

石桂英,白琳. 免疫缺陷小鼠和人源化小鼠模型在干细胞质量控制中的应用 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(10): 132-137.

Shi GY, Bai L. Applications of immunodeficient and humanized mice in stem cell quality control [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(10): 132-137.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020.10.020

免疫缺陷小鼠和人源化小鼠模型在干细胞 质量控制中的应用

石桂英,白琳*

(中国医学科学院医学实验动物研究所,北京协和医学院比较医学中心,国家卫生健康委员会人类疾病比较医学重点实验室,国家中医药管理局人类疾病动物模型三级实验室,北京 100021)

【摘要】 干细胞具有自我更新和多向分化的能力,在治疗糖尿病、脑损伤、急性心梗等疾病的治疗中有着巨大的潜力。由于干细胞产品种类繁多、批次差异性大、性质复杂,因此干细胞产品临床前的质量控制尤为重要。干细胞作为活性外源物质具有免疫原性,免疫缺陷小鼠和人源化小鼠在干细胞质量控制中发挥极大作用。本文综述了干细胞的免疫学特性、总结了常用的免疫缺陷和人源化小鼠模型,概述了免疫缺陷和人源化小鼠模型在干细胞质量控制中的应用,以期为干细胞质量控制标准化提供资料和信息。

【关键词】 免疫缺陷小鼠;人源化小鼠;干细胞;质控

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 10-0132-06

Applications of immunodeficient and humanized mice in stem cell quality control

SHI Guiying, BAI Lin*

(Institute of Laboratory Key Laboratory of Human Disease Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences(CAMS); Comparative Medicine Center, Peking Union College(PUMC), Key Laboratory of Human Disease Comparative Medicine, National Health Commission of the People's Republic of China; Key Laboratory of Human Disease Key Laboratory of Human Disease Models, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100021, China)

【Abstract】 Stem cells self-renew, undergo multidirectional differentiation, and have great therapeutic potential for diabetes, brain injury, and acute myocardial infarction as examples. There are many types of stem cell products and many variations among batches. Therefore, quality control is particularly important for stem cell products before clinical use. Stem cells are immunogenic as living exogenous cells, and immunodeficient and humanized mice play an important role in stem cell quality control. Here, we review stem cell immunogenicities, summarize the commonly used immunodeficient and humanized mice, and outline the model applications of stem cell quality control to provide for a reference for stem cell quality control.

【Keywords】 immunodeficient mice; humanized mice; stem cell; quality control

【基金项目】 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(2019-12M-1-006)。

【作者简介】 石桂英,女,副主任技师,研究方向:干细胞临床转化。E-mail:guiying_shi77@163.com

【通信作者】 白琳,女,副研究员,研究方向:干细胞临床转化。E-mail:bailin49@163.com

随着科学技术的发展,干细胞和再生医学受到广泛关注。人们对干细胞的了解日渐深入,对干细胞的种类和功能的探索日益广泛,从而使干细胞在再生医学领域拥有远大的应用前景,同时为多种重大疾病的治疗提供了新的思路和工具^[1-3]。由于干细胞产品种类繁多、不同批次差异明显、细胞复杂多变,因此对应用于临床治疗的干细胞制剂,进行质量控制尤为重要和关键^[4-5]。干细胞作为活性外源物质,移植入机体后,机体会对这种外源刺激产生各种反应,如释放细胞因子、产生免疫反应等^[6-7]。因此,对干细胞的质量控制,需要了解干细胞进入机体后的各种反应,这就需要应用合适的动物模型。这种动物模型,既要能允许干细胞植入、分化,机体产生的反应又要最大程度与人体相似。普通动物有自身的免疫系统,对移植的干细胞会产生排斥反应,这就影响了干细胞的植入效率;免疫缺陷动物模型,由于自身免疫缺陷不会排斥移植的外源干细胞,但是这种动物模型不能很好的反映干细胞进入人体的反应;为了能更好的模拟人体免疫环境,人们构建了人源化小鼠。人源化小鼠是在免疫缺陷小鼠体内建立了人的免疫系统,因此,干细胞移植到人源化小鼠后,既保证了移植效率,又能模拟人体的反应。因此采用免疫缺陷小鼠和人源化小鼠,可以更好的模拟干细胞移植后人体免疫反应,更加准确的评价干细胞产品的安全性。因此,本文综述了免疫缺陷小鼠和人源化小鼠在干细胞质量控制、干细胞治疗评价中的应用成果,期望通过对已有研究的总结为干细胞临床前安全性评价的标准化提供资料和信息。

