

## ГУМАНИЗИРОВАННЫЕ МЫШИ: МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ, МОДЕЛИ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОНКОЛОГИИ (ОБЗОР)

О.И. Кит, А.Ю. Максимов, Т.П. Протасова\*, А.С. Гончарова, Д.С. Кутилин,  
Е.А. Лукбанова

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России  
344037, Российская Федерация, Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

В лабораториях разных стран ведется постоянная работа по улучшению существующих, а также созданию новых биологических объектов, моделирующих различные заболевания человека. Иммунодефицитные мыши, которым трансплантированы функциональные клетки и ткани человека, а также трансгенные животные, в геноме которых интегрированы соответствующие человеческие гены — то есть «гуманизированные мыши», — все чаще выступают в качестве тест-систем в различных биомедицинских исследованиях. Модели гуманизированных мышей постоянно совершенствуются и в настоящее время используются для изучения биологических реакций человека, в качестве доклинических инструментов для тестирования лекарственных средств, для выявления патогенетических механизмов широкого спектра заболеваний. В частности, такие животные играют все более важную роль в изучении специфических для человека инфекционных агентов, а также широко применяются в исследованиях биологии рака и разработках новых противоопухолевых воздействий. Кроме того, гуманизированные мыши все чаще используются в качестве трансляционных моделей во многих областях клинических исследований, включая трансплантологию, иммунологию и онкологию. В конечном счете использование гуманизированных животных может привести к внедрению действительно «персонализированной» медицины в клиническую практику. В данном обзоре обсуждаются современные достижения в получении и использовании гуманизированных мышей, подчеркивается их полезность для изучения патогенеза, а также разработки новых методов лечения онкологических заболеваний человека.

**Ключевые слова:** гуманизация животных, ксенотрансплантация, иммунодефицитные мыши, моделирование заболеваний человека, злокачественные опухоли

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Кит О.И., Максимов А.Ю., Протасова Т.П., Гончарова А.С., Кутилин Д.С., Лукбанова Е.А. Гуманизированные мыши: методы получения, модели и использование в экспериментальной онкологии (обзор). *Биомедицина*. 2019;15(4):67–81. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-4-67-81>

Поступила 06.06.2019

Принята после доработки 19.08.2019

Опубликована 10.12.2019

## HUMANIZED MICE: CREATION, MODELS AND USE IN EXPERIMENTAL ONCOLOGY (REVIEW)

Oleg I. Kit, Alexey Yu. Maksimov, Tatyana P. Protasova\*, Anna S. Goncharova,  
Denis S. Kutilin, Ekaterina A. Lukbanova

Rostov Research Institute of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation  
344037, Russian Federation, Rostov-on-Don, 14-ya liniya str., 63

Research laboratories in various countries are constantly endeavouring to improve the existing and to create new biological objects to simulate various human diseases. Immunodeficient mice with transplanted human functional cells and tissues, as well as transgenic animals with the relevant human genes integrated in their genome — i. e. humanized mice — are increasingly used as test systems in biomedical studies. Humanized mouse models are constantly being improved to find application in studies investigating human biological reactions and identifying the pathogenetic mechanisms behind a wide range of diseases, or as preclinical tools for medicine testing. In particular, such animals play an increasingly important role both in studies of human-specific infectious agents, cancer biology research and in the development of new anti-tumour agents. In addition, humanized mice are increasingly used as translational models in many areas of clinical research, including transplantology, immunology and oncology. Ultimately, the use of humanized animals can lead to the introduction of a truly personalized medicine into clinical practice. In this review, we discuss modern advances in the creation and use of humanized mice, emphasizing their usefulness for the pathogenesis study, as well as the development of new methods for human cancer treatment.

**Keywords:** humanized animals, xenografting, immunodeficient mice, human disease modelling, malignant tumours

**Conflict of interest:** the authors declare no conflict of interest.

**For citation:** Kit O.I., Maksimov A.Yu., Protasova T.P., Goncharova A.S., Kutilin D.S., Lukbanova E.A. Humanized Mice: Creation, Models and Use in Experimental Oncology (Review). *Journal Biomed.* 2019;15(4):67–81. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-4-67-81>

*Submitted 06.06.2019*

*Revised 19.08.2019*

*Published 10.12.2019*

## Введение

Животные модели патологических состояний человека — важнейший, а зачастую и единственный доступный инструмент для исследования альтернативных стратегий лечения и тестирования новых фармакологических субстанций [2]. На современном этапе большой научный интерес представляют т. н. «гуманизированные животные», в организме которых функционируют гены, клетки, ткани или иные органоиды человеческого происхождения [3, 44]. Значительное место при испытаниях фармакологической эффективности и токсичности новых лекарственных средств отводится трансгенным животным, в геном которых целенаправленно интегрированы соответствующие гены человека [4] (генетическая гуманизация [21]). Иммунодефицитные животные, гуманизированные путем приживления трансплантированных клеток и тканей, становятся все более важными в качестве моделей для изучения патогенеза и разработки ме-

тодов лечения различных человеческих заболеваний [44].

Мелких грызунов — крыс и мышей — широко используют в исследованиях ввиду их небольшого размера, простоты содержания и выполнения манипуляций, короткого репродуктивного цикла, генетического и физиологического сходства с людьми. Однако, несмотря на огромное количество фундаментальных исследований, проводимых на мышах, существуют ограничения при изучении биологии человека, т. к. некоторые особенности функционирования мышечных биологических систем существенно различаются с таковыми у людей, особенно их иммунной системой. Например, существует много врожденных различий на молекулярном уровне, включая отсутствие одних веществ в организме мышей и наличие других, которые присущи только человеку. Кроме того, многие лекарства и инфекции являются видоспецифичными для человека, а механизмы иммунных реакций на патогены зачастую значительно отличаются

от таковых в мышинном организме [50]. Эти проблемы подчеркивают актуальность разработки животных моделей, воспроизводящих биологические системы человека.

Гуманизированные мыши начали заполнять этот пробел и стали важным инструментом для доклинических биомедицинских исследований. Это связано с постоянным усовершенствованием иммунодефицитных мышей-реципиентов, используемых для гуманизации в течение последних двух десятилетий. Ключевым моментом стало получение иммунодефицитных мышей с мутациями *IL2rg<sup>null</sup>*, лежащими в основе отсутствия адаптивного и серьезных недостатков врожденного иммунитета. Благодаря успешному формированию гуманизированной иммунной системы у таких мышей, в отличие от предыдущих моделей, биологические реакции максимально схожи с человеческими [8, 34, 35].

Получение животных с такими характеристиками стало главным достижением в создании иммунодефицитных реципиентов для успешного приживления ксенотрансплантатов. Им могут быть трансплантированы различные человеческие клетки и ткани, такие как островки Лангерганса, фрагменты печени, кожи, а также солидные и гематологические формы рака. Гуманизированные мыши позволяют добиться значительного прогресса в исследованиях инфекционных и онкологических заболеваний человека, аллергических и иммунных реакций в трансплантологии и регенеративной медицине [8, 36, 44].

Каждая из существующих моделей имеет свои преимущества и ограничения, поэтому для исследователей важно выбрать модель, максимально подходящую для решения конкретных, интересующих их научных вопросов. В данном обзоре рассматриваются методы гуманизации лабораторных животных, моделирование онкологических заболеваний человека на гуманизирован-

ных иммунодефицитных мышях, а также применение этих животных-моделей в разработке и доклинической апробации новых способов противоопухолевой терапии.

