

Т.Л. Нехаева¹, А.Н. Чернов², Я.Г. Торопова³, М.М. Галагудза³, И.А. Балдуева¹

Разнообразие опухолевых моделей для тестирования противоопухолевой активности веществ у мышей

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург,

²СПб ГБУЗ «Городская больница №40 Курортного административного района», Санкт-Петербург, г. Сестрорецк

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Подбор переносимых и токсических доз, схем терапии для новых противоопухолевых препаратов, оценка их токсичности, метаболизма фармакокинетики, изучение механизма действия и опухолевой чувствительности с учетом влияния микроокружения и профиля генной экспрессии осуществляются с применением моделей опухолей человека на мышах. Обзор содержит разностороннее описание экспериментальных моделей (перевиваемая, генно-инженерная, гуманизованная, автохтонная, ортотопическая, гетеротопическая и метастатическая) опухолей с применением лабораторных мышей. На примерах научных исследований последних лет рассмотрены преимущества, недостатки, направления и особенности применения мышинных моделей, их роль в исследовании механизмов действия противоопухолевых препаратов.

Ключевые слова: обзор, опухоль, мышцы, опухолевые модели *in vivo*, противоопухолевые препараты, преимущества, недостатки

К настоящему времени известно более 200 типов опухолей человека, которые различаются по тканевому происхождению, гистологическому типу, агрессивности, способности к метастазированию, скорости роста, ответу на терапию и прогнозу [1]. Такое разнообразие характерных черт опухолей создает трудности для создания новых противоопухолевых препаратов и последующего внедрения в клиническую практику. Подавляющее большинство испытываемых химических соединений и препаратов, проявляющих противоопухолевую эффективность в моделях *in vivo*, оказываются неэффективными при их клиническом применении [2]. Такая сложившаяся ситуация обусловлена проблемами, связанными с внутри- и межопухолевой гетерогенностью, сложностью и досконально не изученными молекулярными механизмами пролиферации, ангиогенеза, метастазирования, рецидивирования опухолей, их лекарственной резистентности, несовершенством и ограничениями существующих моделей для тестирования потенциальных соединений.

Подавляющее большинство исследований противоопухолевых препаратов выполняется на мышинных моделях. К ним относятся: перевиваемые (сингенные, аллогенные, ксенотрансплантируемые), автохтонные спонтанные и индуцированные канцерогенами [4, 5]. Совершенствование существующих и разработка новых моделей определяет актуальность дальнейших исследований, позволяющих изучить новые аспекты и механизмы онкогенеза, выявить молекулярные маркеры-мишени и влияние опухолевого микроокружения и профиля генной экспрессии на чувствительность к препаратам, провести оценку токсичности и подобрать схемы терапии [1, 4, 6].

Настоящий обзор посвящен анализу опухолевых моделей у мышей, их ключевых особенностей, преимуществ и ограничений при изучении новых химических и биологических противоопухолевых препаратов.

1. Автохтонные (спонтанные) опухолевые модели

В автохтонной модели опухоли возникают и развиваются случайным образом или в результате индукции химическими, вирусными или физическими канцерогенными факторами (табл. 1). Для таких опухолей характерны ортотопическая локализация, естественная морфология, а развитие неоплазии у мышей в наибольшей степени моделирует их рост у человека, поскольку все опухоли людей — автохтонные. Метастазирование опухолевых клеток происходит через лимфатические и кровеносные сосуды, как и в организме человека. Такие опухоли обладают уникальным индивидуальным паттерном молекулярно-генетических, мутационных особенностей и скоростью роста, которые способствуют идеальной согласованности эффективности противоопухолевых препаратов в модели с клиническими испытаниями [7]. Эта модель позволяет изучить роль сигнальных путей, генов, маркерных белков, а также стволовых клеток в процессе возникновения опухоли. Востребованность такого плана исследований связана с трудностями в изучении

клеточного происхождения опухоли у людей в ретроспективных исследованиях. Однако, автохтонные опухолевые модели у мышей не получили широкого распространения при тестировании лекарственных препаратов (табл. 1). Это связано с некоторыми их особенностями: спонтанные опухоли более дифференцированы и имеют более низкую и изменяющуюся в широком временном диапазоне скорость роста, чем трансплантированные, что обусловлено длительным латентным периодом их роста и количеством образованных опухолей [4, 8, 9].

1.1. Опухоли у мышей, характерные для данной линии

1.1.1. Низкораковые линии мышей

При продолжительном инбридинге мышей из линии Ласроп были созданы несколько новых линий C57Bl, C57Br C57L, C58, характеризующиеся низкой частотой рака молочной железы и предрасположенностью к лейкозам [10]. Также выведены низкораковые линии СЗНА/Мv, СВА/СаLас мышей со спонтанным развитием гепатом с частотой 27% и 28%, соответственно [11]. У мышей линий СВА/СаLас, СЗН/HeDiSn наблюдается спонтанное развитие опухолей легких в 7% и 10% случаев [11]. Преимуществом использования инбредных мышей является их генетическая однородность и, следовательно, небольшой диапазон нормы реакции на препараты, что способствует высокой воспроизводимости и надежности результатов [8]. Однако, такие животные имеют высокую чувствительность к внешним воздействиям и другие недостатки (табл. 1) [10].

1.1.2. Высокораковые линии мышей

При скрещивании мышей линии Bagg Albino С с линией DBA были созданы высокораковые линии А, С, СВА, СЗН, СЗНА мышей [10]. Выведены высокораковые линии АНЕJ, СВА/J, СЗН/HeLас, DD/He мышей со спонтанным развитием опухолей молочных желез, частота образования опухолей составляет 60%, 75%, 85-100%, 84% соответственно. Существуют специализированные линии мышей АКR/JY, у которых наблюдается спонтанное развитие в 91% и 70-80% случаев лимфоидной лейкемии, однако, данные мыши погибают в возрасте 11 мес. [11].

