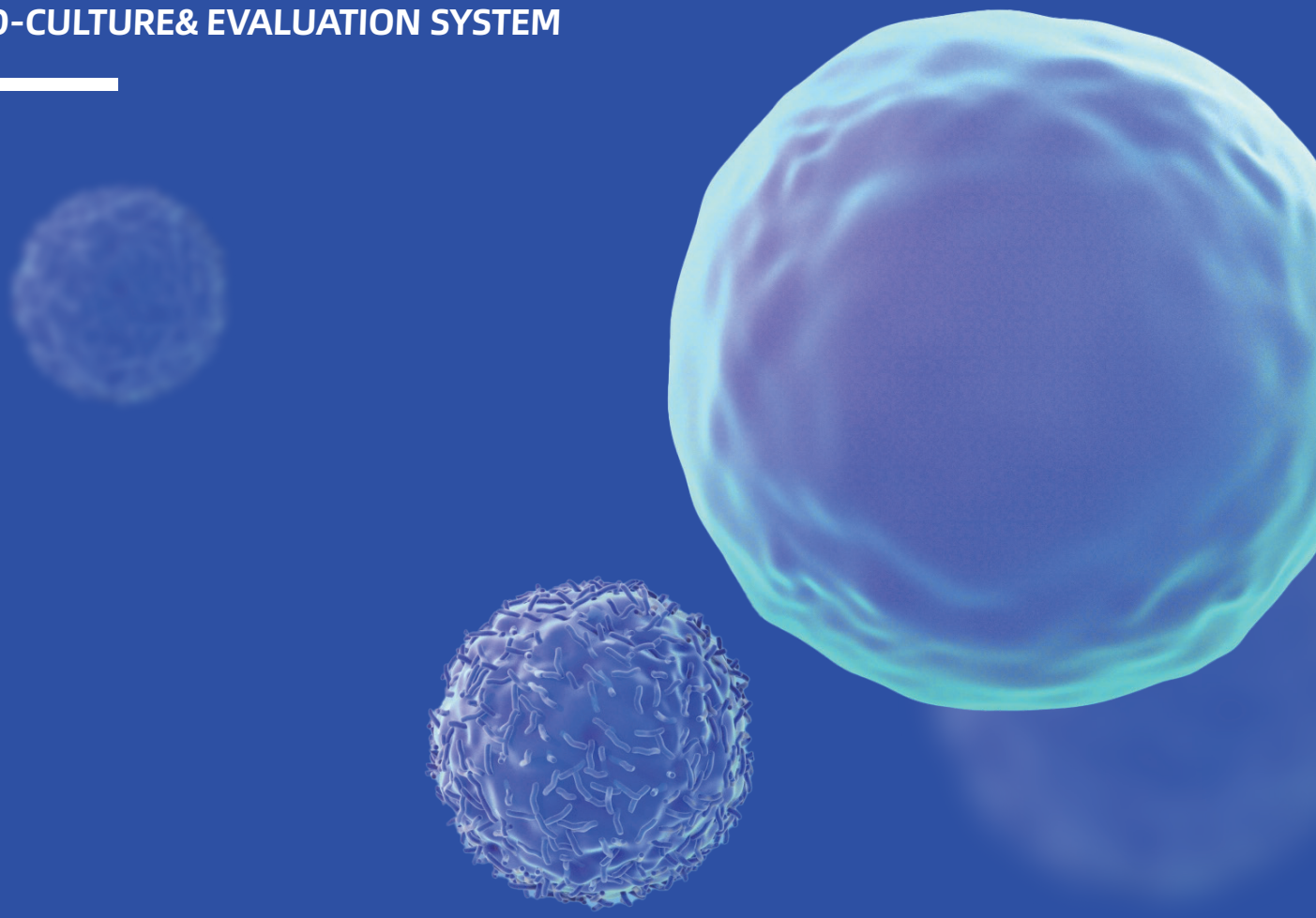
丹望医疗
D1Med

类器官助力评估 CAR-T细胞治疗

—类器官共培养解决方案

ORGANOID & IMMUNE CELL
CO-CULTURE& EVALUATION SYSTEM



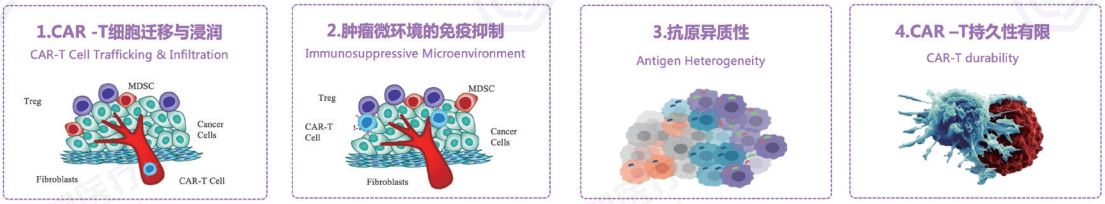
中国 · 上海 / Shanghai, China

CAR-T治疗的现状与局限性

- 已有8款CAR-T获批上市，1款TCRT药物上市，均为血液肿。
- 血液瘤占总癌症病例和死亡＜10%
- 实体瘤仍是挑战

嵌合抗原受体T细胞疗法(Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy) 由患者或供体来源的T细胞进行基因工程改造而成表达针对特定肿瘤抗原的合成受体，以识别和靶向癌细胞。CAR-T细胞疗法是一种治疗肿瘤的新型精准靶向疗法，它能够精准、快速、高效，且有可能治愈癌症，是一种极具前景的新型肿瘤免疫治疗方法。

尽管CAR-T细胞在血液系统恶性肿瘤方面取得了一定的成功，但其在实体瘤的应用仍存在瓶颈。主要原因包括：实体瘤靶点的非专一和异质性、CAR-T 细胞无法有效浸润肿瘤组织、肿瘤微环境（TME）对 CAR-T 细胞疗法的抑制效应等。此外，CAR-T疗法也存在一定潜在风险，如细胞因子释放综合征（CRS），免疫效应细胞相关神经毒性综合征（ICANS）和血液学毒性，这些不良反应并不少见。



类器官模型的优势