1 干细胞的免疫原性

干细胞种类较多,根据分化能力可分为全能干

细胞,如胚胎干细胞;多能干细胞,如造血干细胞、诱导多能干细胞、间充质干细胞等。干细胞表达的一些蛋白质或者复合物具有免疫原性^[5-8]。如人胚胎干细胞(human embryonic stem cells, hESCs)表达主要组织相容性抗原复合物 I 类分子和 ABO 抗原,可激活机体免疫反^[4,6-7];核转移胚胎干细胞(nuclear transfer embryonic stem cells, NT-ESCs),是将成纤维细胞的核转入去核的卵母细胞中,这种细胞含有卵母细胞的线粒体抗原,可以激活 T 细胞,产生免疫排斥反应^[7];诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)的免疫原性主要来自于其表观遗传学改变、蛋白编码突变和融合蛋白^[6-7];间充质干细胞(mesenchymal stromal/stem cells, MSC)表达人白细胞抗原 I 类分子(human leucocyte antigen, HLA)可以激活免疫应答^[8]。不同干细胞的免疫原性见表 1。

另外,有些干细胞,如间充质干细胞,其治疗效果主要通过调节机体免疫反应发挥作用,在评价其安全性和有效性时,动物模型自身的免疫反应会影响实验结果,不能反映干细胞的真实作用;应用免疫缺陷动物能真实反映干细胞的作用,而应用人源化动物,则可以反映人的免疫系统对干细胞的应答情况,更有利于了解干细胞植入人体后的机体反应^[9]。

2 免疫缺陷小鼠模型

免疫缺陷小鼠是指免疫功能缺陷的小鼠,通常是由先天性遗传突变导致,或者用人工方法培育而成^[10]。根据免疫细胞缺失种类的不同,可以分为:1. T 淋巴细胞功能缺陷小鼠:裸小鼠是最早发现的免疫缺陷小鼠,先天无胸腺,从而导致 T 淋巴细胞缺失。裸小鼠的发现和应用是免疫缺陷动物研究

表 1 不同干细胞的免疫原性
Table 1 Immunogenicity of different Stem Cells

细胞类型 Cell type	免疫原性 Immunogenicity
胚胎干细胞 Embryonic stem cells(ESCs)	主要组织相容性抗原复合物、次要组织相容性抗原、ABO 抗原 Major histocompatibility complex(MHC), minor histocompatibility (miH) antigens, ABO antigens
核转移胚胎干细胞 Nuclear transfer-derived embryonic stem cells(NT-ESC)	线粒体抗原 Mitochondrial antigens
诱导多能干细胞 Induced pluripotent stem cells (iPSCs)	表观变化、蛋白编码突变、融合蛋白 Epigenetic changes, protein coding mutations, fusion proteins
间充质干细胞 Mesenchymal stem cells(MSCs)	人白细胞抗原 I 类分子 Human leucocyte antigen class I molecules

和应用的起点,其在免疫学、肿瘤学、细胞生物学等领域得到普遍应用;2. B 淋巴细胞功能缺陷小鼠:CBA/N 小鼠是 X 染色体连锁的 B 细胞功能缺陷小鼠,可用于研究 B 淋巴细胞的产生、功能等,在免疫、炎症及自身免疫疾病的研究中有广泛应用;3. NK 细胞功能缺陷小鼠:Beige 小鼠是 NK 细胞活性缺陷的突变小鼠,用于器官移植等研究;4. 联合免疫缺陷小鼠:即多种免疫细胞或功能同时缺失或缺陷的小鼠,如 SCID 小鼠是 T、B 细胞联合免疫缺陷小鼠;B-NSG 小鼠是 T、B、NK 三联免疫缺陷小鼠。

