

疾病小鼠模型系列之乳腺癌篇

乳腺癌小鼠模型能够模拟人体乳腺癌的发生发展，在疾病发生机理研究，药物新靶点发现及临床前药效学评价等方面具有十分重要的理论价值和临床意义。

根据《临床医师癌症杂志》在线发表的“2018年全球癌症统计数据”，去年全球有约210万乳腺癌新发病例，发病率（11.6%）与肺癌并列第一，死亡率仅次肝癌（6.6%）位列第五（Table1）。乳腺癌占有女性癌症的近四分之一，发病比例（46.3%）及死亡比例（13.0%）都高居第一[1]，严重危害着女性的身心健康。

乳腺癌小鼠模型能够模拟人体乳腺癌的发生发展，在疾病发生机理研究，药物新靶点发现及临床前药效学评价等方面具有十分重要的理论价值和临床意义。本期小编将带大家了解一下这些常用的乳腺癌模型。

Table1 2018年全球主要癌症发病率及死亡率统计

	发病率由高到低	死亡率由高到低
癌 症 种 类	肺癌 (11.6%)	肺癌 (18.4%)
	乳腺癌 (11.6%)	结直肠癌 (9.2%)
	结直肠癌 (10.2%)	胃癌 (8.2%)
	前列腺癌 (7.1%)	肝癌 (8.2%)
	胃癌 (5.7%)	乳腺癌 (6.6%)

乳腺癌模型主要分为移植瘤模型和原发瘤模型两种。

乳腺癌移植瘤模型

乳腺癌移植瘤模型就是将人体或小鼠原发的乳腺癌组织或细胞移植到小鼠身上使其生长成肿瘤的动物模型。该模型的优点是周期短、成本低，目前在实验室中应用较为广泛。根据移植体来源可分为同种移植和异种移植，其中异种移植采用人源组织或细胞，更接近人体肿瘤真实情况，因此更为普遍，但需要免疫缺陷小鼠作为宿主。

由于人类乳腺癌细胞系相对其他癌种成瘤更难，且不稳定，因此对免疫缺陷小鼠的品质更为依赖，采用免疫缺陷程度最高的M-NSG小鼠（[点击查看品系详情](#)）作为宿主则会大幅度提高乳腺癌细胞系的成瘤率。

除去宿主，接种细胞系的选择也尤为重要，选择之前，我们需要先搞清楚将要研究的是哪一类乳腺癌。临床

上，乳腺癌根据分子分型[ER（雌激素受体）、PR（孕激素受体）和HER-2（人表皮生长因子受体-2）]分为四类，可分别采用不同的细胞系进行研究（Table2）[2]。

Table2 乳腺癌分子分型及适用细胞系

乳腺癌类型	ER	PR	HER-2	预后效果	代表细胞系
Luminal A (管腔 A 型)	+	+	-	好	MCF-7, T47D, SUM185
Luminal B (管腔 B 型)	+	+	+	较好, 比 A 差	BT474, ZR-75
HER-2+ (HER-2 过表达型)	-	-	+	差	SKBR3, MDA-MB-453
Basal-like (基底样型, 三阴性)	-	-	-	发展迅速, 最差	MDA-MB-468, SUM190

虽然乳腺癌肿瘤细胞系移植模型在基础研究中应用广泛，但若进行临床试验，由于细胞系在传代过程中产生的遗传变异和肿瘤异质性，导致其不能准确测试药物作用，因此需要重新创建复杂的原发乳腺癌模型来解决该问题，PDX（Patient-derived xenografts）模型(Fig1)应运而生。该模型是将手术中获得的新鲜乳腺癌肿瘤组织移植到免疫缺陷小鼠，以用于药物开发和预测针对病人个体化的靶向制剂。由于采用免疫缺陷小鼠（如M-NSG小鼠）作为宿主，还可以在其体内进入人类免疫系统重建（植入人源PBMC或CD34+造血干细胞）以用于肿瘤免疫治疗评估。

