

原发性脑肿瘤的临床前疾病模型研究进展

梁志远^{1,2}, 黄芝瑛², 耿兴超¹, 林志¹, 屈哲¹

(1 中国食品药品检定研究院国家药物安全评价监测中心/药物非临床安全评价研究北京市重点实验室, 北京 100176; 2 中山大学药学院, 广州 510006)

[摘要] 原发性脑肿瘤是起源于中枢神经系统细胞的一组异质性肿瘤。常见的恶性原发性脑肿瘤患者的治愈率和存活期均较低,其治疗手段和治疗效果也相当有限。因此,需要构建合适的肿瘤模型来研究疾病的分子生物学基础、新型抗肿瘤药物和/或治疗方法的临床前药效学和安全性评价。本文总结了原发性脑肿瘤体内和体外模型的研究进展。体外模型主要包括脑肿瘤细胞株培养、类器官培养以及脑切片模型;体内模型主要包括啮齿类动物模型以及其他模式生物,如果蝇、斑马鱼。目前已经开发了许多各具优缺点的原发性脑肿瘤疾病模型,但这些模型尚不能完全模拟人体内脑肿瘤的复杂情况。因此,研究者们也在现有基础上不断开发更加复杂的疾病模型用于研究原发性脑肿瘤的治疗、药物筛选和评价。

[关键词] 原发性脑肿瘤;体内模型;体外模型;类器官;模式生物

[中图分类号] R965.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2023)08-0787-06

Research progress in the preclinical disease model for primary brain cancer

LIANG Zhi-yuan^{1,2}, HUANG Zhi-ying², GENG Xing-chao¹, LIN Zhi¹, QU Zhe¹

(1 Beijing Key Laboratory for Safety Evaluation of Drugs, National Center for Safety Evaluation of Drugs, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100176, China; 2 School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] Primary brain cancer is a heterogeneous group of tumors arising from cells within the central nervous system. The cure rate and survival period of patients with common malignant primary brain cancers are low, and their treatment methods and therapeutic effects are also quite limited. Therefore, it is necessary to construct appropriate tumor models to study the molecular biology of the disease, preclinical pharmacodynamic and safety evaluation of new anti-tumor drugs and/or the therapeutic methods. This review summarizes the research progress of *in vitro* and *in vivo* models of primary brain cancer. *In vitro* models mainly include the culture of brain cancer cell line, organoids and the brain slices. *In vivo* models mainly include the rodent models and other model organisms such as the fruit fly and zebrafish. At present, lots of primary brain cancer disease models with their own advantages and disadvantages have been developed, but these models cannot fully simulate the complexities of brain tumors in humans. Therefore, researchers are developing more complex disease models based on the existing models to study the primary brain tumor treatment methods, screen and evaluate therapeutic drugs.

[Key words] primary brain cancer; *in vitro* models; *in vivo* models; organoids; model animal

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项资助项目:创新药物非临床安全性评价研究关键技术(2018ZX09201017)

[作者简介] 梁志远,男,硕士研究生,研究方向:药物非临床安全性评价。E-mail:liangzhy25@mail2.sysu.edu.cn。

[通讯作者] 屈哲,女,副研究员,研究方向:药物非临床安全性评价。联系方式:(010)67872233-8210,E-mail:quzhe@nifdc.org.cn。林志,女,研究员,研究方向:药物非临床安全性评价。联系方式:(010)67872233-8210,E-mail:linzhi@nifdc.org.cn。

原发性脑肿瘤是指因中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 内细胞癌变导致的一大类癌症,含有超过 100 种组织病理学上截然不同的子类,每种子类的流行病学、临床特征、治疗方法以及疾病终点都不尽相同。最常见的原发性脑肿瘤是神经胶质瘤、脑膜瘤、垂体腺瘤、听神经瘤、淋巴瘤原发性中枢神经系统和原始(髓母细胞瘤)神经外胚层肿瘤。根据 WHO 于 2020 年的统计,185 个国家原发性脑肿瘤的发病率在所有癌症中仅占 1.6% (308 102 例)^[1]。但因为有血脑屏障 (blood-brain barrier, BBB) 的存在,化疗药物很难通过循环系统进入病灶,导致对原发性脑肿瘤的治疗收效甚微。一旦被发现有脑肿瘤,患者的负担会显著提升。并且脑肿瘤具有较高的致死率,据报道,在被诊断患有恶性脑肿瘤的患者中,仅有 1/3 能够存活 5 年以上^[2]。因此,为了延长脑肿瘤患者的存活时间以及提高患者生活质量,需要对原发性脑肿瘤进行基础的生物学研究以及开发相应的治疗手段,而这些研究离不开原发性脑肿瘤疾病模型的构建和开发。

