



宋远斌, 医学博士, 主治医师, 青年研究员, 博士研究生导师。中山大学肿瘤防治中心血液肿瘤科, 华南恶性肿瘤防治全国重点实验室PI, 国家高层次人才青年项目获得者, 中山大学“百人计划”引进人才。研究工作主要聚焦于骨髓增生异常综合征、急性髓系白血病人源化小鼠模型的建立及靶向治疗的临床前研究, 以第一作者(含共同)在*Science*、*Leukemia*、*Nat Commun*、*Immunity*、*J Clin Oncol*等期刊发表多篇论文, 主持多项国家自然科学基金、省自然科学基金等。

人源化小鼠模型的发展及其在血液学研究中的应用

陆路 张栩苗 宋远斌*

(华南恶性肿瘤防治全国重点实验室, 广东省恶性肿瘤临床医学研究中心, 中山大学肿瘤防治中心, 广州 510060)

摘要 人源化小鼠作为临床前动物模型, 跨越了人、鼠的物种差异和免疫排斥特性, 可深入探索疾病的发病机理和药物作用机制, 在疾病机制研究以及药物评价中具有重要作用。人、鼠在造血发育方面存在相似性, 但在特定谱系的生成和发育上存在显著差异, 其造血分子调控机制及模式也不尽相同。近年来, 由于基因编辑及异种移植等技术的不断革新, 人源化小鼠在血液系统疾病研究中取得了长足发展, 该综述涵盖了人、鼠造血发育差异的探讨, 人源化小鼠建立发展的过程以及在血液系统疾病中的应用进展。

关键词 人源化小鼠; 造血干细胞; 免疫重建; 造血发育; 异常造血

The Development of Humanized Mouse Models and Their Applications in Hematological Research

LU Lu, ZHANG Xumiao, SONG Yuanbin*

(State Key Laboratory of Oncology in South China, Guangdong Provincial Clinical Research Center for Cancer, Sun Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou 510060, China)

Abstract As a preclinical animal model, humanized mice transcend species differences and immune rejection characteristics between humans and mice, and can deeply explore the pathogenesis and drug action mecha-

收稿日期: 2024-12-06 接受日期: 2025-01-21

国家自然科学基金(批准号: 82170137)、国家自然科学基金优秀青年科学基金项目(海外)(批准号: 21HAA01903)、广东省自然科学基金面上项目(批准号: 2024A1515013182)以及中央高校基本科研业务费用、中山大学基本科研业务专项(批准号: 22hytd13)、中山大学百人计划人才基金(批准号: 2021012)和中山大学肿瘤防治中心高层次人才特殊支持计划(批准号: YTP-SYSUCC-0052)资助的课题

*通信作者。Tel: 13265008495, E-mail: songyb@sysucc.org.cn

Received: December 6, 2024 Accepted: January 21, 2025

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.82170137), the Science Fund Program for Distinguished Young Scholars of the National Natural Science Foundation of China (Overseas) (Grant No.21HAA01903), the General Program Natural Science Foundation of Guangdong Province, China (Grant No.2024A1515013182), the Fundamental Research Funds for the Central Universities, Sun Yat-sen University (Grant No.22hytd13), Sun Yat-sen University Start-up Funding (Grant No.2021012) and Cancer Innovative Research Program of Sun Yat-sen University Cancer Center (Grant No.YTP-SYSUCC-0052)

*Corresponding author. Tel: +86-13265008495, E-mail: songyb@sysucc.org.cn

nisms of diseases. They play an important role in disease mechanism research and drug evaluation. There are similarities in hematopoietic development between humans and mice, but significant differences exist in the generation and development of specific lineages, and their hematopoietic molecular regulatory mechanisms and patterns are also different. In recent years, due to the continuous innovation of gene editing and xenotransplantation technologies, humanized mice have made significant progress in the study of hematological diseases. This review covers the differences in hematopoietic development between humans and mice, the process of establishing and developing humanized mice, and the application progress in hematological diseases.

Keywords humanized mice; hematopoietic stem cells; immune reconstruction; hematopoietic development; abnormal hematopoiesis

人源化小鼠是一种通过基因编辑、细胞移植等技术手段,使小鼠表达功能性人类基因或体内具有人类细胞、组织或器官,从而模拟人类疾病的动物模型。人源化小鼠作为研究人类疾病的重要活体模型,具有显著的优势和潜在应用价值,可用于研究人类疾病发病机制和评价药物疗效。早期的人源化小鼠模型主要通过简单地移植人类细胞或组织来建立,无法完整重现人免疫系统的形成和造血发育过程。近年来,随着基因编辑技术的发展,研究人员可以将人造血相关细胞因子的基因以及与干细胞相关的特定突变基因敲入免疫缺陷小鼠,进而构建人源化小鼠^[1]。研究发现,将造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)植入合适的免疫缺陷小鼠中可实现人造血细胞的多谱系分化^[2-3]。此外,将病人来源的恶性造血细胞移植到小鼠模型后可以用于研究疾病的致病机制。人源化小鼠现已成为研究人类造血和免疫的重要平台。

在本综述中,我们比较了人、鼠造血发育的差异,概述了在人源化小鼠中重现人类造血发育过程的最新研究进展,并讨论了其在研究人正常及异常血液疾病中的应用,同时我们也进一步强调了各种人源化小鼠模型的差异和优势以及其应用的价值,并展望了在未来如何改进人源化小鼠模型使其更加适合血液疾病的研究。

1 人、鼠造血发育的差异催生了人源化小鼠模型

人源化小鼠模型促进了我们对人类造血和免疫系统的认识。人类造血发育过程伴随着免疫系统的形成。造血是指骨髓中的HSCs产生各类血细胞的过程,包括红细胞、白细胞和血小板。其中,白细胞是免疫系统的核心组成部分,负责机体的防御

和免疫功能。因此,在人源化小鼠中实现人HSCs发育和分化成熟体现了人类造血和免疫系统形成的生理过程。在人类和小鼠的造血系统中,许多关键机制是保守的,包括HSC的分化、发育过程和基因调控网络等^[4]。例如,促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)在调控小鼠和人类红系前体细胞分化成熟上具有相似的作用,包括细胞存活、增殖和终末成熟的速率^[5]。这些都是小鼠能够成为研究人类造血和免疫的有效模型的基础。但是,人、鼠之间依旧存在一定的物种差异性,小鼠不能完全反映人造血和免疫的组成及生理过程。小鼠和人类的造血微环境存在差异。例如,小鼠在出生后仍然保留的胎儿时期的造血特征,而人类在发育过程中逐渐消失^[6]。人的最终造血仅发生在骨髓,而小鼠的最终造血不仅发生在骨髓,还发生在脾脏^[6]。小鼠骨髓的细胞密度高于其他物种,且不像人类那样随年龄增长而降低,但小鼠HSCs的增殖能力却逐渐降低^[7]。小鼠的髓外造血(脾脏)具有非常重要的意义,小鼠脾脏支持30%的造血,并且可以产生所有造血谱系^[6]。这些差异均体现了物种在进化过程中的选择和适应性。

