

出國報告(出國類別：進修)

食道癌近紅外光與免疫正子影像偵測技術

服務機關：國防醫學院三軍總醫院

姓名職稱：黃怡智少校主治醫師

派赴國家/地區：英國/牛津

出國期間：109 年 10 月 11 日至 114 年 4 月 9 日

報告日期：114 年 4 月 15 日

摘要

食道癌的發生率在消化道惡性腫瘤之中排名第四名，其總體死亡率更位居十大癌症死因的第六至第八名，探索其原因之一在於食道癌早期偵測技術之不足。為求改善食道癌之診斷方式，進而增進病人之短期與長期存活率，本研究擬利用近紅外光標記或放射性同位素標定之追蹤物，於進行相關檢查時，利用此類螢光或同位素標記物專一性辨識食道癌早期癌變病灶，強化病灶處之顯影，藉以促進即時、準確之診斷。端此，本研究主軸為近紅外光以及放射性同位素免疫正子追蹤藥物之開發、驗證、臨床前期應用、雙腫瘤動物模型建立以及基因轉殖小鼠動物實驗模式驗證，期能於將來轉譯於臨床醫學運用，提升早期診斷機率，嘉惠食道癌病患。

關鍵詞：食道癌、分子影像、免疫正子影像

目次

封面.....	1
摘要.....	2
目次.....	3
本文.....	4
心得報告	8
建議事項	9
附錄.....	10

本文

目的

於牛津大學進修博士學位，論文主題為「食道癌近紅外光與免疫正子影像偵測技術」。

食道癌概述與早期檢測的重要性

食道癌是全球癌症相關死亡的主要原因之一¹。根據組織病理學類型，食道癌可分為食道腺癌和食道鱗狀細胞癌。2018 年，食道腺癌的年齡標準化發病率為每 10 萬人 0.9 人次，而食道鱗狀細胞癌的發病率則為每 10 萬人 5.3 人次²。儘管與肺癌、乳腺癌或結腸直腸癌相比，食道癌的發病率相對較低，但其整體死亡率卻不成比例地高，排名第六，全球每年約導致 50 萬人死亡³。不幸的是，大多數食道癌在局部晚期或轉移階段被診斷。在美國，食道癌的整體 5 年存活率僅為 20%。對於轉移性疾病其 5 年存活率僅為 5%。然而，如果食道癌能夠早期偵測，局部疾病的 5 年存活率可達 47%，區域性疾病則為 25%。事實上，目前僅有 18% 的食道癌患者能夠被早期診斷，顯示出食道癌早期檢測的迫切需求⁴。

胃食道逆流、巴瑞特氏食道與食道腺癌

胃食道逆流疾病被定義為胃內容物通過食道-胃交界處的回流⁵，導致食道下三分之一和胃食道交界處的慢性發炎。長期暴露於酸性環境或在膽酸刺激之下，食道的正常分化鱗狀上皮會轉變為具有腺樣結構的柱狀上皮。這種由鱗狀上皮向柱狀上皮的轉變過程就稱之為巴瑞特氏食道。他是唯一一個已知的食道腺癌的前驅狀態，可以分為無異型增生、低度異型增生和高度異型增生⁶。值得一提的是，所有類型的巴瑞特氏食道都有可能發展為食道腺癌。各種類型的巴瑞特氏食道，食道腺癌的年發生率總結於下表中⁷⁻¹²。

Dysplastic types	Pathological Features	Progression Risk per 100 person-year
NDBO	Intestinalized columnar-lined epithelium	OAC: 0.33 ⁸ HGD/OAC: 0.26 ⁹ and 0.68 ¹⁰
LGD	Mild architectural changes	OAC: 0.54 ¹¹
	Surface maturation disrupted (stratification)	HGD/OAC: 1.73 ¹¹
	Mild, diffuse cytological abnormalities	
HGD	Marked architectural changes	OAC: 6.6 ¹²
	No surface maturation	
	Marked cytological abnormalities	

