

A large, detailed 3D molecular model of a CAR-T receptor is the central focus. It is composed of several distinct protein domains: a red extracellular domain at the top, a purple transmembrane domain, a blue transmembrane domain, and a green intracellular domain. The model is set against a soft, pinkish-red background that suggests a cellular environment.

CAR-T 疗法

利用PDX/CD19 阳性细胞系来源的异种移植平台，在体内系统中
测试您的CAR-T 疗法

执行摘要

随着CAR-T 治疗逐步跨入获批免疫肿瘤药物的行列，需要经验证的体内临床前模型来实现高效费比的疗效和安全性 CAR-T 治疗检测。

冠科生物创建了基于人源肿瘤异种移植模型（PDX）的 CAR-T 疗法转化医学平台。该平台基于能够真正模拟人类疾病的高预测性模型，可以快速地验证 CAR-T 的疗效。

该转化医学平台以我们的大型多样化模型库为依托，涵盖约 2500 个经定性检测的PDX 模型，包含多种 CAR-T 靶点。您可以通过我们强大易用的PDX 在线数据库和肿瘤模型搜索引擎，结合 IHC 模型验证信息，快速简便地选择模型开展您的试验。

这些因素使您能在保留原始患者肿瘤异质性病理和遗传特征的模型中，针对新靶点快速推进其临床前CAR-T 治疗评价，以便在进入临床前得出可靠的临床前数据。

对于从事 CD19 研究的客户，我们还提供了经过充分验证的 Raji 人源 Burkitt 淋巴瘤异种移植模型。该模型对 CD19 靶向 CAR-T 治疗具备高度敏感性，现在可用于快速推进您的B 细胞恶性肿瘤。

CAR-T 治疗背景

自20 世纪40 年代末首次开发化疗以来，免疫疗法成为了最有前景的癌症治疗新方法（1）。检查点抑制剂在一系列癌症类型中多次获得批准，包括最近用于复发性或转移性头颈部鳞状细胞癌的 Keytruda®，这标志着免疫疗法作为肿瘤学治疗模式的时代已经到来（2）。

免疫肿瘤学的一个领域引起了人们的广泛关注，该领域是过继细胞治疗，特别是嵌合抗原受体T（CAR-T）治疗。CAR-T 治疗属于靶向免疫疗法，从患者体内提取T细胞，在体外进行基因修饰，以识别一种特定的肿瘤相关抗原。继患者体外增殖后，回输 CAR-T 细胞，有效地为患者提供了一种“活的药物”。CAR-T 细胞随后繁殖并选择性地攻击并杀死那些具备目标表面抗原的细胞，实现高肿瘤特异性。

CAR-T 治疗的临床前评估一直是当前临床试验成功的关键组成部分，为 CAR-T 细胞发挥最佳能力提供了所需的有价值信息（3）。

随着研究发展，人们认为临床前测试将在该领域继续发挥重要作用，完善从接受 CAR-T 细胞治疗的患者临床样本中收集的数据（3）。因此，在 CAR-T 治疗评估中使用适当的体内临床前模型，对于您在CAR-T 开发过程中作出准确、及时和具有成本效益的决策至关重要。

冠科生物具备丰富的免疫疗法和 CAR-T 疗法模型资源

冠科生物拥有一系列可用于临床前药物研发的免疫疗法研究平台，包括小鼠免疫（4）、人类免疫和新型嵌合系统（5），可用于生物药的研发（详见我们的体内免疫治疗药物发现应用指南）。

我们为体内 CAR-T 治疗评估提供了两个不同的平台，涉及多个模型库：

- 免疫功能不全环境中的 HuPrime PDX 模型
- 细胞系来源异种移植模型，特别是表达 CD19 的模型。

利用 PDX 评价 CAR-T 治疗

原发性肿瘤组织直接来源异种移植模型（从未与塑料接触）为临床前药物评价提供了最具预测性的异种移植模型。冠科生物研发的 HuPrime 是当今最大规模的商业化模型库，涵盖约 2500 个来自美国、欧洲和亚洲群体的，经过定性检测的 PDX 模型。具备肿瘤患者群体的多样性（在我们的 HuPrime 情况说明书中有详细说明）。

