

國立臺灣大學醫學院臨床醫學研究所



碩士論文

Graduate Institute of Clinical Medicine

College of Medicine

National Taiwan University

Master Thesis

CD3、CD73、A2A 腺苷受體在卵巢癌的表現及其臨床

意義

Clinical significance of CD39, CD73 and A2A adenosine  
receptor in ovarian carcinoma

沈鴻

Hung Shen

指導教授：鄭文芳 教授

Advisor : Prof. Wen-Feng Cheng

中華民國 112 年 02 月

February 2023

國立臺灣大學碩士學位論文  
口試委員會審定書

MASTER'S THESIS ACCEPTANCE CERTIFICATE  
NATIONAL TAIWAN UNIVERSITY



CD39, CD73 and A2A receptor 在卵巢癌的表現及其臨床意義

Clinical significance of CD39, CD73 and A2A receptor in ovarian carcinoma

本論文係 沈鴻 (姓名) P09421324 (學號) 在國立臺灣大學  
臨床醫學研究所 (系/所/學位學程) 完成之碩士學位論文，於民國 112  
年 1 月 14 日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明。

The undersigned, appointed by the Institute of Clinical Medicine  
on 14 (date) 1 (month) 2023 (year) have examined a Master's thesis entitled above presented  
by SHEN, HUNG (name) P09421324 (student ID) candidate and hereby certify that  
it is worthy of acceptance.

口試委員 Oral examination committee:

鄭文芳

李建南

江盈澄

(指導教授 Advisor)

系主任/所長 Director:

周祖述

## 中文摘要(Abstract in Chinese)



卵巢癌目前是台灣女性癌症死因的第七位，也是婦科癌症中死亡率最高的一種癌症。卵巢癌在初期不易診斷，通常定診斷時，已經到了癌症晚期，造成病人預後不佳。晚期癌症的病人即使經過標準治療，多數還是會面臨復發的問題。宿主的免疫系統跟對腫瘤的免疫反應是影響卵巢癌預後的重要因子。但腫瘤細胞本身會發展出各種抑制宿主免疫系統的機制，腺苷反應途徑(adenosine pathway)負責了一部分腫瘤免疫抑制的功能。在腫瘤微環境中，腫瘤細胞、免疫細胞及內皮細胞會表現兩種胞外酶：CD39 和 CD73，在腫瘤微環境中產生及調節腺苷。腺苷受體中以 A2A 受體與免疫抑制最相關。在卵巢癌中，已有研究顯示在漿液型卵巢癌中發現 CD73 和預後的相關性，但目前仍缺乏其他組織型別的研究，也較少有合併三種分子同時分析的報告。此研究欲探討在不同組織型別中 CD39、CD73、A2A 受體在上皮性卵巢癌的基因表現量及與臨床變項之關係以及分析 CD39、CD73、A2A 受體的表現量與卵巢癌預後之相關性。

本研究於病患接受卵巢癌手術時採取癌組織檢體並從中提取 RNA，在利用即時定量聚合酶鏈反應定量 CD39、CD73、A2A 受體基因表現量，在分析基因表現量與臨床變項及預後之關係。

本研究共納入 92 名上皮性卵巢癌患者，其中包括 65 名漿液型、9 名類內膜樣型、18 名亮細胞癌。研究發現三種分子表現量在同一檢體中並不一致，CD39 及 A2A 受體的表現量高度相關（相關係數=0.87），但 CD39 及 CD73 的表現相關性不佳（相關係數=0.25）。在不同組織型別中，亮細胞癌中三種分子表現量顯著性較高。在早期卵巢癌中及手術後殘存腫瘤體積小於 1 公分者中也發現三種分子表現量較高。在與癌症預後的關係發現，在早期卵巢癌中，有癌症復發的病人



CD39 ( $p = 0.038$ ) 與 A2A 受體 ( $p = 0.019$ ) 表現量顯著較高，但在存活分析及多變項復發或死亡風險迴歸分析中，三種分子表現量的高低皆不是影響預後的獨立因子，影響預後的因子為癌症分期、組織型別及手術殘存腫瘤大小。

總結本研究的發現，三種分子的基因表現量並非完全一致。而亮細胞癌及早期癌症中三種分子的表現量都顯著性高。但除了在早期卵巢癌中復發的病人可見 CD39 及 A2A 受體表現量較高外，其他未能發現 CD39、CD73、A2A 受體在癌組織中的表現量與預後的關係。

關鍵字：卵巢癌、腫瘤免疫、腺苷反應途徑、CD39、CD73、A2A 受體

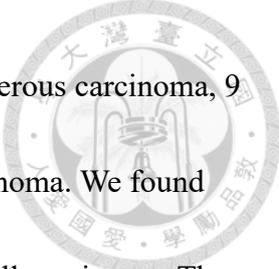
## 英文摘要(Abstract in English)



Ovarian cancer is a malignancy that is the 7th leading cause of death of female cancer. Most of patient with the presence of the advanced disease will develop recurrence even after primary treatment. The host immune cell and response are related to the prognosis of ovarian cancer, but the tumor could develop different immune-escaping mechanisms. The cancer-derived adenosine pathway, which is mediated by two enzymes, CD39 and CD73 accounted for part of immunosuppression in the tumor microenvironment. Among four types of adenosine receptor, the A2A receptor (A2AR) plays the important roles in immunosuppression in tumor microenvironment.

In this study, we aimed to analyze and quantitation the expression of CD39, CD73 and A2AR in the cancerous tissue in different histology types of ovarian cancer patients and to elucidate the correlations of the expression of CD39, CD73 and A2AR between the clinico-pathologic characteristics and prognosis.

Women with operated ovarian carcinoma in National Taiwan University hospital and histologic types of serous, endometrioid, and clear cell carcinoma were included. Demographic and clinical data were retrieved from medical records in the hospital's centralized database. We used Real-time Quantitative Polymerase Chain Reaction (qRT-PCR) to detect the expression of CD39, CD73 and A2A receptor.



Total 92 woman were enrolled. 65 patients were diagnosed as serous carcinoma, 9 patients as endometrioid carcinoma and 18 patients as clear cell carcinoma. We found that all three molecules had significantly higher expression in clear cell carcinoma. The woman with early stage and residual tumor less than 1cm were also showed higher expression of all three molecules. In the subgroup analysis of early-staged group, significant higher expression of CD39 and A2AR were found in recurrence cases. For prognosis analysis, stage was the only risk factor of recurrence of ovarian cancer, and stage and residual tumor more than 1cm were risk factor of death. CD39, CD73 and A2AR were not the risk factor of recurrence or death of ovarian cancer in our study. Finally, progression free survival and overall survival showed no significance difference between the high and low expression level of CD39, CD73 and A2AR.

In conclusion, this study found CD39, CD73 and A2AR had higher expression in clear cell carcinoma and early-staged cancer. In early-staged patients, higher expression of CD39 and A2AR were found in recurrent patients. The expression of CD39, CD73 and A2AR were not the risk factor of progression free survival and overall survival.

Key word: ovarian cancer, cancer immunology, adenosine pathway, CD39, CD73, A2A receptor

# 目 錄



口試委員會審定書.....	I
中文摘要(ABSTRACT IN CHINESE).....	II
英文摘要(ABSTRACT IN ENGLISH).....	IV
目 錄.....	VI
圖目錄.....	VII
表目錄.....	VIII
<b>第一章：緒論</b> .....	1
第一節、 上皮性卵巢癌 .....	1
第二節、 腺苷反應途徑 .....	13
第三節、 研究方向及目的 .....	17
<b>第二章：材料與方法</b> .....	19
第一節、 分析病患卵巢癌檢體中 CD39、CD37 以及 A2AR 基因表現量 .....	19
第二節、 病患臨床資料收集彙整.....	20
第三節、 統計分析 .....	21
<b>第三章：結果</b> .....	23
第一節、 病患基本臨床資料及 CD39、CD73、A2AR 三者表現相關性 .....	23
第二節、 探討不同臨床變項中 CD39、CD73、A2AR 的表現量差異 .....	23
第三節、 探討 CD39、CD73、A2AR 基因表現量是否為上皮性卵巢癌之預後因子.....	27
<b>第四章：討論</b> .....	30
第一節、 討論 .....	30
第二節、 研究限制 .....	35
<b>第五章：展望</b> .....	37
參考文獻.....	39

## 圖目錄

圖 1：CD39 表現量高低的無疾病存活期與整體存活期分析 .....	50
圖 2：CD73 表現量高低的無疾病存活期與整體存活期分析 .....	51
圖 3：A2A 受體表現量高低的無疾病存活期與整體存活期分析 .....	52



## 表目錄



表 1：92 位上皮性卵巢癌臨床基本資料 .....	53
表 2：CD39、CD73、A2AR 基因表現量之相關性 .....	54
表 3-1：CD39、CD73、A2AR 在不同臨床變項中的基因表現比較* .....	55
表 3-2：漿液型癌中 CD39、CD73、A2AR 在不同臨床變項中的基因表現比較* .....	56
表 3-3：亮細胞癌中 CD39、CD73、A2AR 不同臨床變項中的基因表現比較* .....	57
表 3-4：早期癌症中 CD39、CD73、A2AR 不同臨床變項中的基因表現比較* .....	58
表 3-5：晚期癌症中 CD39、CD73、A2AR 在同臨床變項中的基因表現比較* .....	59
表 4：CD39、CD73、A2AR 表現量高低之病患比例在臨床變項中差異比較 .....	60
表 5：疾病復發風險之 COX 迴歸分析 .....	61
表 6：疾病死亡風險之 COX 迴歸分析 .....	62

# 第一章：緒論



## 第一節、 上皮性卵巢癌

### (一) 上皮性卵巢癌背景

卵巢癌是婦女癌症當中致死率最高的癌症，再加上逐漸上升的發生率，無論是在全球或台灣都獲得越來越多臨床及研究上的關注。根據最新的全球 GLOBOCAN 2020 癌症統計，一年約有 314,000 名新診斷卵巢癌的病人以及有 207,000 人因卵巢癌而死亡，而無論是新發生人數或死亡人數相較於 GLOBOCAN 2018 年的統計皆為明顯的增加[1,2]。美國 2021 年癌症統計，卵巢癌新發生人數約為 21,400 人，死亡人數為 13,700 人。新發生人數在所有女性癌症中並未進入前十大癌症，但年死亡人數卻高達女性癌症的第五位，由此也可佐證卵巢癌的高死亡率。卵巢癌的存活率雖有隨著時間及醫學的進步而有所改善，在美國，卵巢癌的五年存活率從 1975 年的 36% 至 2016 年上升至 49%，但與其他女性癌症相比存活率仍是敬陪末座[3]。

在台灣，根據最新 2019 年癌症年報，新發生卵巢癌為 1677 人，佔所有婦科癌別中的 26.7%，每十萬人口年齡標準化發生率為 9.86 人；死亡人數則為 683 人，每十萬人口年齡標準化發生率為 3.42 人，發生率及死亡率的排名皆為女性癌症中的第七位[4]。台灣卵巢癌的發生率在近 30 年來也是逐年增加[5]，加上卵巢癌高致死率的特性，針對卵巢癌的研究及其治療也成為婦科癌症的備受關注的癌症。

卵巢癌好發年齡為 40 至 60 歲的女性，傳統卵巢癌的危險因子包含年齡、較早初經或較晚停經女性、未曾懷孕生產、肥胖、第二型糖尿病等等[6]。保護因子則有曾生育過、使用口服避孕藥以及做過輸卵管切除或是結紮者[7]。另有部分卵巢癌屬於家族遺傳性，若家族中帶有 BRCA1 (BRCA1) and BRCA2 (BRCA2) 兩種基因則終生得到卵巢癌的機率則分別為 39% - 46% (BRCA1) 以及 10-20% (BRCA2) [8]，根據目前國際臨床治療指引帶有 BRCA



基因突變的女性會建議在更年期前施行預防性卵巢輸卵管切除以降低後續卵巢癌之風險[9]。另外一種家族遺傳性卵巢癌則是屬於林奇綜合症（Lynch syndrome）是一因 DNA 修復機制基因突變導致多種癌症的風險升高之疾病，終生卵巢癌的風險約為 3–17%[10]。

卵巢癌根據不同細胞型態可分為上皮性卵巢癌，占所有卵巢癌的九成以上，其他佔比較低的則是生殖細胞瘤、性索間質細胞瘤以及轉移性卵巢癌[11]。上皮性卵巢癌依組織病理學的不同主要可分為漿液型腺癌、類內膜樣腺癌、亮細胞型、黏液型腺癌和其他比較少見組織型態，其中漿液型依細胞分化程度分為低惡性度及高惡性度，而類內膜樣則依細胞分化程度分為一至三級。高惡性度漿液型腺癌是最常見的上皮性卵巢癌，在歐美國家可高達 70%以上，但在亞洲地區高惡性度漿液型腺癌雖然也為最常見之卵巢癌組織型別，佔比卻低於一半，而亮細胞癌在歐美地區佔比約 5–10%，但在台灣的比例較高約為 15–20% [5, 12]，不同卵巢癌的型態致癌機轉及其基因突變都有所不同，也會因此影響後續治療效果及存活率[12]。

## （二） 上皮性卵巢癌診斷及治療現況

目前臨床上，並未有標準的卵巢癌篩檢工具，2021 年在英國進行的大規模隨機分配試驗，結果顯示無論是用多種篩檢工具（含腫瘤指數、陰道超音波）、單一陰道超音波篩檢或是完全不篩檢，在後續卵巢癌的死亡率沒有統計上的差異。因此不建議例行性做卵巢癌篩檢[13]。而卵巢癌初期無症狀或是症狀不明顯，病人常以腹脹、腹圍增加等不特定的症狀表現，等到症狀變嚴重至食慾降低、腹痛、甚至有腸阻塞的症狀出現都已經是晚期癌症的表現，約有 75% 的病人出診斷即是後期的卵巢癌，無法早期診斷也是造成卵巢癌預後不佳的原因之一[11]。

卵巢癌最常見第一線評估工具為婦產科超音波，也發展了一些診斷預測的模組，透過超音波的影像特徵，分辨良性或惡性的卵巢腫瘤。the International Ovarian Tumor



Analysis (IOTA) simple ultrasound-based rule 為臨床上常用之評估準則[14]。而腫瘤指數 cancer antigen 125 (CA125) 則是另一項用來幫助卵巢癌評估的工具，CA125 是一跨膜糖蛋白 (transmembrane glycoprotein)，常表現在女性生殖器官、腹膜、肋膜的表皮細胞上，也被發現在卵巢癌會過度表現，是第一個卵巢癌相關的腫瘤指數。但 CA125 對於卵巢癌的診斷力並不是非常好，因為此指數在許多非卵巢癌的疾病種也會有明顯的上升，如子宮內膜異位症[15]。根據一篇統合分析 (meta-analysis) 研究，CA125 用於診斷卵巢癌的敏感性和特異性為 79%及 78%[16]。目前 CA125 對於診斷卵巢癌只扮演了輔助性的角色，但臨床上最常使此指數追蹤癌症的復發及治療成效。

另外一癌症指數為 Human epididymis protein 4 (HE4)，唯一分泌性糖蛋白。研究指出相較於 CA125，HE4 有相同的敏感性及更好的特異性 (79%及 93%) [16]，美國 Food and Drug Administration 也於 2008 年核准 HE4 為卵巢癌追蹤性指標，但不可用來篩檢或診斷無症狀之早期卵巢癌[17]。由於單一腫瘤指數對於卵巢癌的診斷力都有其極限，因此也有合併指數或是加上超音波特徵的模組，進而去預測卵巢癌的可能性，目前較常使用的有 Risk of Ovarian Malignancy Algorithm (ROMA) 或是 Risk of Malignancy Index (RMI) 等等。這些評估模組對於卵巢良性或惡性腫瘤的鑑別力很好，但較難以區別邊緣惡性卵巢腫瘤及卵巢癌，因此臨床使用上仍有其限制[18]。另外這些腫瘤指數也難以預測卵巢癌的預後，指數的高低跟癌症的預後目前沒有一定的關聯性。

卵巢癌要確立診斷還是得依靠組織的病理學診斷，跟其他癌症不同，卵巢癌難以施行切片診斷，主要是因為卵巢腫瘤內容物多有液體的成分，若從體外使用針穿刺做切片會有擔心腫瘤滲出、出血或破裂，進而影響預後[19]。也因此大多數的卵巢癌第一線治療為分期或減積手術治療，手術可獲得腫瘤檢體確立診斷，確認癌症



分期，而減積手術目的在於盡可能將腫瘤減少到肉眼所見無明顯的腫瘤為止。手術後剩餘腫瘤大小為影響存活的獨立因子，目前將剩餘腫瘤大小小於一公分定義為理想減積手術 (optimal debulking surgery)，相反若剩餘腫瘤大小超過一公分則為次理想減積手術 (suboptimal debulking surgery)，能夠做到理想減積手術甚至是無肉眼可見腫瘤殘存，病人的預後較佳[11, 20, 21]。

接受上述分期或減積手術後，絕大多數的卵巢癌需要接受輔助性化學治療 (adjuvant chemotherapy)。根據國際治療指引只有第一期中的 Ia、Ib 加上組織型態為低惡性度漿液型、低惡性度類內膜樣型或是黏液型的卵巢癌，以上型態的卵巢癌被視為復發低風險，可以在做完分期手術不接受後續輔助性化學治療，只做觀察追蹤。其他分期或型別的卵巢癌都建議在手術後繼續接受輔助性化學治療[22]。輔助性化學治療在第一期或第二期卵巢癌建議可用鉑類 (platinum) 藥物為基礎合併癌得星 (cyclophosphamide) 或是太平洋紫杉醇 (paclitaxel)，兩者藥物的選擇對於第一期及第二期卵巢的預後沒有統計上的差異，臨床實務上因副作用的考量目前使用太平洋紫杉醇搭配鉑類藥物較多[23]。而第三期及第四期的卵巢癌的藥物處方則建議使用鉑類藥物搭配太平洋紫杉醇。

卵巢癌的化學藥物的使用隨著時間及研究而有所演進，最早期的化療藥物使用鉑類藥物中的 cisplatin 搭配烷基化劑 (alkylating agent) 如 melphalan、cyclophosphamide 等[24]。接下來在 1996 年發表的臨床試驗 GOG 111 比較了 cisplatin (75mg/m<sup>2</sup>) 加 Cyclophosphamide (750mg/m<sup>2</sup>) 以及 cisplatin (75mg/m<sup>2</sup>) 加 paclitaxel (135mg/m<sup>2</sup>) 兩種不同的化學藥物處方，顯示無論在整體治療反應率 (73%比 60%)、無疾病存活期 (13 個月比 18 個月) 以及整體存活期 (38 個月比 24 個月)，cisplatin 加 paclitaxel 皆有較好的表現[25]。另一篇在 2000 年發表的臨床試驗 OV-10 同樣比較 cisplatin (75mg/m<sup>2</sup>) 加 Cyclophosphamide (750mg/m<sup>2</sup>) 以



