

出國報告（出國類別：其他）

## 參加 2016 歐洲蛋白質與抗體工程研討 會(2016 PEGS Europe)出國報告

服務機關：核能研究所

姓名職稱：羅彩月 研究員

派赴國家：葡萄牙

出國期間：105 年 10 月 29 日~105 年 11 月 6 日

報告日期：105 年 12 月 6 日



## 摘要

本次公差主要是赴葡萄牙里斯本市參加 2016 年歐洲蛋白質與抗體工程研討會(2016 Protein and Antibody Engineering Summit, 2016PEGS Europe)發表學術論文，會議日期為 10 月 31 日至 11 月 4 日，張貼及解說本所發表之壁報論文，並參加有關專題研討會，作為提昇核能研究所（以下簡稱本所）相關計畫研發方向之參考。本次出國公差自 105 年 10 月 29 日至 11 月 6 日，共計 9 天。

2016 PEGS Europe為第八屆蛋白質相關研討會，每年皆有來自全球之研究人員參加，分享其最新研發成果，參加會議人數逐年增加，今年共有800位來自全球超過30個國家的研究人員或業者參與。本項研討會共分成基礎訓練課程及四個專題研討會，配合本所診療用核醫藥物之研發需求，參加「Therapeutics」專題議程，會議重點包括最新的免疫療法策略，雙抗體標靶治療，及新穎癌症治療方法。本所也在研討會中發表海報論文一篇「The new therapeutic radiopharmaceutical  $^{188}\text{Re-MN-16ET/Lipiodol}$  for hepatoma treatment」，介紹本所自行發展之肝癌治療用新藥之研發成果，頗獲好評。

彩月奉派出席 2016 PEGS Europe，學習蛋白質與癌症免疫治療之最新發展，拓展知識領域，對未來研究方向之擬定助益頗多，並與相關人員有良好交流，建立未來之合作契機。

# 目 次

(頁碼)

摘 要	i
一、目 的	1
二、過 程	4
三、心 得	3
四、建 議 事 項	21
五、附 錄	23

## 一、目的

本次公差主要是赴葡萄牙里斯本市參加 2016 年歐洲蛋白質與抗體工程研討會 (2016 PEGS Europe)發表學術論文，會議日期為 10 月 31 日至 11 月 4 日，張貼及解說本所發表之壁報論文，並參加治療(Therapeutics)專題研討會，作為提昇核能研究所(以下簡稱本所)相關計畫研發方向之參考。本次出國公差自 105 年 10 月 29 日至 11 月 6 日，共計 9 天。

2016 PEGS Europe也是第八屆蛋白質與抗體工程研討會，每年皆有來自全球之研究人員參加，分享其最新研發成果，參加會議人數逐年增加，根據報名資料顯示今年共有800位來自全球超過30個國家的研究人員或業者參與。

本項研討會共分成基礎訓練課程及四個專題研討會議程(Engineering, Therapeutics, Analytics, Expression)，無論是基礎或專題研討會皆需個別報名與註冊。配合本所診療用核醫藥物之研發需求，參加「Therapeutics」議程，討論主題包括最新的免疫療法策略，雙抗體標靶治療，及新穎癌症治療方法。本所也在本研討會發表海報論文一篇「The new therapeutic radiopharmaceutical  $^{188}\text{Re-MN-16ET/Lipiodol}$  for hepatoma treatment」，介紹本所自行發展之肝癌治療用新藥之研發成果，頗獲好評。

同位素組多年前即從事放射免疫療法之應用研究，近年來更參與經濟部政策額度計畫之抗體附合物蛋白計畫，未來也可能會推動蛋白質專業實驗室。職奉派出席 2016 PEGS Europe 研討會，學習最新蛋白質與免疫治療之發展，也觀察到實驗室之間跨領域合作的重要性，期待本所除了提昇自身之專業能力外，更能與國內外專業實驗室建立之合作機會，迎頭趕上國際研發步伐，開創屬於我國之新藥。

## 二、過 程

職奉派參加在葡萄牙里斯本市舉行之 2016 年歐洲蛋白質與抗體工程研討會(2016 PEGS Europe)，發表學術論文一篇。本次國外出差之出國日期為 10 月 29 日至 11 月 6 日，簡要行程如下表所示:

月	日	星期	地點	工作紀要
10	29-30	五-六	桃園至 葡萄牙里斯本市	去 程
10	31	一	葡萄牙里斯本市	2016 年第八屆歐洲蛋白質與 抗體工程峰會 (2016 PEGS
11	4	五	葡萄牙里斯本市	Europe)，代表本所張貼及解說 壁報論文。
11	5-6	六-日	桃園	旅途：羅馬至桃園

同位素組研發同仁在 2016 PEGS Europe 發表論文一篇「The new therapeutic radiopharmaceutical  $^{188}\text{Re-MN-16ET/Lipiodol}$  for hepatoma treatment」，本論文為特別度計畫「銻-188M N -16ET 利比多肝癌治療新藥之開發與應用研究」之研究成果，介紹本所以本所自行開發肝癌治療用新藥銻-188M N -16ET 利比多之現階段研發成果。

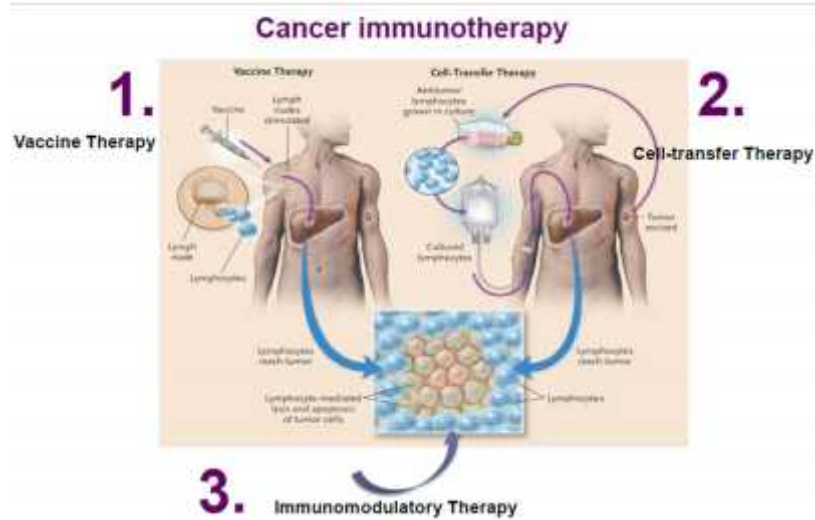
### 三、心得

癌症是國人十大死因之首，也是全球高發生率與死亡率的主要原因之一，依據 MarketsandMarkets 2016之報告顯示全球癌症藥物市場約達990億美元，2020年將達到1533億美元。雖然新藥與新技術不斷被研發，但對於癌症之治療仍有其限制，傳統的癌症治療方法包括開刀、化療、電療(放射治療)及標靶藥物等，但這些療法面臨諸多挑戰，包括手術部位之限制、化療之副作用、電療對於周圍正常組織之影響及標靶藥物易生抗藥性等問題，癌症之治療仍屬於unmet need。

人體的免疫系統是身體的防禦系統，它可以檢測小到病毒大到寄生蟲等各類病原體和有害物質，在正常情況下能夠區分外來物質與生物體自身的健康細胞，有時它也可以用來對付癌症細胞。癌症免疫療法指的是利用人體的免疫系統對抗癌症的治療方法，它有別於傳統化療、放療以及蛋白激酶抑制劑小分子標靶藥物，免疫療法是將人體既有的免疫反應喚起，以最自然的方式對抗癌症。過去幾十年來，免疫治療已成為某些癌症治療之重要工具。

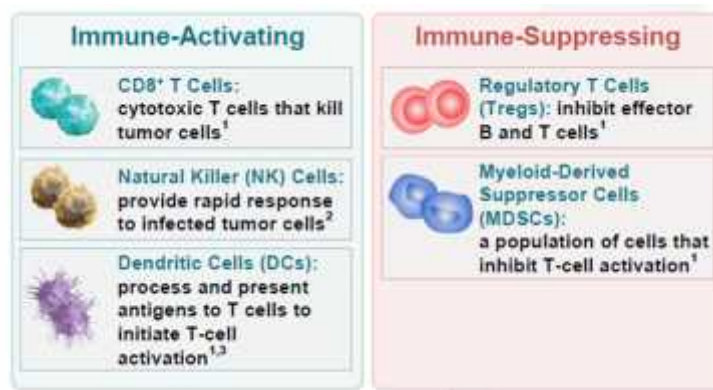
癌症免疫治療主要是利用身體的免疫機制去對付疾病，它的治療機制可分成幾大類，包括單株抗體、癌症疫苗及細胞輸入療法及非專一性免疫調整治療等等(圖一)。單株抗體是一種廣泛被使用的免疫療法，主要透過與腫瘤過度表達或專一性受體或抗原進行結合，進而抑制癌細胞分裂，導致癌細胞死亡。癌症疫苗則可以是癌細胞或者部份細胞或者抗原，經由適當處理後形成疫苗，可以促使身體的免疫系統對付癌細胞，但常需要佐劑以刺激更強的免疫反應產生。有關於細胞輸入療法，自1970年代即有T細胞輸入療法以治療癌症的觀念，隨著細胞激素IL-2的發現，T細胞體外培養技術得以拓展，並推動至臨床治療。

隨著生物技術之發展，腫瘤組織附近有T細胞分佈，而這些T細胞帶有CD4及CD8的生物標誌，可以專一性辨識腫瘤抗原而俱有抗腫瘤作用。近期的研究也發現腫瘤附近之T細胞功能低，如何促使其功能提昇，例如讓該類T細胞俱有腫瘤受體辨識能力且大量繁殖等，這些觀念也衍生出近期十分受到重視的CAR-T技術的發展。



