

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



上皮性卵巢癌患者腹水 YKL-40 表現量

與臨床預後的關聯性

Correlation of YKL-40 in Ascites and the Prognosis  
of Epithelial Ovarian Cancer Patients

吳佳穎

Chia-Ying Wu

指導教授：鄭文芳 博士

江盈澄 博士

Advisor: Wen-Fang Cheng, Ph.D.

Ying-Cheng Chiang, Ph.D.

中華民國 111 年 6 月

June 2022

## 誌謝

本論文得以順利完成，首先要感謝鄭文芳老師在學業與工作上的勉勵與論文研究概念的釐清，並感謝江盈澄老師在研究過程的指導與論文架構的建立。除此之外，口試期間承蒙口試委員基因體暨蛋白體醫學研究所林柏翰老師審閱論文，並且提供重要的建議，讓這篇論文更加完整。還要特別感謝許恒誠學長，在我學習成為主治醫師的過程中，所給予的精神鼓勵與經驗分享。

最後，感謝所有關心、幫助和支持我的人們。

## 中文摘要(Abstract in Chinese)



### 背景：

上皮性卵巢癌是全世界最致命的婦女癌症。大多數卵巢癌初次診斷時已是晚期(第三或第四期)，也就是腫瘤瀰漫在腹腔與骨盆腔，並且產生大量腹水。

目前對於卵巢癌的標準治療是減積手術加上術後化學治療，但是卵巢癌往往在治療結束的兩年內復發。已經在許多慢性發炎疾病與癌症發現來自 *CHI3L1* 基因表現的 YKL-40 蛋白，本研究將分析上皮性卵巢癌患者腹水中的 YKL-40 量與患者臨床預後的關聯性。

### 研究方法：

運用酵素免疫分析法 Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 衡量上皮性卵巢癌患者腹水中 YKL-40 含量，與患者臨床及病理表現的相關性。

### 結果：

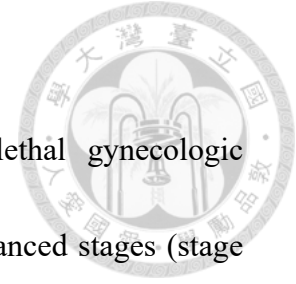
本研究收集 150 名卵巢癌患者。YKL-40 含量與癌症期別、腹水是否發現腫瘤細胞、癌症復發，以及患者死亡相關。單變數分析中，高含量的 YKL-40 的患者其中位無病存活期(disease-free survival; DFS)較短(風險比：3.38，95%信賴區間：2.06–5.53， $p < 0.001$ )，患者的整體存活期(overall survival)較短(風險比：3.56，95%信賴區間：1.77–7.16， $p < 0.001$ )。多變數分析模式下，患者的整體存活期(overall survival)也較短(風險比：2.54，95%信賴區間：1.13–5.69， $p = 0.024$ )。漿液性腫瘤、癌症期別、腫瘤組織惡性度與 YKL-40 含量是影響預後的因子。

### 結論：

卵巢癌晚期、惡性腹水、癌症復發，以及患者死亡，與 YKL-40 含量高相關。腹水中 YKL-40 含量是影響卵巢癌患者預後的因子。

**關鍵詞：** 卵巢癌、YKL-40、*CHI3L1*、預後因子、腹水

## 英文摘要(Abstract in English)



**Background:** Epithelial ovarian cancer (EOC) is the most lethal gynecologic malignancies all over the world. Most cases are diagnosed at advanced stages (stage III–IV) with disseminated intra-abdominal metastasis and ascites. The current standard treatment of ovarian cancer is surgery and adjuvant chemotherapy. While, disease recurrence occurs within 2 years. YKL-40, the product of *CHI3L1* gene, is expressed in several human inflammation diseases or cancers. In the study, we measured the expression of YKL 40 in the ascites of EOC patients and evaluated if YKL-40 could be a prognostic factor of EOC patients.

**Methods:** We then performed Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to evaluate the amount of YKL40 in the ascites of EOC patients. The correlation of YKL-40 expression and these clinic-pathologic parameters and the outcome of EOC patients were analyzed.

**Results:** We first collected and stored the ascites of 150 EOC patients. The expression of YKL-40 in ascites of EOC patients were associated with advanced FIGO stage, positive ascites cytology, disease recurrence and disease-related death. Higher expression of YKL-40 in ascites of EOC patients were associated with shorter DFS (hazard ratio, 3.38; 95% confidence interval, 2.06-5.53;  $P < 0.001$ ) and shorter OS

(hazard ratio, 3.56; 95% confidence interval, 1.77-7.16;  $P < 0.001$ ) by univariate analyses. By multivariate analyses, shorter OS (hazard ratio, 2.54; 95% confidence interval, 1.13-5.69;  $P = 0.024$ ). Serous histology, FIGO stage, tumor grade, and the expression of YKL-40 are independent prognostic factors.

**Conclusions:** EOC patients with advanced stage, malignant ascites, tumor recurrence and tumor-related death had significantly higher YKL-40 levels. YKL-40 in ascites was a prognostic factor for EOC patients.

**Keywords:** ovarian cancer, YKL-40, CHI3L1, prognostic factor, ascites

# 目錄



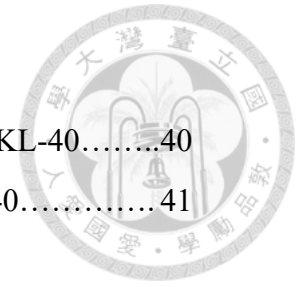
誌謝.....	i
中文摘要(Abstract in Chinese).....	ii
英文摘要(Abstract in English).....	iii
第一章：緒論.....	1
第一節：上皮性卵巢癌.....	1
(一) 上皮性卵巢癌的背景.....	1
(二) 上皮性卵巢癌的診斷治療現況.....	3
(三) 卵巢癌的預後因子.....	7
(四) YKL-40 為具潛力的卵巢癌生物標記.....	8
第二節：研究的方向與目的.....	9
第二章：研究方法與材料.....	10
第一節：上皮性卵巢癌患者資料與腹水來源.....	10
(一) 上皮性卵巢癌患者及收集資料.....	10
(二) 上皮性卵巢癌患者追蹤方式.....	11
(三) 腹水檢體保存.....	11
第二節：研究方法.....	11
(一) 酵素免疫分析法 Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).....	11
(二) 統計分析.....	12
第三章：結果.....	13
第一節：上皮性卵巢癌患者組成分析.....	13
第二節：上皮性卵巢癌患者腹水中的 YKL-40 含量.....	13
第三節：上皮性卵巢癌患者存活率分析.....	15
第四節：上皮性卵巢癌患者術前 CA125 分析.....	17
第四章：討論.....	21
第一節：建立新的卵巢癌預後指標-測量上皮性卵巢癌患者腹水 YKL-40 含量.....	21
第二節：YKL-40 與卵巢癌.....	21
第三節：YKL-40 為具潛力的卵巢癌治療標的.....	23

(一) YKL-40 的生理活動.....	24
(二) YKL-40 與血管新生.....	24
(三) 以 YKL-40 為治療工具.....	26
第五章：展望.....	26
論文英文簡述.....	28
Chapter 1: INTRODUCTION .....	28
Chapter 2: MATERIALS AND METHODS.....	29
Chapter 3: RESULTS .....	30
Chapter 4: DISCUSSION.....	33
參考文獻.....	44



## 圖目錄

Figure 1 Disease free survival of the patients in different level of YKL-40.....	40
Figure 2 Overall survival of the patients in different level of YKL-40.....	41



## 表目錄

Table 1 FIGO Ovarian cancer staging.....	36
Table 2 Clinicopathological characteristics of the 150 women with EOC.....	37
Table 3 Mean expression levels of YKL-40 of the patients and subgroup analysis* .....	38
Table 4 Cox regression model for the risk factors for recurrence and death.....	39
Table 5 Mean expression levels of CA125 of the patients and subgroup analysis .	42
Table 6 Cox regression model of CA125 for the risk factors for recurrence and death.....	43



## 第一章：緒論

卵巢癌為全世界婦女十大癌症的第 8 位，2020 年有 313,959 人診斷出卵巢癌，佔所有罹癌人口的 1.6%，因癌症死亡也是女性第 8 位(Sung et al., 2021)。根據衛生福利部國民健康署民國 108 年癌症登記報告，該年度有 1,677 名的婦女初次診斷罹患卵巢癌，發生個案年齡中位數為 54 歲，發生率排名為女性第 7 位，有 683 名的婦女因卵巢癌死亡，死亡個案之年齡中位數為 61 歲，死亡率排名為女性第 7 位，每十萬女性人口之粗發生率為 14.09，每十萬女性人口之粗死亡率為 5.74，若以西元 2000 年世界標準人口為基準計算，每十萬女性人口之年齡標準化發生率為 9.86 人，每十萬女性人口之年齡標準化死亡率為 3.42 人。以組織型別區分，漿液性腺癌(serous carcinoma)有 582 人(34.7%)、黏液性腺癌(mucinous carcinoma)有 151 人(9%)、子宮內膜樣腺癌(endometrioid carcinoma)有 237 人(14.13%)、明亮細胞癌(clear cell carcinoma)有 333 人(19.86%)、混合細胞腺癌(mixed carcinoma)有 59 人(3.52%)、非特定腺癌有 63 人(3.76%)、生殖細胞瘤(germ cell tumors)有 59 人(3.52%)、性索間質腫瘤(sex cord-stromal tumor)有 77 人(4.59%)、其他特定上皮癌有 36 人(2.33%)、非特定上皮癌有 36 人(2.15%)、惡性肉瘤(sarcoma)有 12 人(0.72%)、其他惡性腫瘤有 29 人(1.73%)及惡性淋巴瘤(lymphoma)3 人。

### 第一節：上皮性卵巢癌

#### (一) 上皮性卵巢癌的背景

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(Berek et al., 2018)，簡言之，第一期卵巢癌的腫瘤只發生在卵巢，可細分為第一 A 期(腫瘤只限在單側卵巢，卵巢的表面完整且沒有癌病變，腹水或腹腔沖洗液中無癌細胞)，第一 B 期(腫瘤只限在雙側卵巢，卵巢的表面完整且沒有癌病變，腹水或腹腔沖洗液中無癌細胞)，第一 C1 期(不論是第一 A 期或第一 B 期，腫瘤在手術中破裂)，第一 C2 期(不論是第一 A 期或第一

B 期，腫瘤在手術前已破裂或卵巢或輸卵管表面有癌病變)，第一 C3 期(不論是  
第一 A 期或第一 B 期，腹水或腹腔沖洗液中有癌細胞)；第二期卵巢癌則是癌細  
胞分布在單側或兩側卵巢或輸卵管，並且擴散到骨盆腔其他器官，可細分為第二  
A 期(腫瘤擴散只限於子宮或輸卵管)，第二 B 期(腫瘤擴散至骨盆腔內其他組織)；  
第三期卵巢癌則是癌細胞分布在單側或兩側卵巢或輸卵管，並且有骨盆腔以外的  
腹腔器官轉移，或有後腹腔淋巴結轉移，可細分為第三 A1(i)期(只有後腹腔淋巴  
結轉移且大小不超過 10 毫米)，第三 A1(ii)期(只有後腹腔淋巴結轉移且大小超過  
10 毫米)，第三 A2 期(不論有無後腹腔淋巴結轉移，組織病理檢查證實有微觀的  
骨盆腔外腹膜轉移)，第三 B 期(不論有無後腹腔淋巴結轉移，骨盆腔外腹膜轉移  
病灶的最大徑未超過兩公分者)，第三 C 期(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超過兩公分者或肝臟、脾臟表淺轉移)；第四期卵巢癌  
則是單側或兩側卵巢癌，並且有遠端轉移，可細分為第四 A 期(有細胞學檢查陽  
性的胸肋膜積水)，第四 B 期(肝臟、脾臟實質的轉移，骨盆腔及腹腔以外器官的  
轉移，包含鼠蹊部或腹腔以外淋巴結的轉移)，簡述如表一(Prat, 2014)。


臨床上最常見的卵巢癌病理組織型態是上皮性卵巢癌(epithelial ovarian cancer)，源自於卵巢表面的上皮細胞，約佔 85~90%的惡性卵巢腫瘤，主要組織學型別為漿液性腺癌(serous carcinoma)、黏液性腺癌(mucinous carcinoma)、子宮內膜樣腺癌(endometrioid carcinoma)、明亮細胞癌(clear cell carcinoma)、混合細胞腺癌(mixed carcinoma)，較少見組織型別的還有惡性 Brenner 腫瘤(malignant Brenner tumor)、未分化癌(undifferentiated carcinoma)、癌肉瘤(carcinosarcoma)等。非上皮性卵巢癌包含源自於卵巢實質的生殖細胞瘤(germ cell tumor)、性索間質腫瘤(sex cord-stromal tumor)、惡性肉瘤(sarcoma)等。另一類則是源自其他組織轉移的卵巢癌(metastatic neoplasms)。上皮性卵巢癌腫瘤細胞分化程度是重要的預後因子，包括第一度分化良好(G1；grade I: well differentiated)，第二度中等程度分化(G2；grade II: moderately differentiated)，與第三度分化不良(G3；grade III: poorly differentiated)。目前只有診斷為黏液性腺癌(mucinous carcinoma)或子宮內膜樣腺

癌(endometrioid carcinoma) ，才會評估細胞分化程度，而第三度分化不良的患者預後比第一度或第二度分化程度的患者差。有病理學者認為臨床上組織分化程度只有對第一 A 期和第一 B 期的患者有意義，因為將影響是否接受化學治療(Robert J. Kurman, 2019)。

卵巢癌特徵為產生腹水，特別是晚期的患者會有大量的腹水。正常生理情況下，腹膜腔微血管膜(capillary membranes)持續分泌液體維持漿膜層(serosal surfaces)濕潤，以利可溶性物質進出腹膜腔及鄰近器官，絕大部分的液體會經由淋巴循環再吸收。腹腔內腫瘤因為腫瘤內微血管通透性(permeability)增加，腫瘤細胞分泌(secretion)，與淋巴循環阻塞，導致液體增加形成腹水(ascites)。腹水流動的方向也決定了卵巢癌組織散佈的位置，最常見的轉移位置在大網膜(greater omentum)、右膈下(right subphrenic region)與子宮直腸窩(cul-de-sac)(Ahmed & Stenvers, 2013; Kipps et al., 2013)。腹水則包含癌細胞與可溶的因子，例如細胞激素(cytokine)、化學激活素(chemokine)、生長激素(growth factor)與細胞外基質(mesothelial extracellular matrix, ECM)(Ahmed & Stenvers, 2013)。許多研究已發現腹水中的癌細胞具有自我複製(self-renewal)以及多細胞分化(multi-lineage differentiation)等能力，也就是具有腫瘤幹細胞(cancer stem cells)的特性。腹水中卵巢癌細胞分泌的物質，也發現與化療效果或預後相關(Ahmed & Stenvers, 2013; Bonifácio, 2020)。

## (二) 上皮性卵巢癌的診斷治療現況


絕大部分的卵巢癌病患，只有不明顯且非特異性的腹腔或骨盆腔症狀，或是月經異常的症狀。例如，腹痛、頻尿、腹脹，或食慾不振。卵巢癌需經由組織學診斷(histologic diagnosis)，一般是手術切除卵巢後診斷，然而，部分晚期病人會經由影像導引穿刺切片取得組織，或體液進行診斷。根據民國 108 年(國民健康署)癌症登記報告，初次診斷為第一期卵巢癌比例為 42.78%，第二期卵巢癌比例為 8.72%，第三期卵巢癌比例為 28.99%，而第四期卵巢癌比例 16.04%。早期



