



中山大學
腫瘤防治中心
SUN YAT-SEN UNIVERSITY CANCER CENTER

常用腫瘤動物模型

創新

敬業

友愛

誠實

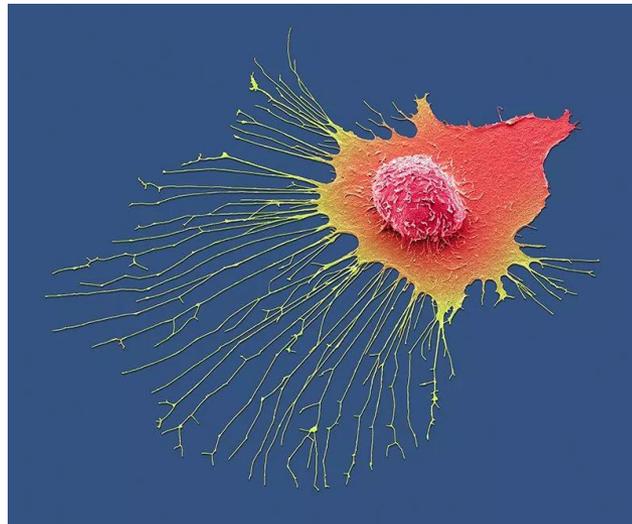
符立梧

中山大學腫瘤防治中心

華南腫瘤學國家重點實驗室

Fulw@mail.sysu.edu.cn

1915年，日本病理学家Katsusaburo Yamagiwa和Koichi Ichikawa把煤焦油涂在兔子的耳朵上，经过了半年左右的时间他们发现兔子罹患了肿瘤。自此，科学家使用了包括细胞系、基因工程小鼠在内的多个模型来模拟人类癌症。



- ◆ 自发性肿瘤动物模型
 - ◆ 诱发性肿瘤动物模型
 - ◆ 肿瘤细胞移植瘤动物模型
 - ◆ 人源肿瘤组织异种移植动物模型
 - ◆ 人源化小鼠肿瘤移植瘤动物模型
 - ◆ 基因修饰动物模型
-

自发性肿瘤动物模型

(Spontaneous tumor animal models)

創
新
敬
業
友
愛
誠
實



◆ 指实验动物未经任何有意识的人工处置，在自然情况下所发生肿瘤。

◆ 优点：

- ① 近似人类肿瘤发生过程，易推到人；
- ② 可观察遗传因素的作用。

◆ 缺点：

- ① 差异较大，荷瘤动物量少不均匀；
 - ② 试验周期相对较长；
 - ③ 动物数也多，耗费大。
-

常用小鼠腫瘤的自然發生率

腫瘤名稱	品系	年齡 (月)	性別	自發率 (%)
乳腺癌	C3H	/	♀	80-100
肺腺癌	A/He	18	♀ ♂	90
肝癌	C3H/He/Ola	14	♂	85
淋巴瘤	AKR	/	♀ ♂	80-90
網織細胞瘤	(C57BL X C3H/Anf)F1	30	♀ ♂	49
垂体瘤	C57BR/Cd;CBA	12; 12-18	♀	33; 55
卵巢癌	BALB/c	/	♀	75.8
纖維肉瘤	(BALB/c X C57BL/6)F1	18	♀	28.4

诱发性肿瘤动物模型

(Experimental tumor animal models)

