癌症的免疫細胞療法新進展

文、圖/趙榮杰 台中市 傑出診所

前　言

臨床上運用免疫細胞來治療癌症，尤其針對實質腫瘤（solid tumor），已是快速進展的趨勢。目前持續不斷的成功案例及臨床試驗成果，讓免疫細胞收養療法（adoptive cell therapy, ACT）這個領域吸引更多不同學科的基礎與臨床研究人員相繼投入與交互溝通對話，當中包括分子細胞免疫學、腫瘤生物學、基因治療和幹細胞生物學等。美國國家衛生研究院（NIH）與美國癌症免疫治療學會（SITC）特別于2011年11月1和2日舉辦「癌症的免疫細胞療法高峰論壇」（Summit on Cell Therapy for Cancer）[1]，會議中邀請免疫細胞療法各相關領域專家（T細胞療法、NK細胞療法、樹突細胞疫苗、幹細胞醫學）進行研究成果發表與交流，希望藉著這次多學科的對談為免疫細胞治療癌症這個領域帶來更多新的思維與進展。

T細胞療法細胞採集方式

T細胞輸入治療是所有癌症免疫療法（cancer immunotherapy）中最直接有效，甚至可能治癒（cure）腫瘤的方式。簡單地說，它包括了採集、分離出對特定癌細胞/抗原特異性（tumor-antigen specific）的T細胞，在實驗室中培養並大量擴充數量後再回輸給病人[2]。目前採集T細胞的方式有二，第一種是使用黑色素細胞癌腫瘤內特有的浸潤性淋巴細胞（tumor-infiltrating lymphocytes, TIL）[3]，病人首先須接受切除皮膚或內臟的腫瘤，然後切分成1mm小腫塊或細胞懸浮液進行T細胞分格培養，同時利用INF γ的分泌多寡篩選出對黑色素細胞癌作用的T細胞。另一種方式則使用白血球分離機抽取病人或他人的周邊血液，然後送到實驗室利用樹突細胞呈現癌抗原方式刺激T細胞，篩選出對特定癌抗原有效的T細胞。第二個方法一般用於病毒型的癌症，如EBV相關的鼻咽癌[4]，和少部份癌症。

NCI外科部使用的T細胞療法與成效

NIH的Rosenberg醫師在會議中指出，根據美國國家癌症中心（NCI）外科部長達4-7年的追蹤研究顯示，93名罹患黑色素細胞癌晚期的病人接受T細胞輸入治療合併化療（cyclophosphamide＋fludarabine）

