

Igh基因修饰小鼠 | 成熟B细胞缺陷动物模型助力生物药筛选

生物制品是由重组DNA在活体细胞内表达产生的蛋白质，主要包括重组蛋白、单克隆抗体、激素和细胞因子等，是目前治疗血液恶性肿瘤和实体瘤最主要的策略之一。但生物制品具有免疫原性，可诱发机体的免疫反应，进而形成抗药物抗体（anti-drug antibodies, ADAs），影响药物的疗效和安全性。

自2006年第1个重组人生长激素生物类似药（Omnitrope®）在欧洲上市以来，生物类似药的研发如火如荼。但是生物类似药与原研药相似却不相同，其免疫原性一直限制着药物的开发及临床应用。

生物制品与免疫原性

生物制品是由重组DNA在活体细胞内表达产生的蛋白质，相对小分子药物而言，具有分子量大、结构复杂的特点，主要包括重组蛋白、单克隆抗体、激素和细胞因子等，是目前治疗血液恶性肿瘤和实体瘤最主要的策略之一。但生物制品具有免疫原性，可诱发机体的免疫反应，进而形成抗药物抗体（anti-drug antibodies, ADAs），影响药物的疗效和安全性。临床上，免疫原性可能会引起过敏反应、输液反应，降低药物的有效性，甚至与内源性蛋白发生交叉反应，造成该蛋白缺陷综合征。因此免疫原性的评价成为阐明这些药物临床安全性、有效性的关键因素。

