

HuGemm™ 和 HuCell™ 模型

利用我们独特的人源药物靶点平台，
推进您的人类特异性免疫疗法研究

利用我们的特定人源化靶点模型，加速您的免疫肿瘤学药物发现项目。

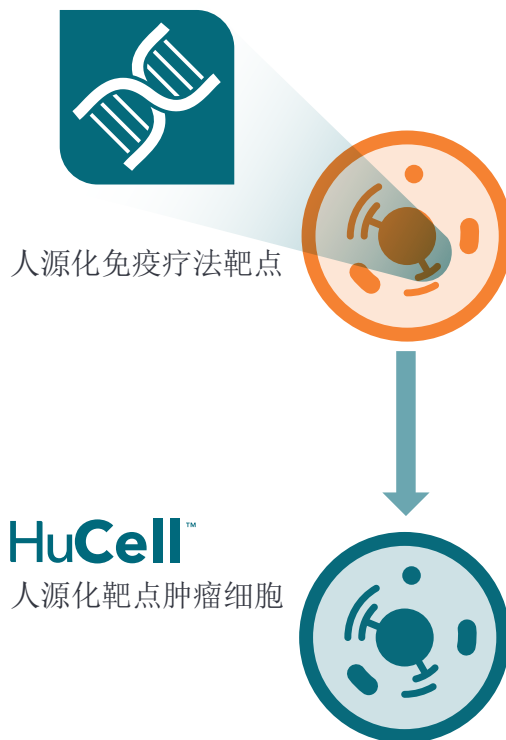
在免疫系统正常的肿瘤模型中，往往缺乏相关的人源靶点。这导致了诸如检查点抑制剂等人类特异性免疫疗法的研发，受到了严重的限制。

为了解决这个问题，冠科生物研发了 **HuGem** 和 **HuCell** 模型，用于特定于人类和生物疗法的体内评价：

- 表达人源化药物靶点（包括 PD-1、PD-L1 或 CTLA-4）的 HuGem 小鼠模型
- 表达人源化配体（例如 PD-L1）的 HuCell 同源肿瘤细胞
- 用于功能性小鼠免疫系统内的体内研究
- 开发了关键检查点靶标平台，包括双基因敲入模型，还有更多模型处于研发状态

冠科生物提供了一系列人源化药物靶点模型，以评价具有功能性免疫系统的小鼠体内的人类特异性治疗药物：

- 表达人源化检查点蛋白的 HuGem 小鼠模型（汇总见表1）。
- 由表达人源化靶配体（例如表达 hPD-L1 的 MC38）的 HuCell 同源细胞系补充。
- 模型经充分验证，可通过 FACS 显示人蛋白表达，以及对人特异性抗体的 TGI 反应。
- HuGem 和 HuCell 平台正在研发的其他模型/靶点。



研发人类特异性免疫治疗面临的挑战

虽然免疫疗法经过证明是治疗癌症患者的一种极有前景的治疗方案，但该领域的发展不可避免地遇到了后续的挑战和进一步发展的瓶颈。

在检查点抑制剂评价中，缺乏评价体内人类特异性治疗药物的模型阻碍了研究。最初在同源模型中评价了抗小鼠检查点抑制剂替代品；但由于种属特异性问题，无法在同源模型中测试人类生物治疗药物。需要在成功开展人体临床试验之前，开发合适的动物模型来直接评价抗人 PD-1、PD-L1、CTLA-4 等体内抗体，但是该需求存在较大缺口。

HuGemM 和 HuCell1 人源化药物靶点模型⁽¹⁾

冠科生物开发了 HuGemM 平台，该平台允许在具有功能性鼠免疫系统的小鼠中使用直接替换为其人对应物（例如敲入人PD-1 以替换小鼠PD-1）的鼠蛋白（药物靶标）评价体内特定的人体生物治疗⁽²⁾。