将我们其他的体内免疫治疗转化平台与 HuPrime 结合使用，可在高度预测性模型中开展临床前 CAR-T 评价。从而最大程度地利用模型库所具备的原始患者肿瘤的异质性病理和遗传特征。

通过我们精简的PDX 在线数据库 HuBase 和强大的新搜索引擎（在所有冠科生物肿瘤学数据库中搜索模型）OncoExpress，便于选择 CAR-T 评价适用 PDX 模型。我们的 PDX 模型经定性检测，具备详尽的基因组学和临床注释，可快速选择过表达相关抗原的模型。

我们还提供涵盖我们大部分 PDX 模型的肿瘤组织芯片（TMA），允许客户快速有效地研究和确认上百种来自不同肿瘤类型的PDX 样本中相关抗原的表达。



冠科生物及其合作伙伴已利用 PDX CAR-T 转化医学平台，分别评估了glypican-3 (GPC3) 靶向和间皮素 (MSLN) 靶向的 CAR-T 疗法，用于治疗肺部和胰腺实体瘤。

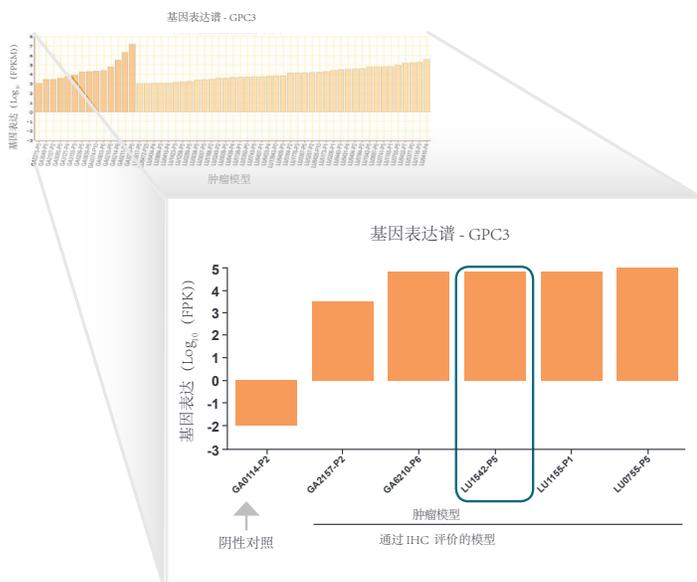
GPC3 靶向 CAR-T 疗法

GPC3 在肝细胞癌 (HCC) 和其他癌症中高表达，它将 Wnt 蛋白吸引到细胞表面，促进肿瘤细胞增殖 (6)。因此，GPC3 已成为候选的肿瘤治疗靶点，GPC3 衍生肽疫苗在 HCC 以及卵巢透明细胞癌和儿童癌症中的临床实验正在进行中。

在我们的 GPC3 研究中，我们利用 HuBase 中的 mRNA 数据识别出多种表达 GPC3 的胃癌和肺癌 PDX 模型 (图1)。免疫组织化学 (IHC) 证实了其中2 例 PDX 表达 GPC3，最终选择了非小细胞肺癌 (NSCLC) 模型 LU1542 (详见表1, GPC3 IHC 见图2) 评价 CAR-T 疗法的治疗效果。

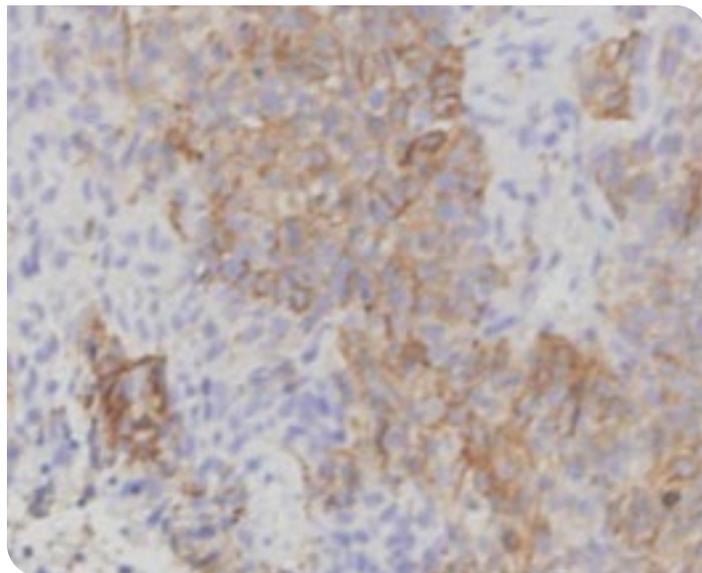
将 PDX 模型植入 NOD/SCID 小鼠皮下，用 CAR-GPC3T 细胞进行静脉注射。

