免疫細胞療法治癌新進展

文、圖 / 趙榮杰

台中市傑出診所

前 言

癌症免疫療法(cancer immunotherapy)在歷經30年的研究發展，近年來有許多突破性的成果，不僅成為醫師和科學家們最有興趣投入的治癌趨勢，同時也是廣大抗癌病人引領期待的盼望。相較於傳統化放療藥物直接毒殺癌細胞，引發正常組織傷害和癌抗藥性的問題，癌症免疫療法則使用較自然的治療方向，利用活化自體免疫細胞，驅使體內免疫細胞攻擊癌細胞。

本篇報告主要在探討癌症免疫療法中安全性較高的免疫細胞療法(adoptive cellular therapy, ACT)，和樹突細胞疫苗(dendritic cell vaccine, DC vaccine)的最新臨床治療進展。其他屬於癌症免疫療法的還包括，拮抗免疫細胞煞車的免疫檢查點抑制劑(immune checkpoint inhibitors)，和基因改造免疫細胞療法(例如CAR-T)，這兩種新進的治療不在本篇討論範圍。

免疫細胞療法使用非基因改造、體內天然生成的T細胞和自然殺手細胞(natural killer cell, NK細胞)，所以安全、穩定性相對較高。這些抽取分離自病人血液或腫瘤內的免疫細胞，可以在不受體內免疫抑制的情況下，於實驗室合宜的環境中培養、誘導、和擴充，數量可達數10億個(圖1)。經過活化的免疫細胞回輸體內後，可抵達腫瘤處殲滅癌細胞，並可在體內(in vivo)繼續擴充，招募體內免疫細胞協同殺癌，並產生永久記憶[1]。

T細胞療法

免疫細胞療法使用的T細胞來源有二，一是腫瘤內浸潤型T細胞(tumor-infiltrating lymphocyte, TIL)，將手術切除的腫瘤或淋巴結切割分解成微小組織，放入分格培養皿中培養，再使用癌細胞株測試，篩選有殺癌激素反應的T細胞加以培養擴充，最後收成的就是可以殲滅癌細胞的TIL[2]。另一種是毒殺型T細胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)，則是抽取週邊血液分離出單核淋巴細胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC)，再與有癌抗原表現的樹突細胞一起培養，之後收成的就是能夠標靶特定癌抗原的CTL[3]。

腫瘤內浸潤型T細胞(TIL)

1988年，Rosenberg發表第一次使用TIL成功治療轉移性黑色素細胞癌的臨床案例，2002年在TIL回輸前加入降低淋巴球的準備性化療，有效地增加腫瘤萎縮機率，同時回輸的T細胞持續在體內擴增，甚至偵測到回輸的CD8+T細胞佔體內濃度高達80%，就像骨髓移植一般。最近的研究結果顯示，TIL治療轉移性黑色素細胞癌的客觀緩解率(objective response rate)為55%，在總數194例病人中有44例(23%)完全緩解(complete response)，平均追蹤期長達65個月，有些可能完全治癒[4]。

T細胞擊殺癌細胞的機制在於搜索癌細胞主要組織相容性複合體(major histocompatibility complex, MHC)上的癌抗原，當T細胞標靶到腫瘤的重要癌抗原時，癌腫瘤可能長久且完全地萎縮，甚至全身多發性轉移腫瘤同時萎縮。最新的研究指出，這些重要癌抗原就是癌細胞基因突變產生的新抗原(neoantigen)，每例腫瘤各自表現

