色時即可停止，隨即以 4 °C、13200 轉 10 分鐘離心，將 RNA 分離出
- (3) 吸取含有 RNA 的水層 400 μ l 至新的 1.5ml 的離心管中，加入等體積的 400 μ l 異丙醇(Isopropanol)混和，室溫放置 10 分鐘使沉澱後，以 4 °C、13200 轉 10 分鐘離心，移除上清液，分離出 RNA
- (4) 加入 75% 酒精 1ml 清洗，移除殘留的異丙醇，並以 4 °C、12000 轉 5 分鐘離心分離出 RNA
- (5) RNA 回溶，加入滅菌焦碳酸二乙酯溶液(Sterilized diethyl pyrocarbonate, sterilized DEPC)，室溫靜置 10 分鐘
- (6) 利用 Nanodrop ND-1000 spectrophotometer (Nanodrop Technologies, Wilmington, DE)，測量 RNA 的濃度和品質

四、反轉錄聚合酶連鎖反應(Reverse transcription-polymerase chain Reaction ,RT-PCR)

將從組織萃取出 RNA 反轉錄為互補 DNA(cDNA ,complementary DNA)

實驗步驟:



(1) 加入 RNA 與反應試劑至 PCR 反應管

- Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase(MMLV)
- Recombinant RNasin Ribonuclease Inhibitor
- M-MLV 5X Reaction Buffer
- 2mM dNTP (dATP、dTTP、dCTP、dGTP)

(2) 放置於 PCR 反應儀器中，37°C、2 小時，得到產物即為 cDNA

(3) 利用 Nanodrop ND-1000 spectrophotometer (Nanodrop Technologies, Wilmington, DE)，測量 cDNA 的濃度和品質

五、即時定量聚合酶連鎖反應(Quantitative real-time polymerase chain Reaction ,QRT-PCR)

使用 Applied Biosystems(Foster City, CA)系統，進行聚合酶連鎖反應放大 cDNA

實驗步驟:

(1) 加入 cDNA 與反應試劑，共 20μl

- TaqMan Universal PCR master mix
- 二次蒸餾水(sterilized distillation H2O)

(2) 管家基因和 10 個基因使用的探針

- *GAPDH*:Hs03929097_g1
- *GPC1*:Hs00892476_m1
- *CYPB*:Hs00168719_m1
- *MSLN*:Hs00245879_m1
- *LIMK2*:Hs00948689_m1
- *DOCK4*:Hs00206807_m1
- *STK31*:Hs00230012_m1
- *IGF1*:Hs01547656_m1
- *CHI3L1*:Hs00609691_m1

Survivin:Hs04194392_s1
CBAP:Hs00401991_g1



(3) 在 ABI Prism 7900-HT Sequence Detection System 儀器上進行反應，反應週期為 50°C 2 分鐘、95°C 10 分鐘、95°C 15 秒、60°C 1 分鐘，共進行 40 個 cycle

(4) QRT-PCR 計算方式以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 計算基因的表現量，其數值為放大後的螢光強度須達到能被偵測門檻(Ct 值)所需要放大的循環數，每個聚合反應的 Ct 值先轉為 E^{-Ct} ， E 為反應效率，再除以同一基因在參考樣本之相對應的值，為了得到($\Delta\Delta Ct$)的值，先定量 ΔCt 值為 $Ct_{target}-Ct_{housekeeping}$ ，而 $\Delta\Delta Ct$ 的值則是以 $\Delta Ct_{sample}-\Delta Ct_{calibrator}$

六、風險分數(Risk score)和總體得分(Overall score)的計分方式

風險分數(Risk score)的計算，我們是參照先前研究所應用的計分方式，進一步修正、改進後所得到的一套計分系統[86]。首先將十個基因的表現量以中位數為基準，當表現量大於中位數時定義為基因表現量高，基因表現量低於中位數時定義為基因表現量低。接下來將十個基因對於化療反應(Chemo-response)的影響程度，進行 univariate Cox regression 分析，得到 β coefficient，並以有數值最低的 β coefficient 的基因當作基準，定義此基因的風險分數，當基因表現量高為 1 分、基因表現量低為 0 分。其他九組基因的風險分數，則是將九組基因的 β coefficient 除以最低的 β coefficient，並以四捨五入的方式計算。最後將病患得到的十個基因的風險分數相加後，即可得到總體得分(Overall score)。

七、統計分析

本研究所使用的統計分析軟體是 Statistical Product and Service Solutions(IBM SPSS Statistics : version 22.0)。將分成兩組的病患:一組化療敏感性 vs.一組化療抗藥性，利用卡方檢定(Chi-square Test)分別比較年齡、減積手術成功與否、病理組織型態、卵巢癌分期、腫瘤細胞分化程度、手術前 CA-125 檢測值、是否復發、是否存活之間的關聯性。以及利用 Mann-Whitney U test 分析兩族群

之間，10 個基因表現量的差異。再採用 Cox's regression model 計算 10 個基因對於化療反應(Chemo-response)的風險分數(Risk score)。並以 ROC 曲線，驗證以總體得分(Overall score)的計分方式是否具有對於化療反應(Chemo-response)、疾病復發(Disease relapse)和存活狀況(Disease-related death)的鑑別性。最後分析病患的五年無病存活期(Disease free survival ,DFS)和整體存活期(Overall survival ,OS)之存活曲線。當 p 值小於 0.05 時，定義為統計上有顯著差異。

八、TCGA 資料下載

從 The Cancer Genome Atlas(TCGA)的 GDC Data Portal 獲取卵巢癌病人資料，利用 R package (TCGAbiolinks 和 data.table)下載，從中篩選出具備完整臨床資料和十個基因表現量數據的個案，共 255 位可分析的卵巢癌病人資料。計畫 ID(Project ID):TCGA-OV、疾病類型 (Disease Type): Ovarian Serous Cystadenocarcinoma、資料類型(Data type): Gene expression quantification、檔案類別(File type): Normalized results、系統平台(Platform): Illumina HiSeq。

實驗結果



一、卵巢癌病人臨床資料特徵

本研究收集 149 位病人，劃分為兩群，分別為化療敏感性族群 75 人，化療抗藥性族群 74 人，進行病例對照研究(Case control study)，因此在挑選病人時，將年齡、是否到最佳減積手術、組織病理分類、卵巢癌分期、腫瘤細胞分化程度等影響因子作出盡可能的配對，讓兩個族群的條件達到一致。根據兩個族群的臨床資料作分析，結果列於表一。其中化療敏感性族群 75 人，小於 50 歲 11 人(14.7%)，大於等於 50 歲 64 人(85.3%)。這些病人都接受減積手術，達到最佳減積手術有 43 人(57.3%)，未達到最佳減積手術有 32 人(42.7%)。組織病理分類，漿液性(Serous adenocarcinoma)有 57 人(76%)，子宮內膜性(Endometrioid adenocarcinoma)有 9 人(12%)，亮細胞性(Clear cell adenocarcinoma)有 9 人(12%)。卵巢癌分期，FIGO 第三期有 61 人(81.3%)，第四期有 14 人(18.7%)。腫瘤細胞分化程度，分化良好者(grade 1)有 5 人(6.7%)，分化中等者(grade 2)有 2 人(2.7%)，分化不良者(grade 3)有 68 人(90.7%)。CA-125 中位數測量值為 877.5(U/ml)，最小值 5.3(U/ml)，最大值 9892(U/ml)。復發情況，40 人(53.3%)沒有復發，35 人(46.7%)有復發。存活狀態，有 14 人(18.7%)已經死亡，61 人(81.3%)仍存活著。化療抗藥性族群有 74 人，小於 50 歲有 13 人(17.6%)，大於等於 50 歲有 61 人(82.4%)。進行減積手術，達到最佳減積手術有 34 人(45.9%)，未達到最佳減積手術有 40 人(54.1%)。組織病理分類，漿液性(Serous adenocarcinoma)有 54 人(73%)，子宮內膜性(Endometrioid adenocarcinoma)有 5 人(6.8%)，亮細胞性(Clear cell adenocarcinoma)有 13 人(17.6%)，混合型(Mixed type)有 2 人(2.7%)。卵巢癌分期，FIGO 第三期有 65 人(87.8%)，第四期有 9 人(12.2%)。腫瘤細胞分化程度，分化良好者(grade 1)有 1 人(1.4%)，分化中等者(grade 2)有 1 人(1.4%)，分化不良者(grade 3)有 72 人(97.3%)。CA-125 中位數測量值為 982.4(U/ml)，最小值 5.3(U/ml)，最大值 36908.3(U/ml)。復發情況，0 人(0.0%)沒有復發，74 人(100%)有復發。存活狀態，有 52 人(70.3%)已經死亡，22 人(29.7%)仍存活著。

二、十個基因及 house-keeping gene 的 QRT-PCR(Quantitative real-time polymerase chain reaction)代表圖

將 149 位病人之組織檢體進行即時定量聚合酶連鎖反應分析，得到 QRT-PCR 代表圖，如圖一所示。(A) *GAPDH* 的 QRT-PCR 代表圖、(B) *GPC1* 的 QRT-PCR 代表圖、(C) *CYPB* 的 QRT-PCR 代表圖、(D) *MSLN* 的 QRT-PCR 代表圖、(E) *LIMK2* 的 QRT-PCR 代表圖、(F) *DOCK4* 的 QRT-PCR 代表圖、(G) *STK31* 的 QRT-PCR 代表圖、(H) *IGF1* 的 QRT-PCR 代表圖、(I) *CHI3L1* 的 QRT-PCR 代表圖、(J) *Survivin* 的 QRT-PCR 代表圖和(K) *CBAP* 的 QRT-PCR 代表圖。

三、以即時定量聚合酶連鎖反應(Quantitative real-time polymerase chain reaction,QRT-PCR)比較化療敏感性族群和化療抗藥性族群間，10 個基因表現量的差異

總共 149 位病人，其中化療敏感性族群 75 人，化療抗藥性族群 74 人，取其組織進行即時定量聚合酶連鎖反應分析，比較化療敏感性族群和化療抗藥性族群間，10 個基因表現量中位數的差異，十個基因包括: *GPC1*、*CYPB*、*MSLN*、*LIMK2*、*DOCK4*、*STK31*、*IGF1*、*CHI3L1*、*Survivin*、*CBAP*。化療敏感性族群之 10 個基因表現量中位數皆比化療抗藥性族群具有統計意義顯著地低，如表二所示。化療敏感性族群比化療抗藥性族群有較低的 *GPC1* (0.187 vs. 0.802, $p=0.001$)、較低的 *CYPB* (23.28 vs. 75.77, $p<0.001$)、較低的 *MSLN* (41.945 vs. 152.53, $p=0.004$)、較低的 *LIMK2* (2.014 vs. 8.744, $p<0.001$)、較低的 *DOCK4* (0.128 vs. 0.98, $p<0.001$)、較低的 *STK31* (0.169 vs. 1.094, $p<0.001$)、較低的 *IGF1* (1.437 vs. 9.387, $p<0.001$)、較低的 *CHI3L1* (3.015 vs. 17.799, $p=0.001$)、較低的 *Survivin* (0.935 vs. 3.115, $p=0.004$)、較低的 *CBAP* (0.632 vs. 2.933, $p<0.001$)。

四、利用十個基因對於化療反應(Chemo-response)的影響程度，計算出風險分數(Risk score)

將 149 位病人所測得對化療反應(Chemo-response)的影響程度的十個基因，進一步進行 Univariate Cox regression 分析，計算出每個基因對化療反應的風險分數(Risk score)，結果列於表三。首先利用各基因表現量的中位數，把病人分為兩群，一群為基因表現量低於中位數者，另一群為基因表現量高於中位數者，發現這十個基因，其基因表現量高於中位數者，皆比基因表現量低於中位數者有較高的風險，產生化療抗藥性。*GPC1*(風險係數(hazard ratio, HR) 2.16, 95%信賴區間(confidence interval, CI) 1.33-3.50, $p=0.002$)、*CYPB*(風險係數 3.26, 95%信賴區間 1.97-5.40, $p<0.001$)、*MSLN*(風險係數 1.58, 95%信賴區間 0.98-2.53, $p=0.06$)、*LIMK2*(風險係數 2.50, 95%信賴區間 1.53-4.09, $p<0.001$)、*DOCK4*(風險係數 2.79, 95%信賴區間 1.69-4.61, $p<0.001$)、*STK31*(風險係數 2.57, 95%信賴區間 1.57-4.20, $p<0.001$)、*IGF1*(風險係數 3.11, 95%信賴區間 1.87-5.18, $p<0.001$)、*CHI3L1*(風險係數 1.93, 95%信賴區間 1.20-3.13, $p=0.007$)、*Survivin*(風險係數 1.62, 95%信賴區間 1.00-2.61, $p=0.048$)、*CBAP*(風險係數 3.71, 95%信賴區間 2.21-6.24, $p<0.001$)。

我們再進行風險分數(Risk score)的計算。先以 *MSLN* 的 β coefficient 為基準，定義 *MSLN* 的基因表現量 <76.01 為 0 分、 ≥ 76.01 為 1 分，接下來把另外九組的 β coefficient 除以 *MSLN* 的 β coefficient，再以四捨五入的方式計算，得到風險分數如下：*GPC1*: 基因表現量 <0.44 為 0 分、 ≥ 0.44 為 2 分；*CYPB*: 基因表現量 <47.94 為 0 分、 ≥ 47.94 為 3 分；*LIMK2*: 基因表現量 <4.15 為 0 分、 ≥ 4.15 為 2 分；*DOCK4*: 基因表現量 <0.29 為 0 分、 ≥ 0.29 為 2 分；*STK31*: 基因表現量 <0.41 為 0 分、 ≥ 0.41 為 2 分；*IGF1*: 基因表現量 <4.17 為 0 分、 ≥ 4.17 為 3 分；*CHI3L1*: 基因表現量 <5.90 為 0 分、 ≥ 5.90 為 1 分；*Survivin*: 基因表現量 <1.50 為 0 分、 ≥ 1.50 為 1 分；*CBAP*: 基因表現量 <1.41 為 0 分、 ≥ 1.41 為 3 分。

五、化療敏感性族群和化療抗藥性族群間總體得分(Overall score)的分佈

根據以十個基因表現量所定義的風險係數所算得的風險分數(Risk score)，對 75 位化療敏感性族群和 74 位化療抗藥性族群，進行分數加總(範圍從最小 0 分到最大 20 分)，得到的總體得分(Overall score)，如表四所列，並對化療敏感性族群和化療抗藥性族群間的總體得分(Overall score)作圖，其分布如圖一所示。其中化療敏感性族群 75 人，總體得分 0 分為 11 人、總體得分 1 分為 7 人、總體得分 2 分為 7 人、總體得分 3 分為 5 人、總體得分 4 分為 5 人、總體得分 5 分為 3 人、總體得分 6 分為 6 人、總體得分 7 分為 7 人、總體得分 8 分為 3 人、總體得分 9 分為 1 人、總體得分 10 分為 1 人、總體得分 11 分為 2 人、總體得分 12 分為 0 人、總體得分 13 分為 3 人、總體得分 14 分為 0 人、總體得分 15 分為 4 人、總體得分 16 分為 4 人、總體得分 17 分為 3 人、總體得分 18 分為 1 人、總體得分 19 分為 0 人、總體得分 20 分為 2 人；化療抗藥性族群 74 人，總體得分 0 分為 2 人、總體得分 1 分為 0 人、總體得分 2 分為 0 人、總體得分 3 分為 2 人、總體得分 4 分為 2 人、總體得分 5 分為 2 人、總體得分 6 分為 2 人、總體得分 7 分為 4 人、總體得分 8 分為 0 人、總體得分 9 分為 6 人、總體得分 10 分為 5 人、總體得分 11 分為 3 人、總體得分 12 分為 3 人、總體得分 13 分為 3 人、總體得分 14 分為 1 人、總體得分 15 分為 3 人、總體得分 16 分為 4 人、總體得分 17 分為 4 人、總體得分 18 分為 5 人、總體得分 19 分為 10 人、總體得分 20 分為 13 人。透過圖二，可以觀察到化療敏感性族群的總體得分相對於化療抗藥性族群間較低。