目前，CAR-T的临床前测试通常使用小鼠移植瘤模型，其缺乏宿主免疫系统，无法检测靶点外肿瘤效应。最近在人源化小鼠模型以及类器官共培养模型被用于CAR-T细胞的疗效和毒性评估。

	优点	缺点
2D模型	● 成本低，周期短	● 缺乏肿瘤微环境(Tumor Microenvironment,TME)的多细胞 ● 2D细胞仅能评估CAR-T杀伤
类器官共培养模型	● 人源化，可研究CAR-T招募，肿瘤渗透，免疫微环境的影响，CAR-T耗竭，On-Target Off-tumor毒性等。	● 共培养体系细胞成分仅一种或几种
小鼠移植瘤模型	● 表达人类肿瘤相关抗原，允许研究人类CAR-T来验证PoC研究（各种CAR的疗效、选择性等）	● 缺乏宿主免疫系统 ● 无法检测靶点外肿瘤效应
人源化小鼠模型	● 重组的人类免疫系统与人类靶点和细胞相互作用 ● 模拟TME或潜在的脱靶效应	● 人源化免疫系统仍处于研究初期，研究数量有限

CAR-T杀伤实验案例

图1显示了CAR-T和类器官共培养的试验流程。首先对所需的类器官模型进行筛选，肿瘤类器官复苏扩增到相应的数量，正常类器官需要进行诱导分化。CAR-T细胞复苏扩增。然后将肿瘤类器官和正常类器官分别铺板，然后加入CAR-T细胞共培养。培养1-2天后，明场及染色图像证实肿瘤类器官杀伤，而在正常类器官中未检测到显著的死亡。也可通过酶标法进行定量检测，统计分析CAR-T对不同类器官的杀伤情况。

DAY -6	DAY -3	DAY -1	DAY 0	DAY 1	DAY 2
• 诱导大肠类器官分化 • 肠癌类器官复苏扩增	• CAR-T细胞复苏	• 类器官铺板	• 加入CAR-T细胞共培养	• 拍照	• 拍照/酶标法定量 • 数据分析

