

利用鐳射流體細胞儀回溯研究口腔鱗狀 細胞癌之去氧核糖核酸套數

林岑蔚* 陳中和†† 楊奕馨† 謝天渝†

* 中國醫藥學院附設醫院牙科

† 高雄醫學院口腔衛生科學研究所

† 高雄醫學院口腔顎面外科

口腔癌中最常見者為鱗狀細胞癌，過去倚賴臨床分期或病理組織形態學的觀察來預測其侵犯性及預後的情形，並非很完整。最近幾年來由於流體細胞儀 (flow cytometry, FCM) 的發展可分析腫瘤細胞去氧核糖核酸套數作回溯性的研究。本研究以民國七十八年至七十九年間至高雄醫學院附設中和念醫院牙科部求診之口腔鱗狀細胞癌之病例，篩選六十三例進行流體細胞儀去氧核糖核酸套數的分析。結果有六十三例可解讀的去氧核糖核酸柱狀圖 (DNA histogram) 其中三十五例 (56%) 屬於雙套數，二十八例 (44%) 屬於異套數。就去氧核糖核酸套數與病人臨床分期間之關係而言，異套數之病人大多屬於第三與第四期 (79%)，而雙套數者則多屬於第一與第二期 (54%)，此二者在臨床分期之分佈有統計上顯著性的差異。就去氧核糖核酸與腫瘤大小而言，異套數之腫瘤 78% 大於 4 公分，而雙套數則僅有 46% 大於 4 公分，亦有統計上顯著性差異。類似的情形，亦發現在組織分化程度、頸部淋巴結轉移及病人之存活關係上，異套數有較為惡性之傾向，同時相對於以上各因素亦都有統計上顯著性差異。因此建議可以在病患進行活體組織切片檢查時，也利用流體細胞儀來偵測其去氧核糖核酸含量及套數，作為臨床上選擇較適當治療方法及預後的另一重要參考指標。

關鍵詞：鐳射流體細胞儀，口腔鱗狀細胞癌，去氧核糖核酸套數。

在台灣隨著嚼食檳榔之普遍化，口腔癌病人與日俱增，而口腔癌之治療相當複雜，需依病狀輕重分類作不同的治療計劃。對於臨床上使用腫瘤大小、淋巴結及遠端轉移有無之臨床分期系統 (TNM) 並不是很完整的治療及預後指標，而若是加上病理組織形態的分類對於特定之腫瘤生物性質及預後有相關性，但仍不是很好的預後指標，無論是使用臨床或組織病理

分類對於細胞層次之瞭解仍舊不夠。流體細胞儀 (flow cytometry 以下簡稱 FCM) 對細胞之分化及增生性質可提供較深入瞭解，已有多篇文章利用流體細胞儀來分析惡性腫瘤去氧核糖核酸的含量，如使用於攝護腺^{1,2}、食道³、乳房⁴、膀胱⁵、腸胃⁶等惡性腫瘤之研究；對於診斷、癒後指標有其價值，因為正常細胞為雙套數 (diploid) DNA，而腫瘤細胞為異常

細胞，應為異套數 (aneuploid) DNA。以前得利用新鮮組織來測定去氧核糖核酸套數，1983年臟塊組織處理技術被發展成功⁷，使得流體細胞儀可應用作回溯性的研究。

1964年 Prescott 首先提出細胞週期 (cell cycle) 的觀念，認為體內每一個細胞可分為間期 (interphase) 及分裂期 (mitosis) 二階段，分裂期約一小時，間期包括 G0/G1 (gap)，S (synthesis) 及 G2 三期，共約 15 小時。每一組織器官內的細胞群所呈現的每個細胞週期則呈一定比例，如 G1 phase 一般在細胞群中約佔 85-90%，S phase 細胞約佔 5-10%，而 G2/M phase 細胞則佔 5% 左右。正常細胞產生癌病變時，其細胞週期比例，如 S phase 細胞比例 (S-phase fraction, SPF) 及每個癌細胞 DNA 含量則很可能異常；正常人類 G0/G1 細胞含 23 對雙套染色體 (2N or 2C；diploid)，SPF 細胞染色體則介於 2.1-3.9 套之間，而 G2/M 期細胞則為四套 (tetra-ploid)。癌細胞族群內之母株 (stem line) 則可能出現許多不同 DNA 含量 (aneuploid) 及不同週期比例 (SPF >10%) 之情形。DNA FCM 技術或許是可以提供快速準確、大量且定量分析某一細胞群內細胞週期比例及 DNA 含量最好的一個適當方法。

