

张雄,郭文文,张彩勤. 免疫系统人源化的非小细胞肺癌异种移植小鼠模型临床前研究应用 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32 (12): 108-114.

Zhang X, Guo WW, Zhang CQ. Preclinical application of a xenotransplantation mouse model of non-small cell lung cancer with a humanized immune system [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(12): 108-114.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.12.015

免疫系统人源化的非小细胞肺癌异种移植小鼠模型 临床前研究应用

张 雄¹, 郭文文^{1,2}, 张彩勤^{1*}

(1.空军军医大学实验动物中心,西安 710032;2.陕西省咸阳市中心医院,陕西 咸阳 712000)

【摘要】 肺癌是世界上发病率和死亡率最高的癌症之一,而非小细胞肺癌则是肺癌中恶性程度和占比相对较高的亚型。近年来,非小细胞肺癌的免疫治疗成为热点方向,涌现出大量的免疫单药及联合治疗方案,这些方案的开展亟需临床前验证。因此,提供可靠的临床前实验动物模型以评估治疗效果、探索最佳用药方案以及推动个体化医疗是目前急需解决的问题。基于免疫系统人源化的异种移植小鼠模型由于同时具有人体免疫系统和肿瘤细胞,能够高度模拟人体内肿瘤免疫微环境,在肿瘤免疫治疗研究中具有广阔的应用前景。本文主要从人源化模型在非小细胞肺癌治疗的应用方面进行综述,为各种非小细胞肺癌免疫治疗方案的临床前实验提供指导,以期推进这些方案的临床试验。

【关键词】 免疫系统人源化;非小细胞肺癌;免疫检查点;免疫联合治疗;新辅助治疗

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 12-0108-07

Preclinical application of a xenotransplantation mouse model of non-small cell lung cancer with a humanized immune system

ZHANG Xiong¹, GUO Wenwen^{1,2}, ZHANG Caiqin^{1*}

(1. Laboratory Animal Center, the Air Force Medical University, Xi'an 710032, China.

2. Xianyang Central Hospital, Xianyang 712000)

【Abstract】 Lung cancer has one of the highest morbidity and mortality rates. Non-small cell lung cancer is a subtype with a relatively high degree of malignancy and proportion. In recent years, immunotherapy for non-small cell lung cancer has become a research focus. Numerous immune monotherapies and combined therapies have emerged. The development of these therapies requires preclinical verification. Therefore, reliable animal models are needed to evaluate therapeutic effects, explore optimal drug regimens and promote individualized medical treatment. Because a xenotransplantation model with a humanized immune system has both a human immune system and human tumor cells, it closely recapitulates the tumor immune microenvironment in the human body, which has a broad application prospect in the research of oncological immunotherapy. This article mainly reviews the application of humanized models and provides guidance for preclinical trials of various immunotherapy schemes for non-small cell lung cancer to promote clinical trials of these schemes.

【Keywords】 humanized immune system; non-small cell lung cancer; immune checkpoints; combination immunotherapy; neoadjuvant therapy

[基金项目] 陕西省科技创新支撑项目(2020PT-005)。

[作者简介] 张雄(2001—),男,本科,研究方向:人源化动物模型的制备与应用。E-mail:zx18334825632@163.com

[通信作者] 张彩勤(1981—),女,副教授,硕士生导师,研究方向:人源化动物模型的制备与应用。E-mail:zhangcaiqin-beibei@163.com

肺癌是一种起源于肺部支气管黏膜或腺体的恶性肿瘤,依据其肿瘤细胞形态,可将肺癌分为两类,一类为小细胞肺癌 (small cell lung cancer, SCLC),约占肺癌确诊患者的 15%,另一类为非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC),约占肺癌确诊患者的 85%。其中非小细胞肺癌又可具体分为鳞状细胞癌、腺癌以及大细胞癌 3 类。据最新临床数据显示^[1],全球几乎近 1/4 的癌症死亡患者属于肺癌患者,且约 57% 的肺癌患者会出现相应肿瘤转移症状,其五年生存率低于 5%。究其原因在于肺癌的临床表现复杂,无法通过相关的早期诊断对患者进行筛查,而大多数肺癌患者诊断明确时,病情已发展至晚期,确诊率与死亡率几近并驾齐驱。因此,肺癌的临床治疗仍面临着巨大的挑战^[2-3]。

