

美迪西mRNA肿瘤疫苗研发服务平台

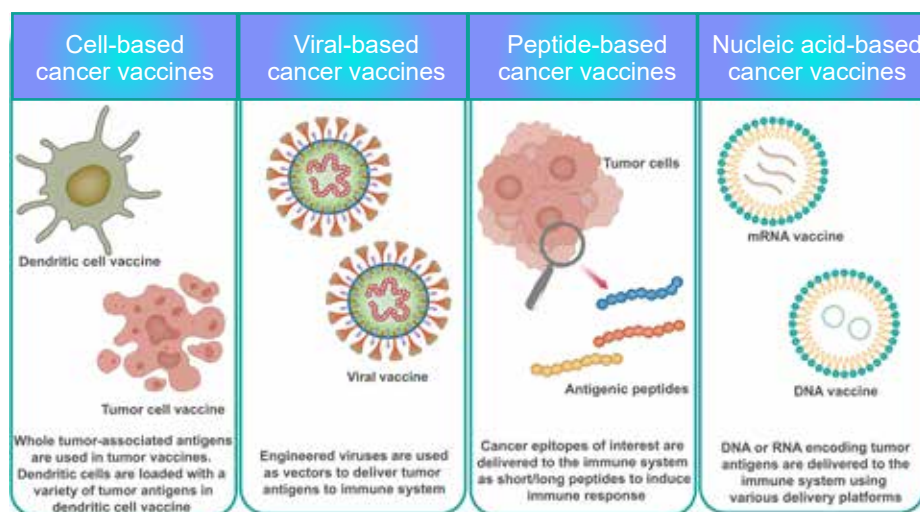
近年来肿瘤免疫治疗取得显著进展,尤其是基于mRNA技术的治疗性疫苗,在临床试验中展现出卓越疗效,为肿瘤防治开辟新途径。mRNA疫苗通过特异性抗原呈递有效抑制肿瘤细胞增殖和转移,结合AI辅助预测系统,有望实现真正的个体化疫苗设计,延长患者无进展生存期。以免疫微环境调控为核心的精准治疗新范式,推动肿瘤治疗从“广谱治疗”向“个体化医疗”转变。

美迪西基于成熟的技术平台和经验,持续深耕mRNA肿瘤疫苗研发平台,致力于为客户提供更快速、更合规、更优质的服务。

肿瘤疫苗类型

一般来说根据制备技术,肿瘤疫苗可分为四类:细胞疫苗、肽类疫苗、病毒疫苗、和核酸疫苗。

核酸疫苗是指含有由DNA或RNA编码的抗原的疫苗。核酸疫苗是一个前景广阔且极具吸引力的疫苗平台,因为其可在一次免疫中注射多种抗原,并能够诱导强烈的MHC-I介导的CD8⁺ T细胞应答。与传统疫苗相比,核酸疫苗已显示出诸多优势,例如安全性、诱导针对目标抗原的免疫应答的特异性、可同时诱导体液和细胞免疫应答、生产成本相对较低以及易于制造。



Different types of cancer vaccine platforms^[1]

