

行政院及所屬各機關出國報告

(出國類別:研究)

卵巢癌

服務機關: 台大醫院婦產部

出國人 職 稱: 主治醫師

姓 名: 鄭文芳

出國地區: 美國

出國期間: 八十八年六月至九十年六月

報告日期: 九十年十一月二十日

J3/
C08806787

公務出國報告提要

含附件 否

報告名稱:

卵巢癌

主辦機關:

國立臺灣大學醫學院附設醫院

聯絡人/電話

張文玲/23123456-1582

出國人員:

鄭文芳 國立臺灣大學醫學院附設醫院 婦產部 主治醫師

出國類別: 研究

出國地區: 美國

出國期間 民國 88 年 06 月 30 日 -民國 90 年 06 月 28 日

報告日期: 民國 90 年 09 月 30 日

分類號/目. J3/醫療 J3/醫療

關鍵詞: 卵巢癌,腫瘤細胞株,動物模式

內容摘要: 卵巢癌在婦女惡性腫瘤中是死亡率排名第一位的疾病。卵巢癌的發生率在最近十年逐年上升，根據衛生署民國85年衛生白皮書顯示，卵巢癌在台灣地區婦女惡化腫瘤發生率排名首度進入十大惡化腫瘤中，成為第九位的疾病。以上數據顯示卵巢癌實在是一個值得重視的疾病，但國內研究卵巢癌的工作仍處於起步階段。文芳十分的幸運，在取得博士學位後立刻前往美國Johns Hopkins大學重事兩年的博士後研究。在這兩年中，除了學習到美國人嚴謹的研究態度和精神之外，更認識了許多在各個研究領域的優秀學者。回國後我將和他們繼續保持連絡，希望未來有機會和他們合作研究計畫。我所前往進修的研究室是病理科吳子丑教授的實驗室。吳子丑教授的實驗室主要是著重於腫瘤疫苗的研發和腫瘤免疫學的基礎研究。在吳子丑教授的實驗室，我建立了研究卵巢癌的腫瘤細胞株及動物模式。這些將對未來卵巢癌的免疫學及免疫治療的研究奠定良好的基礎。關於研究的過程及成果我將在本報告裏做分述。其間的過程和感想，也將與諸位分享。

行政院及所屬各機關出國報告

(出國類別:研究)

卵巢癌

服務機關: 台大醫院婦產部

出國人 職 稱: 主治醫師

姓 名: 鄭文芳

出國地區: 美國

出國期間: 八十八年六月至九十年六月

報告日期: 九十年十一月二十日

摘要

卵巢癌在婦女惡性腫瘤中是死亡率排名第一位的疾病。卵巢癌的發生率在最近十年逐年上升，根據衛生署民國 85 年衛生白皮書顯示，卵巢癌在台灣地區婦女惡化腫瘤發生率排名首度進入十大惡化腫瘤中，成為第九位的疾病。以上數據顯示卵巢癌實在是一個值得重視的疾病，但國內研究卵巢癌的工作仍處於起步階段。

文芳十分的幸運，在取得博士學位後立刻前往美國 Johns Hopkins 大學重事兩年的博士後研究。在這兩年中，除了學習到美國人嚴謹的研究態度和精神之外，更認識了許多在各個研究領域的優秀學者。回國後我將和他們繼續保持連絡，希望未來有機會和他們合作研究計畫。

我所前往進修的研究室是病理科吳子丑教授的實驗室。吳子丑教授的實驗室主要是著重於腫瘤疫苗的研發和腫瘤免疫學的基礎研究。在吳子丑教授的實驗室，我建立了研究卵巢癌的腫瘤細胞株及動物模式。這些將對未來卵巢癌的免疫學及免疫治療的研究奠立良好的基礎。關於研究的過程及成果我將在本報告裏做分述。其間的過程和感想，也將與諸位分享。

目的

卵巢癌在婦女惡性腫瘤中是死亡率排名第一位的疾病 (1-9)。卵巢癌的發生率在最近十年更是逐年上升。根據衛生署民國 85 年衛生白皮書顯示，卵巢癌在台灣地區婦女惡化腫瘤發生率排名首度進入十大惡化腫瘤中，成為第九位的疾病。以上數據顯示卵巢癌實在是一個值得重視的疾病，但研究卵巢癌的工作仍處於起步階段。

早期卵巢癌因為缺乏症候(symptoms)及有效的篩檢方法，大約 70%的病患是晚期(advance-stage)卵巢癌。很不幸地，雖然外科手術技術及化學治療藥物在最近有長足的進步，卵巢癌病人的預後並無顯著地改善 (6-14)。超過 70% 的卵巢癌病人在接受外科手術及化學治療後可以得到疾病的緩解。但是這些得到疾病的緩解的卵巢癌病人絕大多數都會復發。在復發的卵巢癌病人中相當大比例的病人是復發在腹腔，形成散漫式分佈(miliary distribution)。復發的卵巢癌病人幾乎無法接受外科手術，化學治療的療效亦極為有限，如何治療卵巢癌病人成為最具挑戰性的課題。

在 Vogelstein 研究家族性息肉和大腸癌的結果顯示癌的典型發展是多步驟的(multistep)其中包括數種不同基因的改變(15-20)。和其它癌症的發生類似，卵巢癌的發生也是多步驟的。在卵巢癌的發展和生長時，癌細胞在不同時期會表達和正常細胞不相同的腫瘤特異抗原

(tumor-specific antigen)及腫瘤相關抗原(tumor-associated antigens)諸如 CA125 或 mesothelin，可能具有引發宿主免疫系統的免疫反應。理想的癌症治療必須具備能將生長在身體內多處的癌細胞。考慮以上的要求，免疫治療是一個相當吸引人的方法。癌症免疫治療提供了處理癌症病人治療的另一種選擇。這種治療是基於當我們的免疫系統一旦被活化將可以發展出針對癌細胞，而非正常細胞的特異性免疫反應(21-25)。但我們目前對卵巢癌和免疫系統的相互關係仍不清楚。當了解癌細胞在各個生長時期對免疫係系統的影響將有助於我們了解腫瘤生物學及癌細胞對宿主免疫系統的影響，這對將來卵巢癌的免疫療法有相當重要的幫助。

但是到目前為止，卵巢癌的動物模式仍未建立，這對卵巢癌的研究有相當大的阻礙。卵巢癌動物模式的建立，將有助於卵巢癌的研究，諸如卵巢癌的發生學、腫瘤基因學、卵巢癌的預防及發展各種治療卵巢癌的策略。

在這個計畫，我們嘗試先建立研究卵巢癌的腫瘤細胞株及動物模式。我們接著將會評卵巢癌的腫瘤細胞株的腫瘤生物學和評估免疫治療在卵巢癌腫瘤的動物模式所扮演的角色。這些將對未來卵巢癌的免疫學及免疫治療的研究奠立良好的基礎。