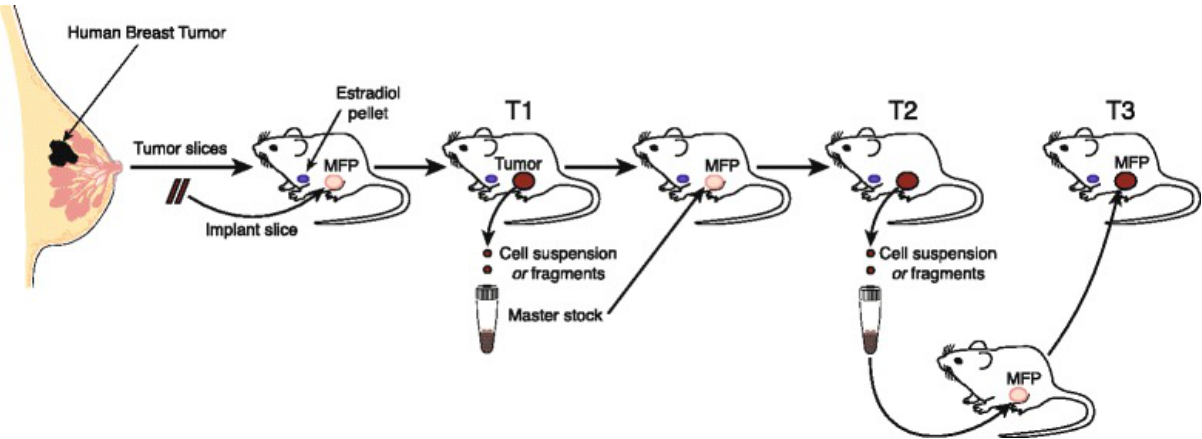


Fig1 乳腺癌PDX模型构建流程示意图[3]

乳腺癌原发瘤模型

在药物筛选、药效评价或临床预测方面，移植瘤显然有独特的优势。但其缺点也较为明显，包括没有人类乳腺癌组织中的间质细胞，缺少癌细胞周围的三维结构，不能真实模拟人类发病情况，因此，若我们想探究乳

腺癌发生或转移的内在机理，显然原发瘤模型更为适合。**目前主流的原发瘤模型分为自发型乳腺癌模型、诱导型乳腺癌模型和基因工程小鼠乳腺癌模型。**

自发型乳腺癌模型

未经任何有意识的人工处理，自然发生乳腺癌的小鼠为自发型乳腺癌模型，多采用近交系小鼠，如SHN和C3H等，其中SHN小鼠最为常用，一般出生后4个月就开始出现肿瘤症状，到12个月时乳腺癌患病率高达100%，其肿瘤发生与人类乳腺癌极为相似，但缺点是成瘤时间太长，且肿瘤发生不同步，不能在短期内获得大量的具有统计学意义的实验数据。

诱导型乳腺癌模型

诱发性乳腺癌模型多采用化学诱发途径，常用的诱导剂有甲基亚硝基脲(N-methyl-N-nitrosourea,MNU)或DMBA等，一般通过灌胃、局部涂抹或静脉注射等途径应用于实验动物，且多采用大鼠进行实验。该方法模型构建周期较长，肿瘤细胞差异性大，恶性行为有限，肿瘤侵袭转移能力较弱，不利于研究恶性乳腺癌发病机理。

基因工程小鼠乳腺癌模型

近些年由于基因编辑门槛降低，基因工程小鼠乳腺癌模型流行起来。通过表达与人类同源的癌基因或敲除抑癌基因，很容易构建与人类发病相似的乳腺癌模型，该模型目前正成为人类研究乳腺癌的核心模型。**基因工程小鼠乳腺癌模型大体分类两类，转基因模型和基因敲除模型。**

• 转基因乳腺癌模型

最常用的方式是在小鼠体内采用乳腺特异性启动子定向表达癌基因。其中乳腺特异性启动子多采用MMTV-LTR，MMTV是导致小鼠乳腺肿瘤的重要病毒，研究人员将其病毒组织特异启动子及增强子功能剥离出来以介导ERBB2 (HER-2)、PyMT、Wnt-1等癌基因在乳腺中高表达，进而诱发乳腺癌。

目前这几类转基因诱发模型的发病表现及分子机理也相对清晰。例如目前研究较多的MMTV-Wnt-1小鼠，其最早第7周开始出现乳腺癌，其细胞内Wnt-1基因的高表达可激活自身及邻近细胞膜上的WNT蛋白受体，进而引起乳腺上皮细胞的恶性转化[4]。MMTV-PyMT小鼠，第8周开始发病，第14周达到晚期乳腺癌水平，其乳腺癌相关转录因子Runx1随着病程发展进而表达上升[5]。MMTV-ERBB2雌鼠生长到6-12月龄自发长出乳腺肿块，因为ERBB2的表达往往与患者的预后负相关，因此该模型相对使用较少，但在ERBB2阳性乳腺癌研究中有重要作用。