目前常用的联合免疫缺陷小鼠有 SCID 小鼠、NOD/SCID 小鼠、NSG、NRG 小鼠等。SCID 小鼠是由于 *Prkdc* (protein kinase DNA-activated catalytic) 基因突变,导致功能性 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞缺失,但有正常的 NK 细胞,表现为细胞免疫和体液免疫的重度联合免疫缺陷^[11]。SCID 小鼠广泛应用于肿瘤学、免疫学、微生物学、生殖医学等领域。SCID 小鼠的缺点是渗漏现象,即少量小鼠在青年期有部分免疫功能恢复,这种渗漏现象不会遗传^[12]。NOD/SCID 小鼠,即非肥胖性糖尿病免疫缺陷小鼠,是 SCID 小鼠与 NOD 小鼠即非肥胖性糖尿病小鼠回交获得的免疫缺陷小鼠^[13]。与 SCID 小鼠相比,NOD/SCID 小鼠的 NK 细胞活性低,免疫恢复几率更低,各种肿瘤细胞可移植到 NOD/SCID 小鼠体内,排斥反应和移植物抗宿主病的发生率更低。NSG 小鼠即 NOD/scid/gamma 小鼠,是在 NOD/SCID 小鼠基础上敲除了 IL-2 受体 γ 链基因^[14]。IL-2 受体 γ 链是多种细胞因子的共同受体亚基,这些细胞因子包括 IL2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15 和 IL-21 等,它们都具有重要的免疫功能。IL2 受体 γ 链基因敲除后,小鼠机体免疫功能降低,特别是 NK 细胞,其活性几乎丧失,小鼠出现重度免疫缺陷表型,没有成熟的 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞和功能性 NK 细胞,同时细胞因子的信号传递能力缺失^[15-16]。NSG 小鼠是目前世界上免疫缺陷程度最高的工具小鼠;在多个领域都有广泛应用,如免疫学、感染性疾病、干细胞生物学等。NRG 小鼠即 NOD/rag/gamma 小鼠,是在 NOD 的背景下敲除了 *Rag1* 和 IL-2 受体 γ 链基因,NRG 小鼠对辐射和基因毒性药物的耐受性更强,更适用于细胞和组织移植研究^[17]。另外在 NSG 小鼠基础上进行基因修饰,衍生出多个免疫缺陷小鼠品系,如 NSG B2m、NSG-SGM3 等,这

些小鼠在异种移植中更有优势^[18-19]。

3 人源化小鼠模型

人源化小鼠模型是指带有功能性的人类基因、细胞或组织的小鼠模型^[15]。人源化小鼠的构建,包含供体细胞和免疫缺陷小鼠两个方面。曾经使用的供体细胞包括人外周血单个核细胞、人外周血淋巴细胞、脐带血造血干细胞、动员后的成熟造血干细胞,以及胚胎肝、胸腺组织等。可以选用的免疫缺陷小鼠包括早期使用的裸小鼠,以及后来发展起来的 SCID 小鼠、NOD/SCID 小鼠、NSG 小鼠等。供体细胞和作为受体的免疫缺陷小鼠都会影响人源化小鼠的人源化效果,从而影响人源化小鼠的应用。

早期构建人源化小鼠模型,是将人外周血单个核细胞或外周血淋巴细胞移植到裸小鼠体内,由于裸小鼠只是 T 淋巴细胞缺失,而其它免疫细胞正常,出现免疫排斥反应,影响移植效果^[11]。随着科技发展,人们分离出各种类型的造血干细胞,如脐带血来源的造血干细胞、动员后的成熟造血干细胞等,都成为良好的供体细胞。同时,人们也培育出新的免疫缺陷小鼠,其免疫缺陷程度更加严重,有利于移植细胞的存活、分化等。

骨髓-肝-胸腺 (bone marrow-liver-thymus, BLT) 人源化小鼠是人源免疫系统重建最完善的小鼠模型^[20]。构建 BLT 人源化小鼠,需要对免疫缺陷小鼠进行半致死剂量的照射,将同一个体来源的人胚胎肝和胸腺组织块植入小鼠肾包膜下,再输入同一个体的造血干细胞。BLT 人源化小鼠模型的人源化环境更强,输入的人造血干细胞可以分化成多个细胞系,包括 T 细胞、B 细胞、单核细胞、树突状细胞、巨噬细胞、红细胞、血小板等。BLT 人源化小鼠还建立了人粘膜免疫系统和二级淋巴组织,并且能产生人源性的适应性免疫应答,如生成 IgM、IgG 等免疫球蛋白。所以,BLT 人源化小鼠对植入的外源性组织或细胞的免疫应答反应更接近人类机体自然反应。BLT 人源化小鼠的构建和应用,促进了感染性疾病、肿瘤、再生医学、免疫学、干细胞治疗等研究领域的发展^[21-25]。