理想的原发性脑肿瘤疾病模型应具备以下特征:① 基因背景与人的脑肿瘤相似。② 肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 与人的脑肿瘤内微环境相似。③ 与人的脑肿瘤具有类似的异质性。④ 造模程序标准化且具有重现性。⑤ 经济实用^[3]。本综述将从体外模型、体内模型这 2 方面叙述原发性脑肿瘤模型的研究进展,详细阐述各类原发性脑肿瘤模型的构建方法、应用领域以及优缺点。

1 原发性脑肿瘤的体外模型

原发性脑肿瘤的体外模型相较于体内模型来说,能够通过调整肿瘤的外环境来探究疾病的分子机制,甚至还可以通过添加免疫细胞来探究 TME 的状况。常见的原发性脑肿瘤体外模型有脑肿瘤细胞株培养、3D 类器官培养以及器官型脑切片培养模型等。

1.1 脑肿瘤细胞株模型

脑肿瘤细胞株培养的原发性脑肿瘤模型不常用,其通常是培养单层的肿瘤细胞如大鼠脑胶质瘤 C6 细胞、大鼠胶质肉瘤 9L 细胞、人脑星形胶质母细胞瘤 U-87 MG、人源的原发性脑肿瘤细胞等,通常用来探究脑肿瘤内的分子变化、原发性脑肿瘤细胞的迁移能力以及用于组织病理学鉴定和免疫细胞化学分析。而为了进一步探究 TME 的作用,可以在培养

其他神经细胞时直接加入肿瘤细胞或使用培养肿瘤细胞的 Transwell 小室等方法来进行探究^[4]。脑肿瘤细胞株模型操作简便并且相当经济,但是却不能展现出完整的病理进程以及 TME 在其中的作用,因此需要研究功能较为完善的模型来进行临床前研究。

1.2 类器官培养模型

类器官培养模型相较于脑肿瘤细胞株模型而言,其特征更加接近机体的病生理环境。从比较简单的原发性脑肿瘤细胞成球到比较前沿的原发性脑肿瘤类器官模型,跨度较大,包含的特点也从简单到复杂。

较为简单的原发性脑肿瘤类器官模型使用悬滴法等培养方法将人神经胶质瘤细胞等脑肿瘤细胞培养成球得到类器官模型,其异质性与实际上的人神经胶质瘤相似,并且在组织病理学上具有类似的细胞分布、缺氧核心及梯度分布的细胞代谢物^[5]。这种简单的类器官模型可以作为体外的疾病模型或用于药物筛选。而为了进一步体现 TME 的复杂性,研究人员在成球阶段使用含有巨噬细胞以及脑肿瘤细胞的细胞混悬液^[6]或使用含有神经小胶质细胞以及脑肿瘤细胞的细胞混悬液^[7]来探究多种细胞之间的相互作用。通过这些研究,发现了巨噬细胞在共同成球后,会分泌出白介素-10 (interleukin-10, IL-10) 和表皮细胞生长因子 (epidermal growth factor, EGF),提高耗氧量甚至是产生对紫杉醇的抗药性^[6];也发现了小胶质细胞在与脑肿瘤细胞成球后,会展现出一定的对神经胶质瘤细胞的细胞毒性^[7]。还有用于研究肿瘤细胞转移能力的模型,研究者分离出脑肿瘤患者的细胞并将其转化为诱导性多能干细胞 (induced pluripotent stem cells, iPSC) 并在体外培养成大脑类器官后,再加入恶性神经胶质瘤细胞共培养,最终使用细胞成像技术来研究肿瘤细胞转移的能力^[8]。而 iPSC 的使用也给相关研究带来想象空间, iPSC 成为类大脑类器官后,可以选择加入巨噬细胞 (之后会进一步转化为神经小胶质细胞),随后再加入患者的肿瘤干细胞和免疫细胞,从而使得整个环境更加接近机体的病生理状态^[9]。当然,到目前为止这种类器官模型也不能完全模拟真实情况下的 TME 情况,也排除了 BBB 对 TME 的影响且技术上较为复杂。

