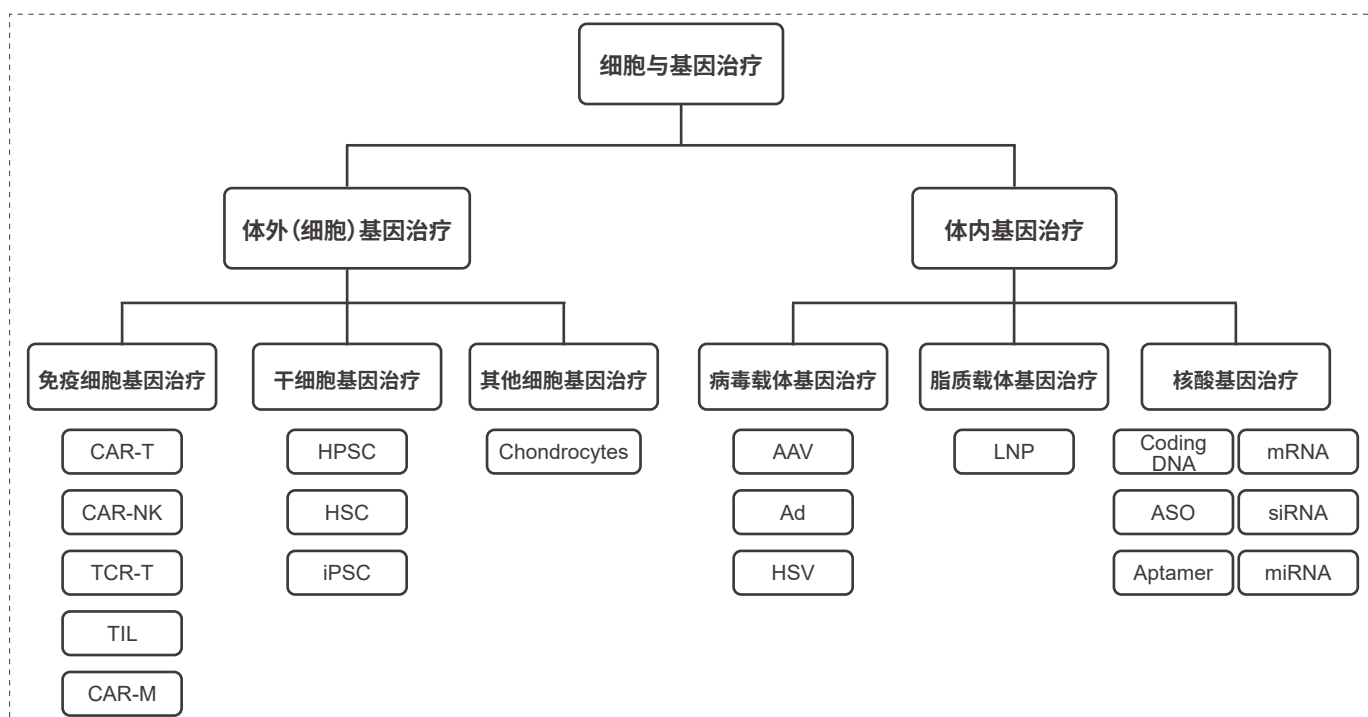


美迪西CGT研发服务平台

细胞&基因疗法近些年发展突飞猛进,为很多难治性疾病提供了可能性。随着基因转导和修饰技术、递送载体系统、细胞培养技术等领域的快速发展,细胞&基因治疗取得了突破进展,为难治性疾病(尤其是罕见遗传性疾病)提供了全新的治疗理念和思路。

美迪西临床前研究服务涵盖药理药效研究、药代动力学研究、生物分析、药物安全性评价等,建立了完善的CGT研发服务平台,可为CGT药物提供一站式服务。运用丰富的动物模型和先进的实验技术,综合考虑不同项目的特点,已为客户完成了多个CGT方案的临床前开发项目。



细胞治疗

细胞治疗:是指通过生物工程技术,利用患者自体或异体某些具有特定功能的细胞特性,经体外扩增、特殊培养处理后,使这些细胞具有增强免疫、杀死病原体和肿瘤细胞的功能,从而达到治疗疾病的目的。根据使用细胞标的的不同,细胞治疗分为:

- **干细胞疗法:**

将健康的干细胞移植到患者体内,修复、替换受损细胞及组织从而治愈疾病;临床上常使用的干细胞种类有:间充质干细胞、造血干细胞、神经干细胞以及皮肤干细胞等。

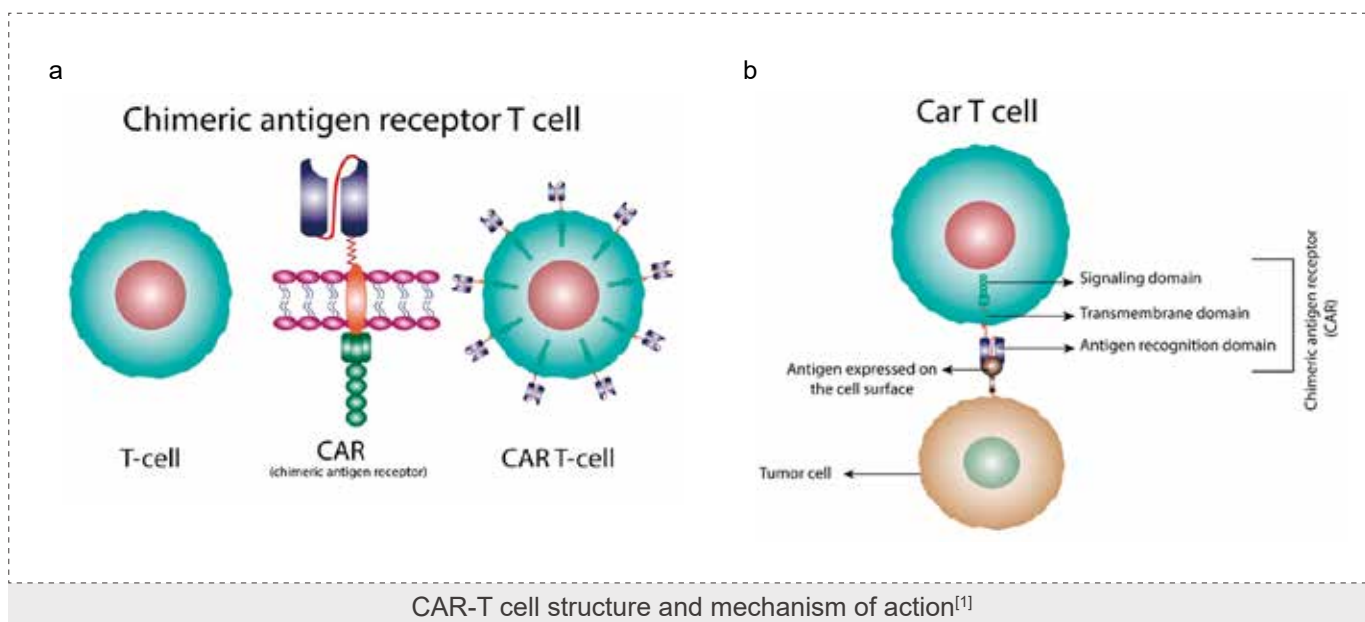
- **免疫细胞疗法:**

采集人体自身免疫细胞如T细胞、NK细胞、B细胞和DC细胞等,经过体外改造、培养,使其数量扩增成千倍或增加其肿瘤靶向性识别和杀伤能力,然后再回输到患者体内,对肿瘤发起精准、高效的攻击,并可激活自身免疫系统对肿瘤的免疫应答。根据细胞类别分类,目前肿瘤免疫细胞治疗主要包括CAR-T(嵌合抗原受体T细胞)、TCR-T(工程T细胞受体T细胞)、TIL(肿瘤浸润淋巴细胞)和CAR-NK(嵌合抗原受体NK细胞)、CAR-M(嵌合抗原受体巨噬细胞)等。

CAR-T细胞治疗

CAR-T (Chimeric Antigen Receptor T-Cell Immunotherapy) 是指嵌合抗原受体T细胞免疫疗法。CAR是一种人工构建的细胞表面受体,可使T细胞识别肿瘤细胞表面的特定抗原,表达CAR的T细胞可识别并结合肿瘤抗原,进而攻击肿瘤细胞。这种表达CAR的T细胞即为CAR-T。CAR-T细胞直接与肿瘤细胞表面的特异性抗原相结合而被激活,通过释放穿孔素、颗粒酶B等直接杀伤肿瘤细胞,同时还通过释放细胞因子募集人体内源性免疫细胞杀伤肿瘤细胞,从而达到治疗肿瘤的目的,而且还可形成免疫记忆T细胞,从而获得特异性的抗肿瘤长效机制。

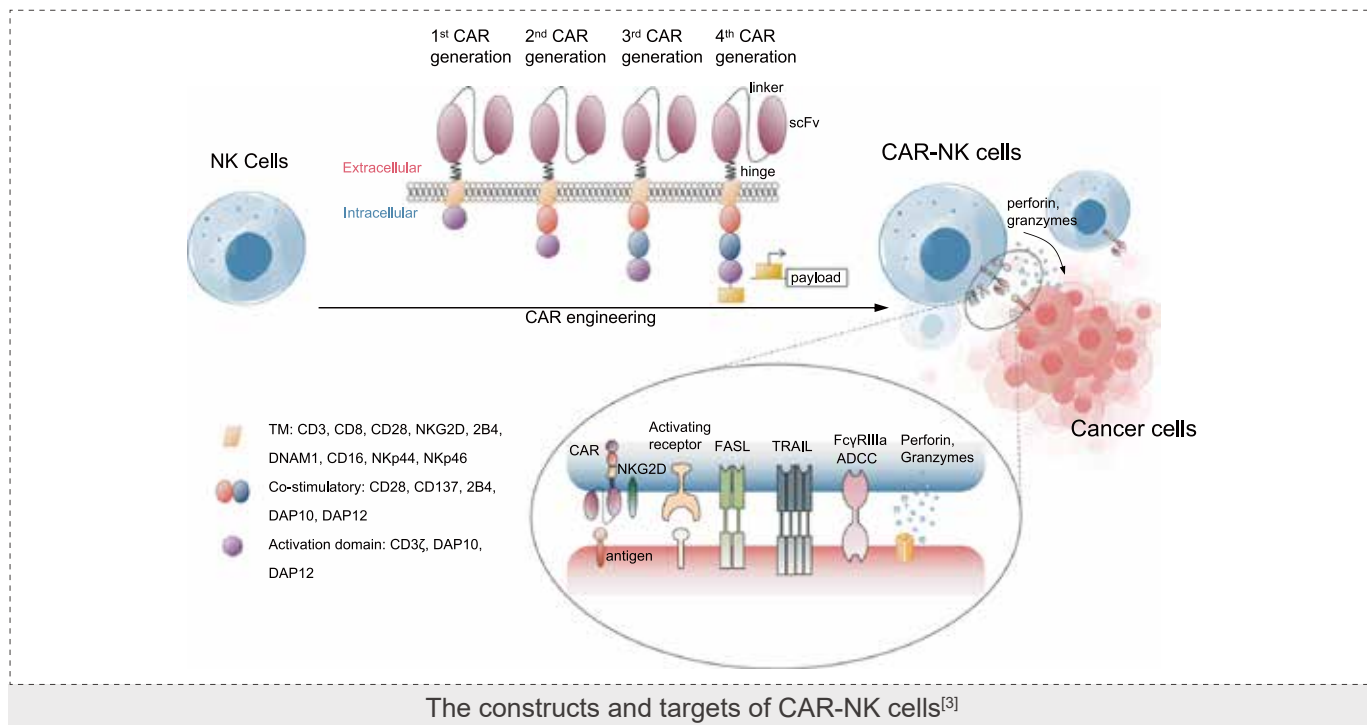
CAR-T细胞对多种血液肿瘤显示了非常好的临床效果,对实体瘤治疗也表现出了非常大的潜力。CAR-T细胞免疫治疗技术的开创和成功应用为肿瘤的治疗甚至治愈带来了希望。为了提高CAR-T细胞免疫疗法的特异性、安全性和通用性,使用基因编辑技术改造CAR-T细胞已变得至关重要。