表 1：巴瑞特氏食道的病理特徵與每年進展風險。

巴瑞特氏食道的監測與處置

由於巴瑞特氏食道之間的進展風險不同，其監測策略是根據年進展風險而設計。對於無異性增生患者，建議每 3 到 5 年進行一次食道-胃-十二指腸內視鏡檢查。然而，對於低度異形增生或無可見病變者，則建議每 3-6 個月重複食道鏡檢追蹤¹⁰。儘管食道鏡檢是診斷食道腺癌的黃金標準，傳統的白光和窄頻寬帶成像仍有機會漏診病變或導致延遲診斷。在最近發表的一項系統回顧與統合分析中，K. Visrodia 等人發現有 25% 的食道腺癌患者曾在過去 12 個月內進行過食道鏡檢，但卻被錯誤分類而為未被正確診斷¹³。因此，即時標定潛在病變的方法，對於進行高效和準確的食道癌診斷，至關重要。

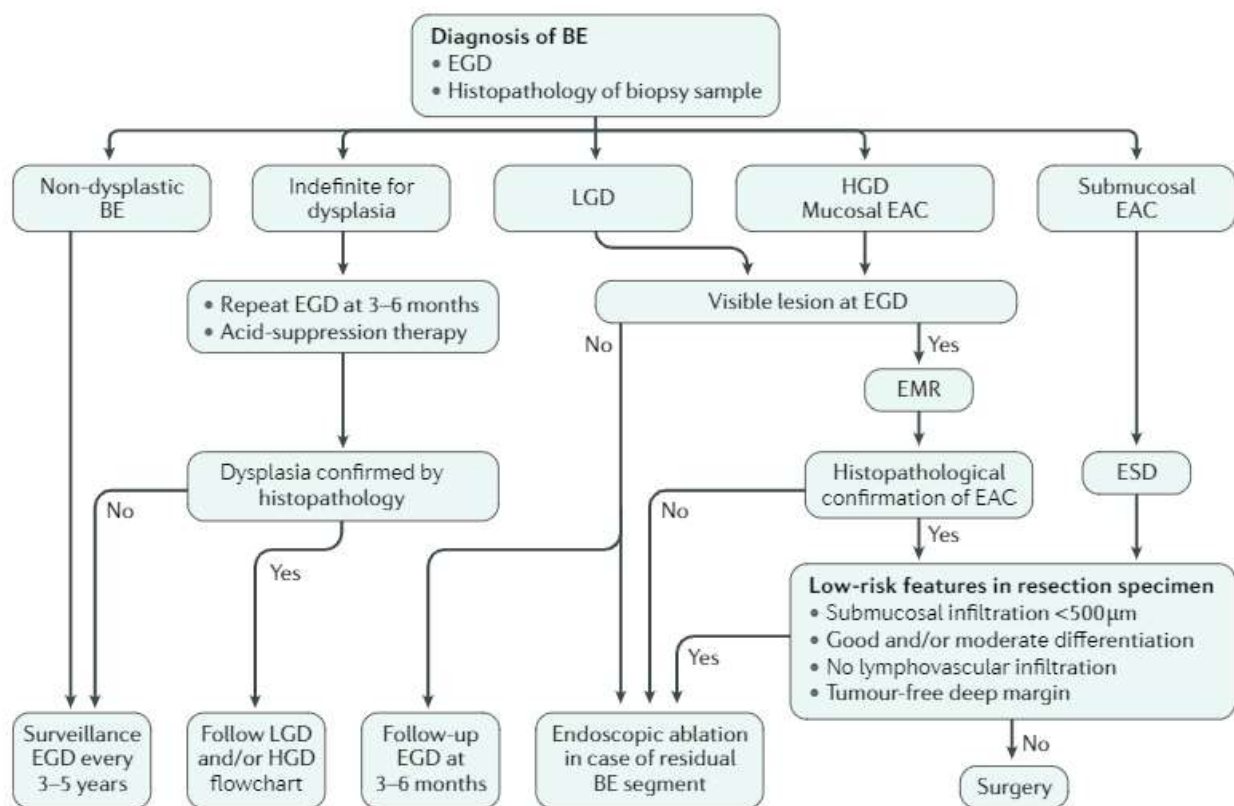


圖 1.1 巴瑞特氏食道之檢測、追蹤與治療流程

本圖片取自 Peters Y et al. (2019) (Springer Nature 允許編號: 501668410)

