

Методологические аспекты создания ксенотрансплантатов опухолей, полученных от пациентов

Анна Сергеевна Гончарова*, Алексей Николаевич Шевченко,
Ирина Рудольфовна Дашкова, Александр Евгеньевич Анисимов

Национальный медицинский исследовательский центр онкологии,
г. Ростов-на-Дону, Россия

Реферат

Высокий уровень заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований остаётся актуальной проблемой здравоохранения. Разработка наиболее эффективных терапевтических алгоритмов абсолютно необходима для улучшения показателей выживаемости онкологических больных. Важное условие для открытия и продвижения в клиническую практику новых противоопухолевых препаратов — возможность моделировать рост опухоли, воспроизводить характеристики заболевания человека и оценивать измеримые эффекты фармакологических субстанций на лабораторных объектах. Ксеногенные модели, полученные путём прямой имплантации свежих образцов опухолевой ткани от отдельных пациентов иммунодефицитными мышам, считают подходящими объектами как для проведения доклинических испытаний, так и для решения задач фундаментальной науки в области онкологии. В обзоре освещена значимость ксеногенных моделей, полученных от пациентов, в качестве платформы, обладающей высокой прогностической ценностью, и предпосылки, делающие их наиболее предпочтительным инструментом для проведения научных исследований биологии рака. Рассмотрены наиболее важные методологические аспекты создания этих моделей. Изложены способы получения и подготовки биологических опухолевых образцов для ксенотрансплантации. Описана значимость иммунного статуса, а также фенотипические и генетические особенности животных-реципиентов. Отражены ограничения животных моделей, связанные с их иммунодефицитным статусом, и способы их преодоления. Освещены принципы выбора сайта (гетеротопический и ортотопический) для ксенотрансплантации, их преимущества и недостатки. В заключении подчёркнута необходимость продолжать работу по оптимизации моделей PDX (от англ. Patient-Derived Xenograft) для преодоления их ограничений с целью получения наиболее достоверных и ценных результатов исследований в области онкологии.

Ключевые слова: онкология, рак, ксенотрансплантаты, PDX, иммунодефицитные мыши.

Для цитирования: Гончарова А.С., Шевченко А.Н., Дашкова И.Р., Анисимов А.Е. Методологические аспекты создания ксенотрансплантатов опухолей, полученных от пациентов. *Казанский мед. ж.* 2021; 102 (5): 694–702. DOI: 10.17816/KMJ2021-694.

Methodological aspects of creation of patient-derived tumor xenografts

A.S. Goncharova, A.N. Shevchenko, I.R. Dashkova, A.E. Anisimov
National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

High rates of cancer incidence and mortality from malignant neoplasms remains an urgent health problem. The development of the most effective therapeutic algorithms is required to improve the survival of cancer patients. An important condition for the discovery of new anticancer drugs and their translation into clinical practice involves the ability to model tumor growth, reproduce the characteristics of human disease, and evaluate measurable effects of pharmacological substances in laboratory facilities. Xenograft models established by direct implantation of fresh tumor tissue samples from individual patients into immunodeficient mice are considered suitable for both preclinical trials and for solving fundamental problems in oncology. The review highlights the significance of patient-derived xenograft models as a platform with high predictive value and the prerequisites that make them the preferred tool

for research in cancer biology. The most important methodological aspects in the creation of these models are considered. Methods for obtaining and preparing biological tumor samples for xenotransplantation are discussed. The significance of the immune status, as well as the phenotypic and genetic characteristics of recipient animals, is described. The article presents the limitations of animal models associated with their immunodeficiency status and ways to overcome them. The principles for choosing xenotransplantation sites (heterotopic and orthotopic) and their advantages and disadvantages are discussed. In conclusion, we emphasize the need to continue the work on optimizing PDX (Patient-Derived Xenograft) models to overcome their limitations and to obtain the most reliable and valuable research results in oncology.

Keywords: oncology, cancer, xenografts, PDX, immunodeficient mice.

For citation: Goncharov A.S., Shevchenko A.N., Dashkova I.R., Anisimov A.E. Methodological aspects of creation of patient-derived tumor xenografts. *Kazan Medical Journal*. 2021; 102 (5): 694–702. DOI: 10.17816/KMJ2021-694.

Злокачественные новообразования — одна из ведущих причин смерти, остающаяся актуальной проблемой здравоохранения [1–3]. Многочисленные научно-исследовательские программы, направленные на изучение, а также улучшение темпов прогресса в профилактике, диагностике и лечении рака, способствовали достижению значительного успеха в этих областях [4]. Тем не менее, разработка наиболее эффективных терапевтических алгоритмов по-прежнему является необходимым условием для улучшения показателей выживаемости онкологических больных.

Новые методы и инструменты исследований, такие как клиническая биоинформатика, изучение биомаркёров заболеваний и модельные эксперименты, играют важную роль в процессе разработки лекарств [5–7].

Основополагающее условие для открытия и продвижения в клиническую практику веществ-кандидатов с вероятным противоопухолевым действием — возможность моделировать рост опухоли, демонстрировать характеристики заболевания человека и оценивать измеримые эффекты противораковых препаратов на лабораторных объектах [8].

Недавнее исследование показало, что окупаемость инвестиций в фармацевтическую промышленность в онкологии была значительно ниже, чем в других терапевтических областях [8]. Около 95% потенциально эффективных противоопухолевых субстанций, успешно прошедших I фазу клинических испытаний и проявивших хорошую переносимость, не продемонстрировали эффективность в последующих фазах, ввиду чего не прошли регистрацию. По мнению ряда специалистов, наиболее распространённые причины, по которым препарат не продемонстрировал клиническую эффективность, — отсутствие валидированных доклинических моделей или не в полной мере установленная связь между конкретной терапевтической мишенью и болезнью [4, 9, 10].

Традиционные методы скрининга лекарств были разработаны в Национальном институте онкологии (NCI — от англ. National Cancer Institute) США в 1970-х годах. Они предполагают тестирование противоопухолевых агентов *in vitro* и *in vivo* с использованием панели линий раковых клеток человека NCI-60 [11, 12]. Раковые клетки были получены от пациентов со злокачественными заболеваниями и адаптированы к росту на пластике в искусственных условиях культивирования. Эти так называемые иммортализованные клеточные линии, хотя удобны и просты в использовании, имеют важные ограничения, выражающиеся в серьёзных и необратимых изменениях биологических характеристик, в том числе в изменении свойств роста и инвазии, а также потере определённых популяций клеток, что можно описать как отсутствие морфологической и молекулярно-генетической гетерогенности [8, 9].