## Методы получения и модели гуманизированных животных

Процесс трансплантации донорского материала обычно включает следующие этапы.

1. Выбор и кондиционирование реципиента.
2. Получение донорских клеток и их подготовка к трансплантации.
3. Процедура инокуляции клеточного материала в организм реципиента.
4. Контроль эффективности трансплантации/приживления донорских клеток.

### Выбор реципиента

Имунодефицитные мыши являются наиболее оптимизированным и распространенным объектом для гуманизации и межвидовой ксенотрансплантации [3, 4]. Бестимусным мышам свойственны наличие *B*-лимфоцитов, а также компетентность врожденной иммунной системы, включая *NK*-клетки, которые могут препятствовать как приживлению донорских клеток крови, так и росту ксеногенной опухоли и ее метастазированию.

Трансплантация мышам гематopoэтических клеток человека впервые стала возможной благодаря мутации каталитического полипептида, активирующего протеинкиназы ДНК (*Prkdc<sup>scid</sup>*, или *scid*), обнаруженной у мышей линии *CB17* более 30-ти лет назад. Однако сильная врожденная иммунная система мышей *CB17-scid* препятствовала их эффективной гуманизации [35].

Мыши *scid* с тяжелыми комбинированными иммунодефицитами получили широкое применение, т. к. отсутствие *NK*-клеток и дополнительные врожденные дефекты иммунной системы позволяют успешно прививать этим животным человеческие

кроветворные клетки и опухолевый материал, включая культуры клеток, первичные солидные опухоли и злокачественные клетки крови [10].

В последнее время внимание исследователей сосредоточено на улучшении качества гуманизации мышей за счет снижения уровня врожденного иммунитета, особенно у иммунодефицитных линий *NOD* [35]. Мыши *scid*, а также *Rag1<sup>null</sup>* и *Rag2<sup>null</sup>* (с мутациями гена, активирующего рекомбинацию), у которых, кроме прочего, отсутствует субъединица *IL2 $\gamma$* , утрачивают адаптивный иммунитет. *IL2 $\gamma$ <sup>null</sup>* — мутация в общей  $\gamma$ -цепи рецепторов для цитокинов *IL2*, *IL4*, *IL7*, *IL9*, *IL15* и *IL21*. В настоящее время распространено использование трех вариантов мышей с иммунодефицитом, связанным с этой мутацией:

1. *NOD.Shi.Cg-PrkdcscidIl2rgtm1Sug — NOG*;
2. *NOD.Cg-PrkdcscidIl2rgtm1Wjl — NSG*;
3. *C:129S4-Rag2tm1 Rg2llg2Rg (BALB/c-Rag или BRG)*.

У мышей *NOG* имеется усеченный цитоплазматический домен  $\gamma$ -цепи, который связывает цитокины, но утрачен сигнальный домен, у *NSG* и *BRG* —  $\gamma$ -цепь отсутствует полностью [8, 34, 35].

*Jak3* является тирозинкиназой рецепторного типа, необходимой для передачи сигналов от рецепторов  $\gamma$ -цепи к цитокинам, поэтому *Jak3*-дефицитные мыши проявляют тот же иммунный фенотип, что и животные *IL2 $\gamma$ <sup>null</sup>*. Тем не менее, полученные *Rag-2<sup>-/-</sup>Jak3<sup>-/-</sup>* мыши с разным генетическим фоном — *C57/BL6* и *Balb/c* — демонстрировали разный уровень приживляемости человеческих гематопоэтических стволовых клеток (ГСК) и мононуклеарных клеток (МНК) периферической крови. Из мышей этих двух линий, имеющих комбинированный дефицит *Rag-2/Jak3*, только *Balb/c*-реципиенты характеризовались эффективным приживлением ксеногенных ГСК и МНК. Однако при подкожной перевивке клеток человеческой эритролейкемии

*K562* у мышей обеих линий образовались солидные опухоли практически одинакового размера. Авторами проведенного исследования было заявлено о перспективности применения моделей *Balb/c Rag-2<sup>-/-</sup>Jak3<sup>-/-</sup>* и их преимуществах перед иммунодефицитами *NOD/scid*-мышей [23].

При выборе возрастной категории животных для гуманизации — новорожденных (1–5, в крайнем случае 7 сут) или взрослых (от 5 нед.) — исследователи, как правило, руководствуются следующими практическими соображениями:

1. Использование новорожденных имеет ценовое преимущество, т. к. детеныши остаются с родителями до отъема, что снижает расходы на содержание.
2. Дополнительным преимуществом новорожденных мышей является более ранний абсолютный возраст, в котором у них развивается гуманизированная иммунная система ( $\geq 12$  нед. против 17–24 нед. у взрослых мышей).
3. Основным недостатком использования новорожденных реципиентов является необходимость увеличения трудозатрат на обслуживание, включая постоянный контроль за самкой с выводком.
4. Другим недостатком использования новорожденных является необходимость совпадения времени их рождения с наличием человеческого материала, пригодного для трансплантации [24].

**Кондиционирование** перед трансплантацией донорского материала подразумевает «создание кондиций, т. е. условий в организме реципиента к введению трансплантата». Важнейшим из этих условий является иммуносупрессия, необходимая для предупреждения реакции трансплантата против хозяина, или отторжения иммунной системой реципиента клеток или тканей, поступивших из донорского организма. Иммуносупрессия может быть лучевой (радиационной), химической или комбинированной [1]. Однако обсуждение исполь-

зования химиотерапевтических агентов (например, бусульфана, циклофосфида, др. алкилирующих агентов, применяемых у животных, например, при аллотрансплантациях) выходит за рамки настоящего обзора.

Наше внимание уделено дозам и режимам облучения, которые являются наиболее часто используемым методом миелоабляции у мышей [26]. Перед трансплантацией ксеногенных клеток и тканей в качестве иммуносупрессора, как правило, используют  $\gamma$ -излучение. Дозы применяемых воздействий зависят от веса, возраста и линий животных: мыши-*SCID* более чувствительны к  $\gamma$ -излучению, чем *BALB/c* того же возраста, равно как и новорожденные по отношению к взрослым животным. Например, для кондиционирования новорожденных мышат *BALB/c* используют дозы  $\gamma$ -облучения от 3 до 4 Гр, тогда как взрослых (8–10 недель) — 5 Гр соответственно. Новорожденных мышей *SCID* подвергают облучению в дозах 1–1,5 Гр, взрослых (5–12 нед.) — 2,4–3,5 Гр (табл. 1).

После облучения мышам-реципиентам требуется отдых в течение 4–24 ч перед процедурой ксенотрансплантации [24]. Описан режим кондиционирования новорожденных мышей *BALB/c-Rag-2 /IL2r<sup>null</sup>* суммарной дозой 4 Гр (по 2 Гр с интервалом 3–4 ч) и с последующим ожиданием в течение 4–12 ч до инокуляции человеческих ГСК [40].

### **Получение и подготовка донорского материала**

С целью формирования функционального гуманизированного иммунитета мышам-реципиентам трансплантируют гематопэтические стволовые клетки (ГСК) и зрелые мононуклеарные клетки (МНК) лейкоцитарного ряда, полученные от людей, а также фрагменты тимуса или печени человеческих эмбрионов.

