

FGFR3 融合 体内异种移植模型平台

使用全面的FGFR3融合体内异种移植模型，推进临床前FGFR抑制剂的研究

众所周知，**FGFR3**融合具有潜在的致癌性，可为特定癌症患者（包括获得性化疗耐药的患者）提供“药物”靶点。

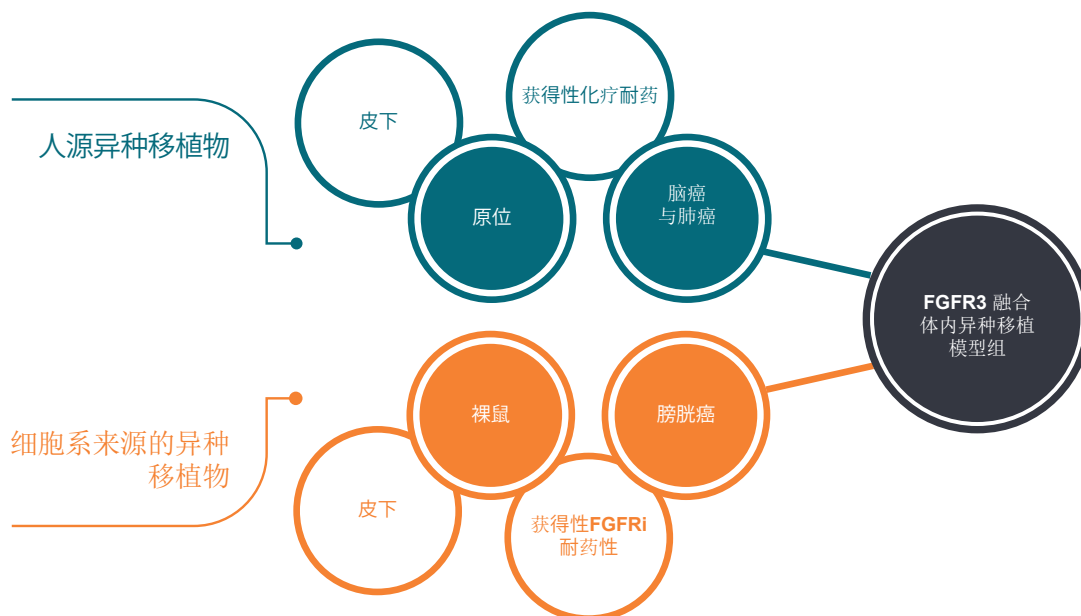
以这些融合为靶点的 **FGFR**抑制剂（**FGFRi**），需要在模型中进行体内研发和评估，该模型概括了临床中观察到的 **FGFR3** 融合基因型和耐药表现型。

中美冠科生物提供了全面的 **FGFR3** 融合体内异种移植模型组，具有适用于临床前研发各个阶段的多种模型：

- 该模型组范围广泛，包括：
 - 细胞系来源的异种移植模型，可用于启动先导化合物研发
 - 人源肿瘤异种移植 (PDX) 模型，提供了具备高度预测性的疗效数据
- **FGFR3-TACC3** 和 **FGFR3-JAKMIP1** 融合，涵盖了膀胱癌、肺癌和脑癌，对应于具有临床相关性的融合事件
- 获得的抗性模型，可用于验证新型 **FGFRi**：
 - 包括对当前 **FGFRi** 具有抗性的细胞系来源异种移植模型
 - 具有 **FGFRi** 敏感性以模拟临床环境的化疗抵抗型化学抗性 PDX 模型

