

出國報告（出國類別：進修）

德國萊布尼茲免疫治療研究所進修

服務機關：國立成功大學醫學院附設醫院

姓名職稱：李欣學 醫師

派赴國家：德國

出國期間：2021 年 10 月~2023 年 11 月 5 日

報告日期：2024 年 1 月 15 日

摘要

CAR T 細胞是一種經過基因工程改造的 T 細胞，其表面被植入一種被稱為 CAR (chimeric antigen receptor) 的嵌合抗原受體。這個受體能夠使 CAR T 細胞擁有辨識癌細胞表面抗原的能力，進而攻擊癌細胞。CAR T 細胞治療可說是近十年來對血液癌症治療的一大突破，為了學習 CAR T 細胞的研究和臨床試驗發展，我在 2021 年 10 月至 2023 年 10 月到位於德國雷根斯堡的萊布尼茲免疫治療研究所 (Leibniz Institute for Immunotherapy) 擔任訪問學者，加入 Hinrich Abken 教授的研究團隊學習進行 CAR T 細胞的基礎研究，本文報告了我在德國所學，提供未來有計畫前往德國進修的同仁參考，並給未來本院要發展細胞治療研究時的一點建議。

目次

目錄

一·目的.....	4
二·過程.....	5
進修地點介紹	5
進修內容.....	8
經費來源.....	11
三·心得.....	11
選擇德國作為出國進修地點的優、缺點.....	11
動物實驗的限制	11
安全、舒適的環境.....	12
語言障礙.....	12
生活物價比較	12
政府機關的效率	13
四·建議事項	13
推動基礎臨床合作	13
經費的支持.....	14
通過國際認證	14
對學術生產細胞治療產品的建議	14
採用全自動生產平台	14

一．目的

癌症一直以來都是人類健康的威脅之一，多年來一直位居台灣十大死因之首，傳統的治療方式包括手術、放射線治療和化學治療。然而，近年來，癌症免疫治療逐漸嶄露頭角，成為一種引人注目的新興療法。癌症免疫治療的原理是利用人體自身的免疫系統來攻擊和摧毀癌細胞。這種治療方法的出現帶來了希望，特別是對那些傳統治療效果不甚理想的病患。

除了使用免疫調節藥物來治療癌症，CAR T 細胞療法更是免疫治療領域的一大突破。CAR T 細胞是一種經過基因工程改造的 T 細胞，其表面被植入一種被稱為 CAR (chimeric antigen receptor) 的嵌合抗原受體。這個受體能夠使 CAR T 細胞擁有辨識癌細胞表面抗原的能力，進而攻擊癌細胞。到今天，已經有 6 個 CAR T 細胞治療的產品通過 FDA 核准上市，有四種是針對 CD19 抗原的 CAR T 產品，主要可以用來治療復發難治的急性淋巴性白血病還有 B 細胞淋巴癌，另外有兩個針對 BCMA 的 CAR T 可用來治療多發性骨髓瘤，後面有更多不同 CAR T 細胞的產品正在進行臨床試驗或研究。雖然 CAR T 細胞治療在血液腫瘤獲得了初步成功，但其實仍然有許多可以改善的空間，舉例來說：急性 B 細胞血癌接受 CAR T 治療的病患仍然有一半無效或再復發，除了癌細胞本身可能存在 CD19 缺乏的族群造成 CAR T 細胞治療無效外，CAR T 細胞反覆活化所造成的細胞凋亡、T 細胞疲憊 (Exhaustion) 等因素也會影響治療的成效。因此，目前許多學界和業界的團隊都投入許多資源，從 CAR 的設計、製程等在探討如何改善 CAR T 細胞的功能，也有許多團隊將 CAR T 治療應用在其他疾病 (如自體免疫疾病)、或研發針對不同腫瘤抗原的 CAR T 細胞來治療不同癌症，例如 CD30 用來治療何杰金氏淋巴癌、CD5/CD7 CAR 用來治療 T 細胞腫瘤等等。在實體腫瘤方面雖然也有不少嘗試和研究，但目前臨床試驗的結果則普遍不甚理想。