1.2. Опухоли у мышей с генетическими изменениями

1.2.1. Генно-инженерные модели (GEM)

Мышиные GEM конструируют путем целенаправленного введения мутаций в определенные гены, что приводит к изменению их регуляции посредством сверхэкспрессии или нокаута и спонтанному развитию опухоли. Это позволяет

использовать GEM модели для изучения роли онкогенов, генов-супрессоров, маркерных белков, рецепторов сигнальных путей в инициации, прогрессировании и метастазировании неоплазий [7, 12, 13]. При этом спонтанный онкогенез происходит в естественном опухолевом и иммунном микроокружении и в тех же органах, что у человека. Поэтому GEM-опухоли мышей имеют гистологическое сходство с опухолями людей [7, 14]. Исследование конкретных белков, генов-мишеней или мутаций дает возможность оценить их влияние на эффективность таргетных, в том числе иммуномодулирующих препаратов при различных схемах терапии [14]. GEM модели разработаны для многих типов опухолей: рака легкого, эндометрия, нейробластомы, саркомы, лейкемии, карциномы молочной железы, наследственного неполипозного рака толстой кишки (HNPCC) [3, 14, 15]. У GEM мышей есть и недостатки (табл. 2). Так у мышей C57Bl/6 с мутациями в кодоне 850 гена *Apc* (Adenomatosis polyposis coli) развиваются множественные опухоли в тонкой кишке, фенотипически сходные с раком толстой кишки и полипозом у человека, что связано с активацией Wnt-сигнального пути в раковых клетках. Однако, большинство таких мышей умирают уже в возрасте 4–5 мес. от анемии и кахексии, часто до развития инвазивного рака [3]. Кроме того, генетический фон линии мышей оказывает влияние на экспрессию генов-мишеней, по этой причине мыши-мутанты по гену *Apc* имеют различную скорость развития опухоли (от месяцев до лет), разный гистологический тип (рак молочной железы, толстой кишки и лимфомы) и возможную стадию развития (от гиперплазии до метастатического процесса) [7]. В GEM-моделях наблюдается низкая частота образования метастазов, а полученные результаты сложно анализировать статистически, в силу большого разброса в сроках возникновения и метастазирования опухоли [12, 13].

1.2.1.1. Germline GEM (GGEM, на основе зародышевой клетки, линии)

Данную GEM модель мышей создают в результате микроинъекций ДНК в ядро зиготы или инъекции эмбриональных стволовых клеток в бластоцисты, что приводит к усилению или ингибированию экспрессии генов-мишеней в определенном типе клеток и развитию из них опухоли, что позволяет тестировать таргетные препараты на основе антител [6]. Разработка GGEM моделей является сложным процессом, при котором необходимо контролировать, чтобы экспрессия или нокаут генов, или сигнальных путей, происходили в клетках-мишенях ткани или органа, из которых должна развиваться опухоль. Таргетные генетические изменения и

сайт-неспецифический мутагенез существенно модифицируют временно-пространственную регуляцию и экспрессию генов. Аберрантная экспрессия генов и белков часто изменяет фенотипическое проявление заболевания [16]. Однако, GGEM модели редко используются для тестирования новых противоопухолевых препаратов с целью точного прогнозирования клинической эффективности препаратов (табл. 2).

1.2.1.2. GEM без использования зародышевых клеток (Системы Cre/loxP, lox-stop-lox (LSL))

Следующим шагом в конструировании GEM была система рекомбинации Cre/loxP, позволяющая вводить соматические мутации в интересующие клетки, инактивируя в них гены-мишени путем их фланкирования сайтами связывания «Lox-P». Белок Cre является рекомбиназой, которая инициирует рекомбинацию между фланкирующими loxP-сайтами. Такой генно-инженерный механизм позволяет создавать условные аллели онкогенов или генов-супрессоров опухолей [3, 15]. Система рекомбинации Cre/loxP может применяться для изучения опухоль-ассоциированных генов-мишеней, экспрессия которых вызывает летальность у животных в эмбриогенезе и не может быть исследована в традиционных нокаут-моделях. При этом инактивация таких генов-мишеней способствует уменьшению эмбриональной смертности мышей. Наибольшее распространение получили GEM модели мелко-клеточного рака легкого и колоректального рака, созданные путем делеций генов *Trp53*, *Trp53*, *pRb* и *Apc*, соответственно (табл. 2) [3, 6].

Система рекомбинации lox-stop-lox (LSL) применяется для введения мутации K-RasG12D в клетки легкого в сочетании с нокаутом других генов. Одним из вариантов LSL модели является система Lkb1: LSLK-RasG12D, которая способствует развитию метастатической аденокарциномы и плоскоклеточного рака легкого у грызунов. При этом развитие таких опухолей приводит к ранней гибели мышей, что препятствует изучению ранних процессов онкогенеза [6]. Применение гетерологичных промоторов генов-мишеней может способствовать их иной экспрессии при развитии опухоли и у взрослых особей, причем такая экспрессия онкогенов является конститутивной и не регулируется после образования опухоли [15].

1.2.2. Классические трансгенные модели эктопической экспрессии

Существует большое количество трансгенных линий мышей, которые характеризуются развитием спонтанных опухолей. Так мыши линии FVB/N, трансгенные по гену HER2/neu

крыс (ErbB2, рецептор эпидермального фактора роста-2) используются в качестве модели HER2-положительного рака молочной железы [17]. Китайские ученые сконструировали генно-инженерных мышей с ErbB2/Neu(+) PTE(-) раком молочной железы путем скрещивания особей, экспрессирующих ErbB2/Neu, Cre (FVB/N-MMTV-NIC) с мышами Flox-PTEN. Авторы, оценивая время образования опухоли, их количество, гистологический тип и метастазирование в легкие, полагают, что данная модель может быть использована для изучения прогрессирования HER2-позитивного рака молочной железы и разработки терапевтических схем этой патологии [18].

1.2.3. Битрансгенные тетрациклин-индуцируемые модели мыши (tTA, rtTA)

Следующим шагом стали битрансгенные tTA (tet-off), rtTA (tet-on) системы рекомбинации, который позволяют регулировать временную или тканеспецифическую экспрессию гена-мишени. В этих системах рекомбиназы помещают под действие тканеспецифичного или индуцибельного промотора, например, тетрациклинового, доксициклинового, Protamine-Cre или CMV-Cre, тем самым регулируя их экспрессию путем введения тетрациклина или доксициклина [6]. В tet-off-системе тетрациклин (доксициклин), соединяясь с тетрациклиновым активатором (tTA), инактивирует его, что ингибирует транскрипцию трансгена. В tet-on-системе используется обратный (rtTA), который связывается с оператором в присутствии антибиотика и активирует транскрипцию трансгена, что приводит к экспрессии в клетках трансгенного белка. Такая битрансгенная тетрациклин-индуцируемая система с использованием K-Ras, EGFR и FGF7 трансгенов применяется для создания индуцибельных моделей рака легких у мышей. Однако, при этом отмечалась регрессия опухолей при прекращении введения доксициклина, указывая на значимость экспрессии данных генов для развития опухоли легкого и наблюдается ограниченное метастазирование, [15]. Недостатком tet-on системы является сохранение аффинности rtTA к оператору гена в отсутствие доксициклина, что способствует фоновой экспрессии.

1.2.4. Классические нокаут-модели

Обычно в опухолевой нокаут-модели ген супрессора опухолей инактивируется или заменяется на рекомбинантную ДНК в результате сайт-специфической гомологичной рекомбинации между ДНК клетки и целевой последовательностью ДНК, встроенной в вектор. Такая рекомбинантная ДНК кодирует антибиотик или нуклеотидную последовательность, разрыва-

юшую ген-мишень, тем самым выбивает его. Механизм нокаута генов дает возможность целенаправленно инактивировать интересующие гены-супрессоры опухолей и тем самым способствует спонтанному развитию опухоли. Например, двойной нокаут генов *FHIT* и *VHL* в клетках легкого способствовал спонтанному развитию у 44% мышей аденокарциномы легкого, сходной с опухолью человека [15].

