

# 人源性肿瘤组织原位异种移植模型的特征及研究策略

陈 薛<sup>1,2</sup>, 张 贺<sup>2</sup>, 师长宏<sup>2\*</sup>

(1. 成都医学院基础医学院, 成都 610500; 2. 第四军医大学实验动物中心, 西安 710032)

**【摘要】** 人源性肿瘤组织原位异种移植模型(PDOX模型)能够更好地保持原发肿瘤的基因特征,在组织学、转录组、多态性和拷贝数变异中具有高的保真度,保留了原发瘤的微血管、基质成分和相互作用,以及肿瘤转移的特点,从而更加准确地预测临床患者的疾病预后,可以筛选出最合适的个体化治疗方案,在临床转化应用研究中显示出良好的前景。但由于小鼠和人体微环境仍有差别,原位移植瘤的形态结构与原发瘤仍存在一定差别,且原位移植并不能确保肿瘤发生转移。因此,构建个体化PDOX模型就需要分析移植瘤的组织形态和相关基因的表达,建立异种移植模型的数据库,共享异种移植模型的信息与研究结果,促进PDOX模型的转化应用。本文总结了PDOX模型的主要特征,概述了其优势以及局限性,并对应用进行了展望。

**【关键词】** 人源性肿瘤组织原位异种移植;肿瘤微环境;转移

**【中图分类号】** R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2018) 01-0118-05

doi: 10. 3969/j. issn. 1671 - 7856. 2018. 01. 021

## Characteristics and research strategies of patient-derived orthotopic xenograft models

CHEN Xue<sup>1,2</sup>, ZHANG He<sup>2</sup>, SHI Changhong<sup>2\*</sup>

(1. College of Basic Medicine, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China;

2. Laboratory Animal Center, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032)

**【Abstract】** The patient-derived orthotopic xenograft (PDOX) model better maintains the genetic characteristics of the primary tumor, and keep stable in histology, transcriptome, polymorphism and copy number variations. It also retains the interaction between the tumor mesenchyma, microvessels and stroma, and the tumor metastatic properties. Therefore, PDOX model can predict disease prognosis more accurately and can be used to screen appropriate individualized treatment strategies, thus, shows perfect prospect in clinical application. However, due to the differences between mouse and human microenvironment, morphological distinctions between orthotopic xenograft tumors and primary tumors still exist, and tumor metastasis can not be ensured by orthotopic xenograft. Thus, in order to construct the individualized PDOX model and to promote its clinical translation, it is necessary to analyze the histomorphology of orthotopic xenografts, to establish database of the transplantation model and share the information of the model. In this review, we will summarize the main features of PDOX models with its advantages and limitations, and looking forward to its application in the future.

**【Key words】** patient-derived orthotopic xenograft, PDOX; tumor microenvironment; metastasis

**【基金项目】** 国家自然科学基金(编号:31572340);军队实验动物专项课题(编号:SYDW2016-006)。

**【作者简介】** 陈薛(1990—),女,硕士生,研究方向:肿瘤动物模型。E-mail: chenxuefamily6@163.com

**【通信作者】** 师长宏(1973—),教授,博士生导师。E-mail: changhong@fmmu.edu.cn

随着高通量测序、微阵列芯片等技术在肿瘤生物学领域中的应用,人们对恶性肿瘤的进展和分子驱动机制有了深入了解,在人源性肿瘤组织异种移植(patient-derived xenograft, PDX)模型的基础上,采用原位移植的方法建立了人源性肿瘤组织原位异种移植(patient-derived orthotopic xenograft, PDOX)模型,观察肿瘤的发生和转移特征。PDOX 模型更好地保留了患者肿瘤的组织病理、基因组特性及药物敏感性,并且可以作为患者“替身”来研究药物反应,从而促进肿瘤基础研究向临床转化。

## 1 PDOX 模型的研究概况

异质性是肿瘤的基本特征,原发瘤中只用少数具有转移潜能的瘤细胞能够从原发灶脱落,突破周围基质屏障,侵入血管或淋巴管,迁移、黏附于适宜部位,最终在远处形成转移灶<sup>[1-2]</sup>。良好的转移模型一方面要保持原发瘤的生物学特性,另一方面要模拟肿瘤局部浸润性生长和远处转移这一过程。肿瘤转移的发生与移植瘤原位细胞微环境及转移器官的微环境密切相关<sup>[3]</sup>。原位移植是目前广泛接受的肿瘤异种移植方法,可以更好保存肿瘤原有组织结构,其恶性行为的表达更接近于临床。常规制备转移模型的方法是使用具有高转移潜能的传代肿瘤细胞系直接原位或异位移植,方法简单,但转移发生率低;或是在皮下形成实体瘤再行原位移植可提高转移发生率。但细胞系长期体外培养丧失肿瘤的异质性,易造成原发瘤某些基因型和间质成分的缺失,影响肿瘤生物学特性的表达,发生转移概率不确定,与临床实际存在较大差别<sup>[4]</sup>。

