



基于人源化免疫重建的患者来源肿瘤组织异种移植模型的研究进展

赵宁宁¹, 张正², 王彦博², 师长宏^{1*}

(第四军医大学 1. 实验动物中心; 2. 基础医学院四大队, 西安 710032)

【摘要】 将患者的肿瘤组织移植于免疫缺陷小鼠体内建立的肿瘤移植模型(patient-derived xenograft, PDX)较好地保留了原发瘤的生物学特性,但瘤组织基质成分会在小鼠体内传代过程中逐渐被鼠源性基质代替,缺乏免疫系统的小鼠体内环境也会改变肿瘤的微环境,原发肿瘤的异质性会逐渐丢失,从而限制了该类模型的应用;将人的造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)移植于低剂量X线全身照射或其他方法清理骨髓的重度免疫缺陷小鼠,然后再将患者的瘤组织移植于该小鼠建立的人源化肿瘤模型(humanized patient-derived xenograft, Hu-PDX),具有与人相似的免疫系统,可以更好的保留原发瘤的异质性。研究证实人的HSCs在小鼠体内可以产生各种免疫细胞,使肿瘤生长微环境与人体更相似,更好的保留了肿瘤的异质性,为肿瘤的个体化研究提供了良好的动物模型。

【关键词】 患者来源肿瘤组织异种移植模型;肿瘤;免疫重建;人源化小鼠

【中图分类号】 Q95-33

【文献标识码】 A

【文章编号】 1005-4847(2018) 06-0804-05

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2018.06.021

Research progress on humanized patient-derived xenograft(Hu-PDX) models

ZHAO Ningning¹, ZHANG Zheng², WANG Yanbo², SHI Changhong^{1*}

(1. Laboratory Animal Center; 2. the Fourth Brigade of Basic Medical College, the Fourth Military Medical University, Xi'an, Shanxi 710032, China)

Corresponding author: SHI Changhong. E-mail: changhong@fmmu.edu.cn

【Abstract】 The patient-derived xenograft (PDX) model established by transplanting the patient's tumor tissue into immunodeficient mice well preserves the biological characteristics of the primary tumor. However, the stroma component of the tumor tissue from patients is gradually replaced by the mouse-derived matrix over time in mice. The conditions in mice lacking an immune system will also change the microenvironment of the tumor, and the heterogeneity of the primary tumor will gradually be lost, thus limiting the application of the PDX model. The above problems can be resolved by a humanized patient-derived xenograft (Hu-PDX), which was established by transplanting human hematopoietic stem cells (HSCs) into immunodeficient mice, in which exposure to low-dose whole-body irradiation causes damage to bone marrow cells, or other method to clean up the bone marrow, forming humanized immune system mice (HISM). Then, the tumor tissues from patients can be transplanted into the HISM. HSCs in the mice can be induced to produce human immune cells. That makes the microenvironment of the tumor grown more similar to that in humans. This model well maintain the molecular heterogeneity of the primary tumor, and provides a good animal model for individualized tumor treatment.

【Keywords】 patient-derived xenograft model; tumor; immune reconstitution; humanized mouse

Conflict of interest statement: We declare that we have no conflict of interest statement.

【基金项目】 国家自然科学基金项目(31772546,31572340)。

Funded by National Natural Science Foundation of China(31772546,31572340).

【作者简介】 赵宁宁(1985—),讲师。Email:18729517815@163.com

【通信作者】 师长宏(1973—),男,教授,博士,研究方向:人类疾病动物模型。Email:changhong@fmmu.edu.cn

PDX (patient-derived xenograft, PDX) 模型由于缺乏免疫系统不能用于肿瘤免疫反应方面的研究,完整的该模型在传代中人的基质成分会逐渐被小鼠代替,肿瘤基因分子异质性不能长久保持,在药物靶向治疗及肿瘤发生机制研究方面具有一定的局限性^[1-2]。而将人的造血干细胞 (hematopoietic stem cells, HSCs) 移植于 X 线照射的重度免疫缺陷小鼠,然后再将患者的瘤组织移植于该小鼠建立人源化肿瘤模型 (humanized patient-derived xenograft, Hu-PDX),可以给肿瘤提供与人体更相似的生长环境,同时,肿瘤基质包含了人的免疫细胞及细胞因子等成分,在肿瘤靶向治疗与肿瘤发生、发展、转移机制研究方面具有重要的应用价值,尤其在研究肿瘤免疫治疗方面,是更理想的肿瘤模型^[3-5]。本文将对 Hu-PDX 模型的研究进展进行系统的阐述。

