

# Siglec-15 的生物学特征及其在介导肿瘤免疫中的作用

杨培伟\*, 刘光伟, 赵文霞

河南中医药大学第一附属医院 脾胃肝胆科, 河南 郑州 450000

**【摘要】** 唾液酸结合免疫球蛋白样凝集素 15(Siglec-15)是在巨噬细胞上表达的免疫抑制因子,在肿瘤相关巨噬细胞(TAM)介导的 T 细胞免疫中发挥重要作用。Siglec-15 具有特殊的生物学特征,具有诱导肿瘤免疫逃逸的作用,并可调节肿瘤微环境(TME)免疫以及重置或重编码 TME 中抗肿瘤免疫等方面的作用。本文就 Siglec-15 影响恶性肿瘤免疫的研究进展综述如下。

**【关键词】** Siglec-15; 生物学特征; 肿瘤免疫; 免疫逃逸; 肿瘤微环境

## Biological characteristics of Siglec-15 and its role in mediating tumor immunity

Yang Peiwei\*, Liu Guangwei, Zhao Wenxia

The Department of Hepatology and Spleen-Stomach, The First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, Henan, China

\*Corresponding author: Yang Peiwei, E-mail: 397241708@qq.com

**【Abstract】** Sialic acid-binding immunoglobulin-like lectin 15 (Siglec-15) is an immunosuppressive factor expressed on macrophages and plays an important role in T-cell immunity mediated by tumor associated macrophage (TAM). Siglec-15 has special biological characteristics, has the effect of inducing tumor immune escape, and can regulate the role of anti-tumor immunity in tumor microenvironment (TME). In this paper, the research progress of Siglec-15 affecting malignant tumor immunity is summarized as follows.

**【Key words】** Siglec-15; Biological characteristics; Tumor immunity; Immune escape; Tumor microenvironment

肿瘤的发生发展与免疫的关系密不可分,肿瘤细胞和肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中的相关细胞可通过分泌或表达各种信号分子,作用于免疫细胞的免疫检查点,发挥抑制或促进免疫反应的作用。TME 中的肿瘤细胞免疫逃逸机制具有高度异质性,而这种固有的基因组不稳定性有助于转移性肿瘤中的肿瘤细胞逃避细胞毒性药物或靶向药物的作用<sup>[1]</sup>。伊匹木单抗是一种能有效阻滞细胞毒性 T 淋巴细胞抗原-4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4)的单克隆抗体,其作为抗肿瘤免疫药物,开启了抗肿瘤治疗的新篇章<sup>[2-3]</sup>。免疫疗法作为继手术、放疗和化疗之后的癌症治疗方法,为晚期肿瘤患者临床治愈提供了希望<sup>[4-9]</sup>。以程序性死亡-1(programmed death-1, PD-1)/PD-1 配体 1(programmed death ligand-1, PD-L1)

和 CTLA-4 抗体为代表的免疫检查点抑制剂,可负性调节 T 细胞免疫功能,在肿瘤免疫治疗中取得了不错的疗效<sup>[10-11]</sup>。然而,仍有很多患者因为固有或获得性耐药等<sup>[12-13]</sup>问题出现有效应答率低的现象,导致治疗效果不理想。因此,寻找调节免疫抑制 TME 的新靶点来弥补 PD-1/PD-L1 和 CTLA-4 抗体的不足是抗肿瘤药物研发的一个重要研究方向。

CD33 相关的唾液酸结合免疫球蛋白样凝集素(sialic acid-binding immunoglobulin-like lectin, Siglec)是与一系列唾液聚糖配体结合的模式识别免疫受体,其作为抑制自身免疫反应的自相关分子模式(self associated molecular patterns, SAMPs)起作用。Siglec 家族是已知最大的脊椎动物凝集素族,可识别唾液基化聚糖,最初在免疫细胞上被发现,可参与聚糖识别与免疫调节<sup>[14]</sup>。Siglec 在正常 T 细胞上的表达水平非常低。近年来,越来越多的研究发现 Siglec 成员在肿瘤免疫抑制中发挥重要作用<sup>[15-17]</sup>。例如,在自然杀伤细胞和 T 细胞上表达的 Siglec-7 和 Siglec-9,以及肿瘤相关巨噬细胞(tumor associated macrophage, TAM)上的 Siglec-9,具有促进肿瘤细胞免疫逃逸,有助于肿瘤细胞逃避“免