診斷卵巢癌的預後優於晚期，其中第一期卵巢癌的五年存活率為 92.4%，第二期為 75.2%，第三期降至 29.2%，而第四期卵巢癌則為 11%(Jonathan S. Berek, 2020)。但是目前仍未發展出有效的篩檢工具能早期發現卵巢癌。血清學 CA125 檢查、超音波檢查或是骨盆腔檢查，不論針對一般民眾或是高風險族群，都缺乏足夠的敏感性與特異性。診斷卵巢癌所需的檢查包括病史詢問、家族史評估、身體理學檢查、骨盆腔內診、婦科超音波檢查、胸部 X 光檢查、血清腫瘤指標(CA125、CEA 或 CA199)、電腦斷層掃描(CT)或核磁共振影像學(MRI)檢查。亦可安排上消化道內視鏡或大腸鏡等胃腸道檢查，以排除臨床症狀懷疑已有腸道壓迫或阻塞，或懷疑為轉移性卵巢癌。

完整的癌症分期手術範圍包括雙側卵巢輸卵管切除、全子宮切除、大網膜切除(Infracolic omentectomy)、骨盆腔和主動脈旁淋巴結(pelvic and para-aortic lymph nodes)切除、腹膜切片和腹膜腔沖洗細胞學檢查(washing cytology)，及針對黏液性腺癌進行闌尾切除手術(appendectomy)。完整的分期手術對於卵巢癌的治療很重要，正確的癌症分期，決定術後輔助治療的形式。由於卵巢癌會沿骨盆腔向腹腔侵襲蔓延，對於晚期的上皮性卵巢癌患者，腫瘤減積手術(cytoreduction surgery)是指手術切除所有擴散或轉移至卵巢外的癌組織，術後殘餘之最大腫瘤的直徑能小於 1 公分，稱為理想腫瘤減積手術(optimal debulking)。若術後殘餘之最大腫瘤的直徑大於 1 公分，稱為次理想減積手術(suboptimal debulking)。因為殘餘腫瘤的大小與患者的預後有密切關係。然而，但越積極的手術治療，可能帶來較多的手術合併症，而這都需要在手術時列入考慮。

卵巢癌在外科手術後進行輔助性化學治療(adjvant chemotherapy)，目前主要的化療處方為紫杉醇(paclitaxel)加鉑類(platinum)化合物的複合處方，以清除肉眼不可見的癌組織，降低癌症復發與遠端轉移的機率。1970年代治療上皮性卵巢癌的化學治療藥物主要是烷基化劑(alkylating agents)，包括 melphalan、cyclophosphamide、chlorambucil及thiotepa。當時通常為單一藥物治療，反應率約為20~60%，晚期卵巢癌患者接受治療後的中位存活期(median survival)約為10~18



個月。1980年代，合併數種化學治療藥物的處方成為標準療法，最常用的組合為Hexa CAF (hexamethylmelamine、cyclophosphamide、doxorubicin、5-fluorouracil)和CAP (cyclophosphamide、doxorubicin、cisplatin)。當時也引進了鉑類化合物(cisplatin，順鉑和carboplatin，卡鉑)，反應率約為50~80%，患者接受治療後的中位存活期約為12~30個月，cyclophosphamide與cisplatin複合處方也是一時之選。1990年代，引進了紫杉醇(paclitaxel)，單一藥物紫杉醇對於難治性卵巢癌(refractory ovarian cancer)患者的反應率約為25~35%，許多副作用較低的紫杉醇相關衍生物也陸續開發出來，例如歐洲紫杉醇(docetaxel)。近十幾年來有許多藥物也應用在上皮性卵巢癌的治療，如：topotecan (第一型拓撲異構酶抑制劑；topoisomerase I inhibitor)、lipodox (聚乙二醇脂質體封裝的阿黴素；pegylated liposomal encapsulated doxorubicin)與gemcitabine(Berek et al., 2018)。根據GOG111與GOG158研究結果，第一線化學治療首選為carboplatin加上paclitaxel，每三周一一次，反應率約為88%(Jonathan S. Berek, 2020)。

對於第一A期與第一B期且細胞分化良好或中等程度(G1-2)的病患，因此類病患預後良好，可不必接受輔助治療。對於第一C期或細胞分化不良(G3)的病患，則需接受輔助性化學治療。化學治療的次數介於三至六次之間，GOG157研究顯示三次或六次化療對於此類病患預後沒有差別。但是組織型別為分化不良的漿液性腺癌(high-grade serous carcinoma)的病患接受六次化學治療預後較好。卵巢癌第二期以上則需接受六次至八次化學治療(Berek et al., 2018)。

腫瘤復發是上皮性卵巢癌治療上的挑戰，當接受過完整的減積手術及輔助性化學治療的患者，若有臨床症狀、身體理學檢查異常，或血清腫瘤指數上升等情況時，應懷疑腫瘤復發，可進行影像學檢查，以確定是否復發。晚期卵巢癌復發的時間中位數是 16 個月(Berek et al., 2018; Luo et al., 2016)。臨床上預測再次化療效果與預後常用的指標為，無惡化存活期間(progression-free interval)或「無鉑時段」(platinum free interval)。治療反應區分為：(1)「對鉑類藥品敏感(platinum-sensitive)」—在初始化學治療 6 個月後才復發的患者，或未復發的

患者；(2)「對鉑類藥品具有抗性 (platinum-resistant)」—在初始化學治療後 6 個月內復發的患者，也包含接受初始化學治療期間疾病即惡化的病人。初始化學治療期間疾病惡化的病人亦可被稱為「對鉑類藥品無效 (platinum-refractory)」。

目前卵巢癌治療主流是化學治療結束後維持標靶治療，維持性治療目的在延長疾病穩定期，延緩復發時間。卵巢癌的標靶藥物在維持性治療扮演主要角色。可結合血管內皮細胞生長因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的單株抗體 bevacizumab (商品名：avastin, 癌思停)，目前已取得多項癌症適應症，包括卵巢癌術後與初始化學治療併用，初始化學治療結束後的維持治療，或是疾病復發後與化學治療併用。藉由多重作用機轉，例如抑制血管生成、降低血管通透性，及免疫調節等方式對抗癌組織(Boisen et al., 2016)。目前 bevacizumab 已普遍用於第一線治療卵巢癌，即 bevacizumab 併用紫杉醇加鉑類藥物治療。

Poly ADP-ribose polymerase (PARP) 抑制劑 (例如 Olaparib; Niraparib; Veliparib)針對 BRCA1/BRCA2 基因缺陷的腫瘤組織抑制其 PARP 功能，將導致雙股 DNA 缺損無法修復，因而造成癌細胞死亡。晚期卵巢癌患者對第一次化學治療療程有完全反應或部份反應(CR 或 PR)，化療結束後搭配兩年口服標靶 Olaparib, 降低 70%疾病惡化風險(風險比:0.30, 95%信賴區間:0.23-0.41, P<0.001) (Moore et al., 2018)。化療結束後搭配兩年口服標靶 Niraparib, 降低 38%疾病惡化風險(風險比:0.62, 95%信賴區間:0.5-0.76, P<0.001) (González-Martín et al., 2019)。化療結束後搭配三周一次共 30 次口服標靶 Veliparib, 降低 56%疾病惡化風險(風險比:0.44, 95%信賴區間:0.28-0.68, P<0.001) (Coleman et al., 2019)。

同時使用 bevacizumab 與 PARP 抑制劑減少 41 %疾病惡化風險(風險比:0.59, 95%信賴區間:0.49-0.72, P<0.0001), 具 BRCA1/BRCA2 基因缺陷者則可降低 69 %疾病惡化風險(風險比:0.31, 95%信賴區間:0.2-0.47) (Ray-Coquard et al., 2019)。

治療後的追蹤方式並無明確規定，但是建議治療後第一年每三個月追蹤，

之後可每四到六個月追蹤，第五年以後則為每年追蹤。CA125 常作為治療後追蹤的指標配合骨盆腔檢查與影像追蹤(Berek et al., 2018)。




### (三) 卵巢癌的預後因子

第一、病理學相關因子，也就是腫瘤細胞的分化情形將影響預後，即分化良好(G1)腫瘤預後優於分化不良(high grade)腫瘤。晚期的亮細胞癌(clear cell carcinoma)和黏液性腺癌(mucinous carcinoma)預後差，但是第一 A 期的亮細胞癌預後卻很好。雖然細胞分化不良的腫瘤預後較差，但是因為卵巢癌的異質性(heterogeneity)與觀察者之間判定的偏差(bias)以及沒有統一的分級系統，導致相關研究發現無法只用組織的細胞分化程度作為卵巢癌的預後因子(Jonathan S. Berek, 2020; Robert J. Kurman, 2019)。

第二、臨床特徵相關因子，包括：年齡、癌症分期、手術後殘餘腫瘤的體積、腹水量、病患日常體能狀態(performance status)以及對鉑類藥品具有抗性(platinum-resistant)。若愈晚期、手術後腫瘤剩餘的體積愈大，則卵巢癌的預後也愈差。年輕、日常體能狀態好、早期癌症、術後沒有殘餘腫瘤或殘餘腫瘤少以及沒有腹水都是預後較好的因子(Jonathan S. Berek, 2020)。

第三、腫瘤指標，血清中的生物標記 CA125 是目前廣泛使用的上皮性卵巢癌腫瘤指標。CA125 是由 MUC16 基因製造的醣蛋白，1980 年代發現卵巢癌組織的 CA125 較正常卵巢組織的 CA125 高。但是在早期的卵巢癌組織中，只有小於 50%的第一期卵巢癌組織可發現 CA125 超過臨界值(Dochez et al., 2019)。然而，許多生理狀態或是良性疾病也會造成 CA125 升高。例如：經期、懷孕、子宮內膜異位，或是腹膜腔發炎。因為 CA125 的特異性低(87%)，並非理想的篩檢指標(Bonifácio, 2020)。目前臨床實務上 CA125 被視為術前診斷的依據、術後治療的評估，與追蹤復發的指標(Berek et al., 2018; Bonifácio, 2020; Salani et al., 2017; Zhang et al., 2021)。但是，CA125 的高低並無法預測病人預後的情況(Dehn et al., 2003)。此外，CA125 除了對停經前女性特異性較低，也並非所有組織型態的卵




巢癌患者術前 CA125 都會上升。黏液性腺癌(mucinous carcinoma)的患者術前 CA125 不高，則難以 CA125 做為術後追蹤的指標(Lakshmanan et al., 2019)。另一個可用來評估卵巢癌的腫瘤指標，是屬於 whey acidic protein(WAP)家族的酪蛋白 Human Epididymis Protein 4 (HE4)(Salani et al., 2017)。最早從附睪組織中發現，可能與精蟲發育有關。HE4 在呼吸道與消化道的上皮組織製造較少，但是可在卵巢癌組織中大量製造，特別是在子宮內膜樣腺癌這種組織型態(Dochez et al., 2019)。有研究發現 serum HE4 對於診斷腫瘤復發的敏感性與 CA125 接近，但是特異性則優於 CA125(Lakshmanan et al., 2019)。

雖然腫瘤指數 CA125 與 HE4 與患者的預後有關，但是 CA125 並不能直接視為腫瘤體積大小(tumor burden)的指標(Zhang et al., 2021)。MRC OV05-EORTC 55955 研究發現，若沒有臨床症狀單憑 CA125 上升就視為復發而給予治療，並不會改善整體存活期(over-all survival, OS)(Berek et al., 2018)。因此，針對卵巢癌仍需要發展能更準確預測預後的指標。

#### (四) YKL-40 為具潛力的卵巢癌生物標記

YKL-40 亦名 human cartilage glycoprotein-39 (HC-gp39)，是一個 38-kDa heparin-binding glycoprotein。YKL-40 的命名是依據 N 端的 3 個胺基酸，酪氨酸(Tyrosine) 離胺酸(Lysine, K)、白胺酸(Leucine, L)，和分子質量(molecular mass)40 千道爾頓(kilodalton, kDa)的蛋白質(Muszyński et al., 2017)。最初是在人類的滑膜細胞(synoviocyte)、軟骨細胞(chondrocytes)跟 MG-63 osteosarcoma 細胞株(cell line)發現(Shao et al., 2009)。由 Chitinase-3-like-1 (*CHI3L1*) 基因所製造，該基因位於染色體 1q31-1q32，包含 7,498 個鹼基對(J. S. Johansen et al., 2009)。YKL-40 在胚胎組織和胎兒組織的三種胚層大量表現，而這類的組織特徵是快速增生及分化，甚至是型態的轉變。在成人有高度的細胞活動的組織也會發現 YKL-40(J. S. Johansen et al., 2009; Schultz & Johansen, 2010)。雖然確切的生理作用仍不明，但被認為與結締組織增生，及血管內皮細胞活化有關(Boisen et al., 2016; Faibish et





al., 2011)。就對病生理的影響而言，YKL-40 與許多慢性發炎的疾病相關，可能與細胞外基質重塑(extracellular matrix remodeling)的過程相關(Faibish et al., 2011)。這個蛋白也會在巨噬細胞(macrophage)、嗜中性球(neutrophile)、單核球(monocyte)與肥大細胞(mast cell)等發炎細胞中表現。部分良性疾病中也發現 YKL-40 表現，例如 C 型肝炎中的纖維化肝組織，與罹患關節炎的軟骨細胞(chondrocyte)、阿茲海默症(Alzheimer's disease)(J. S. Johansen et al., 2009; Muszyński et al., 2017)。過去研究發現 YKL-40 與許多癌症相關，包括膠質母細胞瘤(glioblastoma)、骨肉瘤(osteosarcoma)、大腸癌(colon cancer)、胃癌(gastric cancers)、肺癌(lung cancer)、乳癌(breast cancer)、卵巢癌等，都發現表現量增高的情形 (Bernardi et al., 2012; Corradi et al., 2013; Fuksiewicz et al., 2018; Hogdall et al., 2009; Itik et al., 2011; Jensen et al., 2003; Thorn et al., 2016; Wang et al., 2012)。

過去研究發現 YKL-40 在惡性細胞中扮演增殖與分化的角色，避免細胞凋亡，刺激血管新生等功能。卵巢癌的患者相較健康族群血液中的 YKL-40 明顯升高，特別是已經轉移的病人，並且與存活率有關(Hogdall et al., 2009; J. S. Johansen et al., 2009)。其中 65%的第一期與第二期病人血中 YKL-40 的濃度上升，而第三期與第四期則有 74%-91%會上升。卵巢癌病人卵巢組織的 YKL-40，與癌症期別與組織型態有關。YKL-40 的表現在正常的卵巢組織很低，或是沒有表現。卵巢癌的組織則會過度表現，並且與癌症期別相關，越晚期越高，而 YKL-40 表現量越高者的存活時間也越短(Yang et al., 2009)。過去本實驗室研究亦發現，*CHI3L1* 基因在上皮性卵巢癌的表現比在正常卵巢組織的表現高，且具有促進腫瘤幹細胞(cancer stem cells)特性。相關因子包括漿液性腺癌、癌症晚期、化療藥物抗藥性與預後較差，因此高 *CHI3L1* 基因表現是預後不良的因子(Chiang et al., 2015; Lin et al., 2019)。

## 第二節：研究的方向與目的

如上緒論所述由於大量腹水是晚期卵巢癌患者的特徵，腹水所含有的成分也

會影響疾病病程與治療效果(Ahmed & Stenvers, 2013; Bonifácio, 2020)。現今臨床實務上，可運用的預後指標難以定量方式評估，而腫瘤指標 CA125 無法涵蓋上皮性卵巢癌的所有組織型態，並且特異性較低。HE4 則尚未普遍在臨床上使用。

文獻採用血清或血漿中的 YKL-40 發現與許多良性與惡性疾病診斷或預後相關，因此研究結果可能受到病患同時罹患的其他疾病所影響。而採用組織中的 YKL-40 則受到卵巢癌組織只能在術中取得，無法術前評估，並且需要能在卵巢腫瘤中正確採檢腫瘤組織以及由病理科醫師採半定量方式分級。過去本實驗室以即時定量聚合酶連鎖反應(Quantitative real-time PCR, QRT-PCR)的半定量方式計量，發現腹水中 *CHI3L1* 基因有增強腫瘤幹細胞(cancer stem cells)的特性，與腫瘤的形成有關。

