



免疫系统人源化小鼠模型现状及应用

孙丽娜 孙晨鸣 赵 勇

(中国科学院动物研究所 生物膜与膜生物工程国家重点实验室 北京 100101)

摘要: 实验动物模型在医学生命科学发展中发挥着重要作用。某些病原微生物仅仅特异对人类具有易感性及致病性。由于缺乏理想的实验动物模型限制了人们对疾病发病机理的理解及预防治疗。因动物种属差异,许多对小鼠有效的药物及疫苗不能有效地用于人类疾病的治疗或预防。通过将人的胚胎胸腺、造血干细胞等移植到免疫缺陷小鼠可有效地建立人类天然与适应性免疫系统,即免疫系统人源化小鼠。该小鼠的成功建立为免疫系统相关疾病研究及免疫药物研发提供了良好实验模型。本文主要对免疫系统人源化小鼠模型的建立、发展及其在感染等研究中的应用进行简要综述。

关键词: 免疫系统人源化小鼠; HIV 感染; 疟疾; 免疫缺陷小鼠; 胸腺

中图分类号: R-332 文献标识码: A 文章编号: 1006-6179(2012)06-0052-04

啮齿类动物模型广泛应用于药物及疫苗的研究,但由于种属差异或应用的致病原与感染人类的致病原的不同,许多药物或疫苗不能有效地针对人类疾病而无法应用于临床。寄生虫、细菌以及病毒感染是危害人类健康的主要致病因素,许多病原体的感染及致病特点具有种属特异性,如艾滋病病毒仅感染人类细胞而不会感染小鼠细胞。由于缺乏理想的动物疾病模型,而限制了对相应疾病机理与防治的深入研究。人源化小鼠模型的建立为人类疾病的研究提供了新的选择。免疫系统人源化小鼠就是指通过移植人的造血干细胞或免疫组织、细胞,在小鼠体内重建人类免疫系统。近年人们建立了有效的免疫系统人源化小鼠模型,并应用于人类免疫应答及相关疾病的研究^[1]。

1 用于构建免疫系统人源化小鼠模型的免疫缺陷小鼠

人源化小鼠模型建立的前提是免疫缺陷小鼠的建立和优化。对此取得突破性进展的是成功培养出了 T/B 淋巴细胞缺陷的重症联合免疫缺陷(SCID)小鼠,但是由于这种小鼠存在正常的自然杀伤

(NK)细胞以及单核/巨噬细胞系统,应用这种小鼠产生的人源化小鼠模型效率不高^[2]。随着技术的进步,当前3种免疫缺陷小鼠在人源化小鼠模型的建立中被广泛应用:1) NOD/SCID 小鼠;2) Rag2^{-/-}γc^{-/-}小鼠;3) NOD/SCIDγc^{-/-}小鼠^[3]。NOD/SCID 小鼠是在 SCID 小鼠基础上进一步突变非肥胖性糖尿病 NOD 基因,使得在 T/B 淋巴细胞缺陷的基础上,NK 细胞的比例减少、活性降低,从而增加人细胞的移植效率^[4]。然而这种小鼠的缺点是由于 NOD 基因突变,自发性胸腺淋巴瘤的发生几率增大,导致这种小鼠的生命周期比较短(表1)。

小鼠缺陷重组酶激活基因(Rag2)后致使 T/B 淋巴细胞的产生被阻滞,小鼠体内没有 T/B 淋巴细胞,不过这种小鼠的 NK 细胞水平是正常的^[5]。白介素 2(IL-2)受体 γ 链是很多白介素因子的共用信号成分,IL-2Rγ 缺陷,可以阻断 IL-7 和 IL-15 信号,引起 NK 细胞发育障碍^[6]。因此双敲除 Rag2 和 IL-2Rγ 基因后,小鼠的 T/B 细胞及 NK 细胞完全缺陷,这种小鼠是建立人源化小鼠模型的较好载体。

NOD/SCID 小鼠敲除 IL-2Rγ 基因后,衍生出 NOD/SCIDγc^{-/-}小鼠,这种小鼠也是 T/B 细胞及 NK 细胞完全缺陷^[1]。与 NOD/SCID 小鼠相比,敲