基金项目:国家自然科学基金(82003994);河南省中医药科学研究专项课题(2019JDZX2034);中国博士后科学基金第 71 批面上项目(2022M711082)

\*通信作者:杨培伟, E-mail: 397241708@qq.com

疫检查点”<sup>[17]</sup>。糖蛋白 CD24 是一种新的“don't eat me”信号,它通过与巨噬细胞上的 Siglec-10 结合来阻止癌细胞的吞噬作用<sup>[15]</sup>。在巨噬细胞上表达的 Siglec-15 是一种关键的免疫抑制因子,在 TAM 介导的 T 细胞免疫中发挥重要作用,被认为是癌症免疫治疗正常化的潜在靶点<sup>[18-19]</sup>。

### 1 Siglec-15 的生物学特征

Siglec-15 是 Siglec 家族成员,最初作为 I 型跨膜蛋白归入 Siglec 家族,由 2 个免疫球蛋白(Ig)样结构域组成细胞外结构域,1 个包含赖氨酸残基的跨膜结构域,以及短细胞质尾组成,主要在免疫细胞上表达,可特异性识别唾液酸化聚糖并调节免疫细胞功能<sup>[20]</sup>。与大多数其他 Siglec 家族成员不同,Siglec-15 主要在人脾脏和淋巴结的巨噬细胞和/或树突状细胞上表达,在整个脊椎动物的免疫系统中起着保守性调节作用<sup>[14]</sup>。Siglec-15 可以结合肿瘤唾液酸 Tn (sialyl thomsen-nouvelle, sTn) 抗原,通过其在跨膜结构域中的赖氨酸残基与激活适配器蛋白 DNAX 激活蛋白 12 (DNAX-activation protein 12, DAP12)、DAP10 和 Fc 受体共  $\gamma$  (the Fc receptor  $\gamma$ , FcR $\gamma$ ) 链结合,促进细胞活化,起到激活信号分子的作用。它也包含细胞质免疫感受器酪氨酸基序抑制基序样基序,称为免疫感受器-酪氨酸基序开关基序,通常介导抑制信号<sup>[21]</sup>。

Rina 等<sup>[22]</sup>研究发现,在 TAM 上表达的 Siglec-15 可能通过 DAP12 和脾酪氨酸激酶 (spleen tyrosine kinase, Syk) 途径,与肿瘤相关的唾液酸-Tn 抗原之间相互作用,增加单核细胞/巨噬细胞的转化生长因子 (transforming growth factor, TGF)- $\beta$  分泌。Ren 等<sup>[23]</sup>研究首次揭示 Siglec-15 的细胞外结构域由免疫球蛋白可变区和 2 型恒定区 (IgC2) 组成,其与 B7 基因家族成员表现出高度同源性 (>30%) 和相似的结构域组成。这些结果表明, Siglec-15 可能与 B7 家族具有相似的免疫调节功能,其中包括著名的免疫治疗生物标志物 PD-L1,具有持续抑制 T 细胞反应的能力<sup>[18, 23]</sup>。最近的研究也发现, Siglec-15 是一组细胞表面受体,通过其唾液酸结合 N-末端 Ig 样 V 型结构域,通过巨噬细胞的功能调节抑制 T 细胞反应,并可能导致 TME 中的免疫功能失调,成为潜在的免疫治疗靶标<sup>[17-18]</sup>。Siglec-15 被认为是一种新型免疫检查点抑制剂,与经典的免疫检查点抑制剂 PD-L1 相当的新型抗肿瘤靶标,但与 PD-L1 表达相互排斥,这表明 Siglec-15 可能作为新型的独立于 PD-1/PD-L1 通路的免疫正常化新靶点。对于对 PD-1/PD-L1 抗体无反应的患者,靶向 Siglec-15 可能是一种有效的替代疗法<sup>[18, 23-24]</sup>。而针对 Siglec-15 的人源化单克隆抗体 (抗 Siglec-15 mAb, NC318) 正在进行晚期或转移性实体瘤的 I / II 期临床研究 (NCT03665285)<sup>[25]</sup>,其安全性及有效性有待研究结果的发布。

