人源化小鼠模型在病毒性肝炎等肝脏疾病研究中的应用

任晓楠, 周晓辉*

上海市公共卫生临床中心, 上海 201508

* 联系人, E-mail: zhouxiaohui@shphc.org.cn

2019-04-09 收稿, 2019-05-07 修回, 2019-05-08 接受, 2019-06-13 网络版发表

国家科技重大专项(2017ZX10304402-001-012, 2017ZX10304402-001-006)资助

摘要 肝炎病毒感染相关的肝脏疾病对人类有着巨大的危害, 但相关动物模型仍有各种缺陷. 人源化小鼠模型因可更好地模拟人体情况, 在肝脏疾病的研究中扮演着非常重要的角色. 在肝脏疾病研究的历程中, 用于肝脏疾病研究的人源化小鼠模型由最初的肝脏嵌合小鼠模型, 发展为肝脏与免疫双嵌合小鼠模型, 又在此基础上逐步建立了肝炎病毒的感染小鼠模型. 迄今, 人源化小鼠模型已在肝脏疾病的研究领域中发挥着不可或缺的作用. 本文对在肝脏疾病中发挥重要作用的人源化小鼠模型进行了整理与阐述.

关键词 人源化小鼠模型, 人肝嵌合, 肝炎病毒, 免疫系统, 药物代谢

肝脏在人类的生物学活动中起着重要的作用, 而肝脏相关疾病依然是人类健康的重大负担. 其中, 病毒性肝炎感染的人数之多, 导致的肝脏疾病之重, 已成为危害全球公共卫生的严重威胁之一. 目前针对肝炎病毒的研究虽已建立了一些感染动物模型, 但现有的感染动物模型存在一定的局限性. 由于病毒感染宿主种属屏障, 现有的实验动物绝大多数不能形成自然感染. 人和黑猩猩肝细胞是肝炎病毒感染的天然靶细胞. 因此, 黑猩猩作为唯一一种易受肝炎病毒感染的非人类灵长类动物可用于研究病毒感染, 特别是分析感染后的天然性和适应性免疫反应; 但其价格过于昂贵, 且由于伦理因素目前欧洲与美国已被禁用. 因此, 建立能有效模拟人体肝炎病毒感染及免疫应答的小鼠模型便显得尤为重要. 开发合适的人源化小鼠模型, 有可能实现人体肝细胞的病毒自然感染过程的在体研究, 并且可能同时考察人体免疫细胞的应答特征.

目前用于肝脏疾病研究的人源化小鼠模型主要包括肝脏嵌合小鼠模型、肝脏与免疫双嵌合小鼠模型以

及在此基础上通过肝炎病毒(HBV或HCV)感染而建立的感染小鼠模型. 利用肝脏嵌合小鼠模型, 可以研究肝脏损伤修复、药物筛选和代谢反应、病毒感染后的免疫反应以及病毒-宿主间的相互作用机制.

1 肝脏嵌合小鼠模型

肝脏嵌合小鼠模型的成功建立在于人源肝细胞在小鼠体内能够稳定存在、定植以及重建, 这就需要满足以下两个条件: 首先, 小鼠自身的肝细胞必须有损伤, 这样才能够给人源肝细胞的再生提供空间; 其次, 小鼠必须缺失适应性免疫系统, 这样才允许外源肝细胞的存活, 避免排斥反应的发生^[1]. 所以肝脏嵌合小鼠模型必须是在免疫缺陷小鼠上利用转基因或者基因敲除造成内源性肝细胞损伤死亡而建立的.

首个肝脏嵌合小鼠模型, 是领域中人所熟知的uPA/SCID模型^[2], 在20世纪90年代由Dr. Brinster's团队开发. 其原理是引入带有白蛋白(Albumin)启动子的尿激酶型纤溶酶原激活剂(uPA)基因, 使得小鼠肝脏过表

引用格式: 任晓楠, 周晓辉. 人源化小鼠模型在病毒性肝炎等肝脏疾病研究中的应用. 科学通报, 2019, 64: 3070–3076

Ren X N, Zhou X H. Humanized mouse models for human viral hepatitis and related liver diseases (in Chinese). Chin Sci Bull, 2019, 64: 3070–3076, doi: [10.1360/N972019-00303](https://doi.org/10.1360/N972019-00303)