DNA FCM 之研究開始於 1976 年 Melamed 等人⁸發表以 FCM 測量人類正常及異常尿道上皮細胞之 DNA，發現有所不同，之後有多篇文章對膀胱上皮腫瘤 DNA FCM 的研究。其他如攝護腺^{1,2}、食道³、乳房腫瘤⁴都相繼有多篇文獻，報告 DNA FCM 研究對臨床診斷的影響。

在口腔癌的病人中，有相同臨床分期及組織病理形態的病人，經過同樣的治療方法，卻有不同的反應及不同的臨床結果，這些問題一直困擾臨床醫師。雖然腫瘤在臨床上的表現大都與腫瘤大小、淋巴轉移、遠端轉移及組織病

理形態有關，但上述均非很完整的預後指標。臨床上 TNM 分期及組織病理形態兩者僅算是半定量及主觀因素，缺乏在細胞層次的瞭解，尤其是腫瘤細胞的分化及增生的性質，更缺乏客觀及定量的生物指標來瞭解腫瘤細胞的特性，而流體細胞儀則能提供較客觀及定量的腫瘤細胞分化及增生特性。有關頭頸部之鱗狀細胞癌在流體細胞儀之研究，自 1982 年至 1994 年這十二年間有多篇 DNA FCM 研究報告，其結果雖各有分歧，但大致為去氧核糖核酸異套數與腫瘤大小、淋巴轉移、組織分級有相關性，且與腫瘤復發及存活率也有相關性。臨床上對於口腔癌之治療、再發、預後及存活率以 TNM 分類雖然是一良好方法，卻並不是很完整的指標。目前許多學者研究報告中建議利用 FCM (如 DNA 套數、S-phase fraction 等) 來當作預後評定參考及選擇適當的治療方法。目前台灣方面以流體細胞儀來作口腔鱗狀細胞癌的研究不多，本研究以口腔癌臟塊組織作去氧核糖核酸套數回溯性的研究，並利用統計方法分析所得之結果與腫瘤大小、淋巴結轉移、組織病理分類、預後是否相關，並以此作為手術及治療方法之參考。

方 法

研究對象

本實驗選擇民國 78 年至 79 年間至高雄醫學院附設醫院牙科部接受治療之口腔癌患者，經口腔病理專科醫師診斷為口腔鱗狀細胞癌，並篩選合適之口腔癌組織臟塊 63 例，以 Modified Hedley Method⁷ 測定鱗狀細胞癌之去氧核糖核酸套數並作臨床評估研究。

實驗步驟

本實驗篩選合適之口腔癌組織臟塊共 63

例，以病理組織切片機，切取厚約 $40\mu\text{m}$ 二片，先將腫瘤部分挑出來，然後以剪刀剪碎放入試管。再以 3ml xylene 在室溫下去臘，每次作用 10 分鐘，計二次，再以濃度逐漸降低之乙醇溶液將組織復水，組織以 pepsin(pH 1.5, adjust wity 2NHCl) 於恆溫水浴中分解 30 分鐘，將試管取出。再利用 hemocytometer 來計算細胞數目，調節細胞數目，使其大於 2×10^6 cells，放入離心機以 250xg 離心 10 分鐘，取上清液，沈澱部分加入 DMSO buffer solution 四滴，依次序加入 cycle test plus DNA reagent kit (Becton Dickinson Company, USA) solution A 含 trypsin 0.25 ml 作用 10 分鐘，不可震盪，再加入 solution B 含 trypsin inhibitor and ribonuclease A 0.2 ml 作用 10min 不可震盪，最後加入 solution C 含 propidium iodide (PI) 染色 0.2 ml 在暗處冰浴 ($2-8^\circ\text{C}$) 作用 30 分鐘。放入樣本前應先校正機器，利用 DNA QC particle (Becton Dickinson Company) 中，vial A CEN (chicken erythrocyte nuclei) 1 滴加 vial D PI 1 ml 混合輕搖，然後放入暗處冰浴 ($2-8^\circ\text{C}$) 作用 10min，作為 internal calibration。進入 Cell Fit 程式後，將含 CEN 試管放入 FACScan (Becton Dickinson Company) 分析，檢查其 CV 值應小於 3，而 Mean 2/Mean 1 介於 1.95 至 2.05 間，則機器方可使用。將處理好之樣本 63 例，經 $40\mu\text{m}$ nylon mesh (Becton Dickinson Company) 過濾後，按照編號依序放入 FACScan 分析，則可解讀其核酸柱狀圖 (DNA histogram)。另以正常口腔黏膜之臘塊，經相同處理後，放入 FACScan 分析，做為對照組。

