

惡性卵巢癌新型NK細胞療法- 安捷倫RTCA助力Wistar 發現標靶Siglec-7單抗調節NK細胞抗腫瘤活性



新型單株抗體

目前標靶PD-1以及CTLA-4的T細胞免疫檢查點抑制劑已經取得良好的抗腫瘤效果，但是卵巢癌這種惡性程度比較高的腫瘤對目前的免疫檢查點療法效果有限。腫瘤細胞被自然殺手細胞（NK）攻擊時，可通過抑制細胞膜上糖蛋白的回收速率，快速堆積新生成的唾液酸化聚糖配體，增強其與NK細胞表面免疫抑制性受體—Siglec-7作用，進而抑制NK細胞殺傷活性[2]。因此標靶NK細胞Siglec-7的免疫檢查點抑制劑有機會是一些腫瘤的重要治療靶點，特別是本身微環境中唾液酸化水準較高的卵巢癌（ovarian cancers，OC）。

來自美國 Wistar 研究所的 Weiner 博士和 Mohamed Abdel-Mohsen 博士團隊合作設計出了新型單株抗體，這種抗體通過抑制受體 Siglec-7 與自然殺手細胞（NK）結合，進而啟動免疫系統對抗癌症。該文獻“Siglec-7 glyco-immune binding mAbs or NK cell engager biologics induce potent antitumor immunity against ovarian cancers”發佈在最新一期的SCIENCE ADVANCES。

本文主要介紹了兩種治療方法，我們一起通過Figures來解析整個文章吧！

Anti-Siglec-7 mAb提高NK細胞抗腫瘤效力，與PD-1抑制劑起到協同抗腫瘤作用

體外實驗通過抗體特異性篩選，從DB7.1, DB7.2和DB7.7種篩選出DB7.2進行後續研究。在xCELLigence RTCA上驗證了DB7.2提高了Effect cell PBMC/NK對OC cell line: OVCAR10, OVISE-FSHR, PEO4和TOV-21G 的毒殺作用，結果表明抑制Siglec-7均能顯著提升效應細胞的腫瘤毒殺作用 (Fig2)。

