

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2026.01.001

· 院士论坛 ·

下一代免疫系统人源化小鼠模型在肿瘤生物治疗中的应用：进展与挑战

马凯丽^{1,2}, 张连军^{1,2}, 曹雪涛² (1. 中国医学科学院 苏州系统医学研究所, 江苏 苏州 215123; 2. 免疫与炎症全国重点实验室, 上海 200433)



马凯丽 理学博士, 硕士生导师, 现任中国医学科学院苏州系统医学研究所副研究员、免疫与炎症全国重点实验室骨干科研成员, 江苏省免疫学会基础免疫专业委员会委员。研究方向聚焦于T细胞命运决定的代谢调控机制及肿瘤免疫治疗潜在治疗靶点发现与功能验证, 以线粒体代谢调控CD8⁺T细胞命运为核心研究方向。以第一作者或通信作者(含共同)身份在 *Immunity*、*Cell Metab*、*Trends Cancer*、*Signal Transduct Target Ther*、*Cell Death Differ*、*Cell Death Dis* 等国际期刊发表SCI收录论文13篇。主持国家自然科学基金青年项目、江苏省自然科学基金面上项目各一项。曾获中国生物物理学会线粒体生物学会分会“青年学者奖”, 入选江苏省科协“青年科技人才托举工程”。



张连军 理学博士, 中国医学科学院苏州系统医学研究所研究员、北京协和医学院博士生导师。中国免疫学会肿瘤免疫与生物治疗分会委员、中国抗癌协会肿瘤生物治疗专业委员会委员、中国生物物理学会肿瘤免疫生物学分会委员、江苏省免疫学会肿瘤免疫专业委员会副主任委员。主持国家自然科学基金原创探索计划项目及面上项目、国家重点研发计划项目等。研究方向聚焦肿瘤免疫治疗新策略的开发与转化, 现阶段重点解析: CD8⁺T细胞命运决定及代谢重编程机制、肿瘤浸润T细胞功能与代谢衰竭的分子新机制、肿瘤微环境的代谢调控与表观遗传学调控网络。以通信作者身份在 *Immunity*、*Cell Mol Immunol*、*Cell Reports Med*、*Cell Metab*、*Trends Cancer* 等国际期刊发表SCI收录论文20余篇, 累计发表文章60余篇, 总被引逾5600次。作为骨干成员的研究成果荣获中国核学会科学技术三等奖及同方股份有限公司科学技术一等奖。获江苏省杰出青年科学基金资助, 入选江苏省高层次人才培养计划(“333工程”)中青年领军人才第二层次。



曹雪涛 教授, 中国工程院院士。现任中国医学科学院免疫治疗研究中心主任、中国医学科学院天津研究所中方所长、南开大学免疫学研究所所长、海军军医大学免疫与炎症全国重点实验室学术委员会主任、创新药物研发国家科技重大专项技术总师、中国免疫学会名誉理事长。长期从事免疫与炎症的基础研究和肿瘤等重大疾病的免疫治疗与转化应用研究。以通信作者身份发表SCI收录论文300余篇, 累计被引4万余次。主编本科生、研究生及八年制全国统编教材《医学免疫学》。曾获国家自然科学二等奖(2003)、教育部长江学者成就奖(2005)、中国工程院光华工程科技奖(2012)、陈嘉庚科学奖(2016)。获国家发明专利16项、国家II新药证书2个。任 *Cell Mol Immunol* 及 *Immunity & Inflammation* 共同主编、《中华医学杂志》总编辑和《中国肿瘤生物治疗杂志》主编等。

[摘要] 小鼠是生物医学研究的基础模型, 在人类疾病机制与治疗策略探索中发挥了重要作用, 但其固有的遗传与免疫学差异严重阻碍了基础研究向临床应用的有效转化。因此, 开发免疫系统人源化小鼠模型具有重要意义与广阔应用前景。本文系统回顾人源化小鼠模型的发展历程, 从基于细胞或组织移植的第一代模型, 跨越到引入人类细胞因子表达及利用CRISPR/Cas9等技术构建的第二代及更精细的基因工程模型, 详细梳理关键技术演进及优化策略。着重探讨新一代模型在改善髓系细胞与NK细胞发育、精准模拟人类肿瘤免疫微环境等方面的技术突破。此外, 文章深入探讨了免疫系统人源化小鼠模型在评估免疫检查点抑制剂、双特异性抗体、抗体偶联药物、免疫细胞疗法等治疗手段及细胞因子释放综合征等毒性反应预测中的应用现状及面临的挑战。最后, 展望免疫系统人源化及个性化模型在精准医学与临床前评估中的发展趋势, 为优化新药研发策略、提高转化成功率提供参考。

[关键词] 人源化小鼠; 基因工程; 肿瘤免疫治疗; 传染病; 疫苗研发

[中图分类号] Q95-33; R332; R730.51 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2026) 01-0001-11

[基金项目] 国家自然科学基金(82350114, 82271775); 江苏省基础研究计划(BK20241809)

[通信作者] 曹雪涛, 张连军(扫码获取作者通信方式)



The application of next-generation humanized immune system mouse models in cancer biotherapy: progress and challenges

MA Kaili^{1,2}, ZHANG Lianjun^{1,2}, CAO Xuetao² (1. Suzhou Institute of Systems Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Suzhou 215123, Jiangsu, China; 2. National Key Laboratory of Immunity and Inflammation, Shanghai 200433, China)

[Abstract] While murine models remain the cornerstone of biomedical research and play important roles in the exploration of human disease mechanism and therapeutic strategies, inherent genetic and immunological discrepancies between species constitute a major barrier to the translational success of basic research. Humanized immune system mouse models have therefore emerged with great significance and broad translational potential. This review systematically outlines the evolution of humanized immune system mouse models and delineates the key technical development and optimizing strategies from first-generation models relying on cell or tissue transplantation to second-generation and more refined genetically engineered models, driven by the incorporation of human cytokine expression and CRISPR/Cas9 technology. Special attention is given to technical advancements of the new-generation model in optimizing myeloid and NK cell development and accurately recapitulating the human tumor immune microenvironment. Additionally, this article provides an in-depth analysis of the application and challenges of these humanized immune system mouse models in the evaluation of immune checkpoint inhibitors, bispecific antibodies, antibody-drug conjugates, immune cell therapies and other therapeutic modalities, as well as toxicity prediction such as cytokine release syndrome. Concluding with a perspective on the development of immune system humanized and personalized models in precision medicine and pre-clinical assessment, this review aims to offer insights into optimizing new drug development strategies and promoting translational success rates.

[Key words] humanized mice; genetic engineering; cancer immunotherapy; infectious diseases; vaccine development

[Chin J Cancer Biother, 2026, 33(1): 1-11. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2026.01.001]

动物模型历来是深入解析人体生理机制及疾病复杂生物学过程的重要载体。小鼠作为一种广泛使用的模式生物,在促进生物医学研究的发现和验证方面发挥了重要作用。鉴于小鼠和人类之间蛋白质编码基因的高度保守性,可以通过操纵小鼠基因组来深入了解人类基因功能^[1]。然而,小鼠与人类之间现存的生物学差异限制了众多研究成果向临床应用的转化,因此科研界对于高保真复刻人类生物学特征的小鼠模型存在迫切需求。为应对这一挑战,已开发了多种小鼠“人源化”策略,使这些模型成为基础和应用研究不可或缺的工具。“人源化小鼠”是指经过基因改造表达人类基因或移植人类细胞或组织的小鼠。人源化小鼠与人类生理特征、特定的人类DNA序列、人类基因组片段、人类组织、人类肿瘤、人类免疫系统和/或人类微生物组的组成部分高度相似,为研究人类疾病或评价临床前药物/疫苗候选物提供了关键的技术支撑。人源化小鼠模型的广泛应用显著推动了生物医学领域,特别是肿瘤免疫治疗领域的进展^[2]。本文对下一代免疫系统人源化小鼠模型的开发及其在临床转化中的应用潜能进行系统分析。

1 人源化小鼠模型分类

人源化小鼠模型大致可分为人源化转基因小鼠模型和免疫系统人源化小鼠模型。人源化转基因小鼠模型是指通过转基因或基因靶向技术在正常的、免疫功能健全的小鼠中表达人类基因[如人源化