近年来,随着以免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitors, ICIs) 为代表的免疫治疗的发展^[4-6],肺癌治疗进入了免疫治疗的时代。随之而来,有大量的免疫单药治疗及联合治疗的策略亟待进行临床前或临床试验以检验治疗效果。早期临床前研究中,研究人员通常将研究焦点集中于肿瘤细胞本身,主要采用裸鼠、C57BL/6J 等小鼠进行荷瘤实验以检测药物的治疗效果。然而,这种模型不仅缺乏完整的肿瘤免疫微环境 (tumor immune microenvironment, TME)^[7],且其与人类肿瘤细胞及免疫系统也存在种属差异,造成了实验室结果难以转化为临床疗法的困境。因此,选择能够最大程度模拟人体肿瘤微环境的临床前动物模型变得至关重要。为真实模拟人体肿瘤免疫微环境,以研究药物的作用机制及确定最佳的诊治方案,免疫系统人源化小鼠应运而生^[8],主要包括 Hu-PBL (humanized-peripheral blood mononuclear cells) 小鼠模型、Hu-HSCs (humanized-hematopoietic stem cells) 小鼠模型、Hu-BLT (humanized-bone marrow, liver, thymus) 小鼠模型。由于免疫系统人源化小鼠模型构建已有多篇文章进行介绍,因此本文重点综述肺癌研究过程中构建的具有人免疫系统的非小细胞肺癌异种移植模型在相关治疗中的具体应用,并综合现阶段临床难点问题,对其潜在应用及发展方向进行探讨。

1 免疫检查点抑制剂的临床前研究

随着越来越多免疫检查点的发现和研究,新型

的免疫检查点抑制剂药物不断研发,与此同时伴随着的是需要开展大量临床前药物评估研究以明确药物疗效,以及观察药物的毒副作用并确定最佳用药方案。已有研究证明人源性组织异种移植 (patient-derived xenografts, PDX) 模型对于常规用于肿瘤治疗的化疗药物的临床预测准确度高达 97%^[9],因此可以推测异种移植的肺癌免疫系统人源化小鼠作为一种具有巨大潜力的转化医学平台,是解决上述两大难题的关键所在。

目前已被美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 批准上市的非小细胞肺癌的免疫检查点抑制剂药物 pembrolizumab、nivolumab、atezolizumab、durvalumab 和 avelumab 主要抑制 PD-1 和 PD-L1 结合通路,而 ipilimumab 主要抑制 CTLA-4 和 CD80/86 结合通路,大量的异种移植的非小细胞肺癌免疫系统人源化小鼠被应用到免疫抑制剂药物的研究过程中,并显现出独特的优势。

在治疗效果评估方面,多项研究证明人源化小鼠模型具有真实存在的临床转化应用价值。上海交通大学附属胸科医院的周箴团队的研究表明,肺癌 Hu-PBL-PDX 模型的肿瘤生长能被 PD-1 单抗抑制,并且早期 PD-L1 表达水平越高,肿瘤体积抑制率 (tumor growth inhibition value, TGI) 越大,因此该模型或可帮助指导临床用药,预测非小细胞肺癌患者从 PD-1/PD-L1 免疫治疗中获益的可能性^[10]。Wang 等^[11]在免疫缺陷小鼠 (NSG) 辐照 4 h 后,将胎肝来源的 CD34⁺ HPSC (human pluripotent stem cells) 通过静脉注射移植入小鼠体内,并移植患者来源的肺癌组织构建 Onco-HuNSG-PDX 模型。在 Onco-HuNSG-PDX 小鼠中,13 只小鼠中有 11 只对 pembrolizumab 治疗有反应,进一步通过与单纯 NSG 小鼠组的对比发现,Onco-HuNSG 小鼠中 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞含量显著增加,pembrolizumab 的肿瘤抑制作用在缺乏人类免疫细胞的 NSG 小鼠和 hCD8⁺ T 细胞耗尽的 Onco-HuNSG 小鼠中不存在,因此可初步得出 pembrolizumab 的功效取决于 Onco-HuNSG 小鼠中 hCD8⁺ T 细胞的人类免疫系统的重建,为其成为研究免疫检查点抑制剂在 T 细胞活化中功效的新平台提供了进一步的依据。此外,虽已明确靶向 PD-1/PD-L1 通路可恢复 T 细胞功能,但其对于肿瘤细胞生物学特征的影响仍需更加深入的研究^[12],部分研究人员通过构建此类模型证实免疫检