将人体新鲜的肿瘤组织移植到免疫缺陷小鼠体内建立的 PDX 模型,较好地保持了原发瘤的异质性<sup>[5-6]</sup>。但该类模型主要移植于裸鼠皮下,很难发生与临床相近的转移特征。通过手术将肿瘤组织移植到与原发部位相应动物器官的原位移植可提供适合肿瘤生长的体内环境<sup>[7]</sup>,有利于原发肿瘤的基因和生物学特性的表达,维持肿瘤的异质性;由于移植部位血供丰富,有利于肿瘤转移的发生。已证实 PDOX 模型可更好地模拟患者肿瘤生长的微环境(tumor microenvironment, TME)组分,包括免疫细胞、癌症相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAFs)、肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)、周细胞和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)以及丰富的血管、淋巴

管,与皮下移植相比, PDOX 模型更客观、准确地模拟人体肿瘤的体内演进过程,易形成与临床肿瘤相似的转移特征。

## 2 PDOX 模型的建立方法

PDOX 模型的建立可分为皮下移植后原位传代和组织块直接移植两种方法。前者应用最广泛,主要是提高单位体积内肿瘤细胞的数量,从而提高原位移植成功率。例如,Choi 等<sup>[8]</sup>的一项研究探讨了胃癌劳伦分型(Lauren classification)与肿瘤细胞百分比对移植成功率的关系。实验结果表明,由于弥漫型胃癌中的肿瘤细胞分散在基质组织中,单位面积内肿瘤细胞数量很低[弥漫型( $24.4 \pm 21.4$ )%,肠道型( $47.0 \pm 28.7$ )%,其他类型( $41.0 \pm 26.3$ )%,  $P=0.001$ ]使得它异种移植成功率大大降低。因此,将患者来源的肿瘤组织样本首先接种于小鼠皮下生长并传代,在一定的传代次数内不仅能够维持患者原发肿瘤的重要基本特征,还能够扩增患者原发肿瘤组织,以获得足够数量和高质量的肿瘤材料用于原位移植。

采用临床肿瘤标本直接原位移植虽然可以提供与原发肿瘤相似的微环境,但成功率低,影响因素较多,特别是一些消化道肿瘤,因其原发于消化道腔内,其原位移植的成功率进一步降低<sup>[9]</sup>。主要原因是:①临床标本中单位体积内肿瘤细胞数量有限;②原位移植可接受的瘤组织较小;③手术操作难度大。尽管如此,这种组织移植更能重现患者原发肿瘤的异质性,并在小鼠连续传代的早期阶段(通常 3~5 代)较好地保持了原发瘤遗传学和组织学复杂性,从而更加准确地显示出患者的临床实际。

## 3 PDOX 模型的优缺点

### 3.1 PDOX 模型的优点

#### 3.1.1 保留原发肿瘤的基因特征

Braekeveldt 等<sup>[10-11]</sup>对建立的神经母细胞瘤 PDOX 模型进行单核苷酸多态性分析,结果显示 *MYCN* 扩增和 17q 增加,保留了临床相应患者重要的基因特征。Zhang 等<sup>[12]</sup>从建立的胃癌异种移植模型中观察到其与亲本肿瘤间 *FGFR2* 和 *MET* 基因扩增的高度相似性。另一项小鼠肾包膜下原位移植患者源性肾细胞癌组织的研究中,所有成功的移植瘤中癌细胞转移至临床相关位点(包括骨),且移植瘤和患者原发肿瘤之间具有可比较的全基因表

达。给予伊舒替尼治疗小鼠,与对照组相比,也显示出了与临床患者相似的反应<sup>[13]</sup>。多项研究表明 PDOX 模型能够保持患者肿瘤大多数的关键基因,个体化治疗应用前景广泛。

