

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.18.007
文章编号: 1005-8982 (2019) 18-0036-04

综述

人源肿瘤组织异种移植在脑胶质瘤中的应用进展*

张学浩¹, 徐灿¹, 方川²

(1. 河北大学医学部, 河北 保定 071000; 2. 河北大学附属医院 神经外科, 河北 保定 071002)

摘要: 脑胶质瘤是最常见的中枢神经系统原发性恶性肿瘤, 目前治疗的标准方案包括手术切除, 其次是放化疗。但这些积极的治疗方案, 患者平均生存期低, 因而新的治疗策略显得尤为重要。人源肿瘤组织异种移植(PDX)模型保存肿瘤细胞的原始微环境, 继承原发性肿瘤的所有分子生物学特性并保留肿瘤异质性, 更接近人体内环境。因此在基础医学研究领域存在较高的研究价值。该文就PDX模型的复制、PDX模型在脑胶质瘤中的应用及其相关研究进展、PDX模型的局限性和展望进行综述。

关键词: 脑肿瘤; 肿瘤, 组织学类型; 移植, 异种; 综述

中图分类号: R739.41

文献标识码: A

Application and development of PDX model in glioma*

Xue-hao Zhang¹, Can Xu¹, Chuan Fang²

(1. Medical College of Hebei University, Baoding, Hebei 071000, China; 2. Department of Neurosurgery, Affiliated Hospital of Hebei University, Baoding, Hebei 071002, China)

Abstract: Glioma is the most common primary malignant tumor of the central nervous system. Currently, standard protocols include surgical excision followed by radiotherapy and chemotherapy. Despite this existing aggressive treatment, the average survival of patients is still at a low level. Therefore, a new treatment strategy is required. Patient derived xenograft (PDX) model preserves the original microenvironment of cancer cells, inherits all the molecular biological characteristics of primary tumors and preserves the heterogeneity of tumors. It is similar to the human internal environment and has high research value in the field of basic medicine. In this paper, the author studies establishment of PDX model, application of PDX model in glioma and progress of related research, limitations as well as prospects of PDX model.

Keywords: brain neoplasms; neoplasms by histologic type; transplantation, heterologous; review

脑胶质瘤是最常见的中枢神经系统原发性恶性肿瘤, 其发病率占颅内肿瘤的50%以上。根据组织学和病理特征特点, 世界卫生组织将胶质瘤分为I~IV级^[1]。胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)是最具侵袭性的原发性恶性脑肿瘤。目前治疗的标准方案包括手术切除, 其次是放化疗。但这些积极的治疗方案中, GBM患者平均生存期仅为1~2年^[2], 如此低的生存率, 需要一种新的治疗策略。人源肿瘤

组织异种移植(patient derived xenograft, PDX)是完成这项任务的一个有价值的工具, 用于预测治疗结果及规划患者的个体治疗, 以便为GBM患者确定最佳的治疗方案。

1 PDX模型及复制的方法

PDX模型是指直接将手术切除患者的新鲜肿瘤组织或细胞、活检组织或细胞通过异位或者原位移植

收稿日期: 2019-03-26

*基金项目: 京津冀基础研究合作专项(No: H2018201306)

[通信作者]方川, E-mail: chuanfang@hbu.edu.cn

到免疫缺陷小鼠体内的一种异种移植模型, 依赖于小鼠提供的环境^[3]。PDX 的最大优点是模型保留原始肿瘤细胞的微环境, 继承原发肿瘤的所有分子生物学特性, 保留肿瘤的异质性^[4]。PDX 对筛选抗肿瘤药物和预测患者疗效、吸收率及副作用等也很重要^[5]。目前, PDX 模型与临床研究的相关肿瘤极为接近, 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, 有望为肿瘤患者个性化治疗带来新突破。大量研究表明, PDX 模型具有高度保真度, 可保留原发肿瘤的组织病理学、遗传特征及肿瘤异质^[6]。