mRNA肿瘤疫苗介绍&作用机制

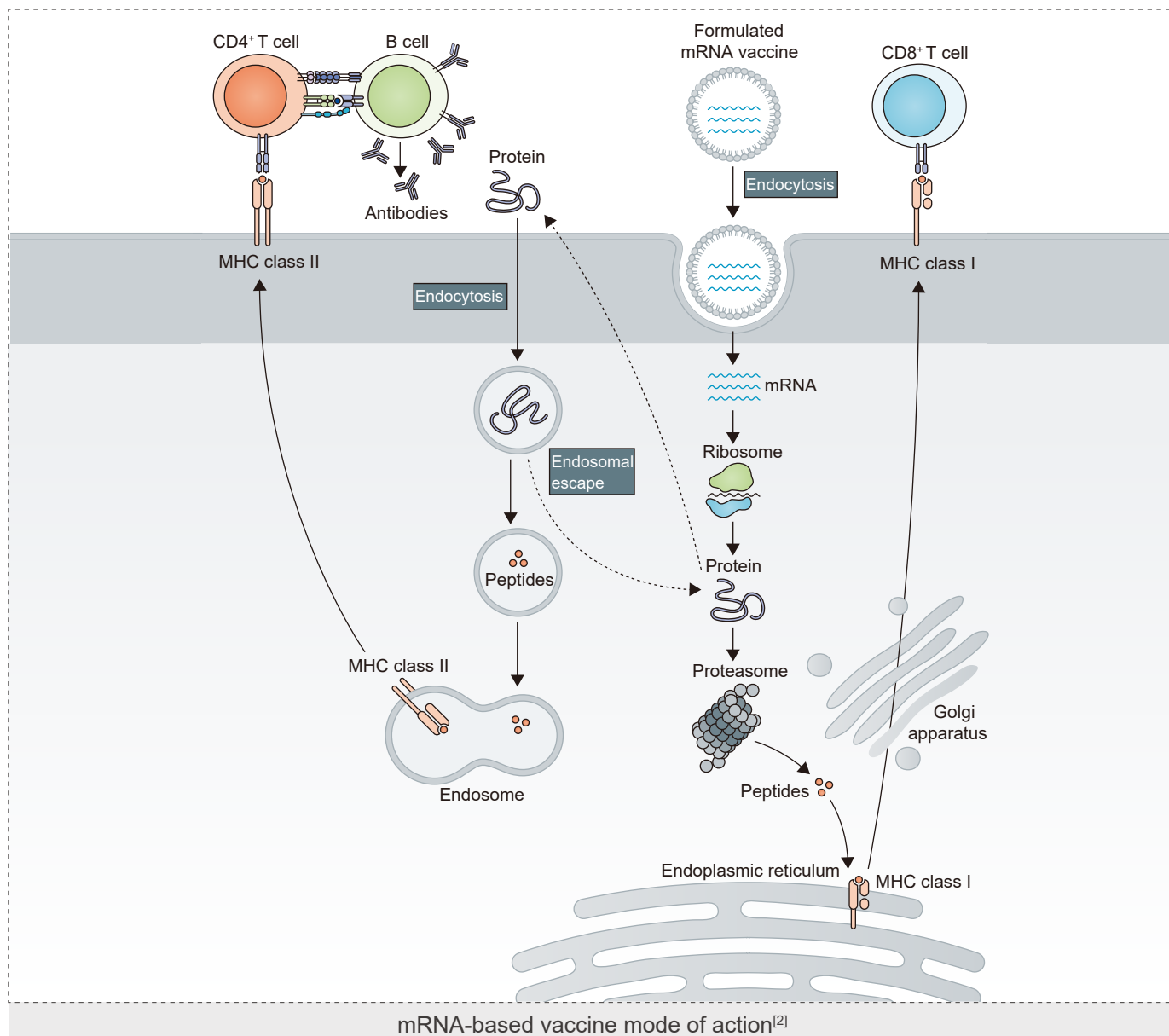
mRNA肿瘤疫苗是一种基于mRNA的免疫疗法,能够编码肿瘤相关抗原 (TAA) 或肿瘤特异性抗原 (TSA),通过诱导或增强有效的抗肿瘤免疫反应而起效。mRNA疫苗被抗原呈递细胞内吞并被转运到细胞质,由核糖体翻译产生目标抗原蛋白,经过多种途径刺激机体免疫反应:

MHC-I呈递途径

细胞内抗原蛋白被蛋白酶体分解成抗原肽表位,通过I类主要组织相容性复合体 (MHC Class I) 运送到细胞表面呈递给CD8⁺ T细胞;活化的CD8⁺ T细胞具备细胞毒性,可特异性杀伤靶细胞

MHC-II呈递途径

分泌的抗原蛋白可被细胞内吞并降解,通过MHC-II类蛋白运送至细胞表面呈递给CD4⁺ T细胞;CD4⁺ T细胞通过促炎细胞因子激活吞噬细胞,增强其杀伤和吞噬靶细胞的能力,另一方面CD4⁺ T细胞可以共激活抗原特异性B细胞并诱导体液免疫反应

