

临床前肿瘤模型的建立和应用进展

许瀚林^{1,2}, 陈建军², 赵飞², 常艳², 李英奇^{1,2}, 李嫚琪², 何伟伟²

(1 上海工程技术大学化学化工学院, 上海 201620; 2 中国医药工业研究总院, 上海益诺思生物技术股份有限公司, 上海 201203)

[摘要] 癌症一直是威胁人类生命安全的重大疾病之一, 传统的治疗方式无法保证药物针对肿瘤细胞的高效杀伤和治疗后的良好预后, 主要原因是人们对肿瘤及其微环境的了解还不够充分。近年来随着人们对肿瘤研究的不断深入, 肿瘤的发生机制和肿瘤对人体免疫系统的影响成为当下研究的热点, 研究肿瘤细胞的相关机制需要既能够代表人体免疫系统, 又能还原患者肿瘤微环境的临床前肿瘤模型。近年来随着各种临床前肿瘤模型的发展, 包括以患者肿瘤组织来源的异种移植模型(PDX)为代表的体内模型和以类器官芯片为代表的体外模型, 在肿瘤的临床前研究中充当不同的角色并且发挥了各自重要的作用。临床前肿瘤模型作为一种便捷有效的工具, 在探索肿瘤与免疫系统相互作用、临床前抗肿瘤药物的评价、发现免疫治疗的生物标志物等方面发挥着不可替代的作用。

[关键词] 小鼠肿瘤模型; 体外肿瘤模型; 肿瘤微环境; 原代细胞培养

[中图分类号] R969 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2023)10-1021-07

Advances in the establishment and application of preclinical tumor models

XU Han-lin^{1,2}, CHEN Jian-jun², ZHAO Fei², CHANG Yan², LI Ying-qi^{1,2}, LI Man-qi², HE Wei-wei²

(1 College of Chemistry and Chemical Engineering, Shanghai University of Engineering Science, Shanghai 201620, China; 2 China State Institute of Pharmaceutical Industry National, Shanghai InnoStar Bio-Tech Co., Ltd., Shanghai 201203, China)

[Abstract] Cancer has always been a major disease that threatens human lives. Traditional treatment modalities cannot guarantee efficient killing of tumor cells and good prognosis after treatment, mainly because people do not have sufficient understanding of tumors and their microenvironment. In recent years, with the advancement of tumor research, the mechanism of tumorigenesis and the impact of tumors on human immune system have become hot topics of research. Various preclinical tumor models have been developed, including *in vivo* models represented by patient tumor-derived xenograft models (PDX) and *in vitro* models represented by organoid microarrays, which have different functions in preclinical tumor research and play important roles. As a convenient and effective tool, preclinical tumor models play an irreplaceable role in exploring tumor-immune system interactions, preclinical evaluation of anti-tumor drugs, and discovery of biomarkers for immunotherapy.

[Key words] mouse tumor model; *in vitro* tumor model; tumor microenvironment; primary cell culture

恶性肿瘤是目前人类因疾病死亡的主要原因之一, 死亡人数仅次于心血管疾病, 根据 2020 年国际癌症研究机构(IARC)发布的全球癌症统计数据, 全球癌症负担已上升至 1 929 万新发病例和 996 万死

亡病例。然而, 对于癌症传统的研究和治疗显得十分保守——对早期癌症患者的研究中, 研究重心往往放在肿瘤细胞与正常组织细胞不同的表面特征上, 但是肿瘤对患者免疫系统的影响却很少被关注,

[作者简介] 许瀚林, 男, 硕士研究生, 主要从事淋巴 T 细胞相关生物标志物的转化临床研究。E-mail: 2397066097@qq.com。

[通讯作者] 常艳, 女, 研究员, 博士生导师, 主要从事遗传和生殖毒理学研究。联系电话: (021) 60211997, E-mail: ychang@ncdsr.com。

当前的治疗手段(细胞毒化疗、放射治疗、靶向治疗、基因治疗等)主要采用消除肿瘤或阻断致癌途径的方法,虽然对于早期癌症具有令人满意的疗效,但是并不能保证药物对肿瘤细胞的高效靶向和肿瘤消除后的良好预后^[1],治疗期间往往伴随着严重的不良反应。

目前,大量的实验证明,在癌症的早期,免疫系统虽然可以保护个体免受肿瘤发展的影响,但是在免疫细胞识别、杀伤肿瘤细胞的过程中保留了免疫原性较低的肿瘤细胞,最终间接促进了肿瘤的生长——免疫系统对早期肿瘤的双重影响促使我们将癌症免疫监视假说改进为癌症免疫编辑的假说^[2]。关于肿瘤细胞逃脱免疫系统的监视最终发展成恶性肿瘤的机制目前仍不清楚,因此当前应尽快深入研究肿瘤实现免疫逃逸的根本原因,帮助理解不同个体的肿瘤遗传信息和细胞表征的差异对治疗的影响^[3],以改进肿瘤免疫治疗。为此,我们需要一个稳定且能够代表人体肿瘤组织等复杂结构的模型,帮助我们针对肿瘤开发更有效的药物或疗法。