Попытки обойти эти барьеры привели к разработке ксеногенных моделей, полученных путём прямой имплантации свежих образцов опухолевой ткани от отдельных пациентов иммунодефицитными мышами, — PDX (от англ. Patient-Derived Xenograft) [9, 13]. В многочисленных исследованиях их рассматривают как лучшие предикторы терапевтического ответа, так как они способны на ранних пассажах сохранять гетерогенность и молекулярные характеристики исходной опухоли и считаются более подходящими инструментами как для проведения доклинических испытаний, так и для решения ряда задач фундаментальной науки [13, 14].

В связи с этим модели ксенотрансплантатов, полученных от пациента, всё чаще используют для разработки препаратов. К примеру, в работах Национального института онкологии прослеживается тенденция к переходу от применения NCI-60 панелей клеточных линий, к использованию PDX, а в работах института биомедицинских исследований Novartis было доказано, что их клиническая значимость

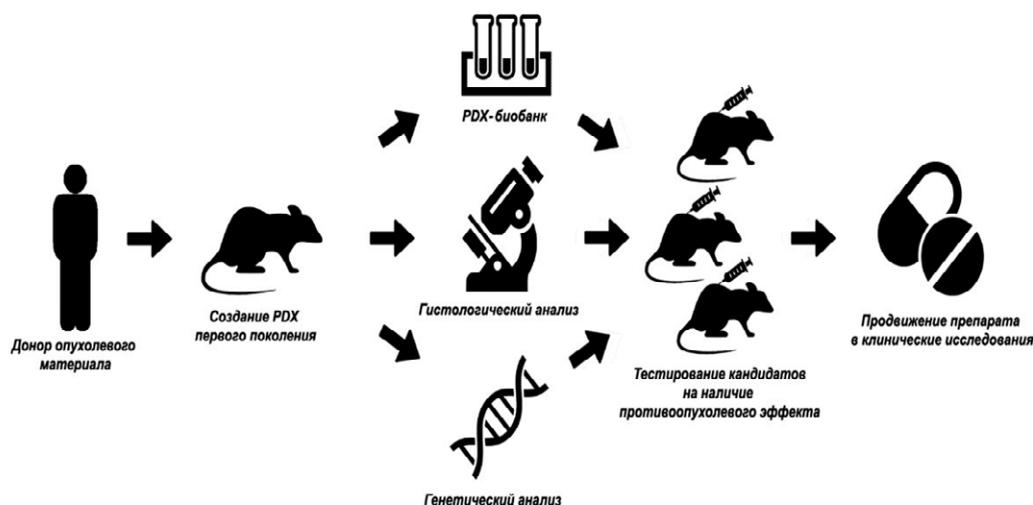


Рис. 1. Схема общей процедуры создания и применения PDX-моделей

достигает 90% [15, 16]. Эти результаты указывают на благоприятные перспективы применения PDX в академических и прикладных работах в области онкологии [17, 18].

Получение биологических образцов для ксенотрансплантации. Процедура создания PDX имеет стандартный характер и, как правило, выполняется согласно общему алгоритму, хотя некоторые научные группы упоминают о разработке отдельных методических подходов [13, 19, 20]. Модели PDX могут быть созданы путём трансплантации иммунодефицитным мышам опухолевого материала пациента, полученного во время операции или биопсии [21–23]. В некоторых исследованиях также использовали образцы асцитической жидкости или плеврального выпота [24, 25].

Полученные опухолевые ткани промывают и хранят в средах для культивирования клеток с антибиотиками [26]. С целью сохранения наибольшей жизнеспособности образцы ткани должны быть трансплантированы животным-реципиентам как можно скорее. Длительная ишемия, как известно, связана с более низкой степенью приживления биологического материала [27]. При отсутствии возможности выполнения процедуры в короткие сроки, непосредственно после получения образцов, их следует хранить в холодильнике для снижения тканевого метаболизма.

Опухолевый материал имплантируют в виде фрагментов или клеточных суспензий, изолированно либо в комбинации с матригелем, фибробластами или мезенхимальными стволовыми клетками [28]. Инъекция клеточной суспензии, полученной в результате механической или хи-

мической дезагрегации образца ткани пациента, упомянута в ряде работ [29, 30]. Однако её считают менее предпочтительным вариантом, так как она характеризуется более низкой выживаемостью приживления опухолевого материала, что, вероятно, может быть связано аноксией (формой апоптоза, наступающей в ответ на потерю связи с матриксом или обусловленной отрывом клетки от клеток-соседей) [31]. Фрагменты опухоли имплантируют хирургическим путём чаще всего в гетеротопический (подкожный) сайт, но для создания ортотопических моделей (PDOX — от англ. Patient-Derived Orthotopic Xenograft) используют гистологически соответствующий орган [4, 32, 33].

Обычно необходимо около 3–6 мес для формирования первого поколения ксенотрансплантата; скорость его роста зависит от индивидуальных характеристик опухоли [27, 34]. Когда размеры опухолевых узлов достигают 500–1000 мм³, их выделяют, фрагментируют и используют для создания следующего поколения PDX, а также для проведения гистологических, иммуногистохимических, молекулярно-генетических исследований с целью типирования получившейся модели. Также некоторое количество фрагментов подвергают криоконсервации для повторной имплантации в любое удобное время в зависимости от потребностей [13, 27] (рис. 1).

В некоторых работах было показано, что успех создания PDX был связан с опухолевой агрессивностью, и у пациентов, опухоли которых были успешно преобразованы в модели PDX, был худший прогноз, чем у тех, которые не достигли успеха в генерации PDX [20, 28].

Иммунный статус животных-реципиентов опухолевого материала. Иммунодефицитный статус животных-реципиентов — обязательное условие для предотвращения отторжения опухолевого материала другого биологического вида, в связи с чем в настоящее время разработано большое количество линий мышей, характеризующихся различной степенью дисфункции иммунной системы [35].

