



重建人类免疫系统的人源化小鼠模型及其在血液系统疾病研究中的应用*

龙 杰^{1,2,3} 杨志刚^{1,4}

(1. 广东医科大学, 湛江 524023) (2. 广东医科大学附属第一医院, 湛江 524001)

(3. 广东省实验动物监测所, 广州 510663) (4. 广东医科大学附属湛江中心人民医院, 湛江 524045)

摘要:动物模型在人类疾病发病机制的研究及药理学实验研究治疗中发挥重要作用。小鼠是目前主要的实验动物,但其与人类背景存在差异,不能完全模拟人类免疫系统及疾病状态。研究人员通过将人类细胞或组织植入免疫缺陷小鼠体内,可构建免疫系统人源化小鼠模型及人源化小鼠疾病模型。人源化小鼠可通过优化人源造血干细胞来源等条件,可得到免疫系统人源化程度较高的小鼠模型。目前,GVHD 人源化小鼠模型及白血病人源化小鼠模型已经应用在研究疾病发病机制及开发新型临床治疗药物等方面。

关键词:人源化小鼠;移植物抗宿主病;白血病;动物模型

中图分类号: R-332 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-6179(2019)04-0086-07

DOI: 10.3969/j.issn.1006-6179.2019.04.020

实验动物学在医学研究中发挥重要作用,实验动物模型可以用于模拟人类疾病发病以及药理学实验研究。其中灵长类动物在遗传学上与人类接近,曾在医学研究中有着举足轻重的地位,但由于灵长类动物价格昂贵及存在伦理学方面的限制,近年来逐渐减少在医学研究上的应用。小鼠作为实验动物的历史源远流长,但小鼠的遗传学背景与人类相差较大,为解决该问题,研究人员将人类细胞或组织植入免疫缺陷小鼠体内构建免疫系统人源化小鼠模型及人源化小鼠疾病模型,在这种人源化的小鼠动物模型中进行的研究更能模拟人类免疫系统及人类疾病实际情况。

1 免疫系统人源化小鼠模型的建立及优化

1.1 人源造血干细胞来源的选择

根据造血干细胞不同的起源部位,可分为胎肝造血干细胞、骨髓造血干细胞、粒细胞集落刺激因子(Granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)动员的

外周血造血干细胞、脐带血造血干细胞。其中,胎肝造血干细胞来源于胎儿,人类胎儿肝脏在妊娠第 10 周至第 20 周的大部分时间里是主要的造血器官。Kuchma 等^[1]在免疫表型的研究中,发现胎肝比脐带血含有更丰富的人类造血干祖细胞。Roncarolo 等^[2]从胎肝中获得的 HSC 免疫原性较弱,植入人类白细胞抗原(Human leukocyte antigen, HLA)不匹配的胎儿中也不会产生移植物抗宿主病(Graft-versus-host disease, GVHD)。Lepus 等^[3]在几个不同品系的免疫缺陷小鼠身上比较胎肝、脐带血、成人外周血来源的造血干细胞的植入率,结果表明,胎肝来源的 CD34⁺造血干细胞植入率最高。但胎肝来源于流产的胎儿,各项病原学阴性的流产胎儿的肝脏才成为收集的对象,另外,目前胎肝干细胞库极少,并且,胎肝的应用存在一些伦理相关的问题,使其在应用上受到较大的限制。

与胎肝相比,脐带血的来源更丰富、采集更方便,采集过程对母婴均无危害,也不存在应用胎肝造血干细胞所产生的伦理问题。脐血中 T 淋巴细胞

收稿日期:2019-01-25

* 基金项目:广东省科技计划基金项目(No. 2014A020212300; 2016A020215149);湛江市财政基金科技专项竞争性分配项目(No. 2016A06003)

