

· 转化医学动态 ·

人源性肿瘤组织异种移植模型的研究进展

刘 情, 郑 琳, 张 灏

[摘要] 人源性肿瘤组织异种移植(patient-derived tumor xenografts, PDTX)是指将患者的新鲜肿瘤组织处理后移植到免疫缺陷鼠上,依靠小鼠提供的微环境进行生长,其特点和价值不同于人源性肿瘤细胞系异种移植模型。PDTX模型保持了肿瘤细胞的分化程度、形态特征、结构特点以及分子特性。这种小鼠模型肿瘤的血运特点、基质特征、坏死状况等与人本身的肿瘤特点更为接近,这为肿瘤的生物学研究、诊断标志物的寻找和药物筛选提供了一个重要的体内模型。此外,根据移植部位的不同,PDTX模型能够体现标本来源患者肿瘤的各自特点,包括对药物反应的特异性等。因此,这种模拟人肿瘤特异性的模型对肿瘤临床前期评估、治疗和预后具有重要的转化意义,特别是对于肿瘤的个体化诊断和治疗具有不可代替的价值。

[关键词] 人源性肿瘤组织异种移植;原发性肿瘤;个体化治疗

[中图分类号] R73.35⁺2

[文献标志码] A

[文章编号] 2095-3097(2014)02-0065-04

doi: 10.3969/j.issn.2095-3097.2014.02.001

The research progress of patient-derived tumor xenografts

LIU Qing, ZHENG Lin, ZHANG Hao

(Cancer Research Center, Shantou University Medical College, Shantou Guangdong 515041, China)

[Abstract] Patient-derived tumor xenografts (PDTX) which graft human tumor material into immunocompetent or immunodeficient mouse overcome the disadvantages of cell line-derived xenografts. Patient-derived tumor xenografts maintain the cell differentiation and morphology, the architecture, and molecular signatures of the original patient tumors. Vasculature, stroma, central necrosis, and peripheral growth occur in tumor bearing mice in a way that is similar to that of the patient's tumor, then there will be a higher correlation between drug response of tumor xenografts with the corresponding original tumors. But beyond that, patient-derived tumor xenograft models that are clinically representative of each major human cancer type would largely increase the success in identifying new active agents for targeting particular tumours. Therefore, these individualised models of human cancers would have an important significance for preclinical tumor assessment, treatment and prognosis and greatly facilitate selecting the best therapy for each individual patient.

[Key words] Patient-derived tumor xenografts(PDTX); Primary tumor; Individual treatment

癌症一直以来都是危害人类健康的重大困扰,许多癌症(如胰腺癌)早期,患者无明显症状,直到晚期或者转移时才能被发现,治疗结果往往令人失望。尽管肿瘤的基础研究、临床研究及转化医学取得了不少的成绩,但新治疗方法并未给患者带来理想的治疗方案和预后效果。为了更深入地研究肿瘤发展以及寻找更好的药物治疗方法,研究肿瘤的模式特别是动物模型将具有非常重要的价值。传统

的异种移植肿瘤模型是将人类肿瘤细胞在体外筛选,经过传代培养,建立稳定细胞株,然后注射到免疫缺陷小鼠皮下、肾包膜下或原位移植而建立的模型,这种模型的建立以及在肿瘤研究中的应用已有半个世纪^[1]。然而,这种异种移植模型存在一定的缺陷,因为连续传代的肿瘤细胞株适应了外界培养皿的环境,缺乏肿瘤微环境,如非肿瘤基质细胞、细胞外基质、肿瘤微环境因子等,这些细胞株种植到免疫缺陷小鼠后形成的肿瘤与小鼠具有同质性,丢失了原代肿瘤的特性,因此不能客观地反应原代肿瘤的情况。

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81071736)

[作者单位] 515041 广东 汕头,汕头大学医学院肿瘤研究中心(刘情,郑琳,张灏)