統計方法

本研究之去氧核糖核酸套數與臨床分期、腫瘤大小、TNM 級數及腫瘤分化程度間之關係乃使用 Mantel - Haenszel 卡方檢定比較程

度上之差異性。而五年存活率、有轉移淋巴結數目則使用卡方檢定比較差異性。

結 果

本研究共篩選了 63 個口腔癌病例，並解讀其去氧核糖核酸柱狀圖 (DNA histogram)。63 例中有 35 例 (56%) 為雙套數去氧核糖核酸，而有 28 例 (44%) 為異套數去氧核糖核酸 (DNA aneuploid)。此 63 位患者之性別、年齡等基本資料列於表 1，其中男性佔 57 例 (90%) 女性 6 例 (10%)，患者年齡由 23 至 95 歲，其中大於 50 歲者有 40 例 (63%)。

就口腔鱗狀細胞癌去氧核糖核酸套數與腫瘤大小之相關性而言 (表 2)，異套數之腫瘤有 78% 大於 4 公分，而雙套數者則僅有 46% 大於 4 公分，同樣地此兩者之差異在統計上呈有意義之相關 ($p < 0.05$)。類似的情形，亦發現在頸部淋巴轉移及病人之存活關係上 (表 3)。就口腔鱗狀細胞癌去氧核糖核酸套數與病人臨床分期間之關係而言 (表 4)，異套數之病人大多屬於第三與第四期 (79%)，而雙套數者則多屬於第一與第二期 (54%)，此二者之差別於統計上呈有意義之相關 ($p < 0.05$)。

至於五年存活率方面，DNA 異套數者 (aneuploid) 其存活率比 DNA 雙套數者 (diploid) 低，DNA 異套數有 28 例，存活的有 6 例 (21%)，而 DNA 雙套數有 35 例，存活的有 23 例 (66%)，可見存活率與 DNA 異套數有相關性 ($p < 0.01$)。口腔癌第一和第二期病人其去氧核糖核酸為雙套數者共 19 例，有 16 例存活 (84%)。口腔癌第一和第二期病人其去氧核糖核酸為異套數者共 6 例，只有 3 例存活 (50%)，其差別無統計學意義 ($p = 0.087$)。口腔癌第三和第四期病人其去氧核糖核酸為雙套數者共 16 例，有 7 例存活 (44%)。而口腔癌第三和第四期病人其去氧核糖核酸為異套數者共 22 例，僅有 3 例存活 (14%) 其差別有統計學之意

表 1. 六十三位口腔鱗狀細胞癌患者之臨床表徵
Clinical findings of 63 patients with oral squamous cell carcinoma

<i>Variable</i>	<i>Category</i>	<i>Percentage</i>
<i>Sex</i>	<i>Male</i>	90%
	<i>Female</i>	10%
<i>Age(years)</i>	20-49	37%
	50-95	63%
<i>Site</i>	<i>Buccal Mucosa</i>	44%
	<i>Tongue</i>	33%
	<i>Palate</i>	8%
	<i>Lip</i>	5%
	<i>Mouth</i>	3%
	<i>Gingiva</i>	3%
	<i>Maxilla</i>	3%
<i>Clinical staging</i>	<i>I</i>	11%
	<i>II</i>	29%
	<i>III</i>	41%
	<i>IV</i>	19%
<i>Status</i>	<i>Alive</i>	46%
	<i>Dead</i>	54%
<i>Tumor size</i>	<2cm	11%
	2-4cm	29%
	>4cm	60%
<i>Histologic differentiation</i>	<i>Well-differentiated</i>	76%
	<i>Moderate-differentiated</i>	13%
	<i>Poor-differentiated</i>	11%
<i>Lymph nodes with metastasis</i>	<i>None</i>	44%
	>1	56%