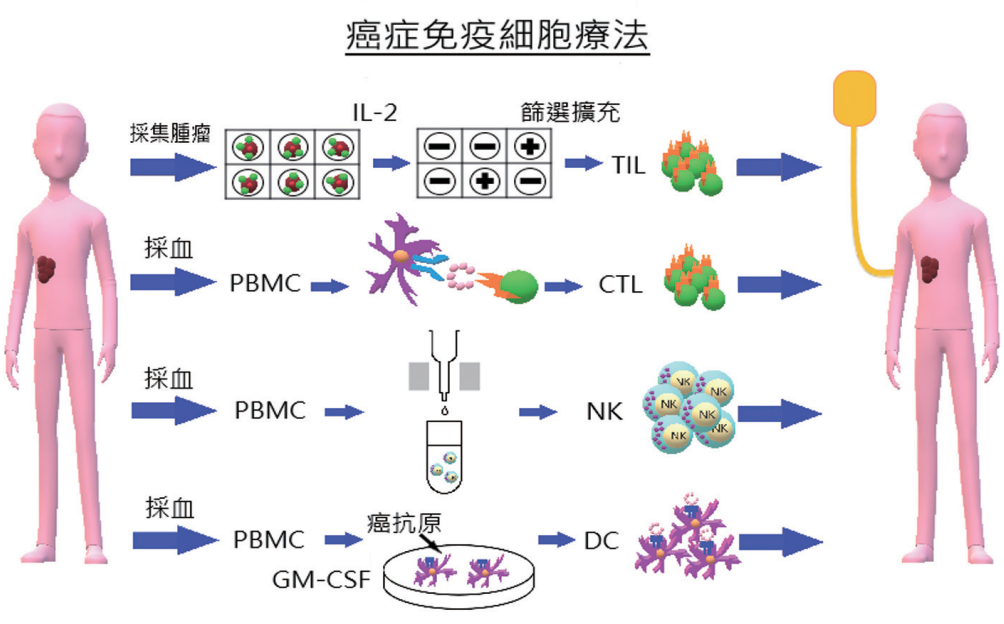

圖1 免疫細胞療法和樹突細胞疫苗的製作流程[1]。TIL，tumor-infiltrating lymphocyte; CTL，cytotoxic T lymphocyte; NK，natural killer; DC，dendritic cell ; PBMC，peripheral blood mononuclear cells; GM-CSF，granulocyte macrophage-colony stimulating factor。

的新抗原都是獨特且唯一的[4]。要尋找每個腫瘤的新抗原以及能標靶這新抗原的T細胞，將是所有成功癌症治療--腫瘤長期且完全萎縮的最後一里路，這個令人興奮的治癌新契機目前正積極多方研究與開發中。未來病人只需將腫瘤檢體和少量血液，一起送到中央實驗室處理，在實驗室中，將取得的腫瘤檢體，經過精密基因排序儀找出該病人癌細胞DNA上突變基因，再轉譯成RNA植入樹突細胞來呈現新抗原，再和血液或腫瘤分離出的T細胞一起培養，篩選出可以標靶新抗原的T細胞，最後大量培養這些T細胞，測試檢驗後裝袋送回病人附近的診所，即可回輸病人體內精準有效地殲滅癌腫瘤，同時不影響正常組織。利用這項新技術，他們發表了一例晚期轉移性膽管癌病人接受新抗原特異性TIL治療的報告，經過回輸95%純度該腫瘤新抗原-TIL後，肺和肝臟轉移腫瘤持續萎縮，病情穩定並追蹤達3年。另一例大腸癌轉移到肺部的病人，回輸大量純化的腫瘤新抗原-TIL後，肺部七顆腫瘤萎縮，追蹤時間1年半。這兩例先驅性研究並無明顯不良反應[4]。

TIL也成功應用到治療其它癌症，值得注意的是，因為TIL的取得需手術切除腫瘤，以及在實驗室長時間細胞培養的人力與技術，大部分臨床試驗所收的病人人數並不多。2014年，Rosenberg領導的美國癌症中心外科部醫療團隊使用TIL治療子宮頸癌病人的成果在當年美國臨床腫瘤醫學會年會上發表，引起大眾媒體顯著報導，這是TIL應用跨出黑色素細胞癌的重要時刻。9例轉移性子宮頸癌病人接受TIL治療後有3例腫瘤萎縮，其中2例完全緩解，包括主動脈旁、肺門、腹腔、和骨盆腔的淋巴轉移完全萎縮(圖2)，追蹤期各為15和22個月。分析這3例有腫瘤萎縮反應的病人，她們的TIL中有許多標靶HPV和新抗原的T細胞，回輸體內後可以有效地地清除這些化療無效的轉移性腫瘤[5]。