ГСК получают из нескольких источников: путем аспирации костного мозга, из пуповинной крови, эмбриональной печени, периферической крови (табл. 1).

МНК выделяют из цельной периферической крови, а также из клеточной суспензии лимфатических узлов или селезенки. Каждый реципиент должен получать МНК от отдельного донора [24].

Исходный донорский материал в виде одноклеточной суспензии, содержащей ГСК или МНК, подвергают очистке путем центрифугирования (разделения на фракции и удаления *T*-клеток) и при необходимости — культивированию (размножению с целью получения клеток в количестве, необходимом для трансплантации) [19]. Мононуклеарная фракция может быть выделена с помощью *Ficoll*-градиента, ГСК (иммунофенотип *CD34<sup>+</sup>*) — с помощью позитивной селекции на магнитно-активированном клеточном сепараторе [24].

### **Сайты для трансплантации**

Имплантацию клеток и тканей человека мышам-реципиентам осуществляют в различные сайты (табл. 1, 2) в зависимости от поставленных исследовательских целей или ввиду объективных ограничений, к которым относятся возраст и размер мышам-реципиента, а также возможность приживания донорского материала.

Так, к эффективному приживлению ГСК приводят инокуляции непосредственно в костномозговую полость или в венозное русло, а также в печень. Внутривенные введения осуществляют преимущественно в латеральную хвостовую вену, однако это возможно только у мышей в возрасте не менее 10–12 недель и массой 18–20 г. Применение инъекций в ретроорбитальный синус, а также в селезенку и в бедренную кость ограничено необходимостью наркотизации животных ввиду высокой инвазивности процедуры [26].

**Таблица 1.** Некоторые подходы к гуманизации иммунодефицитных мышей  
**Table 1.** Approaches to humanization of immunodeficient mice

№ п/п	Источник	Мыши-реципиенты, возраст	Колонизированные у-излучением	Человеческие клетки / откуда получены	Сайт инокуляции / количество клеток на животное	Оценка эффективности КТ	Дополнения
1	Traggiai E., et al., 2004 [40]	BALB/c-Rag-2/IL2γ <sup>null</sup> новорожд. 1–5 дн.	4 Гр за 4–12 ч до КТ	ГСК CD34 <sup>+</sup> / пуловинная кровь	печень — (0,5–1)×10 <sup>6</sup>	ПЦМ	---
2	van Lent A.U., et al., [43]	BALB/c Rag2(-/-) gamma(c)(-/-) новорожд. 1–5 дн.	3–4 Гр	ГСК CD34 <sup>+</sup> CD38 <sup>+</sup> / пуловинная кровь; эмбриональный, печень	печень — 1×10 <sup>5</sup>	ПЦМ через 7–8 нед.	лентивиральная трансдукция ГСК
3	Lang J., et al., 2011 [15]	BALB/cRag2 <sup>null</sup> /Il2γ <sup>null</sup> новорожд. 1–3 дн.	3, 5 Гр	ГСК CD34 <sup>+</sup> / пуловинная кровь	печень или лицевая вена — 5×10 <sup>4</sup>	ПЦМ	---
4	Ono A., et al., 2011 [23]	BALB/c Rag-2-/-Jak3-/- C57BL/6 Rag-2-/-Jak3-/-	4 Гр (новорожд.)	CD34 <sup>+</sup> / пуловин. кр.	печень — 1×10 <sup>5</sup>	ПЦМ	---
			5 Гр. (8–10 нед.)	МК / ПК	в/брюшин. — 2×10 <sup>7</sup>		
5	Pearson T., et al., 2011 [24]	NOD/Lt-scid IL2γ <sup>null</sup> 5–12 нед.	2,4 Гр за 4–24 ч до КТ	CD34 <sup>+</sup>	хвост. вена — 3×10 <sup>4</sup>	ПЦМ	---
			Те же, новорожд. 1–2 сут	МК	селезенка — 20×10 <sup>6</sup>		
				CD34 <sup>+</sup> / пуловинная кровь	печень — 3×10 <sup>4</sup>		
6	Tanaka S., et al., 2013 [39]	NOD/SCID/IL2γ <sup>null</sup> (NSG) новорожд. 2 дн.	1, 5 Гр	ГСК CD34 <sup>+</sup> / пуловинная кровь	лицевая вена — (1–3)×10 <sup>4</sup>	ПЦМ	кюфокальн. микроопия
7	Wang H., et al., 2018 [43]	NOD/SCID ♀ 6 нед.	3, 5 Гр за 4–6 ч до КТ	CD34 <sup>+</sup> / пуловинная кровь	хвостовая вена — 1×10 <sup>6</sup>	---	---
8	Hanazawa A., et al., 2018 [13]	NOD/ShiJic/scid/IL-2Rγ <sup>null</sup> (NOG), NOD/ShiJic (NOD)	2, 5 Гр за 24 ч до КТ	CD34 <sup>+</sup> / пуловинная кровь	внутривенно — 5×10 <sup>4</sup>	ПЦМ	---

**Примечание:** КТ — ксенотрансплантация; ГСК — гематopoэтические стволовые клетки; МНК — мононуклеарные клетки; ПК — периферическая кровь; ПЦМ — проточная цитометрия.

**Note:** КТ — xenotransplantation; ГСК — hematopoietic stem cells; МНК — mononuclear cells; ПК — peripheral blood; ПЦМ — flow cytometry.

Трансплантация ГСК новорожденным мышам требует немного больше времени, ресурсов и технических навыков, чем выполнение аналогичной процедуры у взрослых животных. Можно использовать один из путей инокуляции человеческих клеток: внутривенный (через лицевую вену или внутрисердечно), внутривеннопеченочные, а также внутрибрюшинные инъекции [24].

Перевивку зрелых МНК осуществляют внутривенно, внутрибрюшинно или в селезенку и только взрослым животным (табл. 1, 2). Фрагменты тимуса или печени используют для трансплантации под капсулу почки мыши (модель *BLT*, [44]).

Таким образом, при ксенотрансплантации взрослым животным самыми используемыми являются внутривенные (хвостовая вена), а новорожденным — внутривеннопеченочные и внутривенные (лицевая вена) способы инокуляции клеточных суспензий (табл. 2).

Большую популярность на сегодняшний день получили три гуманизированные модели, созданные на основе иммунодефицитных *IL2rg<sup>null</sup>* мышей [44].

Первую модель, известную как *Hu-PBL-SCID*, создают путем инъекции МНК периферической крови человека взрослым животным — как правило, внутрибрюшинно, в селезенку или внутривенно. Эта модель характеризуется быстрым при-

живлением *CD3<sup>+</sup>* *T*-лимфоцитов человека к концу первой недели и отлично подходит для изучения функции *T*-клеток человека *in vivo*, но имеет короткое экспериментальное окно из-за развития ксеногенной болезни «трансплантат против хозяина» с летальным исходом примерно через 4–8 недель. Тем не менее, это экспериментальное окно может быть расширено, если использовать реципиентов *NSG*, у которых отсутствует главный комплекс гистосовместимости.