[通讯作者] 张灏, E-mail: haozhang@stu.edu.cn

近年来关于患者来源的肿瘤组织移植到免疫缺陷小鼠的模型(patient derived tumor xenograft, PDX)备受关注。PDX模型是指将患者的新鲜肿瘤组织处理后移植到免疫缺陷鼠上,依靠小鼠提供的微环境进行生长,这种模型保留了原代肿瘤的微环境和细胞的基本特性,为研究肿瘤提供了一个很好的体内模型。PDX模型的建立在肿瘤研究中被广泛应用和证实,并逐渐成为研究小鼠肿瘤的金标准。

1 PDX 模型的分类和特点

根据移植部位的不同,PDX主要分为皮下移植、肾包膜下移植和原位移植3类,3类模型均存在各自的优缺点。

1.1 皮下移植 这是最为常用的一种移植方法。患者肿瘤新鲜标本经过处理后移植于免疫缺陷小鼠皮下,移植部位一般位于双侧腹股沟、后侧面,也有种植于前腋窝处。这些部位血供丰富,容易观察和方便定期测量肿瘤大小,特别是研究肿瘤的药物实验过程中能直观观察到肿瘤体积变化情况。皮下移植的成功率相对较低,为40%~60%^[2]。在皮下异种移植模型中,其肿瘤一般局限于皮下成团生长,很少出现转移扩散和转移瘤。

1.2 肾包膜下异种移植 最早是由Wang实验室建立的。将人体新鲜肿瘤移植于免疫缺陷鼠肾包膜下,为研究肿瘤的机制及临床前药物实验开辟了另外一个重要的途径。据报道,肾包膜下移植人来源肿瘤的成功率基本能达到95%以上^[3]。但肾包膜下移植对移植者的技术要求较高,对受体小鼠的手术损伤较大,需要进入腹腔,在肾表面操作,小鼠肾脏较小,肾包膜脆弱,操作容易失败。另外,由于受体小鼠免疫缺陷,容易导致感染,虽然报道的成功率较高,但不排除有未成文发表的较低移植率的可能性。最后,肾包膜下移植不能直观观察肿瘤的大小,也限制了其应用范围。

1.3 原位移植 这是PDX最理想且更加贴近肿瘤微环境的移植方式。这种方法在肝癌、胰腺癌、前列腺癌、乳腺癌和神经胶质瘤^[4-8]的研究中均有报道。在理想状态下,这种移植位点是最理想的。但这种肿瘤移植模型的建立是比较困难的,特别是一些肿瘤,例如消化道肿瘤,因其原位处于消化道腔内,其移植的成活率和成功率都是很低的,因此阻碍了其广泛应用,只限制于某些特殊肿瘤。

2 PDX 模型成功的影响因素

肿瘤的移植成功率受多种因素的影响,移植受体的不同对肿瘤移植成功率的影响不大,然而移植肿瘤标本自身的特性及处理过程却对移植的成功率影响较大。肿瘤标本自身特性包括肿瘤的恶性程度、肿瘤的类型、分化程度及肿瘤分级等。恶性程度高分化程度低的肿瘤移植成功率较高^[9]。另外,肿瘤标本的处理也是影响移植瘤生长的一个重要影响因素。标本的新鲜度及标本离体后到移植之间的时间跨度是影响细胞活性的一个重要因素。除此之外,移植位点也是影响移植成功率的一个重要因素^[10]。

3 PDX 模型对肿瘤研究与治疗的价值和转化意义

3.1 PDX 肿瘤的生物学特性与原代肿瘤之间的关系 PDX是研究人类肿瘤的重要动物模型,但是这种模型能不能代表人类肿瘤而用作研究一直是人们关注的重点。研究人员在将人乳腺癌移植于裸鼠身上并通过苏木素和伊红染色、免疫组化、分子遗传学、基因表达谱等来评价移植肿瘤和原代肿瘤之间的关系,结果显示移植瘤保留了原代肿瘤的生物学特性^[11]。因此,PDX模型是一个稳定、可靠的肿瘤研究模型。不仅如此,在肝癌、结直肠癌、黑色素瘤、食管癌、交界癌中均有对移植肿瘤进行各项生物学检测,也同样证实了PDX移植瘤保持了原代肿瘤的生物学特性,为研究肿瘤学提供准确的动物模型^[11-13]。

