

# CROWN BIOSCIENCE

Together with **MBL**

## MuPrime™

薬理的試験のために、GEMMの予測性能と一貫性のある安定な同種移植モデルを組み合わせます



A JSR Life Sciences Company

FACTSHEET

GEMMは作用機序解明のための試験で広く使用されていますが、その腫瘍が自然発生的であるので、抗がん剤およびがん免疫治療薬の有効性試験にはあまり適していません。

Crown Bioscienceは、GEMMの豊富で多様な遺伝子型と表現型と、取り扱いがシンプルな性質を組み合わせ、MuPrimeプラットフォームを開発しました。MuPrimeは次の特徴があります。

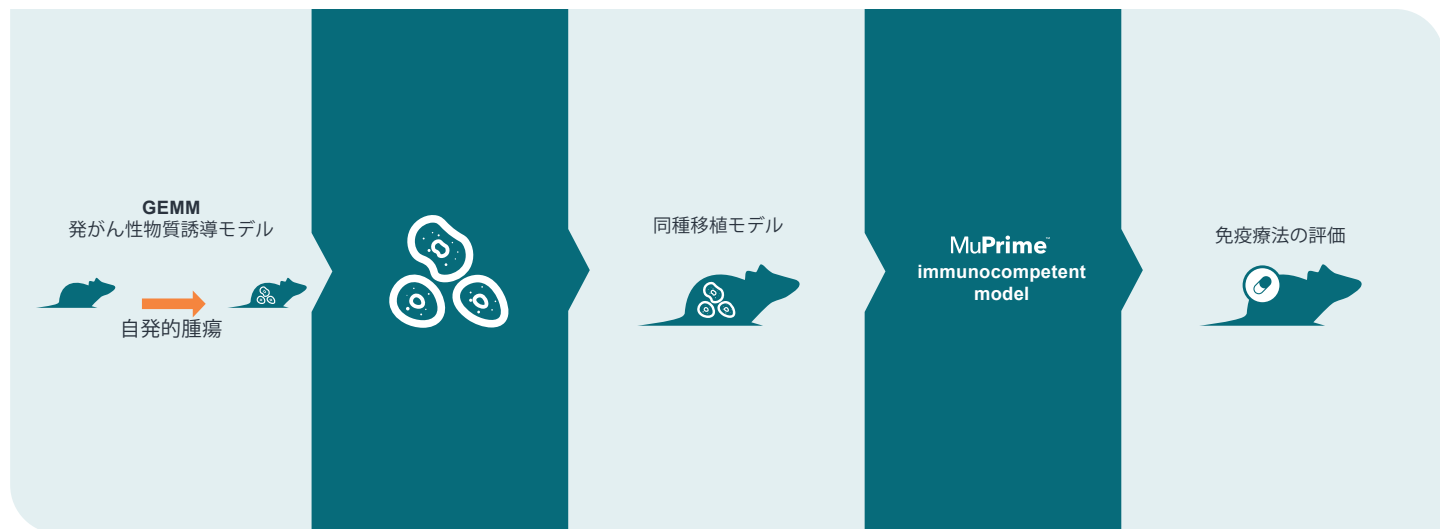
- GEMMまたは発がん物質誘発モデル腫瘍に由来するマウス同種移植モデル
- 免疫適合性のあるマウスへの移植
- 免疫療法を含む新薬と併用療法の有効性を効果的にテスト可能
- 原発性の腫瘍にフォーカスし、*in vivo*で永久的に維持された元の腫瘍組織病理学特徴および遺伝子プロファイルを反映
- シンジェニックモデルと比較した場合のばらつきが減少
- 複数のがん種をカバーし、その多くは免疫療法開発をターゲットとしており、高い関連性のある変異を保持