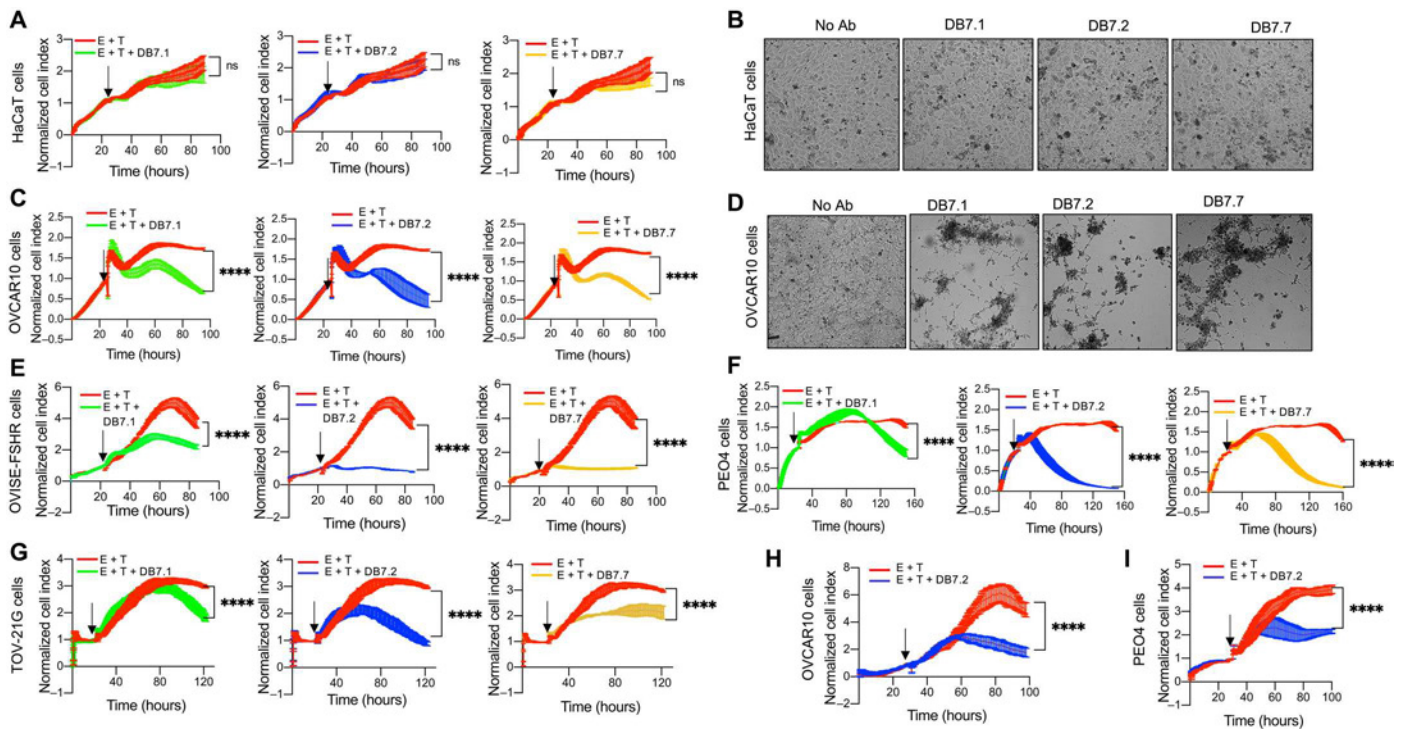


Figure2. 體外anti-Siglec-7 mAbs提升PBMC的毒殺作用

另外研究者利用 FC blockade 以及 FC mutation 證明 DB7.2 發揮作用是通過抗體特異性識別來啟動免疫毒殺 (Fig3)。

同時發現對於 BRCA2 mutation 和 PARPi 具耐受性的卵巢癌細胞系 PEO4 細胞，DB7.2 也有效的啟動NK細胞的抗腫瘤活性 (Fig3)。文獻也驗證了其他 BRCA1, BRCA2, AKT2, TP53 等免疫逃逸突變的細胞系，Anti-Siglec-7 mAb 均能啟動NK 對這些靶細胞的毒殺。

此外，現有臨床資料表明OC作為對免疫檢查點阻斷療法反應不明顯的癌症之一，接受免疫檢查點抑制劑治療後不容易產生持久的反應。也有研究表明組合療法可以提升OC患者對免疫療法的反應，因此研究者使用xCELLigence RTCA檢測證明了DB7.2結合目前廣泛應用的PD-1單抗可進一步增強抗OC腫瘤作用(Fig3)。