PD-1小鼠模型或肿瘤相关抗原(tumor-associated antigen, TAA)转基因小鼠模型]。此类模型构建周期短、制备便捷,且具备优良的实验可重复性,许多药物已使用该模型进入临床试验^[3]。然而,人源化转基因小鼠模型在应用中仍面临诸多挑战,例如人源化转基因小鼠模型中TAA表达水平因肿瘤细胞系或组织来源不同而产生的差异,可能影响模型与人类肿瘤之间的相关性及其对肿瘤异质性的反应。另外,单一转基因人源化小鼠模型仍然无法重建完整且功能协调的人类免疫系统,尤其难以模拟人类免疫细胞之间的相互作用及其在疾病微环境中的动态调控,因此亟需通过免疫系统人源化小鼠模型来弥补这一缺陷。

免疫系统人源化小鼠模型是通过将人外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)或造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)移植到严重免疫缺陷的小鼠体内而构建的,使得人类免疫细胞可在小鼠体内长期存活。在这些小鼠模型中重建功能性免疫细胞群体,为深入研究免疫治疗药物对免疫系统的调节及其对肿瘤的抑制作用提供了理想的体内研究平台与关键评价手段。对于复杂的药物研发过程,人源化转基因小鼠模型和免疫系统人源化小鼠模型可以相互验证。基于免疫系统重建策略和技术演进的不同,免疫系统人源化小鼠模型可进一步分为第一代和第二代模型,两者在免疫细胞组成、功能成熟度及应用场景上各具特点。

1.1 第一代免疫系统人源化小鼠模型

第一代免疫系统人源化小鼠主要包括 hPBMC、hHSC 和人骨髓-肝-胸腺 (human bone marrow-liver-thymus, hBLT) 模型, 通过移植人 PBMC、HSC 或联合移植 hBLT 实现人类免疫系统的部分重建^[4-5] (图 1)。这类小鼠模型在免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitor, ICI)、抗体药物、细胞疗法等疗效评估和机制研究中广泛应用。严重免疫缺陷的非肥胖糖尿病 (non-obese diabetic, NOD) 小鼠携带严重联合免疫缺陷 (severe combined

immunodeficiency, SCID) 突变并敲除 IL2R γ 基因, 导致缺失功能性宿主 T 细胞、B 细胞和 NK 细胞, 是人类细胞或组织移植的宝贵模型。这些模型通常通过注射肿瘤细胞和患者来源的异种移植瘤 (patient derived xenograft, PDX) 来评估各种人类肿瘤。人源化自体 PDX 小鼠 (用患者免疫细胞重建的小鼠) 对于免疫疗法相关的研究至关重要, 例如检查点抗体、双特异性抗体 (bispecific antibody, BsAb)、CAR-T 细胞免疫疗法、mRNA 疫苗及溶瘤病毒的开发和验证。

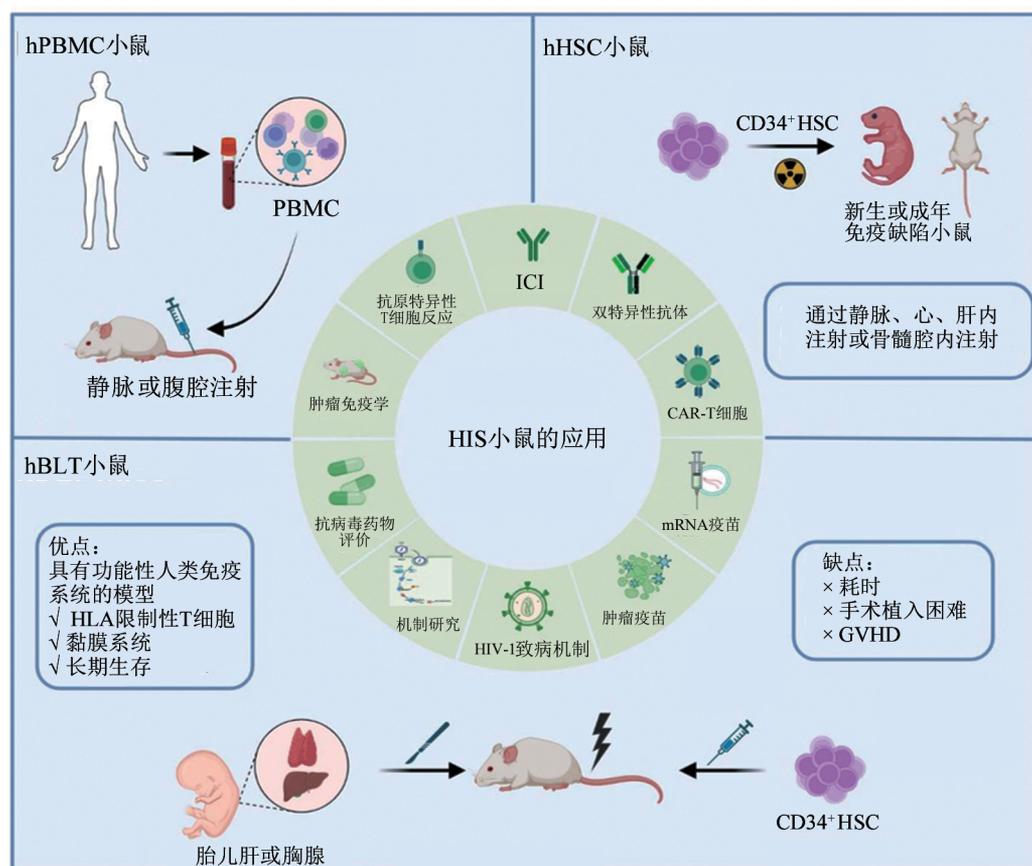


图 1 第一代免疫系统人源化小鼠模型构建策略

hPBMC 小鼠是将人 PBMC 通过腹腔注射或静脉注射移植到严重免疫缺陷小鼠体内建立的模型, 该模型能够在短期内重建高丰度的人源 T 细胞 (移植 4 周后 hCD45⁺ 细胞比例高于 45%), 因此被广泛用于评估针对 T 细胞的免疫治疗药物, 并因制备便捷且成本较低而适合短期实验^[6]。然而, 该模型在功能性 B 细胞、NK 细胞及髓系细胞的植入和维持方面存在明显不足, 主要表现为这些细胞类型的重建比例低或不稳定, 因此难以全面模拟完整的人类免疫系统。

hHSC 小鼠是通过将人 CD34⁺ HSC 移植到新生或成年免疫缺陷小鼠体内而建立的, 移植途径包括静脉、心内和肝内注射或骨髓腔注射。该模型能够重建具

有长寿命的人类免疫系统, 并具有造血细胞的多系发育能力, 包括 H-2 限制性 T 细胞、初始 B 细胞和低比例的髓系细胞^[7]。然而, 人类细胞的移植主要取决于 CD34⁺ 细胞的来源和注射途径。这些小鼠在移植前需要进行亚致死剂量的 γ 射线照射, 为 hHSC 的移植创造条件^[8]。hHSC 小鼠主要用于 T 细胞靶向免疫治疗药物的长期疗效研究, 例如 ICI 的疗效。然而, 这些小鼠模型存在一些局限性, 包括细胞分化耗时较长、肿瘤免疫微环境建模存在差异, 例如肿瘤微环境 (TME) 中调节性 T 细胞 (Treg 细胞)、M2 型巨噬细胞和树突状细胞 (DC) 的频率较低, 以及人类红细胞、多形核白细胞和巨核细胞含量较低。

hBLT小鼠是通过将人胎肝或胸腺进行包膜下移植,并结合人CD34⁺ HSC经静脉注射移植到亚致死剂量照射的成年小鼠体内而建立的。其重建的功能性人免疫系统支持HLA限制性T细胞的发育,并包含黏膜免疫组分。与上述其他模型相比,hBLT小鼠实现了最高水平的人T细胞和B细胞重建,并且这些细胞的存活时间更长。此外,这些人源化小鼠在早期(4~6周)体内含有相当数量的巨噬细胞、DC和NK细胞,但随着时间的推移,这些细胞的数量会逐渐减少。该模型非常适合分析抗原特异性T细胞反应的研究。然而,构建hBLT模型的制备周期长且高度依赖显微外科技术,细胞分化至少需要10周,获取胎肝和胸腺组织也存在困难;此外,hBLT小鼠对异源物质的免疫反应较弱、类别转换抗体水平低,存在较高的移植物抗宿主病(graft-versus-host disease, GVHD)发生风险^[9]。