1 Hu-PDX 模型的建立方法

Hu-PDX 模型的建立分两大部分:(1)免疫系统人源化小鼠 (humanized immune system mice, HISM)。常用免疫系统重建方法有三种:一种是将人的骨髓、肝、胸腺组织共移植于小鼠体内 (bone marrow-liver-thymus, BLT),这种模型虽然免疫重建效果较好,但是免疫重建材料来源有限,且对患者的创伤很大,不适宜用作临床患者个体化治疗的研究^[1];还有一种方法是将人的外周血单核细胞 (peripheral blood mononuclear cells, PBMCs) 移植于小鼠体内,这种方法操作简单,且可获得大量的细胞,但是移植的 PBMCs 产生的人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA) 限制了小鼠体内 T 细胞和 NK 细胞的产生,而且移植后 4 周左右小鼠会出现严重的移植物抗宿主疾病 (graft-versus-host disease, GVHD),从而限制了利用模型做实验的时间;将人血 CD34⁺ HSCs (使用免疫磁珠方法从 PBMCs 中分离) 移植于免疫缺陷小鼠体内是目前制备 Hu-PDX 模型较常采用的方法^[3],通过检测 CD34⁺ 的表达评估骨髓移植的效果,也可以作为扩增 HSCs 的标记,该类干细胞具有很强的增殖能力。据文献报道,CD34⁺ HSCs 在体内可以分化成呼吸道上皮细胞、肝细胞、心肌细胞等^[6-8]。脐带血中含有较多的 HSCs,将 CD34⁺ 脐带血 HSCs 移植入小鼠体内后,可以分化成人 CD45⁺、CD3⁺ 和 CD151⁺ 等细胞,从而成功建立 HISM 模型。但是,使用脐带血 HSCs 建立的 HISM 体内免疫环境无法与人的肿瘤组织相匹配,将患者的肿瘤组织移植入此类 HISM 后,其免疫系统并不能与原发瘤相对应^[2-4]。如果

将患者外周血的 HSCs 移植于小鼠体内后建立 HISM,该小鼠体内微环境与患者肿瘤组织生长环境相似,可以使肿瘤特性与患者更相似。正常情况下,人外周血中 CD34⁺ HSCs 较少,不能提供足量的移植用细胞,而化疗后患者骨髓再生的早期 CD34⁺ HSCs 显著增加,此时给予患者注射粒细胞刺激因子 (granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF),则骨髓增生加快,骨髓腔内压力升高,外周血中的 CD34⁺ HSCs 会进一步增多^[9-10]。因此,从动员后患者外周血中可分离较多的 CD34⁺ HSCs;进一步加入干细胞刺激因子 Flt3、SCF 和 IL-3 等扩增培养,然后移植于骨髓破坏的免疫缺陷小鼠体内,则可建立更有效的 HISM,该小鼠可用于进一步建立免疫系统与肿瘤组织来源于同一个患者的 Hu-PDX 模型^[11]。(2)患者的肿瘤组织移植入 HISM 小鼠建立 Hu-PDX 模型。通常免疫缺陷小鼠接种人免疫细胞 (HISM) 4 周后将患者肿瘤组织移植于其体内,肿瘤能够生长,且小鼠体内产生的人源性免疫细胞成分及细胞因子等与肿瘤之间相互作用,在模型肿瘤组织中能够检测到人的免疫治疗靶点和细胞因子等,肿瘤在病理形态及基因完整性等方面显示出更好的肿瘤异质性,标志 Hu-PDX 模型建立成功^[12-13]。