圖一、cancer immunotherapy

我們的免疫系統除了之免疫細胞可以分成兩大類(圖二),分別是可以活化免疫系統及抑制免疫系統者,具有活化功能者有CD8+ T cell, Natural Killer cell, Dendritic cells。免疫抑制者(immunosuppressing)有Regulatory T cells (Tregs)及Myeloid-derived suppressor cells(MDSCs)。

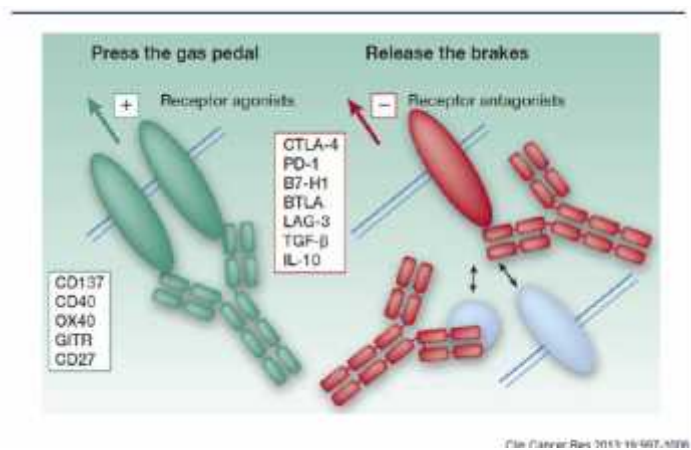


圖二、免疫系統之免疫細胞功能分類

癌症免疫治療除了 CAR-T 技術外,癌症免疫檢查點(Immuno-check point)是另一項十分重要之治療技術。免疫檢查點指的是可以決定是否啟動 T 細胞免疫反應的訊號控制點, T 細胞上之免疫檢查點可分成刺激性受體(Activating receptors)與抑制性受體(Inhibitory receptors)兩大類,屬於刺激性受體者包括 CD27, OX40, CD137, CD40, GITR 等等,活化這些受體可以刺激 T 細胞活性增加,如果加了油門般。抑制性受體則有 CTLA-4, PD-1, TIM-3, LAG-3, TGF- $\beta$ , IL-10 等等,刺激這些受體會使 T 細胞功能受抑制,如同踩了煞車般,防止用來防止 T-cell 活化。



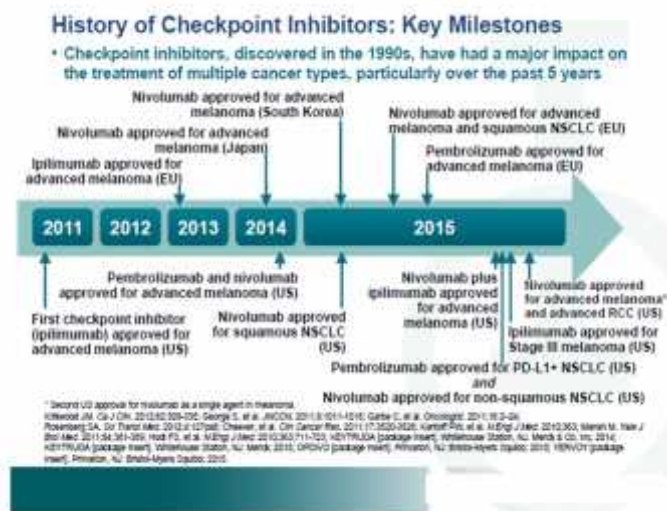
癌細胞能夠促使免疫細胞啟動「抑制免疫反應」訊息，例如經由 CTLA-4 受體或 PD-1 受體活化，而抑制免疫細胞之活性。當 CTLA-4 和 PD-1 分別與各自的配體(ligand) 結合時，抑制 T 細胞免疫反應的訊息傳導會被啟動，於是 T 細胞的功能與活動力會因此降低。



圖三 Immune checkpoints: co-inhibition and co-stimulation

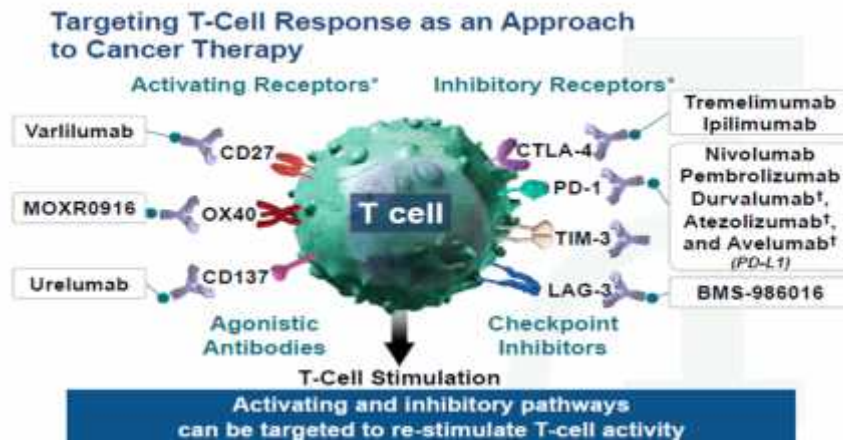
2011年BMS公司的第一個免疫檢查點抑制劑 Anti-CTLA-4單株抗體(Ipilimumab, 商品名Yervoy)上市，這一類藥物之應用開始受到大家的注意。國際知名之期刊Nature及 Science分別在2013年及2014年刊載癌症免疫治療之相關研究結果。2014年，BMS公司再推出第二個免疫檢查點藥物(商品名為Opdivo)它是針對PD-1受體之anti-PD-1單株抗體。2015年美國前總統卡特先生被診斷罹患黑色素瘤且已轉移，他使用Merck公司之免疫檢查點藥物Keytruda (針對Anti-PD1 antibody)獲得治癒後，這類產品之臨床潛力更受注意，獲得藥品許可證之品項愈

來愈多，2016年針對PD-L1的 Atezolizumab也取得FDA之上市許可。圖四為checkpoint inhibitors發展之重要里程碑，圖五所示為針對T細胞之刺激與抑制受體及其作用藥物。免疫檢查點藥物之市場佔有率也年年增加，從2014年的7400萬美金快速上升至2015年的



圖四、History of checkpoint inhibitors

15.8億美元，預估2020年將可達190億美金，顯示免疫治療將在癌症治療上扮演重要的角色。



圖五、T細胞之刺激性與抑制性受體及其作用藥物

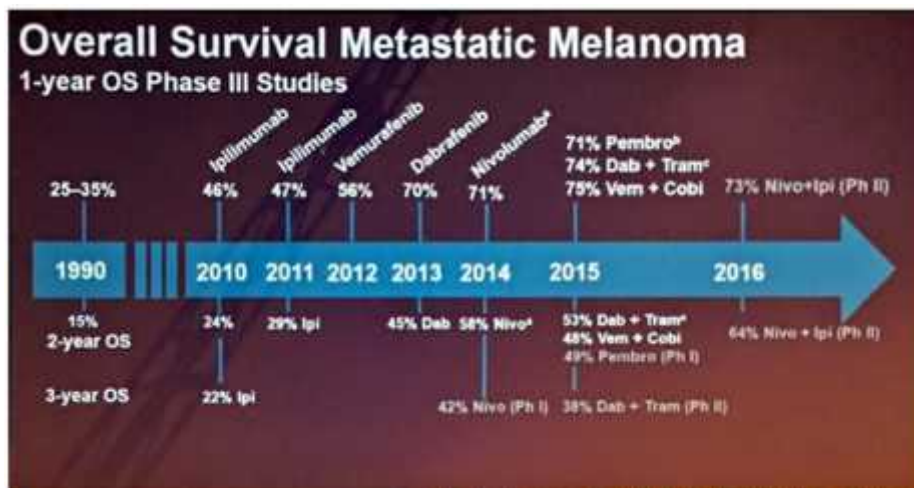
本次研討會除了單株抗體療法之應用外，聚焦於癌症免疫療法免疫檢查點抑制劑與刺激劑之發展及T細胞治療法及癌症免疫療法等領域，以下將分別介紹重點內容：

### (一) 免疫檢查點(checkpoint)抑制劑/刺激劑

癌細胞能夠促使免疫細胞啟動「抑制免疫反應」訊息，例如經由CTLA-4受體或PD-1受體活化，而抑制免疫細胞之活性。當CTLA-4和PD-1分別與各自的配體(ligand)結合時，抑制T細胞免疫反應的訊息傳導會被啟動，於是T細胞的功能與活動力會因此降低。免疫檢查點療法便是透過阻斷這些「抑制免疫反應」的訊息傳導，使免疫細胞即使在腫瘤內部也能夠被活化，以消滅腫瘤細胞。例如很多腫瘤細胞會表現其配體PD-L1，當PD-L1和PD-1結合後，表現PD-1的T細胞會因此死亡。目前，免疫檢查點療法在特定的癌症與部分病人上有顯著的療效，約有半數的腎臟癌、肺癌，和黑色素細胞癌之病例，證實使用該方法能夠延長病患的生命。

