

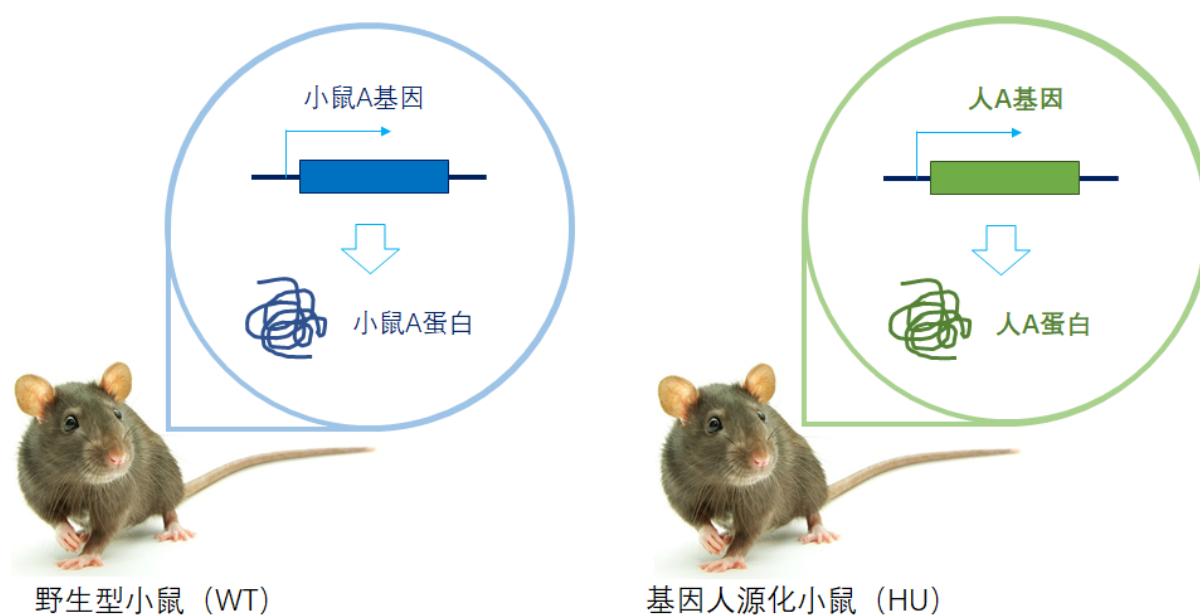
【概述】人源化小鼠与肿瘤免疫

南模生物目前拥有接近100种免疫检查点人源化小鼠品系，模型资源库涵盖目前最新最热的肿瘤免疫疗法靶标。

什么是人源化小鼠？

人源化小鼠是携带功能性人类基因、细胞、组织和/或器官、免疫系统或微生物的小鼠，用于生物医学研究和临床治疗方案的开发。有些人源化小鼠携带人类细胞，有些则与人类具有某些一致的遗传和生理特性。因为小鼠基因组与人类基因组高度相似，且更易于操作和改变，所以小鼠可以方便地模拟人类的生物学特性。**这里我们就将着重介绍——基因人源化小鼠模型。**

这类人源化小鼠，从基因修饰的方式上，可以归为**Knock-in基因敲入模型**。即小鼠中的某个或某些基因被人类基因、基因组序列或调节元件取代。



构建基因人源化小鼠模型时，可以靶向全长基因，也可以根据基因的特异性结构靶向部分序列，还可以靶向小鼠基因的特异性调控元件，比如启动子等等。基因人源化之后，小鼠可以表达出完整人源蛋白或包含人源特定结构域的嵌合蛋白。

基因人源化小鼠的用途

基因人源化小鼠模型有许多重要用途：

- 可以用于模拟人类疾病，从而帮助我们破译致病原理和其分子机制，为药物的开发指引方向
- 因为小鼠和人类分子靶标同源性差异造成的小鼠模型不可用，在治疗性抗体的临床前研究中尤为突出。因此，小鼠的人源化改造对于临床前药效评估模型的建立至关重要。基因人源化小鼠经过基因编辑后表达出人源肽，因此作为一种耐受人类抗原的动物模型，可以用来研究人源蛋白质或肽的功能。
- 可以为抗体或抗体药物偶联物（ADC）的测试提供抗原耐受小鼠模型。
- 某些细胞因子的人源化小鼠还可以帮助提高在小鼠中建立人免疫系统的效率。