小鼠HSCs为一群谱系阴性(lineage-negative, Lin⁻)、酪氨酸激酶受体(Kit proto-oncogene, c-Kit)和干细胞抗原-1(stem cell antigen-1, Sca-1)阳性(Lin⁻Sca-1⁺c-Kit⁺, LSK)的独特细胞群^[8-10]。在这一亚群中,CD34⁻细胞具有长期维持多谱系发育和自我更新的能力^[11]。KIEL等^[12]进一步细化了CD34⁻细胞亚群的特征,鉴定出表达CD150⁺CD48⁻的长期造血干细胞(long-term hematopoietic stem cells, LT-HSCs)。在人类中,造血干/祖细胞(hematopoietic stem/progenitor cells, HSPCs)不表达CD150,而表达CD48^[13]。人的LT-HSCs可从骨髓中的Lin⁻CD34⁺CD38⁻亚群中获得。这些细胞表达FMS样酪氨酸激酶3(FMS-related tyrosine ki-

nase 3, FLT3); 此外还有具有其他的分子标志, 包括 CD38⁻、Thy1⁺、CD45RA⁻和 CD49f⁻。小鼠 LT-HSCs 不表达 CD34 或 FLT3, 但表达 CD38^[13-14]。简而言之, 尽管在整体的谱系发育过程中, 两者大致相同, 但是细胞表面标志和分子调控机制存在显著差异(图1)。

与小鼠相比, 人类骨髓的血管结构更为复杂, 具有更多的动脉和窦状静脉^[15]。啮齿动物骨髓的脂肪含量低于人类骨髓^[16]。而不同部位的骨髓脂肪细胞数量不同, 对造血的影响也不同^[6,17-18], 如长骨中的脂肪细胞可以促进辐射造血功能的恢复, 而尾椎中的脂肪细胞则抑制造血。因此两者骨髓脂肪细胞数量的不同可能会影响其造血。影响 HSCs 自我更新和分化的信号, 如干细胞因子(stem cell factor, SCF)、血小板生成素(thrombopoietin, TPO)、FMS 样酪氨酸激酶 3 配体(FMS-related tyrosine kinase 3 ligand, FLT3L)、集落刺激因子(granulocyte-colony stimulating factors, CSFs)和白细胞介素(interleukins, ILs)等的表达模式在小鼠和人类之间并不完全相同^[19]。例如, 在小鼠中, SCF 对 HSCs 的促进作用远优于 FLT3L, 而在人类中 FLT3L 对造血的刺激作用更强^[14]。在基因表达层面上, 转录因子同源盒蛋白

B4(homeobox B4, HoxB4)在人类和小鼠中表现出不同的作用。HoxB4 过表达可引起小鼠 HSCs 显著增殖(约 1 000 倍), 但对人 HSCs 的影响微乎其微^[6]。受体、分子信号和表达模式的差异导致两个物种在造血过程中偏向不同的谱系。小鼠和人类整体的血细胞组成比例具有显著的差异, 例如, 小鼠血液循环中的血小板数量高于人类[小鼠: (9.0~16.0)×10¹¹个/L; 人: (1.5~4.0)×10¹¹个/L], 体现了两种物种间不同的造血和免疫需求^[6]。

小鼠和人类造血过程存在许多差异, 并且受到复杂分子机制调控, 因而利用小鼠模型模拟人类造血发育及免疫反应是一项巨大的挑战。造血因子在两种物种之间的差异, 促使了内源性表达人类细胞因子的人源化小鼠的开发。这些小鼠促进了造血谱系(相关研究)的发展, 包括先天免疫在内的造血谱系的发展。例如, 最近开发了转基因 NSGS 小鼠(也被称为 NSG-3GS 或 NSG-SGM3)和 MISTRG 小鼠, 可以内源性表达多种人类细胞因子, 提高了人 HSCs 的植入和发育分化的水平。总之, 将从小鼠中获得的见解外推到人类以开发更具预测性的临床前模型之前, 需要慎重考虑这些差异。

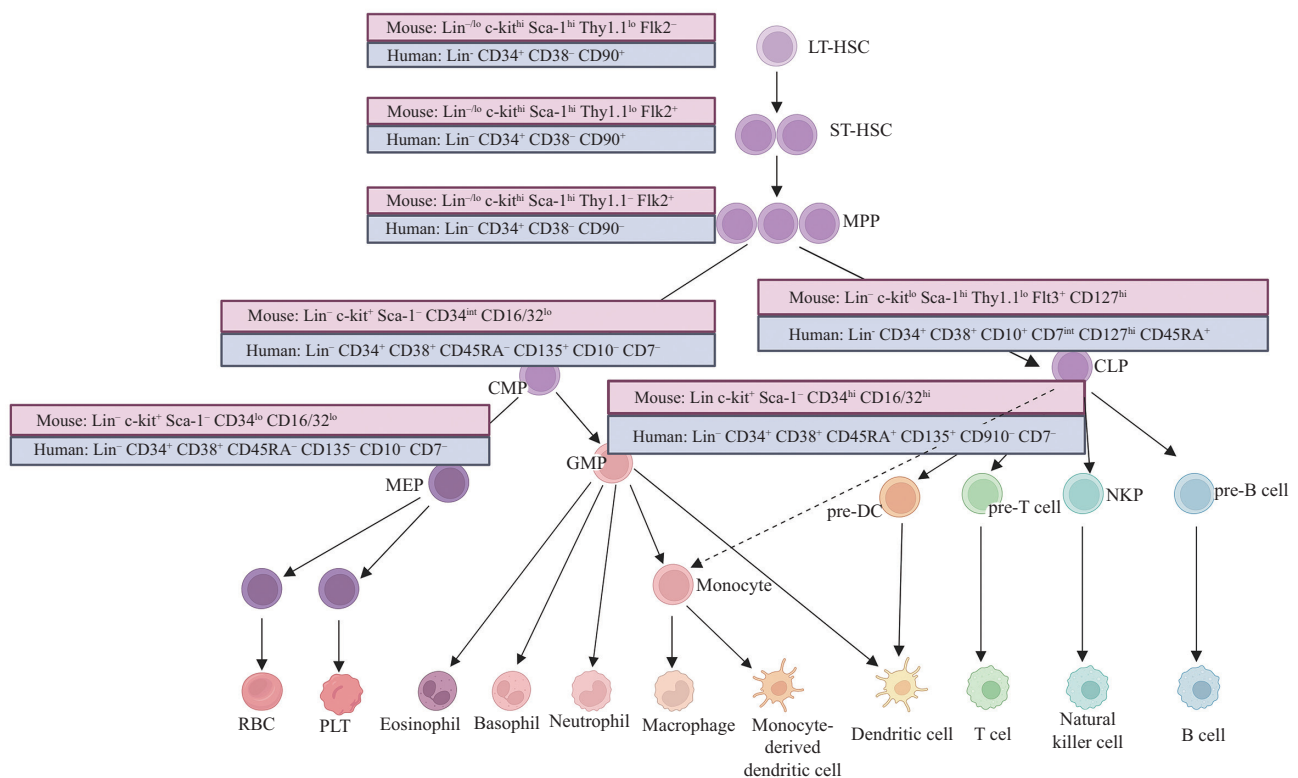


图1 小鼠和人类主要造血干/祖细胞的类别及表面标志物

Fig.1 Categories and surface markers of major stem and progenitor cells in mice and humans