中美冠科生物提供全面的 **FGFR3** 融合体内异种移植模型组，可通过临床前研究有效地评估转移新型 **FGFRi**，为临床试验做好准备：

- 模型组包含 **ValidatedXeno™** 细胞系来源异种移植模型，用于一系列先导化合物的研发研究：
 - 具有 **FGFR3-TACC3** 融合的 RT4 和 RT112/84
 - 模型对标准治疗 (SoC) 药物（包括多西他赛、紫杉醇和顺铂在内）有反应并具有耐药性，并对多靶点酪氨酸激酶抑制剂 (TKI) 敏感，例如舒尼替尼、乐伐替尼
 - 可用的实验治疗数据包括：具有 **FGFRi** 敏感性的模型，以及可用于验证的 **FGFRi** 耐药性模型的开发
 - 用于 PK 研究的裸鼠 RT4 和 RT112 模型
- 辅以我们的 **HuPrime®** PDX 模型，为您进行临床试验时的关键转化决策提供高度预测的疗效数据：
 - 通过 NGS 进行全面分析，并具有 **FGFR3-TACC3** 和 **FGFR3-JAKMIP1** 融合特征的肺癌 (NSCLC、SCC) 和脑癌模型
 - 皮下和原位模型
 - 模型对包括顺铂在内的一系列 SoC 敏感且具有耐药性，获得的紫杉醇 + 卡铂耐药性组合模型可用于验证
 - 在化学敏感性化疗敏感型和获得性化学耐药性化疗耐药型 PDX 模型中测试设置中的和分析 **FGFRi** 敏感性，用于具有临床相关性的耐药性建模研究



用于肿瘤药物研发的靶向 FGFR3 融合

酪氨酸激酶受体的 FGFR 家族广泛参与到细胞活动中，包括增殖、分化和存活。家族成员 FGFR1 至 FGFR4 的突变、单核苷酸多态性 (SNP)、扩增和易位，被认为是多种癌症类型的致病因素⁽¹⁾。

这些易位包括由实体瘤中的染色体重组引起的 FGFR3 融合，通常在膀胱癌和肺癌、胶质母细胞瘤和胆管癌中观察到⁽²⁾。一些已鉴定的融合具有潜在的致癌性，了解它们的下游信号传导以及如何阻断，可以提供新的治疗机会⁽²⁾。

例如，已在一系列癌症类型中对 FGFR3-TACC3 融合蛋白进行了研究，证明：

- 对神经胶质瘤、膀胱和肺癌细胞中的 FGFR TKI 敏感^(3,4)
- 在临床试验中对靶向 FGFR 的多激酶TKI 有反应，一名宫颈癌患者病情稳定，表明 FGFR 受到抑制⁽⁵⁾
- 提高对 EGFR 信号传递驱动的 HNSCC 癌细胞系中 EGFR 靶向治疗的耐药性⁽⁴⁾

这些治疗反应和新出现的数据表明 FGFR3 融合可以为选择的癌症患者提供“药物”靶点，并且可能是处理某些癌症类型的治疗获得性耐药的关键。

现在，为对靶向 FGFR3 融合的新型药物进行评价，以及进一步研究此类融合事件的作用，需要使用适当模型，用于捕获在患者中观察到的融合基因型。

表 1: ValidatedXeno FGFR3 融合模型汇总

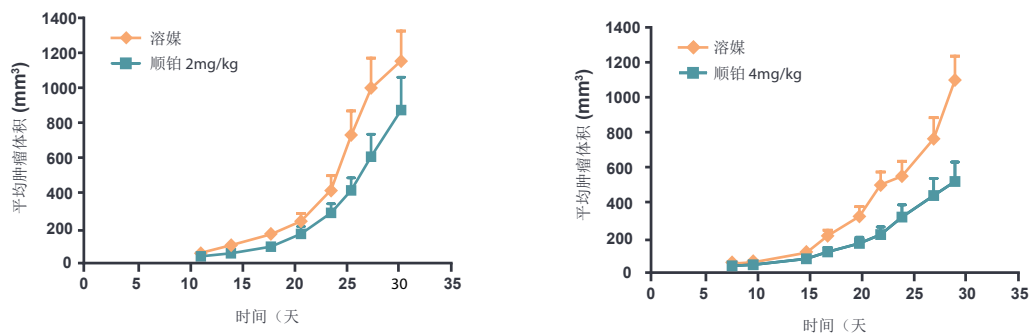
模型	癌症类型	模型类型	模型信息
RT4	膀胱	皮下	一种人类白种男性上皮移行细胞乳头状瘤，具有致癌性。非整倍体细胞系 ⁽⁹⁾
RT112/84	泌尿道；膀胱	皮下	一种人类女性上皮膀胱癌，在裸鼠中具有致癌性。RT112细胞系的克隆衍生物 ^(10,11)