作者简介:龙 杰(1984—),男,在读硕士研究生,研究方向:人源化小鼠模型.E-mail:365591959@qq.com

通信作者:杨志刚(1965—),男,医学博士,教授,博士生导师,研究方向:血液病的免疫学机制研究.E-mail:yangzg@gdmu.edu.cn

数较少且较原始,使用 HLA 不匹配的脐带血造血干细胞移植后 GVHD 发生率低^[4]。这些优点都是骨髓和外周血来源的造血干细胞所不具备的。

造血干细胞选择时,还要考虑 T 细胞的植入有产生 GVHD 的风险。但是,另一方面,适量的 T 细胞又具有促进移植植物植入的优点,这在人类造血干细胞移植领域已经得到了证实^[5]。Hexner 等^[6]分别在等剂量脐带血单个核细胞与去除 T 细胞的脐带血单个核细胞中,加入了抗 CD3/CD28 单克隆抗体刺激 T 细胞增殖,然后注入 NOD/SCID- $\beta 2m^{-/-}$ 小鼠体内。结果表明,未去除 T 细胞组人源 CD45⁺ 细胞的植入率明显比第二组高 (5.94% \pm 1.65% VS 0.29% \pm 0.79%),证明了在小鼠体内人源脐带血中 T 细胞有克服免疫屏障促进植入的作用。Hayakawa 等^[7]用 CD34⁺ 分选的脐带血单个核细胞与未分选的脐带血单个核细胞分别经白消安预处理后输入 NSG (NOD/SCID/IL-2R γ^{null}) 小鼠体内比较,发现 CD34⁺ 分选的脐带血单个核细胞组植入率明显高于其他组,且植入率长期维持在高水平状态。所以,目前主要选择脐带血 CD34⁺ 单个核细胞进行人源化小鼠模型的研究。

1.2 免疫缺陷小鼠的选择

小鼠的异种造血干细胞移植如同人类同种异基因造血干细胞移植一样,供者干细胞的植入需克服受者的免疫屏障,而这些免疫屏障就是受者本身的免疫状态,受者免疫缺陷程度越高,更利于供者的细胞植入^[8]。基于上述理论,人源化免疫小鼠通常选择免疫缺陷小鼠。

利用免疫缺陷小鼠进行人源化小鼠的研究经历了几个阶段。最早发现的免疫缺陷小鼠是裸鼠,由于 foxn1 基因的缺陷导致该小鼠胸腺发育受损^[9],从而没有成熟 T 细胞产生导致该小鼠 T 细胞依赖的免疫排斥几乎消失。但人源免疫细胞依然无法在该小鼠体内生存^[10]。

1983 年,研究人员发现 C.B-17 纯系小鼠 16 号染色体上的重症联合免疫缺陷 (Severe combined immunodeficiency, SCID) 基因发生隐性突变后,小鼠缺乏功能成熟的 T 和 B 淋巴细胞,由此得到了 SCID 小鼠^[11]。1988 年,McCune 等^[12]用 SCID 小鼠植入人胎肝干细胞、胎胸腺、胎淋巴结,可使人源 T 细胞和 B 细胞重建。但由于 SCID 小鼠的免疫缺陷程度不高,体内残留较多 NK 细胞及部分 T 细胞和 B 细胞,人源免疫细胞重建水平不高。由于 SCID 小鼠

对放射高度敏感,为降低放射敏感性,有学者通过敲除 Rag1^[13] (Recombinant activating gene) 或 Rag2^[14] 基因产生 Rag^{-/-} 小鼠。Rag1 和 Rag2 基因在 TCR 的重排和抗体生成方面发挥重要作用,是 T 细胞和 B 细胞成熟所必需的基因,因此, Rag1^{-/-} 小鼠及 Rag2^{-/-} 小鼠均缺乏功能成熟的 T 细胞和 B 细胞,但是也因它们的高 NK 细胞活性阻碍了人源细胞的植入^[15-16]。

随后通过 NOD (Non-obese diabetic) 背景小鼠与 SCID 小鼠回交得到免疫缺陷程度更高的 NOD/SCID 小鼠^[17]。这种小鼠的特点除了 T 细胞和 B 细胞等免疫细胞的功能丧失以外,还影响了部分 NK 细胞的功能,所以免疫缺陷程度比前述的小鼠更高。杨海燕等^[18]利用脐带血 CD34⁺ 单个核细胞注入 TBI 预处理的 NOD/SCID 小鼠,在第 8 周行流式细胞术检测,发现人源 CD45⁺ 细胞植入达到 (12.34 \pm 2.38)%,远高于 Lewis 等^[19]定义的 0.5% 的植入标准。但 NOD/SCID 小鼠随着年龄的增长,会出现“免疫渗漏”,即部分 T 和 B 细胞的功能恢复,且本身仍有 NK 细胞功能残留,使得其植入效率不高。

在此基础上,使 NOD/SCID 小鼠编码白介素 2 受体 γ 链的基因发生无效突变,产生 NSG^[20] (NOD/SCID/IL-2R γ^{null}) 小鼠。因为该受体的 γ 链是白介素 2、白介素 4、白介素 7、白介素 9、白介素 15、白介素 21 等细胞因子的共同受体,所以该基因的突变导致 NK 细胞成熟障碍和功能丧失,并且消除了 T 和 B 细胞的免疫渗漏现象,使得小鼠的免疫缺陷程度更高。McDermott 等^[21]比较了 NSG 小鼠与 NOD/SCID 等品系的小鼠外周组织的人源细胞植入率,结果表明,NSG 小鼠和 NOG (NOD/Shi-scid /IL-2R γ^{null}) 小鼠明显比 NOD/SCID 等品系小鼠的人源细胞植入率要高,而 NSG 小鼠在骨髓中人源细胞的植入率比其它品系的小鼠要高,雌性尤甚,所以 NSG 小鼠是目前人源化小鼠模型的最佳受鼠。