达uPA产生低纤维蛋白原血症和肝脏的损伤。但是过高水平的uPA导致小鼠肝损严重,存活周期较短,并不利于后续研究的开展。然而由于uPA小鼠开创性的地位,一直被广泛使用,并在此基础上通过改造获得了更适合的模型。例如,邓宏魁研究组2009年建立的利用tet-on调控系统以及腺病毒感染转入uPA基因的方法来实现uPA可调控表达和定时肝损的模型^[3]。

随后第二种嵌合小鼠模型*Fah*^{-/-}*Rag2*^{-/-}*Il2rg*^{-/-}(FRG)诞生了,该小鼠功能性地敲除了延胡索酰乙酰乙酸水解酶(fumarylacetoacetate hydrolase, FAH)^[4]。由于Fah是酪氨酸分解途径中的最后一种酶,它的缺失会导致延胡索酰乙酰乙酸的积累,进而导致肝脏的损伤。FRG小鼠模型与uPA模型的不同之处,或者说是进步之处在于FRG小鼠的肝细胞损伤程度是可以通过2-(2-硝基-4-三氟甲基苯甲酰基)-1,3-环己二酮(NTBC)进行人为控制,NTBC可以阻断酪氨酸途径中的上游酶,从而防止有毒中间体的积累。所以在任何需要肝脏损伤的时间点,通过撤回NTBC,即可诱发肝脏的损伤。

之后,TK-NOG模型又被发展出来。该模型通过I型单纯疱疹病毒(herpes simplex virus-type I, HSV-I)的胸苷激酶(thymidine kinase, TK)(HSVtk)在肝内的特异性表达,将无毒的环氧鸟苷(ganciclovir, GCV)磷酸化为强毒性代谢物三磷酸丙氧鸟苷,其作为DNA和RNA链的终止剂将小鼠自身的肝脏细胞杀死,从而导致肝脏损伤^[5]。

2015年,日本科学家建立了白喉毒素诱导系统的Alb-TRECK/SCID小鼠模型,通过给予白喉毒素(diphtheria toxin, DT)来诱发肝损^[6]。随后,本课题组构建了Alb-cre/DTR/SCID-beige小鼠,通过给予DT也成功诱导了小鼠的肝脏损伤^[7]。这些都属于可诱导型肝损的模型,人肝嵌合均获得成功。我们对以上模型进行了概括总结,详见表1。

由于肝脏嵌合小鼠模型缺乏人的免疫细胞,限制了其在慢性肝炎病毒引起的慢性肝炎、肝纤维化、病毒特异性免疫反应方面的研究。所以在肝脏嵌合小鼠模型的基础上,又进一步通过移植人的免疫细胞,获得了肝脏/免疫双嵌合的小鼠模型。

2 肝脏/免疫系统双嵌合小鼠模型

2011年,美国北卡罗来纳大学Su Lishan团队建立了AFC8小鼠模型^[8],其原理是通过albumin启动子控制FK506结合蛋白(FK506-binding protein, FKBP)-caspase8融合基因,给予AP20187后活化caspase8的表达以诱发肝损,再通过移植人肝细胞和造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)成功地检测到了人Albumin,肝细胞基因和免疫细胞。

FRGN小鼠通过白消安清髓处理后,通过人肝细胞和脐带血来源HSC构建的双嵌合小鼠的人肝嵌合率可高达90%,且在肝内可检测到CD45⁺, CD68⁺, CD3⁺以及CD20⁺等免疫细胞^[9]。

Gutti等人^[10]在uPA/NOG小鼠上使用成人肝细胞以及与人肝细胞人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)并不匹配的HSC细胞成功构建了双嵌合的人源化小鼠,而且不匹配的HSC细胞移植后并未引起免疫排斥反应。

近期,夏宁邵教授团队和李君教授团队^[11]共同在Gut上发表了他们的研究成果,利用anti-CD95抗体建立的诱导型急性肝衰竭FRGS小鼠模型,在该模型上通过人骨髓间充质干细胞(human bone marrow mesenchymal stem cells, hBMSCs)的移植建立了人肝及人免疫双嵌合小鼠模型。我们对以上模型进行了概括总结,详见表2。