1.2 第二代免疫系统人源化小鼠模型

第一代免疫系统人源化小鼠模型标志着高度免疫缺陷小鼠研究的开创性时代。然而,由于人类和小鼠之间不同免疫系统谱系发育所必需的细胞因子交叉活性有限,某些细胞谱系在发育或完全成熟过程中面临挑战,导致关键细胞因子存在物种特异性差异,而这些细胞因子对于此类生物学过程至关重要。为了应对这些复杂情况,第二代免疫系统人源化小鼠在第一代模型的基础上,通过外源性细胞因子给药或将人类细胞因子(如SCF、GM-CSF、IL-3、IL-15、IL-2等)敲入已建立的特定免疫缺陷小鼠品系来实现基因人源化。通过基因改造,可以构建NOD SCID/IL2R $\gamma^{-/-}$ 小鼠,使其过表达不同的人类细胞因子,例如NSG SGM3小鼠^[10]、NOG EXL小鼠和NOG IL-15小鼠,从而提高免疫系统重建的效率并增加髓系细胞、NK细胞^[11]或DC的比例。这种创新策略提高了功能性造血细胞和组织移植的水平,从而推动了小鼠人源化技术的迭代演进。这些模型是研究人类生理、免疫和疾病各个方面的宝贵工具,在模拟肿瘤免疫微环境和评估抗体依赖性免疫效应方面具有明显优势。其设计旨在克服传统人源化小鼠的不足,尤其是在免疫系统重建和功能研究方面。图2展示了第二代免疫系统人源化小鼠模型策略。

与第一代hHSC小鼠的人髓系细胞的移植能力有限相比,在NOD SCID/IL2R $\gamma^{-/-}$ 背景上通过基因工程手段表达人细胞因子(如MISTRG、NSGTM-SGM3和NOGTM-EXL)的改良模型,代表了免疫系统人源化小鼠模型开发中的重要创新进展^[2, 12]。在Rag2^{-/-} IL2R $\gamma^{-/-}$ (BRG)小鼠背景上,通过将人源M-CSF、IL-3、GM-CSF和血小板生成素精准敲入对应小鼠基因位点(如MITRG/MISTRG系列),实现由内源性启动子驱动的人源细胞

因子表达,从而促进髓系细胞发育和免疫系统功能。在MITRG小鼠的基础上进一步引入人源化的信号调节蛋白 α (signal regulatory protein α , SIRP α)基因,从而构建出MISTRG小鼠模型^[13]。在MISTRG小鼠模型中,人髓系细胞的重建取得了显著进展,其数量比第一代严重免疫缺陷小鼠高出3~5倍。尽管这些特性展现出应用潜力或具有积极意义,但在完成人免疫系统重建后,部分MISTRG小鼠会因人源髓系细胞对小鼠造血系统的竞争性抑制而出现进行性贫血,从而在一定程度上缩短可操作的实验窗口期。

与此类似,由美国杰克逊实验室进行基因改造,表达人源SCF、GM-CSF和IL-3(质量浓度为2 000~4 000 pg/mL)的NSGTM-SGM3小鼠模型,旨在增强人造血细胞的分化和功能^[14]。该模型能够快速重建人类免疫系统,在移植脐带血CD34⁺细胞后,早期即可观察到T细胞增殖,并且髓系细胞数量增加。但由于其贫血、骨髓衰竭和致命的巨噬细胞活化综合征等缺点,显著限制了其在需要长期免疫稳态维持的肿瘤免疫研究中的应用。由日本中央实验动物研究所(Central Institute for Experimental Animals, CIEA)开发的NOGTM-EXL小鼠,经基因改造后可在NOG小鼠体内表达人GM-CSF和IL-3,从而支持多种人类免疫细胞谱系的发育。与NSGTM-SGM3小鼠相比,该模型可实现更高效的人类髓系细胞移植,并表现出更长的生存期^[15]。然而,huNOG-EXL小鼠在移植后会出现毛发和体质量减少,并在20周后死亡,限制了可操作的实验窗口期。

在肿瘤免疫或传染病研究领域,NK细胞在固有免疫应答中的作用已成为研究热点^[16]。由日本CIEA开发的hIL-2-NOG小鼠模型,在输注CD34⁺ HSC后,NK细胞比例显著升高,适用于观察NK细胞疗法在体内的长期作用效果^[17]。另外,持续表达的hIL-15被认为是调控体内人NK细胞发育和扩增的关键因素。当前,hIL-15人源化小鼠模型主要用于评估靶向NK细胞的单克隆抗体和BsAb所介导的抗体依赖性细胞毒性(antibody-dependent cellular cytotoxicity, ADCC)。研究^[18]表明,hIL-15-NOG小鼠在PBMC移植后,由于IL-15促进人免疫细胞扩增,GVHD往往发生更快且具有较高重复性,使其成为研究GVHD发病机制及治疗策略的理想模型。相比之下,hIL-15小鼠在CAR-NK细胞疗法中的应用仍处于探索阶段,有待进一步优化和验证^[19-20]。

此外,研究人员还在小鼠体内进行了IL-6基因人源化改造。hIL-6-NOG小鼠在CD34⁺ HSC移植后,能够有效重建人类单核细胞和巨噬细胞,模拟肿瘤免疫抑制微环境^[21]。在MISTRG小鼠中引入hIL-6可显著提高

人HSC移植成功率^[22]。然而,也有研究^[23]显示NSG IL-6小鼠在移植造血干/祖细胞(hematopoietic stem and progenitor cell, HSPC)后,小鼠显示出慢性GVHD的组织病理学特征,提示IL-6有促进GVHD发展的风险。这

些hIL-6小鼠模型对多发性骨髓瘤的体内重建和疗效评估方面具有重要价值。但由于hIL-6可能与小鼠IL-6受体发生交叉反应,因此其潜在的跨物种效应需要在实验设计中加以谨慎评估。