### 3.1.2 保存肿瘤患者染色体结构的稳定性

Braekveldt 等<sup>[14]</sup>在神经母细胞瘤的研究中发现 PDOX 模型保留了肿瘤微环境标志物及患者重要的肿瘤细胞分子特征,例如 PDOX#5 保留神经母细胞瘤标志物 CD56/NCAM、酪氨酸羟化酶、嗜铬粒蛋白 A 和突触泡蛋白的表达以及大多数染色体畸变(包括 1p 缺失和 17q 增加),并使用 NCAM 免疫组织化学染色(immunohistochemical staining, IHC staining)检测到肿瘤转移扩散至肺和肝。Zhao 等<sup>[15]</sup>对从人成神经管细胞瘤(即髓母细胞瘤)和胶质瘤 PDOX 模型中分离的单个细胞进行光谱核型分析检测到染色体畸变,并在匹配的单层培养物中保持 82.0% 的数值变化和 82.4% 的结构异常。魏强和脱朝伟等<sup>[16-18]</sup>分别建立了胰腺癌、直肠癌和肝癌原位移植模型,他们发现这些移植瘤的解剖学及组织病理学与人类原发肿瘤相似,进一步采用流式细胞术测定正常组织细胞及直肠癌、肝癌移植瘤细胞中的 DNA 含量,并进行了染色体检查,结果显示细胞 DI 值(DNA index)为 1.57 ~ 1.61,均为异倍体, DNA 倍体水平和染色体核型的特点与原发肿瘤相一致,这些都为研究肿瘤转移机制,筛选肿瘤标志物及靶向治疗提供了基础。

### 3.1.3 保留原发瘤的微血管、基质成分及相互作用

肿瘤基质通过影响肿瘤细胞的增殖浸润、迁徙转移、上皮-间质转化、肿瘤干细胞特性和耐药性等调控肿瘤的发生、恶变及转移。Boone 等<sup>[19]</sup>研究发现虽然异位和原位卵巢癌异种移植模型都显示了与肿瘤患者相似的组织学、基因学等特征,但在 PDOX 模型中肿瘤生长、转移模式和腹水的发展与人体更为相似。Hoffman<sup>[20]</sup>描述了 *HER2* 阳性宫颈癌的 PDOX 模型在裸鼠中转移,包括腹膜、肝、肺以及淋巴结转移,反映了患者原发肿瘤的转移模式,且后续实验证据表明裸鼠中的原发性肿瘤和转移瘤具有与患者原发瘤相似的组织学结构。另外他们还建立了结肠癌的患者源性原位异种移植模型,与原位移植细胞系相比,原位瘤组织模型中可观察到更大程度的转移。Igarashi 等<sup>[21]</sup>建立了成人横纹肌肉瘤的皮下及原位模型,研究表明原位模型为恶性,与人原发肿瘤更相似,且肿瘤仅在 PDOX 模型中

进行侵袭,这些结果表明在异种移植模型中原位和皮下具有不同的微环境,肿瘤的生长需要适当的肿瘤微环境以模拟患者中的转移侵袭行为。越来越多的研究表明,原位移植是迈向肿瘤生长、转移和反映患者药物反应的个体化模型的重要一步。

### 3.1.4 移植位点与化疗反应相关

受体器官的微环境可能会影响特定的治疗反应,原位移植模型能够准确地预测临床患者的疾病预后,并为患者筛选出最合适的个体化治疗方案,使患者从中获益。分析原因主要是肿瘤微环境的一些成分,如血管生成、免疫细胞运输、以及基质分泌的细胞外因子等是肿瘤细胞对化疗药物反应的重要影响因素<sup>[22-24]</sup>。例如, Wilmanns 等<sup>[25]</sup>建立原位、皮下及肝转移结肠癌的小鼠模型,对比肿瘤生长情况及其对多柔比星的敏感性差异,发现用多柔比星处理这些模型具有器官部位特异性反应,皮下肿瘤比盲肠壁或肝脏中生长的肿瘤对多柔比星更加敏感,这可能是由于皮下肿瘤的蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 活性高于肝癌和盲肠肿瘤,从这些组织中收集的肿瘤细胞的流式细胞检测显示 P-糖蛋白表达与其对多柔比星的敏感性成反比。Hiroshima 等<sup>[26]</sup>同时建立了人类宫颈癌皮下 PDX 模型和 PDOX 模型,并比较了二者在组织学与药物反应等方面的差异,他们应用恩替诺特分别处理这两种小鼠模型,结果显示,药物对皮下 PDX 移植瘤无生长抑制作用,而在 PDOX 模型中,使用恩替诺特显著降低了转移瘤的生长。已有多项研究表明肿瘤生长所处的器官微环境能够直接影响肿瘤的生物特性,在 PDOX 模型中生长的肿瘤具有差异化学敏感性<sup>[27-29]</sup>。