創
新
敬
業
友
愛
誠
實



◆ 在实验条件下，通过使用物理的、化学的和生物的致癌因素作用于动物，诱发动物发生肿瘤。

最常见的化学致癌因素主要包括苯并芘、甲基胆蒎、联苯胺、亚硝胺类、黄曲霉毒素类等

◆ 优点：

- ① 实验条件可人为控制，诱发率高于自然发病率；
- ② 应用于验证可疑致癌因素的作用以及在肿瘤病因学及肿瘤预防研究。

◆ 缺点：

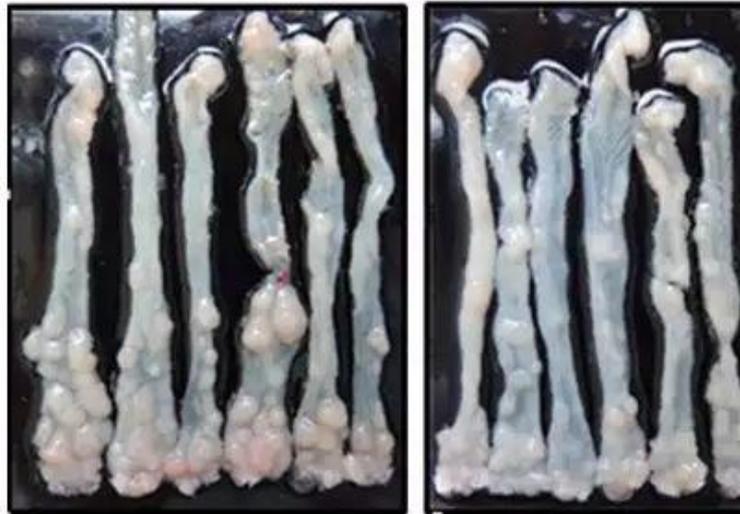
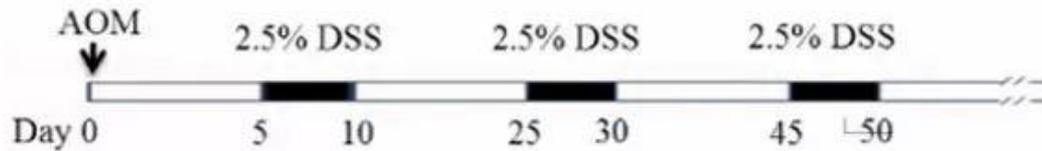
- ① 诱导时间长（3-5个月，甚至1-2年）；
- ② 成瘤率不高，动物死亡率高；
- ③ 肿瘤出现的时间、部位、病灶数等在个体之间表型不均一等。

举例

創新 敬業 友愛 誠實



- ◆ 在小鼠食用水中加入**DSS**诱导肠炎和肠癌的诱发性模型
(*DSS: Dextran Sodium Sulfate, 左旋葡聚糖硫酸钠*)



- ◆ 强化学致癌物**二甲基苯蒽 (DMBA)** 和**甲基胆蒽**可诱发乳癌。
- ◆ **二苯苈蒽**诱发纤维肉瘤
- ◆ 用**二甲基苯蒽 (DMBA)** 诱发乳头状瘤，实验用丙酮溶解DMBA 150 μ g/小鼠，隔14天二侧背部皮肤各涂一处，第3周用**巴豆油** 0.5mg，在同一部位每周涂2次共3~4月
- ◆ 用**二乙基硝胺 (DEN)** 0.005%掺入饮水中口服8个月诱发大鼠肝癌。
- ◆ 15PP6**黄曲霉素 AFB₁**，或0.06%奶油黄连续口服4个月均可诱发大鼠肝癌。

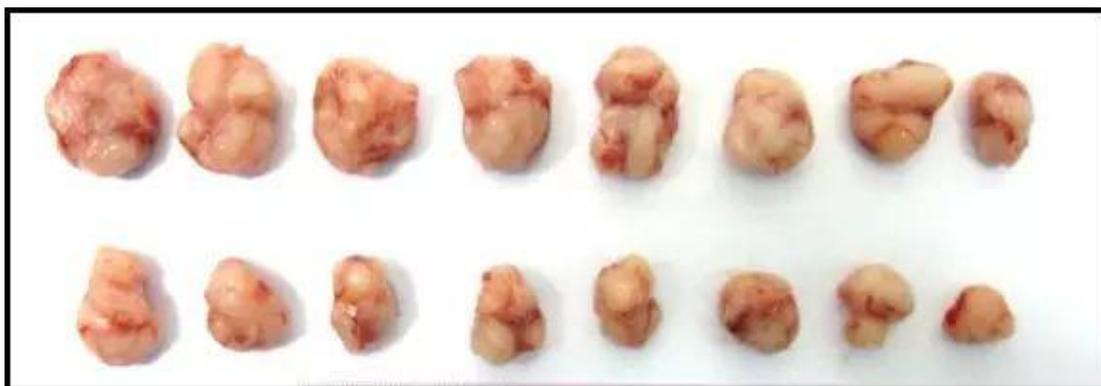
肿瘤细胞系移植瘤动物模型

(CDTX model, cell-line-derived tumor xenograft)

