

# MiXeno<sup>TM</sup>

PBMC 人源化小鼠模型，用于简洁的免疫治疗评估

**MiXeno 提供了一种简单、快捷和具有高效费比的方法来评估被测化合物的抗肿瘤活性。它可以替代复杂的全干细胞人源化模型的。**

我们提供的已验证模型，均通过了多种抗肿瘤单抗和免疫调节剂的基准测试。我们也提供定制化服务，与您一同研发满足特定需求的模型。

- PBMC 人源化模型是将人源免疫细胞与人源肿瘤移植体混合或分开移植到模型小鼠中而产生的。
- 所得小鼠模型中重建了人源 T 和 NK 细胞谱系
- 在致敏和抗原激活时可在小鼠模型中观察到 B 细胞重建并产生抗体。
- 可用于测试 T 和 NK 细胞调节剂并评估一系列免疫疗法（包括检查点抑制剂、癌症疫苗和 ADCC 效应）。
- 多种模型，可适用实体瘤和血液癌症的测试。

**人类特异性免疫疗法临床前评价所需的人类免疫模型，利用 PBMC 人源模型简化您的实验流**

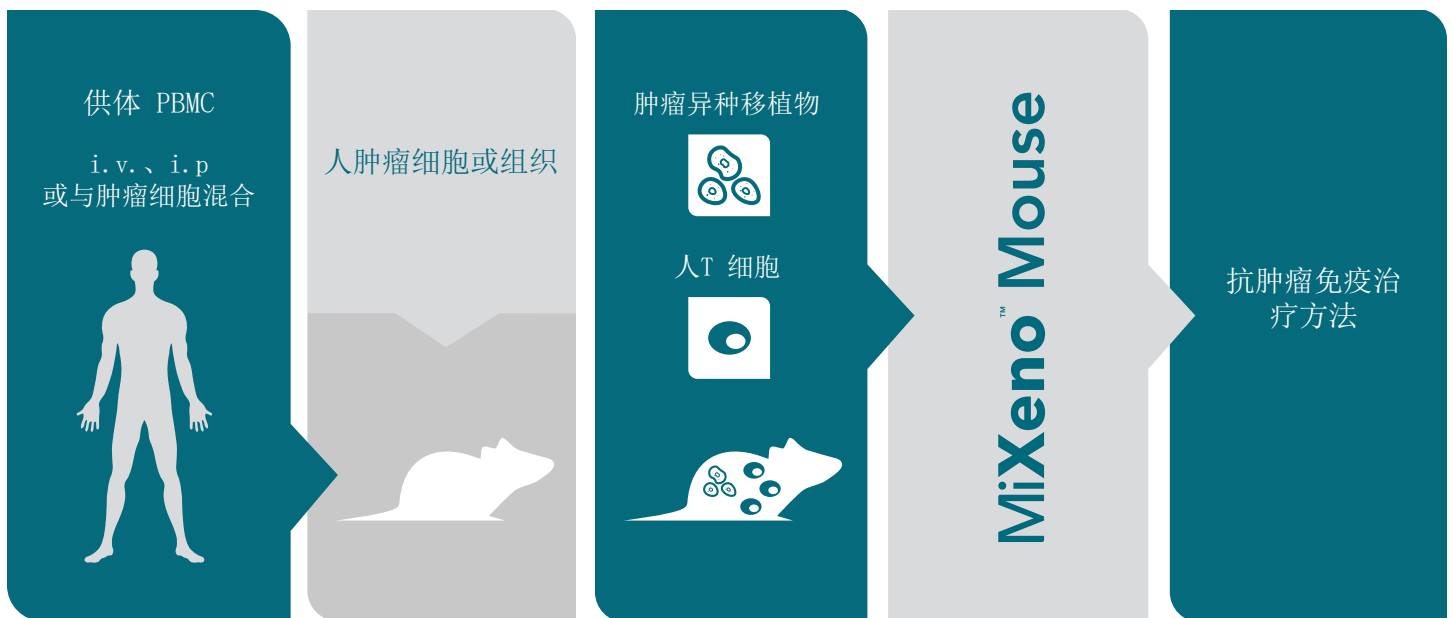
- 通过依次植入人外周血单核细胞（PBMC）和异种移植肿瘤，或在皮下接种前将免疫细胞与肿瘤细胞混合生成

