

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.21.040

患者来源的异种移植模型:促进前列腺癌转化研究的新平台*

韩明伟^{1,2#} 李 源^{2#} 邱荣鹤² 张目奇² 杨容金² 陈 钧^{3Δ} 刘蓉蓉^{1Δ}

(1 第四军医大学基础部微生物学教研室 陕西 西安 710032; 2 第四军医大学学员一旅 陕西 西安 710032;

3 陕西省中医医院脑病科 陕西 西安 710032)

摘要:近年来,患者来源异种移植模型(Patient-derived xenograft, PDX)引起了科研工作者的广泛关注。PDX 模型在生物学的研究、临床前药物开发及个性化治疗策略的制定等方面比传统的细胞移植肿瘤模型有着更显著的意义,其特点在于保留了人来源肿瘤组织的分子生物学、基因及组织学特性。目前,国外多个实验室已经建立了多种肿瘤 PDX 模型,本文综述了当前这一领域的研究进展,并对 PDX 模型在前列腺癌研究中的优势及尚需解决的问题进行了阐述。

关键词:异种移植模型;前列腺癌;肿瘤模型;药物研发;个体化治疗;转化研究

中图分类号:R-33;R737.25 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)21-4177-06

Patient-derived Xenografts: A Platform for Accelerating Translational Research in Prostate Cancer*

HAN Ming-wei^{1,2#}, LI Yuan^{2#}, QIU Rong-he², ZHANG Mu-q², YANG Rong-jin², CHEN Jun^{3Δ}, LIU Rong-rong^{1Δ}

(1 Department of Microbiology, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China; 2 No.1 cadet brigade, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China; 3 Department of Encephalopathy, Shaanxi Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT: Recently, there has been renewed interest in the development and characterization of patient-derived tumour xenograft (PDX) models. Numerous PDX models have been established for prostate cancer and, importantly, retain the principal molecular, genetic, and histological characteristics of the donor tumour. As such, these models provide significant improvements over standard cell line xenograft models for biological studies, preclinical drug development, and personalized medicine strategies. This review summarizes the current state of the art in this field, illustrating the opportunities and limitations of PDX models in translational prostate cancer research.

Key words: Patient-derived xenograft; Prostate cancer; Cancer models; Drug discovery; Personalized medicine; Translational research

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R737.25 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)21-4177-06

前言

在肿瘤的转化研究中,实验动物模型对于发病机制的基础研究到临床前治疗方法的研发发挥了重要的作用。就药物研发而言,20 世纪 70 年代的肿瘤细胞培养技术引发了抗肿瘤药物临床前的体内实验与体外实验的跨越式发展^[1]。目前,最常见的临床前药物研发和检测模型是将肿瘤细胞系接种于免疫缺陷小鼠皮下异种移植模型。然而数据显示尽管在小鼠模型实验中取得了显著的疗效,但是大约 85%的抗肿瘤治疗在早期临床试验中就失败^[2-3]。例如,在转移的激素抵抗、去势抵抗的前列腺癌患者的随机性 III 期临床试验中,分别用标准的多烯紫杉醇和强的松化疗方法进行治疗,结合或者不结合 custirsen,临床试

验结果与预期不符^[4],在标准化疗方案中增加 custirsen 治疗并不能显著地提高病人的生存率。然而,临床前研究表明抑制 clusterin 能够抑制肿瘤的生长,并再次增加药物抵抗的细胞系和肿瘤细胞的化疗敏感性^[5-7]。同时,一个小型 II 期临床试验测试了 custirsen 和多烯紫杉醇或强的松的联合治疗的效果,结果显示这一联合治疗可以提高肿瘤细胞的敏感性,患者的死亡率降低了 50%^[8]。那么,为什么其在 III 期临床试验中却失败了呢?上述结果再一次表明在临床转化过程中的失败促使我们去开发新的适用于前列腺癌临床前研究的模型。遗憾的是,临床前疾病模型很难反映临床试验中的药物疗效及治疗结果^[9]。事实证明人们最常使用的细胞系改变了肿瘤的生物学本质,包括获得或丢失基因信息,同时还有侵袭能力的改变、对于特定的生

* 基金项目:国家自然科学基金青年项目(81602494);国家自然科学基金面上项目(81402055);陕西省自然科学基金面上项目(2016JM8014)

作者简介:韩明伟(1997-),在读本科学员,电话:15129057578, E-mail: han212313@163.com;

李源(1997-),在读本科学员,电话:13897282976, E-mail: 13897282976@163.com

Δ 通讯作者:陈钧, E-mail: chj2002819@163.com

刘蓉蓉, E-mail: rong4713@163.com

(收稿日期:2018-02-23 接受日期:2018-03-18)

长及存活通路的依赖等^[10-12]。另外,细胞系模型在长期的体外培养之后会表现出相同的性状,而不能表现出肿瘤在临床上的异质性。最后,细胞模型并不具备原有的肿瘤组织结构,不能准确地反映肿瘤细胞与其微环境之间的复杂的相互作用^[13]。

为了解决这些问题,如何建立更加有效的临床前研究实验模型正引起人们的关注,新的模型主要包括:PDX 及基因工程小鼠(genetically engineered mouse,GEM)和短期原代培养及类器官(organoids)等。PDX 模型并不是一个新概念,上世纪 80 年代的研究便论证了使用细胞毒疗法的肺癌患者的临床反应和使用这些病人标本制作的 PDX 模型之间有高度的关联^[14]。近年来,PDX 模型再次被用于药物研发,近期一个临床 II 期试验证实 PDX 模型较好的评定了卡博替尼(cabozantinib)在 CRPC 病人中的效用^[15]。因此,在实施临床试验之前,使用相关性更强