因此綜合上述臨床需求與文獻研究結果，本研究使用卵巢癌病人的腹水，以定量的酵素免疫分析法(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)測量腹水 YKL-40 濃度。進一步分析腹水 YKL-40 濃度與病患臨床特徵與預後的相關性，從首次手術的腹水中 YKL-40 濃度，與病患接受輔助性化學治療的反應，與疾病復發，或因疾病死亡的期間。評估腹水中 YKL-40 濃度是否可以預測病患預後，以作為醫療決策的參考。

## 第二章：研究方法與材料

### 第一節：上皮性卵巢癌患者資料與腹水來源

#### (一) 上皮性卵巢癌患者及收集資料

經臺大醫院倫理委員會核准，收集本院 2011 年 1 月至 2018 年 6 月 30 日期間接受治療的 150 名上皮性卵巢癌患者術中之腹水。病患資料包括年齡、卵巢癌組織型態、腫瘤細胞分化程度、癌症期別、腹水中是否發現癌症細胞、化學治療藥物種類、接受化學治療次數及術前 CA125 數值等。依據手術紀錄，術後殘餘之最大腫瘤直徑，小於 1 公分者，定義為理想減積手術(optimal debulking surgery); 大於等於 1 公分以上者，定義為次理想減積手術(suboptimal debulking surgery)。

患者的無病存活期(disease free survival, DFS)的定義為自術後接受化學治療的最後一日起，至經由電腦斷層或核磁共振影像檢查發現腫瘤復發之日期。患者的整體存活期(over-all survival, OS)定義為接受手術後至病患死亡、未回診，或於 2021 年 3 月收集前最後一次回診日期之時間。

## (二) 上皮性卵巢癌患者追蹤方式

完成輔助性化學治療後安排電腦斷層檢查，治療後前三年每三個月追蹤，之後則每六個月追蹤。每次回診追蹤除問診詢問相關症狀、內診與超音波檢查之外，配合血清 CA125 檢驗。CA125 上升加上患者有症狀，則安排電腦斷層檢查。診斷疾病復發的條件包括下列任一項，(1)2 周內連續兩次 CA125 上升超過正常值的 2 倍，(2)影像學檢查發現腫瘤復發；(3)腹水細胞學檢查發現惡性腫瘤細胞；(4)組織學切片檢查證實腫瘤復發。

## (三) 腹水檢體保存

術中收集腹水，以管壁經肝素(Heparin)浸濕(rinse)的空針筒抽取腹水或腹膜沖洗液，置於室溫。首先用 40 $\mu$ m 細胞過濾器(cell strainer)過濾腹水或腹膜沖洗液至 50ml 離心管，儲存前先置於離心機以 1400g 離心 10 分鐘，取出上清液 1 $\pm$ 0.1ml 於已標明來源的抗凍管中。上清液先儲存於 4 $^{\circ}$ C 的冰箱，一小時後移至-30 $^{\circ}$ C 冰箱，一天後移至-80 $^{\circ}$ C 冰箱保存。

## 第二節：研究方法

### (一) 酵素免疫分析法 Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

使用 Thermo Fisher Scientific 公司的 Human YKL40 ELISA KIT 操作。採用三明治法 (sandwich) 於 96 孔微量反映盤(96-microwell plate)內塗佈相關抗體，並於 4 $^{\circ}$ C 培養箱靜置一晚(incubation)，再加入混合 20%胎牛血清(fetal bovine serum)的磷酸鹽緩衝液(phosphate-buffered saline, PBS)。冷凍儲藏之腹水經由磷酸鹽緩衝液稀釋後，加入微量反映盤，並於 37 $^{\circ}$ C 培養箱靜置 2 小時後，以清洗

緩衝液(washing buffer)添加 0.05%介面活性劑 Tween 20 清洗。清洗後加入稀釋 2000 倍的二次抗體 peroxidase-conjugated rabbit anti-mouse IgG 置於 37°C 下作用 1 小時，清洗後加入呈色劑 Turbo TMB-ELISA 以 1 M sulfuric acid (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)終止反應，於 450nm 以 EIA reader 測量吸光度(Optical Density, OD)，再換算出 YKL-40 的濃度(pg/ml)。

## (二) 統計分析

統計運算使用 SPSS 22 軟體(IBM, Chicago, IL, USA)。用單因子獨立變異數分析(Analysis of Variance, ANOVA)來計算比較腹水中 YKL-40 含量。用 Kaplan-Meier 方法製成存活曲線，以 log rank 檢定來計算生存曲線之間的差異，並用 Cox 回歸模式來評估影響存活的預後因子，計算風險比(hazard ratios)的 95% 信賴區間(confidence interval, CI)。利用雙尾檢定法檢定是否達統計意義，以 p 值 <0.05 認為有統計學上的意義。

### 第三章：結果



#### 第一節：上皮性卵巢癌患者組成分析

共 150 例卵巢癌患者，平均年齡 53.7 歲。漿液性腺癌(serous carcinoma)卵巢癌共 58 例，佔 38.7%；非漿液性腺癌(non-serous carcinoma)卵巢癌共 92 例，佔 61.3%。腫瘤細胞分化程度上低惡性度(G1)與中惡性度(G2)共 31 例，佔 20.6%；高惡性度(G3)共 119 例，佔 79.4%。卵巢癌的分期中，早期(第一與第二期)共 80 例，佔 53.3%；晚期(第三與第四期)共 70 例，佔 46.7%。理想腫瘤減積(optimal debulking)共 116 例，佔 77.3%；次理想減積手術(suboptimal debulking)共 34 例，佔 22.7%。化學治療組合中包含紫杉醇(paclitaxel)共 124 例，佔 82.7%；不包含紫杉醇共 26 例，佔 17.3%，其中包含未接受化學治療的 3 例。疾病復發共 66 例，佔 44%疾病未復發共 82 例，佔 54.7%，其中 2 例為持續性疾病狀態(persistent disease)，故不計入。死亡共 33 例，佔 22%，存活共 117 例，佔 78%(表二)。

#### 第二節：上皮性卵巢癌患者腹水中的 YKL-40 含量

全部 150 例卵巢癌病患分析可見，腹水中 YKL-40 含量在晚期癌症、腹水中含有惡性腫瘤細胞、疾病復發與死亡病例中含量較高，而腹水中 YKL-40 含量在組織學型態與腫瘤細胞分化程度方面，則沒有統計差異(表三)。其中漿液性腺癌(serous carcinoma)患者腹水中 YKL-40 含量為  $2,576.0 \pm 331.6$  pg/ml，非漿液性腺癌(non-serous carcinoma)患者腹水中 YKL-40 含量為  $1,909.3 \pm 290.2$  pg/ml，(p=0.141)。腫瘤細胞分化低惡性度(G1)與中惡性度(G2)患者腹水中 YKL-40 含量為  $1,367.1 \pm 447.2$  pg/ml，腫瘤細胞分化高惡性度(G3)患者腹水中 YKL-40 含量為  $2,373.1 \pm 249.5$  pg/ml，(p=0.057)。早期癌症患者腹水中 YKL-40 含量為  $1,169.0 \pm 240.8$  pg/ml，晚期癌症患者腹水中 YKL-40 含量為  $3,307.7 \pm 336.5$  pg/ml，(p<0.001)。腹水中不含惡性腫瘤細胞患者腹水中 YKL-40 含量為  $1,100 \pm 215.9$  pg/ml，腹水中含有惡性腫瘤細胞患者腹水中 YKL-40 含量為  $3,287.0 \pm 355.7$  pg/ml，(p<0.001)。疾病未復發患者腹水中 YKL-40 含量為  $1,470.9 \pm 259.8$  pg/ml，疾病復發患者腹水

中 YKL-40 含量為  $3,053.0 \pm 355.8$  pg/ml, ( $p < 0.001$ )。觀察期間存活患者腹水中 YKL-40 含量為  $1,791.8 \pm 231.5$  pg/ml, 觀察期間死亡患者腹水中 YKL-40 含量為  $3,497.4 \pm 516.9$  pg/ml, ( $p = 0.001$ )。

次族群分析中，達成理想腫瘤減積(optimal debulking)的 116 例，與治療組合中包含紫杉醇(paclitaxel)的 124 例病患，其結果與全部卵巢癌病患分析結果趨勢相同，為腹水中 YKL-40 含量在晚期癌症、腹水中含有惡性腫瘤細胞、疾病復發與死亡病例中含量較高，在組織學型態與腫瘤細胞分化程度方面則沒有統計差異(表三)。達成理想腫瘤減積患者中，漿液性腺癌(serous carcinoma)患者腹水中 YKL-40 含量為  $2,171.8 \pm 416.7$  pg/ml, 非漿液性腺癌(non-serous carcinoma)患者腹水中 YKL-40 含量為  $1,519.5 \pm 281.3$  pg/ml, ( $p = 0.189$ )。腫瘤細胞分化低惡性度(G1)與中惡性度(G2)患者腹水中 YKL-40 含量為  $1,436.3 \pm 501.7$  pg/ml, 腫瘤細胞分化高惡性度(G3)患者腹水中 YKL-40 含量為  $1,830.6 \pm 265.3$  pg/ml, ( $p = 0.479$ )。早期癌症患者腹水中 YKL-40 含量為  $1,109.0 \pm 243.1$  pg/ml, 晚期癌症患者腹水中 YKL-40 含量為  $2,890.9 \pm 441.0$  pg/ml, ( $p = 0.001$ )。腹水中不含惡性腫瘤細胞患者腹水中 YKL-40 含量為  $1,013.5 \pm 220.5$  pg/ml, 腹水中含有惡性腫瘤細胞患者腹水中 YKL-40 含量為  $2,883.4 \pm 456.7$  pg/ml, ( $p < 0.001$ )。疾病未復發患者腹水中 YKL-40 含量為  $1,262.7 \pm 254.6$  pg/ml, 疾病復發患者腹水中 YKL-40 含量為  $2,547.2 \pm 437.7$  pg/ml, ( $p = 0.013$ )。觀察期間存活患者腹水中 YKL-40 含量為  $1,536.2 \pm 240.4$  pg/ml, 觀察期間死亡患者腹水中 YKL-40 含量為  $2,918.6 \pm 724.5$  pg/ml, ( $p = 0.036$ )。治療組合中包含紫杉醇的患者中，漿液性腺癌(serous carcinoma)患者腹水中 YKL-40 含量為  $2,739.8 \pm 361.2$  pg/ml, 非漿液性腺癌(non-serous carcinoma)患者腹水中 YKL-40 含量為  $2,047.3 \pm 337.2$  pg/ml, ( $p = 0.17$ )。腫瘤細胞分化低惡性度(G1)與中惡性度(G2)患者腹水中 YKL-40 含量為  $1,519.5 \pm 548.4$  pg/ml, 腫瘤細胞分化高惡性度(G3)患者腹水中 YKL-40 含量為  $2,527.1 \pm 276.9$  pg/ml, ( $p = 0.11$ )。早期癌症患者腹水中 YKL-40 含量為  $1,340.3 \pm 302.9$  pg/ml, 晚期癌症患者腹水中 YKL-40 含量為  $3,261.9 \pm 354.2$  pg/ml, ( $p < 0.001$ )。腹水中不含惡性腫瘤細胞患者腹水中 YKL-40 含量為

1,206.3±260.1 pg/ml，腹水中含有惡性腫瘤細胞患者腹水中 YKL-40 含量為 3,386.4±383.3 pg/ml，(p<0.001)。疾病未復發患者腹水中 YKL-40 含量為 1,541.0±298.6 pg/ml，疾病復發患者腹水中 YKL-40 含量為 3,205.9±386.2 pg/ml，(p=0.001)。觀察期間存活患者腹水中 YKL-40 含量為 1,966.2±265.1 pg/ml，觀察期間死亡患者腹水中 YKL-40 含量為 3,478.5±565.6 pg/ml，(p=0.009)。

對化學治療敏感(Chemo-sensitive)的 106 例患者中腹水中 YKL-40 含量在組織學型態、晚期癌症、腹水中含有惡性腫瘤細胞與疾病復發病例中含量較高，在腫瘤細胞分化程度與死亡病例方面，則沒有統計差異(表三)。漿液性腺癌(serous carcinoma)患者腹水中 YKL-40 含量為 2,644.9±387.0 pg/ml，非漿液性腺癌(non-serous carcinoma)患者腹水中 YKL-40 含量為 1,608.4±332.2 pg/ml，(p=0.044)。腫瘤細胞分化低惡性度(G1)與中惡性度(G2)患者腹水中 YKL-40 含量為 1,152.0±513.4 pg/ml，腫瘤細胞分化高惡性度(G3)患者腹水中 YKL-40 含量為 2,283.2±288.9 pg/ml，(p=0.063)。早期癌症患者腹水中 YKL-40 含量為 1,264.2±297.6 pg/ml，晚期癌症患者腹水中 YKL-40 含量為 2,960.7±395.3 pg/ml，(p=0.001)。腹水中不含惡性腫瘤細胞患者腹水中 YKL-40 含量為 1,061.9±241.9 pg/ml，腹水中含有惡性腫瘤細胞患者腹水中 YKL-40 含量為 3,316.9±435.4 pg/ml，(p<0.001)。疾病未復發患者腹水中 YKL-40 含量為 1,541.0±298.6 pg/ml，疾病復發患者腹水中 YKL-40 含量為 2,829.2±441.2 pg/ml，(p=0.018)。觀察期間存活患者腹水中 YKL-40 含量為 1,841.1±270.8 pg/ml，觀察期間死亡患者腹水中 YKL-40 含量為 2,997.8±676.5 pg/ml，(p=0.082)。

### 第三節：上皮性卵巢癌患者存活率分析

病患預後 Kaplan-Meier 存活曲線如圖一與圖二所示，腹水高 YKL-40 含量定義為全體患者腹水 YKL-40 含量數值的前三分之一，腹水高 YKL-40 含量患者的中位無病存活期(disease-free survival; DFS) (p<0.001)與整體存活期(overall

survival) ( $p < 0.001$ ) 皆明顯低於腹水低 YKL-40 含量患者，達顯著統計差異。

全部患者疾病復發的 Cox 迴歸模式分析如表四所示，在單變數分析模式中，組織學型態為漿液性癌(serous carcinoma) (風險比：2.07，95%信賴區間：1.27–3.37， $p = 0.004$ )、晚期癌症(風險比：4.73，95%信賴區間：2.74–8.19， $p < 0.001$ )、腫瘤細胞高惡性度(風險比：5.33，95%信賴區間：1.94–14.68， $p = 0.001$ )、腫瘤減積手術術後殘餘腫瘤小於 1 公分(風險比：0.29，95%信賴區間：0.17–0.49， $p < 0.001$ ) 與腹水高 YKL-40 含量(定義為全體患者腹水 YKL-40 含量數值的前三分之一)(風險比：3.38，95%信賴區間：2.06–5.53， $p < 0.001$ )皆是疾病復發的重要風險因子。進一步多變數分析模式中，晚期癌症(風險比：4.03，95%信賴區間：2.00–8.12， $p < 0.001$ )、腫瘤細胞高惡性度(風險比：4.71，95%信賴區間：1.63–13.56， $p = 0.004$ )是疾病復發的重要風險因子。然而組織學型態為漿液性癌(serous carcinoma) (風險比：0.59，95%信賴區間：0.33–1.06， $p = 0.078$ )、腫瘤減積手術術後殘餘腫瘤小於 1 公分(風險比：0.6，95%信賴區間：0.34–1.07， $p = 0.081$ ) 與腹水高 YKL-40 含量(定義為全體患者腹水 YKL-40 含量數值的前三分之一)(風險比：1.63，95%信賴區間：0.95–2.81， $p = 0.076$ )，未達顯著統計差異。