2 Hu-PDX 模型建立成功的影响因素

Hu-PDX 模型是否能够建立成功与 HSCs 的数量和小鼠品系的选择等因素密切相关。外周血 PBMCs 中分离的 CD34⁺ HSCs 使用干细胞专用无血清培养基联合细胞因子 Flt3、SCF、G-CSF 等的刺激能够扩增数十倍,足够的细胞数量也是保证免疫重建成功的前提条件,文献报道每只小鼠移植量必须不低于 5×10^5 个^[5,7];不同品系的免疫缺陷小鼠都可用作实体瘤的移植,然而由于人免疫细胞的生存需要高度依赖兼容性信号,很容易在宿主吞噬信号的作用下被吞噬,这些小鼠并不都适合建立人源化免疫系统 (humanized immune system, HIS)^[13-14]。通常被用作建立人源化小鼠模型的小鼠有: NSG (NOD. Cg-PrkdcscidIL2rgt^{m1Wjl}/SzJ)、NOG (NOD. CgPrkdc^{scid}IL2rgt^{m1Sug}/JicTac)、BRG (C. Cg-Rag1^{tm1Mom}IL2rgt^{m1Wjl}/SzJ)。NOD (非肥胖糖尿病) 背景的小鼠有 NK 细胞功能缺陷;SCID (严重联合免疫缺陷) 是一种功能缺失突变即影响 DNA 依赖的蛋白激酶 (DNA-PK),一种在 T 细胞和 B 细胞发育的过程中参与 V(D)J 重组的 DNA 修复酶。因此,SCID 小鼠体内 T 细胞和 B 细胞水平降低。失活的白介素-2 (IL-2) 受体 γ -链导致 T 细胞和 B 细胞发育障碍并阻止 NK 细胞产生。重组激活基因 1 (RAG1) 是 V

(D)J 重组的必要条件;因此,RAG1 失活突变影响 T 细胞和 B 细胞的发育。以上几种品系小鼠在有功能的人免疫细胞移植方面表现出细微差别。PBMCs 移植免疫缺陷小鼠一般免疫成分可以保持 2~5 周。将 CD34⁺HSCs 注入这些小鼠体内会产生主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)限制了 T 细胞和 B 细胞,以及单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞和树突状细胞的数量,通常人的免疫细胞成分在小鼠体内可以保持 8~9 周。另外,有些品系小鼠经过基因改造后可以产生多种人类细胞因子,进一步刺激造血系统的分化。比如,NOG-GM3 小鼠表达人 IL-3 和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF),NSG-SGM3 小鼠表达人 IL-3, GM-CSF 和 SCF(也称为 KIT ligand),MISTRG 小鼠表达人 IL-3,GM-CSF 和巨噬细胞 CSF(也叫 CSF1)。这些小鼠体内信号监管蛋白- α (SIRP α)和促血小板生成素(THPO)的产生增加了人骨髓、肥大细胞、调节性 T 细胞和 NK 细胞的数量^[13-15]。文献报道^[15-16],使用 PBMC 移植 NOG/NSG/BRG 小鼠建立的 HISM 只能产生 T 细胞和 NK 细胞,而使用 CD34⁺HSCs 移植 NOG/NSG/BRG/ NOG GM3/ NSG SGM3 小鼠建立的 HISM 可以产生人的 T 细胞和 B 细胞,以及单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞和树突状细胞,使用 CD34⁺HSCs 移植 MISTRG 小鼠建立的 HISM 可以产生除人 T 细胞、B 细胞、单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞和树突状细胞以外的 NK 细胞,MISTRG 小鼠目前最适用作建立 HISM 和肿瘤移植,用于制备 Hu-PDX 模型体现出良好的应用前景。肿瘤类别不同移植成功率具有较大差别,肿瘤本身的恶性程度与移植成功率具有正相关性,此外,移植部位、肿瘤新鲜度、清洁度及在运输过程中的保存等与移植的成功率也有一定的关系^[16-17]。