查点抑制剂可通过上调血清中的 IL-4 和 IFN- γ 水平实现对 NSCLC 的治疗作用^[13-14]。

在模型构建以及模型优化拓展应用方面,不同的实验设计需要选择不同的模型构建方法。在研究 PD-L1/PD-1 靶向免疫治疗效果的人源化肺癌小鼠模型的实验过程中^[15],研究人员通过模型构建难度、T 细胞重建水平以及抗肿瘤药物治疗效果综合对比首次发现, Hu-PBL-CDX 模型优于 Hu-HSCs-CDX 模型,且后期所建立的 Hu-PBL-PDX 模型可应用于对免疫功能已经受到 PD-1/PD-L1 通路抑制的 T 细胞重新恢复功能的探索性研究中。而探究新型的造模方式,也是目前解决人源化小鼠模型局限性的最佳方案,如患者自体免疫系统人源化小鼠模型 auto-PBMC-PDX 小鼠已成为研究癌症免疫疗法的新兴平台^[15-17],用于评估抗 PD-L1/PD-1 抗体疗法的疗效,帮助指导临床决策,如建议患者是否可以从 PD-L1/PD-1 靶向免疫疗法中获得临床益处等。

在模型潜在应用价值方面,我们发现移植患者来源肺癌组织的 Hu-PBL 和 Hu-HSCs 模型个体中进行的免疫检查点抑制剂如 pembrolizumab、nivolumab 疗效评估^[11,14,18],其应答率与临床试验中的应答率基本一致,因此该类模型可能代表了一种理想的对病人的选择和对治疗反应的预测因子评估平台,可用于对于肿瘤标志物的筛选。日本学者 Fukui 等^[19]在驱动基因突变显著的患者人群临床研究发现,中性粒细胞-淋巴细胞比率(neutrophil-to-lymphocyte rate, NLR)可用于前瞻性预测,作为筛选对于 PD-1 以及 PD-L1 阻断治疗有效的患者的指标,但由于样本量不足以及实验样本具有特殊性的原因,并不能完美转化为临床标准。NLR 真正作为预测指标在临床上得到应用有较多工作需要,如成本-效果评价、NLR 在肿瘤以及外周血一致性评价、预期设计 NLR 具体界限评价等^[20-22]。异种移植的免疫系统人源化小鼠可为推动 NLR 生物标志物研究,解决此类问题提供良好的临床前研究模型。

2 免疫联合治疗

免疫检查点抑制剂的出现极大程度上改善了非小细胞肺癌患者的生存率,但仍有大量患者对于单一免疫检查点抑制剂药物的作用效果不明显,因此急需基于免疫治疗的联合化疗、放疗、靶向药物治疗等的联合治疗方案来提高免疫治疗的效果。

目前较为常见的非小细胞肺癌的联合治疗方案包括双免疫检查点联合治疗^[23-24]、PD-1/PD-L1 与抗血管生成药物联合治疗^[25-26]、PD-1/PD-L1 与含铂类药物联合治疗^[27]等。但大多联合治疗缺乏临床前实验证据,具体的用药方案也有待进一步明确和优化。目前的免疫系统和肿瘤双人源化的小鼠模型可作为此类研究的一种有效的临床前动物模型,该类模型的应用可为新药研发和新型治疗方案的确立提供可靠的数据基础。

2.1 免疫联合代谢阻断治疗

除了与传统的治疗方案的联合,还可针对肿瘤细胞糖酵解代谢的关键途径来促进免疫治疗效果。Oxamate 是一种能够阻断肿瘤细胞糖酵解的抗癌药物,有研究通过构建 Hu-PBL-CDX 非小细胞肺癌模型,研究 Oxamate 与免疫检查点抑制剂 pembrolizumab 联合治疗对肺癌肿瘤细胞的作用^[28],证实 Oxamate 与 pembrolizumab 虽在单独治疗时均可起到延迟肿瘤生长的作用,但当二者合用时,Oxamate 可通过抑制 LDH-A 的活性来阻断肿瘤细胞糖酵解过程以及增加肿瘤中心 CD8⁺ T 细胞浸润,抑制肿瘤细胞活性,进而增强 pembrolizumab 的抗肿瘤疗效,且该联合疗法即使在剂量较大的情况下,也不会对机体正常细胞造成过度影响。因此,人源化异种移植小鼠模型还可作为靶向代谢途径和免疫联合治疗方案的临床前模型,利用该模型来进行免疫联合代谢阻断治疗的全面评估,评估结果可为临床研究的顺利开展奠定坚实的数据基础。

