

人源化基因修饰小鼠模型和人源化靶点肿瘤细胞系

依托专属人源化药物靶点模型平台，开展人源特异性免疫疗法的体内试验研究。

选用冠科生物人源化靶点模型，能够有效加快肿瘤免疫药物的研发进程。

目前，各类靶向人体的免疫疗法（例如免疫检查点抑制剂）在临床前研发阶段普遍遇到瓶颈：缺少免疫系统功能完整、同时表达人源靶点的动物模型。

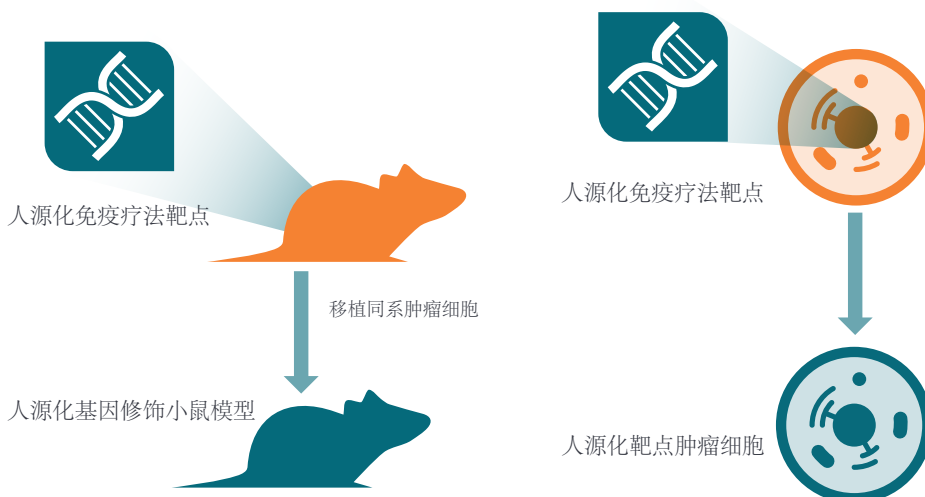
冠科生物自主搭建了人源化基因工程小鼠模型与人源化靶点肿瘤细胞模型体系，可用于各类人源生物治疗药物的体内药效评价：

- 人源化基因工程小鼠模型：表达 PD-1、PD-L1、CTLA-4 等人源药物靶点
- 同系肿瘤细胞模型：表达 PD-L1 等人源配体
- 可在小鼠免疫系统功能正常的前提下开展体内试验
- 已完成多款核心免疫检查点靶点模型开发，包含双基因敲入模型，更多新型模型仍在持续研发中

人源特异性免疫疗法的研发难点

免疫疗法为癌症治疗带来了全新方向与广阔前景，但在实际研发过程中，也面临诸多亟待解决的问题。

在免疫检查点抑制剂的药效评价工作中，适配人源药物的体内评价模型十分匮乏，严重制约研发进度。行业早期多采用普通同系模型测试小鼠源检查点抑制剂，但由于物种差异，这类模型无法用于人源生物药的评价。行业亟需合适的动物模型，在进入人体临床试验前，直接完成抗人 PD-1、PD-L1、CTLA-4 等抗体药物的体内有效性验证。



人源化药物靶点模型⁽¹⁾

冠科生物打造了成熟的人源化基因工程小鼠模型（GEMM）平台。该模型保留小鼠完整的免疫体系，同时将小鼠内源药物靶点蛋白替换为对应的人源蛋白（例如敲入人源 PD-1 基因，替换小鼠原有 PD-1 基因），可真实评价各类人源靶向免疫药物的体内效果⁽²⁾。

该平台为体内筛选人源免疫治疗药物提供了高效解决方案，现有可用模型详见下表，更多模型正在研发推进。针对表达于肿瘤细胞表面的药物靶点（如 PD-L1），我们同步配套了专用模型体系：对小鼠肿瘤细胞进行基因改造，使其表达人源配体。其中改造后的 MC38 细胞可表达人源 PD-L1，专门用于抗人 PD-L1 抗体的药效测试。两类模型可根据研发需求灵活组合使用。

案例一

PD-1 人源化基因工程小鼠模型的构建与验证⁽¹⁾

将人源 PD-1 的 2 号外显子重组至小鼠对应基因位点，构建出人 / 鼠嵌合型 PD-1 基因（h/mPD-1），并繁育获得纯合敲入小鼠，用于抗 PD-1 药物的相关研究（完整嵌合蛋白序列可按需提供）。