六、以總體得分(Overall score)的計分方式，評估化療反應(Chemo-response)、疾病復發(Disease relapse)和存活狀況(Disease-related death)的 ROC 曲線 (Receiver operating characteristic curve)

我們接著利用 ROC 曲線，驗證以總體得分(Overall score)的計分方式是否對化療反應(Chemo-response)、疾病復發(Disease relapse)和存活狀況(Disease-related

death)具有鑑別性,當曲線下的面積(AUROC : Area under the ROC curve)數值愈大時,其鑑別能力愈好。判別規則: $0.7 \leq \text{AUROC} \leq 0.8$ 為可接受的鑑別力(Acceptable discrimination); $0.8 \leq \text{AUROC} \leq 0.9$ 為優良的鑑別力(Excellent discrimination); $0.9 \leq \text{AUROC} \leq 1.0$ 為極佳的鑑別力(Outstanding discrimination)。此外也可以得到一個最佳切點(Cut off value)作為區分的參考值,尋找切點的方法為 Youden index,是將每一個切點的敏感度(Sensitivity)與特異度(Specificity)相加,並取其最大值,即為最佳切點。結果得到以這樣的計分方式,對於化療反應(Chemo-response)、疾病復發(Disease relapse)和存活狀況(Disease-related death)是具有鑑別性的。化療反應(Chemo-response)的 ROC 曲線: AUROC=0.803, Youden index=1.531, 最佳切點: overall score =8.5。疾病復發(Disease relapse)的 ROC 曲線: AUROC=0.75, Youden index=1.504, 最佳切點: overall score =8.5。存活狀況(Disease-related death)的 ROC 曲線: AUROC=0.71, Youden index=1.411, 最佳切點: overall score =8.5。

七、卵巢癌病人對於化療反應(Chemo-response)之預後因子分析

將 149 位卵巢癌病人以多變項分析(Multiple cox regression),進行對於化療反應(Chemo-response)之預後因子分析,結果如表八。發現當總體得分高(overall score ≥ 9)比總體得分低(overall score < 9)有較高的風險,產生化療抗藥性,並具統計上的意義,其中 9 分的分界是以先前計算得到的最佳切點 8.5 分用四捨五入來計算(表五)。總體得分(Overall score < 9 vs. overall score ≥ 9 , HR:5.02(2.75~9.18), $p < 0.001$)。其他風險因子的分析結果則不具統計上之意義,如下,年齡(Age < 50 vs. Age ≥ 50 , HR:0.78(0.42~1.44), $p=0.42$)、是否到最佳減積手術(Yes vs. No, HR:1.35(0.81~2.26), $p=0.25$)、腫瘤細胞分化程度(Tumor grade 1 vs. Tumor grade 2 or 3, HR:2.80(0.64~12.2), $p=0.17$)、組織病理分類(Serous vs. Non-serous, HR:1.81(0.97~3.36), $p=0.06$)。

八、卵巢癌病人五年的無病存活期(Disease free survival, DFS)和整體存活期(Overall survival, OS)之存活曲線

利用總體得分(Overall score)的高低，將病人的五年無病存活期(Disease free survival, DFS)和整體存活期(Overall survival, OS)之存活曲線作圖，結果如(圖六)和(圖七)所示。當總體得分高(overall score ≥ 9)比總體得分低(overall score < 9)有較差的無病存活期， $p < 0.001$ ，具統計上意義。並且總體得分高(overall score ≥ 9)之整體存活期也較總體得分低(overall score < 9)之整體存活期來的差， $p < 0.001$ ，具統計上意義。因此我們可以知道，當總體得分愈高，病人五年之無病存活期和整體存活期也會愈差。

九、達到最佳減積手術之卵巢癌病人五年的無病存活期(Disease free survival, DFS)和整體存活期(Overall survival, OS)之存活曲線

將 77 位達到最佳減積手術之卵巢癌病人，以總體得分(Overall score)的高低，針對病人五年的無病存活期(Disease free survival, DFS)和整體存活期(Overall survival, OS)之存活曲線作圖，結果如圖八和圖九所示。當總體得分高(overall score ≥ 9)比總體得分低(overall score < 9)有較差的無病存活期， $p < 0.001$ ，具統計上意義。並且總體得分高(overall score ≥ 9)之整體存活期也較總體得分低(overall score < 9)之整體存活期來的差， $p = 0.001$ ，具統計上意義。因此我們可以得到，不論是否有達到最佳減積手術，當總體得分愈高，病人五年之無病存活期和整體存活期也會愈差。

十、未達到最佳減積手術之卵巢癌病人五年的無病存活期(Disease free survival, DFS)和整體存活期(Overall survival, OS)之存活曲線

將 72 位未達到最佳減積手術之卵巢癌病人，以總體得分(Overall score)的高低，針對病人五年的無病存活期(Disease free survival, DFS)和整體存活期(Overall survival, OS)之存活曲線作圖，結果如圖十和圖十一所示。當總體得分高(overall

score ≥ 9)比總體得分低(overall score < 9)有較差的無病存活期， $p < 0.001$ ，具統計上意義。並且總體得分高(overall score ≥ 9)之整體存活期也較總體得分低(overall score < 9)之整體存活期來的差， $p = 0.001$ ，具統計上意義。因此我們可以得到，當總體得分愈高，病人五年之無病存活期和整體存活期也會愈差，不受是否有達到最佳減積手術的影響。

十一、TCGA 卵巢癌病人臨床資料特徵

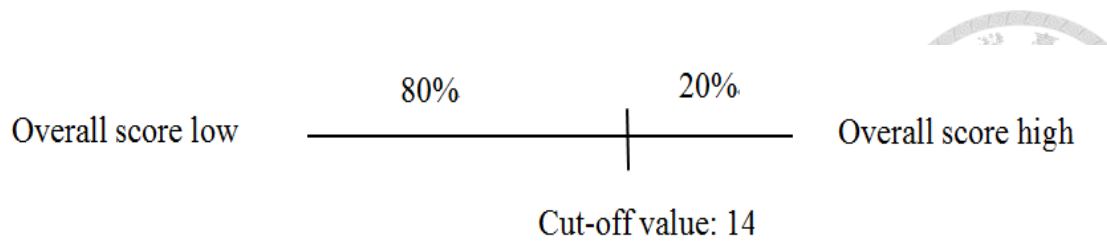
本研究從 TCGA 下載的 255 位卵巢癌病人，劃分為兩群，分別為化療敏感性族群和化療抗藥性族群，根據兩個族群的臨床資料作分析，結果列於表九。其中化療敏感性族群 245 人，小於 50 歲的有 45 人(18.4%)，大於等於 50 歲的有 195 人(79.6%)，5 人(2.0%)的年齡不明。這些病人都接受減積手術，達到最佳減積手術有 181 人(73.9%)，未達到最佳減積手術有 64 人(26.1%)。組織病理分類則都是漿液性(Serous adenocarcinoma) 有 245 人(100%)。卵巢癌分期，FIGO 第三期有 212 人(86.5%)，第四期有 33 人(13.5%)。腫瘤細胞分化程度，分化良好者(grade 1) 有 1 人(0.4%)，分化中等者(grade 2) 有 23 人(9.4%)，分化不良者(grade 3) 有 221 人(90.2%)。復發情況，107 人(43.7%)沒有復發，138 人(56.3%)有復發。存活狀況，有 150 人(61.2%)已經死亡，95 人(38.8%)仍存活著。化療抗藥性族群有 10 人，小於 50 歲者有 2 人(20.0%)，大於等於 50 歲的有 8 人(80.0%)。進行減積手術，達到最佳減積手術有 8 人(80.0%)，未達到最佳減積手術有 2 人(20.0%)。組織病理分類都是漿液性(Serous adenocarcinoma)有 10 人(100%)。卵巢癌分期，皆為 FIGO 第三期有 10 人(100%)。腫瘤細胞分化程度，分化良好者(grade 1) 0 人(0.0%)，分化中等者(grade 2) 有 1 人(10.0%)，分化不良者(grade 3) 有 9 人(90.0%)。復發情況，0 人(0.0%)沒有復發，10 人(100.0%)有復發。存活狀況，有 6 人(60.0%)已經死亡，4 人(40.0%)仍存活著。

十二、TCGA 化療敏感性族群和化療抗藥性族群間總體得分(Overall score)的分佈

根據先前實驗以十個基因表現量所定義的風險係數所算得的風險分數(Risk score)，對 TCGA 的 245 位化療敏感性族群和 10 位化療抗藥性族群，進行分數加總(範圍從最小 0 分到最大 20 分)，得到的總體得分(Overall score)，其分布如圖十二所示。其中化療敏感性族群 245 人，總體得分 0 分為 0 人、總體得分 1 分為 0 人、總體得分 2 分為 3 人、總體得分 3 分為 2 人、總體得分 4 分為 7 人、總體得分 5 分為 11 人、總體得分 6 分為 12 人、總體得分 7 分為 22 人、總體得分 8 分為 34 人、總體得分 9 分為 24 人、總體得分 10 分為 26 人、總體得分 11 分為 21 人、總體得分 12 分為 25 人、總體得分 13 分為 15 人、總體得分 14 分為 15 人、總體得分 15 分為 10 人、總體得分 16 分為 9 人、總體得分 17 分為 5 人、總體得分 18 分為 2 人、總體得分 19 分為 2 人、總體得分 20 分為 0 人；化療抗藥性族群 10 人，總體得分 0 分為 0 人、總體得分 1 分為 0 人、總體得分 2 分為 0 人、總體得分 3 分為 0 人、總體得分 4 分為 0 人、總體得分 5 分為 0 人、總體得分 6 分為 0 人、總體得分 7 分為 1 人、總體得分 8 分為 1 人、總體得分 9 分為 1 人、總體得分 10 分為 1 人、總體得分 11 分為 5 人、總體得分 12 分為 0 人、總體得分 13 分為 1 人、總體得分 14 分為 0 人、總體得分 15 分為 0 人、總體得分 16 分為 0 人、總體得分 17 分為 0 人、總體得分 18 分為 0 人、總體得分 19 分為 0 人、總體得分 20 分為 0 人。透過圖一二，可以觀察到不論化療敏感性族群或化療抗藥性族群的總體得分，都沒有明顯的分佈趨勢。

十三、TCGA 卵巢癌病人的整體存活期(Overall survival, OS)之存活曲線

以總體得分的高低來看 TCGA 卵巢癌病人的整體存活期(Overall survival, OS)，首先將病人做分類，分類方式如下圖：



前 20% 總體得分高的病人(overall score ≥ 14) vs. 後 80% 總體得分低的病人(overall score < 14)，得到結果如圖十三所示，當總體得分高(overall score ≥ 14)比總體得分低(overall score < 14)會有較差的整體存活期， $p=0.044$ ，具統計上的意義。因此我們可以知道，當總體得分愈高，卵巢癌病人之整體存活期會愈差。

討論

目前對於卵巢癌的預後，我們常參考腫瘤分期(Tumor stage)、組織學型態(Histological subtype)、腫瘤細胞分化程度(Tumor grade)、手術後腫瘤殘餘體積大小(Residual tumor size after surgical treatment)、化學治療反應(Chemo-response)等資訊，但這些預後因子都尚不足以完整預測卵巢癌的腫瘤生物學及病人預後的狀態[25]。除此之外，臨床上常用的生物指標 CA-125，也因靈敏性(Sensitivity)和特異性(Specificity)的不高，並無法真正適合用來當作預測卵巢癌的指標[9]，因此如何找出一個分子或生物標誌來評估卵巢癌的治療方針、疾病嚴重度和預後是目前一個重要的課題。

因為分子和病因學上的不同，造成卵巢癌的多樣化，Kurman & Shih (2010) 提出一個二元理論，將卵巢上皮細胞癌分為兩個亞型:Type I 和 Type II。Type I tumor 疾病進展緩慢且屬於早期(Low stage)；Type II tumor 具有高度侵犯性，疾病大都發生在晚期(advanced stage)[87]。但因為基因異質性(Genetic heterogeneity)的關係，造成即使有相同的組織型態(高度漿液性 vs. 低度漿液性)，但對於治療效果卻有不同的抵抗力[86]。並且因為不同的組織型態和分化程度，卵巢上皮細胞癌有很多不同的亞型，最常見是漿液型(50%-60%)，其次是子宮內膜性(25%)、黏液型(4%)、亮細胞型(4%)。而亞型的不同也會造成臨床表現的不一致，黏液型和亮細胞型通常發生在早期，經過手術後，對化療藥物常呈現抗藥性(<30% response rate)，反之，漿液型和子宮內膜型雖然發生在晚期，但對化療藥物的反應相對比較好(>70% response rate)。卵巢癌的細胞分化程度從 grade 1 到 grade 3，其中 grade 3 分化程度最差。另外，還有一種類型屬於低度惡性潛能(Low Malignant Potential, LMP)腫瘤，我們定義為 grade 0。低度惡性潛能的腫瘤呈現非典型的細胞型態，包括核異型(Nuclear atypia)和微小乳突狀(Micropapillary)的型態，不會侵犯到卵巢基質(Stroma)，所以即使疾病屬於晚期，但細胞分化程度是屬於低度惡性潛能，5 年存活率仍然會較好。除此之外，Low-grade (grade 1) 的腫瘤因為較不具侵犯性且發展緩慢，所以比起 High-grade (grade 2 and grade 3)

的腫瘤有較好的五年存活率[88]。

病人的存活，主要受到疾病的復發和化療抗藥性的影響，近年來，因為較高的致死率，卵巢癌受到愈來愈多的重視，大多數患者在疾病晚期才被診斷出來，預後差。目前主要的治療策略是減積手術(Debulking surgery)搭配化學藥物治療(platinum 和 taxane)。最佳減積手術(Optimal debulking surgery)的目標是盡可能將腫瘤切除，以避免殘餘腫瘤復發，然而因為外科醫師手術的經驗不同，只有20%-90%的病人可以達到最佳減積手術。在治療過後，大多數病人對於症狀的緩解率為80%，晚期(Advanced stage)病人則有40-60%的緩解率，但疾病晚期的病人常因為化療抗藥性的影響，導致在完成一個階段的療程後，腫瘤復發並造成死亡，因此在這治療過程中，卵巢癌患者對於化療藥物產生抗藥性，是我們常碰到的一個阻礙[89]。

因此，癌症治療碰到最大的問題是產生藥物抗藥性，由於個體的差異以及造成腫瘤形成的突變基因不同，所以在面對癌症的治療上遇到很大的困難，並且化療的抗藥性會造成癌症的復發、擴散以及死亡。造成化療抗藥性的分子機制包括轉運幫補(Transporter pumps)、致癌基因(*EGFR*, *PI3K/Akt*, *Erk* and *NF- κ B*)、腫瘤抑制基因(*p53*)、mitochondrial alteration、DNA 修補、自噬作用(Autophagy)、上皮-間質細胞轉化(Epithelial-mesenchymal transition ,EMT)、腫瘤幹細胞(Cancer stemness)、exosome 等。這些機制可能相互的影響，例如致癌基因影響的訊號傳遞路徑(*EGFR-Akt-NF- κ B*)常伴隨著改變凋亡反應相關基因的表現和 EMT 反應。自噬細胞(Autophagic cells)的抗凋亡反應、exosome 內包含的許多蛋白，也被認為與抗凋亡反應(Anti-apoptosis)和轉運幫補(Transporter pumps)相關。此外，EGF 結合 EGFR 活化 EMT 反應，可使細胞出現類似幹細胞的特性[90]。

先前的研究指出，藉由將藥物去活化、抗凋亡反應、提高損壞 DNA 的修補等機制，可能會導致卵巢癌患者產生化療抗藥性。其中，致癌基因(Oncogenes)在癌症的發展中，扮演關鍵的角色，不正常的表現常被認為與藥物抗藥性有相關聯。致癌基因是以 proto-oncogenes 的形式存在於正常細胞組織中，參與細胞的