Однако, нокаут-модели не могут применяться для изучения генов-супрессоров опухолей (например, *Rb1* или *WT1*), инактивация которых вызывает гибель мышей в эмбриогенезе. При нокауте других генов-супрессоров опухолей (*p53*, *p16*, *p19*), подавление которых не приводит к летальности в эмбриональном периоде, может не наблюдаться развития опухолей или наблюдается развитие нецелевых опухолей, таких как лимфомы или саркомы [15].

1.2.5. Химерные мыши и соматические модели, полученные из стволовых клеток

Разработка технологии гомологичной рекомбинации ДНК позволила осуществлять таргетную модификацию (нокаут, вставка, повреждение) генов-мишеней в эмбриональных плюрипотентных стволовых клетках. Клетки, в которых прошла гомологическая рекомбинация, инъецируют в мышинный предимплантационный эмбрион (бластоцель), который имплантируют самкам. Таких животных скрещивают и получают гетерозиготы, при скрещивании которых образуются гомозиготные мыши [7, 19]. У таких химерных мышей, содержащих модифицированные эмбриональные стволовые клетки, наблюдается экспрессия генов-интереса, что дает возможность изучить его функции при сравнении с мышами дикого типа. С другой стороны, эта технология приводит к необратимому включению или инактивации гена-мишени во всех клетках организма, что требует достаточно длительного периода времени и больших финансовых затрат для создания такой модели.

2. Канцероген-индуцированные автохтонные модели

В канцероген-индуцированных моделях развитие опухоли и трансформация клеток вследствие индукции мутаций происходят при введении канцерогена у мышей, которые подвержены спонтанному онкогенезу [3]. При развитии канцероген-индуцированных опухолей у мышей многие биохимические и клеточные процессы имеют сходство с опухолями человека, что позволяет использовать их для изучения механизмов действия канцерогенов, их пороговых, токсических доз и влияния микроокружения на

экспрессию генов [20]. С другой стороны, в канцероген-индуцированных моделях образование метастазов наблюдается редко, а формирование опухолей имеет длинный латентный период (до одного года), что требует такого же длительного времени наблюдения и препятствует использованию этой модели для изучения метастазирования (табл. 1) [3]. Данные модели хорошо описаны в литературе, различные канцерогенные вещества с высокой частотой вызывают формирование опухолей в определенных органах, что позволяет подобрать модель для оценки канцерогенеза практически любой локализации. Рассмотрим наиболее значимые из них [21].

2.1. Уретан-индуцированная модель опухолей легких

Подобно другим канцерогенам, для образования винилкарбаматного эпоксида уретана необходима активация уретана с помощью метаболической системы цитохромов р450 при которой формируются ковалентно связывающееся с ДНК мутагенные аддукты [20]. При внутрибрюшинной инъекции уретана мышам отмечается последовательное развитие опухоли легких от гиперплазии до аденомы или аденокарциномы с возникновением мутаций в генах *K-Ras* и *p53*, характерных для рака легких человека [3].

2.2. Опухолевая модель, индуцируемая N-нитрозо-метил-бихлорэтилмочевинной (NMBCU)

При воздействии N-нитрозобис-(2-хлорэтил) мочевины, N-нитрозо-метил-бихлорэтилмочевины (NMBCU) или нитрозо-трихлорэтилмочевины (NTCU) наблюдается постепенное развитие гиперплазии, дисплазии и опухоли у Cr:NI S мышей. Вместе с тем, в данной модели наблюдаются вариации введения препаратов, что приводит к сильному разбросу в результатах [6].

2.3. Опухолевая модель, индуцированная гетероциклическими аминами (HCA)

Сложные эфиры гидроксипроизводных гетероциклических аминов: 2-амино-1-метил-6-фенилимидазо-[4,5-b]-пиримидин (PhIP) и 2-амино-3,3-метилимидазо [4,5-f]-хинолин (IQ) являются генотоксичными и образуют канцерогенные аддукты с ДНК. Самым распространенным HCA является PhIP. Его применение в течение 20 недель индуцирует гиперплазию крипт эпителиальных клеток кишечника и развитие колоректального рака у мышей. При этом, в PhIP-индуцированных опухолях у мышей не образуются многие мутации (в том числе в генах *K-Ras* и *P53*), которые экспрессируются при развитии колоректального рака у людей, что следует учитывать при про-

ведении таргетной терапии [3]. К другим НСА относятся N-метил-N-нитро-N-нитрозогуанидин (MNNG) и N-метил-N-нитрозомочевина (MNU), которые алкилируют ДНК, индуцируя развитие карцином желудка, ободочной и прямой кишки после 20 недель еженедельного введения (табл. 1) [3]. Эти и другие преимущества и недостатки представлены в табл. 1.

2.4. Опухоли кишечника, индуцированные 1,2-диметилгидразином (ДМГ)

ДМГ и его метаболиты — азоксиметан (АОМ) и метилазоксиметанол (МАОМ) — канцерогены, которые чаще всего применяются в модели колоректального рака у мышей. МАОМ формирует метилдиазоний-ион, который алкилирует ДНК и способствует развитию рака печени и толстого кишечника в течение 6–8 недель после подкожной или внутривенной инъекции [3]. Это относительно недорогая модель, при которой образуются гетерогенные опухоли кишечника, содержащие мутации, характерные для колоректального рака человека. Однако, ДМГ-индуцированные опухоли имеют длительный латентный период образования (30 недель), редкое метастазирование, сильные вариации в скорости развития опухолей у мышей [3].

2.5. Опухолевая модель, индуцированная бензо(а)пиреном

Применение бензо(а)пирена — полициклического ароматического углеводорода и канцерогена у мышей индуцирует развитие рака легких, что используется для изучения патофизиологии канцерогенеза, идентификации мутаций, влияния пищевых продуктов на процесс развития опухоли и создания новых инбредных линий мышей. Однако, в этой модели у мышей наблюдается чрезмерная изменчивость скорости роста опухоли [22]. Например, диметилбензантрацен (DMBA) был использован для выведения линии SENCAR, чувствительной к развитию опухолей кожи, и для картирования локусов (Skts) — множественной чувствительности к раку кожи [20].

3. Перевиваемые опухолевые модели

Перевиваемые опухолевые модели основаны на трансплантации опухолевых клеток одного организма в другой. Если донор и реципиент опухолевых клеток принадлежат к одному виду, то имеет место аллотрансплантация, если к разным — ксенотрансплантация.

