

# 免疫療法—惡性神經膠質腦瘤的新希望

淺談 惡性神經膠質腦瘤以樹突細胞輔佐的免疫療法

第二相臨床試驗

■ 文／神經外科部 李漢忠 醫師

「惡性神經膠質腦瘤」一直是神經外科醫師的夢靨，就像肝癌、肺癌對於肝膽外科、胸腔外科醫師一樣，無論你費盡多少心力，所得到的往往僅是延長了幾個月生命；那種無力感，就像是拿著破掉的臉盆去搶救一棟著火的大房子，眼睜睜的看著生命一點一滴的流逝，卻無能為力。

什麼是惡性神經膠質腦瘤呢？神經膠質瘤是最常見的原發性腦瘤，約佔所有腦瘤的50%，惡性神經膠質瘤包括anaplastic astrocytoma (WHO grade III glioma) 及glioblastoma multiforme (grade IV glioma)。其治療仍以手術為第一選擇，輔以手術後的放射線治療及化學治療，或是伽瑪刀放射性手術 (gamma-knife radiosurgery)。儘管如此，其預後仍然非常不好，原因在於此腫瘤並無界限，且易經由神經細胞擴散，肉眼無法辨識，生長快速，容易復發，再加上常常發生於腦內的功能區上，使得手術切除難上加難；根據統計，第四級與第三級惡性神經膠質腦瘤 (WHO grade IV + grade III gliomas) 經診斷後，雖接受目前正規外科手術加放射線的治療，病人的存活期平均仍各為10個月 (第四級) 與22個月 (第三級)。而治療後再發的病人則可短到只有幾星期的生命。除了死亡率高外，惡性神經膠質瘤往往也會帶給病人很嚴重的功能損傷。

為了進一步改善惡性神經膠質瘤的預後，我們嘗試以新的治療方式應用在惡性神經膠質瘤的治療，如果問，哪一種治療方式已經有初步的療效？那就是「免疫療法」。

在過去，有多種因素使得惡性神經膠質瘤的免疫治療一直都被認為效果不好：(1) 腦部一直都被認為是免疫豁免地 (immunologically privileged site)，在腦部的免疫反應比較弱；(2) 神經膠質瘤細胞會釋放transforming growth factor- $\beta$ 、prostaglandin E2、及interleukin-10等因子抑制病人的免疫力；(3) 腦位於顱骨內，空間有限，其精密的構造可能無法承受免疫作用所造成的發炎反應及顱內壓上升；(4) 過去所使用過的免疫治療方法都無法產生足夠的腫瘤專一的免疫反應，療效不佳且副作用大。

不過近來有學者嘗試以activated tumor-draining lymph node T cells對惡性神經膠質瘤作免疫治療，在動物實驗及人體都可達到部份療效，這表示以具有腫瘤專一性的T細胞確有殺死腫瘤的效果。在臨床前實驗，我們發現利用細胞激素如GM-CSF及IL-2的基因治療，使用

在老鼠腦惡性神經膠質瘤的動物模型以產生抗癌免疫，尤其促進樹突細胞（dendritic cells）之功能，的確可以達到消滅體內腫瘤的效果。而在正常生理狀況下，分化初期的周邊樹突細胞會吞噬抗原，然後移至鄰近的淋巴節，刺激T細胞，產生針對該抗原的免疫反應。根據最近很多實驗結果證明，如果腫瘤抗原經由樹突細胞「呈現」，較直接用抗原作疫苗，抗腫瘤免疫反應可大幅增加，體內的腫瘤可達到完全治癒的地步。