3 Hu-PDX 模型在临床前中的应用

3.1 免疫治疗

人类免疫系统成功移植入小鼠体内建立 HISM 模型的一个基本特性是具有抗肿瘤免疫反应能力。研究人员通过移植人免疫系统和头颈部肿瘤,成功建立了具有免疫治疗靶点的 Hu-PDX 模型^[18-19]。在最近一项研究中,Sanmamed 等^[20]将胃癌患者的淋巴细胞注射到 Rag 2^{-/-}-Il2 γ null 小鼠后,这些细胞在小鼠体内被激活并重新分布到小鼠体内各部位,流式检测显示,小鼠体内产生了人 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺细胞,4 周左右产生了 GVHD,人 PD-1 主要由 T 细胞及其亚群诱导产生,人 CD137 主要由

CD8⁺T 细胞诱导产生;当该小鼠注射 nivolumab(纳武单抗,一种 PD-1 抑制剂)和 urelumab(一种抗 CD137 的激动剂)后 GVHD 反应加重;进一步将同一个患者的胃癌组织移植到该方法建立的 HISM 体内,上述药物的使用会诱导自身 T 细胞的攻击,减缓肿瘤的生长^[20]。另外,目前肿瘤免疫调节靶向治疗也是一个热点,Chang 等^[8]使用 PBMCs 建立的人源化肾细胞癌原位模型用于检测靶向碳酸酐酶 IX 蛋白的有效性,结果显示该抗体诱导产生的 T 细胞能够抑制肿瘤生长。Hu 等^[21]联合移植人胎胸腺组织和转染人 HLA I 类限制性黑素瘤抗原(MART-1)TCR 基因的 CD34⁺HSPCs 成功建立了 HISM 模型,这种小鼠体内可以产生 MART-1-TCR⁺人 T 细胞;这些 T 细胞在体外可以用来观察特异抗原对黑色素瘤细胞的攻击;当这些 T 细胞移植到 NSG 黑色素瘤小鼠后,动物的生存时间显著延长^[21-23]。另外,目前 Ipilimumab(易普利姆玛,靶向 CTLA-4)单克隆抗体,nivolumab(靶向 PD-1)和 urelumab(靶向 PD-1)已经在免疫靶向治疗方面获得了较好的效果。

3.2 精准医学靶向治疗

没有经过分子筛选的肿瘤靶向治疗有效率仅在 10%~20% 之间^[17],而人们依据药物有效的分子特点和肿瘤的异质性对患者进行分层则取得了良好的效果。比如将小细胞肺癌患者按照 EML4-ALK⁺进行分层,其靶向治疗药物 ALK 激酶对小细胞肺癌 EML4-ALK⁺的抑制反应明显增加^[24]。然而即使给患者分层,临床反应也是短暂的,在疾病进展前通常只有 6~12 个月^[17],因此了解肿瘤的异质性仅仅是提高药物疗效的第一步。肿瘤细胞群对外界环境的适应能力特别强,可以很快进化为没有免疫系统的微环境的一部分。当人的肿瘤组织移植到免疫缺陷鼠后,由于鼠系的微环境缺乏免疫系统,因此治疗结果往往与患者不一致。文献报道^[18-19],虽然 PDX 模型较好的保持了肿瘤异质性,但在传代过程中也会丢失部分基因,因此,PDX 模型用于精准医学靶向治疗具有一定的局限性。

Hu-PDX 模型呈现出与人体内相似的动态微环境。在该模型中人们发现肿瘤细胞释放的趋化因子与基质产生的信号之间会相互影响^[11]。如,癌细胞由于基因突变会产生异常的表面抗原,通常这些抗原会遭受循环 T 细胞和 NK 细胞攻击,而癌细胞产生的细胞因子可以同化附近的免疫细胞并逃脱免疫监视;另外,癌细胞表达的配体也可抑制效应免疫细胞信号转导^[15]。在 Hu-PDX 模型中发现,趋化因子 CCL22 可以诱导调节性 T 细胞产生,而调节性 T 细胞产生的