• 基因敲除乳腺癌模型

在小鼠体内敲除抑癌基因也可以建立乳腺癌模型，例如最为经典的抑癌基因p53。但因为全身敲除p53除了诱发乳腺癌还会引起淋巴瘤等其他肿瘤（在C57BL/6或129/Sv背景下，p53缺失优先诱发肉瘤和淋巴瘤，与BALB/c回交多代后才可以大幅度提高乳腺癌发生几率），且很多抑癌基因如PTEN，BRCA (Breast tumor suppressor gene) 等敲除可导致胚胎致死，因此乳腺组织特异性基因敲除应运而生。该

模型采用Cre-loxp系统，需要使用两种小鼠，第一种为乳腺特异性表达的Cre小鼠，例如WAP-Cre和MMTV-Cre小鼠；第二种为抑癌基因的flox小鼠，例如BRCA1 (fl/fl) 小鼠，E-cadherin (fl/fl) 小鼠等，两种小鼠交配就可以定向在乳腺组织中敲除抑癌基因以诱发乳腺癌。在研究过程中，也经常采用抑癌基因条件性敲除和全身性敲除联合使用的情况，比如BRCA1的乳腺组织敲除联合p53基因的全身杂合突变，即BRCA1 (fl/fl) , MMTV-Cre+, p53 (+/-) 小鼠等。

在实际研究过程中除了要考虑小鼠品系、发病周期、发病率等因素外，当然还要了解各基因工程小鼠模型所诱发乳腺癌的分子分型（Table3）以最大程度契合自己的研究需求。

Table3 乳腺癌分子分型及其适用的部分基因工程小鼠[6]

乳腺癌类型	基因工程小鼠基因型	品系背景	发病情况
Luminal-like (管腔型)	Stat1-/-	BALB/c	10-60 % ERα+[]
	Stat1-/-	C57BL/6	>90 % ERα+/PR+
	NRL-PRL	FVB	70 % ERα+, ErbB2+
	loxp-stop-loxp-Pik3ca(H104 7R); MMTV-Cre		ERα+, CK+/CK14+ mixed population
	MMTV-myrAkt1, DMBA treated		ERα+/ER- mixed, CK+/CK14+ mixed population
	MMTV-cyclin D1 MMTV-cyclin D1(T286A)	FVB	40-50 % ERα+
HER-2+ (HER-2 过表达型)	MMTV-neu	FVB	ERα-, ErbB2+
	MMTV-ErbB2	FVB	ERα-, ErbB2+
	ErbB2 _{kl}	FVB	ERα-, ErbB2+
Basal-like (基底样型)	BRCA1 ^{fl/fl} , MMTV-Cre, p53 ^{+/-} or p53 ^{-/-}	C57BL/6	Triple negative, CK5/6 positive
	EF1-loxp-stop-loxp-K-ras G12D, WAP-Cre		ERα-, CK14, and CK8 mixed

基因工程小鼠乳腺癌模型在研究肿瘤发生的分子机制、病理机制及抗癌药物筛选中有着至关重要的作用，其形成肿瘤的形态特征与人类肿瘤的自然发生极为相似，目前正成为乳腺癌领域必不可少的研究工具。

南模生物有包括乳腺癌在内多个癌种的小鼠肿瘤模型，并且可根据客户的研发需要提供诱发性肿瘤小鼠模型、基因工程小鼠肿瘤模型定制、PDX模型以及各类基于细胞系的异体移植肿瘤模型服务。

我们可以构建各类皮下，原位或者转移瘤模型，并针对相应的模型提供高度定制化的体内药效学服务。

- 1 Freddie B , Jacques F , Isabelle S , et al. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries[J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2018.
- 2 Holliday D L , Speirs V . Choosing the right cell line for breast cancer research[J]. Breast Cancer Research Bcr, 2011, 13(4):215.
- 3 Whittle J R , Lewis M T , Lindeman G J , et al. Patient-derived xenograft models of breast cancer and their predictive power[J]. Breast Cancer Research, 2015, 17(1):17.
- 4 Parkin N T , Kitajewski J , Varmus H E . Activity of Wnt-1 as a transmembrane protein.[J]. Genes & Development, 1993, 7(11):2181-2193.
- 5 Browne G , Taipaleenmäki H , Bishop N M , et al. Runx1 is associated with breast cancer progression in MMTV-PyMT transgenic mice and its depletion in vitro inhibits migration and invasion[J]. Journal of Cellular Physiology, 2015, 230(10):2522-2532.
- 6 Sakamoto K , Schmidt J W , Wagner K U . Mouse Models of Breast Cancer[J]. Methods Mol Biol, 2015, 1267:47-71.