表 2: RT4 和 RT112/84 SoC 和实验处理数据

模型	靶向治疗		化疗	
	耐药	敏感	耐药	敏感
RT4	-	乐伐替尼、卢西替尼、舒尼替尼	-	-
RT112/84	-	乐伐替尼、卢西替尼、舒尼替尼 AZD4547 (FGFR 抑制剂) 的回归/稳定	多西他赛、紫杉醇	对顺铂存在部分反应
RT112/84R	正在生成 AZD4547 (FGFR 抑制剂) 耐药性模型	-	-	-

RT4: 使用 BALB/c 小鼠获得的数据。RT112/84 : 使用 MF-1 雌性裸鼠和 BALB/c 雌性裸鼠获得的数据。

图 1: RT112/84 肿瘤对顺铂的部分反应



采用 PBS 中的细胞在 MF-1 雌性裸鼠 (每组 n = 9/10 只小鼠) 中建立的肿瘤。



中美冠科生物为 FGFRi 研发提供 FGFR3 体内融合异种移植平台

我们的集成化的研究平台，为 FGFR3 融合靶向药物的体内评估提供了有效补充两条互补链：

- **ValidatedXeno** 细胞系来源的异种移植模型，用于初始先导化合物研发。我们的 FGFR3 融合模型品类众多，使得客户能够及时、高效费比地推进其临床前研发计划。
- 对于希望转向临床研究的客户，我们提供 **HuPrime PDX** 模型。PDX 直接源于原发性肿瘤组织（从未接触过塑料经过体外培养），被认为是可用于药物评估的最具预测性的临床前模型⁽⁶⁾，完全概括了原始患者肿瘤的组织病理学和遗传特征。我们具有 2,500 个 PDX 模型，为关键的下一步决策提供了可靠的临床前数据。

用于 FGFRi 先导化合物研发的 ValidatedXeno FGFR3 融合异种移植模型

对于初始的体内研究，我们提供 RT4 和 RT112/84 膀胱癌模型，其中包含了 FGFR3-TACC3 融合^(7,8)。这些异种移植模型，可用于靶向 FGFR3 融合的新型试验药物，以及用于膀胱癌的 SoC 药物。模型类型、信息和背景如表 1 所示。

我们所有的异种移植模型都经过充分定性检测和验证，其背景信息、突变状态和处理数据完全可通过我们整理的在线细胞系/细胞系来源异种移植数据库 **XenoBase®** 进行搜索。可从中美冠科生物网站 www.crownbio.com 或直接从 xenobase.crownbio.com 访问 **XenoBase**。

