



新乡医学院2023年学术活动月优秀成果展示

姓名：杨赞 院系：基础医学院生物化学与分子生物学系

杨赞，博士，副教授，硕士研究生导师，河南省高校科技创新人才，河南省高校青年骨干教师，河南省青年人才托举工程入选者，河南省生物化学与分子生物学会秘书长，中国研究型医院学会生物治疗学专业委员会委员，新乡医学院太行青年学者。现研究方向为乳腺癌的新型免疫治疗药物开发及耐药机制研究。主持有国家自然科学基金1项，省部级项目2项，省厅级其他科研项目2项。近五年以第一作者或通讯作者发表SCI论文15篇，总影响因子超过70分，获得国家发明专利授权2项。



项目介绍

项目名称：靶向EGFR和CD47的新型双功能抗体融合蛋白的抗肿瘤作用及效应机制研究

项目来源：国家自然科学基金青年项目

项目编号：81703054

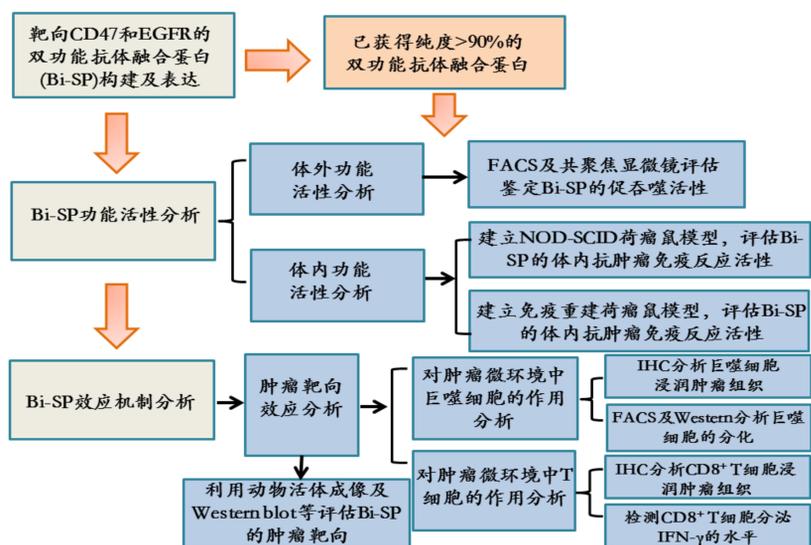
项目摘要：开发可同时靶向肿瘤特异性抗原和免疫检查点的双功能抗体是肿瘤生物治疗中最具发展潜力的策略之一。最新研究表明，CD47亦是一个重要的免疫检查点。抗EGFR抗体已用于EGFR阳性的转移性结肠癌的临床治疗，但仍有35%-40%的患者对其不反应。在本研究前期工作中，我们首次构建了靶向EGFR和CD47的双功能抗体融合蛋白Bi-SP，以期其在特异性靶向过表达EGFR肿瘤细胞的同时激活肿瘤微环境中巨噬细胞和CD8+ T细胞，以达到增强抗肿瘤免疫反应的目的。本研究中，我们将利用体外吞噬试验并建立两种肿瘤异种移植小鼠模型评估Bi-SP的抗肿瘤效果，进一步通过研究其对肿瘤微环境中肿瘤相关巨噬细胞分化和激活的作用以及对CD8+ T细胞的激活等方面来阐释其作用机制。本课题旨在研究将新型抗EGFR抗体和CD47拮抗剂结合制成双功能抗体的抗肿瘤效果并阐明其效应机制，以期为过表达EGFR肿瘤的生物治疗提供一个新策略。

项目研究内容与技术路线

研究内容

- 新型双功能抗体融合蛋白Bi-SP的设计、载体构建及表达纯化；
- Bi-SP的体外生物学功能研究；
- Bi-SP的体内生物学功能研究；
- Bi-SP的抗肿瘤效应机制分析。