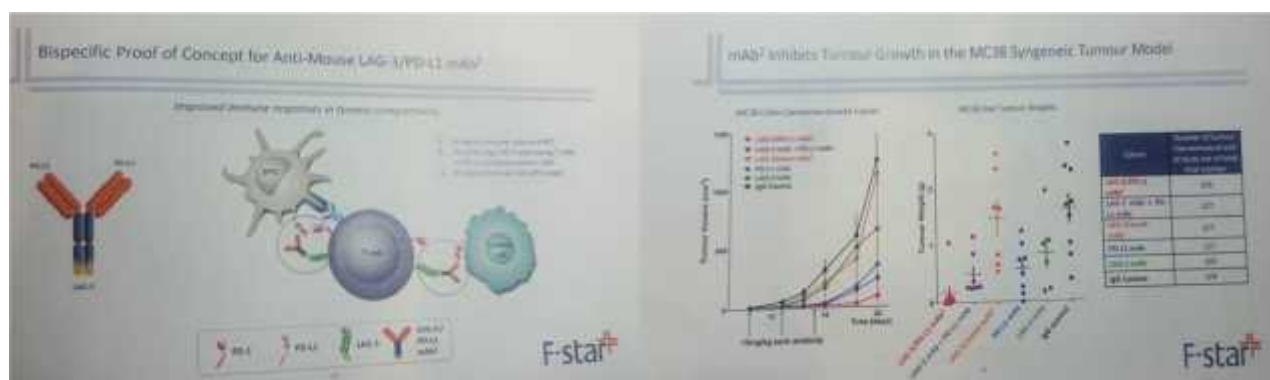
來自義大利國家癌症研究中心Dr. E. Simenone指出，Immune checkpoint blockade 針對轉移性黑色素瘤(Metastatic Melanoma)第三期臨床試驗之病患整體存活(Overall survival, OS)情形，可以看到第一年有百分四十以上存活，相較於1990年之傳統治療之一年存活率為25-35%，顯見其療效(圖六)。目前阻斷PD-1或CTLA-4功能的抗體已由美國FDA核准為治療癌症的試驗用新藥。在臨床治療上，許多使用後的病患也能穩

定控制病情。



圖六、overall survival metastatic melanoma

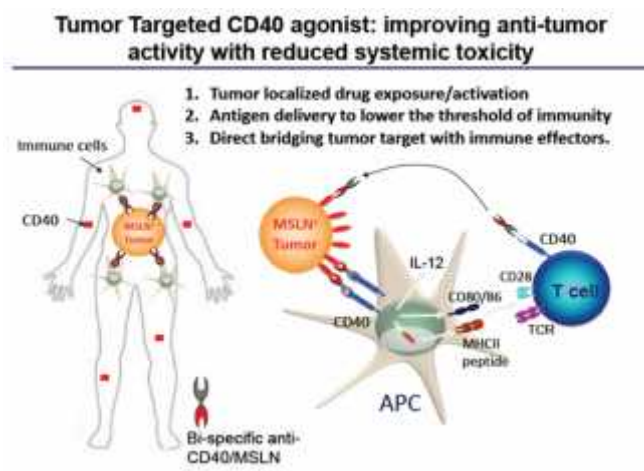
免疫合併治療是一個趨勢，F-Star公司副總經理Dr. Jacqueline Doody介紹以惡性黑色瘤之病患進行臨床試驗，945位病患給予nivolumab (Anti-PD-1) ipilimumab (anti-CTLA-4)或者合併治療，臨床試驗結果顯示合併治療之整體反應率(Overall response rate)較單方有份有效，反應時間也明顯延長(response duration)，雖然副作用發生比率較單方高，但沒有新的毒性產生。F-star公司開發Modular antibody technology可以產生multiple bispecifics。先研製murine Fcab餵插入mAbs，再經由篩選找出最有效果之biospecifics，相似之技術，換成human Fcab即可得到human mAb’，可進行臨床試驗。目前該公司已發展anti-murine LAG-3/PD-L1 mAb2，經測試對於LAG-3與PD-L1之結合皆在nanomolar affinity，本項雙抗體可以活化T細胞，對於syngeneix mouse models可以抑制其腫瘤之成長，顯示其臨床應用潛力。(圖七)



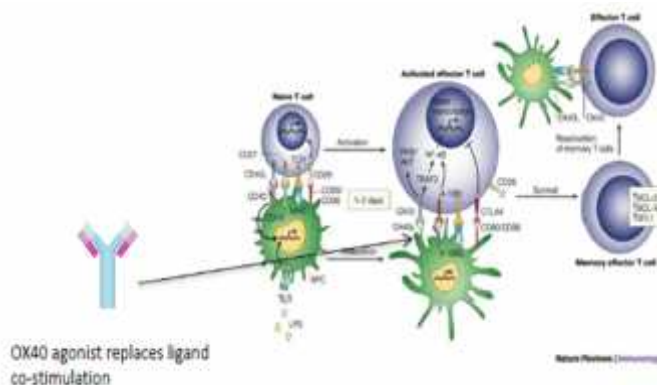
圖七、F-star公司提出之雙抗體設計與動物實驗結果

上海恆瑞醫藥有限公司高博士(Gau Jinming)也在本次研討會中介紹該公司之癌症免疫療法新一代生物雙功能抗體(biospecific antibodies)的設計與發展，該公司已有一個新Anti-PD1抗體(SHR1210)正在進行臨床試驗中。未來癌症免疫治療之目標不僅延長中位存活期，且有效提昇病患之存活百分比。他們設計Anti-CD40/MSLN抗體，直接做腫瘤與T細胞之間的橋樑，且可降低免疫反應之threshold(即提昇其免疫反應)。(圖八)

另外，上海恆瑞醫藥有限公司也對低免疫性的腫瘤提出雙抗體之設計，其設計之想法是低免疫性的腫瘤可能需要一些訊號去引起免疫反應且維持其免疫反應，OX40可以在腫瘤周圍的T細胞表達，特別是黑色素瘤、乳癌、頭頸部腫瘤及前列腺癌及侵襲性膀胱癌等。OX40的生理作用包括(1)刺激細胞色素分泌(2)T細胞增生(3)抗體產生(4)產生記憶性細胞，假設OX40親和劑(agonist)可以活化腫瘤附近之T細胞但不會引起全身性T細胞活化。Anti-OX40-PD-1之設計乃應運而生，經腫瘤式測試，Anti-OX40-PD-1之雙抗體腫瘤治療效果比起兩個抗體之組合治療相當或更有效。(圖九)



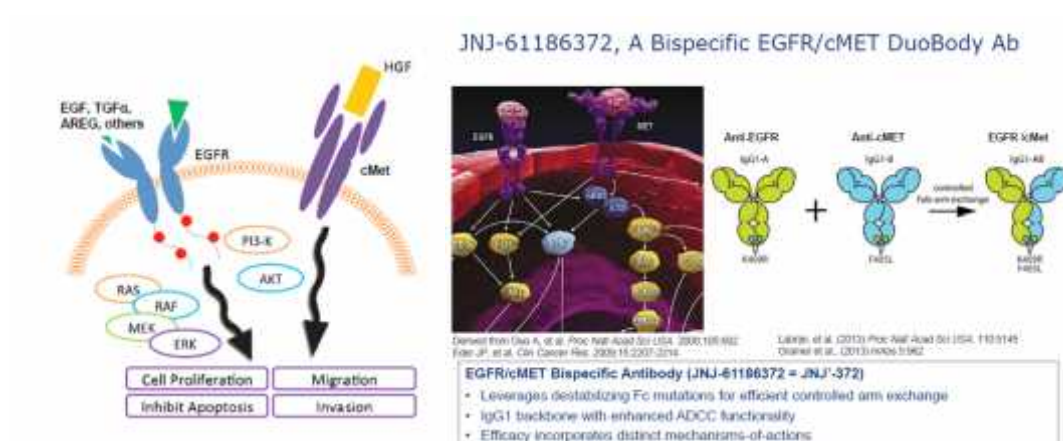
圖八、Bispecific anti-CD40/MSLN antibody



圖九、anti-OX40-PD-1 bispecific antibody之作用機制



Janssen & Genmab公司也在發展bispecific antibody，針對EGFR及 cMET提出雙抗體之設計，主要的理論依據是EGFR訊號通常是人類腫瘤之起動者(driver)，EGFR及 cMET在腫瘤細胞內常共同引起訊號傳遞而引起細胞增生及侵入及轉移及抑制細胞凋亡等作用。經動物實驗證實，JNJ-61186372(Bispecific EGRF/cMET DuoBody Ab)可以有如下之作用: (1)ADCC: Antibody-directed cellular toxicity, (2) inhibition of ligand-driven EGFR/cMET signaling, (3)receptor degradation。該公司已在進行第一階段臨床試驗。(圖十)



圖十、Bispecific EGRF/cMET DuoBody Ab之作用機轉

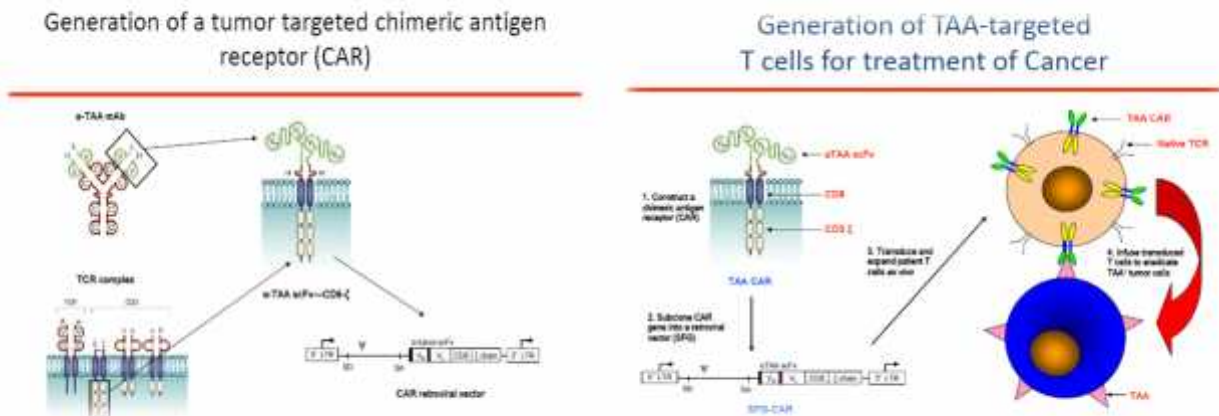
## (二) T cell therapy

T細胞治療法，它主要是將病患的T-cell取出，於體外經過基因改造，產生可專一辨識腫瘤相關抗原，再經大量培養後，重新注入病患體內，以增強其免疫力。屬於這類療法包括有Chimeric antigen receptor (簡稱為CAR) T, Tumor cell receptor(簡稱為TCR)-modified T cells, Tumor infiltrated lymphocytes, Natural Killer cell等等。