当前动物模型是用于药物开发研究和药物临床前验证的第一选择,在动物肿瘤模型实验中获得的数据,往往用来推测相关临床试验的数据结果,推测的数据与实际的临床数据相比往往会有偏差,甚至出现无法预估的药物反应和毒性^[4]。与动物肿瘤模型相比,体外细胞二维(2D)或三维(3D)共培养

技术无法有效模拟动物体内复杂的组织结构和生理功能^[5-7],阻碍了癌症免疫治疗的过程中药物针对肿瘤细胞作用机制的体外研究^[8],并且体外模型经常会导致细胞在培养过程中经历快速的克隆选择^[8]。现阶段临床前肿瘤模型的弊端限制了临床前肿瘤研究的发展,需要深入研究并不断改进。

为了满足当前药物研发的需求、提高推测临床试验数据的准确性、还原肿瘤微环境、再现人类相关癌症的基因组异质性^[9],发展代表人原发肿瘤结构的临床前肿瘤模型成为当前改进肿瘤模型的重点,临床前肿瘤模型的发展不仅对当下研究肿瘤微环境有重要意义,而且有助于研究肿瘤发生机制与相关基因之间的关系^[10],是未来筛选肿瘤免疫药物和阐明肿瘤发生、突变、转移机制的重要平台^[8]。

最理想的临床前肿瘤模型可以做到完整还原患者原发肿瘤的各种免疫细胞、肿瘤细胞以及细胞因子等肿瘤微环境组成成分,甚至可以通过构建的肿瘤模型表现出与患者肿瘤相同的进展,帮助人们针对患者肿瘤组织的异质性筛选药物,方便临床前药物的安全性评价,最终实现患者的个性化治疗。本综述概括了当前比较有代表性的小鼠和体外模型(部分临床前动物肿瘤模型见表1),描述了不同临床前肿瘤模型的优势和局限性,并对当前临床前模型在肿瘤方面的应用进展进行了概述。

表1 常见的临床前肿瘤模型分类及相关信息

模型种类	建模方法	优点	缺点
人源化免疫小鼠肿瘤移植模型	在免疫缺陷小鼠体内重建人免疫系统,再进行肿瘤移植	较成熟的人免疫系统 还原更高的肿瘤微环境	材料、技术复杂 细胞分化周期长
基因工程小鼠模型	通过对小鼠进行基因工程改造建立自发性肿瘤模型	原位肿瘤 肿瘤的自然诱发 完整的免疫系统	耗时且昂贵 非预期的基因随机整合引起的继发性肿瘤变异 非人体免疫系统
非种系基因工程小鼠模型	将基因修饰后的胚胎干细胞植入正常胚胎中,可观察对应组织细胞的癌变 ^[11]	高于基因工程小鼠的肿瘤 自然诱发 完整的免疫系统	高重复、低个体间差异 对肿瘤研究的针对性更强
非人体免疫系统人源基因敲入小鼠模型	将小鼠基因替换为人同位点基因,即基因人源化	与基因工程小鼠模型类似 人源靶点	低肿瘤突变负荷 非人体免疫系统
肿瘤细胞系异种移植模型	将经过体外培养的肿瘤细胞系移植到免疫缺陷小鼠体内	重现遗传性肿瘤的复杂性 反映肿瘤的进展	非健全的免疫系统 不能还原原发肿瘤微环境的复杂程度
患者肿瘤组织异种移植模型	将活检获得的肿瘤组织移植到免疫缺陷小鼠体内	重现人体肿瘤微环境结构和遗传复杂性	非健全的免疫系统 肿瘤与个体之间是非种属特异性相互作用

1 临床前动物肿瘤模型

1.1 人源化免疫小鼠肿瘤移植模型

当前人源化小鼠肿瘤模型的主要优势是小鼠体内有较成熟的人免疫系统,该模型广泛应用于观察药物(如免疫检查点抑制剂)对人免疫系统的激活作用和抗肿瘤效果的积极预后,还可用于评价药物调节人免疫系统的安全性。该模型使用辐射小鼠或高度免疫缺陷小鼠,通过注射纯化后的人 CD₃₄⁺脐带血细胞或人外周血单个核细胞(PBMC)重建人的免疫系统,在此基础上,将人的肿瘤细胞或肿瘤组织植入小鼠体内,最终使小鼠同时具有人的肿瘤组织和免疫系统^[12-15]。通过基因修饰使小鼠原有的免疫系统发育受阻形成高度免疫缺陷小鼠,可以避免亚致死 γ 辐射处理给小鼠个体造成的不良影响,如对小鼠的 γ 链相关基因进行修饰后建立的核苷酸结合寡聚化结构域(NOD)/严重联合免疫缺陷病(SCID)/白细胞介素-2(IL-2)受体 γ 链无效(NOD/SCID/IL-2 receptor γ chain^{null})小鼠模型,更完全地阻断了 γ 链相关细胞因子受体信号的传导^[16],导致小鼠本身的免疫系统发育不健全,高度免疫缺陷小鼠模型为后续人源化小鼠肿瘤模型的构建提供了新思路,有利于进一步提高免疫检查点抑制剂对肿瘤抑制作用的评估和观察药物对人免疫系统影响的数据可靠性。

