

Chiptechnologie en celtherapie, een geslaagd huwelijk!

Celtherapie is dé nieuwe kankerbehandeling, op basis van de eigen immuuncellen van de patiënt. Chiptechnologie kan de celtherapie-workflow minder complex, goedkoper en korter maken.

Een nieuw wapen in de strijd tegen kanker

Immunotherapie wordt gezien als een nieuwe mijlpaal in de strijd tegen kanker, na de ontwikkeling van chemotherapie zo'n 40 jaar geleden. Er is echter wel een belangrijk verschil met chemotherapie en bestraling: met immunotherapie zouden kankerpatiënten volledig kunnen genezen van kanker, en dit voor alle types van kanker.

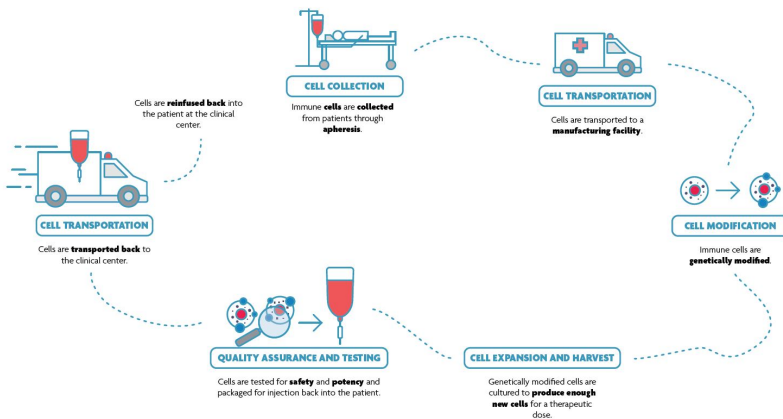
Er bestaan verschillende soorten immunotherapie. Bij een ervan worden de eigen immuuncellen (meer bepaald de T-cellen) van de patiënt gebruikt. Door deze cellen uit te rusten met een speciale receptor op het celoppervlak, zijn de cellen beter in staat om kankercellen te herkennen en ermee te binden. Een veel gebruikte receptor is de 'chimerische antigen-receptor (CAR)' en men spreekt dan van CAR T-cellen. Kankerbehandeling met CAR T-cellen was eerst beperkt tot kleine experimentele testen, maar sinds kort zijn de eerste therapieën op basis van deze cellen goedgekeurd door de Food and Drug Administration (FDA), voor de behandeling van twee soorten bloedkankers.

Maar er is niet alleen goed nieuws; celtherapie is een enorm dure behandeling, met een prijskaartje van enkele 100.000-en dollars. Dit komt onder andere door de complexe workflow en de vele regels en vereisten waaraan voldaan moet worden om een hoge kwaliteit en efficiëntie te garanderen.

De celtherapie-workflow

CAR T-celtherapie vertrekt van het eigen immuunsysteem van de patiënt. Daarom dus dat de workflow start met een bloedname bij de patiënt. Dit gebeurt typisch in een ziekenhuis en heeft tot doel om de witte bloedcellen – en vandaaruit de T-cellen – te isoleren. Vervolgens worden deze T-cellen naar een productie-eenheid gebracht waar ze gere-engineered worden zodat ze de CAR-receptor tot expressie brengen aan hun oppervlak en kankercellen beter zullen herkennen. De code voor de receptor wordt binnengebracht in de cellen met behulp van virale vectoren of elektroporatie.

De aangepaste T-cellen worden daarna in cultuur gebracht in bioreactoren en vermenigvuldigd, tot er honderden miljoenen van bestaan. Dit wordt dan terug toegediend aan de patiënt waar ze hun taak kunnen uitvoeren en de kanker bestrijden.