PDX 模型可采取原位移植肿瘤组织和异位移植肿瘤组织。①原位移植移植模型: 将肿瘤组织因移植到原位, 由于被移植部位与原始肿瘤所处的微环境差异小, 原位移植被认为更具有移植优势。然而, 这种类型的移植对操作技能、支出及观察肿瘤的方法有更高要求^[7]。②异位移植肿瘤模型: 将肿瘤组织种植入到小鼠背部皮肤下或肾包膜下, 该方法不仅可以提高肿瘤形成率, 而且可以缩短肿瘤形成时间, 且操作较原位移植简单, 观察和测量更为方便^[8]。

用于复制 PDX 模型的小鼠根据免疫缺陷程度可以分为 T 淋巴细胞缺陷小鼠 (BAL B/C 小鼠)、T 淋巴细胞、B 淋巴细胞双缺陷小鼠 (SCID 小鼠)、非肥胖糖尿病 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞双缺陷小鼠 (NOD-SCID 小鼠)、T 淋巴细胞、B 淋巴细胞及 NK 细胞缺陷小鼠 (NSG 小鼠、NOG 小鼠)。其中, NSG 小鼠是目前国际公认的具有最高免疫缺陷程度, 且最适合人细胞或组织移植的小鼠。

胶质瘤 PDX 复制方法: ①采用外科手术、组织及活检等方法, 采集一部分脑胶质瘤的组织标本, 将其余脑胶质瘤组织置于甲醛溶液中冷冻保存, 待用分析; ②将采集的脑胶质瘤组织标本行去除坏死组织等预处理后, 用无菌手术刀将胶质瘤组织切成小块 (1 ~ 3 mm³) 或将组织制备单细胞悬液; ③将处理好的胶质瘤组织移植到免疫缺陷小鼠中, 通常将肿瘤组织移植于小鼠背部皮下; ④将荷鼠置于特定的无病原体环境中, 饲养荷成瘤小鼠 4 ~ 6 个月。当肿瘤体积增加至 1 ~ 2 cm³ 时处死小鼠, 取出肿瘤并标记为 F0; ⑤重复上述步骤, 将 F0 代肿瘤移植于其他免疫缺陷小鼠体内, 复制 F1 代移植瘤小鼠, 逐渐传代移植; ⑥以此为模型, 进行胶质瘤方面的研究, 以便为患者确定最佳的治疗方案。

2 PDX 模型在脑胶质瘤中的应用及研究进展

脑胶质瘤是最常见的中枢神经系统原发性恶性肿瘤, 其中 GBM 恶性程度最高。尽管有许多积极的治疗方案, 但是 GBM 仍然是致命的脑肿瘤。为实现有针对性的治疗方案, 开发新的治疗脑肿瘤策略是一个紧迫的任务, 复制胶质母细胞瘤 PDX 模型并在该 PDX 中进行相应的研究必不可少。为实现更好的个性化治疗策略和了解发病机制, 需要从 GBM 模型和足够数量的肿瘤材料来进行详细的分子水平和功能分析, 以便为 GBM 患者确定最佳的治疗方案。WILLIAM 等^[9]用替莫唑胺、依维莫司、索拉非尼、盐霉素及贝伐单抗或伊立替康单药治疗 5 种不同的 GBM PDX 模型 (每组 5 只), 对照组用生理盐水处理; 5 例 PDX 模型中有 4 例对替莫唑胺单药敏感, 只有 1 例表现出内在耐药; 抗 VEGF 抗体贝伐单抗治疗效果良好, 均为阳性; 应用拓扑异构酶抑制剂伊立替康 3 例有效; mTOR 抑制剂治疗对 2 例有效; 多激酶抑制剂索拉非尼对 1 例有效, 而盐霉素对所有病例均无影响; 此外, 所有经过实验处理的 PDX 模型都通过面板测序分析可能的相关突变, 涉及 48 个癌症相关基因的 212 个靶区。GUPTA 等^[10]将 28 例 GBM PDX 作为原位异种移植体 (每组 8 ~ 10 只), 比较替莫唑胺与替莫唑胺 / 卡铂联合使用的疗效, 结果是替莫唑胺和卡铂的联合使用与单独使用替莫唑胺相比较, 联合应用能延长 GBM 模型的存活时间, 从而进一步得出卡铂对 MGMT 启动子甲基化的肿瘤有促进作用。KARPELMASSLER 等^[11]研究表明, 小分子抑制剂 WP 1130 (一种干扰 USP9X 功能的去泛素酶抑制剂) 会降低已复制成功的 GBM PDX 和干细胞样胶质母细胞瘤细胞的细胞活力, 表明靶向去泛素酶治疗胶质瘤可行、有效。MICHELHAUGH 等^[12]复制胶质瘤和转移性脑肿瘤 (来自肺癌和乳腺癌) 的移植瘤小鼠模型, 用 18F-FETrp 和 11C-AMT 对离体 1 ~ 7 d 荷瘤小鼠进行 PET 动态扫描; 比较 2 种示踪剂的生物分布和肿瘤小型单层水泡 (SUVs), 证明用 18F-FETrp 与 11C-AMT 这两种示踪剂进行 PET 扫描在小鼠模型中的生物分布的典型表现有一定的不同。因此, 在脑胶质瘤方面也是一个很有价值的研究工具, 用于脑胶质瘤临床前药物测试、新药开发及个体化药物筛选, 也可进行分子生物学和影像学研究。