及 cisplatin (75mg/m<sup>2</sup>) 加 paclitaxel (175mg/m<sup>2</sup>) 也得到相同的結論，即 cisplatin 加 paclitaxel 有較好的整體治療反應率、無疾病存活期及整體存活期[26]。根據以上兩篇大型研究，針對第三、四期卵巢癌，paclitaxel 取代 cyclophosphamide 躍升成第一線標準治療藥物。

Cisplatin 加上 paclitaxel 雖有較好的治療效果，但兩者併用會產生較強的副作用如神經毒性，而 cisplatin 的腎毒性也會限制可使用的病人範圍。因此後續研究 GOG 158 將 carboplatin (area under the curve 7.5) 加 paclitaxel (175mg/m<sup>2</sup>) 和 GOG 111 使用的配方 cisplatin (75mg/m<sup>2</sup>) 加 paclitaxel (135mg/m<sup>2</sup>) 相比，顯示兩組藥物在無疾病存活期及整體存活期都沒有統計上的顯著差異，但 carboplatin 加 paclitaxel 卻有嚴重副作用的比例較低，包含較少的骨髓抑制、較少腸胃道不適[27]。由於相似的治療效果卻能有較少的嚴重副作用，carboplatin 加 paclitaxel 成為了第三、四期卵巢癌的首選標準治療。

在第一線手術及輔助性化學治療後，需評估臨床是治療效果，根據研究上通用的 Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) 準則，可將結果分為：

1. 完全緩解 complete remission (CR)，定義為影像學檢查顯示腫瘤皆消失。
2. 部分緩解 partial remission (PR) 定義為影像學檢查顯示腫瘤縮小超過 30%、
3. 疾病惡化 progressive disease (PD) 定義為影像學檢查顯示腫瘤變大超過 20%、
4. 疾病穩定 stable disease (SD) 定義為影像學檢查顯示腫瘤沒有明顯縮小或變大[28]。

通常治療為評估為完全緩解、部分緩解或是疾病穩定皆可視為對治療有反應。而在接受輔助性化學治療後，第一期卵巢癌可以進入追蹤期，需定期三至六個月接受理學檢查、骨盆腔檢查、血液腫瘤指數追蹤及若有必要時進行影像學檢查。若為第二期以上的卵巢癌則可考慮追蹤或是進行維持性治療。但若接受輔助性化學治療後為疾病惡化，則應考慮接受第二線化學治療或是加入臨床試驗，或是只給予安寧支持



性療法也是一治療選項[22]。

即使接受輔助性化學治療後，卵巢癌仍有非常高的機率會復發，75%第三、四期卵巢癌病人會復發，而平均無疾病存活期約為 18 個月[29]。因此如何降低卵巢癌的復發率及如何治療復發後的卵巢癌皆為臨床上重要的課題。依照化療結束到復發出現的時間長短將病人分為：1. 鉑類藥物敏感性 (platinum sensitive)，病人完成化學藥物治療後，超過六個月腫瘤才復發。2. 鉑類藥物抗藥性(platinum resistant) 病人完成化學藥物治療後，到腫瘤復發的期間小於六個月。兩者後續的治療選擇會有所不同。鉑類藥物敏感性的病人復發後可選擇再次接受化學治療，(通常會再度使用含鉑類藥物)、接受第二次減積手術、接受臨床試驗或是單純接受支持性療法[22]。2020 年發表的 AGO DESKTOP III/ENGOT-ov20 研究顯示，若是病人能符合以下條件：病人復發時間超過六個月且經 AGO study group 準則評分為正向，須符合以下條件：1. 病人日常身體狀態良好，Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) performance status 為零分、2. 病人腹水小於等於 500 毫升、3. 病人首次減積手術結果為無肉眼可見腫瘤殘存。若符合以上條件之病人，先接受第二次減積手術再接受後續救援性化學治療 (salvage chemotherapy) 比上單純只接受救援性化學治療之病人有較好的預後，無疾病存活期為 18.4 個月比上 14 個月，而整體存活期為 53.7 個月比上 46.2 個月。也因此合適的病人中，復發性卵巢癌的治療可優先考慮進行第二次減積手術[30]。

復發性卵巢癌無論是否接受減積手術治療，化學藥物治療仍是治療的主力。復發後接受的救援性化療藥物處方則會依之前化療藥物的成效而有所不同。若是前次化學治療結束到再次復發的期間符合對鉑類藥物敏感性，則仍會建議使用 carboplatin 再搭配第二種化療藥物，如微脂體小紅莓 (liposomal-doxorubicin)、健擇 (gemcitabine)、太平洋紫杉醇也仍是藥物的選擇之一，多個研究證實對於復發



性卵巢癌使用兩種藥物治療對於無疾病存活期都有較佳的效果[31-33]。

而另一群對鉑類藥物抗藥性的卵巢癌復發則是治療上的一大難題，此類病人的預後較差，且可能會較快出現腫瘤相關的併發症如腸阻塞、腫瘤惡病體質 (cachexia)、惡性腹水或胸水等等，造成病人身體狀況下降。因此藥物的選擇除了須考量腫瘤治療的效果外，也須衡量病人身體狀況是否能接受治療。也因對鉑類藥物已有抗藥性，carboplatin 不再是治療首選，目前治療指引也是建議使用單一化療藥物如：微脂體小紅莓 (liposomal-doxorubicin)、健擇 (gemcitabine)、太平洋紫杉醇、癌康定 (topotecan)，但治療反應率約只有 6 – 20% [34-37]。合併兩種藥物治療成效沒有差太多，但藥物毒性及副作用較大，不一定適合此類病人使用[38]。無論選擇何種藥物，和對鉑類藥物敏感性的病人相比，預後都較差，也因此單純支持性療法或是進入臨床試驗也都是治療的選擇。

### (三) 上皮性卵巢癌標靶治療及成效

隨著對癌症的成因跟機轉的了解日益增加，對於正常細胞如何轉變成腫瘤細胞的過程中所需要的病生理變化有了統整性的歸納，稱為癌症共同特徵 (hallmark of cancer)，此概念最早在 2000 年發表，分出了六大特徵：1. 生長的訊號持續活化 (self-sufficiency in growth signals)、2. 抑制細胞生長訊號失能 (insensitivity to growth-inhibitory (antigrowth) signals)、3. 逃避細胞凋亡 (evasion of programmed cell death)、4. 無限制的細胞複製 (limitless replicative potential)、5. 持續血管新生能力 (inducing angiogenesis)、6. 組織侵犯與轉移 (activating invasion and metastasis) [39]。在 2011 年之後，除了原本的六大特徵，有研究又加入了兩種特徵，改變細胞新陳代謝 (reprogramming cellular metabolism) 以及避免免疫系統的破壞 (avoiding immune destruction)，越來越多研究建議應從原本的六大特徵改為八大特徵[40, 41]。



了解癌症共同特徵之後，癌症的治療從原本沒有癌細胞專一性的化學治療，轉變成抑制上述癌化特徵的所需要的機轉或分子進而達到專一性較高的癌症治療，此類治療可避免藥物影響正常組織細胞，只抑制或殺死癌症細胞，故稱作標靶治療 (target therapy)

目前卵巢癌臨床上廣泛使用的標靶治療藥物為兩大類。第一種是一抗血管內皮生長因子 (Vascular endothelial growth factor, VEGF) 之單株抗體 bevacizumab。其作用機轉為抑制腫瘤血管新生，腫瘤因快速生長複製需生成許多新生血管供給養分及氧氣，VEGF 為血管新生機制中重要的促進生長因子，bevacizumab 藉由抑制拮抗 VEGF 的作用進而達到抑制腫瘤生長之效果。目前此藥物廣泛用在多種癌症，包含乳癌、肺癌、大腸癌等等[42]。

已有許多臨床試驗顯示，將此血管新生抑制劑合併化學治療在上皮性卵巢癌第一線或腫瘤復發治療都有其效益[43-46]。其中最具代表性之一的臨床試驗 GOG218 是一隨機分配第三期的臨床試驗，收集晚期上皮性卵巢癌患者，分為三組：控制組接受 6 次 化學治療，使用 carboplatin 及 paclitaxel 與 21 次安慰劑、治療組接受 6 次 paclitaxel 和 carboplatin 與 5 次 bevacizumab (15 mg/kg) 和 16 次安慰劑、另一治療組接受 6 次 paclitaxel 175 mg/m<sup>2</sup> 和 carboplatin (AUC : 6) 與 21 次 bevacizumab (含 16 次的維持性治療)，結果發現無疾病進展存活期分別為 10.3 個月、11.2 個月和 14.1 個月，結論是化學治療合併使用 bevacizumab(含維持性治療) 可以延長晚期上皮性卵巢癌患者的無疾病進展存活期[47]。另一篇大型臨床試驗 ICON7 收集上皮性卵巢癌患者，分為兩組：控制組接受 6 次 paclitaxel 和 carboplatin 與安慰劑，治療組接受 6 次 paclitaxel、carboplatin 和 bevacizumab (7.5 mg/kg) 與 12 次 bevacizumab 維持性治療，研究發現有接受 bevacizumab 治療的患者有較長的無疾病進展存活期 (24.1 個月比 22.4 個月)，若為高復發風險 (即第四期患者或第

三期患者且術後殘餘腫瘤大於 1 公分者)接受 bevacizumab 治療的無疾病進展存活期(18.1 個月比 14.5 個月)與整體存活期(36.6 個月比 28.8 個月)明顯較長[48]。目前標準的治療指引也將 Bevacizumab 納入了第一線標準治療的建議[22]。

除了合併化療的輔助性治療，針對復發卵巢癌 bevacizumab 仍有其治療角色，回顧性研究指出，對於卵巢癌復發且以嘗試許多治療的患者而言，bevacizumab 合併化學治療比單用 bevacizumab 更能延長無疾病進展存活期(8.7 個月比 6.7 個月)與整體存活期(14.3 個月比 10.5 個月)[49]。臨床試驗 GOG 213 收集鉑類藥物敏感性上皮性卵巢癌復發患者，控制組只接受 carboplatin 和 paclitaxel 與安慰劑，治療組接受 carboplatin 和 paclitaxel 合併 bevacizumab 及後續 bevacizumab 維持性治療直到腫瘤復發或是副作用無法承受，結果發現接受 bevacizumab 治療的患者有較長的無疾病存活期(10.4 個月比 13.8 個月)，但整體存活期兩組之間沒有統計上的顯著差異[50]。經過多篇研究證明 bevacizumab 無論在晚期、高復發風險或是復發性卵巢癌都能夠增加無疾病存活期，目前臨床上也廣泛使用此藥。

另一種臨床上廣泛使用的標靶藥物為聚腺嘌呤二磷酸核糖聚合酶，poly ADP ribose polymerase (PARP) 抑制劑。PARP 是細胞內基因修復功能的其中一環，PARP 負責 DNA 單股斷裂修復的蛋白酶，在 DNA 同源雙股修復 (homologous double-stranded repair) 機制有缺陷的腫瘤細胞 (如：BRCA 基因突變患者或是其他修復相關基因有突變者，homologous double-stranded repair deficiency, HRD) 抑制 PARP 的修復機制是對於抑制腫瘤特別有效的，此效果稱為合作致死 (synthetic lethality)，此類藥物用在已知 BRCA 基因突變患者使用此藥物，反應率可達 33~41%[51, 52]

目前臨床上可使用的 PARP 抑制劑 olaparib、niraparib、rucaparib 以及 talazoparib，目前美國 Food and Drug Administration (FDA) 核准了 olaparib、niraparib、rucaparib 作為卵巢癌的治療[53-55]。以被台灣 FDA 核准使用的 Olaparib 及 Niraparib 為例，



臨床研究 Solo 1 選擇晚期卵巢癌合併有 BRCA 基因突變的病人接受標準第一線輔助性化學治療後，一組使用 Olaparib 維持性治療而另一組使用安慰劑，兩組之間無疾病存活有極大的差距（56.0 個月比 13.8 個月）[53]。而 Niraparib 則是納入所有晚期卵巢癌病人無論是否有 BRCA 基因突變，接受標準第一線輔助性化學治療後，一組使用 Niraparib 維持性治療而另一組使用安慰劑，在全部的病人身上無論是否有 BRCA 基因突變或是 HRD 基因突變，使用 Niraparib 有較長的無疾病存活期（13.8 個月比 8.2 個月），若是再將受試病人分組來看，在有 HRD 基因突變的病人中，使用 Niraparib 的病人有更長的無疾病存活期（21.9 個月比 10.4 個月）[54]。也因為 PARP 抑制劑在特定基因突變病人中有非常好的效果，精準化醫療也成為卵巢癌治療的一部分，目前臨床治療指引建議卵巢癌病患皆須接受 BRCA 及 HRD 基因之檢查，以免錯失使用 PARP 抑制劑的機會[22]。

#### （四） 上皮性卵巢癌及腫瘤免疫學

已有許多研究證實腫瘤與免疫系統之間的作用也是影響癌症進展及預後的重要關鍵[56, 57]，早在 19 世紀即有人發現人體的免疫功能可以使腫瘤縮小甚至消失[58]，而後從 20 世紀初，Paul Ehrlich 假設了人體免疫系統持續在清除人體內部出現的腫瘤細胞，雖然在當時此假說並沒有辦法有足夠多的研究證據證實[59]。而 Lewis Thomas 則是提出了免疫系統會辨認及鎖定腫瘤細胞製造的新抗原，並如同移植排斥作用去清除腫瘤細胞[60]。之後，經由動物實驗發現，藉由基因轉殖技術破壞免疫系統的老鼠更容易得到腫瘤且疾病的進展也比正常免疫系統了老鼠來的快速[61]。隨著分子生物學的進步，對腫瘤細胞與免疫系統的交互作用也逐漸增加。

若將腫瘤視為一個有機體，腫瘤細胞和參與在其發展進程中各種不同功能的細胞形成了腫瘤微環境（tumor microenvironment）[40]。免疫細胞是微環境中的重要角色，免疫細胞的存在與腫瘤的預後也是息息相關。研究發現，在晚期卵巢癌中，



在微環境中有 CD3+ T 細胞的腫瘤五年存活率高於微環境中沒有 CD3+ T 細胞者 (38%比 4.5%) [62]。腫瘤細胞會產生腫瘤相關的新抗原，而免疫細胞理應去辨認抗原進而消滅腫瘤細胞如同對抗外來感染源或移植物，但腫瘤細胞在進展的過程中會發展出許多免疫逃脫 (immune escape) 機制來阻擋免疫細胞的破壞[63]。免疫逃脫的機轉分成許多不同的路徑，藉由這些免疫逃脫機制，腫瘤細胞得以避免被人體的免疫系統清除，進一步複製、增殖甚至是轉移。

相反的，若能抑制腫瘤細胞的免疫逃脫機轉，則可以重新使免疫系統獲得清除腫瘤細胞的能力，目前腫瘤免疫治療最有成效的免疫檢查點 (immune checkpoint) 抑制劑即是此方法的應用。免疫檢查點是調控 T 細胞的免疫反應一個重要的負向調節分子，調節免疫反應強度以及反應時間，以避免 T 細胞免疫反應過度活化[56]。Cytotoxic T lymphocyte antigen 4 (CTLA-4) 以及 program med cell death protein 1 (PD-1) 是在 T 細胞的反應中最有力的兩種免疫檢查點。CTLA-4 生理功能調節 T 細胞活化以及促發 (priming)，當 T 細胞在淋巴結準備成熟活化，若 CTLA-4 被啟動，則 T 細胞則會停在失能 (anergy) 狀態[64]。PD-1 則是作用於周邊組織的免疫反應時，當 PD-1 與其受體 PD-L1、PD-L2 結合時，會中斷 T 細胞受體與抗原結合的訊號傳遞以及細胞激素的釋放[65, 66]。在腫瘤微環境中，此類抑制 T 細胞活化及功能的分子以及受體常會過度表現，而免疫治療則是透過抗體直接抑制 CTLA-4 以及 PD-1 與 PD-L1 結合進而發揮 T 細胞毒殺腫瘤細胞的功能[65]。

James Allison 與同事首先發現抗 CTLA-4 的抗體在被轉殖大腸癌以及纖維肉瘤的老鼠身上可以有效增強抗腫瘤的免疫反應[67]。此為免疫檢查點成為免疫治療的一大主力之濫觴。另外老鼠的動物實驗也發現過度表現 PD-L1、PD-L2 會使腫瘤細胞增生及侵襲能力，但若透過抗體抑制 PD-1 則不只可以阻止腫瘤細胞增生更可以增加毒殺性 T 細胞的抗腫瘤作用[68]。Ipilimumab 為第一個抗 CTLA-4 單株抗



體於 2011 被美國 FDA 核准使用於不可切除的晚期黑色素細胞瘤，和安慰劑相比可增加整體存活率約四個月（10.1 個月比 6.0 個月）[69]。隨後，FDA 核准了抗 PD-1 的單株抗體 pembrolizumab、nivolumab 用於治療轉移性黑色素細胞瘤。和單純只用化學治療藥物相比，使用 nivolumab 將一年存活率提高約 30%（72.9%比 42.1%）[70]。之後研究又將抗 CTLA-4 的藥物 ipilimumab 和抗 PD-1 藥物 pembrolizumab 針對黑色素細胞瘤的治療效果相比，發現 pembrolizumab 有較高的一年存活率（74.1%比 58.2%）此後抗 PD-1 類的藥物變成免疫檢查點藥物的主力[71]。

前述研究已經證實腫瘤微環境中的 T 細胞會影響卵巢癌的預後[62]。因此在卵巢癌的治療中免疫檢查點抑制劑被賦予高度的期待。早期的第一期試驗使用 pembrolizumab 針對上皮性卵巢癌的第 Ib 期試驗，顯示整體藥物的反應率只有 11.9%（26 名病人中有 3 名有治療效果）[72]。另一抗 PD-L1 的藥物 atezolizumab 雖治療整體反應率較佳（22.2%）但有安全上的疑慮 91.7%的病人都有不良反應[73]。研究也發現腫瘤細胞是否過度表現 PD-1 或 PD-L1 的分子跟治療效果並非絕對相關[74]。後續的第二期臨床試驗，Keynote-100 使用 pembrolizumab 治療復發性上皮性卵巢癌，共納入了 376 名上皮性卵巢癌復發病患，整體的治療反應率只有 8%，無疾病存存活期為 2.1 個月，整體存活期為 17.6 個月，另外發現若將 PD-L1 在腫瘤微環境中的表現比例做為分組，表現比例最高的會有較佳的治療反應率 17.1%[75]。

雖治療反應不顯著，但仍有兩篇抗 PD-L1 藥物的大型第三期試驗，第一個 JAVELIN Ovarian 200 研究使用 avelumab 將病人分成 3 組單用 avelumab、avelumab 加上化療藥物微脂性小紅莓治療復發性卵巢癌，以及安慰劑加上微脂性小紅莓，結果顯示併用療法在無疾病存活有些許進步（3.7 個月比 3.5 個月），但整體存活率沒有顯著差異（15.7 個月比 13.1 個月，p 值為 0.2）。另一篇則使用 atezolizumab 的第