我們的治療方式就是利用這種觀念，以腫瘤細胞及樹突細胞作疫苗注射到病人體內，希望刺激產生抗腫瘤免疫反應。類似的方法曾被用在淋巴瘤及黑色素瘤病人的治療，並且獲得部份療效又安全的初步結果。腫瘤細胞是從手術切除所得的腫瘤活組織作細胞培養。根據我們以前對二百多個腦神經膠質瘤手術活組織檢體所做的細胞培養經驗，90%以上的病人檢體可以在體外繁殖三、四代，獲取足量的腫瘤細胞當疫苗用。腫瘤細胞以放射線照射後，用以製備腫瘤疫苗（tumor vaccine）。而樹突細胞則是從病人的周邊血液作血球分離出來之單核白血球在培養中以GM-CSF及IL-4刺激分化而成。病人本身之腫瘤細胞無major histocompatibility complex（MHC）差異問題，所以用以製備的腫瘤疫苗會引致腫瘤專一之免疫反應，即是產生專門針對腫瘤細胞之特殊抗原（tumor-specific antigens）的T淋巴細胞，而樹突細胞則可促進這些腫瘤之抗原呈現（antigen presentation）。將樹突細胞及放射線處理過的腫瘤細胞混合後培養十多小時或過夜會導致樹突細胞和腫瘤細胞融合，亦即說，腫瘤細胞之抗原會在「共培養」狀況下，進入樹突細胞，所以在病人的鼠蹊部與腋下作多次皮內注射之後，可誘發對抗惡性神經膠質瘤的全身性免疫反應。

以此理論基礎，楊文光教授在中研院生醫所時針對癌症免疫治療的研究（translational research）獲得衛生署的支持：(1)1998-2001 國科會／衛生署「基因醫藥衛生」計畫；(2)2001-2004 衛生署「基因醫學」國家型計畫。有此七、八年之研究成果，才能策劃出惡性神經膠質腦瘤以樹突細胞輔佐的免疫療法—第一相臨床試驗（和林口長庚醫院 腦神經外科臨床團隊合作進行）。第一相臨床試驗之結果已證明所配置疫苗針劑之安全性（副作用微乎其微），以及療效性之可能（前十位病人中，有四位未再發，一位輕度再復發，但存活已超過三年，目前尚穩定）；所有存活病人追蹤觀察期，已超過兩年以上；有此第一相（phase I）臨床試驗之結果（正整理論文發表中），乃策劃此第二相臨床試驗臨床試驗之基礎，並可作為其他腫瘤免疫治療之臨床模式。

#### 本臨床試驗研究計劃的建立根據下列的條件：

1. 對惡性神經瘤的臨床知識，尤其具有腦部手術治療的特殊專科經驗。
2. 利用神經膠質瘤病人活檢體培養腫瘤細胞的特殊技術與鑑定功能的經驗。
3. 癌症免疫基因治療的理論及動物模型的研究成果。
4. 由周邊血液單核白血球培養分化成樹突細胞的特殊技術與確定其功能的研究經驗。
5. 中國醫藥大學附設醫院血庫從事血液分離術（Leukapheresis）的多年經驗；以及腦神經病理學理與影像分析專門知識。

6. 利用細胞免疫螢光分離分析儀 (FACSCalibur and immunofluorescence analysis)。
7. 具有合乎「優良實驗操作」(GLP) 的無塵、無菌、隔離式細胞培養設施的實驗室。

以上這些條件缺一即難行。很幸運，參與本計畫的研究人員分別有其專門知識與特殊技術，互相搭配合作研究，始能順利執行有此臨床試驗計畫。

本試驗預定篩選20位年齡在18歲至70歲中間的惡性神經膠質瘤病人作試驗，包括10位腫瘤再發的及10位未曾接受治療的病人，再發的病人過去曾接受手術切除及放射線治療、或化學治療，其病理報告為第三級或第四級神經膠質瘤，影像的追蹤發現腫瘤有再發現象；而未曾接受治療的病人則依其首次手術切除的組織的病理檢查證明為惡性神經膠質瘤。因本試驗須取得腫瘤細胞作培養以製備成腫瘤疫苗，故排除無法接受手術切除腫瘤者。此外本試驗排除孕婦及正在哺乳的婦女、體內置有放射線物質者、正在發燒、急性感染、罹患活性膠原血管疾病、急性心臟血管疾病、急性肝炎病毒、梅毒或human immunodeficiency virus感染，或因慢性疾病造成免疫功能降低的病人。