- 显示 T、B 和NK 细胞群重建所得小鼠模型
- 复杂全干细胞衍生人源化模型的备选模型
- 可进行定制模型的研发
- 已研发了多种肿瘤类型的一系列模型并以此为基准模型，使用抗肿瘤 mAb 和免疫调节剂来评估治疗后肿瘤缓解（模型汇总见表 2）。

**免疫调节剂评估所需的免疫活性模型**

免疫肿瘤学正在给临床前药物开发人员带来更多新挑战，包括需要免疫活性模型进行新型药物评价。使用同基因模型将许多药物评估为小鼠同源物；但需要检测人类特异性治疗时，需要人类靶标和人源化模型。

具备可重建多系免疫细胞（hCD34+）的人源化小鼠模型已经存在，但其成本高且不便使用。因此，冠科生物开发了一种更直接、快捷和低成本的人源化平台，其利用人外周血单核细胞（PBMC）进行人特异性药物评估。



## MiXeno 模型背景和概念

MiXeno 模型利用异种移植模型，通过混合或连续添加人 PBMC 或活化T 细胞，在人荷瘤小鼠中提供部分重建的人免疫。所得鼠模型显示了T 和 NK 细胞群重建。B 细胞重建；然而，它们的清除速度比T 细胞和 NK 细胞快，但不一定能在外周血样本中识别出。致敏和激发后可观察到抗体产生。

MiXeno 平台为全干细胞重建提供了一种简便、快捷但可靠的替代模型，在短时工作时有用，或者用于在转移至更复杂的多谱系免疫模型之前选择药物。

MiXeno 模型适用于多种肿瘤免疫学应用（如表1 所示），包括评估癌症疫苗、检查点抑制剂、抗体依赖性细胞毒性（ADCC）或基于 NK 细胞的治疗。

冠科生物已在许多异种移植模型中验证了 MiXeno 平台，癌症类型、动物品系和 PBMC 注射途径，验证结果汇总见表 2。我们还可根据客户要求建立并测试定性其他的 MiXeno 模型。

## COLO 205 MiXeno 成功案例研究 评估ADCC 效应的模型应用

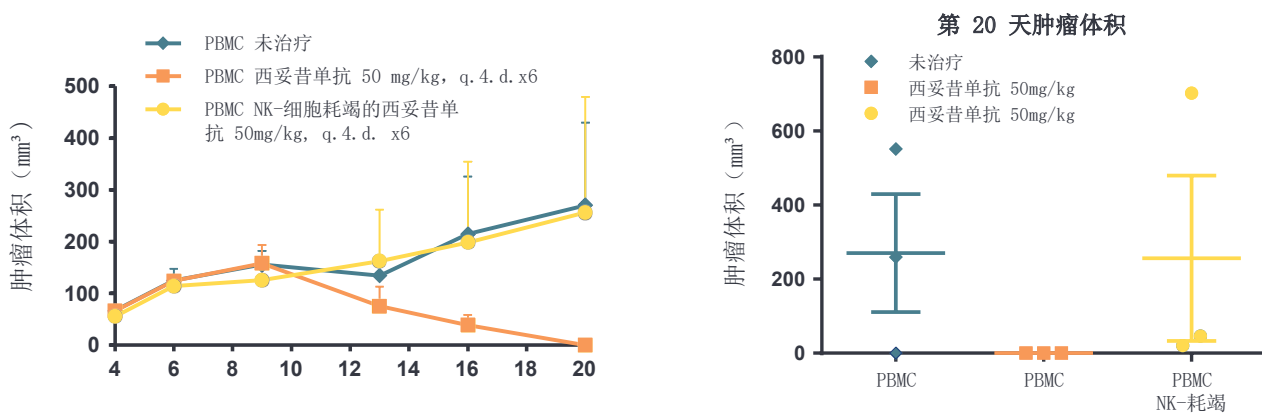
MiXeno 模型由于其可快速建立并有效重建 NK 细胞群，是评价 ADCC 效应的理想平台。西妥昔单抗是一种靶向 EGFR 配体结合域的嵌合 IgG1 单克隆抗体，在转移性结直肠癌（mCRC）中具有活性。作为一种 IgG1 抗体，西妥昔单抗可通过EGFR 拮抗作用和/或 ADCC 发挥其抗肿瘤疗效。但 ADCC 是否真的有助于提高西妥昔单抗的临床疗效仍有待确定。