体外实验证实，这种嵌合型 PD-1 蛋白结合小鼠、人源 PD-L1 的能力，与人源天然 PD-1 受体相当（图 1 上图）。同时，抗人 PD-1 抗体可有效识别该嵌合蛋白，并阻断 PD-1 与 PD-L1 的结合作用（图 1 下图）。我们也通过流式细胞术（FACS），验证了该模型中人源 PD-1 的正常表达。

我们利用该 PD-1 模型测试了两款 PD-1 抑制剂类似物的药效：两款药物均实现部分小鼠肿瘤完全消退。其中纳武利尤单抗类似物组 8 只小鼠中有 4 只达到治愈状态，肿瘤生长抑制率（TGI）为 68%；帕博利珠单抗类似物组 8 只小鼠中有 3 只达到治愈状态，肿瘤生长抑制率（TGI）为 92%（图 2）。

对模型进行肿瘤浸润淋巴细胞（TIL）检测后发现，经过两次抗 PD-1 药物治疗，MC38 肿瘤组织内的 CD8 阳性 T 细胞数量明显增多，与药物解除免疫抑制的作用机制相符。数据同时显示，治疗后肿瘤体积与 CD8 阳性 T 细胞占比存在明显关联（图 3）。

表 1 人源化基因工程小鼠模型（GEMM）研发管线

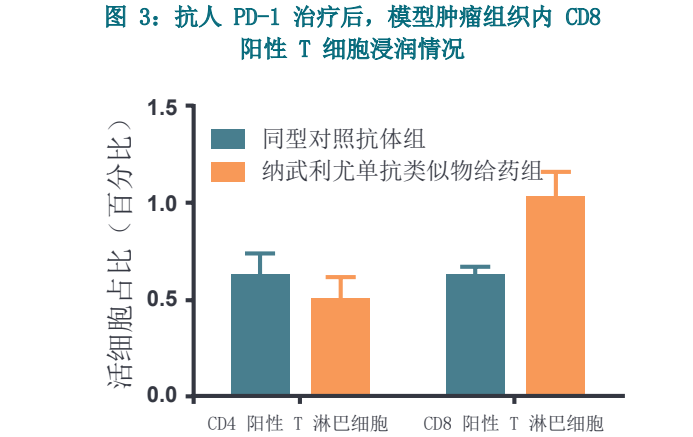
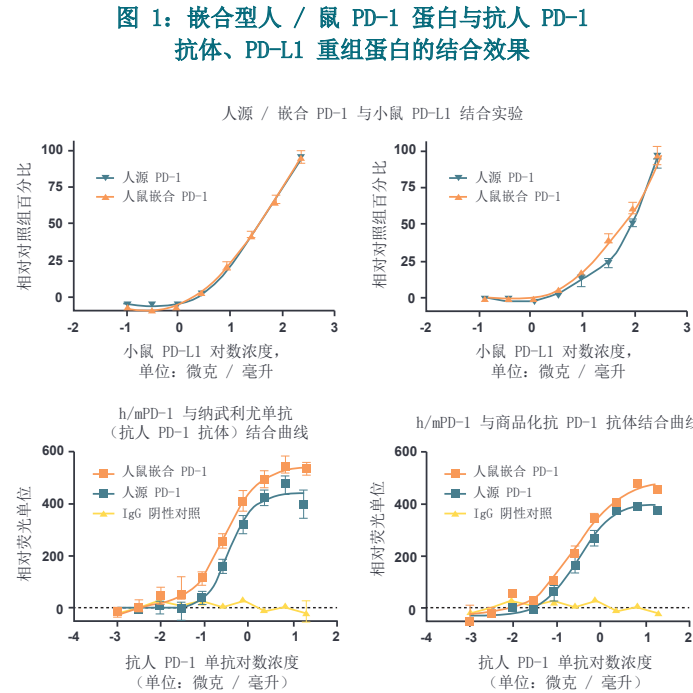
单基因敲入模型		双基因敲入模型	
靶点	状态	靶点	状态
PD-1 ⁽²⁾	已上线	PD-1/PD-L1	已上线
PD-L1	已上线，另有多款衍生模型 ⁽³⁾	PD-1/OX40	已上线
CTLA-4 ⁽⁴⁾	已上线	PD-1/CTLA-4	已上线
CD137 ⁽⁵⁾	已上线	PD-1/LAG3	已上线
OX40 ⁽⁶⁾	已上线	PD-1/CD137	构建繁育阶段
LAG3	已上线	PD-1/TIGIT	构建繁育阶段
GITR	验证中	PD-L1/LAG3	已上线
ICOS	验证中	转基因模型	
TIGIT	验证中	靶点	状态
CD38	验证中	CD3E ⁽⁷⁾	已上线