Для создания моделей ксенотрансплантатов можно использовать несколько типов мышей с иммунодефицитом: бестимусные голые мыши (Nude), SCID, NOD-SCID, Rag2, NSG, NOG, которые различаются по степени иммуносупрессии в отношении функций иммунных клеток, и важно оценивать эти характеристики соответственно цели исследования. У Nude не развиваются Т-клетки, так как развитие вилочковой железы ингибируется мутациями в гене *Foxn1* [35–37]. У мышей SCID отсутствуют Т- и В-клетки из-за мутации в гене *Prkdc*, у мышей-нокауты Rag2 удаление гена *Rag2* блокирует дифференцировку В- и Т-клеток даже более полно, чем в случае естественной мутации в гене *Prkdc* [36, 38]. Мыши NOD/SCID лишены функций Т-, В-клеток и естественных киллеров (NK) [35, 36]. У NSG и NOG не работают не только Т-, В- и NK-клетки, как у мышей NOD/SCID, но также есть мутация в гене γ -цепи рецептора IL2, в связи с чем они обладают повышенными трансплантационными характеристиками и способны приживлять почти все типы рака человека [39, 40].

Также недавно путём удаления *Foxn1* с помощью системы CRISPR/Cas9 была получена серия голых мышей NOD/SCID/IL2rg^{-/-}, названная NSIN, которые показали ещё более глубокий иммунодефицит, чем мыши других линий, и могут быть более подходящими объектами для исследований опухолей с низкой эффективностью приживления [4]. В настоящее время работы по созданию животных с высокой степенью иммунодефицита ведут многие рабочие группы, и перечень новых линий мышей с необходимыми качествами постоянно пополняется [41, 42].

Чем выше степень иммуносупрессии, тем больше вероятность успеха и скорость формирования модели PDX, однако при использовании животных с наиболее выраженными дефектами иммунной системы могут возникнуть проблемы из-за активации вирусов человеческого происхождения, таких как вирус Эпштейна–Барр, что влечёт за собой развитие человеческой лимфомы, в связи с чем целесообразной становится проверка полученных моделей на отсутствие лимфомы [27, 43].

Выбор сайта для трансплантации. Подкожный (гетеротопический) сайт наиболее часто используют для трансплантации опухолевого материала с целью получения PDX. Преимущество подкожных моделей заключается в том, что манипуляции для их создания очень просты, и повреждения ткани можно свести к минимуму, обеспечивая таким образом лёгкое и безболезненное восстановление животного после операции. Кроме того, немаловажное преимущество этого метода — непосредственная оценка приживления и роста опухоли без применения специального оборудования для визуализации или контрольной лапаротомии. Однако подкожный ксенотрансплантат растёт в не соответствующем оригинальной опухоли микроокружении и, как правило, не способен к воспроизведению метастатического процесса [27, 44].

Для преодоления этих недостатков следует использовать ортотопический сайт трансплантации, соответствующий месту первичной опухоли. Эта процедура более сложна с технической точки зрения, требует много времени, а также проведения ультразвукового исследования или диагностической лапаротомии для подтверждения наличия опухолей внутри организма мыши. Однако преимущество состоит в том, что этот вариант лучше воспроизводит «естественное» окружение опухолей человека. Ортотопическая имплантация может увеличить частоту метастазов во время роста ксенотрансплантата, и её следует рассматривать как приоритетную, когда метастазирование опухоли становится предметом исследования [4, 34, 44].

Согласно исследованию Y. Koga и A. Ochiai (2019), создание подкожного PDX — наиболее распространённая процедура (80%) [15]. Ортотопическую имплантацию выбирали как более предпочтительную для нескольких типов рака, включая первичную или метастатическую опухоль головного мозга [45, 46], рак молочной железы [47, 48] и рак почки [49]. Хотя созданные ортотопические модели имитируют метастазы рака и служат важными моделями для фундаментальных и прикладных исследований, подкожные ксенотрансплантаты обычно используют в доклинических испытаниях, поскольку PDX, установленные под кожу, позволяют легко оценить эффективность лекарственного средства по сравнению с моделями PDOX [15].

Проблемы создания моделей PDX и их решения. Несмотря на то обстоятельство, что модели PDX предоставляют прекрасную воз-

можность для повышения трансляционного потенциала медико-биологических исследований в области онкологии и обладают рядом преимуществ по сравнению с традиционными моделями ксенотрансплантатов клеточных линий, они, как и любые другие платформы для доклинических испытаний, имеют несколько существенных ограничений.

Наиболее общие проблемы создания PDX связаны с недостаточной эффективностью приживления первичного опухолевого материала. Для преодоления этого недостатка, помимо очевидных решений, таких как использование в качестве реципиентов животных с наиболее выраженными формами иммунодефицита, были предложены оптимизированные способы ксенотрансплантации с использованием сайтов, характеризующихся хорошо развитой сосудистой сетью. В частности, существует подход, согласно которому независимо от происхождения опухоли выполняют имплантацию в субрентальную капсулу для увеличения успеха приживления [50–52]. Применение этой методики обеспечивает обильное поступление питательных веществ, гормонов, факторов роста и кислорода для трансплантированных тканей ещё до установления васкуляризации трансплантата [50].

При сравнении процедур ксенотрансплантации злокачественных тканей предстательной железы человека иммунодефицитным мышам в субрентальную капсулу, подкожный и ортотопический сайты было показано, что лучшие результаты приживления соответствовали почечному участку [53, 54]. Кроме того, было высказано предположение, что бóльшая васкуляризация почечного сайта способствует сохранению гетерогенности исходного образца первичной опухоли, препятствуя отбору клеточных популяций, устойчивых к кислородному голоданию, связанному с начальными фазами процесса при перевивке в подкожный сайт. Эту методику успешно применяют как для получения PDX рака предстательной железы [55], так и для создания PDX немелкоклеточного рака лёгкого [56], рака шейки матки [52] и яичников [57].

Также J. Lee и соавт. (2019) была предложена оригинальная авторская методика создания PDX-модели глиобластомы посредством интравитреальной инъекции, что, с одной стороны, способствует образованию опухоли в микроокружении, имитирующем мозг, а с другой, обеспечивает улучшенную видимость и контроль динамики роста [58].