生長和發育，基因的點突變(Point mutations)、染色體轉位(Chromosomal translocation)、基因放大(Gene amplification)等變異會造成 proto-oncogenes 的活化，轉變成致癌基因(Oncogenes)，刺激細胞不正常的增生、干擾細胞的凋亡反應[91]。

致癌基因，主要透過兩種機制造成卵巢癌病人的化療抗藥性，包括凋亡反應(Apoptosis)和磷酸化反應(Phosphate metabolic process)。凋亡反應是維持體內細胞平衡的一個重要機制，當有不正常的細胞出現時，身體會啟動凋亡機制，所以當這項平衡被破壞時，就會造成不正常的細胞增生，進一步發展成癌症，其中致癌基因 *BCL2*，就是利用阻斷細胞的凋亡反應來造成藥物的抗藥性。磷酸化和去磷酸化(Phosphorylation & dephosphorylation)機制，則可調控生長因子(Growth factor)和細胞激素(Cytokine)的訊號傳遞路徑，影響細胞的增生、分化、存活、凋亡以及癌症的發展，像是 AKT 的磷酸化即可造成化療抗藥性[91]。

另外，過去的文獻發現，致癌基因主要透過影響 AKT 和 BAX 的路徑，產生藥物抗藥性，在正常細胞中，AKT 和 BAX 的訊息傳導路徑主要負責細胞的凋亡反應。藉由影響 PI3K/AKT 的訊息傳導路徑可導致細胞不正常生長並且阻斷凋亡反應，造成化療抗藥性，其中 AKT 可以被很多分子刺激活化，像是生長因子(Growth factors)、蛋白磷酸酶抑制劑(Protein phosphatase inhibitors)等，而致癌基因也被發現可以透過直接或間接的方式來活化 AKT 造成藥物抗藥性，像是致癌基因 *ACTN4* 可以使 AKT 磷酸化，促使 AKT 的轉位(translocation)和細胞的增生。另外，BAX 也可以透過 *BCL2* 或是 *BCL-XL* 來抑制細胞的凋亡反應，除此之外，下游的致癌基因(oncogenes)也可藉由調控 BAX，造成卵巢癌的化療抗藥性。根據這些資料，我們可以知道對於造成卵巢癌化療抗藥性的路徑中，AKT 和 BAX 扮演重要的角色[91]。

由先前的資料可以知道，致癌基因對於卵巢癌產生化療抗藥性，扮演著關鍵的角色，因此本研究挑選了十個致癌基因：*GPC1*、*CYPB*、*MSLN*、*LIMK2*、*DOCK4*、*STK31*、*IGF1*、*CHI3L1*、*Survivin*、*CBAP*，並比較卵巢癌病患化療敏感性族群和

化療抗藥性族群間的基因表現量差異。首先，我們進行即時定量聚合酶連鎖反應 (quantitative real-time polymerase chain reaction ,QRT-PCR)，看十個基因的基因表現量，結果顯示，在化療抗藥性族群之 10 個基因表現量中位數皆比化療敏感性族群高，有顯著的統計意義(表二)。接下來，則是想知道十個基因對於化療抗藥性的影響程度並給予一個風險分數(Risk score)，利用 Univariate Cox regression 分析，發現十個基因的基因表現量高，對於化療抗藥性會有顯著的影響，但每個基因的影響程度並不一致，於是藉由計算 β coefficient，得到十個基因的風險分數，分別是 *GPC1* 為 2 分；*CYPB* 為 3 分；*MSLN* 為 1 分；*LIMK2* 為 2 分；*DOCK4* 為 2 分；*STK31* 為 2 分；*IGF1* 為 3 分；*CHI3L1* 為 1 分；*Survivin* 為 1 分；*CBAP* 為 3 分(表三)。然後根據以十個基因表現量所定義的風險係數所算得的風險分數 (Risk score)，對 75 位化療敏感性族群和 74 位化療抗藥性族群，進行分數加總，得到總體得分(Overall score) (表四)，從圖形總體得分的分佈來看，化療敏感性的族群，總體得分偏低，反之化療抗藥性族群，總體得分則較高(圖一)。我們接著利用 ROC 曲線，驗證以總體得分(Overall score)的計分方式是否對化療反應 (Chemo-response)、疾病復發(Disease relapse)和存活狀況(Disease-related death)具有鑑別性。化療反應(Chemo-response)的 ROC 曲線:AUROC=0.803 為優良的鑑別力(Excellent discrimination)，Youden index=1.531，最佳切點: overall score =8.5。疾病復發(Disease relapse)的 ROC 曲線: AUROC=0.75 為可接受的鑑別力(Acceptable discrimination)，Youden index=1.504，最佳切點: overall score =8.5。存活狀況(Disease-related death)的 ROC 曲線: AUROC=0.71 為可接受的鑑別力(Acceptable discrimination)，Youden index=1.411，最佳切點: overall score =8.5。最後，以總體得分的高低來看卵巢癌病人五年的無病存活期(Disease free survival ,DFS)和整體存活期(Overall survival ,OS)，結果顯示(圖五和圖六)，當總體得分高(overall score ≥ 9)比總體得分低(overall score < 9)有較差的無病存活期和整體存活期。除此之外，也將病人分成達到最佳減積手術和未達到最佳減積手術，得到結果(圖七、圖八、圖九、圖十)，我們可以知道不論是否有達到最佳減積手

術，當總體得分愈高(overall score ≥ 9)，病人五年的無病存活期和整體存活期都會愈差。總而言之，在化療抗藥性族群中，十個致癌基因的表現量會較高，並應用總體得分的計分方式，當總得體分愈高，病患對於化療反應的效果以及預後愈差，因此，可以作為有發展潛能的生物指標用來預測卵巢癌的化療反應和預後反應。

接下來為了讓整個研究不受到局限，我們進一步想透過分析外部的資料庫來驗證這套計分系統，因此我們從 The Cancer Genome Atlas(TCGA)的 GDC Data Portal 獲取資料，利用 R package(TCGAbiolinks 和 data.table)下載共 255 位卵巢癌病人資料並將下載資料進行統計分析。首先將十個基因的表現量以中位數為區分標準，分為基因表現量高和基因表現量低，並根據先前實驗以十個基因表現量所定義的風險係數所算得的風險分數(Risk score)，對 255 位卵巢癌病人，進行分數加總，得到的總體得分(Overall score)。進一步，我們以總體得分的高低來看卵巢癌病人的整體存活期(Overall survival ,OS)，得到結果(圖十三)，當總體得分高(overall score ≥ 14)比總體得分低(overall score < 14)會有較差的整體存活期， $p=0.044$ ，具統計上的意義。

比較 TCGA 臨床資料特徵(表九)與實驗室臨床資料特徵(表一)，最大的不同在於 TCGA 病患產生化療抗藥性只佔 3.9%，比實驗室的 49.7%還要低很多。另外我們也發現 TCGA 病患復發(58% vs.73.2%)的比例較低，而達成最佳減積手術(74.1% vs. 51.7%)和死亡(61.2% vs. 44.3%)的比例則較高，卵巢癌分期和腫瘤細胞分化程度的比例則是很相似。總體得分的分佈上，實驗室的結果可以觀察到化療敏感性的族群，總體得分偏低，化療抗藥性族群，總體得分則較高(圖一)

而 TCGA 的病患則因化療抗藥性族群的病患人數太少，所以並不能明顯看出一個分佈的趨勢(圖一二)。雖然有些臨床特徵和分佈趨勢的不同，但以總體得分的高低來看卵巢癌病人的整體存活期(Overall survival ,OS)，不論 TCGA(圖十三)或實驗室(圖七)都可以得到總體得分高比總體得分低有較差整體存活期的結果。因此，在經過外部資料庫的校正後，我們可以得到一個結論，就是以此計分方式，

當總體得分愈高，病人的預後愈差，因此確實可以當作一個有潛力的生物指標。

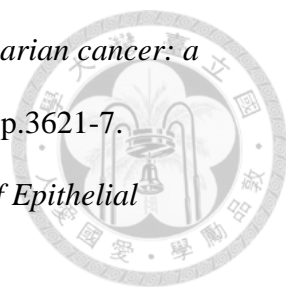
最後，由實驗結果我們可以知道，當致癌基因表現量高時，會對卵巢癌造成化療抗藥性，且在過去實驗室的研究發表中，我們證實了 *CHI3L1* 可以透過調控抗凋亡分子 (Anti-apoptotic) Mcl-1 來影響化療藥物 paclitaxel 所誘發的凋亡反應，進而造成卵巢癌病人的化療抗藥性[89]。另外，我們也發現 *MSLN* 可抑制 paclitaxel 所誘發的凋亡反應，藉由干擾 Bcl-2 family (Bcl-2 and Mcl-1) 所參與的 PI3K 訊號傳遞路徑[42]。但其他致癌基因是藉由調控哪些路徑造成卵巢癌抗藥性的機制目前仍不是很清楚，是未來可以更進一步探討的方向，以及這些基因間是否存在上下游的關係，都是未來值得研究的地方。此外，由於組織檢體取得不易，我們也可以試著從病人血清檢體中，檢測基因的表現量，若能得到一致之實驗結果，對於應用在預測卵巢癌預後將更為便利。

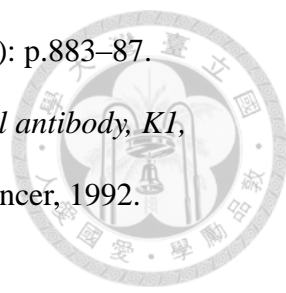
參考文獻

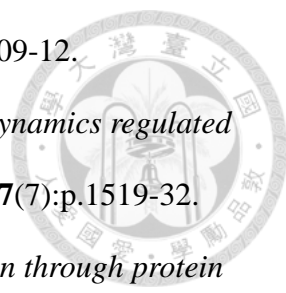


1. Reid, B.M., et al., *Epidemiology of ovarian cancer: a review*. *Cancer Biol Med*, 2017.**14**(1):p9–32.
2. Pflleiderer, A., *Diagnosis and staging of ovarian cancer*. *J Cancer Res Clin Oncol*, 1984.**107**(2):p.81-8.
3. Gonzalez, D. P., et al., *Time trends in ovarian cancer mortality in Europe(1955-1993): effect of age, birth cohort and period of death*. *Eur J Cancer*, 2000.**36**(14):p.1816-24.
4. Chiang, Y.C., et al., *Trends in incidence and survival outcome of epithelial ovarian cancer:30-year national population-based registry in Taiwan*. *J Gynecol Oncol*, 2013.**24**(4):p.342-51.
5. Siegel, R., et al., *Cancer statistics, 2014*. *CA Cancer J Clin*, 2014.**64**(1):p.9-29.
6. Rustin, G.J., *Tumor markers for ovarian cancer*. *Eur J Cancer*, 1992.**28**(1):p.2-3.
7. David, G.M., et al., *2014 FIGO staging for ovarian, fallopian tube and peritoneal cancer*. *Gynecologic Oncology*, 2014.**133**(3):p.401-4.
8. Selvaggi, S.M., *Tumors of the ovary, maldeveloped gonads, fallopian tube, and broad ligament*. *Arch Pathol Lab Med*, 2000.**124**(3):p.477.
9. Doubeni, C.A., et al., *Diagnosis and Management of Ovarian Cancer*. *Am Fam Physician*, 2016.**93**(11):p.937-44.
10. Cliby, W., et al., *Diaphragm resection for ovarian cancer: technique and short-term complications*. *Gynecol Oncol*, 2004.**94**(3):p.655-60.
11. Dowdy, S.C., et al., *Assesment of outcomes and morbidity following diaphragmatic peritonectomy for women with ovarian carcinoma*. *Gynecol Oncol*, 2008.**109**(2):p.303-7.
12. Eisenhauer, E.L., et al., *The addition of extensive upper abdominal surgery to achieve optimal cytoreduction improves survival in patients with stages IIIc-IV*

- epithelial ovarian cancer*. *Gynecol Oncol*, 2006.**103**(3):p1083-90.
13. Hoffman, M.S., et al., *Site of bowel resected to achieve optimal ovarian cancer cytoreduction: implications regarding surgical management*. *Am J Obstet Gynecol*, 2005.**193**(2):p.582-8.
14. Tebes, S.J., et al., *Colorectal resection in patients with ovarian and primary peritoneal carcinoma*. *Am J Obstet Gynecol*, 2006.**195**(2): p.585-90.
15. Marchetti, C., et al., *First-line treatment of advanced ovarian cancer: current research and perspectives*. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2010.**10**(1):p47-60
16. Davis, A., et al., *"Platinum resistant" ovarian cancer: what is it, who to treat and how to measure benefit?* *Gynecol Oncol*, 2014.**133**(3): p.624-31.
17. Coleman, R.L., et al., *Latest research and treatment of advanced-stage epithelial ovarian cancer*. *Nat Rev Clin Oncol*, 2013.**10**(4):p211-24.
18. Frank, T.S., et al., *Sequence analysis of BRCA1 and BRCA2: correlation of mutations with family history and ovarian cancer risk*. *J Clin Oncol*, 1998.**16**(7):p.2417-25.
19. Permuth, W. J., et al., *Epidemiology of ovarian cancer*. *Methods Mol Biol*, 2009.**472**:p413-37.
20. Risch, H.A., et al., *Hormonal etiology of epithelial ovarian cancer, with a hypothesis concerning the role of androgens and progesterone*. *J Natl Cancer Inst*, 1998.**90**(23):p.1774-86.
21. Beehler, G.P., et al., *Risk of ovarian cancer associated with BMI varies by menopausal status*. *J Nutr*, 2006.**136**(11):p.2881-6.
22. Olsen, C.M., et al., *Obesity and the risk of epithelial ovarian cancer: a systematic review and meta-analysis*. *Eur J Cancer*, 2007.**43**(4):p.690-709.
23. Markman, M., et al., *Impact of age on survival of patients with ovarian cancer*. *Gynecol Oncol*, 1993.**49**(2):p.236-9.

