

疾病小鼠模型系列之结直肠癌篇

结直肠癌小鼠模型能够模拟人体结直肠癌的发生发展，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。本期将带大家了解一下这些常用的结直肠癌模型。

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180万**结直肠癌**新发病例，发病率（10.2%）及死亡率（9.2%）都在排行榜前三（Table1）^[1]，是最常确诊且危害最严重的癌症之一，由于人口增长、衰老以及人类生活方式的改变，结直肠癌的发病负担还在逐年加重，而搞清其发病机制，对找到正确的预防治疗方式、改善患者不良预后和降低死亡率至关重要。

结直肠癌小鼠模型能够模拟人体结直肠癌的发生发展，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。本期将带大家了解一下这些常用的结直肠癌模型。

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%）
	结直肠癌（11.6%）	结直肠癌（9.2%）
	结直肠癌（10.2%）	结直肠癌（8.2%）
	前列腺癌（7.1%）	肝癌（8.2%）
	结直肠癌（5.7%）	结直肠癌（6.6%）

结直肠癌模型主要分为**移植瘤模型**和**原发瘤模型**两种。

结直肠癌移植瘤模型

结直肠癌移植瘤模型就是将人体或小鼠原发的结直肠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。**

同种移植采用鼠源组织或细胞，其中MC38小鼠结肠癌细胞的移植最为常见，多用作结直肠癌发生及转移方向研究，并成为肿瘤药效验证的常用途径。

异种移植采用人源组织或细胞，更接近人体肿瘤真实情况，也因此更受欢迎，但其需要免疫缺陷小鼠作为宿主，想了解什么样的免疫缺陷小鼠可满足实验要求，可点击“[你选对免疫缺陷小鼠了吗？](#)”进行查看。

目前人源性结直肠癌移植瘤（异种移植）模型主要分为两种，一种是将人源的结直肠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结直肠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模型的人源结直肠癌细胞系具有易获取，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。

在结直肠癌研究当中，KRAS基因突变已被鉴定为预测西妥昔（Cetuximab）疗效的生物学标志物；在很多病例当中，BRAF、TP53等基因突变被发现于结直肠癌不同的发展阶段；而MSI（microsatellite instability）是判断结直肠癌类型的一种重要指标。那么针对于这些不同的结直肠癌研究方向，应该选择分子特征与之匹配的细胞系（Table2）进行CDX模型的构建。

Table2 部分结肠癌细胞系分子特征一览表*

细胞名称	组织来源	MSI状态	KRAS	BRAF	TP53
HCT-8	结肠原发灶	MSI	野生型	突变型V600G	野生型
HCT-116	结肠原发灶	MSI	突变型G13D	野生型	野生型
SW480	结肠原发灶	MSS	突变型G12V	野生型	突变型R273H
SW620	淋巴结转移灶	MSS	突变型G12V	野生型	突变型R273H
Caco-2	结肠原发灶	MSI	野生型	野生型	突变型R273H
HT-29	结肠原发灶	MSS	野生型	突变型V600E	突变型E204X
LoVo	左锁骨上区转移灶	MSI	突变型G13D	野生型	野生型

*各细胞系在免疫缺陷鼠中的成瘤性最好通过预实验确定。

另外，若是仅进行肿瘤增殖角度的研究，使用皮下成瘤模型即可，属于最常用的体内模型。而若要进行转移角度的研究，则需要构建尾静脉注射转移模型或脾脏接种转移模型。前者多造成结直肠癌的肺转移，常用于研究肺转移机理或筛选抑制肺转移的药物；后者多造成结直肠癌的肝脏转移，模型的表型更接近于结直肠癌术后肝转移的临床特征，其具有造模简单，转移率高等特点^[2]。

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，在药效预测方面很可能无法满足需求。PDX模型应运而生，其将手术中获得的新鲜肿瘤组织移植到免疫缺陷小鼠，以精确模拟患者肿瘤的生物学特性及不同患者间肿瘤的异质性。结直肠癌PDX模型在组织病理学、癌基因表达及对药物反应上均可较好的复制原发肿瘤的生物学特点，具有较好的临床预见性。

通过移植人源CD34⁺造血干细胞或者PBMC到免疫缺陷小鼠体内（即建立人源化免疫重建小鼠），在此基础上构建PDX，则成为Hu-PDX模型。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，还能解决常规结直肠癌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。

结直肠癌原发瘤模型

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。但若我们想探究结直肠癌发生或转移的内在机理，显然原发瘤模型更为适合。目前主流的结直肠癌原发瘤模型分为**诱发型结直肠癌模型**和**基因工程小鼠结直肠癌模型**。

