

澄清醫院中港院區 血液腫瘤科 外科*

臺灣醫界

cell-derived factor-1, SDF-1)、血小板衍生生長因子 (platelet-derived growth factor, PDGF) 及纖維母細胞生長因子 (fibroblast growth factor, FGF) 等細胞激素, 從而促進腫瘤細胞的增生、存活、血管新生, 以及腫瘤侵犯、轉移等⁽⁵⁾。

血管結構

1971 年, Folkman 醫師提出一個嶄新的概念, 認為所有腫瘤的生長都需要有新生血管的生成 (angiogenesis dependent), 從此至今, 血管新生成了一門顯學。一般認為新生的腫瘤需要氧氣與養分, 而這需要新生血管來運送。而啟動這新生血管的主要開關是由一群促進血管新生的因子所控制, 其中最重要的就是血管上皮生長因子 VEGF, 其他的因子包括纖維母細胞生長因子 FGF、血小板衍生生長因子 PDGF 以及表皮生長因子 EGF; 另外還需要其他的細胞參與整個血管化, 包含血管內皮細胞、外被細胞和來自骨髓的前驅細胞; 最後還有許多的腫瘤微環境中的細胞, 如腫瘤相關巨噬細胞、間質幹細胞 (mesenchymal stem cell, MSC) 及腫瘤相關纖維母細胞等, 提供促進血管新生的訊號。然而必須注意的是, 腫瘤新生血管的結構與一般血管不同, 其血管外被細胞與血管周邊細胞是有缺口的, 且通透性較大, 也就是有漏洞、不緊密的血管系統⁽²⁾。

臨床運用方面, 主要是針對抑制 VEGF 的訊號, 達到抑制血管新生的效果。Bevacizumab 是 VEGF 的單株抗體, 於 2004 年便通過美國 FDA 許可, 可用於轉移性的大腸直腸癌。Sunitinib、sorafenib、pazopanib 已經在腎臟癌獲得使用許可, 且 sorafenib 在肝癌也有適應症。而這些腫瘤的特色都是有許多血管分布的, 且其腫瘤血管新生主要都是由 VEGF 所驅動的⁽⁶⁾。

細胞外基質

細胞外基質並非細胞成分, 其組成很複雜, 包括有膠原蛋白、彈性蛋白、蛋白多醣、生長因子、蛋白酶, 以及位在細胞表面, 負責黏附細胞到細胞外基質的黏附分子, 如 integrin (整合素)、keratin (角蛋白)、fibronectin (纖維黏連蛋白) 等。其中 integrin 在腫瘤生成中占有很重要的角色, 其生理作用參與了細

胞生長、分化、附著、運動、血管新生, 而在腫瘤微環境中, 它可以加強腫瘤細胞的存活、遷移、侵入, 因而促進腫瘤的轉移。在乳癌病人中, 若有比較高的 integrin 表現, 則代表著有較差的預後及較高的復發率⁽⁷⁾。臨床上也有針對 integrin 路徑的抑制劑, 然而效果目前看來並不是很明顯。

免疫細胞與環境

腫瘤微環境中免疫機轉對於腫瘤生長、發展具有舉足輕重的角色, 許多細胞參與了免疫的調控, 一般而言, 當腫瘤微環境的免疫作用受到逃避或抑制, 是腫瘤生成最重要的啟始步驟。其中骨髓來源抑制細胞 (marrow-derived suppressor cells, MDSCs) 為一很重要的細胞, 它來源自骨髓, 本身是具有「免疫抑制功能」的不成熟骨髓系細胞, 在腫瘤生成時, 從骨髓移動出來並浸潤在發展中的腫瘤; 其功能包含, 促進腫瘤血管生成、破壞樹突細胞的抗原呈現 (antigen presentation)、抑制 T 細胞活化、促進 M1 腫瘤相關巨噬細胞轉型為 M2 腫瘤相關巨噬細胞、抑制 NK 細胞的細胞毒殺作用等。所以骨髓來源抑制細胞會促進腫瘤的生長, 這些都在臨床觀察中證實, 在骨髓來源抑制細胞數量較多的癌症病人, 其疾病較為嚴重, 其藥物治療的效果也較差⁽⁸⁾。