2.2 双免疫联合治疗

T 细胞双特异性抗体(T-cell bispecific antibodies, TCB)通过将 T 细胞与靶向肿瘤细胞交联来引发抗肿瘤反应,且其介导的多克隆 T 细胞活化与 T 细胞受体特异性无关,无需共刺激信号介导。肺癌免疫治疗的研究中^[29],研究人员先将健康人来源的 PBMC 注射到 NCG 小鼠体内,并移植高表达 PD-L1 的 HCC827 肺肿瘤细胞成功构建肺癌的 Hu-PBL-CDX 小鼠模型,然后当小鼠接种肿瘤后 4 d 静脉给予双特异性抗体 ACE-05 治疗,发现在 10 只 ACE-05 治疗的小鼠中,有 9 只预先建立的肿瘤在第 12 天完全消退,表明双特异性抗体 ACE-05 可有效诱导非小细胞肺癌肿瘤消退,在后续研究中也证明了其可降低脱靶毒性。此外,在人胃腺癌异种移植小鼠模型(Hu-HSCs-CDX)中 TCB 已被证明可以上调 T 细胞上的 PD-1 表达和癌细胞上 PD-L1 表达,

且与 TCB 单药治疗或抗 PD-L1 单药治疗相比,TCB 与抗 PD-L1 的联合用药具有更强的抗肿瘤作用^[30],因此利用肺癌异种移植小鼠模型进一步探索双免疫联合方案具有较好的应用价值。

3 新辅助/辅助治疗

新辅助治疗是指在肿瘤患者接受手术前进行一定治疗处理,达到缩小肿瘤体积、减少肿瘤转移复发、提高耐受性和手术治疗等可能目的的一种新治疗手段,主要包括新辅助化疗(neoadjuvant chemotherapy, NACT)、新辅助免疫治疗(neoadjuvant the immune checkpoint inhibition, NAICI)以及新辅助内分泌治疗(neoadjuvant hormonal therapy, NAHT)。针对非小细胞肺癌而言,已有多种新辅助治疗手段开始逐步应用,例如新辅助化疗已经获批非小细胞肺癌患者的一线应用,但对于患者的长期生存改善并不明显。另外,如何根据患者人群的异质性,选择合适的药物或确定合适治疗时机,及其是否存在相关治疗不良效应仍是临床工作的巨大障碍。研究人员用 4 周大的雄性无胸腺 NMRI-Foxn1 nu/nu 小鼠(JanvierTM)和 C57BL/6J(JanvierTM)小鼠通过移植人肺癌细胞系(A549 或 LNM-R)构建 Hu-CDX 模型,然后进行新辅助化疗,并联合进行免疫治疗。结果显示,基于顺铂的 NACT 可通过 AKT 激活以剂量依赖性方式快速增加 PD-L1 表达,且延缓肿瘤的生长,与单药治疗相比,肿瘤体积减少了 47%^[31],虽结果比较理想,但若想在临床前实验中较为可靠地评估新辅助治疗疗效和最佳治疗时机,则需进一步研究微环境中免疫细胞的数量和功能对联合 ICI 和 NAC 结果的影响,而免疫人源化的异种移植小鼠模型则是进一步探究的首选动物模型。本研究也通过构建免疫人源化的异种移植小鼠模型发现 CD8⁺ PD-1⁺ T 细胞水平与后续治疗积极结果密切相关,具体而言,外周血中 CD8⁺ PD-1⁺ T 细胞的变化可以预测肿瘤微环境的重编程,进一步有助于确定手术的最佳时间。

4 CAR-T 免疫疗法的临床前研究

嵌合抗原受体修饰 T 细胞(chimeric antigen receptor modified T cells, CAR-T cells)疗法是一种过继性细胞免疫治疗。该疗法是用基因工程合成受体转导患者 T 细胞以靶向癌细胞表面抗原,进而介导抗肿瘤作用。CAR-T 目前主要应用于血液系统

恶性肿瘤^[32],而在 NSCLC 等实体瘤中效果不甚显著,其原因是大多实体瘤的肿瘤相关抗原(tumor-associated antigen, TAA)靶标在覆盖率和特异性方面呈现出异质性,即大多实体瘤无真正的肿瘤特异性抗原。

