

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.

Guo WW, Qiao TY, Zhang CQ, et al. Establishment of mouse models with a humanized immune system and applications for tumor immunotherapy [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(11): 98-104.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019. 11. 015

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

郭文文^{1,2}, 乔天运², 张彩勤², 赵菊梅^{1*}, 师长宏^{2*}

(1.延安大学医学院,陕西 延安 716000; 2.空军军医大学实验动物中心,西安 710032)

【摘要】 人源化小鼠是指体内携带有人源细胞、组织或器官的小鼠模型,而通过将人免疫细胞移植入免疫缺陷小鼠后构建的模型,即为免疫系统人源化小鼠模型。它可有效重建人类免疫系统,更好地模拟人体的特征。该类模型的成功建立为研究免疫系统与肿瘤之间的相互作用提供了良好的实验工具。本文主要针对不同类型免疫系统人源化小鼠模型的构建、优缺点及其在肿瘤免疫治疗中的应用进行综述。

【关键词】 免疫系统;人源化小鼠;免疫缺陷;肿瘤;免疫治疗

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 11-0098-07

Establishment of mouse models with a humanized immune system and applications for tumor immunotherapy

GUO Wenwen^{1,2}, QIAO Tianyun², ZHANG Caiqin², ZHAO Jumei^{1*}, SHI Changhong^{2*}

(1. Medical College of Yan'an University, Yan'an 716000, China.

2. Laboratory Animal Center, the Air Force Medical University, Xi'an 710032)

【Abstract】 The term “humanized mouse” refers to the use of a mouse model with human cells, tissues, or organs. Transplantation of human immune cells into immunodeficient mice is an established humanized mouse model of the immune system that effectively simulates characteristics of the human immune system. Indeed, it provides an ideal experimental tool for studying interactions between the immune system and tumors. In this article, we review the construction method, advantages, and disadvantages of different types of humanized mouse models of the immune system, and further illustrate their applications for tumor immunotherapy.

【Keywords】 immune system; humanized mouse; immunodeficiency; tumor; immunotherapy

肿瘤免疫治疗是继手术、放疗、化疗与分子靶向治疗后,又一种新的能够改善肿瘤患者生存期的治疗方法。自 2011 年 FDA 批准首个免疫检查点抑制剂 ipilimumab 应用于黑色素瘤治疗后,免疫制剂

在临床上已用于非小细胞肺癌、肾癌、头颈鳞癌、霍奇金淋巴瘤、恶性黑色素瘤等的治疗,并显示出良好的应用前景^[1-3]。肿瘤免疫治疗的进一步研究需要建立人体肿瘤与人体免疫系统相互作用的动物

[基金项目] 国家自然科学基金(31772546)。

[作者简介] 郭文文(1993—),女,硕士生,研究方向:肿瘤分子病理与药物研究。E-mail: 2399316897@qq.com

[通信作者] 师长宏,男,教授,博士生导师,研究方向:医学实验动物学。E-mail: changhong@fmmu.edu.cn

赵菊梅,女,教授,硕士生导师,研究方向:肿瘤分子病理与药物研究。E-mail: jnz2003.stu@163.com * 共同通信作者

模型。通常肿瘤模型是利用免疫缺陷动物移植入人体肿瘤细胞或组织,而该类动物由于缺乏完整的免疫系统,无法用于免疫治疗研究。人们尝试在免疫缺陷小鼠体内移植入人造血干细胞或功能性的淋巴细胞,使其具有人的免疫功能,这样的小鼠称为免疫系统人源化小鼠。该模型可模拟人体肿瘤细胞与免疫系统之间的相互作用,在肿瘤免疫治疗药物的研发与临床前评估方面具有重要的应用前景。本文重点综述免疫系统人源化小鼠模型的类型、构建方法以及在肿瘤免疫治疗中的应用。

1 免疫系统人源化小鼠模型的构建

重度联合免疫缺陷动物由于 T、B、NK 免疫细胞的缺乏,广泛应用于人源化小鼠模型的构建,常用品系主要有 NSG (NOD. Cg-Prkdcscid $Il-2rg^{tm1Wjl}$ /SzJ)^[4]、NOG (NOD. Cg-Prkdcscid $Il-2rg^{tm1}$ Sug/JicTac)^[5]、NRG (C. Cg-Rag1 tm1Mom $Il-2rg^{tm1Wjl}$ /SzJ)^[6]等。除此之外,用于人源化的 NSG-SGM3 (NOD.Cg-Prkdcscid $Il-2rg^{tm1Wjl}$ Tg (CMV IL-3, CSF2, KITLG) 1Eav/MloySzJ)小鼠表达人 IL-3、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF) 和干细胞因子,允许人造血干细胞 (hematopoietic stem cell, HSC) 的稳定植