Таблица 1. Автохтонные спонтанные и канцероген-индуцированные опухолевые модели

Модель	Преимущества	Недостатки	Источник
Автохтонная	Развитие опухоли в большей степени, чем в других моделях, имитирует развитие неоплазий у человека, поскольку все опухоли людей – автохтонные. Характерен ортотопический рост опухоли. Опухоль имеет естественную морфологию без изменений, присущих трансплантируемым новообразованиям. Метастазирование происходит через лимфатические и кровеносные сосуды, как у человека. Оценка эффективности противоопухолевых препаратов лучше согласуется с клиническими испытаниями.	Спонтанные опухоли более дифференцированы и имеют меньшую скорость роста, чем трансплантируемые. Любая автохтонная опухоль индивидуальна, опухоли имеют переменную скорость роста. Длительный латентный период роста опухоли, продолжительность экспериментов от нескольких месяцев до нескольких лет. Как правило, опухоли не метастазировать. При организации эксперимента необходимо использовать большое количество животных, чтобы получить статистически значимые результаты.	[4] Холоденко И.В. и др., 2013, [7] Talmadge J.E., 2007, [8] Gargiulo G., 2018, [9] Berger M., 1999.
Линейные инбредные мыши	Малая широта нормы реакции на экзогенные воздействия, которая приводит к очень близкому или даже идентичному биологическому ответу на препараты. Высокая воспроизводимость и надежность результатов исследований.	Отличаются низкой плодовитостью, замедленным развитием. Обладают высокой чувствительностью к изменениям факторов внешней среды и инфекциям.	[10] Гудратов Н.О., 2004
Канцероген-индуцированные опухолевая модели	Позволяют изучить механизмы действия канцерогенов, их метаболизм, пороговые, токсические дозы, влияние микроокружения на экспрессию генов. Формируются гетерогенные опухоли. Отмечается прямая зависимость между частотой дозирования канцерогена и частотой опухолеобразования.	Отсутствие многих мутаций, обнаруженных у человека CRC (например, K-Ras). Низкая частота развития. Длительный латентный период развития опухоли (до 1 года). Высокая стоимость. Чрезмерная изменчивость в скорости роста опухоли в пределах одной модели между разными линиями мышей. Низкая частота образования метастазов.	[3] Evans J P., 2016, [20] Kemp C.J., 2015, [22] Kasala E.R. et al., 2015.

Таблица 2. Генно-инженерные (GEM) опухолевые модели

Модель	Преимущества	Недостатки	Источник
Генно-инженерная GEM	Позволяет с заданной специфичностью изучить сигнальные пути, онкогены и гены-супрессоры опухолей, участвующие в инициации, прогрессии и метастазировании рака. Развитие неоплазии происходит спонтанно в тех же органах, что и у человека; Опухоли GEM мышей имеют гистологическое сходство с опухолями человека. Позволяет исследовать конкретную молекулярную мишень и ее использование для оценки эффективности таргетных и иммуномодулирующих препаратов. Позволяет проводить профилактическую противоопухолевую терапию, поскольку развитие опухоли проходит <i>in situ</i> стадию.	Низкая корреляция результатов тестирования препаратов с клинической практикой. Продолжительное время проведения экспериментов. Не обладает всеми молекулярно-генетическими характеристиками даже одной опухоли человека. Характерны широкие вариации латентного периода и скорости роста опухоли. Наблюдается низкая частота метастазирования. Ограниченная продолжительность жизни мышей, связанная с развитием лимфом, анемии, кахексии до формирования основной опухоли или её метастазов. Сложность обработки данных, в силу большого индивидуального варьирования периодов возникновения и метастазирования опухоли. Высокая стоимость. На многие GEM-модели имеются патенты.	[3] Evans J.P. et al., 2016, [6] Kellar A. et al., 2015, [7] Talmadge J.E. et al., 2007, [12] Wainwright D.A. et al., 2017, [13] Falcone L. et al., 2016, [15] Dutt A. et al., 2006, [16] Day C-P. et al., 2015, [19] Утко Н.А. и др., 2014
Germline GEM (на основе зародышевой клетки, линии)	Позволяет усилить или подавить экспрессию генов-мишеней в определенном типе клеток и развитие из них опухоли. Быстрый и агрессивный рост опухоли у 100% животных.	Создание GGEM является сложным и долговременным процессом, требующим контроля ткане- и времяспецифической экспрессии или нокаута генов. Абберрантная экспрессия генов и белков часто изменяет фенотипическое проявление заболевания. Стохастическое быстрое развитие множественных опухолей и их метастазов, что требует применения MPT или KT оборудования, знаний и опыта для подбора мышей с опухолями одинакового размера.	[6] Kellar A. et al. 2015, [16] Day C-P. et al., 2015
GEM без использования зародышевых клеток (системы Cre/loxP, lox-stop-lox (LSL))	Позволяет вводить соматические мутации в клетки, инактивируя в них гены-мишени, тогда как геном соседних клеток остается незатронутым. Позволяет изучать экспрессию опухоль-ассоциированных генов-мишеней, нарушения в которых связаны с летальностью животных в эмбриогенезе. Наблюдается метастазирование опухоли в органы-мишени, аналогичные при метастатическом процессе у человека. Сокращают время и стоимость исследований.	Применение гетерологичных промоторов генов-мишеней может способствовать их иной экспрессии при развитии опухоли и у взрослых особей. Экспрессия онкогенов при образовании опухоли является конститутивной и не регулируется после ее формирования. Развитие опухолей в большинстве случаев приводит к ранней гибели мышей, что препятствует изучению онкогенеза.	[3] Evans J.P. et al., 2016, [6] Kellar A. et al., 2015, [7] Talmadge J.E. et al., 2007, [15] Dutt A. et al., 2006
Битрансгенные тетрациклин-индуцируемые модели мыши (rtTA, tTA)	Возможность регулировать временную или тканеспецифическую экспрессию гена-мишени. Позволяют изучить регуляцию отдельных онкогенов, генов-супрессоров опухолей, их в клетках-мишенях при развитии из них опухоли, что способствует идентификации маркеров для разработки таргетных препаратов.	Часто отмечается регрессия индуцированной опухоли при прекращении введения индуктора (антибиотика). Наблюдается сохранение аффинности rtTA к оператору гена в отсутствие антибиотика, что способствует фоновой экспрессии гена.	[6] Kellar A. et al., 2015, [15] Dutt A. et al., 2006
Классические нокаут-модели	Нокаут генов позволяет инактивировать интересующие гены-супрессоры опухолей и тем самым способствует спонтанному развитию опухоли.	Нокаут-модели не могут применяться для изучения генов-супрессоров опухолей, инаktivация которых вызывает смертность мышей в эмбриогенезе. Часто происходит сопутствующее развитие злокачественных лимфом, сарком, что приводит к ранней гибели животных.	[3] Evans J.P. et al., 2016, [15] Dutt A. et al., 2006
Химерные мыши и соматические модели, полученные из стволовых клеток	Позволяют изучить роль генов-мишеней в развитии эмбриональных стволовых клеток и последующим образованием опухоли.	Модификация экспрессии гена-мишени в эмбриональных стволовых клетках приводит к необратимому включению или инаktivации гена-мишени во всех клетках организма. Создание такой модели требует достаточно длительного периода времени и больших финансовых затрат.	[7] Talmadge J.E., 2007, [19] Gantz J.A. 2012