此外，TIL與傳統治療合併使用時，可以清除殘餘癌組織，預防癌復發提升生存率。在日本，一個臨床三期隨機對照試驗發表了103例肺癌手術和化療後接受肺部淋巴結TIL的治療成效，追蹤期達5年。結果顯示，比較有接受TIL和沒有接受TIL的2年生存率(2-year overall

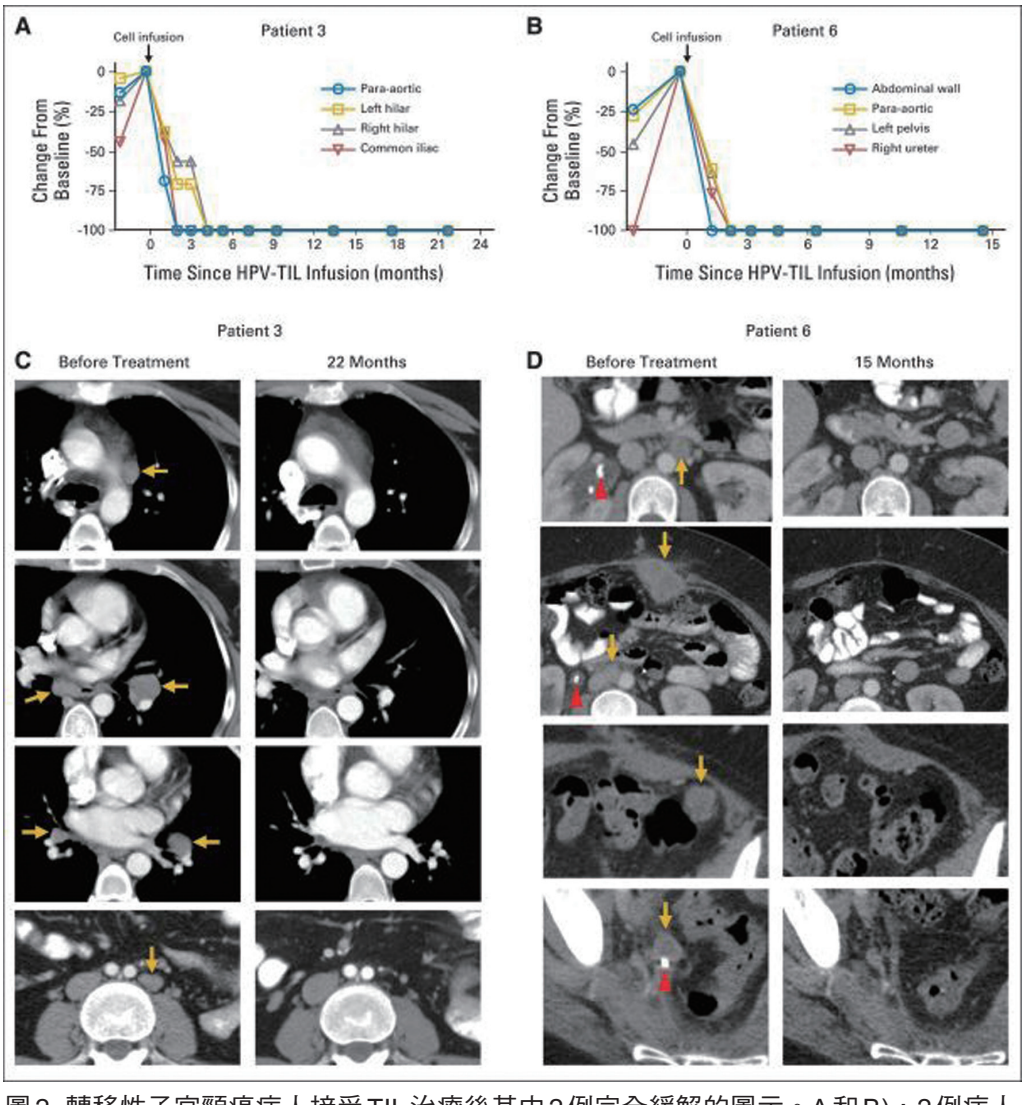

圖2 轉移性子宮頸癌病人接受TIL治療後其中2例完全緩解的圖示。A和B)，2例病人各個部位腫瘤在細胞回輸(cell infusion)後直徑萎縮比例的時間表；C和D)，2例病人接受TIL治療前後電腦斷層檢查圖[5]。

survival rate)為96%和64.7%，5年生存率 (5-year overall survival rate)為69.4%和45.1%，2年無復發生存率(2-year recurrence-free survival rate)為70%和43.1%，5年無復發生存率(5-year recurrence-free survival rate)為57.9%和31.4%，都具統計學上差異(圖3)，顯示TIL可以防止癌症復發，延長病人生存時間[6]。另一個研究招募24例晚期卵巢癌病人，接受手術和化療之後，臨床影像檢查證明無殘留腫瘤，這24例分為兩組，一組接受TIL治療，一組沒有TIL治療。3年總生存率分別是100%和67.5%，3年無復發生存率分別是82.1%和54.5%，具統計學上差異。進一步分析這兩組中，手術後化療前仍有殘留腫瘤的病例，有無使用TIL治療的3年無復發生存率為76.2%和33.3%，這個有意義的數據，說明了免疫細胞可以殲滅有化療抗藥性的癌細胞，防止癌復發，提升治療成效[7]。另外，無法接受根除性手術的晚期癌症病人，仍然可以受益於免疫細胞治療。Karlsson等使用前哨淋巴結的TIL治療大腸癌四期病人，9例當中有4例腫瘤完全緩解(包括肝、肺臟腫瘤萎縮)，1例部分緩解，4例疾病穩定，中位存活期(median overall survival)提高為2.6年。這些前哨淋巴結內有許多活躍的樹突細胞和癌抗原特異性T細胞，經過體外擴充後能夠有效清除癌腫瘤，提