NPG 背景下，通过皮下接种掺入人 PBMC 或NK 耗竭PBMC 的人 COLO 205 细胞建立 COLO 205 MiXeno 模型。用西妥昔单抗处理所得模型，评价 ADCC 对所得体内疗效影响的显著性。NK 耗竭可阻止模型对西妥昔单抗的反应（图1），因此证实该抗体通过ADCC 作用在体内发挥其抗肿瘤活性。

表 1: MiXeno 的免疫肿瘤学应用

涉及的免疫功能	供试品	冠科生物具备的经验
T 细胞功能	BiTE® 样抗体	CD19, HER2, EGFR, EpCAM-CD3
	免疫检查点抑制剂/激动剂	PD-1, PD-L1 抑制剂
NK 细胞功能	ADCC	西妥昔单抗
	NK 调节剂	尚无
细胞行为	癌症疫苗	尚无

图 1: COLO 205 MiXeno 模型通过 ADCC 效应对西妥昔单抗发生的反应



NPG mice, 2 PBMC donors, tumor cells:  $4 \times 10^6$  s.c. admixed with  $4 \times 10^6$  PBMC on Day 0, treatment: from Day 4.

治疗	肿瘤体积 (mm <sup>3</sup> )	第 20 天T/C 值 (%)	p 值
未治疗	270 ± 159	--	--
西妥昔单抗	0 ± 0	0	0.165
西妥昔单抗 (无NK)	256 ± 223	95	0.962