全部患者的疾病死亡風險因子如表四，在單變數分析模式中，晚期癌症(風險比：3.64，95%信賴區間：1.64–8.08， $p = 0.002$ )、腫瘤細胞高惡性度(風險比：4.19，95%信賴區間：1–17.56， $p = 0.05$ )、腫瘤減積手術術後殘餘腫瘤小於 1 公分(風險比：0.26，95%信賴區間：0.13–0.51， $p < 0.001$ ) 與腹水中高 YKL-40 含量 (風險比：3.56，95%信賴區間：1.77–7.16， $p < 0.001$ )皆是疾病死亡的重要風險因子。然而組織學型態為漿液性癌(serous carcinoma) (風險比：0.51，95%信賴區間：0.24–1.08， $p = 0.077$ )，未達顯著統計差異。進一步多變數分析模式中，組織學型態為漿液性腺瘤(serous carcinoma) (風險比：0.11，95%信賴區間：0.05–0.26， $p < 0.001$ )、晚期癌症(風險比：4.49，95%信賴區間：1.72–11.73， $p = 0.002$ )、腫瘤細胞高惡性度(風險比：4.72，95%信賴區間：1.09–20.46， $p = 0.038$ ) 與腹水中高 YKL-40 含量 (風險比：2.54，95%信賴區間：1.13–5.69， $p = 0.024$ )是疾病死亡的




重要風險因子。腫瘤減積手術術後殘餘腫瘤小於 1 公分(風險比：0.5，95%信賴區間：0.23-1.09， $p=0.081$ )，未達顯著統計差異。研究結果顯示，腹水中高 YKL-40 含量是上皮性卵巢癌患者疾病復發與死亡等預後不佳的影響因子。

#### 第四節：上皮性卵巢癌患者術前 CA125 分析

全部 150 例卵巢癌病患中可取得術前 CA125 數值者共 141 例，術前 CA125 含量在漿液性腺癌(serous carcinoma)、晚期癌症、腹水中含有惡性腫瘤細胞、疾病復發的病例中含量較高，而術前 CA125 在腫瘤細胞分化程度與死亡方面，則沒有統計差異(表五)。其中漿液性腺癌患者術前 CA125 數值為  $1,836.3 \pm 293.2$  U/ml，非漿液性腺癌(non-serous carcinoma)患者術前 CA125 數值為  $527.3 \pm 120.8$  U/ml，( $p < 0.001$ )。腫瘤細胞分化低惡性度(G1)與中惡性度(G2)患者術前 CA125 數值為  $869.4 \pm 283.9$  U/ml，腫瘤細胞分化高惡性度(G3)患者術前 CA125 數值為  $1,058.1 \pm 165.2$  U/ml，( $p = 0.596$ )。早期癌症患者術前 CA125 數值為  $485.7 \pm 122.1$  U/ml，晚期癌症患者術前 CA125 數值為  $1,661.4 \pm 258.7$  U/ml，( $p < 0.001$ )。腹水中不含惡性腫瘤細胞患者術前 CA125 數值為  $619.7 \pm 135.3$  U/ml，腹水中含有惡性腫瘤細胞患者術前 CA125 數值為  $1,516.9 \pm 260.8$  U/ml，( $p = 0.002$ )。疾病未復發患者術前 CA125 數值為  $635.2 \pm 131.2$  U/ml，疾病復發患者術前 CA125 數值為  $1,442.4 \pm 265.4$  U/ml，( $p = 0.004$ )。觀察期間存活患者術前 CA125 數值為  $1,091.8 \pm 171.2$  U/ml，觀察期間死亡患者術前 CA125 數值為  $751.3 \pm 226.5$  U/ml，( $p = 0.333$ )。

次族群分析中，達成理想腫瘤減積(optimal debulking)的 110 例，其結果與全部卵巢癌病患分析結果相同。術前 CA125 含量在漿液性腺癌(serous carcinoma)、晚期癌症、腹水中含有惡性腫瘤細胞、疾病復發的病例中含量較高，而術前 CA125 在腫瘤細胞分化程度與死亡方面，則沒有統計差異(表五)。其中漿液性腺癌患者術前 CA125 數值為  $1,722.7 \pm 362.5$  U/ml，非漿液性腺癌(non-serous carcinoma)患者術前 CA125 數值為  $500.7 \pm 126.2$  U/ml，( $p < 0.001$ )。腫瘤細胞分化低惡性度(G1)與中惡性度(G2)患者術前 CA125 數值為  $966.0 \pm 325.8$  U/ml，腫瘤細胞分化高惡性



度(G3)患者術前 CA125 數值為  $895.8 \pm 180.1$  U/ml, ( $p=0.852$ )。早期癌症患者術前 CA125 數值為  $506.7 \pm 130.2$  U/ml, 晚期癌症患者術前 CA125 數值為  $1,679.2 \pm 352.5$  U/ml, ( $p<0.001$ )。腹水中不含惡性腫瘤細胞患者術前 CA125 數值為  $586.7 \pm 142.6$  U/ml, 腹水中含有惡性腫瘤細胞患者術前 CA125 數值為  $1,469.9 \pm 333.4$  U/ml, ( $p=0.006$ )。疾病未復發患者術前 CA125 數值為  $606.1 \pm 140.9$  U/ml, 疾病復發患者術前 CA125 數值為  $1,446.7 \pm 341.2$  U/ml, ( $p=0.009$ )。觀察期間存活患者術前 CA125 數值為  $937.5 \pm 174.3$  U/ml, 觀察期間死亡患者術前 CA125 數值為  $748.6 \pm 336.6$  U/ml, ( $p=0.682$ )。

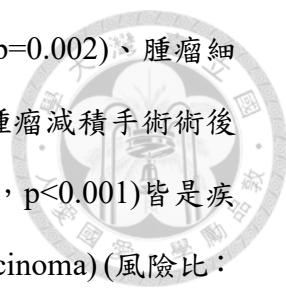
治療組合中包含紫杉醇(paclitaxel)的 117 例病患, 其結果與全部卵巢癌病患分析結果相同。術前 CA125 含量在漿液性腺癌(serous carcinoma)、晚期癌症、腹水中含有惡性腫瘤細胞、疾病復發的病例中含量較高, 而術前 CA125 在腫瘤細胞分化程度與死亡方面, 則沒有統計差異(表五)。其中漿液性腺癌患者術前 CA125 數值為  $1,955.4 \pm 327.4$  U/ml, 非漿液性腺癌(non-serous carcinoma)患者術前 CA125 數值為  $525.0 \pm 123.5$  U/ml, ( $p<0.001$ )。腫瘤細胞分化低惡性度(G1)與中惡性度(G2)患者術前 CA125 數值為  $809.7 \pm 267.9$  U/ml, 腫瘤細胞分化高惡性度(G3)患者術前 CA125 數值為  $1,151.7 \pm 189.2$  U/ml, ( $p=0.411$ )。早期癌症患者術前 CA125 數值為  $446.4 \pm 115.4$  U/ml, 晚期癌症患者術前 CA125 數值為  $1,739.4 \pm 280.7$  U/ml, ( $p<0.001$ )。腹水中不含惡性腫瘤細胞患者術前 CA125 數值為  $559.9 \pm 126.7$  U/ml, 腹水中含有惡性腫瘤細胞患者術前 CA125 數值為  $1,679.0 \pm 291.6$  U/ml, ( $p=0.001$ )。疾病未復發患者術前 CA125 數值為  $617.9 \pm 129.9$  U/ml, 疾病復發患者術前 CA125 數值為  $1,543.4 \pm 293.9$  U/ml, ( $p=0.003$ )。觀察期間存活患者術前 CA125 數值為  $1,183.3 \pm 195.7$  U/ml, 觀察期間死亡患者術前 CA125 數值為  $767.6 \pm 251.5$  U/ml, ( $p=0.281$ )。

對化學治療敏感(Chemo-sensitive)的 101 例患者中, 其結果與全部卵巢癌病患分析結果相同。術前 CA125 含量在漿液性腺癌(serous carcinoma)、晚期癌症、腹水中含有惡性腫瘤細胞、疾病復發的病例中含量較高, 而術前 CA125 在腫瘤

細胞分化程度與死亡方面，則沒有統計差異(表五)。其中漿液性腺癌患者術前 CA125 數值為  $1,773.5 \pm 326.1$  U/ml，非漿液性腺癌(non-serous carcinoma)患者術前 CA125 數值為  $404.2 \pm 110.8$  U/ml，( $p < 0.001$ )。腫瘤細胞分化低惡性度(G1)與中惡性度(G2)患者術前 CA125 數值為  $761.7 \pm 282.7$  U/ml，腫瘤細胞分化高惡性度(G3)患者術前 CA125 數值為  $1,025.9 \pm 192.3$  U/ml，( $p = 0.523$ )。早期癌症患者術前 CA125 數值為  $415.7 \pm 116.2$  U/ml，晚期癌症患者術前 CA125 數值為  $1,667.9 \pm 310.0$  U/ml，( $p < 0.001$ )。腹水中不含惡性腫瘤細胞患者術前 CA125 數值為  $504.2 \pm 125.8$  U/ml，腹水中含有惡性腫瘤細胞患者術前 CA125 數值為  $1,600.9 \pm 319.4$  U/ml，( $p = 0.001$ )。疾病未復發患者術前 CA125 數值為  $617.9 \pm 129.9$  U/ml，疾病復發患者術前 CA125 數值為  $1,541.5 \pm 357.0$  U/ml，( $p = 0.006$ )。觀察期間存活患者術前 CA125 數值為  $991.7 \pm 181.7$  U/ml，觀察期間死亡患者術前 CA125 數值為  $884.5 \pm 386.4$  U/ml，( $p = 0.808$ )。

全部患者疾病復發的 Cox 迴歸模式分析如表六所示，在單變數分析模式中，組織學型態為漿液性癌(serous carcinoma)(風險比：2.07，95%信賴區間：1.27–3.37， $p = 0.004$ )、晚期癌症(風險比：4.73，95%信賴區間：2.74–8.19， $p < 0.001$ )、腫瘤細胞高惡性度(風險比：5.33，95%信賴區間：1.94–14.68， $p = 0.001$ )以及腫瘤減積手術術後殘餘腫瘤小於 1 公分(風險比：0.29，95%信賴區間：0.17–0.49， $p < 0.001$ )皆是疾病復發的重要風險因子。與術前 CA125 數值大於 35 U/ml(風險比：1.33，95%信賴區間：0.63–2.80， $p = 0.455$ )則非疾病復發的風險因子。進一步多變數分析模式中，晚期癌症(風險比：4.1，95%信賴區間：2.02–8.33， $p = 0.002$ )、腫瘤細胞高惡性度(風險比：6.77，95%信賴區間：2.02–22.74， $p < 0.001$ )與腫瘤減積手術術後殘餘腫瘤小於 1 公分(風險比：0.53，95%信賴區間：0.29–0.99， $p = 0.045$ )是疾病復發的重要風險因子。然而組織學型態為漿液性癌(serous carcinoma)(風險比：0.55，95%信賴區間：0.28–1.07， $p = 0.078$ )與術前 CA125 數值大於 35 U/ml(風險比：1.16，95%信賴區間：0.49–2.74， $p = 0.737$ )，未達顯著統計差異。


全部患者疾病死亡風險因子 Cox 迴歸模式分析如表六所示，在單變數分析



模式中，晚期癌症(風險比：3.64，95%信賴區間：1.64–8.08， $p=0.002$ )、腫瘤細胞高惡性度(風險比：4.19，95%信賴區間：1–17.56， $p=0.05$ )、腫瘤減積手術術後殘餘腫瘤小於 1 公分(風險比：0.26，95%信賴區間：0.13–0.51， $p<0.001$ )皆是疾病死亡的重要風險因子。然而組織學型態為漿液性癌(serous carcinoma)(風險比：0.51，95%信賴區間：0.24–1.08， $p=0.077$ )與術前 CA125 數值大於 35 U/ml(風險比：1.6，95%信賴區間：0.49–5.29， $p=0.437$ )則未達顯著統計差異，並非因疾病死亡的風險因子。進一步多變數分析模式中，組織學型態為漿液性癌(serous carcinoma)(風險比：0.11，95%信賴區間：0.05–0.28， $p<0.001$ )、晚期癌症(風險比：4.79，95%信賴區間：1.78–12.85， $p=0.002$ )、腫瘤細胞高惡性度(風險比：11.38，95%信賴區間：1.51–85.8， $p=0.018$ )是因疾病死亡的重要風險因子。然而腫瘤減積手術術後殘餘腫瘤小於 1 公分(風險比：0.45，95%信賴區間：0.19–1.07， $p=0.070$ )與術前 CA125 數值大於 35 U/ml(風險比：2.19，95%信賴區間：0.6–7.96， $p=0.235$ )，則未達顯著統計差異。

## 第四章：討論

### 第一節：建立新的卵巢癌預後指標-測量上皮性卵巢癌患者腹水 YKL-40 含量



卵巢癌診斷需要取得癌細胞，因卵巢切片檢查容易造成腹腔內出血，或是癌細胞擴散。故早期的卵巢癌診斷，除了術中冷凍切片之外，就要依靠術後的病理結果。晚期的卵巢癌，因為病患多有腹水，可先藉著腹水的體液細胞檢查，加上細胞蠟塊切片 (cell block)，在減積手術前便可以診斷並預測治療效果。視病患身體情況決定安排前導性化學治療，或是手術後再接受輔助性化學治療(Berek et al., 2018)。臨床上廣泛運用的腫瘤指標 CA125 與組織型態、癌症期別、腹水中是否含有惡性腫瘤細胞，以及病患是否復發相關。其中漿液性腺癌(serous carcinoma)、晚期癌症、腹水中含有惡性腫瘤細胞，以及疾病復發之病患術前 CA125 較高(表五)。但是 CA125 以 35U/mL 臨界值，並不能預測患者預後(表六)。

就目前查詢已發表在國際期刊的研究論文，並無使用腹水中的 YKL-40 作為評估治療效果或預後的文章。本研究發現腹水中 YKL-40 含量在晚期癌症、腹水中含有惡性腫瘤、疾病復發與死亡病例中含量高。腹水中高 YKL-40 含量是上皮性卵巢癌患者預後不佳的影響因子，且與日後輔助性化學治療的反應和預後相關(表三、表四)，將有助於治療決策的擬定，與術前的溝通。本研究可能受限於人數，在多變數分析下未達統計顯著。此外，特定細胞型態 YKL-40 含量的影響以及 YKL-40 的臨界值尚未達成共識，皆是以後研究的方向。

### 第二節：YKL-40 與卵巢癌

許多研究指出，血清(serum)、血漿(plasma)或組織中的 YKL-40 可作為評估卵巢癌患者的治療反應，或預後的指標。針對採用 ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay)方式獲得血漿中 YKL-40 濃度研究，發現與晚期卵巢癌病人的整體存活期及卵巢癌復發相關(Dehn et al., 2003; Høgdall et al., 2003; Hogdall et al., 2009)。針對化療抗藥性(chemotherapy-refractory)的晚期卵巢癌患者給予單一

藥物 bevacizumab 的研究發現，使用 bevacizumab 治療期間，血漿中 YKL-40 升高的患者的無惡化存活期間( $p=0.0001$ )與整體存活期較短( $p<0.0001$ )(Boisen et al., 2016)。一項研究檢視血清 CA125、血漿 YKL-40、total cell-free DNA(CFDNA)、cell-free nuclear DNA(CFnDNA)及 cell-free mitochondrial DNA(CFmDNA)與晚期卵巢癌患者臨床診斷與預後的研究，發現血清中的 CA125 和血漿中的 YKL-40 有助於晚期卵巢癌的偵測和治療反應的評估(Choudhuri et al., 2014)。