Rag2 $^{-/-}$ IL2Rgc $^{-/-}$)小鼠可支持较高水平的髓细胞发育,促进人单核细胞、树突状细胞 (dendritic cell, DC) 和巨噬细胞的分化,并促进 NK 细胞的发育^[8]。由于上述动物体内仍然存在有少量鼠源性免疫细胞,通常在移植人源性细胞之前均需进行辐照,以达到清髓的效果^[9]。而 NBSGW (NOD, B6. SCID $Il2r\gamma^{-/-}$ $Ki^{W41/W41}$)小鼠由于携带 c-Kit 基因突变,可支持无辐照小鼠造血干细胞的移植^[9-10]。

依据人免疫系统重建的方法,将免疫系统人源化小鼠模型分为三大类: Hu-BLT (humanized-bone marrow, liver, thymus) 小鼠模型、Hu-HSCs (humanized-hematopoietic stem cells) 和 Hu-PBL (humanized-peripheral blood mononuclear cells) 小鼠模型 (表 1)。

1.1 Hu-BLT 小鼠模型

该模型是将免疫缺陷小鼠经亚致死剂量辐照处理后,肾包膜下合并移植人胎胸腺和胎肝组织,同时再经尾静脉注射分离自同一个体的胎肝或骨髓来源的造血干细胞^[11]。Hu-BLT 小鼠体内能检测到完整的 T 细胞、B 细胞、NK 细胞、单核细胞、DC、巨噬细胞等多种人免疫细胞,并可产生人源性的适应性免疫应答,是人源免疫系统重建最完善的小鼠模型^[12]。经流式细胞术检测, Hu-BLT 模型中可表达稳定的人 CD45 $^{+}$ 细胞,其在外周血细胞的比例约

表 1 不同免疫系统人源化小鼠模型的特点
Table 1 Characteristics of humanized mouse models with different immune systems

模型 Models	构建方法 Construction methods	优点 Advantages	缺点 Disadvantages
Hu-BLT	将人胎胸腺和胎肝共同移植于小鼠的肾包膜下,并将同一个体的胎肝或骨髓来源的造血干细胞注入小鼠体内	① 具有完整的免疫系统 ② T 细胞可以在人胸腺上皮内发育成熟	① 胚胎肝、胸腺来源受限 ② 可诱发 GVHD
	Co-transfection of human fetal thymus and fetal liver into the renal capsule of mice, associated with the injection of hematopoietic stem cells from fetal liver or bone marrow of the same individual into mice	① Complete immune system ② Capacity to promote the maturation of T cells in human thymic epithelium	① Limited source of fetal liver and thymus ② Induction of GVHD possibly
Hu-HSCs	注射来源于人的粒细胞集落刺激因子 (G-CSF) 动员的血液、骨髓、脐带血或胎儿肝等的 CD34 $^{+}$ HSC	多系造血细胞发育,包括 T 细胞、B 细胞、髓细胞及 NK 细胞	缺少供 T 细胞发育成熟的人胸腺, T 淋巴细胞少,且无功能
	Injection of CD34 $^{+}$ HSC derived from Human granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) mobilized blood, bone marrow, umbilical cord blood or fetal liver	Multiple lines of hematopoietic cell development, including T, B, myeloid, and NK cells	Lacks of human thymus for promoting the maturation of T cells, and the presence of limited and nonfunctional T lymphocytes
Hu-PBL	注射成熟外周血单个核细胞	① 移植方法简单 ② T 细胞移植效率高且稳定	GVHD 反应, 导致观察窗口期短, 研究时间受限
	Injection of mature peripheral blood mononuclear cells	① Simple transplantation ② Efficient and stable transplantation of T cells	GVHD reaction, resulting in a shortened observation window period, and limited study time