三期試驗，納入第一線新診斷的晚期卵巢癌病人，同樣接受標準化學治療鉑類藥物加上太平洋紫杉醇以及標靶藥物 bevacizumab，一組有接受 atezolizumab 而另一組接受安慰劑。結果顯示，無疾病存活期兩組之間沒有顯著差異（19.5 個月比 18.4 個月，p 值為 0.28） [76]。

免疫檢查點的抑制劑作完卵巢癌的免疫治療在臨床研究上並沒有太大的治療效果，相較於另一種標靶藥物 PARP 抑制劑的成功，單使用免疫檢查點的抑制劑作為上皮性卵巢癌的治療非好的治療選擇[77]，因此目前的臨床研究多使用併用療法，將免疫檢查點抑制劑合併 PARP 抑制劑使用，期待能重新為免疫檢查點抑制劑在卵巢癌治療上找的一席之地[78]。腫瘤其他的免疫逃脫機轉也持續成為研究的一大方向，期待能夠從不同的機轉中找到治療的契機

## 第二節、腺苷反應途徑

### （一）腺苷（adenosine）反應途徑背景

1975 年在體外的細胞試驗中發現了細胞外的腺苷可以抑制毒殺性 T 細胞對抗淋巴癌的活性，此為腺苷與免疫抑制研究的開端[79]。細胞外的腺苷來自於腺苷三磷酸（adenosine triphosphate, ATP），而兩者之間為互相拮抗的作用分子。在正常生理狀態下，細胞外的腺苷以及 ATP 會維持在穩定且較低的濃度圍，但當發生缺氧（hypoxia）、養分缺乏、組織發炎或是細胞死亡的狀況，細胞外的 ATP 濃度會快速上升，ATP 在細胞外的作用可視為一強力免疫細胞的促進因子，藉由和 purinergic 受體結合後進而刺激後續的發炎免疫反應，ATP 與 purinergic 受體也被稱為前發炎訊號（pro-inflammatory signaling），此反應對於清除細胞內的病原體非常重要[80, 81]。而腺苷則扮演一個相反的角色，啟動的會是抗發炎的反應（anti-inflammatory signaling）。在細胞外高濃度的 ATP 透過細胞膜上的兩種跨膜蛋白酶被快速降解成為腺苷，其中之一為 ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 1（ENTPD-1）

也被稱為 CD39（此後簡稱 CD39），此酵素能將細胞外的 ATP 水解為腺苷雙磷酸（adenosine diphosphate, ADP）以及腺苷單磷酸（adenosine monophosphate, AMP）[82]，之後另一跨膜酵素 ecto-5'-nucleotidase（NT5E）也被稱為 CD73（此後簡稱 CD39），則是再將 AMP 水解成為腺苷[83]。

腺苷會透過四種 G 蛋白結合受體 adenosine receptor 1 (A1R)、adenosine receptor 2A (A2AR)、adenosine receptor 2b (A2BR)、adenosine receptor 1 (A3R)，開啟後續反應[84]。四種受體的功能以及結合力不盡相同，A1R、A2AR 在腺苷濃度低時即可反應，和腺苷屬於高結合力。A2BR、A3R 則是低結合力的受體，在細胞外腺苷濃度高時才可以開始反應[85]。當腺苷和受體結合後，會改變細胞內 cyclic AMP 的濃度，cyclic AMP 是二級傳訊分子，改變其濃度即可開啟後續一系列的反應。A1R 和 A3R 是屬於抑制的受體，當與腺苷結合後會降低細胞內 cyclic AMP 的濃度，減低後續免疫抑制的反應。而 A2AR、A2BR 則是刺激、增強的受體，和腺苷結合後，會增加細胞內 cyclic AMP 的濃度，之後進行免疫抑制的反應[86]。

幾乎所有免疫細胞的細胞膜上皆有腺苷受體，包含 T 細胞、巨噬細胞、B 細胞，自然殺手細胞、抗原呈現細胞如樹突細胞。以 T 細胞為例，當 T 細胞受體 (T cell receptor, TCR) 被活化後，T 細胞膜上的 A2AR 表現量會增加，腺苷與 A2AR 結合後則會負向抑制 TCR 和抗原結合作用以及 T 細胞的共同刺激(co-stimulation) 訊號 CD28 的作用，進一步抑制 T 細胞活化、複製、存活和細胞激素的釋放[87-89]。而在 CD4+T 細胞上，A2AR 則會促使 T 細胞分化長調節性 T 細胞 (regulatory T cell, Treg)，Treg 也是免疫調控重要的負向調節細胞。在抗原呈現細胞中，A2AR 會降低細胞膜上 major histocompatibility complex class II (MHC class II) 的表現量進而降低細胞呈現抗原的能力，另外透過降低細胞膜上 CD86 的表現，抑制 T 細胞 co-stimulation[90]，還會減少促進發炎的細胞激素如 IL-2 以及 tumor necrosis factor



(TNF) 並增加腫瘤所需的細胞激素，如 IL-6、IL-10、transforming growth factor Beta (TGFβ)、vascular endothelial growth factor (VEGF) [91]。除了作用在免疫細胞上 A2A 以及 A2B 也會出現在血管內皮細胞膜上，可以抑制白血球的交通，進而抑制免疫發炎作用[92]。腺苷反應途徑透過各種免疫細胞及非免疫細胞來達到免疫抑制的功能。

## (二) 腺苷反應途徑與腫瘤免疫學

在腫瘤微環境中，常會發生細胞缺氧 (hypoxia)、營養缺乏、慢性發炎或是因藥物導致的細胞死亡，這些因子使得環境中 ATP 的濃度大幅提高，如前述章節所言，ATP 為前發炎因子，透過廣泛分布在免疫細胞包含 T 細胞、B 細胞、巨噬細胞、樹突細胞等的 purinoceptor 7 (P2X7) 活化及促進抗腫瘤的免疫發炎反應。但同時在微環境中 CD39、CD73、A2AR、A2BR 的表現量也會大量增加。細胞缺氧後細胞內的轉錄因子 hypoxia-inducible factor 1 (HIF1) 也隨之增加，另外發炎反應產生的細胞激素 TGFβ、IL-2、IL-6、TNF 等等，這些分子都會增加 CD39、CD73、A2AR、A2BR 在腫瘤細胞本身、免疫細胞、血管內皮細胞以及間質細胞的表現量 [93, 94]。

腺苷反應在腫瘤微環境中的免疫逃脫機轉主要是靠以下幾種方式：1. 抑制毒殺性 CD8<sup>+</sup>T 細胞，透過增加 Treg 細胞的複製增生以及增加免疫抑制性的細胞激素 TGFβ、IL-10 和增加免疫檢查點受體的表現量已達到抑制有效 CD8<sup>+</sup>T 細胞的作用[95, 96]。2. 抑制自然殺手細胞的成熟[97]。3. 抑制淋巴細胞分泌有效的免疫作用因子如 IFN $\gamma$ 、TNF、perforin、granzymes[98]。

除了作用在免疫細胞上，作用在腫瘤細胞本身的腺苷反應也直接促進腫瘤的生長和轉移。透過 A2AR 下游的 PI3K-AKT 反應鏈或是 A2BR 下游的 ERK、JNK 訊號傳遞，可以增進腫瘤細胞的複製、存活、提高侵入性以及移動能力。這樣的結



果許多研究在不同的腫瘤細胞如乳癌、肝癌、胃癌等都得到證實[99, 100]。

確立了腺苷透過 A2AR 在腫瘤中會造成免疫逃脫以及腫瘤的生長、惡化。許多研究開始探究腺苷反應中的關鍵分子 CD39、CD73、A2AR 和腫瘤臨床預後的關係[93]。多數的研究顯示高 CD39 表現和晚期癌症、較差存活期及預後不佳相關，在胃癌、肝癌和腎臟細胞癌中發現，過度表現 CD39 和整體存活期相關[101-103]。CD73 是腺苷反應中研究最多的分子，以參與腫瘤免疫逃脫的重要分子而言，CD73 應該要和 CD39 一樣和預後及存活期不佳相關。但不同研究的結論不盡相同。在消化器官相關的癌症，如胃癌、肝癌、大腸癌等，過度表現 CD73 都和較差的整體存活期相關[3, 104, 105]。但在乳癌中，不同組織型態的乳癌在高 CD73 表現和預後的關係並不一致。在三陰性 (triple negative) 乳癌中，過度表現 CD73 和較差的整體存活期相關[106]。但若是在雌激素受體陽性的乳癌中，CD73 則和預後無關[107]。若納入所有組織型態的乳癌研究則報告了相反的結果，過度表現 CD73 和較好的無疾病存活期、整體存活期相關[108]。另外在非小細胞肺癌中，過度表現 CD73 和較差的整體存活期相關，但過度表現 A2AR 則顯示預後較佳。即使為同一反應途徑中的分子，但與臨床預後之間的關聯性也不盡相同[109]。

而在卵巢癌中，在高惡性度漿液型的上皮性卵巢癌中發現高度表現 CD73 和較差的無疾病存活期以及整體存活期都有顯著相關。在細胞實驗中可發現高度表現 CD73 抑制腫瘤環境中 CD8<sup>+</sup>T 細胞的作用進而使得預後變差[110]。但在另外的研究中，過度表現 CD73 在與較佳的預後因子如較低的分期、較好的分化等相關，也因此導出過度表現 CD73 和預後較佳相關的結論[111]。

雖然在機轉上，腺苷反應途徑以及其中參與的分子 CD39、CD73、A2AR 會造成腫瘤微環境中針對腫瘤細胞的免疫作用降低，達到免疫逃脫的功用。另外也可以



直接促進腫瘤細胞的生長與轉移，以上應該都會造成較差的癌症預後。但在和臨床相關的研究上並非完全支持這樣的機轉學說，因此對於腺苷反應在癌症的進程中所佔的重要性跟扮演的角色，還有待更多的研究來了解。

### 第三節、研究方向及目的

上皮性卵巢癌目前雖有治療效果顯著的藥物，但晚期卵巢癌的預後仍然不佳，主要原因在於早期疾病症狀不明確，難以早期診斷、缺乏專一性高的診斷或預後分子、一旦復發後對化療藥物易形成抗藥性，最後是對不同組織型態的卵巢癌形成及轉移機制未能通盤了解，也因此晚期或是復發性卵巢癌仍是目前治療上的一大難題。免疫治療已經運用在多種癌症治療上，免疫檢查點抑制劑在需多固體癌症上已取的顯著的療效。但很可惜目前卵巢癌並沒有發展出有效的免疫治療，目前廣泛使用的藥物機轉抗 PD-1 和 PD-L1 以及抗 CTLA-4 等藥物在卵巢癌的臨床試驗，整體的反應率或治療效果不彰。免疫逃脫並非只有免疫檢查點一種機轉，腺苷反應途徑也是在腫瘤微環境中重要的免疫抑制機轉。目前腺苷反應與卵巢癌相關的研究多是以高惡性度漿液型卵巢癌為主要研究對象，是因為在歐美國家超過 75% 的卵巢癌是高惡性度漿液型，但在台灣高惡性度漿液型佔不到一半的上皮性卵巢癌，因此其他細胞型態與腺苷反應之間的關係也需要進一步研究。

另外目前多數探討腺苷免疫抑制反應的研究都針對反應中特定、單一分子和臨床特徵以及預後做分析。幾乎沒有同時將反應中上下游的分子放在同一篇研究中做比較，較難以全面性的整體腺苷反應對臨床的影響。因此本研究有以下幾項目的：

1. 分析及定量三種腺苷反應中關鍵分子，CD39、CD73 和 A2AR 在腫瘤組織中的表現，並分析在不同組織型的卵巢癌中表現量是否有差異。
2. 分析及建立 CD39、CD73 和 A2AR 在腫瘤組織中的表現量和卵巢癌病人臨床、

病理上特徵及疾病預後的關係。



## 第二章：材料與方法



### 第一節、分析病患卵巢癌檢體中 CD39、CD37 以及 A2AR 基因表現量

#### (一) 病患及檢體來源與收集

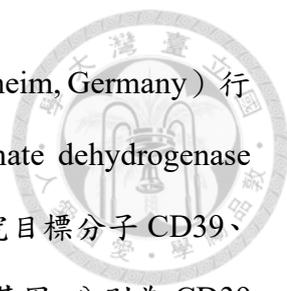
本研究經由國立台灣大學附設醫院研究倫理委員會審查、核准(審查案件編號: 202006083RINA)。收案對象為在台大醫院診斷並接受手術治療的上皮性卵巢癌病患。於病患手術前取得患者知情同意, 後於手術時收集所需檢體, 未同意收集檢體之病患則予以排除。收集時間為所有手術檢體皆切除後, 再採取部分卵巢癌組織作為本研究之材料。檢體收集後, 先儲存於組織保存液中, 後盡快以液態氮冷凍, 並儲存於 $-70^{\circ}\text{C}$  環境中直到進一步實驗所需。若病患檢體量不足或保存不完整者, 也排除於本研究中。

#### (二) 在卵巢癌組織中提取 RNA

實驗進行第一步會先將之前儲存的檢體解凍再離心。接著使用 Trizol reagent (Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA) 提取組織中 RNA。將含有癌組織的溶液和 Trizol reagent 充分混合後, 在室溫下靜置五分鐘以利核酸與蛋白質充分解離, 在使用無菌針筒反覆抽吸至沉澱層消失。加入 chloroforme 混合均勻, 再以每分鐘 1300 轉離心十分鐘, 使 RNA、DNA 以及蛋白質分層, 仔細提取最上層的 RNA 並移至新的微量離心管。再加入 isopropanol, 以每分鐘 1300 轉離心十分鐘, 即可於底部收集到白色 RNA 沉澱層。後以 75% 酒精及 DEPC 水沖洗以避免降解。沖洗過後以每分鐘 1300 轉離心五分鐘, 去除容易後以 DEPC 水回溶, 最後通過 Qiagen RNeasy column (Qiagen, Valencia, CA) 去除小片段減少對實驗品質的影響。

#### (三) 即時定量聚合酶鏈反應

第一步先將製備好的癌組織 RNA 經反轉錄試藥組 RevertAid first strand cDNA synthesis kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) 反轉錄成 cDNA。在使用



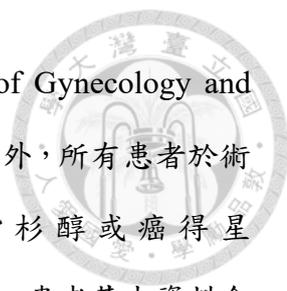
LightCycler Real-Time detection system (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) 行即時定量聚合酶鏈反應。本研究使用 Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) 當作基準的管家基因 (housekeeping gene) 以計算本研究目標分子 CD39、CD73、A2AR 基因相對表現量。共使用三種引子以偵測三種目標基因，分別為 CD39 (Hs00969559\_m1)、CD73 (Hs01573922\_m1)、A2A receptor (Hs00169123\_m1) (TaqMan® Assays, Life Technologies Corporation)。其反應週期為 95°C 10 秒，60°C 10 秒和 72°C 10 秒。另使用 LightCycler h-G6PDH housekeeping gene set (Roche Applied Science, Indianapolis, IN) 來偵測 G6PDH，其反應週期為 95°C 10 秒，55°C 15 秒和 72°C 15 秒。進行反應前會加入固定量的原料試劑，基因表現量的偵測基於反應時產生的螢光達到特定閾值所需的週期數 (Ct 值)，利用下面公式來計算：  
CD39、CD73、A2AR 的相對表現量 =  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ， $\Delta Ct = Ct_{CHI3L1} - Ct_{G6PDH}$ ， $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{卵巢癌組織}} - \Delta Ct_{\text{正常卵巢組織}}$

## 第二節、病患臨床資料收集彙整

### (一) 自臺大醫院病歷資料庫收集病患臨床相關資料

本研究所有病人均接受手術以確定癌症分期，若為晚期腫瘤則盡可能做到最大程度減少體內腫瘤的減積手術，並完整紀錄手術時的發現，例如腫瘤的大小、腫瘤擴散轉移的情形、腹水量、術後殘留的腫瘤體積等等因素，若最終殘存腫瘤體積小於等於一公分則定義為理想減積手術，反之，若殘存腫瘤大於一公分則為次理想減積手術。

最終手術切下之所有檢體都是由本院病理科醫師判讀，卵巢癌的組織型態是 World Health Organization (WHO) Classification of Tumours of Female Reproductive Organs[112]，可分為漿液型、類內膜樣型、亮細胞癌、黏液型及其他較少見之癌症型別，而本研究納入三種最常見之組織型別分別為漿液型、類內膜樣型、亮細胞癌。



卵巢癌的分期是依據世界婦產科聯盟 International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO)的定義[113]。病患除第 IA 期且分化良好的患者外，所有患者於術後須接受輔助性化療，其處方為鉑類化合物合併紫杉醇或癌得星 (cyclophosphamide)，每三週一個療程，通常給予四至六個療程。患者基本資料含出生日期、健康狀況、疾病史、手術前及後續治療期間腫瘤指數 CA-125 數值及後續接受治療與追蹤的過程都會加以記錄。

本研究持續追蹤病人至手術後 60 個月或病人死亡。腫瘤復發的定義為：(1)臨床影像學檢查偵測到腫瘤(包括:超音波、電腦斷層、核磁共振攝影等等)，或病理組織切片、細胞學檢查證實；(2)臨床影像學檢查偵測不到腫瘤，但腫瘤指數(CA 125)持續上升，上升幅度達最低值一倍以上。又依化療反應分為：(1)化療抗藥性(chemo-resistant)：完成化療所有療程後，6 個月內就發生復發的患者，或持續進展(disease progression) 的患者；(2)化療敏感性(chemo-sensitive)：完成化療所有療程後，超過 6 個月才發生復發的患者，或尚未復發的患者。此外，無疾病進展存活期(disease-free survival)定義為患者接受治療後至確定腫瘤復發的時間，整體存活期(overall survival)定義為患者接受治療後至因卵巢癌死亡的時間或最近一次追蹤時間。

### 第三節、統計分析

本研究使用 SPSS 22.0 for Windows (IBM, Armonk, New York, NY)統計軟體做資料分析。基因表現數值以中位數及 25 至 75 百分位數呈現，組別間差異使用無母數統計 Mann-Whitney test 或是 Kruskal-Wallis test 來檢定。而三種目標分子表現值相關性使用 Pearson correlation coefficient 檢驗，相關性高低依相關係數決定，相關係數 0.3 以下為低相關，0.3~0.7 為中等相關，0.7 以上為高度相關。

分析無疾病存活期及整體存活期之風險因子則使用 Cox 迴歸模式進行檢定，

並計算風險比（風險比）加上 95%信賴區間呈現。使用 Kaplan-Meier 檢定目標分子的無疾病存活及整體存活分析，並輔以 log-rank test 以檢定表現量高低之差距。使用雙尾檢定並以 p 值 $<0.05$  定義為有統計學上的顯著意義。