另外一群很重要, 也研究很多的就是腫瘤浸潤淋巴球 (tumor infiltrating lymphocytes, TIL)。這些淋巴球大多是 CD3⁺ T 淋巴球, 根據不同的功能, 又可分為 CD4⁺ helper 細胞 (包括 Th1、Th2 次分型)、CD4⁺ regulatory 細胞 (又稱 Treg, 主要為 CD4⁺ CD25⁺ FOXP3⁺)、CD8⁺ cytotoxic 細胞等。其中又以 Treg 最為重要, Treg 約佔所有 CD4⁺ 細胞的 10%, 細胞表面有 forkhead box P3 transcription factor (FOXP3) 的表現, 而 FOXP3 可以抑制 IL-2 的生成, 進而抑制 T 細胞的活化, 也可藉由 cytotoxic T lymphocyte antigen 4 (CTLA-4) 與抗原呈現細胞 (antigen presenting cell, APC) 結合而產生免疫抑制, 或是分泌免疫抑制細胞激素, 如 IL-10、TGF- β , 最終產生免疫抑制的效果⁽⁹⁾, 也因此癌症病人若是其腫瘤浸潤淋巴球中 Treg 比例較高者, 常常對治療的反應較差, 預後也較差。然而另一方面, 若是腫瘤浸潤淋巴球中 CD8⁺ cytotoxic 細胞數目較多時, 則其存活狀況會較好, 這在乳癌病人中觀察到此現象⁽¹⁰⁾。

T 淋巴球的活化或抑制

T 淋巴球的活化，需要有 2 個訊號，第一個訊號是抗原呈現細胞藉由 MHC 將抗原呈現給 T 淋巴球表面上的 T 細胞接受器 (T cell receptor, TCR)，同時需要第二個訊號，也就是抗原呈現細胞表面上的 B7-1、B7-2 配體 (即 CD80、CD86) 與 T 淋巴球表面上的 CD28 結合 (圖 2)，當這兩種訊號一起傳遞，則 T 淋巴球便被活化，進而執行它的任務，清除外來的微生物、對抗並殺死腫瘤細胞等。然而在 T 淋巴球活化的同時，T 淋巴球有自己的回饋抑制機轉，會表現出 CTLA-4，當 CTLA-4 與 CD80、CD86 結合時，T 淋巴球便受到抑制。同樣的，T 淋巴球、自然殺手細胞、樹突細胞、活化的單核球會表現 programmed death 1 (PD-1)，當 T 淋巴球表面上的 PD-1 與腫瘤細胞表面上的 PD-L1、PD-L2 結合時，T 淋巴球的作用便會受抑制 (圖 2)⁽¹¹⁾。CTLA-4 和 PD-1 路徑，我們稱為免疫檢查點 (immune checkpoint)，類似的路徑還有 CD40 與 CD40L、OX40 與 OX40L、ICOS 與 ICOSL 等⁽¹²⁾。

臨床應用，我們可以利用對抗 CTLA-4 的抗體 (anti-CTLA-4) 或是對抗 PD-1、PD-L1 的抗體 (anti-PD-1、anti-PD-L1)，讓 T 淋巴球再次活化，進而毒殺腫瘤細胞。Ipilimumab 就是對抗 CTLA-4 的抗體，已經在大規模的第三期臨床試驗，看到可以增加黑色素瘤整體存活的好處⁽¹³⁾，故早在 2010 便得到美國 FDA 的核可使用。同樣的，nivolumab 為對抗 PD-1 的抗體，在第一期臨床試驗，單獨使用 nivolumab 對黑色素瘤有 31% 的反應率，對腎臟癌有 29% 的反應率，甚至對一般認為並非免疫性 (immunogenic) 的腫瘤，非小細胞肺癌，也有 16% 的反應率⁽¹⁴⁾，這樣的結果令人相當興奮與期待。

針對乳癌，腫瘤微環境的最新研究與應用

接下來，我們針對乳癌，看看近年來乳癌腫瘤微環境的研究，特別聚焦在腫瘤浸潤淋巴球的研究與應用。

早在 1992 年，芬蘭科學家 Aaltomaa 研究 498 名乳癌病人，他發現高惡性度、快速生長的腫瘤，腫瘤浸潤淋巴球較多的病人，相較於腫瘤浸潤淋巴球較少的病人，其復發率較低，乳癌相關存活率較好⁽¹⁵⁾。Aaltomaa 便認為乳癌應該存在著有效的免疫抗腫瘤機