- 
24. Winter, W.E., et al., *Prognostic factors for stage III epithelial ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group Study*. J Clin Oncol, 2007.**25**(24):p.3621-7.
25. Ezzati, M., et al., *Recent Advancements in Prognostic Factors of Epithelial Ovarian Carcinoma*. Int Sch Res Notices, 2014:p.953509.
26. Hannibal, C.G., et al., *A binary histologic grading system for ovarian serous carcinoma is an independent prognostic factor: a population-based study of 4317 women diagnosed in Denmark 1978-2006*. Gynecol Oncol, 2012.**125**(3):p.655-60.
27. Sato, E., et al., *Intraepithelial CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes and a high CD8+/regulatory T cell ratio are associated with favorable prognosis in ovarian cancer*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005.**102**(51):p.18538-43.
28. Graeff, P. de., et al., *Modest effect of p53, EGFR and HER-2/neu on prognosis in epithelial ovarian cancer: a meta-analysis*. Br J Cancer, 2009.**101**(1):p.149-59.
29. Makin, G. and Dive, C., *Apoptosis and cancer chemotherapy*. Trends Cell Biol, 2001.**11**(11):p.S22-6.
30. Kleef, J. and Ishiwata, T., *The cell surface heparin sulfate proteoglycan glypican-1 regulates growth factor in pancreatic carcinoma cell and is overexpressed in human pancreatic cancer*. J.Clin.Invest, 1998.**102**(9): p.1662–73.
31. Melo, S. A., et al., *Glypican-1 identifies cancer exosomes and detects early pancreatic cancer*. Nature, 2015.**523**(9): p.177-182.
32. Fang, F., et al., *Expression of cyclophilin B is associated with malignant progression and regulation of genes implicated in the pathogenesis of breast cancer*. Am J Pathol, 2009.**174**(1):p.297-308.
33. Price, E.R., et al., *Human cyclophilin B: a second cyclophilin gene encodes a peptidyl-prolyl isomerase with a signal sequence*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1991.**88**(5):p.1903-1907.
34. Bast, R.J., et al., *A radioimmunoassay using a monoclonal antibody to monitor the*

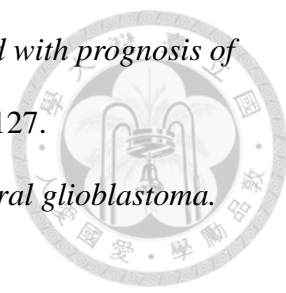
- 
- course of epithelial ovarian cancer. N Engl J Med, 1983.309(15): p.883–87.*
35. Chang, K., et al., *Isolation and characterization of a monoclonal antibody, K1, reactive with ovarian cancers and normal mesothelium. Int J Cancer, 1992. 50(3):p.373–81.*
36. Chang, K. and Pastan, I., *Molecular cloning of MSLN, a differentiation antigen present on mesothelium, mesotheliomas, and ovarian cancers. Proc Natl Acad Sci USA, 1996.93(1):p.136–40.*
37. Argani, P., et al., *Mesothelin is overexpressed in the vast majority of ductal adenocarcinomas of the pancreas: identification of a new pancreatic cancer marker by serial analysis of gene expression (SAGE). Clin Cancer Res, 2001.7(12):p.3862–68.*
38. Hippo, Y., et al., *Differential gene expression profiles of scirrhous gastric cancer cells with high metastatic potential to peritoneum or lymph nodes. Cancer Res, 2001.61(3):p.889–95.*
39. Frierson, H.J., et al., *Large-scale molecular and tissue microarray analysis of mesothelin expression in common human carcinomas. Hum Pathol, 2003.34(6):p. 605–09.*
40. Hassan, R. and Pastan, I., *Mesothelin : a new target for immunotherapy. Clin Cancer Res, 2004.10(12):p.3937–42.*
41. Huang, C.Y., et al., *Serum mesothelin in epithelial ovarian carcinoma: a new screening marker and prognostic factor. Anticancer Res, 2006.26(6):p.4721–28.*
42. Chang, M.C., et al., *Mesothelin inhibits paclitaxel-induced apoptosis through the PI3K pathway. Biochem J, 2009.424(3):p449-58.*
43. Arber, S., et al., *Regulation of actin dynamics through phosphorylation of cofilin by LIM-kinase. Nature, 1998.393(6687):p.805-09.*
44. Yang, N., et al., *Cofilin phosphorylation by LIM-kinase 1 and its role in*

- 
- Rac-mediated actin reorganization*. Nature, 1998.**393**(6687):p.809-12.
45. Sumi, T., et al., *Cofilin phosphorylation and actin cytoskeletal dynamics regulated by rho- and Cdc42-activated LIM-kinase 2*. J Cell Biol, 1999.**147**(7):p.1519-32.
46. Maekawa, M., et al., *Signaling from Rho to the actin cytoskeleton through protein kinases ROCK and LIM-kinase*. Science, 1999.**285**(5429):p.895-8.
47. Dan, S., et al., *An integrated database of chemosensitivity to 55 anticancer drugs and gene expression profiles of 39 human cancer cell lines*. Cancer Res, 2002.**62**(4):p.1139-47.
48. Yajnik, V., et al., *DOCK4, a GTPase activator, is disrupted during tumorigenesis*. Cell, 2003.**112**(5):p.673-84.
49. Fok, K.L., et al., *STK31 maintains the undifferentiated state of colon cancer cells*. Carcinogenesis, 2012.**33**(11):p.2044-53.
50. Yokoe, T., et al., *Efficient identification of a novel cancer/testis antigen for immunotherapy using three-step microarray analysis*. Cancer Res, 2008.**68**(4):p.1074-82.
51. Zang, Z.J., et al., *Genetic and structural variation in the gastric cancer kinome revealed through targeted deep sequencing*. Cancer Res, 2001.**71**(1):p29-39.
52. Xia, J., et al., *A meta-analysis of somatic mutations from next generation sequencing of 241 melanomas: a road map for the study of genes with potential clinical relevance*. Mol Cancer Ther, 2014.**13**(7):p.1918-28.
53. Kuo, PL., et al., *STK31 is a cell-cycle regulated protein that contributes to the tumorigenicity of epithelial cancer cells*. PLoS One, 2014.**9**(3):e93303.
54. Rodon, J., et al., *Early drug development of inhibitors of the insulin-like growth factor-I receptor pathway: lessons from the first clinical trials*. Mol Cancer Ther, 2008.**7**(9):p.2575-88.
55. Playford, M.P., et al., *Insulin-like growth factor 1 regulates the location, stability,*

and transcriptional activity of beta-catenin. Proc.Nat.Acad. Sci,
2000.**97**(22):p.12103-08.



56. Samani, A.A., et al., *The role of the IGF system in cancer growth and metastasis: overview and recent insights. Endocr Rev,* 2007.**28**(1):p.20-47.
57. Denduluri, SK., et al., *Insulin-like growth factor (IGF) signaling in tumorigenesis and the development of cancer drug resistance. Genes & Diseases,* 2015.**2**(1):p.13-25.
58. Johansen, J.S., et al., *Plasma YKL-40: a potential new cancer biomarker? Future Oncol,* 2009.**5**(7):p.1065–82.
59. Choudhuri, S., et al., *A repertoire of biomarkers helps in detection and assessment of therapeutic response in epithelial ovarian cancer. Mol Cell Biochem,* 2014.
386(1):p.259–69.
60. Dehn, H., et al., *Plasma YKL-40, as a prognostic tumor marker in recurrent ovarian cancer. Acta Obstet Gynecol Scand,* 2003.**82**(3):p.287–93.
61. Dupont, J., et al., *Early detection and prognosis of ovarian cancer using serum YKL-40. J Clin Oncol,* 2004.**22**(16):p.3330–39.
62. Gronlund, B., et al., *Pretreatment prediction of chemoresistance in second-line chemotherapy of ovarian carcinoma: value of serological tumor marker determination (tetranectin, YKL-40, CASA, CA125). Int J Biol Markers,* 2006.
21(3):p.141–48.
63. Hogdall, EV., et al., *High plasma YKL-40 level in patients with ovarian cancer stage III is related to shorter survival. Oncol Rep,* 2003.**10**(5):p.1535–38.
64. Hogdall, EV., et al., *YKL-40 tissue expression and plasma levels in patients with ovarian cancer. BMC Cancer,* 2009.**9**:p.8.
65. Yip, P., et al., *Comprehensive serum profiling for the discovery of epithelial ovarian cancer biomarkers. PLoS One,* 2011.**6**(12):e29533.

- 
66. Wang, D., et al., *High YKL-40 serum concentration is correlated with prognosis of Chinese patients with breast cancer*. PLoS One, 2012.**7**(12):e51127.
67. Bernardi, D., et al., *Serum YKL-40 following resection for cerebral glioblastoma*. J Neurooncol, 2012.**107**(2):p.299–305.
68. Ambrosini, G., et al., *Induction of apoptosis and inhibition of cell proliferation by survivin gene targeting*. J Biol Chem, 1998.**273**(18):p.11177–82.
69. Li, F., et al., *Control of apoptosis and mitotic spindle checkpoint by survivin*. Nature, 1998.**396**(6711):p.580–4.
70. Ambrosini, G., et al., *A novel antiapoptosis gene survivin expressed in cancer and lymphoma*. Nat Med, 1997.**3**(8):p.917–21.
71. Weinman, E.C., et al., *Characterization of antigen processing machinery and survivin expression in tonsillar squamous cell carcinoma*. Cancer, 2003.**97**(9):p.2203–11.
72. Shariat, SF., et al., *Survivin expression is associated with features of biologically aggressive prostate carcinoma*. Cancer, 2004.**100**(4):p.751–7.
73. Saxena, A., et al., *Cellular response to chemotherapy and radiation in cervical cancer*. Am J Obstet Gynecol, 2005.**192**(5):p.1399–403.
74. Muzio, LL., et al., *Survivin expression in oral squamous cell carcinoma*. Br J Cancer, 2003.**89**(12):p.2244–48.
75. Rodel, F., et al., *Survivin as a radioresistance factor and prognostic and therapeutic target for radiotherapy in rectal cancer*. Cancer Res, 2005.**65**(11):p.4881–87.
76. Kami, K., et al., *Survivin expression is a prognostic marker in pancreatic cancer patients*. Surgery, 2004.**136**(2):p.443–8.
77. Lee, JP., et al., *Survivin, a novel anti-apoptosis inhibitor, expression in uterine cervical cancer and relationship with prognostic factors*. Int J Gynecol Cancer,

- 2005.**15**(2):p.113–9.
78. Fernandina, G., et al., *Survivin expression in ovarian cancer and its correlation with clinicopathological, surgical and apoptosis-related parameters*. *Br J Cancer*, 2005.**92**(2):p.271–77.
79. Tringler, B., et al., *Immunohistochemical localization of survivin in serous tumors of the ovary*. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2004.**12**(1):p.40–3.
80. Kleinberg, L., et al., *Nuclear expression of survivin is associated with improved survival in metastatic ovarian carcinoma*. *Cancer*, 2007.**109**(2):p.228–38.
81. Cohen, C., et al., *Survivin expression in ovarian carcinoma: correlation with apoptotic markers and prognosis*. *Mod Pathol*, 2003.**16**(6):p.574–83
82. Kao, C.J., et al., *CBAP interacts with the un-liganded common beta-subunit of the GM-CSF/IL-3/IL-5 receptor and induces apoptosis via mitochondrial dysfunction*. *Oncogene*, 2008.**27**(10):p.1397-403.
83. Chiang, Y.J., et al., *CBAP functions as a novel component in chemokine-induced ZAP70-mediated T-cell adhesion and migration*. *PLoS One*, 2013.**8**(4):e61761.
84. Ho, K.C., et al., *CBAP promotes thymocyte negative selection by facilitating T-cell receptor proximal signaling*. *Cell Death Dis*, 2014.**5**:e1518.
85. Dranoff, G., *Cytokines in cancer pathogenesis and cancer therapy*. *Nat Rev Cancer*, 2004.**4**(1):p.11-22.
86. Chen, Y.L., et al., *IL17a and IL21 combined with surgical status predict the outcome of ovarian cancer patients*. *Endocr Relat Cancer*, 2015.**22**(5):p703-11
87. Kurman, R.J., et al., *The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer: a proposed unifying theory*. *Am J Surg Pathol*, 2010.**34**(3):p433-43.
88. Wei, W., et al., *Ovarian cancer: genomic analysis*. *Ann Oncol*, 2013.**24**(10):p7-15.
89. Chiang, Y.C., et al., *Overexpression of CHI3L1 is associated with chemoresistance and poor outcome of epithelial ovarian carcinoma*. *Oncotarget*,

2015.**6**(37):p39740-55.

90. Zheng, H.C., et al., *The molecular mechanisms of chemoresistance in cancers.*

Oncotarget, 2017.**8**(35):p59950-64.

91. Liu, X., et al., *Oncogenes associated with drug resistance in ovarian cancer. J*

Cancer Res Clin Oncol, 2015.**141**(3):p381-95.



表一、卵巢癌病人臨床資料特徵(化療敏感組 vs. 化療抗藥組)



Characteristics	Chemo-response Sensitive (N=75)		Chemo-response Resistant (N=74)		P [#]
	Number	%	Number	%	
Age(yrs)					
<50	11	14.7	13	17.6	0.63
≥50	64	85.3	61	82.4	
Optimal debulking surgery					
Yes	43	57.3	34	45.9	0.164
No	32	42.7	40	54.1	
Histology					
Serous	57	76.0	54	73.0	0.268
Endometrioid	9	12.0	5	6.8	
Clear cell	9	12.0	13	17.6	
Mixed type*	0	0.0	2	2.7	
FIGO stage					
III	61	81.3	65	87.8	0.272
IV	14	18.7	9	12.2	
Tumor grade					
I	5	6.7	1	1.4	0.211
II	2	2.7	1	1.4	
III	68	90.7	72	97.3	
CA-125 (U/ml)					
Medium	877.5		982.4		0.276
(Min-Max)	(5.3-9892)		(5.3-36908.3)		
Recurrence					
No	40	53.3	0	0.0	<0.001
Yes	35	46.7	74	100.0	
Disease-related death					
Death	14	18.7	52	70.3	<0.001
Alive	61	81.3	22	29.7	

yrs : years, Min: minimum, Max: Maximum

[#] Chi-square test

* Mixed type: mixed endometrioid and serous carcinoma

表二、十個卵巢癌相關基因在化療敏感組和化療抗藥組別基因表現量的差異

Gene expression	Chemo-response Sensitive (N=75)	Chemo-response Resistant (N=74)	$P^{\#}$
<i>GPC1</i>	0.187	0.802	0.001
<i>CYPB</i>	23.257	75.77	<0.001
<i>MSLN</i>	41.945	152.53	0.004
<i>LIMK2</i>	2.014	8.744	<0.001
<i>DOCK4</i>	0.128	0.98	<0.001
<i>STK31</i>	0.169	1.094	<0.001
<i>IGF1</i>	1.437	9.387	<0.001
<i>CHI3L1</i>	3.015	17.799	0.001
<i>Survivin</i>	0.935	3.115	0.004
<i>CBAP</i>	0.632	2.933	<0.001

[#] Man-Whitney U test

表三、十個卵巢癌相關基因對於化療反應(Chemo-response)影響的風險程度

	HR (95% CI) *	β coefficient	<i>p</i> value	Risk score [#]
<i>GPC1</i>				
<0.44	1			0
\geq 0.44	2.16 (1.33~3.50)	0.77	0.002	2 (1.7)
<i>CYPB</i>				
<47.94	1			0
\geq 47.94	3.26 (1.97~5.40)	1.18	<0.001	3 (2.6)
<i>MSLN</i>				
<76.01	1			0
\geq 76.01	1.58 (0.98~2.53)	0.46	0.06	1
<i>LIMK2</i>				
<4.15	1			0
\geq 4.15	2.50 (1.53~4.09)	0.92	<0.001	2
<i>DOCK4</i>				
<0.29	1			0
\geq 0.29	2.79 (1.69~4.61)	1.03	<0.001	2 (2.2)
<i>STK31</i>				
<0.41	1			0
\geq 0.41	2.57 (1.57~4.20)	0.94	<0.001	2
<i>IGF1</i>				
<4.17	1			0
\geq 4.17	3.11 (1.87~5.18)	1.14	<0.001	3 (2.5)
<i>CHI3L1</i>				
<5.90	1			0
\geq 5.90	1.93 (1.20~3.13)	0.66	0.007	1 (1.4)
<i>Survivin</i>				
<1.50	1			0
\geq 1.50	1.62 (1.00~2.61)	0.48	0.048	1
<i>CBAP</i>				
<1.41	1			0
\geq 1.41	3.71 (2.21~6.24)	1.31	<0.001	3 (2.8)

HR : hazard ratio, CI : confidence interval

* Univariate Cox regression model

[#]Risk score: 各個基因的 β coefficient / *MSLN* 的 β coefficient，並取整數做計算

表四、卵巢癌病人總體得分(Overall score)的分佈比例(化療敏感組 vs. 化療抗藥組)

Overall score	Chemo-response Sensitive (N=75)		Chemo-response Resistant (N=74)		<i>p</i> [#]
	Number	%	Number	%	
0	11	14.7%	2	2.7%	<0.001
1	7	9.3%	0	0.0%	
2	7	9.3%	0	0.0%	
3	5	6.7%	2	2.7%	
4	5	6.7%	2	2.7%	
5	3	4.0%	2	2.7%	
6	6	8.0%	2	2.7%	
7	7	9.3%	4	5.4%	
8	3	4.0%	0	0.0%	
9	1	1.3%	6	8.1%	
10	1	1.3%	5	6.8%	
11	2	2.7%	3	4.1%	
12	0	0.0%	3	4.1%	
13	3	4.0%	3	4.1%	
14	0	0.0%	1	1.4%	
15	4	5.3%	3	4.1%	
16	4	5.3%	4	5.4%	
17	3	4.0%	4	5.4%	
18	1	1.3%	5	6.8%	
19	0	0.0%	10	13.5%	
20	2	2.7%	13	17.6%	