螢光分子內視鏡在食道癌中的作用

螢光分子內視鏡檢查是一種新興的內視鏡技術，利用特定於表面抗原的示蹤劑來標記在異型增生或惡性細胞中過度表達的抗原。透過鎖定我們感興趣的特定表面抗原，我們可以使用不同的螢光示蹤劑來凸顯這些異型增生病灶。透過螢光分子內視鏡檢查，臨床醫生不僅可以檢測早期癌症或前癌病變，還能提高內視鏡活檢的靈敏度和特異性。以下圖顯示了螢光分子內視鏡的基本概念（圖 1.2）。

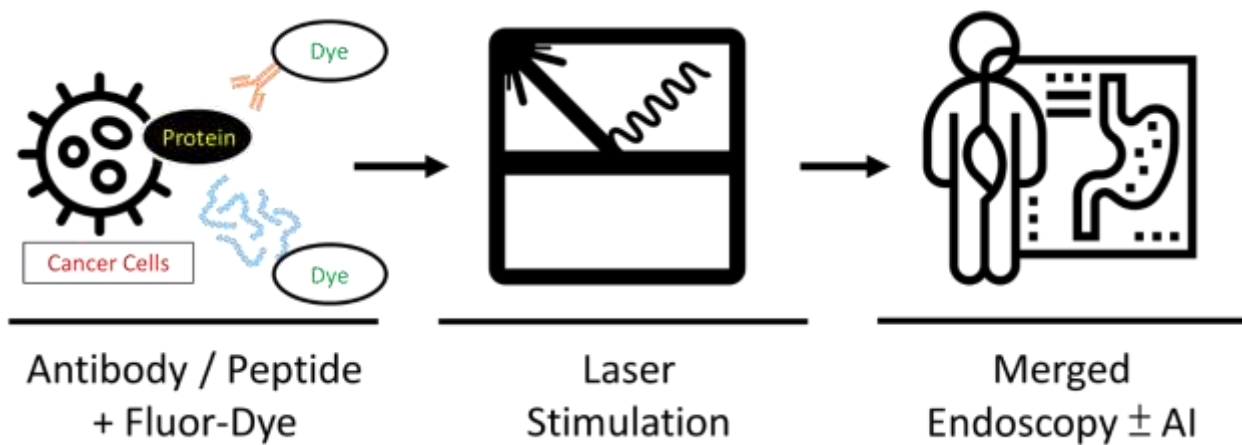


圖 1.2 螢光內視鏡原理示意圖

當前策略：瞄準 c-met 蛋白作為潛在候選者

肝細胞生長因子受體（hepatocyte growth factor receptor, HGFR, 又稱之為 c-Met）是一種跨膜蛋白，屬於受體酪氨酸激酶家族。在肝細胞生長因子的刺激下，c-Met 蛋白將會被磷酸化並激活下游反應，直接或間接導致細胞增生、遷移、侵襲和存活¹⁴。c-Met 蛋白的過度表達也是手術切除的非小細胞肺癌¹⁵、晚期乳腺癌¹⁶和胃癌¹⁷中的負向預後因子。同時，c-Met 路徑的激活與血管生成、進展及食道鱗狀上皮癌或腺癌的預後不良相關¹⁷⁻²¹。此外，報告指出：正常鱗狀上皮、巴瑞特氏食道和食道腺癌之間的 c-Met 蛋白存在表達差異²²，使得 c-Met 成為追蹤食道異型增生或腫瘤病變的潛在分子靶點。