研究发现, 结直肠癌、胰腺癌患者与相应的

PDX 模型对西妥昔单抗和吉西他滨表现出相同的反应^[13-15]。葛晓梅等^[16]研究裸鼠皮下移植复制胃癌 PDX 模型,并在该模型上进行化疗药物药效学评价,证明 PDX 模型为胃癌的基础研究和药物开发提供更多工具。孙梦熊等^[17]复制性骨与软组织肉瘤患者来源移植瘤模型,将成瘤的 PDX 小鼠分组,每组 3 只。不同组别给予不同的化疗药物,根据化疗药物的特点给药,通过 T/C 计算抑制率,比较得出 PDX 模型敏感药物及不敏感药物,并与对应的患者用药情况进行比较,证实 PDX 模型对化疗的敏感性与临床实际疗效具有较好的相符合性。其中,阿帕替尼、安罗替尼、索拉菲尼及多西他赛对 PDX 模型敏感,抑制肿瘤的生长。BERTOTTI 等^[15]发现,表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)抑制剂西妥昔单抗用于 47 例结肠癌 PDX 模型,有效反应率为 10.6%,与结肠癌患者用药相似。因此,根据个体化 PDX 模型对药物的反应,临床医生可以为患者选择并确定最佳的治疗方案或对治疗方案进行优化,而研究人员可以进行新药的开发。

PDX 模型在药物筛选研究中扮演重要角色,又有助于对肿瘤相关分子标志物的研究。ZHANG 等^[18]在胃癌 PDX 模型中进行西妥昔单抗实验,约 30% PDX 模型肿瘤显示部分或完全消退。从分子生物学、RNA 转录水平、组织学水平及 EGFR 途径相关基因突变的检查等方面,探究西妥昔单抗处理胃癌 PDX 模型后 EGFR 的表达水平和突变情况,发现对该药物有反应的 PDX 模型具有更高水平的 EGFR 表达。方天等^[19]复制肺癌 PDX 模型,用免疫组织化学方法检测原代组织和 F3 代组织标本内 P63、napsinA 及 TTF-1 表达水平的差异性。P63 蛋白在肺鳞癌患者及其 PDX 模型癌细胞中强烈表达。在肺腺中极少数表达(< 5%)。Napsin A 蛋白在肺鳞癌患者及其第 3 代 PDX 模型癌细胞中呈阴性表达,但在肺腺癌的表达与之相反。TTF-1 蛋白在肺鳞癌及腺癌患者癌细胞和其第 3 代 PDX 模型癌细胞中表达不同,鳞癌呈阴性表达,而肺腺癌呈强阳性表达。WU 等^[20]成功复制食管鳞癌 PDX 模型,并证实分子靶向药赫赛汀能抑制人表皮生长因子受体 2 高表达的食管鳞癌小鼠肿瘤生长。因此,可以通过 PDX 模型,评估分子生物学特性、检测生物标志物,进行肿瘤相关分子的研究。

