

疾病小鼠模型系列之胃癌篇

为了开发新的更有效的治疗方式（比如肿瘤免疫治疗等），对胃癌特异性分子靶标及相关促肿瘤发生发展机理的深度探索解密则一直是基础研究领域的重要方向。在整个探索过程中，没有任何一种胃癌模型可以解决所有科研问题，因此我们胃癌研究者需要清楚每一种模型的基本特性，最好了解这些模型的肿瘤组织病理学特征、分子表达特征以及驱动胃癌发生的分子网络调控模式，这样可以让我们选用到合适的胃癌模型去解决特定的科学问题。

胃癌现在仍然是世界范围内的一种主要癌种。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”，去年一年全球新生胃癌超100万例，死亡约78万例，发病率（5.7%）和死亡率（8.2%）高居全球第五和第三（Table1），包括中国在内的东亚成为全球发病最严重地区[1]。

对胃癌的传统治疗方式是手术，化疗和放疗，其50%的被治疗患者会出现复发，5年生存率仅为20%。为了开发新的更有效的治疗方式（比如肿瘤免疫治疗等），对胃癌特异性分子靶标及相关促肿瘤发生发展机理的深度探索解密则一直是基础研究领域的重要方向。

在整个探索过程中，没有任何一种胃癌模型可以解决所有科研问题，因此我们胃癌研究者需要清楚每一种模型的基本特性，最好了解这些模型的肿瘤组织病理学特征、分子表达特征以及驱动胃癌发生的分子网络调控模式，这样可以让我们选用到合适的胃癌模型去解决特定的科学问题。

今天小编就带大家来了解一下这些常用的胃癌模型。

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%）

胃癌模型主要分为移植瘤模型和原发瘤模型两种。

胃癌移植瘤模型

移植瘤模型可根据移植部位不同细分为**皮下移植和原位移植**，皮下移植成瘤率高，建模时间短，重复性更好一些，因此应用更为广泛；但原位移植的优势在于其与胃癌原发环境更为接近，可以更好的模拟患者体内肿瘤浸润特征，利于肿瘤的发生和转移。

根据肿瘤种属来源不同，移植瘤模型还可分为**鼠源移植瘤模型和人源移植瘤模型**，目前可用于移植的鼠源肿瘤细胞系种类非常局限（鼠源胃癌细胞仅MFC细胞可用），而若使用小鼠原发胃癌肿瘤组织块进行移植则模型构建周期较长难度较大，故人源肿瘤模型更受基础研究者的青睐。

由于是异种移植，构建人源移植瘤模型需要合适的免疫缺陷小鼠，想知道如何选择，可点击“[【小鼠大学问】你选对免疫缺陷小鼠了吗？](#)”进行查看。

目前人源性胃癌移植瘤模型主要分为两种，一种是将人源的胃癌细胞系接种到免疫缺陷小鼠体内，称为**CDX模型（cell-line-derived xenograft）**，另一种是将来源于患者的胃癌组织块接种到免疫缺陷小鼠体内，称为**PDX模型（patient-derived xenograft）**。

由于用作CDX模型的人源胃癌细胞系（如MGC803、BGC823、SGC7901等）具有易获取，成瘤效果好，验证数据详实（有大量细胞功能学和药效数据可供参考）以及操作成本低等优势，在各类实验室中都有使用。

但越来越多的研究者发现人源细胞系在传代的过程中，其肿瘤细胞学特征、表达谱水平及肿瘤异质性与原始肿瘤差别较大，显然在药效预测方面已经不能满足需求。

胃癌PDX模型的样本直接来源于人体肿瘤组织，其保留了肿瘤的遗传特性和表型特征，同时肿瘤间质和干细胞成分的存在使得肿瘤生长微环境更接近实际情况，因此具有更好的临床预见性。

目前，胃癌PDX成功率约为10.7%-60%[2]，胃癌组织中瘤细胞的数量可显著提高PDX模型的成功率，同时瘤组织离体时间越短，成瘤率越高。

通过移植人源CD34+造血干细胞或者PBMC到免疫缺陷小鼠体内，建立人源化免疫重建小鼠，将其整合到胃癌PDX模型中，则成为**Hu-PDX模型（humanized PDX models, Fig1）**。此类模型不仅能够提供与人体肿瘤生长类似的免疫微环境，还能解决常规胃癌PDX模型因使用免疫缺陷小鼠而无法用于抗肿瘤免疫药物评估的问题。