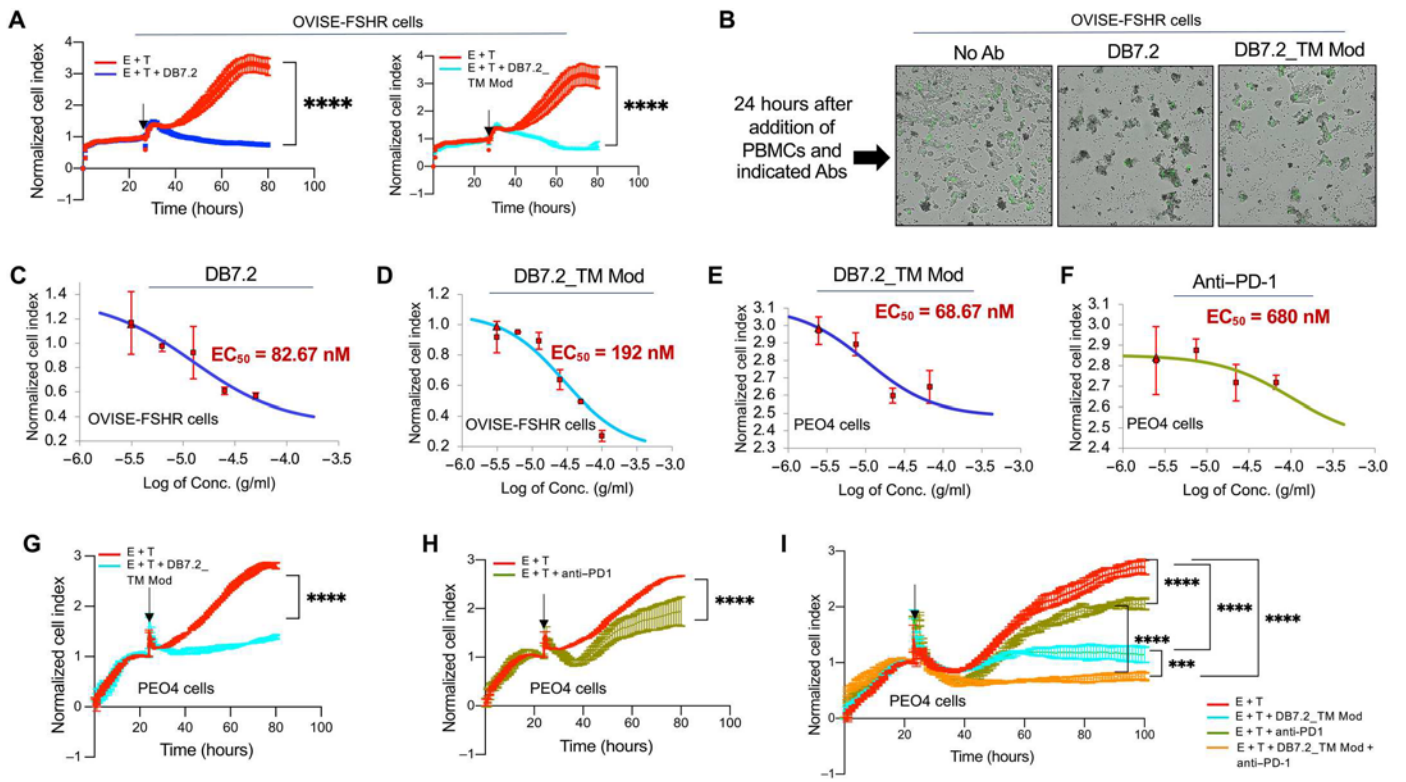


Figure 3. Anti-Siglec-7 mAb 和 anti-PD-1 mAb 聯用進一步提高體外PBMC的殺傷作用

體內藥效研究在小鼠體內表達 anti-Siglec-7 mAb DB7.2，隨後接種OC腫瘤細胞，利用PBMC作為effect cells進行抗腫瘤實驗。結果表明體內表達DB7.2抗體可以有效阻止腫瘤的生長並提高小鼠生存率和延長生存時間，因此 anti-Siglec-7 mAb 有望成為治療 OC 的潛在藥物(Fig4)。