Crown Bioscienceは、前臨床有効性試験に用いる一連のマウス同種移植モデルを提供しています。

- GEMMまたは発がん性腫瘍に由来するマウス同種移植モデルで、標的療法を含む新規抗がん剤またはがん免疫治療薬を評価するために、完全免疫不全にマウスに生着させたモデルです。
- MuPrimeモデルは、遺伝子型と表現型、微小環境、がん幹細胞による疾患など、元の腫瘍のさまざまな特徴を再現します。
- 明確な分子病態を持つ腫瘍を含む、GEMMモデルの多様な選択肢と、薬理評価に必要な簡便さを両立させます
- 膀胱がん、脳がん、乳がん、頭頸部がん、肺がん、リンパ腫、膵臓がん、前立腺がん、肉腫、皮膚癌など、さまざまな種類があります
- KRAS G12Dなどの発がん性変異のモデルが含まれます。

#### マウス同種移植モデル-GEMM由来の有効性試験プラットフォーム

免疫療法はさまざまな種類のがんにおいて治療のブレイクスルーをもたらし続けており、新薬の評価には、完全な免疫機能を備えたモデルを含む、より優れた前臨床モデルが必要です。



免疫適合性を持つ、遺伝子改変されたマウスモデル(GEMM)は、長い間研究ツールとして利用されてきました。これらのモデルは、がんの進行のモニタリングや作用機序の研究に有用ですが、GEMMの腫瘍は自発的であるため、薬剤有用性を調べるには複雑でコストがかかるモデルでした。

GEMMは分子病態が明確な腫瘍であり、その種類も豊富であることから、GEMM腫瘍を用いたマウス移植モデルのライブラリを作成することは、研究者にとって非常に有用です。患者由来異種移植(PDX)モデルと同様に、マウスライブラリは原発巣に由来するため、オリジナル腫瘍の病理組織学的、遺伝学的特性を反映し、有用性試験に必要な操作の簡便性も改善されています。

### MuPrimeの背景とコンセプト

MuPrimeはHuPrime®のマウス版であり、十分に性質が調べられた商業的PDXモデルの世界最大コレクションです。MuPrimeは、GEMMまたは発がん性物質誘発モデルから得た自発的腫瘍の同種移植モデルで構成され、完全な免疫適合性を持つマウスで試験されます(図1)。

元モデルと同様に、これらの腫瘍株は、*in vitro*での増殖するように適応されたことはなく、元のマウス腫瘍の遺伝型と表現型を再現し、分化性の表現型、濃縮されたがん微小環境、がん幹細胞が導くがん化能を備えています<sup>(1)</sup>。

MuPrimeコレクションは、多様ながん種をカバーします。前臨床試験において標的とされた免疫治療薬のための特定パスウェイや予測バイオマーカーの探索を可能にします。MuPrimeはGEMMの改善された予測能力と運用面での一貫性を使いやすさを備え、薬理学試験の安定した成長に寄与します。

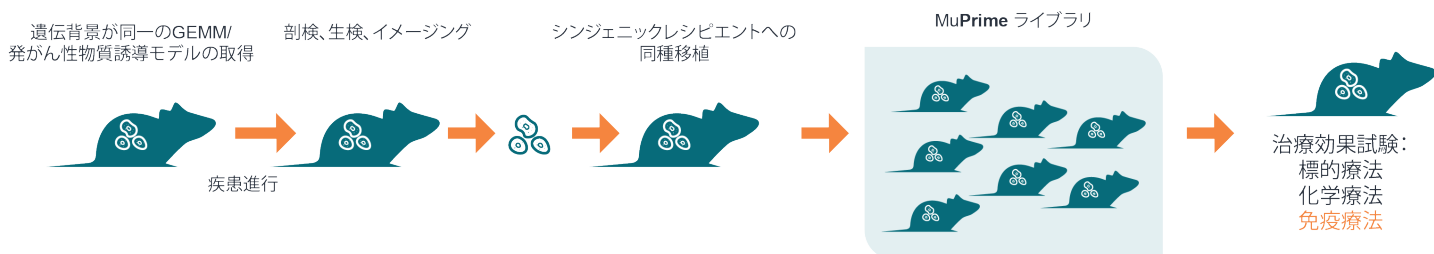
MuPrimeモデルのデータは全て、使用しやすく、無料でアクセスできる独自のデータベースMuBase®で閲覧できます。モデルの背景、マウスの系統、組織病理学、ゲノムプロファイリング(RNAseq)、標準治療