因此，為了能學習 CAR T 免疫細胞治療的研究與研發工作，我在安排出國進修的計畫時，即設定以 CAR T 細胞治療為主軸，尋找適合的進修地點，經過不少書信往來，後來我決定前往德國加入由 Hinrich Abken 所領導的研究團隊，我曾在第一屆歐洲 CAR T meeting 聽過他的演講，也趁著在歐洲參加會議的機會，親自到 Regensburg 的實驗室拜訪並討論研究計畫。

二· 過程

進修地點介紹

我在進修期間所加入的研究團隊以 Hinrich Abken 教授為首，Abken 過去在柯隆大學醫院期間發表了許多 CAR T 研究的文章，為德國最早進行 CAR T 研究的團隊之一，他所提出的幾個 CAR 設計的概念，例如透過讓 T 細胞分泌 IL-12 或 IL-18 等細胞激素，能夠改變腫瘤微環境中的免疫細胞並改善 CAR T 細胞的治療效果。同時也可以透過 vector 的設計，來達成調控細胞激素是持續分泌或者在特定情況下 (例如在 T 細胞活化時才進行分泌)。也可應用類似的設計讓 T 細胞可以製造其他的蛋白質，像是激酶、抗體 (或抗體的片段) 等等，讓這些製造出來的蛋白質改變 CAR T 細胞本身或對影響腫瘤周邊的微環境並最終改變 CAR T 細胞的功能。