利用双嵌合小鼠模型,使得研究肝炎病毒感染、感染机制和病毒-宿主相互作用等科学问题成为可能。

表1 肝脏嵌合小鼠模型

Table 1 Liver chimeric mouse models

模型	肝脏损伤的原因	肝脏损伤的控制方式	优势	缺点
uPA/SCID	uPA的表达	无法控制	重建效率高	无法控制肝损程度与时机,无法进行免疫学研究
FRG	Fah的缺乏	NTBC	肝损程度可控	无法进行免疫学研究
TK-NOG	HSVtk	GSV	肝损程度可控	无法进行免疫学研究
Alb-TRECK/SCID	人HB-EGF样受体	DT	肝损程度可控	无法进行免疫学研究

表2 肝脏/免疫系统双嵌合小鼠模型

Table 2 Liver and immune system double chimeric mouse

模型	肝脏损伤的原因	肝脏损伤的控制方式	免疫缺陷背景	优势	缺点
AFC8	AFC8	AP20187	$IL2rg^{-/-} Rag2^{-/-}$		
FRGN	Fah的缺乏	NTBC	$IL2rg^{-/-} Rag2^{-/-}$	可用于病毒感染后的免疫学相关研究	病毒感染效率较低
uPA/NOG	uPA的表达	无法控制	NOG		
FRGS	Fah的缺乏	NTBC	$IL2R\gamma C^{-/-} Rag2^{-/-} SCID$		

下面就对利用双嵌合小鼠,在乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)、丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)以及其他肝炎病毒的研究上所做的一些工作进行阐述。

3 肝炎病毒感染模型

3.1 用于HBV研究的人源化小鼠模型

HBV是一种小包膜DNA病毒,可导致肝硬化和肝细胞癌的发生,且只能自然感染人和黑猩猩,全球有超过2.5亿人携带HBV。HBV的感染和肝炎的发展是一个受很多因素影响的复杂过程,虽然接种疫苗可有效预防HBV的感染,但其仍然是一个全球的公共健康问题^[12]。

已有许多成功利用人源化小鼠进行HBV感染过程以及感染后宿主免疫反应的相关研究。有研究显示,人肝脏嵌合的uPA/SCID小鼠模型可以持续感染HBV。在HBV感染的uPA/SCID小鼠上,观察单用聚乙二醇化干扰素- α (PegIFN α)、恩替卡韦(entecavir)以及二者连用后的治疗效果。研究发现,治疗4周后,ETV(有或没有PegIFN α)治疗组的小鼠的病毒血症与PegIFN α 治疗组相比显著降低。相反地,PegIFN α 单用组或者联用组小鼠血中的HBsAg,HBsAg和肝内HBcAg的水平显著降低,证实了PegIFN α 对人肝细胞的抗病毒作用可降低HBV抗原^[13]。日本研究者在缺乏适应性免疫系统的肝脏嵌合uPA/SCID小鼠上分别感染 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 的HBV DNA, 1 min~63 d后,观察HBV感染人肝嵌合小鼠后的病毒动力学曲线,观察到病毒感染的4个时期,分别是快速血清HBV清除期、缓慢血清HBV清除期(平台期)、快速增长及稳定期、长期扩增期,对HBV感染周期的深入详细研究为抗病毒药物的靶点寻找提供了重要的理论支撑^[14]。

2014年,在A2/NSG小鼠上,通过移植人HSC细胞和肝祖细胞获得的A2/NSG-HuHSC/Hep小鼠模型,

75%的小鼠可发展为长达4个月的持续性HBV感染状态,在感染的小鼠中可以检测到慢性肝脏炎症和肝纤维化,基因表达分析显示肝脏中M2样巨噬细胞与HBV诱导的急性肝脏损伤密切相关,HBV可以促进M1和M2巨噬细胞的M2样活化,证明了HBV介导的肝脏疾病与高水平的M2样活化表型人巨噬细胞的浸润有关。A2/NSG-hu HSC/Hep小鼠模型在研究HBV感染方面特别是对于巨噬细胞在HBV感染期间肝病疾病进程中的作用研究非常有价值^[15]。