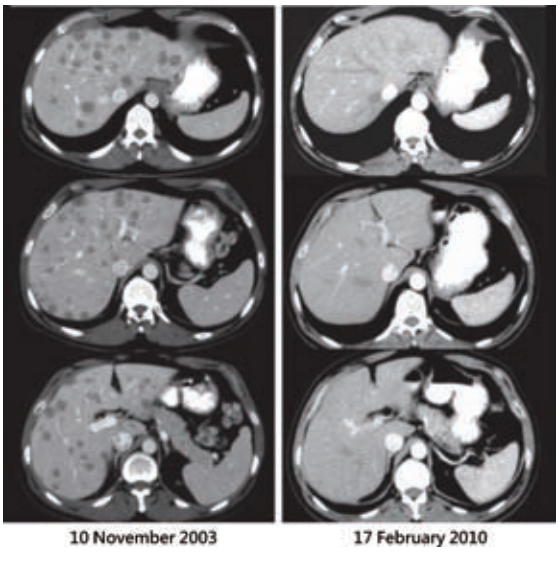


圖1 黑色素細胞癌病人接受T細胞輸入合併計畫性化療後，多發性肝臟腫瘤消失[5]。

w/o全身放射照射（total body irradiation, TBI）之後，有效反應率達49%–72%，當中一組合併12Gy TBI的病人，更有高達40%的病例腫瘤完全消失（complete response）[5]（表1）。其中許多是內臟部位的腫瘤縮小，包括腦部、肝臟（圖1）、肺部、骨頭、及淋巴結等。這些接受T細胞治療後的腫瘤萎縮反應是長期持續性的（圖2），病人追蹤的時間平均為62個月。平均5年存活率是29%。NCI外科部使用的T細胞療法不同於其它免疫療法（包括單株抗體標靶藥物和治療性疫苗）的地方在於：可以在不受癌症病人體內免疫抑制的影響下，在體外（ex vivo）大量擴增特異性高的T細胞；另一方面，同時也是影響最大的因素在於可以預先安排讓病人接受化療和放射照射（圖3），讓體內淋巴球大量降低（lymphodepletion），使得緊接著輸回病人體內（in vivo）的這些特異性T細胞可以快速擴增並延長生存時間，增加有效清除癌細胞的機率。

T細胞輸入治療的影響因素

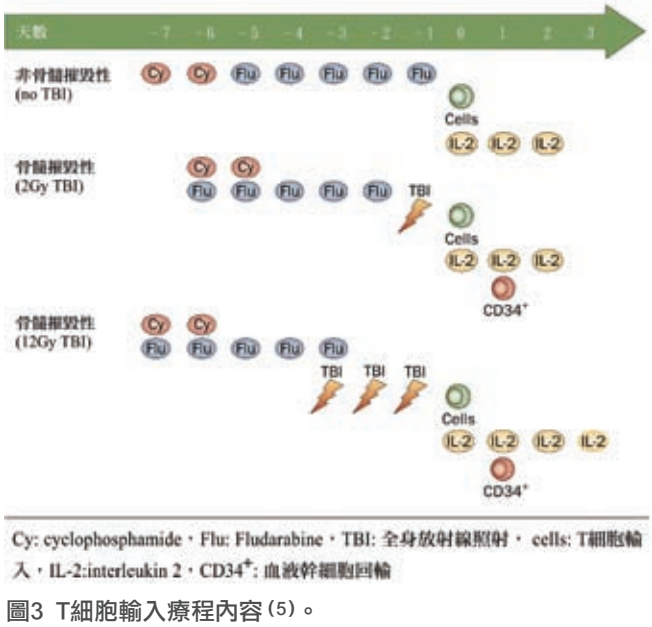
Rosenberg帶領的NCI外科部是當今全球治癌成效最好的研究團隊，藉著他們研究發表的歷史軌跡，我們可以一窺T細胞治療的重要轉折及影響因素。早期的T細胞療法因為回輸的T細胞在體內生存時間不長，實際抗癌效果相對有限。2002年他們證實預先使用計畫

表1 T細胞輸入療法治療成效[5]。

治療分組	病人數	腫瘤部分萎縮，人數（追蹤時間，月）	腫瘤完全萎縮，人數（追蹤時間，月）	有效反應率
No TBI	43	16 (84, 36, 29, 28, 14, 12, 11, 7, 7, 7, 7, 4, 4, 2, 2, 2)	5 (>86, >84, >83, >82, >69)	49%
2 Gy TBI	25	8 (14, 9, 6, 6, 5, 4, 3, 3)	5 (>73, >70, >65, >62, >59)	52%
12 Gy TBI	25	8 (21, 13, 7, 6, 6, 5, 3, 2)	10 (>53, >50, >49, >49, >44, >43, >43, >43, >42, 19)	72%

黑色素細胞癌病人總數93名，每人均接受預備性化療，共分成三組，第一組沒有接受全身放射線照射（TBI），第二組全身放射線照設劑量為2Gy，第三組全身放射線照射劑量12Gy。

圖2 40歲男性黑色素細胞癌病人，經T細胞輸入治療合併計畫性化療後，頭部蕈狀巨大腫瘤完全消失。一般認為免疫療法是輔助性治療，以及只有輕度抗癌效果的說法是不正確的[3]。



Cy: cyclophosphamide，Flu: Fludarabine，TBI: 全身放射線照射，cells: T細胞輸入，IL-2:interleukin 2，$CD34^+$: 血液幹細胞回輸