为了更好地将 CAR-T 疗法应用于实体瘤,需选择和确定具有相对广的覆盖率和较强的特异性的靶标。在早期研究中发现, LunX (即 BPIFA1、PLUNC、SPLUNC1) 在肺癌细胞中高度表达^[33]。前期细胞实验中,使用 LunX 抗体可以通过诱导 LunX 表达下调和阻断 LunX 下游通路抑制 LunX 阳性的肺癌肿瘤细胞生长^[34],因此研究人员构造了以 LunX 为靶标的 CAR-T 细胞进行深入研究^[35],同时构建 Hu-PDX 模型对其疗效进行评估,与 PBS 组以及非特异性靶标 CAR-T^{CD19} 比较发现 CAR-T^{LunX} 疗法不仅可以减缓肿瘤引起的小鼠体重减轻的症状,而且有效延长荷瘤小鼠的生存时间,通过 Log-rank 时序检验分析可得出 CAR-T^{LunX} 疗法大大提高了荷瘤小鼠存活率的结论。为了进一步研究其潜在的治疗机制,研究者进行了免疫荧光分析,结果显示 CAR-T^{LunX} 在首次治疗 7 d 后可以充分渗透进入 PDX 肿瘤模型内部,进而实现对肿瘤细胞有效的杀伤。因此,异种移植小鼠 PDX 模型为开展大量此类靶标检测实验^[36]以及研究新型 CAR 如可转换 CAR、抑制性 CAR、靶向双 TAA 的 CAR 等提供了平台^[37-40]。

5 纳米药物临床前评估

除免疫治疗和手术治疗外,化疗仍是临床上使用较为广泛的延长非小细胞肺癌患者生存率的手段,但传统的抗肿瘤药物缺乏对肿瘤细胞的特异性,其伴随产生的细胞毒素则较易诱导机体产生耐药性。纳米靶向药物是一种以纳米材料作为药物载体,通过对其表面进行修饰,使其可特异性靶向选择肿瘤细胞,对于提高药物的利用率以及减少对正常组织细胞损伤有着重要的意义。而其在研究过程中,需要大量人源化模型对其治疗效果以及适宜人群进行评断。

含钆金属富勒醇是一种新型纳米药物,其微粒直径约为 1 nm,主要特点是能够在各种 pH 浓度中通过非共价键凝集成为 20~120 nm 的颗粒药物,可抑制多种肿瘤活性。中国人民解放军总医院尹东涛^[41]课题组通过构建 Hu-PDX 模型对含钆金属富勒醇纳米

药物的生物安全性以及对不同类型非小细胞肺癌作用效果差别进行研究,结果显示含钆金属富勒醇对生长速度相对缓慢的鳞癌有较好的抑制效果(80.34%, $P < 0.01$),而对大细胞肺癌抑制效果则相对较弱(53.26%, $P < 0.05$),但总体治疗效果要优于单纯顺铂治疗(33.86%, $P < 0.05$)。同时,在模型构建过程中发现^[42],鳞癌的构建成功率要略高于腺癌,而患者性别、吸烟史、肿瘤分化程度、TNM 分期、移植方法对肺癌 PDX 模型成功率均无显著性影响。

此外,纳米技术也开始和其他治疗手段联合达到靶向治疗的目的。如 *KRAS/TP53* 突变是导致肺腺癌出现的主要原因,因此抑制 *KRAS* 致癌基因和恢复 p53 功能是肺腺癌最有力的治疗策略。Gu 等^[43]通过核糖核酸 RNAi 与纳米技术结合构成 LbL 模式药物,靶向作用于 *KRAS/TP53*,致力于探究该方案可行性。研究人员通过构建原位异种移植小鼠模型 Hu-PDX 研究肿瘤治疗效果,结果显示该治疗药物在荷瘤小鼠的肺中优先摄取,且用 LbL 模式药物治疗的小鼠其中位生存期达 23.5 d,与任何单独的核糖核酸治疗(中位生存期 9.0 d)或顺铂治疗(中位生存期 15.5 d)相比,可观察到明显增强的抗肿瘤功效和延长的存活时间,进一步的分子实验证实了该模式药物可降低单纯顺铂治疗带来的肝毒性和肾毒性的影响。因人源化异种移植小鼠模型可高度拟和人体病变经过,故其应用显示出 LbL 模式药物在肺腺癌治疗上具有直接的转化潜力,有望进入临床试验阶段。除核糖核酸可与化疗药物结合起到靶向治疗的作用外,美国丹娜-法伯癌症研究所在一项国际性 NSCLC 临床试验中使用了一种名为 trastuzumab deruxtecan 的抗体偶联药物^[44],该药物将化疗药物与高度靶向 *HER2* 基因突变的抗体相结合对患者进行治疗,结果显示超过一半的带有 *HER2* 基因突变的非小细胞肺癌患者体内的肿瘤在较长的一段观察期内停止生长,甚至出现缩小的现象,进一步表明了抗体偶联药物的治疗前景。而该药物的进一步疗效评估可通过免疫系统和肿瘤双人源化的动物模型进行研究,以期进入临床试验阶段奠定良好基础。