1.3 脑切片模型

脑切片模型较好地保留了脑组织的细胞结构,并且易于在培养皿上操作和观察^[10]。目前脑切片

模型的来源更多的是啮齿类动物,近些年来,也会更多地使用转基因啮齿类动物。此外,还可以向脑切片模型中添加神经胶质瘤干细胞或原发性脑肿瘤细胞的球,通过观察神经胶质瘤干细胞的行为以及其与脑组织细胞的相互作用,探索肿瘤细胞在脑内迁移的机制^[11]。甚至可以将肿瘤细胞注射至特定的脑区,用以研究特定脑区的肿瘤病变。另外,因为一个实验动物的大脑可以制作多个切片来研究不同的病变,脑切片模型还可以减少实验动物的使用。但是该模型也并不是完美的,一般来说,脑切片模型在体外只能存活3周左右,不利于对进程较慢的原发性脑肿瘤的研究和长期用药的研究。此外,虽然保留了血管,但是由于其内部液体不流通,对免疫细胞募集到病变处有一定影响。最后,因为需要将大脑切片,不可避免地诱发细胞死亡以及激活神经小胶质细胞导致炎症的产生,但可以通过使用脑切片内深处的细胞以避免炎症等导致的影响^[11]。

2 原发性脑肿瘤的体内疾病模型

原发性脑肿瘤的体内疾病模型种类多样、各有优劣,其中最主要应用的为啮齿类动物模型。随着时间的推移,也开发出了新的模式动物,如果蝇和斑马鱼。

2.1 原发性脑肿瘤的啮齿类动物模型

原发性脑肿瘤的啮齿类动物模型的种类繁多,但是大致可以分为同种异体原位移植模型、异种异体原位移植模型以及基因改造小鼠模型。

2.1.1 同种异体原位移植模型 同种异体原位移植模型即将跟实验动物同种的脑肿瘤细胞株通过立体定位手术转移至相应动物颅内形成的原发性脑肿瘤模型,常用的脑肿瘤细胞株有大鼠 C6 神经胶质瘤细胞株、大鼠 9L 神经胶质肉瘤细胞株、大鼠 F98 神经胶质瘤细胞株、小鼠 GL261 神经胶质瘤细胞株等^[12]。这些细胞能够在相应实验动物大脑内的第四脑室、小脑或是其他区域生长成瘤,形成研究者需要的原发性脑肿瘤模型。这种构造模型办法的最大好处是实验动物具有完整的免疫能力,这对免疫治疗药物的评价非常重要^[13]。有研究通过 RNA 测序以及质谱流式细胞技术 (cytometry by time-of-flight, CyTOF) 来快速确认不同小鼠恶性胶质瘤细胞株同种异体原位移植模型形成的恶性胶质瘤对免疫系统的反应强弱,能更好地选择用于恶性胶质瘤的免疫疗法的模型个体^[14]。除此以外,同种异体原位移植模型也能提供一些候选药物和疗法的相关信息。有

研究者使用大鼠 F98 神经胶质瘤细胞株造的神经胶质瘤模型证明了神经干细胞和间充质干细胞能够作为基因治疗药物的载体,具有一定开发成治疗脑肿瘤的疗法的潜力^[15]。但是这种模型也有一定的缺陷:肿瘤细胞株会因为多次传代导致产生遗传偏移;同种异体原位移植模型缺乏实际脑肿瘤中逐步基因变化;有时候造特定模型时会因为脑肿瘤细胞没有进入脑实质而导致造模失败;其基因背景与人有差异。