构建人源化免疫小鼠肿瘤移植模型,最主要的限制在于无法长期维持小鼠的存活或者小鼠体内人免疫系统的稳定,并且物种之间的差异性会导致SCID;患者的细胞与对应的高度免疫缺陷小鼠模型的细胞相比,在细胞因子信号传导方面仍有细微差异,以上差异可能会对人源化小鼠肿瘤移植模型在肿瘤构建过程中造成影响。

1.2 小鼠肿瘤模型

小鼠肿瘤模型的构建方式主要分为:①通过基因敲除/基因导入等技术对小鼠的基因进行修饰,诱导其产生肿瘤。②将人的肿瘤细胞/组织移植入免疫缺陷的小鼠体内,使植入小鼠体内的肿瘤在结构和表征等方面类似于人原发肿瘤。目前移植小鼠肿瘤模型在临床前抗肿瘤药物研究等方面获得了更广泛的应用——以患者肿瘤组织来源的小鼠异种移植模型(PDX)为代表,临床前动物肿瘤模型对于探究肿瘤微环境、筛选抗肿瘤药物、发现潜在的生物标志物等方面具有不可替代的作用,除此之外,不同的小鼠肿瘤模型在各自应用的领域发挥着无法替代的

作用。

1.2.1 基因工程小鼠模型(GEMM) GEMM是通过显微注射技术将小鼠受精卵中导入外源基因片段或者利用基因重组使受精卵中相关肿瘤抑制基因不表达,由该受精卵成长为小鼠个体的肿瘤模型。通过系统地、重复地比较基因工程小鼠模型中相关癌基因和抑癌基因是否表达对肿瘤发生的影响,可以更直观地比较出不同癌症发生机制以及期间各细胞因子相互作用的关系;同时敲除免疫相关基因还能加速肿瘤的生成^[1],进一步对人免疫系统对肿瘤发展的作用作出相关推理和猜想。

该类型小鼠模型的优势在于,该模型拥有完整的小鼠免疫系统,而移植小鼠肿瘤模型为避免人类肿瘤受到小鼠免疫系统排斥,通常要使用免疫缺陷小鼠,限制了移植模型研究在免疫疗法中的应用,该类小鼠模型为移植小鼠肿瘤模型进行了补充。基因工程小鼠不仅拥有完整的免疫系统,并且在肿瘤发生过程中肿瘤细胞还经历了免疫编辑的过程,该过程概括了人类癌症从最早病变到转移的遗传和组织病理学进展,对于发现免疫治疗药物相关研究具有特殊的价值^[17]。

1.2.2 非种系基因工程小鼠模型(nGEMM) 与小鼠个体所有组织细胞同时受到基因工程技术影响的GEMM不同,nGEMM更侧重于对小鼠的部分器官或组织进行癌变分析,该模型将基因修饰后的细胞植入小鼠个体,通过观察细胞经过基因修饰后的癌变过程及与周围正常组织细胞的相互作用,更自然地模拟出肿瘤细胞变异的过程。目前,已经实现多种器官的nGEMM构建^[11],从原理上讲,该模型提高了基因工程小鼠在肿瘤发生、转移等临床前研究的广泛性,尽管原有的GEMM在肿瘤各种阶段的研究都有很大的价值,但是GEMM个体肿瘤的发生往往具有随机性,难以对某种癌症进行针对性研究,nGEMM不仅满足了动物实验的高重复性,而且可以控制肿瘤细胞注射部位,以实现对不同种类的癌症进行研究。

1.2.3 人源基因敲入小鼠模型 该模型将小鼠的靶基因敲除后再用人类等位基因替换,通过用人基因替换掉等位鼠基因,观察基因替换后对小鼠模型免疫系统等方面的影响,人鼠等位基因替换后对个体的影响是细微的却是十分重要的,甚至在肿瘤发生原因和机制的研究中起决定作用,该模型有利于抗肿瘤药物临床前的评估^[2]。替换的基因序列往