## 第三章：結果



### 第一節、病患基本臨床資料及 CD39、CD73、A2AR 三者表現相關性

#### (一) 病患基本資料

本研究共收入 92 例上皮性卵巢癌患者之腫瘤組織。基本資料如表 1 所示。92 位患者診斷上皮性卵巢癌的平均年齡為 52 歲，平均標準差為 10 歲。本研究共收入三種組織型態，包含漿液型 65 名 (70.7%)、類內膜樣型 9 名 (9.8%) 以及亮細胞癌 18 名 (19.6%)。15 名 (16.3%) 患者為早期卵巢癌 (FIGO 第一期及第二期)，77 名 (83.7%) 為晚期卵巢癌 (FIGO 第三期及第四期)。經分期或減積手術後，殘存腫瘤大小小於等於 1 公分為 45 名 (48.9%)，相反的殘存腫瘤大小大於 1 公分則有 47 名 (51.1%)。大多數 (80 名病人，87%) 的病人對標準化學治療具有敏感性，只有 12 名病人 (13%) 屬於化療抗藥性。追蹤期 60 個月內超過七成的病人經歷腫瘤復發 (71 名，77.2%)，較少數 21 (22.9%) 名病人追蹤 60 個月都無復發。追蹤期 60 個月內，有 36 名 (36.1%) 病人死亡。綜觀病人的無疾病存活期中位數為 9.47 個月 (25 及 75 百分位數：2.99 個月及 25 個月)，整體存活期則為 31.35 個月 (25 及 75 百分位數：15.13 個月及 50.24 個月)。

#### (二) CD39、CD73、A2AR 三種分子於卵巢癌組織中表現量之相關程度。

將同一病患組織中 CD39、CD73、A2AR 表現量，分別取兩個分子互相檢驗相關程度，結果顯示：CD39 和 CD73 的相關係數只有 0.25 屬於低相關性。CD39 和 A2AR 之間相關係數為 0.87 屬於高度相關。而 CD73 和 A2AR 的相關係數為 0.56 相關性，屬於中度相關。相關程度結果顯示於表 2。

### 第二節、探討不同臨床變項中 CD39、CD73、A2AR 的表現量差異

將病患以不同年齡 (小於 50 歲及大於等於 50 歲)、不同組織型別、不同癌症分期、手術後殘存腫瘤大小 (小於等於 1 公分及大於 1 公分)、對化學治療敏感性、

是否復發及是否死亡做分組，分別探討 CD39、CD73、A2AR 的表現量差異。

(一) CD39、CD73、A2AR 表現量在不同臨床變項中的差異

CD39 的基因表現量中位數在不同組織型別中以亮細胞癌中最高，漿液型居次、類內膜樣最低且具統計上的顯著差異。 $(86.28 \times 10^{-3}$  比  $48.83 \times 10^{-3}$  比  $256.51 \times 10^{-3}$ ,  $P=0.035$ )，在早期卵巢癌中表現量也較高， $(447.79 \times 10^{-3}$  比  $88.45 \times 10^{-3}$ ,  $P=0.020$ )，手術殘存腫瘤小於等於 1 公分組的表現量高於大於 1 公分組 $(123.68 \times 10^{-3}$  比  $80.56 \times 10^{-3}$ ,  $P=0.025$ )。不同年齡組別中基因的表現量未達到統計上顯著差異。在對化學治療反應不同中，其表現量中位數相差無多。而在復發及死亡病患中，基因表現量皆未達到統計上的顯著差異。

CD73 基因表現量結果如下，在不同組織型別中以亮細胞癌中最高，類內膜樣居次、漿液型最低且具統計上的顯著差異。 $(38.99 \times 10^{-3}$  比  $118.26 \times 10^{-3}$  比  $197.74 \times 10^{-3}$ ,  $P=0.016$ )，在早期卵巢癌中表現量也較高， $(189.15 \times 10^{-3}$  比  $38.99 \times 10^{-3}$ ,  $P=0.003$ )，而手術殘存腫瘤小於等於 1 公分組的表現量同樣也高於大於 1 公分組 $(114.90 \times 10^{-3}$  比  $32.46 \times 10^{-3}$ ,  $P=0.025$ )。和上述 CD39 表現量類似，在不同年齡、不同化學治療反應、復發、死亡的組別中表現量都不具統計上的顯著差異。

A2AR 的基因表現量中，在不同組織型別中以亮細胞癌中最高，類內膜樣居次、漿液型最低且具統計上的顯著差異。 $(7.85 \times 10^{-3}$  比  $16.25 \times 10^{-3}$  比  $32.21 \times 10^{-3}$ ,  $P=0.002$ )，在殘存腫瘤小於等於 1 公分組的表現量同樣也高於大於 1 公分組 $(16.78 \times 10^{-3}$  比  $7.37 \times 10^{-3}$ ,  $P=0.025$ )。與 CD39 及 CD73 不同的是，在早期卵巢癌中表現量的差距並未達到統計顯著差異 $(16.78 \times 10^{-3}$  比  $9.44 \times 10^{-3}$ ,  $P=0.058$ )。而同樣在不同年齡、不同化學治療反應、復發、死亡的組別中表現量都不具統計上的顯著差異。以上三種分子在不同臨床變項中的表現量，結果如表 3-1

從表 3-1 可知亮細胞癌以及早期卵巢癌對於 CD39、CD73、A2AR 的表現量都



明顯較高，但因為此兩種臨床變項高度相關，早期卵巢癌 15 名病患中有 9 名為亮細胞癌。因此又將不同組織型別及癌症分期分開做次族群分析，藉此探討何種臨床變項對 CD39、CD73、A2AR 的基因表現影響更大

表 3-2 為組織型別為漿液型卵巢癌，三種分子在不同臨床變項中的基因表現量。96.9% (63 名病患) 皆為晚期卵巢癌，而早期卵巢癌只有 2 名病患。CD39 和 A2AR 的表現在晚期卵巢癌較多，但 CD73 則是在早期癌症的病患中表現量較高，但差距不具統計意義。殘存的腫瘤若 $\leq 1$  公分在 A2AR 表現量較低 ( $12.09 \times 10^{-3}$  比  $75.86 \times 10^{-3}$ ,  $P=0.042$ )，相反的 CD39 和 CD73 中表現量較高但並未達統計顯著差異。三種分子無論是在腫瘤復發或是死亡的病患，表現量皆低，但並未達到統計上顯著差異。

而在亮細胞的次族群中，三種分子在不同臨床變項中的基因表現量呈現於表 3-3。在癌症分期的分布上則早期跟晚期病患各占一半，三種分子在早期卵巢癌中的表現量皆高於晚期，但只有 CD39 在兩者間的差距有統計的顯著差異 ( $482.05 \times 10^{-3}$  比  $123.68 \times 10^{-3}$ ,  $P=0.014$ )。殘存腫瘤大小 $\leq 1$  公分的 CD39 以及 CD73 的表現量也較高，A2AR 表現量則較低，這結果分佈和漿液型的結果類似，但三種分子表現量的差距皆未達到統計顯著意義。而在腫瘤復發及死亡病患中，三種分子的表現量在兩組間的差異皆未達到統計顯著意義。

表 3-4 則是癌症分期為早期的病人次族群。三種分子在不同組織型態中皆是亮細胞癌的表現量最高，雖然只有 A2AR 的表現量有統計上的顯著差異 ( $3.09 \times 10^{-3}$  比  $13.88 \times 10^{-3}$  比  $35.70 \times 10^{-3}$ ,  $P=0.045$ )，而 CD39 以及 CD73 沒有達到顯著差異。在有復發的病人中，CD39 和 A2AR 的表現量顯著較高 (CD39:  $482.05 \times 10^{-3}$  比  $234.51 \times 10^{-3}$ ,  $P=0.038$ ; A2AR:  $31.94 \times 10^{-3}$  比  $165.51 \times 10^{-3}$ ,  $P=0.019$ )。而 CD37 則



是呈現相反的趨勢，沒有復發者有比較高的表現量，但兩組間的差異沒有達到統計顯著。在死亡的病人中三種分子的基因表現量在兩組間的差異皆未達統計顯著差異。

而癌症分期晚期的病人族群結果在呈現於 3-5。在組織型態中，不同組織型態的分子表現量的差異並未到統計顯著差異。在殘留腫瘤大小中，三種分子皆是 $\leq 1$ 公分這組擁有比較高的表現量，但只有 A2AR 達到統計顯著差異 ( $13.40 \times 10^{-3}$  比  $7.47 \times 10^{-3}$ ,  $P=0.046$ )。在復發或死亡組別中，三種分子皆在沒有復發或是存活的病人上表現量較高，雖都未達到統計顯著差異。此趨勢和早期卵巢癌有很大不同。

## (二) 以中位數為基準分組比較 CD39、CD73、A2AR 基因表現高低比例在不同臨床變項中之差異

上述的結果為直接比較不同臨床變項中 CD39、CD73、A2AR 的基因表現量差異。除此之外，本研究將每種的基因表現量分組，若高於等於中位數者訂為表現量高，低於中位數則為表現量低，再去分析在不同臨床變項中，表現量高和表現量低的比例是否有差異，結果呈現於表 4。

與直接比較基因的表現量結果類似。在組織型態中，漿液型卵巢癌表現量高者的人數低於表現量低者 (CD39：28 比 37 人；、CD73：27 比 38 人；A2AR：24 比 41 人)。但在亮細胞癌在相反，高表現量的人數遠大於低表現量 (CD39、CD73：13 比 5 人；A2AR：14 比 4 人)，此差距在 CD73 以及 A2AR 中有達到統計顯著差異 ( $p=0.046$ ； $p=0.001$ )，在 CD39 中未達到統計顯著差異。

在癌症分期中，三種分子也皆為在早期卵巢癌中表現量高的人數多於表現量低者 (CD39：10 比 5 人；、CD73：12 比 3 人；A2AR：12 比 3 人)，相反，晚期

卵巢癌則是表現量低者多於表現量高者，此差異在 CD73 和 A2AR 有達到統計顯著 ( $p = 0.022$  ;  $p = 0.011$ )，在 CD39 中未達到統計顯著差異。



而在殘存腫瘤大小中， $\leq 1$  公分組表現量高者多於表現量低，而在大小  $> 1$  公分中剛好相反，皆是表現量低者人數多於表現量高者，此兩組之間的差異有達到統計顯著同樣於 CD73 和 A2AR 有達到統計顯著 ( $p = 0.003$  ;  $p = 0.006$ )。在有復發或死亡中也可看到表現量低者較多，而在沒有復發或存活的患者上則是呈現相反結果，即表現量高者人數較多，但其結果都沒有達到統計顯著差異。

第三節、探討 CD39、CD73、A2AR 基因表現量是否為上皮性卵巢癌之預後因子

#### (一) Cox 多變項迴歸模式分析

將全部患者可能影響預後(含無疾病存活期及整體存活期)的因子納入 Cox 迴歸式中分析、判斷，納入影響預後的因子包含年齡(小於 50 歲或大於等於 50 歲)、腫瘤組織型台(漿液型和非漿液型)、癌症分期(早期和晚期)、手術後殘存腫瘤大小(小於等於 1 公分和大於 1 公分)、CD39 表現量高低、CD73 表現量高低、A2AR 表現量高低，以上七項因子。結果呈現於表 5 及表 6。

在疾病復發風險因子分析，在單一變數模式分析中，癌症分期的晚期癌症為復發風險因子(風險比：4.92，95%信賴區間：1.48 – 16.43， $p=0.010$ )，而三種分子中 A2AR 表現量高者疾病復發風險較低(風險比：0.31，95%信賴區間：0.11 – 0.91， $p = 0.033$ )。在多變項分析中則發現，僅剩晚期癌症為獨立之復發風險因子(風險比：10.13，95%信賴區間：1.57 – 65.26， $p=0.015$ )，而在三種分子的基因表現量可發現 CD39 以及 A2AR 表現量高則疾病復發因子較低，A2AR 降低的風險有明顯趨勢，但未能達到統計顯著差異(A2AR：風險比：0.24， $p=0.063$ )。

在疾病死亡風險因子中，在單一變數模式分析中，癌症分期的晚期癌症、和手



術後殘存腫瘤大於 1 公分為復發風險因子（風險比：5.14，95%信賴區間：1.09 – 24.34， $p=0.039$ ；風險比：2.87，95%信賴區間：1.20 – 6.88， $p=0.018$ ），而三種分子的基因表現量高低對疾病死亡均無法作為風險因子。在多變項分析中則發現，組織型態中非漿液型也為死亡的風險因子（風險比：7.70，95%信賴區間：1.81 – 32.70， $p=0.006$ ），晚期癌症及殘存腫瘤大於 1 公分也仍為獨立之疾病死亡風險因子（風險比：10.68，95%信賴區間：1.68 – 68.21， $p=0.012$ ；風險比：4.07，95%信賴區間：1.27 – 12.64， $p=0.018$ ），而在三種分子的基因表現量在多變項分析中，仍然非疾病死亡的風險因子。

## （二）Kaplan-Meier 存活分析

以病患三種基因表現量為分析因子，使用 Kaplan-Meier 存活分析，探討基因表現量高低對無疾病存活期和整體存活期的影響。基因表現量以各分子的中位數作為分組標準，基因表現量高於等於中位數者，定義為表現量高，反之低於中位數者則定義為表現量低。無疾病存活期及整體存活期的追蹤時間皆為 60 個月

圖一 a 為 CD39 表現量高低對無疾病存活期的分析，如圖所示表現量高者的無疾病存活期略高於表現量低者，但未達到統計顯著差異（log-rank test， $p=0.097$ ）。

圖一 b 為 CD39 表現量高低對整體存活期的分析，可見表現量高低兩組間的整體存活期並無顯著差異（log-rank test， $p=0.367$ ）。

圖二 a 為 CD73 表現量高低對無疾病存活期的分析，如圖所示表現量高者與表現量低者對無疾病存活期無顯著影響（log-rank test， $p=0.410$ ）。圖二 b 為 CD73 表現量高低對整體存活期的分析，可見表現量高低兩組間的整體存活期並無顯著差異（log-rank test， $p=0.886$ ）。

圖三 a 為 CD73 表現量高低對無疾病存活期的分析，如圖所示表現量高者與表

現量低者對無疾病存活期無顯著影響 (log-rank test,  $p = 0.235$ )。圖二 b 為 CD73 表現量高低對整體存活期的分析，可見表現量高低兩組間的整體存活期並無顯著差異 (log-rank test,  $p = 0.959$ )。



## 第四章：討論



### 第一節、討論

本研究共納入 92 名上皮性卵巢癌患者，探討腫瘤微環境中腺苷反應途徑與上皮性卵巢癌臨床變項及預後之間的關係。本研究檢視腺苷反應途徑三種關鍵分子 CD39、CD73、A2AR 在癌組織中的基因表現量在不同臨床變項中的差異以及三種分子表現量與癌症預後之關係。本研究發現在不同組織型態，癌症期別跟手術後殘留組織大小中 CD39、CD73、A2AR 的表現量會有顯著差異。但在分析對復發或死亡的風險因子時，發現三種分子表現量高低皆非癌症復發或死亡的獨立風險子。而存活分析中，無論無疾病存活期或是整體存活期，三種分子表現量高者與低者兩組之間都沒有顯著差異。

CD39、CD73、A2AR 雖然皆是腺苷反應途徑中上下游的分子，但在癌組織中及表現的細胞上並非完全一致。Yacine Bareche 等發現在高惡性度漿液型卵巢癌中，CD39 主要表現在間質細胞上，在腫瘤細胞上幾乎看不到。相反的，CD73 則是主要表現在腫瘤細胞上[114]。但在整個腫瘤組織中，當 CD39 表現高時，CD73 表現較多者整體存活期較差，反之，當在 CD39 表現低時，CD73 的基因表現高比表現低者有更好的整體存活，由此也可見 CD39 及 CD73 在細胞上的表現不全然具有一致性且對癌症預後的影響也不盡相同。在其他癌症中也可看到此不一致性，在一篇唾液腺癌中的研究發現，在腫瘤細胞上過度表現 CD39 和 CD73 的比例不一樣，分別為 21.1%和 48.2%差距，代表兩分子在腫瘤細胞上同步過度表現的比例並不高。但若是比較 CD39 和 CD73 在腫瘤微環境中的免疫細胞上表現則呈現相似的比例 42.9%和 46.2%[115]。本研究是目前為止少數同時探討 CD39、CD73、A2AR 在同一腫瘤組織中的表現，同時分析此三種分子的表現可發現其中的一致性。在本研究中可見 CD73 和其他兩者的相關係數最低，而 CD39 與 A2AR 則是高度相關，相關係數 0.87。造成不一致性的可能原因還是過度表現的細胞種類不同，但



本研究沒有區分表現分子表現的細胞種類，可能需要後續的研究才能更釐清此問題。

本研究發現在亮細胞癌中三種分子的基因表現量都是最高的，即使以癌症分期做次族群分析，在早期癌症中仍可看到亮細胞癌表現顯著較高，而在晚期癌症中也有相同的趨勢，但沒有達到統計顯著。之前專門針對上皮性卵巢癌中 CD39、CD73、A2AR 等分子的表現與影響的研究並不多，而組織型態幾乎都是多是以高惡性度漿液型卵巢癌為研究目標[110, 114]。只有較早期的一篇研究探討 CD73 與卵巢癌臨床變項關係的研究有納入不同組織型別的卵巢癌[111]，該研究共納入 167 名上皮性卵巢癌病人，其中有 21 名為亮細胞癌占了 12.6%，而在亮細胞癌中有高達 18 名 (85.7%) 病人有 CD73 過度表現，遠高於漿液型的 56.2%。在本研究中以中位數為基準將基因表現分為表現量高與表現量低的分析中也發現，CD73 表現量高在比例在亮細胞癌中佔了 72.2%，也是顯著高於漿細胞癌的 41.5%，跟過去的研究也是互相得到驗證。但也許是因為亮細胞癌在歐美國家中的上皮性卵巢癌比例不高，後續的研究並未在納入亮細胞卵巢癌的病患。不同組織型態中 CD73 的表現量或是對預後的影響會有所不同並非只有在卵巢癌中有此發現。在乳癌中，CD73 在三陰性乳癌或是缺乏雌激素受體的乳癌較多且和預後不好相關，但在雌激素受體陽性的乳癌中並未看到一樣結果[108, 116]。而在本研究中三種分子的基因表現都在亮細胞癌中顯著較多，這是尚未在其他研究中看到的結果。雖然受限於亮細胞癌的病人數只有 18 人，後續次族群分析沒有其他顯著的結果。相較目前研究最多的漿液型癌，亮細胞癌的基因表現量皆顯著較高，因此之後若要繼續卵巢癌中 CD39、CD73、A2AR 的研究，亮細胞癌或許可以成為一個最適合分析的組織型態。