2017年,法国研究者 Dusséaux M在BALB/c $Rag2^{-/-} IL-2rg^{-/-} Sirpa^{NOD}$ Alb-uPA小鼠上进行人肝嵌合(human hepatocytes, HUHEP)或者人肝/免疫(human immune system, HIS)双嵌合。HBV感染后HUHEP和HIS-HUHEP小鼠,均可以完成一个完整的生活周期,且HBV在HUHEP小鼠中可以不受限制地复制,但在HIS-HUHEP小鼠中发展为慢性肝炎,同时可检测到抗原特异性的IgG(抗-HBs, 抗-HBc),在感染小鼠的肝脏中也检测到了Kupffer细胞、成熟活化的自然杀伤细胞(CD69⁺)和PD-1⁺效应记忆T细胞(CD45RO⁺)。进一步研究发现,给予小鼠entecavir治疗后可显著降低病毒载量和肝脏炎症^[16]。

夏宁邵教授团队在FRGS小鼠模型上获得了自然感染HBV病毒诱发的肝硬化模型,hBMSCs细胞的移植使肝细胞获得了增殖,同时也发展出多样的免疫细胞,包括B细胞、T细胞、NK细胞、树突状细胞和巨噬细胞。HBV感染后的hBMSC-FRGS小鼠存在持续的病毒血症和特异性免疫及炎症反应,在感染后第54周小鼠肝硬化的发生率可达到55%。该模型的成功建立为后续的肝硬化研究提供了新的模型支撑^[11]。

3.2 用于其他肝炎病毒研究的人源化小鼠模型

HCV是一种单链的RNA病毒,人感染HCV后的症状从轻微到慢性肝炎都有存在,慢性感染的发生会导

致肝硬化甚至是肝细胞癌。尽管目前已对HCV进行了非常广泛地研究,但是仍然没有用于预防HCV感染的有效疫苗,虽然直接作用抗病毒药物(DAA)可以治愈95%的病例,但是不能防止再感染^[17],所以疫苗的开发、免疫应答的研究仍然是目前所面临的巨大问题,人源化小鼠模型对这些问题的解决或许可以提供有力的支撑。

2001年,有研究显示,在人肝嵌合的Alb-uPA/SCID小鼠上可以成功感染HCV,并具有较高的病毒滴度,通过移植后肝内负链RNA病毒的检出也证实了病毒复制的存在。这是第一个被证明可以成功感染HCV的嵌合体小鼠模型^[18]。之后在具有95%嵌合率的*Fah/Rag2/IL2rg*人肝嵌合体的小鼠上可以成功共感染HBV和HCV,并且HCV感染的小鼠对抗病毒治疗有反应。这种人肝嵌合小鼠模型可以用于研究HBV和HCV感染^[19]。

在AFC8模型上进行的HCV研究表明,双嵌合的小鼠出现了肝纤维化,并且可以产生针对HCV的特异性T细胞反应。但是,仅有50%小鼠可观察到HCV的病毒复制,HCV RNA也仅在肝内检出,血液中并没有检测到^[8]。因此该模型仍然需要进一步完善才更适宜研究病原体与宿主的相互关系。类似的结果在NSG小鼠上也有观察到。在通过移植人胎肝和HSC获得的双嵌合小鼠上,可以建立HCV的感染,检测到病毒特异性的人免疫细胞和细胞因子反应,同时IFN- α 2a可以有效地抗病毒^[20]。通过uPA/SCID人源化小鼠也进行了HCV病毒进入方面的研究,发现CD81单克隆抗体表现出对HCV进入存在有效,特异性的抑制作用^[21]。

丁型肝炎病毒(hepatitis D virus, HDV)是一种缺陷型病毒,需要通过HBV的包膜蛋白才可以产生传染性病毒颗粒。在2.5亿的HBV感染者中大约有10%是存在HDV共感染的^[22]。在uPA/SCID小鼠上建立的HBV/HDV共感染的小鼠模型,PCR检测肝内血清中的HDV含量可达 1×10^9 copies/mL,同时进一步证明了在缺乏HBV感染的情况下HDV也可以在肝内复制^[23]。人源化肝脏嵌合uPA/SCID-beige小鼠可以实现HBV/HDV病毒的共感染,在感染后第3周即可在小鼠肝脏内检测到两种病毒,并可维持长达16周^[24]。通过进行聚乙二醇化的IFN- α 和IFN- λ 治疗可以降低uPA/SCID-beige人源化小鼠中由HBV和HDV共感染所引起的病毒血症^[25]。

戊型肝炎病毒(hepatitis E virus, HEV)是急性肝炎以及免疫功能低下者中慢性感染发生的主要因素,虽然存在有效的疫苗,但是目前只允许在中国使用^[26],而

