

出國報告（出國類別：國際會議）

2018 年美國癌症學會年會（American Association of Cancer Research 2018）

服務機關：國立陽明大學附設醫院

姓名職稱：涂曦丰部主任

派赴國家：美國芝加哥

出國期間：1070413-1070420

報告日期：1070527

摘要

在癌症研究領域，美國癌症學會年會（Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, AACR）是非常重要的代表性會議。今年（2018）的舉行地點在芝加哥的 McCormick 會議中心。從 4/14-4/18 為期五天的議程中，有各個癌症相關領域的專家分享癌症的基礎及臨床研究。這次大會的主題著重在轉譯醫學，特別是免疫治療相關進展，不論是調控 T 細胞功能的藥物，或是腫瘤專一性的 CAR-T 療法，會議中都有探討相關的效用及新的進展。同時針對液體活檢(liquid biopsy)議題，會議中也邀請許多專家分享在癌症診斷的臨床應用。本次會議，職利用貼式報告的機會，與其他國家研究者分享經驗。同時也藉由觀摩他人的貼示報告，瞭解其他人的研究水準及方向。綜觀來說，參與 AACR 是一個腦力大激盪的體驗，除了能夠擷取新知，更能讓我們一窺目前研究最夯的主題，跟上研究的潮流。感謝醫院提供經費補助，職未來將持續努力提升研究水準，期望對口腔癌治療提供幫助。



目次

一、目的 ----- 1

二、過程 ----- 2

三、心得 ----- 4

四、建議事項 ----- 5

附錄（發表論文摘要） ----- 6



一、目的

第 109 屆美國癌症學會年會 (The 109th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, AACR 2018) 於 2018 年 4 月 14 日至 4 月 18 日在芝加哥舉行。這場癌症研究的盛會，吸引約 22000 名來自世界各地癌症相關領域的人員參加，包含臨床醫師，學校及研究機構的老師與學生，還有藥廠及產業界的研究人員等，會議的主題包括腫瘤分子生物機制，藥物測試，分子診斷及治療，免疫學，預防醫學，臨床研究以及臨床試驗等等，幾乎涵蓋大部分癌症研究領域。此外，超過 6000 篇的貼示報告展出也是會議一大特色，藉由觀察別人的貼示報告，或與其他研究者的意見交流，常常能有豐富收穫，筆者曾在 2013 以及 2014 年參加過兩次年會，依照先前經驗，不論是研究方向的調整，或是一些實驗上面遭遇的困難，往往都能在觀摩與討論中得到解答。近年來，主辦單位開始將每次會議的每場演講都以 webcast 方式儲存下來，讓與會者不會因為選擇演講場次的原因，而錯失其他同時段的精彩演講。對於筆者而言，即便在會議結束後，也能夠重溫精彩演講，是一件很美好的事情。相較於其他同類型的會議，AACR 參加費用較高，但不論是會議內容或是安排，的確是最高品質的科學會議，能夠持續每年有如此高的研究能量及成果，著實令人欽佩不已！