1.3 预处理方式的选择

预处理是输入人源细胞前的附加处理方式,目的是:1.产生骨髓抑制从而腾空骨髓龛及负反馈刺激造血再生,促进造血干细胞归巢骨髓龛并自我更新、增殖及分化^[22];2.产生免疫抑制预防移植被排斥,这些作用都有利于人源细胞植入。由于目前接受移植的小鼠主要为 NOD/SCID 小鼠等免疫缺陷鼠,本身由于缺乏 T 细胞和 B 细胞等免疫细胞已产生明显免疫抑制,所以预处理的策略主要是使小

鼠产生骨髓抑制^[23]。

传统小鼠移植的预处理方式有全身射线辐照 (Total body irradiation, TBI) 等, 预处理后, 人源细胞植入率比没有接受预处理的组别要高。其主要原因是使受者体内基质细胞衍生因子 (Stromal cell-derived factor-1, SDF-1)、干细胞因子 (Stem cell factor, SCF) 等细胞因子水平的升高, SDF-1^[24] 是 C-X-C 趋化因子受体 4^[25] (C-X-C chemokine receptor type 4, CXCR4) 的配体, 在人鼠之间可以发生交叉反应^[26], 而人源造血干细胞表面表达 CXCR4 分子, 通过 CXCR4—SDF-1 轴可以使经尾静脉注入的人源造血干细胞定向归巢到骨髓里, 人源造血干细胞只有归巢到骨髓环境里才能自我更新、增殖及定向分化。SCF^[27] 是干细胞生长因子, 主要生理作用是促进早期造血前体细胞的增殖和分化, Zheng 等^[28] 利用重组人 SCF 与脐带血 CD34⁺ 细胞体外培养植入 NOD/SCID 小鼠体内的植入率明显比未经处理的脐带血 CD34⁺ 细胞的组别要高。这些细胞因子、趋化因子的水平的上升可以使外源性人源细胞的植入率增高。传统的以 TBI 为主要手段的预处理策略的弊端是小鼠的死亡率较高, 小鼠的生存条件要求苛刻, 需严格的无菌环境和配备独立通气笼 (Individual ventilated Cage, IVC), TBI 设备需远离小鼠饲养的场所等, 这些都使得人源化小鼠模型应用受到限制。

白消安是一种烷化剂, 较早前已应用在人类骨髓移植上, 它的特点是强烈的骨髓抑制作用但免疫抑制作用较弱^[29], 其作用与 TBI 相似, 但高剂量的 TBI 常导致高死亡率, 而低剂量的 TBI 导致人源细胞植入率不高。Robert-Richard 等^[23] 在 NOD/SCID 小鼠回输人源造血干细胞前分别用白消安及 TBI 作预处理的比较, 结果表明 SRC (scid repopulating cells) 数目没显著差异。Choi 等^[30] 发现接受 2.4Gy 剂量 TBI 的 NSG 小鼠组第 24 周的存活率只有 33%, 而接受 20 mg/kg 和 30 mg/kg 单剂量的白消安的 NSG 小鼠组第 24 周的存活率是 100%。接受 30 mg/kg 单剂量的白消安的 NSG 小鼠组重建人源 B 细胞亚群的程度比接受 2.4Gy 剂量 TBI 的 NSG 小鼠组高, 而接受 40 mg/kg 单剂量的白消安的 NSG 小鼠组在 7 周内全部死亡。也有研究报道相隔 24 h 给予两次 25 mg/kg 剂量的白消安预处理在 NOD/SCID 小鼠^[31] 和在 NSG 小鼠^[22] 上都达到最佳人源细胞植入率。使用白消安预处理的小鼠存活率高, 不需要极度严格要求的小鼠饲养环境, 操作简便, 近

年来逐渐取代 TBI, 成为小鼠移植研究的主要预处理方式。

1.4 输注造血干细胞方式的选择

目前使用最广泛的输注造血干细胞的方式是小鼠尾静脉注射, 这种方式主要特点是便于操作, 但造血干细胞经尾静脉进入血液循环后大多数的造血干细胞都被滞留在外周器官, 仅有少数造血干细胞在各种趋化因子等介导下归巢骨髓。Yahata 等^[32] 比较骨髓腔内输注与尾静脉输注两种方法, 发现经骨髓腔内注射产生的 SRC 是经尾静脉注射的 15 倍, 因为骨髓腔内输注造血干细胞避开了各种外周器官滞留及各种细胞因子、趋化因子等因素的影响而直接归巢骨髓。但骨髓腔内注射技术要求较高, 注射成功率不高, 目前在做人源化小鼠各方面研究时两种方法均有研究人员使用。