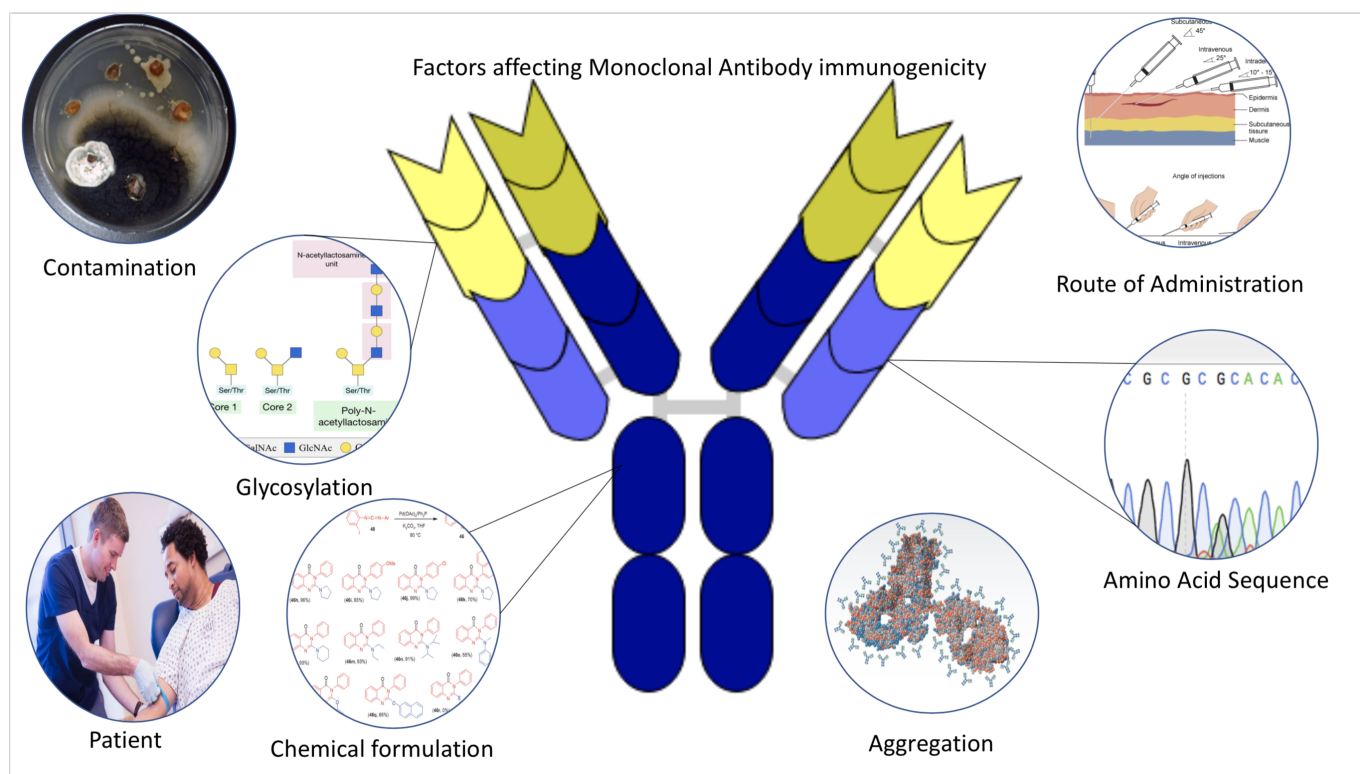


Fig.1 影响单克隆抗体免疫原性的因素（图片来自：Creative Commons）

免疫原性不仅在临床中是一个问题，在药物发现阶段也是如此。使用单克隆抗体和其他蛋白药物有可能诱导ADAs的表达。ADAs会中和药物的活性，影响药物的清除、血浆半衰期和组织分布，改变药效或药动学，

使在非临床研究中观察到的效应可能并非药物真正的药理和（或）毒性反应[1-2]，导致药物有效性的评价更加复杂，这也是早期药物发现的主要障碍。考虑药物开发后期可以对高效候选药物进行免疫原性消除改造，因此，使用不发生免疫原性的动物模型可帮助高效筛选潜在药物。

药效研究相关动物模型

M-NSG小鼠

由于M-NSG小鼠的T细胞和B细胞及NK细胞存在缺陷，对外源性抗原无抗体和细胞免疫反应，因此研究人员可以借助M-NSG小鼠作为工具评估药物的体内有效性。但重度免疫缺陷的M-NSG小鼠也存在局限性，若要评价旨在调节免疫细胞功能药物有效性，需要进行人源化免疫重建，通常造价较高。

同系肿瘤小鼠模型（Syngeneic tumor mouse model）

若想绕开免疫重建所需的时间及价格成本，也可以选择同系肿瘤小鼠模型进行IO药物筛选。同系肿瘤小鼠模型是将组织相容性的肿瘤细胞系或肿瘤组织，即同种背景来源的肿瘤细胞系或肿瘤组织接种至免疫健全的近交系小鼠（通常为C57BL/6或BALB/c背景）体内。

例如，MC38结肠癌细胞系来源于C57BL/6，MC38细胞则可以很容易地移植到C57BL/6小鼠中（即 cell derived allograft，CDA模型），或者是对基因修饰自发肿瘤模型的肿瘤组织接种至同背景的野生型小鼠体内（即 GEM-derived allograft，GDA模型），因为C57BL/6小鼠具有完整的免疫系统，因此对评估免疫细胞对抗肿瘤的治疗方法非常有用。