案例二

依托双基因敲入人源化基因工程小鼠模型，
同步评价多款免疫检查点抑制剂

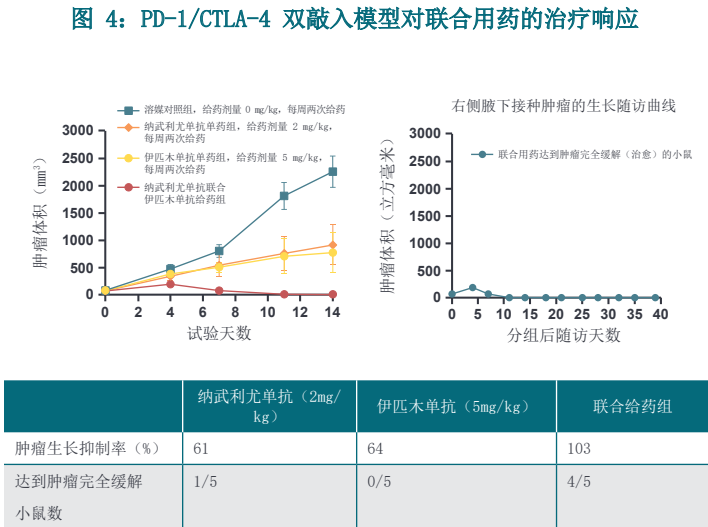
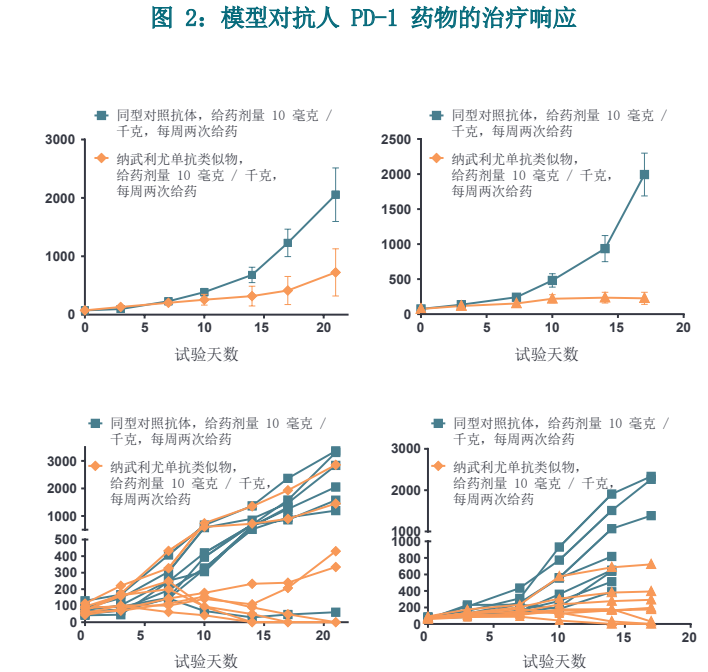
联合用药已是免疫检查点抑制剂未来的主流应用方向。为此，冠科生物推出多款双基因敲入模型，支持各类药物联合方案的药效评估（可用模型参见表 1）。

PD-1/CTLA-4 双敲入模型，由分别携带人源 PD-1、人源 CTLA-4 的单敲入小鼠杂交繁育而来。经流式细胞术检测，该模型可稳定表达人源 PD-1 与 CTLA-4。后续将表达人源 PD-L1 的 MC38 肿瘤细胞接种至模型体内，开展联合用药疗效评价。



单独使用抗 PD-1 药物（纳武利尤单抗）或抗 CTLA-4 药物（伊匹木单抗）时，两组肿瘤生长抑制水平相近；而两种药物联合使用后，5 只受试小鼠中有 4 只实现肿瘤完全缓解（图 4）。达到“治愈”标准的小鼠，在分组后连续 40 天内均未出现肿瘤复发。

为探究模型是否产生免疫记忆，我们对已治愈小鼠再次接种人源 PD-L1 型 MC38 肿瘤细胞，并同步设置未经药物治疗的 C57BL/6 小鼠作为对照。结果显示，空白对照组小鼠很快长出肿瘤，而既往接受联合治疗的小鼠始终无肿瘤生长，证实机体已形成免疫记忆（图 5）。



案例三

结合人源化基因工程小鼠与人源化靶点肿瘤细胞，评价双靶向联合抗体方案

将两类模型搭配使用，可评估同时靶向肿瘤细胞与 T 细胞的抗体联合疗法，例如 PD-1 联合 PD-L1 靶向方案。

我们将表达人源 PD-1 的小鼠模型，与表达人源 PD-L1 的肿瘤细胞联用，评价人源 PD-1、PD-L1 抑制剂联合用药的效果。经流式细胞术验证，两套模型体系均可稳定表达对应的人源基因。