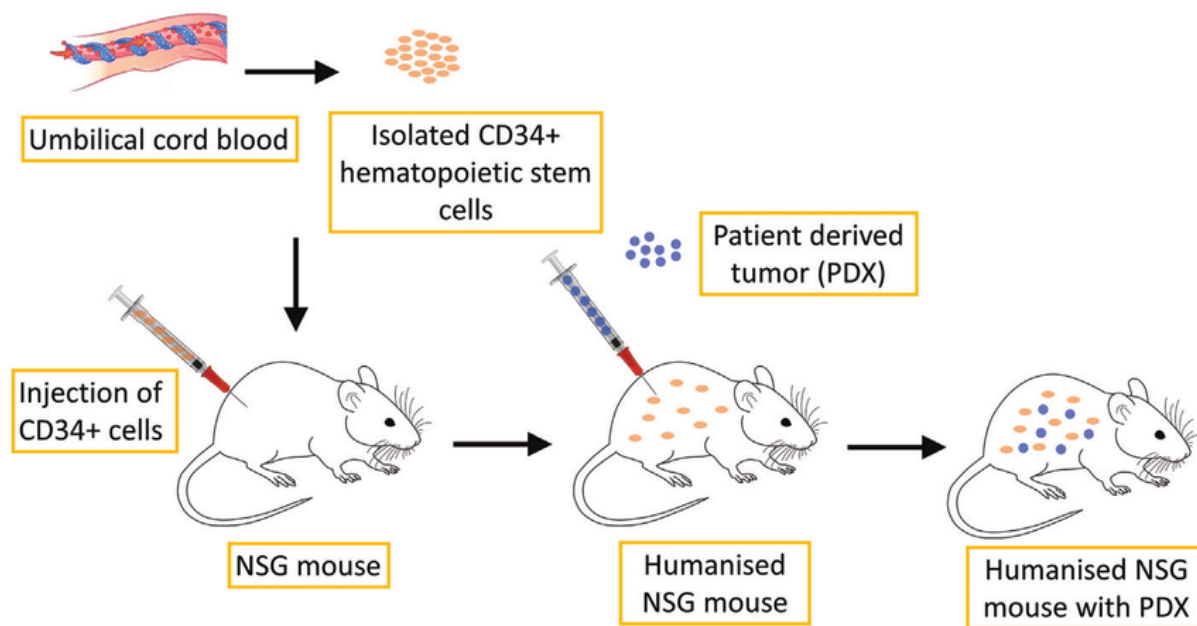


Fig1 Hu-PDX模型构建流程（图片来源于网络）

胃癌原发瘤模型

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。但若我们想探究胃癌发生或转移的内在机理，显然原发瘤模型更为适合。目前主流的胃癌原发瘤模型分为诱导型胃癌模型和基因工程小鼠胃癌模型。

诱导型胃癌模型

研究者可以利用化学致癌和幽门螺旋杆菌（*H. pylori*, HP）感染等方式诱导近交品系小鼠胃部发生癌变。其中化学致癌方式主要采用N-甲基-N-亚硝基脲(MNU)。通常在小鼠饮用水里添加MNU，以120ppm的浓度处理五周，可以促使很多品系的小鼠胃部发生癌变（Table2）[3]。当MNU与高盐饮食结合使用时，还可进一步增加胃癌发生频率。MNU诱导的肿瘤主要发生在胃窦中，主要包括分化良好至中度分化的肿瘤。尽管MNU致癌作用的确切机制仍不清楚，但研究者们发现很多信号通路和转录因子都参与其中，比如p53信号通路，NF-κB信号通路等等，特别是肿瘤抑制因子Tff1的表达最受关注（人类胃癌经常检测到TFF1的异常表达），部分学者提出MNU可通过对Tff1启动子的一系列表观遗传修饰来介导肿瘤发展。

Table 2 GC susceptibility to MNU mutagenesis in different mouse strains

Strain	Incidence (affected/ total) (%)	Adenocarcinoma (affected/incidence)			Depth of invasion (affected/incidence)			
		WD	PD	SC	M	S	MP	SS
BALB/c	20/27 (74)	18	1	1	2	12	3	—
C3H/HeN	7/26 (26)	3	4	—	5	2	—	—
C57/Bl6	8/26 (30)	8	—	—	2	6	—	—
CBA/JN	7/23 (30)	6	1	—	5	1	—	—
CD-1 (ICR)	6/27 (22)	4	2	—	2	3	—	1
DBA/2N	6/29 (20)	5	1	—	2	4	—	—

GC, gastric cancer; M, mucosa; MNU, N-methyl-N-nitrosourea; MP, muscularis propria; PD, poorly differentiated; SC, signet cell type; S, submucosa; SS, subserosa; WD, well differentiated.