6 展望

目前有报道称肿瘤干细胞是造成肿瘤复发和转移的主要细胞亚群^[45],对于肿瘤的发生与发展起作用,但具体调节机制并不明确。目前已有团队通

过结肠癌患者的 PDX 模型进行相关研究^[46],力图发现克服免疫抑制屏障的新方法,因此人源化模型或可在靶向肿瘤干细胞联合免疫治疗晚期肺癌,以及新辅助/辅助治疗早期肺癌的临床前研究中发挥不可替代的作用。此外,在免疫联合化疗、免疫联合放疗的临床前研究阶段所采用的肿瘤、免疫系统及治疗抗体大多都是鼠源性的而非人源性的^[47-48],与人体免疫相应的过程存在一定的差别,因此实验结果虽有指导意义,但并不能充分证明其临床应用价值和前景,需在进一步的临床前研究中使用基于免疫系统人源化的小鼠异种移植模型则可能更加高度拟和临床患者表现,则可为治疗方案的临床转化应用提供更加有力的证据,如在三阴性乳腺癌的临床前研究中,研究团队通过构建免疫系统人源化小鼠来比较免疫单药治疗和免疫联合治疗的效果差异,结果显示 OKI-179 和 nivolumab 的组合比单独使用 nivolumab 显著抑制肿瘤生长($TGI = 77\%$),且 OKI-179 的使用会增加肿瘤浸润细胞的表达,与临床患者表型具有显著的一致性^[49]。因此在非小细胞肺癌的相关研究中,也期望能够通过免疫和肿瘤双人源化的小鼠模型获得有效的临床前研究数据,来加速新型治疗药物或新型治疗方案的临床转化。

7 总结

基于免疫系统人源化小鼠在非小细胞肺癌研究中的应用正如火如荼地开展,关于肺癌的治疗手段也在一步步的趋向于个体化。因此针对非小细胞肺癌的治疗手段的临床前分析也应该逐步向个体化治疗、靶向治疗迈进。选择特异肿瘤标志物、搭建高效靶向转运体、确定合理联合治疗给药系统、制定合适免疫治疗方案以及选取恰当新辅助/辅助治疗的时机仍为目前尚待解决的棘手难题,需进行详细的临床前研究,以期获得更加完善的实验数据。

另外,虽现阶段人源化小鼠模型在各种治疗手段的临床前评估体现了独特的优越性,但其也存在各种亟待解决的问题,如 B 细胞、NK 细胞重建水平不高、供体来源受限、不能完全拟合人体内免疫微环境以及部分模型重建效果稳定性不强等^[11]。因此,我们研究室致力于进一步改进模型构建方法中存在的一些问题,以期构建更为完备有效的临床前评估模型^[28,50],帮助其进一步在非小细胞肺癌的治疗研究中焕发新的活力。

参考文献:

- [1] Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, et al. Cancer statistics, 2022 [J]. CA Cancer J Clin, 2022, 72(1): 7-33.
- [2] Lim SM, Pyo KH, Kim JH, et al. Promising preclinical platform for evaluation of immuno-oncology drugs using Hu-PBL-NSG lung cancer models [J]. Cancer Res, 2018, 78(13): 1148-1148.
- [3] Herbst RS, Morgensztern D, Boshoff C. The biology and management of non-small cell lung cancer [J]. Nature, 2018, 553(7689): 446-454.
- [4] Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy [J]. Nat Rev Cancer, 2012, 12(4): 252-264.
- [5] Jenkins RW, Barbie DA, Flaherty KT. Mechanisms of resistance to immune checkpoint inhibitors [J]. Br J Cancer, 2018, 118(1): 9-16.
- [6] Wang M, Herbst RS, Boshoff C. Toward personalized treatment approaches for non-small-cell lung cancer [J]. Nat Med, 2021, 27(8): 1345-1356.
- [7] Quail DF, Joyce JA. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis [J]. Nat Med, 2013, 19(11): 1423-1437.
- [8] Walsh NC, Kenney LL, Jangalwe S, et al. Humanized mouse models of clinical disease [J]. Annu Rev Pathol, 2017, 12: 187-215.
- [9] Byrne AT, Alf  rez DG, Amant F, et al. Interrogating open issues in cancer precision medicine with patient-derived xenografts [J]. Nat Rev Cancer, 2017, 17(4): 254-268.
- [10] 周箴, 徐云华, 张菲菲, 等. 人源化免疫肺癌小鼠模型的建立及其在程序性死亡受体 1 抑制剂疗效评估中的作用 [J]. 上海交通大学学报(医学版), 2020, 40(1): 37-43.
- [11] Wang M, Yao LC, Cheng M, et al. Humanized mice in studying efficacy and mechanisms of PD-1-targeted cancer immunotherapy [J]. FASEB J, 2018, 32(3): 1537-1549.
- [12] Stewart DJ. Wnt signaling pathway in non-small cell lung cancer [J]. J Natl Cancer Inst, 2014, 106(1): 356.
- [13] Nguyen N, Bellile E, Thomas D, et al. Tumor infiltrating lymphocytes and survival in patients with head and neck squamous cell carcinoma [J]. Head Neck, 2016, 38(7): 1074-1084.
- [14] Kametani Y, Ohno Y, Ohshima S, et al. Humanized mice as an effective evaluation system for peptide vaccines and immune checkpoint inhibitors [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(24): E6337.
- [15] Lin S, Huang G, Cheng L, et al. Establishment of peripheral blood mononuclear cell-derived humanized lung cancer mouse models for studying efficacy of PD-L1/PD-1 targeted immunotherapy [J]. MAbs, 2018, 10(8): 1301-1311.
- [16] Fiseha T. Cystatin C-a biomarker for early nephropathy in type 2 diabetic patients [J]. J Mol Biomark Diagn, 2016, 1(8): 010.
- [17] Jespersen H, Lindberg MF, Donia M, et al. Clinical responses to adoptive T-cell transfer can be modeled in an autologous immune-humanized mouse model [J]. Nat Commun, 2017, 8(1): 707.
- [18] Sobarzo A, Roisman L, Pikovsky O, et al. A36 patient-specific humanized PDX model for overcoming tumor resistance to immune checkpoint inhibitors in NSCLC patients [J]. J Thorac Oncol, 2020, 15(2): S24.
- [19] Fukui T, Okuma Y, Nakahara Y, et al. Activity of nivolumab and utility of neutrophil-to-lymphocyte ratio as a predictive biomarker for advanced non-small-cell lung cancer: a prospective observational study [J]. Clin Lung Cancer, 2019, 20(3): 208-214.
- [20] Park W, Kwon D, Saravia D, et al. Developing a predictive model for clinical outcomes of advanced non-small cell lung cancer patients treated with nivolumab [J]. Clin Lung Cancer, 2018, 19(3): 280-288.
- [21] Bagley SJ, Kothari S, Aggarwal C, et al. Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio as a marker of outcomes in nivolumab-treated patients with advanced non-small-cell lung cancer [J]. Lung Cancer, 2017, 106: 1-7.
- [22] Wungki P, Laura M, Naoyuki O, et al. Predicting outcomes of advanced non-small cell lung cancer patients treated with PD-1/PD-L1 inhibitors: independent international validation of the iSEND model [J]. J Clin Oncol, 2018, 36(15): 3015.
- [23] Hellmann MD, Rizvi NA, Goldman JW, et al. Nivolumab plus ipilimumab as first-line treatment for advanced non-small-cell lung cancer (CheckMate 012): results of an open-label, phase 1, multicohort study [J]. Lancet Oncol, 2017, 18(1): 31-41.
- [24] Aggarwal C, Prawira A, Antonia S, et al. Dual checkpoint targeting of B7-H3 and PD-1 with enoblituzumab and pembrolizumab in advanced solid tumors: interim results from a multicenter phase I/II trial [J]. J Immunother Cancer, 2022, 10(4): e004424.
- [25] Socinski MA, Jotte RM, Cappuzzo F, et al. Atezolizumab for first-line treatment of metastatic nonsquamous NSCLC [J]. N Engl J Med, 2018, 378(24): 2288-2301.
- [26] Martinez-Usatorre A, Kadioglu E, Boivin G, et al. Overcoming microenvironmental resistance to PD-1 blockade in genetically engineered lung cancer models [J]. Sci Transl Med, 2021, 13(606): eabd1616.
- [27] Gandhi L, Rodríguez-Abreu D, Gadgeel S, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy in metastatic non-small-cell lung cancer [J]. N Engl J Med, 2018, 378(22): 2078-2092.
- [28] Qiao T, Xiong Y, Feng Y, et al. Inhibition of LDH-A by oxamate enhances the efficacy of anti-PD-1 treatment in an NSCLC humanized mouse model [J]. Front Oncol, 2021, 11: 632364.
- [29] Jang S, Song J, Kim N, et al. Development of an antibody-like T-cell engager based on VH-VL heterodimer formation and its application in cancer therapy [J]. Biomaterials, 2021, 271: 120760.
- [30] Sam J, Colombetti S, Fauti T, et al. Combination of T-cell bispecific antibodies with PD-L1 checkpoint inhibition elicits