創新 承 友愛 誠實



◆ 将肿瘤细胞系移植到同种或异种动物体内形成肿瘤。



- ◆ 抗肿瘤药物、化合物的药效学评价
- ◆ 肿瘤干细胞研究
- ◆ 肿瘤转移
- ◆ 肿瘤药敏试验



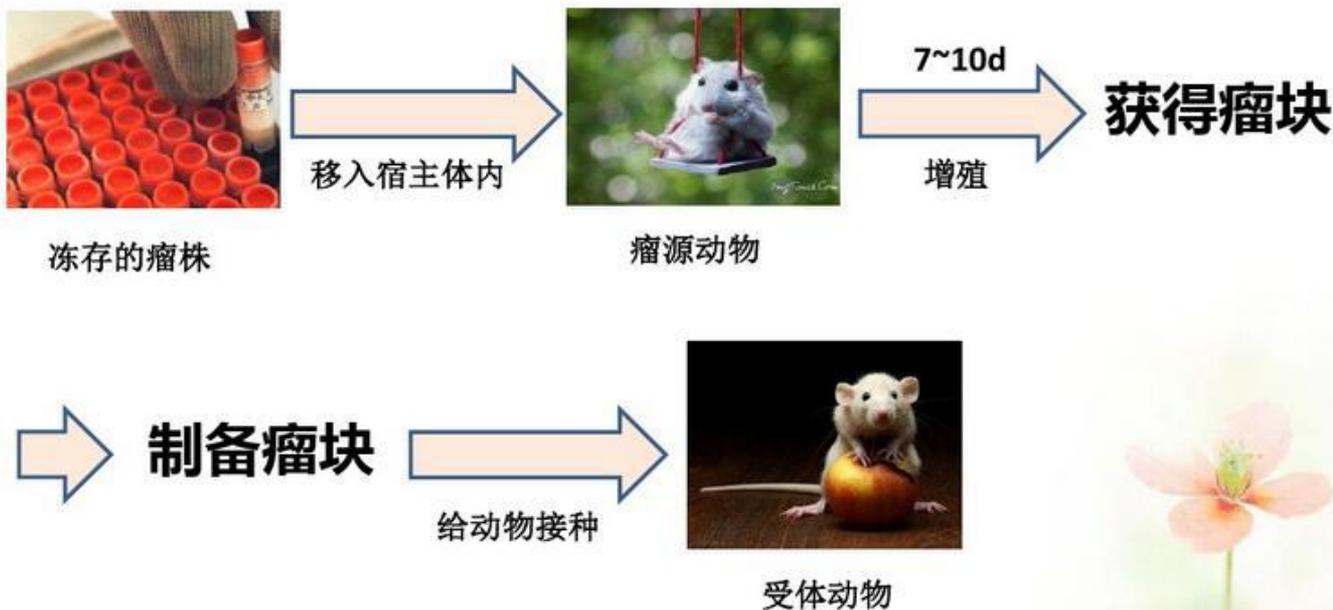
(免疫状态) 小鼠类别

正常	小鼠肿瘤
T细胞	裸小鼠
T+B	SCID NOD-SCID
T+B+NK+M1	NSG NCG NOG

◆ 接种方式：细胞接种、微组织块接种

接种方法（无菌操作）

1. 实体瘤



接种部位

皮下
 腹腔（腹水瘤）
 肾包膜下