試驗方法為：手術前，包括磁振攝影等各種臨床檢驗後，適合條件之病人由醫師給予本計畫詳細而平易易懂的資訊和解釋並簽署同意書參與試驗者則以血液分離術抽取適量而不影響體能之周邊血液單核白血球與血漿。病人隨即接受切除腦瘤之外科手術和術後的正規治療。取出之腫瘤除作病理切片檢查之外，並用以培養出神經膠質瘤細胞。同時亦於體外培養中，用兩種細胞激素，包括granulocyte-macrophage colony-stimulatory factor (GM-CSF) 及interleukin-4 (IL-4)，促使單核白血球分化成樹突細胞。腫瘤細胞與樹突細胞之培養均用病人本身之血漿（絕不用胎牛血清或penicillin，以保安全）。腫瘤疫苗（tumor vaccine）乃是體外生長之病人腦瘤細胞經 70-Gy放射線處理後和樹突細胞1:1混合培養後所製成。再發的病人在手術恢復後，即以含107樹突細胞數以上之腫瘤疫苗注射於病人的鼠蹊部與腋下皮內及皮下，2小時內觀察有無急性反應，若有，則需加以處理，其後病人如有狀況發生可隨時呼叫醫師。最初，每一週注射疫苗一次，給四次；之後每兩週注射一次；給兩次，最後每月注射一次，給四次，總共注射十次。首次治療的病人，則在接受手術及腦部放射線治療等正規治療後，再施行如上述之自體腫瘤疫苗注射。

本試驗的目的在探討利用自體腫瘤細胞及樹突細胞製成之疫苗對於惡性神經膠質瘤病人作免疫治療的可行性及其所可能產生的作用：

- (1) 評估此免疫治療術所使用的細胞數量是否有明顯的毒性。儘管本試驗用來治療的細胞是取自病人，沒有其他外來的細胞或物質，危險性比較小，但是其確切的毒性及副作用仍有待釐清。
- (2) 此治療方式對於未曾接受治療的惡性神經膠質瘤病人的抗癌免疫反應與對病人存活期的療效如何。



(3) 此治療方式對於再發的惡性神經膠質瘤病人的免疫反應及療效如何。

與本試驗類似的人體試驗曾在外國進行過，試驗結果並未發生嚴重的副作用。而治療所須的腫瘤細胞及樹突細胞均由病人身上取得，經處理後再注射到病人體內，並無外來的組織或體液，所以可以將副作用及危險降至最低，但仍有可能因為治療引起淋巴節腫大、出血、噁心、嘔吐、自體免疫反應、發燒、發冷、肌肉疼痛、皮膚疹、皮膚癢、疼痛、或在腦部引起嚴重的發炎反應，頭痛、腦出血、導至顱內壓上升，神經功能惡化，嗜睡、意識不清、甚至造成生命危險。在處理上，若是一般過敏反應及發燒，則給予抗組織胺藥物或其他症狀治療藥物。若是神經功能惡化，顱內壓上升，則進行腦部磁振攝影檢查，若確有顱內壓上升現象，則給予mannitol等藥物降低顱內壓，必要時斟酌情況給予類固醇藥物，甚至考慮終止試驗。若是治療及追蹤過程中腫瘤持續變大，必要時可再作腫瘤切除。

還記得「議文」…一個花樣的少女，二十來歲卻發現如此的腫瘤，九個月的生命中，有七個月是在醫院中與我們渡過，我們一起努力的與死神搏鬥，開刀、電療、化療、然後又開刀、再開刀…卻只能發現，她的生命在一點一滴的流失，漸漸的，左手舉不起來了；漸漸的，她只能坐著輪椅；漸漸的，看著她的口水從她嘴角留下…而我能做的，卻只是把她的口水擦乾。我曾經告訴她：「議文，加油！我們醫院來了一位楊教授，他帶來了一種很好的治療方式，等到人體試驗的申請一通過，我們就可以來接受治療了。」然而，她卻等不到那一天。

2005年8月1日我們終於開始我們的免疫治療，目前已經接受此療法患者，已有六位；而疫苗製備當中之患者，也有四位；接受此療法的六位患者，雖然目前還看不出有何療效，但皆無明顯的併發症。我們由衷的希望，這些努力能改善這類病人之存活率，罹病率及生活品質。