关于肿瘤免疫

近年来，肿瘤免疫疗法的概念已经越来越被大众熟知，但新型免疫治疗药物的研发仍面临诸多挑战。由于一般特异性人源蛋白的抗体不能识别小鼠内源蛋白，普通野生型小鼠无法作为测试这些药物的体内模型。而抗小鼠抗体制剂，由于物种特异性限制不能反映同类生物制剂在人体内的实际疗效。这些矛盾阻碍了免疫疗法的临床前评估，限制了新型肿瘤免疫药物研发的快速进展。

目前，肿瘤免疫治疗药物的热门靶点是免疫检查点蛋白。免疫检查点蛋白是免疫系统的监察官，在维持免疫稳态，预防自身免疫疾病方面发挥了重要作用。在癌症中，免疫检查点机制的激活会抑制抗肿瘤免疫应答，导致肿瘤细胞从人体免疫系统中逃脱存活下来。因此，抑制免疫检查点，激活免疫细胞重新工作从而消灭肿瘤细胞，成为了肿瘤免疫治疗研发的重要方向。那么目前有哪些常见的免疫检查点靶点呢？

免疫检查点分子据功能区同源性可以分为几大家族：B7-CD28超家族，免疫球蛋白（Ig）超家族和肿瘤坏死因子（TNF）超家族。据其对细胞的调节作用又可分为共刺激分子与共抑制分子两大类。

受体	别名	配体	别名	作用	超家族
BTLA	CD272	VTCN1	B7-H4	尚未明确	B7-CD28
CD28		CD80	B7-1	共刺激	B7-CD28
CD28		CD86	B7-2	共刺激	B7-CD28
CD28H	TMIGD2	VISTA	B7-H5	共刺激	B7-CD28
CD28H	TMIGD2	HHLA2	B7-H7	共刺激	B7-CD28
CTLA-4	CD152	CD80	B7-1	共抑制	B7-CD28
CTLA-4	CD152	CD86	B7-2	共抑制	B7-CD28
ICOS	CD278	ICOSLG	B7-H2, CD275	共抑制	B7-CD28
NKp30	CD337	NCR3LG1	B7-H6	共刺激	B7-CD28
PD-1	CD279	PD-L1	B7-H1, CD274	共抑制	B7-CD28
PD-1	CD279	PD-L2	B7-DC, CD273	共抑制	B7-CD28
尚未明确		CD276	B7-H3	共抑制	B7-CD28
CD244	2B4	CD48	BCM1, BLAST, BLAST1	共刺激	Immunoglobulin
CD96		CD155	PVR	共抑制	Immunoglobulin
CD96		CD112	Nectin-2	共刺激	Immunoglobulin
CEACAM1	BGP1, BGPI	CEACAM1	BGP1, BGPI	共抑制	Immunoglobulin
DNAM1	CD226	CD155	PVR	共刺激	Immunoglobulin
KIR	CD158	MHC II		共抑制	Immunoglobulin
LAG-3		MHC-Class II		共抑制	Immunoglobulin
SIRPA		CD47		共抑制	Immunoglobulin
TIGIT	Vstm3	CD155	PVR	共抑制	Immunoglobulin
TIGIT	Vstm3	CD112	Nectin-2	共抑制	Immunoglobulin
TIM-3		GAL9		共抑制	Immunoglobulin
4-1BB	TNFRSF9, CD137	4-1BBL	TNFSF9, CD137LG	共刺激	TNF
CD27	TNFRSF7	CD70	TNFSF7, CD27LG	共刺激	TNF
CD30	TNFRSF8	CD30L	TNFSF8	共抑制	TNF
CD40	TNFRSF5	CD40L	TNFSF5, CD40LG, CD154	共抑制	TNF
DR3	TNFRSF25	TL1A	TNFSF15	共抑制	TNF
GITR	TNFRSF18, CD357	GITRL	TNFSF18	共抑制	TNF
HVEM	TNFRSF14	LIGHT	TNFSF14	共抑制	TNF
OX40	TNFRSF4	OX40L	TNFSF4	共抑制	TNF