 原位（乳部？）
 爪垫
 尾静脉
 心内

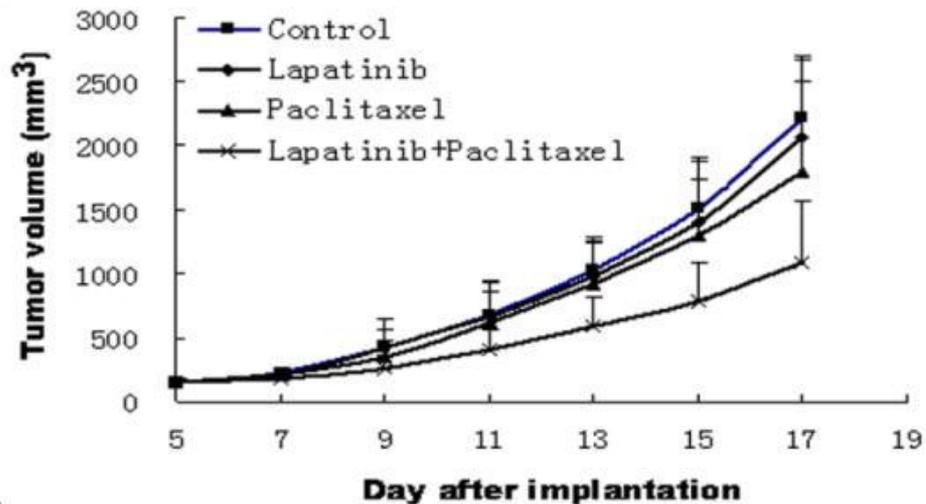
实体瘤接种法：瘤块接种法、瘤细胞悬液接种法、培养细胞接种法、活细胞接种方法等

移植瘤均匀，非易事

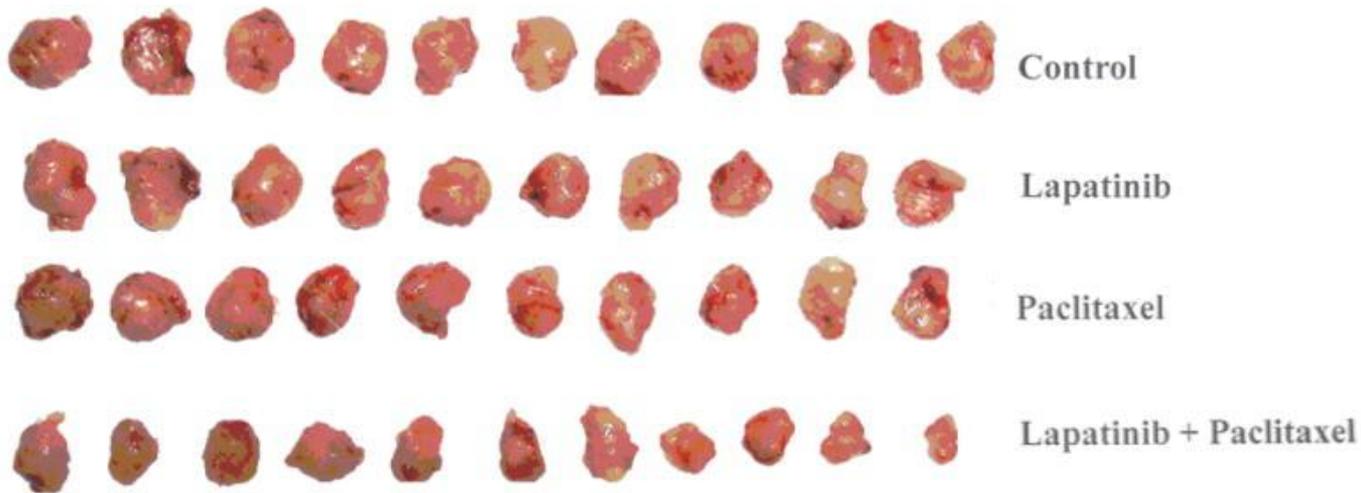
創新
敬業
友愛
誠實



A



B



◆ 优点：

- ① 肿瘤细胞系移植瘤保持着原发肿瘤的大部分生物学特性；
- ② 大部分人类肿瘤能在免疫缺陷动物体内建立可移植性肿瘤模型；
- ③ 动物个体成瘤差异较小，成瘤率高，实验周期短。