为 30% ~ 80%。而 CD45⁺ 细胞比例超过 25% 标志着 Hu-BLT 模型构建成功^[13]。

该模型的重要特征是能产生人类粘膜免疫系统,因此可以应用于 HIV^[14]、EDV^[15] 等粘膜感染机制模型、造血系统及肿瘤免疫治疗的研究。但其供体样本难以获得,而且由于人胸腺组织中的 T 细胞对小鼠的主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) 仍然有高的亲和力,因此 Hu-BLT 模型可能在植入 20 周后出现移植物抗宿主反应 (graft versus host disease, GVHD)。而有研究报道将 C57BL/6 小鼠的 Rag2、IL-2Yc 和 CD47 基因三重敲除后的 TKO-BLT 模型在植入人的免疫细胞后 45 周末发生 GVHD 迹象,且保持人免疫细胞的高度重建,显著优于现有的 BLT 模型^[16]。

1.2 Hu-HSCs 小鼠模型

Hu-HSCs 模型是将新生或成年免疫缺陷小鼠经亚致死剂量辐照处理后,破坏小鼠自体骨髓造血功能,再将新鲜的人 CD34⁺ HSC (可来源于人的 G-CSF 动员的血液、骨髓、脐带血或胎儿肝等) 在 24 h 内经尾静脉或者骨髓腔注射入免疫缺陷小鼠体内,使多系 Hu-HSC 发育成包括 T 细胞、B 细胞、NK 细胞、骨髓来源的抑制性细胞 (myeloid-derived suppressor cells, MDSCs) 和其他谱系阴性细胞在内的免疫细胞^[17]。通常在植入后第 4 周 hCD45⁺ T 细胞可达 25% ~ 60%,外周血中人 CD45⁺ T 细胞超过 25%,标志 Hu-HSC 模型构建成功^[18]。

该模型的优势在于其造血系统及免疫细胞是 HSC 在小鼠体内重新发育而来的,对小鼠宿主具有免疫耐受,通常不会发生 GVHD,模型稳定期可长达 10~12 周^[19],可应用于 HIV^[20]、EBV^[21] 等感染模型及造血系统发育的长期研究,在肿瘤免疫治疗研究中显示出巨大的应用前景。然而,在该模型中影响免疫细胞分化成熟的因素较多。如成年 NSG 小鼠体内植入 HSC 后,12 周才能够在外周血中检测出人 T 细胞,且 T 细胞的数量相对较少,活性不高^[22-24]。相反,将 HSC 植入新生 NSG 小鼠后,很容易产生人 T 细胞。另有研究证明,雌性 NSG 小鼠比雄性 NSG 小鼠更支持人 HSC 的植入^[25-26]。

1.3 Hu-PBL 小鼠模型

该模型是将免疫缺陷小鼠经亚致死剂量辐照处理后,将 $5 \times 10^6 \sim 20 \times 10^6$ 个新鲜的人 PBMCs 经尾静脉或腹腔移植入小鼠体内,以实现血液和脾中 50% ~ 80% 的 CD45⁺ 细胞的植入,通常第一周就可

获得人 CD3⁺ T 细胞,第四周可检测到人 CD3⁺ CD45⁺ T 细胞超过 25%^[22, 27]。

Hu-PBL 小鼠是目前最简单、经济的人源化小鼠模型,以重建人的 T 细胞为主并保持其免疫功能。与 CD34⁺ HSC 衍生 T 细胞相比,当免疫缺陷小鼠移植 PBMC 时,人 T 细胞增殖速度更快,可重建更高水平的人 T 细胞,是研究成熟效应 T 细胞的理想模型^[22]。同时该模型中还可检测到少量的 B 细胞、髓系细胞或其他免疫细胞。但该模型存在的主要问题是,由于人 T 细胞和小鼠免疫细胞之间的 MHC 不匹配而出现的致死性 GVHD 反应^[28-29]。通常会在人 PBMC 注射后 4~6 周出现明显的 GVHD 症状,治疗观察窗口期短,使用受限^[8, 27]。但此实验窗口期可以通过改造 NSG (NDG、NPG 等) 小鼠,使其缺失 MHC-I 或 II 基因而得到延长^[30]。此外,降低 PBMCs 中 CD4⁺ T 细胞的比例也可显著减缓 GVHD 反应^[31]。然而,CD4⁺ T 辅助细胞亚群比例的降低会损害细胞免疫,这可能会降低该类小鼠模型的适用性。

2 Hu-PDX 模型

基于临床肿瘤标本建立的 PDX (patient-derived xenograft) 模型较好的保持了原发瘤的特征,但由于其缺乏人体免疫系统,无法针对特定患者的肿瘤细胞或组织开展免疫治疗研究。在免疫系统人源化小鼠体内移植入特定患者的肿瘤组织而建立的模型称为 Hu-PDX (humanized patient-derived xenograft) 模型,因其可模拟人体中肿瘤细胞与免疫系统之间的相互作用,在抗肿瘤免疫治疗研究方面具有重要的应用前景。