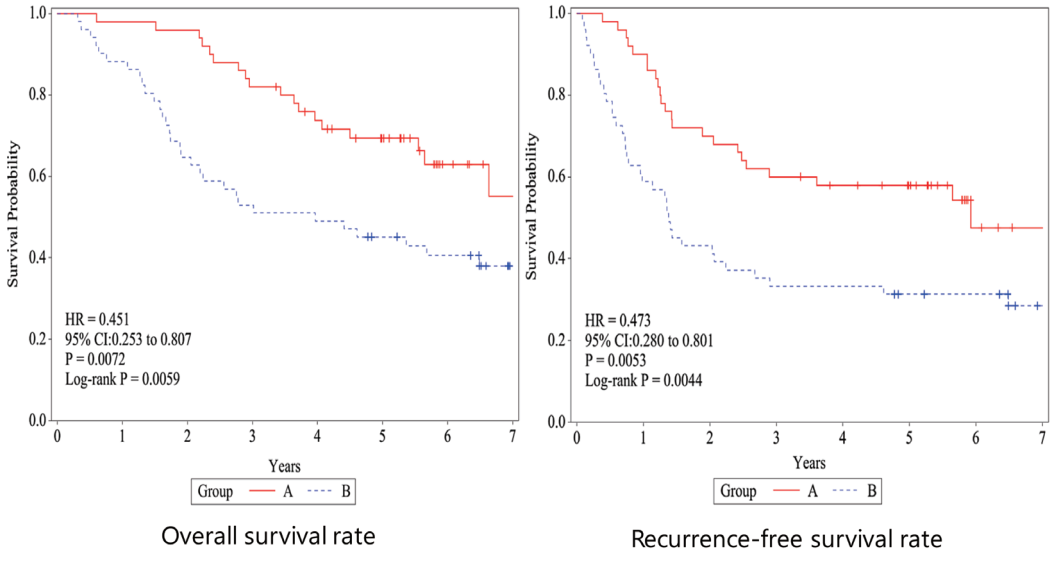

圖3 肺癌病人手術化療後，有接受淋巴結TIL治療(Group A)和沒有接受TIL治療(Group B)的生存率(overall survival)和無復發生存率(recurrence-free survival)[6]。

升病人長期生存機率[8]。

毒殺型T細胞(CTL)

經由抽取血液分離活化的CTL，最早被使用在骨髓移植後腫瘤或病毒的預防治療上，例如在移植後發生淋巴增生疾病上，使用EBV抗原特異性T細胞(EBV-CTL)治療，有高達70%的完全緩解。另外對於EBV抗原性較弱的淋巴癌(EBV latency type II)，Bollard等使用帶有EBV抗原LMP的樹突細胞和淋巴母細胞株去活化，誘導出標靶LMP的CTL，再將這些T細胞回輸至50例淋巴癌病人。其中21例復發或傳統治療無效的淋巴癌病人當中，有11例腫瘤完全緩解，追蹤期達2-9年。另外29例在緩解期但有高復發機率的淋巴癌病人，有28例病人維持緩解期，追蹤期達1-8年[9]。EBV-CTL也成功應用在鼻咽癌的治療。新加坡醫療團隊發表35例轉移性鼻咽癌病人使用T細胞合併化療作為第一線治療的臨床二期報告，35例病人接受短期化療後，回輸6次。數億個EBV-CTL，結果有71.4%的緩解率，包括3例完全緩解及22例部分緩解，中位存活期為29.9個月，2年和3年生存率分別是62.9%和37.1%。值得注意的是，CTL治療帶來的長期免疫保護，使得病人病情穩定、生活品質提升，不需再接受其它追加化放療，追蹤期超過3年[10]。

CTL也應用到其他上皮細胞癌的治療，包括胰臟癌、胃癌、大腸癌、和卵巢癌。Matsui等發表一項5年43例胰臟癌手術切除後接受MUC1-CTL合併化療(GEM)的治療成果，其中21例接受完整標準療程，中位存活期為24.7個月，無病生存期(disease-free survival)為15.8個月，1年、2年、3年、5年的生存率分別為86.3%、54.6%、49.6%、44.1%。進一步分析指出，回輸較多CTL的病人有較好的治療成效[11]。另外他們也發表了42例晚期胰臟癌無法手術切除的病人使用MUC1-CTL和MUC1-DC(樹突細胞疫苗)合併化療(GEM)的治療研究，結果顯示病人中位存活期為13.9個月，1年生存率為51%；其中，1例病人腫瘤(肝臟轉移)完全緩解，3例部分緩解，22例疾病穩定，疾病控制率為62%[11]。Takimoto等發表188例胃癌四期病人接受CTL治療的回溯性報告，中位存活期為23.9個月，3年和5年生存率分別是32.3%和14.9%，均優於傳統化療[12]。另外，使用CTL合併化療治療大腸癌四期病人的初期報告中，6例病人有2例完全緩解，3例部分緩解，1例疾病穩定，緩解率為83.3%，中位存活期為2.7年[13]。