◆ 缺点：

- ① 肿瘤增殖时间短，与人体肿瘤不同；
 - ② 人体肿瘤的所有细胞亚群不能全部出现在移植瘤中。
-

人源肿瘤组织异种移植模型

(PDX, PDTX model, patient-derived tumor xenograft)



◆ 直接用患者肿瘤组织、条件重编程细胞接种于免疫缺陷小鼠建立模型。反映肿瘤真正的生物学特征

◆ 优点:

- ① 最大优点是保留了患者肿瘤的异质性和组织学特性，能为肿瘤的研究提供体内模拟环境；
- ② 能更客观和全面地反映肿瘤的发展以及对于药物作用的反应。

◆ 缺点:

- ① 种植的肿瘤出现转移的情况比较少；
- ② 周期长（肿瘤异种移植模型的建立至少需要2个月）；
- ③ 技术难度较大且成瘤率相对较低，操作相对较为复杂，特别是肾包膜下等部位的异位移植。
- ④ 传代不稳定：
原始小鼠1次传代后，60%的PDX中插入了长达500万个碱基的拷贝数变异基因扩增区域，4次传代后这个概率是88%。

举例

◆ 将人体新鲜肿瘤移植于免疫缺陷鼠皮下或肾包膜下，为研究肿瘤的机制及临床前药物实验开辟了另外一个重要的途径，如下图为前列腺癌的肾包膜模型。

◆ PDX成功率：

胃癌、肠癌	胰腺癌	食管癌	肺癌	肝癌	乳腺癌
70%	60%	50%	40%	20%	7%

◆ 条件重编程培养基预处理后，可提高成功率

条件重编程原代肿瘤细胞培养

(Conditional reprogrammed cells, CRCs)

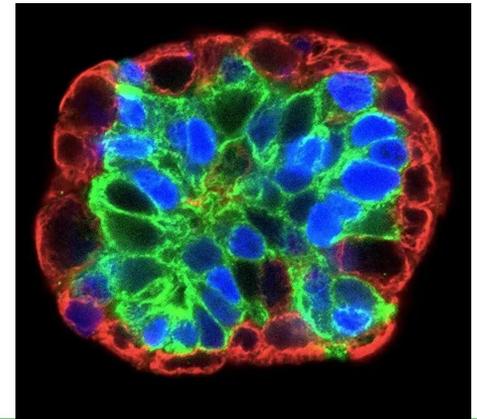


◆ 大多数原代肿瘤细胞，无论传统培养方式有何不同，都很难维持体外增殖，最终迈向衰亡。使用传统的方法在体外培养人源肿瘤细胞，成功率极低 (1-10%)。

◆ 人源性肿瘤移植瘤模型 (PDX) 模型成瘤率低且不稳定、建模时间长、不能用于筛选免疫相关类药物、价格昂贵、很难建立高通量平台。(肠70%，肺40%，肝20%，乳10%)