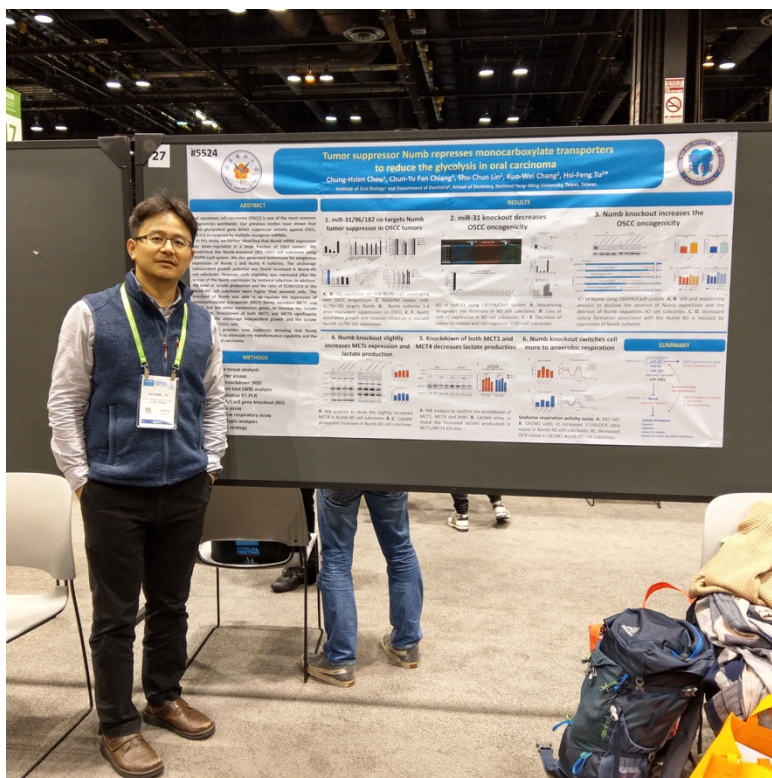
二、過程

芝加哥位於美國東北部，緊鄰密西根湖，大芝加哥區人口超過 900 萬，是美國僅次於紐約，洛杉磯的第三大都會區。會議舉行地點 McCormick 會議中心佔地很廣，即便有超過兩萬人參加會議，仍然不感覺擁擠。筆者印象深刻的是報到系統與動線的順暢，即便有為數眾多與會者，從排隊到完成報到只需要幾分鐘時間，主辦單位充分利用資訊系統，包含網頁，E-mail，APP 與訊息推播，讓會議進行更有效率。會議安排總共五天，第一天的會議以教育課程(educational session)為主，介紹癌症研究相關的基礎知識。第二天至第五天的會議穿插不同主題的專題演講及貼示報告，每天早上七點鐘都有所謂的專家講座(Meet-the Expert Session)，雖然會議時間很早，而筆者或是大部分與會者居住的旅館距離會場都有一段距離，但是主辦單位提供多條路線的免費接駁巴士，讓參加者都可以方便的抵達會場，是非常貼心的安排。由於對於免疫療法感到興趣，筆者參加了介紹腫瘤免疫的相關演講。一般認為，T 細胞能藉由血流到全身各處，理論上是個很好的治療工具，能藉由免疫反應毒殺擴散出去的腫瘤細胞，然而實際上腫瘤細胞會表現特定受體，例如 PD-1，進而抑制 T 細胞的毒殺功能，現行的免疫療法就是藉由抑制這些抑制性的受體，進而提升 T 細胞的功能，進行腫瘤的毒殺。然而，許多情況下，T 細胞若無法進行 priming，也就是辨識腫瘤細胞，就無法成為具毒殺功能的 T 細胞，講者提到可以活化 CD40 在樹突狀細胞 (dendritic cell) 的表現來修復 T 細胞的 priming 缺失，使其成為殺手 T 細胞。此外，如何讓腫瘤微環境充滿 T 細胞，也就是讓所謂的 cold tumor 變成 hot tumor，變成有大量 T 細胞浸潤的環境，可行的方法有疫苗，放射線處理，化學藥物，標靶藥物等佐以細胞激素的活化等等，提升 T 細胞的浸潤利於腫瘤免疫治療。NSAID 藥物的使用，例如 Naproxen，長久以來被發現似乎能降低腸息肉的產生，而相關研究也證實 Naproxen 能減少 PD-L1 的表現，增加腸息肉中 CD8 的表現，進而抑制腸息肉的生長，這發現似乎也提供 immunoprevention 的概念。

有一場介紹 K-Ras 的研究讓筆者印象深刻，K-Ras 突變是肺部惡性腫瘤常見的現象，但是 K-Ras 目前沒有有效的抑制劑可用，而其下游訊息途徑的抑制劑也無法阻斷突變的 K-Ras 效果，因此講者利用基因操作的方式來探討 K-Ras 下游何種基因是肺部惡性腫瘤起始的關鍵。應用 loxP Cre 技術，講者將下游基因一個一個的剔除，然後再觀察腫瘤生成的情形，這樣的策略雖然費時費力，但是結果是令人信服的，不但可以看出腫瘤生成的關鍵，也可以順便觀察基因剔除後的毒性，最後挑出 c-Raf 跟 cdk4 是肺癌腫瘤生成關鍵，這兩個基因剔除後毒性不大，未來應該是藥物研發的方向，現在由於 CRISPR 技術的精進，或許這種策略的應用會更廣泛。大會最精彩的莫過於主題演講，今年的主題圍繞在免疫療法與液體活檢 (liquid biopsy)，anti-CTLA-4 治療打開了免疫治療的新紀元，時至今日雖有不錯成效，但仍然有許多問題尚待解決，例如，為什麼有些病患治療效果不佳？有沒有甚麼 biomarker 能幫助臨床醫師找出有效的族群？可以合併那些藥物提升治療效果？