细胞因子 TGF- β 和 IL-10 可以下调附近的免疫细胞活性, 同样, 许多细胞因子, 包括 CCL2, HIF-1 α 和 VEGF 可以募集肿瘤细胞中的循环单核细胞和髓源性抑制细胞 (MDSC), 这些细胞又可以在肿瘤内分化成相关巨噬细胞 (TAMs), 许多 TAMs 快速从 M1 型巨噬细胞转换为 M2 型巨噬细胞, 从而抑制其他细胞的免疫活性, 促发肿瘤的生长^[6,11]。此外, 在 Hu-PDX 模型中肿瘤和/或抗原呈递细胞表达的配体可以抑制效应免疫细胞的免疫检查点受体, 如细胞程序性死亡受体 1 (programmed cell death protein 1, PD-1), 细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4 (cytotoxic T lymphocyte associate protein-4, CTLA-4)^[6]。这种动态的微环境促使 Hu-PDX 模型中肿瘤组织能够更好的保持肿瘤基因序列的完整性, PD-1 等信号通路的存在也为肿瘤的靶向治疗提供与人体更相近的生长环境。如, 免疫重建的人头颈部肿瘤 Hu-PDX 模型不仅可以较好的保持肿瘤分子的异质性而且可以将部分丢失的基因重现。Horn 等^[16]报道, 以 T 细胞作为效应细胞的双特异性单链抗体 (Bi-specific T cell engagers, BiTEs), 即, 一种基因工程联合蛋白, 特异性靶向细胞程序性死亡-配体 1 (programmed cell death 1 ligand 1, PD-L1) 阳性肿瘤细胞和 CD3⁺ PBMC, 通过 CD3 复合物和靶向活化的肿瘤 T 细胞诱导了细胞毒性 T 细胞 (cytotoxic T lymphocyte, CTL) 的产生, 进而杀死 PD-L1 的肿瘤细胞, 延长人源化荷瘤小鼠的生存时间, 但是这种靶向药物对于不存在 PDL1⁺ 信号通路的肿瘤组织是无效的。因此, Hu-PDX 模型对肿瘤异质性的保留能力和它的人源化特性决定了它在精准靶向医学治疗中的重要性^[25-26]。

3.3 肿瘤发生发展与转移机制的研究

肿瘤的发生是由细胞和其周围的微环境相互作用造成的。患者体内的原发肿瘤微环境参与了肿瘤细胞的诱导、产生、发展及转移等。在肿瘤间质与肿瘤的相互作用过程中, 肿瘤从外界获得营养物质, 逐渐生长出新的血管, 增加了肿瘤细胞的转移和侵袭能力。当部分肿瘤细胞从原发部位脱落, 进入局部血管组织, 便会随着血液循环在适应的新部位形成继发肿瘤转移灶^[27-28]。研究报道 Hu-PDX 模型微环境与原发肿瘤更相似, 在肿瘤生长的过程中能够更好的反应肿瘤与肿瘤间质的相互作用, 为肿瘤的生长、发展、转移等的研究提供了更可靠的研究工具^[29]。如, Hu-PDX 模型小鼠体内含有人源化调节淋巴管及人细胞因子, 它们具有免疫监控、炎症和致癌作用, 可以与肿瘤之间相互影响^[30-31]。

