

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.11.031

小鼠模型在肿瘤免疫研究中的进展与意义*

李 婕^{1,2}综述,王彤敏^{1,2△}审校

(1. 昆明理工大学医学院,昆明 650000;2. 昆明理工大学附属医院/
云南省第一人民医院普外二科,昆明 650000)

[摘要] 恶性肿瘤是导致高致死率的严重疾病。肿瘤免疫基础研究和有效抗肿瘤治疗的发展均依赖于实验系统,实验室小鼠常被用作生物模型来验证假设、探究人类疾病的机制和治疗相关疾病。在该系统中可以研究恶性细胞与免疫细胞之间的关系。恶性肿瘤的各种小鼠模型奠定了肿瘤免疫学的基础,指导了免疫监视、免疫平衡和免疫逃逸理论的形成,故构建动物模型在研究中起到至关重要的作用。本文就近年来有关肿瘤免疫的小鼠模型的发展及意义进行综述。

[关键词] 小鼠模型;肿瘤;免疫;动物模型

[中图分类号] R-332 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)11-1942-04

Progress and significance of mouse model in tumor immunity research*

LI Jie^{1,2}, WANG Tongmin^{1,2△}

(1. College of Medicine, Kunming University of Science and Technology, Kunming, Yunnan 650000, China; 2. Second Department of General Surgery, Affiliated Hospital, Kunming University of Science and Technology/Yunnan Provincial First People's Hospital, Kunming, Yunnan 650000, China)

[Abstract] Malignant tumor is a serious disease that causes a high fatality rate. Both basic research on tumor immunity and the development of effective anti-tumor therapies rely on the experimental systems. Laboratory mice are often used as the biological models to verify the hypotheses, explore the mechanisms of human diseases, and treat the related diseases. In this system, the relationship between the malignant cells and immune cells can be studied. Various mouse models of malignant tumors have laid the foundation for tumor immunology and guide the formation of immune surveillance, immune balance and immune escape theory, so establishing the animal models plays a vital role in research. This article reviews the development and significance of mouse models of tumor immunity in recent years.

[Key words] mouse models; tumor; immunology; animal model

长期以来,对癌症病原体的发生、发展的分子机制的研究及新型抗癌疗法的发现一直依赖于动物模型。可用于癌症研究的动物模型很多,如果蝇、斑马鱼、犬科、猫科、马科、鼠科和灵长类动物,每种都有其优缺点^[1]。例如果蝇的短寿命、高繁殖力和成熟快的特征使得该动物模型易于遗传修饰并快速得出实验结果^[2]。但是,这种基因修饰与自然癌变不同,自然癌变的发生是一个复杂而缓慢的过程,需要时间、宿主细胞的营养及逃逸免疫系统的监视。

其中肿瘤微环境(TME)中的免疫细胞在肿瘤发生中起重要作用。这些与肿瘤相关的免疫细胞具有拮抗或促进肿瘤的功能,尽管 TME 中的抗肿瘤免疫细胞在肿瘤发生的早期倾向于靶向杀死癌细胞,但癌细胞似乎最终逃避了免疫监视,甚至通过多种途径抑制了免疫细胞的细胞毒性功能^[3]。所以肿瘤的发生、

发展与机体的免疫系统之间存在复杂的相互作用,如果通过对机体肿瘤特异性免疫应答及对肿瘤免疫逃逸机制和 TME 深入了解,就可以为肿瘤提供重要的理论基础,实现广阔的应用前景^[4]。小鼠肿瘤模型建立的方法很多,本文着重选择移植性小鼠模型、原位诱导小鼠模型、基因工程小鼠模型、人源化小鼠模型进行介绍。

1 肿瘤免疫模型及其优缺点

1.1 同系和异种移植小鼠模型

肿瘤免疫学中最常用的是移植性小鼠模型。移植小鼠模型按照植入部位不同可以分为皮下移植、原位移植、腹水移植模型等。其中最常见的是皮下移植和原位移植模型^[5]。皮下移植模型可以移植人体肿瘤组织,也可以直接移植小鼠肿瘤细胞。原位移植模型和皮下移植模型操作相似,通过原位移植肿瘤细胞

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81160370,81760292);云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项[2011FB219,2018FE001(-128)]。 作者简介:李婕(1995-),在读硕士,主要从事肿瘤免疫研究。 △ 通信作者,E-mail:tongmin420@163.com。