CAR-NK细胞治疗

NK (natural killer) 细胞是机体天然免疫的重要组成部分,是机体最先响应外源病原体和病变细胞的免疫细胞。CAR-NK细胞治疗,与CAR-T细胞治疗相似,将CAR导入NK细胞,从而赋予其特异性地识别杀伤肿瘤细胞的能力。

CAR-NK更易于现货生产:异体来源NK细胞不表达个体特异性TCR(T细胞受体),在临床过程中出现移植物抗宿主病的风险远低于异体T细胞治疗,其更适于被开发为“现货型”(Off-the-Shelf)免疫细胞治疗产品,易于大规模产业化应用。



TCR-T细胞治疗

TCR (T cell receptor, T细胞受体) 是T细胞表面的特异性受体,可以识别由主要组织相容性复合体 (MHC) 所呈递的抗原,TCR与MHC所呈递多肽的特异性结合会引发一系列生化反应,并通过众多的辅助受体、酶和转录因子激活T细胞,促进T细胞分裂与分化。

TCR-T疗法是指通过筛选和鉴定能特异性结合靶抗原的TCR序列,利用基因编辑改造来自患者外周血的T细胞,然后将改造后的T细胞回输至患者体内,使其能特异性识别并杀伤表达抗原的肿瘤细胞,从而达到治疗肿瘤的目的。

	TCR-T	CAR-T
识别抗原类型	可识别更大范围的潜在肿瘤特异性抗原	仅可识别肿瘤细胞表面抗原,可识别细胞表面蛋白、多糖及脂类蛋白
识别抗原位置	胞内+表面抗原均可识别	主要识别表面蛋白
实体瘤应用范围	被认为可能具有更优治疗效果	被认为实体瘤应用具有局限性,但也在不断突破中
MHC限制性	需要MHC分子,因此无法像CAR-T一样开发出通用型版本,限制使用范围	无MHC限制,越过MHC提呈机制直接识别肿瘤细胞,可获得共刺激信号

TCR-T与CAR-T细胞疗法对比

TIL细胞疗法

肿瘤浸润性淋巴细胞(TILs):人体有一部分淋巴细胞能侵入到肿瘤组织中,并对肿瘤起识别、抵抗和攻击作用,被称为肿瘤浸润淋巴细胞,包括T细胞及NK细胞,大多数情况下以CD3+、CD8+和T细胞为主。

TIL疗法是从肿瘤附近组织中分离出TIL细胞,加入生长因子IL-2进行体外大量扩增,再回输到患者体内,从而扩大免疫应答,治疗原发或继发肿瘤的方法。TIL产生的抗肿瘤效应主要是细胞免疫反应,作用机制是通过释放细胞毒素直接杀伤肿瘤细胞。

细胞疗法	免疫细胞来源	肿瘤识别率	提升治疗手段
TIL疗法	肿瘤组织中T细胞	60%+	识别对肿瘤细胞具有特异性T细胞,分离扩增,扩大免疫应答
CAR-T	血液中T细胞	不到0.5%	基因编辑改造CAR,导入T细胞增强抗原识别
TCR-T			基因编辑改造TCR,导入T细胞增强抗原识别

TIL疗法与CAR-T/TCR-T等细胞疗法对比

基因治疗

基因治疗产品包括:通过转导的遗传物质的转录或翻译而发挥作用,一般包括:核酸(例如质粒、RNA)、表达特定基因的基因修饰微生物(例如病毒、细菌、真菌)、离体基因修饰的人类细胞,以及编辑宿主基因组(通过或未通过特定的转录/翻译)的产品和未通过基因修饰表达特定基因的微生物如溶瘤病毒产品。基因治疗是通过将正常或有治疗作用的外源基因导入靶细胞,以补偿异常基因或制造有益蛋白质。

基因治疗可以分为体内基因治疗和体外基因治疗两种方法。体内基因治疗通过质粒或病毒载体(如AAV、Ad、LV等)、非病毒载体(如LNP),将含有治疗性基因或编辑机制的载体直接递送到患者体内。体外基因治疗(基于细胞的疗法):将患者的细胞在体外进行遗传修饰后回输,如各种工程化的T细胞、CAR-T疗法等。