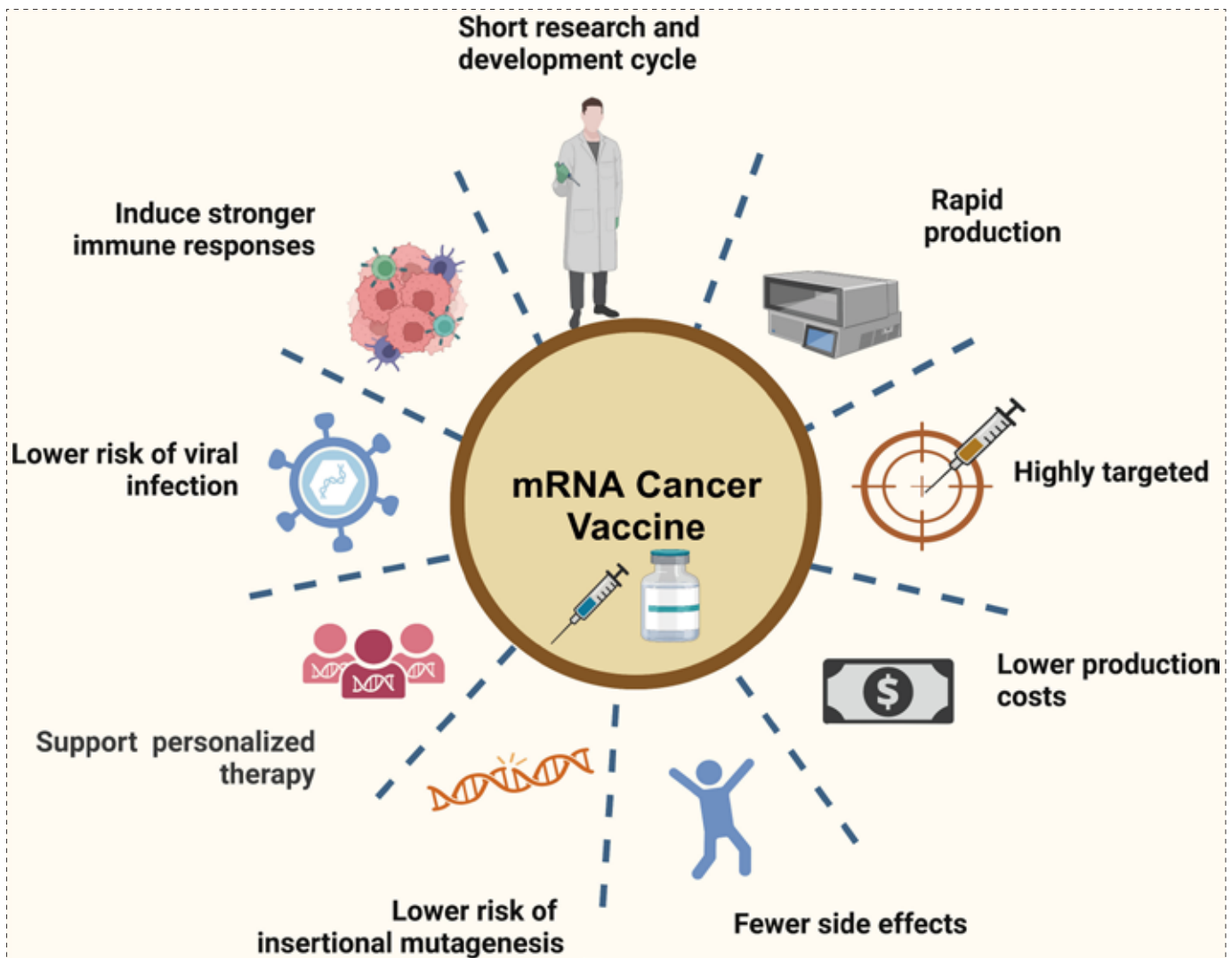


mRNA肿瘤疫苗优势

mRNA肿瘤疫苗具有多种优势，如：

- 抗原选择范围广
- 自佐剂：表现更强的免疫原性
- 安全性：不整合到基因组，安全性高于DNA疫苗
- 生物化学合成，生产过程无病毒感染风险
- 不依赖于细胞培养，构建速度快，借助于人工智能、计算生物学、疫苗学等

已有临床前和临床研究证明mRNA疫苗具有抗癌的可行性。目前正在开发各种mRNA肿瘤疫苗用于各种癌症治疗。此外，个性化mRNA疫苗为精准癌症治疗开辟了新的方向。随着个性化肿瘤疫苗研究和临床试验的不断增加，开发针对不同类型肿瘤的mRNA疫苗的可能性日益增加。