圖3 T細胞輸入療程內容[5]。

性化療來降低體內淋巴球，在這段約8天的時間內，回輸的特異性T細胞在體內可以增生約一千倍，並擴散導向癌細胞部位，最後造成腫瘤萎縮[6]。這些回輸的T細胞在體內存活時間可達數個月之久，有些病例75%的CD8細胞都來自這些特異性T細胞。 2005年他們發表使用T細胞療法合併化療治療35名黑色素細胞癌晚期的病人，結果18名（51%）病人呈現腫瘤萎縮[7]。之後在動物實驗中加入放射照射，結果發現體內淋巴球愈是降低，抗癌效果愈好。因此後來又增加了另外兩組臨床研究，病人除了接受相同的化療之外還增加全身放射照射（兩組總劑量分別為2Gy和12Gy）和自體CD34＋血液幹細胞回輸[8]。Rosenberg認為預先接受這種骨髓摧毀性（myeloablative）的治療，再回輸T細胞，有較好的抗癌反應。他們發現這些病人的血液中有較高的IL-15，尤其是接受高劑量放射照射（12Gy）的病人，可能與清除了體內消耗IL-15的競爭淋巴球有關。IL-15能夠活化免疫細胞（包括T細胞和NK細胞）和記憶型T細胞，延長在體內存活時間，卻不會促進免疫抑制細胞（regulatory T cell, Treg）的生長，這是12Gy這組病例有高達72%的有效反應率的原因之一；骨髓摧毀性治療的優點還包括清除體內淋巴球以增加輸入T細胞的生存空間、消滅體內已存在的Treg、和活化抗原呈現細胞等。

面對快速發展的T細胞輸入療法，我們發現預先施行的骨髓摧毀性化療、放射照射以及自體CD34＋血液幹細胞回輸，和治療血癌的血液幹細胞移植（hematopoietic stem cell transplantation, HSCT）療法在很多方面愈來愈相似了。的確，HSCT的治療領域也已經從以往的細胞取代治療（cell replacement therapy），趨向細胞收養治療了！從早先的使用捐贈者非特異性淋巴細胞回輸來治療血癌的復發，到標靶病毒T細胞回輸治療HSCT後的病毒感染，以及近來使用基因改造T細胞來治療部份血癌的病例[9]，在在顯示免疫細胞輸入治療在HSCT所佔的地位愈來愈重要。

輸入細胞的品質

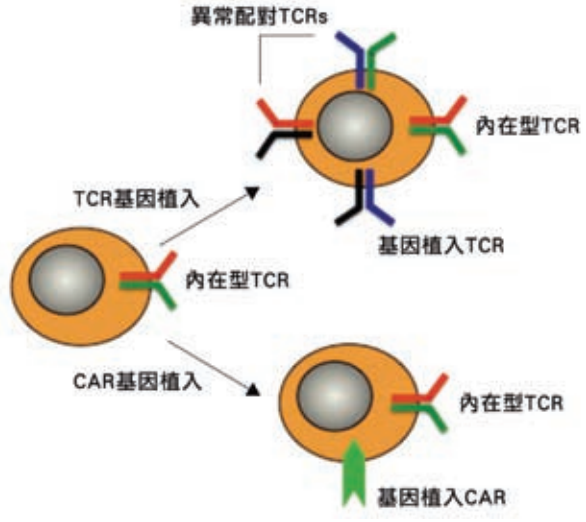
除了癌症病人體內（host factor）存在的免疫抑制因素影響T細胞療法的成效外，輸入細胞（cells factor）的品質則是另一關鍵因素。Rosenberg等的研究顯示，腫瘤完全萎縮的病人，他們回輸的T細胞有較長的端粒（telomere）、較多的CD27＋細胞（較少分化的標記）、以及能在體內生存超過一個月等特點[10]。因此NCI外科部現在已發展出更簡化、更有效率的細胞培養擴充技術，使用酵素分解腫瘤檢體後直接進行24格培養，不做抗癌功能的篩選和分格培養，希望藉著縮短細胞培養的時間和減少試劑的使用，達到製造更多年輕的T細胞（young TIL），並且加入刺激T細胞生長的機制（例如呈現CD137/4-1BB的基因改造細胞）[11]，大量擴增富含CD8＋的T細胞，增加回輸後在體內存活和抗癌的時間。另外，不同類別的T細胞也會影響輸入後的抗癌結果。西雅圖的弗雷德・哈欽森癌症研究中心的研究團隊在動物實驗上比較使用中央記憶型T細胞（central memory T cells, TCM）或作用記憶型T細胞（effector memory T cells, TEM）培養的T細胞的不同，他們發現由中央記憶型T細胞培養出的T細胞有較優異的體內生存能力和抗癌反應[12]。然而臨床上要運用這種細胞篩選方式，在體外先行分離出特定T細胞類別又不減低回輸後T細胞的抗癌功能，現階段仍是一大挑戰，是未來提高整體抗癌成效的研究方向之一。