### 2 Siglec-15 诱导肿瘤免疫逃逸

免疫逃逸的特征在于免疫系统无法去除转化的细胞,

是癌症的标志,而 Siglec-15 可能是代表介导癌症免疫逃逸的一种新途径。Hao 等<sup>[26]</sup>研究利用肿瘤微阵列上的 324 份非小细胞肺癌 (non-small cell lung carcinoma, NSCLC) 手术样本,采用多重免疫荧光染色和 PD-L1 研究 Siglec-15 表达与临床病理学特征和总生存期的相关性以及 TME 中与肿瘤浸润淋巴细胞 (tumor infiltrating lymphocyte, TIL) 的相关性,结果表明 Siglec-15 在腺癌中的表达显著高于鳞状细胞癌, Siglec-15 表达与基质中 CD8<sup>+</sup>T 细胞密度呈正相关, PD-L1 在肺鳞状细胞癌中的表达高于肺腺癌, Siglec-15 表达与早期 NSCLC 的预后无关。Wang 等<sup>[18]</sup>研究也显示,与野生型骨髓来源巨噬细胞 (bone marrow-derived macrophages, BMDM) 体外共培养时,  $\alpha$ -Siglec-15 能促进 PD-1 敲除的 T 细胞的反应。这些结果证实了 Siglec-15 是除 PD-L1/PD-1 通路之外肿瘤免疫逃逸的另一种重要机制,能够以独立于 PD-1/PD-L1 通路的方式抑制免疫应答,代表了一种新型免疫检查点抑制剂。Sun 等<sup>[27]</sup>研究也显示, Siglec-15 具有独特的分子特征,在巨噬细胞和癌细胞上显著表达,并且与 PD-L1 的表达相互排斥,表明它可能是 PD-L1 阴性患者的关键免疫逃逸机制。因此, Siglec-15 作为癌症免疫治疗领域的新参与者,可能代表一类新型免疫抑制剂,具有与 PD-L1 相关的肿瘤表达和不同的作用机制,对抗 PD-1 / PD-L1 耐药患者的治疗具有潜在研究意义。

### 3 Siglec-15 调节肿瘤微环境中的免疫

Siglec-15 在多种肿瘤类型和 TME 的多个免疫细胞中高表达,具有调节 TME 中免疫应答的独特能力。Wang 等<sup>[18]</sup>研究证实, Siglec-15 在人类癌细胞和/或肿瘤浸润巨噬细胞/骨髓细胞上过表达,在正常组织巨噬细胞上的表达较低,其通过巨噬细胞集落刺激因子 (macrophage colony-stimulating factor, M-CSF) 诱导和干扰素 (interferon, IFN) - $\gamma$  下调与 B7-H1 (PD-L1) 相互排斥,在体外和体内抑制抗原特异性 T 细胞反应。提示 Siglec-15 是独立于 B7-H1/PD-L1 轴的一种免疫调节途径,其条件消融或抗体阻断可扩增 TME 中的抗肿瘤免疫,进一步提出了免疫调节中这些途径的不同作用机制。Siglec-15 在慢性炎症和肿瘤生长的起始和效应阶段控制炎症反应具有潜在价值。M-CSF 可能是巨噬细胞上 Siglec-15 表达的主要诱导剂,并通过 M-CSF 上调巨噬细胞上的 Siglec-15 的表达,这可能代表巨噬细胞/骨髓细胞在先天性和适应性免疫启动时的初始负调节<sup>[28]</sup>。一系列体外和体内实验表明,巨噬细胞/骨髓来源的 Siglec-15 可通过调节细胞生长,促进抑制性巨噬细胞的存活和分化,从而抑制抗原特异性 T 细胞的免疫应答<sup>[18]</sup>。Siglec-15 与 T 细胞上的一个假定受体结合,以传递 T 细胞反应的抑制信号<sup>[29-30]</sup>,例如 Siglec-15 Fc 与 T 细胞的直接结合; Siglec-15 与人类癌细胞中过度表达的唾液酸 Tn 抗原结合,介导免疫反应<sup>[22]</sup>。与非肿瘤组织相比, Siglec-15 在肝癌组织中的表达显著上调, CD44 (一种介导肿瘤进展和转移的跨膜糖蛋白) 被肝癌细胞中 N-聚