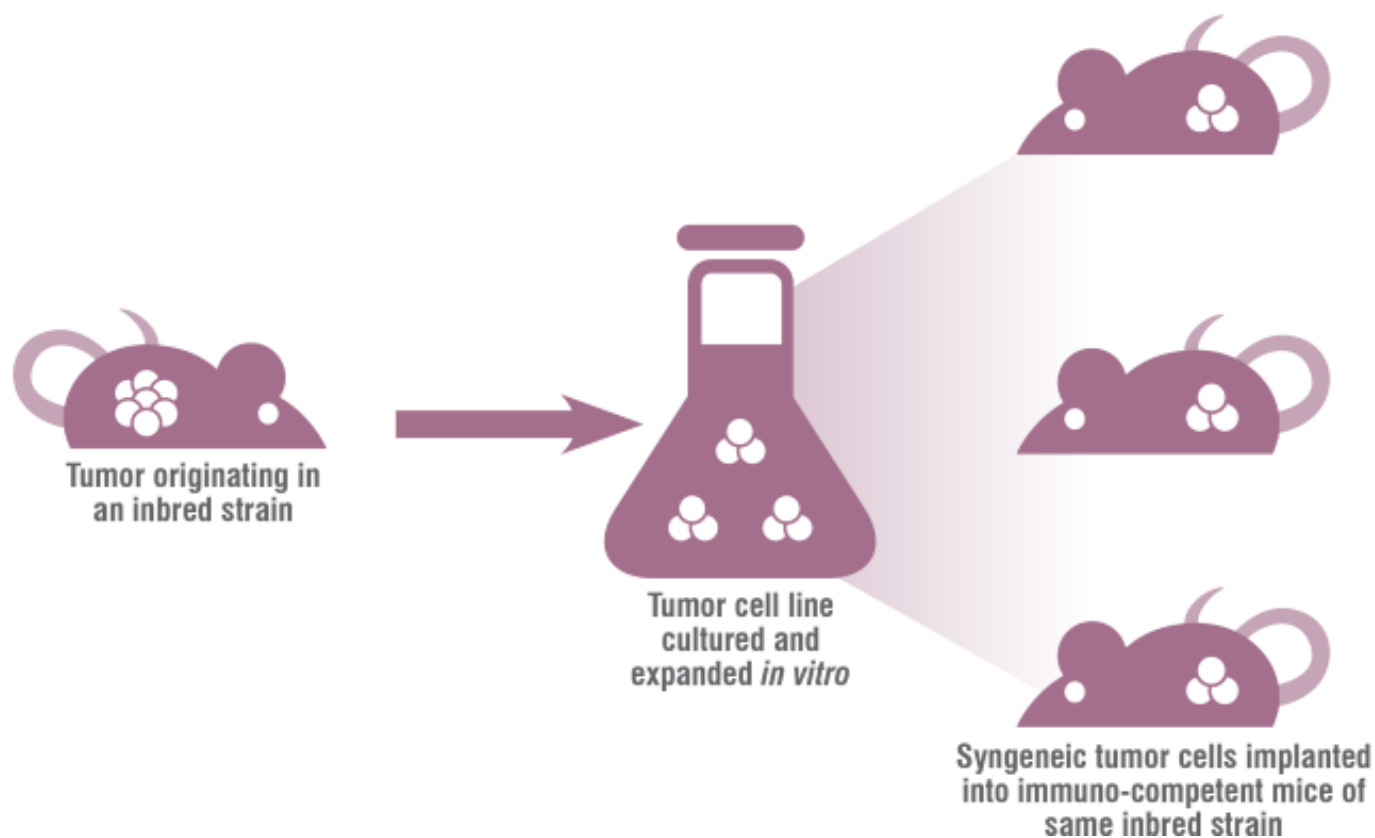


Fig.2 同系肿瘤小鼠模型（图片来自：Charles River Laboratories）

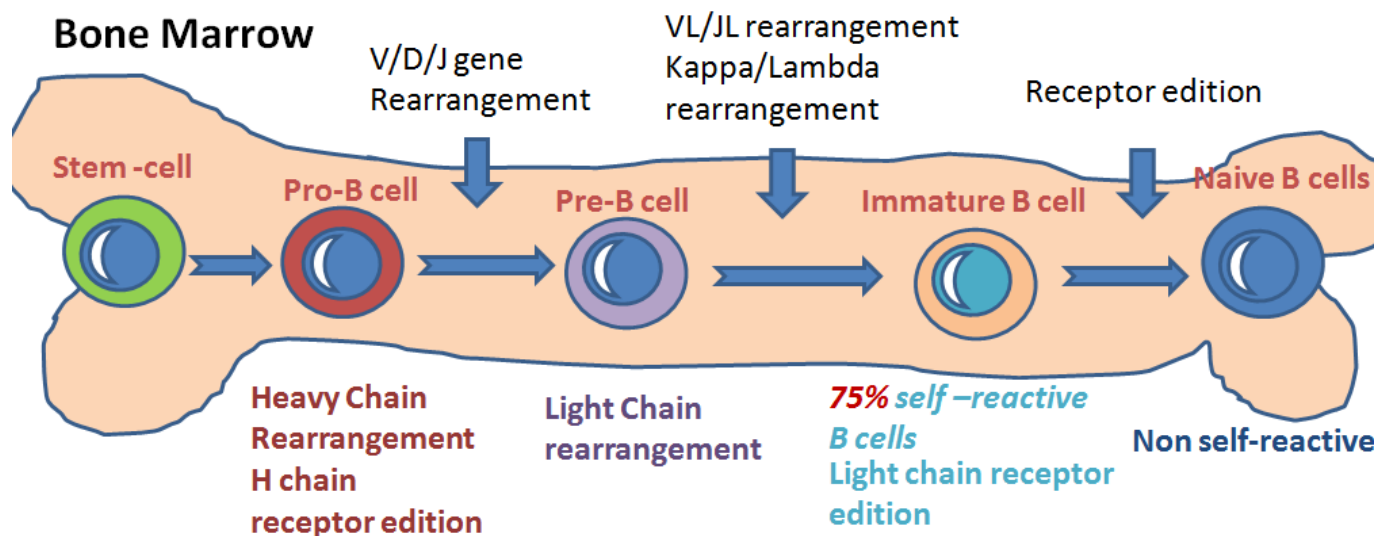
当前我们已成功再现肝癌[H11-Myc](#)和肺癌[Kras-LSL-G12D](#)的GDA模型，想要了解相关小鼠的信息，请直接点击品系名称。