2 人源化小鼠模型在血液疾病上的应用

2.1 人源化小鼠在研究 GVHD 上的应用

GVHD 是异基因造血干细胞移植后非复发死亡的主要原因之一, 目前 GVHD 的发病机制仍未完全明确及治疗手段有限^[33], 所以, 利用人源免疫细胞注入免疫缺陷小鼠, 并在此基础上诱导出 GVHD 对其发病机制的研究及指导临床治疗意义重大。

利用人源细胞注入免疫缺陷小鼠构建异种 GVHD 模型已有多年历史。大约 30 年前, Mosier 等^[34] 率先利用人的外周血单个核细胞腹腔注射入经 TBI 预处理后的 SCID 小鼠体内, 成功诱导出类似 GVHD 样的症状。但这种方法诱导的 GVHD 的发病的异质性很大, 需大量的外周血单个核细胞诱导, 经腹腔注射的方式也不能模拟人类骨髓造血干细胞移植, 因为所有的骨髓造血干细胞移植都是经静脉输注的。

随着 Rag^{-/-}γC^{-/-}小鼠的出现, Van Rijn 等^[35] 第一次利用静脉注射 30×10⁶ 个人外周血单个核细胞到 Rag^{-/-}γC^{-/-}小鼠内诱导出 GVHD, 但仍需要大量的单个核细胞及 TBI 预处理。

Ito 等^[36] 利用 NOG 小鼠、NOD/SCID 小鼠及 Rag2^{null} IL-2Rγ^{null} 小鼠进行比较, 结果表明, NOG 小鼠输注人源外周血单个核细胞后诱导 GVHD 的发病时间最快, 死亡的时间较统一, 当使用 10×10⁶ 个人源外周血单个核细胞移植时, 只有 NOG 小鼠在没有使用 TBI 预处理的情况下能诱导出 GVHD。King

等^[37]的研究发现,在使用 5×10^6 个人源外周血单个核细胞情况下,所有NSG小鼠在2Gy剂量的TBI预处理后都能诱导出GVHD样的症状。

综上所述,通过将人源外周血注入预处理或未预处理的免疫缺陷小鼠体内,可诱导出GVHD样症状,小鼠的免疫缺陷程度越高,诱导出GVHD需要的人源外周血细胞数量就越少。

目前,人源化GVHD小鼠模型主要应用在研究GVHD的发病机制及开发临床新型治疗药物。Wu等^[38]通过尾静脉高压注射质粒的方法,把人类IL-21基因导入BRG(BALB/c-Rag2^{-/-}IL-2R γ^{null})小鼠的基因组中,然后分别利用人源外周血单个核细胞注入转基因表达人类IL-21的BRG小鼠和对照组的BRG小鼠,在移植后第6天发现转基因表达人类IL-21小鼠脾脏聚集大量的CD19⁺的细胞,并观察转基因表达人类IL-21的BRG小鼠死亡时间明显缩短;同时将去除供者B细胞单个核细胞注入BRG小鼠,长达25天内没有GVHD症状,结果表明IL-21和B细胞可能参与GVHD的发病,靶向供者B细胞的治疗有可能成为预防和治理GVHD的一种新方法。也有Ito等^[39]分别利用CD4⁺人源外周血T细胞和CD8⁺人源外周血T细胞注入NOG小鼠,结果发现,只有注入CD4⁺人源外周血T细胞的NOG小鼠发生严重的皮肤GVHD;然后利用CD8⁺人源外周血T细胞与至少 0.5×10^6 个CD4⁺人源外周血T细胞一起注入NOG小鼠,或者CD8⁺人源外周血T细胞直接注入转基因表达人类IL-2的NOG小鼠内,都能诱发严重的皮肤GVHD,结果表明CD4⁺细胞可能通过IL-2的信号通路促进CD8⁺细胞植入和扩增,并证实皮肤GVHD的病理结果是由TH17细胞分泌的IL-17和IFN γ 所介导的,使用抗IL-17抗体可明显减轻皮肤GVHD。

虽然人源化GVHD小鼠模型为人类造血干细胞移植后产生的GVHD的发病机制和治疗提供了新思路。但由于种属差异性,异种移植产生GVHD的发病机制不完全等同于同种移植。于是,Covassin等^[40]将HLA-DR4阴性供者的人源CD4⁺外周血单个核细胞注入缺失小鼠MHC分子及转基因表达HAL-DR4的NSG小鼠中,可构建同种异基因GVHD模型。这种GVHD小鼠模型比异种GVHD小鼠模型,更好地模拟人类GVHD的发病。