随着生物库或 PDX 肿瘤生物样本库的建立,将使肿瘤的精准医疗将变成现实^[5]。科研人员已经利用

PDX 模型验证多种已经发现的癌症敏感性生物标志物,如野生型 KRAS 的结直肠癌及肺癌分别对西妥昔单抗和厄洛替尼敏感^[8, 13]。

3 PDX 模型的局限性和展望

虽然 PDX 模型保留原代生物学特性、肿瘤异质性、基因组结构及药敏反应,但是把肿瘤移植到有免疫缺陷的小鼠身上时,肿瘤的分布及特点依然与患者原始肿瘤不同;其次,人源肿瘤淋巴瘤在小鼠内形成这是 PDX 模型的一个主要问题,这种现象多次被报道,其中包括前列腺癌、非小细胞肺癌、肝癌和胃癌的 PDX 模型^[21-24];最后,复制和维持的成本较高,复制时间过长,复制成功率不稳定。在不同肿瘤类型中,复制 PDX 模型成功率存在较大差异,通常失败率较高,不能用于筛选免疫相关类药物^[25]。

综上所述,近年来 PDX 模型越来越被重视,虽然存在一些局限性需要进一步加以解决,但是其保存肿瘤细胞的原始微环境,继承原发肿瘤的所有分子生物学特性并保留肿瘤异质性,优势明显。PDX 模型被证实是一个很有价值的研究工具,未来会在临床前药物测试、新药开发、个体化药物筛选、肿瘤相关分子标志物的研究及精准医疗等方面带来新的突破。

参 考 文 献:

- [1] LYM R L, OSTROM Q T, KRUCHKO C, et al. Completeness and concordancy of WHO grade assignment for brain and central nervous system tumors in the United States, 2004-2011[J]. *Journal of Neuro-Oncology*, 2015, 123(1): 43-51.
- [2] LEE J, SHIN Y J, LEE K, et al. Anti-SEMA3A antibody: a novel therapeutic agent to suppress glioblastoma tumor growth[J]. *Cancer Research & Treatment*, 2018, 50(3): 1009-1022.
- [3] KOPETZ S, LEMOS R, POWIS G. The promise of patient-derived xenografts: the best laid plans of mice and men[J]. *Clinical Cancer Research*, 2012, 18(19): 5160-5162.
- [4] ROSFJORD E, LUCAS J, LI G, et al. Advances in patient-derived tumor xenografts: from target identification to predicting clinical response rates in oncology[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2014, 91(2): 135-143.
- [5] 李克娟, 黄昊, 高蓓. 人源肿瘤异种移植模型在精准肿瘤医学中的研究进展[J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27(1): 91-98.
- [6] ELISABETTA, MARANGONI, ANNE, et al. A new model of patient tumor-derived breast cancer xenografts for preclinical assays[J]. *Clinical Cancer Research*, 2007, 13(13): 3989-3998.
- [7] KIM M P, EVANS D B, WANG H, et al. Generation of orthotopic and heterotopic human pancreatic cancer xenografts in