的临床前实验动物模型来检测抗肿瘤药物或许能够逆转临床 III 期试验的失败^[16]。

1 前列腺癌 PDX 模型的研究方法概况

在小鼠中,从新鲜的原代细胞或人前列腺转移组织建立 PDX 模型的程序已在文献中有系统的描述^[17-20]。简而言之,从外科手术或组织活检中获得肿瘤组织标本,接着将标本处理成小的组织切片或者单细胞悬液后进行移植,可单独或合并基质胶或小鼠精囊间充质(seminal vesicle mesenchyme,SVM)移植至免疫缺陷小鼠。肿瘤的生长成活率可以通过检测前列腺特异性抗原(PSA)在血浆中的水平进行评估,这里的 PSA 不是由小鼠产生的,而是由移植的人肿瘤细胞产生分泌到血液中的^[18]。表 1 总结了建立前列腺 PDX 模型的各种方法。

表 1 前列腺癌 PDX 模型总结
Table 1 Summary of Prostate Cancer PDX Models

Tissue origin and number	Source	Processing	Mice strain	Implant site	Take rate	Reference
BHP (15)	Surgery/	Fresh tumour pieces	SCID	SRC,s.c	93 %SRC	[17]
Primary (26)	biopsy	Fresh tumour pieces		,ortho.	58 % s.c. 72 %orth	[18]
Primary (30)	Surgery	Fresh tumour pieces	nu/nu and NOD/SCID	SRC,s.c.	100 %SRC 17 %s.c.	[21]
Primary (9)	Surgery/	Fresh tumour pieces	NOD/SCID	SRC	94 %	[22]
Metastasis(3)	biopsy					
Primary (12)	Surgery	Fresh tumour pieces	NOD/SCID and NSG	SRC	64 %	[20]
Primary (1)	Surgery	Fresh tumour pieces	Rag2-/-γ?/-/-	SRC Ortho.	NR 95 %	[23]
Primary (1)	Surgery	Transplanted SRC graft	NOD/SCID			
Primary (2)	Surgery	Fresh tumour pieces in Matrigel	SCID	s.c.	75 %	[24]
TURP (1)						
Metastasis(5)						
Primary (2)	Surgery	Fresh tumour pieces	BALB/c and NMRI	s.c.	35 %	[19]
TURP (3)						
Metastasis(2)						
Primary (6)	Surgery	Fresh tumour pieces in Matrigel	nu/nu	s.c.	60 %	[25]
Primary (4)	Surgery	Fresh tumour pieces in Matrigel	nu/nu	s.c.	20 %	[26]
Primary (1)	Surgery	Single cell suspension in Matrigel	nu/nu	s.c.	NR	[27]
Metastasis(1)	Surgery	Fresh tumour pieces		s.c.	NR	[28]
CTCs (2)	Peripheral blood	Mononuclear CD45-negative cells	BALB/c NSG	s.c.	NR	[29]

寻找最适合的宿主移植小鼠品系来建立 PDX 模型是该模型最为重要的一个方面。通常认为免疫缺陷小鼠具有更高的移植率,其中,NOD/SCID 小鼠和 NOD/SCID/IL2γ 受体敲除小鼠

通常被用来研究前列腺癌 PDX 模型。研究显示在裸鼠(缺失 T 细胞)和 NOD/SCID 小鼠(缺失 T 细胞和 B 细胞)之间的移植效率并无显著差异,这表明宿主免疫缺陷的类型和程度并不影响

肿瘤的生长^[18]。

在操作方法上显著的差异就是移植所选择的位置。最常用的位置是在小鼠的背部区域皮下移植,另外还可将原代肿瘤移植到肾包膜下(SRC, subcapsule impantation)或是前列腺原位移植(orthotopic implantation)。在早期的研究中,肿瘤组织大多被移植在皮下。然而,移植成功率只有 20-75%,以至于只有运用晚期转移瘤才能使移植成功^[17,19]。相比之下,肾包膜下移植的成功率可以达到 64-100%,这可能是由于肾脏的血供极为丰富^[17,18,22]。同时研究显示就其组织病理学、遗传特性以及转移能力而言,肾包膜下移植保留了人类肿瘤的异质性^[18,21]。最后一种小鼠前列腺原位移植的成功率约为 72%^[17]。尽管技术在不断发展,鉴于肿瘤细胞可以生长在相同的解剖微环境中,原位移植仍具有移植的优势,但其前提是在原位移植中使用小鼠精囊间充质^[30]。

由于人前列腺细胞的生长和存活需要雄性激素^[17,21],激素水平的高低同样能影响移植的效果。有研究显示向小鼠外源性提供睾酮可促进人前列腺癌异种移植物的存活率和生长。另一项研究对比了睾酮对于前列腺癌 PDX 模型生长的影响,当使用睾酮时,血浆睾酮从 1.3 ± 1.1 nmol/L 急剧上升为 30.6 ± 11.4 nmol/L,小鼠肿瘤移植的存活率显著提高。而对于雌性裸鼠而言,移植的前列腺肿瘤组织不能生长^[31]。近期,Williamms 等研究小组完善了从外周血液活体中所分离的循环肿瘤细胞(circulating tumour cells, CTCs)皮下移植的标准化流程^[32]。他们发现来源于耐药的 CRPC 患者的 CTCs 在免疫缺陷的小鼠上可成瘤,随之建立的 PDX 模型显示出患者肿瘤具有去势抵抗及紫杉烷类药物抵抗^[29]。这种基于 CTC 的 PDX 模型具有连续性和微创性,对个体化治疗时效性的提高非常有帮助。