2 人源化小鼠模型的建立及发展

尽管人造血细胞表达的人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)和小鼠的主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)之间不完全匹配, 但将人类HSCs移植到免疫缺陷小鼠体内, 仍然可以实现小鼠的人源化^[20]。人源化小鼠模型的开发起源于携带 $Prkdc^{scid}$ 突变基因的重度联合免疫缺陷(severe combined immune deficiency, SCID)小鼠的建立^[21]。SCID小鼠缺乏B细胞和T细胞, 已被证明能够支持人T细胞和B细胞的重建^[22]。但是, 随着年龄增长, SCID小鼠会自发产生鼠源T细胞和B细胞, 且其NK细胞的活性也会增加, 因而导致人HSCs植入失败^[23]。为提高人造血细胞的植入率, 研究人员将SCID小鼠与非肥胖性糖尿病(non-obese diabetic, NOD)小鼠进行杂交, 获得了NOD-SCID小鼠^[24]。NOD-SCID小鼠表现出多种固有免疫功能缺陷, 包括NK细胞活性低、没有溶血补体活性以及骨髓发育缺陷, 这在一定程度上提高了人HSCs的植入水平。这主要得益于NOD小鼠表达一种类人信号调节蛋白 α (signal-regulatory protein alpha, SIRPA)的等位基因。SIRPA被称为“别吃我”信号分子, 可以避免小鼠巨噬细胞吞噬人类细胞^[25-26]。然而, NOD-SCID小鼠的应用仍然受限, 因为它们的生命相对较短(中位生存期为257天), 且NK细胞及其他先天性免疫成分仍有残余活性^[27]。

如何进一步改进免疫缺陷小鼠以实现人造血细胞的高效植入? 一个重要突破是成功建立了白细胞介素-2受体 γ 链(IL2 receptor common gamma chain, IL2rg或 γ_c)缺失的小鼠品系。IL2rg是IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15和IL-21等多种细胞因子受体的组成部分^[28-30]。 γ_c 链功能缺失会中断适应性和先天性免疫反应所需的关键细胞因子信号, 特别是IL-15缺乏所致的NK细胞完全缺失^[31-32]。此外, 重组激活基因1(recombination activating genes 1, $Rag1$)和2($Rag2$)敲除小鼠($Rag1^{-/-}$ 和 $Rag2^{-/-}$ 小鼠)的应用为建立更理想的免疫缺陷模型提供了新的途径。这些小鼠不仅缺乏成熟的T细胞和B细胞, 而且对辐射具有更强耐受性^[32-34]。因此, 通过将 γ_c 链敲除与SCID或 Rag 基因敲除相结合, 可以获得高度免疫缺陷的小鼠。这类小鼠T细胞、B细胞和NK细胞活性完全缺失, 且单核/巨噬细胞功能严重受损^[20]。目前常用的 γ_c 链敲除小鼠品系包括NOD.Cg- $Prkdc^{scid}Il2rg^{tm1wj}$ (NSG

小鼠)^[35]、NOD.Cg- $Prkdc^{scid}Il2rg^{tm1sug}$ (NOG小鼠)^[36]、NOD.Cg- $rag1^{tm1mom}Il2rg^{tm1wj}$ (NRG小鼠)^[37]和C.129S4- $rag2^{tm1fwa1}Il2rg^{tm1sug}$ (BRG小鼠)^[33]。尽管有了这些改进, 在进行人细胞移植前, 仍需要亚致死剂量辐射或(使用)白消安等药物进行清髓处理, 以确保最佳的植入效果^[23]。近年来, 为了进一步降低宿主对人细胞的免疫排斥反应, 还开发了TKO敲除小鼠——B6.129(Cg)- $Rag2^{tm1Fwa}Cd47^{tm1Fpl}Il2rg^{tm1Wjl/J}$ 。该小鼠除了敲除 $Rag1$ 和 $Il2rg$ 外, 还缺乏CD47^[38]。研究表明, CD47作为一种自我标识分子^[30], 能够与巨噬细胞表面的SIRPA结合, 从而避免宿主吞噬自身细胞^[39]。因此, 敲除CD47可以进一步提高小鼠宿主与人类细胞的相容性。

3 提高人源化小鼠造血和免疫重建的研究进展

尽管过去几十年在人源化小鼠模型的改进上取得了一些成功, 这些模型仍然存在一定局限性。人源化小鼠依旧在支持人造血细胞完整谱系分化方面存在局限性^[40]。此外, 在小鼠体内, 人造血细胞的功能(包括正常和疾病状态下的细胞)可能会发生变化^[3]。为了提高人源化小鼠模型中人类细胞的比例, 研究人员探索了多种改进方法, 旨在提高小鼠宿主对人造血及免疫系统发育的支持。这些方法包括: (1) 破坏小鼠HSCs生态位以支持人HSCs^[41]; (2) 通过转基因技术引入人类HLA分子^[42-44]; (3) 表达人类细胞因子^[45-46]; (4) 植入人胎儿肝脏或胎儿胸腺^[47](表1)。

除了小鼠免疫缺陷之外, 去除小鼠的HSCs还可以创造出开放的骨髓生态位, 进而促进人HSCs归巢和发育。研究表明, 干细胞上表达的c-Kit酪氨酸激酶对其维持至关重要, 而小鼠 Kit 基因突变(如 Kit^{W^v/W^v} 和 $Kit^{W41/W41}$)会导致其功能丧失, 进而抑制小鼠HSCs更新^[58]。因此, 携带 Kit 基因突变的小鼠, 即NSG- $Kit^{W41/W41}$ (NSGW41)^[48]和BRG- Kit^{W^v/W^v} (BRGSK)^[59], 无需辐射即可支持人HSCs的植入^[41]。在没有人细胞因子的情况下, 人源化小鼠可以支持人类髓系细胞的分化; 但是, 相比于正常的人髓系细胞发育, 其成熟比较晚^[49]。NSGW41和BRGSK小鼠可以在一定程度上支持人类红系发育, 但是, 小鼠外周循环中人类成熟红细胞依旧缺失。