糖上的  $\alpha 2,6$  连接的唾液酸修饰,高 Siglec-15 表达通过阻止溶酶体介导的降解与其相互作用,促进人肝细胞癌 Huh7 和 PLC/PRF/5 细胞的迁移,并通过激活 DUSP1 / MAPK 信号通路促进骨肉瘤进展<sup>[31-32]</sup>。

#### 4 Siglec-15 重置或重编码肿瘤微环境中的抗肿瘤免疫

癌症免疫疗法的最终目标是诱导长期记忆 T 细胞反应,则 TME 的其他成分可能正或负调节有效抗肿瘤免疫的诱导<sup>[33]</sup>。巨噬细胞充当清道夫,调节对病原体的免疫反应并维持组织稳态。代谢控制巨噬细胞分化、极化、动员和建立有效抗肿瘤反应的能力。在癌症中,TME 可以通过直接交换代谢物或通过细胞因子和其他信号介质来主动重编码巨噬细胞代谢<sup>[34]</sup>。前面所述,Siglec-15 在各种人类肿瘤组织中的 TAM 上表达。Takamiya 等<sup>[22]</sup>研究发现 Siglec-15 具有独特的监管机制和表达模式,M-CSF 可能是诱导巨噬细胞上 Siglec-15 表达的主要因素。利用 THP-1(人单核细胞白血病)细胞和 H157(人肺癌)细胞的共培养模型,模仿单核细胞/巨噬细胞与癌细胞之间的相互作用,结果显示 Siglec-15 识别肿瘤 sTn 抗原并转导 TAM 中 TGF- $\beta$  分泌增强的信号,表明巨噬细胞上的 Siglec-15 可能通过 TGF- $\beta$  介导的 TME 调节促进肿瘤进展。Siglec-15 中的激活结构域可以通过与 DAP12 复合物的形成来传递正信号以调节破骨细胞发生;在肿瘤中,Siglec-15 受到 IFN- $\gamma$  的负调节,从而影响效应 T 细胞介导的抗肿瘤免疫<sup>[35]</sup>。

#### 5 总结与展望

综上所述,Siglec-15 不是正常器官和组织生存和发展的必需分子,在肿瘤中是选择性表达,而在正常组织中几乎不存在;通过 TAM 相关的 Siglec-15 对肿瘤部位的 T 细胞反应具有强大的肿瘤诱导免疫抑制作用;在某些肿瘤模型中,阻断 Siglec-15 可以将免疫抑制性 TME 转化为炎症或使癌症免疫正常化。此外,Siglec-15 代表了来自 PD-1/PD-L1 轴的独立免疫调节途径,并在人类癌症中显示出与 PD-L1 的表达相互排斥,这表明它可能为抗 PD-L1 治疗耐药的患者提供一种新的治疗策略。总之,这些结果表明 Siglec-15 分子是癌症免疫治疗的一种新的潜在靶标。

Siglec-15 是 PD-L1 阴性肿瘤的主要免疫抑制剂,对目前已被批准的抗 PD-1/PD-L1 治疗具有耐药性,但目前的临床研究和实验研究尚不足,还有待更多的临床前研究和实验去验证。TME 的免疫抑制一直是癌症治疗的障碍之一,而肿瘤免疫正常化的提出为我们今后在肿瘤免疫的研究中发现更多的关键抑制分子(如 CTLA-4、Tim3 和 CD73 等)提供了新思路和新方法。

#### 参考文献

[1] SHARMA P, HU-LIESKOVAN S, WARGO JA, et al. Primary, Adaptive, and Acquired Resistance to Cancer Immunotherapy [J]. Cell, 2017, 168(4): 707-723.