或是還有那些標的可以發展新的免疫療法?雖然沒有明確的答案，但是會議中提出一些研究結果佐證，例如 ICOS-B7h 激活能活化 T 細胞，證明對於腫瘤抑制有幫助，而活化 CD40 也能提升 anti-CTLA-4 及 anti-PD-1 的腫瘤抑制效果。此外，巨噬細胞分泌的 VISTA 會與 PD-1 共同抑制的 T 細胞的活化，藉由抑制 VISTA 的途徑，也是提升治療的方式。腫瘤細胞會藉由表現 CD47 來避免被巨噬細胞吞噬，而目前已經有針對抑制 CD47 的臨床試驗在進行。對於液體活檢(liquid biopsy)來說，能夠藉由偵測 CTCs，ctDNA (circulating tumor DNA) 或是 exosome 進行診斷或評估治療成效，是最終目的。然而，ctDNA 偵測必須克服 cfDNA(cell free DNA) 的干擾，同時也必須先瞭解腫瘤自身的突變特性，相較起來，CTCs 的偵測雖然需要更靈敏的技術，但是隨著單細胞定序等等技術的應用，CTCs 能提供更多的資訊。一些研究也顯示，經由偵測 CTCs(circulating tumor cells)所表現的 immune checkpoint 標記如 PD-1，能預測免疫治療的成效。會議中也有一位香港學者講述如何利用偵測血液中 EBV 的 DNA 對鼻咽癌患者進行追蹤及診斷，準確度令人驚艷。

筆者在此次會議也發表貼式報告，內容是探討 Numb 基因在口腔癌化過程中扮演的角色。我們先前研究發現 microRNA--31 及其他的致癌 microRNA 能調降 Numb，而在口腔癌組織中的確也觀察到 Numb 表現下降的情形，利用 CRISPR 剔除 numb 基因的實驗也發現，Numb 可能藉由抑制醣解相關基因 MCT1 及 MCT4 而影響腫瘤的生長，事實上，在頭頸癌專題的演講中，也有講者提到，在腫瘤細胞與旁邊的 CAF 互相作用中，MCT-1 扮演重要的醣解能量交換角色，與我們研究的結果不謀而合。



三、心得

國內針對口腔癌病患應用免疫療法方興未艾，目前大部分都是第四期無法手術的病患，或是合併遠端轉移的末期病患，在傳統療法無法提供幫助下，開始考慮嘗試免疫療法。這次會議中提到，研究腫瘤基因突變的結果顯示，具有越多的基因突變的肺癌，似乎對於免疫療法的效果越佳。事實上，許多基因定序結果皆顯示，頭頸癌是突變情形很嚴重的腫瘤，這或許為免疫療法在頭頸癌的應用提供未來前景。除了腫瘤分子機轉的介紹外，本次大會也介紹人工智慧(AI)在癌症領域的應用。令人感到振奮的是，google 團隊在這次會議上介紹了世界上第一台 AI 顯微鏡，能夠幫忙病理科醫師找出可疑的病灶區域，事實上，研究團隊甚至發現 AI 顯微鏡的準確度略勝人工判讀一籌，未來醫療的革命指日可待。另外，大數據的分析也能幫助診斷與治療，雖然筆者沒有生物資訊的背景，但是聽完演講後，大概瞭解到，研究者設計一些演算法，似乎可以從基因組定序資料中，預測病人對一些治療藥物的效果，感覺真的不可思議。此外，對於和筆者一樣背景的外科醫師，腫瘤手術最令人困擾的就是手術邊緣的判定，本次會議中，一位講者研發一種螢光探針，能在手術過程中及時觀察腫瘤位置，目前在腸胃道手術，乳癌手術正在進行臨床試驗，這種技術相信在未來必定成主流。筆者目前研究方向包含非編碼 RNA 的功能探討，一些實驗上的問題在這次會議中，與他國研究者互相討論後，有豐富的心得。不論從基礎到臨床，五天的會議確實帶給筆者相當多的啟發與靈感，感謝教育部的補助與醫院的支持，也希望未來能再次參加這個會議。