大部分感染发生在热带和亚热带国家。有研究表明,人肝移植的uPA/SCID-Beige小鼠可以有效地被HEV感染长达25周以上,这是第一个HEV研究的小动物模型^[27]。

2016年,又有研究者应用FRG小鼠模型建立了HEV感染模型,并表明FRG小鼠可能比uPA/SCID模型更适宜进行HEV的感染研究。因为在uPA-SCID模型中口服接种不会导致活跃的感染,然而在FRG小鼠上脾内注射3基因型感染的患者血浆确实能够导致持续感染^[28]。

4 药物代谢研究

许多药物代谢都是在肝脏内发生的,但是小鼠与人肝的代谢有着非常显著的不同,而且药物导致的肝脏损伤时有发生,所以人源化小鼠模型可以在药物测试方面提供更多的关于药物代谢、药物毒性的信息,使用药策略更为安全和理性。

早在2004年就有研究报道表明,在人源化小鼠中可以表达和代谢所有主要的人类细胞色素p450(Human cytochrome P450, hCyp)基因家族^[29]。基于FRG的高达90%嵌合率的人源化小鼠模型可以用于药物代谢(*CYP1A2*, *CYP3A4*)的相关研究^[4]。药物与药物间的相互作用可被特定CYP450的活性影响和抑制也有报道^[30]。在这些系统中,体内评估药物对人肝细胞的毒性已成为可能。应用Alb-TRECK/SCID模型,观察到人肝嵌合小鼠在酮洛芬(Ketoprofen)和异喹胍(debrisoquine)两种药物的代谢上与人类具有相似的特征^[6]。

TK-NOG模型也可用来研究药物代谢,呋喃苯胺酸(Furosemide)在小鼠中是有毒的,但由物种代谢的差异,该药物是可以用于人类的。研究发现,Furosemide在TK-NOG小鼠中的毒性有所降低,类似于人类中的反应^[31]。TK-NOG小鼠也已用于波生坦(bosentan)诱导的胆汁淤积性肝毒性的研究^[32]。

5 展望

肝脏人源化小鼠模型在药物代谢研究,HBV和HCV的感染研究上已经有了诸多的应用,但就模型本身目前还有一些需改进的问题。例如,如何进一步提高嵌合小鼠的人肝嵌合率及模型的稳定性;如何解决小鼠天然免疫系统(削弱粒细胞和巨噬细胞功能)对肝脏和免疫嵌合的阻碍,采用人的SIRP α 基因敲入替换受体(recipient)小鼠的SIRP α ,可通过CD47-SIRP α 的“don't eat me signaling”通路减少巨噬细胞对人源细胞的吞

噬;如何解决人与小鼠细胞因子的差异因素对于移植的人源造血干细胞在小鼠体内发育的阻碍,可利用基因敲入等方式将人的细胞因子转入小鼠体内等等。可以展望未来还会有人源化程度更高、更适合、更完善

的模型不断地被开发出来,用于肝脏疾病的研究。肝脏人源化模型不仅仅可在小鼠上,未来甚至可能在其他大动物上进行肝脏的人源化,以期为肝炎病毒的研究提供更适宜的动物模型。