[2] TANG J, YU JX, HUBBARD-LUCEY VM, et al. Trial watch: The clinical trial landscape for PD1/PDL1 immune checkpoint inhibitors [J]. Nat Rev Drug Discov, 2018, 17(12): 854-855.

[3] SCHMIDINGER M, SHARIAT SF, FAJKOVIC H. Dual immune checkpoint inhibition in metastatic renal cell carcinoma: Editorial re.: Nivolumab plus ipilimumab versus sunitinib for first-line treatment of advanced RCC: extended 4-year follow-up of the phase III CheckMate 214 trial [J]. ESMO Open, 2021, 6(1): 100035.

[4] GETTINGER S, HORN L, JACKMAN D, et al. Five-Year Follow-Up of Nivolumab in Previously Treated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: Results From the CA209-003 Study [J]. J Clin Oncol, 2018, 36(17): 1675-1684.

[5] GRINDA T, ANTOINE A, JACOT W, et al. Evolution of overall survival and receipt of new therapies by subtype among 20 446 metastatic breast cancer patients in the 2008-2017 ESME cohort [J]. ESMO Open, 2021, 6(3): 100114.

[6] GU R, LIU F, ZOU D, et al. Efficacy and safety of CD19 CAR T constructed with a new anti-CD19 chimeric antigen receptor in relapsed or refractory acute lymphoblastic leukemia [J]. J Hematol Oncol, 2020, 13(1): 122.

[7] LIU SV, RECK M, MANSFIELD AS, et al. Updated Overall Survival and PD-L1 Subgroup Analysis of Patients With Extensive-Stage Small-Cell Lung Cancer Treated With Atezolizumab, Carboplatin, and Etoposide (IMpower133) [J]. J Clin Oncol, 2021, 39(6): 619-630.

[8] REUSS JE, ANAGNOSTOU V, COTTRELL TR, et al. Neoadjuvant nivolumab plus ipilimumab in resectable non-small cell lung cancer [J]. J Immunother Cancer, 2020, 8(2): e001282.

[9] TANYI JL, BOBISSE S, OPHIR E, et al. Personalized cancer vaccine effectively mobilizes antitumor T cell immunity in ovarian cancer [J]. Sci Transl Med, 2018, 10(436): eaao5931.

[10] JIA L, ZHANG Q, ZHANG R. PD-1/PD-L1 pathway blockade works as an effective and practical therapy for cancer immunotherapy [J]. Cancer Biol Med, 2018, 15(2): 116-123.

[11] MATSON V, CHERVIN CS, GAJEWSKI TF. Cancer and the Microbiome-Influence of the Commensal Microbiota on Cancer, Immune Responses, and Immunotherapy [J]. Gastroenterology, 2021, 160(2): 600-613.

[12] BAGCHI S, YUAN R, ENGLEMAN EG. Immune checkpoint inhibitors for the treatment of cancer: clinical impact and mechanisms of response and resistance [J]. Annu Rev Pathol, 2021, 16: 223-249.

[13] SANMAMED MF, CHEN L. A paradigm shift in cancer immunotherapy: from enhancement to normalization [J]. Cell, 2018, 175(2): 313-326.

[14] ANGATA T, TABUCHI Y, NAKAMURA K, et al. Siglec-15: an immune system Siglec conserved throughout vertebrate evolution [J]. Glycobiology, 2007, 17(8): 838-846.