Hu-PDX 模型的构建与肿瘤移植的时间和人源化的方法密切相关。如 Hu-PBL 小鼠模型免疫重建维持时间较短,因此 Hu-PBL-PDX 模型的构建通常是先移植患者的肿瘤组织,待肿瘤体积达到约 120~180 mm³ 时,对小鼠进行亚致死性辐照后,再经尾静脉注射人 PBMC; Hu-HSC 小鼠模型由于 GVHD 反应较弱,免疫重建维持时间约为 10~12 周,所以 Hu-HSC-PDX 模型通常是先将人 CD34⁺ HSC 移植入经亚致死性辐照处理的免疫缺陷小鼠体内,当小鼠体内人 CD3⁺ CD45⁺ 比例超过 15% (通常为移植后 12 周),再移植入患者肿瘤组织^[22]。该模型构建成功的标志是在肿瘤组织中能够检测到人的免疫细胞和细胞因子等。

目前,Hu-PDX 模型已应用于多种类型的肿瘤研究中,如非小细胞肺癌、结直肠癌、肾癌、肝癌、三阴性乳腺癌、黑色素瘤等^[22, 31-34]。这些模型给肿瘤细胞提供与人体更相似的生长微环境,可以从组织病理学、基因表达、基因突变、炎症和治疗反应等方面真实准确的反映了临床肿瘤患者的表现,在肿瘤的发生、发展和转移机制研究等方面具有重要的应用价值,尤其在肿瘤免疫治疗研究方面,是理想的肿瘤模型。

3 人源化小鼠模型在肿瘤免疫治疗研究中的应用

肿瘤免疫治疗是通过激活机体抗肿瘤免疫反应或阻断肿瘤免疫逃逸,以控制和杀伤肿瘤。主要包括嵌合抗原受体 T 细胞(chimeric antigen receptor T cells,CAR-T)、免疫检查点抑制剂治疗以及与其他免疫疗法相结合的综合疗法等,而人源化小鼠模型是开展上述免疫治疗研究的理想的临床前模型。表 2 是目前已报道的部分人源化小鼠模型在不同类型肿瘤免疫治疗研究中的应用。

3.1 CAR-T 治疗中的应用

CAR-T 细胞免疫疗法原理在于经嵌合抗原受体修饰的 T 细胞,可以特异性地识别肿瘤相关抗原,使效应 T 细胞的靶向性和杀伤活性均较常规的免疫细胞高,从而发挥抗癌作用。目前 CAR-T 疗法临床上主要应用于 B 细胞淋巴瘤、白血病等血液系统恶性肿瘤的治疗^[35-36],而在实体肿瘤的治疗中应用较少。人源化小鼠模型目前已应用于各种 CAR 设计的抗肿瘤疗效评估。Abate-Daga 等^[37]利用胰腺癌 Hu-PBMC-PDX 模型,开发了一种针对前列腺干细胞抗原(PSCA)的 CAR,为将 PSCA 作为基于 CAR 的胰腺癌免疫治疗的靶抗原提供了证据;另有研究报道证明在卵巢癌 Hu-PBMC-PDX 模型上,CD27 能够共刺激 CAR-T 细胞以获得更高的持久性和抗肿瘤活性^[38]。显然,Hu-PDX 模型为评估 CAR-T 疗法在实体肿瘤中的有效性提供了新的方法。

3.2 肿瘤免疫检查点抑制剂研究中的应用

肿瘤细胞可以通过多种途径避免免疫系统的识别及杀伤。通过激活肿瘤微环境中特定的抑制性信号通路是肿瘤逃避免疫监视的途径之一,这些抑制信号被称为免疫检查点。目前发现的免疫检查点包括:细胞毒性 T 淋巴细胞抗原 4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4,CTLA-4)、程序性死