表 2: MiXeno 模型汇总

癌症类型	模型名称	动物品系	PBMC 注射途径	模型使用
胸部	BT-474 (s. c.)	NCG/NOG/NPG	s. c. (与肿瘤细胞混合)	CD3-双特异性抗体 Herceptin®
结肠	COLO 205 (s. c.)	NCG/NOG/NPG	s. c. (与肿瘤细胞混合)	西妥昔单抗
	HCT116 (s. c.)	NOD/SCID NCG/NOG/NPG	s. c. (与肿瘤细胞混合), i. p.	CD3-双特异性抗体 抗 PD-1 抗体 抗 PD-L1 抗体 EpCAM BiTE
	HT-29 (s. c.)	NCG/NOG/NPG	i. p.	抗 CD137 抗体
	RKO (s. c.)	NPG NOD/SCID	i. p.	不适用
	SW480 (s. c.)	NOD/SCID	s. c. (与肿瘤细胞混合)	CD3-双特异性抗体 EpCAM BiTE
	SW620 (s. c.)	NCG/NOG/NPG	i. p.	不适用
食管	KYSE-150 (s. c.)	NPG NOD/SCID	i. p.	不适用
	KYSE-270 (s. c.)	NPG NOD/SCID	i. p.	不适用
白血病	NALM-6 (i. v.)	NOD/SCID	i. v.	不适用
肝脏	HepG2 (s. c.)	NPG	i. p.	不适用
肺部	A549 (s. c.)	NCG	s. c. (与肿瘤细胞混合)	抗 PD-1 抗体
	HCC827 (s. c.)	NCG/NOG/NPG	i. p., i. v.	抗 PD-1 抗体 抗 PD-L1 抗体
	NCI-H292 (s. c.)	SCID/Beige	i. v., s. c.	不适用
	NCI-H358 (s. c.)	NCG/NOG/NPG	i. p., i. v.	不适用
淋巴瘤	Daudi (s. c.)	NCG/NOG/NPG	i. p.	不适用
	Jeko-1 (s. c.)	NCG/NOG/NPG	i. p.	CD3-双特异性抗体 伊布替尼 抗 PD-1 抗体 抗 PD-L1 抗体
	Karpas299 (s. c.)	NCG/NOG/NPG	i. v.	抗 PD-L1 抗体 CD47 BiTE
	Pfeiffer (s. c.)	NCG/NOG/NPG	i. p.	伊布替尼
	Raji (s. c.)	NOD/SCID	i. v.	不适用
黑色素瘤	A2058 (s. c.)	NCG/NOG/NPG	i. p., s. c. (与肿瘤细胞混合)	不适用
	A375 (s. c.)	NCG/NOG/NPG	s. c. (与肿瘤细胞混合的活化 T 细胞), i. v. (PBMC)	抗 PD-L1 抗体
骨髓瘤	NCI-H929 (s. c.)	NCG/NOG/NPG	i. p.	不适用
	RMPI-8226 (s. c.)	NCG/NOG/NPG	i. p.	不适用
卵巢	SK-OV-3 (s. c.)	NCG/NOG/NPG	i. v.	EpCAM BiTE
前列腺	22RV1 (s. c.)	NCG/NOG/NPG	s. c. (与肿瘤细胞混合)	不适用
	PC-3 (s. c.)	SCID/Beige	s. c. (与肿瘤细胞混合)	抗 CD137 抗体
舌部	SCC-4 (s. c.)	NOD/SCID	s. c. (与肿瘤细胞混合)	抗 PD-1 抗体

可根据要求验证其他模型。



## COLO 205 MiXeno 成功案例研究 评估ADCC 效应的模型应用

MiXeno 模型由于可快速建立以及有效重建NK 细胞群，所以是评价 ADCC 效应的理想平台。西妥昔单抗是一种靶向 EGFR 配体结合域的嵌合 IgG1 单克隆抗体，在转移性结肠直肠癌（mCRC）中具有活性。作为一种 IgG1 抗体，西妥昔单抗可通过 EGFR 拮抗作用和/或 ADCC 发挥其抗肿瘤疗效。但 ADCC 是否真的有助于提高西妥昔单抗的临床治疗效果仍有待确定。

NPG 背景下，通过皮下接种掺入人 PBMC 或NK 耗竭 PBMC 的人 COLO 205 细胞建立 COLO 205 MiXeno 模型。所得模型用西妥昔单抗处理，以评价 ADCC 效应对所产生体内疗效的意义。NK 耗竭可阻止模型对西妥昔单抗的反应（图 1），因此证实该抗体通过 ADCC 效应在体内发挥其抗肿瘤活性。

## HCC827 MiXeno 成功案例研究 免疫疗法评估用模型优化和定性检测

新 PBMC 是人源化的理想细胞来源；但使用新 PBMC 需要优化模型，然后才能进入体内疗效研究。模型优化包括：

- 同步肿瘤/PBMC 接种
- 确定最佳接种途径和细胞数
- 评价 PBMC 供体依赖性和特异性
- 评估供体 HLA 类型对免疫或肿瘤细胞植入的影响

我们经定性检测的 MiXeno 模型之一是 HCC827 肺癌模型，为此，我们开展了一系列研究以优化 PBMC 和肿瘤接种，并了解 PBMC 供体间变异性对模型治疗反应的影响。

对于每项独立的 HCC827 MiXeno 研究，确定了最佳的 PBMC 和肿瘤给药途径。这在逐项研究的基础上实现有利的肿瘤植入和最佳免疫细胞重建，以成功评估免疫疗法的疗效。

