

掌握治療癌症的key

用RayBiotech Array 解開腫瘤微環境中免疫細胞的秘密

撰文：汪谷威

有誰能想到，過去一直以來人類使用各種方法來殺死腫瘤細胞，並希望能用來妥善治療癌症，但卻始終沒有百分之百確實治癒的效能，甚至有可能會使情況越來越糟？

其實問題就出在過往人類對於實體腫瘤的不正確認知。實體腫瘤並不是只有癌細胞而已，它更包含了其他許多周圍的正常組織細胞、纖維母細胞、血管、細胞外基質 (extracellular matrix, ECM)、免疫細胞等，這些錯綜在一起的系統，都有可能影響抗癌藥物的功效，然而這些腫瘤細胞以外的細胞與物質統稱為腫瘤微環境(tumor microenvironment, TME)。近年來有大量的研究發現到癌細胞周圍的ECM、間質細胞 (stromal cells)和免疫細胞等都和腫瘤交錯在一起，影響癌細胞的增生、擴散及轉移，甚至在治療上也佔有舉足輕重的地位。舉例而言：Bhowmick et al. (2004)、Olumi et al. (1999)及Orimo et al. (2005)的研究皆指出，TME中的stromal cells和肌纖維母細胞(myofibroblasts)會促使腫瘤細胞增生。

TME的各種物質皆有可能分泌多種信號，可以個別或一起影響腫瘤細胞本體；又或是被藥物破壞後所產生的腫瘤碎片，亦有可能促使TME釋放出壓力或發炎細胞激素，進而影響到後續癌症治療。其中用來清除外來和異常入侵物的免疫系統更是和腫瘤之間息息相關，因此科學家可以藉由檢測腫瘤細胞本身、免疫細胞及其他TME內的細胞所分泌的細胞激素來進行免疫監測(immune surveillance)，甚至研究腫瘤逃避免疫監測的機制；例如：釋放細胞激素防止免疫反應、偽裝成正常細胞或產生能躲避免疫系統的配體(ligand)等，最後才能應用於癌症免疫療法(cancer immunotherapy)上。許多未知與待解決的抗腫瘤免疫反應及腫瘤誘導機制便成為眾多科學家樂此不疲的討論對象。

有鑑於此，Burkholder等人於2014在*Biochimica et Biophysica Acta*期刊發表一篇針對腫瘤與免疫細胞裡各種細胞激素機制的回顧。此篇回顧總結多種免疫系統和癌細胞之間的交互作用，以及當中會影響腫瘤細胞的主要細胞激素。此外，更提供科學家一個利用TME內部細胞激素以清楚掌握細胞及細胞間影響的研究方向，來化解腫瘤最關鍵的一道防線，讓治癒癌症再也不是夢想。