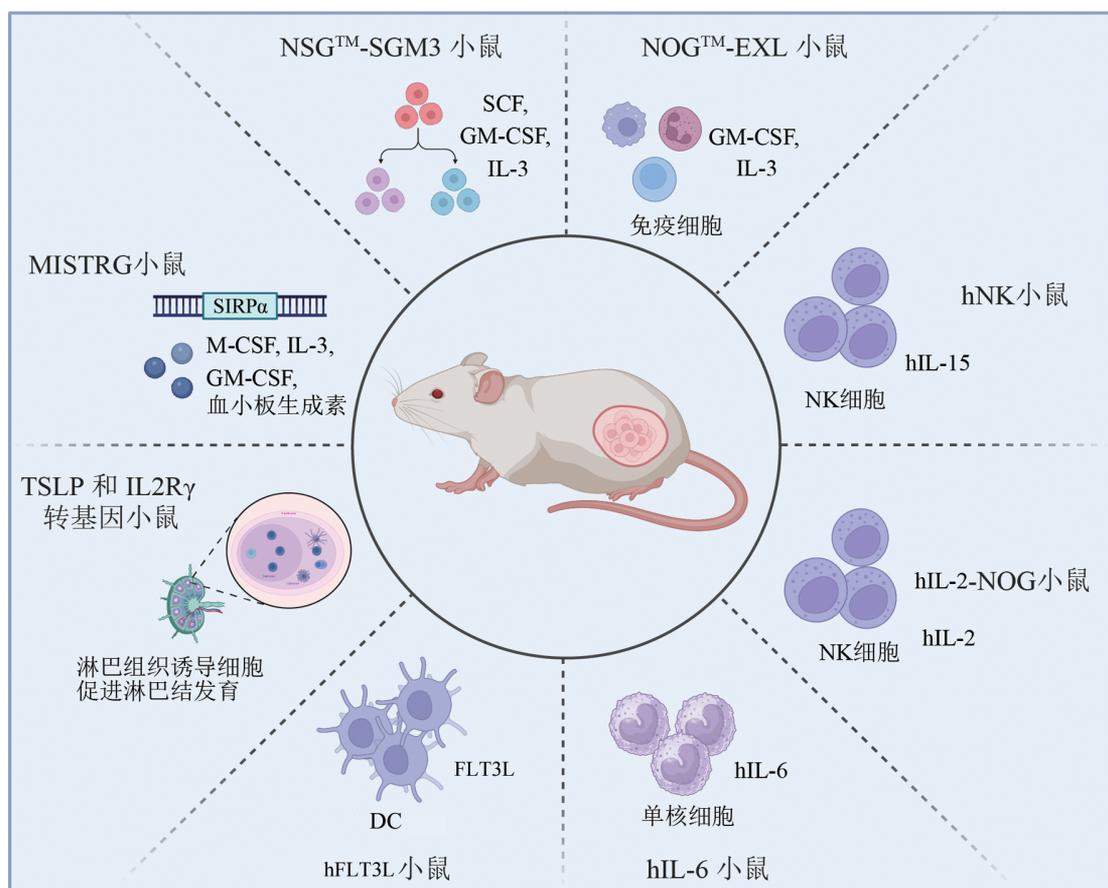


图2 第二代免疫系统人源化小鼠模型及髓系细胞增强策略

FMS样酪氨酸激酶3配体(FMS-related tyrosine kinase 3 ligand, FLT3L)在髓系细胞(如DC)发育中发挥关键作用^[24]。与IL-3和GM-CSF不同,FLT3L在人和小鼠之间具有交叉活性。在NSG等重度免疫缺陷小鼠中,长期高水平表达hFLT3L可显著改变宿主骨髓微环境和髓系分化谱系,在某些条件下可能干扰人源CD34⁺HSC的稳态重建,并降低人CD45⁺细胞的嵌合效率^[25]。在SCID小鼠体内,外源性表达hFLT3L可显著促进移植的人CD34⁺HSC向单核细胞、巨噬细胞、常规DC及CD56⁺NK细胞分化^[26]。FLT3L还可促进生物疫苗的研究,诱导强大的抗原特异性T细胞免疫反应。

总体而言,人源化小鼠模型在生物医学研究中具有广泛的应用价值,尤其适用于研究人类特异性疾病、免疫反应机制和治疗干预策略。然而,第一代模型普遍存在人类免疫系统重建不完全的问题,尤其是髓系细胞和NK细胞发育受限,同时易发生GVHD反应,限制了其长期应用和对复杂免疫稳态的模拟

能力。第二代免疫系统人源化小鼠模型,在第一代小鼠模型基础上引入额外的人类细胞因子,不仅能增强特定免疫细胞亚群的重建效率,还可以更准确地模拟人类免疫微环境。但是,由于人源细胞因子在小鼠体内的持续或非生理性表达,第二代模型仍面临免疫细胞异常激活、造血系统紊乱、寿命缩短及个体间表型差异较大等问题。上述局限性提示,现有模型仍难以精准重现人类免疫系统的动态调控和稳态维持,亟需进一步发展更精细、可控的新一代免疫系统人源化小鼠模型。

2 新一代免疫系统人源化小鼠模型构建思路和策略

随着基因工程技术的不断进步,人源化小鼠模型展现出广阔的发展前景。研究人员正积极探索新策略以进一步优化人源化小鼠模型,从而克服现有模型的局限性并拓展其应用范围。下一代人源化小鼠模型有望整合前沿技术,例如CRISPR/Cas9基因编辑及关键人类细胞因子的精准引入,实现更高水

平的人类免疫系统重建和更丰富的免疫功能多样性,最终推动高度甚至完全人源化小鼠模型的建立。

2.1 构建全人源化小鼠模型

人源化小鼠模型在预测免疫治疗药物在临床应用中的反应和疗效方面发挥着关键作用^[27]。尽管第二代人源化小鼠模型取得了进展,但当前仍缺乏一种模型能够在所有免疫细胞亚群和TME复杂功能上完全再现人类肿瘤免疫微环境。理想的TME除了包含T细胞、B细胞和髓系细胞外,还应包含Treg细胞、髓源性抑制细胞(MDSC)、肥大细胞、DC和功能性中性粒细胞等关键亚群。然而,由于人源免疫细胞与宿主鼠源环境的信号不匹配,这些谱系在许多模型中的发育和功能仍不完善。

在髓系细胞增强型人源化小鼠模型中,可以进一步探索通过调控髓系相关细胞因子的瞬时表达或组织特异性表达的策略,避免免疫细胞过度激活,构建更加完善的全人源化小鼠模型^[28-29]。此外,随着CD34⁺HSC体外培养技术的不断优化,理论上有望从单一供体获得充足且高质量的HSC用于人源化模型构建^[30]。但在实际应用中,新鲜来源的CD34⁺HSC仍然是大多数人源化体系的主要选择,主要原因在于体外扩增后的多向分化功能和造血重建能力尚需进一步验证。

2.2 个性化人源化免疫系统小鼠

大多数人源化动物模型涉及同种异体肿瘤和人源免疫系统的移植,这为深入了解免疫系统与肿瘤组织在免疫治疗中的相互作用提供了重要平台。然而,由于存在HLA不匹配及缺乏支持T细胞发育的人胸腺上皮细胞,HLA限制性肿瘤抗原特异性T细胞的诱导仍面临巨大挑战。因此,针对特定免疫治疗药物定制个性化人源化小鼠模型成为该领域发展的必然趋势^[31]。

一种构建个性化免疫系统人源化小鼠模型的方法是,将患者自体骨髓细胞或G-CSF激活的外周血白细胞移植到小鼠体内^[32],进一步移植患者自体胸腺上皮细胞,可促进小鼠体内自体HLA限制性T细胞的选择和成熟。另一种可行策略是利用患者来源的诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC),在体外分化为胸腺上皮细胞,从而避免直接获取患者胸腺组织^[33-34]。iPSC衍生的CD34⁺HSC在构建个性化免疫系统人源化小鼠模型中具有潜在重要价值,但该领域尚未有成功案例的报道,仍需进一步探索和验证。

2.3 基因工程改造的人源化小鼠

在NOD SCID/IL2R γ ^{-/-}小鼠中建立人源化免疫系

统已显示出显著的成功率。优化人源化小鼠模型需要不同的基因改造,包括特定基因敲除、敲入和转基因过表达。然而,源自NOG/NSG小鼠的胚胎干细胞多能性较低,限制了直接进行基因操作的可行性。

目前常用的构建转基因或基因敲入的NSG/NOG小鼠的方法是,在C57BL/6背景下,针对每一个目标人类基因分别构建转基因或基因敲入,并至少回交至NSG/NOG背景十代。这一过程耗时长达2~3年,成本高昂,操作复杂,极大地限制了该类小鼠模型的快速发展。此外,NOD SCID/IL2R γ ^{-/-}小鼠具有严重免疫缺陷,其胚胎操作对条件和技术要求较高,可能影响胚胎显微注射的成功率。

2.4 精细化/优化的基因工程人源化小鼠

CRISPR/Cas9系统作为一种高效的基因编辑技术,使研究人员能够迅速从概念阶段过渡到基因改造动物模型,不仅显著降低了构建成本,还提高了基因编辑的成功率。随着该技术的成熟和显微注射技术的持续优化,在NOD SCID/IL2R γ ^{-/-}小鼠中直接进行基因编辑已成为可行策略。目前,优化的胚胎显微注射技术已成功应用于基因敲除、基因敲入和基因过表达等多种遗传操作(图3)。这些策略为实现关键免疫调控分子的人源化、优化免疫系统重建质量,以及开发高度甚至全人源化小鼠模型提供了重要技术基础。近年来,CRISPR/Cas9基因编辑技术与受精卵原核显微注射技术深度融合,商业化模式动物平台与科研机构已能直接在NOD SCID/IL2R γ ^{-/-}背景小鼠上高效构建下一代人源化模型。这一技术进步规避了繁琐的回交过程,显著提升了研发效率。基于该策略构建的多种基因修饰免疫缺陷小鼠已逐步纳入公共实验动物资源库中并开放获取(如中国科学院实验动物资源平台等),为转化医学研究提供了丰富的模型资源,显著缩短了模型构建周期。目前,可用于NOD SCID/IL2R γ ^{-/-}小鼠进行基因编辑的技术主要包括:基于CRISPR/Cas9的基因敲除,基于CRISPR/Cas9的基因敲入,通过先进的原核显微注射技术实现人源基因的转基因过表达。

3 人源化小鼠在肿瘤免疫和临床转化中的主要应用

人源化小鼠模型已成为连接基础生物医学研究与临床转化的关键纽带,极大地推动了新药研发的进程。尽管该模型在人类传染性疾病、自身免疫性疾病及神经免疫学等领域已展现出独特的模拟优势,但其在肿瘤免疫领域的应用价值尤为突出。得益于能够部分重建人类免疫系统并用于模拟免疫细胞与TME的相互作用,该模型为评估新型免疫疗法的有效性与安全性提供了极具临床参考价值的体内平