Тем не менее, хотя технические достижения позволяют постепенно улучшить эффектив-

ность процедуры ксенотрансплантации фрагментов опухоли человека, ещё одной проблемой становится неравнозначная возможность получения PDX, представляющих различные типы опухолей. К примеру, было показано, что наиболее высокая выживаемость трансплантата характерна для злокачественной меланомы и колоректального рака (80% и выше), тогда как для рака груди она составляет всего около 30% [20]. Таким образом, возникает ситуация, при которой доступность модели в большей степени определяется частотой приживления опухолевого материала, а не клинической заболеваемостью.

Решением этой проблемы служит создание биобанков, специализирующихся на хранении и предоставлении подробно аннотированных PDX, делая возможным поиск и приобретение модели, обладающей необходимыми биологическими характеристиками. Обширными коллекциями ксенотрансплантатов, полученных от пациентов, обладают такие учреждения, как Национальный институт онкологии (США), компания CrownBio (Китай), консорциум Innovative MODEls Initiative (Франция), Институт биомедицинских исследований Novartis (США, Китай, Швейцария, Сингапур) [59].

Отдельно стоящая проблема — невозможность получения образца ткани пациента с помощью хирургической процедуры при неоперабельных опухолях, что в свою очередь может повлечь за собой ситуацию, связанную с несбалансированным представлением различных типов/подтипов опухолей в репозиториях.

Чтобы преодолеть эти ограничения, были предприняты попытки создания моделей ксенотрансплантатов, путём введения иммунодефицитным мышам циркулирующих опухолевых клеток, выделенных из образцов крови пациентов [60, 61]. Считают, что циркулирующие опухолевые клетки представляют собой смешанную популяцию раковых клеток, и выделение и инокуляция этих клеток иммунодефицитным животным приводят к созданию модели, сохраняющей гетерогенность опухоли пациентов [60, 61]. Было показано, что ксенотрансплантаты мелкоклеточного рака лёгкого, полученные из циркулирующих опухолевых клеток, имели значительное сходство геномных характеристик с опухолями пациентов и отражали их реакцию на химиотерапию [62].

Помимо вышеизложенных трудностей, связанных с созданием моделей некоторых типов/подтипов опухолей, проблемой также становится необходимость расходовать существенные ресурсы в виде времени, финансов, трудоза-

трат. В связи с этим повышение эффективности процедуры создания моделей PDX и получения достаточного количества опухолевой ткани для дальнейших ксенотрансплантаций с целью проведения трансляционных исследований — одна из приоритетных задач [30, 63].

Z. Liu и соавт. (2020) была предложена оригинальная методика работы с ксенотрансплантатами, позволяющая сократить количество животных-опухоленосителей, а также минимизировать временные затраты. В ходе работы выполняли ряд последовательных неполных резекций подкожных опухолевых узлов, позволяя оставшимся 5–10% объёма ксенотрансплантата продолжать расти в том же животном. Кроме того, было показано, что опухолевые узлы, возникшие в результате неполной резекции, росли на 26–60% быстрее, чем ксенотрансплантаты этой же опухоли, не подвергшиеся процедуре неполной резекции [63].

Один из ключевых аспектов создания PDX — необходимость использования иммунодефицитных штаммов мышей, что, с одной стороны, является необходимым условием для приживания человеческих опухолей, а с другой, наличие ослабленного иммунитета влечёт за собой невозможность моделирования и изучения иммунных ответов. По этой причине ксеногенные опухолевые модели имеют ограниченное применение для скрининга иммунотерапевтических препаратов, таких как вакцины и иммуномодуляторы, а также лекарства, активирующие противоопухолевый ответ иммунной системы.

В то же время, последние достижения в области онкологии подчёркивают важность иммунной системы в прогрессировании и лечении опухолей [64–66]. Решением в сложившейся ситуации может стать создание гуманизированных моделей PDX путём введения мышам клеток человеческой иммунной системы, что позволяет проводить как фундаментальные исследования взаимодействия иммунитета и опухоли, так и доклинические исследования лекарств, активирующих противоопухолевый ответ иммунной системы [66–68].

Один из возможных вариантов создания гуманизированных мышей подразумевает трансплантацию мононуклеаров периферической крови или инфильтрирующих опухоль лимфоцитов иммунодефицитным мышам [69]. Известно, что эти процедуры вызывают реакцию трансплантат против хозяина через 2–5 нед после инъекции и ограничивают полезное время исследования. Другой способ заключается в трансплантации CD34-положительных

гемопоэтических стволовых клеток человека отдельно или в сочетании с дополнительными иммунными тканями человека (например, тканью вилочковой железы человека) иммунодефицитным мышам [69].

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток приводит к более полной имитации процедуры человеческого гемопоэза, поскольку они дают начало различным линиям клеток крови человека у мышей. Таким образом, модели PDX следующего поколения, созданные с использованием гуманизированных мышей, хотя и дороги, тем не менее, способны преодолеть ограничения, связанные с иммунодефицитным статусом традиционных ксеногенных моделей.

Заключение. Модель PDX за последние несколько лет получила статус платформы, обладающей высокой прогностической ценностью по сравнению с обычными моделями ксенотрансплантатов клеточных линий. Обширные литературные данные показали, что модели PDX способны поддерживать молекулярную и генетическую гетерогенность опухоли человека. Доклинические испытания на мышах могут снизить риск клинических испытаний на людях, а также ускорить определение приоритетов терапии, позволяя параллельно тестировать несколько схем лечения для отдельных групп пациентов. Тем не менее, ещё многое предстоит сделать для решения ряда технических проблем, чтобы этот подход стал более продуктивным. Многие научные коллективы продолжают активную работу по оптимизации моделей PDX для преодоления их недостатков с целью получения наиболее достоверных и ценных результатов исследований в области онкологии.

Участие авторов. А.С.Г. — анализ данных литературы; А.Н.Ш. — анализ данных литературы; И.Р.Д. — корректировка рукописи; А.Е.А. — поиск литературных источников.

Источник финансирования. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Александрова Л.М., Старинский В.В., Мамонтов А.С. Технологии диагностики и скрининга в раннем выявлении злокачественных новообразований. *Онкология. Ж. им. П.А. Герцена*. 2018; 7 (1): 34–40. [Kaprin A.D., Aleksandrova L.M., Starinsky V.V., Mamontov A.S. Technologies for early diagnosis and screening in the early detection of malignant neoplasms. *Onkologija. Zhurnal im. P.A. Gertsena*. 2018; 7 (1): 34–40. (In Russ.)] DOI: 10.17116/onkolog20187134-40.