一項研究檢視血清 YKL-40、CA125 和 CA15-3 在診斷早期上皮性卵巢癌的效用，研究發現術後確診為卵巢癌的病患的術前血清 YKL-40 值，上升的人數比例高於 CA125 和 CA15-3 值上升的人數比例。早期卵巢癌病人的術前血清 YKL-40 值，上升的人數比例也高於 CA125 和 CA15-3 值上升的人數比例。此外，術前血清 YKL-40 值也隨著癌症期別增加而上升，並且血清 YKL-40 值高的早期卵巢癌病患的預後較差(Dupont et al., 2004)。一個卵巢癌復發患者血清 YKL-40 對化療抗藥性之預測效用研究，同樣發現 YKL-40 檢測值與卵巢癌復發患者二線用藥化療抗藥性有關(Gronlund et al., 2006)。一個檢視血清 YKL-40 與 CA125 在診斷上皮性卵巢癌的效用的研究，發現單獨採用 YKL-40 具有 92.9%的敏感性和 94.4%的特異性，若同時使用 YKL-40 和 CA125 則具有 98.2%的敏感性而特異性降至 81.3%，結論是單獨使用血清 YKL-40 值，或同時使用血清 YKL-40 值與 CA125 值皆有助於診斷卵巢癌。但血清 YKL-40 值不足以作為預後指標(Zou et al., 2010)。血清中 CA 125、HE4、YKL-40、bcl-2 和 cathepsin L 在卵巢癌患者的臨床治療效果評估之效用研究，發現只有血清 HE4 有助於預測腫瘤減積手術的完整性與鉑類化合物化學治療的反應(Chudecka-Głaz et al., 2014)。檢視血清 YKL-40 值與 CA125 在診斷上皮性卵巢癌效果的研究，發現針對早期卵巢癌患者而言，血清中的 YKL-40 並不見得較 CA125 更適合做為卵巢癌生化指標(Chudecka-Głaz et al., 2009)。

一項研究使用組織微陣列 (tissue microarray) 的免疫組織染色方法 (Immunohistochemical staining) 檢視卵巢癌組織中 YKL-40 表現與患者臨床預後

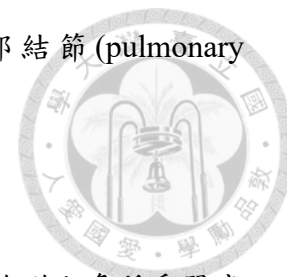
的關係，研究發現 YKL-40 表現與癌症分期有關，且 YKL-40 表現較高的卵巢癌患者存活期較短(Yang et al., 2009)。另一項研究將腫瘤細胞進行免疫染色，由有經驗的專家對樣本染色程度評分，發現晚期癌症與分化不良的組織中的 YKL-40 的評分較高。但是腫瘤組織中的評分高低與病患的預後並無統計相關(Hogdall et al., 2009)。一項研究檢視組織 YKL-40 與 Ki-67 在卵巢癌組織的表現，用半定量的免疫染色(Immunohistochemistry)方式將表現程度分為四類。研究發現在高度漿液性腺癌組織中，YKL-40 與 Ki-67 兩種蛋白質的表現都明顯增加，且呈現正相關(Stawerski et al., 2011)。

由此可知，利用組織、血清或血漿 YKL-40 作為卵巢癌患者的預後指標仍有疑慮與不足之處，可能受到患者其他共病影響或採取半定量方式計量。因此，在本研究使用腹水來測定 YKL-40 的表現，可以減低受其他惡性腫瘤或良性疾病的影響。

### 第三節：YKL-40 為具潛力的卵巢癌治療標的

過去研究認為 YKL-40 可以作為(1)診斷的工具(Craig-Schapiro et al., 2010)，(2)惡性腫瘤治療後的追蹤工具(Dönder & Özdemir, 2021; Fuksiewicz et al., 2018; Jensen et al., 2003)，與(3)預測的工具(Boisen et al., 2016)。YKL-40 蛋白質由 Chitinase-3-like-1 (*CHI3L1*) 基因所製造。從基因層次的角度發現，在心臟血管疾病中 miR-24 與 miR-342-3p 負向調控 YKL-40 的製造，而 miRNA-449a 調節 YKL-40 在 C 型肝炎患者的 NOTCH 訊號傳遞鏈。細胞層次上，細胞激素(cytokine)、生長激素(growth factor)與細胞外基質(mesothelial extracellular matrix, ECM)等物質都會影響 YKL-40 的製造。例如，在軟骨細胞中發現 IL-1 $\beta$ 與 TGF- $\beta$ 抑制製造 YKL-40，在活化的巨噬細胞(macrophage)中 Th1 細胞激素與 IFN- $\gamma$ 刺激製造 YKL-40，而 Th2 細胞激素與 IL-4 抑制 YKL-40 的製造(Zhao et al., 2020)。血漿或血清中的 YKL-40 在發炎反應下升高，例如：感染、風濕性關節炎(rheumatoid arthritis)、發炎性腸炎(inflammatory bowel disease)、糖尿病、冠狀動脈疾病(coronary artery

disease)、急性心肌梗塞(acute myocardial infarction)與肺部結節(pulmonary sarcoidosis)等(Roslind & Johansen, 2009)。



### (一) YKL-40 的生理活動

由 YKL-40 引發細胞內的訊號傳遞推論，YKL-40 會與細胞膜上多種受器產生交互作用(J. S. Johansen et al., 2009)，包括負責血管生成的 IL13 $\alpha$ 2 次單元(Boisen et al., 2016)。透過 MAPK 與 Akt 訊號傳遞鏈磷酸化，*CHI3L1* 促進滑膜細胞、軟骨細胞生長。透過 MAPK/NF- $\kappa$ B 傳遞鏈，*CHI3L1* 促進 IL-8 表現，刺激氣管平滑肌增生(Zhao et al., 2020)。YKL-40 也能促使免疫細胞活化與分化，目前已知對於巨噬細胞(macrophage)分化、樹突細胞(dendritic cells)增殖、毒殺型 T 細胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)表現與 Th1/Th2 平衡相關，並且有助於巨噬細胞成熟(Rehli et al., 2003; Zhao et al., 2020)。YKL-40 會隨時間變化地在分化與成熟期間的由單核球轉化而成的樹突細胞(monocyte-derived dendritic cells)中分布，分布範圍包含細胞質與細胞核之中。因活化的 T 細胞 Th2 細胞會表現 YKL-40，YKL-40 會透過 IFN- $\gamma$ 訊號傳遞鏈調節 Th1 和 Th2 的分化與毒殺型 T 細胞，所以經由此一機轉，YKL-40 未來可能做為腫瘤免疫治療的標的(Zhao et al., 2020)。

細胞外基質(Extracellular matrix, ECM)提供細胞結構支撐與生生物質傳遞，也是惡性腫瘤轉移與增生前的屏障。YKL-40 在惡性細胞中扮演增殖與分化的角色，避免細胞凋亡，刺激血管新生等功能。YKL-40 藉由細胞外基質(ECM)重塑，阻止腫瘤細胞凋亡(apoptosis)與維持細胞生長。YKL-40 可以抑制第一型膠原蛋白(type I collagen)與玻尿酸(hyaluronic acid)降解，並且影響基質金屬蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)酵素活性，進一步影響細胞附著與遷移(cell adhesion and migration)。研究發現使 *CHI3L1* 基因表現減量(knockdown)會減少 MMP-2 基因表現，顯著地影響腦膠質瘤(gliomas)細胞附著(Zhao et al., 2020)。

### (二) YKL-40 與血管新生

過去 *CHI3L1* 被發現可使臍靜脈內皮細胞定向遷移(directional migration)，





因此被認為與腫瘤血管內皮細胞重組(reorganization)與遷移相關。YKL-40 由癌細胞與癌細胞周圍的腫瘤相關巨噬細胞(tumor-associated macrophage, TAM)所分泌。腫瘤相關巨噬細胞分泌許多促進腫瘤生長的因子，包括血管內皮生長因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)、表皮生長因子 (Epidermal growth factor, EGF)、鹼性纖維母細胞生長因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、血小板衍生生長因子 (Platelet-derived growth factor, PDGF)、細胞激素 (IL-1, IL-6)、化學激活素 (CCL-2、CCL-18 及 CXCL-12)(Shao, 2013)。YKL-40 具有促進腫瘤血管生成 (angiogenic)的特性已經用異種移植 (xenograft)方式在乳癌、大腸癌與多形性膠質母細胞瘤 (glioblastoma multiforme) 等研究中證實(Shao, 2013)。

在腫瘤微環境中，腫瘤細胞利用旁分泌(paracrine)方式，分泌血管生成因子誘發血管生成反應。YKL-40 與血管內皮生長因子都是腫瘤細胞所分泌，但是研究發現，YKL-40 所誘發的血管生成反應與血管內皮生長因子互相獨立，即非 VEGF 依賴型(VEGF-independent)。因為給予血管內皮生長因子的中和抗體，並不影響 YKL-40 所誘發的轉移與血管生成。調節 YKL-40 製造血管內皮生長因子的機轉，為經由基因沈默機制中的短髮夾狀 RNA (small hairpin RNA, shRNA)，減少製造血管內皮生長因子。但是實驗卻也發現，抑制血管內皮生長因子一周會減少 YKL-40 的表現。這個現象可以說明細胞為了生存與保持功能，若有某個生長因子遭到長期抑制，則該細胞會誘發其他可刺激生長的因子 (Holst et al., 2021; Shao, 2013)。最近一個針對大腸直腸癌的研究發現，癌症相關纖維母細胞(cancer associated fibroblasts, CAFs)與某些大腸直腸癌細胞株(cell line)會分泌 CHI3L1 蛋白(即 YKL-40)。CHI3L1 基因可以調節細胞激素 IL-8 與 VEGFA (vascular endothelial growth factor-A)的表現，癌症相關纖維母細胞 (CAFs)影響大腸直腸癌的腫瘤生長，其中部分機轉涉及 YKL-40。使 CHI3L1 基因減弱(knockdown)，或給予對抗 YKL-40 的抗體會抑制血管新生(Watanabe et al., 2022)。

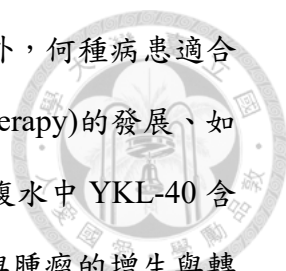
目前已進一步證實，血管新生的功能同時影響的途徑包括 VEGF 依賴型 (VEGF-dependent) 與非 VEGF 依賴型 (VEGF-independent) (Zhao et al., 2020)。過去已發現卵巢癌透過 Akt 與 Erk 訊號傳遞鏈產生的腫瘤團塊 (tumor spheroids) 具有腫瘤幹細胞 (cancer stem cells) 的特性，*CHI3L1* 基因表現較高，較有化療抗性，阻斷 *CHI3L1* 基因表現可以抑制腫瘤生長 (Lin et al., 2019)。因此了解腫瘤微環境與轉移的機轉，將有助於阻止腫瘤遠端轉移。

### (三) 以 YKL-40 為治療工具

過去的小型研究發現，從小鼠腫瘤製造對抗 YKL-40 的單株抗體可以阻止腫瘤血管新生與遠端轉移 (Faibish et al., 2011)。從細胞層次切入，可能藉著阻斷 YKL-40 生理功能，進而阻止腫瘤生長。採用人類肺癌 A549 的小鼠腫瘤模式，給予抗 *Chi3L1* 抗體進行活體外與活體內實驗，發現 *Chi3L1* 抗體經由抑制 STAT6 調節 M2 巨噬細胞極化、腫瘤生成與癌症轉移 (Yu et al., 2021)。過去認為 *CHI3L1* 蛋白調節 PD-1 與 PD-L1，並抑制腫瘤轉移。在小鼠肺部黑色素細胞癌的模型中，給予抗 *Chi3L1* 抗體加上抗 PD-1 抗體的抗腫瘤效果，比單用任一種抗體的效果更好 (Ma et al., 2021)。另一個針對大腸癌治療的體外實驗發現，*CHI3L1* 可能是透過負向調控 p53 的表現，來增強大腸癌組織對於上皮生長因子接受器 (epidermal growth factor receptor; EGFR) 的阻斷劑 Cetuximab 的敏感性 (Liu et al., 2020)。抗 *Chi3L1* 抗體合併放射治療，比單獨使用其中一種治療方式，更能有效抑制小鼠腦部的膠質母細胞瘤 (glioblastoma) 生長，並延長小鼠存活時間 (Shao et al., 2014)。如此 YKL-40 除了診斷、追蹤與預測的用途之外，將有機會成為標靶治療的工具。

## 第五章：展望

大多數卵巢癌病患皆面臨復發、復發後治療，以及復發治療後與下次復發期間越來越縮短的治療難題。除了嚴重影響患者生活品質之外，所造成的成本，也是社會與家庭的沉重負擔。所以，近年來研究的重點在於術後輔助治療，延長下



次復發的期間。除了加入已經成為普遍使用的 bevacizumab 之外，何種病患適合與如何使用 PARP 抑制劑(PARP inhibitor)、免疫治療(immune therapy)的發展、如何與現有化學治療藥物搭配，是未來努力的方向。本研究發現腹水中 YKL-40 含量與卵巢癌復發與患者死亡相關，許多研究也認為 YKL-40 與腫瘤的增生與轉移相關，而給予對抗 YKL-40 的單株抗體能夠有效的阻止多種癌細胞增生與轉移。大量腹水是卵巢癌患者的特徵，結合現有研究與本研究證實腹水中含有 YKL-40。從細胞層次切入，可能藉著阻斷 YKL-40 生理功能，進而阻止卵巢癌生長。如此 YKL-40 除了診斷、追蹤與預測的用途之外，將有機會成為標靶治療的工具，以期改善患者生活品質。



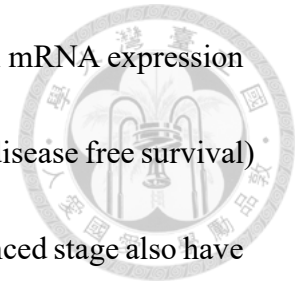
## Chapter 1: INTRODUCTION

Epithelial ovarian cancer (EOC) is the most common ovarian cancer, which is the one of the gynecologic malignancies happened all the world. Because of no specific symptoms at an early stage, most cases are diagnosed at advanced stages (stage III–IV) with disseminated intra-abdominal metastasis (Table 1). Current standard treatments for ovarian cancer include tumor debulking and carboplatin/paclitaxel chemotherapy and disease recurrence occurs in the nearly future (Luo et al., 2016).

Ovarian cancer is characterized by rapid growth (Ahmed & Stenvers, 2013). A recognized transcoelomic route of ovarian cancer is its ability to seed the peritoneal cavity and the formation of ascites (Ahmed & Stenvers, 2013; Tan et al., 2006). Through a series of processes including cellular proliferation, epithelial-to-mesenchymal transition (EMT), and mesenchymal-to-epithelial transition (MET) for migration to distant sites and colonization, tumor cells extended to distant sites (Ahmed & Stenvers, 2013). The steps of cancer progression involving disrupting of the tumor capsules and shedding of cells into the peritoneum in the ascites.

YKL-40, encoded by the chitinase-3-like-1 (*CHI3L1*), is a 40 kDa heparin-binding glycoprotein. YKL-40 mRNA and protein expression are expressed in all germ layers of human embryos and in cancer cell tissues (Julia S Johansen et al., 2009; Shao et al., 2009). Elevated serum levels of YKL-40 have been found to be associated with poor

prognosis in patients with solid cancers. In our previous study, high mRNA expression level of *CHI3L1* correlated with chemoresistance and shorter DFS (disease free survival) and OS (over-all survival). Besides, serous histologic type and advanced stage also have overexpression of *CHI3L1* (Chiang et al., 2015; Lin et al., 2019). In the study, we measured the expression of YKL 40 in the ascites of EOC patients and correlated it with the clinical outcomes.



## **Chapter 2: MATERIALS AND METHODS**

After the approval of the study protocols by the Institutional Review Board of National Taiwan University Hospital, the ascites of 150 epithelial ovarian cancer (EOC) patients were collected. The clinic-pathologic parameters and their outcome such as age, stage, chemotherapy regimens, recurrence status, and survival were also acquired.

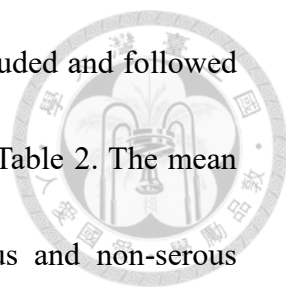
These specimens of ascites were separated into supernatant or sera and cellular components by centrifugation at 1400g for 10 minutes. The supernatant, 1 ml, were stored at 4°C and moved to store at -30°C one hour later. After one day, the supernatant were stored at -80°C. Tumor-associated cells of the ascites were prepared with Ficoll-Paque solution (Amersham Biosciences, Uppsala, Sweden) for separation of immunocytes. After centrifuging the ascites/Ficoll-Paque gradients at 600g for 30 min, the layer containing immunocytes were transferred to another centrifuge tube, washed twice in 10 ml of Hanks' balanced salt solution, then centrifuged at 1200g for 10 min

and stored at -135°C until the following experiments.