4 免疫缺陷和人源化小鼠模型在干细胞质量控制中的应用

目前国内外已开展了多项干细胞临床应用研

究^[1-4],应用免疫缺陷小鼠和人源化小鼠进行临床前研究,对多种细胞进行体内研究,评价其安全性和有效性。如对造血干细胞的相关研究,了解了造血干祖细胞在体内扩增、归巢、植入及分化机制^[26-28];对人 iPSC 来源的平滑肌细胞、视网膜色素上皮细胞的研究,发现由于免疫原性抗原的异常表达,两种分化细胞的免疫原性不同^[29];对犬 iPSC 来源的 MSC^[30]、人羊膜上皮细胞^[31]及其来源的肝细胞样细胞^[32]、人成纤维细胞转分化的胰岛素分泌细胞^[33]、胚胎干细胞来源的星形胶质细胞^[34]等的安全性研究,发现这些细胞均无成瘤性和促瘤性;应用免疫缺陷小鼠构建疾病模型,评价造血干祖细胞治疗的有效性^[35];人羊膜上皮细胞来源的肝细胞样细胞对急性肝损伤有治疗作用^[32];博来霉素诱导人源化小鼠肺纤维化模型,注射人 MSC 可以调节 T 细胞紊乱,减轻肺纤维化程度^[36];胚胎干细胞来源的星形胶质细胞对肌萎缩性侧索硬化症有治疗效果^[34]。综上所述,免疫缺陷小鼠和人源化小鼠在干细胞质量控制中发挥重要作用,为干细胞治疗的安全性和有效性提供科学依据。安全性评价包括毒性实验、致瘤性实验、促瘤性实验等。

4.1 毒性实验

干细胞制剂中即有干细胞,又有维持干细胞活性的支持物质,而且不同种类和不同批次的干细胞差异较大。因此,有必要对干细胞制剂进行毒性实验。干细胞的毒性实验可分为急性毒性实验和长期毒性实验^[2]。实验中,干细胞植入动物体内的途径主要是静脉注射,包括尾静脉注射和眼球后静脉丛注射两种方式^[30,32,37-38],以及治疗部位的原位注射^[34]。急性毒性实验通常采用单次或多次大剂量细胞注射,一般细胞用量为每千克 $1 \times 10^8 \sim 2.5 \times 10^8$ 细胞,注射细胞后观察 4~10 周^[34,37-39]。长期毒性实验中注射细胞的剂量为每千克 $2.5 \times 10^6 \sim 5 \times 10^7$ 细胞体重,注射细胞后观察 3~4 个月^[31,34,37-39]。观察及检测指标包括体重、行为、血常规、细胞因子、病理变化等。对人骨髓间充质干细胞、羊膜间充质干细胞及 CART19 等细胞的研究中,未发现明显的急性或长期毒性反应^[31,34,37-39]。

4.2 致瘤性实验

干细胞具有自我更新和增殖能力,且其生长调节机制类似肿瘤细胞,已有研究表明,人胚胎干细胞和诱导多能干细胞可在动物体内可形成良性或

恶性畸胎瘤。干细胞制剂同样存在致瘤性的可能,因此,对于干细胞制剂有必要检测其肿瘤形成能力。已有研究中,干细胞致瘤性实验,多采用 NSG 小鼠为受体,在其背部皮下注射干细胞,细胞剂量为 $5 \times 10^4 \sim 5 \times 10^6$ 细胞/注射点,注射后每天观察肿瘤形成情况,观察时间 20~50 周^[31,32,34,37-40]。在角质形成细胞、羊膜上皮干细胞、皮肤成纤维细胞、人骨髓间充质干细胞等致瘤性研究中,均未发现肿瘤形成^[31,32,34,37-40]。