亡受体-1/程序性死亡受体-配体 1(programmed cell death-1/ programmed cell death-ligand 1,PD-1/PD-L1)、T 细胞免疫球蛋白-3(T cell immunoglobulin-3,TIM-3)、T 细胞免疫球蛋白 ITIM 结构域(T cell immunoglobulin and ITIM domains,TIGIT)、淋巴细胞活化基因-3(lymphocyte activation gene-3,LAG-3)及唾液酸结合免疫球蛋白样凝集素-15(sialic acid-binding Ig-like lectin-15,Siglec-15)等。其中 CTLA-4 与 PD-1/PD-L1 信号通路的研究获得了 2018 年诺贝尔生理学或医学奖。目前免疫检查点抑制剂的研究主要集中在临床研究,但由于缺乏大量的动物模型进行筛选和验证,所以相关结果并不理想。许多研究已证实人源化小鼠模型在免疫检查点抑制剂研究中的独特优势。例如,Kenneth 等^[39]应用 EBV 相关淋巴瘤的 Hu-PBL-SCID 小鼠模型来筛选一组抗人 CTLA-4 单克隆抗体(MAb),结果显示不同单抗在小鼠模型中活化人 T 细胞的效能具有显著的差异。Lin 等^[22]构建了 Hu-PBL-NSI 和 Hu-HSPCs-NSI (humanized-hematopoietic stem and progenitor cells-NSI)两种人源化小鼠的非小细胞肺癌 PDX 模型,并评估了针对 PD-L1/PD-1 免疫检查点靶向治疗的效果。研究发现与 Hu-HSPCs-NSI 小鼠相比,Hu-PBL-NSI 人源化小鼠模型在免疫靶向治疗中显示出更高的抗肿瘤效果。此外,Roberto 等^[33]成功构建了三阴性乳腺癌的 Hu-CD34-HSC-PDX 模型,并评估了抗 PD-1 抗体治疗的有效性。研究结果显示,抗 PD-1 抗体治疗可显著抑制肿瘤的生长并提高患者的生存率。

尽管部分人源化小鼠模型在免疫治疗中取得了成功,但在一项针对非小细胞肺癌 Hu-PDX 模型的研究中发现,不同来源的 CD34⁺HSPC 供体重建的人源化小鼠针对免疫检查点抑制剂治疗的反应不尽相同,这与临床上患者对抗 PD-1 治疗的不同反应率是一致的。并且在人源化小鼠模型中反应性的差异可能与供体的 T 细胞谱系有关^[18]。因此,人源化小鼠模型在肿瘤免疫治疗中的应用仍然需要进一步的改进。

3.3 免疫综合治疗中的应用

逆转 T 细胞抑制信号的药物(例如 PD-1/PD-L1 疗法)的成功应用使人们对癌症免疫疗法充满了信心,但单药治疗效果有限,联合免疫治疗可能具有良好的抗肿瘤效能。2019 年 3 月美国 FDA 批准了 PD-L1 抑制剂 Atezolizumab 联合依托泊苷、卡铂

表 2 人源化小鼠模型在肿瘤免疫治疗中的应用
Table 2 Application of humanized mouse models in tumor immunotherapy

癌症 Cancers	人免疫细胞/组织 Human immune cells/tissues	小鼠品系 Mouse strains	免疫治疗方法 Immunotherapeutic methods	引用文献 References
胰腺癌 Pancreatic cancer	PBMC	NSG	CAR-T	[37]
卵巢癌 Ovarian cancer	PBMC	—	CAR-T	[38]
淋巴瘤 Lymphoma	PBMC	NSG	免疫检查点抑制剂(抗 CTLA-4 抗体) Immune checkpoint inhibitor (anti-ctla-4 antibody)	[39]
肾细胞癌 Renal cell carcinoma	PBMC	NSG	CAR-T/PD-L1	[41]
间皮瘤 Mesothelioma	PBMC	NOD-SCID	CAR-T/PD-1	[42]
结肠癌/胃癌 Colon/gastric cancer	PBMC	NSG	hCD137/PD-1	[31]
非小细胞肺癌 Non-small cell lung cancer	PBMC/CD34 ⁺ HSC	NSI	免疫检查点抑制剂(抗 PD-1/PD-L1 抗体) Immune checkpoint inhibitor (anti-PD-1/PD-L1 antibody)	[22]
三阴性乳腺癌 Triple negative breast cancer	CD34 ⁺ HSC	NSG	免疫检查点抑制剂(抗 PD-1 抗体) Immune checkpoint inhibitor (anti-PD-1 antibody)	[33]
淋巴瘤 Lymphoma	CD34 ⁺ HSC	NSG	PD-1/CTLA-4	[43]