Due to rounding, sum of proportions may not be 100%

表 2. 口腔鱗狀細胞癌去氧核糖核酸套數和腫瘤大小之相關性

Correlation between DNA ploidy in oral squamous cell carcinomas and tumor size

Ploidy	N	Tumor size		
		<2cm	2-4cm	>4cm
Aneuploid	28	4%	18%	78%
Diploid	35	17%	37%	46%

Mantel-Haenszel $X^2=7.271$, $df=1$ with standardized midrank scores;
 $p=0.007$

表 3. 口腔鱗狀細胞癌去氧核糖核酸套數和轉移淋巴結數目之相關性

Correlation between DNA ploidy in oral squamous cell carcinomas and number of metastatic lymph nodes

Ploidy	N	Number of metastatic lymph nodes	
		None	>1
Aneuploid	28	18%	82%
Diploid	35	66%	34%

$X^2=12.556$, $df=1$; $p<0.001$

表 4. 口腔鱗狀細胞癌去氧核糖核酸套數和轉移淋巴結數目之相關性

Correlation between DNA ploidy in oral squamous cell carcinomas and number of metastatic lymph nodes

Ploidy	N	Number of metastatic lymph nodes	
		None	>1
Aneuploid	28	18%	82%
Diploid	35	66%	34%

$X^2=12.556$, $df=1$; $p<0.001$

表 5. 癌症臨床分期和嚼檳榔、吸菸之相關性
Correlation between clinical staging and betel nut chewing and smoking

Status	Clinical staging				
	N	I	II	III	IV
Betel Nut Chewing and Smoking	33	0%	24%	45%	30%
Betel Nut Chewing Only	12	33%	17%	42%	8%
Smoking Only	6	17%	50%	33%	0%
None	12	17%	42%	33%	8%

Mantel-Haenszel $X^2=7.271$, $df=1$ with standardized midrank scores;
 $p=0.011$

義 ($p<0.05$)。因此若是第三、四期病人又是 DNA 異套數者其存活率很低。就嚼檳榔及抽煙與口腔癌之臨床分期而言，表 5 中可明顯看出同時抽煙與嚼檳榔者，有 75% 為第三、第四期之口腔癌，僅嚼檳榔者有 50% 為第三、第四期之口腔癌，而僅抽煙或是兩者都無者則分別為 33% 及 41% 為第三、第四期之口腔癌。在統計上亦證明抽煙與嚼檳榔在口腔癌之分期上有顯著性差異 ($p<0.05$)。另外就口腔鱗狀細胞癌組織分化與 DNA 異套數之關係而言，在組織分化上，高度分化者 48 例，其中有 16 例為 DNA 異套數，中度分化者 8 例，其中有 6 例為 DNA 異套數，可見 DNA 異套數與組織分化也有相關性 ($p < 0.05$) (表 6)。

討 論

在台灣 1964 年 Chang⁹ 首先提出口腔癌與嚼食檳榔有關，其中口腔癌患者有嚼食檳榔者

佔 59%。1966 年 Chang¹⁰ 報告嚼食檳榔造成口腔黏膜變化有 30%，雖然沒有發現癌症，但嚼食檳榔者癌前狀態比任何無嗜食者發生較多。1976 年 Kwan¹¹ 報告 203 例口腔癌患者，男性年齡 40-70 歲罹患率最高，在口腔分佈位置依次為舌、齒齦、頰黏膜、上顎、齒槽黏膜、口底及唇，所有口腔癌病例，以頰黏膜病患嗜食檳榔者最多，佔 81.1%，可見口腔癌與嚼食檳榔有關。1987 年 Chen¹² 研究台灣南部地區口腔鱗狀細胞癌，以 40-79 歲患者罹患率最高，發生部位以舌最多，頰黏膜居次，口腔癌患者有嚼食檳榔者佔 86.2%，臨床分期以末期患者居多佔 60%。另外 Trimble¹³ 在 233 例口腔癌中發現第一、第二期佔 33%，第三、第四期 67%。本研究 63 例口腔鱗狀細胞癌患者，男性患者平均年齡 52 歲，發生部位依次為頰黏膜 (44%)、舌 (33%)、腭 (8%)、唇 (5%)，嚼食檳榔者佔 70%，第一、第二期口腔癌佔 40%，而第三、第四期口腔癌高達