图 2: 对 FGFR 抑制剂处理高度敏感的 RT112/84 皮下模型

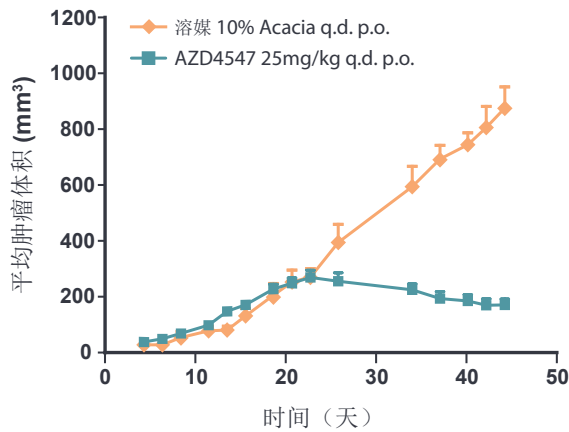
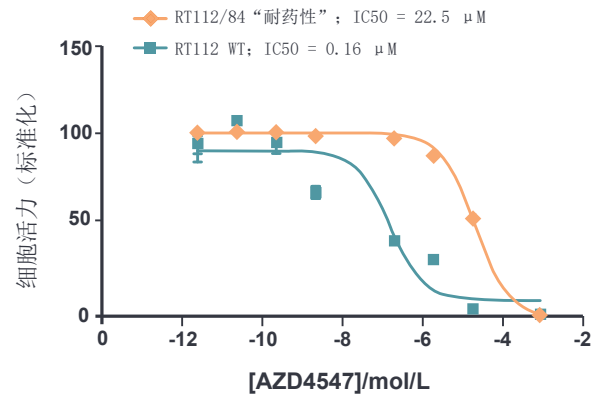
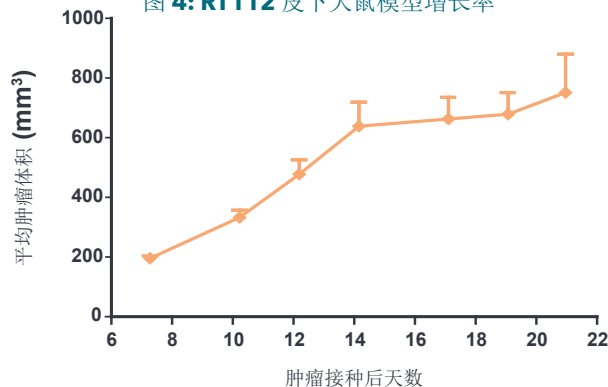


图 3: RT112/84 对研发的 AZD4547 的体外耐药性（体内模型可用于验证）



在 MF-1 雌性裸鼠肿瘤体积为 200 mm³ 时，开始 AZD4547 处理。

图 4: RT112 皮下大鼠模型增长率



FGFR3 融合异种移植模型对 FGFRi 有反应，耐药性模型正在开发中

在内部和客户研究中，我们的 RT4 和 RT112/84 模型，已通过一系列 SoC 药物以及靶向 FGFR3-TACC3 融合的实验处理进行了验证（内部数据总结在表2中）。

膀胱癌的 SoC 治疗药物包括顺铂（适用于无法通过手术或放疗进行治疗的肿瘤），以及紫杉烷（适用于无法接受顺铂的患者）。RT112/84 模型显示对顺铂部分反应（图1）。在 RT112/84 模型也观察到了对多西他赛和紫杉醇的耐药性，XenoBase 可提供所有数据和肿瘤生长曲线。

我们还用 AZD4547 靶向 FGFR-TACC3 融合。AZD4547 是一种实验性 FGFR1、2和3 抑制剂，目前正在针对一系列表达 FGFR 的癌症类型进行临床试验 (12)。RT112/84 模型被证明对这种药剂高度敏感（图2）。

由于获得性耐药性是 TKI 使用的必然特征，因此我们还在开发对 AZD4547 具有耐药性的 RT112/84 模型。这允许客户在相关的体内模型中试用第一代和第二代 FGFR 抑制剂。体外对 AZD4547 耐药的 RT112/84 模型已建立（如图3所示），可用于体内验证研究，在这些研究中可对耐药作用机制进行定性。

对 FGFR 起作用的多靶点 TKI，也采用这些模型进行了试验。RT4 和 RT112/84 模型均对舒尼替尼、卢西替尼和乐伐替尼敏感，XenoBase 可提供所有数据和肿瘤生长曲线。

是否需要在更类似于人类的啮齿动物平台中评估您的药物？

与小鼠相比，大鼠在生理上与人类更相似，其化合物 PK 特性通常更接近于在人类中观察到的特性，这为一系列研究提供了一个更具吸引力的选择。

因此，我们建立了 RT4 和 RT112（RT112/84 来源的亲代细胞系）的裸鼠模型。图 4 显示了 RT112 模型的示例生长数据，XenoBase 中提供了更多的 RT4 数据。