2.1.2 异种异体原位移植模型 异种异体原位移植模型即将人的神经胶质瘤细胞通过立体定位手术转移至免疫抑制的啮齿类动物(如裸鼠)颅内而制造的模型,最常用的几种细胞分别是人脑星型母胶质细胞瘤 U87、人神经胶质细胞瘤 U251 等,但是长期培养的细胞株会有基因偏移的现象,故也有研究者使用的是患者的脑肿瘤细胞。这种模型在一定程度上能够具有血管再生和肿瘤转移的现象^[3],但是也只维持了原发性脑肿瘤的部分组织病理学特性、异质性和分子生物学特性^[9]。并且,由于使用的是免疫缺陷的动物,必须考虑这对肿瘤的免疫环境以及 TME 产生的影响。以裸鼠为例,裸鼠不能产生成熟的淋巴细胞,只能产生骨髓细胞(包括神经小胶质细胞),因此就缺乏了获得性免疫这一部分对原发性脑肿瘤的影响。而这也影响到了这种模型在药物研究方面的应用。针对这样的缺陷,有研究者构建出人源化模型鼠,一般来说,构建模型鼠有 3 种:移植人外周血单核细胞 (human peripheral blood mononuclear cell, hu-PBMC) 的鼠具有高活性的 T 细胞,但是移植 4~6 周后会攻击宿主且其他免疫细胞功能不健全;移植人 CD₃₄⁺造血干细胞则能够产生所有造血谱系的细胞^[16];骨髓肝胸腺 (bone marrow liver thymic, BLT) 小鼠就是将人胚胎的胸腺、肝脏和 CD₃₄⁺细胞移植到目标小鼠内产生的模型,这种模型的免疫功能最为健全,但最终也会发生移植物抗宿主病^[17]。近些年发展出了能够表达人细胞因子的转基因小鼠,能够支持人源化小鼠构建更加完善的免疫系统并延迟移植物抗宿主病的发生^[18]。

2.1.3 基因改造鼠模型 原发性脑肿瘤的另外一种模型即基因改造鼠模型,在使肿瘤发生的关键基因发生突变后,这种模型的颅内就会自发地发生病变,生成肿瘤。这种模型在一定程度上具有跟人相似的组织病理学特性和分子特征,并且其肿瘤能够逐步具有转移能力。根据不同的目的,可对不同的

基因进行操控,常见的模型如下:对 *Rtk* 基因、*H3f3a* 基因、*Hist1h3b* 基因、*P53* 基因、*Rb* 基因、*Nf1* 基因以及跟细胞周期有关的基因等的 1 个或者多个进行调控,可构造神经胶质瘤的模型^[9];对 *P53* 基因和 *c-Myc* 基因共同调控,可构造脉络丛肿瘤^[19];对 *Ptch1* 基因、*P53* 基因等进行调控,可以构造成神经管细胞瘤模型^[20];对 *Nf2* 基因、*Cdkn2ab* 基因、*Pdgf* 基因的 1 个或者多个进行调控,可以构造脑膜瘤模型^[21];对 *P53* 基因和 *Rb* 基因共同调控,可以构造松果体母细胞瘤^[22]。

而随着时间发展,研究者已经能够通过调控基因表达来构建适合研究目的的基因改造小鼠模型,常见的方法有 RCAS-tVA 和 Cre-LoxP 重组酶系统。RCAS-tVA 使用的是鸟类逆转录病毒(replication competent avian-like sarcoma virus, RCAS) 以及其鸟类肿瘤病毒 A (tumor virus receptor-A, tVA), 使用这种方法可以将肿瘤相关基因转入到表达 tVA 细胞内,一旦控制 tVA 的基因开始表达,RCAS 识别后就会将相关基因转移到目标细胞中。Connolly 等^[23] 将大鼠的 *Nestin* 基因作为调控 tVA 表达的开关,并向大鼠注入携带血小板衍生生长因子(platelet derived growth factor, PDGF) 和 *P53* 的短发夹 RNA (short hairpin RNA, shRNA) 的 RCAS, 抑制了 *P53* 的同时使 PDGF 过表达,导致大鼠发生恶性胶质瘤; Cre-LoxP 重组酶系统利用了 Cre 重组酶的特性,能够识别 LoxP 位点,将目标基因嵌入同向的 LoxP 位点时,也会使其成环断开,从而切除 LoxP 位点之间基因。Han 等^[24] 利用该技术在小鼠胚胎期时敲除了 *Smarcb1* 基因,构造出了各方面与人类相似的非典型畸胎样/横纹肌样瘤模型。

该模型也存在缺陷,首先是进行转基因改造的成本以及耗时都较大,其次是因为种类不同,构建的模型的脑肿瘤异质性、分子生物学特征等与人类有一定的差异。

2.2 其他原发性脑肿瘤体内模型

原发性脑肿瘤的啮齿类动物模型需要大量的资源以及时间投入,不利于使用高通量的方法来筛选药物,因此在该方面需要寻求另外的替代模型。而这时候,简单且基因更加可控的动物如果蝇和斑马鱼便是较为理想的目标。