Вторая модель, называемая *Hu-SRC-SCID*, включает внутривенную (IV) или интрафemorальную (в бедренную кость) инъекцию человеческих ГСК *CD34<sup>+</sup>*, полученных из костного мозга, пуповинной крови, эмбриональной печени или из мобилизованной филграстимом периферической крови. Эта модель характеризуется развитием полноценного человеческого лимфопоэза, обеспечивающего полный спектр функционирующих иммунных клеток. Несмотря на то, что *B*-клетки, *T*-клетки, миелоидные клетки и антиген-презентирующие клетки присутствуют в периферических кровяных тканях, уровень гранулоцитов, тромбоцитов и эритроцитов, формирующихся в костном мозге, в периферической крови очень низок.

Третья модель — модель *BLT*, которую получают путем трансплантации фрагмен-

**Таблица 2.** Сайты для ксенотрансплантации гематопоетических стволовых клеток (ГСК) и мононуклеарных клеток (МНК) иммунодефицитным мышам

**Table 2.** Sites for xenotransplantation of hematopoietic stem cells (HSC) and mononuclear cells (MNC) to immunodeficient mice

Клетки	Возраст мышей	Пути введения человеческих клеток в организм мышей-реципиентов							
		хвост. вена	лицевая вена	РО синус	внутрисердеч.	бедрен. кость	печень	брюшина	селезенка
ГСК	н/р	0	++	—	+	0	+++	+	0
	взр.	+++	+	+	0	+	+	0	0
МНК	взр.	++	0	+	0	0	0	+	+

**Примечание:** н/р — новорожденные; взр. — взрослые; РО — ретроорбитальный; распространенность использования сайта для трансплантации: — — нет сведений; 0 — не используют; + — редко; ++ — часто; +++ — чаще остальных.

**Note:** n/r — newborn; взр. — adult; PO — retroorbital; frequency of transplantation sites: — — not available; 0 — not used; + — rare; ++ — common; +++ — most common.

тов печени и тимуса эмбриона человека под капсулу почки мыши, а также внутривенной инъекции аутологичных ГСК, полученных из печени плода. В результате, как и в модели *Hu-SRC-SCID*, развиваются все линии человеческих кроветворных клеток. Одним из основных ограничений модели *BLT* является, в большинстве случаев, развитие синдрома истощения у мышей, которое сужает временные рамки для экспериментов [44].

Удобным и эффективным **методом оценки прижизнения клеток** человека у гуманизированных мышей является проточная цитометрия (табл. 1). Также в этих целях могут использовать конфокальное микрокопирование [39].

### Гуманизированные мыши в исследованиях биологии рака и разработке новых стратегий противоопухолевой терапии

Довольно широко гуманизированные мыши используются в качестве доклинических моделей для исследования биологии опухолей как платформа *in vivo* для выявления и тестирования потенциальных лекарственных мишеней, исследования механизмов метастазирования, а также для оценки безопасности и эффективности новых методов терапии до их поступления в клинику.

#### Моделирование взаимодействия опухоли и иммунной системы человека у гуманизированных мышей

У мышей с трансплантированными человеческими ГСК и лейкоцитами периферической крови иммунные клетки человека проникают в опухолевое микроокружение подобно тому, что наблюдается в злокачественных новообразованиях пациентов, представляя модель для изучения взаимодействия опухоли и иммунной системы.

Так, новорожденным мышам *NSG*, гуманизированным введением человеческих

ГСК *CD34<sup>+</sup>* (модель *Hu-SRC-SCID*), прививали линейные клетки рака молочной железы. Было отмечено, что *T*-клетки и естественные киллеры (*NK*-клетки) перемещались в микроокружение образовавшихся опухолей. В результате этого органы, пораженные злокачественным процессом, имели более высокое соотношение количества *T*-хелперов (*CD4*) к числу цитотоксических *T*-лимфоцитов (*CD8*), большинство из которых экспрессировали фенотип памяти *CD45RA-CD27<sup>+</sup>* [47]. У *Hu-PBL-SCID*-мышей с новообразованиями, развившимися из того же опухолевого материала, большинство *T*-клеток селезенки и опухоли имели фенотип памяти *CD45RA-* и были представлены популяциями клеток как центральной, так и эффекторной памяти. Большинство туморинфильтрующих лимфоцитов в этом случае являлись эффекторными клетками памяти, в отличие от лимфоцитов центральной памяти, преобладающих в первично перевитых ксенотрансплантатах опухолей, полученных от пациентов (*patient derived xenograft* — *PDX*) [30].

Микроокружение опухоли содержит миелоидные иммуносупрессорные клетки и ассоциированные с опухолью макрофаги, которые подавляют противоопухолевый иммунитет хозяина и способствуют опухолевому ангиогенезу и метастазированию. Rongvaux A., et al. [27] получили мышей *BRG* с экспрессией человеческих рецепторов, стимулирующих развитие миелоидных клеток (т. н. мышей *MISTRG*). У этих животных с трансплантированными человеческими ГСК фетальной печени и подкожно перевитой клеточной линией меланомы человека *Me290* была отмечена инфильтрация макрофагами микроокружения опухоли подобно тому, что наблюдается в первичных новообразованиях. В результате у мышей *Hu-SRC-SCID MISTRG* опухоли росли значительно лучше, чем у *Hu-SRC-SCID NSG*.

Hanazawa A., et al. [13] создали новый гуманизированный трансгенный штамм мышей NOG, экспрессирующих человеческий интерлейкин-6, — *NOG-hIL-6 Tg*. После трансплантации ГСК человека этим мышам наблюдалась усиленная дифференцировка человеческих макрофагов. Опухоли, образовавшиеся у них в результате пересадки клеток линии *HSC4* (плоскоклеточный рак головы и шеи человека), продуцировали различные факторы, включая *IL-6*, *IL-1 $\beta$* , колониестимулирующий фактор макрофагов и фактор роста эндотелия сосудов. Микроокружение опухолей включало человеческие туморассоциированные макрофаги, являющиеся мишенями для иммунотерапии, что определяет перспективу использования мышей *NOG-hIL-6 Tg* в разработке и тестировании таргетных противоопухолевых средств.

Выше подчеркивается важная роль гуманизированных мышей в изучении взаимодействий опухоли и иммунной системы, однако использование клеточных опухолевых линий ограничивает применимость этих моделей. Большим шагом к преодолению этих ограничений было создание гуманизированных моделей с *PDX*.

Трансплантация бестимусным мышам нудам (а в последнее время и генетически модифицированным иммунодефицитным животным) опухолей, полученных от пациентов, стала неотъемлемой составляющей исследовательской платформы *in vivo* для разработки и усовершенствования методов лечения различных онкологических заболеваний [5]. Первично приживленные *PDX* сочетают гетерогенность, отсутствующую в линиях опухолевых клеток, с сохранностью перитуморального микроокружения, которое они все же утрачивают при вторичном переносе вследствие замещения мышинными стромальными клетками [18].

Потенциальная трудность получения достаточной для исследований численности

гуманизированных мышей с *PDX* — это отсутствие необходимого количества аутологичных иммунокомпетентных клеток крови. С целью решения этой проблемы был разработан метод размножения ГСК и МНК *ex vivo*. Мышам *NSG*, реципиентам размноженных *in vitro* человеческих ГСК (т. н. *XactMice*), трансплантировали аутологичные *PDX* плоскоклеточной карциномы головы и шеи. В результате внутри опухолей у *XactMice* были обнаружены человеческие *CD45<sup>+</sup> CD151<sup>+</sup>* клетки, а перитуморально наблюдалась плотная сеть лимфатических сосудов, возникновение которой объясняется наличием иммунных и стромальных компонентов в микроокружении опухоли [19].