表 6. 口腔鱗狀細胞癌去氧核糖核酸套數和腫瘤細胞分化程度之相關性

Correlation between DNA ploidy in oral squamous cell carcinomas and tumor cell differentiation

DNA ploidy	Tumor cell differentiation			
	Good(%)	Moderate(%)	Poor(%)	Total(%)
Aneuploid	16(25.4)	6(9.5)	6(9.5)	28(44.4)
Diploid	32(50.8)	2(3.2)	1(1.6)	35(55.6)
Total	48(76.2)	8(12.7)	7(11.1)	63(100.0)

Mantel-Haenszel $X^2=10.091$, $df=1$ with standardized midrank scores;
 $p=0.011$

60%。口腔鱗狀細胞癌之預後與臨床分期及腫瘤細胞分化有密切關係，但仍與病人年齡、健康情形、免疫情況及心理狀況有關係，通常未分化及癌症末期的病人其預後較差。一般口腔鱗狀細胞癌之五年存活率約 45-50%，如有淋巴轉移則存活率降至 20%¹⁵。Trimble¹³ 在 200 位口腔癌患者中，五年存活率方面第一期患者之存活率 94%、第二期 65%、第三期 27%、第四期 5%。Alison 等學者¹⁶ 在 118 位口腔癌患者中，第一期患者之存活率 86%、第二期 43%、第三期 38%、第四期 16%。而本研究 63 位口腔癌患者中，第一、第二期患者之存活率約 70%，第三、第四期患者之存活率約 24%。

近年來專家學者利用流體細胞分析儀 (FCM) 對惡性腫瘤去氧核糖核酸成份的分析，希望能作為組織病理診斷和臨床惡性分級之輔助工具以及預後指標。一般利用流體細胞儀 (FCM) 分析去氧核糖核酸 (DNA) 之組織來源有二種，一為新鮮活體組織，對於如何使組織成為單細胞懸浮液是處理技術的最大問題；另一則為福馬林固定臘塊組織。大多數研究多採

用新鮮組織，利用固定臘塊組織則較困難，Hedley 等學者⁷ 將固定臘塊組織之技術發展成功，為臨床大量回溯性 DNA FCM 研究提供了新路。根據文獻報告膀胱癌細胞染色體含量異常之機率為 68%¹⁶ 至 72%¹⁷，大部分的報告都認為腫瘤分化愈差或臨床期數愈高，FCM 陽性率愈高，預後也較差，可作為臨床治療及預後指標，其他如攝護腺^{1,2}、食道³、乳房惡性腫瘤⁴ 之 FCM 研究，也認為腫瘤分化愈差或臨床期數愈高，其 DNA 異套數比率愈高，且其存活率愈差。

針對頭頸部腫瘤作流體細胞儀分析去氧核糖核酸的一些研究也大致與其他部位癌所作的 FCM 結論類似。本研究 63 例口腔鱗狀細胞癌，其中 44% 為 DNA 異套數，56% 為 DNA 雙套數。

1988 年 Kokal 等學者¹⁸ 報告 76 例頭頸部鱗狀細胞癌，其中第三及第四期患者有 81% 為 DNA 異套數，48% 為 DNA 雙套數，可見末期口腔癌有較多 DNA 異套數的現象。1989 年 Chen¹⁹ 報告 21 例口腔鱗狀細胞癌，其中第一、二期與第三、四期 DNA 異套數比例相

近。本研究 63 例在臨床分期中，第一、二期口腔癌 DNA 異套數比例為 24%，而第三、四期口腔癌 DNA 異套數比例為 58%，可見臨床分期與 DNA 異套數有相關性。