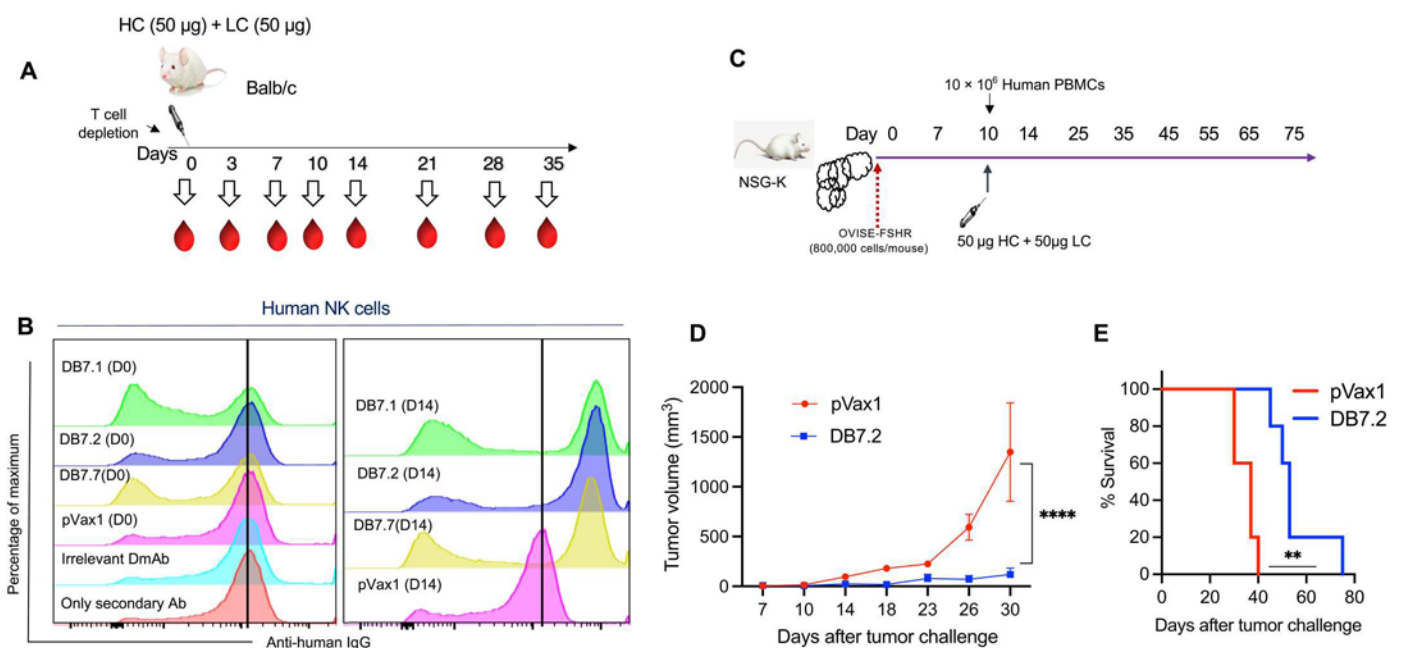


Figure4. 小鼠體內表達Siglec-7 抗體有效組織OC腫瘤生長

研究者將標靶Siglec-7單抗DB7.2的scFV和標靶OC腫瘤相關抗原FSHR單抗D2AP11的scFV結合設計了雙標靶特異性抗體DB7.2xD2AP11 NKCE，並通過FSHR陰性的細胞驗證了NKCE的off-target安全性（Fig5）。

然而FSHR陽性的OC細胞株OVISe, OVCAR3-FSHR, CaOV3, Kuramochi-FSHR和PEO4通過xCELLigence RTCA檢測，在DB7.2xD2AP11 NKCE存在下被PBMC有效殺傷（Fig6）。