[#]Chi-square test

表五、總體得分對於化療反應的最佳切點

Cut off value	sensitivity	1-specificity	specificity	Youden index [#] (sensitivity + specificity)
0.5	0.973	0.853	0.147	1.120
1.5	0.973	0.760	0.240	1.213
2.5	0.973	0.667	0.333	1.306
3.5	0.946	0.600	0.400	1.346
4.5	0.919	0.533	0.467	1.386
5.5	0.892	0.493	0.507	1.399
6.5	0.865	0.413	0.587	1.452
7.5	0.811	0.320	0.680	1.491
8.5*	0.811	0.280	0.720	1.531
9.5	0.730	0.267	0.733	1.463
10.5	0.662	0.253	0.747	1.409
11.5	0.622	0.227	0.773	1.395
12.5	0.581	0.227	0.773	1.354
13.5	0.541	0.187	0.813	1.354
14.5	0.527	0.187	0.813	1.340
15.5	0.486	0.133	0.867	1.353
16.5	0.432	0.080	0.920	1.352
17.5	0.378	0.040	0.960	1.338
18.5	0.311	0.027	0.973	1.284
19.5	0.176	0.027	0.973	1.149
21.0	0.00	0.00	1.00	1.000

[#]Youden index: sensitivity + specificity

*最佳切點:最大值的 Youden index

表六、總體得分對於疾病復發的最佳切點

Cutoff value	sensitivity	1-specificity	specificity	Youden index [#] (sensitivity + specificity)
0.5	0.936	0.850	0.150	1.086
1.5	0.890	0.800	0.200	1.090
2.5	0.872	0.675	0.325	1.197
3.5	0.835	0.600	0.400	1.235
4.5	0.798	0.525	0.475	1.273
5.5	0.771	0.475	0.525	1.296
6.5	0.734	0.375	0.625	1.359
7.5	0.688	0.225	0.775	1.463
8.5*	0.679	0.175	0.825	1.504
9.5	0.624	0.150	0.850	1.474
10.5	0.569	0.150	0.850	1.419
11.5	0.532	0.125	0.875	1.407
12.5	0.505	0.125	0.875	1.380
13.5	0.459	0.100	0.900	1.359
14.5	0.450	0.100	0.900	1.350
15.5	0.394	0.075	0.925	1.319
16.5	0.330	0.050	0.950	1.280
17.5	0.275	0.025	0.975	1.250
18.5	0.220	0.025	0.975	1.195
19.5	0.128	0.025	0.975	1.103
21.0	0.000	0.000	1.000	1.000

[#]Youden index: sensitivity + specificity

*最佳切點:最大值的 Youden index

表七、總體得分對於存活狀況的最佳切點

Cut off value	sensitivity	1-specificity	specificity	Youden index [#] (sensitivity+ specificity)
0.5	0.970	0.867	0.133	1.102
1.5	0.955	0.795	0.205	1.159
2.5	0.939	0.723	0.277	1.217
3.5	0.924	0.651	0.349	1.274
4.5	0.894	0.590	0.410	1.304
5.5	0.894	0.530	0.470	1.364
6.5	0.864	0.458	0.542	1.406
7.5	0.773	0.398	0.602	1.375
8.5*	0.773	0.361	0.639	1.411
9.5	0.697	0.337	0.663	1.360
10.5	0.636	0.313	0.687	1.323
11.5	0.591	0.289	0.711	1.302
12.5	0.545	0.289	0.711	1.256
13.5	0.500	0.253	0.747	1.247
14.5	0.485	0.253	0.747	1.232
15.5	0.424	0.217	0.783	1.207
16.5	0.364	0.169	0.831	1.195
17.5	0.303	0.133	0.867	1.171
18.5	0.212	0.133	0.867	1.080
19.5	0.076	0.120	0.880	0.955
21.0	0.000	0.000	1.000	1.000

[#]Youden index: sensitivity + specificity

*最佳切點:最大值的 Youden index

表八、卵巢癌病人對於化療反應(Chemo-response)之預後因子分析

	HR (95% CI) [#]	β coefficient	P value
Age (<50/>50)(yrs)	0.78 (0.42~1.44)	-2.54	0.42
Optimal surgery (Yes/No)	1.35 (0.81~2.26)	0.301	0.25
Tumor grade(1 versus 2 or 3)	2.80 (0.64~12.2)	1.031	0.17
Histology(serous/non-serous)	1.81 (0.97~3.36)	0.59	0.06
Overall score			
< 9	1		
≥ 9	5.02 (2.75~9.18)	1.314	<0.001

yrs : years, HR : hazard ratio, CI : confidence interval

[#]Multivariate Cox proportional hazards model

表九、TCGA 卵巢癌病人臨床資料特徵(化療敏感組 vs. 化療抗藥組)

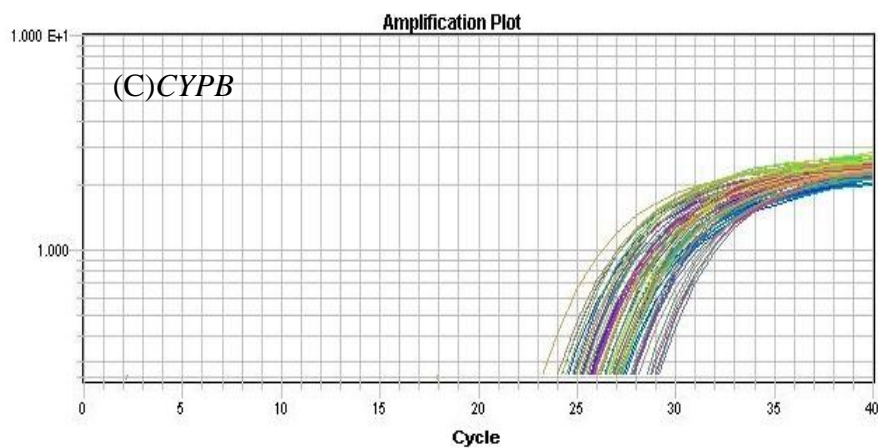
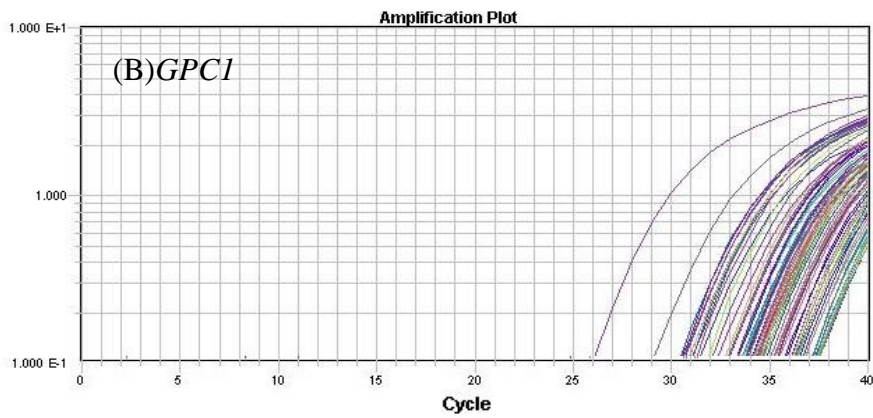
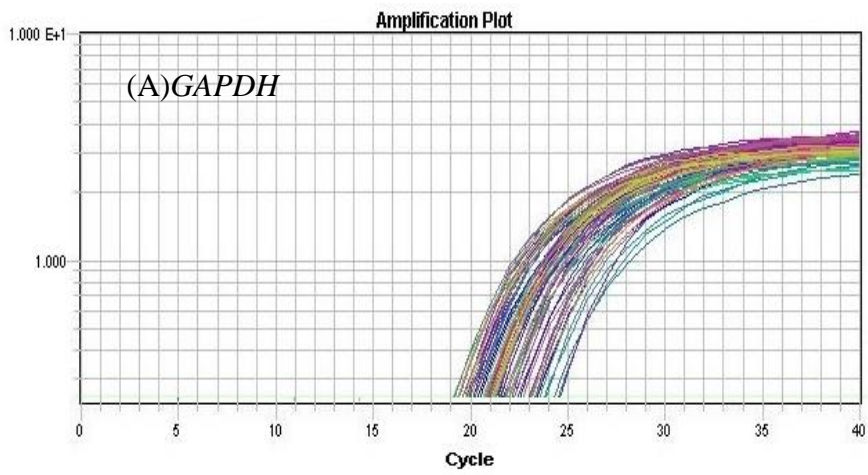
Characteristics	Chemo-response Sensitive (N=245)		Chemo-response Resistant (N=10)		<i>p</i> [#]
	Number	%	Number	%	
Age(yrs)					
<50	45	18.4	2	20.0	0.90
≥50	195	79.6	8	80.0	
NA	5	2.0	0	0.0	
Optimal debulking surgery					
Yes	181	73.9	8	80.0	0.67
No	64	26.1	2	20.0	
Histology					
Serous	245	100.0	10	100.0	
FIGO stage					
III	212	86.5	10	100.0	0.21
IV	33	13.5	0	0.0	
Tumor grade					
I	1	0.4	0	0.0	0.98
II	23	9.4	1	10.0	
III	221	90.2	9	90.0	
Recurrence					
No	107	43.7	0	0.0	0.006
Yes	138	56.3	10	100.0	
Disease-related death					
Alive	95	38.8	4	40.0	0.94
Death	150	61.2	6	60.0	

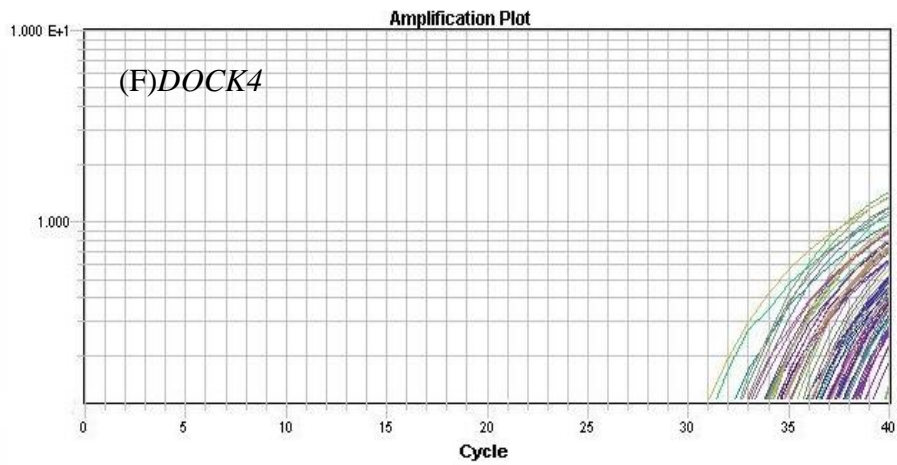
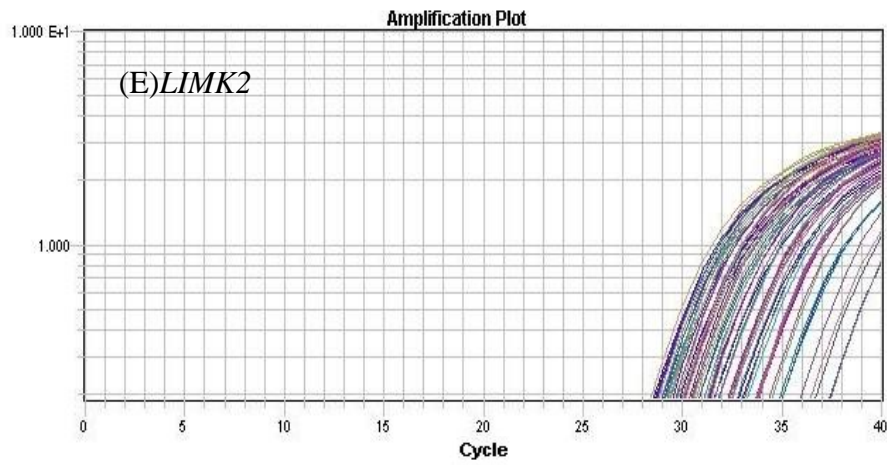
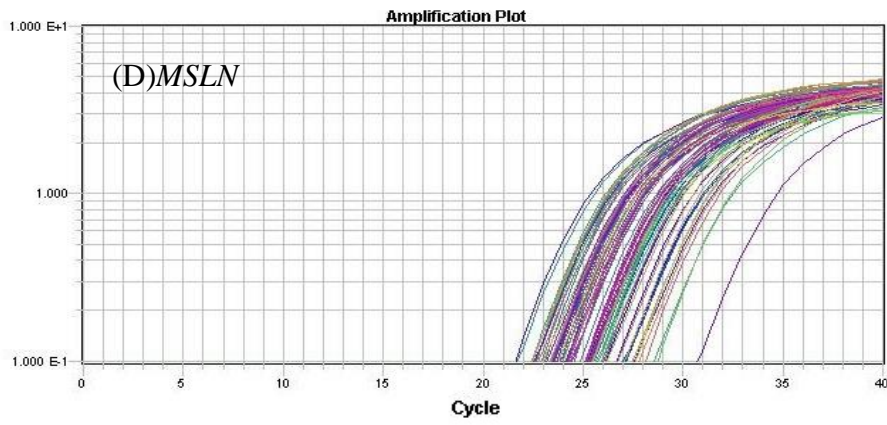
TCGA : The Cancer Genome Atlas, yrs : years

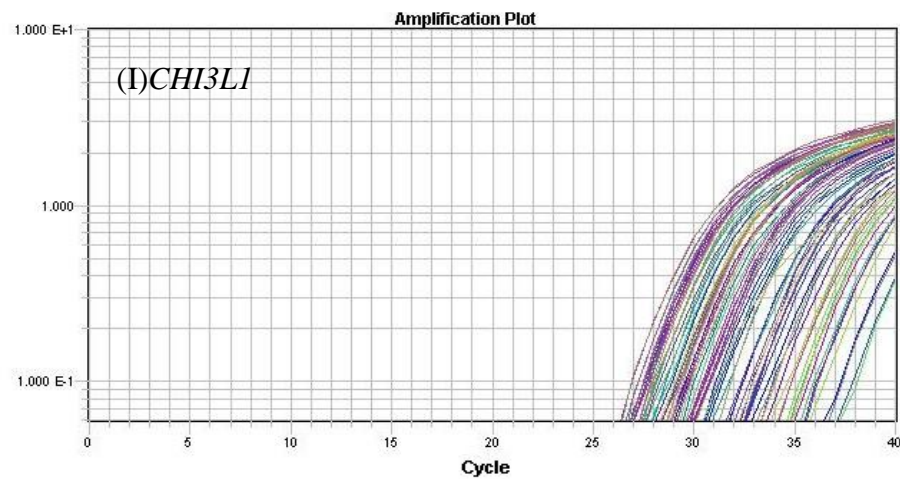
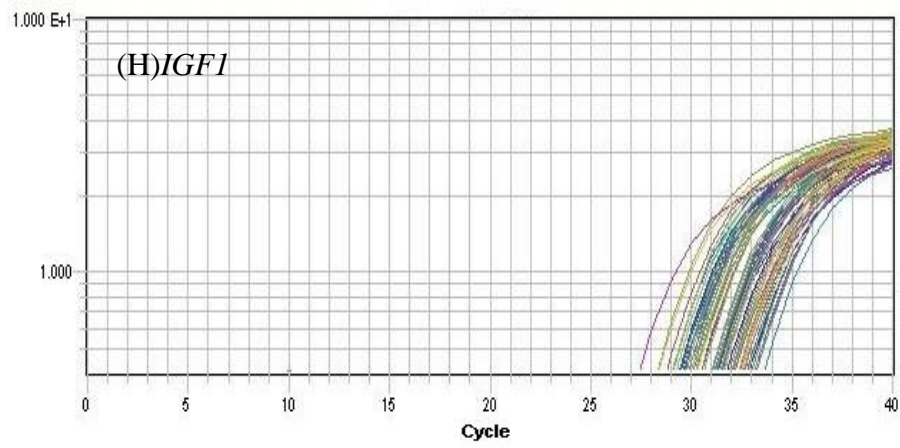
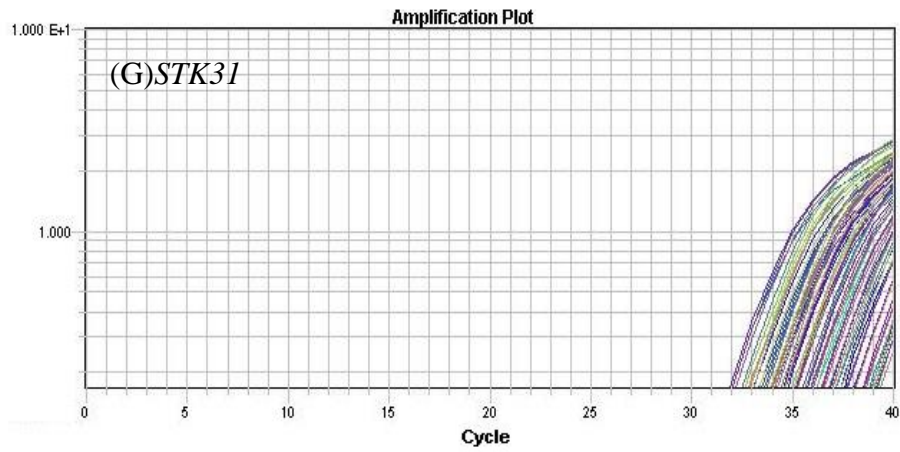
[#]Chi-square test