台。本节论述人源化小鼠在肿瘤免疫核心机制解析中的应用进展, 重点阐述其在 ICI、BsAb、抗体偶联药物(antibody drug conjugate, ADC), 以及过继性细胞治疗等前沿治疗策略中的评价作用。此外, 鉴于免疫治疗临床转化中面临的安全性挑战, 也重点探

讨利用该模型进行肿瘤免疫相关临床毒性(如细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)、脱靶毒性等)预测与评估的研究现状, 以期对相关药物的临床前评价提供系统性参考。

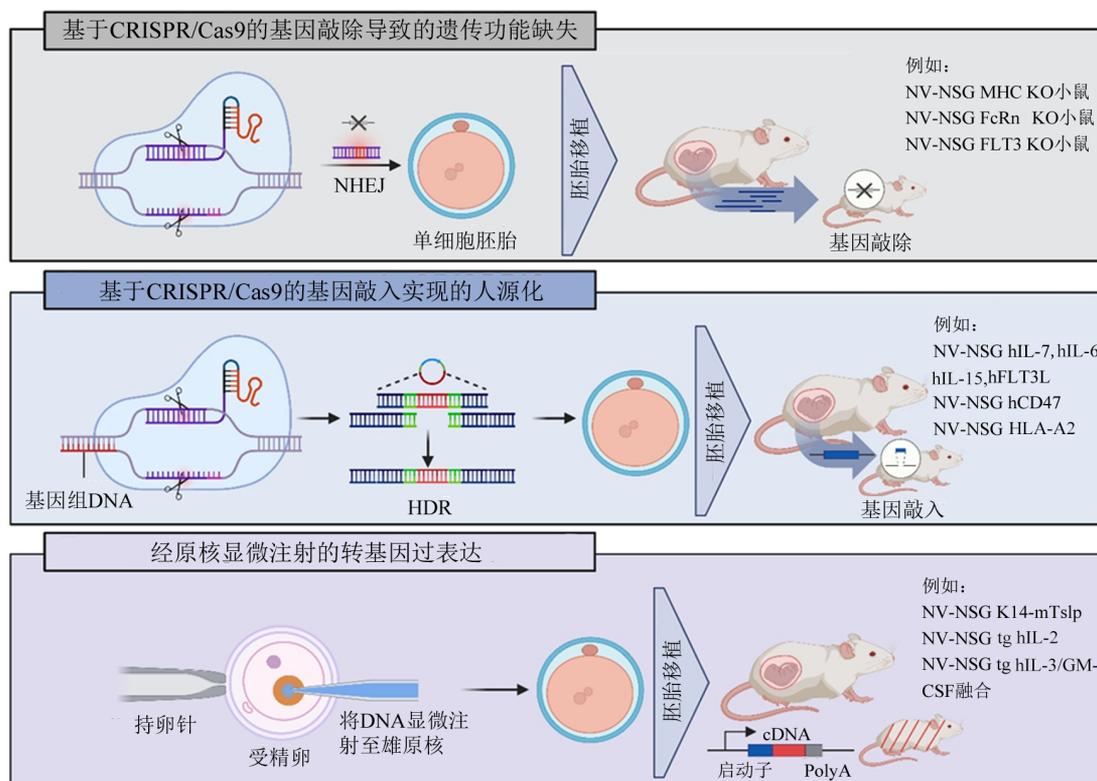


图3 基于CRISPR/Cas9技术的人源化小鼠模型构建策略

3.1 人源化小鼠模型用于测试ICI、BsAb及ADC等抗肿瘤药物

ICI(包括抗PD-1、抗PD-L1、抗CTLA-4和抗LAG-3抗体)及BsAb已广泛应用于肿瘤免疫治疗研究, 其主要机制在于通过阻断免疫抑制信号, 增强机体对肿瘤细胞的免疫应答。人源化小鼠模型在ICI及抗体类药物的临床前评估中具有重要价值^[35]。这类模型不仅能够系统性评估候选药物的安全性和疗效, 还可用于预测免疫细胞介导的抗肿瘤细胞毒性反应, 并深入解析新型免疫治疗策略的作用机制。同时, 兼具人源免疫系统与人源肿瘤的人源化小鼠模型在肿瘤免疫治疗研究中尤为关键。该类模型能够较为真实地重现人类肿瘤的生物特征和免疫微环境, 为ICI及其抗体药物的临床前验证提供可靠平台, 从而加速新型免疫治疗及联合治疗策略的开发与优化^[36-38]。此外, 在抗体药物研发中, ADCC是杀伤肿瘤的重要机制之一。人源化外周血淋巴细胞-重症联合免疫缺陷(peripheral blood lymphocyte-severe combined immunodeficiency, PBL-SCID)小

鼠模型也可用于研究人NK细胞通过ADCC途径发挥抗肿瘤效应的机制^[39-40]。值得关注的是, 有研究^[41]表明, 融合分子hu14.18-IL15和hu14.18-IL2在神经母细胞瘤治疗中显示出良好的应用潜力, 提示有必要在双唾液酸神经节苷脂2表达的神经母细胞瘤患者中开展进一步的临床研究加以验证。

随着ADC的兴起, 人源化小鼠模型在ADC药物评价中的应用也日益受到重视^[42-43]。ADC药物通过连接器将细胞毒性载荷偶联至特异性抗体, 实现对肿瘤细胞的精准杀伤。在人源化小鼠模型中, 研究者不仅关注ADC药物的直接杀伤效率, 更重视其免疫调节作用。例如, 已有研究^[44]利用人源化小鼠模型证实, HER2靶向的ADC药物(如曲妥珠单抗-恩坦辛, T-DM1)除了直接的细胞毒性外, 还能诱导肿瘤细胞发生免疫原性细胞死亡, 进而激活DC并增强T细胞的浸润与抗肿瘤活性。此外, 该模型还能在具备完整人源免疫系统的背景下评估ADC药物潜在的免疫毒性及脱靶副作用, 为药物的临床安全性与治疗窗提供关键数据支持^[45]。

3.2 人类特异性疫苗研发

人源化小鼠模型已成为评估疫苗在传染病及恶性肿瘤等疾病中免疫原性和保护效力的关键临床前工具,能够系统性地解析人类免疫应答过程,并为抗原筛选提供重要支持,包括新型抗原及TAA^[46-47]。此外,人源化小鼠在疫苗佐剂,例如Toll样受体(toll-like receptor, TLR)激动剂的研发及纳米疫苗、肽疫苗和mRNA疫苗等各种疫苗技术平台的评估中也发挥着关键作用。

在人类特异性疫苗开发领域,人源化小鼠已被广泛应用于多种疾病疫苗的研发。例如EBV^[48-49]、HIV-1^[50]、登革热病毒^[51]、流感病毒^[52]、SARS-CoV-2^[53]和癌胚抗原(CEA)^[54]。

在肿瘤疫苗研发方面,已有研究^[55]利用人源化小鼠模型评估针对CEA的肿瘤疫苗,验证了其诱导特异性抗肿瘤免疫反应的能力。其在疫苗开发中的突出优势源于其能够在体内高度重建人类免疫系统,从而为疫苗的临床前评估和优化提供高度相关的实验环境。进一步引入HLA转基因的免疫缺陷小鼠模型,显著增强了人源化免疫系统的功能(尤其是功能多样性与抗原提呈能力),这对于研发依赖特定HLA分型提呈的肿瘤多肽疫苗及mRNA疫苗至关重要,从而有力推动了这些模型在精准疫苗研发中的应用^[55-56]。

3.3 用于免疫细胞治疗研究的人源化小鼠模型

免疫系统人源化小鼠模型已成为肿瘤免疫治疗临床前研究与转化评估的核心平台。该类模型不仅被广泛用于开发和验证包括CAR-T、TCR-T、CAR-NK、CAR- $\gamma\delta$ T、CAR-M及肿瘤浸润淋巴细胞在内的多种新型免疫细胞药物,更是深入探索肿瘤免疫学机制的重要工具^[57-60]。与体外细胞杀伤实验不同,人源化小鼠能够提供一个包含人类免疫系统的体内微环境,使研究人员得以动态观察工程化免疫细胞在体内的扩增、向肿瘤部位的归巢、浸润及在复杂TME中的抗肿瘤活性。