用于广泛期小细胞肺癌患者的一线治疗,这标志着免疫治疗进入联合治疗为主的 2.0 时代。人源化小鼠模型用于评价 CAR-T 细胞与抗体靶向免疫检查点抑制剂(如 PD-L1 和 CTLA-4)联合治疗的效果^[40]。Suarez 等^[41]在转移性透明细胞肾细胞癌的人源化小鼠模型中使用 CAR-T 细胞和免疫检查点抑制剂进行联合治疗。这些靶向人抗碳酸酐酶的 CAR-T 细胞还可分泌人抗 PD-L1 抗体,以克服 PD-1 和 PD-L1 相互作用介导的检查点抑制。与仅使用 CAR-T 细胞处理组相比,联合免疫检查点阻断方法可有效增强抗肿瘤效力。Leonid 等^[42]使用胸膜间皮瘤的原位小鼠模型研究 PD-1 介导的 T 细胞衰竭与间皮素靶向的 CAR-T 细胞之间的关系,研究结果显示通过阻断 PD-1/PD-L1 可以增强 CAR-T 细胞的疗效。另有研究报道,在 EBV 相关淋巴瘤的 Hu-HSC-NSG 模型中,PD-1 和 CTLA-4 阻断抗体的联合治疗可显著抑制 EBV 诱导的弥漫性大 B 细胞淋巴瘤的生长,并且两种抗体联合用药的抗肿瘤效果优于单药治疗^[43]。此外,在人结肠癌组织植入 Hu-PBL-BRG 小鼠模型中,利用抗人 CD137 和抗 PD-1 单抗联合作用具有显著抑制肿瘤生长的效果;研究者在利用人胃癌组织和自体 PBMC 构建的 Hu-PDX 模型中获得了相同的结果^[31]。

4 未来的发展趋势

在癌症免疫治疗的新时代,人源化小鼠模型是

评估新疗法、研究组合疗法以及指导个性化免疫治疗的有效工具。但该模型的构建目前仍存在诸多缺陷,如免疫细胞与移植瘤之间的组织相容性问题、小鼠残留的先天免疫系统影响人免疫细胞的植入、缺乏物种特异性的生长因子促进某些免疫亚群的成熟等,这些因素导致人源化小鼠模型不能完全满足肿瘤—免疫研究的需求。为此,正在研发的下一代人源化小鼠,包括 MHC 基因人源化的小鼠^[44]、抑制鼠源免疫细胞的人信号调节蛋白 α (signal regulatory protein alpha, SIRPα)转基因小鼠^[45-46]以及转入人源细胞因子如 IL-2、IL-3、GM-CSF、SCF 等的小鼠^[47-48],有望通过解决这些问题以实现更高水平及更全亚群的人免疫细胞的植入。

人源化小鼠模型在肿瘤免疫治疗研究中的进一步应用有望解决临床治疗中存在的问题。如寻找明确的生物标志物以解决临床反应率低的问题、探索肿瘤免疫治疗与传统治疗方法相结合的联合疗法以解决免疫相关不良反应问题等。总之,人源化小鼠模型的不断优化以及其在肿瘤免疫治疗领域应用的扩大,必将为癌症免疫学和个性化医学提供前所未有的研究平台。

参考文献:

[1] Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, et al. Five-year survival and correlates among patients with advanced melanoma, renal cell carcinoma, or non-small cell lung cancer treated with nivolumab [J]. JAMA Oncol, 2019: e192187.