表 3: HuPrime FGFR3 融合 PDX 模型汇总

HuPrime 模型	FGFR3 融合 伴侣	患者背景	肿瘤病理学诊断	PDX 肿瘤病理学 QC	背景和模型类型	基因组分析	FGFR3 基因表达值
BN2289	TACC3	亚裔女性，75岁。未经治疗。	间变性少突胶质细胞瘤 (WHO 3级). IHC 结果: GFAP(+), S-100(+), Syn(-), Ki-67(10%+), MMP-9(-), MGMT(-), P53(-), PCNA(+), P170(+)	Pa, P2: 少突胶质细胞瘤, 3级	BALB/c 裸鼠。皮下和原位	P5: RNA测序 P2: Affy U219 P1: Affy SNP 6.0	5.5694
LU5147	JAKMIP1	白人男性，65岁。既往治疗未知。	NSCLC, SCC	SCC	NOD SCID. 皮下	P3: RNA测序	7.262
LU6426	TACC3	白人男性，80岁，吸烟者。未经治疗。	NSCLC, SCC	P11: 低分化 SCC	MF-1 裸鼠, hMSC 补充剂; BALB/c 裸鼠。皮下	P10: RNA测序	8.904

hMSC: 人骨髓间充质干细胞。#RNAseq 基因表达，Log2 (FPKM) 值。



HuPrime FGFR3 融合 PDX 模型：一种更具预测性的临床前药物评估备选方案

在 HuPrime 库中，我们已经确定了三个包含 FGFR3 融合事件（TACC3 或 JAKMIP1）的 PDX 模型，其中患者数据来自于亚洲、美国和欧洲的不同人群（汇总于表 3 中）。

我们所有的 PDX 模型都经过充分定性和验证，可通过我们整理的在线 PDX 数据库 HuBase™ 搜索 PDX 背景信息、定性和 QC、突变状态和治疗数据。可从我们的网站 www.crownbio.com 或直接从 hubase.crownbio.com 访问 HuBase。

PDX 和细胞系来源的异种移植，可以通过 OncoExpress™ 同时搜索（我们的在线集成肿瘤学搜索引擎），也可从我们的网站或直接在 oncoexpress.crownbio.com 上进行检索。

FGFR3 融合已通过 RNAseq 在所有模型中得以证实，并通过 PCR 在 BN2289 模型中得以验证。图 5 举例说明了模型 BN2289 的 FGFR3 基因外显子 16 和 4 号染色体上 TACC3 基因外显子 6 的融合数²²

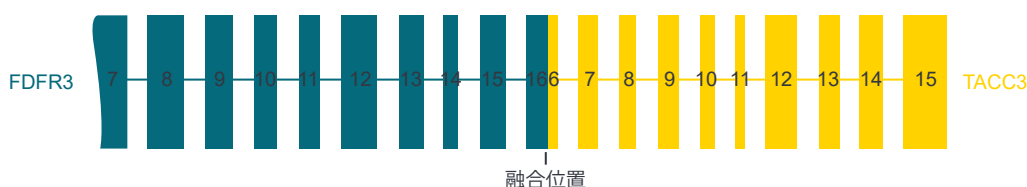
FGFR3 融合已通过 RNAseq 在所有模型中得以证实，并通过 PCR 在 BN2289 模型中得以验证。图 5 举例说明了模型 BN2289 的 FGFR3 基因外显子 16 和 4 号染色体上 TACC3 基因外显子 6 的融合数据。所有模型的进一步融合数据都包含在 HuBase 中，并可根据要求提供测序验证数据。

模型的 FGFR3 基因表达数据包含在表 3 中。在 LU6426 模型中观察到 FGFR3 的扩增 DNA 拷贝数（DNA 拷贝数为 6）。

PDX 化学敏感化疗敏感和化疗耐药设置实验设计中 FGFRi 有反应

我们的 PDX 模型致力于在客户做出关键转化决策时提供可靠的、高度预测性的有效性药理学数据。我们已经使用一系列 SoC 和实验治疗药物验证了我们的模型（在表 4 中进行总结，HuBase 提供的数据），以及开发用于 FGFRi 评估的临床相关 SoC 耐药性 PDX 模型。

图 5: HuPrime FGFR3-TACC3 融合 PDX 模型基因组分析 : BN2289



PDX 型号	上游融合基因	上游染色体	上游链	上游基因组连接位置	下游融合基因	下游染色体	下游链	下游基因组连接位置
BN2289	FGFR3	4	+	1808661	TACC3	4	+	1737000