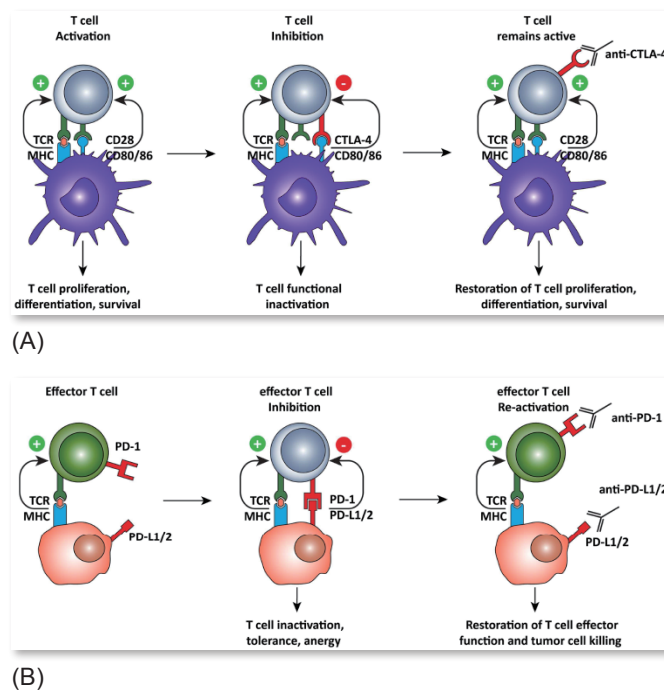


圖 2 (A) CD80/86 與 CD28 結合，T 淋巴球便被活化；若 CD80/86 與 CTLA-4 結合，則 T 淋巴球便受抑制；如果加入 anti-CTLA-4 抗體，則 T 淋巴球便會活化。(B) PD-L1/2 與 PD-1 結合，則 T 淋巴球便受抑制；若是加入 anti-PD-L1/2 抗體或 anti-PD-1 抗體，則 T 淋巴球便會活化⁽¹¹⁾。

轉，只是當初並無法提出明確的解釋。

2009 年，德國病理醫師 Denkert，根據兩個乳癌先導性化療的研究，GeparDuo 和 GeparTrio，共 1058 名病人，在化療前先取得病理切片檢體，以 H&E 染色判讀腫瘤浸潤淋巴球的比例。結果發現所有的病人，經過先導性化療後，其病理完全緩解率 (pathologic complete response, pCR) 為 12.8%，但若是腫瘤浸潤淋巴球的比例超過 10%，則其病理完全緩解率便可達 31.1%；假若腫瘤浸潤淋巴球的比例超過 60% (又稱為 lymphocyte-predominant breast cancer, LPBC)，則病理完全緩解率更高達 41.7% (圖 3)，而相反的沒有腫瘤浸潤淋巴球的腫瘤，其病理完全緩解率很低，只有 2.8%⁽¹⁶⁾。

2013 年底，聖安東尼奧乳癌研討會，發表了 3 篇有關乳癌腫瘤浸潤淋巴球的研究。其中一篇是 Denkert 醫師根據 GeparSixto 的研究 (GeparSixto 是 HER2 陽性與三陰性乳癌先導性治療的研究)，分析 580 名病