(SoC)、免疫プロファイリングデータ(免疫細胞の浸潤、サイトカインプロファイル、チェックポイント阻害剤への応答など)など、様々なデータがあり、試験ニーズを満たす目的モデルを素早く簡単に見つけることができます。

MuPrimeコレクションには、様々ながん種にまたがる高度に特性化された一連のモデルが含まれています。最もよく性質が調べられ、SoCで検証されたモデルの1つである、MMTV-PyVT TG変異を備えたBR6004<sup>(2)</sup>は、独立したmBR6004 MuPrimeファクトシートに詳細が記載されています。

これには完全なモデルの背景、親GEMM対MuPrimeモデルの病理組織学的QC、RNAseqによる変異状態(EGFR、HER2、およびMETで変異が認められる)、IHC(ER-およびHER2 3+を確認)、RNAseqによる決定された遺伝子発現、成長率、SoC治療データ、および肺転移データが含まれます。また、免疫腫瘍学プロファイリングも含まれており、抗PD-1および抗CTLA-4治療後のTILレベルを、これらの抗体による治療データと共に確認できます。

図1: MuPrimeの概念とMuPrimeライブラリの構築



MuPrime製品ラインを表1に示します。

表1 MuPrimeモデルコレクション

| モデルID   | がん種:生検部位              | 変異/発がん性物質                                      | マウスの系統    | 病理学QC                         |
|---------|-----------------------|--|-----------|-------------------------------|
| mBL6078 | 膀胱がん;膀胱(縫合糸の近く)       | KRAS (G12D); PTEN <sup>Flox/Flox</sup>         | C57BL/6   | 滑膜肉腫 (Pa)                     |
| mBN6091 | 脳腫瘍;脳                 | KRAS LSL(G12D)/WT; PTEN <sup>CKO/CKO</sup>     | C57BL/6   | 膠芽腫 (P1)                      |
| mBR6004 | 乳腺がん;乳腺               | MMTV-PyVT TG                                   | FVB/N     | 乳頭腺がん (Pa)                    |
| mHN6032 | 頭頸部がん;腹側頸部            | NA   | BALB/c    | 神経内分泌がん (P2)                  |
| mLU6044 | 肺がん;肺                 | KRAS (G12D); P53 <sup>-/-</sup>                | C57BL/6   | 中分化腺がん (P0, P4)               |
| mLU6045 | 肺がん;肺                 | KRAS (G12D); P53 <sup>-/-</sup>                | C57BL/6   | 低中分化腺がん (Pa, P5)              |
| mLU6050 | 肺がん;肺                 | ウレタン   | BALB/c    | 中分化腺がん (P1, P2)               |
| mLU6051 | 肺がん;肺                 | ウレタン   | BALB/c    | 乳頭腺がん (P0)、低分化腺がん (Pa)        |