標靶更多癌抗原與基因改造T細胞

研究顯示只有黑色素細胞癌和病毒性相關腫瘤的病人體內才能分離出特異性的T細胞。大部分癌抗原是屬於自體的蛋白質，抗原性較弱，因此大部分癌症病人體內較少有這些「原始的」特異性T細胞，就算有也很難篩選出足夠的T細胞供治療使用。而且這些T細胞回輸後是否能夠存活夠久，以及它的T細胞接受器（T cell receptor, TCR）與癌抗原的結合反應是否緊密，這些都是目前T細胞療法推廣到其它更多種類癌症的障礙[13]。因此，近幾年的趨勢是利用基因改造T細胞來治療更多種類的癌症。T細胞藉著TCR辨別、標靶癌細胞上的抗原，基因改造T細胞的技術是先找出抗癌性強的T細胞，接著分離出標靶癌抗原的TCR基因，再藉著基因載體技術將TCR基因轉入病人體內一般T細胞內，讓這些T細胞擁有特異性強、基因轉入的TCR。第一個成功的基因改造T細胞臨床試驗是使用標靶MART1和gp100兩種黑色素細胞分化抗原的TCR，30%接受這些基因改造T細胞輸入的黑色素細胞癌病人有腫瘤縮小反應[14]，另外這些T細胞也標靶了病人身體正常的黑色素細胞，造成白斑及聽力失調等輕度副作用。基因改造T細胞也成功地治療轉移性大腸癌的病人，該試驗使用標靶CEA的TCR，結果發現3病例治療後血液中CEA均降低（74-99%），其中1例的肺部和肝臟轉移腫瘤發生明顯萎縮；然而這些T細胞也標靶了正常腸道上皮細胞的CEA，造成3例均產生急性大腸炎的副作用[15]。因此如何選出只表現在癌細胞而不表現在正常細胞的癌抗原來標靶，是基因改造T細胞治療上重要的考量。癌症睪丸抗原（cancer-testis antigens, CT antigens）是胎兒發育時期的抗原，只表現在常見癌細胞上，而不在正常細胞上（睪丸生殖細胞除外，然因其不表現MHC抗原，所以不受T細胞標靶攻擊），因此是非常理想的標靶標的，其中以NY-ESO-1（乳癌、攝護腺癌、卵巢癌、惡性肉瘤）和MAGE-A（肝癌、食道癌、非小細胞肺癌、胃癌、大腸癌）兩種抗原最受矚目。最近，Robbins等發表使用標靶NY-ESO-1的基因改造T細胞治療7例滑液細胞肉瘤（synovial sarcoma）晚期的病人，其中有5例的腫瘤（包括肺部和肝臟的轉移）產生了萎縮反應，更重要的是這些病例都沒有發生治療後的副作用[16]。