## 3.2 PDOX 模型存在的问题

尽管 PDOX 具有显著的优势,但是依然存在一些局限性,其中最主要的问题是人类肿瘤基质成分会逐步被小鼠基质所取代<sup>[30]</sup>,从而导致小鼠与人类之间药物代谢方面的差异,影响基础实验研究结果向临床试验的转化,通常这种基质被取代的速率在 3 ~ 5 代之间。然而,不同类型的肿瘤,甚至同一肿瘤的不同亚型的人类基质被取代的速率存在一定差异。例如,一项宫颈癌原位移植模型的研究显示至少经过 5 次传代时,传代肿瘤与患者来源肿瘤相比,具有相似的基质成分、组织结构和基因表达<sup>[31]</sup>。乳腺癌肿瘤在 4 ~ 8 次传代后,仍保留了原始肿瘤的主要特征<sup>[32]</sup>。另外在 *APC* 或 *p53* 突变中的结肠直

肠癌异种移植模型中,连续传代 8 次时观察到的染色体呈现相反的变化结果<sup>[33]</sup>。在一项乳腺癌原位移植模型报道中详细描述了多次传代后造成人源性基质成分的丧失,研究者对移植模型中的白细胞,分别用小鼠和人的 CD45 特异性抗体染色,结果显示移植物中 CD45 为鼠源性白细胞;同样的,研究者在该模型中检测到鼠源性的内皮细胞和成纤维细胞,而几乎未检测到人源性细胞<sup>[32]</sup>。另外,PDOX 模型在每一次传代过程中所发生的基质成分变异程度尚未可知,且其发生变化的确切时间尚不清楚。而在传代过程中丢失的组分,可能会对后期的药物治疗产生影响。因此,一般认为低传代数(< 10 代)的异种移植模型能够保持原发肿瘤的组织病理特征和基因完整性,是用于药物检测的理想模型<sup>[22]</sup>。

由于存在物种差异,移植到小鼠体内的人类肿瘤与其相应的临床患者相比,生长速度较快,且人与小鼠的药效动力学存在差异<sup>[34]</sup>。PDOX 模型的另外一个局限性是来源于患者原发肿瘤的样本之间也存在个体差异,其是否发生转移与样本自身的浸润侵袭能力相关。PDOX 模型是否建模成功往往需要数月的时间,而对于晚期或复发患者是否能够获得足够的生存时间从 PDOX 模型中获益依然是一个待解决的问题。

#### 4 总结

虽然有些肿瘤细胞具有转移潜能,但在病人体内并未发生转移,可能是由于及时手术阻断了肿瘤细胞粘附聚集形成转移灶的途径。如果将肿瘤组织移植到免疫缺陷小鼠原位,提供与肿瘤发生、发展和转移相适应的微环境,不仅可以有效表达原发瘤的生物学特性,而且可充分展现肿瘤细胞转移潜能,这是 PDOX 模型所特有的优势。由于肿瘤的形成和转移的发生受诸多因素影响,特别是免疫缺陷小鼠的微环境和人体内环境尚不完全相同,原位移植瘤可能在形态结构方面与原发瘤存在一定的差别,原位移植并不能完全保证转移的发生。因此,建立个体化的转移模型必须先通过组织形态和肿瘤相关基因的分析,确认原位移植瘤与原发瘤一致后才能进行转移模型筛选,同时考虑到转移模型发生的比例,必须要有充足的 PDX 模型提供筛选。

同时,由于建立 PDOX 模型使用免疫缺陷小鼠,不能重现免疫系统在肿瘤发生发展中的作用,目前

已有研究通过移植人体免疫组织成功创建了“人源化 PDX”小鼠模型<sup>[35-36]</sup>,推进了其在免疫治疗方面的发展。若将目前免疫治疗中所使用的 Anti-PD<sup>[37]</sup>和 CAR-T 疗法<sup>[38]</sup>应用于人源化 PDOX 模型,并结合体外实验,将会有良好的预期效果。

总之,PDOX 模型在肿瘤研究中发挥了重要作用,使用 PDOX 模型所进行的研究几乎都显示出了改善临床效果的预期性。PDOX 模型可以鉴定肿瘤生物标记物,筛选敏感药物,并根据患者对某种特定治疗的反应和预后的不同,将患者分为不同亚群,开展个体化治疗。目前多个机构已经创建了异种移植模型的数据库,共享异种移植模型的信息与研究结果,使更多的患者获益<sup>[39-40]</sup>。随着 PDOX 模型的不断改进,将会产生更好的临床转化效果。