2.2 人源化小鼠在研究白血病上的应用

白血病是血液系统最常见的肿瘤之一,该病的

预后与白血病细胞的形态、免疫分型、遗传学、分子生物学等因素有很大的相关性,且异质性很大。因此建立一种稳定的人源化的白血病小鼠模型对于抗白血病药物研发及白血病的免疫治疗具有重要意义。

纵观白血病人源化小鼠模型的历史,最早使用裸鼠行白血病模型研究。Potter等^[41]使用HL-60细胞系皮下注射经环磷酸胺预处理的裸鼠内,能够在裸鼠局部长出急性早幼粒细胞肉瘤。但这种动物模型的白血病表现与人类白血病相差较大,应用意义不大。

1989年,Kamel-Reid等^[42]使用急性淋巴细胞白血病细胞系注射入SCID小鼠内,成功重建白血病小鼠模型。这种小鼠模型中的白血病细胞在各器官的分布与儿童急性淋巴细胞白血病类似,基本重现了白血病细胞的生物学行为,对白血病的生长和发展的研究有一定帮助。但这种白血病细胞系无法保留肿瘤的异质性,为了体现出肿瘤的异质性,Uckun^[43]使用患者来源的高危B细胞谱系急性淋巴细胞白血病细胞注入SCID小鼠内,结果表明,白血病细胞在SCID小鼠内生长越快,患者的预后就越差。

随后,Steele等^[44]将19例患者来源的急性T淋巴细胞白血病细胞注射入SCID小鼠内,只有12例白血病细胞能在小鼠内生长,且进展的速度与患者的预后相关;剩余未能在SCID小鼠内生长的7例白血病细胞,再次注射入NOD/SCID小鼠体内,均能在小鼠内生长,但进展与患者预后无相关性。结果表明,小鼠免疫缺陷程度越高,白血病细胞越容易植入,但白血病细胞在NOD/SCID小鼠内的进展不能作为患者预后的一项指标。

为了进一步提升人源白血病细胞的植入率,也随着免疫缺陷小鼠的发展,有学者逐渐使用NSG小鼠等新一代免疫缺陷小鼠行人源化白血病小鼠模型研究。Diamanti等^[45]利用NOD/SCID小鼠及NSG小鼠分别注入儿童患者的急性淋巴细胞白血病细胞,并比较了这两种品系小鼠之间的白血病细胞植入率,结果表明,不管患者的白血病亚型及危险度分层如何,NSG小鼠的白血病细胞植入率是NOD/SCID小鼠的1.2~7.7倍。Woiterski J等^[46]将200多只NSG小鼠分别注入54名原发儿童急性白血病患者来源的骨髓细胞,结果表明,植入中位时间为7~10周,90%的小鼠植入,雄性小鼠比雌性小鼠具

有显着更高的植入水平,NSG 小鼠的植入水平及总生存时间与患者白血病危险度分层有关。

人源化白血病小鼠模型主要应用在临床前药物试验及研究白血病的发病机制。Her 等^[47]利用新生的 NSG 小鼠经肝内注入 FLT3 突变的急性髓系白血病细胞,成功建立白血病小鼠模型,并行索拉菲尼、瑞戈非尼临床前药物试验。Willmann 等^[48]利用 NSG 小鼠植入 CD34⁺分选的慢性粒细胞白血病细胞,成功建立慢性粒细胞白血病动物模型,并在其基础上评价伊马替尼、尼洛替尼、维达列汀等药物疗效。这种疾病模型虽然可以行药物筛选实验,但不能反映人类白血病的发病情况。

为了解决这一问题,Trivial 等^[49]和 Tezuka 等^[50]以病毒为载体将白血病致病基因导入人类造血干细胞,进一步在免疫缺陷小鼠中诱发白血病的人源化小鼠模型逐渐发展起来。这种模型弥补了上述小鼠模型在白血病发病机制研究上的不足。

3 小结与展望

人源化小鼠是一种很好的反应人类的免疫系统及某些疾病状态的工具。通过对人源造血干细胞来源、免疫缺陷小鼠品系、预处理方式等各方面因素的优化,可能建立一种免疫系统人源化程度较高的小鼠模型。过去的 10 余年人源化小鼠在血液学、免疫学等方面取得了令人瞩目的进步,多种人源化小鼠模型可以直接对人类疾病进行模拟,这在以前的免疫缺陷动物身上是不可能完成的。

但是,目前的人源化小鼠模型仍有几方面的不足之处。首先,人源化小鼠模型的免疫缺陷小鼠的体内环境与人类的体内环境存在差异;其次,人源造血干细胞分化出来的各种免疫细胞存在不完整、不成熟、细胞间的接触不足等劣势。为了解决这些存在的问题,目前正在尝试研究出可以在免疫缺陷小鼠体内促进人源造血干细胞定向分化、成熟的基因工程方法,可能产生更适合应用于医学研究的人源化小鼠模型。