- immunodeficient mice[J]. *Nature Protocol*, 2009, 4(11): 1670-1680.
- [8] FICHTNER I, ROLFF J, SOONG R, et al. Establishment of patient-derived non-small cell lung cancer xenografts as models for the identification of predictive biomarkers[J]. *Clinical Cancer Research*, 2008, 14(20): 6456-6468.
- [9] WILLIAM D, MULLINS C S, BJÖRN SCHNEIDER, et al. Optimized creation of glioblastoma patient derived xenografts for use in preclinical studies[J]. *Journal of Translational Medicine*, 2017, 15(1): 27.
- [10] GUPTA S K, KIZILBASH S H, CARLSON B L, et al. Delineation of α -MGMT, hypermethylation as a biomarker for veliparib-mediated temozolomide-sensitizing therapy of glioblastoma[J]. *Journal of the National Cancer Institute*, 2015, DOI: 10.1093/jnci/djv369.
- [11] KARPELMASSLER G, BANU M A, SHU C, et al. Inhibition of deubiquitinases primes glioblastoma cells to apoptosis in vitro and in vivo[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(11): 12791-12805.
- [12] MICHELHAUGH S K, MUZIK O, GUASTELLA A R, et al. Assessment of tryptophan uptake and kinetics using 1-(2-18F-Fluoroethyl)-L-Tryptophan and ^{11}C -Methyl-L-Tryptophan PET imaging in mice implanted with patient-derived brain tumor xenografts[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2017: 208-213.
- [13] JULIEN S, MERINOTRIGO A, LACROIX L, et al. Characterization of a large panel of patient-derived tumor xenografts representing the clinical heterogeneity of human colorectal cancer[J]. *Clinical Cancer Research An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 2012, 18(19): 5314-5328.
- [14] GARRIDOLAGUNA I, USON M, RAJESHKUMAR N V, et al. Tumor engraftment in nude mice and enrichment in stroma-related gene pathways predicts poor survival and resistance to gemcitabine in patients with pancreatic cancer[J]. *Clinical Cancer Research An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 2011, 17(17): 5793.
- [15] BERTOTTI A, MIGLIARDI G, GALIMI F, et al. A molecularly annotated platform of patient-derived xenografts ("xenopatients") identifies HER2 as an effective therapeutic target in cetuximab-resistant colorectal cancer[J]. *Cancer Discovery*, 2011, 1(6): 508.
- [16] 葛晓梅, 张一心, 谢付波, 等. 人胃癌细胞系的建立及其评价[J]. *实验动物与比较医学*, 2017, 37(4): 257-265.
- [17] 孙梦熊, 尹飞, 孙伟, 等. 骨与软组织肉瘤 PDX 模型的建立及应用研究[J]. *中华骨科杂志*, 2017, 37(6): 340-346.
- [18] ZHANG L, YANG J, CAI J, et al. A subset of gastric cancers with EGFR amplification and overexpression respond to cetuximab therapy[J]. *Scientific Reports*, 2013, 3(11): 2992.
- [19] 方天, 黄海荣, 程熙, 等. 肺癌人源性肿瘤组织异种移植模型的组织学变化及其 p63, napsin A 和 TTF-1 的表达差异[J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27(9): 60-64.
- [20] WU X, ZHANG J, ZHEN R, et al. Trastuzumab anti-tumor efficacy in patient-derived esophageal squamous cell carcinoma xenograft (PDECX) mouse models[J]. *Journal of Translational Medicine*, 2012, 10(1): 180.
- [21] CHEN K, AHMED S, ADEYI O, et al. Human solid tumor xenografts in immunodeficient mice are vulnerable to lymphomagenesis associated with epstein-barr virus[J]. *PLoS One*, 2012, DOI: 10.1371/journal.pone.0039294.
- [22] JOHN T, YANAGAWA N, KOHLER D, et al. Characterization of lymphomas developing in immunodeficient mice implanted with primary human non-small cell lung cancer[J]. *Journal of Thoracic Oncology*, 2012, 7(7): 1101-1108.
- [23] WETTERAUER C, VLAJNIC T, GSPONER J R, et al. Early development of human lymphomas in a prostate cancer xenograft program using triple knock-out immunocompromised mice[J]. *Prostate*, 2015, 75(6): 585-592.
- [24] ZHANG L, LIU Y, WANG X, et al. The extent of inflammatory infiltration in primary cancer tissues is associated with lymphomagenesis in immunodeficient mice[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 9447.
- [25] 王振强, 朱正纲. PDX 模型在肿瘤转化医学中的应用与发展[J]. *中华胃肠外科杂志*, 2017, 20(5): 596-600.

(唐勇 编辑)