Таблица 3. Сингенные и орто-, гетеротопические и метастатическая опухолевые модели с использованием клеточных линий

Модель	Преимущества	Недостатки	Источник
Сингенная	Относительно дешевы, более устойчивы и не иммуногенны, что позволяет тестировать препараты на основе антител.	Опухоли грызунов не экспрессируют гены и маркерные белки опухолей человека, что ограничивает испытание таргетных препаратов.	[1] Szadvari I. et al., 2016, [3] Evans J.P., 2016, [12] Wainwright D.A. et al., 2017, [16] Day C-P. et al., 2015, [35] Morin A. et al., 2017;
Ортоотопическая	Ортоотопическая трансплантация способствует более быстрому росту опухоли и развитию метастазов, чем в гетеротопической модели. Микроокружение имплантированной опухоли соответствует таковому в организме человека, что влияет на эффективность химиотерапии. Реакция опухоли на противоопухолевые препараты в наибольшей степени коррелируют с эффективностью терапии в клинической практике.	Оценка параметров эффективности препаратов более сложна по сравнению с гетеротопическим введением. Необходимость выполнения хирургической операции и высокая квалификация персонала. Неоднородная скорость роста опухоли, что затрудняет обработку результатов. Длительность проведения экспериментов.	[4] Холоденко И.В., 2013, [36] Okada S. et al., 2018
Гетеротопическая	Позволяет наблюдать рост опухоли невооруженным глазом и оценить цитотоксическое действие противоопухолевых препаратов уже на растущей опухоли. Развитие опухоли можно контролировать с помощью биолюминесценции, флуоресценции, магнитно-резонансной и позитронно-эмиссионной томографии или рентгенографии.	Подкожная трансплантация требует достаточно большого количества клеток (106-107 клеток), так как их небольшая численность может вызвать неудачное приживление опухоли.	[4] Холоденко И.В., 2013, [36] Okada S. et al., 2018
Метастатическая	Возможность изучения механизмов метастазирования при спонтанном метастазировании опухоли. Онкогенность и образование метастазов опухолей из клеточных линий может быть усилена путем коинъекции восстановленного матрикса базальной мембраны (Matrigel).	Для развития метастазов часто требуется резекция первичной солидной опухоли, что усложняет технологическое исполнение эксперимента и привлечение персонала с высоким уровнем технических навыков. При экспериментальном моделировании метастазирования опухоли лишены ранних стадий канцерогенеза, а структура метастатического узла, отличается от той, которая характерна для спонтанно метастазирующих опухолей. Проведение экспериментов сопряжено с гибелью животных, часто еще до начала испытания противоопухолевых препаратов. Первичная опухоль и метастазы могут проявлять различные реакции на терапию, в силу различного действия факторов роста на стромальные клетки и микроокружение метастазов.	[1] Szadvari I. 2016, [2] Bousquet G. et al., 2016, [35] Morin A. et al., 2017

Таблица 4. Опухолевые модели у иммунодефицитных мышей (бестимусные (nude) мыши)

Источник клеток	Преимущества	Недостатки	Источник
Клеточные линии и опухоли пациентов	Естественная иммуносупрессия мышей. Отсутствие волосяного покрова дает возможность легко обнаружить опухоль при подкожном введении опухолевых клеток. Трансплантация мыши опухолевых клеток человека, экспрессирующих белки-мишени, позволяет изучать эффективность и механизмы таргетных препаратов. Состояние иммунитета мышей позволяет приживлять и изучать стволовые клетки	Малая продолжительность жизни мышей (6 месяцев - 1 год). Мыши проявляют задержку в росте, сниженную фертильность, отсутствие вибрисс и недоразвитые молочные железы при рождении, что не позволяет им кормить своих потомков. Высокая активность натуральных киллеров (NK-клеток), которая снижает эффективность приживления опухолей, препятствуют развитию метастазов. Отсутствуют клетки иммунной системы и стромы человека, которые необходимы для метастазирования опухоли. После 2-3 перевивок при ксенотрансплантации наблюдается замещение опухолевой стромы человека на мышиную. Не могут быть оценены иммуномодуляторы. Условия содержания мышей должны быть стерильными, необходимо наличие специализированных вивариев и обслуживающего персонала. Стоимость содержания значительно выше, чем у иммунокомпетентных мышей. В результате длительного использования клеточных линий человека при ксенотрансплантации наблюдаются изменения экспрессии генов и морфологии опухолевых клеток по сравнению с первичной опухолью, что оказывает влияние на чувствительность к противоопухолевым препаратам	[1] Szadvari I., 2016, [4] Холоденко И.В., 2013, [6] Kellar A. et al., 2015, [16] Day C-P. et al., 2015
Клеточные линии	Гено- и фенотипическая однородность опухолевых клеточных линий человека, трансплантированных бестимусным мышам является преимуществом, которое дает возможность исследовать метаболические пути канцерогенеза, идентифицировать мутации, онкогены, гены-супрессоры опухолей, биомаркеры и проводить скрининг новых лекарственных препаратов.	При ксенотрансплантации клеток пациентов мышам наблюдается относительно длительный латентный период развития (2-8 недель) опухоли до момента ее визуализации под кожей, что замедляет получение результатов по оценке ее реакции на противоопухолевые препараты для терапии у данного пациента	
Опухоли пациентов (PDX)	Опухолевые клетки от пациентов при их трансплантации иммунодефицитным мышам, в большей степени, чем клоновые линии, сохраняют микрогетерогенность клеточного состава, генетические и биологические характеристики опухоли и моделируют ее реакцию на химиотерапию. Ксенотрансплантаты опухолей человека часто используют для разработки протоколов индивидуальной терапии пациентов. Приживаемость PDX сильно коррелирует с агрессивностью опухоли у пациента.		

3.1. Сингенные опухолевые модели с использованием клеточных линий (Cell lineDerived Xenograft, CDX)

В сингенной модели мышинные опухолевые клетки инъецируют иммунокомпетентным животным одной и той же линии. В зависимости от мест введения клеток и, соответственно, развития опухоли перевиваемые модели, подразделяются на гетеротопические, ортотопические и метастатические (табл. 3). В гетеротопической модели опухолевые клетки чаще всего вводят подкожно, как, например, при моделировании рака легкого у мышей C57Bl/6J [6]. В ортотопической модели опухолевые клетки трансплантируют в тот орган или ткань, из которой происходит данная опухоль. Например, в модели колоректального рака — клетки мышинной линии CT26 трансплантируют в толстую кишку или прямую кишку [23]. Для моделирования метастатического процесса опухолевые клетки вводят внутрь сосудистого русла, например, в латеральную хвостовую вену, в левый желудочек (внутрикардиально), оценивая сайты возникновения метастазов, их численность и противоопухолевое действие препаратов (табл. 3) [1, 4]. Иммуносовместимость реципиентных клеток и организма-хозяина позволяет тестировать иммунотерапевтические препараты, например, ингибиторы анти-CTLA-4 [23].