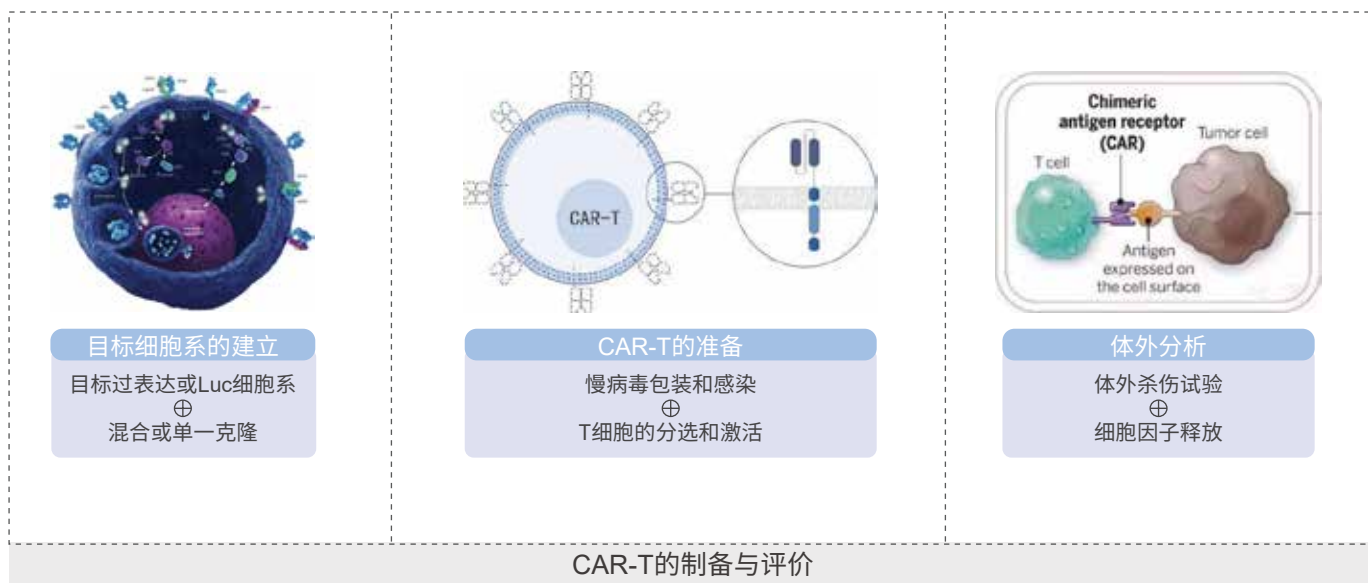
CGT药物药理药效学研究

安全药理学

- 研究药物在治疗范围内或以上的剂量时对生理功能潜在的非期望影响
- 一般包括对中枢神经系统、心血管系统、呼吸系统的影响
- 根据产品特点,可能需要补充对其他器官系统的研究