总的来说,肾包膜下移植构建的 PDX 模型的效果是理想的。例如 NSG,其肿瘤存活率约为 94%,肿瘤移植传代成功率约为 44%^[17,21]。另外,基质胶等各种细胞外基质的应用,以及外源性睾酮的使用为植入的前列腺癌组织提供了进一步的支持,这对实现>90%的高移植率是非常必要的^[31]。更为重要的是,即使在新宿主体内连续传代,肾包膜下移植的前列腺癌组织仍保持了肿瘤来源组织的病理学特征、分化状态及增殖速度^[17]。

2 前列腺癌 PDX 模型保留了人类疾病最重要的特征

传统的临床前实验动物模型由于不能准确的预测临床疗效而备受质疑^[9]。细胞系为了在无限期的人工培养状态下进行生长,经历大幅度适应性变化,因此当其再植入宿主建立肿瘤模型时并不能代表来源肿瘤的组织学特征^[33,34]。研究 PDX 模型的根本动机就是期望这类模型能够保持原有肿瘤的生物学特性(例:组织病理学、生长速率、转移能力、对雄性激素去势疗法的抵抗性),从而更好地反映疾病进展的各个阶段以及更好地预测和评估患者的疗效。事实上,研究已经证实前列腺癌 PDX 模型保持了来源肿瘤的基本生物学特性,并且这些特性在进行小鼠间传代时也保留了下来^[18,21,23,35,36]。例如腺体结构、分化程度以及相对丰富的肿瘤细胞和基质等均在 PDX 模型中被保存下来。而且,对于拷贝数的变化和全基因组测序数据的分析表明患者的肿瘤和来源于患者肿瘤的 PDX 模型之间存在显著的一致性。例如,20%-50%的前列腺癌均显示 TMPRSS2-ERG 阳性^[37],

使用这一肿瘤发展而来的 PDX 模型也表达 TMPRSS2-ERG 融合基因,从而高水平表达 ERG 蛋白^[21]。另一研究证实来源于神经内分泌前列腺癌(NEPC)的 PDX 模型保留了原有肿瘤的组织病理学特征,同时表达了具有神经内分泌分化的标志物:嗜铬粒蛋白 A、突触体素、神经特异性烯醇^[21]。最后,在一组从 7 位前列腺癌患者所得到的 PDX 模型中,对其细胞分裂拷贝数情况进行层次聚类分析,结果证实患者的肿瘤和 PDX 细胞群存在相关性^[21],这进一步证实 PDX 模型中基因结构的保守性。

更有研究证实肿瘤患者对于化疗药物的临床反应和使用针对个人的 PDX 模型的药物效果具有高度的一致性^[15,38-40]。植入的前列腺癌患者肿瘤组织若能发展成为可传代肿瘤组织细胞系,其生存率要显著低于植入后进入静止状态的患者肿瘤^[21]。另外,肿瘤的潜伏期(从初始植入移植至发展为可传代的肿瘤细胞组织)与相应患者 PSA 表达水平的回升显著相关,表明该模型亦可用于回顾性研究^[21]。而且,在所有来源于神经内分泌肿瘤患者的 PDX 模型中,使用比卡鲁胺(临床上常用的一线治疗药物,AR 通路抑制剂)起初可以使肿瘤细胞数量和 PSA 的水平急剧下降;然而在临床中还观察到这样一种情况,即在数月之后,20%的肿瘤复发成为去势抵抗性前列腺癌(CRPC)^[21]。尽管进行去雄激素治疗,NEPC 细胞系仍继续生长^[21],这进一步证明了在 PDX 模型中的治疗反应与临床观测的结果具有显著关联性。

需要指明,相比于肿瘤细胞系,PDX 模型呈现出更为稳定的基因组状态。小鼠之间的传代增殖并没有显著改变植入肿瘤的功能和分子特性^[38,41-43]。最新研究显示就其拷贝数和基因表达情况而言,不同来源(多达 16 代)的前列腺癌 PDX 模型并没有彻底地的偏离原发肿瘤^[21]。这种表型的稳定性进一步支持了 PDX 模型在转化研究中具有高保真度。

3 前列腺癌 PDX 模型在转化研究中的应用

3.1 药物筛查和肿瘤标志物的发现

抗肿瘤药物的成功研发目前仍然面临挑战。许多化合物的研发耗资数百万,并且已进入大规模的临床 III 期试验,但最终因功效及安全问题而以失败告终^[44]。这一高耗费的部分原因在于用来为临床开发筛选新药的临床前细胞系异种移植动物模型不能够完全模拟肿瘤真实的生长环境,而且新药的测试通常是在对所选患者无合适的生物标记及反应监测下进行的。将 PDX 模型应用于临床前药物筛选是一个不争的事实,那就是该模型保留了患者原发肿瘤的组织病理学特征及分子特性。最新研究报道,在 AR 驱动的转移癌(称为 LTL313H)PDX 模型中,使用小分子抑制剂 EPI-001 作用在 AR 的氨基末端结构域后,可以抑制肿瘤的生长^[45]。而且,使用相同的 LTL313H 转移的 PDX 模型时,将 Ancustat 这一多化合价植物药与多西紫杉醇协同使用可以发挥抗肿瘤作用^[46]。最后,在 CRPC PDX 模型中(LuCaP 96CR),比卡鲁胺(ENZ)和前列腺特异性膜表面抗体药物化合物(PSMA ADA)的结合,能够产生强烈的抗肿瘤作用,其患者生存率比使用 ENZ 的单一疗法显著提高^[47]。基于这些研究发现,PDX 模型可在联合治疗临床试验中起到关键的作用,从而进一步提升现阶段一线治疗药物的疗效。