四、建議事項：

1. 由於美國近年來科研預算的減少，使得許多研究經費來源來自藥廠的贊助。然而即便如此，美國的研究能量仍然驚人，而且更導向以轉譯醫學為主的研究方向。以一位臨床醫師來說，這樣的轉變令人高興，因為可以加速研究應用於臨床的時程。然而對基礎研究來說，相對挹注於純科學的經費就減少，這樣的演變孰優孰劣或許在過一段時間才能見真章，然而我們必須關注這個趨勢，至少必須趕上潮流。
2. 許多新藥的應用與成功與人種差異有極大關聯。舉例來說，一些肺癌標靶藥物在西方人種上應用容易出現抗藥性，但是同樣的藥物在國人使用上成效就不錯，目前熱門的免疫療法是否也會有類似差異值得探討，因此建立國人專屬的藥物測試平台應是刻不容緩。
3. 個人化的醫療也是未來癌症的治療趨勢。隨著基因組定序費用越來越便宜，未來利用基因定序來了解本身癌症的突變狀態將不再是夢想。CAR-T 療法就是找出特定腫瘤共同的辨識區，然後改造病人本身的 T 細胞去攻擊身上的腫瘤，在部份血液腫瘤有不錯的成效。以筆者研究的口腔癌為例，目前尚待起步，只有少數的第一期試驗進行中，原因就是口腔癌難找出共通的辨識區。而這是西方人種的資料，國人口腔癌幾乎都是因檳榔造成的癌化，或許在這種特定致癌物的影響下，可能有特殊的突變標記存在，提供治療的裨益，這部分其實值得探討
4. 美國 TCGA 資料庫在癌症研究中扮演重要角色，幾乎所有研究者都會利用這個資料庫進行驗證。今年會議中美國癌症研究院又介紹另一個重要的資料庫 The NCI's Genomic Data Commons (GDC)，包含 TCGA 與 TARGET 兩個資料庫，也就除了病患基因組的資料外，又加入了治療相關的資料，使得驗證臨床診斷或是治療更為容易。這樣的資料庫建置及維護花費不少金錢人力，但是成果是豐碩的。一些嶄新的想法可以利用大數據的方式，從可信且真實的資料庫中，快速驗證可行性。我們國家其實應該要效法類似的做法，有計劃的建立國人相關的健康資料庫，與健保資料庫連結，再加上現在已進行的雲端病例，克服個資保密等等的困難，這個資料庫絕對能為臺灣創造醫療生技的藍海。

發表論文摘要

Tumor suppressor Numb represses monocarboxylate transporters to reduce the glycolysis in oral carcinoma

**Chung-Hsien Chou, Chun-Yu Fan Chaing,
Shu-Chun Lin, Kuo-Wei Chang, Hsi-Feng Tu***

Oral squamous cell carcinoma (OSCC) is one of the most common malignancies worldwide. Our previous studies have shown that *Numb* pluripotent gene drives suppressor activity against OSCC, and it is co-targeted by multiple oncogenic miRNAs. In this study, we further identified that *Numb* mRNA expression was down-regulated in a large fraction of OSCC tumors. We established the Numb-knockout (KO) OSCC cell subclones using CRISPR-Cas9 system. We also generated lentiviruses for exogenous expression of Numb 1 and Numb 4 isoforms. The anchorage independent growth potential was found increased in Numb-KO cell subclones. However, such eligibility was repressed after the rescue of the Numb expression by lentiviral infection. In addition, the level of lactate production and the ratio of ECAR/OCR in the Numb-KO cell subclones were higher than parental cells. The knockout of Numb was able to up-regulate the expression of monocarboxylate transporter (MCT) family members MCT1 and MCT4, but not other metabolism genes, to increase the lactate production. Knockdown of both MCT1 and MCT4 significantly decreased the anchorage independent growth and the lactate production of OSCC cells. This study provides new evidences denoting that Numb represses MCTs to attenuate the transformative capability and the glycolysis in oral carcinoma.



Tumor suppressor Numb represses monocarboxylate transporters to reduce the glycolysis in oral carcinoma

Chung-Hsien Chou¹, Chun-Yu Fan Chiang¹, Shu-Chun Lin¹, Kuo-Wei Chang², Hsi-Feng Tu^{2*}
 Institute of Oral Biology¹ and Department of Dentistry², School of Dentistry, National Yang-Ming University, Taipei, Taiwan.



ABSTRACT

Oral squamous cell carcinoma (OSCC) is one of the most common malignancies worldwide. Our previous studies have shown that *Numb* pluripotent gene drives suppressor activity against OSCC, and it is co-targeted by multiple oncogenic miRNAs.