以模拟其在“正常”环境中的生长。

1.1.1 同系移植小鼠模型

它是将相同组织相容性抗原的肿瘤细胞接种到免疫功能正常的近交系小鼠中,如 C57BL/6 或 BALB/c 品系的小鼠。

1.1.2 异种移植小鼠模型

异种移植小鼠模型是将人的肿瘤细胞移植到免疫缺陷的小鼠品系中^[6],这些肿瘤细胞可以是原发性肿瘤(患者来源)或现有的细胞系。人源肿瘤异种移植(PDX)模型是指将患者新鲜收集的肿瘤细胞移植到免疫缺陷的小鼠中,PDX 模型的主要特征是保留原发性肿瘤^[7]。然而,该模型具有几个缺点:建立模型的成功率较低(平均 30%~40%),需要较长的时间(2~10 个月)。此外,PDX 模型成本高昂,限制了标本的统计数量^[8]。PDS 模型不容易获得,但某些方法可以提高移植的成功率。如连续植入,将成功植入的肿瘤标本注射到另一只小鼠中,这种方法会使原发性肿瘤特征逐渐丧失^[9]。所以由于 PDX 模型的局限性,开发了人源化小鼠模型。

移植性小鼠模型具有成本低、简单、肿瘤生长速度快等优点。其不足有:(1)小鼠注射的是来自体外培养的癌细胞,许多癌细胞在注射不久后就会死亡。(2)人类肿瘤生长在慢性炎症环境,小鼠缺乏在自然环境中局部多步骤发生癌变的特征。(3)肿瘤通常出现在异位皮下。尽管有这些限制,移植性小鼠模型在识别免疫检查点和筛选抗肿瘤新药上有重大作用。目前肿瘤化疗所应用的大多数药物,都经动物移植性肿瘤试验而被发现^[10-11]。

1.2 原位诱导小鼠肿瘤模型

原位诱导是人为的使用几种不同的致癌剂诱导小鼠肿瘤的发生,许多研究通过在小鼠皮肤上涂抹化学致癌剂,从而诱导相应的局部肿瘤形成。实验室常用的诱导化合物包括甲基亚硝基脲、二乙基亚硝胺等,可诱导小鼠发生肝癌、胃癌等多种肿瘤。有研究提示,紫外线的局部应用可诱导鳞状细胞癌,甲基胆碱(MCA)可诱导纤维肉瘤的形成。DNA 破坏剂 7,12-二甲基苯丙蒽和佛波酯 12-O-十四烷酰佛波醇 13-乙酸酯(TPA)的组合可导致乳头状瘤的形成,甚至在免疫功能正常的小鼠中也能发展成鳞状细胞癌^[12]。孕激素的刺激和二羟甲基丁酸造成的 DNA 损伤相结合可以诱发乳腺癌^[13]。此外,已开发出可重复诱导结肠癌、肺癌和肝细胞癌的小鼠模型,但是这些模型在肿瘤连续监测方面存在困难,需要进行微 CT 或超声成像。与移植性的肿瘤相反,化学诱导的肿瘤形成具有遗传多样性,并且在发病、进展、组织学和抗原构成方面高度异质化,能较好地模拟人体内肿瘤的发生、发展、侵袭及转移的全过程,使其更贴近自发形成的肿瘤。缺点:(1)需要相当长的时间诱发肿瘤并进行实验,实验周期长。(2)难以持续监测肿瘤,需要微型

CT 和 US 成像。(3)高度异质性可能会增加实际操作的困难^[14-16]。该模型遗传多样且高度异质,为探索免疫系统对常规抗癌药物治疗提供了可能性。

1.3 基因工程小鼠肿瘤模型

自发或诱导肿瘤模型都带有相当的随机性、不确定性,产生的肿瘤类型、特征不能满足具体分子机制、功能研究的需要。随着基因工程技术的发展成熟,可对小鼠进行遗传修饰,包括转入新基因、删除基因、基因替换等。基因工程小鼠模型分为两类,一类是肿瘤相关基因方面,另一类是免疫系统相关基因方面^[17]。