另一种诱导小鼠胃癌方式——幽门螺旋杆菌（HP）感染，最常用的菌株是悉尼菌株（*H. pylori* SS1）。在该菌株感染约8个月后，小鼠出现严重的胃炎和胃上皮萎缩，但通常不发生癌变，因此*H. pylori* SS1通常与化学药剂或基因工程小鼠一起使用，以促进胃癌的发生。

基因工程小鼠胃癌模型

无论利用化学致癌方式还是幽门螺杆菌感染，诱发产生的肿瘤多为鳞状细胞胃癌，不同于常见的胃腺癌。而近些年由于基因编辑门槛的下降，基因工程小鼠胃癌模型流行起来。该类模型是直接将胃癌发生相关的基因进行编辑，其形成肿瘤的形态特征与人肿瘤自然发生极为相似，且特异性很高，在研究胃癌发生发展机制（尤其是信号通路研究）中具有独特的优势。在这里，小编将介绍一些最常用的基因工程小鼠胃癌模型（Table3）[4]，包括Tff1敲除小鼠、INS-GAS转基因小鼠、Gp130突变小鼠、H/K-ATPase:IL-1 β 转基因小鼠和K-Ras转基因小鼠。

Table 3 Genetic mouse models for GC

Model	Onset	Incidence, %	Location	Type	Inv.	Met.
ACT-GAS	20 months	100	Corpus	WD	—	—
CA-AhR	12 months	100	Corpus	WD	+	+
CEA-SV40	7 weeks	100	Antrum	WD	+	—
Atp4b-Cre; Cdh1 ^{loxP/loxP} ; p53 ^{loxP/loxP}	12 months	100	Corpus	PD	+	+
Cdh1 ^{+/-} + MNU	10 months	46	Antrum	PD	—	—
H/K-ATPase:Cdx2	3 months	100	Corpus	WD	+	—
Gas ^{-/-}	12 months	60	Antrum	WD	—	—
GB-Cre;Smad4 ^{Floxed}	18 months	100	Antrum	WD	—	—
Gp130 ^{F/F}	3 months	100	Corpus + antrum	WD	—	—
INS-GAS	20 months	75	Corpus	WD	+	—
K19:Kras-(V12D)	16 months	38	Corpus	WD	+	—
H/K-ATPase:IL1 β	18 months	30	Antrum	WD	—	—
Runx3 ^{-/-} + MNU	1 year	60	Corpus + antrum	WD	—	—
Lgr5 ^{CreERT2} ;APC ^{Floxed}	3 weeks	100	Antrum	WD	—	—
MMTV-Ad12	4 months	56	SCJ	WD	+	+
Mth1 ^{-/-}	18 months	13	Antrum	WD	—	—
Smad3 ^{-/-}	10 months	100	SCJ	WD	+	—
Smad4 ^{+/-}	18 months	100	Corpus + antrum	WD	+	—
Tff1 ^{-/-}	5 months	30	antrum	WD	+	—
K19-Wnt1:C2mE	5 months	100	SCJ	WD	+	—
Villin-Cre;KLF4 ^{Floxed}	20 months	29	Antrum	WD	—	—

+, present; , absent; GC, gastric cancer; Inv., invasion; Met., metastasis; PD, poorly differentiated; SCJ, subcolumnar junction; WD,well differentiated.