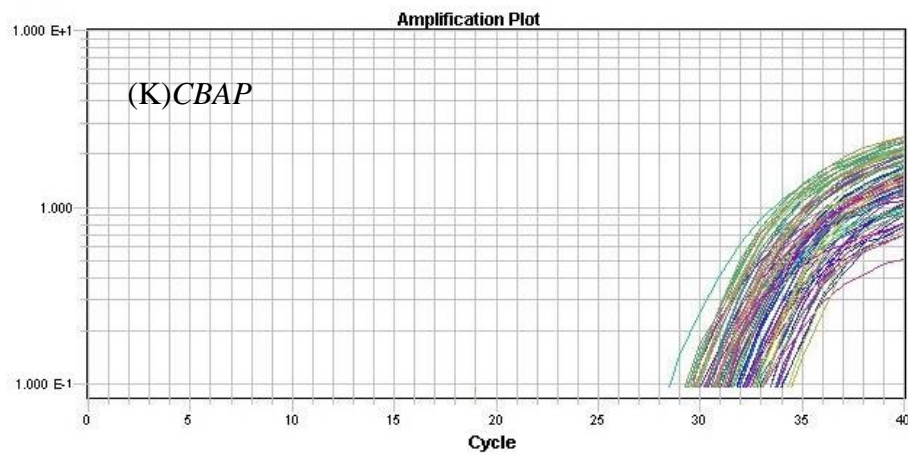
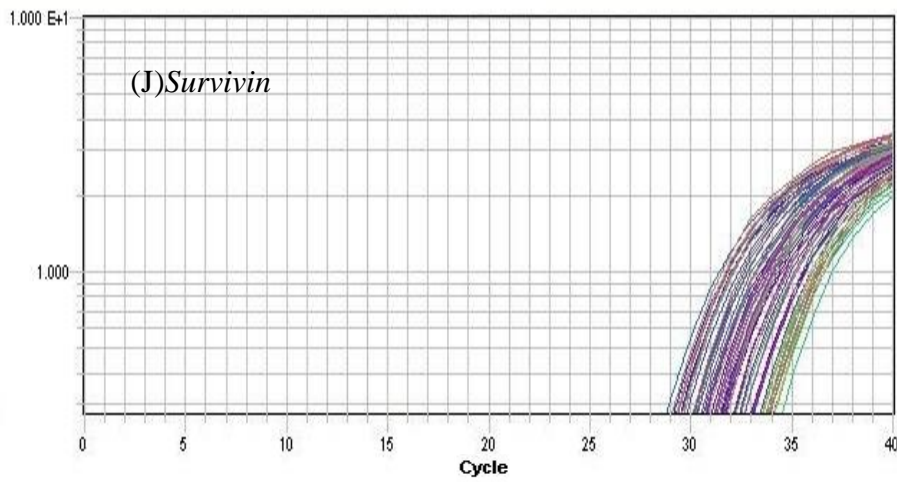


圖一、十個基因及 house-keeping gene 的 QRT-PCR 代表圖



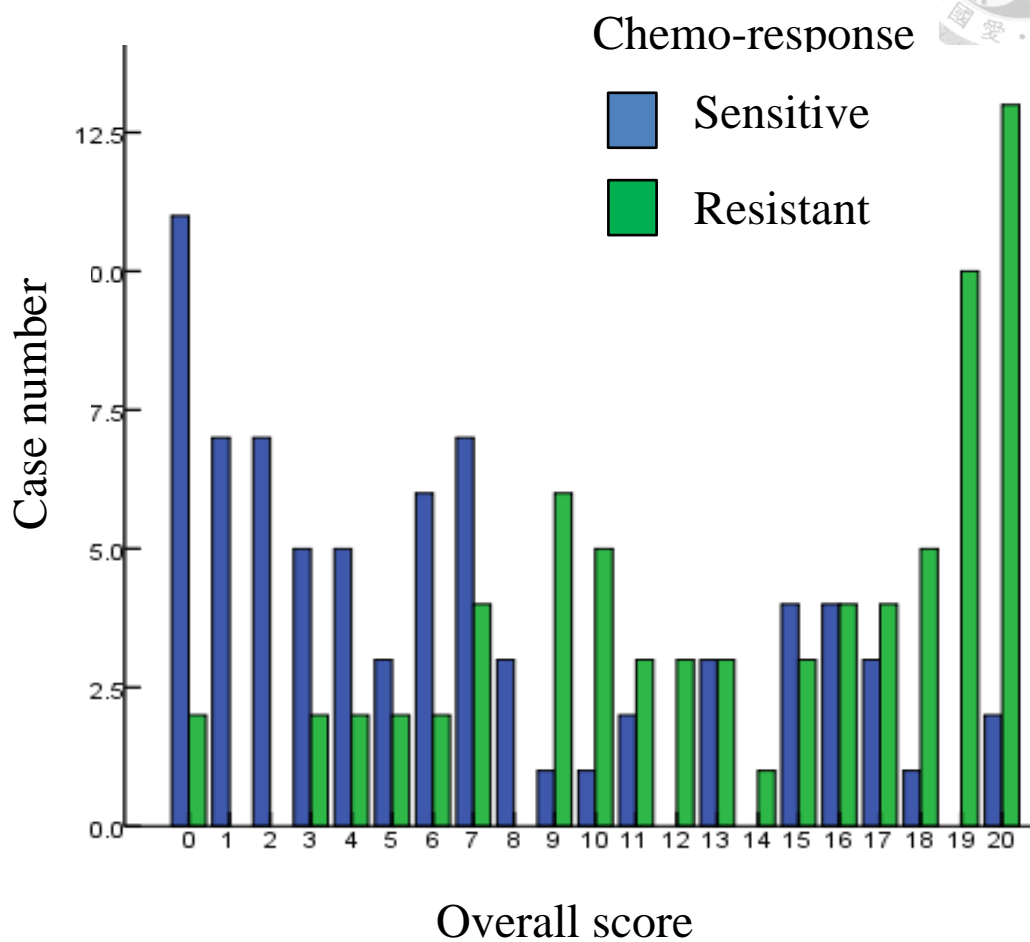






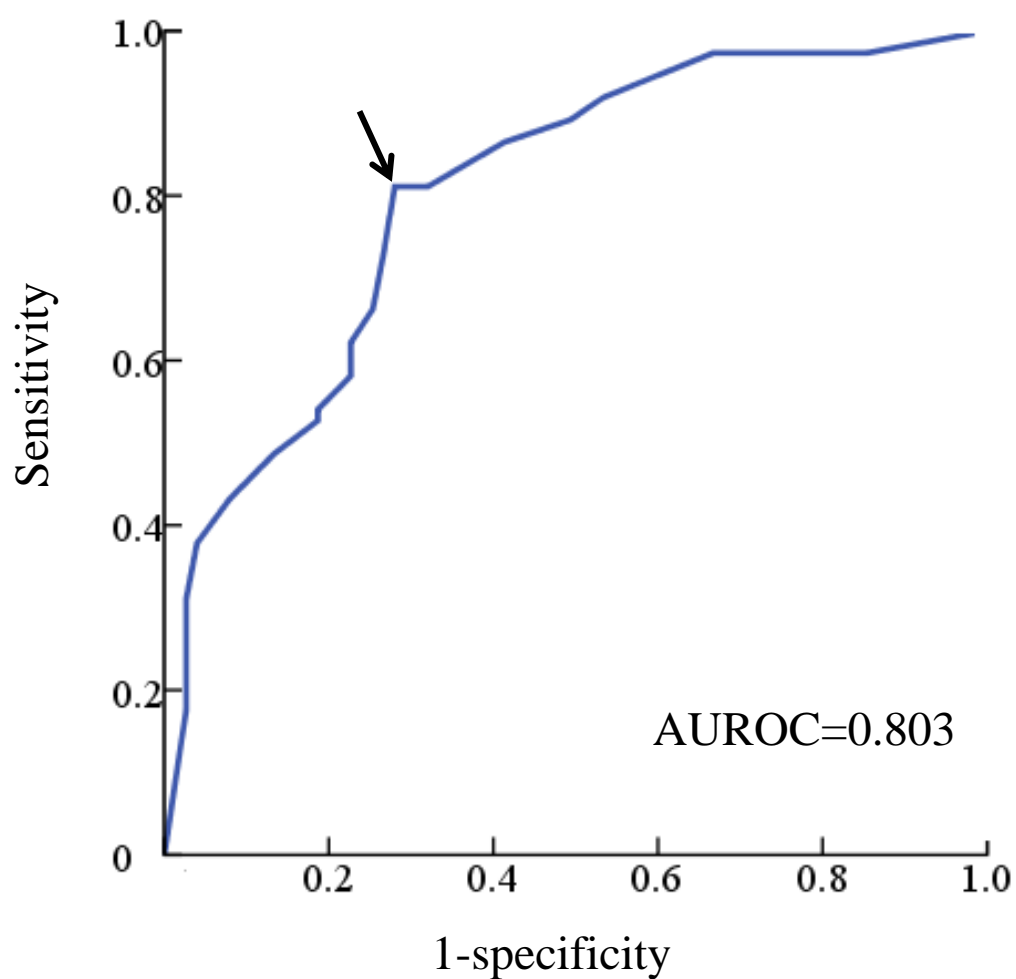
- (A) *GAPDH* 的 QRT-PCR 代表圖
- (B) *GPC1* 的 QRT-PCR 代表圖
- (C) *CYPB* 的 QRT-PCR 代表圖
- (D) *MSLN* 的 QRT-PCR 代表圖
- (E) *LIMK2* 的 QRT-PCR 代表圖
- (F) *DOCK4* 的 QRT-PCR 代表圖
- (G) *STK31* 的 QRT-PCR 代表圖
- (H) *IGF1* 的 QRT-PCR 代表圖
- (I) *CHI3L1* 的 QRT-PCR 代表圖
- (J) *Survivin* 的 QRT-PCR 代表圖
- (K) *CBAP* 的 QRT-PCR 代表圖

圖二、化療敏感組和化療抗藥組別間總體得分(overall score)的分布





圖三、總體得分對於化療反應(Chemo-response)的 ROC 曲線



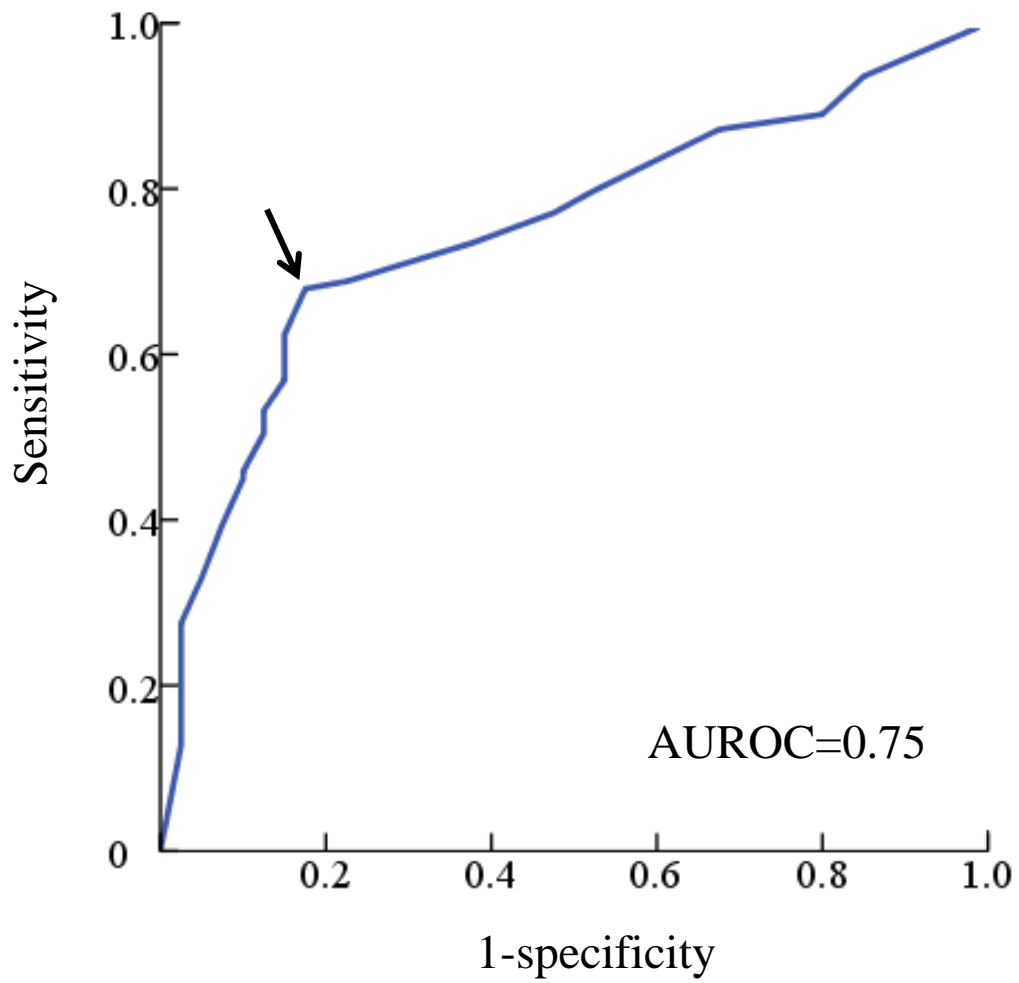
ROC : receiver operating characteristic curve,