2. Кит О.И., Колесников Е.Н., Максимов А.Ю., Снежко А.В., Сагакянц А.Б., Аль-Хадж Н.К.М., Аверкин М.А., Златник Е.Ю., Ситковская А.О. Комбинированное лечение рака прямой кишки с использованием предоперационной лучевой терапии. *Соврем. пробл. науки и образования*. 2018; (4): 130–141. [Kit O.I., Kolesnikov E.N., Maksimov A.U., Snezhko A.V., Sagakyants A.B., Al-Hadzh N.K.M., Averkin M.A., Zlatnik E.Yu., Sitkovskaya A.O. Combined treatment of rectal cancer, with using preoperative radiation therapy. *Modern problems of science and education*. 2018; (4): 130–141. (In Russ.)]
3. Miller K.D., Nogueira L., Mariotto A.B., Rowland J.H., Yabroff K.R., Alfano C.M., Jemal A., Kramer J.L., Siegel R.L. Cancer treatment and survivorship statistics, 2019. *CA: Cancer J. Clin.* 2019; 69 (5): 363–385. DOI: 10.3322/caac.21565.
4. Lai Y., Wei X., Lin S., Qin L., Cheng L., Li P. Current status and perspectives of patient-derived xenograft models in cancer research. *J. Hematol. Oncol.* 2017; 10 (1): 106. DOI: 10.1186/s13045-017-0470-7.
5. Armitage E.G., Ciborowski M. Applications of metabolomics in cancer studies. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology, Vol. 965. Metabolomics: From fundamentals to clinical applications*. Cham: Springer. 2017; 209–234. DOI: 10.1007/978-3-319-47656-8_9.
6. Tyanova S., Juergen C. Perseus: a bioinformatics platform for integrative analysis of proteomics data in cancer research. In: *Methods in Molecular Biology, Vol 1711. Cancer Systems Biology*. New York: Humana Press. 2018; 133–148. DOI: 10.1007/978-1-4939-7493-1_7.
7. Hristova V.A., Chan D.W. Cancer biomarker discovery and translation: proteomics and beyond. *Expert Rev. Proteomics*. 2019; 16 (2): 93–103. DOI: 10.1080/14789450.2019.1559062.
8. Ireson C.R., Alavijeh M.S., Palmer A.M., Fowler E.R., Jones H.J. The role of mouse tumor models in the discovery and development of anticancer drugs. *Brit. J. Cancer*. 2019; 121 (2): 101–108. DOI: 10.1038/s41416-019-0495-5.
9. Gould S.E., Junttila M.R., de Sauvage F.J. Translational value of mouse models in oncology drug development. *Nature Med.* 2015; 21 (5): 431–439. DOI: 10.1038/nm.3853.
10. Bhimani J., Ball K., Stebbing J. Patient-derived xenograft models — the future of personalised cancer treatment. *Brit. J. Cancer*. 2020; 122 (5): 601–602. DOI: 10.1038/s41416-019-0678-0.
11. Chabner B.A. NCI-60 Cell line screening: a radical departure in its time. *JNCL: J. National Cancer Institute*. 2016; 108 (5): djv388. DOI: 10.1093/jnci/djv388.
12. Raghu V.K., Beckwitt C.H., Warita K., Wells A., Benos P.V., Oltvai Z.N. Biomarker identification for statin sensitivity of cancer cell lines. *Biochem. Biophys. Res. Communications*. 2018; 495 (1): 659–665. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.11.065.
13. Jung J., Seol H.S., Chang S. The generation and application of patient-derived xenograft model for cancer research. *Cancer Res. Treat.* 2018; 50 (1): 1–10. DOI: 10.4143/crt.2017.307.
14. Bleijs M., van de Wetering M., Clevers H., Drost J. Xenograft and organoid model systems in cancer research. *EMBO J.* 2019; 38 (15): e101654. DOI: 10.15252/embj.2019101654.
15. Koga Y., Ochiai A. Systematic review of patient-derived xenograft models for preclinical studies of anti-cancer drugs in solid tumors. *Cells*. 2019; 8 (5): 418. DOI: 10.3390/cells8050418.
16. Gao H., Korn J.M., Ferretti S., Monahan J.E., Wang Y., Singh M., Zhang C., Schnell C., Yang G., Zhang Y., Balbin O.A., Barbe S., Cai H., Casey F., Chatterjee S., Chiang D.Y., Chuai S., Cogan S.M., Collins S.D., Dammasa E., Ebel N., Embry M., Green J., Kauffmann A., Kowal C., Leary R.J., Lehar J., Liang Y., Loo A., Lorenzana E., Robert McDonald E. 3rd, McLaughlin M.E., Merkin J., Meyer R., Naylor T.L., Patawaran M., Reddy A., Röelli C., Ruddy D.A., Salangsang F., Santacroce F., Singh A.P., Tang Y., Tinetto W., Tobler S., Velazquez R., Venkatesan K., Von Arx F., Wang H.Q., Wang Z., Wiesmann M., Wyss D., Xu F., Bitter H., Atadja P., Lees E., Hofmann F., Li E., Keen N., Cozens R., Jensen M.R., Pryer N.K., Williams J.A., Sellers W.R. High-throughput screening using patient-derived tumor xenografts to predict clinical trial drug response. *Nature Med.* 2015; 21 (11): 1318–1325. DOI: 10.1038/nm.3954.
17. Ledford H. US cancer institute overhauls cell lines: veteran cells to be replaced by human tumours grown in mice. *Nature*. 2016; 530 (7591): 391.
18. Ji X., Chen S., Guo Y., Li W., Qi X., Yang H., Xiao S., Fang G., Hu J., Wen C., Liu H., Han Z., Deng G., Yang Q., Yang X., Xu Y., Peng Z., Li F., Cai N., Li G., Huang R. Establishment and evaluation of four different types of patient-derived xenograft models. *Cancer Cell Intern.* 2017; 17: 122. DOI: 10.1186/s12935-017-0497-4.
19. Okada S., Vaeteewoottacharn K., Kariya R. Establishment of a patient-derived tumor xenograft model and application for precision cancer medicine. *Chem. Pharm. Bull.* 2018; 66 (3): 225–230. DOI: 10.1248/cpb.c17-00789.
20. Goto T. Patient-derived tumor xenograft models: toward the establishment of precision cancer medicine. *J. Personalized Med.* 2020; 10 (3): 64. DOI: 10.3390/jpm10030064.
21. Moro M., Bertolini G., Caserini R., Borzi C., Boreri M., Fabbri A., Leone G., Gasparini P., Galeone C., Pelosi G., Roz L., Sozzi G., Pastorino U. Establishment of patient derived xenografts as functional testing of lung cancer aggressiveness. *Sci. Rep.* 2017; 7 (1): 6689. DOI: 10.1038/s41598-017-06912-7.
22. Yu J., Qin B., Moyer A.M., Sinnwell J.P., Thompson K.J., Copland J.A. 3rd, Marlow L.A., Miller J.L., Yin P., Gao B., Minter-Dykhouse K., Tang X., McLaughlin S.A., Moreno-Aspitia A., Schweitzer A., Lu Y., Hubbard J., Northfelt D.W., Gray R.J., Hunt K., Connors A.L., Suman V.J., Kalari K.R., Ingle J.N., Lou Z., Visscher D.W., Weinshilboum R., Boughey J.C., Goetz M.P., Wang L. Establishing and characterizing patient-derived xenografts using pre-chemotherapy percutaneous biopsy and post-chemotherapy surgical samples from a prospective neoadjuvant breast cancer study. *Breast Cancer Res.* 2017; 19 (1): 130. DOI: 10.1186/s13058-017-0920-8.
23. Murayama T., Gotoh N. Patient-derived xenograft models of breast cancer and their application. *Cells*. 2019; 8 (6): 621. DOI: 10.3390/cells8060621.
24. Li X., Zhu D., Li N., Yang H., Zhao Z., Li M. Characterization of ascites-derived tumor cells from an endometrial cancer patient. *Cancer Sci.* 2017; 108 (12): 2352–2357. DOI: 10.1111/cas.13407.
25. Xu Y., Zhang F., Pan X., Wang G., Zhu L., Zhang J., Wen D., Lu S. Xenograft tumors derived from malignant pleural effusion of the patients with non-small-cell lung cancer as models to explore drug resistance. *Cancer Communications*. 2018; 38 (1): 19. DOI: 10.1186/s40880-018-0284-1.
26. Мурашко Д.А., Семёнов М.С., Ильин М.А., Осипов А.Н., Самойлов А.С., Забелин М.В. Перспективы забора живого опухолевого материала пациентов