该组合模型对单药纳武利尤单抗（抗 PD-1）、阿替利珠单抗（抗 PD-L1）均有治疗响应，其中纳武利尤单抗的抗肿瘤效果呈现剂量依赖性。对比单药治疗，PD-1 联合 PD-L1 用药可进一步提升肿瘤抑制效果（图 6）。免疫分型检测结果显示与药效数据保持一致：联合用药组的肿瘤组织内，CD4、CD8 阳性 T 细胞浸润量提升最为显著（图 7）。

模型数据库检索

冠科生物人源化基因工程小鼠模型（GEMM）的所有数据，均收录在专属线上数据库中。数据库内容全面，包含模型背景、小鼠品系、组织病理、转录组测序、标准药物疗效等信息，研究人员可快速检索、筛选符合需求的模型。大家可通过冠科生物官网（www.crownbio.com）直接访问肿瘤免疫小鼠模型数据库。

图 6：PD-1/PD-L1 双靶点联合用药药效评价

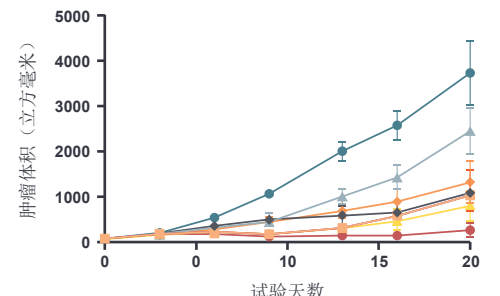
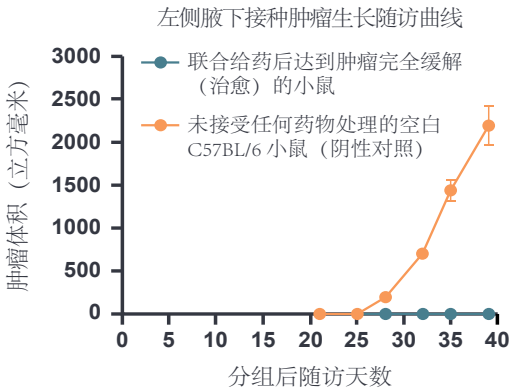


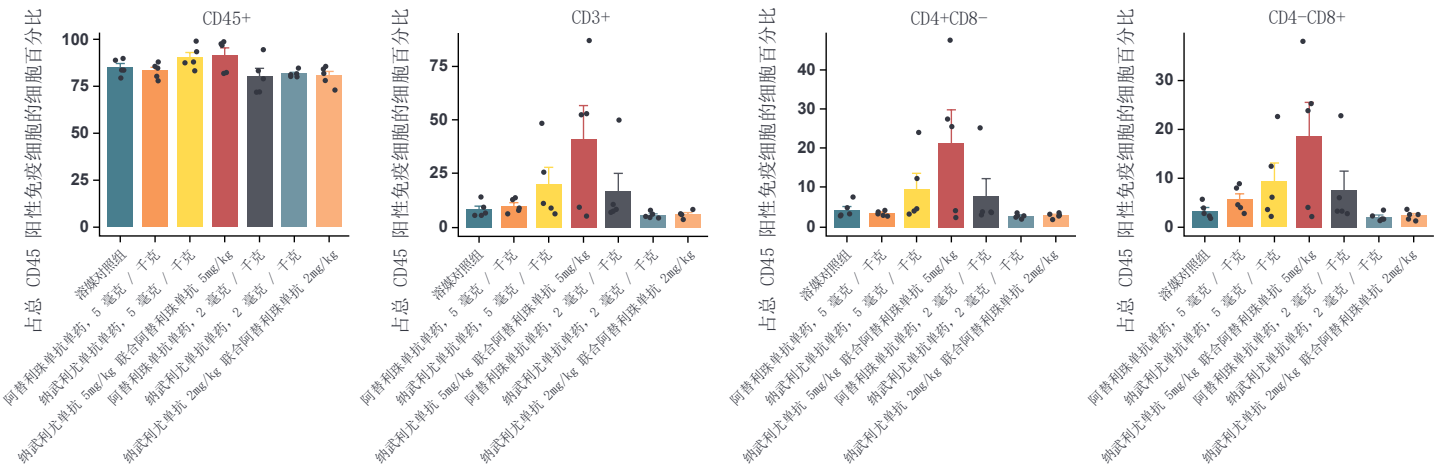
图 5：再次接种肿瘤后，PD-1/CTLA-4 模型表现出免疫记忆效应



为排除小鼠内源 PD-L1 蛋白对药效检测的干扰、获得精准药效数据，本研究采用 PD-1/PD-L1 双基因敲入人源化基因工程小鼠，并搭配表达人源 PD-L1 的肿瘤细胞开展试验。