往是高度保守的并且基因片段的选择有限,但是该类模型是对人源化小鼠的一次尝试。根据用途不同,一方面该模型可以研究人鼠之间免疫基因表达相同但是免疫细胞发育过程不同对免疫细胞的影响,加深对免疫细胞分化的理解;另一方面,该模型在研究肿瘤免疫相关机制时还可观察人源基因对肿瘤的影响,增进对肿瘤免疫机制的研究^[2]。Jinnouchi 等^[18]证明,人类信号调节蛋白 α (SIRPA)敲入小鼠是分析肿瘤与个体作用的优秀模型,该模型表明了相关基因对肿瘤异种移植小鼠模型构建的强烈相关性。这些数据表明,人源化小鼠有助于建立未来的异种移植实验,对于分析人体免疫细胞的发育、肿瘤的发生更加直观,是用于推断后续研究该相关基因对人体肿瘤发生等影响很好的模型。

1.2.4 肿瘤细胞系异种移植(CDX)模型 肿瘤移植小鼠模型是将肿瘤植入免疫缺陷小鼠个体构建的模型,根据肿瘤来源的物种不同,通常将肿瘤移植小鼠模型分为同种移植模型(allograft transplantation model)和异种移植模型(xenograft transplantation model),即原发肿瘤来源于小鼠还是人/患者的肿瘤细胞系——CDX。

对原代肿瘤细胞进行人工培养,将肿瘤细胞系注入免疫缺陷小鼠体内构建的小鼠肿瘤模型为 CDX 模型,该模型不仅在肿瘤的生长、肿瘤细胞增殖和体内药物筛选上应用广泛,而且在肿瘤发生和转移的基础研究以及药物开发中发挥着重要作用。CDX 模型构建过程中植入的是肿瘤细胞系,原代肿瘤细胞在体外培养的过程中不断增殖产生子代肿瘤细胞,培养期间细胞受人工培养环境的影响,经历多次细胞传代以后,肿瘤细胞的组织学和遗传学特征可能发生了改变,在构建的 CDX 模型中,肿瘤组织异质性已不同于原发肿瘤组织,因此建立稳定的 CDX 模型对于推进肿瘤学研究至关重要。虽然已有研究说明利用乳腺癌肿瘤细胞系构建的 CDX 模型用于生物标志物检测研究时,病理学家们靠当前手段无法有效区分出 CDX 模型和患者原发肿瘤相关数据的区别——在适当的管理环境下,支持 CDX 肿瘤模型用于相关生物标志物的研究^[19],但是仍需要实验室人员鉴定细胞系并详细记录,以保证肿瘤细胞遗传信息的还原。若能保证满足上述要求,该类模型可以保证肿瘤细胞供应充足而且在小鼠体内移植的高成功率。CDX 模型个体之间肿瘤组织的高度一致和极小的小鼠个体间差异,有助于相关研

究实现规模化、可重复性、系统性。

CDX 模型的另一个明显的优势在于该模型可以应用于循环肿瘤细胞(circulating tumor cell,CTC)体内模型的建立,促进人们对肿瘤转移机制的研究^[13],同时有利于观察不同阶段肿瘤组织对个体的影响^[20],甚至可以尝试结合 CTC 原代培养技术构建出相关 CDX 实体瘤模型以促进肿瘤转移及侵袭的相关机制研究。

1.2.5 患者来源的 PDX 模型 PDX 模型是将活检或手术获得的肿瘤组织植入免疫缺陷小鼠,肿瘤组织在小鼠体内生长进而构建成模型,作为基础和转化研究的强大平台,PDX 模型促进了肿瘤微环境等研究的进展。PDX 模型被认为是最接近临床的动物肿瘤模型,在保证长期传代稳定的前提下,PDX 模型从组织病理学和分子特征方面与患者原发肿瘤保持了高度还原,即肿瘤的分子和细胞特征以及遗传学特征与原发肿瘤的对应生物学特征密切相关^[21],为该模型在肿瘤微环境等的研究提供了可能性^[22-23]。CDX 模型的肿瘤细胞系因为经历了体外人工培育,患者肿瘤微环境的异质性已经无法还原,而 PDX 模型和原发肿瘤的遗传学、形态学、分析结果对比显示出很强的相似性,证实了这类模型的临床前应用价值^[21]。

但是 PDX 模型有明显的缺点。首先,PDX 模型建立成功率比较低,可能原因是该模型移植成功率受到肿瘤组织碎片大小和植入位置的影响^[24];其次,PDX 模型培养周期比较长,最主要的是肿瘤组织样本来源少,无法满足人们对抗肿瘤药物快速筛选的需求。因此,尽管 PDX 模型在肿瘤结构等方面保证了高度还原,但是利用动物模型进行的新药临床前安全性评估往往对肿瘤模型的数量和肿瘤的发展阶段有较高要求,导致现阶段 PDX 模型在临床前肿瘤相关研究中应用较少。