收稿日期:2012-07-03

作者简介:孙丽娜(1985-),女,博士研究生,主要从事免疫学研究,Tel: 64807309,E-mail: sunln@ioz.ac.cn

通信作者:赵勇(1964-),男,博士生导师,研究员,主要从事移植免疫学实验研究.Tel: 64807302,E-mail: zhaoy@ioz.ac.cn

除 *IL-2R γ* 基因后, 人细胞移植效率更高(表 1)。根据 γ 链突变的不同, NOD/SCID $\gamma c^{-/-}$ 小鼠又分为 NOD/Shi-SCID $\gamma c^{-/-}$ (NOG) 小鼠和 NOD/LtSz-SCID $\gamma c^{-/-}$ (NSG) 鼠两种, 前者是将 γ 链的胞内信号区截短, 而后者则是将 γ 链的胞内信号完全突变掉^[7]。Tanaka 等^[8]为 NSG 小鼠移植人的造血干细

胞后, 检测了人源化小鼠体内免疫系统的恢复情况, T/B 淋巴细胞、单核/巨噬细胞以及中性粒细胞均可以恢复至正常人的水平, 而且单核/巨噬细胞的吞噬能力以及应对 TLR4 刺激下的炎症因子分泌能力也恢复至正常人水平。

表 1 应用于人源化小鼠模型的免疫缺陷小鼠的主要特征

免疫缺陷小鼠	NOD/SCID		Rag2 ^{-/-}
额外基因敲除	无	<i>IL-2R$\gamma c^{-/-}$</i>	<i>IL-2R$\gamma c^{-/-}$</i>
特征	存活时间 1 年左右, 死于胸腺淋巴瘤 不含 T/B 淋巴细胞, 含有少量 NK 细胞 放射敏感	存活时间长于 1 年 不含 T/B 淋巴细胞及 NK 细胞 放射敏感 移植所需的干细胞较少	存活时间长于 2 年 不含 T/B 淋巴细胞及 NK 细胞 放射敏感

2 免疫系统人源化小鼠模型的种类

在对人免疫系统的研究中, 3 种人源化小鼠模型的应用最为广泛: 人/外周血/重症联合免疫缺陷小鼠(Hu-PBL-SCID)模型、人/重灌注细胞/重症联合免疫缺陷小鼠(Hu-SRC (SCID-repopulating cell) - SCID)模型和人/骨髓/肝细胞/胸腺/重症联合免疫缺陷小鼠(Hu-BLT (bone marrow, liver, thymus) - SCID)模型^[9]。在 Hu-PBL-SCID 模型中, 将成熟的人外周血单个核细胞直接给小鼠注射, 使小鼠体内充满人的外周血单个核细胞, 从而为体内研究人 T 细胞功能提供工具^[10]。这种人源化小鼠模型在同种异基因免疫应答以及病毒免疫研究中发挥重要作用^[11-12](表 2)。在 Hu-SRC-SCID 小鼠模型中, 人的定向造血干细胞(HSC)被注射到免疫缺陷小鼠体内, 使具有功能的人固有免疫系统及适应性免疫系统能够在小鼠中恢复到很高水平(表 2)。HSC 可以来源于脐带血、骨髓或胎肝^[13]。这种人源化小鼠模型被应用到人免疫系统各个方面的研究中, 如感

染性疾病、移植排斥等领域^[9, 14]。在 Hu-BLT-SCID 模型中, 胚胎胸腺和胎肝共同移植到免疫缺陷小鼠的肾包膜下, 同时, 将来源于相同个体的胎肝中的 CD34⁺ 细胞经尾静脉注射给小鼠, 以提供外周来源的 HSC^[15](表 2)。由于同时移植了人的胚胎胸腺以支持 T 细胞的发育分化, 这种人源化小鼠模型要优于其他两个模型, 当前主要应用于 HIV 感染及其他感染性疾病的研究^[16]。