To evaluate the YKL40 level in the ascites of EOC patients, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was performed (Human YKL40 ELISA KIT; Thermo Fisher Scientific, Inc.). Briefly, a 96-microwell plate was coated with the corresponding antibody and incubated at 4°C overnight. The wells were then blocked with phosphate-buffered saline (PBS) containing 20% fetal bovine serum. The ascites were serially diluted in PBS, added to the ELISA wells, and incubated at 37°C for 2 hr. After washing with PBS containing 0.05% Tween 20, the plate was incubated with a 1:2000 dilution of a peroxidase-conjugated rabbit anti-mouse IgG antibody at room temperature for 1 hr. The plate was washed, developed with 1-Step Turbo TMB-ELISA, and stopped with 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. The ELISA plate was read with a standard ELISA reader at 450 nm.

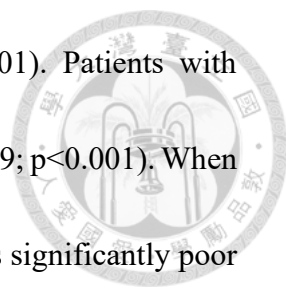
Data was analyzed by Statistical Package of Social Studies software (SPSS for windows, version 22.0C, SPSS Inc.). One-way analysis of variance (ANOVA) test was used for continuous variables. Survival curves were generated using the Kaplan-Meier method and differences in survival curves were calculated using the log rank test. Cox's regression analyses were used to evaluate prognostic factors for disease free survival (DFS) and overall survival (OS). A P value < 0.05 was considered statistically significant.

### **Chapter 3: RESULTS**



From January 2011 to June 2018, 150 EOC patients were included and followed up till March 2021. The characteristics of all patients are listed in Table 2. The mean age of the patients was 53.76 years (range 31-77 years). Serous and non-serous histology was available for 38.7% (58/150) and 61.3% (92/150) patients, respectively. One hundred and nineteen (79.4 %) patients were histological grade III. Eighty (53.3%) patients were in the early stage (FIGO stage I-II) while the rest were in the advanced stage (FIGO stage III-IV). Optimal and suboptimal debulking surgery was available for 77.3% (116/150) and 22.7% (34/150) patients, respectively. About eighty-three percent (124/150) of the patients had received platinum-based chemotherapy while the rest were received chemotherapy without platinum or surgery alone. Sixty-six (44%) patients had disease recurrence. At the time of follow up, 33 patients (22%) had died. The expression of YKL-40 in ascites of EOC patients were associated with FIGO stage, ascites cytology, tumor recurrence and tumor related death (Table 3).

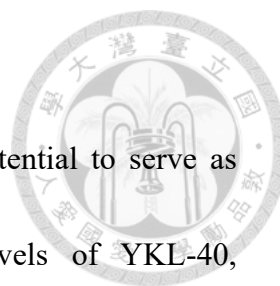
High YKL40 levels were defined as higher than the upper third levels. The patients with high YKL40 levels had a significantly shorter disease-free survival (DFS) and overall survival (OS) in the analysis of Kaplan-Meier survival curves (Figure 1 and 2). Table 4 showed Cox-regression model. In univariate analysis, patients with serous histology were associated with shorter DFS (HR, 2.07; P=0.004). Patients with advanced stage were associated with shorter DFS (HR, 4.73; p<0.001). Patients with



high grade were associated with shorter DFS (HR, 5.33; P=0.001). Patients with optimal debulking surgery were associated with longer DFS (HR, 0.29; p<0.001). When cut-offs for YKL-40 level were set at the upper third level, DFS was significantly poor for the patients with high YKL-40 values (HR, 3.38; p<0.001). In multivariate Cox regression analysis showed that the only independent prognostic factors were advanced stage (HR, 4.03; p<0.001) and high grade (HR, 4.71; p=0.004), whereas histological type of the tumor (p=0.078) and optimal debulking (p=0.081) and YKL-40 level (p=0.076) did not reach statistically significant.

In univariate analysis, patients with serous histology were associated with a trend toward longer OS (HR, 0.51; P=0.077) which did not reach statistically significant. Patients with advanced stage were associated with shorter OS (HR, 3.64; P=0.002). Patients with high grade were associated with shorter OS (HR, 4.19; P=0.05). Patients with optimal debulking surgery were associated with longer OS (HR, 0.26; p<0.001). When cut-offs for YKL-40 level were set at the upper third level, OS was significantly poor for the patients with high YKL-40 values (HR, 3.56; p<0.001). In multivariate Cox regression analysis showed that the only independent prognostic factors were histological type of the tumor (HR, 0.11; p<0.001), advanced stage (HR, 4.49; p=0.002) and high grade (HR, 4.72; p=0.038) and YKL-40 level (HR, 2.54; p=0.024), whereas optimal debulking (p=0.081) did not reach statistically significant.

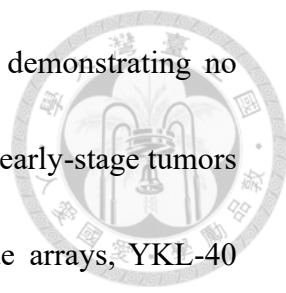




## Chapter 4: DISCUSSION

YKL-40 in serum, plasma and tissue were evaluated the potential to serve as diagnostic, prognostic, predictive biomarkers. The plasma levels of YKL-40, determined by ELISA, may play a role to predict disease recurrence and survival (Choudhuri et al., 2014; Dehn et al., 2003; Høgdall et al., 2003; Hogdall et al., 2009). Bevacizumab, an antibody against VEGF, has been added to standard chemotherapy in ovarian cancer. Because of the recent finding that YKL-40 promotes angiogenesis in a VEGF-independent manner, a study tested a prespecified hypothesis with a biological rationale which is the prognostic value of plasma YKL-40 in ovarian cancer patients treated with bevacizumab (Boisen et al., 2016). They concluded low plasma YKL-40 at baseline and during treatment is associated with improved outcomes in patients with chemotherapy-refractory advanced ovarian cancer treated with single-agent bevacizumab (Boisen et al., 2016). Currently, CHI3L1 is increasingly acknowledged as an angiogenic stimulator, which promotes tumor angiogenesis through VEGF-dependent and VEGF-independent pathways (Zhao et al., 2020).

Serum YKL-40 may represent a marker for the detection of ovarian cancer. YKL-40 levels increased with stage, regardless of grade, histology. In early-stage patients may also predict disease recurrence and survival (Dupont et al., 2004). High serum levels of YKL-40 was associated with increased risk of second-line chemoresistance



(Gronlund et al., 2006). However, one study for serum YKL-40 demonstrating no advantage over CA 125 as a biomarker, particularly in women with early-stage tumors (Chudecka-Głaz et al., 2009). By immunohistochemistry in tissue arrays, YKL-40 expression was determined to be related to ovarian stage and prediction for the prognosis of ovarian cancer (Yang et al., 2009). While, another study did not conclude YKL-40 in tissue is a prognostic biomarker (Hogdall et al., 2009). More research is needed to serve YKL-40 in serum, plasma or tissue as biomarkers, because of the glycoprotein being affected by many benign and malignant diseases or assessed semiquantitatively.

Blockade of the function of YKL-40 as a therapeutic agent had been explored. A mouse monoclonal anti-YKL-40 antibody restrained tumor growth, angiogenesis, and progression (Faibish et al., 2011). Anti-CHI3L1 antibody regulated tumor growth and metastasis through STAT6-dependent M2 polarization inhibition in lung cancer (Yu et al., 2021). The simultaneous targeting of CHI3L1 and the PD-1/PD-L1 axis with bispecific antibodies represents a promising therapy for pulmonary metastasis and progression (Ma et al., 2021). The combination of anti-YKL-40 neutralizing antibody and ionizing irradiation led to dramatic inhibition in tumor growth and increases in mouse survival (Shao et al., 2014).

There are no published studies on YKL-40 expression in ascites, and to our

knowledge no publications exist on a close association between YKL-40 in ascites and survival in patients with ovarian cancer. Our study showed YKL-40 expression in ascites was a poor prognostic factor for EOC patients. EOC patients with advanced stage, malignant ascites, tumor recurrence and tumor-related death had significantly higher YKL-40 levels in ascites. Higher expression of YKL-40 in ascites of EOC patients were associated with shorter DFS and OS. The anti-YKL-40 antibody represents a promising therapy in other malignant diseases and could also be a promising therapy in ovarian patients.

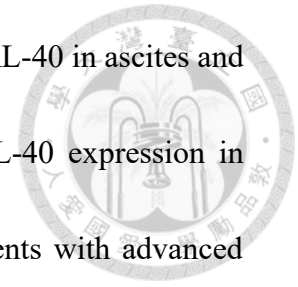


Table 1 FIGO Ovarian cancer staging

FIGO 分期	腫瘤侵犯範圍
I	腫瘤侷限在卵巢及其附屬器
IA	腫瘤侷限於單側卵巢或其附屬器
IB	腫瘤侷限於雙側卵巢或其附屬器
IC	腫瘤仍侷限於單側或雙側卵巢或其附屬器，且有以下情況
IC1	術中破裂(surgical spill)
IC2	術前卵巢被膜(capsule)已破裂或卵巢表面有腫瘤
IC3	腹水或腹腔沖洗液中有癌細胞
II	腫瘤侵犯卵巢及其附屬器，並且有骨盆腔擴散
IIA	腫瘤侵犯至子宮或卵巢或輸卵管表面
IIB	腫瘤侵犯至骨盆腔內的其他組織
III	腫瘤侵犯單側或兩側卵巢及其附屬器，或腹膜癌，有骨盆腔以外的腹膜轉移，或後腹腔的淋巴結轉移
III A1	細胞學或組織學證實後腹腔淋巴結轉移
III A1(i)	腫瘤轉移小於或等於 10 mm
III A1(ii)	腫瘤轉移大於 10 mm
III A2	組織學證實腹腔轉移，且有或無後腹腔淋巴結轉移
IIIB	腹膜腔表面腫瘤，小於或等於 2cm，且有或無後腹腔淋巴結轉移
IIIC	腹膜腔表面腫瘤，大於 2cm，且有或無後腹腔淋巴結轉移
IV	遠端轉移不含腹膜腔
IVA	肋膜積水中有癌細胞
IVB	肝臟或脾臟實質侵犯，腹腔外轉移(包含腹股溝淋巴結與腹腔外淋巴結)

Table 2 Clinicopathological characteristics of the 150 women with EOC

	Number	Percentage (%)
Total patients	150	100
Age (years)	53.76 ± 10.5	
Histology		
Serous	58	38.7
Non-serous	92	61.3
Grade		
Low (I+II)	31	20.6
High (III)	119	79.4
Not available	0	0
FIGO stage		
Early (I+II)	80	53.3
Advanced (III+IV)	70	46.7
Debulking		
Optimal	116	77.3
Suboptimal	34	22.7
Platinum-based chemotherapy		
With paclitaxel	124	82.7
Without paclitaxel	26	17.3
Recurrence		
Yes	66	44
No	82	54.7
Death		
Yes	33	22
No	117	78

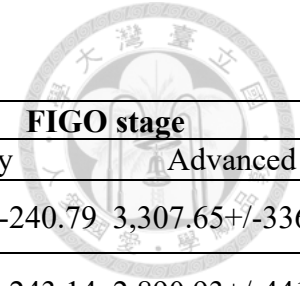


Table 3 Mean expression levels of YKL-40 of the patients and subgroup analysis\*

	Numbers	Histology			Grade			FIGO stage		
		Serous	N-serous <sup>+</sup>	p value	Low	High	p value	Early	Advanced	p value
<b>Total patients</b>	150	2,575.98+/-331.59	1,909.26+/-290.15	0.141	1,367.1+/-447.17	2,373.11+/-249.45	0.057	1,169.03+/-240.79	3,307.65+/-336.51	<0.001
<b>Optimally debulked patients</b>	116	2,171.77+/-416.7	1,519.53+/-281.25	0.189	1,436.28+/-501.69	1,830.6+/-265.32	0.479	1,108.99+/-243.14	2,890.93+/-441.01	0.001
<b>Patient with platinum based chemotherapy#</b>	124	2,739.75+/-361.17	2,047.26+/-337.23	0.172	1,519.45+/-548.36	2,527.11+/-276.91	0.11	1,340.26+/-302.87	3,261.91+/-354.15	<0.001
<b>Patients with chemo-sensitivity<sup>s</sup></b>	106	2,644.9+/-387.02	1,608.42+/-332.24	0.044	1,151.99+/-513.41	2,283.22+/-288.9	0.063	1,264.24+/-297.57	2,960.66+/-395.28	0.001
	Numbers	Ascites cytology			Recurrence			Outcome		
		No	Yes	p value	No	Yes	p value	Alive	Death	p value
<b>Total patients</b>	150	1,100+/-215.9	3,286.98+/-355.73	<0.001	1,470.88+/-259.8	3,052.98+/-355.84	<0.001	1,791.83+/-231.46	3,497.41+/-516.94	0.001
<b>Optimally debulked patients</b>	116	1,013.53+/-220.54	2,883.41+/-456.66	<0.001	1,262.66+/-254.58	2,547.17+/-437.66	0.013	1,536.22+/-240.41	2,918.61+/-724.47	0.036
<b>Patient with platinum based chemotherapy#</b>	124	1,206.3+/-260.11	3,386.35+/-383.33	<0.001	1,540.97+/-298.62	3,205.88+/-386.2	0.001	1,966.21+/-265.11	3,478.46+/-565.62	0.009
<b>Patients with chemo-sensitivity<sup>s</sup></b>	106	1,061.92+/-241.86	3,316.9+/-435.43	<0.001	1,540.97+/-298.62	2,829.15+/-441.19	0.018	1,841.11+/-270.78	2,997.77+/-676.48	0.082

\* The expression level was calculated using the 2- $\Delta\Delta$ Ct method

# Patients with platinum-based chemotherapy indicated patients who received platinum combined with paclitaxel chemotherapy

\$ Patients with chemo-sensitivity indicated DFS of patients who received chemotherapy was more than 6 months

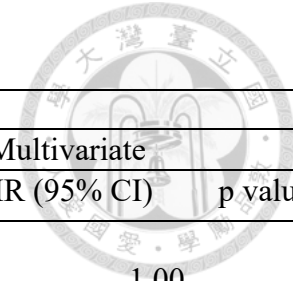


Table 4 Cox regression model for the risk factors for recurrence and death

	Numbers	Recurrence				Death			
		Univariate		Multivariate		Univariate		Multivariate	
		HR (95% CI)	p value	HR (95% CI)	p value	HR (95% CI)	p value	HR (95% CI)	p value
<b>Histology</b>									
Non-serous	92	1.00		1.00		1.00		1.00	
Serous	58	2.07 (1.27-3.37)	0.004	0.59 (0.33-1.06)	0.078	0.51 (0.24-1.08)	0.077	0.11 (0.05-0.26)	<0.001
<b>FIGO stage</b>									
Early	80	1.00		1.00		1.00		1.00	
Advanced	70	4.73 (2.74-8.19)	<0.001	4.03 (2.00-8.12)	<0.001	3.64 (1.64-8.08)	0.002	4.49 (1.72-11.73)	0.002
<b>Grade</b>									
Low	31	1.00		1.00		1.00		1.00	
High	119	5.33 (1.94-14.68)	0.001	4.71 (1.63-13.56)	0.004	4.19 (1.00-17.56)	0.050	4.72 (1.09-20.46)	0.038
<b>Debulking surgery</b>									
Suboptimal	34	1.00		1.00		1.00		1.00	
Optimal	116	0.29 (0.17-0.49)	<0.001	0.6 (0.34-1.07)	0.081	0.26 (0.13-0.51)	<0.001	0.5 (0.23-1.09)	0.081
<b>YKL-40 expression in ascites</b>									
Low	99	1.00		1.00		1.00		1.00	
High	51	3.38 (2.06-5.53)	<0.001	1.63 (0.95-2.81)	0.076	3.56 (1.77-7.16)	<0.001	2.54 (1.13-5.69)	0.024