◆ 类器官 (Organoids) 培养技术

准确模拟体内上皮结构并能够表现出细胞与细胞、以及细胞与基质之间的相互作用，具有稳定的表型和遗传学特征，可作为筛选药物的新途径。



条件重编程原代肿瘤细胞培养

創
新
教
學
交
流
誠
實

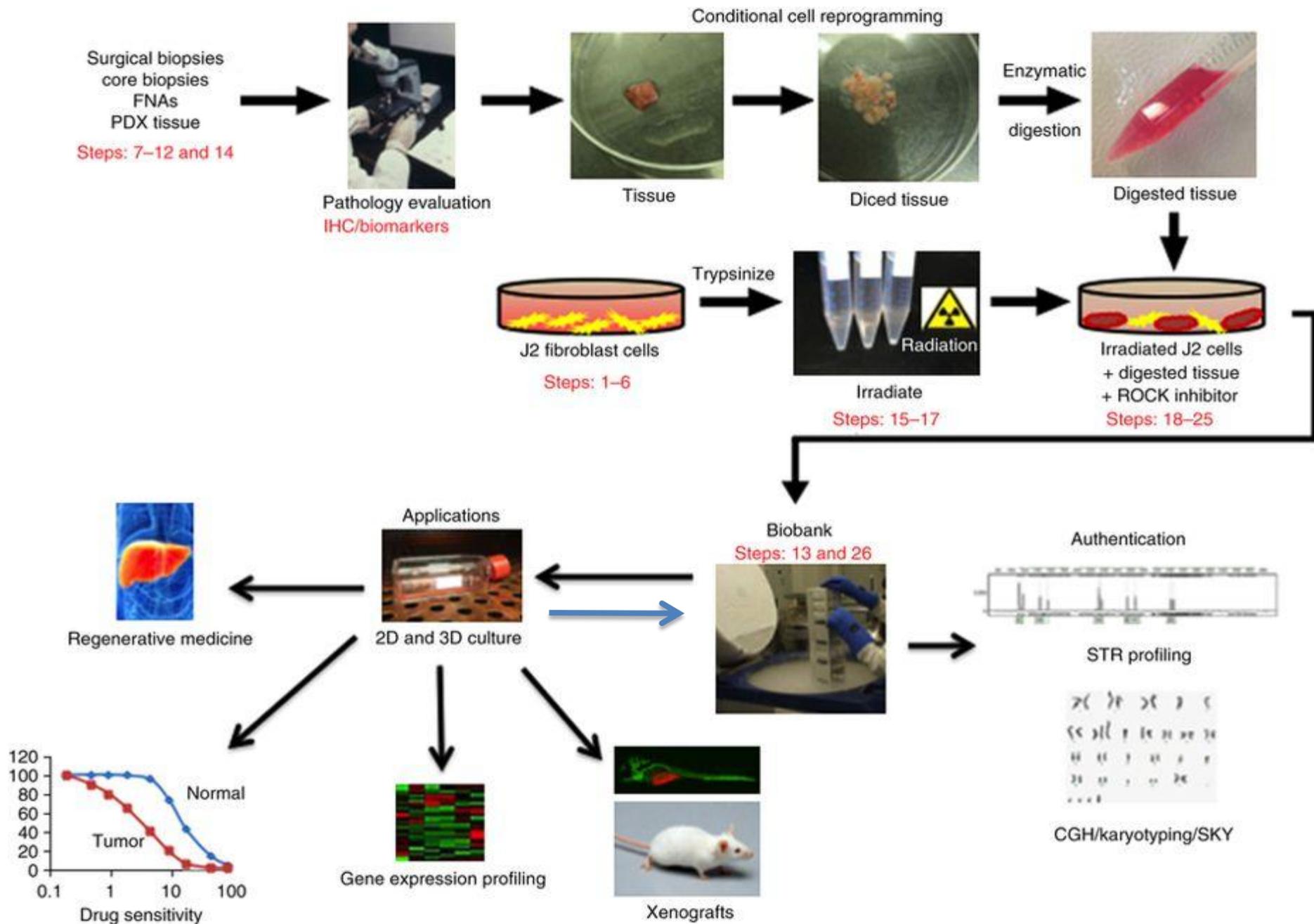


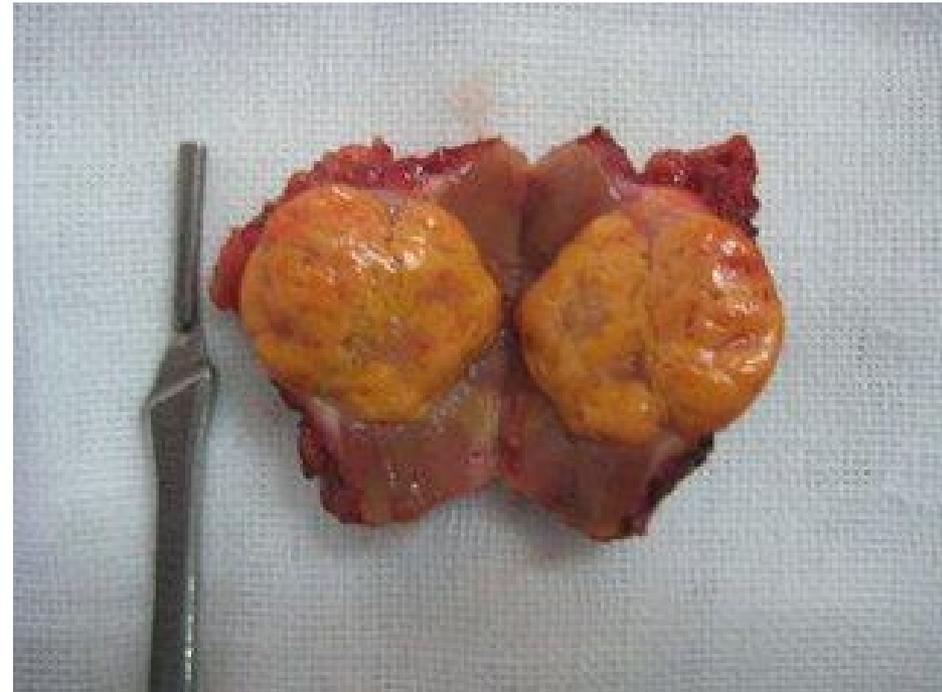