参考文献

- [1] Kuchma M D, Kyryk V M, Svitina H M, *et al.* Comparative Analysis of the Hematopoietic Progenitor Cells from Placenta, Cord Blood, and Fetal Liver, Based on Their Immunophenotype [J]. *Biomed Res Int*, 2015,2015:418752.
- [2] Roncarolo M G, Bacchetta R. T cell repertoire and tolerance after fetal stem cell transplantation [J]. *Bone Marrow Transplant*, 1992,9 Suppl 1:127-128.
- [3] Lepus C M, Gibson T F, Gerber S A, *et al.* Comparison of human fetal liver, umbilical cord blood, and adult blood hematopoietic stem cell engraftment in NOD-scid/gammac^{-/-}, Balb/c-Rag1^{-/-} gammac^{-/-}, and C.B-17-scid/bg immunodeficient mice[J]. *Hum Immunol*, 2009,70(10):790-802.
- [4] Vyas R, Dudhat D, Navik P, *et al.* Clinical safety in using unmatched allogeneic umbilical cord blood mononuclear cells transplantations in non-haematopoietic degenerative conditions [J]. *J Stem Cells*, 2014,9(4):219-224.
- [5] Martin P J. The role of donor lymphoid cells in allogeneic marrow engraftment[J]. *Bone Marrow Transplant*, 1990,6(5):283-289.
- [6] Hexner E O, Danet-Desnoyers G A, Zhang Y, *et al.* Umbilical cord blood xenografts in immunodeficient mice reveal that T cells enhance hematopoietic engraftment beyond overcoming immune barriers by stimulating stem cell differentiation [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2007,13(10):1135-1144.
- [7] Hayakawa J, Hsieh M M, Uchida N, *et al.* Busulfan produces efficient human cell engraftment in NOD/LtSz-Scid IL2Rgamma (null) mice[J]. *Stem Cells*, 2009,27(1):175-182.
- [8] Ye W, Jiang Z, Li G X, *et al.* Quantitative evaluation of the immunodeficiency of a mouse strain by tumor engraftments[J]. *J Hematol Oncol*, 2015,8:59.
- [9] Pantelouris E M, Hair J. Thymus dysgenesis in nude (nu nu) mice[J]. *J Embryol Exp Morphol*, 1970,24(3):615-623.
- [10] Ganick D J, Sarnwick R D, Shahidi N T, *et al.* Inability of intravenously injected monocellular suspensions of human bone marrow to establish in the nude mouse[J]. *Int Arch Allergy Appl Immunol*, 1980,62(3):330-333.
- [11] Bosma G C, Custer R P, Bosma M J. A severe combined immunodeficiency mutation in the mouse[J]. *Nature*, 1983,301(5900):527-530.
- [12] McCune J M, Namikawa R, Kaneshima H, *et al.* The SCID-hu mouse: murine model for the analysis of human hematolymphoid differentiation and function [J]. *Science*, 1988,241(4873):1632-1639.
- [13] Mombaerts P, Iacomini J, Johnson R S, *et al.* RAG-1-deficient mice have no mature B and T lymphocytes[J]. *Cell*, 1992,68(5):869-877.
- [14] Shinkai Y, Rathbun G, Lam K P, *et al.* RAG-2-deficient mice lack mature lymphocytes owing to inability to initiate V(D)J rearrangement[J]. *Cell*, 1992,68(5):855-867.
- [15] Chambers B J, Ljunggren H G. Unique features of NK cell development during ontogeny revealed in studies of RAG-1-deficient mice[J]. *Immunol Cell Biol*, 2010,88(2):105-106.
- [16] Andrews D M, Smyth M J. A potential role for RAG-1 in NK cell development revealed by analysis of NK cells during ontogeny [J]. *Immunol Cell Biol*, 2010,88(2):107-116.