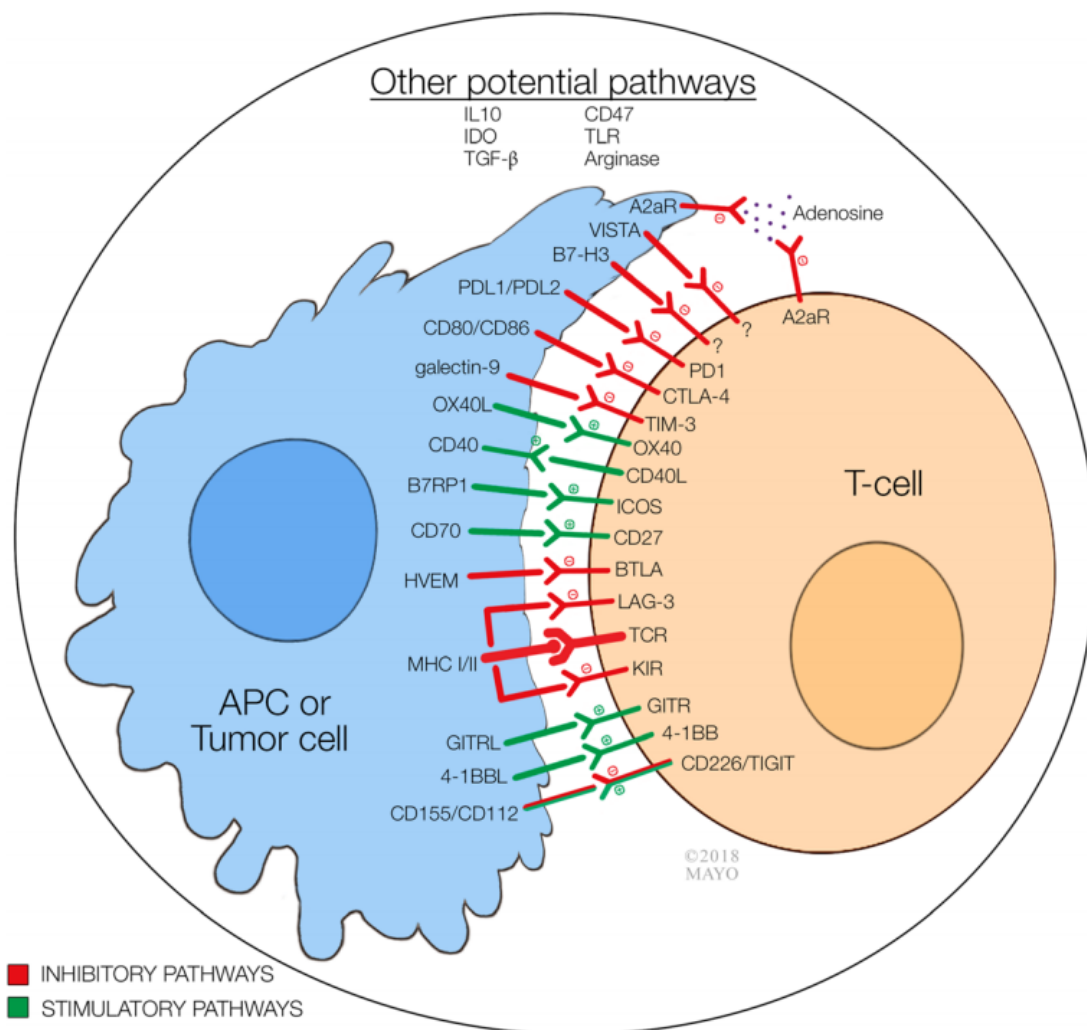


图1. Immune interactions involving antigen presenting cells or tumor cells, T cells, and tumor microenvironment (图片来自Marin-Acevedo et al. 2018))