癌症分期也是本研究發現會影響 CD39、CD73、A2AR 表現量的臨床變項，本研究發現早期卵巢癌中三種分子的表現量都比晚期癌症中表現量高，若以表現量



高低作為分組基準，也可以得到類似的結果。為排除亮細胞癌和早期癌症互為干擾因子，所做的亮細胞次族群分析，也可看到相同的趨勢，在早期癌症中三種基因表現量較高，雖然可能因為個案數較少只有 CD39 的表現量能達到統計顯著。而其它和早期癌症高度相關的因子如殘存腫瘤大小也顯示類似結果。之前 Hoon Kyu Oh 等人的研究也顯示類似的結果，在第一期上皮性卵巢癌中 CD73 過度表現的比例高達 88.5%，相較於第二至四期，CD73 的過度表現皆只佔 55-61%，而 CD73 的過度表現也和其他預後良好的因子如分化良好、沒有惡性腹水、手術後沒有腫瘤殘存有關[116]。就分子機轉而言，CD39、CD73、A2AR 在腫瘤組織內為幫助腫瘤免疫逃脫反應，應該會促進腫瘤增生、轉移等，因此應與預後不佳相關。預後良好因子多為互相高度相關及因果，如本研究的癌症早期、跟手術後殘存腫瘤體積大小甚至和亮細胞癌皆有相關性，造成三種分子的基因表現量的結果也有相似的趨勢，但何者才是影響分子表現量的關鍵，還需更進一步研究證實。Hoon Kyu Oh 的研究則是認為主要相關因子為細胞分化良好，CD73 的過度表現在分化良好的腫瘤中出現頻率很高（85%），而分化良好的腫瘤則診斷時的分期通常為早期，而早期卵巢癌幾乎都可以達到手術後沒有腫瘤殘存，也較少出現惡性腹水，因此該研究最後結論導向了 CD73 的過度表現和預後良好相關。在其他的癌症也可看到類似發現，在攝護腺癌中，CD73 的表現和腫瘤分化相關，表現量最高的是分化良好的腫瘤，而分化不良腫瘤的表現量最低[117]。在本研究早期癌症的次族群分析中，發現 CD39 和 A2AR 的表現量在復發的病人中顯著較高，在死亡的變項中也有類似的趨勢，即死亡的病人 CD39 和 A2AR 的表現量較高，但尚未達到統計意義。但 CD73 卻呈現相反的趨勢。因為癌症在發展的過程中很多致癌和免疫逃脫的機轉都是有動態的變化，是否在早期卵巢癌中 CD39 和 A2AR 是導致腫瘤後續轉移或復發的關鍵機轉，而 CD 73 則是扮演制衡的角色？這些本研究觀察到的現象，目前因未少有研究只針對早期卵巢癌，所以研究還不夠全面，並沒有很好的解釋，還待日後更多分子機轉的研究提供解答。



在本研究中，在對預後的迴歸分析中也檢視了傳統預後的風險因子的影響，在復發的風險因子中，晚期癌症的風險遠高於早期癌症（風險比 10.13）。之前的研究也早已確認晚期卵巢癌為影響復發的重要因子，早期和晚期的復發率分別為 10–20% 和 70–90% [118]。而在疾病死亡的風險因子中，發現組織型別（風險比：7.70）、癌症分期（風險比 10.68）以及手術後殘存腫瘤大於一公分（風險比 4.01），皆為影響疾病死亡的風險因子。在組織型別中，因為本研究並未將每種組織型別的個案一致化，故在類內模樣型與亮細胞癌的個案數偏少，容易造成在計算預後時的偏差。可能也造成非漿液型卵巢癌的風險高出漿液型數倍。在癌症分期上，卵巢癌的五年存活率隨著癌症分期升高而遞減，第一期約為 70–90%、第二期為 70%、第三期則為 30–50%，而第四期僅剩 15–20% [21]。在手術後殘存腫瘤大小也是影響存活重要因子，若手術後殘存的腫瘤大於一公分，疾病死亡風險是殘存腫瘤小於一公分的 1.34 倍，更是無肉眼可見殘存腫瘤的 2.7 倍 [119]。以上結果也代表本研究於對預後的評估與之前的研究結果相符合。

但在本研究中三種分子表現量皆不是癌症預後的風險因子。CD39、CD73、A2AR 的表現對腫瘤預後的影響，一直是研究腫瘤中腺苷反應途徑的欲回答的問題，各種不同的癌症無論是實質固態腫瘤或是血液腫瘤都有相關的研究，而參與反應的各種分子以 CD73 的研究最多，大部分的癌症當過度表現 CD73 時都是對應到不好的預後，如胃癌、肝癌、大腸直腸癌、頭頸部癌 [104, 105, 120, 121]。這樣的結果符合腺苷反應途徑在腫瘤微環境中扮演的角色，因此整體反應是幫助腫瘤免疫逃脫，所以就機轉而言，CD73 的過度表現可使環境中的腺苷增加，更加抑制針對腫瘤細胞的免疫反應，使癌症的預後較差。但也有少數的研究顯示出和預後良好相關，另外則是和一些預後良好的因子相關如較低的癌症分期、分化良好的癌症等 [111, 116]。CD39 對於預後的影響也類似於 CD73，大多數的研究發現 CD39 的過度表現會和預後不好相關，這在胃癌、肝癌、頭頸部癌等都有此發現 [101, 103, 122]。



但在少數癌別中也有報告 CD39 和預後良好的相關性。在一篇胰臟癌的研究中，CD39 的基因高度表現和整體存活率較長有顯著相關[123]。而另外一篇直腸癌的報告中則是發現在腫瘤細胞中表現較多 CD39 的組別和早期癌症及較長的整體存活期相關[124]。而 A2AR 與預後的關係則也並非為全一致，大部分的癌別與研究都顯示過度表現 A2AR 與預後不好相關[125, 126]，但在一篇非小細胞肺癌的研究中則指出，在特定 A2AR 表現量高者則有較好的無疾病存活期及整體存活期[109]。

若分析這些相反結果的研究可以發現，可能有幾種原因造成在同樣癌別中不一致的結果，在卵巢癌的研究中，若只針對高惡性度漿液型卵巢癌的研究，結果指向癌症預後不佳[110, 114]，但若是將各種組織型別都納入，除漿液型外還納入類內膜樣型、亮細胞癌還有黏液型時，研究結論即變成和預後良好的指標相關[111]。在乳癌也可看到類似的情況，若只研究三陰性乳癌，CD73 過度表現的確指向預後不佳[106, 127]，但若為納入其他型別的研究則結果顯示和預後無關或是預後較佳[107, 116]。本研究納入了三種不同組織型別的上皮性卵巢癌，發現在不同組織型別中三種分子的基因表現量有顯著的差異，可能為造成本研究中 CD73 對癌症預後的結果和之前的研究不同的原因之一。因此即使為同器官的癌症，不同的組織型別有不同的癌化機轉和基因突變，可能也造就腫瘤微環境的不同，而腺苷反應在不同組織型別的癌症中是否都扮演同樣的角色或是有別於免疫逃脫的作用還需要更多研究才能得知。

另一個可能的原因為，在腫瘤微環境中，除了腫瘤細胞外還有很多細胞也會表現腺苷反應途徑中所需的 CD39、CD73、A2AR。免疫細胞和間質細胞上也有這些關鍵分子。CD73 在不同組織細胞中過度表現會導致出對預後的不同影響。一篇大腸直腸癌的研究中發現，當 CD73 是表現在癌細胞本身時，CD73 的表現量高，會造成較差的整體存活期，但當 CD73 是表現量高是出現在癌細胞旁邊的間質細胞時，則結果剛好相反，會造成較好的整體存活期[128]。該研究也發現在間質細胞表



現量高的個案通常為較早期的癌症、分化良好或是沒有淋巴轉移者。而在腫瘤細胞表現量則在轉移性的腫瘤上更加明顯。腺苷反應在腫瘤微環境中應是一個動態的，隨著腫瘤的生長、增殖、轉移，腺苷反應途徑作用的細胞也會有所改變。本研究是利用腫瘤組織中的 RNA 來決定分子的表現量，因此沒有辦法得知當分子基因表現量高時是由何者細胞表現，本研究中早期癌症三種分子的基因表現量皆高，是否是由間質細胞所表現的，還有待後續的研究例如使用 Immunohistochemistry (IHC) 染色進一步區分分子表現的細胞，才能更清楚地分析分子表現量和預後的關係。

## 第二節、研究限制

本研究仍有許多侷限不足之處，第一是個案數不足以及組織型態人數分配不均，約七成的病患為漿液型卵巢癌，而擁有高度表現量的亮細胞癌只有 18 名，導致後續的次族群分析難以有顯著的結果，無法更深入的探討。在癌症分期中也分配不均，早期卵巢癌只有 15 名佔 16.3%，即使在早期卵巢癌的次分析中有看到分子表現量跟預後相關的趨勢，也因為人數過少難以有統計上的意義。

第二是本研究使用即時定量聚合酶反應偵測整體卵巢癌組織中目標分子的基因表現，而非使用如西方點墨法等方法定量實際執行功能的蛋白質產物，若能同一檢體中同時定量基因及蛋白酶，可更加了解整個反應以及是否有表遺傳學 (epigenetic) 的作用。

第三，本研究是定量腫瘤組織中的基因表現量，由於 CD39、CD73、A2AR 在腫瘤微環境中多種細胞上皆會表現，用此定量方法難以區分實際表現各項基因的細胞，無法精準地分析腺苷反應途徑的分子和臨床變項的關係，也因此無法得知不同細胞上的基因表現量對卵巢癌預後的影響，若需區分表現目標分子的細胞，應安

排病理切片的免疫染色去進一步的分析，但礙於病理切片取得不易，本研究最終沒有進行免疫染色這部分。



最後，本研究只探討癌組織中的分子表現，並未去探討血液或惡性腹水中溶解型的 CD39、CD73、A2AR 對臨床上影響，無法進一步得知此類分子是否能作為預測或診斷的腫瘤指標。因此，本研究之結果宜做為對此研究議題的初探，未來應增加收案人數並擴展研究方法，以期能更加了解腺苷反應在卵巢癌中的表現及影響，以做為未來診斷和治療的新方向。

## 第五章：展望



上皮性卵巢癌始終為婦科癌症中一項高致死率的疾病。雖然隨著手術技術的進步以及化學藥物治療的發展，使得卵巢癌的治療有了重大的進步。近年來更是有效果顯著的標靶藥物 Bevacizumab 和 PARP inhibitor 的發現，使得卵巢癌的預後又更加進步。免疫治療一直在卵巢癌的治療中被寄予厚望，但很可惜的，目前應用最廣、藥物最多的免疫檢查點抑制劑在卵巢癌的治療上始終沒有得到很好的效果，在臨床應用上效用有限。也因此希望藉由研究其他腫瘤免疫逃脫機制，能夠在卵巢癌的免疫治療上重新找到的治療的可能，腺苷反應途徑即是目前許多癌症研究的新方向。本研究使用上皮性卵巢癌的癌組織分析 CD39、CD73、A2AR 三種腺苷反應途徑中的關鍵分子基因表現量和病患各項臨床變項和預後的相關性，並取得初步的成果。

本研究發現在亮細胞癌及早期卵巢癌中，CD39、CD73、A2AR 的表現量都顯著性較高，但因本研究個案數不足且分配不均，無法深入分析探討原因。在未來若可增加收案人數至兩倍到三倍，並平衡組織型態和癌症分期的分布，再行進一步的分析，更精準的了解三種分子在臨床上的重要性。亮細胞癌是本研究中三種組織型態表現 CD39、CD73、A2AR 最高的類別，在台灣亮細胞卵巢癌的比例大於歐美國家，加上目前並未有單獨分析亮細胞癌和腺苷反應途徑之間的關係之研究，因此在未來也可考慮只針對亮細胞癌收案、分析，也可比較與之前其他研究漿液型的結果是否不同。

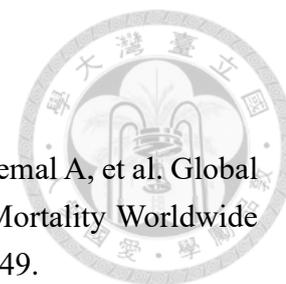
本研究未來應區分在分子的高表現量是呈現於何種細胞，可考慮用流式細胞儀或是與病理科醫師合作使用 IHC 做為表現細胞的區分。另外除基因表現量外，也可透過 IHC 或西方點墨法去定量下游蛋白質的表現是否與基因表現一致，更能整體了解整個腺苷反應途徑在卵巢癌中的表現。接著，希望以癌組織的結果為基礎，

更進一步去偵測血液或惡性腹水中溶解型的 CD39、CD73、A2AR，並研究期與臨床變項和預後之關聯，期望能發展出更精準卵巢癌的診斷或預測因子，以彌補目前卵巢癌診斷的不足。

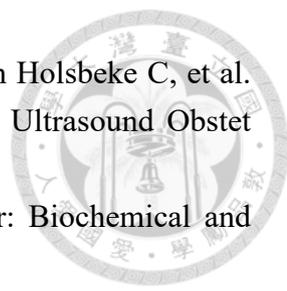


最後，目前使用 CD73、A2AR 抗體的免疫治療臨床試驗正在進行，雖然目前都只是較早期的試驗，也尚未在卵巢中看到治療的效用，但期待後續的研究能更加了解腺苷反應在卵巢癌中的角色，以期能為卵巢癌的免疫治療找新的曙光。

## 參考文獻



1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-49.
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394-424.
3. Lu XX, Chen YT, Feng B, Mao XB, Yu B, Chu XY. Expression and clinical significance of CD73 and hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2013;19(12):1912-8.
4. WELFARE HPAMOHA. CANCER REGISTRY ANNUAL REPORT, 2020, TAIWAN. 2022.
5. Chiang YC, Chen CA, Chiang CJ, Hsu TH, Lin MC, You SL, 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):342-51.
6. Wang L, Wang L, Zhang J, Wang B, Liu H. Association between diabetes mellitus and subsequent ovarian cancer in women: A systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Medicine (Baltimore).* 2017;96(16):e6396.
7. Gross TP, Schlesselman JJ. The estimated effect of oral contraceptive use on the cumulative risk of epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol.* 1994;83(3):419-24.
8. Kuchenbaecker KB, Hopper JL, Barnes DR, Phillips KA, Mooij TM, Roos-Blom MJ, et al. Risks of Breast, Ovarian, and Contralateral Breast Cancer for BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *Jama.* 2017;317(23):2402-16.
9. Daly MB, Pilarski R, Berry M, Buys SS, Farmer M, Friedman S, et al. NCCN Guidelines Insights: Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast and Ovarian, Version 2.2017. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network J Natl Compr Canc Netw.* 2017;15(1):9-20.
10. Helder-Woolderink JM, Blok EA, Vasen HF, Hollema H, Mourits MJ, De Bock GH. Ovarian cancer in Lynch syndrome; a systematic review. *Eur J Cancer.* 2016;55:65-73.
11. Lheureux S, Gourley C, Vergote I, Oza AM. Epithelial ovarian cancer. *The Lancet.* 2019;393(10177):1240-53.
12. Kossai M, Leary A, Scoazec JY, Genestie C. Ovarian Cancer: A Heterogeneous Disease. *Pathobiology.* 2018;85(1-2):41-9.
13. Menon U, Gentry-Maharaj A, Burnell M, Singh N, Ryan A, Karpinskyj C, et al. Ovarian cancer population screening and mortality after long-term follow-up in the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS): a randomised controlled trial. *Lancet.* 2021;397(10290):2182-93.

- 
14. Timmerman D, Testa AC, Bourne T, Ameys L, Jurkovic D, Van Holsbeke C, et al. Simple ultrasound-based rules for the diagnosis of ovarian cancer. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;31(6):681-90.
  15. Bottoni P, Scatena R. The Role of CA 125 as Tumor Marker: Biochemical and Clinical Aspects. *Adv Exp Med Biol.* 2015;867:229-44.
  16. Ferraro S, Braga F, Lanzoni M, Boracchi P, Biganzoli EM, Panteghini M. Serum human epididymis protein 4 vs carbohydrate antigen 125 for ovarian cancer diagnosis: a systematic review. *Journal of Clinical Pathology.* 2013;66(4):273-81.
  17. Kirwan A, Utratna M, O'Dwyer ME, Joshi L, Kilcoyne M. Glycosylation-Based Serum Biomarkers for Cancer Diagnostics and Prognostics. *BioMed Research International.* 2015;2015:490531.
  18. Shen H, Hsu HC, Tai YJ, Kuo KT, Wu CY, Lai YL, et al. Factors Influencing the Discordancy Between Intraoperative Frozen Sections and Final Paraffin Pathologies in Ovarian Tumors. *Front Oncol.* 2021;11:694441.
  19. Nagamine K, Kondo J, Kaneshiro R, Tauchi-Nishi P, Terada K. Ovarian needle aspiration in the diagnosis and management of ovarian masses. *J Gynecol Oncol.* 2017;28(4):e40.
  20. Berek JS, Renz M, Kehoe S, Kumar L, Friedlander M. Cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum: 2021 update. *International Journal of Gynecology & Obstetrics.* 2021;155(S1):61-85.
  21. Heintz AP, Odicino F, Maisonneuve P, Quinn MA, Benedet JL, Creasman WT, et al. Carcinoma of the ovary. FIGO 26th Annual Report on the Results of Treatment in Gynecological Cancer. *Int J Gynaecol Obstet.* 2006;95 Suppl 1:S161-92.
  22. Armstrong DK, Alvarez RD, Backes FJ, Bakkum-Gamez JN, Barroillet L, Behbakht K, et al. NCCN Guidelines® Insights: Ovarian Cancer, Version 3.2022. *J Natl Compr Canc Netw.* 2022;20(9):972-80.
  23. Trimbos JB, Vergote I, Bolis G, Vermorken JB, Mangioni C, Madronal C, et al. Impact of adjuvant chemotherapy and surgical staging in early-stage ovarian carcinoma: European Organisation for Research and Treatment of Cancer-Adjuvant ChemoTherapy in Ovarian Neoplasm trial. *J Natl Cancer Inst.* 2003;95(2):113-25.
  24. Chemotherapy in advanced ovarian cancer: an overview of randomised clinical trials. Advanced Ovarian Cancer Trialists Group. *Bmj.* 1991;303(6807):884-93.
  25. McGuire WP, Hoskins WJ, Brady MF, Kucera PR, Partridge EE, Look KY, et al. Cyclophosphamide and Cisplatin Compared with Paclitaxel and Cisplatin in Patients with Stage III and Stage IV Ovarian Cancer. *New England Journal of Medicine.* 1996;334(1):1-6.
  26. Piccart MJ, Bertelsen K, James K, Cassidy J, Mangioni C, Simonsen E, et al. Randomized Intergroup Trial of Cisplatin–Paclitaxel Versus Cisplatin–

Cyclophosphamide in Women With Advanced Epithelial Ovarian Cancer: Three-Year Results. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 2000;92(9):699-708.