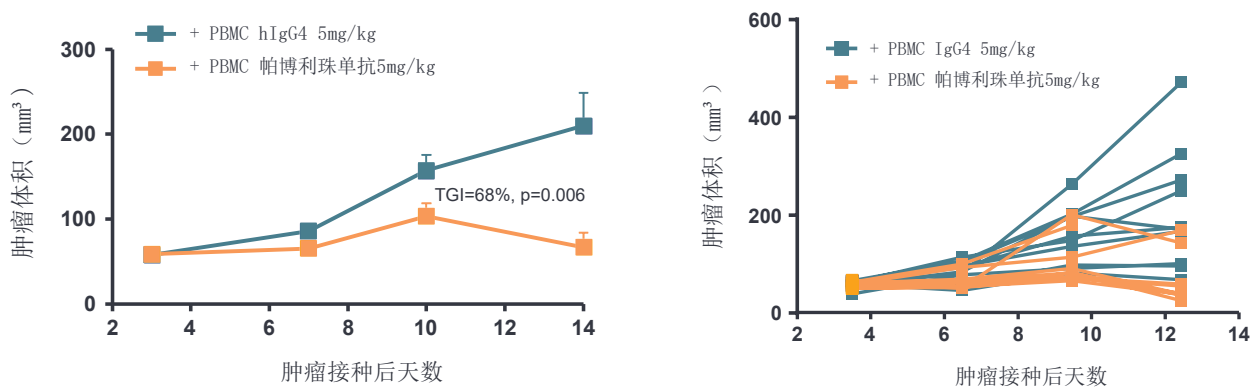
为统计把握度研究结果（即使存在供体间差异性），每次接种至少会使用 2 个不同的 PBMC 供体，并使用多个供体重复研究。HCC827 模型对治疗的反应也依赖于免疫细胞供体。

评估了抗 PD-1 和 PD-L1 抗体治疗的 HCC827 模型反应和供体变异性效应。图 2 显示了在使用 2 个 PBMC 供体的疗效研究中 HCC827 模型对帕博利珠单抗的反应。在本研究中，观察到肿瘤生长抑制（TGI）为 68%。

在Keytruda® 疗效研究中，使用另外 2 名个体 PBMC 供体，抗 PD-1 应答显示为 PBMC 供体依赖性。人源供体 APBMC 的 MiXeno 动物显示中度应答，而供体 B 的 MiXeno 动物无应答（图3）。观察到抗 PD-L1 抗体相似数据。

评估抗 PD-1 和 PD-L1 抗体治疗的 HCC827 模型反应和供体变异性效应。图 2 显示了在使用 2 个 PBMC 供体的疗效研究中 HCC827 模型对帕博利珠单抗的反应。在该研究中，观察到肿瘤生长抑制（TGI）为 68%。

图 2: HCC827 MiXeno 模型对帕博利珠单抗治疗的反应



666 NCG mice, 2 PBMC donors, tumor cells:  $5 \times 10^6$  s.c. on Day 0, PBMC:  $1 \times 10^7$  cells i.v. 3 days prior to tumor inoculation, treatment: Days 3, 7, 10.





在 Keytruda® 疗效研究期间，使用另外 2 名个体 PBMC 供体，抗 PD-1 应答显示为 PBMC 供体依赖性。人源供体 APBMC 的 MiXeno 动物显示中度应答，而供体 B 的 MiXeno 动物无应答（图3）。抗 PD-L1 抗体观察到了相似数据。