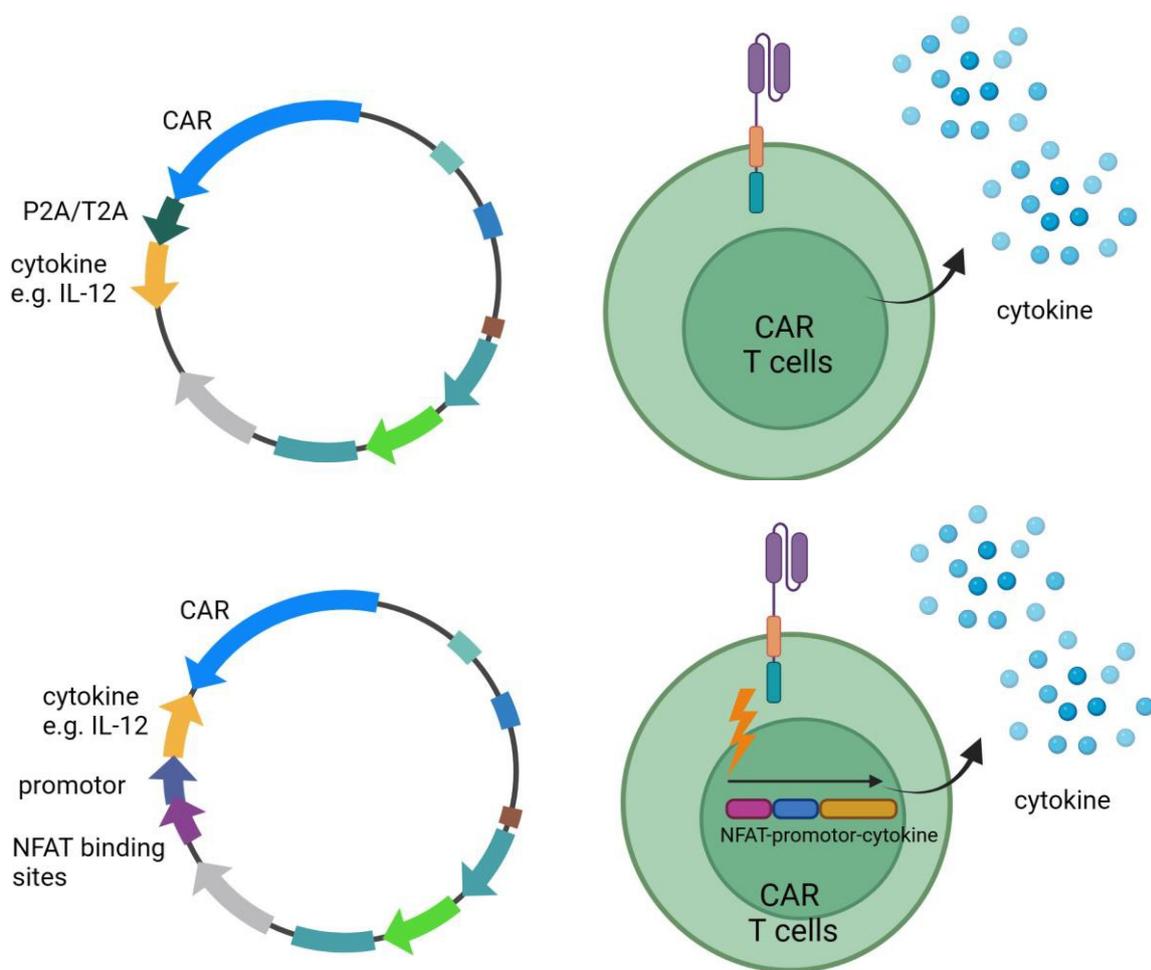


圖 1. 兩種第四代 CAR vector (TRUCKS 或稱為 armored CAR) 設計示意圖

Hinrich Abken 教授在 2017 年接受邀請，至甫成立的萊布尼茲免疫治療研究所 (Leibniz Institute for Immunotherapy) 擔任基因免疫治療部的部長。萊布尼茲免疫治療研究所位於拜揚(Bayern)邦的雷根斯堡(Regensburg)，前身為雷根斯堡免疫治療中心 (Regensburg Center for Immunotherapy) 為 2017 由德國拜揚州邦政府資助下成立，在 2021 年正式加入德國萊布尼茲學會 (Leibniz Association)，成為學會中 96 個獨立的研究機構之一，並獲得來自德國聯邦政府及各邦政府的經費資助。萊布尼茲免疫治療研究所設有四個主要研究部門，旗下的各研究團隊皆以發展免疫細胞治療為目標，主要是使用 T 細胞來治療癌症，同時也有團隊正在發展使用調節 T 細胞治療發炎性疾病。同時在研究所內設有免疫治療。

萊布尼茲免疫治療研究所除了主要進行基礎研究的研究團隊之外，旗下的 José Carreras Center (JCC) 是由三大男高音之一的卡列拉斯血癌基金會 (José Carreras Leukemia Foundation) 贊助下所成立，設有符合歐盟潔淨度 A-D 級 (等同於 ISO 4.8/5 至 ISO 8) 標準的實驗室空間，能夠進行符合 GMP 等級的各種細胞處理，包含細胞篩選、培養、基因轉殖等，以提供免疫細胞治療的臨床試驗需求。同時，萊布尼茲免疫治療研究所也和拜揚邦臨近的幾家大學和大學醫院 (Wurzburg Friedrich-Alexander-Universität, Julius-Maximilians-Universität Würzburg 等) 一些進行免疫治療研究的研究團隊，共同組成跨區域的合作研究聯盟 Collaborative Research Centre/Transregio (CRC/TR) 221，定期召開免疫治療研討會，並有數個合作研究案也以此平台為基礎正在進行中。