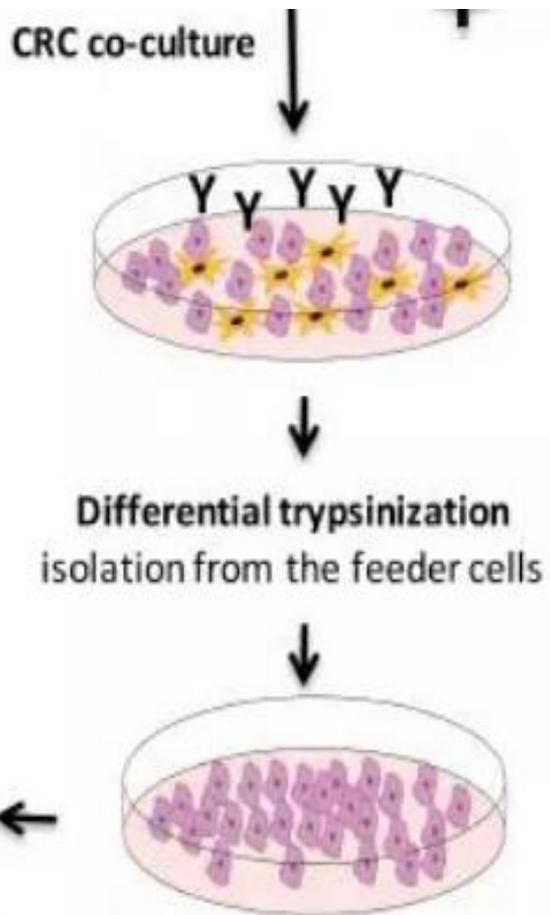
◆ 能够维持肿瘤组织和正常组织体外无限期增殖，研究表明其能保持组织表型及遗传物质不受改变。

◆ 重要培养条件

辐射后的 *Swiss-3T3* 小鼠纤维原细胞 (接触/辐射/?)
ROCK (Rho激酶) 抑制剂 Y-27632

特殊的培养液 (见专利)