图 1: GPC3 在胃癌和肺癌 PDX 模型中的表达汇总



RNAseq GPC3 表达 (截断值为3)，插图显示了 IHC 评价 GPC3 表达用模型。

图 2: LU1542 PDX 模型 GPC3 表达



通过IHC 确认LU1542 GPC3 表达。模型如P10 所示。

表 1: NSCLC SCC PDX 模型 LU1542 汇总表

HuPrime 标识符	癌症类型和亚型	患者背景	肿瘤病理学诊断	PDX 肿瘤病理学 QC	基因组分析	治疗史	致癌基因突变状态示例
LU1542	肺癌 NSCLC、SCC	68 岁亚洲 男性	鳞状细胞癌。支气管残端附近无恶性细胞。局部淋巴结 (LN)：肺小叶间 LN (0/2)、第二肺门 LN (0/2)、气管隆突下 LN (0/3)、上纵隔 LN (0/6)	P0, P8: 低分化鳞状细胞癌	Affy U219 Affy SNP 6.0 miRNA2.0 数据 RNAseq 完成	未处理	WT: BRAF, CTNNB1, EGFR, KRAS, MAPK1, PIK3CA, PTEN AKT1 49G> A Glu17Lys homo TP53 742C> T Arg248Trp homo



该模型对 CAR-T 细胞治疗高度敏感，表现出肿瘤生长抑制和肿瘤重量减轻（图3）

MSLN 靶向 CAR-T 疗法

MSLN 是一种细胞表面抗原，在间皮瘤以及肺癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌和其他癌症中高表达。它的异常表达在肿瘤的恶变和肿瘤的侵袭性中均起作用，结合正常间皮细胞上的低表达，MSLN 提供了一个有吸引力的肿瘤靶点（7）。

MSLN 靶向免疫治疗药物的一系列 I 期和 II 期临床试验正在进行中，包括 CAR-T 治疗、肿瘤疫苗和基于抗体的治疗，治疗包括胰腺癌、卵巢癌和间皮瘤在内的多种癌症类型（7）。

与我们的 GPC3 实验相似，基于 HuBase 中的 mRNA 数据用于选择多个表达 MSLN 的 PDX 模型，包括一系列胰腺癌 PDX（图4）。根据表达数据和既往研究中 MSLNADC 部分缓解的实验结果，选择 PDX 模型 PA3029（详见表2）评价 CAR-T 治疗效果。

在小鼠皮下植入 PDX 模型后，用 CAR-MSLN T 细胞静脉注射处理动物。PA3029 对 CAR-T 细胞治疗高度敏感，观察到了肿瘤消退（图5）。

这些案例研究数据证实，我们 PDX 模型转化医学平台，以及用于模型选择和验证的 HuBase 和 IHC 数据库，均是评价新型T细胞疗法的宝贵工具。

图3: LU1542 PDX 模型对 GPC3 靶向 CAR-T 治疗的反应：
肿瘤生长抑制和肿瘤重量减轻

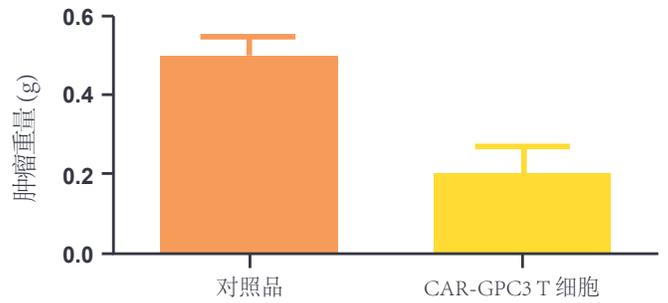
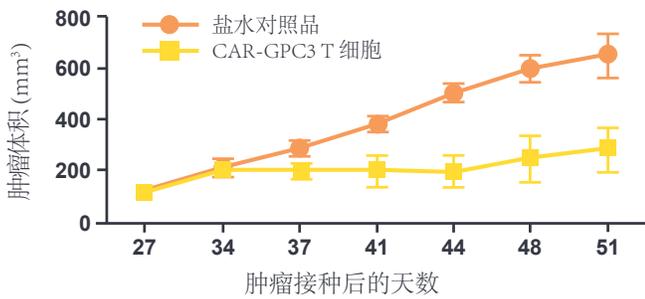