AUROC : area under the ROC curve

↙ : 最佳切點



圖四、總體得分對於疾病復發(Disease relapse)的 ROC 曲線



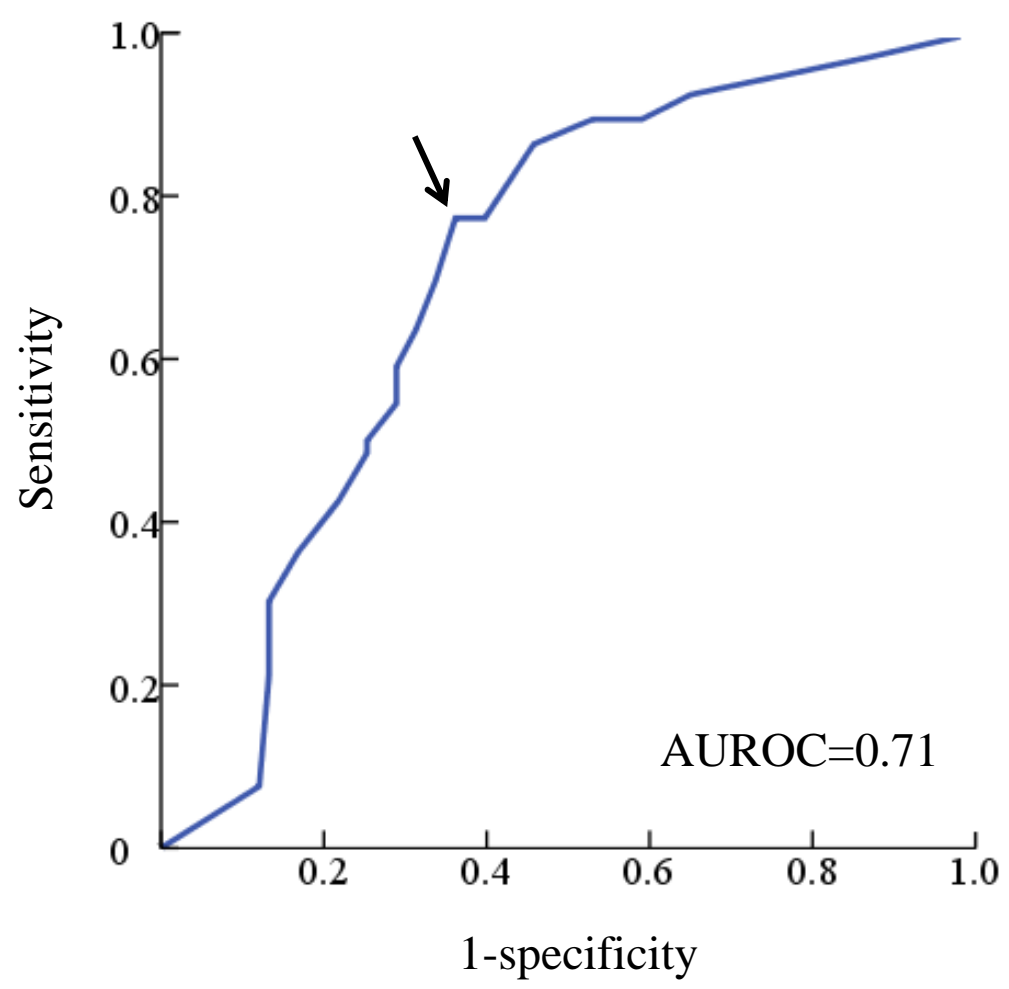
ROC : receiver operating characteristic curve,

AUROC : area under the ROC curve

↘ : 最佳切點



圖五、總體得分對於存活狀況(Disease-related death)的 ROC 曲線



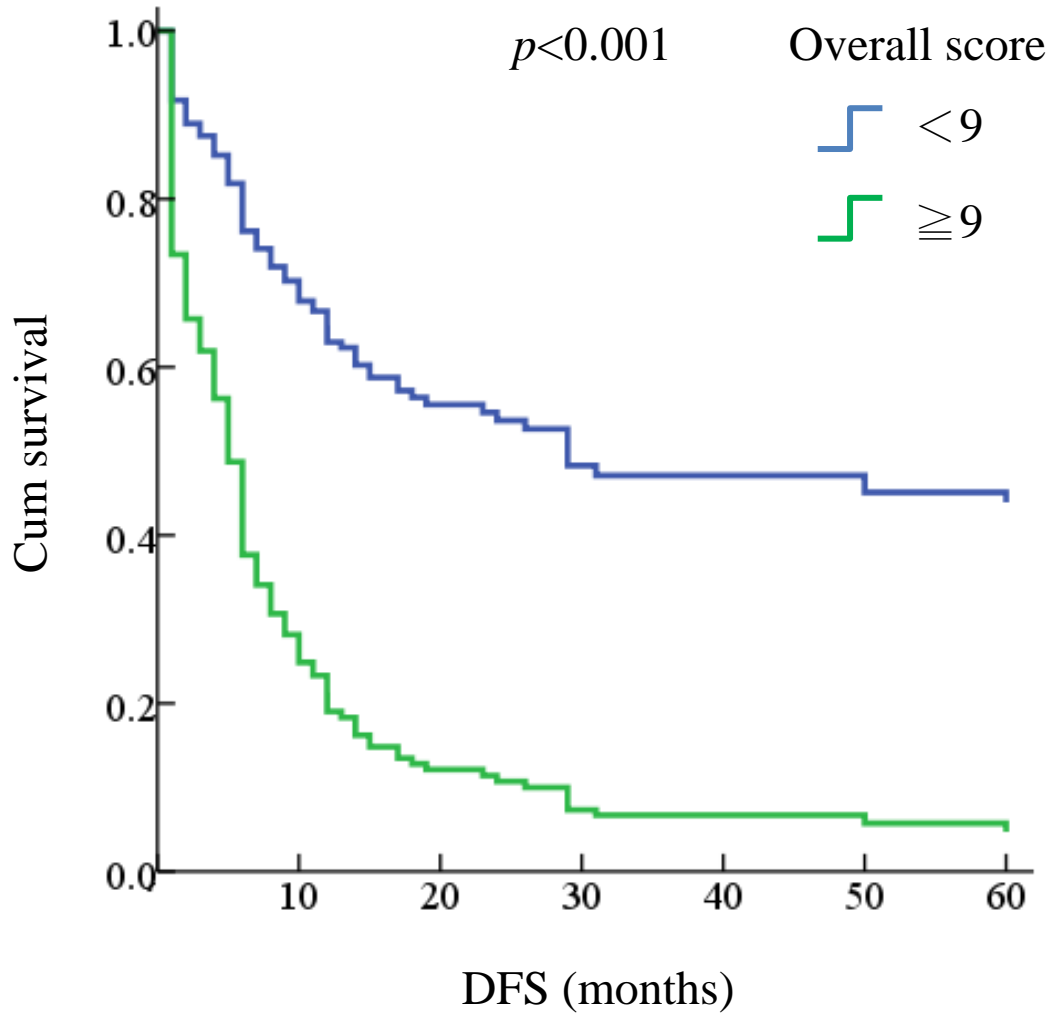
ROC : receiver operating characteristic curve,

AUROC : area under the ROC curve

↙ : 最佳切點

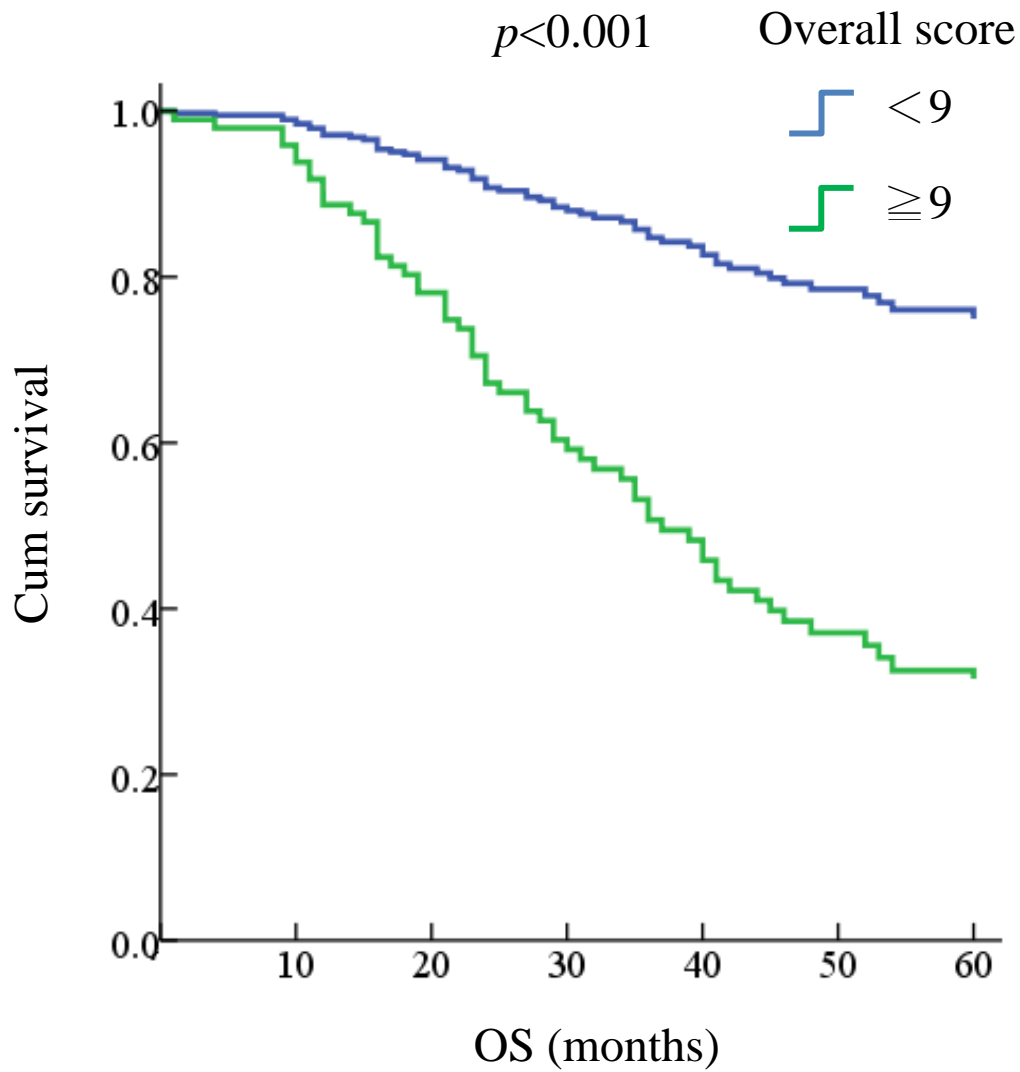


圖六、卵巢癌病人五年的無病存活期(DFS)



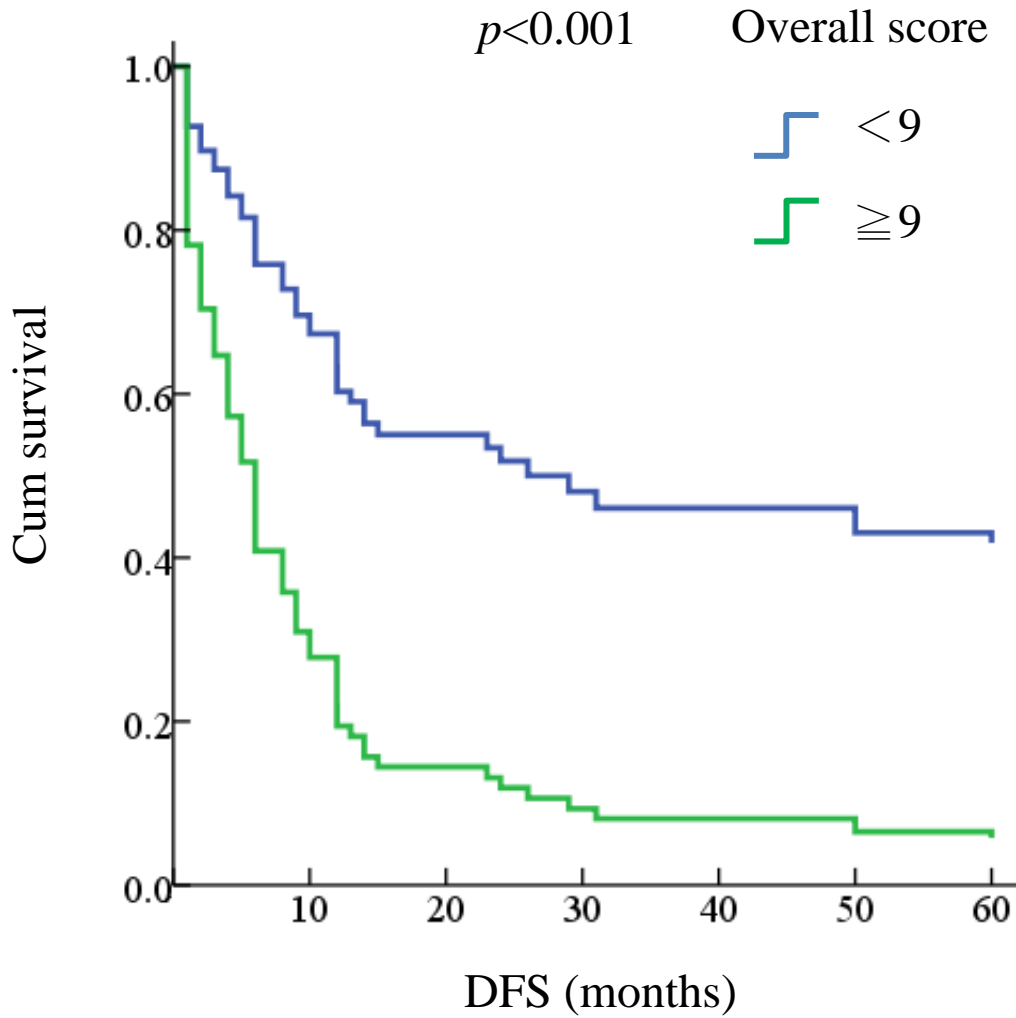
DFS : Disease free survival

圖七、卵巢癌病人五年的整體存活期(OS)



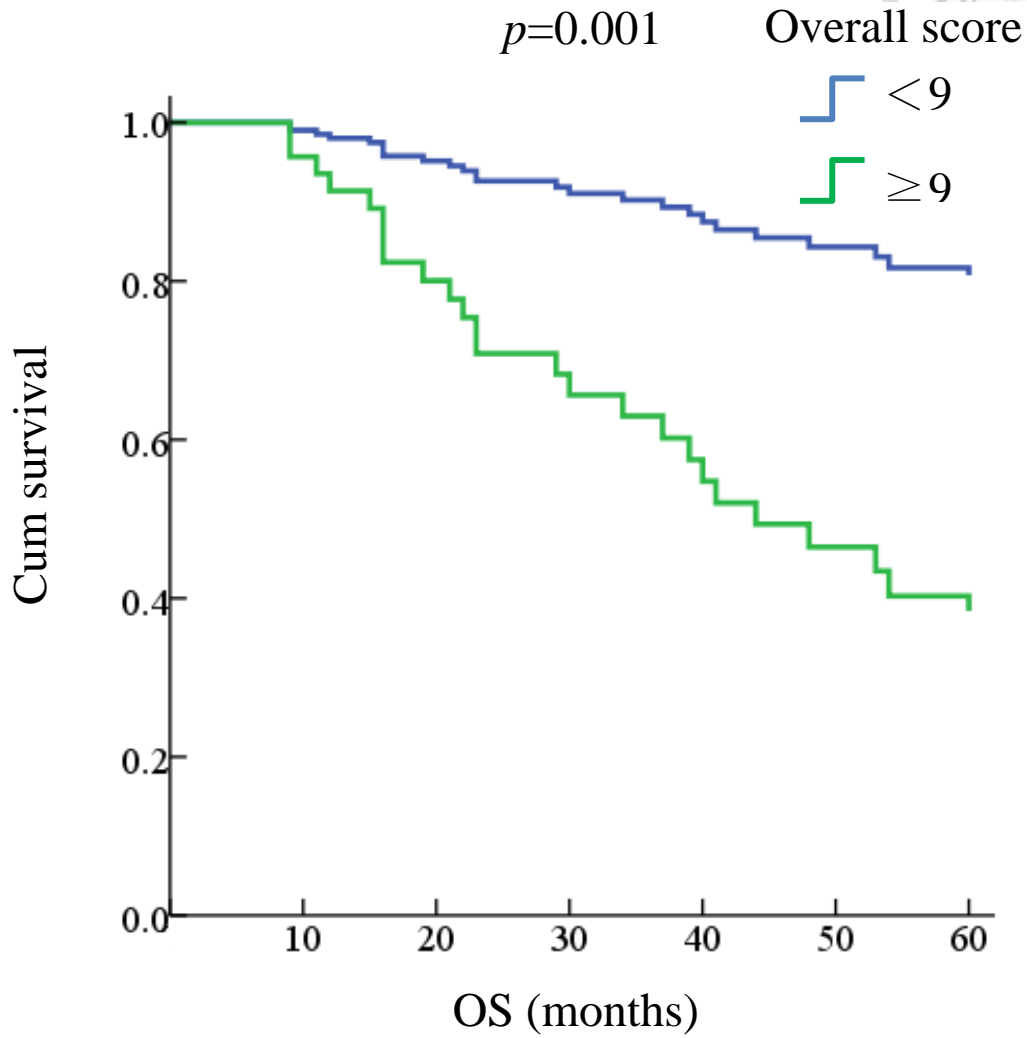
OS : Overall survival

圖八、達到最佳減積手術之卵巢癌病人五年的無病存活期(DFS)