在肿瘤免疫学的深度研究中,人源化小鼠模型展现了独特的优势。它允许研究者系统评估TME对回输免疫细胞的抑制作用(如T细胞耗竭或功能失活),验证联合治疗策略(如细胞疗法联合ICI)是否能逆转免疫抑制,从而增强抗肿瘤免疫应答。此外,该模型在评估细胞治疗的安全性方面同样至关重要,能够模拟并预测CRS及GVHD等与免疫激活密切相关的严重不良反应,为临床试验的风险控制提供关键数据^[61-62]。

尽管人源化小鼠在肿瘤免疫治疗领域应用广泛,但其对肿瘤免疫微环境的还原度仍有提升空间。

例如,现有模型中鼠源细胞因子环境往往难以完全支持人源NK细胞或髓系细胞在肿瘤部位的长期存活与功能发挥,这限制了对CAR-NK细胞或靶向实体瘤的细胞疗法的深入评估。为此,研究者正致力于开发表达人源细胞因子(如IL-15、IL-3、GM-CSF)的新一代模型,探索利用iPSC来源的CD34⁺ HSPC构建更完善的人源化免疫系统,以期更精准地模拟人类肿瘤免疫反应,推动细胞治疗药物的临床转化。

3.4 用于免疫毒理学研究的人源化小鼠模型

人源化小鼠模型已成为连接临床前安全性评价与临床转化医学的核心桥梁,特别是在个体化毒理学与免疫毒性预测领域展现出独特的应用价值。针对急性免疫毒性,尤其是CRS的风险评估,PBMC人源化小鼠已被证实为一种高效的临床前工具^[63]。美国杰克逊实验室等机构的研究^[64-65]表明,利用PBMC构建的模型能够快速重现BsAb及CAR-T细胞疗法诱导的CRS反应。更为关键的是,该模型保留了供体免疫系统的特异性,研究人员通过对比不同供体来源的PBMC小鼠,成功观测到CRS严重程度个体间差异,这为临床试验中筛选高风险人群及预测CRS的异质性提供了直接的实验依据。

在慢性及迟发性免疫毒性方面,BLT及CD34⁺ HSC人源化小鼠则为评估ICI相关的免疫相关不良反应(immune-related adverse event, irAE)提供了更具生理相关性的平台。美国食品药品监督管理局的研究团队利用BLT小鼠系统评估了纳武利尤单抗(PD-1抑制剂)及伊匹木单抗(CTLA-4抑制剂)的安全性,结果显示该模型不仅能重现临床常见的肺炎、肝炎等irAE,还能反映出不同药物组合下的毒性谱差异,与临床观测结果具有高度一致性^[66-67]。

此外,随着“临床转化医学”理念的深入,构建“个体化免疫系统人源化小鼠队列”正成为毒理学研究的新趋势。通过引入具有不同HLA背景和遗传多样性的人类HSC供体,研究者能够建立一套反映人群免疫异质性的人源化小鼠模型平台。这种策略不仅能解析药物在不同遗传背景下的免疫反应差异,还能在早期研发阶段识别潜在的特异性毒性,从而显著提升药物临床转化的成功率与安全性^[68]。

4 结语

综上所述,免疫系统人源化小鼠模型领域已取得显著进展,这主要得益于创新技术与基因工程方法的融合。髓系增强型模型(例如转基因表达多种人源髓系细胞因子的MISTRG、NSGTM-SGM3和NOGTM-EXL及其衍生品系),在重建人源髓系细胞方面均优于传统NSG/NOG模型,表现为更高水平的髓系谱系植入和

功能性细胞生成。尽管如此,仍存在一些挑战,例如 NSG-SGM3 模型因过度髓系扩增可能伴有贫血与红细胞明显减少等血液学改变,这对长期研究和饲养管理提出了挑战。下一代模型的发展前景广阔,CRISPR/Cas9 等先进基因编辑技术可用于敲入关键人源细胞因子、HLA 分子或抑制鼠源因子干扰,从而提升免疫细胞谱系的重建精细度。通过自体移植或患者来源的 iPSC 构建个体化人源化小鼠模型,应用潜力巨大。随着基因工程技术的不断完善,这些模型有望超越现有局限,更全面地模拟人类免疫微环境。

除免疫系统重建效率的持续提升外,人源化小鼠模型的未来发展将更加注重对免疫系统复杂性和多层次调控网络的系统性模拟。当前模型多聚焦于单一或有限免疫细胞谱系的重建,而未来模型将逐步向多器官、多系统协同人源化方向演进,例如将免疫系统人源化与肝、肠道、神经系统或血管微环境的人源化相结合,以更真实地再现免疫细胞在代谢调控、神经-免疫相互作用及肿瘤转移中的功能状态。

与此同时,微环境与非免疫细胞成分的人源化将成为模型升级的重要突破口。基质细胞、成纤维细胞、内皮细胞及肿瘤相关成分在免疫调控中的关键作用日益受到重视,未来通过组织工程或类器官移植技术,将人源化小鼠从“免疫细胞模型”拓展为“组织-免疫整合模型”,有助于提高对免疫耐受、炎症慢性化及免疫逃逸机制的解析能力。

从临床转化的角度来看,优化后的基因工程人源化小鼠在多个领域展现出可量化的影响。在免疫毒理学研究中,人源化小鼠在评估免疫反应强度、CRS 风险等方面相比体外体系能提供更全面的体内信息,不仅可用于候选药物的功能验证,还可用于早期安全性筛选、治疗反应分层及联合用药策略优化,从而减少临床试验终止风险并加快新药研发进程。在肿瘤免疫研究中,这类模型已成为不可或缺的工具,人类免疫系统与肿瘤组织的重建为评估 ICI、抗体药物及多种细胞治疗策略提供了高度临床相关的实验环境。人源髓系细胞重建水平的显著提高,不仅增强了毒理学测试的可靠性,也推动了自身免疫研究的发展。

[参考文献]

- [1] SEFIK E, XIAO T, CHIORAZZI M, et al. Engineering mice to study human immunity[J]. *Annu Rev Immunol*, 2025, 43(1): 451-487. DOI: 10.1146/annurev-immunol-082523-124415.
- [2] CHUPRIN J, BUETTNER H, SEEDHOM M O, et al. Humanized mouse models for immuno-oncology research[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2023, 20(3): 192-206. DOI: 10.1038/s41571-022-00721-2.
- [3] LUO W, HOANG H, LIAO Y L, et al. A humanized orthotopic mouse model for preclinical evaluation of immunotherapy in Ewing sarcoma[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1277987. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1277987.
- [4] FLERIN N C, BARDHI A, ZHENG J H, et al. Establishment of a novel humanized mouse model to investigate *in vivo* activation and depletion of patient-derived HIV latent reservoirs[J]. *J Virol*, 2019, 93(6): e02051-18. DOI: 10.1128/JVI.02051-18.
- [5] MERAZ I M, MAJIDI M, MENG F, et al. An improved patient-derived xenograft humanized mouse model for evaluation of lung cancer immune responses[J]. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7(8): 1267-1279. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-18-0874.
- [6] GUO W W, LI H, ZHAO Y, et al. Construction and application of a humanized mouse model for prostate cancer in immunotherapy[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2025, 74(12): 377. DOI: 10.1007/s00262-025-04225-7.
- [7] LANG J L, WEISS N, FREED B M, et al. Generation of hematopoietic humanized mice in the newborn BALB/c-Rag2^{tm1.1} Il2r^{tm1.1} mouse model: a multivariable optimization approach[J]. *Clin Immunol*, 2011, 140(1): 102-116. DOI: 10.1016/j.clim.2011.04.002.
- [8] NOWLAN B, FUTREGA K, WILLIAMS E D, et al. Human bone marrow-derived stromal cell behavior when injected directly into the bone marrow of NOD-scid-gamma mice pre-conditioned with sub-lethal irradiation[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 231. DOI: 10.1186/s13287-021-02297-7.
- [9] GREENBLATT M B, VBRANAC V, TIVEY T, et al. Graft versus host disease in the bone marrow, liver and thymus humanized mouse model[J]. *PLoS One*, 2012, 7(9): e44664. DOI: 10.1371/journal.pone.0044664.
- [10] WORRALL W P M, SERHAN N, KARRICH J J, et al. Tissue distribution and phenotype of human mast cells in BRGSF and NSG-SGM3-IL15 humanized mice[J]. *Allergy*, 2025, 80(11): 3212-3216. DOI: 10.1111/all.70058.
- [11] SUNGUR C M, WANG Q K, OZANTÜRK A N, et al. Human NK cells confer protection against HIV-1 infection in humanized mice[J]. *J Clin Invest*, 2022, 132(24): e162694. DOI: 10.1172/jci162694.
- [12] 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. DOI: 10.1038/nbt.2858.
- [13] STROWIG T, RONGVAUX A, RATHINAM C, et al. Transgenic expression of human signal regulatory protein alpha in Rag2^{tm1.1} γ c^{tm1.1} mice improves engraftment of human hematopoietic cells in humanized mice [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(32): 13218-13223. DOI: 10.1073/pnas.1109769108.
- [14] JANKE L J, IMAI D M, TILLMAN H, et al. Development of mast cell and eosinophil hyperplasia and HLH/MAS-like disease in NSG-SGM3 mice receiving human CD34⁺ hematopoietic stem cells or patient-derived leukemia xenografts[J]. *Vet Pathol*, 2021, 58(1): 181-204. DOI: 10.1177/0300985820970144.
- [15] WILLIS E, VERRELLE J, BANERJEE E, et al. Humanization with CD34-positive hematopoietic stem cells in NOG-EXL mice results in improved long-term survival and less severe myeloid cell hyperactivation phenotype relative to NSG-SGM3 mice[J]. *Vet Pathol*, 2024, 61(4): 664-674. DOI: 10.1177/03009858231222216.
- [16] WOLF N K, KISSIOV D U, RAULET D H. Roles of natural killer