3.2 PDX 为寻找肿瘤血管特异表达的基因或分子提供可靠的依据 实体瘤新生血管和正常组织血管内皮细胞在分子水平有所不同^[14],新生血管所表达的各种蛋白分子在静止血管中很少表达或基本不表达。寻找肿瘤血管特异表达的基因或分子,从而进行靶向治疗是近几年来认为最合理也是最具有前景的治疗方法。但是肿瘤血管内皮标志物的研究进展一直很慢,主要原因是有2个方面,一是很难从组织中分离血管内皮细胞,二是体外培养会使细胞丢失组织特异性^[15]。PDX模型的建立使内皮细胞处于体内天然环境为肿瘤血管异质性的研究寻找一种对异种植物有良好组织相容性而又价格低廉的动物模型。

3.3 PDX 模型在药物筛选及个体化治疗中的应用 PDX模型主要有3个作用:一是为肿瘤治疗筛选新型药物提供一个较可靠的体内实验动物模型;其次,是用来检测肿瘤指标是否能作为评估肿瘤

药物治疗疗效关键指标;最后,该模型的建立还可以用于临床前期研究肿瘤的个体化化疗疗效^[2]。这对于肿瘤临床前期评估、治疗和预后有着相当重要的转化意义。

在PDX模型的应用中,最关键也是应用最多的就是药物体内实验。抗肿瘤药物的筛选可分为细胞水平、动物水平和分子水平。很多在进行体外肿瘤细胞敏感性实验有效的药物,在体内却不一定具有抗肿瘤的作用。而荷瘤动物模型对抗肿瘤药物的反应与临床反应基本平行,比体外实验有更高的可靠性^[16]。PDX模型不仅具有动物模型这一特点,还有着更重要的特点,那就是PDX模型能更精确地涵盖人体原始肿瘤的特征,如保持了肿瘤细胞的分化程度、形态特征、结构特点以及分子特性等^[17]。利用PDX特有的特点,Keysar等^[18]研究分析了磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidyl inositol 3-kinase, PI3K)通路在鳞状细胞癌中的表达情况,并通过药物实验证实了PI3K抑制剂可以作为一个候选的治疗结合位点。因此,PDX的这一独特的特点能更好地反映药物的体外实验的准确性,它的建立对于新药的临床前期筛选和试用,减少肿瘤患者痛苦,实现个体化治疗都发挥着举足轻重的作用。

3.4 PDX模型在肿瘤临床研究中药物疗效的评价作用 抗肿瘤药物药效学研究包括体外抗肿瘤实验和体内抗肿瘤实验。评价药物的抗癌活性时,以体内实验结果为主,同时参考体外实验结果以作出正确的结论^[19]。传统的体内实验是将相应的细胞系移植小鼠体内建立模型,由于细胞系无法与原发肿瘤保持一致性,因此所得出的剂量范围、药物疗效将有较大出入。PDX模型则避免了这一缺陷,使得药物抗癌活性的评价更具有可靠性。PDX模型对体内抗肿瘤耐药活性实验和抗肿瘤转移药物实验也同样具有重要的作用。

3.5 PDX为肿瘤研究提供了丰富的资源库 每一种肿瘤的发展结果都有所不同,而同一肿瘤也有许多类型,如肺癌有小细胞肺癌、非小细胞癌、鳞状细胞肺癌等;同一肿瘤于不同患者往往也有不同的结果,治疗方法也不尽相同。由于PDX模型保留了原代患者肿瘤的生物学特性,因此可以为肿瘤的保存和传代提供非常宝贵的研究标本。特别是移植肿瘤的传代,可以为肿瘤研究过程中提供更多可靠的模型。Watahiki等^[20]利用肾包膜下的PDX模型,研究分析前列腺癌相关的已知和未知的miRNA,