2 临床前体外肿瘤模型

近年来临床前体外肿瘤模型逐渐发展成为强大的临床前模型,不同类型的临床前体外模型通过模拟人体器官的生理结构和功能,对小鼠肿瘤模型在临床前转化研究和高通量药物筛选等方面的不足进行了补充。体外模型利用人器官关键细胞模拟出动物模型不具有的人体组织、肿瘤微型结构,并且努力以更加精确和更接近人体内药物发挥作用的机制确定药物靶点^[4]。但是,目前就人肿瘤组织复杂性来讲,体外肿瘤模型的构建尤其是多器官模型的联合

研究还需要各行业专家共同讨论并密切配合。

2.1 条件重编程 (CR) 原代肿瘤细胞培养

肿瘤细胞的培养和异质性的维持是体外模型构建的关键,以活检肿瘤组织为来源的 CR 细胞培养技术广泛应用于不同种类原代细胞的培养,其核心是在加入 Rho 相关激酶抑制剂的培养基中将肿瘤细胞与辐射的小鼠成纤维 J2 细胞(饲养细胞)共培养,该技术实现了原发癌细胞快速增值^[25-26]。CR 培养后的肿瘤细胞不仅保持了原代肿瘤细胞遗传信息和染色体的稳定,而且与原发肿瘤相比,细胞本身的分子特征和肿瘤内部异质性也表现出了高度还原,因此 CR 细胞在筛选潜在的治疗靶点、进行临床前抗肿瘤药物的评价等研究中具有很高的应用潜力。CR 很好地代表了原代肿瘤细胞,不仅可以用于识别肿瘤特异性靶点帮助肿瘤患者治疗、诊断、预后分析,还可以用于高通量药物筛选以及多种临床前肿瘤模型的改进^[27]。

2.2 患者衍生的类器官模型 (PDO)

在过去的 10 年里,人们建立了患者衍生的 PDO,这是一种维持正常组织和/或肿瘤细胞异质性的 3D 细胞培养模型系统,与 2D 细胞培养技术相比,该技术在细胞表型和基因图谱上具有与原发肿瘤更高的相关性和相似性^[24],利用该模型的药物反应实验数据帮助我们更准确地对临床试验数据进行了预测。此外,该模型可以在较短时间内进行药物筛选以加快个性化治疗方案的设计,以 PDO 模型为基础的药物实验信息有利于改善个性化治疗方案,减少肿瘤耐药性出现的可能。以上优势说明了该模型可以作为肿瘤研究平台进行更大范围的研究,补充现有动物模型的不足,更方便观察肿瘤的生物特征和药物对肿瘤治疗的潜在影响^[24]。

2.3 类器官芯片技术 (OOC)

在上述体外模型的基础上,以 OOC 为基础构建的肿瘤病理模型显示出广泛的应用前景,该技术是利用微通道和微流体系统在体外培养天然复杂结构生物组织的新兴技术。相对于动物肿瘤模型,该方法对细胞进行精密地排列并操纵各种流体和化学参数,在维持细胞形态、还原组织特征等方面提供可控的人工培养条件^[4]。动物模型具有与人类相当的组织复杂性,但是动物模型无法再现人体原发肿瘤和免疫细胞的相互作用,OOC 致力于以更小规模模拟关键组织的组织细胞结构和功能,用于体外肿瘤研究,并且用更小的空间展现出肿瘤对人体组织或者器

官的影响——众多文献报道,人们初步实现了联合多个类器官芯片模仿人体系统用于研究不同器官之间的相互作用(类器官联合芯片, multi-on-a-chip)^[28]。OOC 有利于更全面地研究肿瘤对人体的影响,减少药物应用于临床试验时数据评估的误差。类器官芯片技术可以有效地纳入从早期药物发现到新药物临床前筛选、测试和转化的药物开发管道,弥合了动物研究和涉及人体的临床试验之间的差距。

尽管体外肿瘤模型类型多样且发展迅速,但是其弊端明显且无法短期内有效解决,人类系统的复杂性目前还有许多未知的结构、机制等需要探索,还有许多技术挑战需要解决。利用类器官联合芯片技术培养的细胞初步表现出了人体内相关细胞的功能,但是人体器官和类器官芯片之间的复杂性和构建材料明显不同,芯片构建时也面临组织还原度不够等问题,目前仍需要继续研究细胞的分化、成熟机制,促进临床前体外肿瘤模型的发展。

3 临床前肿瘤模型的应用进展

相较于 20 世纪,当今临床前肿瘤模型建模技术和模型种类获得了十足的发展。正如前文所述,我们构建的临床前肿瘤模型不仅对人类肿瘤结构、肿瘤微环境、肿瘤发病机制及对人体影响更具有代表性,还能在一定程度上预估药物影响,规避临床试验的危险性。