但需要注意，免疫系统健全则意味着免疫原性仍有可能发生，从而混淆药物有效性的评定。鉴于该情况，B细胞发育中断，无适应性抗体反应的小鼠模型则会是一个更优的选择。

成熟B细胞缺陷的动物模型——Igh基因修饰小鼠

Igh基因修饰小鼠是针对Ig重链基因进行靶向破坏，导致该模型由于B细胞受体重排、剪切等关键阶段被抑制，B细胞发育停止在前B细胞阶段，进而导致不能产生抗体。Igh基因修饰小鼠可作为IO药物的有效筛选模型，它既保留了对免疫治疗评估重要的免疫细胞类型，又不会产生ADAs过敏反应。

Development of B cell repertoire.



B cells that leave bone marrow

20% self-reactive peripheral B cells in normal subjects



40-50% self-reactive Peripheral B cells in SLE patients



Fig.3 成熟B细胞发育过程[3]

成熟B细胞缺陷小鼠药效研究的案例分析

EMD Serono的肿瘤免疫学产品bintrafusp alfa (M7824) 是一种双功能治疗药物，旨在针对癌细胞逃避免疫控制的两种不同途径，可同时阻断PD-L1和TGF- β 通路。虽然bintrafusp alfa是一种全人免疫球蛋白G1 (IgG1)，但它会识别小鼠的细胞因子，且与小鼠PD-L1发生交叉反应。若反复给药超过6天，则会在免疫健全的小鼠中诱导强烈的免疫原性反应。

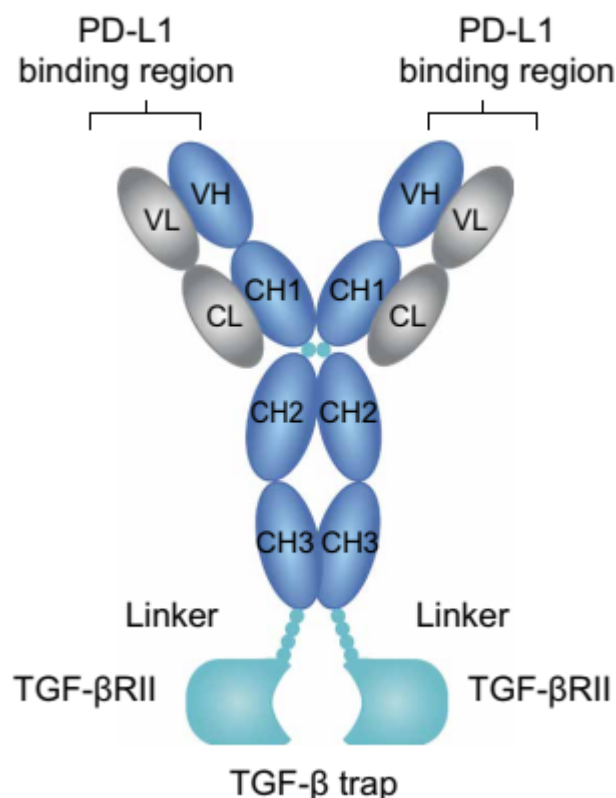


Fig.4 Structure of EMD Serono's bifunctional immune-oncology therapeutic M7824[4]