T细胞在胸腺中发育和成熟。在这个过程中, T

表1 进一步改进人源化小鼠的方法

Table 1 Further improvements in humanized mouse models

方法 Method	特点 Characteristic	应用模型举例 Application model
Building an open bone marrow niche	Carrying a kit gene mutation in mice; disrupting the hematopoietic stem cell niche	NSGW41 ^[48] , BRGSK ^[49]
Expression of human HLA molecules	Expression of human HLA class I and class II molecules to better simulate human immune responses	DRAG ^[50] , DRAGA ^[51] , BRGSA2DR2 ^[52]
Expression of human cytokines	Including SCF, IL-3, GM-CSF, G-CSF, IL-6, TPO, etc., to better support the development of human myeloid cells	MISTRG ^[53] , MISTRG6 ^[54]
Simultaneously implanting into the fetal liver or fetal thymus	Contributes to the construction of a more complete human immune system; supports the development and maturation of the human erythroid lineage	BLT ^[55-56] , MISTRG Fah ^[57]

细胞与MHC分子相互作用,以确保它们能够正确识别自身和外来抗原。在人源化小鼠中,由于T细胞是在小鼠的胸腺中发育的,因此这些T细胞主要对小鼠的MHC(H-2)产生反应,而不是人类的HLA。引入人HLA可以改善人源化小鼠的免疫系统,使其能够更好地模拟人类的免疫反应。例如,DRAG小鼠是一种在NRG小鼠背景下通过基因编辑技术表达HLA-II类抗原HLA-DR4结合域的小鼠模型^[50]。此外,还有同时表达人HLA-I类和-II类分子的人源化小鼠,如DRAGA小鼠和BRGSA2DR2小鼠^[51-52]。这些小鼠可以支持抗原特异性CD8⁺细胞毒性T细胞的生成,同时B细胞在免疫刺激后行使相应的功能。将人类胸腺或者胎儿肝脏移植到NSG小鼠中(BLT小鼠),可以构建更完善的人免疫系统^[55-56],BLT小鼠已被用于HLA限制性人类T细胞反应的相关研究。

被植入细胞的功能亦是人源化小鼠构建成功的一个重要因素。然而,由于细胞因子的种属特异性,人源化小鼠不能复制出某些人细胞亚群的功能特征^[60]。为解决人源化小鼠中人类细胞因子生成不足的问题,研究人员通过转基因技术建立了多个表达人类细胞因子的小鼠模型^[47]。表达SCF、IL-3、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)、粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)、IL-6等细胞因子的NSG小鼠可以更好地支持人髓系细胞的发育^[61-63]。在BRG或BRGS(NOD-SIRPA)小鼠背景下,同时表达TPO、IL-3、GM-CSF和巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony-stimulating factor, M-CSF)获得了MISTRG小鼠^[53];随后通过将人IL-6基因敲入MISTRG小鼠生成了MISTRG6

小鼠^[54]。这些小鼠可以更好地支持人HSCs和髓系细胞群的植入和发育。

4 利用人源化小鼠研究人正常造血的进展

在重度免疫缺陷小鼠中重建人类造血环境具有重要意义,这对于人类血液学和免疫学研究至关重要。当前主要的挑战是如何在小鼠体内实现高效的人造血细胞植入和多谱系分化,从而建立能够真实模拟人类造血过程的模型。近年来,重度免疫缺陷小鼠模型,如NSG和BALB/c *Rag2*^{null}*IL2rg*^{null},由于完全缺乏内源性小鼠免疫系统,能够支持人类细胞的长期植入,提高了人源化小鼠构建的成功率。NOD-SCID *IL2rg*^{null}(包括NOG和NSG)小鼠由于携带*Prkdc*^{scid}突变基因并缺失*IL2rg*,成为了移植人CD34⁺ HSCs的理想宿主^[35-36]。这些小鼠的高植入率主要归因于其缺乏T细胞、B细胞和NK细胞,并且NOD小鼠中特有的SIRPA多态性进一步促进了人细胞的植入^[25]。但是在这类小鼠中人髓系细胞的分化效率较低,特别是粒细胞和肥大细胞。这类细胞的分化不足可能部分源于细胞因子供应的不足,如G-CSF、GM-CSF、IL-3、IL-6、FLT3L、TPO和SCF^[64]。研究人员通过基因工程将编码这些细胞因子的人类基因引入小鼠体内,有效地促进了人源化小鼠中人粒细胞的生成。例如,BILLERBECK等^[65]开发了同时表达人类*Kitl*、*GM-CSF*和*IL-3*的转基因(transgenic, Tg) NSG小鼠(SGM3-Tg)。在移植人HSCs后,与非转基因对照小鼠相比,SGM3-Tg小鼠中CD33⁺髓系细胞和CD15⁺粒细胞的生成略有增加。此外,RONGVAUX等^[66]构建了人类*TPO*基因敲入小鼠(hTPO KI小鼠),该模型用人*TPO*基因替换了小鼠对

应的基因。这一模型提高了人单核细胞和粒细胞分化水平,但肥大细胞和某些粒细胞亚群的生成仍有欠缺。在NOG小鼠的背景下,将人类 $IL-3$ 和 $GM-CSF$ 基因敲入小鼠体内获得新的NOG小鼠模型,即NOG $IL-3/GM-Tg$ 小鼠^[64]。NOG $IL-3/GM-Tg$ 小鼠通过全身表达促髓系细胞增殖的细胞因子,成功诱导多种人髓系细胞(如单核/巨噬细胞、嗜碱性粒细胞、肥大细胞、嗜酸性粒细胞和中性粒细胞)的分化。表达人细胞因子的二代人源化小鼠为了解人类造血前体细胞的体内生理过程提供了重要的研究平台。

为了确保足够的人造血细胞植入,通常需要富集大量的 $CD34^+$ HSCs,并在移植前对小鼠进行全身辐照。将人类造血细胞移植到带有 Kit 基因突变的免疫缺陷小鼠(如BRGSK)中,可以在不需要X射线照射的情况下实现有效的HSCs植入^[41,67]。携带 Kit 基因突变的免疫缺陷小鼠能够有效支持人类 $CD34^+$ HSCs。此外,此类小鼠模型显著提高了HSPCs向红系和巨核细胞系的重建水平。研究表明, $W41$ 突变的NOG小鼠(即NOGW小鼠)在无需X射线照射条件下也能实现人HSCs的高效植入^[68]。研究人员在NOGW小鼠的外周血、骨髓和脾脏中成功检测到人类 $CD45^+$ 细胞。相比于NOG小鼠,NOGW小鼠骨髓中人HSCs或前体细胞($CD34^+CD38^-$ 或 $CD34^+CD38^+$ 细胞)的植入显著增多。此外,通过敲入人类细胞因子($IL-3$ 和 $GM-CSF$)获得的NOGW-EXL小鼠可以实现多谱系血细胞的重建^[68]。在移植人 $CD34^+$ HSCs细胞后,与未照射的NOGW小鼠或照射后的NOG-EXL小鼠相比,未照射的NOGW-EXL小鼠体内的人 $CD45^+$ 细胞及髓系细胞(尤其是粒细胞和血小板/巨核细胞)植入水平显著提高。