诱发型结直肠癌模型

诱发型结直肠癌模型多采用化学诱发途径 (Fig1)，常用的诱导剂有二甲基胍(dimethylhydrazine,DMH)、氧化偶氮甲烷(azoxymethane,AOM)及致炎剂葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodiuln, DSS)。DMH本身不致癌，但在肝细胞内质网被氧化成甲基氧化偶氮甲醇，随胆汁进入肠腔，则会引起结直肠癌上皮癌变。AOM是DMH在肝脏的代谢产物，它通过DNA烷化，促进碱基的错误配对而致癌。DMH和AOM都可以诱发降结肠肿瘤，但后者相比前者的致癌性更加稳定高效。DSS是人工合成的一种硫酸多糖，其单独使用会造成小鼠结肠炎症，以Th1/Th2细胞功能失调为特征，并伴有一定几率的肠癌发生。而AOM和DSS联合使用则可以稳定地诱发炎症性结直肠癌。

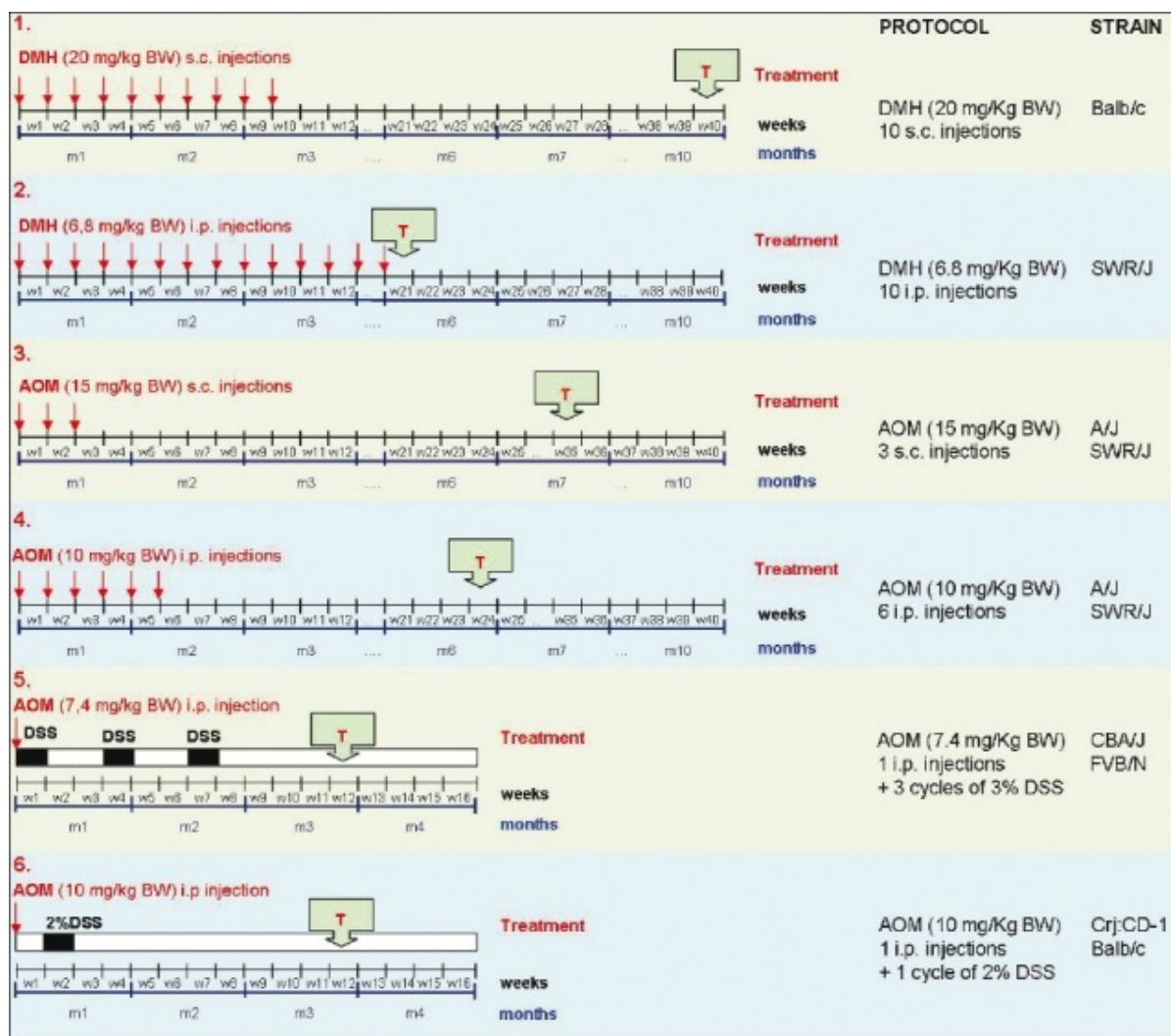


Fig1 结直肠癌模型不同化学诱发途径^[3]