- с агрессивными опухолевыми заболеваниями. *Здравоохранение, образование и безопасность*. 2017; (1): 7–17. [Murashko D.A., Semenov M.S., Ilyin M.A., Osipov A.N., Samoilov A.S., Zabelin M.V. The prospects of the sampling live tumoral material of patients with aggressive tumor diseases. *Zdravoozhanenie, obrazovanie i bezopasnost'*. 2017; (1): 7–17. (In Russ.)]
27. Cho S.Y. Patient-derived xenografts as compatible models for precision oncology. *Lab. Animal Res.* 2020; 36: 14. DOI: 10.1186/s42826-020-00045-1.
28. Hidalgo M., Amant F., Biankin A.V., Budinská E., Byrne A.T., Caldas C., Clarke R.B., de Jong S., Jonkers J., Mølandsmo G.M., Roman-Roman S., Seoane J., Trusolino L., Villanueva A. Patient-derived xenograft models: an emerging platform for translational cancer research. *Cancer Discovery*. 2014; 4 (9): 998–1013. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-14-0001.
29. Xiao M., Rebecca V.W., Herlyn M. A melanoma patient-derived xenograft model. *J. Visualized Experim.* 2019; (147): e59508. DOI: 10.3791/59508.
30. Karamboulas C., Meens J., Ailles L. Establishment and use of patient-derived xenograft models for drug testing in head and neck squamous cell carcinoma. *STAR Protocols*. 2020; 1 (1): 100024. DOI: 10.1016/j.xpro.2020.100024.
31. Ashrafzadeh M., Mohammadinejad R., Tavakol S., Ahmadi Z., Roomiani S., Katebi M. Autophagy, anoikis, ferroptosis, necroptosis, and endoplasmic reticulum stress: Potential applications in melanoma therapy. *J. Cellular Physiol.* 2019; 234 (11): 19 471–19 479. DOI: 10.1002/jcp.28740.
32. Hiroshima Y., Maawy A., Zhang Y., Zhang N., Murakami T., Chishima T., Tanaka K., Ichikawa Y., Bouvet M., Endo I., Hoffman R.M. Patient-derived mouse models of cancer need to be orthotopic in order to evaluate targeted anti-metastatic therapy. *Oncotarget*. 2016; 7: 71 696–71 702. DOI: 10.18632/oncotarget.12322.
33. Shi J., Li Y., Jia R., Fan X. The fidelity of cancer cells in PDX models: Characteristics, mechanism and clinical significance. *Intern. J. Cancer*. 2020; 146 (8): 2078–2088. DOI: 10.1002/ijc.32662.
34. Inoue A., Deem A.K., Kopetz S., Heffernan T.P., Draetta G.F., Carugo A. Current and future horizons of patient-derived xenograft models in colorectal cancer translational research. *Cancers*. 2019; 11 (9): 1321. DOI: 10.3390/cancers11091321.
35. Миндарь М.В., Лукбанова Е.А., Кит С.О., Анисимов А.Е., Егоров Г.Ю., Воловик В.Г. Значение иммунодефицитных мышей для экспериментальных и доклинических исследований в онкологии. *Сибирский науч. мед. ж.* 2020; 40 (3): 10–20. [Mindar M.V., Lukbanova E.A., Kit S.O., Anisimov A.E., Egorov G.Yu., Volovik V.G. Importance of immunodeficient mice for experimental and preclinical studies in oncology. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal*. 2020; 40 (3): 10–20. (In Russ.)] DOI: 10.15372/SSMJ20200302.
36. Oliveira C.F., Lara N.L., Lacerda S.M., Resende R.R., França L.R., Avelar G.F. Foxn1 and Prkdc genes are important for testis function: evidence from nude and scid adult mice. *Cell and Tissue Res.* 2020; 380 (3): 615–625. DOI: 10.1007/s00441-019-03165-w.
37. Gawronska-Kozak B. Foxn1 control of skin function. *Applied Sci.* 2020; 10 (16): 5685. DOI: 10.3390/app10165685.
38. Kim J.I., Park J.S., Kim H., Ryu S.K., Kwak J., Kwon E., Yun J.W., Nam K.T., Lee H.W., Kang B.C. CRISPR/Cas9-mediated knockout of Rag-2 causes systemic lymphopenia with hypoplastic lymphoid organs in FVB mice. *Lab. Animal Res.* 2018; 34 (4): 166–175. DOI: 10.5625/lar.2018.34.4.166.