| mLU6054 | 肺がん;肺                 | KRAS (G12D); PTEN <sup>Flox/Flox</sup>         | C57BL/6   | 中分化腺がん(P0)                    |
| mLU6073 | 肺がん;肺                 | PTEN <sup>Flox/Flox</sup> , P53 <sup>-/-</sup> | C57BL/6   | 骨肉腫 (Pa, P1)                  |
| mLU6075 | 肺がん;肺                 | P53 <sup>-/-</sup>                             | C57BL/6   | 骨肉腫(Pa)、未分化肉腫(P2)、滑膜肉腫(P2)    |
| mLU6081 | 肺がん;肺                 | ウレタン   | A/J       | 乳頭腺がん (P1)、低中分化腺がん (Pa)       |
| mLU6131 | 肺がん;肺                 | ウレタン   | A/J       | 中分化腺がん (P1)、神経内分泌がん (Pa)      |
| mLU6132 | 肺がん;肺                 | ウレタン   | A/J       | 低中分化腺がん(P0, Pa)               |
| mLU6133 | 肺がん;肺                 | ウレタン   | A/J       | 乳頭腺がん (Pa)                    |
| mLU6134 | 肺がん;肺                 | ウレタン   | A/J       | 低中分化腺がん (Pa)、乳頭腺がん (P1)       |
| mLY6014 | リンパ腫;腹側頸部             | NA   | NOD/ShiLt | びまん性大細胞型B細胞リンパ腫 (DLBCL) (P5)  |
| mLY6041 | リンパ腫;腹側頸部             | KRAS (G12D); P53 <sup>-/-</sup>                | C57BL/6   | DLBCL (Pa, P5)                |
| mLY6043 | リンパ腫;胸腺               | IgH-Myc TG (E $\mu$ Myc)                       | C57BL/6   | DLBCL (Pa, P4)                |
| mLY6061 | リンパ腫;不明               | KRAS LSL(G12D)WT;P53 <sup>-/-</sup>            | C57BL/6   | DLBCL (P1, P3)                |
| mLY6062 | リンパ腫;胸腺               | KRAS LSL(G12D)WT;P53 <sup>-/-</sup>            | C57BL/6   | DLBCL (P1, P3)                |
| mLY6068 | リンパ腫;胸腺、甲状腺、および腋窩リンパ節 | IgH-Myc TG (E $\mu$ Myc)                       | C57BL/6   | 未分化肉腫 (Pa)、出血性壊死を伴うDLBCL (P4) |
| mLY6096 | リンパ腫;腸間膜              | IgH-Myc TG (E $\mu$ Myc)                       | C57BL/6   | バーキットリンパ腫 (P4, Pa)            |
| mLY6097 | リンパ腫;背側前肢             | IgH-Myc TG (E $\mu$ Myc)                       | C57BL/6   | バーキットリンパ腫 (Pa)、DLBCL (P5)     |