除了改进人源化小鼠外,研究人员还通过移植特定造血前体细胞亚群来评估髓系、红系及巨核细胞谱系的体内生成和分化能力。例如,通过移植不同细胞表面标志(如 $CD127$ 、 $CD10$ 、 $CD7$ 、 $CD62L$ 或某些整合素)的 $CD34^+$ 亚群,研究人员评估了人 $CD34^+$ 细胞亚群生成B、T、NK细胞的能力,特别是在NSG小鼠中发现了 $CD127^+$ 早期淋巴前体细胞(early lymphoid progenitors, ELPs)^[47]。此外,人源化小鼠还被用于研究干细胞归巢和特定分子调控下的HSPCs功能。人HSCs及前体细胞的单细胞RNA测

序亦表明了其基因表达模式的复杂性。整合人源化小鼠和多组学测序技术可以进一步提高我们对人类正常造血复杂性和异质性的认识。

5 人源化小鼠在血液系统疾病中的应用进展

随着NSG或者NRG人源化小鼠的发展,构建患者来源异种移植模型(patient-derived xenograft, PDX)成为可能。这种人源化PDX模型可以用于研究恶性肿瘤的体内生物学行为,还可以用于药物开发的临床前研究。将白血病干细胞(leukemic stem cells, LSCs)或者白血病起始细胞(leukemia-initiating cells, LICs)移植到NSG小鼠体内复刻了原发性白血病的临床特征。尽管人源化小鼠提高了造血系统恶性肿瘤细胞的移植率,特别是AML^[69]。但是,大部分AML患者样本,特别是侵袭性较低的亚型,如急性早幼粒细胞白血病(acute promyelocytic leukemia, APL)未能植入或植入水平较低^[70-72]。此外,许多其他血液肿瘤细胞无法有效植入在当前可用的小鼠模型中,骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)、骨髓增殖性肿瘤(myeloproliferative neoplasm, MPN)或多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)的移植成功率非常低^[73]。我们开发了一种高效的MDS异种移植模型——MISTRG小鼠^[46]。这类小鼠在 $Rag^{-/-}$ 、 $IL2rg^{-/-}$ 遗传背景下内源性表达人M-CSF、 $IL-3$ 、 $GM-CSF$ 、SIRPA和TPO,可以有效支持人淋巴和骨髓单核细胞系统的重建。我们证明MISTRG模型可以支持所有MDS亚型的肿瘤干细胞的植入,可以复制不同MDS患者的免疫表型和造血发育异常特征。除了通过表达人类细胞因子来提高异种移植的植入水平外^[69,74],在人源化小鼠骨髓中重建人类造血微环境也是有效的策略。在骨髓微环境中,HSCs与包括间质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)、成骨细胞、脂肪细胞和血管内皮细胞等在内的复杂细胞网络紧密接触^[75]。造血微环境不仅为HSCs提供了庇护所,而且在造血系统恶性肿瘤中被白血病细胞占领,支持了LSCs的生存。研究表明,可以将人类骨髓中的未成熟MSCs移植到NSG小鼠中重新创建一个功能性造血微环境——人源化骨小体^[73]。这些骨小体包含了人源化的造血微环境,提供了人造血调节因子,以促进人造血细胞的有效植入和生长。

LSCs是一群具有高度异质性的肿瘤干细胞,具有复杂的突变谱。在移植了患者白血病细胞的免疫缺陷小鼠中,可以检测到大多数AML相关的基因突变,包括DNA甲基转移酶3A[DNA(cytosine-5)-methyltransferase 3 alpha, *DNMT3A*]、TET二价甲基胞嘧啶双加氧酶2(Tet methylcytosine dioxygenase 2, *TET2*)、核仁磷蛋白1(nucleophosmin 1, *NPM1*)、肾母细胞瘤基因1(wilms tumor 1, *WT1*)、异柠檬酸脱氢酶1/2(isocitrate dehydrogenase 1/2, *IDH1/2*)和*FLT3*等^[47]。此外,利用测序技术能更好地认识疾病的突变谱。因此,将人源化小鼠用作恶性转化的功能预测模型,并与多组学测序技术结合,能够识别出具有高度恶性潜力的突变基因。通过移植具有不同突变基因的AML患者来源LSCs获得的特定PDX模型,可以将其用于临床前药物开发和分子机制研究,以及靶向治疗策略的开发及验证^[76-77]。研究人员还利用人源化小鼠,进一步确定了不同遗传特征的AML细胞的体内克隆增殖特性,并识别出了新的“干性”抗原或基因。

除了恶性造血疾病外,我们还需要关注非恶性或者遗传性异常造血相关疾病的研究。人类红细胞是体内最常见的细胞类型之一,由于其在整个人类进化过程中经历了强烈的基因选择,红系疾病不仅显著影响患者健康,还给医疗保健系统带来了沉重负担。因此,需要开发有效的模型来研究此类疾病的致病机理。有效的人源化小鼠需要能够维持循环中成熟的红细胞,并可以模拟人类贫血、镰状细胞病(sickle cell disease, SCD)等红系相关的病理生理过程。我们的研究发现小鼠肝脏是清除人红细胞的主要靶器官,通过替换小鼠肝脏为人肝脏,可使人红细胞在人源化小鼠体内完整发育^[57]。在MISTRG小鼠的基础上,我们通过CRISPR/Cas9技术将小鼠富马酰乙酰乙酸酯水解酶(fumarylacetoacetate hydrolase, *Fah*)基因敲除并成功用人肝脏细胞替换小鼠肝脏细胞,最终成功构建了MISTRG *Fah*小鼠^[57]。该小鼠模型可以支持人红系发育和维持循环中成熟红细胞,用于研究红细胞的疾病,包括骨髓衰竭、血红蛋白病和疟疾,以及治疗相关的临床前研究。

6 人源化小鼠模型研究的展望

近年来,随着人源化小鼠模型的改进,人HSCs的植入水平显著提高,更好地模拟了人类的造血和

免疫系统,以及人类血液系统恶性肿瘤的生理病理学过程。然而,人HSCs的植入和维持仍存在一些问题,包括宿主小鼠中出现淋巴系谱系分化偏向以及髓系发育不足。人HSCs功能受限可能部分归因于宿主小鼠造血微环境无法为人类造血提供足够的支持。为了解决这些问题,研究人员对人源化小鼠进行许多改进,以更好地在小鼠中再现人类生物学的特征。