最天然的對抗腫瘤工具

Coley的發現：抗細菌居然等於抗腫瘤免疫機制？！

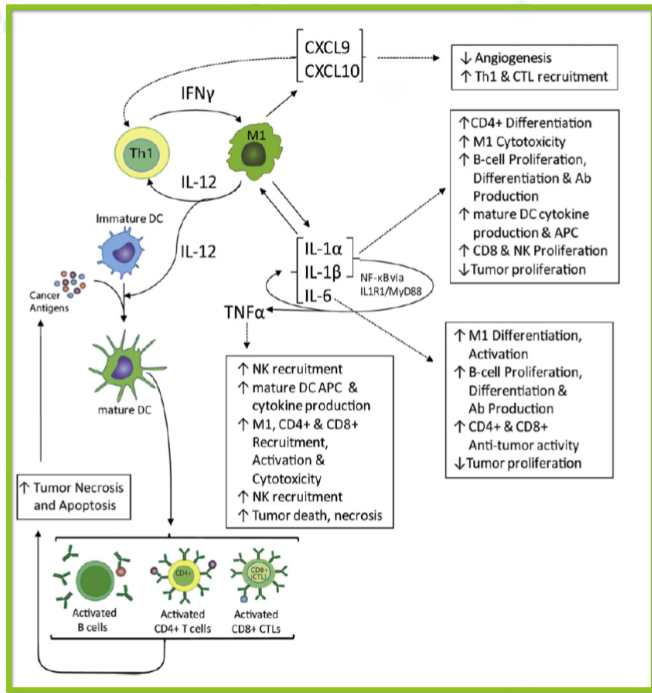
其實這個想法早在100年前就已經由知名的德國免疫學家Paul Erlich提出，如果免疫系統可以清除體內的病原體，那為什麼不能消滅腫瘤細胞呢？一直到1890年代，William B. Coley醫生觀察到一些癌症患者體內的腫瘤會在細菌感染時的縮小，甚至這當中多數的患者都因此痊癒。同樣的事情也在Agrawal等人(2004)的實驗裡獲得驗證；他們對帶有皮下腫瘤的實驗小鼠注射諾維氏梭菌(*Clostridium novyi-NT*)的孢子後發現到：腫瘤會在細菌感染的24小時內開始出血性壞死，且有34%的小鼠身上的腫瘤會在最少60天內消失且痊癒。而相似的結果也在腫瘤帶原的實驗兔子身上得到證實。Agrawal等人更利用RayBiotech Mouse Cytokine Array一次檢測32種蛋白表現，得知感染*Clostridium novyi-NT*的小鼠血清中的多種發炎細胞激素有明顯增加，如：IL-6、MIP-2(GRO-β)/CXCL2、G-CSF/CSF3、TIMP-1與KC (GRO-α)/CXCL1等；而這些細胞激素會吸引大量的促進發炎細胞(多為嗜中性球)以及在數天後改由被單核細胞和淋巴細胞浸潤。最後在由表面帶有CD8+的細胞毒性T細胞(cytotoxic T cell或killer T cells)來抑制腫瘤的生長。

從先天到後天的對抗腫瘤發炎機制

經過長期的研究，多數對抗腫瘤的免疫細胞都已眾所皆知，其中包含第一型輔助T細胞 (T helper type 1/Th1 cells)、killer T cells、自然殺手細胞 (natural killer/NK cells)、自然殺傷T細胞 (natural killer T/NK-T cells)、第一型巨噬細胞 (type 1 macrophages/M1)、第一型嗜中性球 (type 1 neutrophils/N1)、嗜酸性粒細胞 (eosinophils)與成熟的樹突細胞 (mature dendritic cells/DCs)，但是某些癌症卻受益於Th1 cells的增加，並顯示和killer T cells及NK-T cells有著意想不到的關係。

Th1 cells和M1為抑制腫瘤的發炎反應中最主要的兩種免疫細胞(圖一)。首先M1會產生IL-1α及IL-1β來增強B細胞與增殖抗體，以及提升樹突細胞的抗原呈遞細胞 (antigen-presentation cell, APC)能力；同時M1會與IL-2產生協同作用，使增生killer T cells和分化activated CD4+ T cells，最後再藉由NF-κB訊息去刺激MyD88活化，使M1數量上升且

釋出TNF- α ，進而導致腫瘤的損傷和死亡。Th1 cells會分泌IFN- γ 來維持與增生M1，而M1也會產生IL-12以活化及維持Th1 cells，使兩者間成為一個正向的循環。IL-12另外會促使後天免疫中樹突細胞成熟，進而產生activated B cells, activated CD4+ T cells及activated CD8+ cells，授予直接毒殺腫瘤細胞的能力。這類腫瘤毒殺的發炎反應與急性同種異體器官移植的排斥反應相似。因此Th1 cells和M1的數量則常被用來預測多種癌症患者的存活率。



圖一、免疫系統中抑制腫瘤的發炎反應路徑模型。

或抑制樹突細胞成熟。MDSCs 亦會生成IL-10，造成M2增長；而Th2 cells和M2也因IL-10及IL-4產生相互增殖及增強的正相關性。上述細胞的生成會維持發炎反應和血管新生，且經由MDSCs分泌IL-10和TGF- β 促進TREG cells而抑制killer T cells的生成。這將會對腫瘤生長占有極大的優勢。因此找尋兩者之間的平衡則成為一件非常重要的癌症研究關鍵。