#### 参考文献:

- [1] Chambers AF, Groom AC, MacDonald IC. Dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites [J]. Nat Rev Cancer, 2002, 2(8): 563-572.
- [2] Kang Y. Analysis of cancer stem cell metastasis in xenograft animal models [J]. Methods Mol Biol, 2009, 568: 7-19.
- [3] Monsky WL, Mouta Carreira C, Tsuzuki Y, et al. Role of host microenvironment in angiogenesis and microvascular functions in human breast cancer xenografts; mammary fat pad versus cranial tumors [J]. Clin Cancer Res, 2002, 8(4): 1008-1013.
- [4] Bousquet G, Janin A. Patient-derived xenograft: an adjuvant technology for the treatment of metastatic disease [J]. Pathobiology, 2016, 83(4): 170-176.
- [5] Cassidy JW, Caldas C, Bruna A. Maintaining tumor heterogeneity in patient-derived tumor xenografts [J]. Cancer Res, 2015, 75(15): 2963-2968.
- [6] Rosfjord E, Lucas J, Li G, et al. Advances in patient-derived tumor xenografts: from target identification to predicting clinical response rates in oncology [J]. Biochem Pharmacol, 2014, 91(2): 135-143.
- [7] Sicklick JK, Leonard SY, Babicky ML, et al. Generation of orthotopic patient-derived xenografts from gastrointestinal stromal tumor [J]. J Transl Med, 2014, 12: 41.
- [8] Choi YY, Lee JE, Kim H, et al. Establishment and characterisation of patient-derived xenografts as preclinical models for gastric cancer [J]. Sci Rep, 2016, 6: 22172.
- [9] Jin K, Teng L, Shen Y, et al. Patient-derived human tumour tissue xenografts in immunodeficient mice: a systematic review [J]. Clin Transl Oncol, 2010, 12(7): 473-480.
- [10] Braekveldt N, Wigerup C, Gisselsson D, et al. Neuroblastoma patient-derived orthotopic xenografts retain metastatic patterns and geno- and phenotypes of patient tumours [J]. Int J Cancer, 2015, 136(5): E252-E261.
- [11] Braekveldt N, Wigerup C, Gisselsson D, et al. Neuroblastoma patient-derived orthotopic xenografts: clinically relevant models