研究過程

建立來自鼯鼠腹腔的腫瘤細胞株

以一倍的 HBSS 經由腹腔沖洗取得 C57BL/6 品系鼯鼠的腹膜細胞。這些初期的腹膜細胞在體外以 RPMI164 加入 10% fetal calf serum、50 units/ml penicillin/streptomycin、2 mM L-glutamine、1 mM sodium pyruvate 及 2 mM nonessential amino acids 置於 37°C 5% CO₂ 的培養箱中培養。置於 LXSNI6 反轉病毒載體(retroviral vector)的人類乳突病毒第 16 型的 E6 和 E7 基因傳導到腹膜細胞中(26)。在病毒傳導後，腹膜細胞生長在 G418 (0.4 mg/ml)的培養液中加以篩選，被傳導的腹膜細胞成為永生不死的細胞。這些永生不死的腹膜細胞，經腹腔內注射到鼯鼠腹腔中，成為腫瘤細胞株 WF-3。

WF-3 腫瘤細胞株的組織學及病理學特徵

5×10^4 的 W-3 腫瘤細胞以腹腔內注射的方式注射至 C57BL/6 鼯鼠的腹腔中。五至六個星期後鼯鼠被犧牲掉檢查巨觀上腫瘤的侵犯力之後，鼯鼠的內部將做進一步的檢查。被摘除的內臟器官以 4% 福馬林液固定，再加以組織切片和以 hematoxylin-eosin 染色。這些組織將在光學顯微鏡下觀察。

WF-3 腫瘤細胞株的細胞學檢查

5×10^4 WF-3 腫瘤細胞以腹腔內注射的方式注射至 C57BL/6 小鼠的腹腔中，五至六個星期後小鼠被犧牲掉。吸出小鼠腹腔內的腹水加以離心，腹水中的細胞被置於玻片上，以 95% 酒精固定和 Papanicolaou 染色法染色。玻片置於光學顯微鏡下觀察。

WF-3 腫瘤細胞株的 Cytokeratin 化學組織免疫染色

4%福馬林液固定石蠟包埋的 WF-3 腫瘤組織切片，先去石蠟再浸入 PBS 中。切片浸泡於室溫的 3% H_2O_2 /甲醇中 10 分鐘以去除內在的 peroxidase。切片浸泡於小鼠的 IgG 阻斷試劑中(Vector, Burlingam, CA) 1 小時再以 PBS 沖洗 2 次。切片再浸泡於 MOM diluent 中 (Vector, Burlingam, CA) 5 分鐘。之後吸去過多的 MOM diluent 再將切片浸泡於抗小鼠 cytokeratin 單株抗體中(1:300, Sigma, Saint Louis, Missouri) 30 分鐘。以 PBS 沖洗 3 次，切片再浸泡於 biotinylated 抗小鼠 IgG (Vector, Burlingam, CA) 30 分鐘。以 PBS 沖洗 3 次，切片再浸泡於 avidin-biotin complex (Vector, Burlingam, CA) 30 分鐘。以 PBS 再沖洗 3 次，再加入 DAB 受質溶液(DAKO, Carpinteria, CA) 5 分鐘。最後切片以清水沖洗和以 Mayer's hematoxylin 作做背景染色。染色後的切片

經脫水以 Permount (FisherScientific, Fair Lawn, New Jersey) 封片在光學顯微鏡下觀察。

WF-3 腫瘤細胞株的 MHC Class I 和 Class II 的表達

WF-3 腫瘤細胞以抗 H-2K^b/H-2D^b 單株抗體 (Clone 28-8-6, PharMingen, San Diego, CA)或抗 I-A^b 單株抗體作用(Clone 25-9-17, PharMingen, San Diego, CA) 於冰上培養 30 分鐘。以 FACSCAN 緩衝液清洗 2 次，再以 FITC-conjugated goat anti-mouse 抗體 (Jackson ImmunoResearch Lab. Inc., West Grove, PA)於冰上 作用 20 分鐘。WF-3 腫瘤細胞最後置於 FACSCAN 緩衝液中，以流式細胞儀分析 (Becton Dickinson Immunocytometry System, Mountain View, CA) 。

WF-3 腫瘤細胞株的腫瘤生長動態

以 1×10^4 、 5×10^4 、 1×10^5 或 1×10^6 不同數目的 WF-3 腫瘤細胞以腹腔內注射的方式注射至 C57BL/6 小鼠的腹腔中。小鼠定期地監視腹水的生成和其存活時間。這些資料被繪置成腫瘤生長動態的圖。

結果

WF-3 腫瘤細胞株的組織學和病理學特徵

5×10^4 的 WF-3 腫瘤細胞以腹腔內注射的方式注射至 C57BL/6 小鼠的腹腔中。五至六個星期後小鼠被犧牲掉檢查巨觀上腫瘤的侵犯力之後，小鼠的內部將做進一步的檢查。被移除的內臟器官被固定、切片和染色。在外觀上小鼠的大小變大且腹部膨出。腹腔中充滿血色的腹水(約 2 毫升)。許多易碎的灰白色大小為 1.2 X 1.0 X 0.8 公分的腫瘤散生在腸膜區域。腫瘤也會侵犯鄰近的器官，包括肝臟(圖 1A)、胰臟(圖 1B)、小腸(圖 1C)及橫隔膜(圖 1D)。

在顯微鏡下，腫瘤是由奇異地未分化的腫瘤細胞群所組成的。腫瘤細胞有多型行性的變化、高比例的細胞質核比和高染色質(圖 2A)。腫瘤細胞群出現兩種生長型態，為一種多角型細胞的惡化上皮腫瘤成份混合另一種梭狀腫瘤細胞束的惡性肉瘤成份(圖 2B 和 2C)。同時可以見到腫瘤乳突狀生長結構(圖 2D)。

WF-3 腫瘤細胞株的細胞學檢查

WF-3 腫瘤細胞株的細胞學檢查是吸取腹水，離心將腹水中的細胞被置於玻片上，以 95% 酒精固定和 Papanicolaou 染色法染色。如圖 3 所示，有多型行性變化的腫瘤細胞，腫瘤細胞顯示高染色質和顯

著的核仁。

WF-3 腫瘤細胞株的 Cytokeratin 化學組織免疫染色

4%福馬林液固定石蠟包埋的 WF-3 腫瘤組織切片，先去石蠟再浸入 PBS 中。Cytokeratin 染色的過程如上所述。WF-3 腫瘤細胞的 Cytokeratin 化學組織免疫染不論是惡化上皮腫瘤成份或是惡性肉瘤成份皆為正反應。(圖 4A 和 4B)。

WF-3 腫瘤細胞株的 MHC Class I 和 Class II 的表達

測量 WF-3 腫瘤細胞株的 MHC Class I 和 Class II 的表達的方法和步驟如上所述。如圖 5A 所示，WF-3 腫瘤細胞表達 MHC class I，但卻不表達 MHC class II (圖 5B)。

WF-3 腫瘤細胞株的腫瘤生長動態

以 1×10^4 、 5×10^4 、 1×10^5 或 1×10^6 不同數目的 WF-3 腫瘤細胞以腹腔內注射的方式注射至 C57BL/6 小鼠的腹腔中。小鼠定期地監視腹水的生成和其存活時間。這些資料被繪置成腫瘤生長動態的圖。如圖 8A 和 8B 所示，所有注射 5×10^4 、 1×10^5 或 1×10^6 腫瘤細胞的小鼠在 30 天內會產生腹水，在 90 天內死亡。20%接受 1×10^4 腫瘤細胞的