为了克服免疫原性问题，EMD Serono的科学家采用了B细胞缺陷，不能产生ADAs的Ihgf-KO小鼠进行临床相关的重复给药计划。在Ihgf-KO小鼠接种EMT-6细胞系的乳腺癌模型中，bintrafusp alfa可诱导肿瘤消失，其效果优于PD-L1或TGF-β抗体的单独治疗。此外，bintrafusp alfa还能提供长期免疫保护，218天后，当给已经治愈了EMT-6原位肿瘤的Ihgf-KO小鼠再次接种EMT-6细胞，即使不给bintrafusp alfa进行治疗，Ihgf-KO小鼠也不会发生肿瘤。

由于Ihgf-KO小鼠保留了除B细胞之外的其他免疫细胞，因此可研究人员可在Ihgf-KO小鼠中检测其他免疫细胞的变化。Lan[4]等研究发现，与PD-L1或TGF-β单抗治疗方案相比，bintrafusp alfa治疗可增加CD8+肿瘤浸润淋巴细胞（TILs）和肿瘤浸润NK细胞（TINKs）的密度，另外髓样细胞群（包括树突状细胞、中性粒细胞、单核细胞和巨噬细胞等）也在其中发挥作用。通过细胞耗尽实验发现，CD8+ T细胞和NK细胞在bintrafusp alfa的抗肿瘤活性中起主要作用。综上所述，EMD Serono已将bintrafusp alfa推入到针对一系列特定肿瘤的临床试验中。

在药物开发过程中，免疫原性极大的影响了药代，毒代和药效数据。强烈的免疫原性会混淆药物的有效性，进而损失很多潜在的候选药物。B细胞缺陷动物模型有效地减低甚至避免了免疫原性的产生，为潜在有效药物的筛选提供了更多的可能。

南模生物B细胞缺陷模型

关于B细胞缺陷模型，南模生物可提供如下模型：

[Ighm-Ighd-KO](#)

品系背景：C57BL/6

目录号：NM-KO-200610

品系状态：活体供应，已验证

[Ighm-Ighd-KO](#)

品系背景：BALB/c

目录号：NM-KO-210095

研发状态：活体供应，验证中

[Ighj-KO](#)

品系背景：C57BL/6

目录号：NM-KO-191197

品系状态：活体供应

[Ighj-KO](#)

品系背景：BALB/c

目录号：NM-KO-200582

品系状态：研发中

其他与成熟B细胞发育相关的小鼠模型

[Ighm-KO](#)

品系背景: C57BL/6

目录号: NM-KO-18024

品系状态: 活体供应, 已验证

该品系成熟B细胞缺失IgM的表达

Ighm-KO

品系背景: BALB/c

目录号: NM-KO-200783

品系状态: 活体供应, 验证中

该品系成熟B细胞缺失IgM的表达

Reference:

- [1]. 吕秋军.生物技术药物免疫性的评价和面临的挑战[J].中国新药杂志, 2007(03):181-188
- [2]. Aarden L , Ruuls S R , Wolbink G . Immunogenicity of anti-tumor necrosis factor antibodies-toward improved methods of anti-antibody measurement.[J]. Current Opinion in Immunology, 2008, 20(4):431-435.
- [3]. Panizo C , Ricardo García-Muñoz. Lymphoproliferative Disorders in Patients with Systemic Lupus Erythematosus[M]// Systemic Lupus Erythematosus. 2012.
- [4]. Lan Y , Zhang D , Xu C , et al. Enhanced preclinical antitumor activity of M7824, a bifunctional fusion protein simultaneously targeting PD-L1 and TGF- β [J]. Science Translational Medicine, 2018, 10(424):eaan5488.