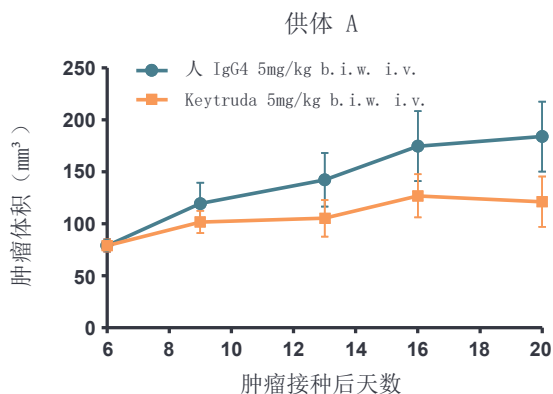
### Jeko-1 MiXeno 成功案例研究与模型免疫分析的体内应答相关

使用 MiXeno 模型进行的免疫疗法评估也可与 FACS 的免疫谱相结合，以真正了解反应背后的机制。我们使用抗 PD-1 和 PD-L1 抗体

以及伊布替尼（Bruton 酪氨酸激酶抑制剂）评估了 Jeko-1 人套细胞淋巴瘤 MiXeno 模型，并研究了下游免疫分析导致的免疫细胞群变化。

Jeko-1 模型对抗 PD-1 治疗敏感，对抗 PD-L1 治疗有部分反应（图4）。在研究结束时（第39 天），使用 FACS 分析评估给药后 Jeko-1 肿瘤内的T 细胞亚群。根据疗效数据，在抗 PD-1 治疗后观察到 CD3+ 和 CD8+ TIL 增加，而在抗 PD-L1 治疗组中未观察到该现象，这可解释这些动物中较多的中等水平应答（图5）。

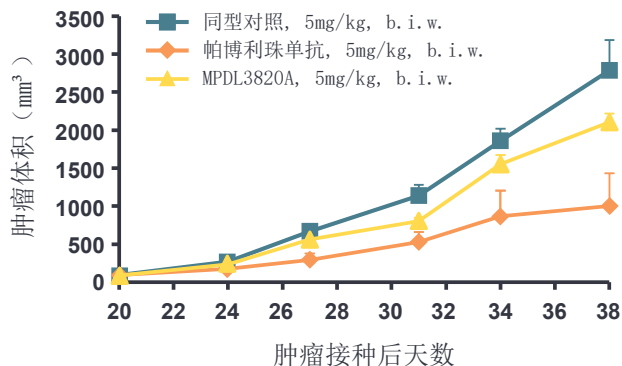
图 3: MiXeno HCC827 模型 Keytruda 反应具有 PBMC 供体依赖性



NOG 小鼠，2 个PBMC 供体，肿瘤细胞：第0 天5x106 s.c.，PBMC：第6 天1×107 个细胞i.v. 治疗：从第6 天开始b.i.w.。

治疗	肿瘤体积(mm3)	第 20天 T/C (%)	p 值
人IgG4 (供体A)	184 ± 34	--	--
Keytruda (供体A)	121 ± 24	66	0.152
人IgG4 (供体B)	196 ± 22	--	--
Keytruda (供体B)	158 ± 13	81	0.163

图 4: Jeko-15 MiXeno 模型对抗 PD-1 治疗的反应



NOG 小鼠，1 个PBMC 供体，肿瘤细胞：第0 天5x106 s.c.，PBMC：5x106 个细胞i.p. 肿瘤细胞接种后3 天，治疗：从第20 天开始

治疗	肿瘤体积(mm³)	第38 天T/C 值 (%)	p 值
同型对照	2785 ± 398	--	--
帕博利珠单抗	1002 ± 429	36	0.016
MPDL3280A	2105 ± 111	76	0.184

供体 B

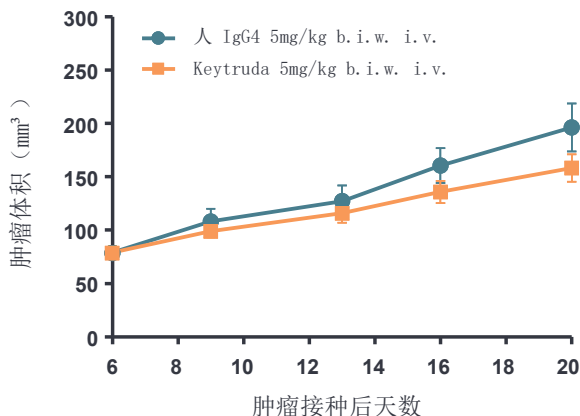
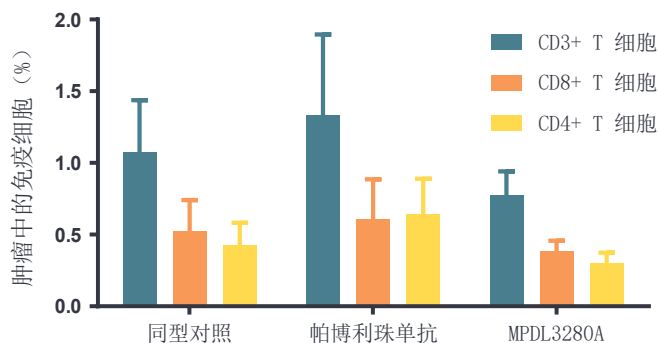