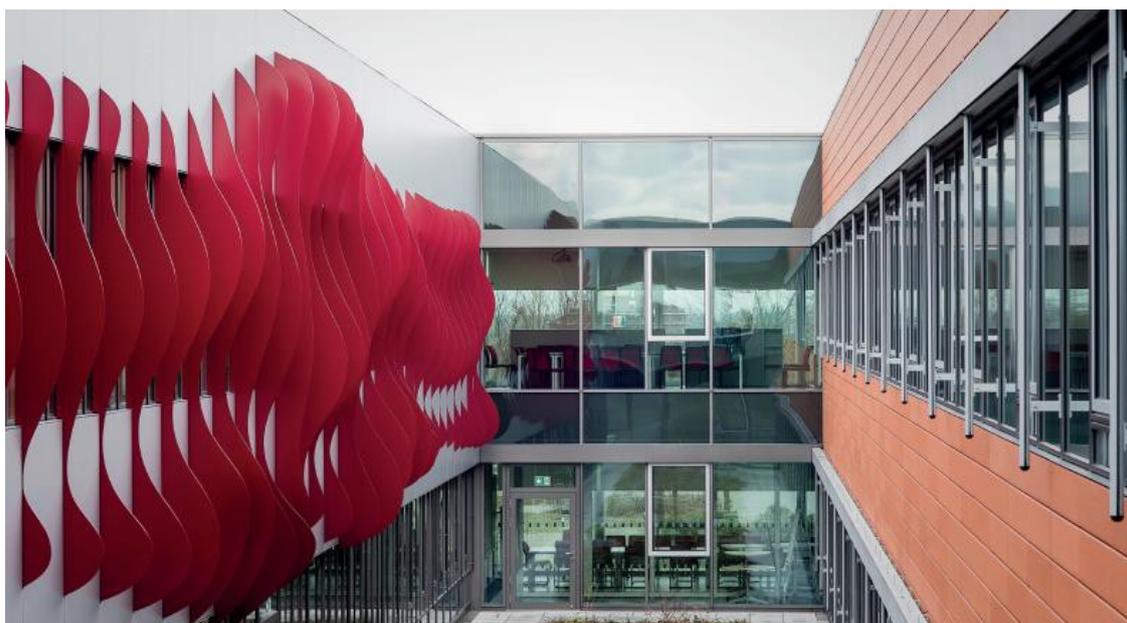


圖 2. 萊布尼茲免疫治療研究所中庭一景



圖 3. 萊布尼茲免疫治療研究所門口的 T 細胞的雕像。



圖 4. 進修地點德國拜揚邦雷根斯堡冬日一景

進修內容

我在加入 Hinrich Abken 教授的研究團隊之後，一開始有個博士後研究員帶領我熟悉實驗室常進行的各項實驗，像是如何 subcloning，產製病毒，並將 CAR 基因轉導(transduction)至 T 細胞中，以及各種 CAR T 細胞的功能檢測，比如說各種 T 細胞的分型、毒殺能力、分泌 cytokine、分裂能力等。研究團隊的 lab meeting 固定在星期二上午舉行，因為德文中的星期二為 Dienstag，所以我們都稱 lab meeting 為 D-Day. Lab meeting 主要會由各研究成員報告目前的研究進度，並由大家發問或提供意見。除了大家一起的 lab meeting，教授也會挪出半小時到一小時時間和個人進行較深入的討論，主要會著重在研究方向和實驗上的細節等等。由於團隊中有來自英國、中國、還有我這個來自台灣的非德國成員，因此各種會議皆是以英文為官方語言。我一開始在這些會議上要用英文向大家報告的確十分緊張，但透過這些會議和討論，讓我慢慢熟悉每一個成員現在手上的研究計畫，也了解這些領域目前要回答的重點問題在哪裡。實驗室中所建立的實驗 SOP 和同儕所提供的寶貴經驗，都給了我莫大的幫助。



圖 5. Hinrich Abken 實驗室同仁合照

我在前幾個月慢慢熟悉實驗室的工作流程後，開始和團隊中的一位學生一起進行一個小的研究計畫。可惜這個計畫最後成果不如預期，不過從中學到了很多經驗，我也在有了一些 CAR construct 的設計經驗後。和指導教授討論提出了自己的研究計畫，並且自己設計了計畫要用的 CAR construct，生產出 CAR T 細胞後，設計實驗來驗證自己的假設是否正確。研究計畫進行中總是起起伏伏，有時為了好的結果而開心，更多的時候卻是搞砸實驗，或是看著實驗的結果懷疑自己的假設到底對不對。進修的最後幾個月為了能加緊趕工，每天幾乎都在實驗室待到半夜搭最後一班公車回家，最後經過一整年的努力，完成了一點成果，可惜礙於目前正在投稿中，尚無法在報告中呈現完整內容。



圖 6. 我在進修期間每天都在這裡工作的實驗室

除了固定的 Lab meeting，在研究所中也經常有其他研究團隊的進度報告與外賓演講。每年暑假結束後的開學日後，固定舉行研究所的 Retreat Days，整個研究所會帶到一座城堡裡，並由各團隊出來演講報告自己的研究 program，我在報告後也收到研究所中其他團隊成員的回饋和建議，可說是一個認識其他團隊成員的好機會！



圖 7. LIT Symposium 舉行的地點

除了這些定期的會議，我在進修期間也有幸兩年舉行一次的 LIT Symposium，邀請了來自歐洲和美國，包括 Carl June, Michel Sadelain, Marcela Maus 等許多在免疫治療領域的大師級研究者前來演講，順道一提，舉行會議的地點是在雷根斯堡世界遺產老城區的教堂對面的一棟建築，這個空間在中世紀是公爵開會的場所，不管是開會的場所或是能夠近距離和這些大師討論，對我來說，都是相當難得的經驗。