### ◎ CAR T cell immunotherapy免疫細胞療法

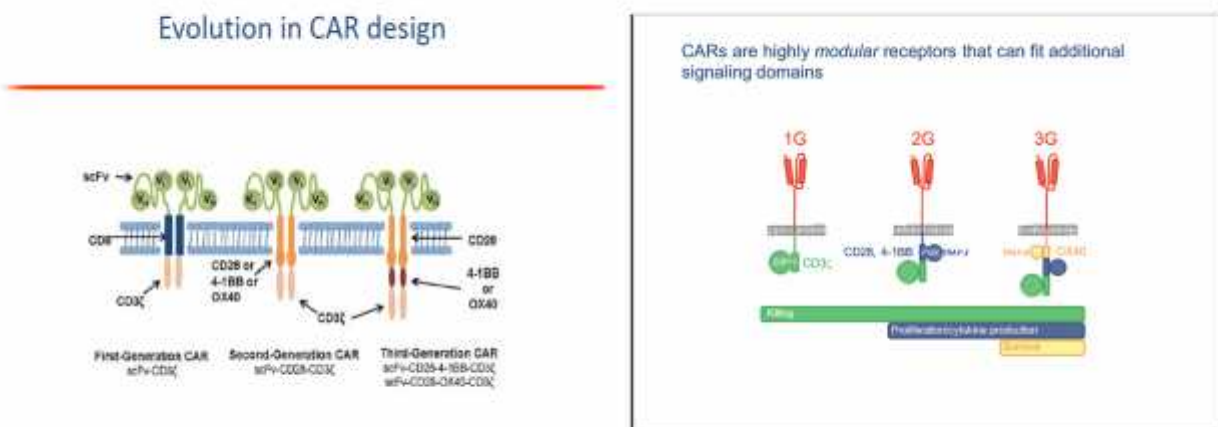
CAR T技術，主要由病患血液中分出T細胞，再經由基因重整工程合成CAR T cells，再在體外放大培養後，回輸到人體內，達成T cell 活化及殺死腫瘤細胞之目的。美國 Memorial Sloan Kettering Cancer center Dr. Renier Brentjen介紹如何產生 tumor targeted chimeric antigen receptor(CAR)，主要是選取TAA mAb的scFv，結合TCR complex的CD8

ζ，將這二段系列送入 retroviral vector 內表達，形成 TAA scFv-CD8ζ。再植入 T cell 內，形成 CAR T cell，它會與 tumor 之 TAA 結合，以除去 TAA<sup>+</sup> tumor cell。(圖十一)



圖十一、CAR T 技術之簡要作用說明

隨著 CAR 技術之精進，CAR 設計分成三代(圖十二)，加入共同刺激訊號分子 (costimulatory factor) 以提昇其作用，也可以分成第一代沒有 costimulatory factor，第二代放入一個共同刺激訊號(例如 CD28, 4-1BB, OX40)，活化 T 細胞，增強腫瘤毒殺作用。第三代 CAR 則是放入兩個 costimulatory factor(例如 CD28 + 4-1BB, CD28 + OX40)。Memorial Sloan Kettering Cancer center 及美國癌症研究中心及賓州大學附設醫院應用 CAR T 來治療 B cell acute lymphoblast leukemia(B-ALL) 或 relapsed B-ALL，近 70% 受試者腫瘤完全消除(complete remission) (14/20)，其它家醫院執行 CAR T 治療，效果近似。

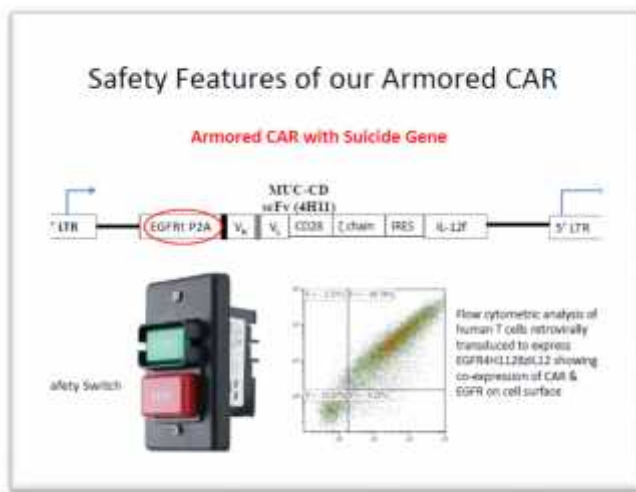


圖十二、CAR T 自第一代至第三代之設計特點

CAR T cell之治療有其副作用，對於CAR T的發展也有潛在的負面影響，比較重要的副作用為：

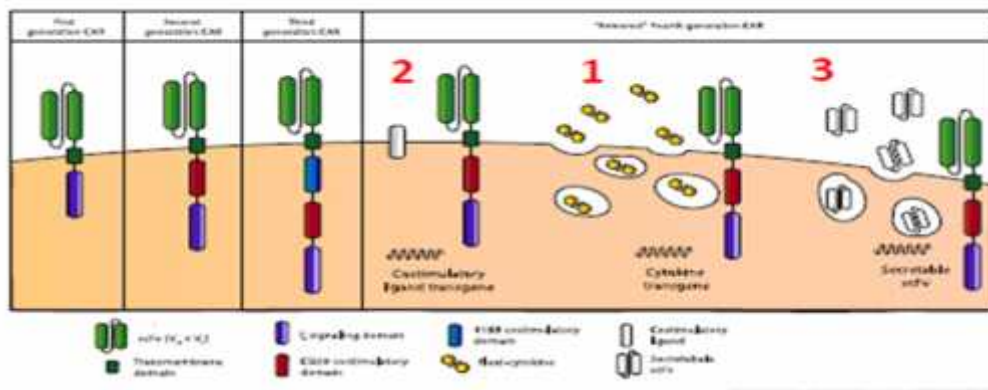
- (1) Cytokine release syndrome(又稱為cytokine storm): fever, hypotension, respiratory insufficiency。
- (2) Neurological changes: delirium, global encephalopathy, Aphasia, Seizure-like activities/seizure.

近期，JUNO 等人開發有自殺開關的CART cell以克服cytokine storm之副作用。(圖十三)



圖十三、safety features of armored CAR

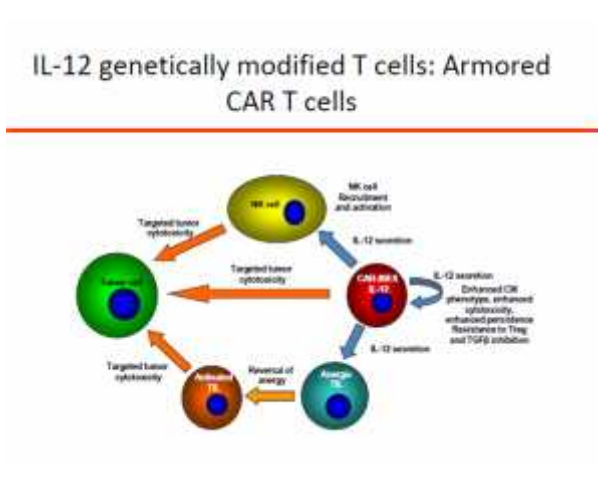
由於腫瘤周圍之微環境(microenvironment)包含許多抑制免疫之因子(例如Tregs, MDSCs PD-L1, TGF-β 及IL-10等)，可能會抑制effector T cell之作用，也相對限制CAR T細胞之效果，因此，重新將CAR 進行設計，形成armored CAR T cells，提昇其治療能力。(圖十四)



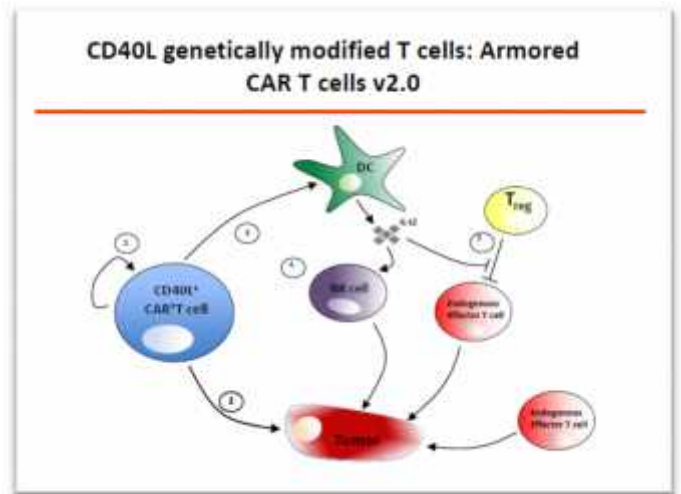
圖十四、armored CAR T

雖然CAR T cell對於B cell malignancy有其療效，但對於固態腫瘤 則效果有限。因此，Armored CAR T cells應運而生，期待能克服腫瘤之微環境之不利因素，使提昇療效，且增加其持久性。第一代為細胞修飾變成俱有分泌IL-12，IL-12可以抑制 Treg 引起之 抑制T cell 作用，也能吸引及活化Natural Killer cell。(圖十五)