- [2] Szturz P, Vermorken JB. Immunotherapy in head and neck cancer; aiming at EXTREME precision [J]. BMC Med, 2017, 15(1): 110.
- [3] Shanbhag S, Ambinder RF. Hodgkin lymphoma: A review and update on recent progress [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(2): 116-132.
- [4] Shultz LD, Lyons BL, Burzenski LM, et al. Human lymphoid and myeloid cell development in NOD/LtSz-scid *IL2Rγ^{null}* mice engrafted with mobilized human hemopoietic stem cells [J]. J Immunol, 2005, 174 (10): 6477-6489.
- [5] Ito M, Hiramatsu H, Kobayashi K, et al. NOD/SCID/ γ_c^{null} mouse; an excellent recipient mouse model for engraftment of human cells [J]. Blood, 2002, 100(9): 3175-3182.
- [6] 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 (*IL2Rγ^{null}*) null mice; a radioresistant model for human lymphohaematopoietic engraftment [J]. Clin Exp Immunol, 2008, 154(2): 270-284.
- [7] Magnotti E, Marasco WA. The latest animal models of ovarian cancer for novel drug discovery [J]. Expert Opin Drug Discov, 2018, 13(3): 249-257.
- [8] 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.
- [9] McIntosh BE, Brown ME. No irradiation required: The future of humanized immune system modeling in murine hosts [J]. Chimerism, 2015, 6(1-2): 40-45.
- [10] Theocharides AP, Rongvaux A, Fritsch K, et al. Humanized hemato-lymphoid system mice [J]. Haematologica, 2016, 101(1): 5-19.
- [11] Melkus MW, Estes JD, Padgett-Thomas A, et al. Humanized mice mount specific adaptive and innate immune responses to EBV and TSST-1 [J]. Nat Med, 2006, 12(11): 1316-1322.
- [12] 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.
- [13] Smith DJ, Lin LJ, Moon H, et al. Propagating humanized BLT mice for the study of human immunology and immunotherapy [J]. Stem Cells Dev, 2016, 25(24): 1863-1873.
- [14] Mandal S, Kang G, Prathipati PK, et al. Long-acting parenteral combination antiretroviral loaded nano-drug delivery system to treat chronic HIV-1 infection: A humanized mouse model study [J]. Antiviral Res, 2018, 156(8): 85-91.
- [15] Bird BH, Spengler JR, Chakrabarti AK, et al. Humanized mouse model of ebola virus disease mimics the immune responses in human disease [J]. J Infect Dis, 2016, 213(5): 703-711.
- [16] Lavender KJ, Pace C, Sutter K, et al. An advanced BLT-humanized mouse model for extended HIV-1 cure studies [J]. AIDS, 2018, 32(1): 1-10.
- [17] Rongvaux A, Takizawa H, Strowig T, et al. Human hemato-lymphoid system mice; current use and future potential for medicine [J]. Annu Rev Immunol, 2013, 31(1): 635-674.
- [18] Meraz IM, Majidi M, Meng F, et al. An improved patient-derived xenograft humanized mouse model for evaluation of lung cancer immune responses [J]. Cancer Immunol Res, 2019, 7(8): 1267-1279.
- [19] Kim SS, Kumar P, Ye C, et al. Humanized mice for studying human leukocyte integrins *in vivo* [J]. Methods Mol Biol, 2012, 757: 509-521.
- [20] Su H, Cheng Y, Sravanam S, et al. Immune activations and viral tissue compartmentalization during progressive HIV-1 infection of humanized mice [J]. Front Immunol, 2019, 10(2): 340.
- [21] Worni-Schudel IM, Clark AG, Chien T, et al. Recovery of a human natural antibody against the noncollagenous-1 domain of type IV collagen using humanized models [J]. J Transl Med, 2015, 13: 185.
- [22] 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.
- [23] Liu G, Fan X, Cai Y, et al. Efficacy of dendritic cell-based immunotherapy produced from cord blood *in vitro* and in a humanized NSG mouse cancer model [J]. Immunotherapy, 2019, 11(7): 599-616.
- [24] Legrand N, Weijer K, Spits H. Experimental models to study development and function of the human immune system *in vivo* [J]. J Immunol, 2006, 176(4): 2053-2058.
- [25] McDermott SP, Eppert K, Lechman ER, et al. Comparison of human cord blood engraftment between immunocompromised mouse strains [J]. Blood, 2010, 116(2): 193-200.
- [26] Akiyama Y, Nonomura C, Ashizawa T, et al. The anti-tumor activity of the STAT3 inhibitor STX-0119 occurs via promotion of tumor-infiltrating lymphocyte accumulation in temozolomide-resistant glioblastoma cell line [J]. Immunol Lett, 2017, 190(10): 20-25.
- [27] Koo GC, Hasan A, O'Reilly RJ. Use of humanized severe combined immunodeficient mice for human vaccine development [J]. Expert Rev Vaccines, 2009, 8(1): 113-120.
- [28] 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.
- [29] Nervi B, Rettig MP, Ritchey JK, et al. Factors affecting human T cell engraftment, trafficking, and associated xenogeneic graft-vs-host disease in NOD/SCID beta2m^{null} mice [J]. Exp Hematol, 2007, 35(12): 1823-1838.
- [30] Brehm MA, Kenney LL, Wiles MV, et al. Lack of acute xenogeneic graft- versus-host disease, but retention of T-cell function following engraftment of human peripheral blood mononuclear cells in NSG mice deficient in MHC class I and II expression [J]. FASEB J, 2019, 33(3): 3137-3151.
- [31] Sanmamed MF, Rodriguez I, Schalper KA, et al. Nivolumab and