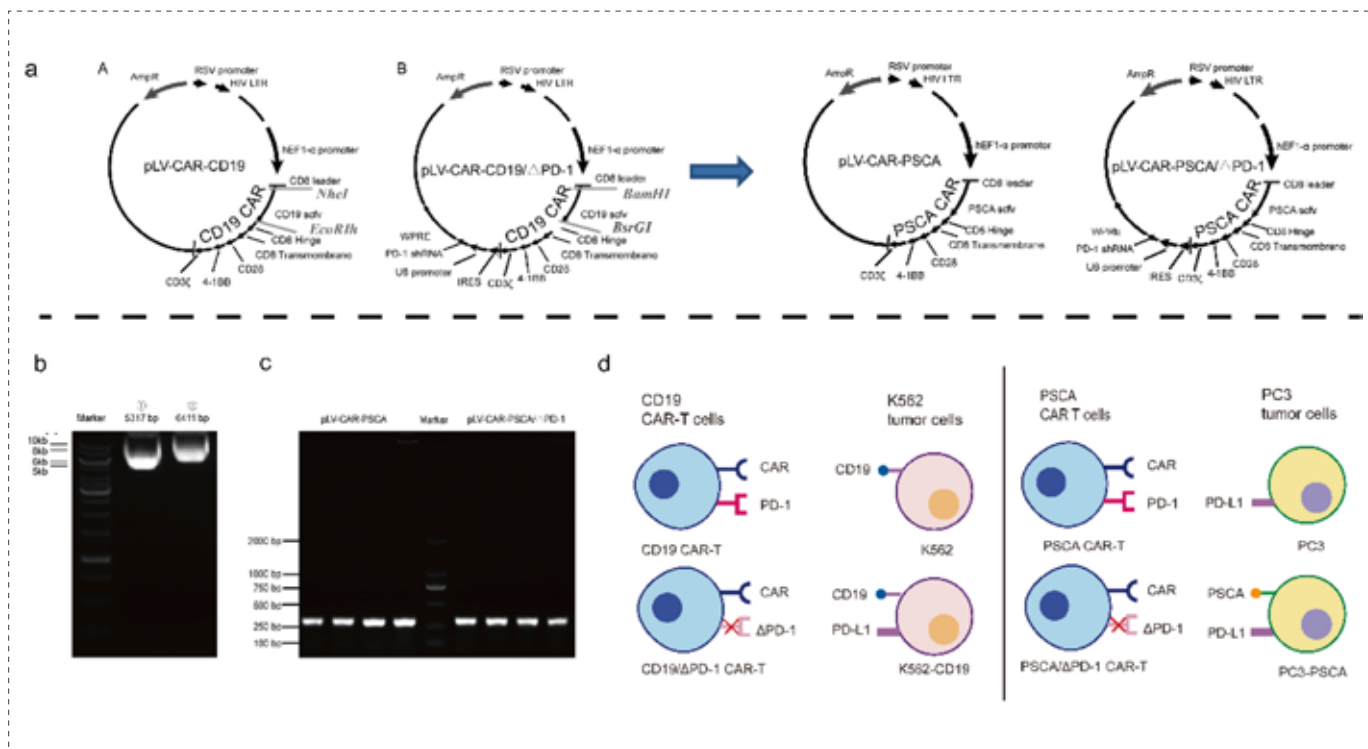
体外药效学研究【细胞治疗(如CAR-T)的效力检测】

- 肿瘤杀伤率或增殖抑制率
- IFN- γ 的表达量
- CAR-T细胞表型变化



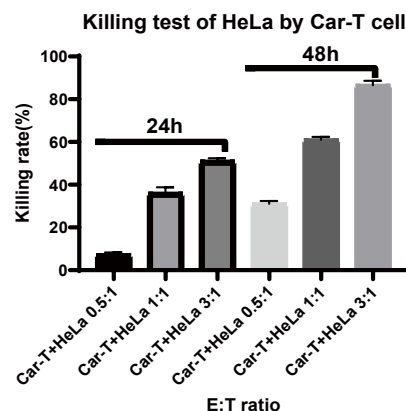
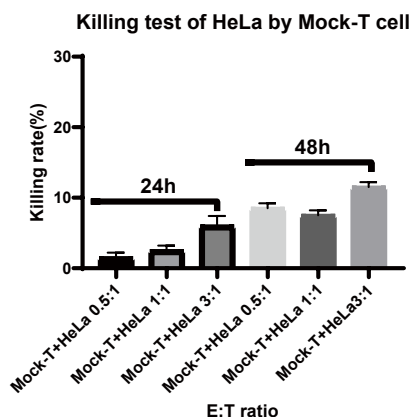
案例:质粒载体构建

将PD-1 shRNA整合到CAR质粒中,再通过慢病毒载体转导进T细胞,获得具有PD-1沉默功能的CAR-T细胞。结果表明,PD-1的有效沉默显著抑制了肿瘤微环境的免疫抑制作用,延长了CAR-T细胞的活化时间,从而产生了较长的肿瘤杀伤作用。PD-1沉默的CAR-T细胞显著延长了皮下前列腺和白白血病异种移植小鼠的存活期。证明PD-1沉默技术是促进CAR-T细胞对皮下前列腺和白白血病异种移植治疗效果合适解决方案。**此实验中质粒测序工作完全由美迪西完成。**



Plasmid containing PD-1 knockdown sequence^[4]

案例: CAR-T细胞杀伤试验



CAR-T细胞杀伤实验显示CAR-T细胞依赖性杀伤较Mock-T细胞增加

体内药效学研究

细胞治疗受试物

- 肿瘤杀伤率或增殖抑制率
- IFN- γ 的表达量
- CAR-T细胞表型变化

基因治疗受试物

- 考虑生产过程、关键质量特征(如滴度)、临床拟用制剂等因素
- 如果有种属特异性,应考察评估受试物在非临床研究中的活性
- 若载体采用了表达性标签,应分析标签对非临床试验支持性的影响

检测方法和评价指标

- 生物发光成像(Bioluminescent Imaging, BLI)
- 流式细胞术:检测动物体内肿瘤细胞的数量
- 流式细胞术、ELISA、MSD:肿瘤相关的细胞因子的变化
- 相关参数:瘤体积、瘤重、动物体内肿瘤细胞定植部位和动物中位存活期

细胞治疗药效评价

- 免疫健全鼠 + 鼠源肿瘤细胞 (同源小鼠模型)
- 免疫缺陷鼠 + 人源肿瘤细胞 (CDX模型)
- 免疫缺陷鼠 + 临床肿瘤组织 (PDX模型)
- 免疫重建鼠 (PBMC和HSC) + 人源肿瘤细胞 (人源化小鼠模型)
- 免疫缺陷鼠 + 人源肿瘤细胞 (大鼠肿瘤模型)

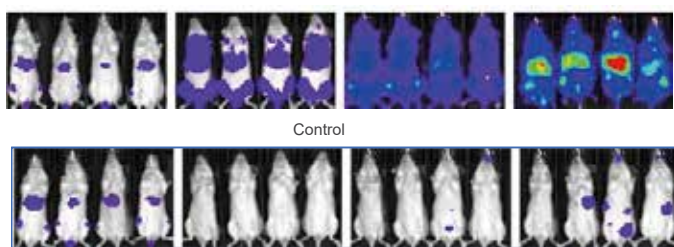
溶瘤病毒药效评价

- 免疫健全鼠 + 鼠源肿瘤细胞 (同源小鼠模型)
- 免疫缺陷鼠 + 人源肿瘤细胞 (CDX模型)
- 免疫缺陷鼠免疫重建 (PBMC和HSC) + 人源细胞 (人源化小鼠模型)
- 原位模型及动物手术 (原位模型)

核酸药物药效评价

- 免疫缺陷鼠 + 人源肿瘤细胞 (CDX模型)
- 免疫缺陷鼠 + 临床肿瘤组织 (PDX模型)
- 免疫健全鼠 + 鼠源肿瘤细胞 (同源小鼠模型)
- 转基因免疫健全鼠 + 鼠源肿瘤细胞 (转基因小鼠模型)
- 免疫重建鼠 (PBMC和HSC) + 人源肿瘤细胞 (人源化小鼠模型)
- 原位模型及动物手术 (原位模型)