NEPC 的靶向治疗方法的研究也由于缺乏相关临床体内

试验模型而相对滞后。近期,一个源于 NEPC 患者肿瘤的 PDX 模型(称为 LTL352)已经被建立起来。研究者发现采用这一模型,联合使用顺铂和依立替康(拓扑异构酶 I 的抑制剂)能够在对宿主无较大毒性作用的情况下,降低 NEPC 肿瘤细胞的数量^[48]。而且,NEPC PDX 模型已经用于检验极光激酶抑制剂 PHA-739358 其药效的基础与临床研究中^[49]。结果表明抑制 PHA-739358 活性可能对 NEPC 患者有潜在疗效,这一观点正在一临床 II 期试验中进行进一步研究(NCT01799278)。

与药物筛选同等重要的是新型肿瘤标记物的发现,据此可将患者分成不同治疗组,并预测出可能出现的治疗抵抗。通过对同一患者标本中分离出的转移癌 (Pcal-met) 和非转移癌 (Pca2)进行全基因组测序分析,发现 ASAP1 基因与前列腺癌的转移密切相关,其可成为新型的肿瘤转移的标记物^[50]。同样地,在另一项研究中,通过对转移和非转移性前列腺癌 PDX 模型的基因组测序,进而分析发现差异表达的 MicroRNAs,其可靶向一些与肿瘤转移密切相关的基因,也可成为潜在的肿瘤标志物^[51]。最新研究显示用前列腺腺癌 PDX 模型(LTL331)模拟 NEPC 的进展,鉴定出在肿瘤转化过程中 PEG10 表达升高^[52],这有可能成为一个能够辅助 NEPC 早期诊断的肿瘤标志物。

3.2 小鼠仿真模型和临床同步试验

个体化的 PDX 模型可以与临床试验相结合,从而能够实时分析肿瘤表达谱,指导临床用药。所谓的“仿真小鼠”,是指小鼠的 PDX 模型与参与临床试验的患者完全同步,用同样的治疗方法评估临床疗效^[53]。这一方法可以同时对患者和小鼠肿瘤模型(称为同步临床试验)的药物反应性进行评估。肿瘤在进化生长的过程中对药物的抵抗性也在改变,该同步实验可以先在小鼠体内对药物的疗效和安全性进行评估,从而避免对患者使用无效和或毒性强的失败结果。为了评估仿真小鼠模型的临床应用价值,Gao 课题组对其所建立的 1000 多个 PDXs 进行在体化合物反应性检测,得出的结果与临床数据相吻合^[54]。在另一项研究中,研究员为 14 位患有恶性难治性实体瘤患者建立 PDX 小鼠模型,这类肿瘤对于各种治疗方法和手段其疗效均受限。值得注意的是,当使用药物靶向治疗仿真小鼠时,如果其有譬如 NF1 和 PI3KA 突变等这种显著改变时,药物治疗不能产生任何效果,并且使用这些药物治疗患者时也不能产生任何作用^[55]。就实验数据而言,其中 13 名患者接受了前瞻性的治疗指导,6 例产生了较长时间一定程度的缓解^[55,56]。总的来说,这些研究表明仿真小鼠模型在检测临床反应、指导试验治疗方面有极大的潜在价值。

一份关于 Mayo Clinic 前列腺癌的临床研究已经将小鼠与 CRPC 患者相结合,以帮助开发新的辅助治疗方法。在该临床研究中,患者在使用阿比特龙醋酸盐治疗前后,其肿瘤样本都会进行活检和测序,通过基因组分析的方法找出最适合的治疗药物,然后先用 PDX 小鼠模型对其功效进行药物测试最终确定患者的治疗方案。

3.3 个体化治疗

癌症治疗的方法在迅速发展演变,从“一刀切”治疗进入了一个新的时代,即对不同个体患者的肿瘤进行分子水平分析,从而选择最合适的治疗方法。研究者正在努力寻找前列腺癌分子标志物,以细化患者分级,预测临床表现,同时合理化

治疗方案^[57,58]。目前,前列腺癌常规使用新一代测序技术进行检测从而寻找其基因组的变化,这些变化有可能用于新疗法的开发,或者成为药物起效的靶点标记物^[59-62]。例如,2-4%的前列腺癌患者其 BRAF 基因发生改变^[60]。因此,这类患者可能对针对 BRAF/MEK 信号通路的靶向治疗有疗效。最近,关于 CTCs 和 cell-free DNA 的分析研究已经开展起来,其能够反映肿瘤内的异质性,也能通过微创体液活检获得,从而鉴别出各类生物标记物及可用于治疗的靶点,例如 AR 的剪接变体和基因突变等^[61,62]。

应用 PDXs 进行个体化肿瘤治疗正处于积极探索中,在 PDX 模型中的药物疗效与临床反应之间密切关联。例如,前列腺癌 PDX 是来源于 NEPC 肿瘤细胞,这一肿瘤细胞的染色体 9p21 存在纯合性缺失,而这一区域包括了 5-脱氧-5-甲硫腺苷磷酸化酶(MTAP)、CDKN2A 和 ARF 基因。将甲硫腺苷和 6-硫鸟嘌呤联合使用治疗小鼠,在无任何显著的宿主毒性的情况下,肿瘤移植产生了明显的衰退,这表明这一联合用药可能对此类患者有治疗效果^[63]。同样地,对一例恶性前列腺癌患者的肿瘤细胞进行全基因组测序,结果显示其 DNA 修复基因 FANCA 发生了纯合性缺失,这表明含铂化疗药物可能对此名患者有较好疗效。对源于 FANCA 基因缺失的患者肿瘤的 PDX,当给小鼠使用顺铂治疗之后,其肿瘤细胞的生长受到抑制,与预期结果相符^[63]。总而言之,这些研究表明联合使用新一代患者肿瘤测序技术和 PDX 模型可以寻找出新的治疗方法,这对患者个体化肿瘤治疗具有重要作用。