1993 年 Chen²⁰ 報告 40 例口腔鱗狀細胞癌中，頸部淋巴轉移患者有 70% 為 DNA 異套數，24% 為 DNA 雙套數。本研究 63 例口腔癌患者有頸部淋巴轉移者有 66% 為 DNA 異套數，34% 為 DNA 雙套數，無頸部淋巴結轉移者有 18% 為 DNA 異套數，可見有頸部淋巴結轉移者有較多的 DNA 異套數的現象，且淋巴結轉移有無與 DNA 異套數也有相關性 ($p < 0.05$)。臨床上只要病人之腫瘤為 DNA 異套數，則其存活率在統計學上明顯的比其腫瘤為 DNA 雙套數者為差。台灣地區口腔癌罹患率一年比一年升高，是相當明顯的事實，而且口腔癌患者有年輕化的趨勢。本研究 63 例中有 44 例 (70%) 有嚼檳榔的習慣，在討論嚼檳榔及抽煙與口腔癌之臨床分期之相關性而言，同時抽煙與嚼檳榔者，有 85% 為第三及第四期患者，僅嚼檳榔者有 50% 為第三及第四期患者，而僅抽煙或是兩者都無者則分別為有 33% 及 41% 為第三及第四期患者。同時在統計上亦證明抽煙與嚼檳榔之患者在其口腔癌之臨床分期上有顯著性差異。目前高雄醫學院對於口腔鱗狀細胞癌病患治療方法是根據臨床分期及組織病理分級來決定使用根除手術或合併化學藥物及放射線治療。一般而言，如病灶直徑小於 2 公分，多採根除性手術。如病灶直徑大於 2 公分，其治療方式為術前化學治療，再作根除性手術及頸部淋巴結擴清術，術後再作預防性放射線治療。臨床上不論 TNM 分期結果如何，均不能當作預作絕對指標或治療之依據。本研究藉由流體細胞儀分析口腔癌鱗狀細胞癌去氧核糖核酸套數，再利用統計方法分析所得之結果與臨床分期、腫瘤細胞分化及患者存活率有相關性，且不論病人其臨床分期為何或組

織病理分類為何，只要發現腫瘤是 DNA 異套數時，其預後或存活率在統計學上皆明顯比腫瘤是 DNA 雙套數者為差。本研究結果可以解釋為何臨床上有些病人之臨床分期或組織病理分類與實際存活率不一致的原因。因此臨床上可在病人作病理切片之同時也利用流體細胞分析儀來偵測其去氧核糖核酸套數，如果是 DNA 異套數則術前化學藥物治療劑量是否應加重，手術時是否採用更大範圍切除原病灶區，並加上頸部淋巴結廓清術，而術後預防性放射線治療劑量是否應加重，則有待進一步評估。

參考文獻

1. Seppelt U, Sprenger E. Nuclear DNA cytophotometry in prostate carcinoma. *Cytometry*, 5: 258-262, 1984.
2. Wu WJ, Huang MS, Wang HJ, Chiany PH, Huang CH, Chiang CP. Flow cytometric DNA analysis of advanced prostatic adenocarcinoma. *Kaohsiung J Med Sci*, 9: 122-130, 1993.
3. Matsuura H, Sugimachi K, Ueo FH, Kuwano H, Koga Y, Okamura T. Malignant potentiality of squamous cell carcinoma of the esophagus predictability by DNA analysis. *Cancer*, 57: 1810-1814, 1986.
4. Askensten UG, Von Rosen AK, Nilsson RS, Auer GU. Intratumoral variations in DNA distribution patterns in mammary adenocarcinomas. *Cytometry*, 10: 326-333, 1989.
5. Shien TP, Chan LP, Yu KC, Chang MC, Ho WL. A retrospective study of DNA ploidy of transitional cell carcinoma of urinary bladder using flow cytometry. *Kaohsiung J Med Sci*, 10:22-27, 1994.
6. Sasaki K, Hashimoto T, Kawachino K, Takahashi M. Intratumoral regional differences in DNA ploidy of gastrointestinal carcinomas. *Cancer*, 62: 2569-2575, 1988.
7. Hedley DW, Friedlander ML, Taylor IW, Catherine AR, Musgrove EA. Method for analysis of cellular DNA content of paraffin-embedded pathological material using flow cytometry. *J Histochem Cytochem*, 31: 1333-1335, 1983.
8. Melamed MR, Tragonos F, Sharpless T, Darzynkiewicz Z. Urinary cytology automation. Preliminary