過程

綜合所有資訊，職於牛津大學進修博士學位的主要目標是：(1) 開發針對癌前病變和食道腺癌的近紅外螢光探針；(2) 驗證所開發探針的靈敏度、特異性和親和性；(3) 通過使用活細胞和/或固定細胞成像，驗證這些新型基於抗體或小分子的螢光探針方法的可行性；(4) 結合多種螢光示蹤劑，優化螢光分子內視鏡在體內的 effects。來到牛津大學之後，師承 Katherine Vallis 教授，在她的指導下，職成功地合成遠紅外光單株抗體追蹤物，並使用高壓液態層析法確認其純度。同時利用螢光顯微鏡進行相關合成後功能鑑定。接著，食道癌異體移植雙腫瘤小鼠模型也順利建制，並使用活體螢光影像系統（IVIS）驗證追蹤探針的專一性與特異性。同時也與德國 Michael Quante 教授團隊合作，使用基因轉殖小鼠進行臨床前期螢光分子內視鏡驗證。此外，除螢光分子影像之外，也同時利用核子醫學影像技術，使用 Zirconium 同位素進行免疫正子影像研究，並於 2024 年參加美國核子醫學與分子影像年會，獲頒「國際最佳論文摘要獎項」（附件一、獲獎證明）。相關研究結果目前已整理完畢，賡續進行投稿事宜。

未來返國研究方向

職下一個目標是識別另一個分子靶點，以對當前的示蹤劑產生協同作用。文獻回顧揭示了雙示蹤劑的效果可能比單一示蹤劑更好²³。此外，由於 c-Met 在正常生理環境下在胃組織中高度表達，因此在檢測胃食道交界處的腫瘤病變時，可能會出現較低的腫瘤背景比²⁴。因此，尋找另一個符合以下條件的靶點至關重要：(1) 位於食道和胃食道交界處上皮細胞的細胞膜上；(2) 參與不同於受體酪氨酸激酶家族的路徑，以避免重疊反應；(3) 在正常、異型增生和惡性組織中，具有顯著的差異表達。根據這些選擇標準，橋墩樣受體（TLR）家族是一個可能的研究目標。TLRs 是存在於細胞膜、細胞質或兩者的蛋白質群組，主要參與先天免疫系統，是調節人類細胞對微生物反應的重要因子²⁵。迄今為止，已鑑定出超過 15 種 TLRs，但只有 10 種在人類中具有生理功能。根據上述理想示蹤劑的選擇標準，跨膜 TLR 家族（TLR1、TLR2、TLR4、TLR5 和 TLR6）被標示為候選者。相比其他 TLRs，TLR4 與食道癌之間的關係被廣泛研究。TLR4 是脂多糖的受體，在宿主對革蘭氏陰性菌的防禦反應中起著重要作用。此外，它通過 MyD88 依賴性和 MyD88 非依賴性路徑來調節細胞增殖、凋亡、生存和炎症。因此，未來返國後或將持續進行 TLR 與食道腺癌與鱗狀上皮細胞癌的相關研究。

此外，職於牛津大學主要研習領域為核子醫學與分子影像學，技術上除一般常見實驗技巧（如西方墨點法、免疫染色法、免疫螢光顯微鏡、流式細胞儀等）之外，也擅長蛋白質修飾以及螢光或核子醫學藥物標定。利用此一方式可以針對特定藥物或蛋白追蹤其在體內之分佈情形，搭配適當的螢光標記（如 Indocyanine green, ICG）等物質，可於手術前後追蹤病灶區域或治療反應等。因此，返國後另一研究主軸將延續此一技術並實施相關臨床前期驗證，進而轉譯至臨床醫學。