1.3.1 肿瘤相关基因方面

研究发现,在小鼠上过表达某些致癌基因或者敲除某些抑癌基因可导致肿瘤的发生^[18]。例如 Trp53 的缺失诱导了淋巴瘤,小鼠乳腺肿瘤病毒启动子控制的 ErbB2 转基因诱导了乳腺癌,由 E μ 控制的 v-Abl 癌基因诱导了浆细胞瘤 IgH 基因相关的增强子,以及在 Vav 启动子控制下表达的 Bcl2 转基因诱导了滤泡性淋巴瘤。这些例子说明,实体癌和血液系统肿瘤都处于免疫监视下。有研究表明,即使是完全转化的恶性细胞也可能使抑癌基因失活,这意味着使抑癌基因重新活化可导致肿瘤消退^[19-20]。重要的是,这种影响可能需要免疫监视系统,例如肝细胞癌中 p53 的重新激活导致被固有免疫效应物清除的恶性细胞衰老。

1.3.2 免疫系统相关基因方面

免疫功能正常的小鼠与免疫缺陷的小鼠对致癌物的敏感度不同。将致癌物作用于正常小鼠和免疫缺陷小鼠上,结果表明:在细胞免疫反应受到损害的情况下,例如在缺乏 γ -干扰素(IFN- γ)受体的小鼠中,可检测到肿瘤,且肿瘤通常会加速生长。在缺乏 IFN- γ 受体 1 亚基的小鼠中,它能感应 1 型干扰素或重组激活基因 2,不能产生 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞和自然杀伤性 T(iNKT)淋巴细胞^[21]。对不同免疫缺陷的系统分析表明,许多参与细胞免疫应答的细胞(α/β T、 γ/δ T、自然杀伤细胞和 iNKT 细胞)、细胞因子(IFN- γ)、肿瘤坏死因子(TNF)和细胞因子受体(IFNGR1 和干扰素- α/β 受体亚单位 1)均有助于 MCA 诱导的癌症进行免疫监测。但是,葡聚糖硫酸钠(DSS)加上偶氮甲烷(AOM)诱导的结肠癌在免疫功能正常的小鼠中比没有 T 细胞或细胞毒性 T 细胞功能的小鼠发展得更快^[22-23],这一发现与炎症过程对肿瘤的作用有关。相比之下,从免疫功能正常的小鼠的基因组中去除 IL-15 可以加速 DSS 和 AOM 诱导的结肠癌发生^[24]。以上的例子表明,基因工程小鼠模型的免疫监视和自身的免疫功能有关。

该模型的优点在于可以深入了解癌细胞与免疫系统之间的关系,适于研究特定基因和肿瘤的关系,在研究肿瘤发生、发展的遗传原因,肿瘤免疫逃避的机理方面具有巨大的优势。它的不足在于建模时间

较长,费用较高^[25]。可以把在临床研究中发现的与肿瘤相关的突变基因通过基因工程手段的方式应用在小鼠基因组上,验证这种突变的致癌作用,以及探寻该种基因突变驱动的肿瘤生物标志物和治疗方法等。

1.4 人源化小鼠模型

人源化动物模型指携带有人类的某些功能性基因的动物或移植了人的细胞、组织、器官的动物,后者也称嵌合体动物。人源化包括某些基因水平的人源化及组织细胞水平的人源化。小鼠模型在人类肿瘤的研究中发挥重要作用,但人和小鼠在遗传、生理、病理方面存在着巨大差异,有必要将人类的某些基因和细胞引入小鼠体内,从而实现人源化^[26]。导入人源成分之后,就使某些原来只能在人体上进行的体内实验可以在动物上进行。例如 PD1 和 PD-L1,设计和筛选抗体药物时都是针对人类靶点,无法用动物做临床前体内评估实验,所以通过基因编辑技术将人的基因替换小鼠的基因。如果保持小鼠源的胞内区,只替换蛋白质分子的细胞外区基因片段,使其表达人的抗原靶位,这样就可以在小鼠模型上进行实验^[27]。