未来人源化小鼠模型的发展趋势是为免疫缺陷小鼠敲入多种人的基因, 使小鼠体内表达人的细胞因子或其他受体, 从而获得更好的人来源的细胞重建。比如人的红细胞和血小板在传统的人源化小鼠模型中是很难被检测到的^[17], 而敲入人的红细胞生成素及 IL-3 后, 可以明显改善人的红细胞重构, 在人源化小鼠中检测到红细胞的表达, 尽管红细胞的水平还是低于正常人外周血红细胞的水平^[18]。不过仅仅表达人的细胞因子还是不够的, 因为体内体外实验均证明小鼠自身巨噬细胞对人红细胞及血小板有很强的易感性, 可以通过 CD47-SIRP α 通路排斥新分化的人红细胞和血小板^[19]。

表 2 几种免疫系统人源化小鼠模型的特点

免疫系统人源化小鼠模型	Hu-PBL-SCID	Hu-SRC-SCID	Hu-BLT-SCID
优点	移植方法简单 T 细胞移植结果稳定	T/B 细胞有功能 固有免疫细胞可以发育	T/B 细胞有功能 固有免疫细胞可以发育 T 细胞可以在人胸腺上皮内发育成熟
缺点	T 细胞移植率低 移植物排斥宿主反应	缺少供 T 细胞发育成熟的人胸腺 B 细胞不能发育成熟	B 细胞不能发育成熟 随着移植时间延长, 诱发移植物排斥宿主反应

3 免疫系统人源化小鼠模型的应用

免疫系统人源化小鼠已被广泛应用于感染、肿瘤、移植等多个领域。人免疫缺陷病毒(HIV)感染人体后,主要感染 CD4⁺T 细胞,引起 T 细胞明显减少,最终患者死于获得性免疫缺陷综合症(AIDS)。虽然经过 30 多年的研究,但 HIV 感染导致 AIDS 的详细机制仍未完全明晰,一个重要原因就是由于 HIV 感染特异性导致没有理想的动物疾病模型以供研究^[20]。免疫系统人源化小鼠模型的发展为 HIV 感染的病理研究及治疗提供了新的有效的途径。应用免疫系统人源化小鼠模型,HIV 病毒可以在小鼠体内持续病毒复制,导致小鼠体内人来源的 CD4⁺T 细胞显著减少,当前研究发现在 T 细胞及巨噬细胞中均有病毒抗原表达^[21]。更重要的是,HIV 感染可以引起人源化小鼠体内 T 细胞的活化,而这种慢性长期的免疫激活是引起 HIV 最终导致 AIDS 的最重要因素。除了 HIV 感染病理机制的研究,由于 Hu-BLT-SCID 模型支持人细胞在小鼠粘膜组织重构,因此,免疫系统人源化小鼠在 HIV 粘膜感染的预防及治疗方面的研究也有应用前景^[22]。最近的研究发现,HIV 感染的人源化小鼠可以诱导神经系统免疫应答,包括白细胞的浸润、小胶质细胞的活化,以及脑膜炎及脑炎症状^[23]。这提示免疫系统人源化小鼠在 AIDS 发病期神经系统退行性病变研究中也具有应用价值。

疟疾(malaria)是由疟原虫(plasmodium)感染引起的一种高致死率传染性疾病,由于感染人类的疟原虫对人类及猿类有高度特异性,有效的抗疟疾疫苗及药物的研发受到限制。应用 Hu-PBL-SCID 模型可以建立疟原虫入血后的炎症模型,不过应用此模型的主要问题在于人来源的红细胞很难在小鼠体内维持一个高水平状态,红细胞会被小鼠巨噬细胞及 NK 细胞快速清除^[24]。应用 Hu-BLT-SCID 模型,通过给模型小鼠每天注射人红细胞,可以维持红细胞的一个高水平状态,从而可以成功建立疟原虫入血后的炎症模型,寄生虫可以在人源化小鼠体内生长繁殖,并可对抗疟疾药物发生反应,因此可以检测药物的治疗效果^[25]。