图 5: 与疗效反应相关的肿瘤免疫分析数据



## Jeko-1 MiXeno 成功案例研究 与模型免疫分析的体内应答相关

使用 MiXeno 模型的免疫疗法评估也可与 FACS 的免疫谱相结合，以真正了解反应背后的机制。我们借助抗 PD-1 和 PD-L1 抗体以及伊布替尼 (Bruton 酪氨酸激酶抑制剂) 评估了 Jeko-1 人套细胞淋巴瘤 MiXeno 模型，并研究了下游免疫分析引起的免疫细胞群变化。

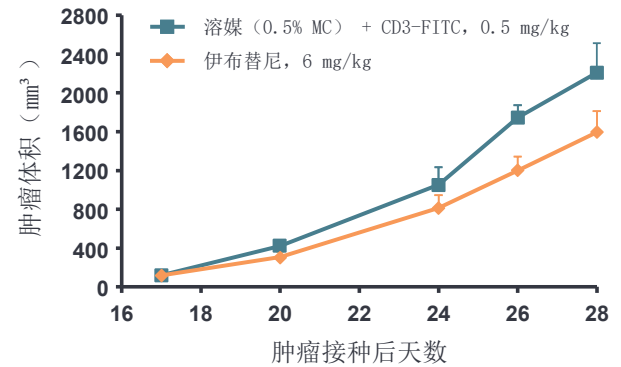
Jeko-1 模型对抗 PD-1 治疗敏感，并对抗 PD-L1 治疗有部分反应 (图4)。在研究终止时 (第39 天)，使用 FACS 分析评估治疗后 Jeko-1 肿瘤内的T 细胞亚群。依据疗效数据，继抗 PD-1 治疗后观察到 CD3+ 和 CD8+ TIL 增加，而在抗 PD-L1 治疗组中未观察到该现象，这可解释这些动物出现中等水平应答的原因 (图 5)。

伊布替尼获批作为二线治疗药物，用于治疗复发性或难治性套细胞淋巴瘤的，BTK 是 B 细胞受体存活通路的重要成分，在套细胞淋巴瘤中可处于长期激活状态。使用伊布替尼处理 Jeko-1 模型，从而实现达到部分缓解 (图 6)。

免疫分析显示，伊布替尼给药对外周血、脾脏和肿瘤样本中的 B 细胞水平没有显著影响 (图 7)。在第 25 天观察到给药动物的血液和脾脏中 T 细胞呈现增加的趋势；但给药后肿瘤中 T 细胞的百分比似乎有所降低 (图 7)。