尽管小鼠的人源化会改变其免疫系统的正常功能,但人源化小鼠在几种不同的情况下很重要。首先,药理学试剂的开发可能需要在结构或功能特性上不同于其内源小鼠等同物的人类蛋白质上进行。人源化小鼠模型尤其适用于疫苗接种:例如,将人类肿瘤细胞,人类主要组织相容性复合体,人类 NK 细胞抑制性受体和人类 T 淋巴细胞引入免疫缺陷并且已经被操纵以表达人类生长因子的小鼠上进行实验。其次,表达人类生长因子的小鼠具有较高的人源化,也可以将人源性异种移植物移植到小鼠中研究抗癌免疫反应^[28-29]。再次,人的 NK 细胞及对脂质抗原反应的 γ/δ T 细胞的某些亚群的特异性和功能与小鼠不一样,可以将此类人类免疫细胞群移植到免疫缺陷小鼠体内,以研究其在人类肿瘤中的作用。最后,也可将外周血单核细胞和肿瘤组织(理想情况下来自同一患者)移植入严重免疫缺陷的小鼠体内,以测试它们产生抗肿瘤免疫反应的能力,并预测干预治疗的临床反应^[30]。

2 小鼠模型的意义

小鼠模型在开发新的肿瘤治疗中具有重要意义,因为它们可用于识别关键药物靶标,用作临床前药物测试的模型,也可应用于药物临床前安全性评价的实验中,为传统的两年期致癌实验提供了有潜力的替代模型,也为癌症发生机理的研究提供了有效的工具。但是任何新的免疫疗法药物都必须经过严格的临床前药物测试,以确保药物功效。故使用小鼠模型对于进一步改善肿瘤患者的治疗效果是必要的^[31]。

3 展 望

免疫系统的主要功能是将人体内部环境维持在稳定状态,消除在自然环境中表达肿瘤相关或肿瘤特

异性抗原的癌细胞,它的这种生理特性从小鼠到人类都是一致的。因此,无论是移植性小鼠模型,致癌物诱导小鼠模型还是基因工程小鼠模型都可以在探索人类特异性药理药物,研究癌症与免疫系统之间的关系上提供有用信息。但小鼠免疫系统和人的免疫系统存在差别,不能保证在小鼠模型内的疗法在人类中显示出相似的效果,以后是否还需要建立新型小鼠模型,或者开发新的动物模型,是今后要面临的挑战。

参考文献

- [1] KOHNKEN R, PORCU P, MISHRA A. Overview of the use of murine models in leukemia and lymphoma research[J]. *Front Oncol*, 2017, 7(1):22.
- [2] SONOSHITA M, CAGAN R L. Modeling human cancers in drosophila[J]. *Curr Top Dev Biol*, 2017, 121(3):287-309.
- [3] LEI X, LEI Y, LI J K, et al. Immune cells within the tumor microenvironment: Biological functions and roles in cancer immunotherapy [J]. *Cancer Lett*, 2020, 470:126-133.
- [4] CHOUCAIR K, DUFF J R, CASSIDY C S, et al. Natural killer cells: a review of biology, therapeutic potential and challenges in treatment of solid tumors[J]. *Future Oncol*, 2019, 15(26):3053-3069.
- [5] 杜相宇,唐德才. 芪术抗癌方及其联合 5-氟尿嘧啶对 CT26.WT 结肠癌原位移植瘤模型小鼠肿瘤组织中凋亡相关蛋白表达的影响[J]. *中医杂志*, 2020, 61(12):1090-1094.
- [6] CHO S Y, KANG W, HAN J Y, et al. An integrative approach to precision cancer medicine using patient-derived xenografts[J]. *Mol Cells*, 2016, 39(2):77-86.
- [7] ROQUE-LIMA B, ROQUE C A, BEGNAMI M D, et al. Development of patient-derived orthotopic xenografts from metastatic colorectal cancer in nude mice[J]. *Drug Target*, 2019, 27(9):943-949.
- [8] KIM M, MUN H, SUNG C O, et al. Patient-derived lung cancer organoids as in vitro cancer models for therapeutic screening[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):3991.
- [9] LEE N P, CHAN C M, TUNG L N, et al. Tumor xenograft animal models for esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Biomed Sci*, 2018, 25(1):66.
- [10] SHIN F N G, SHERENE L, DAVID T, et al.