3.1 肿瘤的发生及晚期实体瘤的研究

近几十年来,不仅在实体瘤小鼠模型上有了长足的进步,科学家们还通过基因重组技术构建出更容易、更准确反映癌变的血液瘤小鼠肿瘤模型^[29],配合流式细胞术检测小鼠癌变时个体细胞相关抗原种类变化,帮助我们研究血液瘤发病机制和治疗方法^[30-31]。无独有偶,另一种以病毒为载体诱导小鼠相关细胞遗传物质改变而产生肿瘤的模式也在揭示着更有代表性的患者癌变的自然诱导的真实环境^[30]。以 GEMM 为代表的血液瘤小鼠肿瘤模型的改进弥补了移植型血液瘤小鼠肿瘤模型建模复杂困难的短板,在癌症药物尤其是抗白血病药物的筛选上发挥了无可替代的作用。

晚期实体瘤的转移性研究表明,治疗困难主要在于晚期实体瘤的异质性和肿瘤细胞的高转移率。当前的 CTC 体外分析技术直观地展示了发现潜在的治疗性生物标志物和体外培养转移性肿瘤细胞的可能性,可以帮助我们对晚期肿瘤的动态变化和肿瘤细胞转移有更加深入的了解,通过全基因组扩

增和靶向突变测序进一步证明单个肿瘤细胞的分子特征是表征肿瘤整体复杂性和识别肿瘤耐药性的有用工具^[32]。利用 CTC 体外模型培养的衍生肿瘤细胞建立的 CDX 模型,为那些已经无法接受手术的患者提供了一个生成临床前模型的可能,此外通过 CTC 体外培养还可以培养出不同阶段的肿瘤模型,进一步概括肿瘤的发展过程,有利于针对患者的肿瘤进展提供独特的分析思路。

3.2 研究产生药物耐受性的原理

药物耐受性是抗肿瘤药物治疗癌症的障碍之一,目前已知的药物中,能做到从动物模型到肿瘤临床试验都具有很高活性的仅占 8% 左右^[33],动物实验过程中出现的药物耐受性是一大原因,为理解出现耐药性的分子相关机制,已有相关实验在 GEMM 中进行了固有耐药机制和获得性耐药机制的相关研究。与原发肿瘤相比,由肿瘤组织构建的异种移植小鼠模型在肿瘤结构等方面具有很高的还原度,在抗血管生成药物的耐药机制研究中发挥着重要的作用^[34]。基因工程类小鼠模型很好地概括了肿瘤发生、进展的显著特征,并且属于可以多次癌变的动物肿瘤模型,在该类研究中更能代表自然状态下的肿瘤状态,因此耐药性研究上以该类小鼠肿瘤模型为主的研究集中在基因对肿瘤和个体耐药性的影响。例如,在人类 *BRCA1* 缺陷的乳腺肿瘤小鼠中可以更好地发现人不同基因缺陷对抗肿瘤药物敏感性的影响。此外,以该模型为基础的实验还支持在临床试验中预测肿瘤相关生物标志物,这些标志物表明肿瘤是否受到药物诱导的 DNA 损伤的影响,有利于后续实验对于靶向药物治疗机制的进一步探索、分析肿瘤逃脱靶向治疗和免疫抑制的机制,帮助晚期癌症患者治疗并提高成功率。

3.3 临床前个性化治疗的研究

众多研究显示,PDX 模型表现出了与原发肿瘤组织高度的相似性,以乳腺癌作为原发肿瘤组织来源的 PDX 模型表现出了与原发肿瘤相同的转移机制^[35],PDX 模型在精准靶向治疗的研究中具有极大的潜力^[36-37],是当前推进个性化治疗药物发展的优秀模型。但是也有研究指出,因为 PDX 模型不具备人的免疫系统,进行免疫检查点抑制剂等对人体免疫系统有影响的药物作用实验时,只通过 PDX 模型很难对上述药物的疗效进行全面评估^[38]。所以当前 PDX 模型在个性化治疗的研究中应用仍十分有限,当进行免疫检查点抑制剂类以及其他对免疫系

统有影响的药物实验时,要优先考虑人源化免疫小鼠肿瘤移植模型^[39]。

4 结语

近年来多种临床前肿瘤模型不仅帮助我们在实际应用中提高了抗癌药物的药物反应预测准确性,还帮助我们更全面地了解人体免疫系统反应机制,为后续构建更有代表性的人免疫系统的肿瘤模型(人源化小鼠肿瘤移植模型或体外模型)打下了基础。临床前肿瘤模型的最高目标是构建出完全代表人原发肿瘤结构、肿瘤微环境以及人免疫系统的模型,能够通过肿瘤模型观察肿瘤对个体的影响,告诉人们如何启动抗癌免疫反应,进一步推断出进行免疫治疗后的临床反应,甚至取代临床试验。目前的进度并不能达到这一要求,仍有许多挑战,后续的研究仍需在建立完整肿瘤结构和肿瘤微环境的模型、模拟肿瘤相关免疫反应(如人体慢性炎症症状)等问题上努力,对于该系列问题仍需不断地研究并改进。随着各临床前肿瘤模型的发展,肿瘤模型将更好地代表患者肿瘤的异质性和病情进展,人源化小鼠肿瘤移植模型将会更加完善。临床前肿瘤模型发展的最终结果无论是构建出动物模型还是体外模型,都能完全代表患者肿瘤异质性和个体免疫系统特异性,帮助我们在肿瘤潜在靶点的研究、个性化治疗药物的筛选等方面获得更接近临床试验的相关数据,甚至消除临床前试验与临床试验之间的偏差。