并分析这些miRNA和前列腺癌之间的作用;他们还利用传代将已建立的同一个患者来源肿瘤移植成瘤小鼠分为两组,一组是出现转移的,另外一组是没有出现转移的,并分析两者之间miRNA的表达情况,为前列腺癌的治疗寻找新的生物学标记物。利用PDX所建立起来的丰富资源库,人们可以更加深入地了解各类癌症的发展情况,寻找更合适的治疗方法。

4 PDX的不足与展望

4.1 PDX的不足之处 PDX模型在新型药物的筛选、个体化治疗的评估研究上已取得了一定的成效,移植肿瘤保留了原代肿瘤的基本特性和肿瘤微环境,是目前较理想的肿瘤模型。但是,这种模型也有它的缺陷之处,PDX模型虽然模拟了原代肿瘤的生物学特性,能为肿瘤的研究提供体内模拟环境,但是这种模型的建立毕竟不是完全与原代肿瘤相同,而且种植的肿瘤出现转移的情况比较少。如何提高移植肿瘤的微环境相似性和提高原代肿瘤成功率是以后建立恶性肿瘤模型的一个重要的方向。

与细胞异种移植相比,PDX目前仍无法广泛应用的原因还有成本和技术问题。相较于简单的细胞培养,PDX是将肿瘤组织移植在小鼠皮下、肾包膜下等,并且需要维持肿瘤组织的成长,这就需要有一个相当水平的技术支持^[21]。不仅如此,一个完整的具有个体化的肿瘤异种移植模型的建立需要2个月,甚至更长时间,这就使PDX的应用受到了限制^[22]。

4.2 PDX的展望 近年来一些罕见的癌症,如印戒细胞癌,恶性程度高,预后差,且对放化疗不敏感,一直困扰着患者和医生,成为医学界的一大难题。如何更有效地针对不同的肿瘤进行个体化治疗至今仍未找到答案^[23]。长久以来,人们对肿瘤的研究大多集中在癌细胞本身基本结构及功能上的变异,在治疗策略上则主要是针对破坏癌细胞。近年来,人们才逐渐开始重视间质在肿瘤的形成、分化、侵袭与转移中的调节作用,例如研究肿瘤血管的生成和免疫细胞及其产生的细胞因子、旁分泌生长因子、细胞外基质及蛋白酶等,并期望寻找到治疗肿瘤的靶标。PDX模型的建立使这一切成为可能,它更直接、客观地将肿瘤本身、肿瘤生长环境以及发展情况展现出来,为寻找最有效的药物以及个体化治疗方案提供更好的依据。