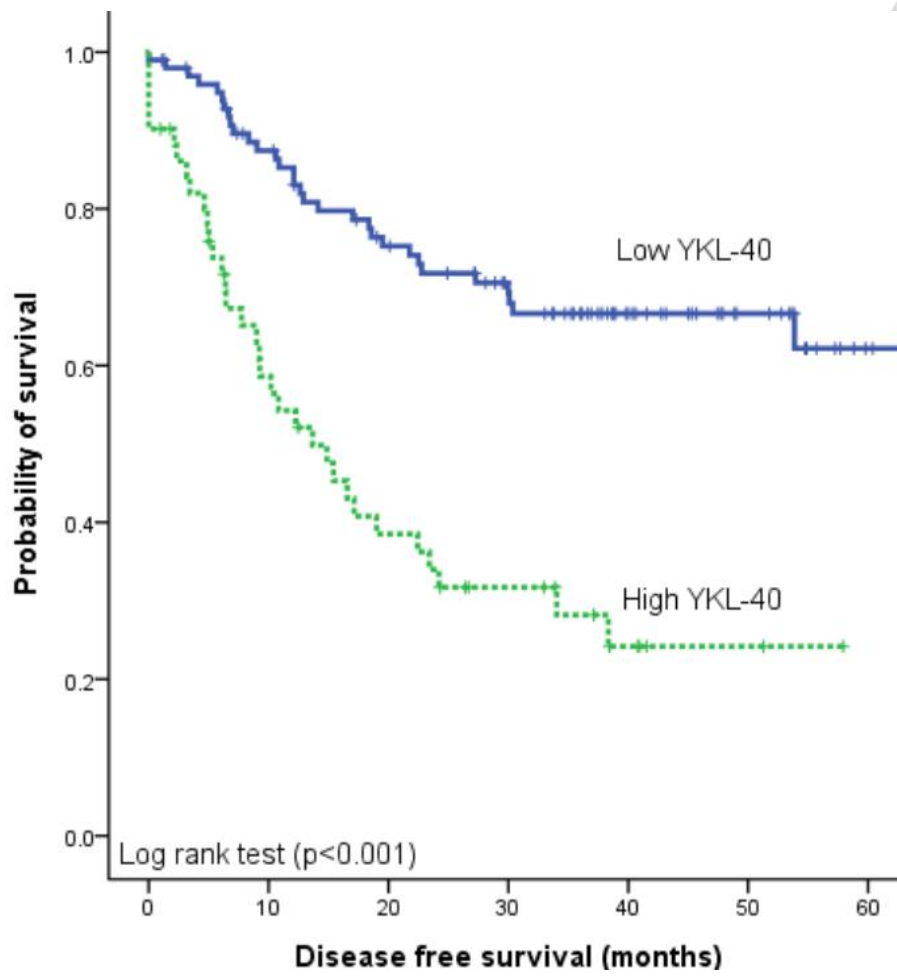


Figure 1 Disease free survival of the patients in different level of YKL-40



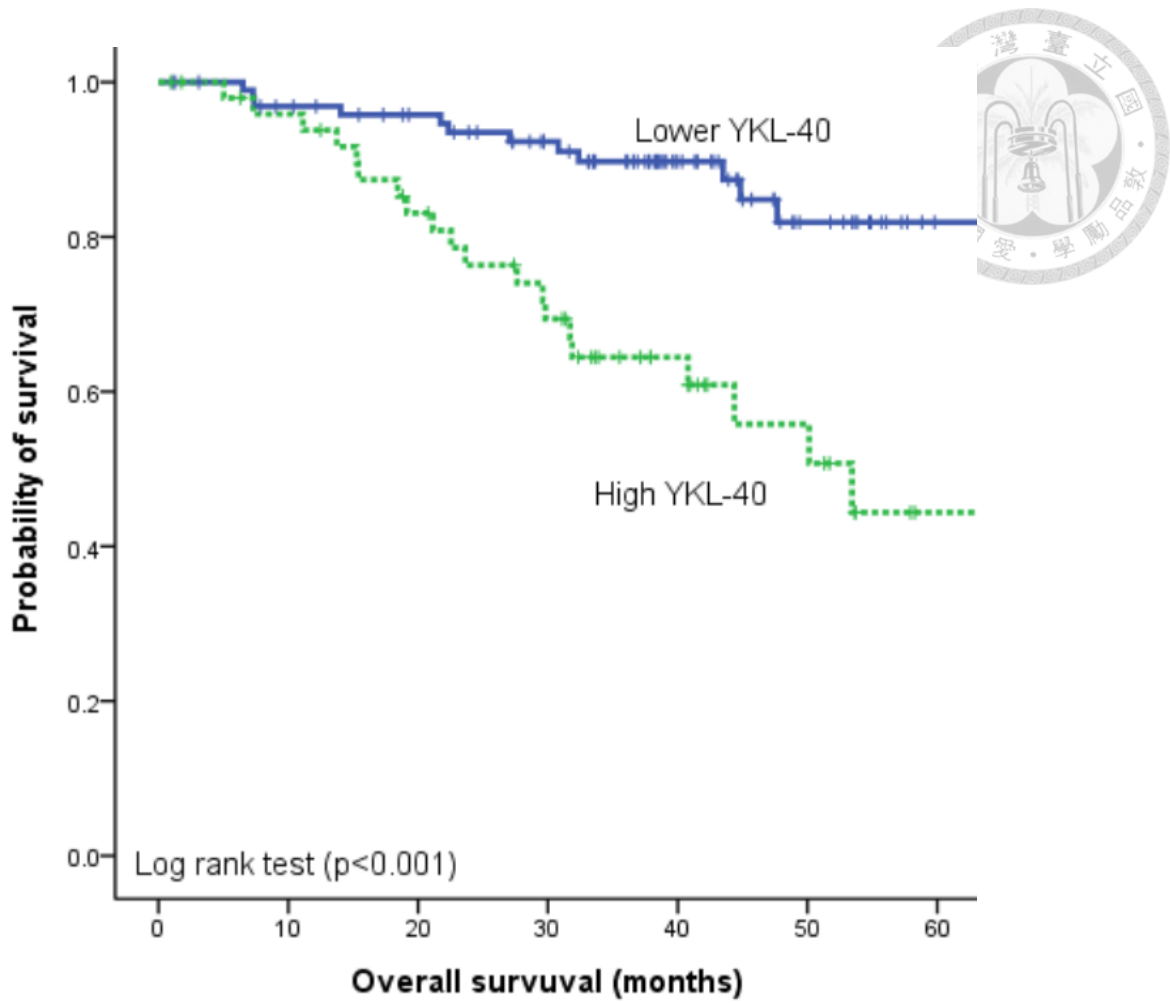


Figure 2 Overall survival of the patients in different level of YKL-40

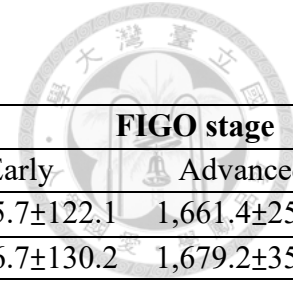


Table 5 Mean expression levels of CA125 of the patients and subgroup analysis

CA125	Histology				Grade			FIGO stage		
	Numbers	Serous	N-serous	p value	low	High	p value	Early	Advanced	p value
<b>Total patients</b>	141	1,836.3±293.2	527.3±120.8	<0.001	869.4±283.9	1,058.1±165.2	0.596	485.7±122.1	1,661.4±258.7	<0.001
<b>Optimal debulked patients</b>	110	1,722.7±362.5	500.7±126.2	<0.001	966.0±325.8	895.8±180.1	0.852	506.7±130.2	1,679.2±352.5	<0.001
<b>Patient with platinum based chemotherapy#</b>	117	1,955.4±327.4	525.0±123.5	<0.001	809.7±267.9	1,151.7±189.2	0.411	446.4±115.4	1,739.4±280.7	<0.001
<b>Patients with chemo-sensitivity\$</b>	101	1,773.5±326.1	404.2±110.8	<0.001	761.7±282.7	1,025.9±192.3	0.523	415.7±116.2	1,667.9±310.0	<0.001
	Ascites cytology				Recurrence			Outcome		
	Numbers	No	Yes	p value	No	Yes	p value	Alive	Death	p value
<b>Total patients</b>	141	619.7±135.3	1,516.9±260.8	0.002	635.2±131.2	1,442.4±265.4	0.004	1,091.8±171.2	751.3±226.5	0.333
<b>Optimal debulked patients</b>	110	586.7±142.6	1,469.9±333.4	0.006	606.1±140.9	1,446.7±341.2	0.009	937.5±174.3	748.6±336.6	0.682
<b>Patient with platinum based chemotherapy#</b>	117	559.9±126.7	1,679.0±291.6	0.001	617.9±129.9	1,543.4±293.9	0.003	1,183.3±195.7	767.6±251.5	0.281
<b>Patients with chemo-sensitivity\$</b>	101	504.2±125.8	1,600.9±319.4	0.001	617.9±129.9	1,541.5±357.0	0.006	991.7±181.7	884.5±386.4	0.808

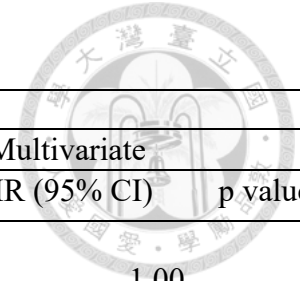


Table 6 Cox regression model of CA125 for the risk factors for recurrence and death

	<b>Recurrence</b>					<b>Death</b>			
	Numbers	Univariate		Multivariate		Univariate		Multivariate	
		HR (95% CI)	p value	HR (95% CI)	p value	HR (95% CI)	p value	HR (95% CI)	p value
<b>Histology</b>									
Non-serous	92	1.00		1.00		1.00		1.00	
Serous	58	2.07 (1.27-3.37)	0.004	0.55 (0.28-1.07)	0.078	0.51 (0.24-1.08)	0.077	0.11 (0.05-0.28)	<0.001
<b>FIGO stage</b>									
Early	80	1.00		1.00		1.00		1.00	
Advanced	70	4.73 (2.74-8.19)	<0.001	4.1 (2.02-8.33)	0.002	3.64 (1.64-8.08)	0.002	4.79 (1.78-12.85)	0.002
<b>Grade</b>									
Low	31	1.00		1.00		1.00		1.00	
High	119	5.33 (1.94-14.68)	0.001	6.77 (2.02-22.74)	<0.001	4.19 (1.00-17.56)	0.050	11.38 (1.51-85.8)	0.018
<b>Debulking surgery</b>									
Suboptimal	34	1.00		1.00		1.00		1.00	
Optimal	116	0.29 (0.17-0.49)	<0.001	0.53 (0.29-0.99)	0.045	0.26 (0.13-0.51)	<0.001	0.45 (0.19-1.07)	0.070
<b>CA125</b>									
Low (< 35 U/mL)	21	1.00		1.00		1.00		1.00	
High	120	1.33 (0.63-2.80)	0.455	1.16 (0.49-2.74)	0.737	1.60(0.49-5.29)	0.437	2.19 (0.60-7.96)	0.235

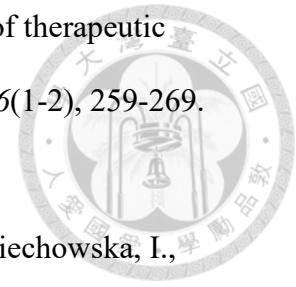
參考文獻



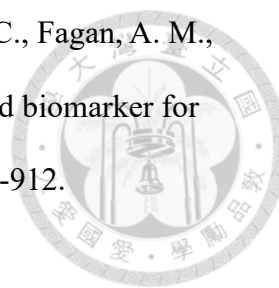
- Ahmed, N., & Stenvers, K. L. (2013). Getting to know ovarian cancer ascites: opportunities for targeted therapy-based translational research. *Front Oncol*, 3, 256. <https://doi.org/10.3389/fonc.2013.00256>
- Berek, J. S., Kehoe, S. T., Kumar, L., & Friedlander, M. (2018). Cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum. *Int J Gynaecol Obstet*, 143 Suppl 2, 59-78. <https://doi.org/10.1002/ijgo.12614>
- Bernardi, D., Padoan, A., Ballin, A., Sartori, M., Manara, R., Scienza, R., Plebani, M., & Della Puppa, A. (2012). Serum YKL-40 following resection for cerebral glioblastoma. *J Neurooncol*, 107(2), 299-305. <https://doi.org/10.1007/s11060-011-0762-7>
- Boisen, M. K., Madsen, C. V., Dehlendorff, C., Jakobsen, A., Johansen, J. S., & Steffensen, K. D. (2016). The Prognostic Value of Plasma YKL-40 in Patients With Chemotherapy-Resistant Ovarian Cancer Treated With Bevacizumab. *Int J Gynecol Cancer*, 26(8), 1390-1398. <https://doi.org/10.1097/igc.0000000000000798>
- Bonifácio, V. D. B. (2020). Ovarian Cancer Biomarkers: Moving Forward in Early Detection. In J. Serpa (Ed.), *Adv Exp Med Biol* (Vol. 1219, pp. 355-363). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-34025-4\\_18](https://doi.org/10.1007/978-3-030-34025-4_18)
- Chiang, Y. C., Lin, H. W., Chang, C. F., Chang, M. C., Fu, C. F., Chen, T. C., Hsieh, S. F., Chen, C. A., & Cheng, W. F. (2015). Overexpression of CHI3L1 is associated with chemoresistance and poor outcome of epithelial ovarian carcinoma. *Oncotarget*, 6(37), 39740-39755. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.5469>
- Choudhuri, S., Sharma, C., Banerjee, A., Kumar, S., Kumar, L., & Singh, N. (2014). A

repertoire of biomarkers helps in detection and assessment of therapeutic response in epithelial ovarian cancer. *Mol Cell Biochem*, 386(1-2), 259-269.

<https://doi.org/10.1007/s11010-013-1863-8>



- Chudecka-Głaz, A., Górski, B., Zielińska, D., Błogowski, W., Wojciechowska, I., Bedner, R., & Rzepka-Górska, I. (2009). Serum YKL-40 levels in patients with ovarian cancer and women with BRCA1 gene mutation--comparison to CA 125 antigen. *Eur J Gynaecol Oncol*, 30(6), 668-671.
- Chudecka-Głaz, A. M., Cymbaluk-Płoska, A. A., Menkiszak, J. L., Sompolska-Rzechuła, A. M., Tołoczko-Grabarek, A. I., & Rzepka-Górska, I. A. (2014). Serum HE4, CA125, YKL-40, bcl-2, cathepsin-L and prediction optimal debulking surgery, response to chemotherapy in ovarian cancer. *J Ovarian Res*, 7, 62. <https://doi.org/10.1186/1757-2215-7-62>
- Coleman, R. L., Fleming, G. F., Brady, M. F., Swisher, E. M., Steffensen, K. D., Friedlander, M., Okamoto, A., Moore, K. N., Efrat Ben-Baruch, N., Werner, T. L., Cloven, N. G., Oaknin, A., DiSilvestro, P. A., Morgan, M. A., Nam, J. H., Leath, C. A., 3rd, Nicum, S., Hagemann, A. R., Littell, R. D., . . . Bookman, M. A. (2019). Veliparib with First-Line Chemotherapy and as Maintenance Therapy in Ovarian Cancer. *N Engl J Med*, 381(25), 2403-2415. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1909707>
- Corradi, M., Goldoni, M., Alinovi, R., Tiseo, M., Ampollini, L., Bonini, S., Carbognani, P., Casalini, A., & Mutti, A. (2013). YKL-40 and mesothelin in the blood of patients with malignant mesothelioma, lung cancer and asbestosis. *Anticancer Res*, 33(12), 5517-5524.
- Craig-Schapiro, R., Perrin, R. J., Roe, C. M., Xiong, C., Carter, D., Cairns, N. J., Mintun, M. A., Peskind, E. R., Li, G., Galasko, D. R., Clark, C. M., Quinn, J.