第二代為constitutively expressing CD40L CAR T cells，CD40L為第二型穿膜蛋白，受活化之T 細胞可以表現，也可以分解出CD40L，單獨產生作用。第三代為 scFv secreting CAR T cells，俱有PD-1 antagonistic effects。這些Armored CAR T cells經由動物實驗實其療效，未來臨床之應用除了血液腫瘤外=力也將推展至實質腫瘤之治療應用。



圖十五、IL-12 genetically modified T cells

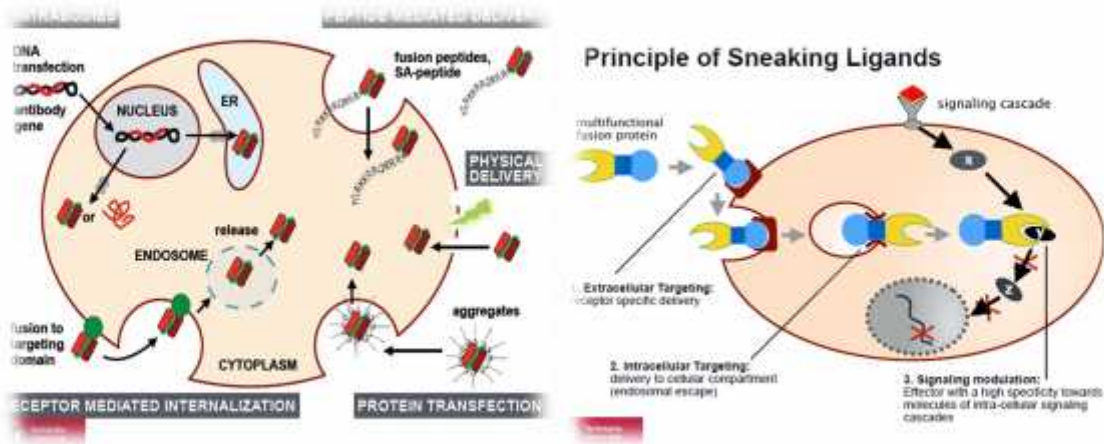


圖十六、CD40L genetically modified T cells

德國Technische Universtat Braunschweig的Dr. Stefan Dubel提出免疫治療除了由細胞外，可否由細胞內找到標位置？細胞外物質進到細胞內之路徑包括(1)fusion protein(2) protein transfection (3)physical delivery(4)fusion to targeting domain。他們在實驗室內針對蛋白質的運送入細胞而設計CRE reported system，此段CRE可以結合不同的分子，將此一觀念做延伸，設計了sneaking ligands，透過extracellular targeting 進到細胞內，再經由intracellular targeting 將載體送至胞器內，對於細胞內之某特定訊號傳遞路徑進行調節。未來，可以做成bispecific antibodies targeting disease

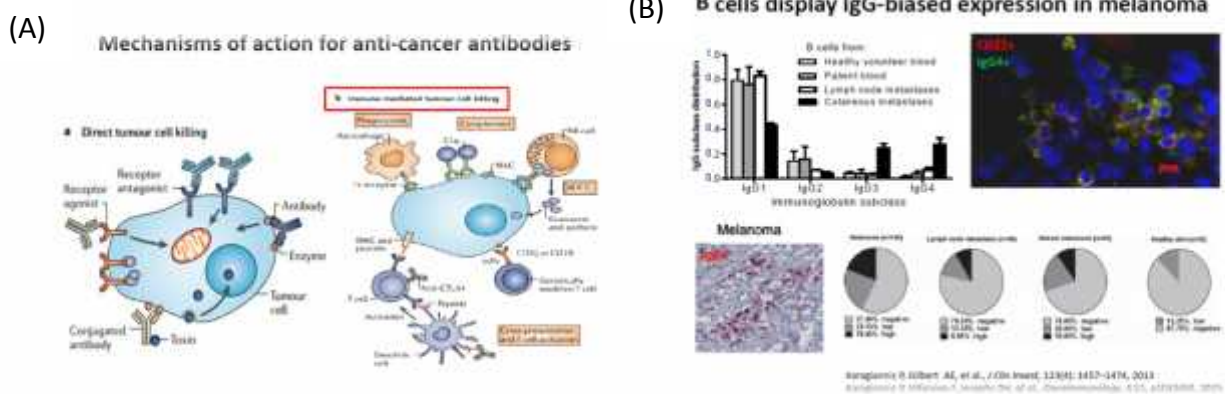


specific marker on the outside and the inside。另外，它也可以結合gene therapy vector送入disease specific intra-bodies。(圖十七)



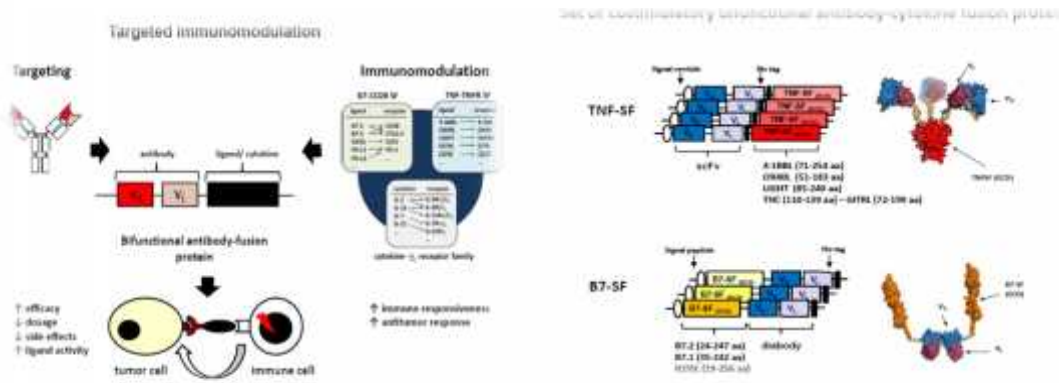
圖十七、Principle of sneaking ligands

英國倫敦大學Dr. Sophia N. Karagra指出實質腫瘤之平均治療成功率約僅有11%，充滿挑戰與機會，治療癌症之單株抗體其作用方式可以是直接殺死癌細胞，或者透過免疫相關之作用(例如胞吞作用、補體、活化殺手細胞等等)而達成殺死腫瘤之目的。不同的disease stage的 IgG表達量會改變，B cell 產生九種免疫球蛋白，各有其功能，其中IgG4被證實會阻斷IgG1對腫瘤之細胞毒殺作用，因此，如果IgG4表達量增多，表示預後不好。IgE則被證實可釋出發炎作用之細胞色素(cytokine)，與effector cells against tumor作用。(圖十八)



圖十八、(A)Mechanisms of action for anticancer antibodies (B) B cells display IgG-biased expression in melanoma

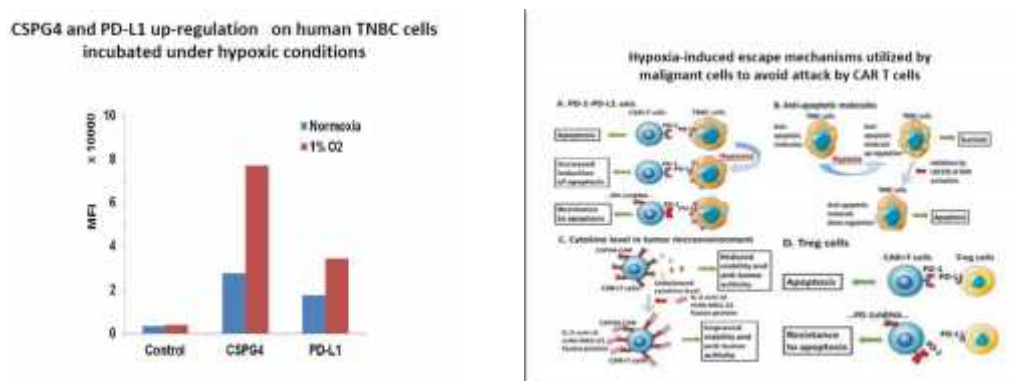
德國司徒加特大學 Dr. Dafne Muller 提出 Bi- and tri-functional antibody- cytokine fusion protein for cancer treatment。設計雙功能抗體結合 costimulatory member of INF superfamily(SF)及 B7superfamily，B7-SF 及 INF- SF 都俱有 T cell activation 及抗癌之潛力。合併治療後，療效增加。三功能抗體(trifunctional antibody)則使 antibody 結合二個 costimulatory member，以增加抗癌能力。(圖二十)



圖二十、Bi- and tri-functional antibody- cytokine fusion protein for cancer treatment