- [17] Rohane P W, Shimada A, Kim D T, *et al.* Islet-infiltrating lymphocytes from prediabetic NOD mice rapidly transfer diabetes to NOD-scld/scld mice[J]. *Diabetes*, 1995, **44**(5):550-554.
- [18] 杨海燕, 胡文华, 贾潇潇, 等. 人源化 NOD/SCID 小鼠的细胞免疫重建[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2014, (5):533-536.
- [19] Lewis I D, Almeida-Porada G, Du J, *et al.* Umbilical cord blood cells capable of engrafting in primary, secondary, and tertiary xenogeneic hosts are preserved after ex vivo culture in a noncontact system[J]. *Blood*, 2001, **97**(11):3441-3449.
- [20] Ito M, Hiramatsu H, Kobayashi K, *et al.* NOD/SCID/gamma(c)(null) mouse: an excellent recipient mouse model for engraftment of human cells[J]. *Blood*, 2002, **100**(9):3175-3182.
- [21] McDermott S P, Eppert K, Lechman E R, *et al.* Comparison of human cord blood engraftment between immunocompromised mouse strains[J]. *Blood*, 2010, **116**(2):193-200.
- [22] Chevalyre J, Duchez P, Rodriguez L, *et al.* Busulfan administration flexibility increases the applicability of scid repopulating cell assay in NSG mouse model[J]. *PLoS One*, 2013, **8**(9):e74361.
- [23] Robert-Richard E, Ged C, Ortet J, *et al.* Human cell engraftment after busulfan or irradiation conditioning of NOD/SCID mice[J]. *Haematologica*, 2006, **91**(10):1384.
- [24] Ma Q, Jones D, Borghesani P R, *et al.* Impaired B-lymphopoiesis, myelopoiesis, and derailed cerebellar neuron migration in CXCR4- and SDF-1-deficient mice[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, **95**(16):9448-9453.
- [25] Zou Y R, Kottmann A H, Kuroda M, *et al.* Function of the chemokine receptor CXCR4 in haematopoiesis and in cerebellar development[J]. *Nature*, 1998, **393**(6685):595-599.
- [26] Shirozu M, Nakano T, Inazawa J, *et al.* Structure and chromosomal localization of the human stromal cell-derived factor 1 (SDF1) gene[J]. *Genomics*, 1995, **28**(3):495-500.
- [27] Brehm M A, Racki W J, Leif J, *et al.* Engraftment of human HSCs in nonirradiated newborn NOD-scld IL2rgamma null mice is enhanced by transgenic expression of membrane-bound human SCF[J]. *Blood*, 2012, **119**(12):2778-2788.
- [28] Zheng Y, Sun A, Han Z C. Stem cell factor improves SCID-repopulating activity of human umbilical cord blood-derived hematopoietic stem/progenitor cells in xenotransplanted NOD/SCID mouse model[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2005, **35**(2):137-142.
- [29] Yeager A M, Shinn C, Pardoll D M. Lymphoid reconstitution after transplantation of congenic hematopoietic cells in busulfan-treated mice[J]. *Blood*, 1991, **78**(12):3312-3316.
- [30] Choi B, Chun E, Kim M, *et al.* Human B cell development and antibody production in humanized NOD/SCID/IL-2Rgamma(null)(NSG) mice conditioned by busulfan[J]. *J Clin Immunol*, 2011, **31**(2):253-264.
- [31] Hayakawa J, Hsieh M M, Uchida N, *et al.* Busulfan produces efficient human cell engraftment in NOD/LtSz-Scld IL2Rgamma(null) mice[J]. *Stem Cells*, 2009, **27**(1):175-182.
- [32] Yahata T, Ando K, Sato T, *et al.* A highly sensitive strategy for SCID-repopulating cell assay by direct injection of primitive human hematopoietic cells into NOD/SCID mice bone marrow[J]. *Blood*, 2003, **101**(8):2905-2913.
- [33] Zeiser R, Negrin R S. Introduction to a review series on chronic GVHD: from pathogenic B-cell receptor signaling to novel therapeutic targets[J]. *Blood*, 2017, **129**(1):1-2.
- [34] Mosier D E, Gulizia R J, Baird S M, *et al.* Transfer of a functional human immune system to mice with severe combined immunodeficiency[J]. *Nature*, 1988, **335**(6187):256-259.
- [35] Van Rijn R S, Simonetti E R, Hagenbeek A, *et al.* A new xenograft model for graft-versus-host disease by intravenous transfer of human peripheral blood mononuclear cells in RAG2-/- gamma-/- double-mutant mice[J]. *Blood*, 2003, **102**(7):2522-2531.
- [36] Ito R, Katano I, Kawai K, *et al.* Highly sensitive model for xenogenic GVHD using severe immunodeficient NOG mice[J]. *Transplantation*, 2009, **87**(11):1654-1658.
- [37] King M A, Covassin L, Brehm M A, *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.
- [38] Wu X, Tan Y, Xing Q, *et al.* IL-21 accelerates xenogeneic graft-versus-host disease correlated with increased B-cell proliferation[J]. *Protein Cell*, 2013, **4**(11):863-871.
- [39] Ito R, Katano I, Kawai K, *et al.* A Novel Xenogeneic Graft-Versus-Host Disease Model for Investigating the Pathological Role of Human CD4(+) or CD8(+) T Cells Using Immunodeficient NOG Mice[J]. *Am J Transplant*, 2017, **17**(5):1216-1228.
- [40] Covassin L, Laning J, Abdi R, *et al.* Human peripheral blood CD4 T cell-engrafted non-obese diabetic-scld IL2rgamma(null)H2-Ab1(tm1Gru)Tg(human leucocyte antigen D-related 4) mice: a mouse model of human allogeneic graft-versus-host disease[J]. *Clin Exp Immunol*, 2011, **166**(2):269-280.
- [41] Potter G K, Shen R N, Chiao J W. Nude mice as models for human leukemia studies[J]. *Am J Pathol*, 1984, **114**(3):360-366.
- [42] Kamel-Reid S, Letarte M, Sirard C, *et al.* A model of human acute lymphoblastic leukemia in immune-deficient SCID mice[J]. *Science*, 1989, **246**(4937):1597-1600.
- [43] Uckun F M, Sather H, Reaman G, *et al.* Leukemic cell growth in SCID mice as a predictor of relapse in high-risk B-lineage acute lymphoblastic leukemia[J]. *Blood*, 1995, **85**(4):873-878.
- [44] Steele J P, Clutterbuck R D, Powles R L, *et al.* Growth of human T-cell lineage acute leukemia in severe combined immunodeficiency (SCID) mice and non-obese diabetic SCID mice[J]. *Blood*, 1997, **90**(5):2015-2019.