TME中促使癌症增生的協同作用

當然不只有上述免疫細胞分泌的細胞激素會去影響到腫瘤的發展，腫瘤細胞本身也會分泌出多種細胞激素，去影響免疫系統後再去促進腫瘤發展(圖三)；如：TGF- β 、COX2、PGE2以及Th2 cells相關的發炎因子及促血管生成蛋白皆會在癌症初期被腫瘤細胞分泌出來。而癌症初期時的腫瘤相關纖維母細胞(Cancer Associated Fibroblast, CAFs)也會吸引Th2 cells、M2和N2，分泌發炎因子及促血管生成蛋白，以抑制DCs而活化killer T cells；導致抗原呈遞和細胞毒性活性下降，消除TME中的免疫監測。此外M2可將MDSCs帶進TME中，進一步增強了Th2 cells、M2和N2三者的正回饋，讓腫瘤發展有關的發炎和血管新生反應藉著此無止盡的循環，來幫助體內腫瘤生長甚至轉移。

自相矛盾的腫瘤相關免疫系統

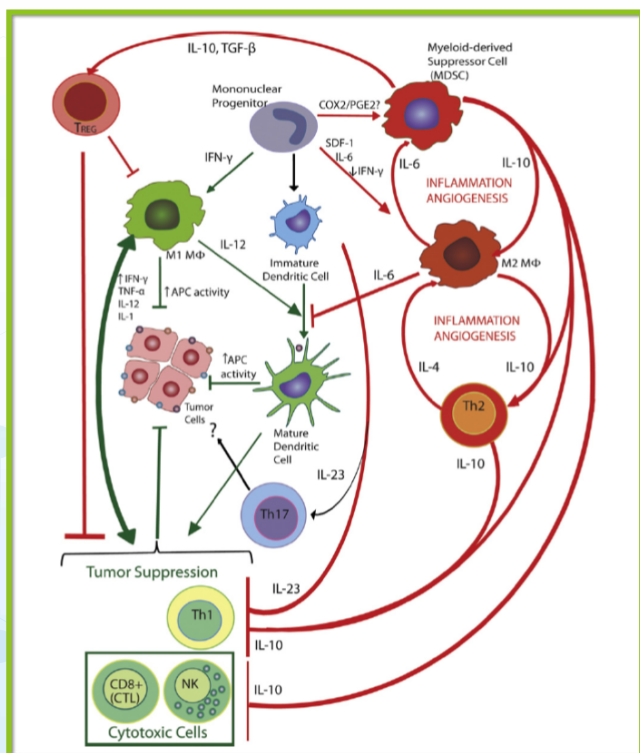
除了前述會去對抗腫瘤的免疫系統外，更有一群TME可能會促使腫瘤的生長，包括第二型巨噬細胞(type 2 macrophages/M2)、CD4+ 第二型輔助T細胞(Th2 CD4+ cells)、調節T細胞(regulatory T/TREG cells)、活化B細胞(activated B cells)與第二型嗜中性球(type 2 neutrophils/N2)。它們不只會參與一般正常組織的修復，更有可能因為這些細胞所釋出的細胞激素來促進腫瘤發展。

由圖二中可以清楚看到M1和M2會對癌細胞產生一個相反且矛盾的作用。M2所分泌的IL-6會增生骨髓衍生抑制細胞(Myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)，

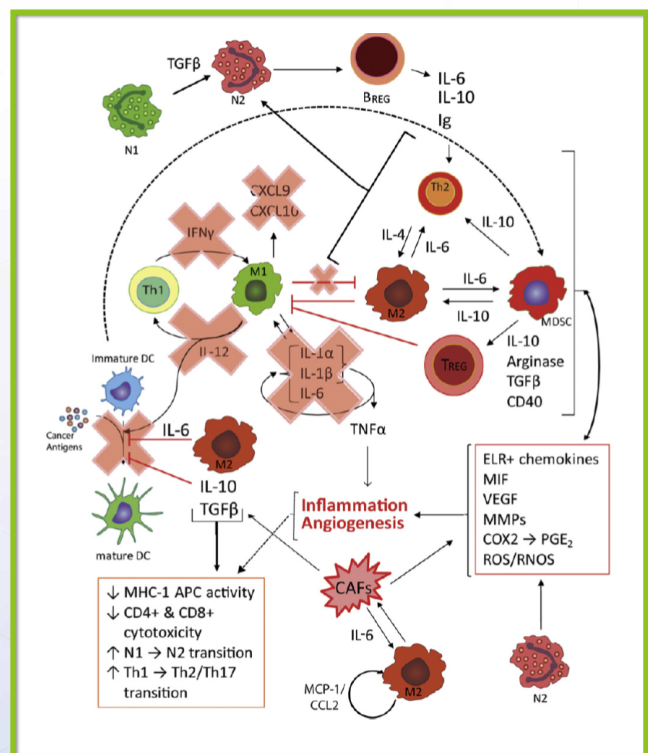
由此可得知，多種細胞激素均在TME免疫研究中都佔有不可缺少的地位，如何同時揭示這麼多種細胞激素的技術就變得極為重要，而RayBiotech Array就是提供能一次完整研究TME中蛋白質體學變化的平台，無論是從大範圍細胞激素、發炎反應蛋白篩選，或小程度的細胞凋亡及磷酸化程度判讀，都提供多種產品讓研究人員選擇，這有助於在短短6~8小時內，於複雜的生物樣本中同時篩選數十至千種分泌型訊號蛋白，解開這既複雜又吸引人的腫瘤免疫學之謎。