圖 7. 我與 CAR T 領域的大師 Carl June（右）的合照

經費來源

由於我出國進修的目標是要實驗室累積自己進行免疫治療基礎研究的能力，因此我自己一開始就設定，在國外進修的時間要達到兩年。受限於第二年必須辦理留職停薪的規定，出國進修期間的經費受到成大醫院因公出國進修計畫、國家衛生研究院強化早期臨床試驗能量計畫、成大醫院臨醫中心菁英計畫、成杏基金會等支持，在此感謝所有的贊助者讓我的進修計畫能順利完成。

三·心得

由於過去到德國，甚至是歐洲國家進修的同仁較少，因此我以自己在德國兩年的經驗，整理分析了考慮選擇德國作為進修地點時需要考慮的一些事項，希望能夠提供未來有進修計畫的同仁參考。

選擇德國作為出國進修地點的優、缺點

動物實驗的限制

德國作為歐盟的主要成員國，其實驗動物皆在歐洲議會通過的 Directive 2010/63/EU 精神下，加上德國國內的聯邦法律: 動物權利法案 (Tierschutzgesetz (TierSchG)) 內有十分詳細的規範，需要操作動物實驗的研究者都需要完成 20 個小時的線上課程以及 20 小時的實際訓練課程後，通過考試並取得認證後才能進行，動物實驗的研究計畫皆需要通過研究單位自己以及區域的審核單位的審核。我在萊布尼茲免疫治療研究所的同事對此也多所抱怨，動物實驗計畫的審查通常要經過多次回覆和修改，所需要花費的時間常需要半年至一年的時間，可以說這些以動物權利為出發點所制定的法案和規範，對需要使用實驗動物的研究單位來說，多少也形成了在進行動物實驗上的一些限制和阻礙，並且會對於研究計畫的進行速度造成影響。這些對於像我這樣出國進修時間有限的研究者來說，對於在選擇進修地點時應該要納入考慮的。

安全、舒適的環境

德國人通常給人嚴謹、保守、和遵守紀律的刻板印象，根據我在德國期間的觀察，大多數的德國人的確符合這樣的印象。以我進修的地點雷根斯堡來說，不管是市區或郊外的環境都十分整齊、乾淨。整體的治安比美國要好得多，其犯罪率在歐盟國家中也是屬於較安全的國家。在交通方面，即使德國以無限速高速公路聞名，在公路上或市區大多數的車輛都相當遵守交通規則並互相禮讓，鐵路網路大眾運輸工具也都十分發達，這些都讓我在德國進修期間有著不錯的體驗，不需要為了家人在德國生活、上學的安全而擔心，我在德國進修期間以單車、公車、和巴士作為主要的代步工具，偶有遠行計畫時則再短期租車，覺得生活也挺便利，這點可以說是到歐洲國家進修的優點之一。

語言障礙

由於研究人員來自世界各國，因此在研究所的官方語言為英文，各種會議和討論也都以英文進行，同事普遍都能用流利的英文溝通，因此對我來說，在進修期間的學習和同事間的溝通不成問題。不過在日常生活中或者需要到公務機關辦理一些手續時，大多時候仍然需要用德語與其他人溝通，若能夠有一點德文的底子會容易一點。就我自己學習德語和英語的經驗，德語的文法，包括名的性別、格位變化、時態等都較英語複雜得多，不是那麼容易學習。因此我在剛到德國的時候，經常是鴨子聽雷，常常手足無措不知道該怎麼辦。還好有諸多熱心同事、路人的協助下順利地完成了兩年的進修，也讓我認識到，德國人並不像傳言的刻板印象中所說的那麼冷酷，很多德國人在他人遇到困難時都會樂意伸出援手幫助的。

生活物價比較

台灣的物價水準普遍低於歐美國家，在國外生活的費用對領台灣的薪資的我來說的確會是一個蠻大的負擔。如果用經濟學上一個評估物價指數的非正式指標：麥當勞大麥克指數為例，一個大麥克在德國的售價為 4.77 美元，大約是台灣的 1.9 倍，低於瑞士的 6.71 和美國的 5.25 美元。若是和美國幾個大城市或瑞士等國家來相比，在德國生活所需要的花費相對會少一點，還算是可以負擔。