| モデル ID  | がん種:生検部位      | 変異/発がん性物質   | マウスの系統  | 病理学QC                          |
|---------|---------------|---|---------|--------------------------------|
| mLY6098 | リンパ腫;甲状腺      | IgH-Myc TG (Eμ Myc)                                   | C57BL/6 | DLBCL (Pa, P3)                 |
| mLY6101 | リンパ腫;胸腺       | IgH-Myc TG (Eμ Myc)                                   | C57BL/6 | パーキットリンパ腫 (P4, Pa)             |
| mLY6102 | リンパ腫;前肢腋窩リンパ節 | IgH-Myc TG (Eμ Myc)                                   | C57BL/6 | パーキットリンパ腫 (Pa)、DLBCL (P5)      |
| mLY6149 | リンパ腫;右側肩甲骨    | IgH-Myc TG (Eμ Myc)                                   | C57BL/6 | 広範囲の壊死を伴うDLBCL (P3, Pa)        |
| mLY6150 | リンパ腫;甲状腺      | IgH-Myc TG (Eμ Myc)                                   | C57BL/6 | 広範囲の壊死を伴うDLBCL (P0, P5)        |
| mLY6166 | リンパ腫;右側肩甲骨    | IgH-Myc TG (Eμ Myc)                                   | C57BL/6 | 広範囲の壊死を伴うDLBCL (Pa)            |
| mLY6167 | リンパ腫;腸間膜      | IgH-Myc TG (Eμ Myc)                                   | C57BL/6 | 広範囲の壊死を伴うDLBCL (P3, Pa)        |
| mLY6168 | リンパ腫;胸腺       | IgH-Myc TG (Eμ Myc)                                   | C57BL/6 | DLBCL (Pa)、マントル細胞リンパ腫 (P2)     |
| mLY6169 | リンパ腫;甲状腺      | IgH-Myc TG (Eμ Myc)                                   | C57BL/6 | マントル細胞リンパ腫 (P3, Pa)            |
| mPA6059 | 膵臓がん;膵臓       | KRAS (G12D); P53 <sup>-/-</sup>                       | C57BL/6 | 高悪性度紡錘細胞肉腫 (P0)、低分化扁平上皮がん (P3) |
| mPA6063 | 膵臓がん;膵臓       | KRAS (G12D); P53 <sup>-/-</sup>                       | C57BL/6 | 高悪性度の未分化肉腫 (Pa, P2)            |
| mPA6114 | 膵臓がん;膵臓       | KRAS (G12D); P53 <sup>-/-</sup>                       | C57BL/6 | 中分化腺がん (P5, Pa)                |
| mPA6115 | 膵臓がん;膵臓       | KRAS (G12D); P53 <sup>-/-</sup>                       | C57BL/6 | 中分化腺がん (P6, Pa)                |
| mPR6003 | 前立腺がん;前立腺     | TRAMP (Pbsn-SV40T) TG                                 | C57BL/6 | 中分化腺がん (Pa)、前立腺がん (P0)         |
| mPR6065 | 前立腺がん;前立腺     | PTEN <sup>Flox/Flox</sup> ; P53 <sup>-/-</sup>        | C57BL/6 | LipoSA-肉腫 (P2)                 |
| mPR6066 | 前立腺がん;前立腺     | PTEN <sup>Flox/Flox</sup> ; P53 <sup>-/-</sup>        | C57BL/6 | LipoSA-肉腫 (P1)                 |
| mPR6135 | 前立腺がん;前立腺     | KRAS (G12D); PTEN <sup>Flox/Flox</sup> ; Probasin-cre | C57BL/6 | 肉腫                             |
| mSA6046 | 肉腫;十二指腸       | KRAS (G12D); P53 <sup>-/-</sup>                       | C57BL/6 | 未分化肉腫 (Pa, P5)                 |
| mSA6048 | 肉腫;腹腔(縫合糸の近く) | KRAS (G12D); P53 <sup>-/-</sup>                       | C57BL/6 | 未分化肉腫 (Pa, P5)                 |
| mSA6055 | 肺がん;肺         | KRAS (G12D); PTEN <sup>Flox/Flox</sup>                | C57BL/6 | 骨肉腫 (P1, P6, Pa)               |
| mSA6084 | 肉腫;腹腔(縫合糸の近く) | KRAS (G12D); PTEN <sup>Flox/Flox</sup>                | C57BL/6 | 骨肉腫 (P1, Pa)                   |
| mSA6105 | 肉腫;背側前肢       | PTEN <sup>Flox/Flox</sup> ; P53 <sup>-/-</sup>        | C57BL/6 | 未分化肉腫 (Pa, P1)                 |
| mSA9003 | 肉腫;背側前肢       | P53 <sup>-/-</sup>                                    | C57BL/6 | 悪性末梢神経鞘腫瘍 (P1)                 |
| mSK6005 | 皮膚がん;背側前肢     | Apc <sup>Min/+</sup>                                  | C57BL/6 | 高分化扁平上皮がん (P0)                 |
| mXX6127 | 不明            | ウレタン  | C3H/He  | 乳頭腺がん (P6, Pa)                 |
| mXX6129 | 不明            | ウレタン  | C3H/He  | 乳頭腺がん (Pa)、神経内分泌がん (P2)        |