[参 考 文 献]

- [1] ZITVOGEL L, PITT JM, DAILLÈRE R, *et al.* Mouse models in oncoimmunology[J]. *Nat Rev Cancer*, 2016, 16(12): 759-773.
- [2] WEN XS, RAO P, CARREÑO LJ, *et al.* Human CD1d knock-in mouse model demonstrates potent antitumor potential of human CD1d-restricted invariant natural killer T cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(8): 2963-2968.
- [3] KIM M, MUN H, SUNG CO, *et al.* Patient-derived lung cancer organoids as *in vitro* cancer models for therapeutic screening[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 3991.
- [4] JUNG J, KIM J, LIM HK, *et al.* Establishing a colorectal cancer liver metastasis patient-derived tumor xenograft model for the evaluation of personalized chemotherapy[J]. *Ann Surg Treat Res*, 2017, 93(4): 173-180.
- [5] DE WOLF C, VAN DE BOVENKAMP M, HOEFNAGEL M. Regulatory perspective on *in vitro* potency assays for human T cells used in anti-tumor immunotherapy[J]. *Cytotherapy*, 2018, 20(5): 601-622.
- [6] PARLATO S, DE NINNO A, MOLFETTA R, *et al.* 3D Microfluidic model for evaluating immunotherapy efficacy by tracking dendritic cell behaviour toward tumor cells[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 1093.
- [7] SHERMAN H, GITSCHIER HJ, ROSSI AE. A novel three-dimensional immune oncology model for high-throughput testing of tumoricidal activity[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 857.
- [8] CHEN QF, WANG JX, LIU WN, *et al.* Cancer immunotherapies