2.2.1 果蝇 果蝇在遗传方面的研究中发挥着重要作用,在基因组上与人类十分相似,75% 的人类疾病基因与果蝇同源^[25],是构建人类疾病模型较为理

想的动物。并且其生命周期只有 10 d,大大降低时间成本。

果蝇可以作为原发性神经胶质瘤模型。果蝇的磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphoinositide-3 kinase, PI3K) 和表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR) 与人类高度同源,Read 等^[26] 同时激活 PI3K 和 EGFR 的表达,使得果蝇的神经胶质细胞癌变,产生神经胶质瘤。果蝇也可用于研究神经胶质瘤的转移,Witte 等^[27] 通过上调胰岛素受体基因 *Insr*, *Htl* 以及 *EGFR* 基因,得到了具有迁移性的果蝇神经胶质瘤模型。

2.2.2 斑马鱼 斑马鱼是目前常用的实验动物之一,其与人类基因有 87% 的相似性,并且 82% 的人类疾病基因都能在斑马鱼上找到对应。此外,斑马鱼的呼吸系统、循环系统和中枢神经系统与人类相似且其基因操控相对便捷,十分适合用于原发性脑肿瘤的研究^[25]。

斑马鱼具有一个特性,其胚胎以及幼虫时均是透明的,可以实时观察肿瘤细胞渗透以及 TME 的情况^[28]。此外,斑马鱼的 BBB 在卵子受精后发育的 d 15 才会成熟,这就意味着研究人员可以根据他们的研究目的来选择给药的时间,用于研究 BBB 成熟或不成熟下药对脑肿瘤的治疗效果^[29]。

获得斑马鱼原发性脑肿瘤模型的方法一般有基因改造以及移植这 2 种办法。Jung 等^[30] 通过对 *Ptfl* 基因的调控来激活蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB), 从而构造了位置在小脑的神经胶质瘤模型。此外, Ju 等^[31] 通过控制斑马鱼 *Gfap* 和 *Krt5* 基因的表达,构造出了神经鞘瘤模型。因为透明的特性,移植这一办法变得简单且高效,并且可以时刻观测肿瘤细胞的移植、生长以及转移等过程。Eden 等^[28] 将红色荧光蛋白基因转入到小鼠神经干细胞中,并将该细胞移植至斑马鱼幼虫内,产生的脑肿瘤具有主要的分子生物学特点以及组织病理学特点,并且可以通过红色荧光蛋白观察其转移。通过相同的办法,还可以构造出恶性胶质瘤模型、室管膜瘤模型以及脉络丛肿瘤模型^[25]。

总之,无论体外模型还是体内模型都试图更加接近人体原发性脑肿瘤的病理生理状态,在此基础上开发出经济的、操作程序可控的、可长期培养/使用的实验模型至关重要,在这些模型的基础上,研究人员也揭示了原发性神经肿瘤的一些特异性靶点,并且研发出相应的治疗策略。然而,至今已应用的原

发性脑肿瘤模型各具优缺点,见表1。因此,需要根据药物性质特征/不同靶点通路选择更加合适的疾

病模型或模型组合、模型改造来更加全面、可靠的评价药物。

表1 各原发性脑肿瘤模型的优缺点

模型	优点	缺点
脑肿瘤细胞株培养	成长速度快、可预测性强、可大规模筛选药物、经济性好	没有 TME 或对 TME 的改变较大、细胞异质性不足
类器官培养	模拟部分免疫环境、观察疾病进程、相对经济	技术复杂、难以还原真实 TME、细胞异质性不足
脑切片模型	可研究脑肿瘤迁移、可研究脑肿瘤早期、可研究肿瘤细胞与普通细胞的相互作用	存活时间短、局部炎症
同种异体原位移植模型	免疫能力完整、可研究免疫疗法	肿瘤细胞株基因偏移、脑肿瘤异质性不足、基因与人有差异
异种异体原位移植模型	保留肿瘤内 TME 特点、保留异质性	细胞来源差异大、需要免疫抑制小鼠、技术复杂、经济性差
基因改造小鼠	较好模拟 TME、可提供脑肿瘤较为完整的发病信息	肿瘤细胞异质性不足、耗时、经济性差、具有一定不形成目标癌症的可能
新兴体内模型(斑马鱼、果蝇)	耗时短、保留部分 TME 特征、可大规模筛选药物	种属差异大