HuGemM 平台提供了一种研究一系列体内靶向人类免疫疗法的高效方法。可用模型见表1，其他模型正在研发中。另外，我们研发了 HuCell1⁽³⁾—位于肿瘤细胞（例如 PDL1）上的药物靶标相关平台。小鼠肿瘤细胞已被改造为表达人源化配体，MC38 模型可用，该模型表达人 PD-L1，用于评价抗人 PD-L1 抗体。HuCell1 和 HuGemM 模型可根据需要进行组合，以满足客户的研究需求。

成功案例研究1

PD-1 HuGemM 模型开发和定性⁽⁴⁾

通过将人 PD-1 外显子2 重组到小鼠基因座中，创建了人/小鼠 PD-1 嵌合基因（h/mPD-1）。在抗 PD-1 研究中定性了纯合子基因敲入小鼠（PD-1 HuGemM）（可根据要求提供全嵌合蛋白序列）。

体外研究表明，嵌合 h/mPD-1 蛋白与小鼠和人 PD-L1 的结合效率与人 PD-1 受体相同（图1，上图）。嵌合蛋白也可被抗人 PD-1 抗体识别，从而破坏 PD-1/PD-L1 相互作用（图1，下图）。在该模型中通过 FACS 分析验证人 PD-1表达。

我们测试了 PD-1 HuGemM 模型对 Opdivo®和 Keytruda®类似物的反应，两种治疗均使个体小鼠“治愈”（Opdivo 类似物组8 只小鼠中的 4 只，TGI 68%；Keytruda 类似物组 8只小鼠中的 3 只，TGI 92%）（图2）。

在 PD-1 HuGemM 模型系统中，TIL 分析显示，抗 PD-1 治疗2 次后，MC38 肿瘤中的 CD8+ T 细胞浸润增加（图3），与该模型系统中抗 PD-1 缓解免疫抑制的预期结果一致。肿瘤体积也显示与治疗 后 CD8+ T 细胞百分比相关。

表 1: HuGemM 模型管线

单次基因敲入模型		双基因敲入模型	
靶点	状态	靶点	状态
PD-1 ⁽²⁾	可用	PD-1/PD-L1	可用
PD-L1	可用，其他 HuCELL 模型可用 ⁽³⁾	PD-1/OX40	可用
CTLA-4 ⁽⁴⁾	可用	PD-1/CTLA-4	可用
CD137 ⁽⁵⁾	可用	PD-1/LAG3	可用
OX40 ⁽⁶⁾	可用	PD-1/CD137	育种
LAG3	可用	PD-1/TIGIT	育种
GITR	验证中	PD-L1/LAG3	可用
ICOS	验证中	转基因模型	
TIGIT	验证中	靶点	状态
CD38	验证中	CD3E ⁽⁷⁾	可用



成功案例研究2 通过双基因敲入HuGemmm 模型 同时靶向多个检查点抑制剂

考虑到免疫检查点抑制剂未来可能用于联合治疗方案，我们还提供了用于评价各种不同药物组合的双基因敲入 HuGemmm 模型（可用的双基因敲入模型见表1）。

双基因敲入 PD-1/CTLA-4 HuGemmm 模型是通过杂交个体单基因敲入小鼠获得，每个模型都是通过基因敲入人 PD-1或 CTLA-4 cDNA 生成。在所得双基因敲入模型中，通过FACS 分析验证人 PD-1 和 CTLA-4 的表达，该模型随后植入了表达人 PD-L1 的 MC38 HuCe11 肿瘤细胞（hPD-L1HuCe11）以进行联合疗效研究。

抗 PD-1（纳武单抗）或抗 CTLA-4（伊匹单抗）抑制剂单药治疗的肿瘤生长抑制（TGI）相似5 只小鼠中有4 只通过联合用药诱导达完全缓解状态（图4）。“治愈”小鼠在分组后40 天内保持无疾病状态。

使用 hPD-L1 MC38 HuCe11 对“治愈”动物进行再激发，以研究潜在的记忆应答。在初始分组后 21 天，将小鼠与未经治疗的 C57BL/6 小鼠一起重新植入了肿瘤细胞。在未给药组中迅速观察到了肿瘤；但先前给药的动物保持无瘤状态，表明存在记忆应答（图5）。