4 Hu-PDX 模型的不足

为了避免由人 HLA 不匹配而引起的免疫反应, Hu-PDX 模型的建立, 至少要求造血干细胞来源与肿瘤来源患者的 HLA 相匹配, 而最理想的是造血干细胞来源与建立 PDX 模型的肿瘤来源是共同患者^[3,6]。但是, 从癌症患者分离造血干细胞并不是一件容易的事情, 一方面肿瘤患者身体较虚弱, 从骨髓取造血干细胞损伤大, 有一定的困难; 另一方面, 患者化疗后, 经 GM-CSF 刺激动员后的外周血中, 造血干细胞的数量并不是很多, 患者的年龄、自身伴随疾病等会影响外周血动员的效果, 若患者年龄大于 65 岁或是伴随有糖代谢障碍疾病等则动员外周血失败的可能性更大, 即动员后患者外周血中 CD34⁺ HSCs 的含量达不到 $2 \times 10^6/\text{kg}$, 而身体状况较好的患者, 动员后外周血干细胞含量可以达到 $5 \times 10^6/\text{kg}$, 严重限制了人源化小鼠建立的数量^[30-31]。随着造血干细胞培养技术的成熟, 在细胞因子的刺激下联合专用培养基, 造血干细胞可以在体外扩增数倍, 但是小鼠免疫系统的重建需要至少一个月, 而新鲜的肿瘤组织在小鼠体内移植成功也通常需要 2~4 个月, 整个过程时间较长, 花费也较大。

5 展望

Hu-PDX 模型不仅可以展现人体肿瘤临床进程, 而且给肿瘤的生长提供了与人体相似的微环境, 较好的模拟了肿瘤在人体内生长、发展及转移的过程, 同时也使研究者可以了解肿瘤对免疫药物的反应, 从而促进了肿瘤病理及分子等异质性的保持, 为肿瘤的精准靶向治疗提供了更有效的工具^[1,3]。重建的模型与患者免疫系统的匹配是 Hu-PDX 模型的关键问题。采用 CD34⁺ HSCs 或成熟循环 PBMCs 的标准方法可能会对人体或小鼠组织造成一些免疫损伤。为了持续研究肿瘤免疫的相互作用, 重建的免疫系统必须同时保持对人类供体的耐受性和其新宿主获得的耐受性。虽然, 目前已经有研究报道, 使用 MISTRG 小鼠建立的人源化小鼠能够产生具有免疫功能的免疫细胞, 但是 Hu-PDX 模型的建立还面临着较长的道路, 需要我们不断探索^[22-23]。

参 考 文 献 (References)

- [1] 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.
- [2] Zitvogel L, Pitt JM, Daillère R, et al. Mouse models in oncoimmunology[J]. Nat Rev Cancer, 2016, 16(12): 759-773.
- [3] Morton JJ, Bird G, Keysar SB, et al. XactMice: humanizing mouse bone marrow enables microenvironment reconstitution in a