FGFR3-TACC3 融合的染色体 4 位置。

表 4: FGFR3 融合 PDX 模型 SoC 和实验处理数据

模型	化疗		靶向治疗	
	耐药	敏感	耐药	敏感
BN2289	-	替莫唑胺	-	BGJ398 (FGFR 抑制剂)
LU5147	-	顺铂	-	-
LU6426	紫杉醇+卡铂（获得性耐药性）	紫杉醇+卡铂	-	AZD4547 (FGFR 抑制剂)

BN2289: 在 BALB/c 裸鼠中获得的数据; LU5147: 在 NOD SCID 小鼠中获得的数据; LU6426: 在 MF-1 裸鼠中获得的数据



已经使用我们的 FGFR3 融合模型，对标准疗法的标准护理化疗药物进行了试验，适用于每种特定的疾病类型。BN2289 模型对替莫唑胺敏感，LU5147 对顺铂敏感，LU6426 模型对紫杉醇和卡铂的联合治疗敏感。

由于 FGFR3 融合可能是具有获得性耐药的肿瘤的潜在驱动因素和“药物”靶点，我们正在开发用于 FGFRi 评估的耐药性 PDX 模型。LU6426 概念验证模型对紫杉醇和卡铂具有获得性耐药，可用于

验证，该模型通过体内循环给药直至出现耐药表现型而得（图6）。化学敏感模型和化学耐药性模型均对 AZD4547 处理有反应（图7）。

对于其他多靶点 TKI，也采用我们的 PDX 模型进行了测试，BN2289 模型显示对泛 FGFR 抑制剂 BGJ398 存在稳健反应（图8）。

图6: LU6246 PDX 模型反应和对紫杉醇 + 卡铂的获得性耐药

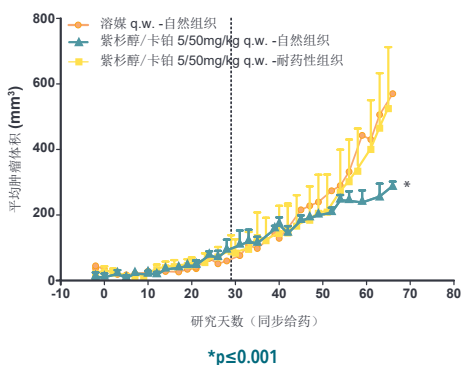
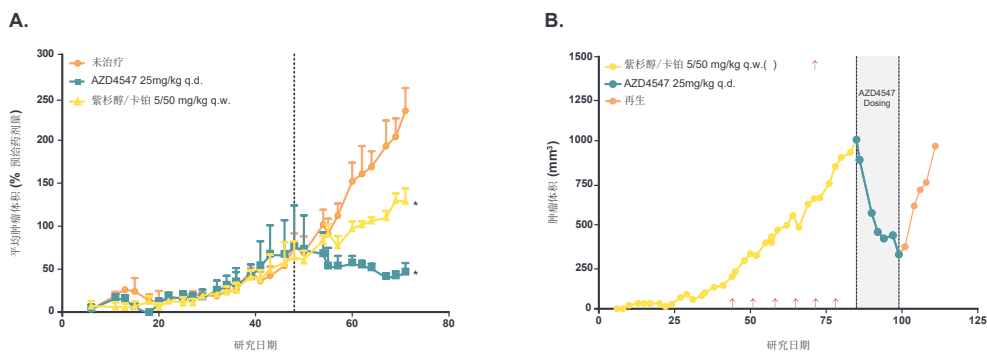
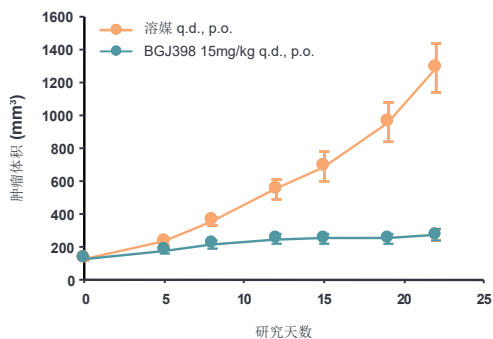


图 7: 在化学敏感和化学耐药性环境中对化疗敏感和化疗耐药性环境中对 FGFRi 有反应的 LU6426 PDX 模型



A: 在对紫杉醇和卡铂治疗敏感的LU6426模型中对AZD4547出现的反应。B: 在对紫杉醇和卡铂治疗具有获得性耐药的LU6426模型中对AZD4547出现的反应。*p ≤ 0.001.