老鼠體內實驗也證明DB7.2xD2AP11 NKCE可以有效抑制腫瘤生長並延長小鼠生存時間。

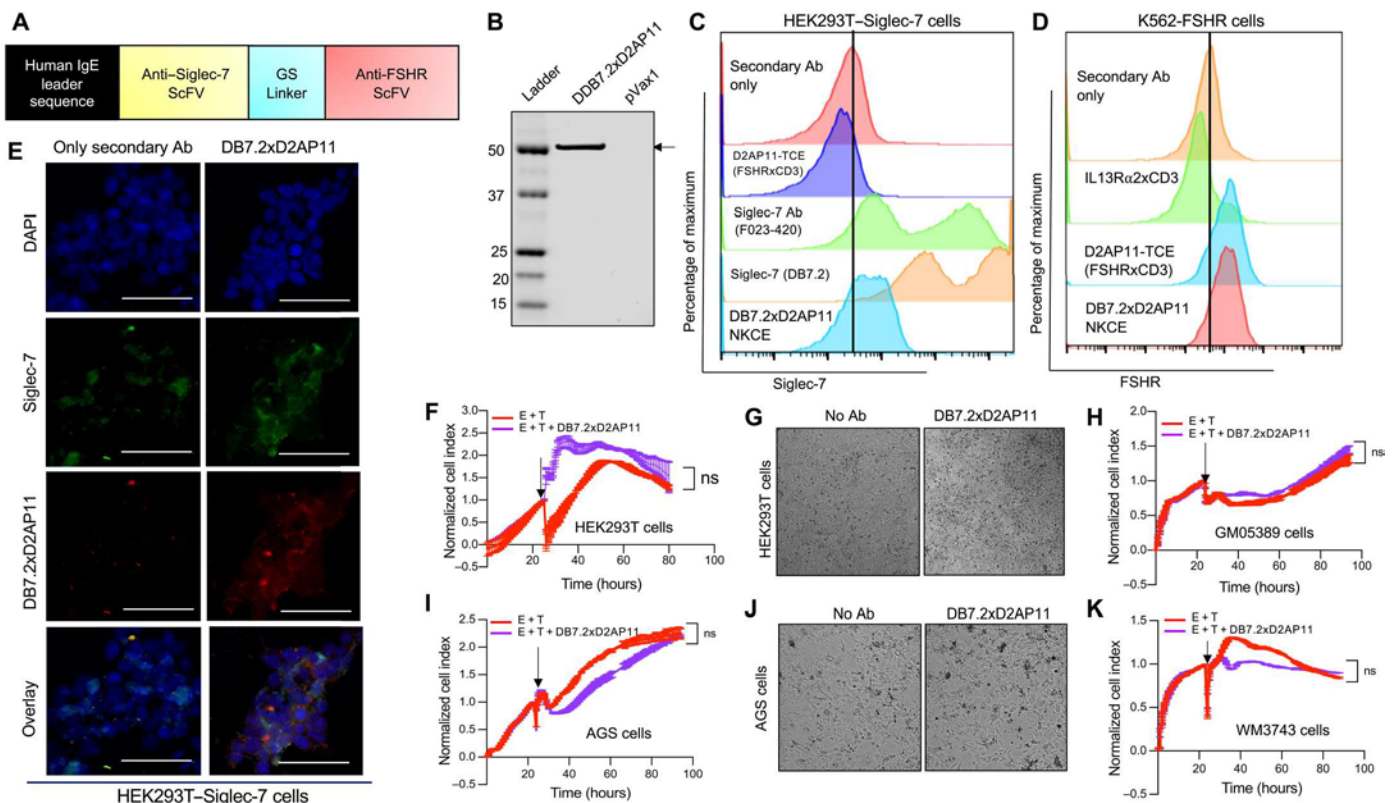


Figure 5. 構建標靶NK細胞的Siglec-7和OC細胞的FSHR雙標靶特異性抗體DB7.2xD2AP11 NKCE

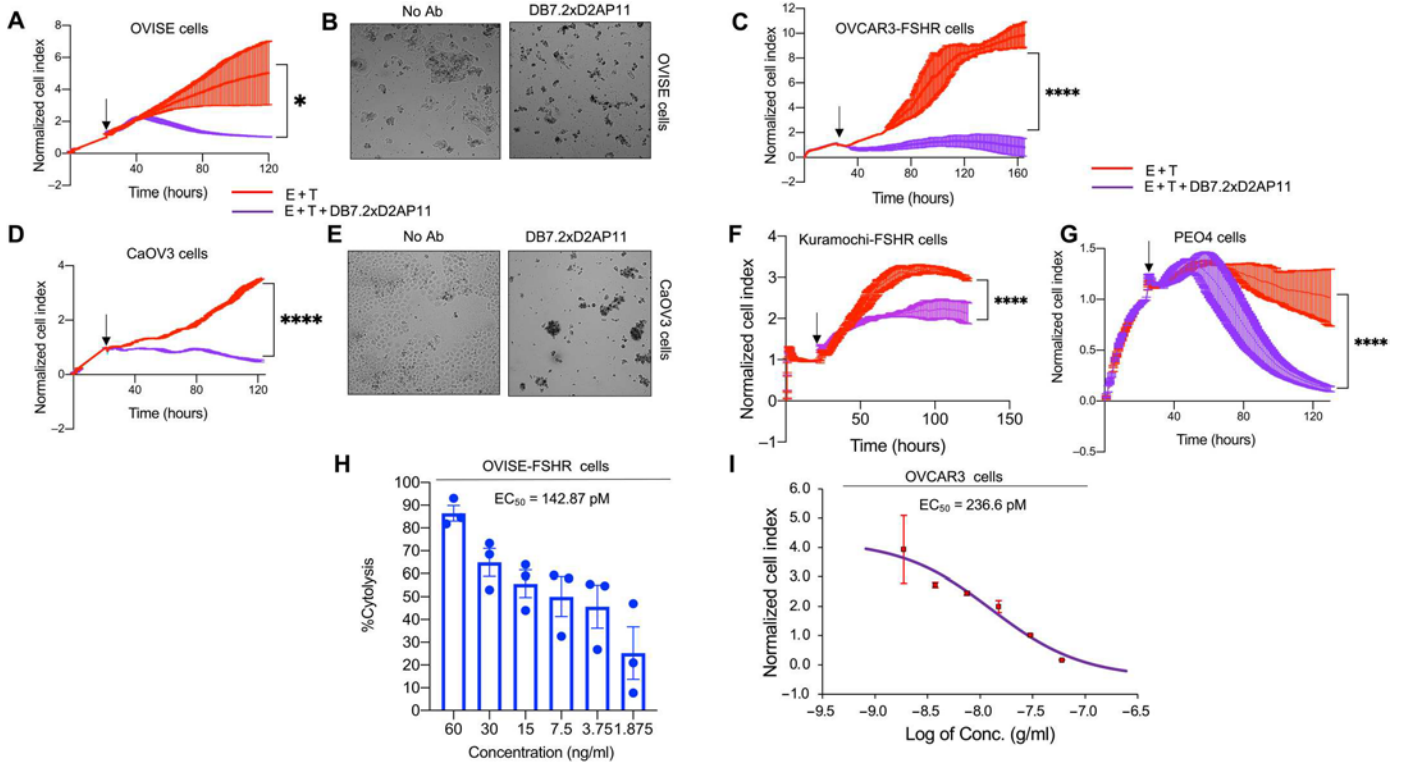


Figure 6. DB7.2xD2AP11 NKCE体外增强效应细胞杀伤OC细胞系

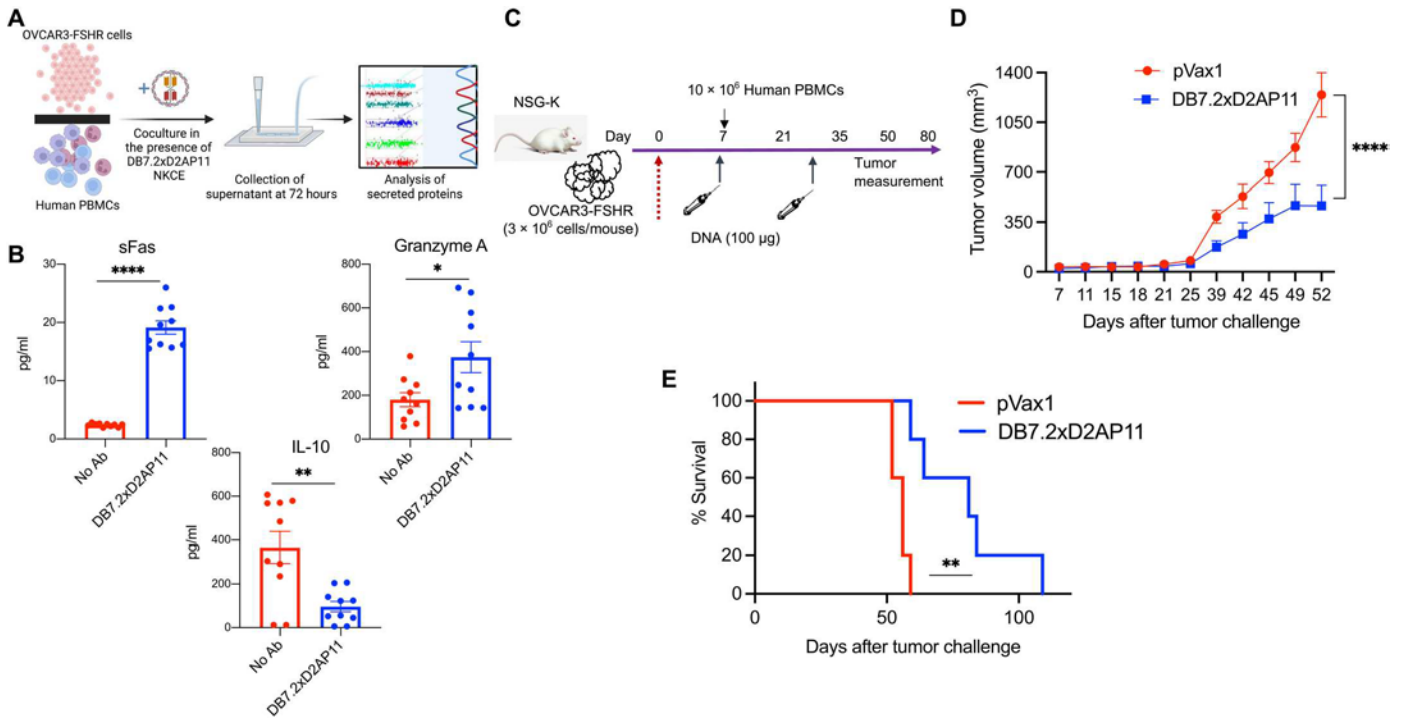


Figure 7. DB7.2xD2AP11 NKCE 体内诱导杀伤相关因子分泌并影响肿瘤的生长

總結

兩種標靶Siglec-7 技術 (mAbs 和 NKCEs) 都展現了活化和啟動 NK 細胞、殺傷腫瘤和延長動物存活時間的效果。這些標靶特異性表明腫瘤的 Siglec表達可以被免疫療法應用對於未來靶向 Siglec 的抗腫瘤研究提供了一個未來應用的可能。