4 现阶段新一代 PDX 模型的局限性与良机

和所有临床前研究模型一样,PDX 模型也有急需解决的局限问题以提高其在临床转化研究中的应用。主要存在的问题包括以下几个方面:(1)来源于病人的组织标本主要是通过细针抽吸以及血液 CTCs 等微创手术获得的;(2)阐明譬如基质胶及 SVM 等培养条件的机制,有利于提高移植成功率;(3)建立原位肿瘤模型来建立更接近于患者来源肿瘤生长的微环境;(4)缩减当前小鼠移植肿瘤生长的潜伏期,目前平均周期约为 22 个月^[21]。这些不足限制了 PDX 模型在临床治疗方案制定中的广泛应用。另外,一些研究小组已经开始通过将肿瘤细胞移植于三维空间培养体系来创建人造 PDX 模型-类器官 (organoid)^[64]。当然,该研究仅处于萌芽阶段,但类器官模型可能在临床转化应用方面有着重要研究价值,包括更高的生长能力、更短的检测时间、以及更低的费用和实验动物的损耗等。

为了更加真实的模拟人类肿瘤的发展起源,PDX 模型的多个方面仍需优化。其中一个重要的问题就是用小鼠的基质细胞快速替代人肿瘤组织的基质细胞,这些成分包括癌相关的成纤维细胞、内皮细胞、以及免疫调节细胞等。这种新的小鼠基质可能导致肿瘤细胞旁分泌及其生物学特性的改变,例如对药物的反应性等。但总的来说,前列腺 PDX 模型在早期的传代过程中,保留了基质成分和患者来源肿瘤的微环境特征^[13],可用于研究肿瘤微环境对于肿瘤生物学特性和治疗效果的影响。

另外一个主要的局限性是:为了避免移植排斥反应,PDX 模型所使用的小鼠,不论是裸鼠还是 NSG 小鼠,均有不同程度的免疫缺陷。这也限制了例如检验点抑制剂(如抗 PD1)和免疫

增强剂(如 sipuleuc1-T 疫苗)等基于免疫治疗的前列腺癌治疗效果的评估。另外,对于人类肿瘤,受抑制的免疫系统如何影响其药物反应性及预测疗效目前并不清楚。有趣的是,最近一份研究表明在一个建立于裸鼠的 PC-3 前列腺癌细胞系异种移植模型中,观察到了免疫细胞的聚集及 NK 细胞的浸润,因此 PDX 模型中至少部分地存在免疫细胞和肿瘤的相互作用。为了建立更加强大的临床前模型,在建立人源化的 PDX 模型时,将来源于患者的肿瘤与造血干细胞共同移植,可以保留患者标本固有的免疫微环境。

即使上述的各种问题都被解决,建立个体化 PDX 小鼠的费用也将是其广泛应用于临床转化研究的关键障碍。肿瘤移植只能在小鼠中培养,因此相比于培养细胞系的简单培养要求,肿瘤移植需要一套更加专业的培养技术。此外,多个的异种移植小鼠必须建立于来源于同一患者的组织标本,以检测不同的药物及联合用药疗效。制造和维系一个 PDX 小鼠模型的价格可达到成千上万美元。

为了更好地分类和阐释 PDX 模型以及寻找解决当前 PDXs 的不足,许多研究小组正积极地进行 PDX 模型的采集以建立合作网络。这些网络中存有数百种模型,有详细标注的生物学的、临床的、及药物反应的数据,可以使实验研究扩大开来,进而开展转化研究。The Living Tumour Laboratory (Vancouver, Canada)已经从一系列患者的原发肿瘤中,建立了超过 200 个人类肿瘤移植组织细胞系(transplantable human cancer tissue lines),这其中就包括前列腺癌。同样地,EurOPDX 联盟(the EurOPDX consortium)也在欧洲领导着 PDX 模型的建立和特性研究,并已从 30 余种实体肿瘤中创立超过 1500 个模型。同时,最新成立的国际乳腺癌 PDX 协会拥有 537 例个体 PDX 细胞系,其 500 例个体乳腺癌是研究机构可获得的。总而言之,这些 PDX 模型研发有助于扩大 PDX 模型的研究规模,以促进新型治疗策略的开发。

5 结语和展望

新型临床前肿瘤动物模型发展的基本推动力是基于充分认识临床上细胞系异种移植在预测治疗效果中的缺陷。相比于原发肿瘤,PDX 模型在许多方面的高保真度正成为抗肿瘤药物研发过程所必不可少的一部分。PDX 模型可用作替代物来引导个体化治疗策略的制定,同时其在以后可以帮助具有与来源肿瘤相似的分子学特性的患者寻找精准化治疗方法。然而,PDX 方法的大范围应用有一定局限性,包括组织存活率低、模型生长的潜伏期长以及作用未知的人类基质细胞及免疫微环境成分。但可以明确的是,现阶段 PDX 模型应当可作为其他临床前实验模型如类器官培养等适用于大规模药物筛选的补充部分。尽管 PDX 模型的观念及初始模型的建立已经存在了数十年,但是其在转化研究中的价值直到今天才开始被发掘。

参考文献(References)