Однако, по причине однородности клеточных линий, их высокой скорости роста и отсутствия экспрессии генов опухолей человека в данной модели мышинные опухоли являются неиммуногенными для человека и лишены внутриопухолевой гетерогенности, свойственной опухолям человека, что ограничивает их применение для тестирования таргетных препаратов [3, 23]. Эти обстоятельства являются причиной разной эффективности препаратов в отношении быстрорастущих и медленно растущих опухолей [12, 13]. Таким образом, затрудняется оценка отдаленных результатов лечения по таким критериям как увеличение продолжительности жизни и частота метастазирования.

3.2. Модели аллотрансплантации из клеточных линий мышей с генетическими модификациями GEM-Derived Allograft (GDA)

В GDA модели опухолевые клетки ортотопически или гетеротопически трансплантируют иммунокомпетентным мышам, у которых остается незатронутым врожденный и приобретенный иммунитет, что способствует сохранению естественных условий развития в течение 3–8 недель опухоли и её микроокружения для изучения метастатического процесса. С другой стороны в GDA модели, также как в сингенной

модели с применением клеточных линий (CDX), увеличение пассажа опухоли повышает вероятность её гено-, мутационной и фенотипической изменчивости по сравнению с исходной опухолью, что делает необходимым постоянный контроль молекулярно-генетического и фенотипического статуса трансплантированных опухолей в сравнении с первоначальной опухолью.

3.3. Модели ксенотрансплантации иммунодефицитным мышам (Patient-Derived Xenograft, PDX) из линий и клеток опухолей человека

В модели ксенотрансплантации клетки опухолей человека (клеточные линии или первичные культуры) трансплантируют иммунодефицитным мышам, чтобы избежать иммунных реакций и отторжения ксенотрансплантата. К настоящему времени созданы различные варианты таких мышей: бестимусные, с тяжелым комбинированным иммунодефицитом, с иммунодефицитом и целевой мутацией в гене γ -цепи рецептора IL2, мыши без ожирения с диабетом и тяжелым комбинированным иммунодефицитом [2, 12, 24].

3.3.1. Бестимусные (голые, nude) иммунодефицитные мыши

Бестимусные мыши содержат в гомозиготном состоянии делецию в гене *FOXN1* (Forkhead box), присутствие которой ассоциировано с отсутствием закладки тимуса, волосяных луковиц, поэтому животные дефицитны по Т-лимфоцитам и лишены шерсти. Главное преимущество этой модели — естественная иммуносупрессия мышей (отсутствие Т-клеточного иммунитета), что позволяет трансплантировать им широкий спектр клеточных линий и опухолей человека, экспрессирующих белки-мишени человека, исследовать эффективность различных методов лечения [4]. При трансплантации опухолевых клеток пациентов наблюдается сохранение микрогетерогенности клеточного состава, генетических и биологических характеристик исходной опухоли и ее реакции на химиотерапию, что способствует использованию этой модели для разработки протоколов индивидуальной терапии пациентов [1, 2, 12, 13]. Наиболее часто для изучения противоопухолевой активности новых препаратов, их механизмов действия, миграции и инвазии опухолевых клеток используется линия бестимусных мышей BALB/c-nu/nu. [25]. Отсутствие волосяного покрова способствует наблюдению невооруженным глазом за развитием опухоли при подкожной инъекции клеток.

Однако, подавление Т-клеточного звена иммунитета у nude мышей приводит к повышенной активации натуральных киллеров (NK-клеток), которые снижают эффективность приживления

(20-50%) опухолей человека, препятствуют развитию метастазов и уменьшает продолжительность жизни животных до 6 месяцев — 1 года (табл. 4). Относительно длительный латентный период развития (2-8 недель) опухоли до момента ее визуализации под кожей замедляет получение результатов по оценке ее ответа на противоопухолевые препараты для терапии у данного пациента [1]. Крайне редко удается получить множественные биопсии опухолевой ткани из разных метастатических сайтов, чтобы создать модель, отражающую весь спектр молекулярных изменений между метастазами опухоли в разных органах [26].

3.3.2. Мыши с тяжелым комбинированным иммунодефицитом (SCID, severe combined immunodeficiency)

SCID мыши содержат аутосомно-рецессивные мутации *S.B17* (*scid*, *Prkdcscid*), в силу чего у животных нарушена дифференцировка и созревание Т-, В-лимфоцитов и эпителиальных клеток тимуса и имеется недостаточность гуморального и клеточного звеньев иммунитета [1, 4]. В отличие от *nude* мышей, у животных с *beige*-мутацией NK-клетки имеют ослабленную активность и лишены вторичных гранул, это позволяет использовать грызунов в опытах, требующих полной супрессии естественного иммунитета (табл. 4). Общим для данных мышей является подавление иммунитета, что способствует трансплантации различных гистологических типов неоплазий человека, но ограничивает развитие метастазов, рецидивов и тестирование иммуномодуляторных биопрепаратов (например, моноклональных антител). Однако, эффективность токсического воздействия некоторых химиопрепаратов (доксорубин, этопозид) на SCID-модели опухолей у мышей значительно отличается от воздействия этих препаратов на опухолях пациентов, что приводит к получению ложноположительных или ложноотрицательных результатов [14].

3.3.3. Мыши с иммунодефицитом, содержащие целевую мутацию в гене гамма-цепи рецептора IL2 (*IL2rgnull*)

В последнее время созданы новые линии SCID-мышей, обладающие более тяжелым иммунодефицитом, которые экспрессируют мутации в гене гамма-цепи рецептора интерлейкина-2 (*IL2rgnull*), *scid*, *Rag1null* и *Rag2null*. Такие животные полностью лишены приобретенного Т-клеточного иммунитета и имеют серьезный дефицит врожденного иммунитета. Отсутствие IL2R γ белка на поверхности NK-клеток блокирует передачу сигналов, необходимую для их дифференцировки, что способствует эффективному

приживлению и поддержанию роста опухолевых лейкоцитов и стромальных фибробластов человека в течение 9 недель, позволяя использовать данную модель для изучения опухоль-стромальных взаимодействий человека [1, 27]. С другой стороны, серьезный дефицит иммунитета у животных препятствует проведению исследований по оценке эффективности иммуномодуляторных препаратов, например, ингибиторов α -CTLA-4, α -PD-1, α -PD-L1 и изучению их механизмов действия.