	阿替利珠单抗		纳武利尤单抗		联合给药组	
	2mg/kg	5mg/kg	2mg/kg	5mg/kg	2mg/kg	5mg/kg
肿瘤生长抑制率	72	66	35	80	74	95

图 7：联合给药可最大程度提升肿瘤浸润淋巴细胞比例



总结

免疫疗法及抗 PD-1、抗 PD-L1 抗体等药物在肿瘤领域取得了重大突破，既为肿瘤患者带来临床获益，也为制药行业创造可观商业价值。但该领域研发仍存在明显瓶颈：缺少具备完整功能免疫系统、可用于评价人源特异性治疗药物的免疫动物模型。

冠科生物打造了全新的人源化模型平台，将小鼠 T 细胞、肿瘤细胞表面的内源药物靶点直接替换为人源同源蛋白。模型小鼠自身免疫系统功能完整，可在体内开展各类人源生物治疗药物的药效评估。

经系统验证的人源化基因工程小鼠（GEMM）可稳定表达人源靶点，且能够响应人源抗体药物，证明该体系适用于人源特异性免疫疗法的临床前评价。配套验证完成的 MC38 细胞株可表达人源 PD-L1；将其接种至小鼠体内后，可作为理想工具模型，在体内评估人源抗 PD-1/PD-L1 抗体联合给药方案。

双基因敲入模型是评价免疫检查点抑制剂联合方案的优质工具，可用于评估同时靶向肿瘤细胞与 T 细胞的人源双药联合治疗策略。

参考文献

- ¹ Li Q-X, Feuer G, Ouyang X et al. Experimental animal modeling for immuno-oncology. *Pharmacol Ther* 2017; 173: 34-46.
- ² Wang Z, Cai B, Chen G et al. : Human/Mouse PD-1 Chimeric Knock-In Mice for Anti-Human PD-1 Evaluation. [abstract] UCSD Moores Cancer Center Annual Symposium; 2016 February 26; San Diego.
- ³ Qiao M, Zhang J, Ding J et al. Development of a humanized mouse model for direct evaluation of anti-human PD-L1 antibodies [abstract]. In: Proceedings of the 107th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research; 2016 Apr 16-20; New Orleans, LA. Philadelphia (PA):AACR; *Cancer Research* 2016;76(14 Suppl): Abstract nr5179.
- ⁴ Ouyang DX, Wang Z, Qu GJ et al. Distinct Response to CTLA-4 Antibodies By Different Tumors Implicates Different Mechanisms of Action. [abstract] In: Proceedings of the 28th EORTC - NCI - AACR Symposium on Molecular Targets and Cancer Therapeutics; 2016 Nov 29-Dec 2; Munich, Germany. *Eur J Cancer* 2016;68(Suppl 1): Abstract nr 327.
- ⁵ Ouyang DX, Chen G, Wang Z et al. Establishment of a CD137 Humanized Mouse Model for Efficacy Assessment of Agonistic Anti-CD137 Therapeutic Antibodies. [abstract]. In: Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual Meeting 2017; 2017 Apr 1-5; Washington, DC. Philadelphia (PA): AACR; *Cancer Res* 2017;77(13 Suppl): Abstract nr 1658.
- ⁶ Huang X, Zheng L, Ouyang W et al. Utilizing Human OX40 Knock-In Mice to Assess the Antitumor Efficacy of OX40 Agonistic Antibodies [abstract]. In: Proceedings of the 2017 AACR-NCI-EORTC International Conference on Molecular Targets and Cancer Therapeutics; 2017 Oct 26-30; Philadelphia, Pennsylvania. Philadelphia (PA): AACR, Abstract nr A207.
- ⁷ Yang M, Zhang M, Verploegen S et al. Establishment of a human CD3E transgenic mouse model to assess anti-tumor efficacy of human T-cell-redirecting bispecific antibodies [abstract]. In: Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual Meeting 2018; 2018 Apr 14-18; Chicago, IL. Philadelphia (PA): AACR; *Cancer Res* 2018;78(13 Suppl):Abstract nr 5669.

联系我们



太仓分公司: +86 512 5387 9999
北京分公司: +86 10 5633 2600
苏州分公司: +86 512 6799 3717

ChinaBD@crownbio.com
www.crownbio.cn

扫描二维码
添加冠科生物小助手