自然殺手細胞(NK細胞)療法

NK細胞是身體第一線免疫防衛的淋巴細胞，在血管和組織中巡弋，肩負搜尋癌細胞和病毒感染細胞的免疫監控。NK細胞利用活化接受體和抑制接受體檢查判斷細胞是否正常，其中最重要的是喪失自我(missing self)理論-NK細胞的抑制接受體KIR(killer immunoglobulin-like receptors)可以辨識細胞上的MHC class I，如果該細胞擁有相同的MHC則判斷為正常自體細胞，啟動抑制機轉防止自我攻擊；相反地，如果該細胞沒有MHC或型態不同，則判斷為異常，因此抑制功能不啟動，導致極有可能會擊殺該細胞。臨床上使用異體NK細胞治癌就是利用捐贈者和接受者的KIR-MHC不相容(mismatch)來增強NK細胞殺癌的能力，提升治療成效[14]。另一方面，活化接受體(例如NKG2D和NCR)能夠直接偵測癌細胞上不正常的配體(ligands)，啟動擊殺機制。此外，臨床上使用單株抗體藥物治癌也是藉著NK細胞上CD16接受體來偵測附著在癌細胞上的抗體，啟動NK細胞殲滅癌細胞，這個機轉稱為抗體依賴性細胞毒殺(antibody-dependent cellular cytotoxicity, ADCC)。

NK細胞的體外培養技術，關係到培養後細胞的數量、純度、和殺癌活性，更直接影響治療成效。現今有許多高階cGMP技術陸續研發出來，主要培養流程包括自血液中分離出單核淋巴細胞，加入自體血漿培養，再使用單株抗體分離出不要的CD3細胞(negative selection)，再加上IL-2和INFa等細胞培養素，並在合宜的培養環境中逐漸擴充至適當的數量，即可收成表型CD56+CD16+CD3-的NK細胞供臨床治療使用。

Ebina等使用活化的NK細胞成功地治療46例癌症IIIb-IV期病人，包括肺癌、乳癌、卵巢癌、胃癌、和大腸癌，結果有5例完全緩解，1例部分緩解，26例疾病穩定，有效反應率為76.2%，中位存活期為24.7個月。其中，肺癌晚期病人接受NK細胞治療後，平均生存期為23.8個月，遠超過傳統治療的結果。他們認為，NK細胞治療能夠安全又有效地延長晚期癌症病人生存時間，並且使這些病人擁有高品質的生活與尊嚴[15]。另外，Ishikawa等也使用自體NK細胞治療9例復發性惡性腦膠質瘤病人，在16次NK細胞回輸中，有3次部分緩解，2次少量緩解，4次疾病穩定，腫瘤控制率為56%(9/16)[16]。

異體NK細胞治療通常使用直系血親的HLA半套符合(haploidentical)NK細胞，是安全有效的治癌選擇。Karolinska大學醫療團隊最近發表異體NK細胞治療16例骨髓增生不良症候群(myelodysplastic syndrome, MDS)和急性骨髓性白血病(acute myeloid leukemia, AML)的研究報告，所有病例均屬化療無效而且無法接受造血幹細胞移植治療的高危險群病人，接受異體NK細胞回輸後，6例有客觀緩解，包括完全和部分緩解。其中5例可以繼續接受造血幹細胞移植治療，3例至今追蹤超過3年仍然完全緩解[17]。Curti等也成功使用異體NK細胞治療老年高危險AML病人，回輸後並無不良反應，其中5例活躍的AML有1例完全緩解，2例分子復發(molecular relapse)的AML有2例完全緩解，6例完全緩解的AML有3例維持無病(disease free)，追蹤期各是18、32、34個月[14]。Miller領導的團隊也使用異體NK細胞成功治療20例晚期卵巢癌和乳癌病人，有4例部分緩解，12例疾病穩定[17]。另外，非小細胞肺癌使用異體NK細胞的臨床一期報告也顯示無不良反應，15例晚期肺癌病人在接受異體NK細胞回輸後，有2例部分緩解，6例疾病穩定。值得注意的是，在疾病進展(progressive disease)的7例病人中，可以看到NK細胞回輸後仍有3例局部腫瘤萎縮，1例肺部疾病轉趨穩定。中位存活期為15個月，分析指出回輸次數愈多則有較長的生存期[18]。