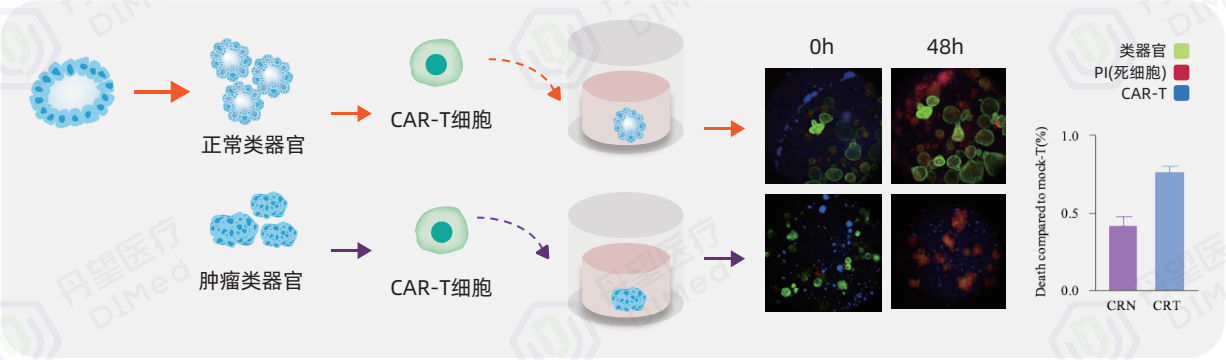
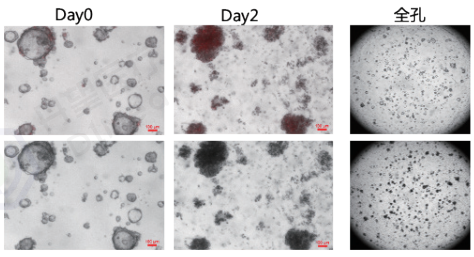


图1.CAR-T试验流程



	总死亡率	自然死亡率	免疫相关杀伤率
肠癌PDO	100.0%	9.320%	90.68%
肠正常PDO	40.56%	10.11%	30.45%

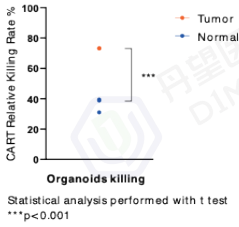


图2.数据分析

本研究利用分化成功的肠正常类器官和肠肿瘤类器官，分别将其与CAR-T进行共培养，然后对比共培养前后类器官的生存状况。研究结果表明，CAR-T对肠肿瘤类器官有明显的杀伤效果， 且CAR-T 在肠正常类器官和肠肿瘤类器官上的杀伤率有显著性差异。此共培养体系不仅检测了CAR-T的杀伤效果，还验证了该CAR-T产品存在治疗窗口。

CAR-T功能评估

CAR-T评估的关键参数包括：功能、毒性、细胞间相互作用等。本研究中，采用肿瘤和配对癌旁来源的PDO和CAR-T共培养来评估CAR-T细胞的杀伤和安全性。

为了更清晰的了解CAR-T的杀伤过程，本研究分别用红、绿荧光标记死、活状态的类器官，用蓝色荧光标记CAR-T，并每隔8h对共培养体系进行荧光拍照，实时观察共培养体系中各培养物的状态。

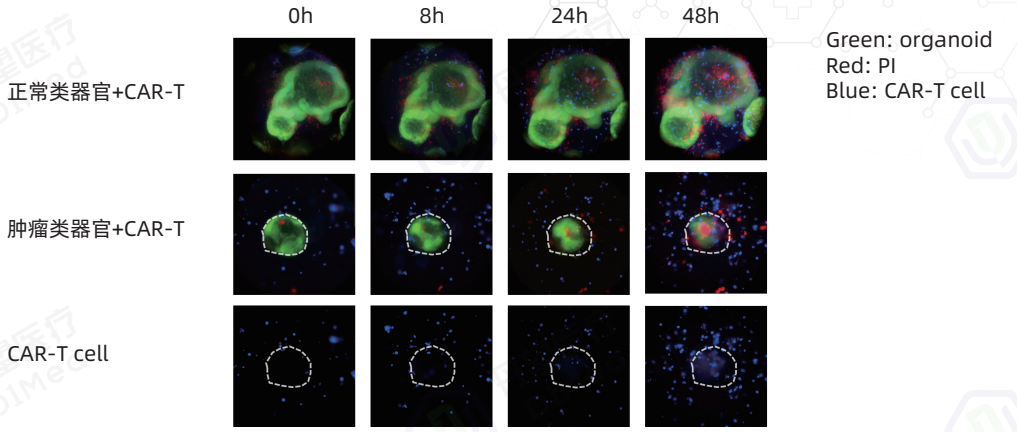


图3.CAR-T细胞的迁移

如图3所示，随着时间的推移，共培养体系中CAR-T细胞逐渐聚集到类器官周围，并选择性地进入类器官内部，并CAR-T细胞聚集的越多，类器官死亡的细胞越多，说明CAR-T细胞是能够识别类器官的，类器官的死亡可能是由CAR-T细胞的杀伤作用造成的。