3.3.4. Мыши без ожирения с диабетом (NOD) и с тяжелым комбинированным иммунодефицитом (NOD/SCID)

NSG (NOD scid gamma mouse) грызуны имеют мутации *NOD.Cg*, *Prkdcscid*, *Il2rgtm1Wjl/SzJl* и обладают наиболее тяжелым иммунодефицитом, который выражается в отсутствии зрелых Т-, В-лимфоцитов, натуральных киллеров (NK), дефицитом врожденного иммунитета и мутациями в сигнальных путях цитокинов [28]. Гомозиготность по мутациям *Prkdcscid* и *Il2rgnull* способствует нарушению соответственно рекомбинации V(D)J в развивающихся Т-, В-лимфоцитах и образованию дефектных NK-клеток, что значительно уменьшает количество зрелых клеток [29]. Наличие мутации *ShiLtJ* в гене *Sirpa* ассоциировано с колонизацией гематopoэтическими стволовыми клетками человека костного мозга мыши, позволяя проводить исследования в области раковых стволовых клеток [30]. Тяжелый иммунодефицит позволяет сохранять опухолевое микроокружение человека в течение длительного времени и использовать эту модель для моделирования острого или хронического лимфолейкоза пациентов и оценки эффективности таргетной терапии [26].

В целом, модель ксенотрансплантации опухолей человека животным имеет ряд общих ограничений, связанных с видовыми различиями в размерах, фармакокинетике, в способах введения препаратов между человеком и мышью [12].

4. Гуманизированные модели мышей

Супрессия иммунитета, ксенотрансплантация стволовых клеток или зрелых лимфоцитов человека и генно-инженерные технологии лежат в основе создания гуманизированных мышей [31]. Существуют 2 подхода для конструирования таких моделей.

Первый — включает внутривенное введение гемопоэтических стволовых клеток человека (Lin-CD34⁺CD38⁻) новорожденным иммунодефицитным мышам (NOD-*scid*/IL2rgKO), в результате чего стволовые клетки дают начало всем видам гемопоэтических клеток, что позволяет

использовать этих мышей для создания состояний иммунодефицита человека, изучения влияния дендритноклеточных вакцин, иммунного ответа на рост опухоли [7, 32]. Например, GEM модели, которые экспрессируют HLA антигены человека, применяются для селекции Т-клеток, идентификации их антигенных эпитопов и изучения влияния Т-клеток на рост опухоли.

Второй подход связан с нокаутом или вставкой генов человека в геном мыши, [4]. Это позволяет изучить роль данных генов в межвидовых различиях, механизмах новых противоопухолевых препаратов и моноклональных антител [33]. Такие модели гуманизированных мышей экспрессируют гены цитохрома P450 человека, что дает возможность *in vivo* исследовать роль цитохрома P450 в метаболизме и детоксикации химиопрепаратов в печени. [34]. С другой стороны, создание гуманизированных мышей высокзатратно в финансовом отношении, связано с широкой изменчивостью приживления трансплантированных клеток и патентными ограничениями на приобретение костного мозга человека, что препятствует широкому использованию данных моделей в доклинических исследованиях.

Заключение

Одним из ключевых моментов тестирования противоопухолевых препаратов на экспериментальных животных служит выбор адекватной предиктивной модели. Автохтонная опухолевая модель у мышей в наибольшей степени имитирует ее развитие в организме пациента и прогнозирует реакцию на противоопухолевые средства. При этом для автохтонных новообразований характерен длительный латентный период развития и высокая вариабельность их скорости роста. Использование опухолевых GEM у мышей дает возможность изучить разработать новые высокоэффективные таргетные противоопухолевые препараты, а также исследовать механизмы устойчивости опухолевых клеток к терапии *in vivo* благодаря время- и тканеспецифической регуляции экспрессии таргетных генов. Культивирование эмбриональных стволовых клеток с нокаутированными или сверхэкспрессированными генами-мишенями и их введение в бластоцисты мышей позволяют создавать химерных животных, у которых опухоли формируются из сконструированных клеток в естественной для них среде. При скрещивании таких мышей получают гомозиготных особей по интересующим-генам и белкам, что помогает изучить их функции. В настоящее время мышинные модели ксенотрансплантата наиболее часто применяются в

онкологии, как для изучения механизмов канцерогенеза, так и эффективности противоопухолевых препаратов. Применение гуманизированных мышей и ортотопической имплантации хоть и является технически более сложным, однако дает возможность исследовать роль генов-мишеней человека в естественном для опухоли микроокружении. Основные ограничения в использовании мышинных опухолевых моделей для моделирования рака человека связаны с межвидовыми различиями активности белка-продукта у мыши и у человека, которые объясняют неэффективность подающих надежды препаратов для терапии рака на мышинной модели в клинических исследованиях.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Szadvari I., Krizanova O., Babula P. Athymic nude mice as an experimental model for cancer treatment // *Physiol. Res.* – 2016. – Vol. 65 (Suppl. 4). – P. S441–S453.
2. Bousquet G., Janin A. Patient-derived xenograft: an adjuvant technology for the treatment of metastatic disease // *Pathobiology.* – 2016. – Vol. 83. – № 4. – P. 170–176.
3. Evans J P., Sutton P.A., Winiarski B.K. et al. From mice to men: Murine models of colorectal cancer for use in translational research // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* – 2016. – Vol. 98. – P. 94–105.
4. Холоденко И.В., Доронин И.И., Холоденко Р.В. Опухолевые модели в изучении онкологических заболеваний // *Иммунология.* – 2013. – № 5. – С. 282–286.
5. Hardee S., Prasad M.L., Hui P. et al. Pathologic characteristics, natural history, and prognostic implications of BRAFV600E mutation in pediatric papillary thyroid carcinoma // *Pediatr. Dev. Pathol.* – 2017. – Vol. 20. – № 3. – P. 206–212.
6. Kellar A., Egan C., Morris D. Preclinical Murine Models for Lung Cancer: Clinical Trial Applications // *BioMed Res. Intern.* – Vol. 2015. – Article ID 621324.
7. Talmadge J.E., Singh R.K., Fidler I.J., Raz A. Murine models to evaluate novel and conventional therapeutic strategies for cancer // *Am. J. Pathol.* – 2007. – Vol. 70. – № 3. – P. 793–804.
8. Gargiulo G. Next-Generation *in vivo* Modeling of Human Cancer // *Front. Oncol.* – 2018. – Vol. 8. – P. 429.
9. Berger M. Is there a relevance for anticancer drug development. Relevance of tumor models for anticancer drug development. – In: Fiebig HH, Burger BA., eds. *Contributions to oncology.* Basel: Karger, 1999. – P. 15–27.
10. Гудратов Н.О. К 95-летию выведения первых линейных мышей. Линейные мыши: достоинства и недостатки // *Биомедицина.* – 2004. – № 4. – С. 40–42.
11. Линейные животные биомодели. www.scbmt.ru/mag/osn-bio/section_iii
12. Wainwright D.A., Horbinski C.M., Hashizume R. et al. Therapeutic hypothesis testing with rodent brain tumor models // *Neurotherapeutics.* – 2017. – Vol. 14. – № 2. – P. 385–392.