27. Ozols RF, Bundy BN, Greer BE, Fowler JM, Clarke-Pearson D, Burger RA, et al. Phase III trial of carboplatin and paclitaxel compared with cisplatin and paclitaxel in patients with optimally resected stage III ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group study. *J Clin Oncol*. 2003;21(17):3194-200.

28. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer*. 2009;45(2):228-47.

29. Jayson GC, Kohn EC, Kitchener HC, Ledermann JA. Ovarian cancer. *Lancet*. 2014;384(9951):1376-88.

30. Bois AD, Sehouli J, Vergote I, Ferron G, Reuss A, Meier W, et al. Randomized phase III study to evaluate the impact of secondary cytoreductive surgery in recurrent ovarian cancer: Final analysis of AGO DESKTOP III/ENGOT-ov20. *Journal of Clinical Oncology*. 2020;38(15\_suppl):6000-.

31. Parmar MK, Ledermann JA, Colombo N, du Bois A, Delaloye JF, Kristensen GB, et al. Paclitaxel plus platinum-based chemotherapy versus conventional platinum-based chemotherapy in women with relapsed ovarian cancer: the ICON4/AGO-OVAR-2.2 trial. *Lancet*. 2003;361(9375):2099-106.

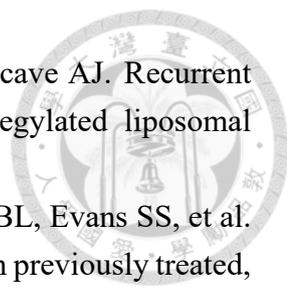
32. Pfisterer J, Plante M, Vergote I, du Bois A, Hirte H, Lacave AJ, et al. Gemcitabine plus carboplatin compared with carboplatin in patients with platinum-sensitive recurrent ovarian cancer: an intergroup trial of the AGO-OVAR, the NCIC CTG, and the EORTC GCG. *J Clin Oncol*. 2006;24(29):4699-707.

33. Pujade-Lauraine E, Mahner S, Kaern J, Gebiski V, Heywood M, Vasey P, et al. A randomized, phase III study of carboplatin and pegylated liposomal doxorubicin versus carboplatin and paclitaxel in relapsed platinum-sensitive ovarian cancer (OC): CALYPSO study of the Gynecologic Cancer Intergroup (GCIIG). *Journal of Clinical Oncology*. 2009;27(18\_suppl):LBA5509-LBA.

34. Markman M, Blessing J, Rubin SC, Connor J, Hanjani P, Waggoner S. Phase II trial of weekly paclitaxel (80 mg/m<sup>2</sup>) in platinum and paclitaxel-resistant ovarian and primary peritoneal cancers: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol*. 2006;101(3):436-40.

35. Sehouli J, Oskay-Özcelik G. Current role and future aspects of topotecan in relapsed ovarian cancer. *Current medical research and opinion*. 2009;25(3):639-51.

36. Spannuth WA, Leath III CA, Huh WK, Barnes III MN, Davidson SA, Kilgore LC, et al. A phase II trial of weekly topotecan for patients with secondary platinum-resistant recurrent epithelial ovarian carcinoma following the failure of second-line therapy. *Gynecologic oncology*. 2007;104(3):591-5.

- 
37. Gordon AN, Fleagle JT, Guthrie D, Parkin DE, Gore ME, Lacave AJ. Recurrent epithelial ovarian carcinoma: a randomized phase III study of pegylated liposomal doxorubicin versus topotecan. *J Clin Oncol*. 2001;19(14):3312-22.
38. Nagourney RA, Brewer CA, Radecki S, Kidder WA, Sommers BL, Evans SS, et al. Phase II trial of gemcitabine plus cisplatin repeating doublet therapy in previously treated, relapsed ovarian cancer patients. *Gynecol Oncol*. 2003;88(1):35-9.
39. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000;100(1):57-70.
40. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144(5):646-74.
41. Hanahan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discovery*. 2022;12(1):31-46.
42. Garcia J, Hurwitz HI, Sandler AB, Miles D, Coleman RL, Deurloo R, et al. Bevacizumab (Avastin®) in cancer treatment: A review of 15 years of clinical experience and future outlook. *Cancer Treat Rev*. 2020;86:102017.
43. Han ES, Lin P, Wakabayashi M. Current status on biologic therapies in the treatment of epithelial ovarian cancer. *Curr Treat Options Oncol*. 2009;10(1-2):54-66.
44. Teoh D, Secord AA. Antiangiogenic agents in combination with chemotherapy for the treatment of epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2012;22(3):348-59.
45. Aghajanian C, Blank SV, Goff BA, Judson PL, Teneriello MG, Husain A, et al. OCEANS: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III trial of chemotherapy with or without bevacizumab in patients with platinum-sensitive recurrent epithelial ovarian, primary peritoneal, or fallopian tube cancer. *J Clin Oncol*. 2012;30(17):2039-45.
46. Pujade-Lauraine E, Hilpert F, Weber B, Reuss A, Poveda A, Kristensen G, et al. Bevacizumab Combined With Chemotherapy for Platinum-Resistant Recurrent Ovarian Cancer: The AURELIA Open-Label Randomized Phase III Trial. *Journal of Clinical Oncology*. 2014;32(13):1302-8.
47. Burger RA, Brady MF, Bookman MA, Fleming GF, Monk BJ, Huang H, et al. Incorporation of bevacizumab in the primary treatment of ovarian cancer. *N Engl J Med*. 2011;365(26):2473-83.
48. Oza AM, Cook AD, Pfisterer J, Embleton A, Ledermann JA, Pujade-Lauraine E, et al. Standard chemotherapy with or without bevacizumab for women with newly diagnosed ovarian cancer (ICON7): overall survival results of a phase 3 randomised trial. *Lancet Oncol*. 2015;16(8):928-36.
49. Fuh KC, Secord AA, Bevis KS, Huh W, ElNaggar A, Blansit K, et al. Comparison of bevacizumab alone or with chemotherapy in recurrent ovarian cancer patients. *Gynecologic oncology*. 2015;139(3):413-8.
50. Coleman RL, Brady MF, Herzog TJ, Sabbatini P, Armstrong DK, Walker JL, et al.

Bevacizumab and paclitaxel-carboplatin chemotherapy and secondary cytoreduction in recurrent, platinum-sensitive ovarian cancer (NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group study GOG-0213): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2017;18(6):779-91.

51. Fong PC, Yap TA, Boss DS, Carden CP, Mergui-Roelvink M, Gourley C, et al. Poly(ADP)-ribose polymerase inhibition: frequent durable responses in BRCA carrier ovarian cancer correlating with platinum-free interval. *J Clin Oncol.* 2010;28(15):2512-9.

52. Ratner ES, Sartorelli AC, Lin ZP. Poly (ADP-ribose) polymerase inhibitors: on the horizon of tailored and personalized therapies for epithelial ovarian cancer. *Curr Opin Oncol.* 2012;24(5):564-71.

53. Banerjee S, Moore KN, Colombo N, Scambia G, Kim B-G, Oaknin A, et al. Maintenance olaparib for patients with newly diagnosed advanced ovarian cancer and a *BRCA* mutation (SOLO1/GOG 3004): 5-year follow-up of a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet Oncology.* 2021;22(12):1721-31.

54. González-Martín A, Pothuri B, Vergote I, DePont Christensen R, Graybill W, Mirza MR, et al. Niraparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. *N Engl J Med.* 2019;381(25):2391-402.

55. Coleman RL, Oza AM, Lorusso D, Aghajanian C, Oaknin A, Dean A, et al. Rucaparib maintenance treatment for recurrent ovarian carcinoma after response to platinum therapy (ARIEL3): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet.* 2017;390(10106):1949-61.

56. Waldman AD, Fritz JM, Lenardo MJ. A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science to clinical practice. *Nature Reviews Immunology.* 2020;20(11):651-68.

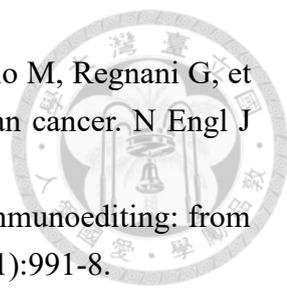
57. Locy H, de Mey S, de Mey W, De Ridder M, Thielemans K, Maenhout SK. Immunomodulation of the Tumor Microenvironment: Turn Foe Into Friend. *Front Immunol.* 2018;9:2909.

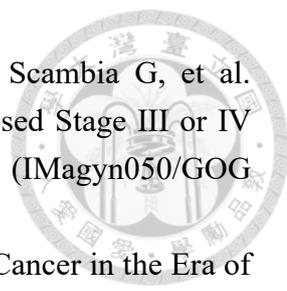
58. Oiseth SJ, Aziz MS. Cancer immunotherapy: a brief review of the history, possibilities, and challenges ahead. *Journal of Cancer Metastasis and Treatment.* 2017;3:250-61.

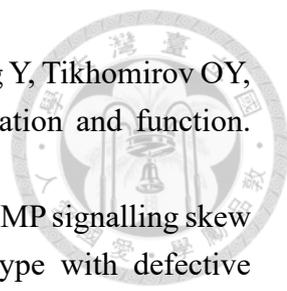
59. Decker WK, da Silva RF, Sanabria MH, Angelo LS, Guimarães F, Burt BM, et al. Cancer Immunotherapy: Historical Perspective of a Clinical Revolution and Emerging Preclinical Animal Models. *Front Immunol.* 2017;8:829.

60. Corthay A. Does the immune system naturally protect against cancer? *Front Immunol.* 2014;5:197.

61. Chow MT, Möller A, Smyth MJ. Inflammation and immune surveillance in cancer. *Semin Cancer Biol.* 2012;22(1):23-32.

- 
62. Zhang L, Conejo-Garcia JR, Katsaros D, Gimotty PA, Massobrio M, Regnani G, et al. Intratumoral T cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer. *N Engl J Med*. 2003;348(3):203-13.
63. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nature Immunology*. 2002;3(11):991-8.
64. Odunsi K. Immunotherapy in ovarian cancer. *Ann Oncol*. 2017;28(suppl\_8):viii1-viii7.
65. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nature Reviews Cancer*. 2012;12(4):252-64.
66. Gu D, Ao X, Yang Y, Chen Z, Xu X. Soluble immune checkpoints in cancer: production, function and biological significance. *J Immunother Cancer*. 2018;6(1):132.
67. Leach DR, Krummel MF, Allison JP. Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science*. 1996;271(5256):1734-6.
68. Iwai Y, Ishida M, Tanaka Y, Okazaki T, Honjo T, Minato N. Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(19):12293-7.
69. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, Haanen JB, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med*. 2010;363(8):711-23.
70. Robert C, Long GV, Brady B, Dutriaux C, Maio M, Mortier L, et al. Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation. *N Engl J Med*. 2015;372(4):320-30.
71. Robert C, Schachter J, Long GV, Arance A, Grob JJ, Mortier L, et al. Pembrolizumab versus Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med*. 2015;372(26):2521-32.
72. Varga A, Piha-Paul S, Ott PA, Mehnert JM, Berton-Rigaud D, Morosky A, et al. Pembrolizumab in patients with programmed death ligand 1-positive advanced ovarian cancer: Analysis of KEYNOTE-028. *Gynecol Oncol*. 2019;152(2):243-50.
73. Liu JF, Gordon M, Veneris J, Braithe F, Balmanoukian A, Eder JP, et al. Safety, clinical activity and biomarker assessments of atezolizumab from a Phase I study in advanced/recurrent ovarian and uterine cancers. *Gynecologic oncology*. 2019;154(2):314-22.
74. Borella F, Ghisoni E, Giannone G, Cosma S, Benedetto C, Valabrega G, et al. Immune Checkpoint Inhibitors in Epithelial Ovarian Cancer: An Overview on Efficacy and Future Perspectives. *Diagnostics*. 2020;10(3):146.
75. Matulonis UA, Shapira-Frommer R, Santin AD, Lisyanskaya AS, Pignata S, Vergote I, et al. Antitumor activity and safety of pembrolizumab in patients with advanced recurrent ovarian cancer: results from the phase II KEYNOTE-100 study. *Ann Oncol*. 2019;30(7):1080-7.

- 
76. Moore KN, Bookman M, Sehouli J, Miller A, Anderson C, Scambia G, et al. Atezolizumab, Bevacizumab, and Chemotherapy for Newly Diagnosed Stage III or IV Ovarian Cancer: Placebo-Controlled Randomized Phase III Trial (IMagyn050/GOG 3015/ENGOT-OV39). *J Clin Oncol*. 2021;39(17):1842-55.
77. Maiorano BA, Maiorano MFP, Lorusso D, Maiello E. Ovarian Cancer in the Era of Immune Checkpoint Inhibitors: State of the Art and Future Perspectives. *Cancers*. 2021;13(17):4438.
78. Lee EK, Konstantinopoulos PA. Combined PARP and Immune Checkpoint Inhibition in Ovarian Cancer. *Trends Cancer*. 2019;5(9):524-8.
79. Wolberg G, Zimmerman TP, Hiemstra K, Winston M, Chu LC. Adenosine inhibition of lymphocyte-mediated cytotoxicity: possible role of cyclic adenosine monophosphate. *Science*. 1975;187(4180):957-9.
80. Idzko M, Ferrari D, Eltzschig HK. Nucleotide signalling during inflammation. *Nature*. 2014;509(7500):310-7.
81. Burnstock G, Knight GE. The potential of P2X7 receptors as a therapeutic target, including inflammation and tumour progression. *Purinergic Signal*. 2018;14(1):1-18.
82. Kaczmarek E, Koziak K, Sévigny J, Siegel JB, Anrather J, Beaudoin AR, et al. Identification and characterization of CD39/vascular ATP diphosphohydrolase. *J Biol Chem*. 1996;271(51):33116-22.
83. Yegutkin GG, Henttinen T, Samburski SS, Spychala J, Jalkanen S. The evidence for two opposite, ATP-generating and ATP-consuming, extracellular pathways on endothelial and lymphoid cells. *Biochem J*. 2002;367(Pt 1):121-8.
84. Sek K, Mølck C, Stewart GD, Kats L, Darcy PK, Beavis PA. Targeting Adenosine Receptor Signaling in Cancer Immunotherapy. *Int J Mol Sci*. 2018;19(12).
85. de Lera Ruiz M, Lim YH, Zheng J. Adenosine A2A receptor as a drug discovery target. *J Med Chem*. 2014;57(9):3623-50.
86. Allard B, Allard D, Buisseret L, Stagg J. The adenosine pathway in immunoncology. *Nat Rev Clin Oncol*. 2020;17(10):611-29.
87. Zhang H, Conrad DM, Butler JJ, Zhao C, Blay J, Hoskin DW. Adenosine acts through A2 receptors to inhibit IL-2-induced tyrosine phosphorylation of STAT5 in T lymphocytes: role of cyclic adenosine 3',5'-monophosphate and phosphatases. *J Immunol*. 2004;173(2):932-44.
88. Sorrentino C, Hossain F, Rodriguez PC, Sierra RA, Pannuti A, Osborne BA, et al. Adenosine A2A Receptor Stimulation Inhibits TCR-Induced Notch1 Activation in CD8+T-Cells. *Front Immunol*. 2019;10:162.
89. Mastelic-Gavillet B, Navarro Rodrigo B, Décombaz L, Wang H, Ercolano G, Ahmed R, et al. Adenosine mediates functional and metabolic suppression of peripheral and tumor-infiltrating CD8(+) T cells. *J Immunother Cancer*. 2019;7(1):257.

- 
90. Novitskiy SV, Ryzhov S, Zaynagetdinov R, Goldstein AE, Huang Y, Tikhomirov OY, et al. Adenosine receptors in regulation of dendritic cell differentiation and function. *Blood*. 2008;112(5):1822-31.
91. Challier J, Bruniquel D, Sewell AK, Laugel B. Adenosine and cAMP signalling skew human dendritic cell differentiation towards a tolerogenic phenotype with defective CD8(+) T-cell priming capacity. *Immunology*. 2013;138(4):402-10.
92. Yago T, Tsukamoto H, Liu Z, Wang Y, Thompson LF, McEver RP. Multi-Inhibitory Effects of A2A Adenosine Receptor Signaling on Neutrophil Adhesion Under Flow. *J Immunol*. 2015;195(8):3880-9.
93. Vijayan D, Young A, Teng MWL, Smyth MJ. Targeting immunosuppressive adenosine in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2017;17(12):709-24.
94. Allard B, Longhi MS, Robson SC, Stagg J. The ectonucleotidases CD39 and CD73: Novel checkpoint inhibitor targets. *Immunol Rev*. 2017;276(1):121-44.
95. Ohta A, Kini R, Ohta A, Subramanian M, Madasu M, Sitkovsky M. The development and immunosuppressive functions of CD4(+) CD25(+) FoxP3(+) regulatory T cells are under influence of the adenosine-A2A adenosine receptor pathway. *Front Immunol*. 2012;3:190.
96. Zarek PE, Huang CT, Lutz ER, Kowalski J, Horton MR, Linden J, et al. A2A receptor signaling promotes peripheral tolerance by inducing T-cell anergy and the generation of adaptive regulatory T cells. *Blood*. 2008;111(1):251-9.
97. Young A, Ngiow SF, Gao Y, Patch AM, Barkauskas DS, Messaoudene M, et al. A2AR Adenosine Signaling Suppresses Natural Killer Cell Maturation in the Tumor Microenvironment. *Cancer Res*. 2018;78(4):1003-16.
98. Romio M, Reinbeck B, Bongardt S, Hüls S, Burghoff S, Schrader J. Extracellular purine metabolism and signaling of CD73-derived adenosine in murine Treg and Teff cells. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2011;301(2):C530-9.
99. Zhi X, Wang Y, Zhou X, Yu J, Jian R, Tang S, et al. RNAi-mediated CD73 suppression induces apoptosis and cell-cycle arrest in human breast cancer cells. *Cancer Sci*. 2010;101(12):2561-9.
100. Beavis PA, Divisekera U, Paget C, Chow MT, John LB, Devaud C, et al. Blockade of A2A receptors potently suppresses the metastasis of CD73+ tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(36):14711-6.
101. Cai XY, Wang XF, Li J, Dong JN, Liu JQ, Li NP, et al. Overexpression of CD39 and high tumoral CD39<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio are associated with adverse prognosis in resectable gastric cancer. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8(11):14757-64.
102. Murakami\* T, Tanaka N, Hakozaiki K, Takamatsu K, Mikami S, Yasumizu Y, et al. MP18-09 ROLE FOR THE ECTONUCLEOTIDASE CD39: OUTCOME AND ASSOCIATION WITH PD-1/PD-L1 BASED CANCER IMMUNITY IN CLEAR CELL

RENAL CELL CARCINOMA. *Journal of Urology*. 2020;203.