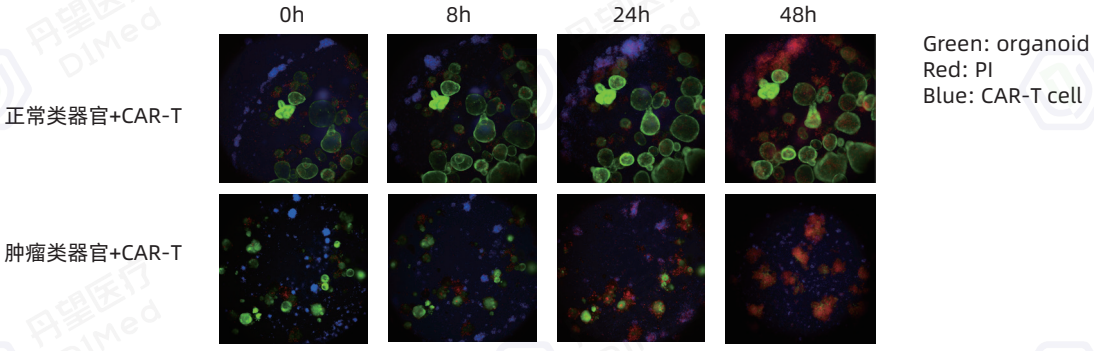
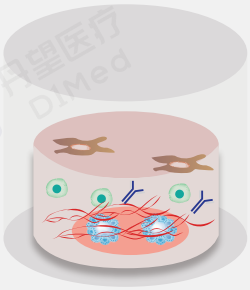


图4.CAR-T对肿瘤类器官的杀伤作用

图4在更大视野范围内观测共培养体系的状态。如图所示，在正常类器官和CAR-T细胞的共培养体系中，正常类器官形态在0-48小时内均维持正常，细胞活率也很高；而在肿瘤类器官和CAR-T细胞的共培养体系中，随着时间的推移，肿瘤类器官的细胞团逐渐呈弥散状态，细胞死亡率逐渐增高。说明CAR-T仅对肿瘤类器官有明显的杀伤作用。

本研究创新性的开发了一个可以更全面的评估CAR-T功能的类器官免疫共培养体系，即分别将肿瘤和配对癌旁来源的PDO和CAR-T共培养，并通过荧光标记，实时观察共培养体系内各类器官和CAR-T 的状态，此方法可以不仅清晰地观测到CAR-T的迁移过程，还可以检测CAR-T 杀伤功能及其安全性。此类器官免疫共培养体系将大大有助于CAR-T细胞疗法的临床前评估。

D1Med CAR-T共培养体系



共培养

- CAFs
- Vessel
- Co-therapeutics (e.g.IL-2\PD-1 antibody)
- CAR-T细胞
- 类器官(正常&肿瘤)

靶点

HER2、EGFR、B7-H3、KRAS、GD2等

图4.Co-culture of organoids and CAR-T

服务内容

- 肿瘤类器官和配对的健康类器官模型
- 基因信息分析 (WES &RNA-seq)
- 免疫组织化学免疫荧光
- 标志物检测
- 细胞活力分析：类器官计数、面积统计
- 肿瘤类器官杀伤分析
- 细胞因子ELISA
- 实时成像

试验终点

死亡率 → 流式细胞分析 → 实时活体染色 → Caspase检测 → 实时成像

服务流程

探讨研究方向 → 确定类器官生理模型 → 实验方案及研究终点（endpoints） → 类器官复苏及扩增 → 开展实验 → 确定数据传输方式&研究结果讨论

IND申报—类器官模型助力CAR-T细胞治疗研究

丹望医疗通过类器官免疫共培养平台，对IMC001的安全性和毒性进行了测试，为IMC001的IND申报提供了相关数据支持。

- EpCAM被认为是有潜力的消化系统肿瘤治疗靶点，并且可拓展的适应症范围也非常广泛。IMC001产品靶向EpCAM，是率先在“化实体瘤为血液瘤”策略下进行的CAR-T产品IIT临床研究。
- 研究中使用正常结直肠类器官和结直肠癌类器官，与CAR-T共培养后，表现出对于肿瘤和正常组织来源类器官的差异性杀伤，为CAR-T的开发提供了一种新型且快速的研究方法。

丹望医疗科技(上海)有限公司

service@d1med.com
86-021-69106895
http://www.d1med.com