- urelumab enhance antitumor activity of human T lymphocytes engrafted in Rag2^{-/-}IL2R γ ^{null} immunodeficient mice [J]. Cancer Res, 2015, 75(17): 3466–3478.
- [32] Zhao Y, Shuen TWHo, Toh TB, et al. Development of a new patient-derived xenograft humanised mouse model to study human-specific tumour microenvironment and immunotherapy [J]. Gut, 2018, 67(10): 1845–1854.
- [33] Rosato RR, Dávila-González D, Choi DS, et al. Evaluation of anti-PD-1-based therapy against triple-negative breast cancer patient-derived xenograft tumors engrafted in humanized mouse models [J]. Breast Cancer Res, 2018, 20(1): 108.
- [34] Chang DK, Moniz RJ, Xu Z, et al. Human anti-CAIX antibodies mediate immune cell inhibition of renal cell carcinoma *in vitro* and in a humanized mouse model *in vivo* [J]. Mol Cancer, 2015, 14: 119.
- [35] Jacoby E, Shahani SA, Shah NN. Updates on CAR T-cell therapy in B-cell malignancies [J]. Immunol Rev, 2019, 290(1): 39–59.
- [36] Universal CAR T cells treat leukemia [J]. Cancer Discov, 2017, 7(4): 342.
- [37] Abate-Daga D, Lagisetty KH, Tran E, et al. A novel chimeric antigen receptor against prostate stem cell antigen mediates tumor destruction in a humanized mouse model of pancreatic cancer [J]. Hum Gene Ther, 2014, 25(12): 1003–1012.
- [38] Song DG, Powell DJ. Pro-survival signaling via CD27 costimulation drives effective CAR T-cell therapy [J]. Oncoimmunology, 2012, 1(4): 547–549.
- [39] May KF, Roychowdhury S, Bhatt D, et al. Anti-human CTLA-4 monoclonal antibody promotes T-cell expansion and immunity in a hu-PBL-SCID model: a new method for preclinical screening of costimulatory monoclonal antibodies [J]. Blood, 2005, 105(3): 1114–1120.
- [40] Gay F, D'Agostino M, Giaccone L, et al. Immuno-oncologic approaches: CAR-T cells and checkpoint inhibitors [J]. Clin Lymphoma Myeloma Leuk, 2017, 17(8): 471–478.
- [41] Suarez ER, Chang DK, Sun J, et al. Chimeric antigen receptor T cells secreting anti-PD-L1 antibodies more effectively regress renal cell carcinoma in a humanized mouse model [J]. Oncotarget, 2016, 7(23): 34341–34355.
- [42] Cherkassky L, Morello A, Villena-Vargas J, et al. Human CAR-T cells with cell-intrinsic PD-1 checkpoint blockade resist tumor-mediated inhibition [J]. Clin Invest, 2016, 126(8): 3130–3144.
- [43] Ma SD, Xu X, Jones R, et al. PD-1/CTLA-4 blockade inhibits epstein-barr virus-induced lymphoma growth in a cord blood humanized-mouse model [J]. PLoS Pathog, 2016, 12(5): e1005642.
- [44] Zeng Y, Liu B, Rubio MT, et al. Creation of an immunodeficient HLA-transgenic mouse (HUMAMICE) and functional validation of human immunity after transfer of HLA-matched human cells [J]. PLoS One, 2017, 12(4): e0173754.
- [45] Rongvaux A, Willinger T, Martinek J, et al. Development and function of human innate immune cells in a humanized mouse model [J]. Nat Biotechnol, 2014, 32(4): 364–372.
- [46] Saito Y, Ellegast JM, Rafiei A, et al. Peripheral blood CD34 cells efficiently engraft human cytokine knock-in mice [J]. Blood, 2016, 128(14): 1829–1833.
- [47] Billerbeck E, Barry WT, Mu K, et al. Development of human CD4⁺FoxP3⁺ regulatory T cells in human stem cell factor⁻, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor⁻, and interleukin-3-expressing NOD-SCID IL2R γ ^{null} humanized mice [J]. Blood, 2011, 117(11): 3076–3086.
- [48] Miller PH, Cheung AM, Beer PA, et al. Enhanced normal short-term human myelopoiesis in mice engineered to express human-specific myeloid growth factors [J]. Blood, 2013, 121(5): e1-e4.

[收稿日期]2019-08-25