4.3 促瘤性实验

除了自身形成肿瘤,干细胞还可以影响体内已有肿瘤的生长增殖,这就是干细胞的促瘤性。为检测干细胞制剂对肿瘤生长是否有影响,可在免疫缺陷小鼠注射肿瘤细胞系的同时注射干细胞,以观察干细胞制剂对肿瘤形成及生长的作用^[31,32,34,37-40]。肿瘤细胞可用 3×10^6 HeLa 或 Raji 肿瘤细胞,干细胞用量为 $5 \times 10^4 \sim 5 \times 10^6$ 细胞,注射后每天观察肿瘤形成情况,观察时间 20~50 周。羊膜上皮细胞对肿瘤形成及生长无显著影响^[31,32,34,37-40]。

5 展望

在干细胞制剂的质量控制和安全性评价中,动物模型,尤其是免疫缺陷小鼠模型和人源化小鼠模型发挥了极大作用。随着科技的发展,免疫缺陷小鼠和人源化小鼠品系日益增多,其免疫缺陷程度越来越高,也能更好地模拟人体对干细胞制剂的反应,这将更有利于各种干细胞制剂的评价和质量控制,从而为干细胞治疗提供科学依据。从已有研究看,多种干细胞都没有显著的毒性、致瘤性、促瘤性等,说明干细胞制剂的安全性是可靠的。但是干细胞治疗的有效性,需要相应的疾病动物模型进行评价,这就需要构建出各种疾病动物模型,从而为干细胞治疗的有效性提供科学依据。

参考文献:

- [1] Goradel NH, Hour FG, Negahdari B, et al. Stem cell therapy: a new therapeutic option for cardiovascular diseases [J]. J Cell Biochem, 2018, 119(1): 95-104.
- [2] 国家卫生计生委,食品药品监管总局. 干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则(试行) [EB/OL]. [2015-07-31]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/fgwj/gzwj/gzwjyp/20150731120001226.html>.
- [3] Miki T. Stem cell characteristics and the therapeutic potential of