由于人类的造血及免疫系统的复杂性和物种之间的差异性,在小鼠中模拟人类造血和免疫的生理过程及复杂的调控网络是一项艰巨的挑战,需要考虑多个方面。宿主小鼠重度免疫缺陷,引入人类造血微环境中所需造血调节因子等都是需要考虑的问题。在宿主小鼠中敲除重要免疫的基因(如*Rag1*、*Rag2*、*Il2rg*)提高了人造血细胞的植入水平^[78]。然而,宿主小鼠造血微环境在支持人类造血方面依旧存在不足。在NOD/SCID及其他免疫缺陷小鼠中,与人B淋巴系细胞相比,人T淋巴系和髓系细胞的发育受损。表达人HLA I类抗原的NSG小鼠,在一定程度上解决了人T细胞发育的问题。在移植人HSCs后,小鼠可以生成CD8⁺ T细胞,能够模拟人细胞因子的产生和细胞毒性反应^[43-44,79]。

在免疫缺陷小鼠中,最难重建的造血部分是巨核系和红系的发育。研究表明,小鼠巨噬细胞对红细胞和血小板的吞噬作用导致了人源化小鼠外周循环缺乏这些细胞^[80-81]。此外,即使在表达人TPO的*Rag2*和*Il2rg*敲除小鼠中,人源化小鼠的巨核/红系祖细胞(megakaryocyte-erythroid progenitor, MEP)生成不足也未得到纠正^[66]。肝脏人源化与细胞因子人源化相结合可以有效提高人类红系发育及外周血循环中成熟的红细胞的数量^[57]。MISTRG *Fah*小鼠是在MISTRG小鼠的基础上建立的,该模型敲除小鼠*Fah*基因,并植入胎儿细胞实现了肝脏人源化,消除了鼠源补体C3,减少了小鼠库普弗细胞的数量。MISTRG *Fah*小鼠在一定程度上促进了人红系发育和维持,是研究红系发育及疾病的优异的临床前模型。

改进当前小鼠模型中人类造血发育不足必须深入研究人、鼠在造血过程中基因表达和信号转导机制的差异。同时需要强调个体差异性,使用来自同一患者的疾病细胞(如肿瘤细胞)和免疫细胞,以更准确地模拟疾病进展和治疗反应。总之,人源化小鼠模型在人类正常和异常造血研究中具有重要意

义, 同时还需克服重重困难来提高模型的性能, 以便其更好地用于疾病研究。随着技术创新和跨学科合作, 未来有望解决这些问题, 为人类血液疾病的研究提供更好的平台。

参考文献 (References)

- [1] KOBARI L, YATES F, OUDRHIRI N, et al. Human induced pluripotent stem cells can reach complete terminal maturation: *in vivo* and *in vitro* evidence in the erythropoietic differentiation model [J]. *Haematologica*, 2012, 97(12): 1795-803.
- [2] HU Z, YANG Y G. Human lymphohematopoietic reconstitution and immune function in immunodeficient mice receiving cotransplantation of human thymic tissue and CD34⁺ cells [J]. *Cell Mol Immunol*, 2012, 9(3): 232-6.
- [3] THEOCHARIDES A P, RONGVAUX A, FRITSCH K, et al. Humanized hemato-lymphoid system mice [J]. *Haematologica*, 2016, 101(1): 5-19.
- [4] CALVANESE V, MIKKOLA H K A. The genesis of human hematopoietic stem cells [J]. *Blood*, 2023, 142(6): 519-32.
- [5] PISHESHA N, THIRU P, SHI J, et al. Transcriptional divergence and conservation of human and mouse erythropoiesis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(11): 4103-8.
- [6] DUPARD S J, GRIGORYAN A, FARHAT S, et al. Development of humanized ossicles: bridging the hematopoietic gap [J]. *Trends Mol Med*, 2020, 26(6): 552-69.
- [7] O'CONNELL K E, MIKKOLA A M, STEPANEK A M, et al. Practical murine hematopathology: a comparative review and implications for research [J]. *Comp Med*, 2015, 65(2): 96-113.
- [8] IKUTA K, WEISSMAN I L. Evidence that hematopoietic stem cells express mouse c-kit but do not depend on steel factor for their generation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89(4): 1502-6.
- [9] SPANGRUDE G J, HEIMFELD S, WEISSMAN I L. Purification and characterization of mouse hematopoietic stem cells [J]. *Science*, 1988, 241(4861): 58-62.
- [10] NOTTA F, DOULATOV S, LAURENTI E, et al. Isolation of single human hematopoietic stem cells capable of long-term multilineage engraftment [J]. *Science*, 2011, 333(6039): 218-21.
- [11] OSAWA M, HANADA K, HAMADA H, et al. Long-term lymphohematopoietic reconstitution by a single CD34-low/negative hematopoietic stem cell [J]. *Science*, 1996, 273(5272): 242-5.
- [12] KIEL M J, YILMAZ O H, IWASHITA T, et al. SLAM family receptors distinguish hematopoietic stem and progenitor cells and reveal endothelial niches for stem cells [J]. *Cell*, 2005, 121(7): 1109-21.
- [13] DOULATOV S, NOTTA F, LAURENTI E, et al. Hematopoiesis: a human perspective [J]. *Cell Stem Cell*, 2012, 10(2): 120-36.
- [14] SITNICKA E, BUZA-VIDAS N, LARSSON S, et al. Human CD34⁺ hematopoietic stem cells capable of multilineage engrafting NOD/SCID mice express flt3: distinct flt3 and c-kit expression and response patterns on mouse and candidate human hematopoietic stem cells [J]. *Blood*, 2003, 102(3): 881-6.
- [15] KIEL M J, MORRISON S J. Maintaining hematopoietic stem cells in the vascular niche [J]. *Immunity*, 2006, 25(6): 862-4.
- [16] SCHELLER E L, ROSEN C J. What's the matter with MAT? Marrow adipose tissue, metabolism, and skeletal health [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2014, 1311(1): 14-30.
- [17] NAVEIRAS O, NARDI V, WENZEL P L, et al. Bone-marrow adipocytes as negative regulators of the hematopoietic microenvironment [J]. *Nature*, 2009, 460(7252): 259-63.
- [18] ZHOU B O, YU H, YUE R, et al. Bone marrow adipocytes promote the regeneration of stem cells and hematopoiesis by secreting SCF [J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(8): 891-903.
- [19] PINHO S, FRENETTE P S. Hematopoietic stem cell activity and interactions with the niche [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(5): 303-20.
- [20] STRIPECKE R, MUNZ C, SCHURINGA J J, et al. Innovations, challenges, and minimal information for standardization of humanized mice [J]. *EMBO Mol Med*, 2020, 12(7): e8662.
- [21] BOSMA G C, CUSTER R P, BOSMA M J. A severe combined immunodeficiency mutation in the mouse [J]. *Nature*, 1983, 301(5900): 527-30.
- [22] MOSIER D E, GULIZIA R J, BAIRD S M, et al. Transfer of a functional human immune system to mice with severe combined immunodeficiency [J]. *Nature*, 1988, 335(6187): 256-9.
- [23] MIAN S A, ANJOS-AFONSO F, BONNET D. Advances in human immune system mouse models for studying human hematopoiesis and cancer immunotherapy [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 619236.
- [24] FEURING-BUSKE M, GERHARD B, CASHMAN J, et al. Improved engraftment of human acute myeloid leukemia progenitor cells in beta 2-microglobulin-deficient NOD/SCID mice and in NOD/SCID mice transgenic for human growth factors [J]. *Leukemia*, 2003, 17(4): 760-3.
- [25] TAKENAKA K, PRASOLAVA T K, WANG J C, et al. Polymorphism in Sirpa modulates engraftment of human hematopoietic stem cells [J]. *Nat Immunol*, 2007, 8(12): 1313-23.
- [26] 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): 786-98.
- [27] PEARSON T, MARKEES T G, SERREZE D V, et al. Genetic disassociation of autoimmunity and resistance to costimulation blockade-induced transplantation tolerance in nonobese diabetic mice [J]. *J Immunol*, 2003, 171(1): 185-95.
- [28] MARSDEN M D, ZACK J A. Humanized mouse models for human immunodeficiency virus infection [J]. *Annu Rev Virol*, 2017, 4(1): 393-412.
- [29] CAO X, SHORES E W, HU-LI J, et al. Defective lymphoid development in mice lacking expression of the common cytokine receptor gamma chain [J]. *Immunity*, 1995, 2(3): 223-38.
- [30] DISANTO J P, MULLER W, GUY-GRAND D, et al. Lymphoid development in mice with a targeted deletion of the interleukin 2 receptor gamma chain [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(2): 377-81.
- [31] KENNEDY M K, GLACCUM M, BROWN S N, et al. Reversible defects in natural killer and memory CD8 T cell lineages in interleukin 15-deficient mice [J]. *J Exp Med*, 2000, 191(5): 771-80.
- [32] RANSON T, VOSSHENRICH C A, CORCUFF E, et al. IL-15 is an essential mediator of peripheral NK-cell homeostasis [J]. *Blood*, 2003, 101(12): 4887-93.