- [45] Diamanti P, Cox C V, Blair A. Comparison of childhood leukemia initiating cell populations in NOD/SCID and NSG mice [J]. *Leukemia*, 2012, **26**(2):376-380.
- [46] Woiterski J, Ebinger M, Witte K E, *et al.* Engraftment of low numbers of pediatric acute lymphoid and myeloid leukemias into NOD/SCID/IL2R γ mice reflects individual leukemogenicity and highly correlates with clinical outcome [J]. *Int J Cancer*, 2013, **133**(7):1547-1556.
- [47] Her Z, Yong K, Paramasivam K, *et al.* An improved pre-clinical patient-derived liquid xenograft mouse model for acute myeloid leukemia [J]. *J Hematol Oncol*, 2017, **10**(1):162.
- [48] Willmann M, Sadovnik I, Eisenwort G, *et al.* Evaluation of cooperative antileukemic effects of nilotinib and vildagliptin in Ph (+) chronic myeloid leukemia [J]. *Exp Hematol*, 2018, **57**:50-59.
- [49] Trivai I, Ziegler M, Bergholz U, *et al.* Endogenous retrovirus induces leukemia in a xenograft mouse model for primary myelofibrosis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, **111**(23):8595-8600.
- [50] Tezuka K, Xun R, Tei M, *et al.* An animal model of adult T-cell leukemia: humanized mice with HTLV-1-specific immunity [J]. *Blood*, 2014, **123**(3):346-355.

Humanized Mouse Model Reconstructing Human Immune System and Its Application in Study of Blood System Diseases

LONG Jie^{1,2,3}, YANG Zhigang^{1,4}

(1. *Guangdong medical university, Zhanjiang 524023, China*) (2. *Affiliated hospital of guangdong medical university, Zhanjiang 524001, China*)

(3. *Guangdong laboratory animals monitoring institute, Guangzhou 510663, China*)

(4. *Zhanjiang central people's hospital affiliated to guangdong medical university, Zhanjiang 524045, China*)

Abstract: Animal models play an important role in the study of human disease pathogenesis and experimental study of pharmacology. Mice are currently the main experimental animals, However, it is different from the human background, and it cannot fully simulate the human immune system and disease state. Researchers can build humanized mouse models of the immune system and humanized mouse disease models by implanting human cells or tissues into immunodeficient mice. Humanized mice can obtain a mouse model with a high degree of humanization of the immune system by optimizing conditions such as the source of human hematopoietic stem cells and other conditions. At present, the humanized mouse model of GVHD and the humanized mouse model of leukemia have been used in the study of disease pathogenesis and the development of new clinical therapeutic drugs.

Key words: humanized mouse; Graft versus host disease; leukemia; animal models

《实验动物科学》关于不再接收使用水合氯醛进行动物麻醉文章的说明

为进一步保障实验动物的福利,不断提升动物实验研究的水平并获得国际学术界同行的认可,根据我国和北京市实验动物有关法规和标准,在实验动物麻醉方法中,鉴于水合氯醛原属于镇静、催眠及抗惊厥药,作为麻醉剂效果较差,刺激性强、毒副作用较大,存在干扰实验结果、对实验动物不人道和有背实验动物福利伦理审查原则等问题,国外期刊普遍建议不再使用水合氯醛作为实验动物的麻醉剂。因此,本刊将于即日起,不再接收使用水合氯醛作为实验动物麻醉剂的文章,特此告知广大作者及读者。

《实验动物科学》编辑部

2019年8月18日