由于种属差异,不同物种代谢药物的核受体表达不完全相同,因此通过动物模型有时不能完全准确的反映出人类对药物的新陈代谢情况。免疫系统

人源化小鼠模型的出现为评估药物的免疫系统安全性和药理作用提供了新的模型与技术平台。此外,应用胸腺移植建立免疫系统人源化小鼠也为研究人类 T 细胞及其亚群发育分化特点与规律提供了重要实验模型^[26]。

4 小结

联合移植人类胚胎胸腺组织及造血干细胞至免疫缺陷小鼠,使人类造血细胞在小鼠体内发育分化为有功能的人类免疫系统,从而建立免疫系统人源化小鼠,现已可以有效地在小鼠中重建人适应性和固有免疫系统。免疫系统人源化小鼠模型可用于研究针对人类特异感染的病原体的发病机制及病程变化,并为药物研发及安全评价提供更为理想的实验模型,具有广阔应用前景。

参考文献

- [1] Shultz L D, Ishikawa F, Greiner D L. Humanized mice in translational biomedical research[J]. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7: 118 ~ 130.
- [2] Zhang B, Duan Z, Zhao Y. Mouse models with human immunity and their application in biomedical research[J]. *J Cell Mol Med*, 2009, 13: 1043 ~ 1058.
- [3] Denton P W, Garcia J V. Humanized mouse models of HIV infection[J]. *AIDS Rev*, 2011, 13: 135 ~ 148.
- [4] Suwanai H, Wilcox M A, Mathis D, et al. A defective Il15 allele underlies the deficiency in natural killer cell activity in nonobese diabetic mice[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107: 9305 ~ 9310.
- [5] Mombaerts P, Iacomini J, Johnson R S, et al. RAG-1-deficient mice have no mature B and T lymphocytes[J]. *Cell*, 1992, 68: 869 ~ 877.
- [6] Ohbo K, Suda T, Hashiyama M, et al. Modulation of hematopoiesis in mice with a truncated mutant of the interleukin-2 receptor gamma chain[J]. *Blood*, 1996, 87: 956 ~ 967.
- [7] Brooks D G, Kitchen S G, Kitchen C M, et al. Generation of HIV latency during thymopoiesis[J]. *Nat Med*, 2001, 7: 459 ~ 464.
- [8] Tanaka S, Saito Y, Kunisawa J, et al. Development of Mature and Functional Human Myeloid Subsets in Hematopoietic Stem Cell-Engrafted NOD/SCID/IL2rgammaKO Mice[J]. *J Immunol*, 2012, 188: 6145 ~ 6155.
- [9] Shultz L D, Pearson T, King M, et al. Humanized NOD/LtSz-scid IL2 receptor common gamma chain knockout mice in diabetes research[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 1103: 77 ~ 89.