基因植入嵌合性抗原接受器的臨床試驗

使用基因轉入的TCR有可能會與內在型



TCR：T細胞接受器；CAR：嵌合性抗原接受器。

圖4　T細胞接受基因植入TCR或CAR。其中，基因植入TCR的α和β鏈可能與原來的內在型TCR發生異常配對情形(12)。

（endogenous）TCR產生異常配對（圖4），造成對正常細胞過度反應的潛在副作用。研究發現，如果活化標靶病毒的內在型TCR之後，再導入基因轉入的TCR，可以避免產生異常配對的情況。此時基因改造T細胞配備了兩個主要的TCR：標靶病毒的內在型TCR和基因轉入TCR（圖5）；在這種情況下，輸入體內的基因改造T細胞可以藉著體內存在的病毒或是病毒型疫苗的刺激、活化內在型TCR，增長T細胞存活時間和抗癌能力，解決基因改造T細胞一般無法在體內生存夠久的缺點。此外，TCR辨識機制需要癌細胞上的MHC來呈現癌抗原，如果腫瘤躲避免疫系統監控（tumor evasion）而不表現MHC，這時T細胞就無法偵測、清除癌細胞了。相反的，另外一種基因改造方式則是讓T細胞攜帶部份的特異性單株抗體，它不受MHC的限制可以直接偵測癌細胞上的抗原分子，這種接受器稱為嵌合性抗原接受器（chimeric antigen receptor, CAR）。CAR包括了細胞外的單鏈可變抗體部分（scFv）與細胞內的信號部位（CD3ζ、CD28、CD137），當CAR標靶到癌抗原時，就會引發一連串T細胞活化反應來完成殲滅癌細胞的任務。CAR與單株抗體標靶藥物同樣都是特異性高的標靶治療，然而更勝一籌的是，CAR植入T細胞就好像坐著導彈（T細

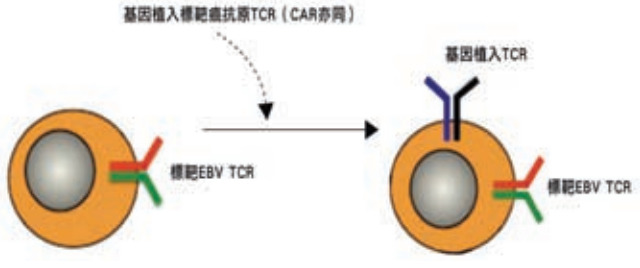


圖5　標靶EBV的T細胞接受基因植入標靶癌抗原的TCR。此時T細胞配備了兩個主要的TCR：標靶EBV的內在型TCR和基因轉入TCR。

胞）的單株抗體藥物，可以更精確地做癌腫瘤追蹤、定位、標靶，而且T細胞可以在體內分裂擴增數量，就像子母彈一樣倍增標靶導彈的數量，並且自動記憶永續監控（memory T cell）(17)。第一個成功使用CAR治療癌症的臨床試驗來自德州貝勒醫學院的研究團隊(18)，他們使用基因轉入CAR標靶GD2抗原的T細胞來治療11名神經母細胞瘤病人，每名病人同時輸入兩組包括有或無標靶EBV病毒的基因改造T細胞，結果發現有標靶EBV病毒的T細胞在病人體內存活的時間較長，存活時間超過6週；4名病人的腫瘤萎縮或壞死，其中1名病人腫瘤完全消失，追蹤時間超過12個月。另外，CD19蛋白表現在B細胞和大部份的B細胞淋巴癌或血癌上，即使正常B細胞在接受標靶CD19治療後暫時被清除，病人也大都能恢復過來。NCI的Kochenderfer發表一例使用CAR標靶CD19治療晚期B細胞淋巴癌病例，病人接受降低淋巴球的化療後再回輸標靶CD19的基因改造T細胞，治療後胸部和腹部的腫瘤萎縮；7個月後淋巴癌復發，病人再次接受同樣的T細胞治療，之後病人維持部份緩解達17個月(19)。之後NCI加入另外2例淋巴癌和4例慢性淋巴血癌病人接受同樣標靶CD19的T細胞治療，其中有5名病人的腫瘤萎縮，包括1名完全緩解。另外賓州大學的Powell在會議中報告使用CAR標靶FRα來治療晚期卵巢癌的病人，初步結果有腫瘤萎縮反應。

結　語

總結來說，T細胞輸入治療這種個人化醫療服務在過去20年來的研究發展，已經證實可以有效治療或治癒實質腫瘤－－轉移性黑色素細胞癌。預先使用

降低淋巴球的化療和TBI，可以將有效反應率提高到72%，腫瘤完全消失率提高到40%。選用中央記憶型T細胞培養出的T細胞，有較強的體內生存能力和抗癌反應，將可以進一步提高整體治療成效。另一方面，基因植入TCR或CAR的技術則打開治療更多其他種類癌症的大門，讓我們可以選擇只表現在癌細胞上的癌抗原來標靶，在體外將高效能的TCR或CAR植入病人身體內一般的T細胞，回輸後消滅癌細胞。因此，完整、計畫性的癌症治療將會是未來的趨勢，病人接受手術切除後的腫瘤，先被送到實驗室進行癌細胞培養並找出主要和次要的癌抗原，再選擇相對的特異性TCR或CAR植入病人自己的T細胞，同時或分批回輸到體內，完成安全又有效的治癌任務。