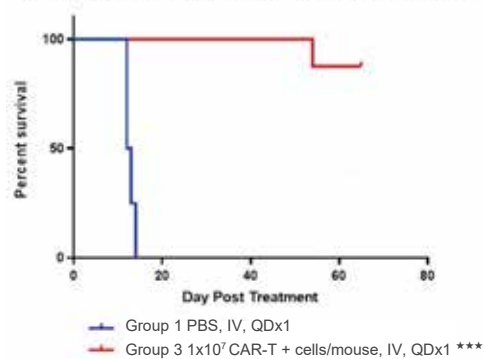
案例: 免疫系统重建人源化小鼠模型



CAR-T + 1×10^7 cells/mouse IV, QDx1

Groups	MST	%T/C _{MST}	P-Value
Vehicle	16.5	/	/
CAR T+	>65	>520	P<0.001

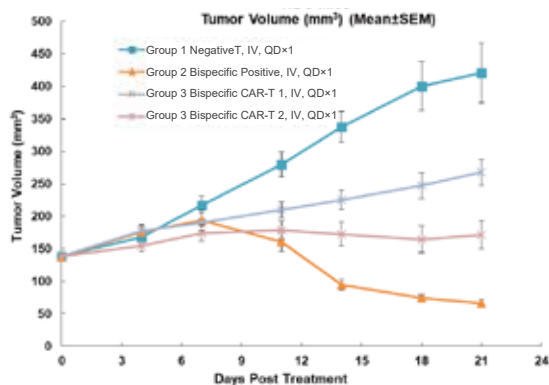
Survival proportions of Raji-luc Systemic Xenograft Model



Raji-luc荧光素标记淋巴瘤细胞诱导的hPBMC免疫系统重建小鼠药效模型的药效研究

案例:双特异性CAR-T药效研究

A549-Target A/A549-Target B Xenograft Tumor Model in Female B-NDG Mice



- 动物:
雌性 B-NDG 小鼠, ~20 g
- 细胞:
A549-Target A+/A549-Target B (1:1 混合)
5×10⁶ cells/mouse
- 建立模型:
皮下注射
- 治疗:
CAR-T+ Cells, IV, QD×1

双靶点CAR-T药物的药效研究

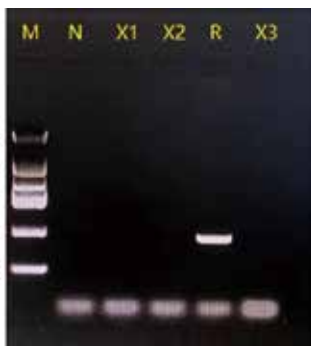
CGT药物药代动力学研究

药代动力学研究考虑要点

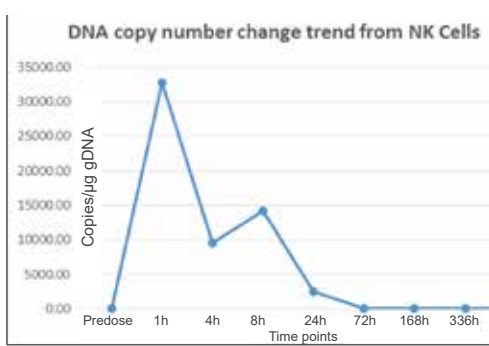
- 暴露量:基因治疗产品应根据产品具体特点考虑非临床研究中的实际暴露情况进行分析评价
- 生物分布:基因治疗产品生物分布是基因治疗产品在体内靶组织和非靶组织的分布、存续和清除
- 脱落:脱落分析应包括对其排出体外成分感染能力的检测