鼯鼠無腹水產生且存活超過 90 天。

討論

卵巢上皮細胞癌具有產生腹水、腹腔內散生、侵犯局部的器官，諸如肝臟、胰臟、小腸、大腸及橫隔膜這些特殊的腫瘤細胞生物學。我們建立的 WF-3 腫瘤細胞經由以腹腔內注射的方式注射至小鼠的腹腔後，觀察腫瘤細胞生長的情形。我們發現小鼠在腹腔中會產生腹水，腫瘤散生在腸膜區域。此外腫瘤也會侵犯鄰近的器官，包括肝臟、胰臟、小腸、大腸及橫隔膜。接著我們進一步觀察腫瘤細胞的細胞學和微觀的表現。在細胞學上，腫瘤細胞顯示高染色質和顯著的核仁，且腫瘤細胞有多型性變化。在微觀的表現上，腫瘤細胞群出現兩種生長型態，為一種多角型細胞的惡化上皮腫瘤成份混合另一種梭狀腫瘤細胞束的惡性肉瘤成份。同時可以見到腫瘤乳突狀生長結構。此外 WF-3 腫瘤細胞的 Cytokeratin 化學組織免疫染亦顯示正反應。從以上的種種觀察顯示。我們建立的腫瘤細胞株-WF-3，它的腫瘤細胞生物學和人類的卵巢上皮細胞癌的腫瘤細胞生物學十分的相像。

我們進一步研究 WF-3 腫瘤細胞株的腫瘤生長動態。我們以 1×10^4 、 5×10^4 、 1×10^5 或 1×10^6 不同數目的 WF-3 腫瘤細胞以腹腔內注射的方式注射至 C57BL/6 小鼠的腹腔中。小鼠定期地監視腹水的生成和其存活時間。這些資料被繪置成腫瘤生長動態的圖。結果顯示 WF-3 即使以低計數目的 1×10^4 注射入小鼠體內，仍會造成小鼠死亡。

我們的結果顯示 WF-3 腫瘤細胞株會造成鱈鼠死亡，如同人類的卵巢上皮細胞癌會造成人類死亡的自然病史。

我們經由這個進修的機會建立了卵巢癌的動物模式，這對我們將來卵巢癌的研究有相當大的幫助。卵巢癌動物模式的建立，將有助於卵巢癌的研究，諸如卵巢癌的發生學、腫瘤基因學、卵巢癌的預防及發展各種治療卵巢癌的策略。因此我們將要利用這個細胞株進行一系列的卵巢癌研究工作。這些研究工作將能對卵巢癌的研究有重要的幫助。

結論

我們建立的腫瘤細胞株-WF-3，它的腫瘤細胞生物學和人類的卵巢上皮細胞癌的腫瘤細胞生物學十分的相像，也成功地建立了卵巢癌的動物模式。卵巢癌動物模式的建立，將有助於卵巢癌的研究，諸如卵巢癌的發生學、腫瘤基因學、卵巢癌的預防及發展各種治療卵巢癌的策略。這些研究工作將能對卵巢癌的研究有重要的幫助。

附圖說明

圖一: WF-3 腫瘤細胞株的組織學和病理學特徵。5x10⁴ 的 WF-3 腫瘤細胞以腹腔內注射的方式注射至 C57BL/6 小鼠的腹腔中。五至六個星期後小鼠被犧牲掉檢查巨觀上腫瘤的侵犯力之後，小鼠的內部將做進一步的檢查。被摘除的內臟器官以 4%福馬林液固定，再加以組織切片和以 hematoxylin-eosin 染色。這些組織將在光學顯微鏡下觀察。許多易碎的灰白色大小為 1.2 X 1.0 X 0.8 公分的腫瘤散生在腸膜區域。腫瘤也會侵犯鄰近的器官，包括肝臟(A)、胰臟(B)、小腸(圖 1C)及橫隔膜(圖 1D)。(Hematoxylin eosin stain 10X10)

圖二: WF-3 腫瘤細胞株的微觀特徵。WF-3 腫瘤細胞注射的方式注射至 C57BL/6 小鼠的腹腔和動物組織切片的處理步驟如圖一所述，以觀察 WF-3 腫瘤細胞株的微觀特徵。(A) 在顯微鏡下，腫瘤是由奇異地未分化的腫瘤細胞群所組成的。腫瘤細胞有多型性的變化、高比例的細胞質核比和高染色質。腫瘤細胞群出現兩種生長型態，為一種多角型細胞的惡化上皮腫瘤成份混合另一種梭狀腫瘤細胞束的惡性肉瘤成份。同時可以見到腫瘤乳突狀生長結構。(B) WF-3 腫瘤的惡性肉瘤成份。(C) WF-3 腫瘤的惡化上皮腫瘤成份。

圖三: WF-3 腫瘤細胞株的細胞學檢查。5x10⁴ 的 WF-3 腫瘤細胞以腹腔內注射的方式注射至 C57BL/6 小鼠的腹腔中，五至六個星期後

小鼠被犧牲掉。WF-3 腫瘤細胞株的細胞學檢查是吸取腹水，離心將腹水中的細胞被置於玻片上，以 95% 酒精固定和 Papanicolaou 染色法染色。如圖所示，有多型性變化的腫瘤細胞，腫瘤細胞顯示高染色質和顯著的核仁。(40X10)