- [33] TRAGGIAI E, CHICHA L, MAZZUCHELLI L, et al. Development of a human adaptive immune system in cord blood cell-transplanted mice [J]. *Science*, 2004, 304(5667): 104-7.
- [34] SHULTZ L D, ISHIKAWA F, GREINER D L. Humanized mice in translational biomedical research [J]. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7(2): 118-30.
- [35] SHULTZ L D, LYONS B L, BURZENSKI L M, et al. Human lymphoid and myeloid cell development in NOD/LtSz-scid IL2R gamma null mice engrafted with mobilized human hemopoietic stem cells [J]. *J Immunol*, 2005, 174(10): 6477-89.
- [36] ITO M, HIRAMATSU H, KOBAYASHI K, et al. NOD/SCID/gamma(c) (null) mouse: an excellent recipient mouse model for engraftment of human cells [J]. *Blood*, 2002, 100(9): 3175-82.
- [37] PEARSON T, SHULTZ L D, MILLER D, et al. Non-obese diabetic-recombination activating gene-1 (NOD-*Rag1^{null}*) interleukin (IL)-2 receptor common gamma chain (*IL2r γ^{null}*) null mice: a radioresistant model for human lymphohaematopoietic engraftment [J]. *Clin Exp Immunol*, 2008, 154(2): 270-84.
- [38] LAVENDER K J, PANG W W, MESSER R J, et al. BLT-humanized C57BL/6 Rag2^{-/-} γ c^{-/-}CD47^{-/-} mice are resistant to GVHD and develop B- and T-cell immunity to HIV infection [J]. *Blood*, 2013, 122(25): 4013-20.
- [39] WANG H, MADARIAGA M L, WANG S, et al. Lack of CD47 on nonhematopoietic cells induces split macrophage tolerance to CD47null cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(34): 13744-9.
- [40] ALLEN T M, BREHM M A, BRIDGES S, et al. Humanized immune system mouse models: progress, challenges and opportunities [J]. *Nat Immunol*, 2019, 20(7): 770-4.
- [41] COSGUN K N, RAHMIG S, MENDE N, et al. Kit regulates HSC engraftment across the human-mouse species barrier [J]. *Cell Stem Cell*, 2014, 15(2): 227-38.
- [42] SUZUKI M, TAKAHASHI T, KATANO I, et al. Induction of human humoral immune responses in a novel HLA-DR-expressing transgenic NOD/Shi-scid/gammanull mouse [J]. *Int Immunol*, 2012, 24(4): 243-52.
- [43] STROWIG T, GURER C, PLOSS A, et al. Priming of protective T cell responses against virus-induced tumors in mice with human immune system components [J]. *J Exp Med*, 2009, 206(6): 1423-34.
- [44] SHULTZ L D, SAITO Y, NAJIMA Y, et al. Generation of functional human T-cell subsets with HLA-restricted immune responses in HLA class I expressing NOD/SCID/IL2r^{null} humanized mice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(29): 13022-7.
- [45] WUNDERLICH M, CHOU F S, SEXTON C, et al. Improved multilineage human hematopoietic reconstitution and function in NSGS mice [J]. *PLoS One*, 2018, 13(12): e0209034.
- [46] SONG Y, RONGVAUX A, TAYLOR A, et al. A highly efficient and faithful MDS patient-derived xenotransplantation model for pre-clinical studies [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 366.
- [47] SAITO Y, SHULTZ L D, ISHIKAWA F. Understanding normal and malignant human hematopoiesis using next-generation humanized mice [J]. *Trends Immunol*, 2020, 41(8): 706-20.
- [48] RAHMIG S, KRONSTEIN-WIEDEMANN R, FOHGRUB J, et al. Improved Human erythropoiesis and platelet formation in humanized NSGW41 mice [J]. *Stem Cell Rep*, 2016, 7(4): 591-601.
- [49] SIPPEL T R, RADTKE S, OLSEN T M, et al. Human hematopoietic stem cell maintenance and myeloid cell development in next-generation humanized mouse models [J]. *Blood Adv*, 2019, 3(3): 268-74.
- [50] DANNER R, CHAUDHARI S N, ROSENBERGER J, et al. Expression of HLA class II molecules in humanized NOD.Rag1KO. IL2RgcKO mice is critical for development and function of human T and B cells [J]. *PLoS One*, 2011, 6(5): e19826.
- [51] MAJJI S, WIJAYALATH W, SHASHIKUMAR S, et al. Differential effect of HLA class-I versus class-II transgenes on human T and B cell reconstitution and function in NRG mice [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 28093.
- [52] MASSE-RANSON G, DUSSEAUX M, FIQUET O, et al. Accelerated thymopoiesis and improved T-cell responses in HLA-A2/-DR2 transgenic BRGS-based human immune system mice [J]. *Eur J Immunol*, 2019, 49(6): 954-65.
- [53] 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): 364-72.
- [54] DAS R, STROWIG T, VERMA R, et al. Microenvironment-dependent growth of preneoplastic and malignant plasma cells in humanized mice [J]. *Nat Med*, 2016, 22(11): 1351-7.
- [55] DENTON P W, NOCHI T, LIM A, et al. IL-2 receptor gamma-chain molecule is critical for intestinal T-cell reconstitution in humanized mice [J]. *Mucosal Immunol*, 2012, 5(5): 555-66.
- [56] KALSCHUEER H, DANZL N, ONOE T, et al. A model for personalized in vivo analysis of human immune responsiveness [J]. *Sci Transl Med*, 2012, 4(125): 125ra30.
- [57] SONG Y, SHAN L, GBYLI R, et al. Combined liver-cytokine humanization comes to the rescue of circulating human red blood cells [J]. *Science*, 2021, 371(6533): 1019-25.
- [58] NOCKA K, TAN J C, CHIU E, et al. Molecular bases of dominant negative and loss of function mutations at the murine c-kit/white spotting locus: W37, Wv, W41 and W [J]. *EMBO J*, 1990, 9(6): 1805-13.
- [59] YURINO A, TAKENAKA K, YAMAUCHI T, et al. Enhanced reconstitution of human erythropoiesis and thrombopoiesis in an immunodeficient mouse model with Kit (Wv) mutations [J]. *Stem Cell Reports*, 2016, 7(3): 425-38.
- [60] 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 USA*, 2009, 106(51): 21783-8.
- [61] BREHM M A, RACKI W J, LEIF J, et al. Engraftment of human HSCs in nonirradiated newborn NOD-scid IL2rgamma null mice is enhanced by transgenic expression of membrane-bound human SCF [J]. *Blood*, 2012, 119(12): 2778-88.
- [62] TAKAGI S, SAITO Y, HIJIKATA A, et al. Membrane-bound human SCF/KL promotes *in vivo* human hematopoietic engraftment and myeloid differentiation [J]. *Blood*, 2012, 119(12): 2768-77.
- [63] MILLER P H, CHEUNG A M, BEER P A, et al. Enhanced normal short-term human myelopoiesis in mice engineered to express human-specific myeloid growth factors [J]. *Blood*, 2013, 121(5): e1-4.
- [64] ITO R, TAKAHASHI T, KATANO I, et al. Establishment of a human allergy model using human IL-3/GM-CSF-transgenic NOG mice [J]. *J Immunol*, 2013, 191(6): 2890-9.
- [65] BILLERBECK E, BARRY W T, MU K, et al. Development of