#### **Естественные киллеры и цитокиновая терапия**

*NK*- и *NKT*-клетки опосредуют опухолево-иммунный надзор, а изменения их количества и функций зависят от типа опухолей. Разными исследователями предпринимаются усилия по стимулированию противоопухолевой активности этих клеток, включая использование цитокиновой терапии.

Мышам *NSG* с прививками ГСК инъецировали клеточную линию нейроblastомы и размноженные *ex vivo* *NKT*-клетки человека. В результате *NKT*-клетки были обнаружены в микроокружении опухоли, где они локализовались вместе с туморассоциированными макрофагами. Последние секретируют цитокин *CCL20*, который ингибировал выживание и активность клеток *NKT*, обеспечивая рост опухоли. За счет трансформации *ex vivo* *NKT*-клеток интерлейкином *IL-15* было получено повышение их выживаемости и, как следствие, торможение роста опухоли, демонстрирующее эффективность терапии цитокинами *IL-15* [9].

Иммунотерапия *IL-15* также была использована для увеличения популяции *NK*-клеток у мышей *Hu-SRC NSG*, которым привили рак молочной железы человека [47].

Было обнаружено, что использование низких доз *IL-15* способствует повышению жизнеспособности и размножению человеческих *NK*-клеток *in vivo*, а также снижению приживляемости лейкомиической клеточной линии и увеличению выживаемости подопытных животных [9].

Была исследована эффективность *IL-12* как стимулятора противоопухолевой активности иммунной системы у гуманизированных мышей-опухоленосителей. Соединение антитело-*IL12* (*NHS-IL12*) использовали в сочетании с комплексом антитело-*IL2* (*IL2MAB206*) на мышинной модели *Hu-SRC-SCID* с привитой рабдомиосаркомой [49]. Применение *NHS-IL12/IL2MAB206* способствовало торможению роста опухоли и увеличению выживаемости мышей, а также полной регрессии у 75% животных при длительном лечении. Кроме того, опухоли у мышей, получающих *NHS-IL12*, характеризовались высоким процентом стареющих опухолевых клеток и признаками миогенной дифференцировки, более выраженными у мышей, дополнительно получающих *IL2MAB206* [33].

### Редактирование *T*-клеток

Один из механизмов усиления противоопухолевого иммунитета заключается в изменении специфичности *T*-клеток с помощью трансгенного переноса *T*-клеточного рецептора (*TCR*) или химерного рецептора антигена (*CAR*). *CAR*-терапия основана на конструировании рецептора *T*-клеток со специфичностью к антигену, не ограниченному главным комплексом гистосовместимости, что позволяет перенаправить *TCR* на любую выбранную мишень. Хотя терапию нацеливанием *T*-клеток уже используют в клинике, гуманизированные мышинные модели необходимы для оптимизации манипуляций *TCR/CAR* [44].

Адаптивная клеточная терапия — выделение и размножение собственных опу-

холеспецифичных *T*-клеток пациента для реинфузии — показала эффективность в лечении почечно-клеточного рака и меланомы [28]. Однако этот метод имеет потенциальные ограничения для широкого использования: выделить редкую популяцию *T*-клеток очень сложно, а время ожидания, необходимое для их адекватного размножения, неприемлемо для большинства пациентов. Механизмы оптимизации переноса трансгенных специфичных для опухоли *TCR* в *T*-клетки были изучены на моделях гуманизированных мышей. Одной из опасностей использования трансгенных *TCR* является увеличение цитотоксичности вследствие нарушений соединения с эндогенным *TCR* [25].

Были созданы и протестированы на гуманизированных мышях *NSG CAR* против мезотелина для мезотелиомы, *ROR1* — для мантийноклеточной лимфомы, *CD44v6* — для множественной миеломы. Гуманизированные мыши были использованы для сравнения функций и тестирования эффективности костимулирующих доменов *CD27*, *ICOS*, *CD28* и *4-1BB* [39]. *CAR*, включающие костимулирующие домены, точнее нацелены на опухоли, что повышает безопасность терапии с их использованием. Поскольку антигены, обычно используемые в *CAR*-терапии, не являются действительно специфичными для опухоли, Kloss C., et al. [14] создали систему, в которой комбинация двух антигенов была необходима для запуска передачи сигналов *CAR*. Получена молекула *CAR* без костимуляционного мотива, специфичная для одного антигена, тогда как молекула химерного костимуляторного рецептора была создана со специфичностью для второго антигена. *T*-клетки, трансдуцированные обеими молекулами, должны взаимодействовать с клетками, экспрессирующими оба антигена, для запуска оптимальной передачи сигналов, индуцирующих ответ *T*-клеток.

Для устранения гетерогенности экспрессии опухолевого антигена был создан биотинсвязывающий иммунный рецептор авидин, расширяющий идею технологии *CAR*. Внеклеточный авидин соединяется с внутриклеточным сигнальным доменом *TCR*. Затем мыши получают биотинилированные антитела, которые будут связываться с туморассоциированными антигенами, например с *EpCAM*. В модели *Hu-PBL-SCID NSG* у гуманизированных мышей, экспрессирующих биотинсвязывающий рецептор, в результате использования *EpCAM* наблюдалось торможение роста опухолей [42].

С целью получения из человеческих ГСК цитотоксических *T*-клеток, специфичных к опухоли Вильмса 1 (*WT-1*), Najima Y., et al. [22] создали линию трансгенных мышей *NSG*, экспрессирующих молекулы *HLA* класса I. После трансплантации человеческих ГСК у этих мышей в костном мозге и селезенке были обнаружены цитотоксические *CD8<sup>+</sup>* лимфоциты и антигенпрезентирующие клетки. Для оценки *CD8*-специфических ответов трансгенных животных иммунизировали опухолевым пептидом *WT-1*, включая вариант нагрузки этим пептидом дендритных клеток. После иммунизации частота *CD8*-опосредованных ответов на данный антиген в селезенке значительно возрастала. Затем рецептором *WT-1* трансдуцировали ГСК и перевели их новорожденным мышам. Тетрамерные *WT-1-CD8*-антигены находились на мембранах дендритных клеток, а распознающие его цитотоксические *T*-лимфоциты были обнаружены в тимусе, костном мозге и селезенке. В исследованиях *in vitro* эти *CD8*-клетки вырабатывали интерферон- $\gamma$ , уничтожавший лейкозные клетки-мишени.

### **Костимуляторное усиление и ингибиторы контрольных точек**

Использование рецептора 4-1*BB* в качестве костимуляторного мотива при создании молекул *CAR* с более высокой эффективно-

стью продемонстрировало его потенциал для усиления противоопухолевых *T*-ответов *in vivo*. Препарат *PF-05082566*, созданный на основе моноклональных тел — антагонистов 4-1*BB*, тестировали на противоопухолевую эффективность к полученным из различных клеточных линий злокачественным новообразованиям. Мышам модифицированной модели *Hu-PBL-SCID/Beige* одновременно вводили под кожу злокачественные клетки и МНК. У подопытных животных, получавших *PF-05082566*, ингибирование опухолевого роста составляло 40–60% от контроля, что позволяет предполагать влияние иммуномодуляции агонистов на рост опухолей у людей [11].