图4: MSLN 在胰腺癌 PDX 模型中的表达

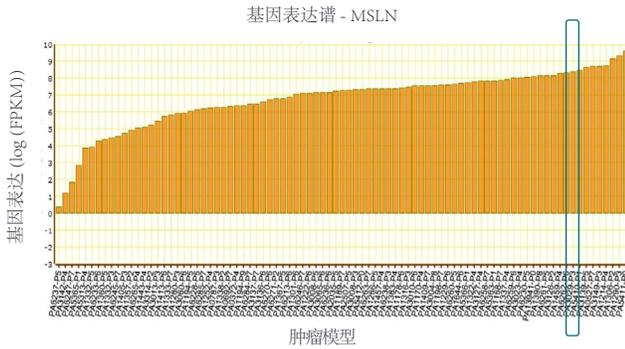


图5: PA3029 PDX 模型对 MSLN 靶向 CAR-T 治疗的反应：
肿瘤生长抑制

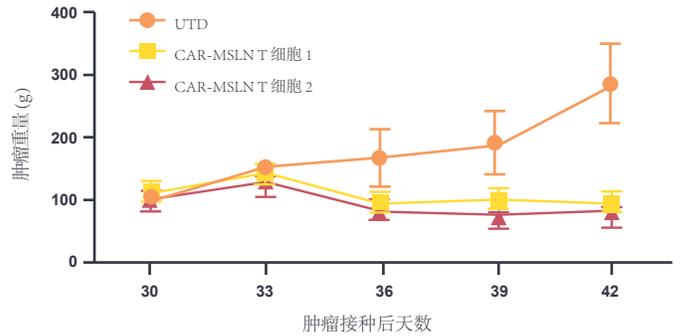


表2: 胰腺导管腺癌 PDX 模型 PA3029

HuPrime 标识符	癌症类型和亚型	患者背景	肿瘤病理学诊断	PDX 肿瘤学 QC	基因组分析	治疗史	致癌基因突变状态示例
PA3029	胰腺导管腺癌	70 岁亚洲女性	胰头导管腺癌，中低分化	Pa, P4: 中度分化腺癌	RNAseq 完成	未经治疗	WT:AKT1, BRAF, EGFR, MAPK1, PIK3CA KRAS 35G>A G1y12Asp



靶向 CD19 的 CAR-T 治疗评价

大多数正在研发的 CAR-T 治疗以 CD19 为靶点，该靶点是一种 B 细胞表面蛋白，在整个 B 细胞发育过程中均有表达。因此，几乎存在于所有 B 细胞恶性肿瘤中。这使得 CD19 成为慢性淋巴细胞白血病 (CLL)、急性淋巴细胞白血病 (ALL) 和 B 细胞淋巴瘤等血液系统恶性肿瘤 CAR-T 治疗的主要靶点。

我们验证了 Raji 人源 Burkitt 淋巴瘤异种移植模型在评估 CAR-CD19 T 细胞疗法上的可行性。Burkitt 淋巴瘤是一种淋巴系统肿瘤，尤其是 B 淋巴细胞。该模型对 CD19 靶点高度敏感。不使用治疗的情况下，我们的 Raji 模型就会迅速走向终点；但用 CAR-CD19 T 细胞治疗会使模型 100% 存活 (图6)。

总结

免疫疗法作为一种肿瘤治疗方法正在走向成熟，检查点抑制剂等多种药物已经获得批准。CAR-T 疗法作为逐渐兴起的另一种类型的肿瘤免疫疗法，有潜力成为难治性血液恶性肿瘤的高特异性标准治疗。因此急需一种能够用于评价新型 CAR-T 治疗效果和安全性的，经验证的临床前模型。

冠科生物为体内 CAR-T 评价提供了两个不同平台。我们庞大的 HuPrime PDX 模型库允许在高度预测性的模型中评估 CAR-T 治疗，它们保留了原始患者肿瘤的异质性病理和遗传特征。