- cells in immunity to cancer, and applications to immunotherapy[J]. *Nat Rev Immunol*, 2023, 23(2): 90-105. DOI: 10.1038/s41577-022-00732-1.
- [17] KATANO I, TAKAHASHI T, ITO R, et al. Predominant development of mature and functional human NK cells in a novel human IL-2-producing transgenic NOG mouse[J]. *J Immunol*, 2015, 194(7): 3513-3525. DOI: 10.4049/jimmunol.1401323.
- [18] HUARTE E, PEEL M, DUBE P, et al. Ruxolitinib, a JAK1/2 inhibitor, is efficacious in a novel humanized GvHD model characterized by enhanced NK, NK-T and T-cell engraftment[J]. *Blood*, 2020, 136: 21-22. DOI: 10.1182/blood-2020-139805.
- [19] FU Y K, XU Z P, WU C M, et al. Genetically modified CD19-targeting IL-15 secreting NK cells for the treatment of systemic lupus erythematosus[J]. *Ann Rheum Dis*, 2025, 84(11): 1811-1821. DOI: 10.1016/j.ard.2025.07.028.
- [20] NIKOLIC I, CURSONS J, SHIELDS B, et al. Enhancing anti-tumor immunity of natural killer cells through targeting IL-15R signaling[J]. *Cancer Cell*, 2025, 43(11): 2034-2050. e11. DOI: 10.1016/j.ccell.2025.05.011.
- [21] HANAZAWA A, ITO R, KATANO I, et al. Generation of human immunosuppressive myeloid cell populations in human interleukin-6 transgenic NOG mice[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 152. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00152.
- [22] CHIORAZZI M, MARTINEK J, KRASNICK B, et al. Autologous humanized PDX modeling for immuno-oncology recapitulates features of the human tumor microenvironment[J]. *J Immunother Cancer*, 2023, 11(7): e006921. DOI: 10.1136/jitc-2023-006921.
- [23] ONO R, WATANABE T, KAWAKAMI E, et al. Co-activation of macrophages and T cells contribute to chronic GVHD in human IL-6 transgenic humanised mouse model[J]. *EBioMedicine*, 2019, 41: 584-596. DOI: 10.1016/j.ebiom.2019.02.001.
- [24] XIAO Z, WANG J J, HE S D, et al. Engineered T cells stimulate dendritic cell recruitment and antigen spreading for potent anti-tumor immunity[J]. *Cell Rep Med*, 2025, 6(9): 102307. DOI: 10.1016/j.xcrm.2025.102307.
- [25] LING L J, TANG X, HUANG X Y, et al. AAV-vectored fms-related tyrosine kinase 3 ligand inhibits CD34⁺ progenitor cell engraftment in humanized mice[J]. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2018, 13(4): 541-550. DOI: 10.1007/s11481-018-9819-0.
- [26] DING Y T, WILKINSON A, IDRIS A, et al. FLT3-ligand treatment of humanized mice results in the generation of large numbers of CD141⁺ and CD1c⁺ dendritic cells *in vivo*[J]. *J Immunol*, 2014, 192(4): 1982-1989. DOI: 10.4049/jimmunol.1302391.
- [27] PHOON Y P, LOPES J E, PFANNENSTIEL L W, et al. Autologous human preclinical modeling of melanoma interpatient clinical responses to immunotherapeutics[J]. *J Immunother Cancer*, 2024, 12(4): e008066. DOI: 10.1136/jitc-2023-008066.
- [28] WEINFURTNER K, TISCHFIELD D, MCCLUNG G, et al. Human GM-CSF/IL-3 enhance tumor immune infiltration in humanized HCC patient-derived xenografts[J]. *bioRxiv*, 2024, 31: 2023.10.05.561117. DOI: 10.1101/2023.10.05.561117.
- [29] MARTIN G H, GONON A, MARTIN-JEANTET P, et al. Myeloid and dendritic cells enhance therapeutics-induced cytokine release syndrome features in humanized BRGSF-HIS preclinical model[J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1357716. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1357716.
- [30] DELLA VOLPE L, LEE A J, ANTOSZEWSKI M, et al. Inhibiting ferroptosis enhances *ex vivo* expansion of human haematopoietic stem cells[J]. *Nat Cell Biol*, 2025, 27(12): 2214-2224. DOI: 10.1038/s41556-025-01814-7.
- [31] GILARDI M, SCHIAVINI P, GRIFFIN L, et al. Abstract 7282: Development of an HLA-matched humanized immune system mouse model with primary AML patient samples for immunotherapy testing[J]. *Cancer Res*, 2025, 85(8_Supplement_1): 7282. DOI: 10.1158/1538-7445.am2025-7282.
- [32] SUN L G, JIN C H, TAN S L, et al. Human immune system mice with autologous tumor for modeling cancer immunotherapies[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 591669. DOI: 10.3389/fimmu.2020.591669.
- [33] PRETEMER Y, GAO Y X, KANAI K, et al. An iPSC-based *in vitro* model recapitulates human thymic epithelial development and multi-lineage specification[J]. *Nat Commun*, 2025, 16(1): 7680. DOI: 10.1038/s41467-025-62523-1.
- [34] OTSUKA R, WADA H, TSUJI H, et al. Efficient generation of thymic epithelium from induced pluripotent stem cells that prolongs allograft survival[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 224. DOI: 10.1038/s41598-019-57088-1.
- [35] EDWARDS K R, MALHI H, SCHMIDT K, et al. A gH/gL-encoding replicon vaccine elicits neutralizing antibodies that protect humanized mice against EBV challenge[J]. *NPJ Vaccines*, 2024, 9(1): 120. DOI: 10.1038/s41541-024-00907-y.
- [36] HOU X G, LIU S, ZENG Z Q, et al. Preclinical imaging evaluation of a bispecific antibody targeting hPD1/CTLA4 using humanized mice[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 175: 116669. DOI: 10.1016/j.biopha.2024.116669.
- [37] ZHONG Y S, XIE W, LI X J, et al. Humanized immune mouse models: emerging applications for cancer immunotherapy[J/OL]. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2025. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40947697/>. DOI: 10.2174/0118715303382108250825062059.
- [38] DONG Y J, ZHANG Z L, LUAN S Y, et al. Novel bispecific antibody-drug conjugate targeting PD-L1 and B7-H3 enhances antitumor efficacy and promotes immune-mediated antitumor responses[J]. *J Immunother Cancer*, 2024, 12(10): e009710. DOI: 10.1136/jitc-2024-009710.
- [39] KIM H S, KIM J Y, LEE J Y, et al. Directly reprogrammed NK cells driven by BCL11B depletion enhance targeted immunotherapy against pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *J Hematol Oncol*, 2025, 18(1): 100. DOI: 10.1186/s13045-025-01730-1.
- [40] KATANO I, ITO R, KAWAI K J, et al. Improved detection of *in vivo* human NK cell-mediated antibody-dependent cellular cytotoxicity using a novel NOG-FcγR-deficient human IL-15 transgenic mouse[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 532684. DOI: 10.3389/fimmu.2020.532684.
- [41] NGUYEN R, ZHANG X Y, SUN M, et al. Anti-GD2 antibodies conjugated to IL15 and IL21 mediate potent antitumor cytotoxicity against neuroblastoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 28(17): 3785-3796. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-22-0717.
- [42] COLOMBO R, TARANTINO P, RICH J R, et al. The journey of antibody-drug conjugates: lessons learned from 40 years of development[J]. *Cancer Discov*, 2024, 14(11): 2089-2108. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-24-0708.
- [43] DRAGO J Z, MODI S N, CHANDARLAPATY S. Unlocking the potential of antibody-drug conjugates for cancer therapy[J]. *Nat*