103. Cai XY, Ni XC, Yi Y, He HW, Wang JX, Fu YP, et al. Overexpression of CD39 in hepatocellular carcinoma is an independent indicator of poor outcome after radical resection. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(40):e4989.

104. Ma XL, Shen MN, Hu B, Wang BL, Yang WJ, Lv LH, et al. CD73 promotes hepatocellular carcinoma progression and metastasis via activating PI3K/AKT signaling by inducing Rap1-mediated membrane localization of P110 $\beta$  and predicts poor prognosis. *J Hematol Oncol*. 2019;12(1):37.

105. Wu XR, He XS, Chen YF, Yuan RX, Zeng Y, Lian L, et al. High expression of CD73 as a poor prognostic biomarker in human colorectal cancer. *J Surg Oncol*. 2012;106(2):130-7.

106. Loi S, Pommey S, Haibe-Kains B, Beavis PA, Darcy PK, Smyth MJ, et al. CD73 promotes anthracycline resistance and poor prognosis in triple negative breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(27):11091-6.

107. Zhi X, Wang Y, Yu J, Yu J, Zhang L, Yin L, et al. Potential prognostic biomarker CD73 regulates epidermal growth factor receptor expression in human breast cancer. *IUBMB Life*. 2012;64(11):911-20.

108. Lo Nigro C, Monteverde M, Lee S, Lattanzio L, Vivenza D, Comino A, et al. NT5E CpG island methylation is a favourable breast cancer biomarker. *Br J Cancer*. 2012;107(1):75-83.

109. Inoue Y, Yoshimura K, Kurabe N, Kahyo T, Kawase A, Tanahashi M, et al. Prognostic impact of CD73 and A2A adenosine receptor expression in non-small-cell lung cancer. *Oncotarget*. 2017;8(5):8738-51.

110. Turcotte M, Spring K, Pommey S, Chouinard G, Cousineau I, George J, et al. CD73 is associated with poor prognosis in high-grade serous ovarian cancer. *Cancer Res*. 2015;75(21):4494-503.

111. Oh HK, Sin JI, Choi J, Park SH, Lee TS, Choi YS. Overexpression of CD73 in epithelial ovarian carcinoma is associated with better prognosis, lower stage, better differentiation and lower regulatory T cell infiltration. *J Gynecol Oncol*. 2012;23(4):274-81.

112. Kurman RJ, Carcangiu ML, Young RH, Herrington CS. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs: International Agency for Research on Cancer; 2014.

113. Prat J. Staging classification for cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum. *Int J Gynaecol Obstet*. 2014;124(1):1-5.

114. Bareche Y, Pommey S, Carneiro M, Buisseret L, Cousineau I, Thebault P, et al. High-dimensional analysis of the adenosine pathway in high-grade serous ovarian cancer. *J Immunother Cancer*. 2021;9(3).

115. Bauer A, Gebauer N, Knief J, Tharun L, Arnold N, Riecke A, et al. The expression of the adenosine pathway markers CD39 and CD73 in salivary gland carcinomas harbors the potential for novel immune checkpoint inhibition. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2022.
116. Supernat A, Markiewicz A, Welnicka-Jaskiewicz M, Seroczynska B, Skokowski J, Sejda A, et al. CD73 expression as a potential marker of good prognosis in breast carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2012;20(2):103-7.
117. Rackley RR, Lewis TJ, Preston EM, Delmoro CM, Bradley EL, Jr., Resnick MI, et al. 5'-nucleotidase activity in prostatic carcinoma and benign prostatic hyperplasia. *Cancer Res*. 1989;49(13):3702-7.
118. Eltabbakh GH, Goodrich S. Update on the treatment of recurrent ovarian cancer. *Womens Health (Lond)*. 2006;2(1):127-39.
119. du Bois A, Reuss A, Pujade-Lauraine E, Harter P, Ray-Coquard I, Pfisterer J. Role of surgical outcome as prognostic factor in advanced epithelial ovarian cancer: a combined exploratory analysis of 3 prospectively randomized phase 3 multicenter trials: by the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Studiengruppe Ovarialkarzinom (AGO-OVAR) and the Groupe d'Investigateurs Nationaux Pour les Etudes des Cancers de l'Ovaire (GINECO). *Cancer*. 2009;115(6):1234-44.
120. Numakura S, Uozaki H, Kikuchi Y, Watabe S, Togashi A, Watanabe M. Mesenchymal Stem Cell Marker Expression in Gastric Cancer Stroma. *Anticancer Res*. 2019;39(1):387-93.
121. Mandapathil M, Boduc M, Netzer C, Güldner C, Roessler M, Walliczek-Dworschak U, et al. CD73 expression in lymph node metastases in patients with head and neck cancer. *Acta Otolaryngol*. 2018;138(2):180-4.
122. Mandapathil M, Boduc M, Roessler M, Güldner C, Walliczek-Dworschak U, Mandic R. Ectonucleotidase CD39 expression in regional metastases in head and neck cancer. *Acta Otolaryngol*. 2018;138(4):428-32.
123. Künzli BM, Berberat PO, Giese T, Csizmadia E, Kaczmarek E, Baker C, et al. Upregulation of CD39/NTPDases and P2 receptors in human pancreatic disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2007;292(1):G223-30.
124. Zhang B, Cheng B, Li FS, Ding JH, Feng YY, Zhuo GZ, et al. High expression of CD39/ENTPD1 in malignant epithelial cells of human rectal adenocarcinoma. *Tumour Biol*. 2015;36(12):9411-9.
125. Wu Z, Yang L, Shi L, Song H, Shi P, Yang T, et al. Prognostic Impact of Adenosine Receptor 2 (A2aR) and Programmed Cell Death Ligand 1 (PD-L1) Expression in Colorectal Cancer. *Biomed Res Int*. 2019;2019:8014627.
126. Shi L, Wu Z, Miao J, Du S, Ai S, Xu E, et al. Adenosine interaction with adenosine receptor A2a promotes gastric cancer metastasis by enhancing PI3K-AKT-mTOR signaling. *Mol Biol Cell*. 2019;30(19):2527-34.

127. Buisseret L, Pommey S, Allard B, Garaud S, Bergeron M, Cousineau I, et al. Clinical significance of CD73 in triple-negative breast cancer: multiplex analysis of a phase III clinical trial. *Ann Oncol.* 2018;29(4):1056-62.

128. Zhang B, Song B, Wang X, Chang X-S, Pang T, Zhang X, et al. The expression and clinical significance of CD73 molecule in human rectal adenocarcinoma. *Tumor Biology.* 2015;36(7):5459-66.



圖 1：CD39 表現量高低的無疾病存活期與整體存活期分析

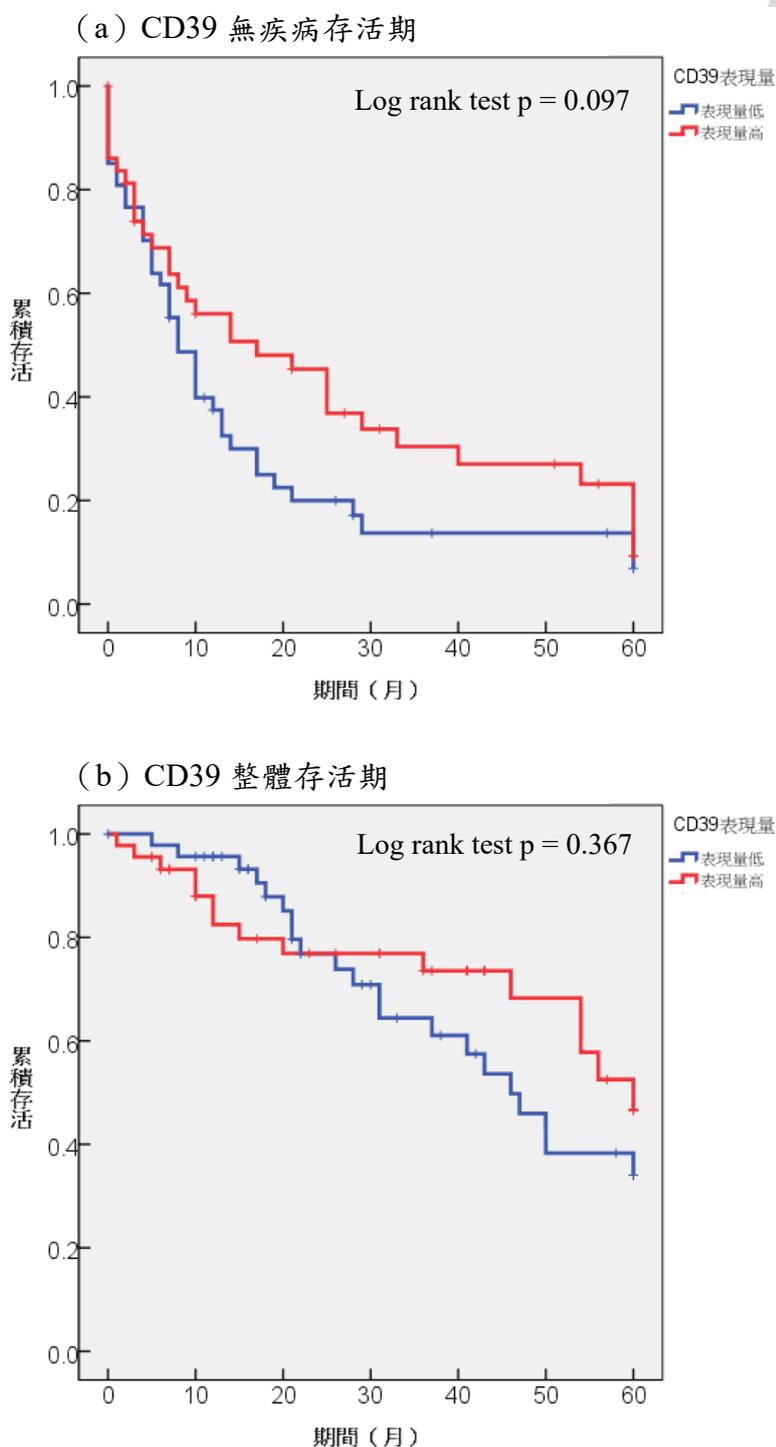


圖 1：表現量高低以中位數為基準，大於等於中位數者為表現量高，反之低於中位數為表現量低。(a) CD39 表現量高低與無疾病存活期。(b) CD39 表現量高低與整體存活期，兩者皆無統計顯著差異。



圖 2：CD73 表現量高低的無疾病存活期與整體存活期分析

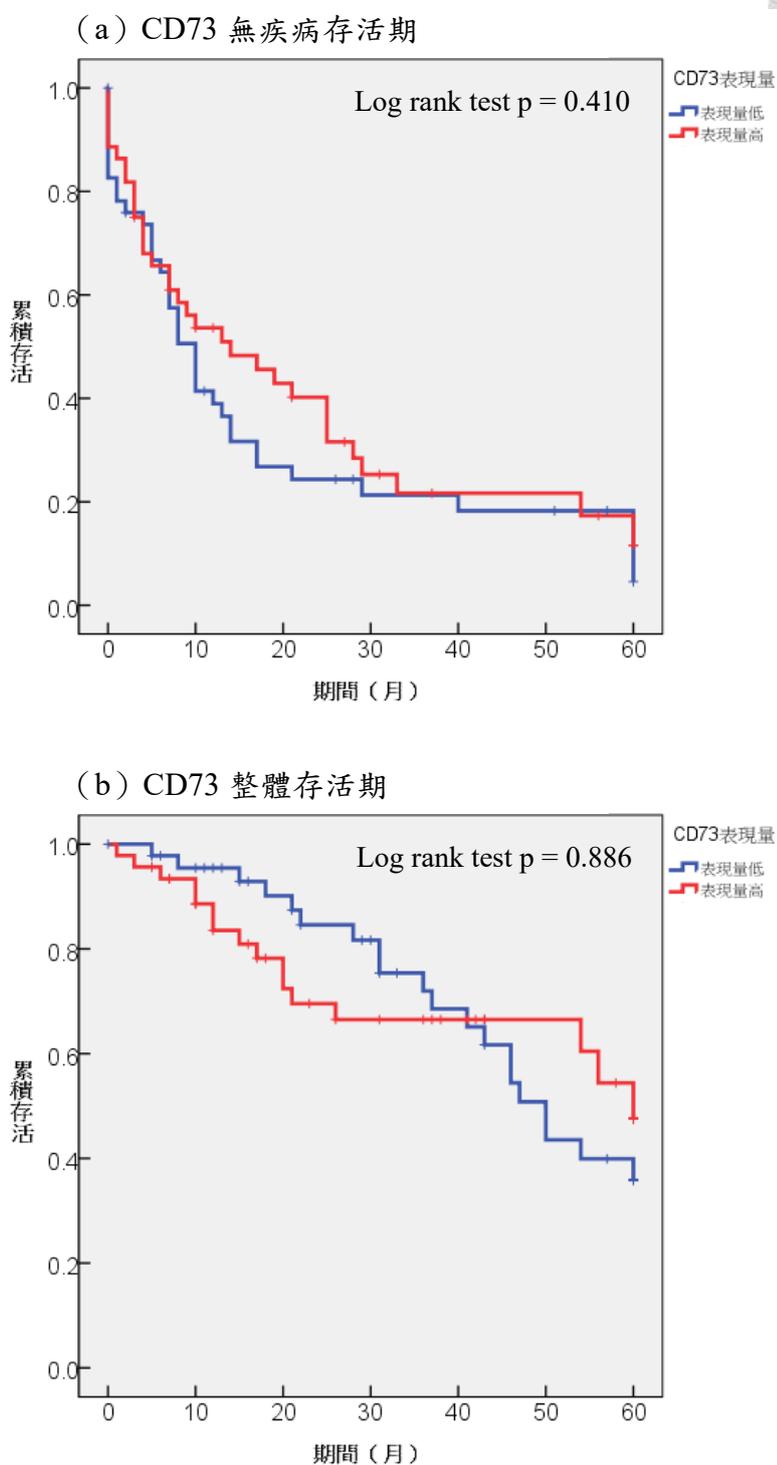


圖2：表現量高低以中位數為基準，大於等於中位數者為表現量高，反之低於中位數為表現量低。(a) CD73表現量高低與無疾病存活期。(b) CD73表現量高低與整體存活期，兩者皆無統計顯著差異。



圖 3：A2A 受體表現量高低的無疾病存活期與整體存活期分析

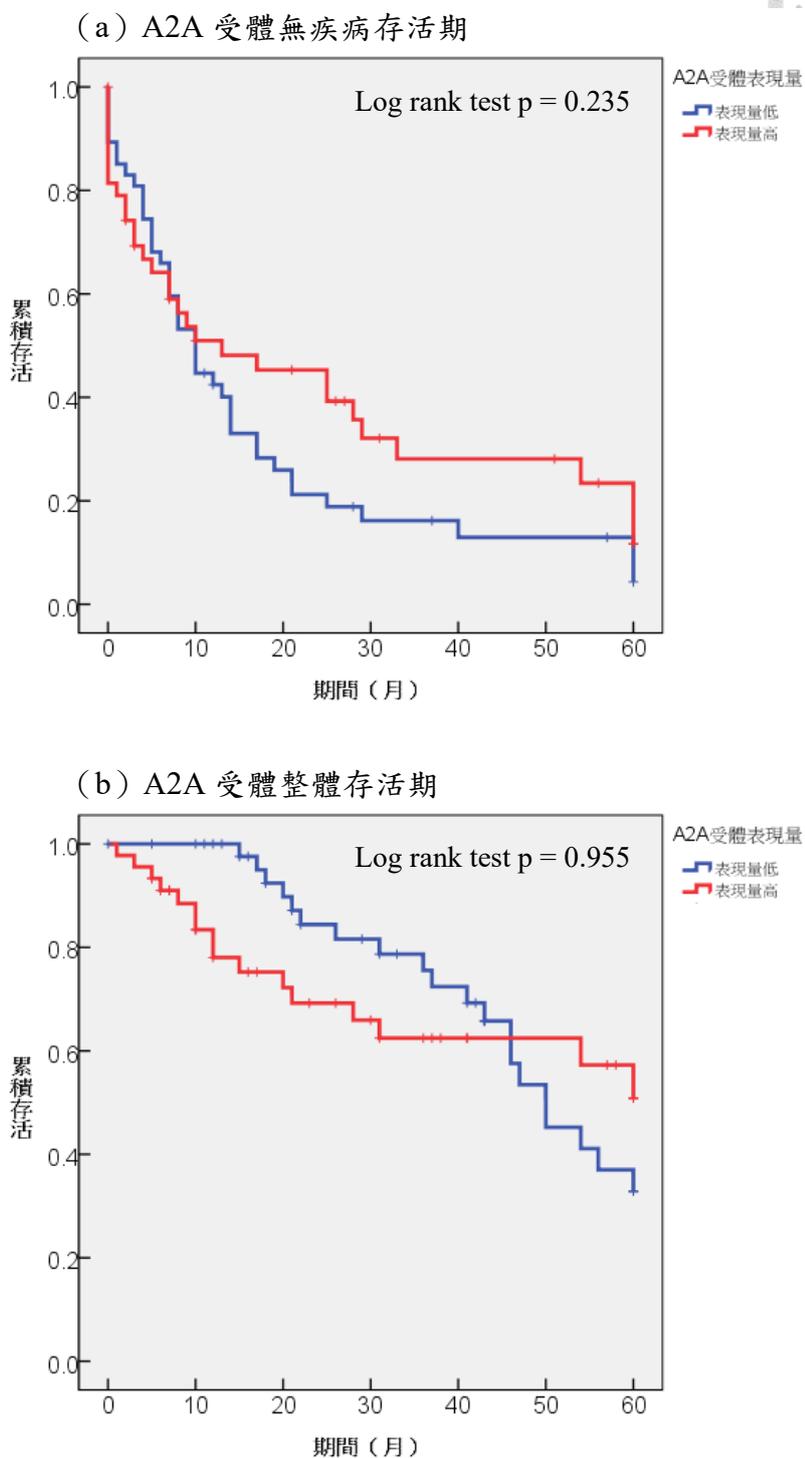


圖 3：表現量高低以中位數為基準，大於等於中位數者為表現量高，反之低於中位數為表現量低。(a) A2A 受體表現量高低與無疾病存活期。(b) A2A 受體表現量高低與整體存活期，兩者皆無統計顯著差異

表 1：92位上皮性卵巢癌臨床基本資料

	個案數	百分比 (%)
全部病患	92	100
年齡 (年)，平均值±標準差	51.99 ± 9.99	
組織型態		
漿液型	65	70.7
類內膜樣型	9	9.8
亮細胞癌	18	19.6
癌症分期		
早期 (第一期及第二期)	15	16.3
晚期 (第三期及第四期)	77	83.7
手術後殘存腫瘤大小		
≤1 公分	45	48.9
<1 公分	47	51.1
化療藥物敏感性		
具敏感性	80	87.0
抗藥性	12	13.0
疾病復發		
是	71	77.2
否	21	22.9
疾病死亡		
是	36	39.1
否	56	60.9