Другим механизмом иммуномодуляции является использование ингибиторов контрольных точек — моноклональных антител, относящихся к группе таргетных препаратов. Двумя ингибиторами, имеющими определенный клинический эффект, являются антитела к *T*-лимфоцитарному антигену 4 (*CTLA-4*) — препарат Ипилимумаб, который активирует *T*-клетки, а также антагонист программированной гибели клеток-1 (анти-*PD-1*) — Ниволумаб [20]. Эти препараты на основе моноклональных антител эффективны при лечении меланомы, но не все пациенты отвечают на терапию *CTLA-4* и анти-*PD-1*. Гуманизированных мышей с привитыми опухолями используют для изучения взаимодействий ингибиторов контрольных точек с иммунной системой, а также для тестирования противоопухолевой эффективности и механизмов действия иммуномодулирующих агентов. Так, было установлено, что применение Урелумаба (антагониста *hCD137*) и Ниволумаба значительно уменьшало рост опухолей у мышей *Rag2null IL2rgnull*. Иммунодефицитным животным в одной группе инъекцировали клетки колоректальной карциномы *HT-29* человека и аллогенные МНК, а в другой — трансплантировали *PDX* карциномы желудка и аутологичные

лейкоциты периферической крови. Было установлено, что замедление опухолевого роста связано с увеличением секреции  $\gamma$ -интерферона человеческими  $T$ -клетками и уменьшением количества человеческих регуляторных  $T$ -клеток в опухолевых ксенотрансплантатах [31].

Одной из основных проблем, связанных с использованием моноклональных антител, является развитие синдрома высвобождения цитокинов. Мышам, гуманизированным человеческими МНК, инъецировали препараты Muromonab-CD3 или TGN1412 (анти-CD28). Под воздействием Muromonab-CD3 у мышей воспроизводились острые клинические симптомы, такие как пилоэрекция, гипомобильность и гипотермия, тогда как животные, получившие инъекции TGN1412, быстро теряли температуру тела и умирали в течение 2–6 ч [7, 48]. Только испытания, проведенные на гуманизированных животных, дали возможность смоделировать разные варианты реагирования человеческой иммунной системы на тестируемые препараты, включая тяжелые последствия «цитокинового шторма».

## Заключение

В представленном обзоре освещены различные методологические подходы к гуманизации мышей, используемые современными исследователями. Тем не менее, в случаях моделирования гуманизированной иммунной системы путем ксенотрансплантации клеток и тканей обязательно соблюдение общих условий. К ним относятся: 1) выбор реципиента с максимальным иммунодефицитом; 2) дополнительная имму-

носупрессия (кондиционирование) животного-реципиента; 3) выбор оптимальных сайтов для внедрения определенных человеческих клеток или тканей. Соблюдение этих условий направлено на предотвращение развития реакции «трансплантат против хозяина» и обеспечение достаточного уровня приживляемости человеческого материала.

Также рассмотрена роль гуманизированных мышей-опухоленосителей в изучении биологии и патогенеза рака, в разработке и тестировании новых противоопухолевых воздействий. Показано, что на таких моделях возможно исследовать *in vivo* взаимодействие приживленных опухоли и иммунной системы человека, включая выход злокачественных новообразований из-под иммунного надзора. Использование гуманизированных мышей в экспериментальной онкологии позволило рассмотреть механизмы иммунной модуляции и оценить на доклиническом этапе ее терапевтический потенциал, а также эффективность и безопасность других противоопухолевых средств.

Однако по-прежнему существуют ограничения в применении гуманизированных моделей, т. к. врожденная иммунная система мышей продолжает препятствовать эффективному приживлению человеческого материала. Возможные перспективы решения этой проблемы заключаются в использовании технологий, позволяющих усилить уже существующий иммунодефицит животных путем нокаута определенных генов (например, мышечных генов главного комплекса гистосовместимости), а также трансгенных манипуляций.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. *Гематология: национальное руководство* / Под ред. О.А. Рукавицына. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. 776 с. [*Gematologiya: nacional'noe rukovodstvo* [*Hematology: national guidelines*]. Ed. by O.A. Rukavitsyn. Moscow: GEOTAR-Media, 2015. 776 p. (In Russian)].
2. Дейкин А.В. Современные подходы и перспективы использования технологии модификации генома при моделировании патологических состояний человека на животных моделях. *Russian scientist*. 2017;2:16–17. [Deykin A.V. Sovremennye podhody