药代(生物分布)检测技术

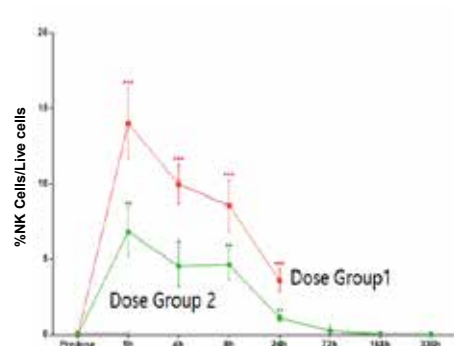
- 成像技术
- 流式细胞术
- 免疫组化技术
- 定量PCR技术等



PCR验证细胞治疗特异性DNA



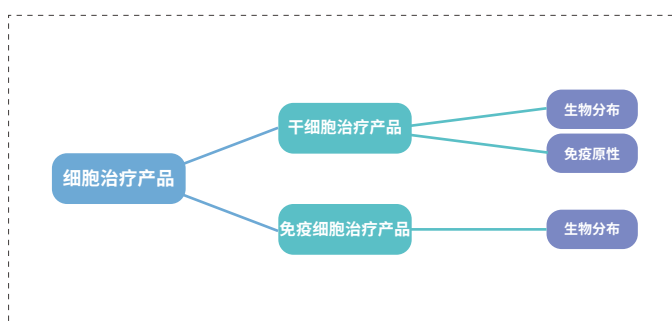
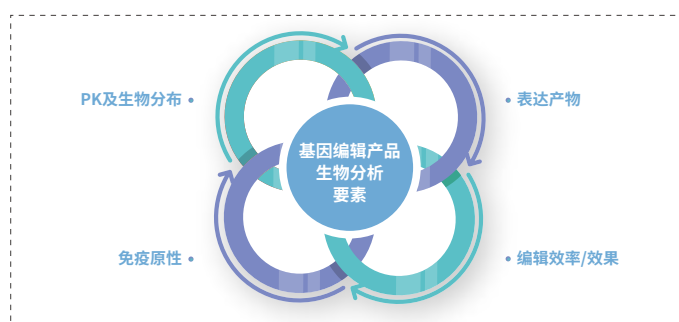
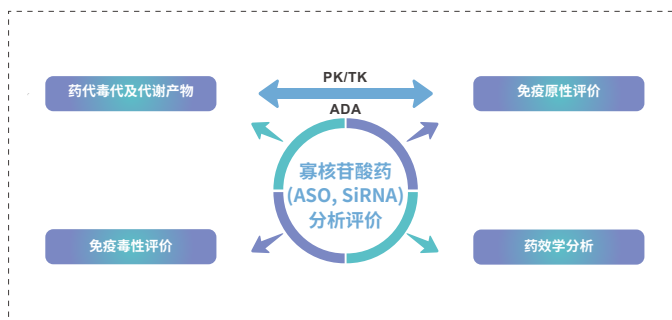
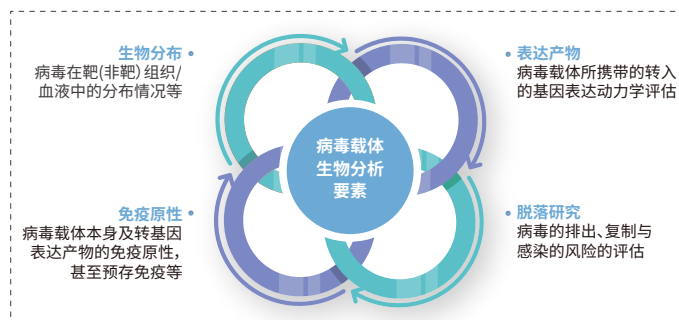
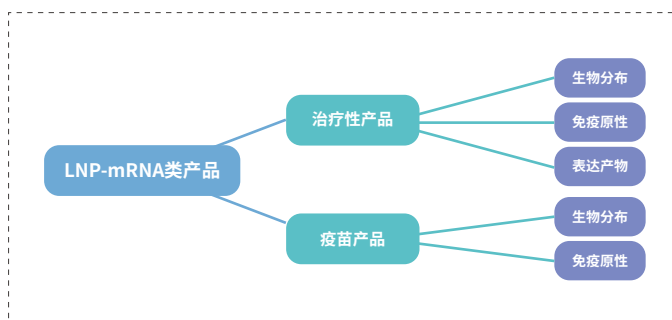
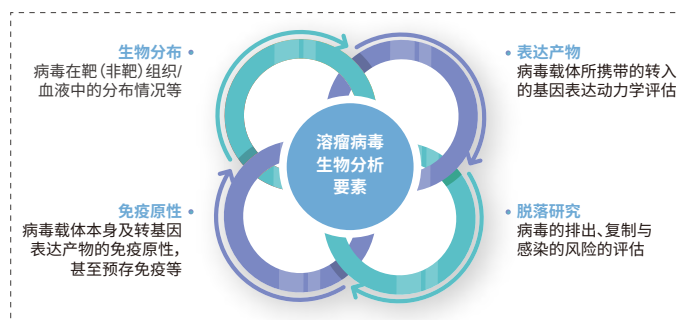
在肺部的生物分布 (qPCR)



在肺部的生物分布 (流式细胞仪)

qPCR和流式细胞术得到的检测结果一致

CGT药物生物分析



美迪西经验

- CAR-T、CAR-NK等均有成功支持获批IND的经验
- 溶瘤病毒、寡核苷酸、病毒载体类等均有成功支持获批IND的经验
- 与数家知名药企在LNP-mRNA领域有长期的合作关系

美迪西优势

- 拥有自主知识产权的现成通用型的NK细胞的生物分析方法
- 拥有自主知识产权的现成通用型的T细胞的生物分析方法
- 拥有自主知识产权的现成通用型的干细胞的生物分析方法

PK/TK/BD

- 反转录荧光定量PCR (RT-qPCR)
- 定量PCR (qPCR)
- 数字微滴 (ddPCR)
- 分子杂交-酶联分析 (H-ELISA)
- 分子杂交-电化学发光分析 (H-ECL)
- 支链DNA (bdDNA)

免疫原性

- ELISA
- ECL
- Cell-based Assay
- 抗体阻断
- ELISPOT

表达产物(影响)

- mRNA水平
反转录荧光定量PCR (RT-qPCR)
- mRNA水平敲降
反转录荧光相对定量PCR (RT-qPCR)
- 蛋白水平
 - ELISA, FIA
 - ECL
 - Western blotting

免疫毒性

- Cytokines
 - FACS CBA
 - ECL
 - Luminex
- Complements
 - Sigle-plex for Complements

CGT药物非临床安全性评价

在毒理学研究中,应对基因治疗产品进行全面的安全性分析评估,必要时还应评估导入基因的表达产物的安全性。基因治疗产品应能在相关动物种属中有效导入/暴露。细胞治疗(如CAR-T细胞)的非临床安全性风险主要包括:细胞因子释放综合征(CRS)、可逆的神经毒性、B细胞减少、非肿瘤靶向毒性(on-target/off-tumor)、移植物抗宿主病(GVHD)、成瘤性/致癌性等。

- | | | | |
|-------------|--------|--------|-----------|
| • 一般毒理学 | • 生殖毒性 | • 神经毒性 | • 复制型病毒风险 |
| • 免疫原性和免疫毒性 | • 遗传毒性 | • 致癌性 | • 局部耐受性 |