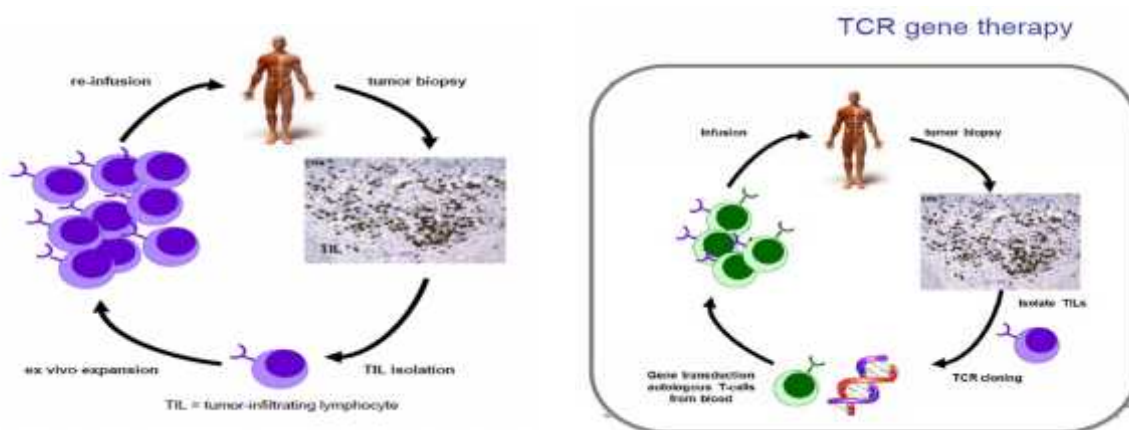
實質腫瘤使用 CAR T cell-based immunotherapy 治療後，Dr. Soldano Ferrone 發現腫瘤組織缺氧(hypoxia)後會引發腫瘤細胞脫逃機制。缺氧會活化 hypoxia-inducible factor-1  $\alpha$  (HIF-1  $\alpha$ )而導致 component of the Sonic Hedgehog Homologue(SHH)活化，而 SHH pathway 會產生不同類型的分子，包括對抗細胞凋亡分子(anti-apoptotic molecules)，也會使 PD-L1 及 CSPGF4 表達增加，不利於癌症之治療。

實質性腫應用 CAR T 細胞免疫治療時，腫瘤缺氧而引起免脫逃之問題，可以由抑制 PD-L1 或 CSPGF4 等策略而獲得改善。



## ◎ adoptive T-cell therapy (T 細胞輸入療法)

德國癌症研究中心 Professor Rienk Offringa 在本次研討會中介紹 adoptive T-cell therapy 對於 melanoma 及其它癌症之治療評估。adoptive T-cell therapy 的做法是從



腫瘤組織取樣後，分離出 TIL(tumor-infiltrating lymphocyte)，再在體外大量培養 TIL，注入人體內，但由於 T cell 無法區分 melanoma 或者 melanocyte。因此，提升 T 細胞治療技術成為 TCR gene therapy，以提高其選擇性，例如 TIL 以基因工程方式植入 carcinoembryonic antigen，使 T cell 可以選擇性地針對大腸癌。經初期 TCR gene therapy 人體試驗，三位受試者，其中一位的腫瘤消失，但三位都出現暫時性嚴重 on-site toxicity 大腸發炎症狀。另一組試驗，九位受試者投予 anti-MAGE-A3 TCR therapy，二位病患出現精神障礙，一位昏迷甚而死亡，顯示 T 細胞治療技術仍待找出特殊的 neo-antigen。

TCR therapy 可否用於胰臟癌之治療？由臨床數據顯示胰臟癌 90%是屬於胰臟導管型癌，其中 75%是無法開刀者，平均存活期僅六至九個月。經分析，胰臟是屬於低免疫區，為找到 TIL，經仔細蒐尋，仍有 tertiary lymphoid structure(TLS)。經利用 Ex vivo expansion of tumor-infiltrating lymphocytes，經分析 TLS 區域之 T cell epitope 的 PDA mutasome 及 transcriptome，蒐尋找到 only patient specific mutasome neo-epitopes。經由此一經驗，配合篩選技術，可以將癌症病人的 T 細胞在體外(ex vivo) 進行篩選分離出特異性高、生命力強的 T 細胞，然後再擴增這些有效的 T 細胞的數量

(幾千萬個以上)，回輸到病患體內，消滅癌細胞，建立真正個人醫療之 **mutanome-targeted T-cell therapy**。

**T-cell therapy** 目前仍有一些挑戰，腫瘤微環境內有些不利於免疫反應之機制，例如調節 T 細胞 (**regulatory T cell, Treg**) 和骨髓抑制細胞(**myeloid suppressor cell**) 會直接削弱 T 細胞，癌細胞分泌抑制激素 (**IL-10, TGF- $\alpha$** ) 來削減 T 細胞的攻擊能力，這些都是腫瘤脫逃 (**tumor escape**) 的機制之一，也是造成癌症容易復發或治療失敗的原因。另外，這些 T 細胞輸注入人體，以往 T 細胞在體內存活時間不到 7 天，但是科技之改善已有能力可以製造記憶 T 細胞(**memory T cell**)，讓免疫系統永遠記住癌細胞抗原。其它如注射免疫調節劑以及縮短 T 細胞在實驗室培養分裂的時間等改善措施，也都可以延長了 T 細胞在體內獵殺癌細胞的時間。最新的研究資料也顯示 T 細胞輸入療法配合傳統的化學治療、手術治療或者放射治療，能讓癌症治療反應率大大地提升。

### (三)癌症疫苗

癌症免疫學之發展，對於癌症之治療可分成主動式與被動式，主動的免疫治包括癌症疫苗或細胞激素，被動的免疫則包括抗體及 T 細胞療法等，刺激人體之免疫能力而達到癌症治療之目的。癌症疫苗是將 **tumor associated antigen** 結構做為處方主要成份，並會添加佐劑以增強免疫反應，可以促使免系統對抗體內之癌細胞，屬於這類的疫苗包括有腫瘤胜肽疫苗、**viral vector and DNA vaccine**、自體或異體疫苗(**whole cell cancer vaccine**)、抗原疫苗(**antigen/adjuvant vaccine**)及樹狀突疫苗(**Dendritic cell dendritic cell vaccine**)等。癌症疫苗依其用途又可分成預防及治療目的兩大類，**HPV** 屬於預防性質，治療性疫苗則有 2014 年剛在台灣上市之前類腺癌疫苗(商品名 **Provenge**)。

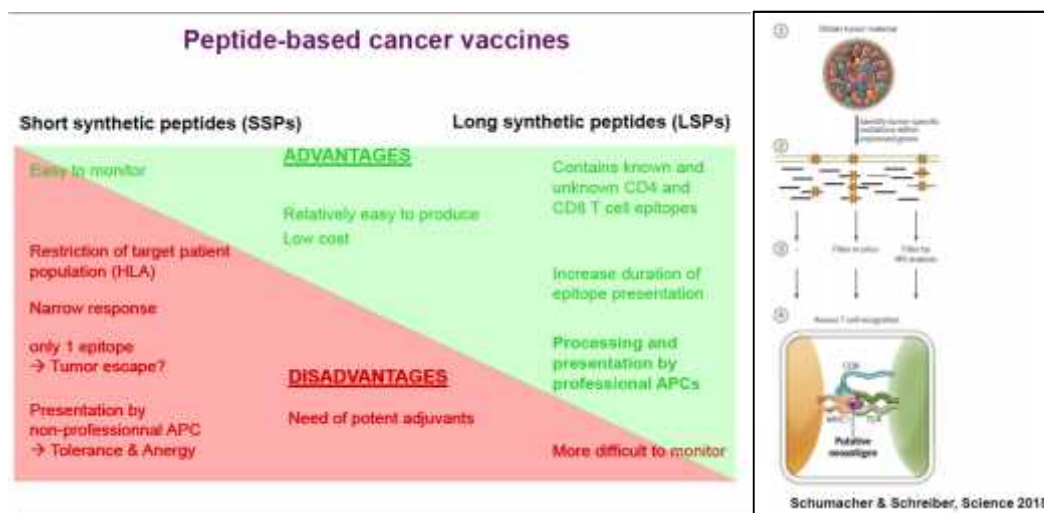
以 **tumor associated antigen(TAA)** 做分類，可分成五個領域: (1) **cancer- testis antigen**: 只存在於成人生殖系統及癌細胞，例如 **NY-ESO-1, MAGE**; (2) **Differentiation antigens**: 只表達在單一癌細胞類型，例如 **Prostate specific antigen (PSA)**; (3) **Over-expressed antigens**: 正常與腫瘤組織皆有分佈，但腫瘤較多，例如 **EPCAM**,



Survivin : (4)Oncoviral antigen: encoded by tumorigenic transforming viruses, ex

HPV ; (5)Mutated antigens: 基因突變而出現於腫瘤細胞者。

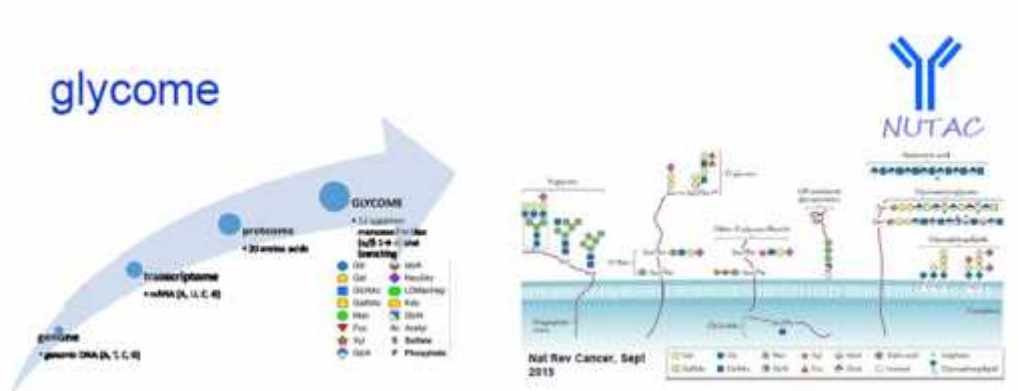
疫苗之成份可分為蛋白質、醣蛋白(glycoprotein)或醣胜肽化合物(glycopeptides)、醣脂化合物(ganglioside),除此之外,瑞士 University of Lausanne 的 Dr. Pedro Romeo 指出 peptide –based cancer vaccine (long synthetic peptide , short synthetic peptide) , 它的好處是便宜易製造,可增加表現量時間等等,缺點是需加入比較強的佐劑才能引起足夠的免疫反應,只有一個反應位置,比較窄之反應率,請參見下圖。