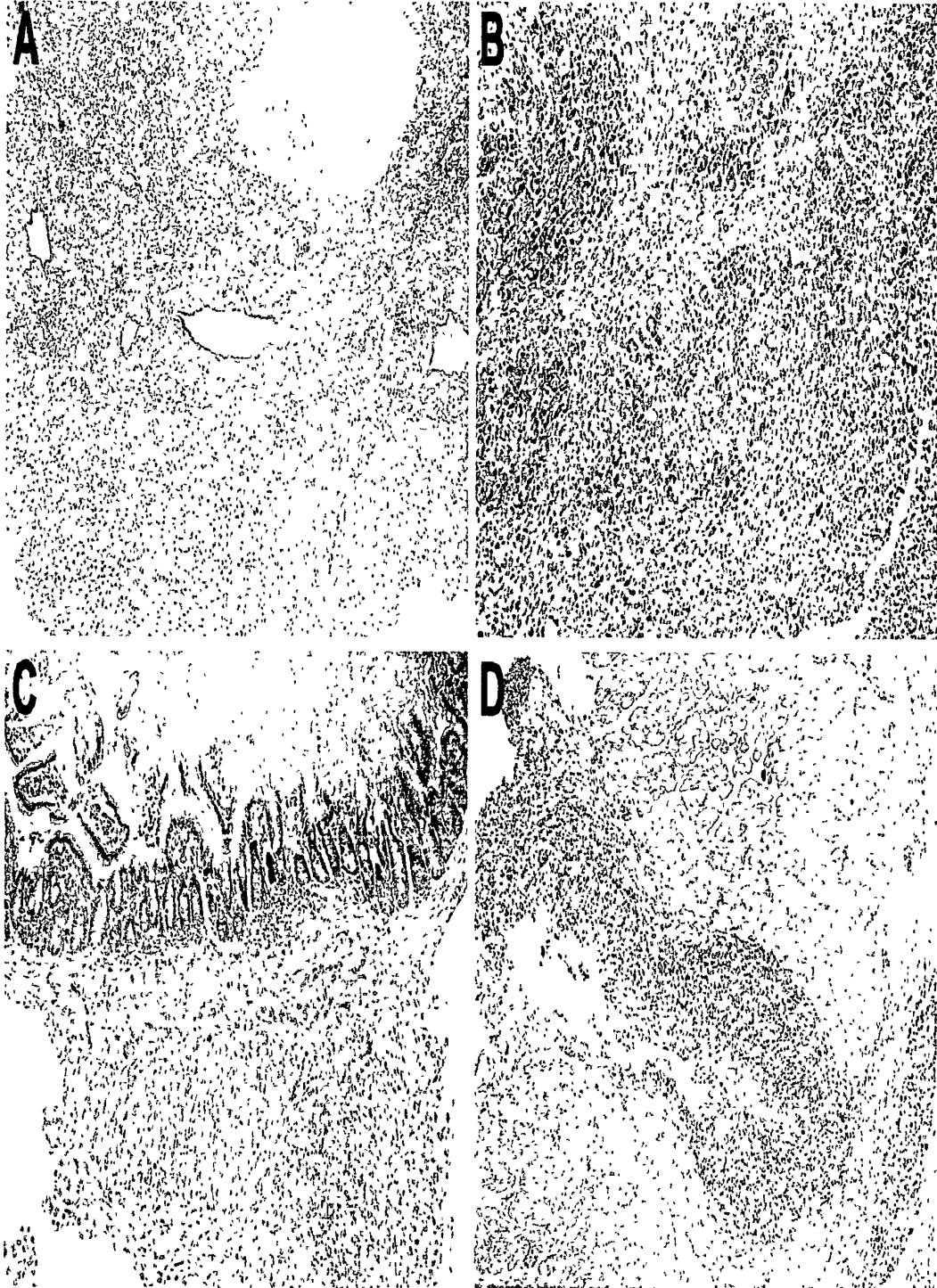
圖四：WF-3 腫瘤細胞株的 Cytokeratin 化學組織免疫染色。WF-3 腫瘤細胞注射的方式注射至 C57BL/6 小鼠的腹腔和動物組織切片的處理步驟如圖一所述。4%福馬林液固定石蠟包埋的 WF-3 腫瘤組織切片，先去石蠟再浸入 PBS 中切片浸泡於室溫的 3% H₂O₂/甲醇中。切片接著浸泡於小鼠的 IgG 阻斷試劑中。切片再浸泡於 MOM diluent 中。再將切片浸泡於抗小鼠 cytokeratin 單株抗體中(1:300, Sigma, Saint Louis, Missouri)。切片再浸泡於 biotinylated 抗小鼠 IgG。切片再浸泡於 avidin-biotin complex。再加入 DAB 受質溶液(DAKO, Carpinteria, CA)。最後切片以清水沖洗和以 Mayer's hematoxylin 作背景染色。染色後的切片經脫水以 Permount。WF-3 腫瘤細胞的 Cytokeratin 化學組織免疫染不論是惡性肉瘤成份或是惡化上皮腫瘤成份皆為正反應。

圖五：WF-3 腫瘤細胞株的 MHC Class I 和 Class II 的表達。WF-3 腫瘤細胞以抗 H-2K^b/H-2D^b 單株抗體或抗 I-A^b 單株抗體作用。再以 FITC-conjugated goat anti-mouse 抗體作用。WF-3 腫瘤細胞最後置於

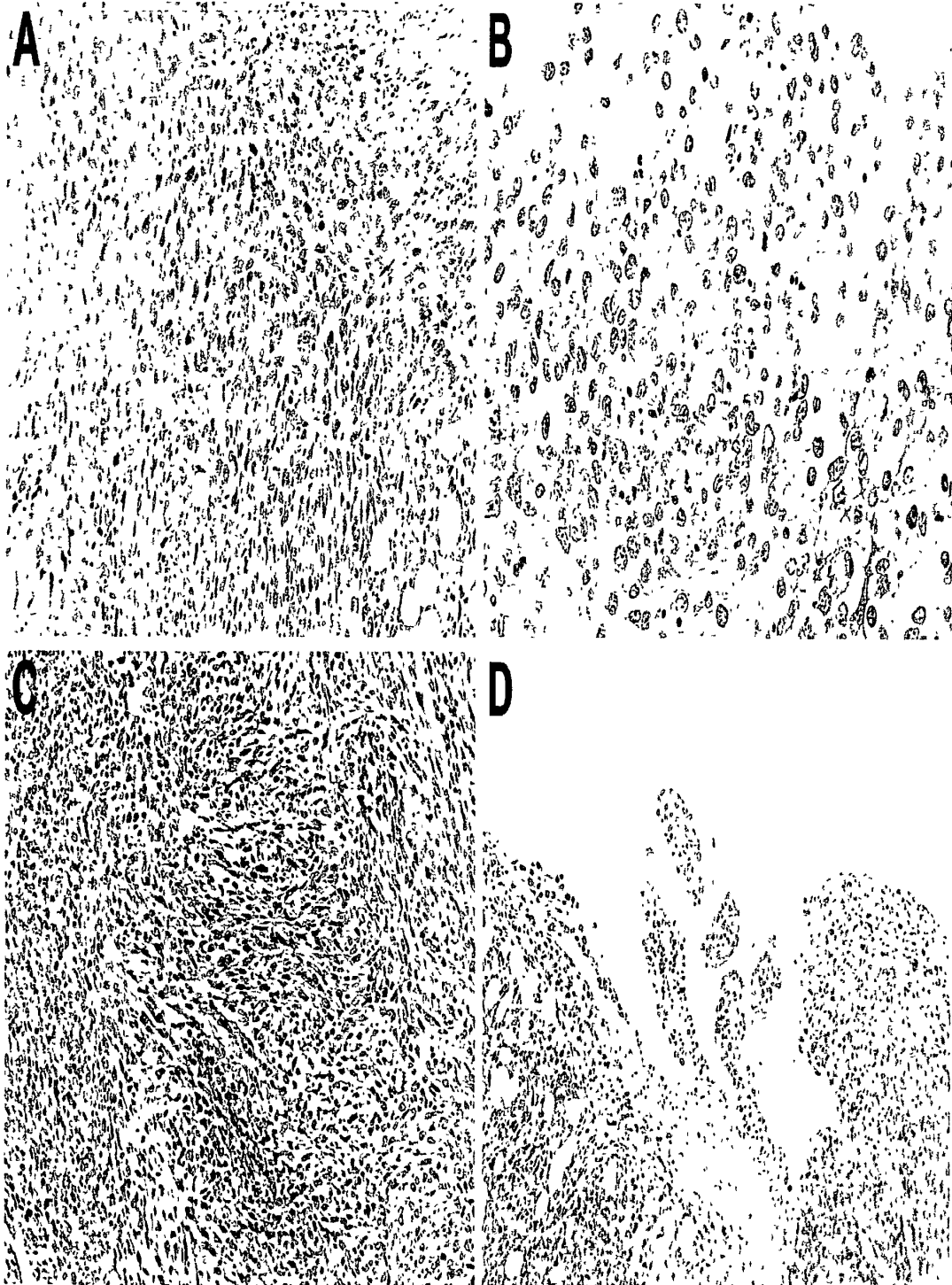
緩衝液中，以流式細胞儀分析。WF-3 腫瘤細胞表達(A) MHC class I ，
(B)不表達 MHC class II 。