案例: Monkey SRI Tox Study

Experimental design: Non-GLP

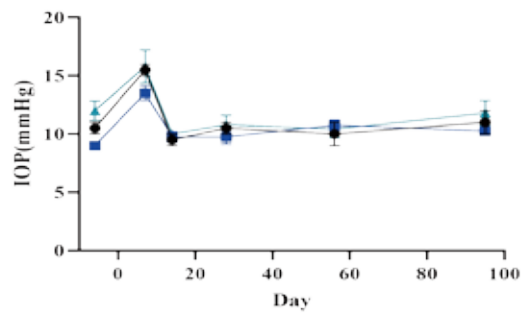
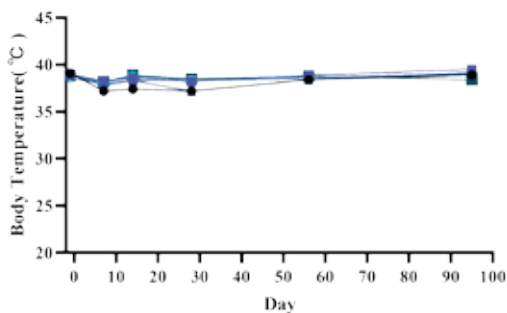
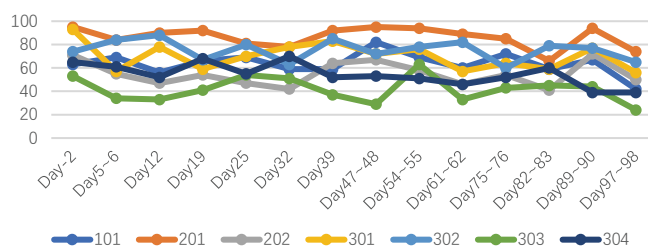
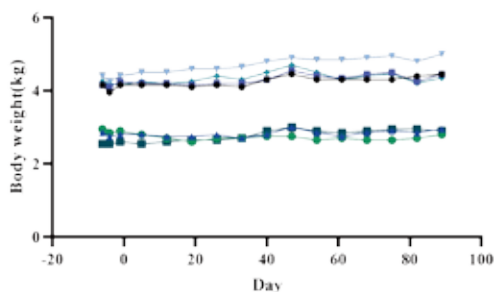
Indications: Retinitis pigmentosa

Cyno monkey: Single subretinal injection

Group	Animal numbers		Test Article	Dose level (mg/eye)	Dose concentration (mg/mL)	Dose volume (μL/eye)	Follow-up
	M	F					
1	1	0	vehicle	0	0.0	100	Day 14, Day 28, Day 60 (±1d), Day 90 (±1d), Day180
2	1	1	AAV	low-dose	low	100	
3	2	2	AAV	high-dose	high	100	

- **Routine Toxicology Measurements:** Body weight, food consumption, & body temperature
- **Special ophthalmic Examination:** Ocular irritation score, slit-lamp, IOP, FA, FFA, OCT, ERG, & eye pathology
- **Toxicokinetics (aqueous humor, vitreous, Plasma):** Pre- dose, 1d, 3d, 6d, 13d, 27d, 55d, 90d, 181d
- **Clinical Pathology:** Complete blood count (CBC), blood chemistry panel, coagulation, & ADA
- **Distribution of ocular tissues:** Conjunctiva, aqueous humor, cornea, iris and ciliary body, retina and choroid, sclera
- **Ocular pathology:** Drug solution area, optic disc area, macular area.

Food Consumption



Slight IOP after the injection

■ 上海首家取得非人灵长类ABSL-2证书的实验室

美迪西ABSL-2实验室通过备案,使美迪西具备了针对普通级食蟹猴、猕猴以及SPF级大鼠、小鼠进行病原微生物研究的资质,涉及的病原微生物包括金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、念珠状链杆菌,以及腺病毒、腺病毒伴随病毒、人乳头瘤病毒、单纯疱疹病毒、水疱性口炎病毒、痘苗病毒、慢病毒(非高致病性)、柯萨奇病毒和轮状病毒等,将补充美迪西在感染性疾病研究领域的技术力量。

■ 专业技术团队

拥有经验丰富的科研人员,涵盖生物学、医学等多领域专业人才,熟悉各类动物实验操作和生物安全管理规范,可确保实验的科学性和准确性。

■ 先进设施设备

配备先进的实验仪器和设备,如高精度的检测分析仪器、先进的动物饲养和监控系统等,能满足多种动物实验需求,为高质量实验提供硬件支持。

■ 严格质量管控

建立了完善的质量管理体系,从实验设计、操作执行到数据记录分析,都有严格的标准和流程,保证实验数据的可靠性和可重复性。

■ 具备相关经验

在药物研发、安全性评价等领域积累了大量项目经验,熟悉不同类型药物和生物制品的实验要求,能高效解决实验中遇到的各种问题。

■ 良好生物安全保障

作为ABSL-2实验室,有严格的生物安全防护措施,包括实验室布局、通风系统、人员防护等,可有效防止实验过程中生物危害因子的泄露,保障人员和环境安全。

参考文献:

- [1] Yi-Ju Chen, et al. CAR-T: What Is Next? *Cancers*. 2023 Jan 21;15(3):663. doi: 10.3390/cancers15030663.
- [2] Ana Rosa Saez-Ibañez, et al. Landscape of cancer cell therapies: trends and real-world data. *Nat Rev Drug Discov*. 2022 Sep;21(9):631-632. doi: 10.1038/d41573-022-00095-1.
- [3] Leisheng Zhang, et al. CAR-NK cells for cancer immunotherapy: from bench to bedside. *Biomark Res*. 2022 Mar 18;10(1):12. doi: 10.1186/s40364-022-00364-6.
- [4] Jing-E Zhou, et al. ShRNA-mediated silencing of PD-1 augments the efficacy of chimeric antigen receptor T cells on subcutaneous prostate and leukemia xenograft. *Biomed Pharmacother*. 2021 May;137:111339. doi: 10.1016/j.biopha.2021.111339.



联系我们

电话: 400-780-8018 (仅限服务咨询)

网址: www.medicilon.com.cn

邮箱: marketing@medicilon.com

总部: 上海市浦东新区川大路585号