持續研究所需環境或設備

倘若實驗室空間可能有限，目前擬先行借用基礎學科師長的研究空間與基本器材（例如離心機、Pipette 等）以進行初步實驗。多光子共軛焦顯微鏡 LSM-880 系統於貴儀中心可以使用（儀器編號：9320-45）。小動物螢光影像系統（IVIS Spectrum）於貴儀中心有建置乙套（儀器編號：RB-L3-39），返國後將利用公餘時間前往接受訓練以縮短上機時間。為順利進行後續研究，在蛋白質純化與分離上需要使用高壓液態層析儀（HPLC）以及質譜儀（MS），惟此類儀器取得不易，目前預計與國防醫學院基礎學科師長以及貴儀中心（R9321）借用。未來將持續進修生物資訊領域與大數據分析，並積極撰寫研究計畫爭取經費，以支持後續實驗進行。

心得

這段奇幻的求學之旅充滿了挑戰與成就。在民國 109 年完成胸腔外科專科醫師訓練晉升主治醫師之後，我決定前往英國牛津大學李納克爾學院深造腫瘤學博士學位。這個決定不僅展現了我對醫學研究的熱忱，也體現了我對腫瘤學領域貢獻更深層知識的渴望。在進修初期，我帶著豐富的臨床經驗進入學術研究的領域，希望能夠將實驗室的研究成果應用到臨床實踐中，進而改善患者的治療效果。初期的學習和研究進展順利，我投入了大量的時間和精力學習腫瘤學的基礎理論，同時在實驗室中進行了一些初步的研究。然而，這四年的進修旅程卻遠非一帆風順，而是充滿了不可預測的挑戰，尤其是全球疫情和英國脫歐這兩個重大事件，對我的學業和研究產生了深遠的影響。

民國 109 年年底 COVID-19 疫情在英國的二度爆發，使我的進修之路變得艱難。疫情導致了英國被迫再次採取全國性封城措施，牛津大學的實驗室也不得不暫時關閉（或有限度開放），實驗也因此被迫中斷，這對於依賴實驗數據進行研究的我來說，無疑是一次巨大的打擊。這段期間，我只能依賴文獻研究和數據分析來推進我的博士論文工作，儘管如此，進展遠不如親自操作實驗來得直接和有效。而封城措施的持續，也讓我的家庭生活和學業壓力倍增。身處異國他鄉，我不僅需要適應英國疫情下的新常態，還要應對學術研究的停滯和進度壓力。這段時間，我也開始尋求其他替代方案，與指導教授保持密切聯繫，嘗試通過遠端合作（包含跨國合作）以繼續推動研究進展。

隨著疫情的逐步緩解，實驗室終於重新開放。新一波的挑戰卻也接踵而至——英國脫歐導致後續供應鏈中斷，實驗室耗材的取得變得困難。許多來自歐盟的研究耗材和試劑因為邊境管制和貿易協議的變更，無法如期運達，這使得我的實驗進展再度受到嚴重影響。供應鏈問題帶來的延誤，意味著我必須重新調整實驗計劃，甚至需要尋找替代材料或更改實驗設計以適應新的環境。這樣的局面讓我感到壓力倍增，因為每一次的延誤都意味著需要更多的時間來完成原本預定的研究目標。在面對這些挑戰時，我積極與供應商溝通，探索各種可能的解決方案，並尋求學校和其他研究機構的幫助，最終克服了耗材短缺的困境。

總結來說，這段四年在牛津大學進修博士學位，是一段充滿挑戰和成就的歷程。無論是疫情帶來的封城和實驗室關閉，還是英國脫歐造成的供應鏈中斷，我都以堅韌的精神和靈活的應對策略克服了重重困難，最終成功地完成了博士學位。這些寶貴的經驗，將成為我未來在醫學研究和臨床實踐中繼續前行的動力。