- Rev Clin Oncol, 2021, 18(6): 327-344. DOI: 10.1038/s41571-021-00470-8.
- [44] MÜLLER P, KREUZALER M, KHAN T, et al. Trastuzumab emtansine (T-DM1) renders HER2⁺ breast cancer highly susceptible to CTLA-4/PD-1 blockade[J]. Sci Transl Med, 2015, 7(315): 315ra188. DOI: 10.1126/scitranslmed.aac4925.
- [45] SUN Z M, GU M Y, YANG Z X, et al. Application of humanized mice in the safety experiments of antibody drugs[J]. Anim Models Exp Med, 2025, 8(6): 1023-1032. DOI: 10.1002/ame2.12562.
- [46] YONG K S M, HER Z, CHEN Q F. Humanized mice as unique tools for human-specific studies[J]. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2018, 66(4): 245-266. DOI: 10.1007/s00005-018-0506-x.
- [47] FOY S P, JACOBY K, BOTA D A, et al. Non-viral precision T cell receptor replacement for personalized cell therapy[J]. Nature, 2023, 615(7953): 687-696. DOI: 10.1038/s41586-022-05531-1.
- [48] HUANG K, LIN X J, HU J C, et al. Epstein-Barr virus mRNA vaccine synergizes with NK cells to enhance nasopharyngeal carcinoma eradication in humanized mice[J]. Mol Ther Oncol, 2025, 33(2): 200986. DOI: 10.1016/j.omton.2025.200986.
- [49] COHEN J I. Vaccine development for Epstein-Barr virus[J]. Adv Exp Med Biol, 2018, 1045: 477-493. DOI: 10.1007/978-981-10-7230-7_22.
- [50] KHANWALKAR U S, FIELDS J, WIENER J A, et al. Effects and mechanisms of monoclonal and polyclonal human antibodies in protection of humanized mice from HIV-1 challenge[J]. bioRxiv, 2025: 2025.11.12.688003. DOI: 10.1101/2025.11.12.688003.
- [51] GUTIERREZ-BARBOSA H, MEDINA-MORENO S, PERDOMO-CELI F, et al. Evaluation of four humanized NOD-derived mouse models for dengue virus-2 infection[J]. Pathogens, 2024, 13(8): 639. DOI: 10.3390/pathogens13080639.
- [52] MURUGAIAH V, WATSON S J, CUNLIFFE R F, et al. A transgenic mouse with a humanized B-cell repertoire mounts an antibody response to influenza infection and vaccination[J]. J Infect Dis, 2025, 231(2): e299-e307. DOI: 10.1093/infdis/jiae472.
- [53] ZHANG J J, FANG F M, ZHANG Y, et al. Humanized major histocompatibility complex transgenic mouse model can play a potent role in SARS-CoV-2 human leukocyte antigen-restricted T cell epitope screening[J]. Vaccines (Basel), 2025, 13(4): 416. DOI: 10.3390/vaccines13040416.
- [54] ZHOU H, LUO Y P, MIZUTANI M, et al. A novel transgenic mouse model for immunological evaluation of carcinoembryonic antigen-based DNA minigene vaccines[J]. J Clin Invest, 2004, 113(12): 1792-1798. DOI: 10.1172/JCI21107.
- [55] CHERVO M F, QIAN W, ORTEGA MARTINEZ K A, et al. 1034 Development of HLA class I expressing humanized patient-derived xenograft (hu-PDX) mouse models for the study of mRNA-based cancer vaccines in triple-negative breast cancer[C]//Regular and Young Investigator Award Abstracts. BMJ Publishing Group Ltd, 2024: A1155-A1155. DOI: 10.1136/jitc-2024-site2024.1034.
- [56] AACR 2025: Utilizing a humanized HLA-A2.1 mouse model for non-clinical studies of mRNA vaccines[C/OL]. [2025-02-25]. <https://biocytogen.com/resources/aacr-2025-utilizing-a-humanized-hla-a2-1-mouse-model-for-non-clinical-studies-of-mrna-vaccines>.
- [57] ZHU C, ZHAO Y Y, HE J H, et al. TIL-derived CAR T cells improve immune cell infiltration and survival in the treatment of CD19-humanized mouse colorectal cancer[J]. Cancers (Basel), 2023, 15(23): 5567. DOI: 10.3390/cancers15235567.
- [58] YUE H W, BAI L. Progress, implications, and challenges in using humanized immune system mice in CAR-T therapy-application evaluation and improvement[J]. Animal Model Exp Med, 2024, 7(1): 3-11. DOI: 10.1002/ame2.12353.
- [59] HU X M, MANNER K, DEJESUS R, et al. Hypoimmune anti-CD19 chimeric antigen receptor T cells provide lasting tumor control in fully immunocompetent allogeneic humanized mice[J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 2020. DOI: 10.1038/s41467-023-37785-2.
- [60] SHULTZ L D, BREHM M A, GARCIA-MARTINEZ J V, et al. Humanized mice for immune system investigation: progress, promise and challenges[J]. Nat Rev Immunol, 2012, 12(11): 786-798. DOI: 10.1038/nri3311.
- [61] SUN S Y, WANG X J, CHEN Y C, et al. Preclinical evaluation of antitumor activity and toxicity of TROP2-specific CAR-T cells for treatment of triple-negative breast cancer[J]. J Immunother Cancer, 2025, 13(9): e012442. DOI: 10.1136/jitc-2025-012442.
- [62] PUMTANG-ON P, THRON L K, GOODARZI N, et al. Humanized DRAGA mice are a valuable model to study novel immunotherapies for HIV-1[J]. J Immunol, 2025, 214(11): 3017-3027. DOI: 10.1093/jimmun/vkaf185.
- [63] YANG J, JIAO J, DRAHEIM K M, et al. Simultaneous evaluation of treatment efficacy and toxicity for bispecific T-cell engager therapeutics in a humanized mouse model[J]. FASEB J, 2023, 37(6): e22995. DOI: 10.1096/fj.202300040r.
- [64] YE C T, YANG H Y, CHENG M S, et al. A rapid, sensitive, and reproducible *in vivo* PBMC humanized murine model for determining therapeutic-related cytokine release syndrome[J]. FASEB J, 2020, 34(9): 12963-12975. DOI: 10.1096/fj.202001203r.
- [65] MANNI S, DEL BUFALO F, MERLI P, et al. Neutralizing IFN γ improves safety without compromising efficacy of CAR-T cell therapy in B-cell malignancies[J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 3423. DOI: 10.1038/s41467-023-38723-y.
- [66] WEAVER J L, ZADROZNY L M, GABRIELSON K, et al. BLT-immune humanized mice as a model for nivolumab-induced immune-mediated adverse events: comparison of the NOG and NOG-EXL strains[J]. Toxicol Sci, 2019, 169(1): 194-208. DOI: 10.1093/toxsci/kfz045.
- [67] CINA M L, VENEGAS J, YOUNG A. Stocking the toolbox-Using preclinical models to understand the development and treatment of immune checkpoint inhibitor-induced immune-related adverse events[J]. Immunol Rev, 2023, 318(1): 110-137. DOI: 10.1111/imr.13250.
- [68] YU C, MASER R, MARCHES F, et al. Protocol to construct humanized mice with adult CD34⁺ hematopoietic stem and progenitor cells[J]. STAR Protoc, 2024, 5(3): 103155. DOI: 10.1016/j.xpro.2024.103155.

[收稿日期] 2025-12-20

[修回日期] 2025-12-29

[本文编辑] 党瑞山