3 总结与展望

目前,原发性脑肿瘤的体内以及体外模型已经揭示了在原发性脑肿瘤发病的过程中,细胞内的一系列分子生物学变化,这对于原发性脑肿瘤的治疗来说无疑是一笔巨大的财富。在前期研究的基础上,相关的药物也陆续被研发并处于临床阶段或上市:靶向神经胶质瘤内线粒体异柠檬酸脱氢酶(mitochondria, isocitrate dehydrogenase, mIDH)突变的恩西地平^[32]和艾伏尼布^[32]、靶向恶性胶质瘤检查点的纳武利尤单抗(NCT02667587)、使用基因改造的神经干细胞治疗恶性胶质瘤(NCT02192359)等。并且根据这些模型得到的分子生物学信息,利用计算机辅助药物设计(computer-aided drug design, CADD)的方法,如分子动力学模拟、分子对接、定量构效关系等技术,来对一系列化合物进行虚拟筛选,最终能够通过BBB且具有一定效果的理想药物^[33]。

为了紧跟各类新型的治疗原发性脑肿瘤药物研发的脚步,研究者们仍需不断攻克各类原发性脑肿瘤体内外模型的缺陷,例如模型内原发性脑肿瘤的细胞异质性不如实际丰富、模型的TME环境与人类实际的TME环境有差别等,开发出更加完善的原发性脑肿瘤疾病模型,为临床前药效评价以及安全评价提供有效的研究模型。

[参 考 文 献]

[1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL RL, *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.

[2] SIEGEL RL, MILLER KD, FUCHS HE, *et al.* Cancer statistics, 2021[J]. *CA A Cancer J Clin*, 2021, 71(1): 7-33.

[3] AKTER F, SIMON B, DE BOER NL, *et al.* Pre-clinical tumor models of primary brain tumors: challenges and opportunities[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2021, 1875(1): 188458.

[4] AKINS EA, AGHI MK, KUMAR S. Incorporating tumor-associated macrophages into engineered models of glioma[J]. *iScience*, 2020, 23(12): 101770.

[5] XIAO WK, SOHRABI A, SEIDLITS SK. Integrating the glioblastoma microenvironment into engineered experimental models[J]. *Future Sci OA*, 2017, 3(3): FSO189.

[6] TEVIS KM, CECCHI RJ, COLSON YL, *et al.* Mimicking the tumor microenvironment to regulate macrophage phenotype and assessing chemotherapeutic efficacy in embedded cancer cell/macrophage spheroid models[J]. *Acta Biomater*, 2017, 50: 271-279.

[7] MORA R, ABSCHUETZ A, KEES T, *et al.* TNF-alpha- and TRAIL-resistant glioma cells undergo autophagy-dependent cell death induced by activated microglia[J]. *Glia*, 2009, 57(5): 561-581.

[8] KRIEGER TG, TIRIER SM, PARK J, *et al.* Modeling glioblastoma invasion using human brain organoids and single-cell transcriptomics[J]. *Neuro Oncol*, 2020, 22(8): 1138-1149.

[9] PASQUALINI C, KOZAKI T, BRUSCHI M, *et al.* Modeling the interaction between the microenvironment and tumor cells in brain tumors[J]. *Neuron*, 2020, 108(6): 1025-1044.

[10] MINAMI N, MAEDA Y, SHIBAO S, *et al.* Organotypic brain explant culture as a drug evaluation system for malignant brain tumors[J]. *Cancer Med*, 2017, 6(11): 2635-2645.

[11] MARQUES-TORREJON MA, GANGOSO E, POLLARD SM. Modelling glioblastoma tumour-host cell interactions using adult brain organotypic slice co-culture[J]. *Dis Model Mech*, 2018, 11(2): dmm031435.

[12] SAHU U, BARTH RF, OTANI Y, *et al.* Rat and mouse brain tumor models for experimental neuro-oncology research[J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2022, 81(5): 312-329.