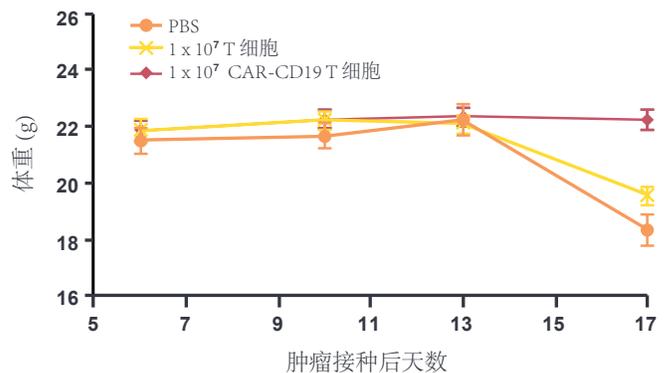
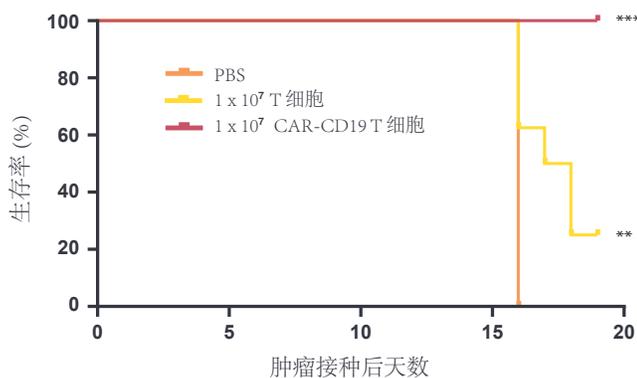
冠科生物已经在 HuBase 数据库 (涵盖基因组注释和完整的表征数据) 以及 TMA 库中，针对 CAR-T 疗法的评价，有针对性地整合了我们的模型，便于快速选择模型来满足各种研究需求。

我们完成了 PDX 病例研究，使用 GPC3 和 MSLN 靶向 CAR-T 治疗，分别在表达抗原的 NSCLC 和胰腺 PDX 模型中显示诱导肿瘤生长抑制。这证实了 PDX 转化平台，以及我们的模型选择和验证技术，确实是评价新型 T 细胞疗法的有效工具。

经验证的 CD19 阳性 Raji 模型允许评价 CD19 靶向的 CAR-T 治疗，而 CD19 是 CAR-T 领域的关键抗原。用 CAR-CD19 T 细胞疗法治疗 Raji 人 Burkitt 淋巴瘤异种移植模型可使模型存活率达到 100%。

如果对我们的 CAR-T 平台有疑问或想获取所需信息，或获取更多关于我们体内免疫疗法模型、其他产品和服务的信息，请登录 crownbio.com 与我们联系。

图6: Raji Burkitt 淋巴瘤模型对 CD19 靶向 CAR-T 治疗的反应: 体重和模型存活率 **p<0.01, ***p<0.001。





参考文献

- ¹ Cancer Research Institute Website. Cancer Immunotherapy <http://www.cancerresearch.org/cancer-immunotherapy> Accessed 16 June 2016.
- ² US Food and Drug Administration Website. Approved Drugs pembrolizumab (Keytruda) <http://www.fda.gov/Drugs/InformationOnDrugs/ApprovedDrugs/ucm515627.htm> Accessed 05 September 2016.
- ³ Abate-Daga D and Davila ML. CAR models: next-generation CAR modifications for enhanced T-cell function. *Molecular Therapy - Oncolytics* 2016;3: 16014.
- ⁴ 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.
- ⁵ Wang Z, Cai B, Chen G et al. HuGEMM™: 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.
- ⁶ Gao W, Kim H, Feng M et al. Inactivation of Wnt signaling by a human antibody that recognizes the heparan sulfate chains of glypican-3 for liver cancer therapy. *Hepatology* 2014;60(2): 576-587.
- ⁷ Morello A, Sadelain M, Adusumilli PS. Mesothelin-Targeted CARs: Driving T cells to Solid Tumors. *Cancer Discovery* 2016;6(2): 133-146.

联系



销售
太仓 0512-53879999

busdevcn@crownbio.com
www.crownbio.com



科学
consultation@crownbio.com