- human CD4⁺FoxP3⁺ regulatory T cells in human stem cell factor-, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-, and interleukin-3-expressing NOD-SCID IL2R γ^{null} humanized mice [J]. *Blood*, 2011, 117(11): 3076-86.
- [66] RONGVAUX A, WILLINGER T, TAKIZAWA H, et al. Human thrombopoietin knockin mice efficiently support human hematopoiesis *in vivo* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(6): 2378-83.
- [67] MCINTOSH B E, BROWN M E, DUFFIN B M, et al. Nonirradiated NOD.B6.SCID Il2r $\gamma^{-/-}$ Kit (W41/W41) (NBSGW) mice support multilineage engraftment of human hematopoietic cells [J]. *Stem Cell Rep*, 2015, 4(2): 171-80.
- [68] ITO R, OHNO Y, MU Y, et al. Improvement of multilineage hematopoiesis in hematopoietic stem cell-transferred c-kit mutant NOG-EXL humanized mice [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2024, 15(1): 182.
- [69] GOYAMA S, WUNDERLICH M, MULLOY J C. Xenograft models for normal and malignant stem cells [J]. *Blood*, 2015, 125(17): 2630-40.
- [70] SARRY J E, MURPHY K, PERRY R, et al. Human acute myelogenous leukemia stem cells are rare and heterogeneous when assayed in NOD/SCID/IL2R γ c-deficient mice [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(1): 384-95.
- [71] PATEL S, ZHANG Y, CASSINAT B, et al. Successful xenografts of AML3 samples in immunodeficient NOD/shi-SCID IL2R $\gamma^{-/-}$ mice [J]. *Leukemia*, 2012, 26(11): 2432-5.
- [72] SANCHEZ P V, PERRY R L, SARRY J E, et al. A robust xenotransplantation model for acute myeloid leukemia [J]. *Leukemia*, 2009, 23(11): 2109-17.
- [73] REINISCH A, THOMAS D, CORCES M R, et al. A humanized bone marrow ossicle xenotransplantation model enables improved engraftment of healthy and leukemic human hematopoietic cells [J]. *Nat Med*, 2016, 22(7): 812-21.
- [74] YU C I, MASER R, MARCHES F, et al. Engraftment of adult hematopoietic stem and progenitor cells in a novel model of humanized mice [J]. *iScience*, 2024, 27(3): 109238.
- [75] MENDELSON A, FRENETTE P S. Hematopoietic stem cell niche maintenance during homeostasis and regeneration [J]. *Nat Med*, 2014, 20(8): 833-46.
- [76] KLCO J M, SPENCER D H, MILLER C A, et al. Functional heterogeneity of genetically defined subclones in acute myeloid leukemia [J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(3): 379-92.
- [77] HER Z, YONG K S M, PARAMASIVAM K, et al. An improved pre-clinical patient-derived liquid xenograft mouse model for acute myeloid leukemia [J]. *J Hematol Oncol*, 2017, 10(1): 162.
- [78] MARTINOV T, MCKENNA K M, TAN W H, et al. Building the next generation of humanized hemato-lymphoid system mice [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 643852.
- [79] JAISWAL S, PEARSON T, FRIBERG H, et al. Dengue virus infection and virus-specific HLA-A2 restricted immune responses in humanized NOD-scid IL2rgammanull mice [J]. *PLoS One*, 2009, 4(10): e7251.
- [80] HU Z, VAN ROOIJEN N, YANG Y G. Macrophages prevent human red blood cell reconstitution in immunodeficient mice [J]. *Blood*, 2011, 118(22): 5938-46.
- [81] HU Z, YANG Y G. Full reconstitution of human platelets in humanized mice after macrophage depletion [J]. *Blood*, 2012, 120(8): 1713-6.