圖六: WF-3 腫瘤細胞株的腫瘤生長動態。以 1×10^4 、 5×10^4 、 1×10^5 或
 1×10^6 不同數目的 WF-3 腫瘤細胞以腹腔內注射的方式注射至
C57BL/6 小鼠的腹腔中。小鼠定期地監視腹水的生成和其存活時
間。這些資料被繪置成腫瘤生長動態的圖。(A)腹水生成情形。所有
注射 5×10^4 、 1×10^5 或 1×10^6 腫瘤細胞的小鼠在 30 天內會產生腹水，
且在 30 天內死亡。(B)存活情形。20%接受 1×10^4 腫瘤細胞的小鼠無
腹水產生且存活超過 90 天。

附圖一



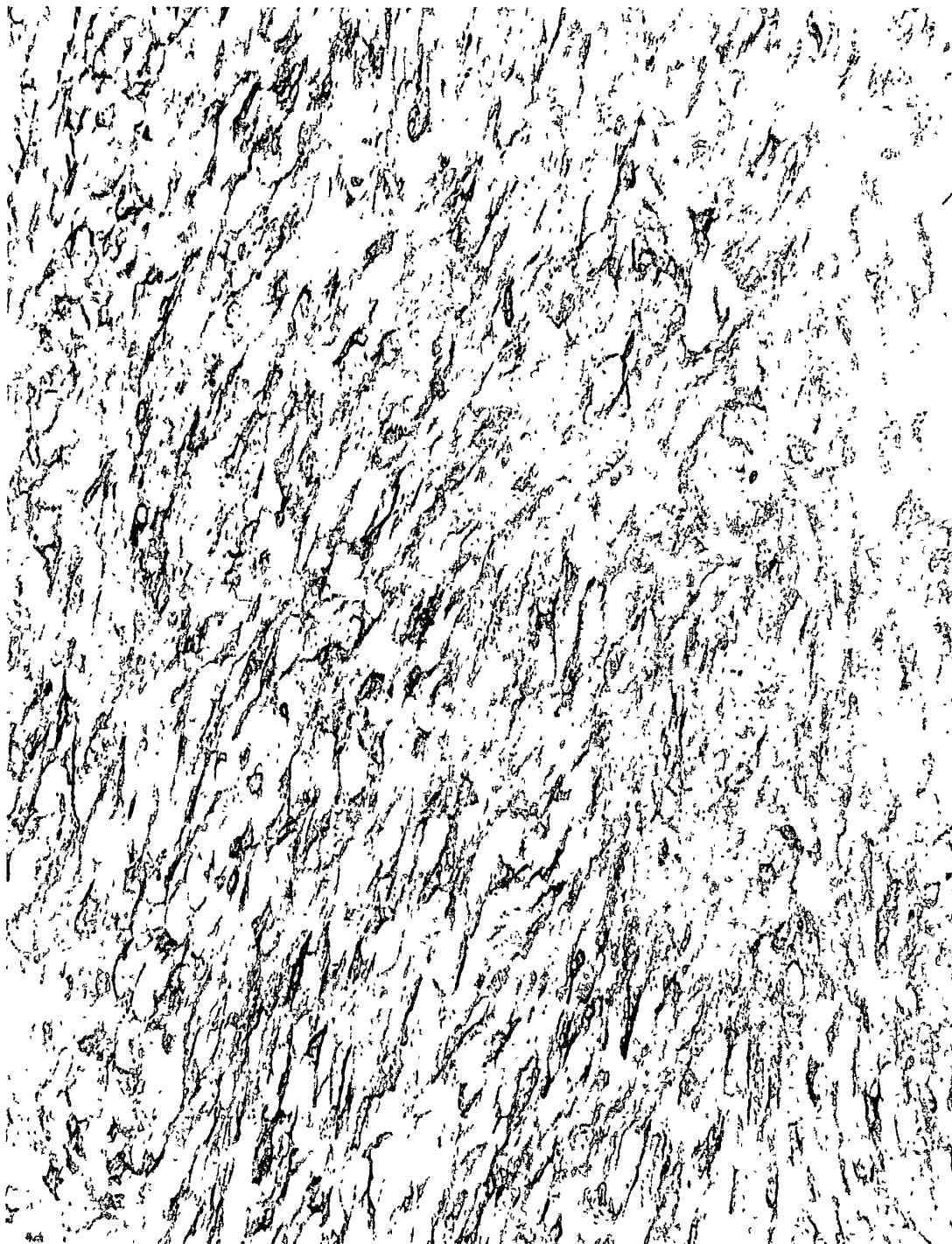
附圖二



附圖三



附圖四



心得感想

在尚未到美國進修之前，不少的同事就告訴我 Johns Hopkins 醫學院是世界上數一數二的名校。因此當我到達美國後，我便一直在觀察 Johns Hopkins 醫學院有那些值得我們學習之處。我所前往進修的研究室是病理科吳子丑教授的實驗室。吳子丑教授的實驗室主要是著重於腫瘤疫苗的研發。吳教授是一位和藹可親並且充滿研究熱誠的研究者。實驗室目前發除了吳教授之外，有數位博士後研究員，一位研究生和兩位技術員。吳醫師不但每天都和研究員和學生參與研究工作，他更安排和每位研究員和學生每星期至少有一個小時的研究進度討論。吳教授同時以身作則每個周末都到實驗室從事研究工作，更時常在周末和我們有數小時的討論和腦力激盪，許多有去的構想也在這些腦力激盪下。吳教授最喜歡說的名言：研究者要做自己有興趣的研究工作。在研究專題討論和實驗室會議方面，除了吳教授實驗室每周固定的兩次實驗室會議之外，我們也和其它的研究員諸如 Drs. Drew M. Pardoll、Elizabeth M. Jaffee 和 Hym Levitsky 有聯合實驗室會議。每天從早到晚整個人都能完全浸潤在研究的環境中。

在研究設備方面，一般人總以為 Johns Hopkins 的研究成果可能是因為 Johns Hopkins 有別人所沒有的新穎的研究設備。其實吳教授他們的研究設備台灣一般的研究機構都有，但是這些儀器和設備是開

放供所有研究者使用。以流式細胞儀為例，使用者事先登記，使用者按照規定操作。這和我們醫院的共同實驗室的儀器使用十分相像。

在研究的過程中有時會遭遇到自己無法克服的困難，必須透過其它實驗室的協助。個人覺得 Hopkins 比此之間的支援和合作系統遠較我們來得好，這真的是值得我們借鏡之處。它山之石可以攻錯，由一批一批進修的人員，讓我們不斷地進步，使我們的研究早日擠身世界之林。

建議

卵巢癌在台灣的發生率逐年上升，其治療目前是以外科手術及化學治療為主。除了臨床服務之外，基礎的研究亦是提高臨床治療的必要條件。感謝醫院提供這次機會讓我能從事卵巢癌的研究。一個擠身國際的醫學中心，就是要有效地掌握和結合臨床與基礎研究的資源，且不斷地鼓勵研發和創作。再加上一個充份鼓勵創作的環境，才能激發研究的潛力。希望在未來，研發和創作能在國內得到充分的鼓勵與尊重，使我們的競爭力不斷地提升與增強。以下為個人粗淺的建議：