参考文献

- Allweiss L, Dandri M. Experimental *in vitro* and *in vivo* models for the study of human hepatitis B virus infection. *J Hepatol*, 2016, 64: S17–S31
- Rhim J A, Sandgren E P, Degen J L, et al. Replacement of diseased mouse liver by hepatic cell transplantation. *Science*, 1994, 263: 1149–1152
- Song X, Guo Y, Duo S, et al. A mouse model of inducible liver injury caused by tet-on regulated urokinase for studies of hepatocyte transplantation. *Am J Pathol*, 2009, 175: 1975–1983
- Azuma H, Paulk N, Ranade A, et al. Robust expansion of human hepatocytes in *Fah^{-/-}/Rag2^{-/-}/Il2rg^{-/-}* mice. *Nat Biotechnol*, 2007, 25: 903–910
- Hasegawa M, Kawai K, Mitsui T, et al. The reconstituted “humanized liver” in TK-NOG mice is mature and functional. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 405: 405–410
- Zhang R R, Zheng Y W, Li B, et al. Human hepatic stem cells transplanted into a fulminant hepatic failure Alb-TRECK/SCID mouse model exhibit liver reconstitution and drug metabolism capabilities. *Stem Cell Res Ther*, 2015, 6: 49
- Ren X N, Ren R R, Yang H, et al. Human liver chimeric mouse model based on diphtheria toxin-induced liver injury. *WJG*, 2017, 23: 4935–4941
- Washburn M L, Bility M T, Zhang L, et al. A humanized mouse model to study hepatitis C virus infection, immune response, and liver disease. *Gastroenterology*, 2011, 140: 1334–1344
- Wilson E M, Bial J, Tarlow B, et al. Extensive double humanization of both liver and hematopoiesis in FRGN mice. *Stem Cell Res*, 2014, 13: 404–412
- Gutti T L, Knibbe J S, Makarov E, et al. Human hepatocytes and hemolymphoid dual reconstitution in treosulfan-conditioned uPA-NOG mice. *Am J Pathol*, 2014, 184: 101–109
- Yuan L, Jiang J, Liu X, et al. HBV infection-induced liver cirrhosis development in dual-humanised mice with human bone mesenchymal stem cell transplantation. *Gut*, 2019, doi: 10.1136/gutjnl-2018-316091
- Hwang J R, Park S G. Mouse models for hepatitis B virus research. *Lab Anim Res*, 2018, 34: 85–91
- Allweiss L, Volz T, Lütgehetmann M, et al. Immune cell responses are not required to induce substantial hepatitis B virus antigen decline during pegylated interferon-alpha administration. *J Hepatol*, 2014, 60: 500–507
- Ishida Y, Chung T L, Imamura M, et al. Acute hepatitis B virus infection in humanized chimeric mice has multiphasic viral kinetics. *Hepatology*, 2018, 68: 473–484
- Bility M T, Cheng L, Zhang Z, et al. Hepatitis B virus infection and immunopathogenesis in a humanized mouse model: Induction of human-specific liver fibrosis and M2-like macrophages. *PLoS Pathog*, 2014, 10: e1004032
- Dusséaux M, Masse-Ranson G, Darche S, et al. Viral load affects the immune response to HBV in mice with humanized immune system and liver. *Gastroenterology*, 2017, 153: 1647–1661
- Shoukry N H. Hepatitis C vaccines, antibodies, and T cells. *Front Immunol*, 2018, 28: 1480
- Mercer D F, Schiller D E, Elliott J F, et al. Hepatitis C virus replication in mice with chimeric human livers. *Nat Med*, 2001, 7: 927–933
- Bissig K D, Wieland S F, Tran P, et al. Human liver chimeric mice provide a model for hepatitis B and C virus infection and treatment. *J Clin Invest*, 2010, 120: 924–930
- Keng C T, Sze C W, Zheng D, et al. Characterisation of liver pathogenesis, human immune responses and drug testing in a humanised mouse model of HCV infection. *Gut*, 2016, 65: 1744–1753
- Ji C, Liu Y, Pamulapati C, et al. Prevention of hepatitis C virus infection and spread in human liver chimeric mice by an anti-CD81 monoclonal antibody. *Hepatology*, 2015, 61: 1136–1144
- Sureau C, Negro F. The hepatitis delta virus: Replication and pathogenesis. *J Hepatol*, 2016, 64: S102–S116
- Lütgehetmann M, Mancke L V, Volz T, et al. Humanized chimeric uPA mouse model for the study of hepatitis B and D virus interactions and preclinical drug evaluation. *Hepatology*, 2012, 55: 685–694
- Giersch K, Allweiss L, Volz T, et al. Hepatitis Delta co-infection in humanized mice leads to pronounced induction of innate immune responses in comparison to HBV mono-infection. *J Hepatol*, 2015, 63: 346–353
- Giersch K, Homs M, Volz T, et al. Both interferon alpha and lambda can reduce all intrahepatic HDV infection markers in HBV/HDV infected humanized mice. *Sci Rep*, 2017, 7: 3757
- Kamar N, Izopet J, Pavio N, et al. Hepatitis E virus infection. *Nat Rev Dis Primers*, 2017, 3: 17086