第一作者 Devivasha Bordoloi 博士提到：“我們在體外和體內模型中觀察到不止一種而是兩種可以標靶 NK 細胞控制卵巢癌的方法。這項研究前景看好，我很期待能將這些研究推進到下一步。”

整個研究利用了Agilent xCELLigence RTCA平臺檢測標靶細胞的殺傷。基於電阻的技術可以實現無標記的靈敏檢測，同時儀器內置培養箱保證在最適的環境下實現全自動的細胞毒殺檢測。這種簡便方法已經被廣泛用於CGT治療的研發和品管，有效協助推動CGT藥物的發展。

同時研究者為了直觀的觀察毒殺後標靶細胞的情況，將RTCA電阻檢測與顯微成像結合，在RTCA檢測結束後以成像法觀察孔中的細胞。而安捷倫RTCA eSight 儀器直接將阻抗和成像合二為一，阻抗檢測的同時可實現明視野和紅綠藍三色螢光的多參數成像，以更直觀的角度捕捉細胞的即時活動變化，並在抗體藥的ADCC、抗體內吞、中和細胞毒性以及增殖抑制的檢測中提供更靈敏直觀的檢測方法學。



RTCA S16

- 16 well
- 經濟型



RTCA DP

- 16 well x 3
- Invasion Assay



RTCA SP

- 96 well
- 生技公司入門款



RTCA MP

- 96 well x 6
- 高通量



RTCA eSight

- 96 well x 5
- 同時有影像數據

參考文獻

1. Siglec-7 glyco-immune binding mAbs or NK cell engager biologics induce potent antitumor immunity against ovarian cancers. 2023. Science advances, 9(44), eadh4379.
2. Modulation of Siglec-7 Signaling Via In Situ-Created High-Affinity cis-Ligands. ACS Central Science 2021 7 (8), 1338-1346.
3. Wistar Scientists Engineer New NK cell Engaging Immunotherapy Approaches to Target and potentially Treat recalcitrant Ovarian Cancer.