The advantages of mRNA vaccines in the context of cancer therapy^[3]

mRNA肿瘤疫苗挑战

药学研究阶段

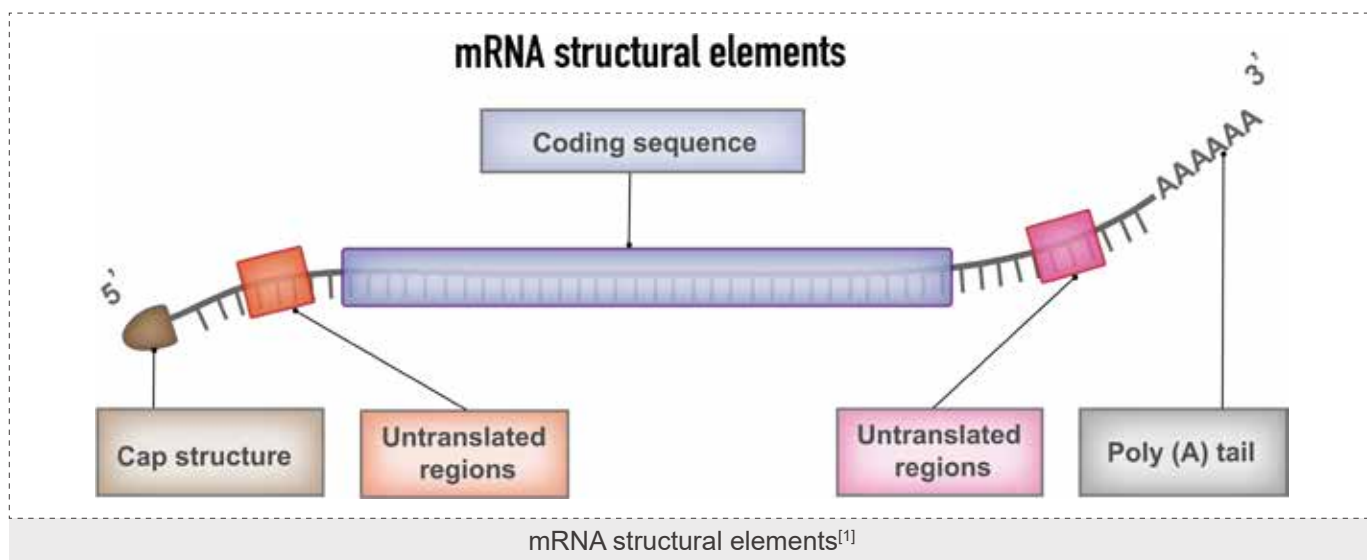
- 肿瘤新抗原的识别和筛选
- mRNA核酸序列设计和修饰
- 递送系统优化

临床前研究阶段

- 动物模型选择是核心和关键

mRNA肿瘤疫苗设计与优化

典型的mRNA由一个两侧为5'非翻译区 (UTR) 的帽子、3' 非翻译区 (UTR)、一个编码mRNA肿瘤疫苗中癌症抗原的开放阅读框 (ORF) 和一个poly(A) 尾组成。mRNA的这些成分可以通过修饰来提高稳定性、翻译效率和免疫刺激特性。设计和优化方法包括编码区的设计和优化、非编码区的设计和优化以及递送形式的设计和优化。



编码肿瘤抗原的mRNA序列：

优化mRNA的翻译和稳定性

- 5'端加帽 (5'Cap)和修饰：常见的如通过噬菌体聚合酶将帽类似物(m7GpppG)添加到mRNA的5'端，提高mRNA的稳定性和翻译效率；
- 5'-UTR和3'-UTR修饰：5'-UTR和3'-UTR包含各种影响mRNA稳定性、翻译和定位的调控序列；
- 开放阅读框架(ORF)中的密码子优化，提高mRNA的稳定性、调控翻译速度和蛋白质产量；
- Poly(A) tail修饰：Poly(A) tail是基因表达的主要调节因子，通过与5' cap协同作用来调节mRNA的翻译，并参与调节mRNA的稳定性。