F., D'Angelo, G., Malone, J. P., Townsend, R. R., Morris, J. C., Fagan, A. M., & Holtzman, D. M. (2010). YKL-40: a novel prognostic fluid biomarker for preclinical Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry*, 68(10), 903-912.

<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.08.025>

Dönder, A., & Özdemir, H. H. (2021). Serum YKL-40 levels in patients with multiple sclerosis. *Arq Neuropsiquiatr*, 79(9), 795-798. <https://doi.org/10.1590/0004-282x-anp-2020-0326>

Dehn, H., Hogdall, E. V., Johansen, J. S., Jorgensen, M., Price, P. A., Engelholm, S. A., & Hogdall, C. K. (2003). Plasma YKL-40, as a prognostic tumor marker in recurrent ovarian cancer. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 82(3), 287-293.

<https://doi.org/10.1034/j.1600-0412.2003.00010.x>

Dochez, V., Caillon, H., Vaucel, E., Dimet, J., Winer, N., & Ducarme, G. (2019). Biomarkers and algorithms for diagnosis of ovarian cancer: CA125, HE4, RMI and ROMA, a review. *J Ovarian Res*, 12(1), 28.

<https://doi.org/10.1186/s13048-019-0503-7>

Dupont, J., Tanwar, M. K., Thaler, H. T., Fleisher, M., Kauff, N., Hensley, M. L., Sabbatini, P., Anderson, S., Aghajanian, C., Holland, E. C., & Spriggs, D. R. (2004). Early detection and prognosis of ovarian cancer using serum YKL-40.

*J Clin Oncol*, 22(16), 3330-3339. <https://doi.org/10.1200/jco.2004.09.112>

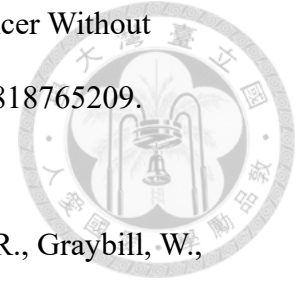
Faibish, M., Francescone, R., Bentley, B., Yan, W., & Shao, R. (2011). A YKL-40-neutralizing antibody blocks tumor angiogenesis and progression: a potential therapeutic agent in cancers. *Mol Cancer Ther*, 10(5), 742-751.

<https://doi.org/10.1158/1535-7163.Mct-10-0868>

Fuksiewicz, M., Kotowicz, B., Rutkowski, A., Achinger-Kawecka, J., Wagrodzki, M., & Kowalska, M. M. (2018). The Assessment of Clinical Usage and Prognostic

Value of YKL-40 Serum Levels in Patients With Rectal Cancer Without Distant Metastasis. *Technol Cancer Res Treat*, 17, 1533033818765209.

<https://doi.org/10.1177/1533033818765209>



- González-Martín, A., Pothuri, B., Vergote, I., DePont Christensen, R., Graybill, W., Mirza, M. R., McCormick, C., Lorusso, D., Hoskins, P., Freyer, G., Baumann, K., Jardon, K., Redondo, A., Moore, R. G., Vulsteke, C., O'Ceirbhail, R. E., Lund, B., Backes, F., Barretina-Ginesta, P., . . . Monk, B. J. (2019). Niraparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. *N Engl J Med*, 381(25), 2391-2402. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1910962>
- Gronlund, B., Høgdall, E. V., Christensen, I. J., Johansen, J. S., Nørgaard-Pedersen, B., Engelholm, S. A., & Høgdall, C. (2006). Pre-treatment prediction of chemoresistance in second-line chemotherapy of ovarian carcinoma: value of serological tumor marker determination (tetranectin, YKL-40, CASA, CA 125). *Int J Biol Markers*, 21(3), 141-148.
- Høgdall, E. V., Johansen, J. S., Kjaer, S. K., Price, P. A., Christensen, L., Blaakaer, J., Bock, J. E., Glud, E., & Høgdall, C. K. (2003). High plasma YKL-40 level in patients with ovarian cancer stage III is related to shorter survival. *Oncol Rep*, 10(5), 1535-1538.
- Hogdall, E. V., Ringsholt, M., Hogdall, C. K., Christensen, I. J., Johansen, J. S., Kjaer, S. K., Blaakaer, J., Ostensfeld-Moller, L., Price, P. A., & Christensen, L. H. (2009). YKL-40 tissue expression and plasma levels in patients with ovarian cancer. *BMC Cancer*, 9, 8. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-9-8>
- Holst, C. B., Pedersen, H., Obara, E. A. A., Vitting-Seerup, K., Jensen, K. E., Skjøth-Rasmussen, J., Lund, E. L., Poulsen, H. S., Johansen, J. S., & Hamerlik, P. (2021). Perspective: targeting VEGF-A and YKL-40 in glioblastoma - matter

matters. *Cell Cycle*, 20(7), 702-715.

<https://doi.org/10.1080/15384101.2021.1901037>

Itik, V., Kemik, O., Kemik, A., Dulger, A. C., Sümer, A., Soyoral, Y. U., Begenik, H., Purisa, S., & Kotan, C. (2011). Serum YKL-40 Levels in Patients with Gastric Cancer. *Biomark Cancer*, 3, 25-30. <https://doi.org/10.4137/bic.S7154>

Jensen, B. V., Johansen, J. S., & Price, P. A. (2003). High levels of serum HER-2/neu and YKL-40 independently reflect aggressiveness of metastatic breast cancer. *Clin Cancer Res*, 9(12), 4423-4434.

Johansen, J. S., Schultz, N. A., & Jensen, B. V. (2009). Plasma YKL-40 a potential new cancer biomarker. *Future Oncol.*, 5(7), 1065-1082. <https://doi.org/10.2217/fon.09.66>

Johansen, J. S., Schultz, N. A., & Jensen, B. V. (2009). Plasma YKL-40: a potential new cancer biomarker? *Future Oncol*, 5(7), 1065-1082. <https://doi.org/10.2217/fon.09.66>

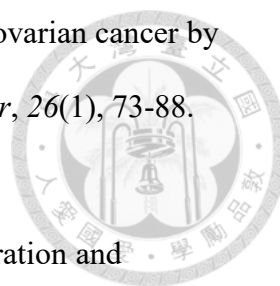
Jonathan S. Berek, N. F. H. (2020). Epithelial Ovarian, Fallopian Tube, and Peritoneal Cancer. In *Berek and Hacker's Gynecologic Oncology* (7 ed., pp. p421-476). Wolters Kluwer.

Kipps, E., Tan, D. S., & Kaye, S. B. (2013). Meeting the challenge of ascites in ovarian cancer: new avenues for therapy and research. *Nat Rev Cancer*, 13(4), 273-282. <https://doi.org/10.1038/nrc3432>

Lakshmanan, M., Kumar, V., Chaturvedi, A., Misra, S., Gupta, S., Akhtar, N., Rajan, S., Jain, K., & Garg, S. (2019). Role of serum HE4 as a prognostic marker in carcinoma of the ovary. *Indian J Cancer*, 56(3), 216-221. [https://doi.org/10.4103/ijc.IJC\\_305\\_18](https://doi.org/10.4103/ijc.IJC_305_18)

Lin, H. W., Chiang, Y. C., Sun, N. Y., Chen, Y. L., Chang, C. F., Tai, Y. J., Chen, C. A.,





- & Cheng, W. F. (2019). CHI3L1 results in poor outcome of ovarian cancer by promoting properties of stem-like cells. *Endocr Relat Cancer*, 26(1), 73-88. <https://doi.org/10.1530/ERC-18-0300>
- Liu, K., Jin, M., Ye, S., & Yan, S. (2020). CHI3L1 promotes proliferation and improves sensitivity to cetuximab in colon cancer cells by down-regulating p53. *J Clin Lab Anal*, 34(1), e23026. <https://doi.org/10.1002/jcla.23026>
- Luo, Z., Wang, Q., Lau, W. B., Lau, B., Xu, L., Zhao, L., Yang, H., Feng, M., Xuan, Y., Yang, Y., Lei, L., Wang, C., Yi, T., Zhao, X., Wei, Y., & Zhou, S. (2016). Tumor microenvironment: The culprit for ovarian cancer metastasis? *Cancer Lett*, 377(2), 174-182. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2016.04.038>
- Ma, B., Akosman, B., Kamle, S., Lee, C. M., He, C. H., Koo, J. S., Lee, C. G., & Elias, J. A. (2021). CHI3L1 regulates PD-L1 and anti-CHI3L1-PD-1 antibody elicits synergistic antitumor responses. *J Clin Invest*, 131(21). <https://doi.org/10.1172/jci137750>
- Moore, K., Colombo, N., Scambia, G., Kim, B. G., Oaknin, A., Friedlander, M., Lisianskaya, A., Floquet, A., Leary, A., Sonke, G. S., Gourley, C., Banerjee, S., Oza, A., González-Martín, A., Aghajanian, C., Bradley, W., Mathews, C., Liu, J., Lowe, E. S., . . . DiSilvestro, P. (2018). Maintenance Olaparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. *N Engl J Med*, 379(26), 2495-2505. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1810858>
- Muszyński, P., Groblewska, M., Kulczyńska-Przybik, A., Kułakowska, A., & Mroczko, B. (2017). YKL-40 as a Potential Biomarker and a Possible Target in Therapeutic Strategies of Alzheimer's Disease. *Curr Neuropharmacol*, 15(6), 906-917. <https://doi.org/10.2174/1570159x15666170208124324>
- Prat, J. (2014). Staging classification for cancer of the ovary, fallopian tube, and

peritoneum. *Int J Gynaecol Obstet*, 124(1), 1-5.

<https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2013.10.001>

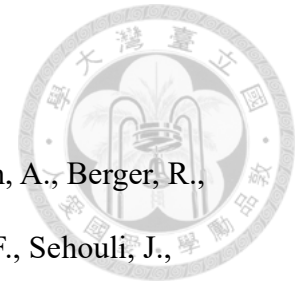
Ray-Coquard, I., Pautier, P., Pignata, S., Pérol, D., González-Martín, A., Berger, R., Fujiwara, K., Vergote, I., Colombo, N., Mäenpää, J., Selle, F., Sehouli, J., Lorusso, D., Guerra Alía, E. M., Reinthaller, A., Nagao, S., Lefevre-Plesse, C., Canzler, U., Scambia, G., . . . Harter, P. (2019). Olaparib plus Bevacizumab as First-Line Maintenance in Ovarian Cancer. *N Engl J Med*, 381(25), 2416-2428. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1911361>

Rehli, M., Niller, H. H., Ammon, C., Langmann, S., Schwarzfischer, L., Andreesen, R., & Krause, S. W. (2003). Transcriptional regulation of CHI3L1, a marker gene for late stages of macrophage differentiation. *J Biol Chem*, 278(45), 44058-44067. <https://doi.org/10.1074/jbc.M306792200>

Robert J. Kurman, L. H. E., Brigitte M. Ronnett. (2019). Epithelial Tumors of the Ovary. In B. M. R. Jeffrey D. Seidman, Ie-Ming Shih, Kathleen R. Cho, and Robert J. Kurman (Ed.), *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract* (7th ed., pp. 841-966). Springer. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-319-46334-6>

Roslind, A., & Johansen, J. S. (2009). YKL-40: a novel marker shared by chronic inflammation and oncogenic transformation. *Methods Mol Biol*, 511, 159-184. [https://doi.org/10.1007/978-1-59745-447-6\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-59745-447-6_7)

Salani, R., Khanna, N., Frimer, M., Bristow, R. E., & Chen, L. M. (2017). An update on post-treatment surveillance and diagnosis of recurrence in women with gynecologic malignancies: Society of Gynecologic Oncology (SGO) recommendations. *Gynecol Oncol*, 146(1), 3-10. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2017.03.022>



- Schultz, N. A., & Johansen, J. S. (2010). YKL-40-A Protein in the Field of Translational Medicine: A Role as a Biomarker in Cancer Patients? *Cancers (Basel)*, 2(3), 1453-1491. <https://doi.org/10.3390/cancers2031453>
- Shao, R. (2013). YKL-40 acts as an angiogenic factor to promote tumor angiogenesis. *Front Physiol*, 4, 122. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00122>
- Shao, R., Francescone, R., Ngernyuang, N., Bentley, B., Taylor, S. L., Moral, L., & Yan, W. (2014). Anti-YKL-40 antibody and ionizing irradiation synergistically inhibit tumor vascularization and malignancy in glioblastoma. *Carcinogenesis*, 35(2), 373-382. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgt380>
- Shao, R., Hamel, K., Petersen, L., Cao, Q. J., Arenas, R. B., Bigelow, C., Bentley, B., & Yan, W. (2009). YKL-40, a secreted glycoprotein, promotes tumor angiogenesis. *Oncogene*, 28(50), 4456-4468. <https://doi.org/10.1038/onc.2009.292>
- Stawerski, P., Wągrowaska-Danilewicz, M., Stasikowska-Kanicka, O., & Danilewicz, M. (2011). Increased tissue immunoexpression of YKL-40 protein in high grade serous ovarian cancers. *Pathol Res Pract*, 207(9), 573-576. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2011.06.008>
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*, 71(3), 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Tan, D. S. P., Agarwal, R., & Kaye, S. B. (2006). Mechanisms of transcoelomic metastasis in ovarian cancer. *The Lancet Oncology*, 7(11), 925-934. [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(06\)70939-1](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(06)70939-1)
- Thorn, A. P., Daugaard, S., Christensen, L. H., Christensen, I. J., & Petersen, M. M.

- (2016). YKL-40 protein in osteosarcoma tumor tissue. *Apmis*, 124(6), 453-461. <https://doi.org/10.1111/apm.12524>
- Wang, D., Zhai, B., Hu, F., Liu, C., Zhao, J., & Xu, J. (2012). High YKL-40 serum concentration is correlated with prognosis of Chinese patients with breast cancer. *PLoS One*, 7(12), e51127. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051127>
- Watanabe, K., Shiga, K., Maeda, A., Harata, S., Yanagita, T., Suzuki, T., Ushigome, H., Maeda, Y., Hirokawa, T., Ogawa, R., Hara, M., Takahashi, H., Matsuo, Y., Mitsui, A., Kimura, M., & Takiguchi, S. (2022). Chitinase 3-like 1 secreted from cancer-associated fibroblasts promotes tumor angiogenesis via interleukin-8 secretion in colorectal cancer. *Int J Oncol*, 60(1). <https://doi.org/10.3892/ijo.2021.5293>
- Yang, G. F., Cai, P. Y., Li, X. M., Deng, H. X., He, W. P., & Xie, D. (2009). Expression and clinical significance of YKL-40 protein in epithelial ovarian cancer tissues. *Ai Zheng*, 28(2), 142-145.
- Yu, J. E., Yeo, I. J., Son, D. J., Yun, J., Han, S. B., & Hong, J. T. (2021). Anti-Chi3L1 antibody suppresses lung tumor growth and metastasis through inhibition of M2 polarization. *Mol Oncol*. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.13152>
- Zhang, M., Cheng, S., Jin, Y., Zhao, Y., & Wang, Y. (2021). Roles of CA125 in diagnosis, prediction, and oncogenesis of ovarian cancer. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 1875(2), 188503. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2021.188503>
- Zhao, T., Su, Z., Li, Y., Zhang, X., & You, Q. (2020). Chitinase-3 like-protein-1 function and its role in diseases. *Signal Transduct Target Ther*, 5(1), 201. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00303-7>

Zou, L., He, X., & Zhang, J. W. (2010). The efficacy of YKL-40 and CA125 as biomarkers for epithelial ovarian cancer. *Braz J Med Biol Res*, 43(12), 1232-1238. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2010007500133>