- [1] Venditti JM, Wesley RA, Plowman J. Current NCI preclinical antitumor screening in vivo: results of tumor panel screening, 1976-1982, and future directions[J]. *Adv Pharmacol Chemother*, 1984, 20: 1-20
- [2] Arrowsmith J. Trial watch: Phase II failures: 2008-2010 [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2011, 10(5): 328-329
- [3] Ledford H. Translational research: 4 ways to fix the clinical trial[J]. *Nature*, 2011, 477(7366): 526-528
- [4] Chi KN, Higano CS, Blumenstein BA, et al. Phase III SYNERGY trial: Docetaxel +/- capecitabine and overall survival in patients (pts) with metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC) and poor prognosis [J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2015, 33 (15_suppl): 5009-5009
- [5] Sowery RD, Hadaschik BA, So AI, et al. Clusterin knockdown using the antisense oligonucleotide OGX-011 re-sensitizes docetaxel-refractory prostate cancer PC-3 cells to chemotherapy [J]. *BJU Int*, 2008, 102(3): 389-397
- [6] Zellweger T, Miyake H, Cooper S, et al. Antitumor activity of antisense clusterin oligonucleotides is improved in vitro and in vivo by incorporation of 2'-O- (2-methoxy)ethyl chemistry [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2001, 298(3): 934-940
- [7] Gleave M, Miyake H. Use of antisense oligonucleotides targeting the cytoprotective gene, clusterin, to enhance androgen- and chemo-sensitivity in prostate cancer[J]. *World J Urol*, 2005, 23(1): 38-46
- [8] Chi KN, Hotte SJ, Yu EY, et al. Randomized phase II study of docetaxel and prednisone with or without OGX-011 in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(27): 4247-4254
- [9] Johnson JI, Decker S, Zaharevitz D, et al. Relationships between drug activity in NCI preclinical in vitro and in vivo models and early clinical trials[J]. *Br J Cancer*, 2001, 84(10): 1424-1431
- [10] Gillet JP, Calcagno AM, Varma S, et al. Redefining the relevance of established cancer cell lines to the study of mechanisms of clinical anti-cancer drug resistance [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(46): 18708-18713
- [11] Hausser HJ, Brenner RE. Phenotypic instability of Saos-2 cells in long-term culture [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 333(1): 216-222
- [12] Daniel VC, Marchionni L, Hierman JS, et al. A primary xenograft model of small-cell lung cancer reveals irreversible changes in gene expression imposed by culture in vitro [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(8): 3364-3373
- [13] Choi SY, Lin D, Gout PW, et al. Lessons from patient-derived xenografts for better in vitro modeling of human cancer[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2014, 79-80: 222-237
- [14] Fiebig HH, Neumann HA, Henss H, et al. Development of three human small cell lung cancer models in nude mice [J]. *Recent Results Cancer Res*, 1985, 97: 77-86
- [15] Varkaris A, Corn PG, Parikh NU, et al. Integrating Murine and Clinical Trials with Cabozantinib to Understand Roles of MET and VEGFR2 as Targets for Growth Inhibition of Prostate Cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(1): 107-121
- [16] Davies AH, Wang Y, Zoubeidi A. Patient-derived xenografts: A platform for accelerating translational research in prostate cancer[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2017
- [17] Wang Y, Revelo MP, Sudilovsky D, et al. Development and characterization of efficient xenograft models for benign and malignant human prostate tissue[J]. *Prostate*, 2005, 64(2): 149-159
- [18] Priolo C, Agostini M, Vena N, et al. Establishment and genomic