免疫原性的调节

- 体外转录mRNA的纯化、转录条件改变、核苷酸修饰、添加额外佐剂等。

疫苗佐剂(可选添加):

- TLR激动剂:如TLR4激动剂MPLA、TLR7激动剂Imiquimod;
- STING激动剂;
- TriMix(一种编码CD40配体、CD70和TLR4三种蛋白的鸡尾酒mRNA);
- 粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF);
- 一些mRNA载体,如阳离子脂质和鱼精蛋白。

mRNA疫苗的递送系统:

脂质纳米颗粒(LNP)递送系统

- 目前应用最广泛的mRNA递送递送,主要由可电离的氨基脂质、聚乙二醇、磷脂和胆固醇组成;
- 带负电荷的mRNA分子可以通过与带正电荷的脂质的静电相互作用稳定地输送到包裹在内核中,而不受细胞外RNase和内体的酶降解。

聚合物载体纳米递送系统

- 多聚体或基于聚合物的核酸载体与LNPs相似,因为多聚体也可以带正电荷,并通过与mRNA的静电相互作用来转染mRNA;
- 常用的聚合物递送系统如聚乙烯亚胺(PEI)、聚L-赖氨酸(PLL)、聚酰胺胺(PAMAM)、聚 β -氨基酯(PBAE)、氨基聚酯。

基于多肽的递送系统

- 某些带正电荷的氨基酸能够通过静电相互作用吸附mRNA,以及细胞穿透肽(CPPs)能够快速内化穿过生物膜;
- 鱼精蛋白是一种典型的多肽载体,除了稳定地结合mRNA进行递送外,还可以作为佐剂来激活TLR7/8以诱导先天性免疫反应。

混合纳米颗粒递送系统

- mRNA癌症疫苗的递送还可使用多种组分混合制成的载体,例如脂质、聚合物、肽、外泌体和细胞膜等;
- 脂质/聚合物杂化纳米粒(LPHNs):一般由可电离脂质、疏水聚合物和聚乙二醇脂质组成,可以通过组分和比例优化实现高转染效率;
- 阳离子纳米乳(CNEs):由脂质和聚合物组成的水包油递送载体。

病毒载体递送系统

- 如腺病毒、甲病毒、仙台病毒、黄病毒和小核糖核酸病毒被用于mRNA的递送。

DC细胞递送系统

- DC是早期疫苗研究的重要递送工具,可以通过电穿孔将主要编码抗原的mRNA有效地导入DC细胞。

裸mRNA

- 直接注射裸mRNA:由于快速降解和细胞摄取较差,递送裸mRNA效率低下。

mRNA肿瘤疫苗体外评价(质量控制)