• Tff1敲除小鼠

TFF1是一种肿瘤抑制因子，主要由胃小凹表面黏液细胞表达，调节胃腺的正常分化，通过与各种粘蛋白的相互作用，TFF1可以保护胃粘膜免受侵蚀。Tff1敲除（Tff1^{-/-}）小鼠在1周龄时出现胃上皮细胞增生，其中30%小鼠在20周时出现上皮内多发的大病灶甚至浸润腺癌[4]。Tff1的敲除会促进经典NF- κ B信号传导途径

的激活，进而导致胃癌形成过程中的炎症加强。

• INS-GAS转基因小鼠

INS-GAS转基因序列由人胃泌素（GAS）的编码序列和胰岛素（INS）的上游启动子序列组成，转基因后可引起小鼠胰腺β细胞中酰胺化胃泌素过度表达，导致血清中胃泌素的浓度比正常高2倍。月龄较小的INS-GAS小鼠出现胃酸分泌量增加，高胃泌素血症加重以及胃黏膜上皮细胞增生等症状，随着时间推移小鼠出现胃黏膜肠上皮化生与异型增生等现象，20月龄时则发展为胃体侵袭性肿瘤[4]。使用幽门螺旋杆菌感染INS-GAS小鼠后会加速其黏膜内癌的发生（12月龄内），且病灶会逐渐向胃黏膜下和血管内进行转移。

• Gp130突变小鼠

Gp130是细胞因子IL6和IL11的共同受体，Gp130突变（Gp130F/F）小鼠在3个月内就可以发展为与人类相近的胃腺癌。由于Gp130突变会导致TFF1的表达下调，因此Gp130F/F小鼠在很多方面的表型都与Tff1-/-小鼠相似。在胃部，Gp130信号通路的主要细胞因子传递者是IL11，其过度表达不仅能够促进胃慢性炎症，还可以过度激活STAT3，进而加速肿瘤的发生。

• H/K-ATPase:IL-1β转基因小鼠

利用小鼠H/K-ATPase启动子在小鼠体内表达人源IL-1β，即为H/K-ATPase:IL-1β转基因小鼠。该模型表现出自发的胃炎，慢性进展的胃萎缩、胃黏膜肠上皮化生，进而进展为胃癌（时间超过1.5年）[4]。使用幽门螺旋杆菌感染H/K-ATPase:IL-1β小鼠，则可以大大加速胃癌发生进展（时间在1年内）。H/K-ATPase:IL-1β小鼠的NF-κB信号传导途径处于异常激活状态，使促炎症因子如IL-1β，IL-6，IFN-γ和TNFα的表达水平升高，进而导致骨髓源的抑制细胞（MDSCs）出现聚集现象。另外，H/K-ATPase:IL-1β小鼠模型的出现对研究基质细胞、肿瘤相关纤维母细胞（CAFs）和炎性细胞在肿瘤微环境中的作用具有重要意义。

• K-Ras转基因小鼠

最常见的K-Ras转基因小鼠是利用K19启动子过表达致癌基因K-Ras（G12D），38%的这些小鼠在16个月龄时表现出胃黏膜肠上皮化生和胃腺癌的形成[4]。K-Ras（G12D）小鼠出现了早期趋化因子（如CXCL1）上调以及炎性细胞和成纤维细胞聚集的现象，这些都与胃癌的发生相关。还有一种模型是采用K19-CreERT小鼠与Loxp-STOP-Loxp-K-Ras（G12D）小鼠交配的方式以获得条件性表达K-Ras（G12D）的小鼠，这些小鼠的胃中也同样出现多发异性增生、化生及腺癌的发生。K-Ras的变异使得胃部更易发生感染或炎症反

应，在胃癌发生过程中起到关键性作用。

基因工程小鼠胃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，目前正成为胃癌领域中必不可少的研究工具。

南模生物有包括胃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 You W C , Brown L M , Zhang L , et al. Randomized Double-Blind Factorial Trial of Three Treatments To Reduce the Prevalence of Precancerous Gastric Lesions[J]. JNCI Journal of the National Cancer Institute, 2006, 98(14):974-983.

3 Yamamoto M , Furihata C , Ogiu T , et al. Independent variation in susceptibilities of six different mouse strains to induction of pepsinogen-altered pyloric glands and gastric tumor intestinalization by N-methyl-N-nitrosourea[J]. Cancer Letters, 2002, 179(2):0-132.

4 Poh A R , O'Donoghue R , Ernst M , et al. Mouse models for gastric cancer : matching models to biological questions.[J]. Journal of Gastroenterology & Hepatology, 2016, 31(7):1257-1272.