这些免疫分析数据可能解释了该模型中伊布替尼缺乏强效抗肿瘤反应的原因。

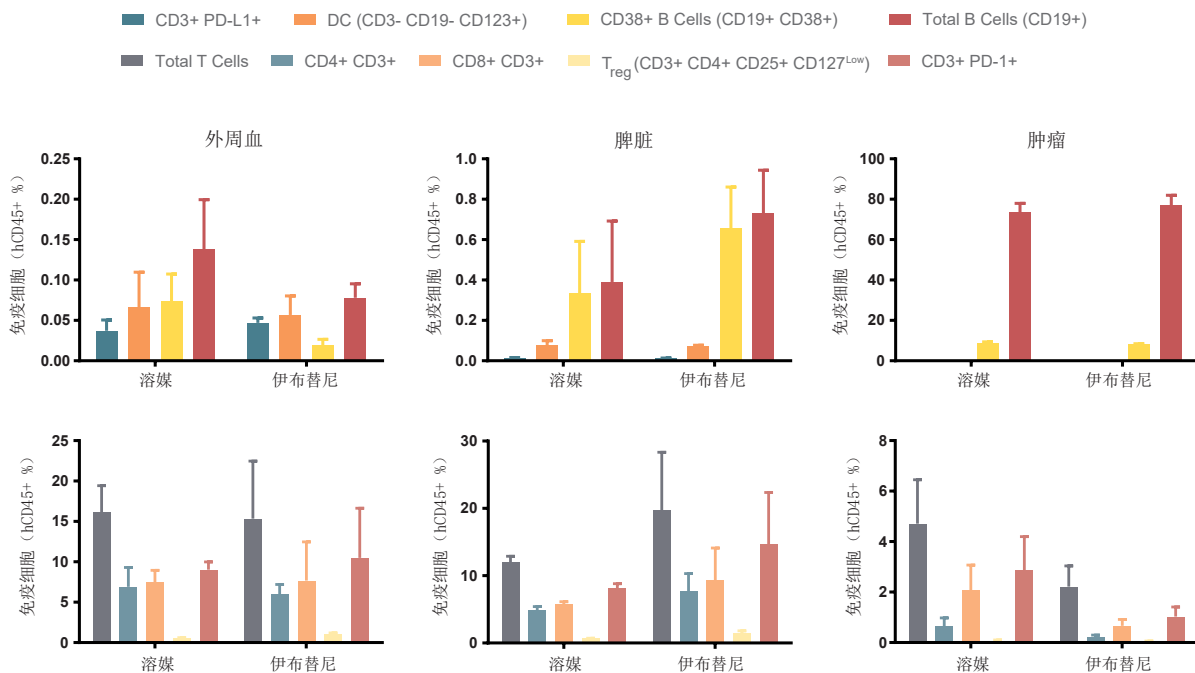
图 6: 对伊布替尼治疗有部分反应的 Jeko-15 MiXeno 模型



NCG 小鼠, 2 个PBMc 供体, 肿瘤细胞: 第0 天5x106 s.c., PBMc: 1x107 i.p. 肿瘤细胞接种后3 天, 治疗: 从第17 天开始。

Treatment	Tumor Volume (mm3)	T/C Value (%) on Day 28	p Value
Vehicle (0.5% MC) + CD3-FITC	2207 ± 305	--	--
Ibrutinib	1595 ± 216	72	0.925

图 7: 免疫分析数据揭示了缺乏应答的可能机制





## 总结

MiXeno 平台为 PBMC 人源化小鼠模型提供了一种简化且具有高性价比的免疫疗法评估方法。利用异种移植模型，通过混合或连续添加人免疫细胞，研发了该平台。MiXeno 小鼠模型具备重建人源 T、B 和 NK 细胞系。这为临床前评估引起抗体介导应答的 T 细胞和 NK 细胞调节剂或癌症疫苗提供了理想的模型。

我们对每个模型进行优化，以实现免疫细胞重建与稳定肿瘤生长的最佳组合，使用最适合的免疫缺陷宿主菌株成功研究了模型对免疫疗法的反应。每项研究使用了多个免疫细胞供体，以抵消供体间变异性。

我们的 MiXeno 模型以免疫检查点抑制剂等免疫疗法（例如抗 PD-1 和 PD-L1）和研究 ADCC 效应的药物为基准。针对不同的免疫细胞供体描述了模型反应的定性，且将疗效研究与 FACS 分析相结合，将治疗后的免疫特征与反应水平相关联，并在真正了解该平台的药物作用机制。

## 联系



销售

太仓 0512-53879999

busdevcn@crowbio.com  
www.crowbio.com



科学

consultation@crowbio.com