目前已有大量癌症研究期刊中使用RayBiotech Array找尋TME對腫瘤生長的促進作用分子機制。例如2017年4月Stroke Journal期刊中，科學家利用Mouse Cytokine Array找出動脈瘤治療後，動脈組織癒合的關鍵細胞激素為何，並藉此發現：若阻斷下游媒介IL-6 receptor或osteopontin則會抑制此癒合途徑。

而目前RayBiotech已針對癌症、發炎或血管新生等特定細胞激素設計出專屬的Arrays，一旦找到其差異之蛋白，再利用ELISA、Western Blot或其他方式去進行後續實驗，便能更快掌握腫瘤發生之關鍵因子！



圖二、幫助腫瘤生長的免疫細胞之間的交互作用路徑模型。



圖三、TME中促使癌症繼續生長的協同作用路徑模型。

腫瘤研究推薦品項：

Quantibody Arrays (Multiplex ELISA Arrays)：篩選相關分泌蛋白同時，也能定量；才是現在發表文獻的趨勢。

貨號	產品名稱	目標蛋白數
QAH-CAN-1	Human Cancer Biomarker Array 1	18
Targets: Alpha-fetoprotein, CA125, CA15-3, CA19-9, CA72-4, CEA, Cytokeratin 19, GOLM1, hCG beta, HE4, NSE, Pepsinogen 1, Pepsinogen 2, ProGRP, PSA-free, PSA-total, SERPIN B3, Thyroglobulin		
QAH-CYT-1	Human Cytokine Array Q1	20
Targets: GM-CSF, GRO α/γ , IFN- γ , IL-1 α , IL-1 β , IL-10, IL-12 p70, IL-13, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , MMP-9, RANTES, TNF α , VEGF-A		
QAH-GF-1	Human Growth Factor Array Q1	40
Targets: Amphiregulin, BDNF, bFGF, BMP-4, BMP-5, BMP-7, beta-NGF, EGF, EGFR, EG-VEGF, FGF-4, FGF-7, GDF-15, GDNF, Growth Hormone, HB-EGF, HGF, IGFBP-1, IGFBP-2, IGFBP-3, IGFBP-4, IGFBP-6, IGF-1, Insulin, M-CSF R, NGFR, NT-3, NT-4, Osteoprotegerin, PDGF-AA, PLGF, SCF, SCF R, TGF α , TGF β 1		
QAH-IGF-1	Human IGF Signaling Array Q1	10
Targets: IGF-1, IGF-1 R, IGF-2, IGF-2 R, IGFBP-1, IGFBP-2, IGFBP-3, IGFBP-4, IGFBP-6, Insulin		
QAH-INF-1	Human Inflammation Array Q1	10
Targets: IFN- γ , IL-1 α , IL-1 β , IL-10, IL-13, IL-4, IL-6, IL-8, MCP-1, TNF α		
QAH-MMP-1	Human MMP Array Q1	10
Targets: MMP-1, MMP-10, MMP-13, MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2, TIMP-4		
QAM-INT-1	Mouse Interleukin Array Q1	20
Targets: GCSF, GM-CSF, IFN- γ , IL-1 α , IL-1 β , IL-10, IL-12 p70, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-2, IL-21, IL-23 p19, IL-3, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, TNF α		

另備有更多品項及包裝，詳情請洽當區業務