技术路线



课题总体技术路线图

研究进展及已取得的研究结果

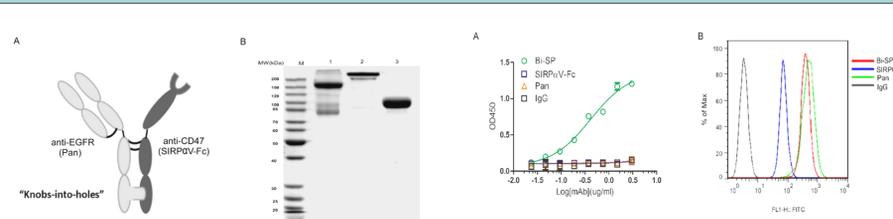


图1 构建及表达Bi-SP。A. 双功能抗体融合蛋白的分子结构图。B. 利用SDS-PAGE分析Bi-SP的纯度。(泳道1: Bi-SP, 泳道2: Pan, 泳道3: SIRPαV-Fc)

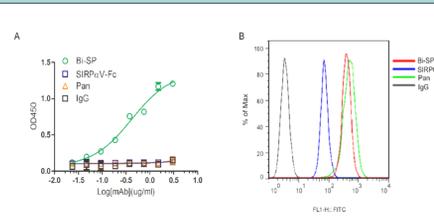


图2 ELISA及FACS试验证实Bi-SP可同时靶向EGFR和CD47。A. ELISA试验分析Bi-SP对EGFR和CD47的双结合效应。B. 利用FACS试验分析Bi-SP可同时结合A431细胞表面的EGFR和CD47。

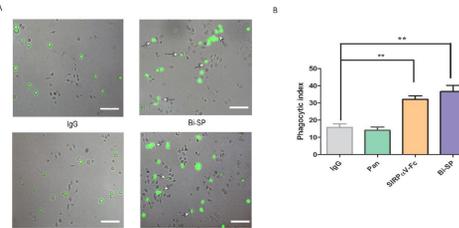


图3 体外实验表明Bi-SP促进了巨噬细胞对A431细胞的吞噬。A. 将Bi-SP加入CFSE标记的A431细胞和巨噬细胞共培养的培养基后，在200倍放大的显微镜下观察吞噬效果。B. 对Bi-SP的促吞噬效果进行统计学分析。

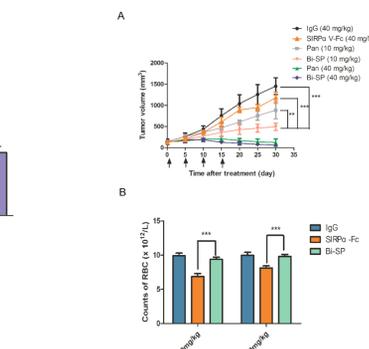


图4 体内实验结果表明Bi-SP有着更强的抗肿瘤活性及较低的毒性。A. Bi-SP处理后，测定A431肿瘤生长曲线。B. Bi-SP处理后，小鼠的红细胞计数分析。

结论或项目创新点

- 本项目首次构建了以EGFR和CD47为靶点的新型双功能抗体融合蛋白并对此药物在NOD-SCID免疫缺陷鼠上的抗肿瘤效应进行分析，并深入研究其对肿瘤微环境中巨噬细胞及T细胞等免疫效应细胞及细胞因子的作用，阐释其效应机制。
- 本项目意在探讨将肿瘤靶向导弹（抗EGFR抗体）和新型免疫治疗智能导弹（CD47拮抗剂）连接以增强抗肿瘤免疫应答的新方法。

取得的研究成果

发表论文：

- Frontiers in Immunology, 2021, 12: 686031. (通讯作者)
- Cell Stress and Chaperones, 2022, 10:12192. (通讯作者)
- Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2020, 2020: 9867595. (第一作者)
- Frontiers in Pharmacology, 2018, 11: 1392. (第一作者)

主持项目：

- 国家自然科学基金青年项目 (81703054)
- 河南省高校科技创新人才项目 (22HASTIT049)
- 河南省国际科技合作项目 (23102520027)

发明专利：

- 国家发明专利，2019.06，授权专利号：ZL 201610966053.8
- 国家发明专利，2019.11，授权专利号：ZL 201810257586.8