- 1) 出國進修對一個從事臨床工作或研究者的助益很大，一個終其一生很可能只有一次機會。從進修中可以了解世界醫學的最新進展，及外國制度、環境的優缺點，而提供日後自我改進的良心借鏡。唯一年的時間對於從事研究的工作者稍覺匆匆。希望國家在未來規畫進修人員的輔助時，能考慮延長其輔助期限，使其研究能真正開花結果。
- 2) 政府所提供的計畫輔助經費，對新進的研究人員而言，實有非常大的幫助。希望能對剛返國的新進研究人員，提供計畫輔助經費，使。剛返國的新進研究人員能讓其在國外的研究，在國內生根。
- 3) 希望能廣開研究的獎勵制度，鼓勵國內的研究風氣。

參考書目

1. Finn, C. B., Dunn, J., Buxton, E. J., Luesley, D. M., and Shafi, M. Can we predict a high risk group in stage I epithelial ovarian cancer? *Int J Gynecol Cancer*, 3: 226-230, 1993.
2. Bertelsen, K., Holund, B., and Andersen, E. Reproducibility and prognostic value of histologic type and grade in early epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer*, 3: 72-79, 1993.
3. Orlando, M. and Mandachain, M. Gemcitabine in ovarian cancer. *Semin Oncol*, 28: 62-69, 2001.
4. Pujade-Lauraine, E., Cure, H., Battista, C., Guastalla, J. P., Chiurazzi, B., Fabbro, M., Tubiana-Mathieu, N., Bourgeois, H., Lioure, B., Paraiso, D., and Lotz, J. P. High dose chemotherapy in ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer*, 11 *Suppl 1*: 64-67, 2001.
5. Conte, P. F., Gadducci, A., and Cianci, C. Second-line treatment and consolidation therapies in advanced ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer*, 11 *Suppl 1*: 52-56, 2001.
6. Bookman, M. A. Developmental chemotherapy in advanced ovarian cancer: incorporation of topoisomerase-I inhibitors and perspective of the Gynecologic Oncology Group. *Int J Gynecol*

Cancer, *11 Suppl 1*: 42-51, 2001.

7. Vermorken, J. B. The integration of paclitaxel and new platinum compounds in the treatment of advanced ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer, 11 Suppl 1*: 21-30, 2001.
8. Schildkraut, J. M., Cooper, G. S., Halabi, S., Calingaert, B., Hartge, P., and Whittemore, A. S. Age at natural menopause and the risk of epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol, 98*: 85-90, 2001.
9. DiSaia, P. J. and Tewari, K. S. Recent advancements in the treatment of epithelial ovarian cancer. *J Obstet Gynaecol Res, 27*: 61-75, 2001.
10. Randall, T. C. and Rubin, S. C. Cytoreductive surgery for ovarian cancer. *Surg Clin North Am, 81*: 871-883, 2001.
11. Hogberg, T., Glimelius, B., and Nygren, P. A systematic overview of chemotherapy effects in ovarian cancer. *Acta Oncol, 40*: 340-360, 2001.
12. Munkarah, A., Levenback, C., Wolf, J. K., Bodurka-Bervers, D., Tortolero-Luna, G, Morris, R. T., and Gershenson, D. M. Secondary cytoreductive surgery for localized intra-abdominal recurrences in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol, 81*:

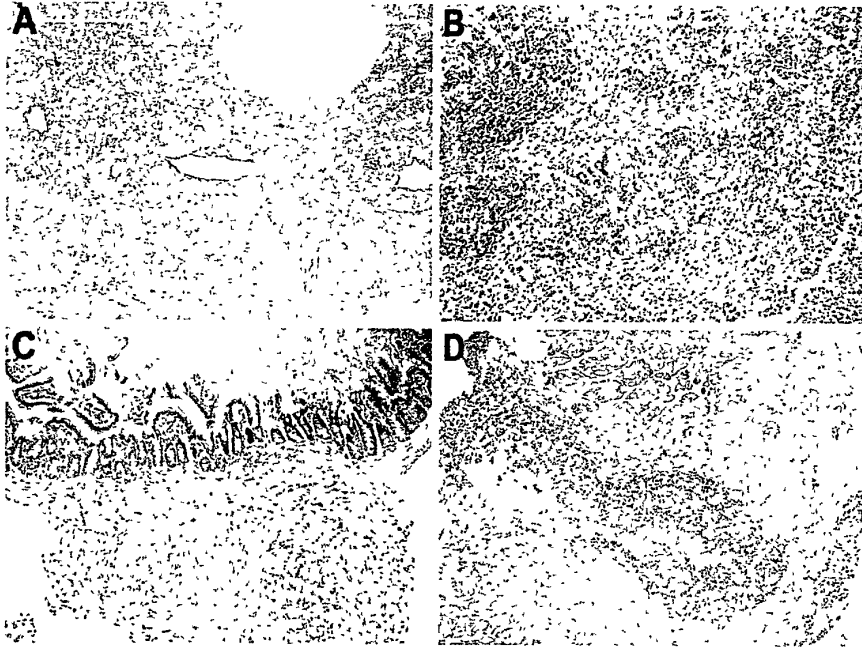
- 237-241, 2001.
13. Stratton, J. F., Tidy, J. A., and Paterson, M. E. The surgical management of ovarian cancer. *Cancer Treat Rev*, 27: 111-118, 2001.
 14. Christian, J. and Thomas, H. Ovarian cancer chemotherapy. *Cancer Treat Rev*, 27: 99-109, 2001.
 15. Feinberg, A. P. and Vogelstein, B. Hypomethylation of ras oncogenes in primary human cancers. *Biochem Biophys Res Commun*, 111: 47-54, 1983.
 16. Feinberg, A. P. and Vogelstein, B. Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal counterparts. *Nature*, 301: 89-92, 1983.
 17. Bos, J. L., Fearon, E. R., Hamilton, S. R., Verlaan-de Vries, M., van Boom, J. H., van der Eb, A. J., and Vogelstein, B. Prevalence of ras gene mutations in human colorectal cancers. *Nature*, 327: 293-297, 1987.
 18. Feinberg, A. P. and Vogelstein, B. Alterations in DNA methylation in human colon neoplasia. *Semin Surg Oncol*, 3: 149-151, 1987.
 19. Bigner, S. H., Vogelstein, B., Mark, J., Friedman, H. S., and Bigner,

- D. D. Cytogenetics and molecular genetics: their status and role in understanding the behavior of central nervous system neoplasms. Monogr Pathol 30-40, 1990.
20. Kern, S. E., Fearon, E. R., Tersmette, K. W., Enterline, J. P., Leppert, M., Nakamura, Y., White, R., Vogelstein, B., and Hamilton, S. R. Clinical and pathological associations with allelic loss in colorectal carcinoma [corrected]. *Jama*, 261: 3099-3103, 1989.
 21. McQuarrie, S. A., Xiao, Z., Miller, G. G., Mercer, J. R., and Suresh, M. R. Modern trends in radioimmunotherapy of cancer: pretargeting strategies for the treatment of ovarian cancer. *Q J Nucl Med*, 45: 160-166, 2001.
 22. Yoshino, I., Peoples, G. E., Goedegebuure, P. S., Maziarz, R., and Eberlein, T. J. Association of HER2/neu expression with sensitivity to tumor-specific CTL in human ovarian cancer. *J Immunol*, 152: 2393-2400, 1994.
 23. Mesiano, S., Ferrara, N., and Jaffe, R. B. Role of vascular endothelial growth factor in ovarian cancer: inhibition of ascites formation by immunoneutralization. *Am J Pathol*, 153: 1249-1256,