13. Falcone L., Casucci M. Exploiting secreted luciferases to monitor tumor progression *in vivo* // *Methods Mol Biol.* – 2016. – Vol. 1393. – P. 105–111.
14. Kurmasheva R.T., Houghton P.J. Identifying novel therapeutic agents using xenograft models of pediatric cancer // *Cancer Chemother. Pharmacol.* – 2016. – Vol. 78. – № 2. – P. 221–232.
15. Dutt A., Wong K-K. Mouse Models of Lung Cancer // *Clin. Cancer Res.* – 2006. – Vol. 12. – P. 4396s–4402s.
16. Day C-P., Merlino G., Van Dyke T. Preclinical Mouse Cancer Models: A Maze of Opportunities and Challenges // *Cell.* – 2015. – Vol. 163. – № 1. – P. 39–53.
17. Стуков А.Н., Вершинина С.Ф., Козьявин Н.А. и др. Изучение активности ломустина при перевиваемом HER2-положительном раке молочной железы у мышей линии FVB/N, трансгенных по HER2 // *Сибирский онкологический журнал.* – 2019. – Т. 18. – № 5. – С. 54–60.
18. Wang Q.F., Ding H., Liu B.R. et al. Generation and comparison of two genetically engineered mouse models of ErbB2/Neu positive-PTEN deficient breast cancer // *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* – 2014. – Vol. 43. – № 4. – P. 427–433.
19. Gantz J.A., Palpant N.J., Welikson R.E. et al. Targeted genomic integration of a selectable floxed dual fluorescence reporter in human embryonic stem cells // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7. – № 10. – e46971.
20. Kemp C.J. Animal models of chemical carcinogenesis: driving breakthroughs in cancer research for 100 years // *Cold Spring Harb. Protoc.* – 2015. – Vol. 2015. – № 10. – P. 865–874.
21. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 97 (1,3-Butadiene, Ethylene Oxide and Vinyl Halides (Vinyl Fluoride, Vinyl Chloride and Vinyl Bromide) /IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 2007: Lyon, France. – 525 p.
22. Kasala E.R., Bodduluru L.N., Barua C.C. et al. Benzo(a) pyrene induced lung cancer: Role of dietary phytochemicals in chemoprevention // *Pharmacol. Rep.* – 2015. – Vol. 67. – № 5. – P. 996–1009.
23. Saito R., Kobayashi T., Kashima S. et al. Faithful preclinical mouse models for better translation to bedside in the field of immuno-oncology // *Intern. J. Clin. Oncol.* – 2019. Aug 12.
24. Moro M., Bertolini G., Caserini R. et al. Establishment of patient derived xenografts as functional testing of lung cancer aggressiveness // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7. – № 1. – P. 6689.
25. Xia C., Chen R., Chen J. et al. Combining metformin and nelfinavir exhibits synergistic effects against the growth of human cervical cancer cells and xenograft in nude mice // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7. – P. 43373.
26. Lau V., Wong A Li-A., Ng C. et al. Drug sensitivity testing platforms for gastric cancer diagnostics // *J. Clin. Pathol.* – 2016. – Vol. 69. – № 2. – P. 93–96.
27. Cao X., Shores E.W., Hu-Li J. et al. Defective lymphoid development in mice lacking expression of the common cytokine receptor gamma chain // *Immunity.* – 1995. – Vol. 2. – № 3. – P. 223–238.
28. 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. Immunol.* – 2005. – Vol. 174. – № 10. – P. 6477–6489.
29. Blunt T., Finnie N.J., Taccioli G.E. et al. Defective DNA-dependent protein kinase activity is linked to V(D)J recombination and DNA repair defects associated with the murine scid mutation // *Cell.* – 1995. – Vol. 80. – № 5. – P. 813–823.
30. Takenaka K., Prasolava T.K., Wang J.C. et al. Polymorphism in Sirpa modulates engraftment of human hematopoietic stem cells // *Nat. Immunol.* – 2007. – Vol. 8. – № 12. – P. 1313–1323.
31. Joo S.Y., Choi B.K., Kang M.J. et al. Development of functional human immune system with the transplantations of human fetal liver/thymus tissues and expanded hematopoietic stem cells in RAG2-/-gamma(c)-/ mice // *Transplant. Proc.* – 2009. – Vol. 41. – № 5. – P. 1885–1890.
32. Douglas D.N., Kneteman N.M. Generation of improved mouse models for the study of hepatitis C virus // *Eur. J. Pharmacol.* – 2015. – Vol. 759. – P. 313–325.
33. Barzi M., Pankowicz F. P., Zorman B. et al. A novel humanized mouse lacking murine P450 oxidoreductase for studying human drug metabolism // *Nat. Commun.* – 2017. – Vol. 8. – № 1. – P. 39.
34. Bournazos S., DiLillo D.J., Ravetch J.V. Humanized mice to study Fc R function // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* – 2014. – Vol. 382. – P. 237–248.
35. Morin A., Ruggiero C., Robidel E. et al. Establishment of a mouse xenograft model of metastatic adrenocortical carcinoma // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8. – № 31. – P. 51050–51057.
36. Okada S., Vaeteewoottacharn K., Kariya R. Establishment of a patient-derived tumor xenograft model and application for precision cancer medicine // *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo).* – 2018. – Vol. 66. – № 3. – P. 225–230.

Поступила в редакцию 23.04.2020 г.

*T.L. Nekhaeva¹, A.N. Chernov², J.A.G. Toropova³,
M.M. Galagudza³, I.A. Baldueva¹*

Variety of tumor models for testing antitumor treatment activity of substances in mice

¹N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia, St. Petersburg,

²SPb SBHI CH №40 of Resort District, Saint Petersburg, Sestroretsk

³Almazov National Medical Research Center of the Ministry of Health of Russia, St. Petersburg

Selection of tolerated and toxic doses, schemes of therapy for new anticancer drugs, assessment of its toxicity, pharmacokinetics, metabolism, study of the mechanism of action and tumor sensitivity are carried out using models of human tumors in mice. The review contains a diverse description of experimental models (transplantable, genetically engineered, humanized, autochthonous, orthotopic, heterotopic and metastatic) tumors using laboratory mice. The advantages, disadvantages, directions and specific features of the use of mouse models, their role in the study of mechanisms of action of antitumor drugs are considered on the examples of recent research.

Key words: review, cancer, mice, cancer models *in vivo*, anticancer drugs, advantages, disadvantages