[13] OH T, FAKURNEJAD S, SAYEGH ET, *et al.* Immunocompetent murine models for the study of glioblastoma immunotherapy[J]. *J Transl Med*, 2014, 12: 107.

[14] KHALSA JK, CHENG NN, KEEGAN J, *et al.* Immune phenotyping of diverse syngeneic murine brain tumors identifies immunologically distinct types[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 3912.

[15] LEE DH, AHN Y, KIM SU, *et al.* Targeting rat brainstem gli-

- ma using human neural stem cells and human mesenchymal stem cells[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(15): 4925–4934.
- [16] DE LA ROCHERE P, GUIL-LUNA S, DECAUDIN D, *et al.* Humanized mice for the study of immuno-oncology[J]. *Trends Immunol*, 2018, 39(9): 748–763.
- [17] GREENBLATT MB, VRBANAC V, TIVEY T, *et al.* Graft versus host disease in the bone marrow, liver and Thymus humanized mouse model[J]. *PLoS One*, 2012, 7(9): e44664.
- [18] ITO R, TAKAHASHI T, ITO M. Humanized mouse models; application to human diseases[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(5): 3723–3728.
- [19] EL NAGAR S, ZINDY F, MOENS C, *et al.* A new genetically engineered mouse model of choroid plexus carcinoma[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 496(2): 568–574.
- [20] ROUSSEL MF, STRIPAY JL. Modeling pediatric medulloblastoma[J]. *Brain Pathol*, 2020, 30(3): 703–712.
- [21] BOETTO J, PEYRE M, KALAMARIDES M. Mouse models in meningioma research; a systematic review[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(15): 3712.
- [22] CHUNG PED, GENDOO DMA, GHANBARI-AZARNIER R, *et al.* Modeling germline mutations in pineoblastoma uncovers lysosome disruption-based therapy[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 1825.
- [23] CONNOLLY NP, STOKUM JA, SCHNEIDER CS, *et al.* Genetically engineered rat gliomas; PDGF-driven tumor initiation and progression in tv-a transgenic rats recreate key features of human brain cancer[J]. *PLoS One*, 2017, 12(3): e0174557.
- [24] HAN ZY, RICHER W, FRÉNEAUX P, *et al.* The occurrence of intracranial rhabdoid tumours in mice depends on temporal control of Smarcb1 inactivation[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 10421.
- [25] SHAHZAD U, TACCONE MS, KUMAR SA, *et al.* Modeling human brain tumors in flies, worms, and zebrafish: from proof of principle to novel therapeutic targets[J]. *Neuro Oncol*, 2021, 23(5): 718–731.
- [26] READ RD, CAVENEE WK, FURNARI FB, *et al.* A Drosophila model for EGFR-Ras and PI3K-dependent human glioma[J]. *PLoS Genet*, 2009, 5(2): e1000374.
- [27] WITTE HT, JEIBMANN A, KLÄMBT C, *et al.* Modeling glioma growth and invasion in Drosophila melanogaster[J]. *Neoplasia*, 2009, 11(9): 882–888.
- [28] EDEN CJ, JU B, MURUGESAN M, *et al.* Orthotopic models of pediatric brain tumors in zebrafish[J]. *Oncogene*, 2015, 34(13): 1736–1742.
- [29] FLEMING A, DIEKMANN H, GOLDSMITH P. Functional characterisation of the maturation of the blood-brain barrier in larval zebrafish[J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e77548.
- [30] JUNG IH, LEEM GL, JUNG DE, *et al.* Glioma is formed by active Akt1 alone and promoted by active Rac1 in transgenic zebrafish[J]. *Neuro Oncol*, 2013, 15(3): 290–304.
- [31] JU BS, CHEN WB, ORR BA, *et al.* Oncogenic KRAS promotes malignant brain tumors in zebrafish[J]. *Mol Cancer*, 2015, 14(1): 18.
- [32] GOLUB D, IYENGAR N, DOGRA S, *et al.* Mutant isocitrate dehydrogenase inhibitors as targeted cancer therapeutics[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 417.
- [33] POONAN P, AGONI C, IBRAHIM MAA, *et al.* Glioma-targeted therapeutics: computer-aided drug design prospective[J]. *Protein J*, 2021, 40(5): 601–655.

编辑: 毕晓帆/接受日期: 2022-10-26