图 1：嵌合 h/mPD-1 与抗 hPD-1 抗体和 PD-L1 重组蛋白结合

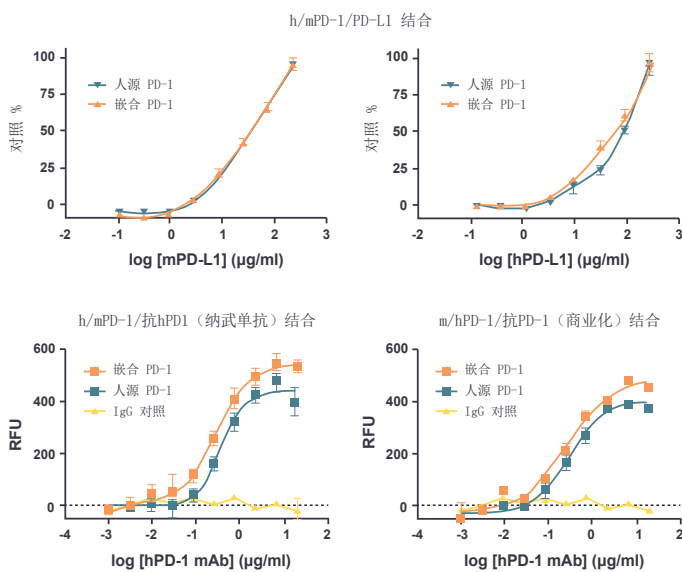


图 3：抗 hPD-1 治疗后的 HuGemmm 模型 CD8+浸润

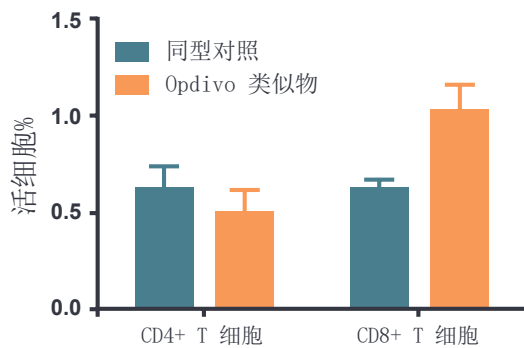


图 2：HuGemmm 模型对抗 hPD-1 治疗的反应

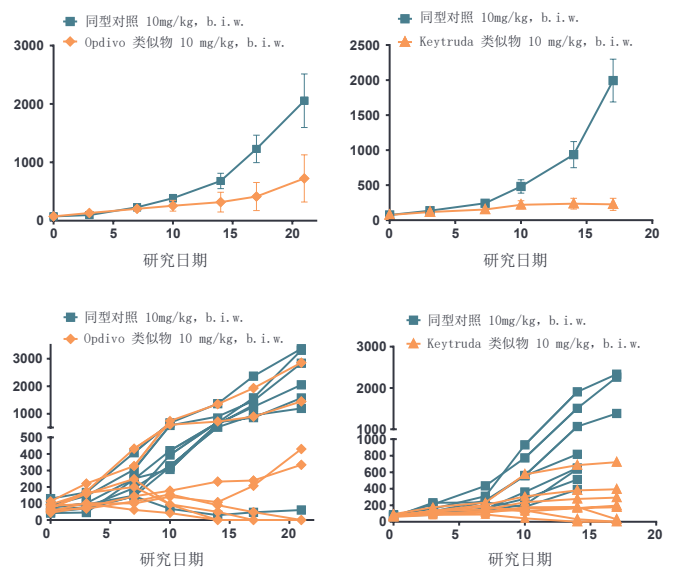
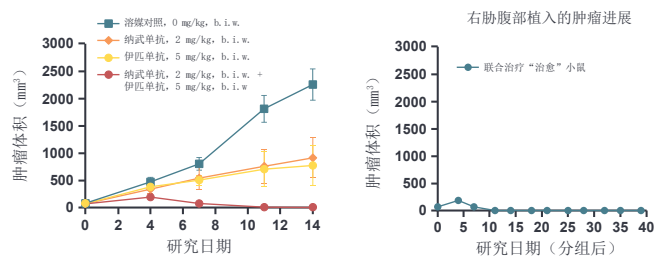