- studies with acridine orange stain and flowthrough cytofluorometry. *Invest Urol*, 13: 331-338, 1976.
9. Chang KM. Betel nut chewing & mouth cancer in Taiwan. First Report. Survey of disposition of mouth cancer in Taiwan. *J Formos Med Assoc*, 63: 437-448, 1964.
 10. Chang KM. Betel nut chewing and mouth cancer in Taiwan. *J Formos Med Assoc*, 65: 79-86, 1966.
 11. Kwan HW. A Statistical study of oral carcinomas in Taiwan with emphasis on the relationship with betel nut chewing: A preliminary report. *J Formos Med Assoc*, 75: 497-505, 1967.
 12. Chen CH. An epidemiological study of oral squamous cell carcinoma in southern Taiwan. *J Formos Dent Assoc*, 10: 268-274, 1987.
 13. Trimble WM. Cancer of the oral cavity: five year end results in 237 patients. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 78: 716-723, 1969.
 14. Tytor M, Franzen G, Olofsson J. DNA pattern in oral cavity carcinomas in relation of clinical stage and histological grading. *Path Res Pract*, 182: 202-206, 1987.
 15. Alison MR, Bryan GR. Prognostic indicators for oral squamous cell carcinoma. A comparison between the TNM and STNMP systems. *Br J Oral & Maxillofac Surg*, 22: 30-36, 1984.
 16. Denvonec M, Darzynkiewicz Z, Kostyrka-Claps M, Collste LG, Whitmore WF, Melamed MR. Flow cytometry of low stage bladder tumors. Correlation with cytologic and cystoscopic diagnosis. *Cancer*, 49: 109-118, 1982.
 17. Badalament RA, Kimmel M, Gay H, Cibas ES, Whitmore WF, Herr HW, Fair WR, Melamed MR. The sensitivity of flow cytometry compared with conventional cytology in the detection of superficial bladder carcinoma. *Cancer*, 59: 2078-2085, 1987.
 18. Kokal WA, Gardine RL, Sheibani K, Zak I, Beatty JD, Riihimaki DU, Wagman LD, Terz JJ. Tumor DNA content as a prognostic indicator in squamous cell carcinoma of the head & neck region. *Am J Surg*, 156: 276-280, 1988.
 19. Chen RB. Flow cytometric analysis of benign and malignant tumors of the oral and maxillofacial region. *J Oral & Maxillofac Surg*, 47: 596-606, 1989.
 20. Chen RB, Suzuki K, Nomura T, Nakajima T. Flow cytometric analysis of squamous cell carcinomas of the oral cavity in relation to lymph node metastasis. *J Oral & Maxillofac Surg*, 51: 397-401, 1993.

A retrospective study of DNA ploidy of oral squamous cell carcinomas using laser flow cytometry

CHEN-WEI LIN* CHUANO-HO CHEN^{†‡} YI-HSIN YANG[†] TIEN-YU SHIEH[†]

* *Department of Dentistry, Taichung Affiliated Hospital, China Medical College, Taichung, Taiwan, ROC.*

[†] *Graduate Institute of Oral Health Sciences, Kaohsiung Medical College, Kaohsiung, Taiwan, ROC.*

[‡] *Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Kaohsiung Medical College, Kaohsiung, Taiwan, ROC.*

Squamous cell carcinoma(SCC) is the most common malignancy in the oral cavity. Its aggressive potential cannot usually be accurately predicted from the histological grading or clinical staging. Recently, studies of DNA ploidy using flow cytometry in analysis of fresh specimens of tumors have been reported. In this study, 63 paraffinembedded specimens of oral squamous cell carcinoma(SCC) were collected from the Dental Department of Kaohsiung Medical College Hospital from 1989 through 1990. The DNA histograms were analyzed using flow cytometry. Thirty-five specimens were DNA diploid and 28 specimens were DNA aneuploid. Statistically significant differences were found between DNA ploidy in oral SCCs and histological grading, clinical stages, tumor size, and survival rate. The results suggest that analysis of DNA ploidy using flow cytometry may be a valuable indicator in evaluating oral SCCs.

Key words: flow cytometry, oral squamous cell carcinoma, DNA ploidy.

Received: July 6, 1998

Accepted: January 17, 1999

Reprint requests to: Dr. Tien-Yu Shieh, Graduate Institute of Oral Health Sciences, Kaohsiung Medical College, No.100, Shih-Chuan 1st Road, Kaohsiung, Taiwan 807, ROC.