免疫检查点	简介
CD80 (B7-1)	CD80由活化的B细胞和单核细胞和树突细胞表达。该配体与CD28结合，提供T细胞活化和存活以及细胞因子产生所必需的共刺激信号。另外，CD80与抑制T细胞的CTLA-4结合。
CD86 (B7-2)	CD86由活化的T细胞和B细胞，巨噬细胞和树突细胞表达。该配体与CD28结合，提供T细胞活化和存活以及细胞因子产生所必需的共刺激信号。另外，CD86与抑制T细胞的CTLA-4结合。
CD28	在几乎所有人CD4 + T细胞和约一半的所有CD8 T细胞上组成型表达。CD28与两种配体CD80和CD86结合，在树突细胞上表达，结合导致T细胞扩增。
CTLA-4 (CD152)	CTLA-4在活化的T和B淋巴细胞上表达。CTLA-4在结构上类似于CD28，并且两种分子都与B7家族成员B7-1 (CD80) 和B7-2 (CD86) 结合。在配体结合后，CTLA-4抑制细胞介导的免疫应答。CTLA-4在诱导和/或维持免疫耐受、胸腺细胞发育和保护性免疫调节中起作用。
PD-L1 (B7-H1)	PD-L1在T淋巴细胞，B淋巴细胞，NK细胞，树突细胞以及IFN γ 刺激的单核细胞，上皮细胞和内皮细胞上表达。PD-L1与其受体PD-1结合，在CD4和CD8胸腺细胞以及活化的T和B淋巴细胞和骨髓细胞上发现。PD-L1与PD-1的结合导致TCR介导的T细胞增殖和细胞因子产生的抑制。
PD-1 (CD279)	PD-1在CD4和CD8胸腺细胞以及活化的T和B淋巴细胞和骨髓细胞上短暂表达。PD-1在结合B7家族的两个配体PD-L1和PD-L2之一后发出信号。在配体结合后，PD-1信号传导抑制T细胞活化，导致增殖减少，细胞因子产生和T细胞死亡。
ICOS (CD278)	诱导型T细胞共刺激分子，也称为CD278，在活化的T细胞上表达。其配体为ICOSL，主要在B细胞和树突状细胞上表达。
OX-40	OX40是活化的细胞毒性T细胞和调节性T细胞 (Treg细胞) 表面表达的共刺激分子。OX40与配体OX40L (CD252, TNFSF4) 结合传递共刺激信号。在肿瘤微环境中，免疫激活可导致OX40表达。可增强效应T细胞的活化和增殖，并抑制Tregs，从而导致复杂的抗肿瘤免疫反应。
4-1BB	主要表达于活化的T细胞。与4-1BBL结合时，可刺激T细胞(和B细胞)活化和增殖。其介导的信号传导可保护T细胞，特别是CD8+ T细胞免于激活诱导的细胞死亡。
LAG-3	选择性表达在活化的T淋巴细胞、NK细胞和树突状细胞上。LAG-3主要的配体是MHC II类分子，对T细胞具有负调节功能。
TIM-3	表达于Th1、Th17、CD8+ T细胞上，是T细胞抑制受体。Gal-9可以与TIM-3结合并引起钙流入Th1细胞的细胞内区域，诱导T细胞凋亡。
CD40	在抗原呈递细胞 (APC)，如B细胞，树突状细胞 (DC)，和单核细胞以及许多非免疫细胞和各种类型的癌细胞中表达。其配体CD40L 在CD4+ T细胞表面表达。CD40-CD40L在免疫反应中对CD8+ 细胞毒性T淋巴细胞 (CTL) 功能起着至关重要的作用，是适应性免疫应答所必需的。
GITR	在静止的CD4+和CD8+ T细胞上，GITR的表达水平是非常低的，一旦接受了刺激，GITR的表达则会被提升。GITR的配体GITRL在活化抗原呈递细胞(APC)、内皮细胞和活化T细胞中均有较高水平的表达。T细胞上GITR与APC上GITRL的相互作用是双向的：两种细胞都受到相互作用的影响，最终导致T细胞增殖。