參考文獻

1. Melief CJ, O'Shea JJ, Stroncek DF : Summit on cell therapy for cancer: The importance of the interaction of multiple disciplines to advance clinical therapy. J Transl Med 2011;9:107-113.
2. 趙榮杰、張隆基：T細胞輸入療法－癌症治療新境界，台灣醫界，2010;53:452-454。
3. Rosenberg SA, Dudley ME : Adoptive cell therapy for the treatment of patients with metastatic melanoma.Curr Opin Immunol 2009;21:233-240.
4. Louis CU, Straathof K, Bollard CM, et al. : Adoptive transfer of EBV-specific T cells results in sustained clinical responses in patients with locoregional nasopharyngeal carcinoma. J Immunother 2010;33:983-990.
5. Rosenberg SA: Cell transfer immunotherapy for metastatic solid cancer--what clinicians need to know. Nat Rev Clin Oncol 2011;8:577-585.
6. Dudley ME, Wunderlich JR, Robbins PF, et al. : Cancer regression and autoimmunity in patients after clonal repopulation with antitumor lymphocytes. Science 2002;298:850-854.
7. Dudley ME, Wunderlich JR, Yang JC, et al. : Adoptive cell transfer therapy following non-myeloablative but lymphodepleting chemotherapy for the treatment of patients with refractory metastatic melanoma. J Clin Oncol 2005;23:2346-2357.
8. Dudley ME, Yang JC, Sherry R,et al. : Adoptive cell therapy for patients with metastatic melanoma: evaluation of intensive myeloablative chemoradiation preparative regimens. J Clin Oncol 2008;26:5233-5239.
9. Porter DL, Levine BL, Kalos M, et al. : Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. N Engl J Med 2011;365:725-733.
10. Rosenberg SA, Yang JC, Sherry RM, et al. : Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy. Clin Cancer Res 2011;17:4550-4557.
11. Friedman KM, Devillier LE, Feldman SA, et al. : Augmented lymphocyte expansion from solid tumors with engineered cells for costimulatory enhancement. J Immunother 2011;34:651-661.
12. Wang X, Berger C, Wong CW, et al: Engraftment of human central memory-derived effector CD8+ T cells in immunodeficient mice.Blood 2011;117:1888-1898.
13. Turtle CJ, Riddell SR: Genetically retargeting CD8+ lymphocyte subsets for cancer immunotherapy.Curr Opin Immunol 2011;23:299-305.
14. Johnson LA, Morgan RA, Dudley ME: Gene therapy with human and mouse T-cell receptors mediates cancer regression and targets normal tissues expressing cognate antigen. Blood 2009;114:535-546.
15. Parkhurst MR, Yang JC, Langan RC, et al. : T cells targeting carcinoembryonic antigen can mediate regression of metastatic colorectal cancer but induce severe transient colitis.Mol Ther 2011;19:620-626.
16. Robbins PF, Morgan RA, Feldman SA, et al. : Tumor regression in patients with metastatic synovial cell sarcoma and melanoma using genetically engineered lymphocytes reactive with NY-ESO-1. J Clin Oncol 2011;29:917-924.
17. Ramos CA, Dotti G : Chimeric antigen receptor (CAR)-engineered lymphocytes for cancer therapy. Expert Opin Biol Ther 2011;11:855-873.
18. Pule MA, Savoldo B, Myers GD, et al. : Virus-specific T cells engineered to coexpress tumor- specific receptors: persistence and antitumor activity in individuals with neuroblastoma.Nat Med 2008;14:1264-1270.
19. Rosenberg SA, Kochenderfer JN: Personalized cell transfer immunotherapy for B-cell malignancies and solid cancers.Mol Ther 2011;19:1928-1930.