- i perspektivy ispol'zovaniya tekhnologii modifikatsii genoma pri modelirovaniy patologicheskikh sostoyaniy cheloveka na zhivotnykh modelyakh [Modern approaches and prospects of using the technology of genome editing in modeling the pathological conditions of human in animal models]. *Russian scientist*. 2017;2:16–17. (In Russian)].
3. Каркищенко Н.Н., Рябых В.П., Каркищенко В.Н., Колоскова Е.М. Создание гуманизированных мышей для фармакотоксикологических исследований (успехи, неудачи и перспективы). *Биомедицина*. 2014;3:4–22. [Karkischenko N.N., Ryabiyh V.P., Karkischenko V.N., Koloskova E.M. Sozdanie gumani-zirovannykh myshey dlya farmakotoksikologicheskikh issledovaniy (uspekhi, neudachi i perspektivy) [Creation of humanized mice for pharmacological and toxicological research (progress, failures and prospects)]. *Bio-medicine*. 2014;3:4–22. (In Russian)].
4. Каркищенко Н.Н., Капаназде Г.Д., Петрова Н.В. Новая модель оценки избирательной токсичности антибластомных средств на трансгенных мышах с генами *Nat1* hom человека. *Биомедицина*. 2015;3:4–19. [Karkischenko N.N., Kapanadze G.D., Petrova N.V. Novaya model' ochenki izbiratel'noy toksichnosti antiblastomnykh sredstv na transgennykh myshakh s genami *Nat1* hom cheloveka [A new model for the evaluation of selective toxicity of antineoplastic funds in transgenic mice with human genes *Nat1*hom]. *Biomedicine*. 2015;3:4–19. (In Russian)].
5. Кит О.И., Колесников Е.Н., Максимов А.Ю., Протасова Т.П., Гончарова А.С., Лукбанова Е.А. Методы создания ортотопических моделей рака пищевода и их применение в доклинических исследованиях. *Современные проблемы науки и образования*. 2019;2. [Kit O.I., Kolesnikov E.N., Maksimov A.Yu., Protasova T.P., Goncharova A.S., Lukbanova E.A. Metody sozdaniya ortotopicheskikh modelej raka pishchevoda i ih primeneniye v doklinicheskikh issledovaniyakh [Methods of creation and application of orthotopic models of esophageal cancer in preclinical studies (literature review)]. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya* [Modern problems of science and education]. 2019;2. (In Russian)].
6. Banuelos S.J., Shultz L.D., Greiner D.L., Burzenski L.M., Gott B., Lyons B.L., et al. Rejection of human islets and human HLA-A2.1 transgenic mouse islets by alloreactive human lymphocytes in immunodeficient NOD-scid and NOD-Rag1(null) Prfl(null) mice. *Clin. Immunol*. 2004;112:273–283. PubMed: 15308121.
7. Brady J.L., Harrison L.C., Goodman D.J., Cowan P.J., Hawthorne W.J., et al. Preclinical screening for acute toxicity of therapeutic monoclonal antibodies in a hu-SCID model. *Clin. Transl. Immunology*. 2014;3:e29. PubMed: 25587392.
8. Brehm M.A., Bortell R., Verma M., Shultz L.D., Greiner D.L. Humanized Mice in Translational Immunology. In: *Translational Immunology: Mechanisms and Pharmacological Approaches*. Ed. by S.L. Tan. Elsevier, 2016:285–326.
9. Cany J., van der Waart A.B., Tordoir M., Franssen G.M., Hangalapura B.N., et al. Natural killer cells generated from cord blood hematopoietic progenitor cells efficiently target bone marrow-residing human leukemia cells in NOD/SCID/IL2Rg(null) mice. *PLoS ONE*. 2013;8:e64384. PubMed: 23755121.
10. Cassidy J.W., Caldas C., Bruna A. Maintaining Tumor Heterogeneity in Patient-Derived Tumor Xenografts. *Cancer Res*. 2015;75:2963–2968. PubMed: 26180079.
11. Fisher T.S., Kamperschroer C., Oliphant T., Love V.A., Lira P.D., et al. Targeting of 4-1BB by monoclonal antibody PF-05082566 enhances T-cell function and promotes anti-tumor activity. *Cancer Immunol. Immunother*. 2012;61:1721–1733. PubMed: 22406983.
12. Fujii H., Trudeau J.D., Teachey D., Fish J.D., Grupp S.A., Schultz K.R., et al. *In vivo* control of acute lymphoblastic leukemia by immunostimulatory CpG oligonucleotides. *Blood*. 2007;109:2008–2013. PubMed: 17068155.
13. Hanazawa A., Ito R., Katano I., Kawai K., Goto M., Suemizu H., et al. Generation of human immunosuppressive Myeloid cell Populations in human interleukin-6 Transgenic NOG Mice. *Front. Immunol*. 2018;9:152. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00152.
14. Kloss C.C., Condomines M., Cartellieri M., Bachmann M., Sadelain M. Combinatorial antigen recognition with balanced signaling promotes selective tumor eradication by engineered T-cells. *Nat. Biotechnol*. 2013;31:71–75. PubMed: 23242161.
15. Lang J., Weiss N., Freed B.M., Torres R.M., Raul M.T., Pelanda R. Generation of hematopoietic humanized mice in the newborn BALB/c-Rag2nullIl2rnull mouse model: a multivariable optimization approach. *Clin. Immunol*. 2011 July;140(1):102–116. DOI: 10.1016/j.clim.2011.04.002.
16. Lim W.H., Kireta S., Russ G.R., Coates P.T. Human plasmacytoid dendritic cells regulate immune responses to Epstein — Barr virus (EBV) infection and delay EBV-related mortality in humanized NOD-SCID mice. *Blood*. 2007;109:1043–1050. PubMed: 17018863.
17. Liu D., Song L., Wei J., Courtney A.N., Gao X., et al. IL-15 protects NKT cells from inhibition by tumor-associated macrophages and enhances antimetastatic activity. *J. Clin. Invest*. 2012;122:2221–2233. PubMed: 22565311.
18. Maykel J., Liu J.H., Li H., Shultz L.D., Greiner D.L., Houghton J. NOD-scidIl2rg (tm1Wjl) and NOD-Rag1 (null) Il2rg (tm1Wjl): a model for stromal cell-tumor cell interaction for human colon cancer. *Dig. Dis. Sci*. 2014;59:1169–1179. PubMed: 24798995.
19. Morton J.J., Bird G., Keysar S.B., Astling D.P., Lyons T.R., et al. XactMice: humanizing mouse bone

- marrow enables microenvironment reconstitution in a patient-derived xeno-graft model of head and neck cancer. *Oncogene*. 2016;35:290–300. PubMed: 25893296.
20. Mullard A. New checkpoint inhibitors ride the immunotherapy tsunami. *Nat. Rev. Drug Discov*. 2013;12:489–492. PubMed: 23812256.
  21. Murphy A.J., Macdonald L.E., Stevens S., Karow M., Dore A.T., Pobursky K, et al. Mice with megabase humanization of their immunoglobulin genes generate antibodies as efficiently as normal mice. *PNAS*. 2014;111(14):5153–5158. DOI: 10.1073/pnas.1324022111.
  22. Najima Y., Tomizawa-Murasawa M., Saito Y., Watanabe T., Ono R., et al. Induction of WT1-specific human CD8+ T-cells from human HSCs in HLA class I Tg NOD/SCID/IL2rgKO mice. *Blood*. 2016;127:722–734. PubMed: 26702062.
  23. Ono A., Hattori S., Kariya R., Iwanaga S., Taura M., Harada H., et al. Comparative Study of Human Hematopoietic Cell Engraftment into Balb/c and C57BL/6 Strain of Rag-2/Jak3 Double-Deficient Mice. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2011;539748:6. DOI: 10.1155/2011/539748.
  24. Pearson T., Greiner D.L., Shultz L.D. Creation of “Humanized” Mice to Study Human Immunity. *Curr. Protoc. Immunol*. 2008; CHAPTER: Unit-15.21. DOI: 10.1002/0471142735.im1521s81.
  25. Provasi E., Genovese P., Lombardo A., Magnani Z., Liu P.Q., et al. Editing T-cell specificity towards leukemia by zinc finger nucleases and lentiviral gene transfer. *Nat. Med*. 2012;18:807–815. PubMed: 22466705.
  26. Raimon D.-S., Robert C.D. Principles of Bone Marrow Transplantation (BMT): Providing Optimal Veterinary and Husbandry Care to Irradiated Mice in BMT Studies. *J. of the Am. Association for Laboratory Animal Science*. 2009;48(1):11–22.
  27. Rongvaux A., Willinger T., Martinek J., Strowig T., Gearty S.V., et al. Development and function of human innate immune cells in a humanized mouse model. *Nat. Biotechnol*. 2014;32:364–372. PubMed: 24633240.
  28. Rosenberg S.A., Restifo N.P., Yang J.C., Morgan R.A., Dudley M.E. Adoptive cell transfer: a clinical path to effective cancer immunotherapy. *Nat. Rev. Cancer*. 2008;8:299–308. PubMed: 18354418.
  29. Rosfjord E., Lucas J., Li G., Gerber H.P. Advances in patient-derived tumor xeno-grafts: from target identification to predicting clinical response rates in oncology. *Biochem. Pharmacol*. 2014;91:135–143. PubMed: 24950467.
  30. Roth M.D., Harui A. Human tumor infiltrating lymphocytes cooperatively regulate prostate tumor growth in a humanized mouse model. *J. Immunother. Cancer*. 2015;3:12. PubMed: 25901284.
  31. Sanmamed M.F., Rodriguez I., Schalper K.A., Onate C., Azpilikueta A., et al. Nivolumab and Urelumab Enhance Antitumor Activity of Human T-Lymphocytes Engrafted in Rag2-/-IL2Rgammanull Immunodeficient Mice. *Cancer. Res*. 2015;75:3466–3478. PubMed: 26113085.
  32. Shankavaram U.T., Bredel M., Burgan W.E., Carter D., Tofilon P., Camphausen K. Molecular profiling indicates orthotopic xenograft of glioma cell lines simulate a subclass of human glioblastoma. *J. Cell. Mol. Med*. 2012;16:545–554. PubMed: 21595825.
  33. Schilbach K., Alkhaled M., Welker C., Eckert F., Blank G., et al. Cancer-targeted IL-12 controls human rhabdomyosarcoma by senescence induction and myogenic differentiation. *Oncoimmunology*. 2015;4:e1014760. PubMed: 26140238.
  34. Shultz L.D., Brehm M.A., Garcia-Martinez J.V., Greiner D.L. Humanized mice for immune system investigation: progress, promise and challenges. *Nat. Rev. Immunol*. 2012;12:786–798. PubMed: 23059428.
  35. Shultz L.D., Goodwin N., Ishikawa F., Hosur V., Lyons B.L., Greiner D.L. Human cancer growth and therapy in immunodeficient mouse models. *Cold Spring Harb. Protoc*. 2014:694–708. PubMed: 24987146.
  36. Shultz L.D., Ishikawa F., Greiner D.L. Humanized mice in translational biomedical research. *Nat. Rev. Immunol*. 2007;7:118–130. PubMed: 17259968.
  37. Song D.G., Powell D.J. Pro-survival signaling via CD27 costimulation drives effective CAR T-cell therapy. *Oncoimmunology*. 2012;1:547–549. PubMed: 22754782.
  38. Strowig T., Gurer C., Ploss A., Liu Y.F., Arrey F., et al. Priming of protective T-cell responses against virus-induced tumors in mice with human immune system components. *J. Exp. Med*. 2009;206:1423–1434. PubMed: 19487422.
  39. Tanaka S., Saito Y., Kunisawa J., Kurashima Y., Wake T., Suzuki N., et al. Development of Mature and Functional Human Myeloid Subsets in Hematopoietic Stem Cell-Engrafted NOD/SCID/IL2ryKO Mice. *Immunol*. 2012;188(12):6145–6155. DOI: 10.4049/jimmunol.1103660.
  40. Traggiai E., Chicha L., Mazzucchelli L., Bronz L., Piffaretti J.C., Lanzavecchia A., et al. Development of a human adaptive immune system in cord blood cell-transplanted mice. *Science*. 2004;304:104–107. PubMed: 15064419.
  41. Turgeon N.A., Banuelos S.J., Shultz L.D., Lyons B.L., Iwakoshi N., Greiner D.L., et al. Alloimmune injury and rejection of human skin grafts on human peripheral blood lymphocyte-reconstituted nonobese diabetic severe combined immunodeficient beta2-microglobulin-null mice. *Exp. Biol. Med*. 2003;228:1096–1104.
  42. Urbanska K., Lanitis E., Poussin M., Lynn R.C., Gavin B.P., et al. A universal strategy for adoptive immunotherapy of cancer through use of a novel T-cell antigen receptor. *Cancer Res*. 2012;72:1844–1852. PubMed: 22315351.
  43. van Lent A.U., Centlivre M., Nagasawa M., Kar-rich J.J., Pouw S.M., Weijer K., et al. *In Vivo* Modulation of Gene Expression by Lentiviral Transduction in