- characterization of mouse xenografts of human primary prostate tumors[J]. *Am J Pathol*, 2010, 176(4): 1901-1913
- [19] van Weerden WM, de Ridder CM, Verdaasdonk CL, et al. Development of seven new human prostate tumor xenograft models and their histopathological characterization [J]. *Am J Pathol*, 1996, 149 (3): 1055-1062
- [20] Zhao H, Nolley R, Chen Z, et al. Tissue slice grafts: an in vivo model of human prostate androgen signaling [J]. *Am J Pathol*, 2010, 177(1): 229-239
- [21] Lin D, Wyatt AW, Xue H, et al. High fidelity patient-derived xenografts for accelerating prostate cancer discovery and drug development[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(4): 1272-1283
- [22] Toivanen R, Frydenberg M, Murphy D, et al. A preclinical xenograft model identifies castration-tolerant cancer-repopulating cells in localized prostate tumors[J]. *Sci Transl Med*, 2013, 5(187): 187ra171
- [23] Wang Y, Xue H, Cutz JC, et al. An orthotopic metastatic prostate cancer model in SCID mice via grafting of a transplantable human prostate tumor line[J]. *Lab Invest*, 2005, 85(11): 1392-1404
- [24] Klein KA, Reiter RE, Redula J, et al. Progression of metastatic human prostate cancer to androgen independence in immunodeficient SCID mice[J]. *Nat Med*, 1997, 3(4): 402-408
- [25] Pretlow TG, Delmoro CM, Dilley GG, et al. Transplantation of human prostatic carcinoma into nude mice in Matrigel [J]. *Cancer Res*, 1991, 51(14): 3814-3817
- [26] Pretlow TG, Wolman SR, Micale MA, et al. Xenografts of primary human prostatic carcinoma [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1993, 85 (5): 394-398
- [27] Wainstein MA, He F, Robinson D, et al. CWR22: androgen-dependent xenograft model derived from a primary human prostatic carcinoma[J]. *Cancer Res*, 1994, 54(23): 6049-6052
- [28] Liu AY, Corey E, Bladou F, et al. Prostatic cell lineage markers: emergence of BCL2+ cells of human prostate cancer xenograft LuCaP 23 following castration[J]. *Int J Cancer*, 1996, 65(1): 85-89
- [29] Vidal SJ, Rodriguez-Bravo V, Quinn SA, et al. A targetable GATA2-IGF2 axis confers aggressiveness in lethal prostate cancer [J]. *Cancer Cell*, 2015, 27(2): 223-239
- [30] Lawrence MG, Taylor RA, Toivanen R, et al. A preclinical xenograft model of prostate cancer using human tumors [J]. *Nat Protoc*, 2013, 8 (5): 836-848
- [31] Russell PJ, Russell P, Rudduck C, et al. Establishing prostate cancer patient derived xenografts: lessons learned from older studies [J]. *Prostate*, 2015, 75(6): 628-636
- [32] Williams ES, Rodriguez-Bravo V, Chippada-Venkata U, et al. Generation of Prostate Cancer Patient Derived Xenograft Models from Circulating Tumor Cells[J]. *J Vis Exp*, 2015, (105): 53182
- [33] Wenger SL, Senft JR, Sargent LM, et al. Comparison of established cell lines at different passages by karyotype and comparative genomic hybridization[J]. *Biosci Rep*, 2004, 24(6): 631-639
- [34] Esquenet M, Swinnen JV, Heyns W, et al. LNCaP prostatic adenocarcinoma cells derived from low and high passage numbers display divergent responses not only to androgens but also to retinoids [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 1997, 62(5-6): 391-399
- [35] Beltran H, Eng K, Mosquera JM, et al. Whole-Exome Sequencing of Metastatic Cancer and Biomarkers of Treatment Response [J]. *JAMA Oncol*, 2015, 1(4): 466-474
- [36] Kohli M, Wang L, Xie F, et al. Mutational Landscapes of Sequential Prostate Metastases and Matched Patient Derived Xenografts during Enzalutamide Therapy[J]. *PLoS One*, 2015, 10(12): e0145176
- [37] Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, et al. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer [J]. *Science*, 2005, 310(5748): 644-648
- [38] Zhang X, Claerhout S, Prat A, et al. A renewable tissue resource of phenotypically stable, biologically and ethnically diverse, patient-derived human breast cancer xenograft models[J]. *Cancer Res*, 2013, 73 (15): 4885-4897
- [39] 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]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14 (20): 6456-6468
- [40] Garrido-Laguna I, Uson M, Rajeshkumar NV, et al. Tumor engraftment in nude mice and enrichment in stroma-related gene pathways predict poor survival and resistance to gemcitabine in patients with pancreatic cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(17): 5793-5800
- [41] Li S, Shen D, Shao J, et al. Endocrine-therapy-resistant ESR1 variants revealed by genomic characterization of breast-cancer-derived xenografts[J]. *Cell Rep*, 2013, 4(6): 1116-1130
- [42] Rubio-Viqueira B, Jimeno A, Cusatis G, et al. An in vivo platform for translational drug development in pancreatic cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(15): 4652-4661
- [43] DeRose YS, Wang G, Lin YC, et al. Tumor grafts derived from women with breast cancer authentically reflect tumor pathology, growth, metastasis and disease outcomes [J]. *Nat Med*, 2011, 17 (11): 1514-1520
- [44] Hay M, Thomas DW, Craighead JL, et al. Clinical development success rates for investigational drugs [J]. *Nat Biotechnol*, 2014, 32(1): 40-51
- [45] Andersen RJ, Mawji NR, Wang J, et al. Regression of castrate-recurrent prostate cancer by a small-molecule inhibitor of the amino-terminus domain of the androgen receptor [J]. *Cancer Cell*, 2010, 17(6): 535-546
- [46] Qu S, Wang K, Xue H, et al. Enhanced anticancer activity of a combination of docetaxel and Aneustat (OMN54) in a patient-derived, advanced prostate cancer tissue xenograft model[J]. *Mol Oncol*, 2014, 8 (2): 311-322
- [47] DiPippo VA, Nguyen HM, Brown LG, et al. Addition of PSMA ADC to enzalutamide therapy significantly improves survival in in vivo model of castration resistant prostate cancer[J]. *Prostate*, 2016, 76(3): 325-334
- [48] Tung WL, Wang Y, Gout PW, et al. Use of irinotecan for treatment of small cell carcinoma of the prostate[J]. *Prostate*, 2011, 71(7): 675-681
- [49] Beltran H, Rickman DS, Park K, et al. Molecular characterization of neuroendocrine prostate cancer and identification of new drug targets [J]. *Cancer Discov*, 2011, 1(6): 487-495
- [50] Lin D, Watahiki A, Bayani J, et al. ASAP1, a gene at 8q24, is associated with prostate cancer metastasis [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(11): 4352-4359