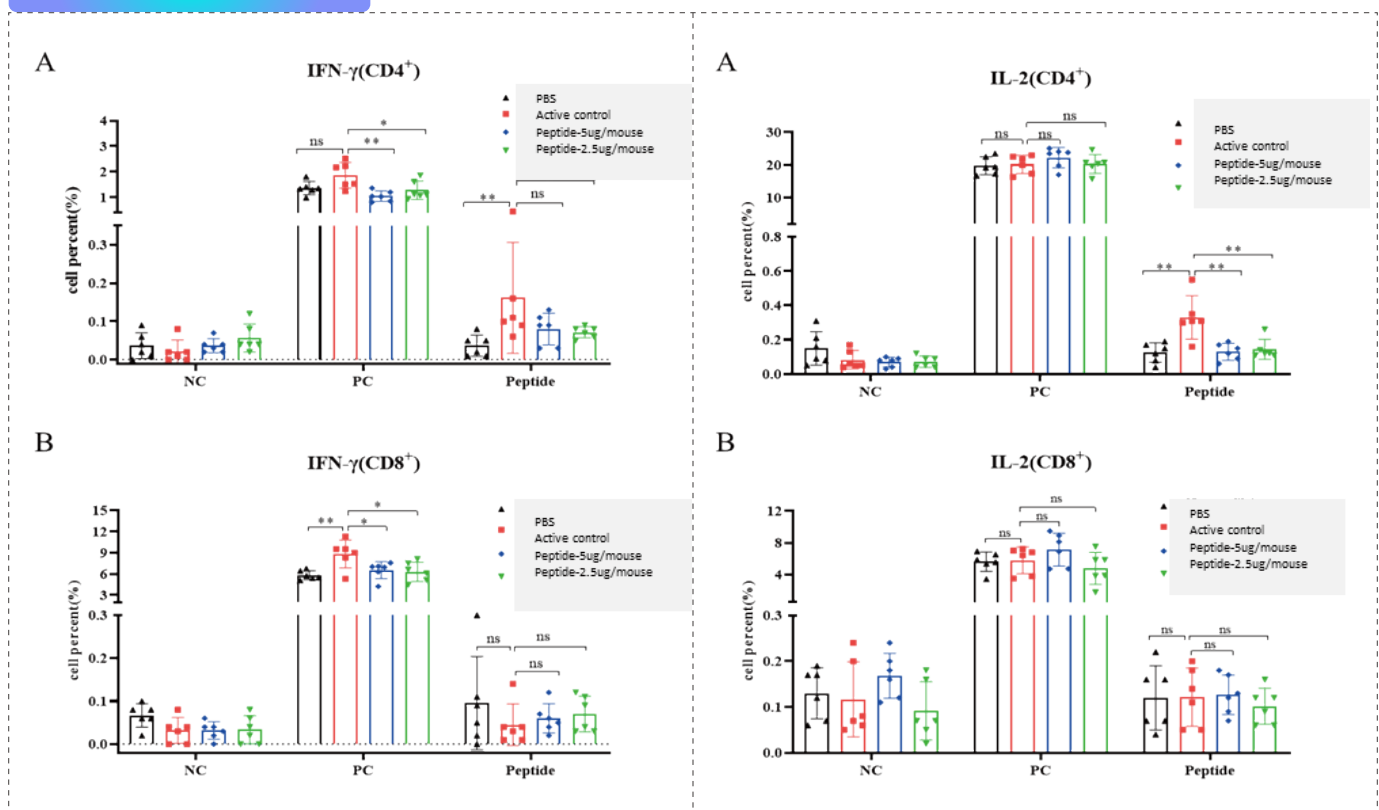
原液质控:

- mRNA鉴定包括外观、鉴别、pH值、序列长度、序列完整性及准确性、含量、加帽率、加尾结构或长度和纯度等指标。

成品质控:

- 成品阶段除常规的疫苗外观、装量、pH值、安全性和效力项目外,质控项目主要针对mRNA鉴定(鉴别、含量、纯度、完整性),递送系统各组分鉴定(鉴别、含量),制剂特性项目[包封率、纳米颗粒粒径、分散系数(PDI)、Zeta 电位]以及工艺相关杂质残留(有机溶剂等)3个部分。

案例:FACS分析细胞因子



Mice are immunized by PBS, active control or peptides. And peptide stimulates spleen cells to detect IL-2/IFN-γ in CD4/CD8 cells by flow cytometry.

mRNA肿瘤疫苗临床前研究

概念验证测试:

mRNA疫苗的临床前开发需验证其活性和机制。体外实验通过共培养T细胞(来自PBMC或全血)与表达TAA的肿瘤细胞系进行。对于靶向TSA的个性化疫苗,因TSA的患者特异性,通常采用多种体外方法,如新抗原的PBMC培养评估,替代商业上难以获取的合成TSA肿瘤细胞系。

动物模型选择：

动物模型对评估mRNA疫苗的安全性和活性至关重要。通过评估疫苗接种后的抗肿瘤效果、存活率和免疫反应，深入了解作用机制。评估联合应用mRNA疫苗和检查点抑制剂的效果，支持未来可能的联合治疗。

模型选择策略：

- 通用型肿瘤疫苗，确认靶点同源性后，使用鼠源模型
- 个性化肿瘤疫苗，使用鼠源肿瘤细胞构建个性化疫苗，用鼠源模型验证
- 有MHC限制性的肿瘤疫苗，使用HLA人源化免疫健全小鼠
- 使用靶点人源化小鼠肿瘤细胞完成概念验证
- 使用HSC免疫系统人源化动物模型进行药效验证