## mSK6005 MuPrime皮膚がんモデル

詳しく性質が調べられたモデルとしてAPCMin/+マウスで開発されたmSK6005 皮膚がんモデルがあります。ヘテロ接合性APCMin/+マウスは腸腺腫を起こしやすいが<sup>(3,4)</sup>、雌のAPCMin/+マウスもしばしば乳房扁平上皮がんを発症します<sup>(5)</sup>。

C57BL/6J APCMin/+マウスの頸部の自然発生皮膚腫瘍を観察し、組織病理学的に高分化型皮膚扁平上皮がんとして示唆されました。そこでMuPrime mSK6005皮膚がんモデルを開発しました(表1)<sup>(6)</sup>。mSK6005モデルは安定的に成長し、モデルの連続移植でも原発腫瘍の組織病理学を維持しました(表2)。

このモデルは免疫プロファイリング、RNAシーケンス、および標準治療薬と免疫療法による治療も完了しました。

トランスクリプトーム解析により、mSK6005モデルが元のAPCMin変異(ナンセンス変異L850\*)を保ち、フレーム転移変異:c-Met(フレームシフト挿入901G> GA)およびEGFR(フレームシフト挿入

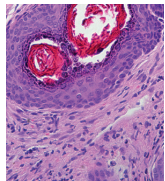
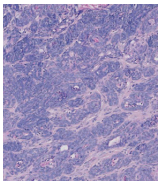
1431G> GA)が存在することが明らかになりました<sup>(6)</sup>。このモデルはまた、HER2を高発現しました(表3)。

In vivoの薬理的評価では、mSK6005モデルがSoC化学療法に感受性があることが示されました(図2)：

- 5-FU
- パクリタキセル
- ゲムシタビン
- ゲムシタビン
- シスプラチン<sup>(6)</sup>。

このモデルは、抗マウスCTLA-4抗体にも感受性があります(図3)。

表2:MuPrimemSK6005モデルの組織病理学

| MuPrime ID | 病理学         | 組織病理学  |  |
|------------|-------------|--|--|
|            |             | Pa   | P0   |
| mSK6005    | 皮膚がん、扁平上皮がん |  |  |

元のGEMM原発腫瘍(Pa)およびMuPrimeモデル(P0)の初期継代からのH&E染色病理画像

表3:MuPrimemSK6005モデルの免疫組織化学:HER2

| IHC ターゲット | HER2   |
|-----------|--|
| mSK6005   |  |

HER2の発現は、HER2の細胞内ドメインに対するポリクローナル抗体(Dako)を使用して確認された

図2:SoCに対するMuPrimem SK6005の応答

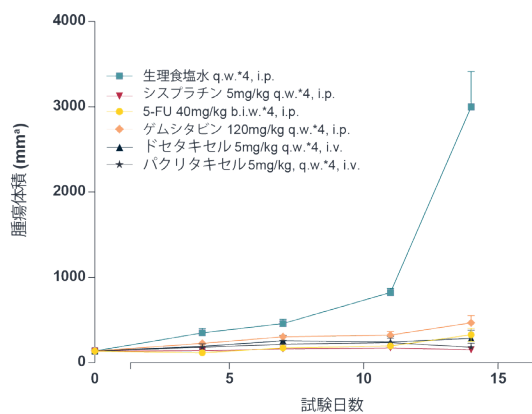
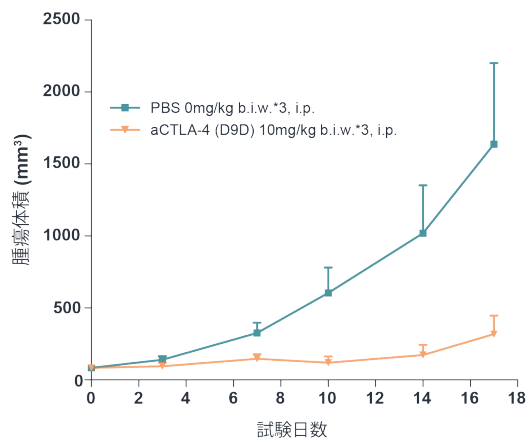


図3:抗CTLA-4治療に対するMuPrime mSK6005の応答



## KRAS G12D GEMMから派生したMuPrimeモデル

Crown Bioscienceは、KRAS G12D変異を特徴とする腫瘍に基づいて、膀胱、肺、膵臓、リンパ腫などのさまざまな種類のがんをカバーするMuPrimeモデルを樹立しました(詳細は表1を参照)。これらのモデルには、膵管腺がん(PDAC)のKPCマウス腫瘍同種移植モデルであるmPA6115<sup>(7,8)</sup>が含まれます。これは、ヒトPDACとの形態的類似性を保持し(図4)、免疫療法とターゲット薬剤の評価に非常に役立つツールです。mPA6115モデルは、必要に応じて皮下および同所性で移植できます。