樹突細胞疫苗(DC vaccine)

樹突細胞在體內免疫細胞殺癌和免疫記憶機制中扮演關鍵性角色，它游行於身體組織間，可吞噬癌細胞並在細胞上呈現癌抗原，再移行至淋巴結將癌抗原有效地傳遞給原始的CD4+和CD8+T細胞，誘導活化T細胞進行執行擊殺癌細胞任務。

樹突細胞疫苗製作流程包括從病人血液中分離出單核淋巴球，再放入培養皿中靜置，取出

下層細胞加入GM-CSF (granulocyte macrophage-colony stimulating factor)和IL-4一起培養5天製成不成熟樹突細胞，接著使用PGE2等誘導為成熟樹突細胞，再與癌抗原胜肽或癌溶解物融合，即是攜帶特異性癌抗原的樹突細胞(圖1)。使用時再洗清後加入適當佐劑，溶於1mL生理食鹽水中，即可於腋下或鼠蹊部附近皮下注射，誘導特異性T細胞攻擊癌細胞[19]。

樹突細胞疫苗成功與否，絕大關鍵在於選擇的癌抗原。包括WT1和MUC1癌抗原都表現在許多種類癌細胞上，正常細胞則不表現，是很適當的特異性抗原。另外，病人接受疫苗後是否局部紅腫反應或對抗原測試產生延遲性過敏反應(delayed type hypersensitivity, DTH)，則能預測疫苗治療的成效。Teramoto等使用MUC1-DC疫苗治療40例傳統治療無效的晚期肺癌病人，其中接受6次以上疫苗的中位存活期為9.5個月，1年生存率為39.3%。進一步分析顯示，疫苗注射後局部有紅腫反應或發燒現象的病人有較長的生存期(12.6個月 vs 6.7個月)[20]。Okamoto領導的團隊使用WT1-DC疫苗治療10例胰臟癌四期病人，每位病人接受6次疫苗注射，其中3例病人治療期間均有強烈DTH反應，他們的中位存活期長達717天[19]。

結 語

癌腫瘤對抗免疫細胞的攻擊壓力會演化出免疫逃脫，其方法可能是抗原或MHC的不表現，或是產生免疫抑制細胞。面對這些狀況，我們可以選擇T細胞加上NK細胞合併療法，或是加上樹突細胞疫苗增強癌抗原特異性的刺激誘導。另外適當地合併其它治療，如準備性化療、單株抗體、或免疫檢查點抑制劑等，也能互相輔助達到較佳的治療成效。

癌症治療有時會見樹不見林，迷失在腫瘤萎縮與否的爭辯上，忘記了那位腫瘤的宿主「病人」是否能夠在治療延長的生命期間保有高品質的生活(quality of life, QOL)，享有人性化的照護。免疫細胞療法和樹突細胞疫苗經過30年的研究發展，已經證實是安全且有治療成效，然而免疫細胞圍攻癌腫瘤的作用大部分是緩慢的，臨床上常會觀察到病人病情長期穩定(prolonged stable disease)但腫瘤卻沒有明顯縮小，這是與癌共存的現象，這種情況使用中位存活期來判斷較能真實地反應出治療的效果。