体内概念验证研究：

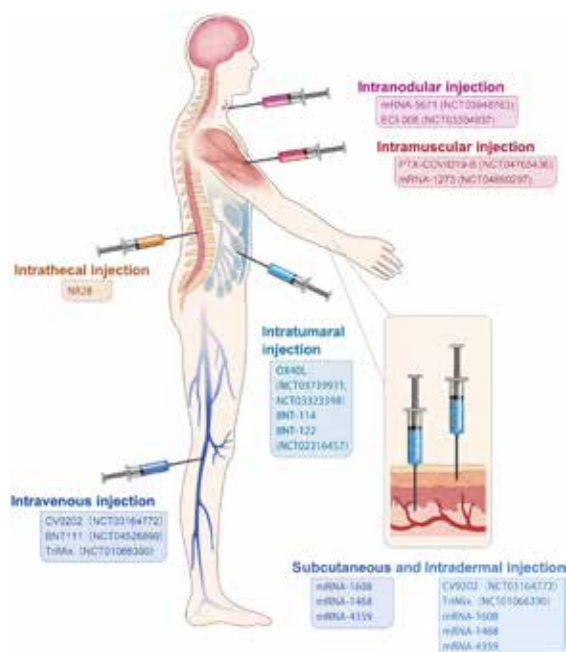
体内概念验证研究旨在确定活性剂量范围和最佳给药方案。通过在小鼠肿瘤模型中评估抗肿瘤作用、存活率、免疫反应或细胞因子诱导，全面了解mRNA疫苗效果，建立免疫原性模型，为临床试验提供关键信息。

给药途径：

给药途径影响mRNA疫苗的生物分布、持续性、活性持续时间和剂量反应。抗原提呈细胞对mRNA疫苗的摄取、表达和呈递程度因注射途径而异，进而影响疫苗的效力和免疫刺激区域。

mRNA疫苗的主要给药策略包括：

- 皮下注射
- 皮内注射
- 结节内注射
- 肌肉注射
- 静脉注射
- 肿瘤内注射
- 鞘内注射



Different strategies for the administration of mRNA vaccines^[4]

安全性评价：

安全性评价是RNA肿瘤疫苗临床前开发的关键环节，采用严格的试验设计，并且符合GLP标准，确保试验的科学性以及合规性。使用适当的动物模型模拟人体生理和免疫反应，评估mRNA疫苗的潜在毒性，重点关注动物的临床表现、体温变化、相关的炎症反应、，尤其关注疫苗的递送系统对肝脏，脾脏等免疫系统或组织的影响，以及对免疫相关指标如淋巴细胞表型、细胞因子、急性反应期蛋白水平（α1和α2）等的影响，为后续临床试验提供充分参考。

mRNA疫苗试验设计启示

mRNA抗呼吸道合胞病毒疫苗临床前药代及安全评价纲要 (IND-Enabling)

制剂分析方法

- RT-qPCR

生物分析方法

- RT-qPCR: mRNA
- ELISA: mRNA表达蛋白;mRNA疫苗免疫原性(效价)
- ELISPOT: IFN-γ水平

组别	剂量	给药期		恢复期	
		雌性	雄性	雌性	雄性
赋形剂对照组	0	10	10	5	5
疫苗低剂量组	待定	10	10	5	5
疫苗高剂量组	待定	10	10	5	5

Parameters evaluated: cage-side observation, clinical observation, injection site reaction, body weight, food consumption, ophthalmology exam, serum biochemistry, hematology, coagulation, lymphocyte phenotyping, urinalysis, immunogenicity, C-reactive protein, α1-acid glycoprotein, α2-macroglobulin, immunoglobulin, cytokines, complements, bone marrow smear, and histopathology.

制剂安全性研究

- 给药部位刺激试验(结合重复给药毒性试验进行或单独开展免刺激性试验)
- 豚鼠主动过敏试验
- 兔体外溶血试验

组织分布试验(大鼠)

制剂分析方法

- RiboGreen

生物分析方法

- qPCR: mRNA
- ELISA: mRNA表达蛋白
- ELISPOT: IFN- γ 水平
- ECL: ADA

大鼠重复给药GLP毒性试验

组别	剂量	主试验组		卫星组 (免疫原性、免疫毒性研究)	
		雄性	雌性	雄性	雌性
阴性对照组	0	15	15	8+2*	8+2*
空白脂质体组	0	15	15	8+2*	8+2*
低剂量组	待定	15	15	8+2*	8+2*
中剂量组 (如需)	待定	15	15	8+2*	8+2*
高剂量组	待定	15	15	8+2*	8+2*

Parameters evaluated: cage-side observation, clinical observation, injection site reaction, body weight, food consumption, ophthalmology exam, serum biochemistry, hematology, coagulation, lymphocyte phenotyping, urinalysis, immunogenicity, C-reactive protein, α 1-acid glycoprotein, α 2-macroglobulin, immunoglobulin, cytokines, complements, bone marrow smear and histopathology.