图 8: 对FGFR 抑制剂 BGJ398 有反应的 BN2889 PDX 模型



总结

FGFR3 基因融合产生组成型活性致癌激酶蛋白产物，它们是肿瘤学研究的药物靶点。相关的融合也可能用于对用 FGFR 抑制剂治疗的临床患者进行分层。为了进一步针对这些融合事件对 FGFRi 进行临床前评估，中美冠科生物提供了 FGFR3 融合体内异种移植模型组，包括细胞系和人源异种移植模型。

我们的 **ValidatedXeno** 细胞系来源异种移植植物用于一系列的先导化合物开发研究。我们的 FGFR3 融合资源包括 RT4 和 RT112/84 模型。我们的异种移植模型对 SoC 化疗有反应，包括对一系列多靶点 TKI 以及实验性 FGFR1、2 和 3 抑制剂高度敏感的模式。

我们目前正在生成对 FGFRi (AZD4547) 治疗具有耐药性的 RT112/84 模型，已经建立了体外耐药性，可以将其转入体内研究，以研发克服这种耐药性的药物。

参考文献

- 1 Ahmad, I, Iwata T, and Leung HY. Mechanisms of FGFR-mediated carcinogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 2012;1823(4): 850-860.
- 2 Katoh M. FGFR inhibitors: Effects on cancer cells, tumor microenvironment and whole-body homeostasis (Review). *International Journal of Molecular Medicine* 2016;38(1): 3-15.
- 3 Capelletti M, Dodge ME, Ercan D et al. Identification of recurrent FGFR3-TACC3 fusion oncogenes from lung adenocarcinoma. *Clinical Cancer Research* 2014; 20(24): 6551-6558.
- 4 Daly C, Castanaro C, Zhang W et al. FGFR3-TACC3 fusion proteins act as naturally occurring drivers of tumor resistance by functionally substituting for EGFR/ERK signalling. *Oncogene* epub doi: 10.1038/onc.2016.216.
- 5 Carneiro BA, Elvin JA, Kamath SD et al. FGFR3-TACC3: A novel gene fusion in cervical cancer. *Gynecologic Oncology Reports* 2015;13: 53-56.
- 6 Hidalgo M, Amant F, Biankin AV et al. Patient-derived xenograft models: an emerging platform for translational cancer research. *Cancer Discovery* 2014;4: 998-1013.
- 7 Acquaviva J, He S, Zhang C et al. FGFR3 translocations in bladder cancer: differential sensitivity to HSP90 inhibition based on drug metabolism. *Molecular Cancer Research* 2014;12(7): 1042-1054.
- 8 Williams SV, Hurst CD, Knowles MA. Oncogenic FGFR3 gene fusions in bladder cancer. *Human Molecular Genetics* 2013;22(4): 795-803.
- 9 ATCC® website. RT4 (ATCC® HTB-2™) General Information and Characteristics. <https://www.lgcstandards-atcc.org/Products/All/HTB-2.aspx#generalinformation> Accessed 04 January 2017.
- 10 European Collection of Cell Cultures, Public Health England website https://www.phe-culturecollections.org.uk/products/celllines/generalcell/detail.jsp?refId=85061106&collection=ecacc_gc Accessed 31 October 2014.
- 11 Cancer Cell Line Encyclopedia website <http://www.broadinstitute.org/ccle/home> Accessed 31 October 2014.
- 12 Clinical Trials.gov website <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=AZD4547&Search=Search> Accessed 09 June 2016.

联系



销售
太仓 0512-53879999

busdev@crownbio.com
www.crownbio.com



科学
consultation@crownbio.com

