



# 體外低氧環境培養 對抗實體腫瘤更有效率！

撰文：熊泰綸

細胞治療可說為目前全球新興且受到高度重視的治療方式，免疫細胞治療項目也是國內因應全球趨勢有條件式開放的其中之一。也為目前癌症免疫治療開發領域的熱門項目，國內產學研界中許多單位也致力在進行該領域研究開發。

嵌合抗原受體T細胞治療(Chimeric antigen receptor T-cell therapy, CAR-T)的標的為腫瘤治療主要的關鍵重點，常見的標的為腫瘤相關的抗原(Tumor-Associated Antigen, TAA)，而可作為TAA的選擇相當多，其中理想TAA的特色包括：

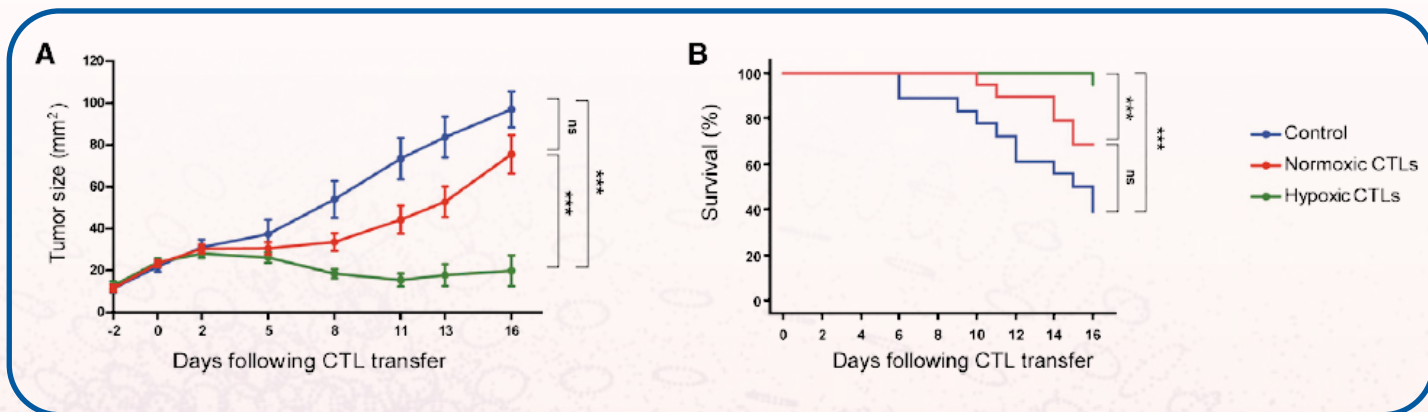
1. 表現於細胞表面，僅表現於腫瘤細胞表面，在正常細胞並不表現；
2. 可被施打者免疫系統辨識為非自體；
3. T細胞受體(T Cell Receptor, TCR)對該抗原有高度的親和力；
4. 對於該抗原，被施打者免疫細胞不會產生免疫耐受(Immune Tolerance)。

除了血液相關腫瘤治療外，CAR-T也是實體腫瘤的治療開發重點，但常常發現結果並不盡理想。研究指出微環境為實體腫瘤的基本表徵之一，而這樣的微環境會抑制CAR-T的穿透，影響其到達目標位置進行毒殺腫瘤的作用。在低氧的微環境中，腫瘤細胞內的氧含量下降，透過一系列的訊息傳遞，激發對低氧環境敏感的低氧誘導因子(Hypoxia-Inducible Factors, HIF)的活性，促進許多基因的表現企圖改變低氧環境，如增加腫瘤細胞的氧氣及養分供給產生血管新生的行為，進而促進其惡化及轉移。除此之外，腫瘤細胞利用缺氧的微環境，有效率地利用葡萄糖作為細胞燃料，進行無氧的糖解作用，產生大量乳糖導致環境酸化，也相對的抑制T細胞的活化、增殖、及毒殺能力。