食蟹猴重复给药GLP毒性试验

组别	剂量	给药期+恢复期	
		雄性	雌性
阴性对照组	0	5	5
空白脂质体组	0	5	5
低剂量组	待定	5	5
中剂量组 (如需)	待定	5	5
高剂量组	待定	5	5

Parameters evaluated: cage-side observation, clinical observation, injection site reaction, body weight, food consumption, ophthalmology exam, serum biochemistry, hematology, coagulation, body temperature, ECG, blood pressure, lymphocyte phenotyping, urinalysis, immunogenicity, C-reactive protein, α 1-acid glycoprotein, α 2-macroglobulin, immunoglobulin, cytokines, complements, bone marrow smear and histopathology.

制剂安全性研究

- 给药部位刺激试验 (结合重复给药毒性试验进行或单独开展免刺激性试验)
- 豚鼠主动过敏试验
- 兔体外溶血试验

组织分布试验 (大鼠)

安全药理试验

- SD大鼠FOB, SD大鼠呼吸系统安全药理, 猴心血管系统安全药理 (伴随)

总结

mRNA肿瘤疫苗在癌症治疗领域显示出巨大的潜力和希望。随着技术的不断进步和临床验证的深入, mRNA疫苗已成为一种引人注目的治疗选择。尽管mRNA疫苗在实验室和早期临床阶段显示出希望, 但它们仍面临一些挑战, 包括稳定性、递送系统和免疫原性的问题。未来的研究需要解决这些局限性, 例如通过优化mRNA序列、改进递送载体和增强疫苗的稳定性来提高疫苗的效果和安全性。

mRNA技术的灵活性和可扩展性使其在未来的癌症治疗中具有广阔的应用前景。结合其他治疗方法, 如免疫检查点抑制剂, mRNA疫苗可能提供更有效的治疗方案。此外, 随着技术的进一步发展和深入了解mRNA疫苗的生物学机制, 未来可能会有更多创新疫苗问世, 为癌症患者提供更多治疗选择。

美迪西具有领先的mRNA肿瘤疫苗研发服务平台, 可为mRNA肿瘤疫苗的开发提供高效优质的解决方案, 为各类新型生物技术药及疫苗的安全性和有效性评价提供全方位支持!

参考文献:

- [1]. Yashavantha L Vishweshwaraiah, et al. mRNA vaccines for cancer immunotherapy. Front Immunol. 2022 Dec 14;13:1029069. doi: 10.3389/fimmu.2022.1029069.
- [2]. Cathrine Lund Lorentzen, et al. Clinical advances and ongoing trials on mRNA vaccines for cancer treatment. Lancet Oncol. 2022 Oct;23(10):e450-e458. doi: 10.1016/S1470-2045(22)00372-2.
- [3]. Bolin Wang, et al. Recent advances in mRNA cancer vaccines: meeting challenges and embracing opportunities. Front Immunol. 2023 Sep 6;14:1246682. doi: 10.3389/fimmu.2023.1246682.
- [4]. Youhuai Li, et al. mRNA vaccine in cancer therapy: Current advance and future outlook. Clin Transl Med. 2023 Aug;13(8):e1384. doi: 10.1002/ctm2.1384.
- [5]. Yuan Yuan, et al. Advances of mRNA vaccine in tumor: a maze of opportunities and challenges. Biomark Res. 2023 Jan 18;11(1):6. doi: 10.1186/s40364-023-00449-w.
- [6]. Youhuai Li, et al. mRNA vaccine in cancer therapy: Current advance and future outlook. Clin Transl Med. 2023 Aug;13(8):e1384. doi: 10.1002/ctm2.1384.



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