- [10] King M , Pearson T , Shultz L D , *et al.* A new Hu-PBL model for the study of human islet alloreactivity based on NOD-scid mice bearing a targeted mutation in the IL-2 receptor gamma chain gene [J]. *Clin Immunol* , 2008 , **126**: 303 ~ 314.
- [11] Racki W J , Covassin L , Brehm M , *et al.* NOD-scid IL2rgamma (null) mouse model of human skin transplantation and allograft rejection [J]. *Transplantation* , 2010 , **89**: 527 ~ 536.
- [12] Kumar P , Ban H S , Kim S S , *et al.* T cell-specific siRNA delivery suppresses HIV-1 infection in humanized mice [J]. *Cell* , 2008 , **134**: 577 ~ 586.
- [13] Brehm M A , Cuthbert A , Yang C , *et al.* Parameters for establishing humanized mouse models to study human immunity: analysis of human hematopoietic stem cell engraftment in three immunodeficient strains of mice bearing the IL2rgamma (null) mutation [J]. *Clin Immunol* , 2010 , **135**: 84 ~ 98.
- [14] Legrand N , Ploss A , Balling R , *et al.* Humanized mice for modeling human infectious disease: challenges , progress , and outlook [J]. *Cell Host Microbe* , 2009 , **6**: 5 ~ 9.
- [15] Melkus M W , Estes J D , Padgett-Thomas A , *et al.* Humanized mice mount specific adaptive and innate immune responses to EBV and TSST-1 [J]. *Nat Med* , 2006 , **12**: 1316 ~ 1322.
- [16] Brainard D M , Seung E , Frahm N , *et al.* Induction of robust cellular and humoral virus-specific adaptive immune responses in human immunodeficiency virus-infected humanized BLT mice [J]. *J Virol* , 2009 , **83**: 7305 ~ 7321.
- [17] Manz M G , Di Santo J P. Renaissance for mouse models of human hematopoiesis and immunobiology [J]. *Nat Immunol* , 2009 , **10**: 1039 ~ 1042.
- [18] Chen Q , Khoury M , Chen J. Expression of human cytokines dramatically improves reconstitution of specific human-blood lineage cells in humanized mice [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A* , 2009 , **106**: 21783 ~ 21788.
- [19] Hu Z , Van Rooijen N , Yang Y G. Macrophages prevent human red blood cell reconstitution in immunodeficient mice [J]. *Blood* , 2011 , **118**: 5938 ~ 5946.
- [20] Zhang L , Su L. HIV-1 immunopathogenesis in humanized mouse models [J]. *Cell Mol Immunol* , 2012 , **9**: 237 ~ 244.
- [21] Sun Z , Denton P W , Estes J D , *et al.* Intrarectal transmission , systemic infection , and CD4 + T cell depletion in humanized mice infected with HIV-1 [J]. *J Exp Med* , 2007 , **204**: 705 ~ 714.
- [22] Denton P W , Othieno F , Martinez-Torres F , *et al.* One percent tenofovir applied topically to humanized BLT mice and used according to the CAPRISA 004 experimental design demonstrates partial protection from vaginal HIV infection , validating the BLT model for evaluation of new microbicide candidates [J]. *J Virol* , 2011 , **85**: 7582 ~ 7593.
- [23] Gorantla S , Makarov E , Finke-Dwyer J , *et al.* Links between progressive HIV-1 infection of humanized mice and viral neuropathogenesis [J]. *Am J Pathol* , 2010 , **177**: 2938 ~ 2949.
- [24] Tsuji M , Ishihara C , Arai S , *et al.* Establishment of a SCID mouse model having circulating human red blood cells and a possible growth of *Plasmodium falciparum* in the mouse [J]. *Vaccine* , 1995 , **13**: 1389 ~ 1392.
- [25] Angulo-Barturen I , Jimenez-Diaz M B , Mulet T , *et al.* A murine model of falciparum-malaria by in vivo selection of competent strains in non-myelodepleted mice engrafted with human erythrocytes [J]. *PLoS One* , 2008 , **3**: e2252.
- [26] Duan K , Zhang B , Zhang W , *et al.* Efficient peripheral construction of functional human regulatory CD4 (+) CD25 (high) Foxp3 (+) T cells in NOD/SCID mice grafted with fetal human thymus/liver tissues and CD34 (+) cells [J]. *Transpl Immunol* , 2011 , **25**: 173 ~ 179.

Progress and Application of Mouse Models with Human Immunity

SUN Li-na , SUN Chen-ming , ZHAO Yong

(State Key Laboratory of Biomembrane and Membrane Biotechnology , Institute of Zoology , Chinese Academy of Sciences , Beijing 100101 , China)

Abstract: Animal models play a critical role in our understanding biomedicine sciences. The shortage of ideal animal models always limited our research in certain pathogen infection diseases such as HIV infection. Due to the species difference , some drugs and vaccines work well in certain animals but are not applicable for humans. Transplantation of fetal human thymus tissue , hematopoietic stem cells or immune cells into immune deficient mice will significantly establish human immunity. These humanized mouse models offered ideal models for studies on human immune system and immune-related diseases , and screening medicine and vaccines. The present paper will briefly introduce these humanized mouse models and their application.

Key words: humanized mice with human immunity; HIV infection; malaria; immune deficient mice; thymus