[15] BARKAL AA, BREWER RE, MARKOVIC M, et al. CD24

- signalling through macrophage Siglec-10 is a target for cancer immunotherapy [J]. *Nature*, 2019, 572(7769): 392-396.
- [16] VAN DE WALL S, SANTEGOETS KCM, VAN HOUTUM EJH, et al. Sialoglycans and Siglecs can shape the tumor immune microenvironment [J]. *Trends Immunol*, 2020, 41(4): 274-285.
- [17] STANCZAK MA, SIDDIQUI SS, TREFNY MP, et al. Self-associated molecular patterns mediate cancer immune evasion by engaging Siglecs on T cells [J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(11): 4912-4923.
- [18] WANG J, SUN J, LIU LN, et al. Siglec-15 as an immune suppressor and potential target for normalization cancer immunotherapy [J]. *Nat Med*, 2019, 25(4): 656-666.
- [19] KOBAYASHI S, NAKANO K, WATANABE E, et al. CADM1 expression and stepwise downregulation of CD7 are closely associated with clonal expansion of HTLV-I-infected cells in adult T-cell leukemia/lymphoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(11): 2851-2861.
- [20] MACAULEY MS, CROCKER PR, PAULSON JC. Siglec-mediated regulation of immune cell function in disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(10): 653-666.
- [21] CAO H, NEERINCX A, DE BONO B, et al. Sialic acid-binding immunoglobulin-like lectin (Siglec)-15 is a rapidly internalised cell-surface antigen expressed by acute myeloid leukaemia cells [J]. *Br J Haematol*, 2021, 193(5): 946-950.
- [22] TAKAMIYA R, OHTSUBO K, TAKAMATSU S, et al. The interaction between Siglec-15 and tumor-associated sialyl-Tn antigen enhances TGF-beta secretion from monocytes/macrophages through the DAP12-Syk pathway [J]. *Glycobiology*, 2013, 23(2): 178-187.
- [23] REN X. Immunosuppressive checkpoint Siglec-15: a vital new piece of the cancer immunotherapy jigsaw puzzle [J]. *Cancer Biol Med*, 2019, 16(2): 205-210.
- [24] CAO G, XIAO Z, YIN Z. Normalization cancer immunotherapy: blocking Siglec-15! [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2019, 4: 10.
- [25] Siglec-15: an attractive immunotherapy target [J]. *Cancer Discov*, 2020, 10(1): 7-8.
- [26] HAO JQ, NONG JY, ZHAO D, et al. The significance of Siglec-15 expression in resectable non-small cell lung cancer [J]. *Neoplasma*, 2020, 67(6): 1214-1222.
- [27] SUN J, LU Q, SANMAMED MF, et al. Correction: Siglec-15 as an emerging target for next-generation cancer immunotherapy [J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(13): 3804.
- [28] HAMILTON JA. Colony-stimulating factors in inflammation and autoimmunity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(7): 533-544.
- [29] CHANG L, CHEN YJ, FAN CY, et al. Identification of Siglec ligands using a proximity labeling method [J]. *J Proteome Res*, 2017, 16(10): 3929-3941.
- [30] BRIARD JG, JIANG H, MOREMEN KW, et al. Cell-based glycan arrays for probing glycan-glycan binding protein interactions [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 880.
- [31] LIU W, JI Z, WU B, et al. Siglec-15 promotes the migration of liver cancer cells by repressing lysosomal degradation of CD44 [J]. *FEBS Lett*, 2021, 595(17): 2290-2302.
- [32] LIM J, SARI-AK D, BAGGA T. Siglecs as therapeutic targets in cancer [J]. *Biology (Basel)*, 2021, 10(11): 1178.
- [33] PETITPREZ F, MEYLAN M, DE REYNIES A, et al. The tumor microenvironment in the response to immune checkpoint blockade therapies [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 784.
- [34] HOURANI T, HOLDEN JA, LI W, et al. Tumor associated macrophages: origin, recruitment, phenotypic diversity, and targeting [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 788365.
- [35] KANG FB, CHEN W, WANG L, et al. The diverse functions of Siglec-15 in bone remodeling and antitumor responses [J]. *Pharmacol Res*, 2020, 155: 104728.