- Mouse models of tumor immunotherapy[J]. *Adv Immunol*,2016,130(1):1-24.
- [11] CONNOR F, RAYNER T F, AITKEN S J, et al. Mutational landscape of a chemically-induced mouse model of liver cancer[J]. *Hepatology*,2018,69(4):840-850.
- [12] LI T C, WAKITA T. Small animal models of hepatitis e virus infection[J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*,2019,9(8):a032581.
- [13] SCHRAMEK D, LEIBBRANDT A, SIGL V, et al. Osteoclast differentiation factor RANKL controls development of progestin-driven mammary cancer[J]. *Nature*,2010,468(7320):98-102.
- [14] BARACCO E E, PIETROCOLA F, AITZIBER B, et al. Inhibition of formyl peptide receptor 1 reduces the efficacy of anticancer chemotherapy against carcinogen-induced breast cancer [J]. *OncoImmunology*,2016,5(6):e1139275.
- [15] ERIKA V, MA Y T, ELISA E B, et al. Chemotherapy-induced antitumor immunity requires formyl peptide receptor 1[J]. *Ence*,2015,350(9):972-978.
- [16] PIETROCOLA F, POL J, VACCHELLI E, et al. Caloric restriction mimetics enhance anti-cancer immunosurveillance [J]. *Cancer Cell*,2016,30(1):147-160.
- [17] LANIGAN T M, KOPERA H C, SAUNDERS T L. Principles of Genetic Engineering [J]. *Genes (Basel)*,2020,11(3):291.
- [18] BUQUÉ A, GALLUZZI L. Modeling tumor immunology and immunotherapy in mice[J]. *Trends Cancer*,2018,4(9):599-601.
- [19] GAO J, VAN METER M, HERNANDEZ LOPEZ S, et al. Therapeutic targeting of Notch signaling and immune checkpoint blockade in a spontaneous, genetically heterogeneous mouse model of T-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *Dis Model Mech*,2019,12(9):040931.
- [20] VIJAYA K A, DONATE C, IMHOF B A, et al. Tumor engraftment in a xenograft mouse model of human mantle cell lymphoma[J]. *Vis Exp*,2018,133:56023.
- [21] WANG B, ZAIDI N, HE L Z, et al. Targeting of the non-mutated tumor antigen HER2/neu to mature dendritic cells induces an integrated immune response that protects against breast cancer in mice[J]. *Breast Cancer Res*,2012,14(2):R39.
- [22] YASSIN M, SADOWSKA Z, DJURHUUS D, et al. Upregulation of PD-1 follows tumour development in the AOM/DSS model of inflammation-induced colorectal cancer in mice[J]. *Immunology*,2019,158(1):35-46.
- [23] WHETSTONE R D, WITTEL U A, MICHELS N M, et al. Colon carcinogenesis in wild type and immune compromised mice after treatment with azoxymethane, and azoxymethane with dextran sodium sulfate[J]. *Molecular Carcinogenesis*,2016,55(7):1187-1195.
- [24] BAHRI R, PATERAS I S, D'ORLANDO O, et al. IL-15 suppresses colitis-associated colon carcinogenesis by inducing antitumor immunity [J]. *Oncoimmunology*,2015,4(9):e1002721.
- [25] DATTA J, ROSEMBLIT C, BERK E, et al. Progressive loss of anti-HER2 CD4⁺ T-helper type 1 response in breast tumorigenesis and the potential for immune restoration[J]. *OncoImmunology*,2015,4(10):e1022301.
- [26] SARKAR S, HEISE M T. Mouse Models as resources for studying infectious diseases[J]. *Clin Ther*,2019,41(10):1912-1922.
- [27] ITO R, TAKAHASHI T, ITO M. Humanized mouse models: application to human diseases [J]. *Cell Physiol*,2018,233(5):3723-3728.
- [28] DOUGLAS D N, KNETEMAN N M. Generation of improved mouse models for the study of hepatitis C virus[J]. *Eur J Pharmacol*,2015,759(3):313-325.
- [29] ALVAREZ M, DUNAI C, KHUAT L T, et al. IL-2 and Anti-TGF- β Promote NK Cell reconstitution and anti-tumor effects after syngeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Cancers (Basel)*,2020,12(11):3189.
- [30] TYAGI R K, LI J, JACOBSE J, et al. Humanized mouse models of genetic immune disorders and hematological malignancies [J]. *Biochem Pharmacol*,2020,174:113671.
- [31] HUANG X D, ZHENG Y B, YANG Y J, et al. Mouse models for human colorectal cancer with liver metastasis [J]. *National Med J China*,2019,99(34):2701-2705.