In this study, we further identified that *Numb* mRNA expression was down-regulated in a large fraction of OSCC tumors. We established the Numb-knockout (KO) OSCC cell subclones using CRISPR-Cas9 system. We also generated lentiviruses for exogenous expression of Numb 1 and Numb 4 isoforms. The anchorage independent growth potential was found increased in Numb-KO cell subclones. However, such eligibility was repressed after the rescue of the Numb expression by lentiviral infection. In addition, the level of lactate production and the ratio of ECAR/OCR in the Numb-KO cell subclones were higher than parental cells. The knockdown of Numb was able to up-regulate the expression of monocarboxylate transporter (MCT) family members MCT1 and MCT4, but not other metabolism genes, to increase the lactate production. Knockdown of both MCT1 and MCT4 significantly decreased the anchorage independent growth and the lactate production of OSCC cells.

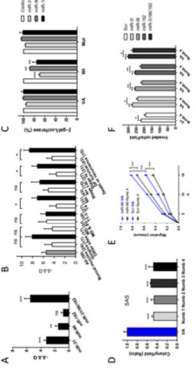
This study provides new evidences denoting that Numb represses MCTs to attenuate the transformative capability and the glycolysis in oral carcinoma.

METHODS

- Tumor tissue analysis
- Reporter assays
- Gene knockdown (KD)
- Western blot (WB) analysis
- Quantitative RT-PCR
- CRISPR/Cas9 gene knockout (KO)
- Lactate assay
- Seahorse respiratory assay
- Phenotypic analyses
- Rescue strategy

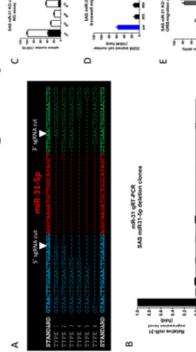
RESULTS

1. miR-31/96/182 co-targets Numb tumor suppressor in OSCC tumors



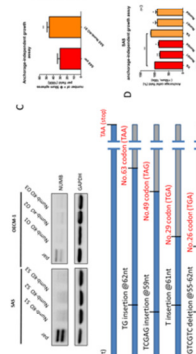
A, B. Up-regulation of miR-31/96/182 associating with OSCC progression. C. Reporter assays. miR-31/96/182 targets Numb. D. Numb isoforms 1-4 drive equivalent suppression on OSCC. E, F. Numb associated growth and invasion inhibition is rescued by miR-31/96/182 expression.

2. miR-31 knockdown decreases OSCC oncogenicity



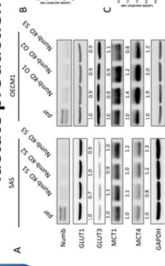
KO of Numb using CRISPR/Cas9 system. A. Sequencing analysis to disclose the absence of Numb expression and the deletion of Numb sequences KO cell subclones. B. Loss of colony formation associated with the Numb KO is rescued by expression of Numb isoforms.

3. Numb knockout increases the OSCC oncogenicity



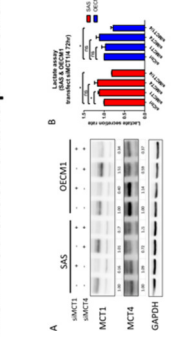
KO of Numb using CRISPR/Cas9 system. A, B. WB and sequencing analysis to disclose the absence of Numb expression and the deletion of Numb sequences KO cell subclones. C, D. Increased colony formation associated with the Numb KO is rescued by expression of Numb isoforms.

4. Numb knockout slightly increases MCTs expression and MCT4 decreases lactate production



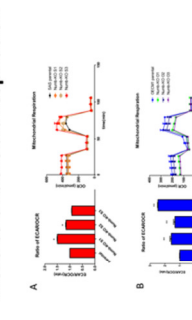
A. WB analysis to show the slightly increased MCT4 in Numb KO cell subclones. B, C. Lactate production increases in Numb KO cell subclones

5. Knockdown of both MCT1 and MCT4 decreases lactate production



A. WB analysis to confirm the knockdown of MCT1, MCT4 and both. B. Lactate assay to reveal the increased lactate production in MCT1/MCT4 KD cells

6. Numb knockout switches cell more to anaerobic respiration



Seahorse respiration activity assay. A. SAS cell; B. OECM1 cells; Lt increased ECAR/OCR ratio noted in Numb KO cell subclones. Rt, decreased OCR noted in OECM1 Numb KO cell subclones.

SUMMARY