- and humanized mouse drug testing platforms[J]. *Transl Oncol*, 2019, 12(7): 987 - 995.
- [9] OLSON B, LI YD, LIN Y, *et al.* Mouse models for cancer immunotherapy research[J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(11): 1358 - 1365.
- [10] AUGUSTO DG. The impact of KIR polymorphism on the risk of developing cancer: not as strong as imagined? [J]. *Front Genet*, 2016, 7: 121.
- [11] HEYER J, KWONG LN, LOWE SW, *et al.* Non-germline genetically engineered mouse models for translational cancer research[J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(7): 470 - 480.
- [12] 李爽, 邹建玲, 鲁智豪, 等. 免疫系统人源化小鼠模型的建立、应用及挑战[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2017, 9(10): 15 - 20.
- [13] SANMAMED MF, RODRIGUEZ I, SCHALPER KA, *et al.* Nivolumab and urelumab enhance antitumor activity of human T lymphocytes engrafted in Rag2-/-IL2R γ null immunodeficient mice [J]. *Cancer Res*, 2015, 75(17): 3466 - 3478.
- [14] MORTON JJ, BIRD G, KEYSAR SB, *et al.* XactMice: humanizing mouse bone marrow enables microenvironment reconstitution in a patient-derived xenograft model of head and neck cancer [J]. *Oncogene*, 2016, 35(3): 290 - 300.
- [15] WILLINGHAM SB, VOLKMER JP, GENTLES AJ, *et al.* The CD47-signal regulatory protein alpha (SIRPa) interaction is a therapeutic target for human solid tumors[J]. *PNAS*, 2012, 109(17): 6662 - 6667.
- [16] SPRANGER S, FRANKENBERGER B, SCHENDEL DJ. NOD/scid IL-2R γ (null) mice: a preclinical model system to evaluate human dendritic cell-based vaccine strategies *in vivo* [J]. *J Transl Med*, 2012, 10: 30.
- [17] LEE JW, KOMAR CA, BENGSCHE F, *et al.* Genetically engineered mouse models of pancreatic cancer: the KPC model (LSL-Kras(G12D/+); LSL-Trp53(R172H/+); Pdx-1-cre), its variants, and their application in immuno-oncology drug discovery [J]. *Curr Protoc Pharmacol*, 2016, 73: 1 - 20.
- [18] JINNOUCHI F, YAMAUCHI T, YURINO A, *et al.* A human SIRPA knock-in xenograft mouse model to study human hematopoietic and cancer stem cells[J]. *Blood*, 2020, 135(19): 1661 - 1672.
- [19] HASAN T, CARTER B, DENIC N, *et al.* Evaluation of cell-line-derived xenograft tumours as controls for immunohistochemical testing for ER and PR[J]. *J Clin Pathol*, 2015, 68(9): 746 - 751.
- [20] PRASANNA BK, BALAKRISHNAN A, KUMAR P. Circulating tumor cell clusters and circulating tumor cell-derived explant models as a tool for treatment response [J]. *Bio Techniques*, 2020, 69(1): 362 - 363.
- [21] TABBÒ F, GUERRERA F, VAN DEN BERG A, *et al.* Kinomic profiling of tumour xenografts derived from patients with non-small cell lung cancer confirms their fidelity and reveals potentially actionable pathways[J]. *Eur J Cancer*, 2021, 144: 17 - 30.
- [22] INVREA F, ROVITO R, TORCHIARO E, *et al.* Patient-derived xenografts (PDXs) as model systems for human cancer[J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2020, 63: 151 - 156.
- [23] PHAM NA, RADULOVICH N, IBRAHIMOV E, *et al.* Patient-derived tumor xenograft and organoid models established from resected pancreatic, duodenal and biliary cancers [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 10619.
- [24] PHAM NA, RADULOVICH N, IBRAHIMOV E, *et al.* Patient-derived tumor xenograft and organoid models established from resected pancreatic, duodenal and biliary cancers [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 10619.
- [25] 段剑礼, 王自峰, 杨伟娇, 等. 利用条件性重编程细胞技术构建前列腺癌原代细胞库[J]. 中华泌尿外科杂志, 2020, 41(5): 374 - 381.
- [26] LIU XF, KRAWCZYK E, SUPRYNOWICZ FA, *et al.* Conditional reprogramming and long-term expansion of normal and tumor cells from human biospecimens[J]. *Nat Protoc*, 2017, 12(2): 439 - 451.
- [27] ZHONG MJ, FU LW. Culture and application of conditionally reprogrammed primary tumor cells [J]. *Gastroenterol Rep (Oxf)*, 2020, 8(3): 224 - 233.
- [28] ASHAMMAKHI N, WESSELING-PERRY K, HASAN A, *et al.* Kidney-on-a-chip: untapped opportunities [J]. *Kidney Int*, 2018, 94(6): 1073 - 1086.
- [29] MILNE TA. Mouse models of MLL leukemia; recapitulating the human disease[J]. *Blood*, 2017, 129(16): 2217 - 2223.
- [30] SINHA R, PORCHERI C, D'ALTRI T, *et al.* Development of embryonic and adult leukemia mouse models driven by MLL-ENL translocation[J]. *Exp Hematol*, 2020, 85: 13 - 19.
- [31] 吴方恬, 徐卫, 李建勇. 人慢性淋巴细胞白血病转基因动物模型研究进展[J]. 中国实验血液学杂志, 2017, 25(1): 259 - 263.
- [32] HODGKINSON CL, MORROW CJ, LI YY, *et al.* Tumorigenicity and genetic profiling of circulating tumor cells in small-cell lung cancer[J]. *Nat Med*, 2014, 20(8): 897 - 903.
- [33] 葛晨涛, 付彩云. 常见髓系白血病小鼠模型的研究进展[J]. 生物医学工程学杂志, 2019, 36(5): 885 - 892.
- [34] JIMÉNEZ-VALERIO G, MARTÍNEZ-LOZANO M, BASSANI N, *et al.* Resistance to antiangiogenic therapies by metabolic symbiosis in renal cell carcinoma PDX models and patients [J]. *Cell Rep*, 2016, 15(6): 1134 - 1143.
- [35] DEROSE YS, WANG GY, LIN YC, *et al.* Tumor grafts derived from women with breast cancer authentically reflect tumor pathology, growth, metastasis and disease outcomes [J]. *Nat Med*, 2011, 17(11): 1514 - 1520.
- [36] CHO SY, KANG W, HAN JY, *et al.* An integrative approach to precision cancer medicine using patient-derived xenografts [J]. *Mol Cells*, 2016, 39(2): 77 - 86.
- [37] YADA E, WADA S, YOSHIDA S, *et al.* Use of patient-derived xenograft mouse models in cancer research and treatment [J]. *Future Sci OA*, 2017, 4(3): FSO271.
- [38] HIDALGO M, BRUCKHEIMER E, RAJESHKUMAR NV, *et al.* A Pilot Clinical Study of Treatment Guided by Personalized Tumorgrafts in Patients with Advanced Cancer [J]. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2011, 10(8): 1311 - 1316.
- [39] 广东省药学会. 免疫检查点抑制剂全程化药学服务指引(2019年版)[J]. 今日药学, 2020, 30(5): 289 - 306.

编辑:蒋欣欣/接受日期:2022-05-27