随着相关知识的不断完善和技术的进步, PDX模型能更大地发挥其在药物筛选、个体化治疗等各个方面的作用以及在新领域的潜能。

【参考文献】

- [1] Dulbecco R. Production of plaques in monolayer tissue cultures by single particles of an animal virus [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1952, 38(8): 747-752.
- [2] Jin K, Teng L, Shen Y, et al. Patient-derived human tumour tissue xenografts in immunodeficient mice: a systematic review [J]. *Clin Transl Oncol*, 2010, 12(7): 473-480.
- [3] Lee CH, Xue H, Sutcliffe M, et al. Establishment of subrenal capsule xenografts of primary human ovarian tumors in SCID mice: potential models [J]. *Gynecol Oncol*, 2005, 96(1): 48-55.
- [4] Huynh H, Ong R, Soo KC. Foretinib demonstrates anti-tumor activity and improves overall survival in preclinical models of hepatocellular carcinoma [J]. *Angiogenesis*, 2012, 15(1): 59-70.
- [5] Walters DM, Lindberg JM, Adair SJ, et al. Inhibition of the growth of patient-derived pancreatic cancer xenografts with the MEK inhibitor trametinib is augmented by combined treatment with the epidermal growth factor receptor/HER2 inhibitor lapatinib [J]. *Neoplasia*, 2013, 15(2): 143-155.
- [6] Swift SL, Rivera GC, Dussupt V, et al. Evaluating baculovirus as a vector for human prostate cancer gene therapy [J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e65557.
- [7] Fleming JM, Miller TC, Meyer MJ, et al. Local regulation of human breast xenograft models [J]. *J Cell Physiol*, 2010, 224(3): 795-806.
- [8] Luchman HA, Stechishin OD, Dang NH, et al. An in vivo patient-derived model of endogenous IDH1-mutant glioma [J]. *Neuro Oncol*, 2012, 14(2): 184-191.
- [9] van Kempen LC, Ruiter DJ, van Muijen GN, et al. The tumor microenvironment: a critical determinant of neoplastic evolution [J]. *Eur J Cell Biol*, 2003, 82(11): 539-548.
- [10] Williams SA, Anderson WC, Santaguida MT, et al. Patient-derived xenografts, the cancer stem cell paradigm, and cancer pathobiology in the 21st century [J]. *Lab Invest*, 2013, 93(9): 970-982.
- [11] Marangoni E, Vincent-Salomon A, Auger N, et al. A new model of patient tumor-derived breast cancer xenografts for preclinical assays [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(13): 3989-3998.
- [12] Dodbibala L, Teichman J, Fleet A, et al. Primary esophageal and gastro-esophageal junction cancer xenograft models: clinicopathological features and engraftment [J]. *Lab Invest*, 2013, 93(4): 397-407.
- [13] El-Rifai W, Harper JC, Cummings OW, et al. Consistent genetic alterations in xenografts of proximal stomach and gastro-esophageal junction adenocarcinomas [J]. *Cancer Res*, 1998, 58(1): 34-37.
- [14] Ruoslahti E. Specialization of tumour vasculature [J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(2): 83-90.
- [15] Augustin HG, Koziar DH, Johnson RC. Differentiation of endothelial cells: analysis of the constitutive and activated endothelial cell phenotypes [J]. *Bioessays*, 1994, 16(12): 901-906.
- [16] 刘华钢, 刘丽敏, 黄慧学, 等. 抗肿瘤中药动物模型及机制研究进展 [J]. *现代生物医学进展*, 2008, 8(7): 1334-1337.
- [17] Boven E, Winograd B, Berger DP, et al. Phase II preclinical drug screening in human tumor xenografts: a first European multicenter collaborative study [J]. *Cancer Res*, 1992, 52(21): 5940-5947.
- [18] Keysar SB, Astling DP, Anderson RT, et al. A patient tumor transplant model of squamous cell cancer identifies PI3K inhibitors as candidate therapeutics in defined molecular bins [J]. *Mol Oncol*, 2013, 7(4): 776-790.
- [19] 中华人民共和国卫生部药政局. 新药(西药)临床前研究指导原则汇编(药理学、毒理学) [M]. 北京: 中华人民共和国卫生部药政局, 1993: 137-139.
- [20] Watahiki A, Wang Y, Morris J, et al. MicroRNAs associated with metastatic prostate cancer [J]. *PLoS One*, 2011, 6(9): e24950.
- [21] Siolas D, Hannon GJ. Patient-derived tumor xenografts: transforming clinical samples into mouse models [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(17): 5315-5319.
- [22] Tentler JJ, Tan AC, Weekes CD, et al. Patient-derived tumour xenografts as models for oncology drug development [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2012, 9(6): 338-350.
- [23] Tabouret T, Dhooge M, Rouquette A, et al. Gastric signet ring cell adenocarcinoma: a distinct entity [J]. *Presse Med*, 2014 [Epub ahead of print].

(收稿日期: 2014-01-25 本文编辑: 冯博)