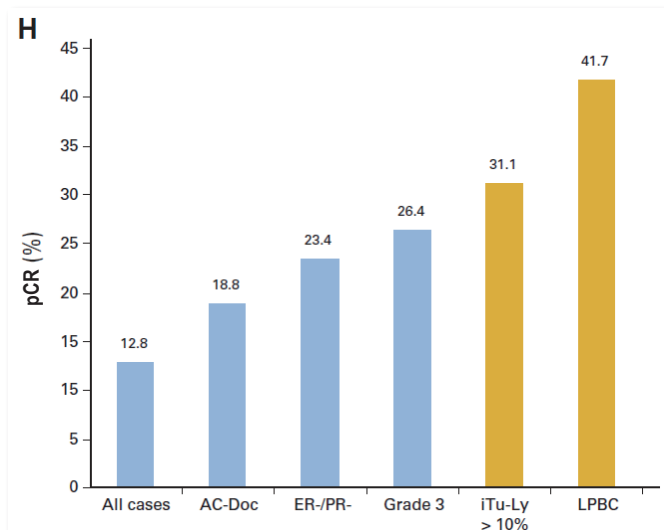


圖 3 乳癌病人經過先導性化療後，所有病人的病理完全緩解率 (pCR) 為 12.8%，腫瘤浸潤淋巴球的比率超過 10%，則病理完全緩解率可達 31.1%，腫瘤浸潤淋巴球的比率超過 60% (LPBC)，則其病理完全緩解率高達 41.7%⁽¹⁶⁾。

人的腫瘤浸潤淋巴球，發現不論是 HER2 陽性或三陰性乳癌，腫瘤浸潤淋巴球越高的病人，其對先導性治療的反應（即病理完全緩解率）則越好。另一個 Adams 醫師的研究，他分析的 ECOG 2197、ECOG 1199 兩個三陰性乳癌進行輔助化療的研究，也有類似的發現，每增加 10% 的腫瘤浸潤淋巴球，則可以減低 18% 遠端復發的機率，降低 19% 死亡率，且有統計學上的意義。

第 3 篇研究是澳洲的 Loi 醫師發表，她分析 FinHER 試驗中 HER2 陽性病人的檢體，發現若是病人的腫瘤浸潤淋巴球超過 50%（註：與前面 Denkert 醫師略有差異），則越有可能因為接受輔助 trastuzumab（為一抗 HER2 單株抗體）而得到好處，每增加 10% 腫瘤浸潤淋巴球，則會因 trastuzumab 而降低 18% 的遠端復發率⁽¹⁷⁾。由此可觀察出，trastuzumab 的治療效果除了直接的抗腫瘤效果外，可能也與腫瘤微環境的免疫調節有關連。於是 Loi 醫師更進一步分析與免疫相關基因的 RNA，將免疫基因分成抑制腫瘤 (anti-tumorigenic)、促進腫瘤 (pro-tumorigenic，即免疫抑制基因) 兩組，結果發現腫瘤浸潤淋巴球越多，則免疫抑制基因（如 CTLA-4、PD-1）的表現越高，且免疫抑制基因的表現越高，則

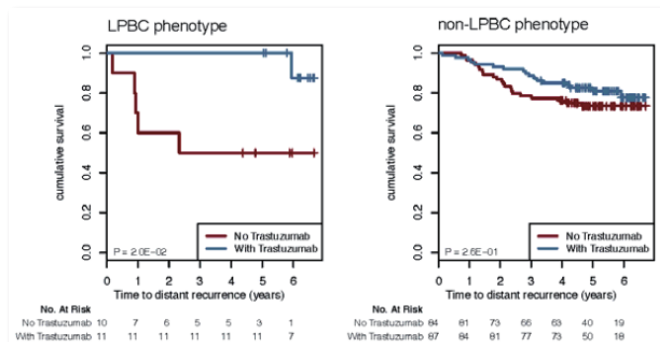


圖 4 左圖，腫瘤浸潤淋巴球越多 (LPBC)，則因 trastuzumab 治療受到的存活上的好處越多；右圖為腫瘤浸潤淋巴球較少的腫瘤，則看不出 trastuzumab 治療帶來的好處⁽¹⁷⁾。

因 trastuzumab 治療受到的存活上的好處越多（圖 4）。以上似乎間接證明了 trastuzumab 可能也參與了免疫調節，解除了腫瘤微環境中的免疫抑制作用。更進一步，Loi 醫師團隊在動物模式中，發現抗 HER2 單株抗體與抗 CTLA-4 或抗 PD-1 的藥物一起使用，的確有協同效應 (synergistic effect)⁽¹⁸⁾，這個發現值得科學家進行下一步的人體試驗。

過去為人們所熟知的免疫性腫瘤有腎細胞癌、黑色素瘤等，而這兩個腫瘤，使用抗 CTLA-4 或抗 PD-1 藥物都證明有相當好的效果。然而上述的發現，可能會打破傳統認為乳癌並非免疫性的腫瘤，或許我們還需要更多的研究來證明這個觀點。