- 27 Allweiss L, Gass S, Giersch K, et al. Human liver chimeric mice as a new model of chronic hepatitis E virus infection and preclinical drug evaluation. [J Hepatol](#), 2016, 64: 1033–1040
- 28 Sayed I M, Foquet L, Verhoye L, et al. Transmission of hepatitis E virus infection to human-liver chimeric FRG mice using patient plasma. [Antiviral Res](#), 2017, 141: 150–154
- 29 Katoh M, Matsui T, Nakajima M, et al. Expression of human cytochromes P450 in chimeric mice with humanized liver. [Drug Metab Dispos](#), 2004, 32: 1402–1410
- 30 Nishimura T, Nishimura T, Hu Y, et al. Using chimeric mice with humanized livers to predict human drug metabolism and a drug-drug interaction. [J Pharmacol Exp Therapeut](#), 2013, 344: 388–396
- 31 Xu D, Michie S A, Zheng M, et al. Humanized thymidine kinase-NOG mice can be used to identify drugs that cause animal-specific hepatotoxicity: A case study with furosemide. [J Pharmacol Exp Therapeut](#), 2015, 354: 73–78
- 32 Xu D, Wu M, Nishimura S, et al. Chimeric TK-NOG mice: A predictive model for cholestatic human liver toxicity. [J Pharmacol Exp Therapeut](#), 2015, 352: 274–280

Summary for “人源化小鼠模型在病毒性肝炎等肝脏疾病研究中的应用”

Humanized mouse models for human viral hepatitis and related liver diseases

Xiaonan Ren & Xiaohui Zhou*

Shanghai Public Health Clinical Center, Fudan University, Shanghai 201508, China

* Corresponding author, E-mail: zhouxiaohui@shphc.org.cn

Liver diseases, such as viral hepatitis and related fibrosis, cirrhosis and hepatocellular carcinomas, greatly threaten the health of human beings and constitute a global health problem. Nevertheless, suitable animal models of human liver diseases, especially for hepatitis virus infections, are not yet successfully established to avoid the defects of the traditional animal models. Take hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV) for examples, most of the existing experimental animals except chimpanzee and *Tupaia belangeri*, cannot form a natural infection of these two hepatitis viruses, because of the stringent host species barrier to the infection. Human and chimpanzee hepatocytes are natural target cells for HBV and HCV infections and susceptible to infections of these two hepatitis viruses, which suggests that virus-specific receptors on the surface of these hepatocytes, as well as the intrinsic cellular circumstances, can support the initiation of the infection and the whole intracellular life cycle of hepatitis B and C viruses. Therefore, although chimpanzee is a costly animal model, it was used to study HBV and HCV infections and host immunological responses, especially to analyze natural and adaptive immune responses to infection. Though regarded as a high standard non-human primate model for hepatitis virus infection, chimpanzees have already been banned to use for experiments in Europe and the United States because of ethical concerns. Mice are convenient and cheap laboratory animals, but they cannot be infected by HBV naturally. Transgenic mice expressing partial or complete viral genomes are useful to study viral replication, yet the viral life cycles are incomplete and virus-host interaction, especially the host immunological responses against the viruses, cannot be investigated due to the immunological tolerance to the transgenes.

To overcome these limitations, humanized mouse models have been developed. Humanized mouse models, in which the liver is engrafted with human hepatocytes, can veritably mimic human infection cases, and thus play important roles in the research on human viral hepatitis and related liver diseases. They can be applied also to evaluate vaccination strategies, drug metabolism, personalized medical treatment, hence has become a popular option of pre-clinical animal models. The development of humanized mouse models for liver diseases have gone through several stages, from human liver chimeric mouse (e.g., uPA/SCID, FRG, TK-NOG, and Alb-TRECK/SCID) to humanized liver and immune system double chimeric mouse (e.g., AFC8, FRGN, uPA/NOG, and FRGS), and further to hepatitis virus-infected models based on these humanized mice. So far, humanized mouse models represent the summit models for the *in vivo* studies of hepatitis virus infections. These humanized mouse models have their advantages and disadvantages, which should be carefully assessed on the basis of the specific research aims. This review summarizes several important humanized mouse models which are used in the field of human liver disease researches. Great progress has been made in humanized mouse models over the past years, however, these models are still under development. In the future, better-humanized mouse models can be anticipated for further research of antiviral treatments, virus-host interactions and novel immunotherapies for human liver diseases.

humanized mouse, chimeric liver, hepatitis virus, immune system, drug metabolism

doi: [10.1360/N972019-00303](https://doi.org/10.1360/N972019-00303)