如何將這些疫苗送至病灶處? 可以藉由 nanoparticle 或 dendritic cell 或者 oncolytic viruses 達成傳輸之目的。

#### (四)其它

英國諾丁罕大學 Nottingham University Therapeutic Antibody Center(NUTAC)發展治療用單株抗體與腫瘤相關之醣質(glycan),該中心之負責人 Professor Lindy Durrant 出席本次會議舉行題演講,她指出癌細胞醣基學是一個相關複雜且待開發之領域。由於 glycan targets 的多變性,每一個單株抗體可以應用於不同領域,而且因為糖化反應(glycosylation)控制許多生理現象,深入研究醣領域之研究,將可創造許多新的醣化單株抗體。



下表所示為 NUTAC 發展的一系列 anti-glycan mAbs，以 FG129 為例，它可認得 sialyl dilewis a (glycan on glycoprotein)，這個單株抗體可結合胰臟癌、大腸癌及胃癌等，僅有很少量分佈於正常組織，也可以很有效地胞吞進入細胞內。它可應用於 ADC(antibody drug complex), CAR T, redirected-T 等領域。

## NUTAC - anti-glycan mAbs



mAbs	FG129	FG88	FG27	FG2811	FL134
glycan	sialyl dilewis a	dilewis a/-c/-x	lewis y	CDA (CSC)	CDA
antigen	GP	GL + GP	GL + GP	GL	GL
tumour distrib.	pancreatic, CRC, gastric	CRC, gastric, pancreatic, O, B, L	CRC, gastric, pancreatic, O, B	pancreatic, O, B	SCLC
normal tissue	very weak oesophagus	GI tract	weak on stomach and pancreas	weak on pancreas	ND
ADCC	$10^{-9}$ M	$10^{-9}$ M	$10^{-8}$ M	$10^{-9}$ M	$10^{-9}$ M
CDC	$10^{-8}$ M	$10^{-9}$ M	$10^{-7}$ M	$10^{-9}$ M	$10^{-7}$ M
directly kills	$>10^{-7}$ M	$10^{-9}$ M	$10^{-8}$ M	$10^{-8}$ M	-
internalises	$10^{-11}$ M	$10^{-11}$ M	$10^{-9}$ M	$10^{-9}$ M	+/-
human mAb/format	chimeric/scFv	chimeric/scFv	chimeric/humanised	chimeric	chimeric
potential applications	ADC, CAR-T, redirected-T	ICD, ADC, CAR-T, redirected -T	ICD, ADC, CAR-T, redirected -T	ICD, ADC, CAR-T, redirected-T	ICD, CAR-T, redirected-T

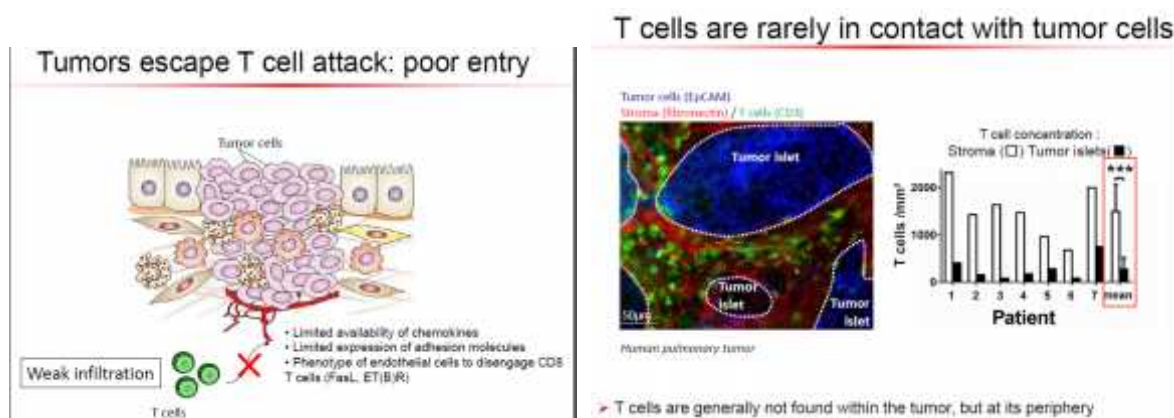


Molecular Partners 公司在本次會議中報告他們公司的產品 DARPin<sup>®</sup>應用於腫瘤及眼科。他們的理念是現有癌症治療常需要結合多種藥物或方法以增加療效，毒性也限制腫瘤治療應用，腫瘤抗藥性也是癌症治療之困擾，對這些問題，他們發展了 Multi-DARPin protein 技術，它可以參與許多反應機制及免疫反應，且可局部作用，預期可以辭較佳

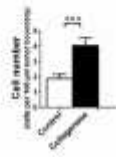
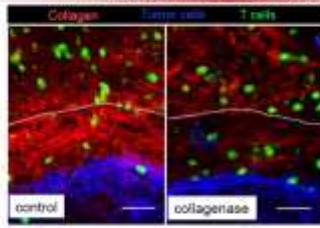
療效與較少副作用之發生。mono-DARPin<sup>®</sup> protein 是一個理想的 drug building block，Multi-DARPin<sup>®</sup> protein 則是多單元之組合，以 MP0250 為例，它是四個單體之組合 (anti-HAS DARPin<sup>®</sup> + anti-HGF DARPin<sup>®</sup> + anti-VEGF DARPin<sup>®</sup> + anti-HAS DARPin<sup>®</sup>)，它可以抑制 VEGF 及 HGF，達到阻斷 tumor escape mechanism。另外 DARPin<sup>®</sup> 在眼科應用是一個有趣之領域，Molecular Partners 公司與全球著名之眼藥水藥廠 Allergan 建立伙伴關係，共同開發 Abicipar 這個產品，應用於濕性老年黃斑部病變(wet age-related macular degeneration)及糖尿病黃斑部水腫(diabetic macular edema)，前述二種疾病都屬於視網膜疾病，他們都是引起瞎眼的主要原因之一，隨著全球人口之老化，未來這方面市場深具潛力，目前 Abicipar(單體 DARPin<sup>®</sup>)已進到第三期臨床。

INSERM 公司的 Emmanuel Dondadieu 指示 T 細胞的抗癌效果與其移動能力 (migration) 有密切關係 T 細胞要由血管移動到腫瘤位置，必須穿過 stromal cell 作用，再有機會跟 tumor cell 作用而殺死腫瘤細胞。腫瘤可以逃過 T 細胞之攻擊，可能的原因包括 (1) poor entry; weak infiltration (2) mislocalization: defect in T cell-tumor cell interaction。由人類肺腫瘤之分布可以看到 T cell 大多分佈於 stroma，僅有少數分在 tumor islets。為何 T 細胞都一直停留在 stroma? 可能是因為 matrix fiber 控制了 T 細胞的分佈，針對此一情形作者提出 ECM targeting therapy，經由實驗投予 collagenase，發現它確實可以加強 T 細胞與腫瘤細胞接觸之數目。

經由此試驗，Dr. Dondadieu 指出 tumor stroma 含有緻密的 extracellular matrix 及 macrophage 分佈，這些因素皆會防礙 T 細胞的作用，未來癌症治療之目標應該是 activated fibroblast、ECM 及 macrophage。



### Collagenase enhances the number of T cells in contact with tumors cells





## 四、建議事項

本次公差參加 2016 年歐洲蛋白質與抗體工程研討會(2016 PEGS Europe)，對新知獲取、國際發展方向及合作研究，拓展國際關係皆有豐富收穫，依此次公差結果，對國內核醫發展有如下之建議：

- (一) 生物醫學發展朝向跨領域整合，本所應與法人或研究機構建立密切之合作關係，專長互補，共同致力於新藥物之開發，縮短藥物研發之時程，提昇競爭力。以本次研討會為例，無論是研究單位設計一個新的蛋白質或者業者開發一個平台，他們會立即與其它專長的實驗室進行整合，以加速藥物之研發，智財的問題應是依據以往建立之合作模式執行。核能研究所多年來從事新藥之開發，除了早期曾與孔繁淵教授合作外，大多由所內同仁獨立完成藥物設計與評估，近期因執行經濟部政策額度計畫，與工研院及生技中心建立很密切之合作關係。未來，本所應再擴大合作單位範圍，共同為改善人類健康而努力。
- (二) 綜合會議發表論文來看，**創意研發與深入研究是十分重要的**，同位素組綜合各類人才，無論新藥篩選或動物實驗皆應事前詳盡規劃與討論，事後也需定期檢討實驗數據，如實驗結果不符合預期，也能深入探討原因，以做為下次改進之依據。
- (三) 同位素組應組專業讀書會，針對臨床高需求性之新藥開發領域深入分析市場與國際發展狀態，選擇合適題目後，先由**奠基計畫**開始評估，以開創未來核醫藥物更寬廣之領域。本所核醫藥物之研發領域近二三年都集中於腦神經退化性疾病之診斷及癌症之治療，其它領域則較少進入，這也形成多頭馬車，大家都在做不同機轉之癌症篩選工作，是否其它領域都不值得投入？或者臨床都不需要？依據工研院之藥品市場資料，臨床需求藥物包括除了癌症及神經退化性疾病，心血管用藥、感染用藥、糖尿病用藥及關節炎用藥等都是需求性很高之領域，建議應妥加評估可行性。
- (四) 蛋白藥物發展之迅速，本所應慎選營運策略經營方法，蛋白質結合糖化學形成化合物是可以考慮方向，以增加其獨特性與利機。從本次會議中，觀察到蛋白藥物發展之迅速，大藥廠多方整併小公司之專業與成果，同位素組明年將安排同仁開