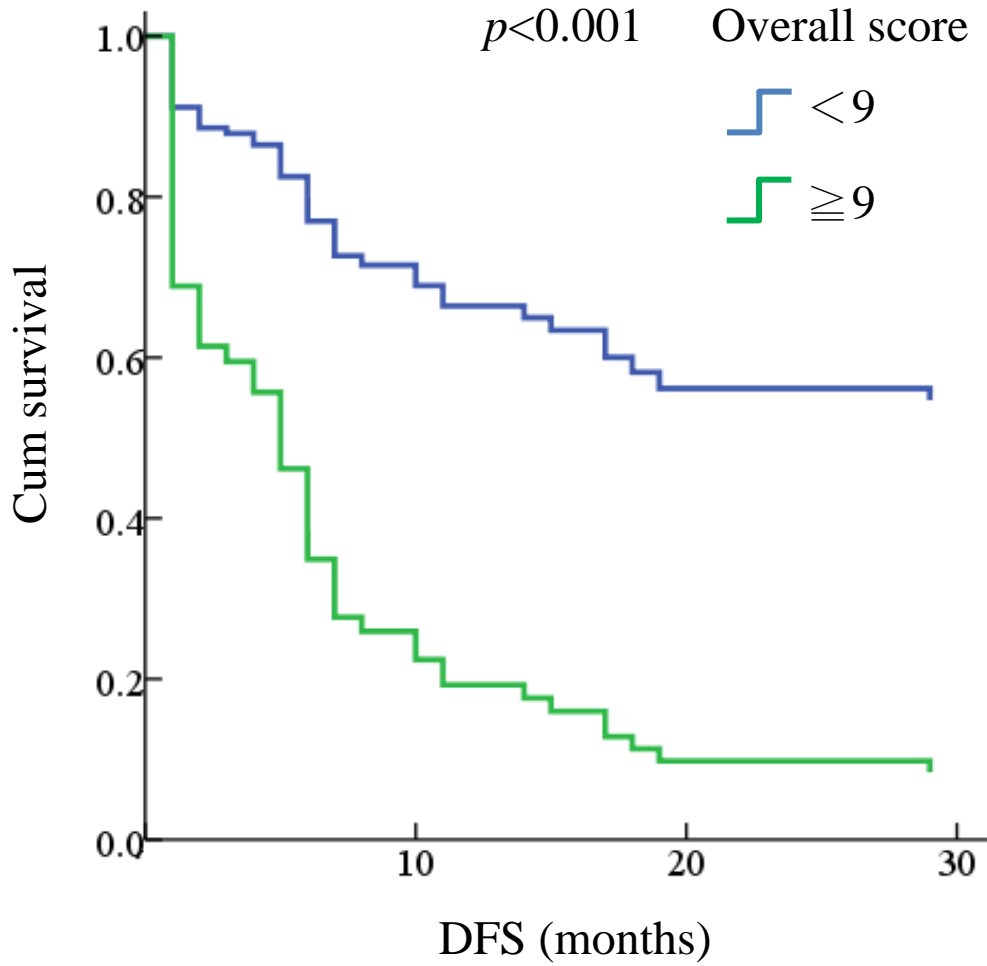
DFS : Disease free survival

圖九、達到最佳減積手術之卵巢癌病人五年的整體存活期(OS)



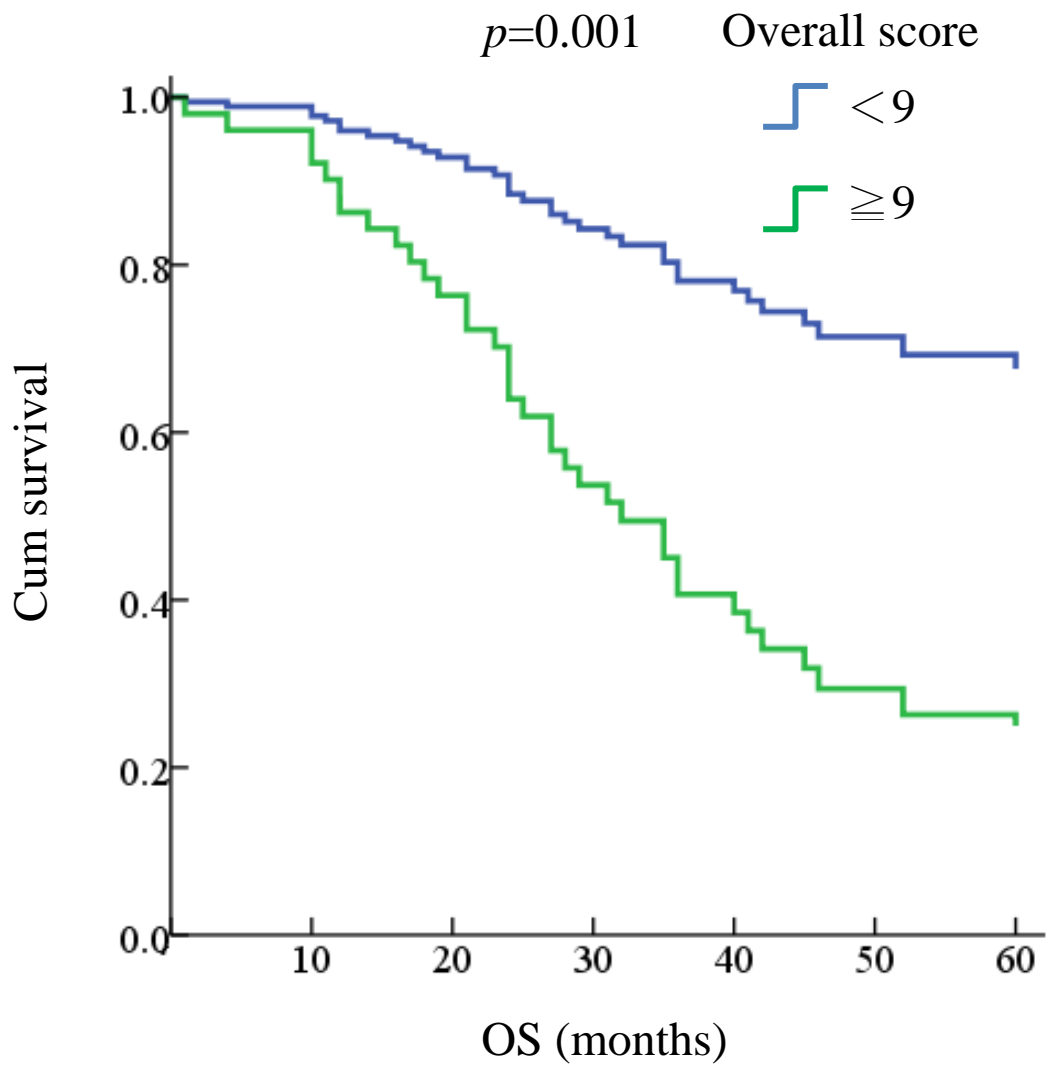
OS : Overall survival

圖十、未達到最佳減積手術之卵巢癌病人五年的無病存活期(DFS)



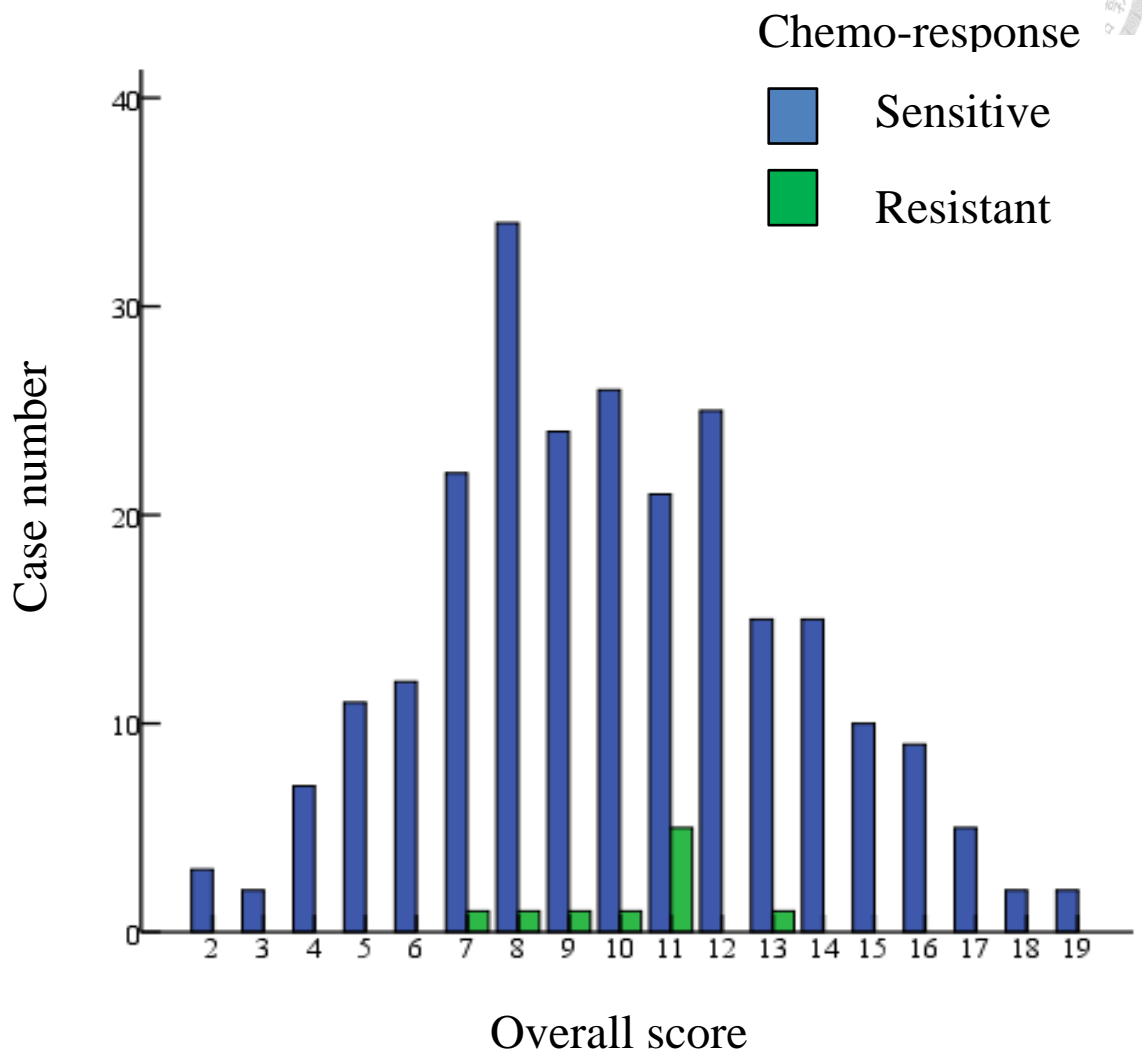
DFS : Disease free survival

圖十一、未達到最佳減積手術之卵巢癌病人五年的整體存活期(OS)



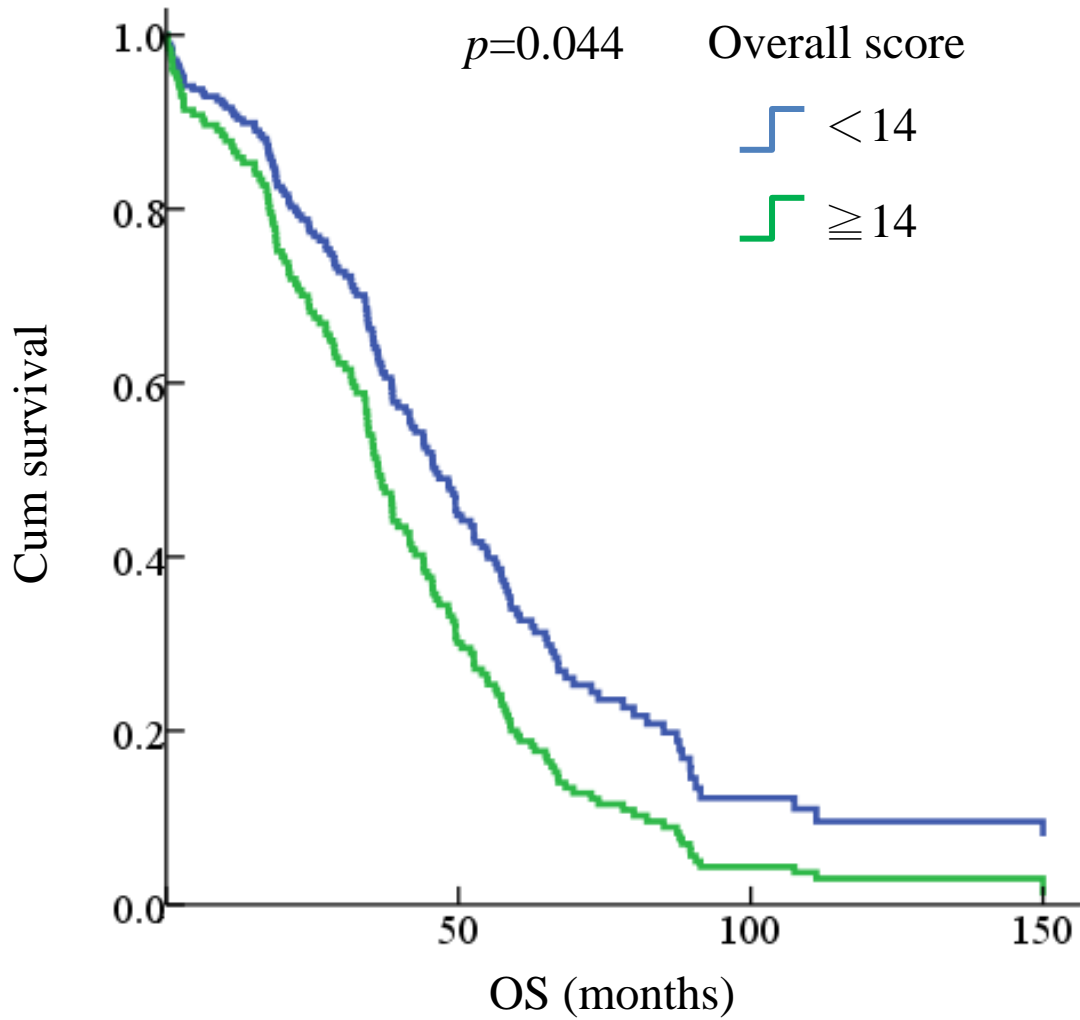
OS : Overall survival

圖十二、TCGA 化療敏感組和化療抗藥組別間總體得分(overall score)的分布



TCGA : The Cancer Genome Atlas

圖十三、TCGA 卵巢癌病人的整體存活期(OS)



TCGA : The Cancer Genome Atlas

OS : Overall survival