- with anisohypermetropic amblyopia determined by binarization of optical coherence tomographic images [J]. Plos One, 2016, 11 (12): e0168826
- [16] Wang J, Neely D E, Galli J, et al. A pilot randomized clinical trial of intermittent occlusion therapy liquid crystal glasses versus traditional patching for treatment of moderate unilateral amblyopia[J]. J AAPOS, 2016, 20(4): 326-331
- [17] Ramkumar V A, Agarkar S, Mukherjee B. Nasolacrimal duct obstruction: Does it really increase the risk of amblyopia in children?[J]. Indian Journal of Ophthalmology, 2016, 64(7): 496-499
- [18] O'Boyle C, Chen S I, Little J A. Crowded letter and crowded picture logMAR acuity in children with amblyopia: a quantitative comparison[J]. Br J Ophthalmol, 2017, 101(4): 457-461
- [19] Wang Q, Huang S, Jing L I. New developments of combined treatment of Chinese and Western medicine and nursing interventions for amblyopia in children[J]. China Medical Herald, 2016, 35(11): 629
- [20] Kehrein S, Kohnen T, Fronius M. Dynamics of interocular suppression in amblyopic children during electronically monitored occlusion therapy: first insight[J]. Strabismus, 2016, 24(2): 51-62
- [21] Dadeya S, Dangda S. Television video games in the treatment of amblyopia in children aged 4-7 years[J]. Strabismus, 2016, 24(4): 146-152
- [22] Sachdeva V, Mittal V, Gupta V, et al. "Combined Occlusion and Atropine Therapy" Versus "Augmented Part-Time Patching" in Children with Refractory/Residual Amblyopia: A Pilot Study [J]. Middle East Afr J Ophthalmol, 2016, 23(2): 201-207
- [23] Wang J, Racette L, Ott P, et al. Objectively-measured compliance to atropine penalization treatment in children with amblyopia: a pilot study[J]. Eye Science, 2016, 31(3): 146-152
- [24] Wang J. Compliance and patching and atropine amblyopia treatments [J]. Vision Research, 2015, 114(3): 31-40
- [25] Herbison N, Mackeith D, Vivian A, et al. Randomised controlled trial of video clips and interactive games to improve vision in children with amblyopia using the I-BiT system [J]. Br J Ophthalmol, 2016, 100(11): 1511-1516
- [26] Gupta M, Rana S K, Mittal S K, et al. Profile of Amblyopia in School going (5-15 years) Children at State Level Referral Hospital in Uttarakhand [J]. Journal of Clinical & Diagnostic Research Jcdr, 2016, 10(11): SC09-SC11
- [27] Antonios R, Arba M S, Awwad S T. Hyperopic laser in situ keratomileusis: comparison of femtosecond laser and mechanical microkeratome flap creation [J]. Journal of Cataract & Refractive Surgery, 2015, 41(8): 1602-1609
- [28] Choi S K, Chang J W. Higher Order Aberration and Astigmatism in Children with Hyperopic Amblyopia [J]. Korean Journal of Ophthalmology Kjo, 2016, 30(1): 53-59
- [29] Lin P W, Chang H W, Lai I C, et al. Visual outcomes after spectacles treatment in children with bilateral high refractive amblyopia[J]. Clinical & Experimental Optometry, 2016, 99(6): 550-554
- [30] Qi S, Mu Y F, Cui L B, et al. Association of Optic Radiation Integrity with Cortical Thickness in Children with Anisometropic Amblyopia [J]. Neuroscience Bulletin, 2016, 32(1): 51-60

(上接第 4182 页)

- [51] Watahiki A, Wang Y, Morris J, et al. MicroRNAs associated with metastatic prostate cancer[J]. PLoS One, 2011, 6(9): e24950
- [52] Akamatsu S, Wyatt AW, Lin D, et al. The Placental Gene PEG10 Promotes Progression of Neuroendocrine Prostate Cancer [J]. Cell Rep, 2015, 12(6): 922-936
- [53] Malaney P, Nicosia SV, Dave V. One mouse, one patient paradigm: New avatars of personalized cancer therapy[J]. Cancer Lett, 2014, 344 (1): 1-12
- [54] Gao H, Korn JM, Ferretti S, et al. High-throughput screening using patient-derived tumor xenografts to predict clinical trial drug response [J]. Nat Med, 2015, 21(11): 1318-1325
- [55] Hidalgo M, Bruckheimer E, Rajeshkumar NV, et al. A pilot clinical study of treatment guided by personalized tumorgrafts in patients with advanced cancer[J]. Mol Cancer Ther, 2011, 10(8): 1311-1316
- [56] Garralda E, Paz K, Lopez-Casas PP, et al. Integrated next-generation sequencing and avatar mouse models for personalized cancer treatment[J]. Clin Cancer Res, 2014, 20(9): 2476-2484
- [57] Lapointe J, Li C, Higgins JP, et al. Gene expression profiling identifies clinically relevant subtypes of prostate cancer [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(3): 811-816
- [58] Latil A, Bieche I, Chene L, et al. Gene expression profiling in clinically localized prostate cancer: a four-gene expression model predicts clinical behavior[J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(15): 5477-5485
- [59] Frampton GM, Fichtenholtz A, Otto GA, et al. Development and validation of a clinical cancer genomic profiling test based on massively parallel DNA sequencing [J]. Nat Biotechnol, 2013, 31 (11): 1023-1031
- [60] Grasso CS, Cani AK, Hovelson DH, et al. Integrative molecular profiling of routine clinical prostate cancer specimens [J]. Ann Oncol, 2015, 26(6): 1110-1118
- [61] Miyamoto DT, Zheng Y, Wittner BS, et al. RNA-Seq of single prostate CTCs implicates noncanonical Wnt signaling in antiandrogen resistance[J]. Science, 2015, 349(6254): 1351-1356
- [62] Azad AA, Volik SV, Wyatt AW, et al. Androgen Receptor Gene Aberrations in Circulating Cell-Free DNA: Biomarkers of Therapeutic Resistance in Castration-Resistant Prostate Cancer[J]. Clin Cancer Res, 2015, 21(10): 2315-2324
- [63] Collins CC, Volik SV, Lapuk AV, et al. Next generation sequencing of prostate cancer from a patient identifies a deficiency of methylthioadenosine phosphorylase, an exploitable tumor target [J]. Mol Cancer Ther, 2012, 11(3): 775-783
- [64] Gao D, Vela I, Sboner A, et al. Organoid cultures derived from patients with advanced prostate cancer[J]. Cell, 2014, 159(1): 176-187