免疫細胞の異なるサブセットが特定され、2つの移植タイプで特性が異なることがわかりました(図5)。高度に濃縮されたCD45+リンパ球、特にB細胞とマクロファージが腫瘍で観察されました

同所性モデルと皮下モデルは同様の成長率を示し、標準治療のゲムシタピン療法には反応しません(図6)。

ベースライン免疫解析により、同所性腫瘍と皮下移植腫瘍の腫瘍浸潤

表4: MuPrime mPA6115モデルの組織病理学的検討

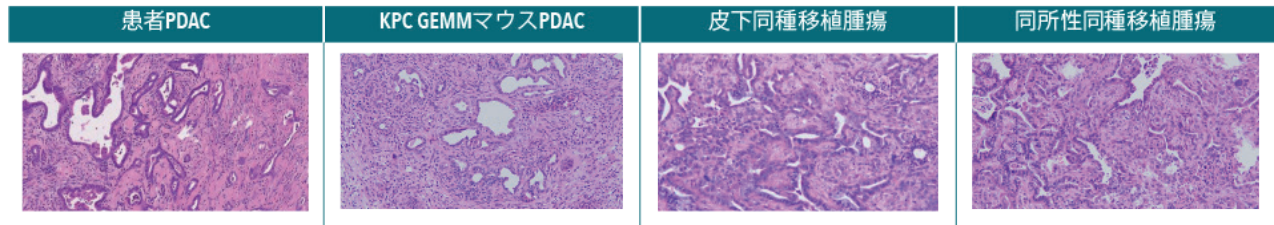


図5: MuPrime mPA6115モデルのベースライン免疫解析

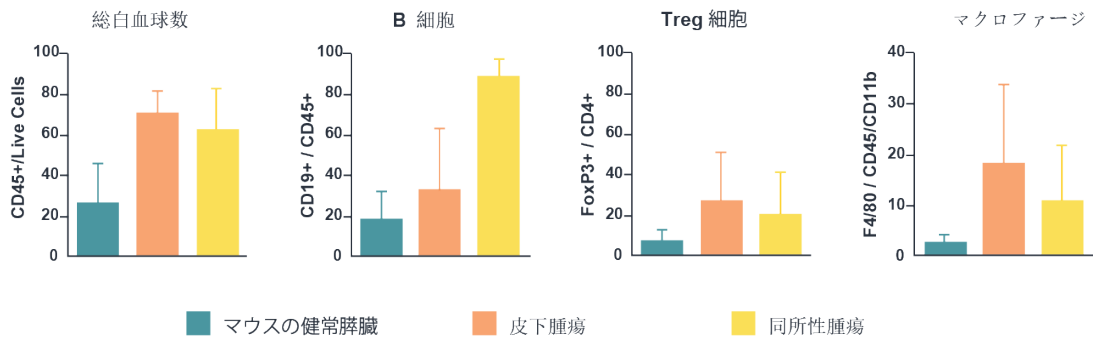
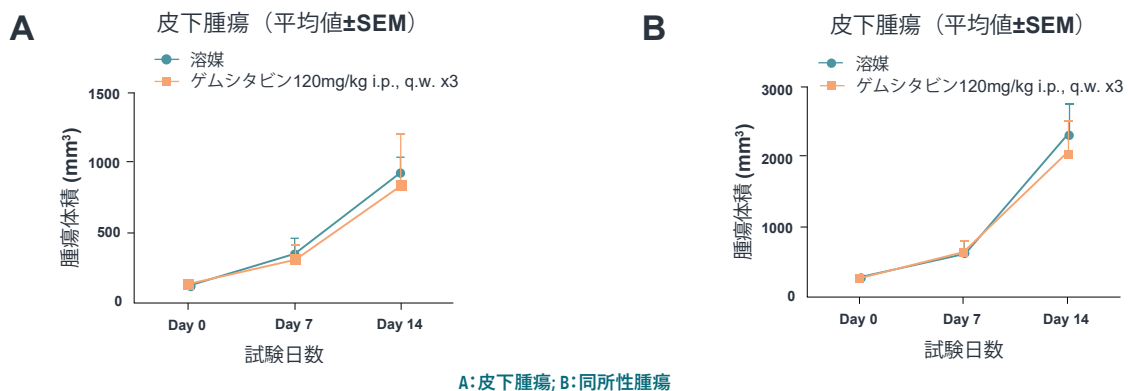