建議事項

1. **實驗技巧訓練前置作業**：在出發進修之前，職曾於國防醫學院基礎學科實驗室短暫進行相關訓練，以熟習實驗室技巧。職建議可以鼓勵學員在出發前，進行適當的實驗室實習，特別是與預計進行的研究相關的技術操作（如 PCR、細胞培養、Western Blot 等）以及實驗設計與問題解決的培養，確保醫師背景的學員能夠更快適應新環境。
2. **生物資訊技能培訓**：未來的研究主軸將越來越依賴生物資訊技術，因此若學員進修領域為生物資訊與大數據相關範疇，應提供學員基礎的培訓，尤其是 R 程式語言的學習。職建議在進修開始前，如有需要，可視情況安排基礎 R 語言的學習課程，內容涵蓋數據處理、統計分析及簡單的可視化工具使用，為未來的高通量研究奠定基礎。
3. **國醫中心圖資系統權限**：在論文撰寫階段，能夠旁徵博引大量文獻，藉以觸類旁通是十分重要的一環。國醫中心圖書館線上館藏資源豐富，其期刊論文檢索功能完善，對於臨床或基礎學者能夠提供健全的研究環境。端此，職懇請鈞長考慮此方案之可行性，即臨床醫師在離開原服務單位出國進修之後，能夠「預設」保留國醫中心圖書館查閱、檢索、以及期刊論文查詢/下載的權限，以利後續研究進行。（註：職後續已向國醫中心電子資源系統承辦人員申請並獲得相關使用權限）。

本次出國進修報告內容俟返國後，於 114 年 4 月 18 日 0730 時，假三軍總醫院胸腔外科科務會議進行報告。

附件

一、獲獎證明



二、參考資料

1. Kamangar F, Nasrollahzadeh D, Safiri S, et al. The global, regional, and national burden of oesophageal cancer and its attributable risk factors in 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology* 2020;5(6):582-97. doi: 10.1016/s2468-1253(20)30007-8
2. Arnold M, Ferlay J, van Berge Henegouwen MI, et al. Global burden of oesophageal and gastric cancer by histology and subsite in 2018. *Gut* 2020;69(9):1564-71. doi: 10.1136/gutjnl-2020-321600
3. Global Burden of Disease Cancer C, Fitzmaurice C, Abate D, et al. Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-Years for 29 Cancer Groups, 1990 to 2017: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. *JAMA Oncol* 2019;5(12):1749-68. doi: 10.1001/jamaoncol.2019.2996
4. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, et al. Cancer Statistics, 2021. *CA Cancer J Clin* 2021;71(1):7-33. doi: 10.3322/caac.21654
5. Eusebi LH, Cirota GG, Zagari RM, et al. Global prevalence of Barrett's oesophagus and