表 2：CD39、CD73、A2AR 基因表現量之相關性

相關係數 <sup>**</sup>	CD39	CD73	A2AR
CD39	1.00		
CD73	0.25*	1.00	
A2AR	0.87*	0.56*	1.00

\*p 值 < 0.05；

\*\*使用 Pearson correlation coefficient

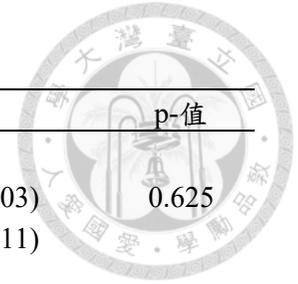


表 3-1：CD39、CD73、A2AR 在不同臨床變項中的基因表現比較

	CD39	p-值	CD73	p-值	A2A 受體	p-值
<b>年齡</b>						
< 50 歲 (N = 40)	78.31 (35.55 – 199.83)*	0.341	50.15 (12.67 – 121.88)	0.474	10.98 (4.98 – 46.03)	0.625
≥ 50 歲 (N = 52)	104.56 (46.13 – 282.83)		88.89 (23.34 – 211.03)		10.25 (4.96 – 26.11)	
<b>組織型態</b>						
漿液型 (N = 65)	86.28 (39.82 - 184.92)	0.035	38.99 (10.46 – 120.31)	0.016	7.85 (3.41 – 20.39)	0.002
類內膜樣型 (N = 9)	48.83 (45.26 – 290.90)		118.26 (44.49 – 589.45)		16.25 (11.27 – 118.26)	
亮細胞癌 (N = 18)	256.51 (83.27 – 473.49)		197.74 (54.22 – 414.25)		32.21 (13.38 – 64.63)	
<b>癌症分期</b>						
早期 (N = 15)	447.79 (47.86 – 717.23)	0.020	189.15 (88.18 – 340.04)	0.003	16.78 (11.39 – 57.92)	0.058
晚期 (N = 77)	88.45 (40.75 – 186.91)		38.99 (11.64 – 159.09)		9.44 (4.72 – 26.09)	
<b>手術後殘存腫瘤大小</b>						
≤ 1 公分 (N = 45)	123.68 (55.81 – 406.53)	0.025	114.90 (44.34 – 216.90)	0.012	16.78 (7.36 – 69.85)	0.002
> 1 公分 (N = 47)	80.56 (31.99 – 148.77)		32.46 (8.99 – 136.61)		7.37 (3.26 – 18.84)	
<b>化療敏感性</b>						
是 (N = 80)	92.60 (46.14 – 282.83)	0.469	67.66 (20.39 – 193.44)	0.631	9.87 (4.96 – 26.81)	0.302
否 (N = 12)	94.38 (20.44 – 188.39)		28.76 (15.78 – 239.73)		25.11 (15.78 – 239.73)	
<b>疾病復發</b>						
是 (N = 71)	88.45 (40.29 – 211.90)	0.287	52.21 (12.89 – 169.59)	0.054	8.73 (4.62 – 29.05)	0.130
否 (N = 20)	110.15 (48.34 – 308.51)		100.21 (36.74 – 445.89)		10.12 (16.52 – 32.53)	
<b>疾病死亡</b>						
是 (N = 36)	72.46 (37.42 – 150.70)	0.121	31.23 (9.65 - -159.80)	0.161	9.63 (4.47 – 25.92)	0.410
否 (N = 56)	102.98 (46.77 – 371.98)		83.35 (24.29 – 220.95)		11.76 (5.04 – 32.03)	

\* 基因表現量使用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  方法計算；表現值以中位數 (25 – 75 百分位數) 乘以  $10^{-3}$  寫法呈現；差異值計算以 Mann-Whitney U t-檢驗或 Kruskal-Wallis 檢驗

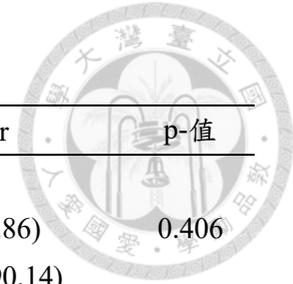


表 3-2：漿液型癌中 CD39、CD73、A2AR 在不同臨床變項中的基因表現比較

	CD39	p-值	CD73	p-值	A2A receptor	p-值
<b>年齡</b>						
< 50 歲 (N = 29)	79.65 (31.52 – 138.87)*	0.690	46.36 (10.31 – 114.90)	0.399	7.37 (3.65 – 25.86)	0.406
≥ 50 歲 (N = 36)	91.09 (43.02 – 190.14)		37.81 (12.19 – 137.65)		91.01 (43.02 – 190.14)	
<b>癌症分期</b>						
早期 (N = 2)	33.62 (27.78 – 39.45)	0.231	144.33 (99.14 – 189.53)	0.365	3.09 (2.81 – 3.37)	0.216
晚期 (N = 63)	88.45 (40.29 – 185.92)		36.62 (10.39 – 117.60)		7.92 (3.33 – 22.57)	
<b>手術後殘存腫瘤大小</b>						
≤ 1 公分 (N = 23)	109.56 (54.41 – 338.28)	0.071	80.39 (21.34 – 127.02)	0.265	12.09 (4.73 – 30.33)	0.042
> 1 公分 (N = 42)	76.12 (31.04 – 117.06)		29.82 (8.33 – 101.82)		75.86 (2.75 – 14.50)	
<b>化療敏感性</b>						
是 (N = 58)	148.01 (28.47 – 283.07)	0.856	25.05 (12.18 – 363.53)	0.991	17.29 (6.05 – 44.10)	0.396
否 (N = 7)	83.42 (40.89 – 177.25)		42.68 (118.76 – 11.04)		7.66 (3.40 – 17.87)	
<b>疾病復發</b>						
是 (N = 52)	80.11 (39.63 – 155.40)	0.317	34.17 (7.64 – 116.25)	0.093	6.73 (3.35 – 15.78)	0.753
否 (N = 13)	116.55 (46.42 – 285.62)		98.94 (30.00 – 233.11)		14.45 (4.95 – 26.28)	
<b>疾病死亡</b>						
是 (N = 36)	51.97 (31.36 – 111.48)	0.067	26.53 (5.90 – 88.82)	0.054	6.73 (1.47 – 10.46)	0.093
否 (N = 56)	100.57 (45.29 – 281.90)		54.70 (17.68 – 127.43)		9.66 (4.51 – 26.15)	

\* 基因表現量使用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  方法計算；表現值以中位數 (25 – 75 百分位數) 乘以  $10^{-3}$  寫法呈現；差異值計算以 Mann-Whitney U t-檢驗或 Kruskal-Wallis 檢驗

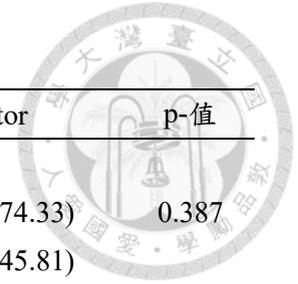


表 3-3：亮細胞癌中 CD39、CD73、A2AR 不同臨床變項中的基因表現比較

	CD39	p-值	CD73	p-值	A2A receptor	p-值
<b>年齡</b>						
<50 歲 (N = 5)	236.05 (76.96 – 366.82)*	0.849	83.87 (32.46 – 447.49)	0.849	44.92 (32.46 – 74.33)	0.387
≥50 歲 (N = 13)	276.97 (102.21 – 482.05)		206.33 (159.09 – 331.68)		26.09 (12.25 – 45.81)	
<b>癌症分期</b>						
早期 (N = 9)	482.05 (366.82 – 525.97)	0.014	206.33 (170.86 – 445.36)	0.296	35.70 (16.78 – 70.91)	0.605
晚期 (N = 9)	123.68 (56.05 – 236.05)		159.09 (21.00 – 331.68)		26.09 (8.73 – 45.81)	
<b>手術後殘存腫瘤大小</b>						
≤ 1 公分 (N = 14)	301.43 (83.27 – 499.45)	0.442	197.74 (54.22 – 444.46)	0.878	24.86 (9.61 – 64.41)	0.327
> 1 公分 (N = 4)	213.25 (120.26 – 280.00)		184.08 (127.43 – 239.73)		39.14 (30.87 – 74.80)	
<b>化療敏感性</b>						
是 (N = 15)	289.08 (89.58 – 493.65)	0.362	189.15 (64.10 – 443.56)	1.000	31.95 (10.49 – 58.36)	0.432
否 (N = 3)	149.52 (90.99 – 213.25)		209.08 (120.77 – 270.38)		32.46 (29.28 – 97.12)	
<b>疾病復發</b>						
是 (N = 14)	256.51 (72.96 – 473.49)	0.878	180.01 (54.22 – 208.47)	0.192	32.31 (13.63 – 64.63)	0.878
否 (N = 4)	234.51 (95.89 – 703.81)		446.42 (336.93 – 1746.85)		30.85 (14.77 – 118.27)	
<b>疾病死亡</b>						
是 (N = 7)	149.52 (283.02 – 89.74)	0.479	159.09 (58.17 – 270.38)	0.425	32.46 (21.93 – 60.07)	0.724
否 (N = 11)	366.82 (89.58 – 493.65)		206.33 (107.60 – 446.42)		31.95 (10.49 – 57.92)	

\* 基因表現量使用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  方法計算；表現值以中位數 (25 – 75 百分位數) 乘以  $10^{-3}$  寫法呈現；差異值計算以 Mann-Whitney U t-檢驗或 Kruskal-Wallis 檢驗

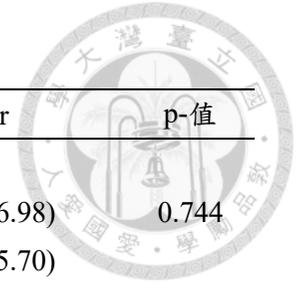


表 3-4：早期癌症中 CD39、CD73、A2AR 不同臨床變項中的基因表現比較

	CD39	p-值	CD73	p-值	A2A receptor	p-值
<b>年齡</b>						
<50 歲 (N = 5)	207.82 (47.38 – 1747.57)*	0.542	88.18 (61.42 – 358.74)	0.409	30.59 (12.52 – 66.98)	0.744
≥50 歲 (N = 13)	482.05 (102.21 – 525.97)		206.33 (170.86 – 234.72)		16.78 (11.50 – 35.70)	
<b>組織型態</b>						
漿液型 (N = 2)	33.62 (27.78 – 39.45)	0.125	144.33 (99.14 – 189.53)	0.744	3.09 (2.81 – 3.37)	0.045
類內膜樣型 (N = 4)	378.05 (48.343 – 1606.04)		105.55 (80.47 – 359.18)		13.88 (11.44 – 44.76)	
亮細胞癌 (N = 9)	482.05 (366.82 – 525.97)		206.33 (170.86 – 445.36)		35.70 (16.78 – 70.91)	
<b>疾病復發</b>						
是 (N = 7)	482.05 (246.54 – 515.61)	0.038	170.86 (68.90 – 197.74)	0.800	31.94 (9.04 – 53.30)	0.019
否 (N = 9)	234.51 (48.34 – 960.05)		340.04 (112.08 – 605.84)		16.51 (11.44 – 66.26)	
<b>疾病死亡</b>						
是 (N = 2)	1458.15 (1083.32 – 1832.99)	0.114	101.24 (92.55 – 109.93)	0.381	42.91 (27.21- 58.62)	0.800
否 (N = 13)	366.82 (46.89 – 505.25)		206.33 (92.49 – 445.36)		11.27 (16.78 – 44.92)	

\*基因表現量使用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  方法計算；表現值以中位數 (25 – 75 百分位數) 乘以  $10^{-3}$  寫法呈現；差異值計算以 Mann-Whitney U t-檢驗或 Kruskal Wallis 檢驗

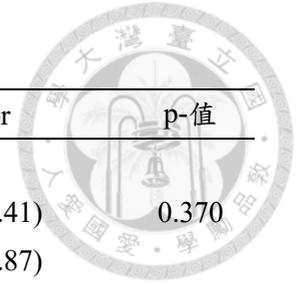


表 3-5：晚期癌症中 CD39、CD73、A2AR 在同臨床變項中的基因表現比較

	CD39	p-值	CD73	p-值	A2A receptor	p-值
<b>年齡</b>						
<50 歲 (N = 33)	78.31 (31.76 – 179.90)*	0.610	34.17 (10.65 – 118.96)	0.925	9.27 (4.67 – 32.41)	0.370
≥50 歲 (N = 43)	92.87 (45.84 – 195.35)		52.21 (17.03 – 188.69)		9.44 (4.84 – 24.87)	
<b>組織型態</b>						
漿液型 (N = 63)	88.45 (40.29 – 185.92)	0.630	36.62 (10.39 – 117.60)	0.396	7.92 (3.33 – 22.57)	0.081
類內膜樣型 (N = 5)	45.26 (36.58 – 118.26)		118.26 (24.36 – 589.45)		24.36 (7.36 – 118.26)	
亮細胞癌 (N = 9)	123/68 (56.05 – 236.05)		159.09 (21.00 – 331.68)		26.09 (8.73 – 45.81)	
<b>手術後殘存腫瘤大小</b>						
≤1 公分 (N = 32)	107.46 (53.50 – 249.30)	0.125	84.13 (16.69 – 175.66)	0.113	13.40 (5.24 – 41.66)	0.046
>1 公分 (N = 45)	86.28 (32.46 – 149.52)		30.00 (7.67 – 114.13)		7.47 (3.40 – 20.39)	
<b>化療敏感性</b>						
是 (N = 65)	88.45 (45.26 – 186.91)	0.730	46.36 (11.64 – 127.43)	0.959	8.73 (4.51 – 24.75)	0.146
否 (N = 12)	94.38 (30.44 – 188.39)		28.75 (15.78 – 239.73)		25.11 (6.71 – 39.93)	
<b>疾病復發</b>						
是 (N = 64)	83.42 (39.63 – 165.38)	0.625	35.64 (9.65 – 159.80)	0.423	7.88 (4.23 – 25.92)	0.271
否 (N = 13)	116.55 (62.25 – 285.62)		54.70 (29.64 – 102.79)		14.54 (8.73 – 26.28)	
<b>疾病死亡</b>						
是 (N = 34)	60.09 (34.12 – 141.93)	0.116	29.96 (8.33 – 161.21)	0.551	8.64 (3.49 – 25.58)	0.599
否 (N = 43)	100.57 (49.49 – 271.82)		52.21(12.89 – 127.02)		9.66 (4.84 – 26.21)	

\*基因表現量使用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  方法計算；表現值以中位數 (25 – 75 百分位數) 乘以  $10^{-3}$  寫法呈現；差異值計算以 Mann-Whitney U t-檢驗或 Kruskal-Wallis 檢驗

表 4：CD39、CD73、A2AR 表現量高低之病患比例在臨床變項中差異比較

	CD39		p-值*	CD73		p-值	A2A receptor		p-值
	表現量高個數	表現量低個數		表現量高個數	表現量低個數		表現量高個數	表現量低個數	
<b>年齡</b>									
<50 歲	17	23	0.301	18	22	0.528	20	20	1.000
≥50 歲	28	24		28	24		25	27	
<b>組織型態</b>									
漿液型	28	37	0.081	27	38	0.046	24	41	0.001
類內膜樣型	4	5		6	3		7	2	
亮細胞癌	13	5		13	5		14	4	
<b>癌症分期</b>									
早期	10	5	0.164	12	3	0.022	12	3	0.011
晚期	35	42		34	43		33	44	
<b>手術後殘存腫瘤大小</b>									
≤1 公分	27	18	0.060	30	15	0.003	29	16	0.006
>1 公分	18	29		16	31		16	31	
<b>化療敏感性</b>									
是	27	18	0.037	30	15	0.002	29	16	0.004
否	18	29		16	31		16	31	
<b>疾病復發</b>									
是	32	39	0.294	33	38	0.341	30	41	0.053
否	12	9		12	8		15	6	
<b>疾病死亡</b>									
是	15	21	0.265	16	20	0.393	16	20	0.492
否	30	26		30	26		29	27	

\*兩組差異比較使用 Chi-square 檢驗或 Fisher exact 檢驗

表 5：疾病復發風險之 Cox 迴歸分析

變項	單變數		多變數	
	風險比 (95% 信賴區間)	p 值	風險比 (95% 信賴區間)	p 值
<b>年齡</b>				
<50 歲	1.00	0.687	1.00	0.555
≥50 歲	0.81 (0.30 – 2.23)		0.72 (0.24 – 2.18)	
<b>組織型態</b>				
漿液型	1.00	0.473	1.00	0.123
非漿液型	1.47 (0.51 – 4.25)		4.58 (0.66 – 31.59)	
<b>癌症分期</b>				
早期	1.00	0.010	1.00	0.015
晚期	4.92 (1.48 – 16.43)		10.13 (1.57 – 65.26)	
<b>手術後殘存腫瘤大小</b>				
≤1 公分	1.00	0.241	1.00	0.639
>1 公分	1.83 (0.67 – 5.02)		1.35 (0.38 – 4.78)	
<b>CD39 表現量</b>				
低	1.00	0.241	1.00	0.817
高	0.55 (0.20 – 1.50)		0.86 (0.23 – 3.15)	
<b>CD73 表現量</b>				
低	1.00	0.288	1.00	0.466
高	0.58 (0.21 – 1.59)		1.70 (0.41 – 7.05)	
<b>A2AR 表現量</b>				
低	1.00	0.033	1.00	0.063
高	0.31 (0.11 – 0.91)		0.24 (0.06 – 1.08)	

表 6：疾病死亡風險之 Cox 迴歸分析

變項	單變數		多變數	
	風險比 (95% 信賴區間)	p 值	風險比 (95% 信賴區間)	p 值
<b>年齡</b>				
<50 歲	1.00	0.881	1.00	0.952
≥50 歲	0.94 (0.40 – 2.18)		0.97 (0.38 – 2.50)	
<b>組織型態</b>				
漿液型	1.00	0.502	1.00	0.006
非漿液型	1.37 (0.53 – 3.40)		7.70 (1.81 – 32.70)	
<b>癌症分期</b>				
早期	1.00	0.039	1.00	0.012
晚期	5.14 (1.09 – 24.34)		10.68 (1.68 – 68.21)	
<b>手術後殘存腫瘤大小</b>				
≤1 公分	1.00	0.018	1.00	0.018
>1 公分	2.87 (1.20 – 6.88)		4.01 (1.27 – 12.64)	
<b>CD39 表現量</b>				
低	1.00	0.266	1.00	0.482
高	0.62 (0.27 – 1.44)		0.66 (0.21 – 2.11)	
<b>CD73 表現量</b>				
低	1.00	0.394	.00	0.689
高	0.69 (0.30 – 1.61)		1.29 (0.37 – 4.58)	
<b>A2AR 表現量</b>				
低	1.00	0.492	1.00	0.922
高	0.75 (0.22 – 1.73)		0.94 (0.26 – 3.34)	