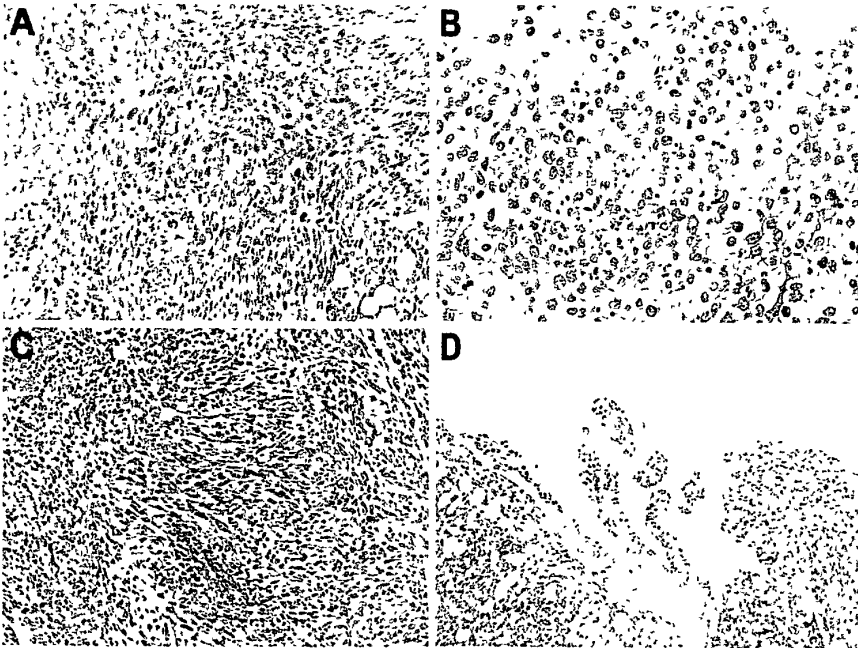
1998.

24. Andersson, H., Lindegren, S., Back, T., Jacobsson, L., Leser, G., and Horvath, G. Radioimmunotherapy of nude mice with intraperitoneally growing ovarian cancer xenograft utilizing ²¹¹At-labelled monoclonal antibody MOv18. *Anticancer Res*, *20*: 459-462, 2000.
25. Duska, L. R., Hamblin, M. R., Miller, J. L., and Hasan, T. Combination photoimmunotherapy and cisplatin: effects on human ovarian cancer ex vivo [see comments]. *J Natl Cancer Inst*, *91*: 1557-1563, 1999.
26. Halbert, C. L., Demers, G. W., and Galloway, D. A. The E7 gene of human papillomavirus type 16 is sufficient for immortalization of human epithelial cells. *J Virol*, *65*: 473-478, 1991.