图 4：PD-1/CTLA-4 HuCe11 模型对联合治疗的反应



	纳武单抗 (2 mg/kg)	伊匹单抗 (5 mg/kg)	联合
TGI (%)	61	64	103
治愈小鼠	1/5	0/5	4/5



成功案例研究 3

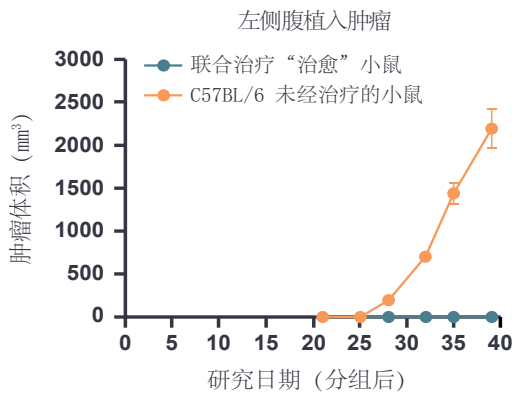
通过 HuGemM 和 HuCell1 模型结合使用，评价靶向肿瘤和 T 细胞的人特异性抗体的联合方案

通过联合 HuGemM 小鼠和 HuCell1 肿瘤细胞，可评估同时靶向肿瘤和 T 细胞的联合方案（例如，联合靶向 PD-1 和 PD-L1）。

我们将表达人 PD-1 的 HuGemM 小鼠模型与 hPD-L1 HuCell1 肿瘤细胞相结合，用于评价 PD-1 和 PD-L1 抑制剂的人特异性组合的疗效。在两种模型系统中，通过 FACS 分析确认人类基因表达。

组合模型对抗 PD-1（纳武利尤单抗）和抗 PD-L1（阿替利珠单抗）单药治疗均有应答，纳武利尤单抗显示剂量依赖性抗肿瘤疗效。与两种单药治疗相比，抗 PD-1/PD-L1 联合治疗可进一步抑制肿瘤生长（图6）。免疫分析表明，与疗效数据一致，联合治疗方案使浸润的 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞增加程度最大化（图7）。

图 5: PD-1/CTLA-4 HuGemM 模型显示肿瘤再移植后的记忆应答

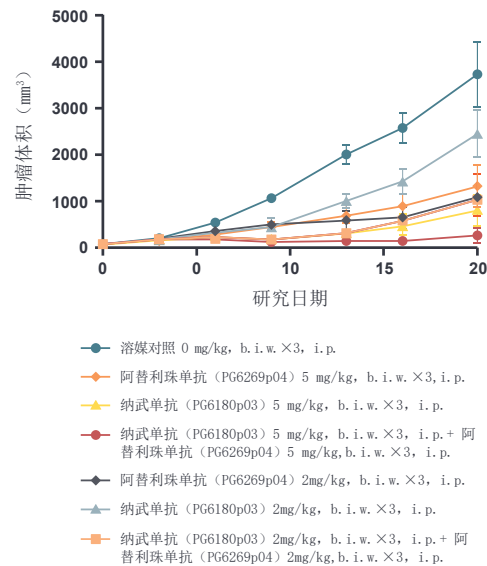


在 MuBase® 中轻松检索我们的 HuGemM 数据

我们 HuGemM 平台的数据都存储在我们易于使用的专有在线数据库 MuBase 内。数据库中包含各种数据，包括模型背景、小鼠品系、组织病理学、基因组分析 (RNAseq) 和标准治疗数据在内的多种数据。研究人员因而能快速简便地寻找感兴趣的模型，以满足其研究需求。

MuBase 可直接从 mubase.crownbio.com 访问，或登录我们的网站 www.crownbio.com 访问获取详细的 MuBase 情况说明书。