- amniotic epithelial cells [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2018, 80(4): e13003.
- [4] Muller P, Lemcke H, David R. Stem cell therapy in heart diseases-cell types, mechanisms and improvement strategies [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 48(6): 2607-2655.
- [5] Duncan T, Valenzuela M. Alzheimer's disease, dementia, and stem cell therapy [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 111.
- [6] Liu X, Li W, Fu X, et al. The immunogenicity and immune tolerance of pluripotent stem cell derivatives [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 645.
- [7] Wood KJ, Issa F, Hester J. Understanding stem cell immunogenicity in therapeutic applications [J]. *Trends Immunol*, 2016, 37(1): 5-16.
- [8] Haworth R, Sharpe M. The issue of immunology in stem cell therapies: a pharmaceutical perspective [J]. *Regen Med*, 2015, 10(3): 231-234.
- [9] Tena A, Sachs DH. Stem cells: immunology and immunomodulation [J]. *Dev Ophthalmol*, 2014, 53: 122-132.
- [10] 张茹君, 李东明. 免疫缺陷小鼠模型研究进展 [J]. *医药卫生*, 2017, 2(9): 56-57.
- [11] Blunt T, Finnie NJ, Taccioli GE, et al. Defective DNA-dependent protein kinase activity is linked to V(D)J recombination and DNA repair defects associated with the murine scid mutation [J]. *Cell*, 1995, 80(5): 813-23.
- [12] Priestley A, Beamish HJ, Gell D, et al. Molecular and biochemical characterisation of DNA-dependent protein kinase-defective rodent mutant irs-20 [J]. *Nucleic Acids Res*, 1998, 26(8): 1965-1973.
- [13] Shultz LD, Schweitzer PA, Christianson SW, et al. Multiple defects in innate and adaptive immunologic function in NOD/LtSz-scid mice [J]. *J Immunol*, 1995, 154(1): 180-191.
- [14] Shultz LD, Lyons BL, Burzenski LM, et al. Human lymphoid and myeloid cell development in NOD/LtSz-scid IL2R gamma null mice engrafted with mobilized human hemopoietic stem cells [J]. *J Immunol*, 2005, 174(10): 6477-6489.
- [15] 郑亚伟, 郝莎, 胡林萍, 等. 免疫缺陷小鼠和人源化小鼠模型的发展及其在血液学研究中的应用 [J]. *中华血液学杂志*, 2015, 36(11): 966-971.
- [16] Wang X, Rickert M, Garcia KC. Structure of the quaternary complex of interleukin-2 with its alpha, beta, and gamma receptors [J]. *Science*, 2005, 310(5751): 1159-1163.
- [17] Pearson T, Shultz LD, Miller D, et al. Non-obese diabetic-recombination activating gene-1 (NOD-Rag1 null) interleukin (IL)-2 receptor common gamma chain (IL2r gamma null) null mice: a radioresistant model for human lymphohaematopoietic engraftment [J]. *Clin Exp Immunol*, 2008, 154(2): 270-284.
- [18] King MA, Covassin L, Brehm MA, et al. Human peripheral blood leucocyte non-obese diabetic-severe combined immunodeficiency interleukin-2 receptor gamma chain gene mouse model of xenogeneic graft-versus-host-like disease and the role of host major histocompatibility complex [J]. *Clin Exp Immunol*, 2009, 157(1): 104-118.
- [19] Wunderlich M, Chou FS, Link KA, et al. AML xenograft efficiency is significantly improved in NOD/SCID-IL2RG mice constitutively expressing human SCF, GM-CSF and IL-3 [J]. *Leukemia*, 2010, 24(10): 1785-1788.
- [20] 郭文文, 乔天运, 张彩勤, 等. 免疫系统人源化小鼠模型的构建及其在肿瘤治疗研究中的应用 [J]. *中国比较医学杂志*, 2019, 29(11): 98-104.
- [21] Wege AK, Melkus MW, Denton PW, et al. Functional and phenotypic characterization of the humanized BLT mouse model [J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2008, 324: 149-165.
- [22] Bonte S, Snauwaert S, Vanhee S, et al. Humanized mice to study human T cell development [J]. *Methods Mol Biol*, 2016, 1323: 253-272.
- [23] Bournazos S, DiLillo DJ, Ravetch JV. Humanized mice to study FcγR function [J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2014, 382: 237-248.
- [24] Brehm MA, Jouvet N, Greiner DL, et al. Humanized mice for the study of infectious diseases [J]. *Curr Opin Immunol*, 2013, 25(4): 428-435.
- [25] De La Rochere P, Guil-Luna S, Decaudin D, et al. Humanized mice for the study of immuno-oncology [J]. *Trends Immunol*, 2018, 39(9): 748-763.
- [26] Tanner A, Taylor SE, Decottignies W, et al. Humanized mice as a model to study human hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Stem Cells Dev*, 2014, 23(1): 76-82.
- [27] Sippel TR, Radtke S, Olsen TM, et al. Human hematopoietic stem cell maintenance and myeloid cell development in next-generation humanized mouse models [J]. *Blood Adv*, 2019, 3(3): 268-274.
- [28] Radtke S, Chan YY, Sippel TR, et al. MISTRG mice support engraftment and assessment of nonhuman primate hematopoietic stem and progenitor cells [J]. *Exp Hematol*, 2019, 70: 31-41.
- [29] Zhao T, Zhang ZN, Westenskow PD, et al. Humanized mice reveal differential immunogenicity of cells derived from autologous induced pluripotent stem cells [J]. *Cell Stem Cell*, 2015, 17(3): 353-359.
- [30] Chow L, Johnson V, Regan D, et al. Safety and immune regulatory properties of canine induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells [J]. *Stem Cell Res*, 2017, 25: 221-232.
- [31] Yang PJ, Yuan WX, Liu J, et al. Biological characterization of human amniotic epithelial cells in a serum-free system and their safety evaluation [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(8): 1305-1316.
- [32] Liu QW, Liu QY, Li JY, et al. Therapeutic efficiency of human amniotic epithelial stem cell-derived functional hepatocyte-like cells in mice with acute hepatic failure [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 321.