図6: MuPrime mPA6115モデルはゲムシタピン治療に非感受性



A: 皮下腫瘍; B: 同所性腫瘍



## まとめ

免疫療法薬は腫瘍学で大きな成功を収めており、患者に利点をもたらす、製薬業界でビジネス成功を収めています。しかし、機能する免疫系を持つ実験的な免疫療法モデルの欠如によって、この分野の発展は制限されてきました。

Crown Bioscienceは、MuPrimeモデルを含む、前臨床医薬品開発のためのさまざまな免疫腫瘍学プラットフォームを提供します。このプラットフォームには、GEMM由来の自発生マウス腫瘍の同種移植モデルまたは発がん物質誘発モデルが含まれ、細胞は*in vitro*で培養されない状態で免疫適格マウスに移植されます。

MuPrimeプラットフォームは、GEMM/発がん性物質誘導モデルよりも取り扱いが簡便です。標的とされた免疫療法薬の特定パスウェイと予測バイオマーカーを調べる前臨床試験可能にします。

MuPrimeモデルは幅広い薬剤開発中のパイプラインに含まれる複数種類のがんに利用できます。利用可能なモデルは、ゲノムプロファイル、病理学、IHC、およびFACS解析などの様々な手法を通じて検証されており、SoCおよび免疫療法に関するデータも利用できるため、全ての試験ニーズに対応するモデルであるといえます。

## 参考文献

- 1 Li QX, Feuer G, Ouyang X *et al.* Experimental animal modeling for immuno-oncology. *Pharmacology & Therapeutics* 2017;173:34-46.
- 2 Wang Z, An X, Liu J *et al.* Response to Checkpoint Inhibition by GEMM Breast Cancer Allograft. [abstract]. In: Proceedings of the AACR-NCI-EORTC International Conference: Molecular Targets and Cancer Therapeutics; 2015 Nov 5-9; Boston, MA. Philadelphia (PA): AACR; *Molecular Cancer Therapeutics* 2015;14(12 Suppl 2):Abstract nr B97.
- 3 Moser AR, Pitot HC, Dove WF. A dominant mutation that predisposes to multiple intestinal neoplasia in the mouse. *Science* 1990;247(4940): 322-324.
- 4 Su LK, Kinzler KW, Vogelstein B *et al.* Multiple intestinal neoplasia caused by a mutation in the murine homolog of the APC gene. *Science* 1992;256(5057): 668-670.
- 5 Moser AR, Hegge LF, Cardliff RD. Genetic background affects susceptibility to mammary hyperplasias and carcinomas in *Apc(min)/+* mice. *Cancer Research* 2001;61(8): 3480-3485.
- 6 Qu GJ, An AX, Liu J *et al.* Establishment of a mouse skin squamous cell carcinoma allograft model for *in vivo* pharmacological analysis of immunotherapy [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 nr 4043.
- 7 Tong L, Song Y, Liu B *et al.* Establishment of Kras (G12D)/Trp53 null/Pdx1-cre (KPC) mouse homograft tumor models to facilitate preclinical efficacy evaluation of combinatory immunotherapies [abstract]. In: Proceedings of the 4th AACR New Horizons in Cancer Research Conference: Research Propelling Cancer Prevention and Cures; 2017 Nov 6-9; Shanghai, China. Abstract nr A63.
- 8 An X, Ouyang X, Zhang H *et al.* Immunophenotyping of orthotopic homograft (syngeneic) of murine primary KPC pancreatic ductal adenocarcinoma by flow cytometry. *Journal of Visualized Experiments*; 2018:in press.