- oesophageal cancer in individuals with gastro-oesophageal reflux: a systematic review and meta-analysis. *Gut* 2021;70(3):456-63. doi: 10.1136/gutjnl-2020-321365
6. Sharma P, Shaheen NJ, Katzka D, et al. AGA Clinical Practice Update on Endoscopic Treatment of Barrett's Esophagus With Dysplasia and/or Early Cancer: Expert Review. *Gastroenterology* 2020;158(3):760-69. doi: 10.1053/j.gastro.2019.09.051
 7. Peters Y, Al-Kaabi A, Shaheen NJ, et al. Barrett oesophagus. *Nat Rev Dis Primers* 2019;5(1):35. doi: 10.1038/s41572-019-0086-z
 8. Desai TK, Krishnan K, Samala N, et al. The incidence of oesophageal adenocarcinoma in non-dysplastic Barrett's oesophagus: a meta-analysis. *Gut* 2012;61(7):970-6. doi: 10.1136/gutjnl-2011-300730
 9. Hvid-Jensen F, Pedersen L, Drewes AM, et al. Incidence of adenocarcinoma among patients with Barrett's esophagus. *N Engl J Med* 2011;365(15):1375-83. doi: 10.1056/NEJMoa1103042
 10. Peters Y, Honing J, Kievit W, et al. Incidence of Progression of Persistent Nondysplastic Barrett's Esophagus to Malignancy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2019;17(5):869-77 e5. doi: 10.1016/j.cgh.2018.08.033
 11. Singh S, Manickam P, Amin AV, et al. Incidence of esophageal adenocarcinoma in Barrett's esophagus with low-grade dysplasia: a systematic review and meta-analysis. *Gastrointest Endosc* 2014;79(6):897-909 e4; quiz 83 e1, 83 e3. doi: 10.1016/j.gie.2014.01.009
 12. Rastogi A, Puli S, El-Serag HB, et al. Incidence of esophageal adenocarcinoma in patients with Barrett's esophagus and high-grade dysplasia: a meta-analysis. *Gastrointest Endosc* 2008;67(3):394-8. doi: 10.1016/j.gie.2007.07.019
 13. Visrodia K, Singh S, Krishnamoorthi R, et al. Magnitude of Missed Esophageal Adenocarcinoma After Barrett's Esophagus Diagnosis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Gastroenterology* 2016;150(3):599-607 e7; quiz e14-5. doi: 10.1053/j.gastro.2015.11.040
 14. Organ SL, Tsao MS. An overview of the c-MET signaling pathway. *Ther Adv Med Oncol* 2011;3(1 Suppl):S7-S19. doi: 10.1177/1758834011422556
 15. Ma G, Deng Y, Chen W, et al. The Prognostic Role of MET Protein Expression Among Surgically Resected Non-small Cell Lung Cancer Patients: A Meta-Analysis. *Front Oncol* 2019;9:1441. doi: 10.3389/fonc.2019.01441
 16. Motomura H, Nozaki Y, Onaga C, et al. High Expression of c-Met, PKCλ and ALDH1A3 Predicts a Poor Prognosis in Late-stage Breast Cancer. *Anticancer Res* 2020;40(1):35-52. doi: 10.21873/anticancer.13924
 17. Yang Y, Wang C, Dai C, et al. Amplification and expression of c-MET correlate with poor prognosis of patients with gastric cancer and upregulate the expression of PDL1. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2021;53(5):547-57. doi: 10.1093/abbs/gmab026
 18. Catenacci DV, Ang A, Liao WL, et al. MET tyrosine kinase receptor expression and amplification as prognostic biomarkers of survival in gastroesophageal adenocarcinoma. *Cancer* 2017;123(6):1061-70. doi: 10.1002/cncr.30437
 19. Ren Y, Cao B, Law S, et al. Hepatocyte growth factor promotes cancer cell migration and angiogenic factors expression: a prognostic marker of human esophageal squamous cell carcinomas.

Clin Cancer Res 2005;11(17):6190-7. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-04-2553

20. Xiang Y, Liang B, Jiang Y, et al. MET transcriptional regulator/serine peptidase inhibitor kunitz type 1 panel operating through HGF/c-MET axis as a prognostic signature in pan-cancer. Cancer Med 2021 doi: 10.1002/cam4.3834

21. Xu Y, Peng Z, Li Z, et al. Expression and clinical significance of c-Met in advanced esophageal squamous cell carcinoma. BMC Cancer 2015;15:6. doi: 10.1186/s12885-014-1001-3

22. Herrera LJ, El-Hefnawy T, Queiroz de Oliveira PE, et al. The HGF receptor c-Met is overexpressed in esophageal adenocarcinoma. Neoplasia 2005;7(1):75-84. doi: 10.1593/neo.04367

23. Chen J, Jiang Y, Chang TS, et al. Multiplexed endoscopic imaging of Barrett's neoplasia using targeted fluorescent heptapeptides in a phase 1 proof-of-concept study. Gut 2021;70(6):1010-13. doi: 10.1136/gutjnl-2020-322945

24. de Jongh SJ, Voskuil FJ, Schmidt I, et al. C-Met targeted fluorescence molecular endoscopy in Barrett's esophagus patients and identification of outcome parameters for phase-I studies. Theranostics 2020;10(12):5357-67. doi: 10.7150/thno.42224

25. Fels Elliott DR, Perner J, Li X, et al. Impact of mutations in Toll-like receptor pathway genes on esophageal carcinogenesis. PLoS Genet 2017;13(5):e1006808. doi: 10.1371/journal.pgen.1006808