Schema van de CAR T-celtherapie workflow

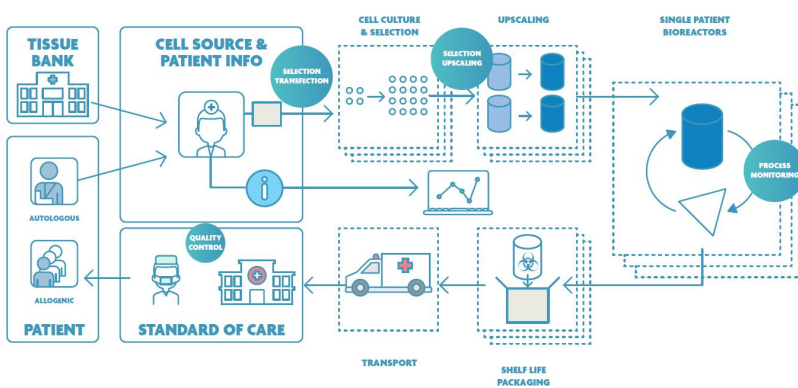
Naast nog vele biologische uitdagingen (bijwerkingen, efficiëntie voor vaste tumoren, nieuwe receptoren voor andere tumor-bindingsplaatsen, ...) is er ook nog veel verbetering mogelijk aan het productieproces. Dit is uiterst complex omdat het om een behandeling op maat van elke patiënt gaat, omdat het eindproduct bestaat uit levende cellen met een heel specifiek profiel, en omdat het startmateriaal heel verschillend is (afkomstig van elke individuele patiënt). En toch moet het eindproduct een uniforme kwaliteit hebben, veilig zijn in gebruik, en goed werken. Daar komt nog eens bij dat de logistieke keten zeer complex is: bloedname bij de patiënt, cryopreservatie van de cellen, transport naar een gespecialiseerd centrum waar de cellen nieuwe receptoren krijgen en vermenigvuldigd worden, om dan opnieuw getransporteerd en toegediend te worden aan de patiënt. En alles moet snel gaan: de patiënt heeft immers een ziekte die zich snel kan verspreiden in zijn lichaam. En naast dit alles moet de behandeling ook nog betaalbaar blijven.

Hoe chiptechnologie de workflow kan vereenvoudigen

De complexiteit, tijdsduur en kost van de CAR T-celtherapie workflow moet drastisch verbeterd worden wil deze behandeling echt doorbreken en dagdagelijks gebruikt worden in ziekenhuizen. Chiptechnologie biedt hiervoor een oplossing.

De chipindustrie heeft de laatste decennia zijn kunnen reeds bewezen met een exponentiele groei en met steeds betere consumentenproducten, tegen een lagere prijs, en dit dankzij het steeds verder verkleinen van de bouwblok, de transistor. Vandaag wordt deze industrie gekenmerkt door de hoogste standaard in precisie- en hoogvolume-productie.

Imec heeft reeds kunnen aantonen dat zijn halfgeleider-expertise en -infrastructuur ook nuttig is voor de life science industrie met mooie realisaties op het vlak van biochips gebaseerd op siliciumtechnologie, aan zo'n lage kostprijs dat ze als wegwerp-tests kunnen gebruikt worden. Ook microfluidica-, celsorteer-, en elektroporatietechnologie werd ontwikkeld, naast geïntegreerde biosensoren en enzymatische assays. Stuk voor stuk zijn het elementen die interessant zijn voor CAR T-celtherapie. Allen zijn ze chip-gebaseerd en laten ze toe om slimme en compacte oplossingen te maken voor de verschillende stappen in de celtherapie-workflow, zodat uiteindelijk meer patiënten kunnen gebruikmaken van deze revolutionaire nieuwe behandeling.



Workflow van CAR-T celtherapie met aanduiding (in blauwe cirkels) van waar nano-elektronica een oplossing kan bieden. (Gebaseerd op figuur van Regenerative Medicine Innovation Platform. www.smarthubvlaamsbrabant.be/projecten/regmed-platform)

Voorbeelden van relevante chiptechnologieën:

Een sorteertechniek voor cellen op basis van luchtbellen en microfluidica

Imec ontwikkelde een nieuwe sorteertechniek voor cellen – een microfluidische FACS-techniek – die gebruik maakt van uiterst kleine luchtbelletjes die een vloeistofstroom creëren in de gewenste richting. Op die manier kunnen cellen op een snelle, maar ‘zachte’ manier gesorteerd worden in microfluidische kanalen, in grote aantallen, uiterst nauwkeurig. De techniek kan gemakkelijk voor verschillende soorten cellen gebruikt worden, geeft geen risico's naar bioveiligheid toe en vereist geen dure systemen. Per microfluidisch kanaal kunnen zo'n 5.000 cellen per seconde gesorteerd worden, met een opbrengst hoger dan 90% en een zuiverheid van meer dan 99%. Bovendien worden de cellen niet beschadigd tijdens het sorteerproces waardoor ze nog levensvatbaar zijn. In vergelijking met andere microfluidische celsorteertechnieken is de ‘bubble jet sorter’ een generische techniek die niet afhankelijk is van bepaalde fysische eigenschappen van de cel zoals de grootte. Ook ten opzichte van IMS – de meest gebruikte selectietechniek voor celtherapie – heeft de bubble jet sorter voordelen, meer bepaald: gebruik van meerdere merkers is mogelijk, compactere techniek, automatisatie mogelijk, lage kost (wegwerpmodule mogelijk) en geen extra stap nodig na het sorteren.

Vele kleine elektrodes op een chip voor elektroporatie van individuele cellen

Imec ontwikkelt chips met grote aantallen micro-elektrodes, zogenaamde 'microelectrode arrays (MEA)'. Ze kunnen onder andere gebruikt worden voor elektroporatie van individuele cellen (een techniek die gebruikt wordt om de code voor de CAR-receptor in de cel binnen te brengen). De chips met micro-elektrodes hebben een oppervlaktebehandeling gekregen zodat celculturen erop kunnen groeien. Door een kleine spanning aan te brengen op de cel (door de onderliggende elektrode), opent het celmembraan en kunnen moleculen in oplossing binnendringen. Op deze manier is men zeker dat elke cel het materiaal heeft opgenomen (transfectie). De spanning die de cellen ondervinden is zo klein dat het geen negatieve gevolgen heeft voor de cel. Een tweede voordeel van elektroporatie met MEA-chips (naast de zeer lage spanning), is de uiterst precieze controle die men heeft over de elektroporatieparameters voor elke afzonderlijke cel. Doordat de elektroporatie zo nauwkeurig kan uitgevoerd worden, zullen meer cellen correct getransfecteerd worden, met behoud van levensvatbaarheid. Dit verhoogt de opbrengst en reproduceerbaarheid en minimaliseert een potentieel toxisch effect van de celtherapiebehandeling en verhoogt de werking ervan.

Ion-sensoren

Na de gentransfer (bv. door elektroporatie) worden de CAR T-cellen vermenigvuldigd in bioreactoren, tot enkele miljoenen levende cellen. Het is belangrijk om dit vermenigvuldigingsproces nauwgezet op te volgen om tot een betaalbaar, stabiel en uniform commercieel eindproduct te komen. Parameters zoals pH en opgelost O₂ en CO₂ geven informatie over de micro-omgeving van de cellen. Imec ontwikkelt multi-ion sensoren voor het monitoren van vloeistoffen. Deze sensoren zijn in staat om bv. pH, Cl, Na, K, Ca, en NO₃ te meten. Het is een generisch platform dat relatief eenvoudig kan aangepast worden voor verschillende toepassingen. Door de selectieve membranen op de elektrodes aan te passen, kan de sensor andere ionen detecteren. De sensoren scoren beter dan bestaande systemen op het vlak van performantie, ze kunnen gemakkelijk in grote aantallen geproduceerd worden, ze kunnen draadloos data doorsturen, verbruiken weinig energie en zijn uiterst compact. Ze zouden bv. kunnen geïntegreerd worden in de wand van de bioreactor voor een continue inline monitoring.

Een ultrakleine microscoop zonder lenzen

Opnieuw een technologie die interessant is voor de bioreactoren, en meer bepaald voor de visuele inspectie van de cellen om hun levensvatbaarheid te bepalen. Vandaag gebeurt dit doordat procesoperatoren een staal nemen uit de bioreactoren en dit onder de microscoop bekijken. Imec ontwikkelt een lensvrije microscooptechnologie die kan geïntegreerd worden bovenop microfluidische kanalen of in de wanden van bioreactoren. Dit laat toe om beelden te nemen van cellen terwijl ze voorbij stromen in een microfluidisch kanaal of in de bioreactor. De lensvrije beeldtechniek is gebaseerd op holografie en gebruikt LED- of laserlicht en een CMOS-beeldsensor om het licht op te vangen dat teruggekaatst wordt door de objecten (in dit geval cellen). Het opvangen diffractiepatroon – een hologram – doet denken aan het rimpelpatroon dat ontstaat wanneer een object een wateroppervlak raakt. Speciaal ontwikkelde software-algoritmes reconstrueren dit hologram tot een beeld dat lijkt op het originele object. Het voordeel van deze techniek is dat het een uiterst compacte oplossing is, met een groot field of view en een heel goede resolutie, tegen een goede prijs. Er wordt ook gewerkt aan een machine-learning techniek voor beeldanalyse en classificatie om de beelden snel te kunnen evalueren en om automatisch onderscheid te kunnen maken tussen verschillende celtypes.