- [33] Brevini TAL, Pennarossa G, Manzoni EFM, et al. Safety and efficacy of epigenetically converted human fibroblasts into insulin-secreting cells: a preclinical study [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1079: 151–162.
- [34] Izrael M, Slutsky SG, Admoni T, et al. Safety and efficacy of human embryonic stem cell-derived astrocytes following intrathecal transplantation in SOD1 (G93A) and NSG animal models [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 152.
- [35] Doering CB, Denning G, Shields JE, et al. Preclinical development of a hematopoietic stem and progenitor cell bioengineered factor viii lentiviral vector gene therapy for hemophilia A [J]. *Hum Gene Ther*, 2018, 29(10): 1183–1201.
- [36] Ni K, Liu M, Zheng J, et al. PD-1/PD-L1 pathway mediates the alleviation of pulmonary fibrosis by human mesenchymal stem cells in humanized mice [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2018, 58(6): 684–695.
- [37] Guess AJ, Daneault B, Wang R, et al. Safety profile of good manufacturing practice manufactured interferon gamma-primed mesenchymal stem/stromal cells for clinical trials [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6(10): 1868–1879.
- [38] Wen H, Qu Z, Yan Y, et al. Preclinical safety evaluation of chimeric antigen receptor-modified T cells against CD19 in NSG mice [J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(23): 735.
- [39] Quesada MP, García-Bernal D, Pastor D, et al. Safety and biodistribution of human bone marrow-derived mesenchymal stromal cells injected intrathecally in non-obese diabetic severe combined immunodeficiency mice: preclinical study [J]. *Tissue Eng Regen Med*, 2019, 16(5): 525–538.
- [40] Sawant S, Gokulan R, Dongre H, et al. Prognostic role of Oct4, CD44 and c-Myc in radio-chemo-resistant oral cancer patients and their tumorigenic potential in immunodeficient mice [J]. *Clin Oral Invest*, 2016, 20(1): 43–56.

[收稿日期]2020-07-07

(上接第 131 页)

- [19] Cai X, Luo J, Yang X, et al. *In vivo* selection for spine-derived highly metastatic lung cancer cells is associated with increased migration, inflammation and decreased adhesion [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(26): 22905–22917.
- [20] Dieterly AM, Uzunalli G, Kemet CM, et al. Epithelial-mesenchymal transition phenotypes in vertebral metastases of lung cancer [J]. *Toxicol Pathol*, 2019, 47(4): 515–527.
- [21] 俞惠新. 埃本膦酸钠对肺癌骨转移动物模型的干预作用 [J]. *肿瘤防治研究*, 2007, 34(5): 331–333.
- [22] 王静, 刘芳, 杨晓琼. BMP9 对裸鼠非小细胞肺癌骨转移的影响 [J]. *检验医学与临床*, 2018, 15(23): 3566–3569.
- [23] 孟越, 李春雨, 郝松, 等. 肺癌骨转移小鼠模型的建立 [J]. *南方医科大学学报*, 2014, 34(5): 664–668.
- [24] Otsuka S, Hanibuchi M, Ikuta K, et al. A bone metastasis model with osteolytic and osteoblastic properties of human lung cancer ACC-LC-319/bone2 in natural killer cell-depleted severe combined immunodeficient mice [J]. *Oncol Res*, 2009, 17(11–12): 581–591.
- [25] Miki T, Yano S, Hanibuchi M, et al. Bone metastasis model with multiorgan dissemination of human small-cell lung cancer (SBC-5) cells in natural killer cell-depleted SCID mice [J]. *Oncol Res*, 2000, 12(5): 209–217.
- [26] Kuchimaru T, Kataoka N, Nakagawa K, et al. A reliable murine model of bone metastasis by injecting cancer cells through caudal arteries [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 2981.
- [27] Basso DM, Fisher LC, Anderson AJ, et al. Basso Mouse Scale for locomotion detects differences in recovery after spinal cord injury in five common mouse strains [J]. *J Neurotrauma*, 2006, 23(5): 635–659.
- [28] Tatsui CE, Lang FF, Gumin J, et al. An orthotopic murine model of human spinal metastasis: histological and functional correlations [J]. *J Neurosurg Spine*, 2009, 10(6): 501–512.
- [29] 沈艳, 王韵, 张汝, 等. 两种小鼠肺癌模型的构建及 Micro PET-CT 观察 [J]. *实验动物与比较医学*, 2019, 39(1): 39–45.
- [30] 代国, 郑迪, 余铃, 等. 脊柱转移瘤动物模型的比较及研究进展 [J]. *医学研究杂志*, 2018, 47(1): 165–167.

[收稿日期]2020-03-06