基因工程小鼠结直肠癌模型

近些年由于基因编辑门槛的下降，基因工程小鼠结直肠癌模型流行起来。该类模型是直接结直肠癌发生相关的基因进行编辑，特异性很高，在研究结直肠癌发生发展机制中具有独特的优势。在这里，小编将介绍一些最常用的基因工程小鼠结直肠癌模型供大家参考。

Apc^{Min}小鼠

Apc基因是Wnt途径中重要的抑癌基因，对结直肠癌肿瘤的发生发展起到重要作用。ApcMin小鼠[4]是通

过ENU诱变筛选出来的一个小鼠品系，其Apc基因编码亮氨酸的第850号密码子(TTG)转变成终止密码子(TAG)，从而提前截断蛋白，Apc失去抑癌作用。ApcMin小鼠纯合子胚胎致死，低龄杂合子小鼠可在整个肠道中生长出超过30个腺瘤，大多数在出生120天后死亡。ApcMin小鼠与人类家族性多发息肉病(familial adenomatous polyposis, FAP)表现相似，目前是由于FAP药物开发的理想模型。

Apc^{flox}小鼠

除了全身性Apc基因的突变，现在还可以通过基因修饰手段，实现特定时间或特定组织Apc基因的失活。例如可以通过在Apc^{flox}小鼠[5]肠粘膜下注射表达Cre重组酶的慢病毒或腺病毒，达到定时在大肠中删除Apc基因的目的，从而抑制β连环蛋白的条件表达，导致结直肠息肉的形成。该模型具有肿瘤发生率高及可预测性等特点，能很好地模拟临床FAP综合征。

MMR相关基因敲除小鼠

MMR是DNA错配修复系统，其相关任一基因的突变，都会使细胞错配修复功能缺陷，结果导致DNA复制错误或微卫星不稳定，进而诱发人类遗传性非息肉性大肠癌(HNPCC)。在小鼠身上敲除Mlh-1或Mlh-2基因(两种MMR相关基因)，其淋巴细胞会发生瘤变，同时也非常容易发生胃肠道肿瘤，是研究HNPCC的理想模型。其中Mlh-2基因敲除小鼠纯合子还会伴有Apc基因的失活。

其他基因工程小鼠

Villin-KrasG12D转基因小鼠[6]采用Villin启动子驱动KrasG12D表达，可以在Apc未突变的情况下诱发侵袭性结肠腺癌。CDX2P-G22Cre; Kras LSL-G12D双阳性小鼠[6]发生隐窝结构改变及结肠上皮增生，是研究增生性肠息肉的理想模型。Kras LSL-G12D; Smad4 flox/flox小鼠，在其肠粘膜下注射表达Cre的慢病毒，将诱导小鼠肠上皮细胞突变进而形成癌灶，可以模拟临床散发性结直肠癌。

以上所介绍的基因工程小鼠结直肠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肿瘤自然发生极为相似，目前正成为结直肠癌领域中必不可少的研究工具。

南模生物有包括结直肠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。

References

- 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 Nguyen D X , Bos P D , Massagué, Joan. Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization[J]. NATURE REVIEWS CANCER, 2009, 9(4):274-284.

3 Fazio V M , Robertis M D , Massi E , et al. The AOM/DSS murine model for the study of colon carcinogenesis: From pathways to diagnosis and therapy studies[J]. Journal of Carcinogenesis, 2011, 10(1):9.

4 Su L K , Kinzler K W , Vogelstein B , et al. Corrections and Clarifications: Multiple Intestinal Neoplasia Caused By a Mutation in the Murine Homolog of the APC Gene[J]. Science, 1992, 256(5060):1114-1114.

5 Robanus-Maandag EC, Koelink PJ, Breukel C, , et al. A new conditional Apc-mutant mouse model for colorectal cancer[J]. Carcinogenesis,2010, 31(5):946-52.

6 Rustgi AK. BRAF: A Driver of the Serrated Pathway in Colon Cancer[J]. Cancer Cell, 2013, 24(1):1-2.