Biosensoren op basis van fotonica

En ook een derde technologie is interessant voor de processtap in de bioreactor. Het is een technologie die toelaat de bijproducten van celmetabolisme te analyseren: proteïnen en enzymen. Huidige technieken zijn gebaseerd op immunoassays (zoals ELISA), massaspectroscopie, chromatografie en spectroscopie. Deze zijn niet beschikbaar als online opstellingen, vereisen heel wat werk in staalvoorbereiding, en missen vaak specificiteit in complexe cultuuroplossingen met veel proteïnen. Imec werkt daarom aan een alternatieve techniek: immunoassays op basis van fotonica.

Fotonica wordt gebruikt in glasvezels om data zeer snel en efficiënt door te sturen. Maar fotonische golfgeleiders en andere fotonische componenten kunnen ook gebruikt worden voor life science toepassingen. Hiertoe zette imec – samen met partners uit het Europese PIX4life-project – een fotonicapilootlijn op, gebaseerd op siliciumnitride en ook bruikbaar voor toepassingen met zichtbaar licht. Een volledige bibliotheek van fotonische componenten werd uitgewerkt en is beschikbaar voor bedrijven die fotonische biochips willen gebruiken in hun toepassingen. Op basis van dit fotonicaplatform, en meer bepaald met fotonische golfgeleiders, ontwikkelde imec een fluorescente immunoassay en een enzymatische colometrische assay. Deze kunnen gebruikt worden voor online monitoring van relevante cytokines in bioreactoren voor CAR T-celproductie.

Tijd en levens sparen dankzij een workflow met chips in de hoofdrol

Microfluidica en chips zijn de sleutel tot een kortere productietijd (van T-cel selectie tot toediening bij de patiënt), en dit om verschillende redenen: (1) alle processtappen (bv. selectie, elektroporatie) worden uiterst nauwkeurig uitgevoerd waardoor een hogere opbrengst van CAR T-cellen mogelijk is uit dezelfde hoeveelheid bloed; bovendien worden zo ook de verschillen in doeltreffendheid en toxiciteit geëlimineerd die men vandaag vaak ziet in klinische trials; (2) dankzij microfluidica verlopen processen veel sneller; (3) door te werken met chips, zijn parallelle flows mogelijk waardoor het proces enorm versneld wordt.

Het is de unieke samenwerking tussen chip- en farma-industrie die zal leiden tot grote innovaties, ook op het vlak van celtherapie.

Meer weten?

- Voor meer details over de chip-gebaseerde technologie die imec ontwikkelt voor celtherapie, kan je de bijhorende whitepaper downloaden via [deze link](#).
- Voor meer informatie over het PIX4-life project kan je [dit artikel](#) lezen



Biografie Liesbet Lagae

Liesbet Lagae is co-founder and Program Director of the Life Science Technologies in imec. In this role, she oversees the emerging R&D, the public funded activities and early business creation. She holds a PhD degree from the KU Leuven, Belgium for her work on Magnetic Random Access Memories obtained under an IWT grant. As a young group leader, she has initiated the field of molecular and cellular biochips leveraging silicon technologies at imec, Belgium. The life science program has grown from emerging activities to a mature business line that provides smart silicon chip solutions to the life science industry. Applications include medical diagnostics, point-of-care solutions, DNA sequencing, cytometry, bioreactors, neuroprobes, implants. She holds a prestigious ERC consolidator grant for developing a platform on single cell analysis and sorting. She has (co-) authored 125 peer-reviewed papers in international journals and holds 15 patents in the field. She is also part-time professor in nanobiotechnology at KU Leuven/Physics department.