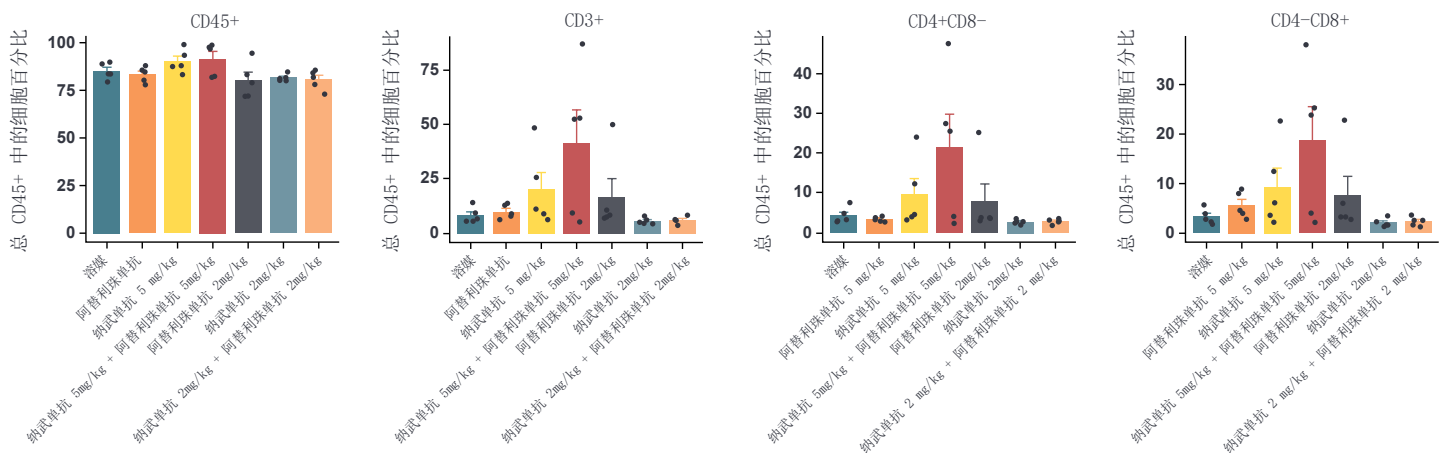
图 6: HuGemM 和 PD-L1 HuCell1 对联合治疗的反应



为了避免内源性鼠 PD-L1 的干扰并获得最佳疗效结果，该研究使用了双基因敲入 PD-1/PD-L1 HuGemM 小鼠联合 hPD-L1 HuCell1

	阿替利珠单抗		纳武单抗		联合	
	2mg/kg	5mg/kg	2mg/kg	5mg/kg	2mg/kg	5mg/kg
TGI (%)	72	66	35	80	74	95

图 7: 联合治疗得到肿瘤浸润性淋巴细胞最大增加



总结

免疫治疗研究和抗 PD-1 和 PD-L1 抗体等药物在肿瘤学方面取得了相当大的成就；使患者获益的同时，让制药行业取得了商业成就。但由于缺乏具备功能健全免疫系统的实验性免疫治疗模型，来评价人类特异性治疗药物，使该领域的发展受到阻碍。

冠科生物提供了新型 HuGemM 和 HuCell 平台，其中，宿主T 细胞或肿瘤细胞上的鼠源蛋白（药物靶点）直接被其人类对应物取代，从而可在具有功能性小鼠免疫系统的小鼠体内评估特定的人类生物疗法。

经验证的 HuGemM 模型表达了人类靶点并对人类抗体产生反应，证实它们是人类特异性免疫治疗评价的适用平台。我们的经验证 MC38 HuCell 模型能表达人PD-L1。植入 HuGemM 小鼠体内时，MC38 HuCell 为评价体内人特异性抗 PD-1/PD-L1 抗体组合提供了理想的模型。

双基因敲入 HuGemM 模型为评价免疫检查点抑制剂的联合方案提供了理想的平台，HuGemM 和 HuCell 组合使用，可同时评价靶向肿瘤和T 细胞的人类特异性联合治疗。

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. 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.
- 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 (HuGemM) 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



销售

太仓 0512-53879999

BDChina@crownbio.com
www.crownbio.cn



科学

consultation@crownbio.com