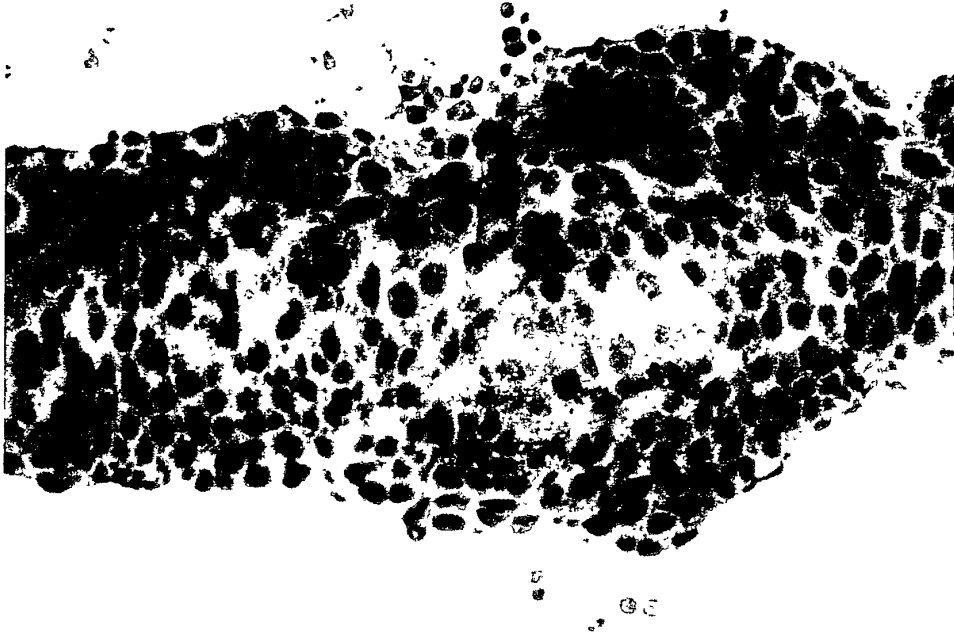
附圖一



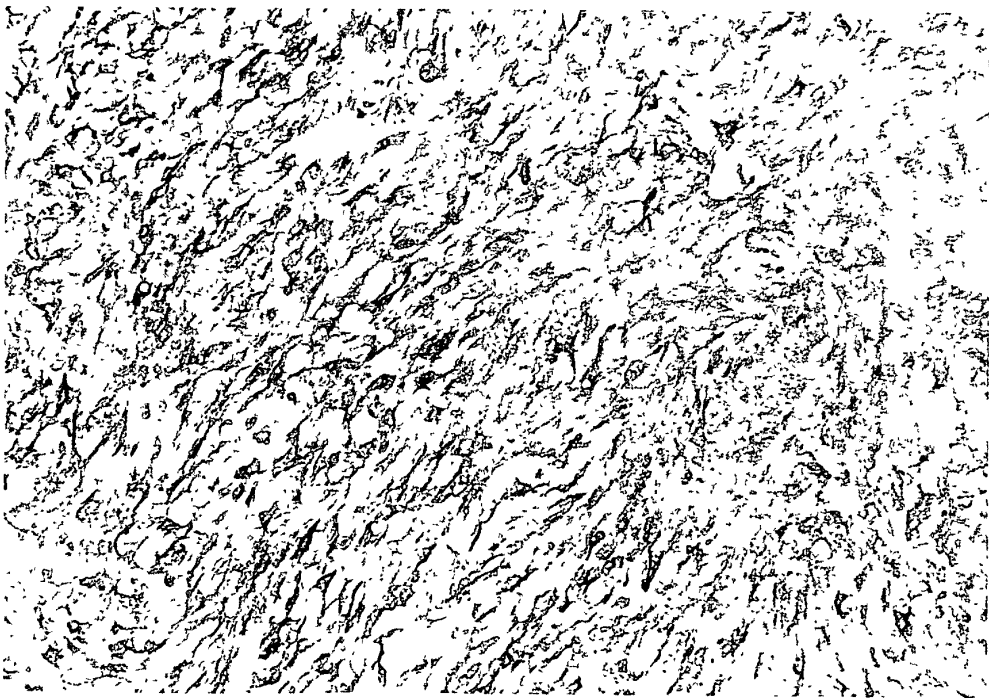
附圖二



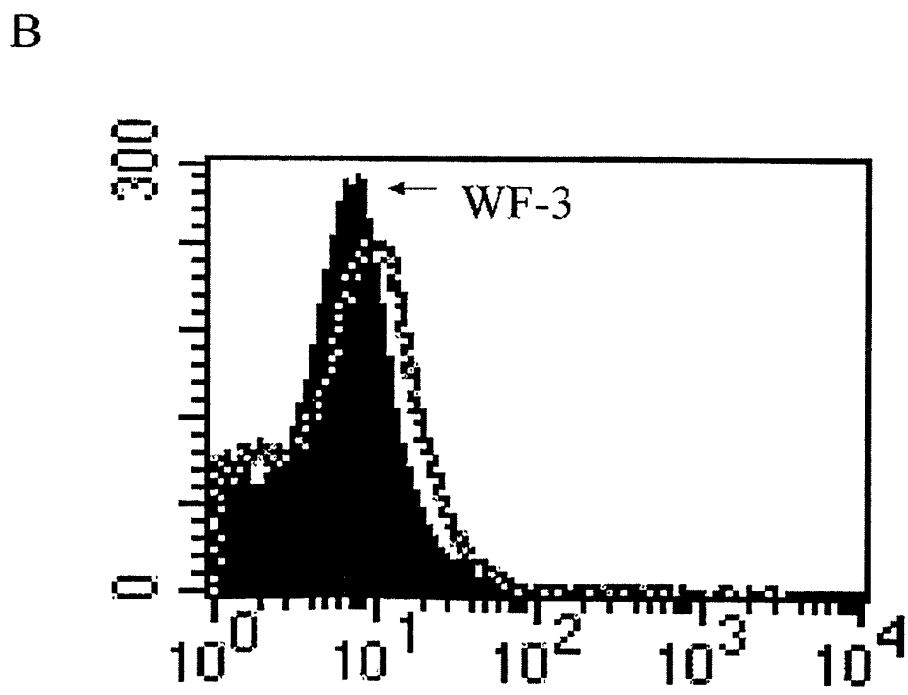
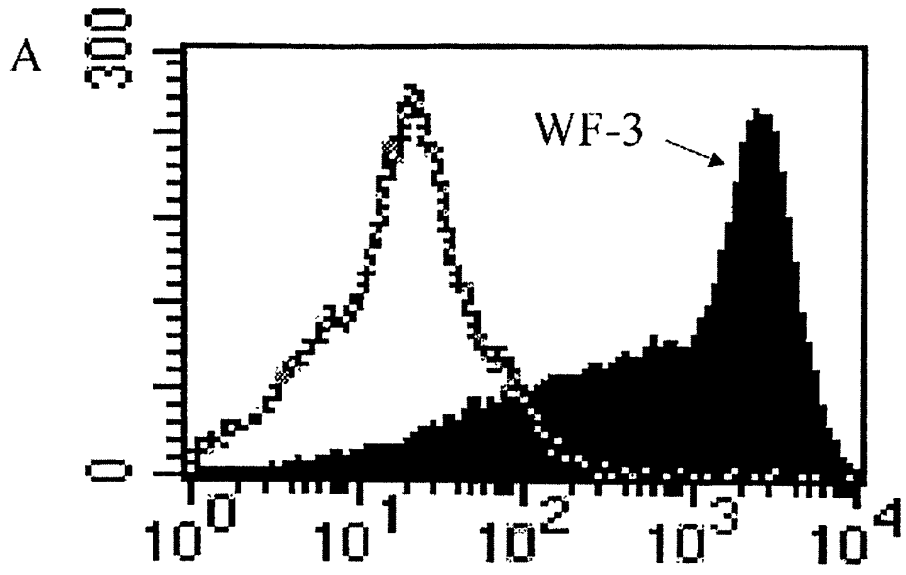
附圖三



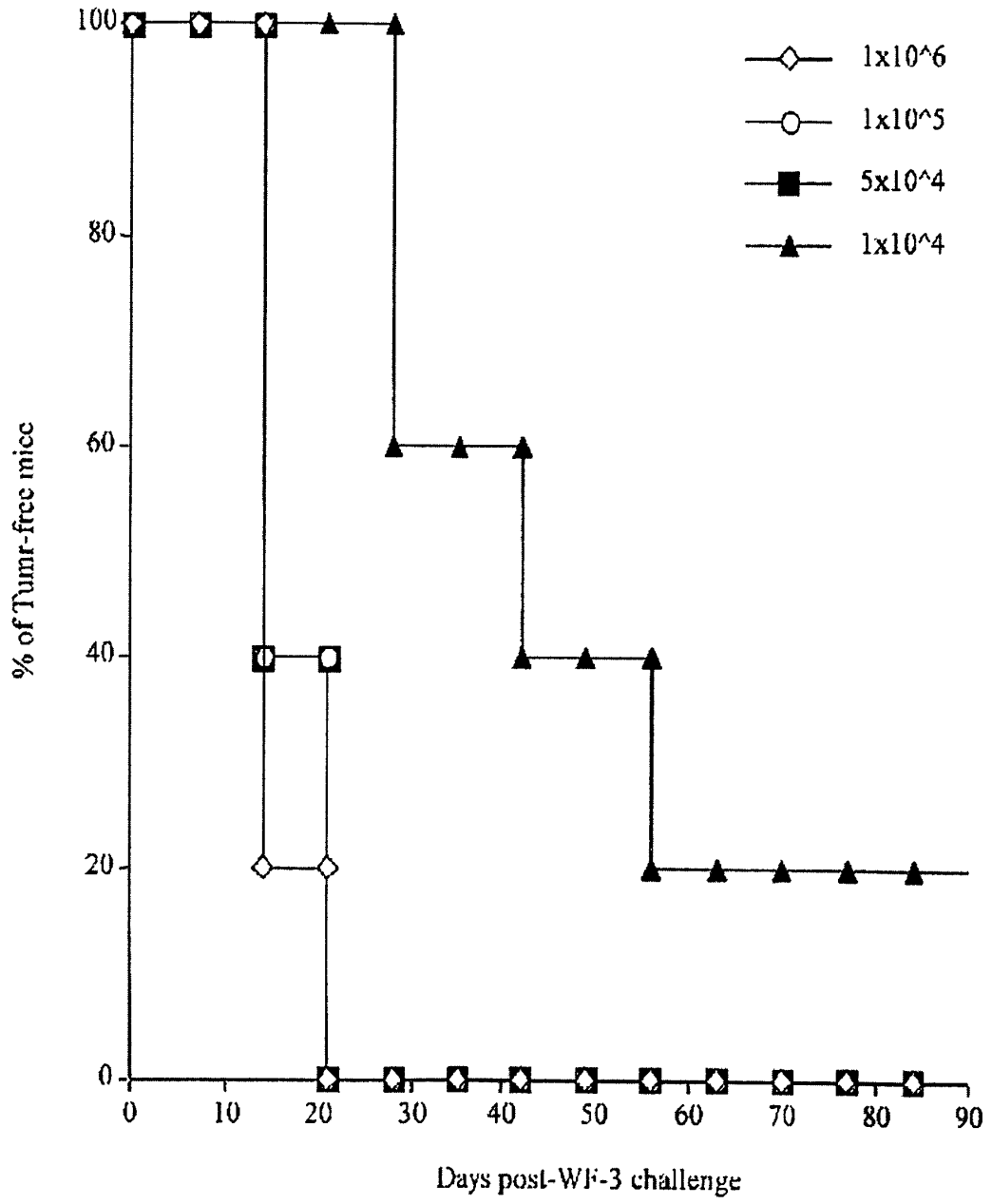
附圖四



附圖五



附圖六 A



附圖六 B