參考文獻

1. Rosenberg SA, Restifo NP: Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer. Science 2015; 348:62-68.
2. 趙榮杰：癌症的免疫細胞療法新進展，臺灣醫界，2012;55:10-14。
3. 趙榮杰、張隆基：T細胞輸入療法--癌症治療新境界，臺灣醫界，2010;53:8-10。
4. Tran E, Robbins PF, Rosenberg SA: 'Final common pathway' of human cancer immunotherapy: targeting random somatic mutations. Nat Immunol 2017; 18:255-262.
5. Stevanoviæ S, Draper LM, Langhan MM, et al.: Complete regression of metastatic cervical cancer after treatment with human papillomavirus-targeted tumor-infiltrating T cells. J Clin Oncol 2015; 33:1543-1550.
6. Kimura H, Matsui Y, Ishikawa A, et al.: Randomized controlled phase III trial of adjuvant chemoimmunotherapy with activated cytotoxic T cells and dendritic cells from regional lymph nodes of patients with lung cancer. Cancer Immunol Immunother 2015; 64: 51-59.
7. Fujita K, Ikarashi H, Takakuwa K, et al.: Prolonged disease-free period in patients with advanced epithelial ovarian cancer after adoptive transfer of tumor-infiltrating lymphocytes. Clin Cancer Res 1995; 1:501-507.
8. Karlsson M1, Marits P, Dahl K, et al.: Pilot study of sentinel-node-based adoptive immunotherapy in advanced colorectal cancer. Ann Surg Oncol 2010; 17:1747-1757.
9. Bollard CM, Gottschalk S, Torrano V, et al.: Sustained complete responses in patients with lymphoma receiving autologous cytotoxic T lymphocytes targeting Epstein-Barr virus latent membrane proteins. J Clin Oncol 2014; 32:798-808.

10. Chia WK, Teo M, Wang WW, et al.: Adoptive T-cell transfer and chemotherapy in the first-line treatment of metastatic and/or locally recurrent nasopharyngeal carcinoma. Mol Ther 2014; 22:132-139.
11. Matsui H, Hazama S, Sakamoto K, et al.: Postoperative adjuvant therapy for resectable pancreatic cancer with gemcitabine and adoptive immunotherapy. Pancreas 2017; 46:994-1002.
12. Takimoto R, Kamigaki T, Okada S, et al.: Efficacy of adoptive immune-cell therapy in patients with advanced gastric cancer: A retrospective study. Anticancer Res 2017; 37:3947-3954.
13. Yoshida Y, Naito M, Yamada T, et al.: Clinical study on the medical value of combination therapy involving adoptive immunotherapy and chemotherapy for stage IV colorectal cancer (COMVI Study). Anticancer Res 2017; 37:3941-3946.
14. Curti A, Ruggeri L, D'Addio A, et al.: Successful transfer of alloreactive haploidentical KIR ligand-mismatched natural killer cells after infusion in elderly high risk acute myeloid leukemia patients. Blood 2011; 118:3273-3279.
15. Ebina T, Ogama N, Shimanuki H, et al.: Life-prolonging effect of immunocell BAK (BRM-activated killer) therapy for advanced solid cancer patients: Prognostic significance of serum immunosuppressive acidic protein levels. Cancer Immunol Immunother 2003; 52:555-560.
16. Ishikawa E1, Tsuboi K, Saijo K, et al.: Autologous natural killer cell therapy for human recurrent malignant glioma. Anticancer Res 2004; 24:1861-1871.
17. Björklund AT, Carlsten M, Sohlberg E, et al.: Complete remission with reduction of high-risk clones following haploidentical NK-cell therapy against MDS and AML. Clin Cancer Res 2018; 24:1834-1844.
18. Iliopoulou EG, Kountourakis P, Karamouzis MV, et al.: A phase I trial of adoptive transfer of allogeneic natural killer cells in patients with advanced non-small cell lung cancer. Cancer Immunol Immunother 2010; 59:1781-1789.
19. Okamoto M, Kobayashi M, Yonemitsu Y, et al.: Dendritic cell-based vaccine for pancreatic cancer in Japan. World J Gastrointest Pharmacol Ther 2016; 7:133-138.
20. Teramoto K, Ozaki Y, Hanaoka J, et al.: Predictive biomarkers and effectiveness of MUC1-targeted dendritic-cell-based vaccine in patients with refractory non-small cell lung cancer. Ther Adv Med Oncol 2017; 9:147-157.