- “Human Immune System” Rag2<sup>-/-</sup>c<sup>-/-</sup> Mice. *Methods Mol. Biol.* 2010;595:87–115. DOI: 10.1007/978-1-60761-421-0\_6.
44. Walsh N., Kenney L., Jangalwe S., Aryee K.-E., Greiner D.L., Brehm M.A., et al. Humanized mouse models of clinical disease. *Annu. Rev. Pathol.* 2017;12:187–215. DOI: 10.1146/annurev-pathol-052016-100332.
45. Wang H., Ge W., Zhuang Y., Fu J., Li D., Ju X. Fast recovery of platelet production in NOD/SCID mice after transplantation with *ex vivo* expansion of megakaryocyte from cord blood CD34<sup>+</sup> cells. *Journal of Cancer Research and Therapeutics.* 2018;14(1):233–239. DOI: 10.4103/0973-1482.193893.
46. Wang L.X., Kang G., Kumar P., Lu W., Li Y., et al. Humanized-BLT mouse model of Kaposi’s sarcoma-associated herpesvirus infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014;111:3146–3141. PubMed: 24516154.
47. Wege A.K., Ernst W., Eckl J., Frankenberger B., Vollmann-Zwerenz A., et al. Humanized tumor mice—A new model to study and manipulate the immune response in advanced cancer therapy. *Int. J. Cancer.* 2011;129:2194–2206. PubMed: 21544806.
48. Weissmuller S., Kronhart S., Kreuz D., Schnierle B., Kalinke U., et al. TGN1412 Induces Lymphopenia and Human Cytokine Release in a Humanized Mouse Model. *PLoS ONE.* 2016;11:e0149093. PubMed: 26959227.
49. Zhao Y., Moon E., Carpenito C., Paulos C.M., Liu X., et al. Multiple injections of electroporated autologous T-cells expressing a chimeric antigen receptor mediate regression of human disseminated tumor. *Cancer Res.* 2010;70:9053–9061. PubMed: 20926399.
50. Zschaler J., Schlorke D., Arnhold J. Differences in innate immune response between man and mouse. *Crit. Rev. Immunol.* 2014;34:433–454. PubMed: 25404048.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Кит Олег Иванович**, д.м.н., проф., чл.-корр. РАН, Заслуженный врач РФ, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России;  
e-mail: [onko-sekretar@list.ru](mailto:onko-sekretar@list.ru)

**Максимов Алексей Юрьевич**, д.м.н., проф., ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России;  
e-mail: [rnioi@list.ru](mailto:rnioi@list.ru)

**Протасова Татьяна Пантелеевна\***, к.б.н., ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России;  
e-mail: [protasovatp@yandex.ru](mailto:protasovatp@yandex.ru)

**Гончарова Анна Сергеевна**, к.б.н., ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России;  
e-mail: [fateyeva\\_a\\_s@list.ru](mailto:fateyeva_a_s@list.ru)

**Кутилин Денис Сергеевич**, к.б.н., ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России;  
e-mail: [k.denees@yandex.ru](mailto:k.denees@yandex.ru)

**Лукбанова Екатерина Алексеевна**, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России;  
e-mail: [katya.samarskaya@yandex.ru](mailto:katya.samarskaya@yandex.ru)

**Oleg I. Kit**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Honored Doctor of the Russian Federation, Rostov Research Institute of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation;  
e-mail: [onko-sekretar@list.ru](mailto:onko-sekretar@list.ru)

**Alexey Yu. Maksimov**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Rostov Research Institute of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation;  
e-mail: [rnioi@list.ru](mailto:rnioi@list.ru)

**Tatyana P. Protasova\***, Cand. Sci. (Biol.), Rostov Research Institute of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation;  
e-mail: [protasovatp@yandex.ru](mailto:protasovatp@yandex.ru)

**Anna S. Goncharova**, Cand. Sci. (Biol.), Rostov Research Institute of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation;  
e-mail: [fateyeva\\_a\\_s@list.ru](mailto:fateyeva_a_s@list.ru)

**Denis S. Kutilin**, Cand. Sci. (Biol.), Rostov Research Institute of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation;  
e-mail: [k.denees@yandex.ru](mailto:k.denees@yandex.ru)

**Ekaterina A. Lukbanova**, Rostov Research Institute of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation;  
e-mail: [katya.samarskaya@yandex.ru](mailto:katya.samarskaya@yandex.ru)

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author