- patient-derived xenograft model of head and neck cancer [J]. *Oncogene*, 2016, 35(3):290–300.
- [4] Wang X, Qi Z, Wei H, et al. Characterization of human B cells in umbilical cord blood-transplanted NOD/SCID mice [J]. *Transpl Immunol*, 2012, 26(2–3):156–162.
 - [5] 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.
 - [6] Morton JJ, Bird G, Refaeli Y, et al. Humanized mouse xenograft models: narrowing the tumor-microenvironment gap [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(21):1–18.
 - [7] Choi B, Chun E, Kim M, et al. Human T cell development in the liver of humanized NOD/SCID/IL-2R γ null (NSG) mice generated by intrahepatic injection of CD34 + human (h) cord blood (CB) cells [J]. *Clin Immunol*, 2011, 139(3):321–335.
 - [8] Chang DK, Moniz R J, 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.
 - [9] Boulad F, Shore T, van Besien K, et al. Safety and efficacy of plerixafor dose escalation for the mobilization of CD34 + hematopoietic progenitor cells in patients with sickle cell disease: interim results [J]. *Haematologica*, 2018, 103(5):770–779.
 - [10] Lwin T, Murakami T, Hoffman RM, et al. Abstract 3729: Tumor-specific antibody labeling of pancreatic cancer in a patient-derived orthotopic xenograft (PDOX) mouse model using a fluorescent humanized anti-CEA antibody [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(13 Supplement):3729–3729.
 - [11] Zhao Y, Shuen TWH, 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.
 - [12] Qin H, Malek S, Cowell JK, et al. Transformation of human CD34 + hematopoietic progenitor cells with DEK-NUP214 induces AML in an immunocompromised mouse model [J]. *Oncogene*, 2016, 35(43):5686–5691.
 - [13] Shi Y, Zhou P, Han X, et al. Autologous peripheral blood stem cell mobilization following dose-adjusted cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisolone chemotherapy alone or in combination with rituximab in treating high-risk non-Hodgkin's lymphoma [J]. *Chin J Cancer*, 2015, 34(11):522–530.
 - [14] Gaafar A, Sheereen A, Almohareb F, et al. Prognostic role of KIR genes and HLA-C after hematopoietic stem cell transplantation in a patient cohort with acute myeloid leukemia from a consanguineous community [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2018, 53(9):1170–1179.
 - [15] Joyceshaikh B, Keck J. Webinar | Humanized mouse models in checkpoint inhibitor development [J]. *Science*, 2017, 357(6352):721.2–721.
 - [16] Horn LA, Ciavattone NG, Atkinson R, et al. CD3xPD1L bispecific T cell engager (BiTE) simultaneously activates T cells and NKT cells, kills PD1 + tumor cells, and extends the survival of tumor-bearing humanized mice [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(35):57964.
 - [17] Cassidy JW, Caldas C, Bruna A. Maintaining tumour heterogeneity in patient-derived tumour xenografts [J]. *Cancer Res*, 2015, 75(15):2963–2968.
 - [18] Fu J, Sen R, Masica DL, et al. Autologous reconstitution of human cancer and immune system in vivo [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(2):2053–2068.
 - [19] Friedman AA, Letai A, Fisher DE, et al. Precision medicine for cancer with next-generation functional diagnostics [J]. *Nat Rev Cancer*, 2015, 15(12):747–756.
 - [20] 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*, 2016, 75(17):3466–3478.
 - [21] Hu Z, Xia J, Fan W, et al. Human melanoma immunotherapy using tumor antigen-specific T cells generated in humanized mice [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(6):6448–6459.
 - [22] Bug D, Oswald E, Grote A, et al. Abstract 4815: Humanized single mouse trial: A preclinical platform feasible for immunoncology drug screening and translational biomarker development [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(13 Supplement):4815–4815.
 - [23] 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.
 - [24] Fan CY, Huang SY, Chou MY, et al. De novo protein sequencing, humanization and in vitro effects of an antihuman CD34 mouse monoclonal antibody [J]. *Biochem Biophys Res*, 2016, 9(21):51–60.
 - [25] Hu Z, Xia J, Fan W, et al. Human melanoma immunotherapy using tumor antigen-specific T cells generated in humanized mice [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(6):6448–6459.
 - [26] Lee HS, Lee JG, Yeom HJ, et al. The introduction of human heme oxygenase-1 and soluble tumor necrosis factor- α receptor type I with human IgG1 Fc in porcine islets prolongs islet xenograft survival in humanized mice [J]. *Am J Transplant*, 2016, 16(1):44–57.
 - [27] Shafiee A, McGovern JA, Lahr CA, et al. Immune system augmentation via humanization using stem/progenitor cells and bioengineering in a breast cancer model study [J]. *Int J Cancer*, 2018, 143(6):1470–1482.
 - [28] Szabo PA, Goswami A, Memarnejadian A, et al. Swift intrahepatic accumulation of granulocytic myeloid-derived suppressor cells in a humanized mouse model of toxic shock syndrome [J]. *J Infect Dis*, 2016, 213(12):1990–1995.
 - [29] Sun F, Wang T, Jiang J, et al. Engineering a high-affinity humanized anti-CD24 antibody to target hepatocellular carcinoma by a novel CDR grafting design [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(31):51238–51252.
 - [30] Kasai N, Sasakawa A, Hosomi K, et al. Anti-tumor efficacy evaluation of a novel monoclonal antibody targeting neutral amino acid transporter ASCT2 using patient-derived xenograft mouse models of gastric cancer [J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(7):3399–3410.
 - [31] Chen L, Qiu Y, Hao Z, et al. A novel humanized anti-tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-R2 monoclonal antibody induces apoptotic and autophagic cell death [J]. *IUBMB Life*, 2017, 69(9):735–744.