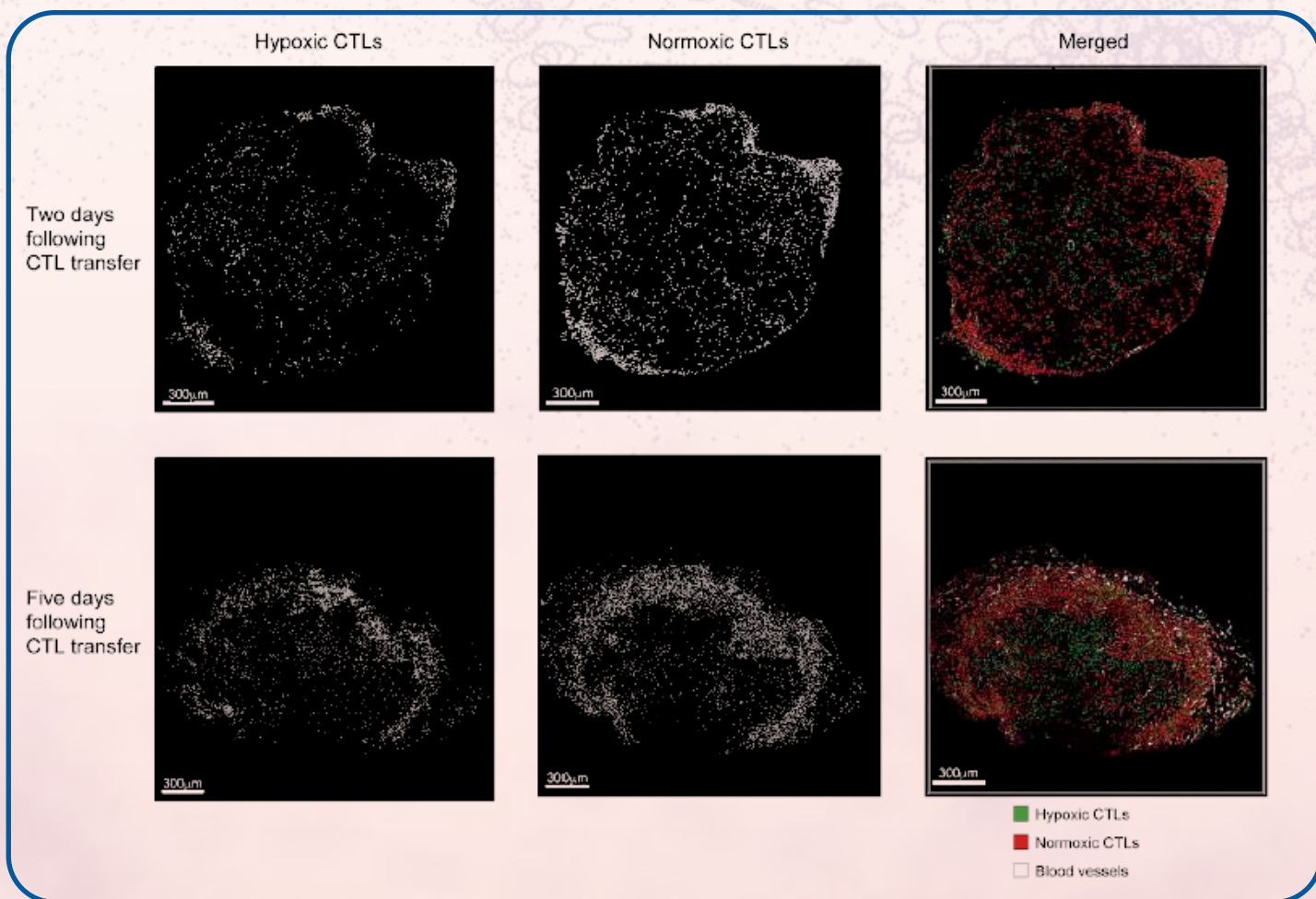
其他研究也指出，在體外的條件下，低氧環境下生長的CD8+T細胞能有效率的毒殺能力。以色列Weizmann Institute of Science研究團隊將具有CD8+標記的毒殺T淋巴細胞(Cytotoxic T Lymphocytes, CTLs)分別進行Hypoxia(低氧濃度，1% O<sub>2</sub>)及Normoxia(正常氧濃度，20% O<sub>2</sub>)培養，再分別注入患黑色素瘤的小鼠體內進行一系列的研究實驗；發現Hypoxia CTLs在抗腫瘤能力比Normoxia CTLs的效果更好。