始 phage display 技術來篩選新蛋白質，本所未來如想在這個領域開展，應慎選營運策略經營方法。本所曾有開發醣化合物之能力，蛋白質結合醣化學形成新化合物是可以考慮方向之一。

# 五、附 錄

## (一) 2016 PEGS EUROPE 議程表

CONFERENCE-AT-A-GLANCE				
08:00-18:30	Registration (Hotel Lobby)			
09:00-12:30	Pre-Conference Short Courses* (Meeting Rooms - 1st Floor)			
13:45-15:50	Plenary Keynote Session (Conference Floor - Marus Rooms)			
16:40-18:25	Training Seminars (Meeting Rooms - 1st Floor)			
08:45-10:25	<b>1A: Display of Antibodies</b> (Conference Floor - Marus IV)	<b>2A: Novel Immunotherapy Strategies</b> (Conference Floor - Marus II)	<b>3A: Optimisation &amp; Developability</b> (Conference Floor - Marus III)	<b>4A: Engineering Next-Generation Antibody-Drug Conjugates</b> (Conference Floor - Marus III)
10:30-11:50	Refreshment Break in the Exhibit Hall with Poster Viewing (Conference Floor - Foyer & Vitis Rooms)			
12:00-13:25	Welcome Reception in the Exhibit Hall with Poster Viewing (Conference Floor - Foyer & Vitis Rooms)			
14:00-18:45	Registration (Hotel Lobby) and Morning Coffee (Conference Floor - Foyer)			
08:30-10:45	<b>1A: Display of Antibodies</b> (Conference Floor - Marus IV)	<b>2A: Novel Immunotherapy Strategies</b> (Conference Floor - Marus II)	<b>3A: Optimisation &amp; Developability</b> (Conference Floor - Marus III)	<b>4A: Engineering Next-Generation Antibody-Drug Conjugates</b> (Conference Floor - Marus III)
09:30-10:45	Training Seminars (Meeting Rooms - 1st Floor)			
10:40-11:20	Coffee Break in the Exhibit Hall with Poster Viewing (Conference Floor - Foyer & Vitis Rooms)			
12:50-13:20	Lunch on Your Own	Lunch on Your Own	Luncheon Presentation Sponsored by NanoTemper Technologies	Lunch on Your Own
13:20-14:00	Session Break			
14:00-14:30	Dessert Break in the Exhibit Hall with Poster Viewing (Conference Floor - Foyer & Vitis Rooms)			
16:35-17:15	Refreshment Break in the Exhibit Hall with Poster Viewing (Conference Floor - Foyer & Vitis Rooms) ** Bonus! Soundlink® Mini Raffle! Drawing at 17:05. See page 27 for details.			
07:45-18:30	Registration (Hotel Lobby) and Morning Coffee (Conference Floor - Foyer)			
08:30-10:15	<b>1B: Engineering Antibodies</b> (Conference Floor - Marus IV)	<b>2B: Advancing Bispecifics and Combination Therapy to the Clinic</b> (Conference Floor - Marus II)	<b>3B: Analytical Characterisation of Biologics</b> (Conference Floor - Marus III)	<b>4B: Optimizing Expression Platforms</b> (Conference Floor - Marus III)
10:50-11:30	Coffee Break in the Exhibit Hall with Poster Viewing (Conference Floor - Foyer & Vitis Rooms)			
13:00-13:30	Luncheon Presentation Sponsored by Pall ForteBio LLC	Lunch on Your Own	Luncheon Presentation Sponsored by Desautel Systems BIOVA Ltd	Luncheon Presentation Sponsored by Instagen Cell Factory OD
13:30-14:00	Session Break			
15:35-16:15	Refreshment Break in the Exhibit Hall with Poster Viewing (Conference Floor - Foyer & Vitis Rooms) ** Bonus! Q&A Headphones Raffle! Drawing at 16:05. See page 27 for details.			
18:15-19:15	Networking Reception in the Exhibit Hall with Poster Viewing (Conference Floor - Foyer & Vitis Rooms)			
08:00-17:30	Registration (Hotel Lobby) and Morning Coffee (Conference Floor - Foyer)			
08:30-10:30	<b>1B: Engineering Antibodies</b> (Conference Floor - Marus IV)	<b>2B: Advancing Bispecifics and Combination Therapy to the Clinic</b> (Conference Floor - Marus II)	<b>3B: Analytical Characterisation of Biologics</b> (Conference Floor - Marus III)	<b>4B: Optimizing Expression Platforms</b> (Conference Floor - Marus III)
10:50-11:30	Coffee Break in the Exhibit Hall with Poster Viewing (Conference Floor - Foyer & Vitis Rooms)			
13:00-13:30	Lunch on Your Own	Lunch on Your Own	Luncheon Presentation Sponsored by Waters Corporation	Lunch on Your Own
14:30-15:00	Dessert Break in the Exhibit Hall with Poster Viewing (Conference Floor - Foyer & Vitis Rooms)			
15:30-16:05	<b>1C: Engineering Bispecifics</b> (Conference Floor - Marus IV)	<b>2C: Novel Therapies for Cancer and Emerging Targets</b> (Conference Floor - Marus II)	<b>3C: Protein Aggregates &amp; Particles</b> (Conference Floor - Marus III)	<b>4C: Protein Purification Technologies</b> (Conference Floor - Marus III)
15:30-15:45	Refreshment Break in the Exhibit Hall with Poster Viewing (Conference Floor - Foyer & Vitis Rooms) ** Pad mini™ Raffle! Drawing at 15:55. See page 27 for details.			
17:00-17:30	Dinner Short Course Registration (Hotel Lobby)			
17:30-20:30	Dinner Short Courses* (Meeting Rooms - 1st Floor)			
08:00-12:00	Registration (Hotel Lobby) and Morning Coffee (Conference Floor - Foyer)			
08:30-10:35	<b>1C: Engineering Bispecifics</b> (Conference Floor - Marus IV)	<b>2C: Novel Therapies for Cancer and Emerging Targets</b> (Conference Floor - Marus II)	<b>3C: Protein Aggregates &amp; Particles</b> (Conference Floor - Marus III)	<b>4C: Protein Purification Technologies</b> (Conference Floor - Marus III)
10:05-10:35	Coffee Break in the Foyer with Poster Viewing (Conference Floor - Foyer)			
12:35-13:30	Problem-Solving Breakfast Discussions with a Light Lunch (Conference Floor - Foyer)			
16:30	End of Conference			

Not speakers or participants of this program. Sponsors and Exhibitors are not eligible. Must be present in person. \*\*Response registration required.

PEGSummitEurope.com | 5

(二)發表論文摘要

The new therapeutic radiopharmaceutical  $^{188}\text{Re}$ -MN-16ET/Lipiodol for  
hepatoma treatment

Tsai-Yueh Luo, I-Chung Tang, Chen-Lan Peng

Isotope Application Division, Institute of nuclear Energy Research, Taiwan

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the most common form of primary hepatic carcinoma. Lipiodol, an oily contrast medium, is characterized by selectively retaining within the tumor, and currently used as a common embolizing agent for TAE. The accumulated characteristic of Lipiodol in tumors benefits tumor patients for it expands the exposure of the neoplastic cells to therapeutic treatments such as radiotherapy.  $^{188}\text{Re}$  has become the most appropriate candidate for labeling Lipiodol because of its convenient, economical and energy characteristics.  $^{188}\text{Re}$  has many advantages including short half-life (16.9 hours) and suitable energy (high energy  $\beta$ -emitter) for the cancer treatment. We designed and synthesized a new  $\text{N}_2\text{S}_2$  tetradentate ligand, N-[2-(triphenylmethyl)-thioethyl]-3-aza-19-ethyloxy-carbonyl-3-[2-(triphenylmethyl)-thioethyl]octadecanoate (abbreviated as  $\text{H}_3\text{MN-16ET}$ ), to label with  $^{188}\text{Re}$  to create  $^{188}\text{Re}$ -MN-16ET in the Lipiodol phase. The potential of  $^{188}\text{Re}$ -MN-16ET/Lipiodol for hepatoma therapy has been evaluated in an HCC animal model of Sprague-Dawley rats implanted with the N1S1 cell line.

$\text{H}_3\text{MN-16ET}$  is a suitable tetradentate ligand for  $^{188}\text{Re}$  isotope labeling and shows good lipophilicity in Lipiodol. The animal data demonstrate that  $^{188}\text{Re}$ -MN-16ET/Lipiodol has a high tumor accumulation in the hepatoma rat model. The preclinical studies revealed that intra-hepatic arterial injections of  $^{188}\text{Re}$ -MN-16ET/Lipiodol 0.2 and 0.5 mCi both decreased tumor size of implanted rat HCC cells in a hepatoma rat model and provided long survival time in rats. In addition, toxicology studies regarding the radiation as well as chemical toxicity of  $^{188}\text{Re}$ -MN-16ET/Lipiodol had also demonstrated the safety of this compound. Taken together,  $^{188}\text{Re}$ -MN-16ET/Lipiodol has a very good potential to be a therapeutic radiopharmaceutical for hepatoma treatment.