- superior anti-tumor activity [J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 575737.
- [31] Fournel L, Wu Z, Stadler N, et al. Cisplatin increases PD-L1 expression and optimizes immune check-point blockade in non-small cell lung cancer [J]. *Cancer Lett*, 2019, 464: 5–14.
- [32] Metzinger MN, Verghese C, Hamouda DM, et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy: reach to solid tumor experience [J]. *Oncology*, 2019, 97(2): 59–74.
- [33] Zheng X, Tian Z, Wei H. Lung specific X protein as a novel therapeutic target for lung cancer [J]. *Oncoimmunology*, 2015, 4(12): e1052931.
- [34] Zheng X, Cheng M, Fu B, et al. Targeting LUNX inhibits non-small cell lung cancer growth and metastasis [J]. *Cancer Res*, 2015, 75(6): 1080–1090.
- [35] Hu Z, Zheng X, Jiao D, et al. LunX-CAR T cells as a targeted therapy for non-small cell lung cancer [J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2020, 17: 361–370.
- [36] Tokarew N, Ogonek J, Endres S, et al. Teaching an old dog new tricks: next-generation CAR T cells [J]. *Br J Cancer*, 2019, 120(1): 26–37.
- [37] Chen N, Li X, Chintala NK, et al. Driving CARs on the uneven road of antigen heterogeneity in solid tumors [J]. *Curr Opin Immunol*, 2018, 51: 103–110.
- [38] Rafiq S, Hackett CS, Brentjens RJ. Engineering strategies to overcome the current roadblocks in CAR T cell therapy [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2020, 17(3): 147–167.
- [39] MacKay M, Afshinnekoo E, Rub J, et al. The therapeutic landscape for cells engineered with chimeric antigen receptors [J]. *Nat Biotechnol*, 2020, 38(2): 233–244.
- [40] Lindner SE, Johnson SM, Brown CE, et al. Chimeric antigen receptor signaling: functional consequences and design implications [J]. *Sci Adv*, 2020, 6(21): eaaz3223.
- [41] 尹东涛. 人源肺癌异种移植模型的建立及其在纳米药物临床前研究中的应用 [D]. 北京: 中国人民解放军医学院, 2018.
- [42] Izumchenko E, Paz K, Ciznadija D, et al. Patient-derived xenografts effectively capture responses to oncology therapy in a heterogeneous cohort of patients with solid tumors [J]. *Ann Oncol*, 2017, 28(10): 2595–2605.
- [43] Gu L, Deng ZJ, Roy S, et al. A combination RNAi-chemotherapy layer-by-layer nanoparticle for systemic targeting of KRAS/P53 with cisplatin to treat non-small cell lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(23): 7312–7323.
- [44] Li BT, Smit EF, Goto Y, et al. Trastuzumab deruxtecan in *HER2*-mutant non-small-cell lung cancer [J]. *N Engl J Med*, 2022, 386(3): 241–251.
- [45] Perry JM, Tao F, Roy A, et al. Overcoming Wnt- β -catenin dependent anticancer therapy resistance in leukaemia stem cells [J]. *Nat Cell Biol*, 2020, 22(6): 689–700.
- [46] He X, Smith SE, Chen S, et al. Tumor-initiating stem cell shapes its microenvironment into an immunosuppressive barrier and pro-tumorigenic niche [J]. *Cell Rep*, 2021, 36(10): 109674.
- [47] Hu M, Zhang J, Kong L, et al. Immunogenic hybrid nanovesicles of liposomes and tumor-derived nanovesicles for cancer immunochemotherapy [J]. *ACS Nano*, 2021, 15(2): 3123–3138.
- [48] Herter-Sprie GS, Koyama S, Korideck H, et al. Synergy of radiotherapy and PD-1 blockade in Kras-mutant lung cancer [J]. *JCI Insight*, 2016, 1(9): e87415.
- [49] Capasso A, Lang J, Pitts TM, et al. Characterization of immune responses to anti-PD-1 mono and combination immunotherapy in hematopoietic humanized mice implanted with tumor xenografts [J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1): 37.
- [50] Guo W, Zhang C, Qiao T, et al. Strategies for the construction of mouse models with humanized immune system and evaluation of tumor immune checkpoint inhibitor therapy [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 673199.

[收稿日期]2022-04-10