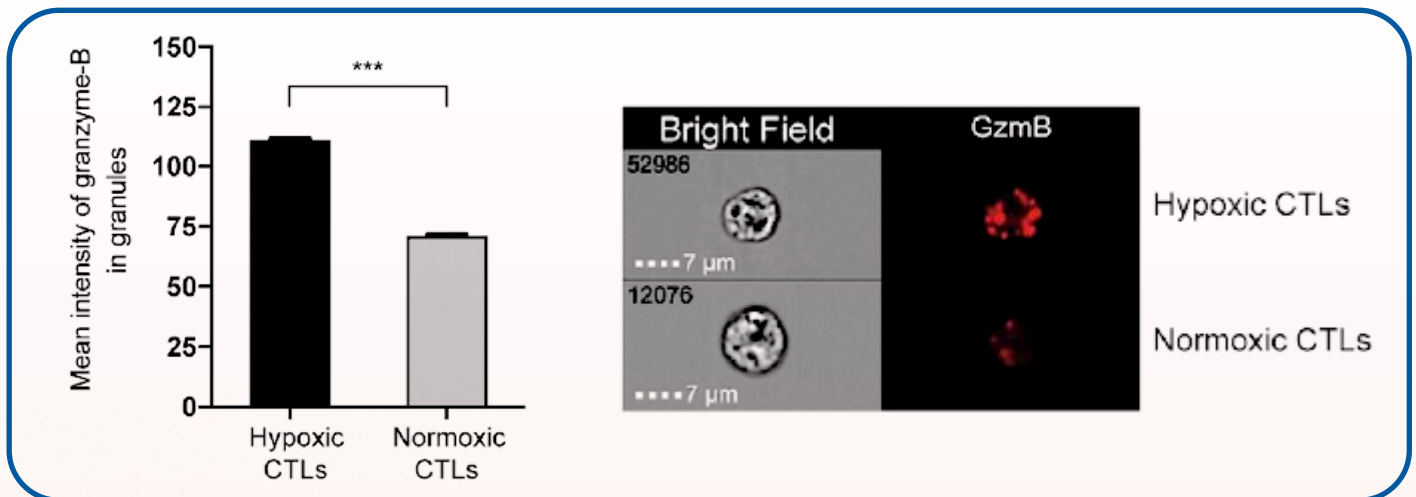
接受Hypoxia CTLs治療小鼠不論是腫瘤面積以及壽命，都比接受Normoxia CTLs治療小鼠的結果還要出色(圖一)。其原因並不是因為Hypoxia CTLs能比Normoxia CTLs更有效率的穿透腫瘤(圖二)，而是Hypoxia CTLs含有更高濃度的Granzyme B(圖三)促使實體腫瘤細胞進行細胞凋亡，進而達到殺死腫瘤細胞之結果。



↑ 圖一、A 接受Hypoxia CLTs治療的小鼠有效率抑制實體腫瘤變大  
B 未接受CTLs及接受Normoxia CTLs治療的小鼠於第5天及第7天存活率開始下降



↑ 圖二、接受CTLs 2天與5天在細胞數量有明顯上升，但穿透率及分布並無明顯差異。



↑ 圖三、Hypoxia CTLs含有更高濃度的Granzyme B

然而我們要如何有效控制低氧為環境並同時做到細胞監測呢？來自德國的BMG CLARIOstar®全功能螢冷光判讀儀，專利LVF單色器設計可任意調整波長與頻寬，螢、冷光上下方判讀皆採用無光纖設計，搭配Dichroic mirror分隔激發光及散射光，有效率降低雜訊，提高靈敏度。此外CLARIOstar®有專屬的氣體控制儀，可獨立調整O<sub>2</sub>與CO<sub>2</sub>濃度(0.1% ~ 20%)，讓細胞在設定環境氣體濃度中穩定進行判讀，可建立最佳的低氧環境，幫助相關其研究。



**CLARIOstar®**  
全功能盤式判讀儀



**ACU 氣體控制儀**

#### 參考資料：

1. Yael Gropper, Tali Feferman, Tali Shalit, Tomer-Meir Salame, Ziv Porat, Guy Shakhar (2017). Culturing CTLs under Hypoxic Conditions Enhances Their Cytolysis and Improves Their Anti-tumor Function. Cell Reports 20, 2547–2555