- for drug testing [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(5 Suppl): A02.
- [12] Zhang T, Zhang L, Fan S, et al. Patient-derived gastric carcinoma xenograft mouse models faithfully represent human tumor molecular diversity [J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0134493.
  - [13] van Marion DM, Domanska UM, Timmer-Bosscha H, et al. Studying cancer metastasis: existing models, challenges and future perspectives [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2016, 97: 107–117.
  - [14] Braekeveldt N, Wigerup C, Tadeo I, et al. Neuroblastoma patient-derived orthotopic xenografts reflect the microenvironmental hallmarks of aggressive patient tumours [J]. *Cancer Lett*, 2016, 375(2): 384–389.
  - [15] Zhao X, Zhao YJ, Lin Q, et al. Cytogenetic landscape of paired neurospheres and traditional monolayer cultures in pediatric malignant brain tumors [J]. *Neuro Oncol*, 2015, 17(7): 965–977.
  - [16] 刘秋珍, 脱朝伟, 张宁, 等. 人原发性直肠恶性淋巴瘤裸小鼠原位移植模型的建立及其生物学特性 [J]. *消化外科*, 2006, 5(3): 206–210.
  - [17] 脱朝伟, 刘秋珍, 张宁, 等. 人肝原发性恶性淋巴瘤裸小鼠原位移植模型的建立及生物学特性的研究 [J]. *解放军医学杂志*, 2005, 30(10): 877–880.
  - [18] 刘秋珍, 脱朝伟, 张龙石, 等. 两株人胰腺癌裸小鼠胰腺内原位移植模型的建立及其生物学特性 [J]. *解放军医学杂志*, 1993, 18(2): 124–127.
  - [19] Boone JD, Dobbin ZC, Straughn JM Jr, et al. Ovarian and cervical cancer patient derived xenografts: the past, present, and future [J]. *Gynecol Oncol*, 2015, 138(2): 486–491.
  - [20] Hoffman RM. Patient-derived orthotopic xenografts: better mimic of metastasis than subcutaneous xenografts [J]. *Nat Rev Cancer*, 2015, 15(8): 451–452.
  - [21] Igarashi K, Kawaguchi K, Kiyuna T, et al. Patient-derived orthotopic xenograft (PDOX) mouse model of adult rhabdomyosarcoma invades and recurs after resection in contrast to the subcutaneous ectopic model [J]. *Cell Cycle*, 2017, 16(1): 91–94.
  - [22] Izumchenko E, Meir J, Bedi A, et al. Patient-derived xenografts as tools in pharmaceutical development [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2016, 99(6): 612–621.
  - [23] Ostman A. The tumor microenvironment controls drug sensitivity [J]. *Nat Med*, 2012, 18(9): 1332–1334.
  - [24] Murakami T, Li S, Han Q, et al. Recombinant methioninase effectively targets a Ewing's sarcoma in a patient-derived orthotopic xenograft (PDOX) nude-mouse model [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(22): 35630–35638.
  - [25] Wilmanns C, Fan D, Obrian C, et al. Modulation of doxorubicin sensitivity and level of P-glycoprotein expression in human colon-carcinoma cells by ectopic and orthotopic environments in nude-mice [J]. *Int J Oncol*, 1993, 3(3): 413–422.
  - [26] Hiroshima Y, Maawy A, Zhang Y, et al. Patient-derived mouse models of cancer need to be orthotopic in order to evaluate targeted anti-metastatic therapy [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(44): 71696–71702.
  - [27] Tsuzuki Y, Mouta Carreira C, Bockhorn M, et al. Pancreas microenvironment promotes VEGF expression and tumor growth: novel window models for pancreatic tumor angiogenesis and microcirculation [J]. *Lab Invest*, 2001, 81(10): 1439–1451.
  - [28] Hobbs SK, Monsky WL, Yuan F, et al. Regulation of transport pathways in tumor vessels: role of tumor type and microenvironment [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(8): 4607–4612.
  - [29] Fidler IJ. Angiogenic heterogeneity: regulation of neoplastic angiogenesis by the organ microenvironment [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2001, 93(14): 1040–1041.
  - [30] Monsma DJ, Monks NR, Cherba DM, et al. Genomic characterization of explant tumorgraft models derived from fresh patient tumor tissue [J]. *J Transl Med*, 2012, 10: 125.
  - [31] Chaudary N, Jaluba K, Pintilie M, et al. Establishment of orthotopic primary cervix cancer xenografts [J]. *Methods Mol Biol*, 2015, 1249: 381–391.
  - [32] DeRose YS, Wang G, Lin YC, et al. Tumor grafts derived from women with breast cancer authentically reflect tumor pathology, growth, metastasis and disease outcomes [J]. *Nat Med*, 2011, 17(11): 1514–1520.
  - [33] Julien S, Merino-Trigo A, Lacroix L, et al. Characterization of a large panel of patient-derived tumor xenografts representing the clinical heterogeneity of human colorectal cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(19): 5314–5328.
  - [34] Jung J. Human tumor xenograft models for preclinical assessment of anticancer drug development [J]. *Toxicol Res*, 2014, 30(1): 1–5.
  - [35] Bockhorn J, Prat A, Chang YF, et al. Differentiation and loss of malignant character of spontaneous pulmonary metastases in patient-derived breast cancer models [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(24): 7406–7417.
  - [36] Shultz LD, Saito Y, Najima Y, et al. Generation of functional human T-cell subsets with HLA-restricted immune responses in HLA class I expressing NOD/SCID/IL2r<sup>null</sup> humanized mice [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(29): 13022–13027.
  - [37] Tanaka Y, Okamura H. Anti-PD-1 antibody: basics and clinical application [J]. *Gan To Kagaku Ryoho*, 2013, 40(9): 1145–1149.
  - [38] Golubovskaya V, Wu L. Different subsets of T cells, memory, effector functions, and CAR-T immunotherapy [J]. *Cancers (Basel)*, 2016, 8(3): 36.
  - [39] Sia D, Moeini A, Labgaa I, et al. The future of patient-derived tumor xenografts in cancer treatment [J]. *Pharmacogenomics*, 2015, 16(14): 1671–1683.
  - [40] Hidalgo M, Amant F, Biankin AV, et al. Patient derived xenograft models: an emerging platform for translational cancer research [J]. *Cancer Discov*, 2014, 4(9): 998–1013.