不過在我進修期間正好遇到 COVID-19 疫情後與俄烏戰爭後所引發的通貨膨脹，不管是超市內的日常生活用品，或者是房租、燃料、暖氣、電費等，都能夠明顯感受到至少 30-50%以上的漲幅，對比之下，在台灣的消費者物價可以說是還算穩定，這也反映出國際間的經濟連動性，即使身處不同的地方，全球事件也會對每個人的生活產生實質影響。

政府機關的效率

德國的政府機關以官僚主義聞名，對像我這樣需要長期在德國境內居留的訪問學者來說，不可避免需要到德國在台協會 (Deutsches Institut Taipei) 申請簽證、到當地的外國人事務局 (Ausländerämter) 辦理居住登記 (Anmeldung)、換領居留許可證 (Aufenthaltserlaubnis)，或到監理站更換德國駕照等手續，如果有家人同行的話，更有許多機會需要辦理依親簽證、入學申請等的機會，實際和這些德國公家機關打過交道後，比較之下，德國公家機關數位化的程度、各種手續流程的簡便程度，處理速度、服務態度等等，不但預約困難或需要長時間的排隊，我家人簽證的審理更是花費超過三個月的等候時間，都遠遠不如我在台灣公家機關的經驗。因此，若是有到德國進修研究的同仁，最好要先有一點心理準備，並提早準備並進行申請，以確保進修計畫能順利進行。

四．建議事項

細胞治療近年已經成為各大醫學中心的熱門發展項目，成大醫院也將【發展細胞治療】列為中程發展目標之一，僅以我在萊布尼茲免疫治療研究所進修的心得提供幾個實際執行上的建議：

推動基礎臨床合作

像 CAR T 這樣的細胞治療計畫要能成功，需要的人力物力是很龐大的，尤其是在早期階段 CAR T 的設計、驗證、生產等，需要許多生物技術的專業知識，這些對像我這樣的臨床醫師來說，普遍是較不熟悉的領域。如要產出創新的研究成果，普遍也需要專門研究癌症免疫學的專家。萊布尼茲免疫治療研究所內的主要幾個研究團隊主要都是著重在基礎的免疫學研究，同時也與隔壁雷堡大學醫院的臨床醫師進行緊密合作，有數個臨床或轉譯的合作研究計畫正在進行中，這點對

同時有醫學院和附設醫院的成大來說，也是有其優勢。若能整合癌症免疫基礎研究的學者和臨床醫師，共同推行一到兩個重點的細胞治療計畫，各團隊間可以共享一些實驗空間或投資共同需要的儀器，將能事半功倍。

經費的支持

免疫細胞治療不管是臨床或是基礎研究皆需要大量的經費支持，台灣在研究資源相對不那麼豐富的情況下，如何善用手上的資源最大化效益就會是一個重要的課題。如果醫院或學校將發展細胞治療設定為發展目標，不妨盤點手上所擁有的研究團隊與計畫，設立目標，投注資源，展現企圖心。

通過國際認證

在臨床方面，則應檢視醫院收集血球和臨床照顧的各項流程，提升至符合國際標準並通過 FACT-JACIE 認證，將可以提升本院的臨床照顧品質，也有助於引入國際 CAR T 臨床試驗。

對學術生產細胞治療產品的建議

細胞治療的計畫要從實驗室走到臨床，在通過 FDA 或 EMA 核准上市前，需要有能力提供小規模生產 CAR T 產品的 GMP 規格實驗室，以符合驗證和臨床試驗的需求。萊布尼茲免疫治療研究所的 GMP 實驗室卡瑞拉斯中心(JCC)就是為了這點而設立的，裡面設置了可以符合 GMP 規格的 FACS sorting，細胞培養等處理儀器。在設置之初即透過較單純的 Treg 分離培養技術，建立相關流程，並申請計畫開始臨床試驗，現在相關流程已十分穩定。

採用全自動生產平台

至於現在計畫中的 CAR T 臨床試驗，則是以 Miltenyi Biotec 生產的 CliniMACS Prodigy 平台進行，該平台可以提供全自動化的 closed system 細胞培養、擴增、和病毒轉導等程序，減少人力操作的時間和提供一致的成果，據我所知，國內外有不少學術單位甚至是業界皆是採用此一平台在 GMP 實驗室內進行 CAR T 細胞的生產。這點可以提供成大在建置 GMP 實驗室或未來自行生產細胞治療產品時的參考。