39. Hanazawa A., Ito R., Katano I., Kawai K., Goto M., Suemizu H., Kawakami Y., Ito M., Takahashi T. Generation of human immunosuppressive myeloid cell populations in human interleukin-6 transgenic NOG mice. *Front. Immunol.* 2018; 9: 152. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00152.
40. Okada S., Vaeteewoottacharn K., Kariya R. Application of highly immunocompromised mice for the establishment of patient-derived xenograft (PDX) models. *Cells*. 2019; 8 (8): 889. DOI: 10.3390/cells8080889.
41. Liu Y.C., Chen Q., Yang X.L., Tang Q.S., Yao K.T., Xu Y. Generation of a new strain of NOD/SCID/IL-2Rγ^{-/-} mice with targeted disruption of Prkdc and IL2Rγ genes using CRISPR/Cas9 system. *J. Southern Med. University*. 2018; 38 (6): 639–646. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4254.2018.06.01.
42. Wei X., Lai Y., Li B., Qin L., Xu Y., Lin S., Wang S., Wu Q., Liang Q., Huang G., Deng Q., Liu P., Wu D., Lai L., Yao Y., Li P. CRISPR/Cas9-mediated deletion of Foxn1 in NOD/SCID/IL2Rγ^{-/-} mice results in severe immunodeficiency. *Sci. Rep.* 2017; 7: 7720. DOI: 10.1038/s41598-017-08337-8.
43. Collins A.T., Lang S.H. A systematic review of the validity of patient derived xenograft (PDX) models: the implications for translational research and personalised medicine. *Peer. J.* 2018; 6: e5981. DOI: 10.7717/peerj.5981.
44. Li G. Patient-derived xenograft models for oncology drug discovery. *J. Cancer Metastasis and Treat.* 2015; 1: 8–15. DOI: 10.4103/2394-4722.152769.
45. Schmidt C., Schubert N.A., Brabetz S., Mack N., Schwalm B., Chan J.A., Selt F., Herold-Mende C., Witt O., Milde T., Pfister S.M., Korshunov A., Kool M. Preclinical drug screen reveals topotecan, actinomycin D, and volasertib as potential new therapeutic candidates for ETMR brain tumor patients. *Neuro-oncology*. 2017; 19 (12): 1607–1617. DOI: 10.1093/neuonc/nox093.
46. Kurokawa C., Iankov I.D., Anderson S.K., Aderca I., Leontovich A.A., Maurer M.J., Oberg A.L., Schroeder M.A., Giannini C., Greiner S.M., Becker M.A., Thompson E.A., Haluska P., Jentoft M.E., Parney I.F., Weroha S.J., Jen J., Sarkaria J.N., Galanis E. Constitutive interferon pathway activation in tumors as an efficacy determinant following oncolytic virotherapy. *J. National Cancer Institute*. 2018; 110 (10): 1123–1132. DOI: 10.1093/jnci/djy033.
47. Cazet A.S., Hui M.N., Elsworth B.L., Wu S.Z., Roden D., Chan C.L., Skhinas J.N., Collot R., Yang J., Harvey K., Johan M.Z., Cooper C., Nair R., Herrmann D., McFarland A., Deng N., Ruiz-Borrego M., Rojo F., Trigo J.M., Bezares S., Caballero R., Lim E., Timpson P., O'Toole S., Watkins D.N., Cox T.R., Samuel M.S., Martin M., Swarbrick A. Targeting stromal remodeling and cancer stem cell plasticity overcomes chemoresistance in triple negative breast cancer. *Nature Communications*. 2018; 9 (1): 2897. DOI: 10.1038/s41467-018-05220-6.
48. Lim H.I., Hamada K., Yamamoto J., Han Q., Tan Y., Choi H.J., Nam S.J., Bouvet M., Hoffman R.M. Oral methioninase inhibits recurrence in a PDOX mouse model of aggressive triple-negative breast cancer. *In Vivo*. 2020; 34 (5): 2281–2286. DOI: 10.21873/invivo.12039.
49. Higuchi T., Sugisawa N., Miyake K., Oshiro H., Yamamoto N., Hayashi K., Kimura H., Miwa S., Igarashi K., Kline Z., Belt P., Chawla S.P., Bouvet M., Singh S.R., Tsuchiya H., Hoffman R.M. Combination treatment with Sorafenib and Everolimus regresses a Doxorubicin-resistant osteosarcoma in a PDOX mouse model. *Anticancer Res.* 2019; 39 (9): 4781–4786. DOI: 10.21873/anticancer.13662.