總之，腫瘤浸潤淋巴球除了可以當作是預後的指標 (prognostic biomarker)，也可以做為治療的預測指標 (predictive biomarker)，成為未來臨床試驗設計新概念的基礎。

結語

腫瘤微環境在腫瘤的生成、進展、侵犯、轉移扮演相當大的角色，其組成也是相當複雜，包括腫瘤相關巨噬細胞、腫瘤相關纖維母細胞、細胞外基質、血管結構、腫瘤浸潤淋巴球等，還有許多的細胞激素或生長因子構成一個極其複雜的網絡，有待科學家的解密。然而事實上，已經有相當多的研究藥物是以腫瘤微環境當做標靶，希望可以達到抑制腫瘤生長，甚至是殺死腫瘤細胞，有許多藥物已經有初步的成果，但限於篇幅，在此無法一一討論，但相信這些藥物是深具潛力的，未來將會有更多病人受惠。

參考文獻

1. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M: Immunity, inflammation, and cancer. *Cell* 2010; 140: 883-899.
2. Quail DF, Joyce JA: Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. *Nat Med* 2013; 19: 1423-1437.
3. De la Cruz-Merino L, Barco-Sanchez A, Henao Carrasco F, et al.: New insights into the role of the immune microenvironment in breast carcinoma. *Dev Immunol* 2013; 2013: 785317.
4. Erez N, Truitt M, Olson P, Arron ST, et al.: Cancer-associated fibroblasts are activated in incipient neoplasia to orchestrate tumor-promoting inflammation in an NF-kappaB-dependent manner. *Cancer Cell* 2010; 17: 135-147.
5. Polanska UM, Orimo A: Carcinoma-associated fibroblasts: non-neoplastic tumour-promoting mesenchymal cells. *J Cell Physiol* 2013; 228: 1651-1657.
6. Fang H, Declerck YA: Targeting the tumor microenvironment: from understanding pathways to effective clinical trials. *Cancer Res* 2013; 73: 4965-4977.
7. Bergamaschi A, Tagliabue E, Sorlie T, et al.: Extracellular matrix signature identifies breast cancer subgroups with different clinical outcome. *J Pathol* 2008; 214: 357-367.
8. Diaz-Montero CM, Salem ML, Nishimura MI, et al.: Increased circulating myeloid-derived suppressor cells correlate with clinical cancer stage, metastatic tumor burden, and doxorubicin-cyclophosphamide chemotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 2009; 58: 49-59.
9. Vignali DA, Collison LW, Workman CJ: How regulatory T cells work. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 523-532.
10. Mahmoud SM, Paish EC, Powe DG, et al.: Tumor-infiltrating CD8+ lymphocytes predict clinical outcome in breast cancer. *J Clin Oncol* 2011; 29: 1949-1955.
11. Vasaturo A, Di Blasio S, Peeters DG, et al.: Clinical implications of co-inhibitory molecule expression in the tumor microenvironment for DC vaccination: A game of stop and go. *Front Immunol* 2013; 4: 417.
12. Ott PA, Hodi FS, Robert C: CTLA-4 and PD-1/PD-L1 blockade: new immunotherapeutic modalities with durable clinical benefit in melanoma patients. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 5300-5309.
13. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al.: Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2010; 363: 711-723.
14. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, et al.: Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med* 2012; 366: 2443-2454.
15. Aaltomaa S, Lipponen P, Eskelinen M, et al.: Lymphocyte infiltrates as a prognostic variable in female breast cancer. *Eur J Cancer* 1992; 28A: 859-864.
16. Denkert C, Loibl S, Noske A, et al.: Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 105-113.
17. Loi S, Michiels S, Salgado R, et al.: Tumor infiltrating lymphocytes is prognostic and predictive for trastuzumab benefit in early breast cancer: results from the FinHER trial. *Ann Oncol* 2014 (First published online: March 7, 2014)
18. Stagg J, Loi S, Divisekera U, et al.: Anti-ErbB-2 mAb therapy requires type I and II interferons and synergizes with anti-PD-1 or anti-CD137 mAb therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 7142-7147.