免疫检查点人源化小鼠

针对这些免疫检查点分子设计的人源化小鼠模型，在具有功能性免疫系统的小鼠体内表达人源化药物靶标，广泛用于临床前肿瘤免疫疗法的效果评估。与其它更为复杂的完全人源化小鼠模型相比，使用这些免疫检查点人源化小鼠可以大幅降低评估成本、节省研究资源，同时高效地获得可靠的实验数据。

南模生物目前拥有接近100种免疫检查点人源化小鼠品系，模型资源库涵盖目前最新最热的肿瘤免疫疗法靶标。丰富的人源化小鼠成品模型为研究人员提供了更多选择，包括双靶标、三靶标人源化小鼠。配合南模生物的ModelBooster® 快繁服务，可以快速满足大批量的药效评估体内模型需要，大大缩短前期模型制备周期，加快药物研发与评估进程。此外，也可以根据研究人员的需要，针对新的免疫检查点基因或基因的指定结构域，定制专属人源化小鼠模型，满足个性化差异化研究的需要。

4-1BB	IL6R	PD-1 & 4-1BB
4-1BBL	IL7	PD-1 & CD27
APOE2	IL9	PD-1 & CD3e
APOE3	KDR	PD-1 & CD40
APOE4	KLRK1	PD-1 & CD47
CCR2	LAG3	PD-1 & CTLA4
CD19	OX40	PD-1 & GITR
CD27	OX40L	PD-1 & LAG3
CD28	PCSK9	PD-1 & OX40
CD36	PD-1	PD-1 & PD-L1
CD3E	PD-L1	PD-1 & SIRPA
CD40	PSGL-1	PD-1 & TIGIT
CD47	PVR	PD-1 & TIM3
CD4	SEMA4D	PD-1 & TLR9
CD80	SIRPA	PD-L1 & 4-1BB
CD86	SLAMF7	PD-L1 & CD27
CEACAM1	TIGIT	PD-L1 & CD40
CSF3	TIM3	PD-L1 & CD47
CTLA4	TLR7	PD-L1 & CTLA4
CXCR2	TLR9	PD-L1 & GITR
FcRn	TNFRSF1B	PD-L1 & LAG3
GITR	TNFRSF25	PD-L1 & OX40
ICOS	VISTA	PD-L1 & TIGIT
ICOSL	VTCN1	SIRPA & CD47
IDO1	CD19 & CD3E	TIM3 & CEACAM1
IL17A	CTLA4 & 4-1BB	TLR9 & OX40
IL17F	CTLA4 & ICOS	PD-1 & PD-L1 & IDO1
IL23A	ICOS & ICOSL	PD-1 & PD-L1 & LAG3
IL3	IL6 & IL6R	PD-1 & PD-L1 & OX40
IL4RA	LAG3 & CTLA4	PD-1 & TIGIT & TIM3
II5	OX40 & CTLA4	SIRPA & CD47 & PD-1

参考文献

De La Rochere, P., Guil-Luna, S., Decaudin, D., Azar, G., Sidhu, S. S., & Piaggio, E. (2018). Humanized Mice for the Study of Immuno-Oncology. *Trends in Immunology*.doi:10.1016/j.it.2018.07.001

Wege, A. K. (2018). Humanized Mouse Models for the Preclinical Assessment of Cancer Immunotherapy. *BioDrugs*, 32(3), 245-266. doi:10.1007/s40259-018-0275-4

Marin-Acevedo, J. A., Dholaria, B., Soyano, A. E., Knutson, K. L., Chumsri, S., & Lou, Y. (2018). Next generation of immune checkpoint therapy in cancer: new developments and challenges. *Journal of Hematology & Oncology*, 11(1).doi:10.1186/s13045-018-0582-8

查看更多人源化小鼠品系及验证数据, 请点击[此处](#)。