50. Wang Y., Wang J.X., Xue H., Lin D., Dong X., Gout P.W., Gao X., Pang J. Subrenal capsule grafting technology in human cancer modeling and translational cancer research. *Differentiation*. 2016; 91 (4–5): 15–19. DOI: 10.1016/j.diff.2015.10.012.
51. Serna V.A., Kurita T. Patient-derived xenograft model for uterine leiomyoma by sub-renal capsule grafting. *J. Biol. Methods*. 2018; 5 (2): e91. DOI: 10.14440/jbm.2018.243.
52. Larmour L.I., Cousins F.L., Teague J.A., Deane J.A., Jobling T.W., Gargett C.E. A patient derived xenograft model of cervical cancer and cervical dysplasia. *PLoS One*. 2018; 13 (10): e0206539. DOI: 10.1371/journal.pone.0206539.
53. Priolo C., Agostini M., Vena N., Ligon A.H., Fiorentino M., Shin E., Farsetti A., Pontecorvi A., Sicinska E., Loda M. Establishment and genomic characterization of mouse xenografts of human primary prostate tumors. *Am. J. Pathol.* 2010; 176 (4): 1901–1913. DOI: 10.2353/ajpath.2010.090873.
54. Zhao H., Nolley R., Chen Z., Peehl D.M. Tissue slice grafts: an *in vivo* model of human prostate androgen signaling. *Am. J. Pathol.* 2010; 177 (1): 229–239. DOI: 10.2353/ajpath.2010.090821.
55. Qu S., Ci X., Xue H., Dong X., Hao J., Lin D., Clermont P.L., Wu R., Collins C.C., Gout P.W., Wang Y. Treatment with docetaxel in combination with Aneustat leads to potent inhibition of metastasis in a patient-derived xenograft model of advanced prostate cancer. *Brit. J. Cancer*. 2018; 118 (6): 802–812. DOI: 10.1038/bjc.2017.474.
56. Tang S., Yang R., Zhou X., Pan H., Liu J. Expression of GOLPH3 in patients with non-small cell lung cancer and xenografts models. *Oncology Letters*. 2018; 15 (5): 7555–7562. DOI: 10.3892/ol.2018.8340.
57. Heo E.J., Cho Y.J., Cho W.C., Hong J.E., Jeon H.K., Oh D.Y., Choi Y.L., Song S.Y., Choi J.J., Bae D.S., Lee Y.Y., Choi C.H., Kim T.J., Park W.Y., Kim B.G., Lee J.W. Patient-derived xenograft models of epithelial ovarian cancer for preclinical studies. *Cancer Res. Treat.* 2017; 49 (4): 915–926. DOI: 10.4143/crt.2016.322.
58. Lee J., Jo D.H., Kim J.H., Cho C.S., Han J.E., Kim Y., Park H., Yoo S.H., Yu Y.S., Moon H.E., Park H.R., Kim D.G., Kim J.H., Paek S.H. Development of a patient-derived xenograft model of glioblastoma via intravitreal injection in mice. *Experim. Mol. Med.* 2019; 51 (4): 1–9. DOI: 10.1038/s12276-019-0241-3.
59. Киблицкая А.А., Шевченко А.Н., Пандова О.В., Арджа А.Ю. Биобанкинг ксенотрансплантатов, полученных от пациентов, как платформа для трансляционных исследований в области онкологии. *Соврем. пробл. науки и образования*. 2021; (3): 186. [Kiblitckaya A.A., Shevchenko A.N., Pandova O.V., Ardzha A.Y. Biobanking of patient-derived xenografts as a basis for translation research in oncology. *Modern problems of science and education*. 2021; (3): 186. (In Russ.)] DOI: 10.17513/spno.30879.
60. Tellez-Gabriel M., Cochonneau D., Cade M., Jubelin C., Heymann M.F., Heymann D. Circulating tumor cell-derived pre-clinical models for personalized medicine. *Cancers*. 2018; 11 (1): 19. DOI: 10.3390/cancers11010019.
61. Praharaj P.P., Bhutia S.K., Nagrath S., Bitting R.L., Deep G. Circulating tumor cell-derived organoids: Current challenges and promises in medical research and precision medicine. *Biochim. Biophys. Acta (BBA) — Rev. Cancer*. 2018; 1869 (2): 117–127. DOI: 10.1016/j.bbcan.2017.12.005.
62. Hodgkinson C.L., Morrow C.J., Li Y., Metcalf R.L., Rothwell D.G., Trapani F., Polanski R., Burt D.J., Simpson K.L., Morris K., Pepper S.D., Nonaka D., Greystoke A., Kelly P., Bola B., Krebs M.G., Antonello J., Ayub M., Faulkner S., Priest L., Carter L., Tate C., Miller C.J., Blackhall F., Brady G., Dive C. Tumorigenicity and genetic profiling of circulating tumor cells in small-cell lung cancer. *Nature Med.* 2014; 20 (8): 897–903. DOI: 10.1038/nm.3600.
63. Liu Z., Ahn M.H.Y., Kurokawa T., Ly A., Zhang G., Wang F., Yamada T., Sadagopan A., Cheng J., Ferrone C.R., Liss A.S., Honselmann K.C., Wojtkiewicz G.R., Ferrone S., Wang X. A fast, simple, and cost-effective method of expanding patient-derived xenograft mouse models of pancreatic ductal adenocarcinoma. *J. Translational Med.* 2020; 18 (1): 255. DOI: 10.1186/s12967-020-02414-9.
64. Wu T., Dai Y. Tumor microenvironment and therapeutic response. *Cancer Letters*. 2017; 387: 61–68. DOI: 10.1016/j.canlet.2016.01.043.
65. Yu Y., Cui J. Present and future of cancer immunotherapy: A tumor microenvironmental perspective. *Oncology Letters*. 2018; 16 (4): 4105–4113. DOI: 10.3892/ol.2018.9219.
66. Шамова Т.В., Ситковская А.О., Ващенко Л.Н., Кеchedжиева Э.Э. Адоптивная клеточная терапия: достижения последних лет. *Южно-российский онкол. ж.* 2020; 1 (1): 43–59. [Shamova T.V., Sitkovskaya A.O., Vashchenko L.N., Kechedzhieva E.E. Adoptive cell therapy: current advances. *Yuzhno-rossiyskiy onkologicheskij zhurnal*. 2020; 1 (1): 43–59. (In Russ.)] DOI: 10.37748/2687-0533-2020-1-1-4.
67. Yao L.C., Aryee K.E., Cheng M., Kaur P., Keck J.G., Brehm M.A. Creation of PDX-bearing humanized mice to study immunooncology. In: *Methods in Molecular Biology, Vol. 1953. Target identification and validation in drug discovery*. New York: Humana Press. 2019; 241–252. DOI: 10.1007/978-1-4939-9145-7_15.
68. Liu W.N., Fong S.Y., Tan W.W.S., Tan S.Y., Liu M., Cheng J.Y., Lim S., Suteja L., Huang E.K., Chan J.K.Y., Iyer N.G., Yeong J.P.S., Lim D.W., Chen Q. Establishment and characterization of humanized mouse NPC-PDX model for testing immunotherapy. *Cancers*. 2020; 12 (4): 1025. DOI: 10.3390/cancers12041025.
69. Holzapfel B.M., Wagner F., Thibaudeau L., Levesque J.P., Huttmacher D.W. Concise review: Humanized models of tumor immunology in the 21st century: convergence of cancer research and tissue engineering. *Stem. Cells*. 2015; 33 (6): 1696–1704. DOI: 10.1002/stem.1978.