保存与应用

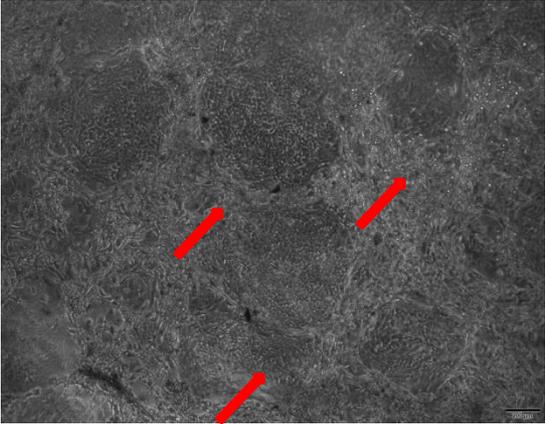
原代肺癌细胞 Passage 1

Day 7

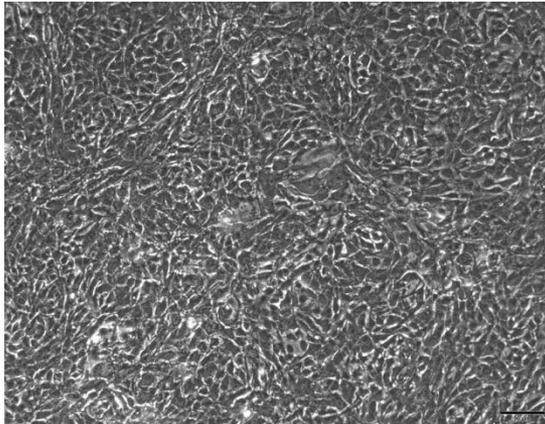
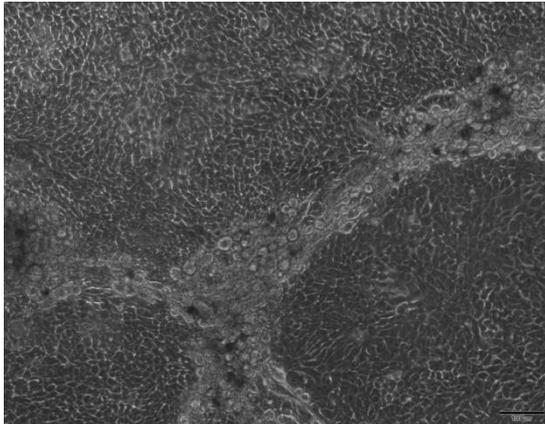
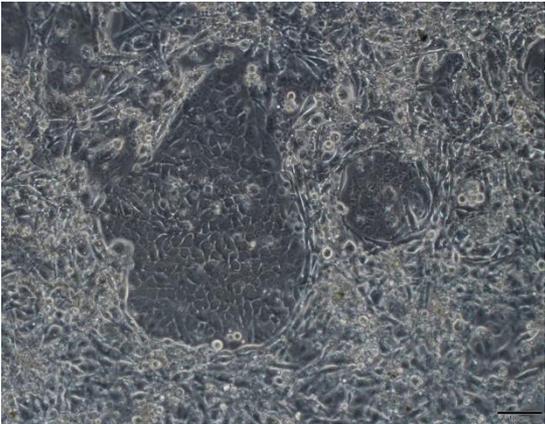
Day 14

Day 21

4x



10x

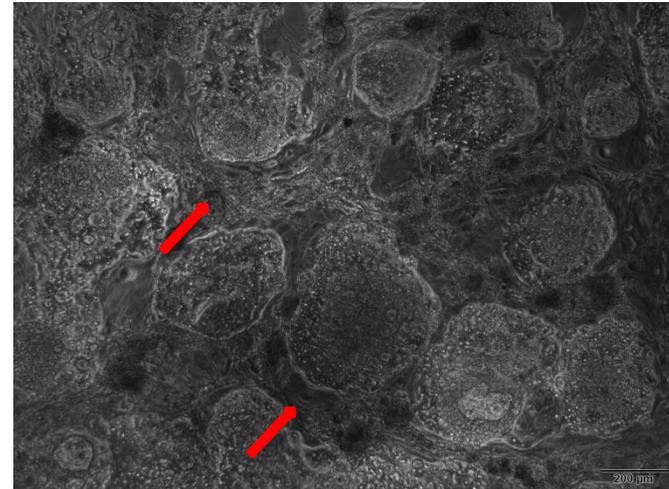
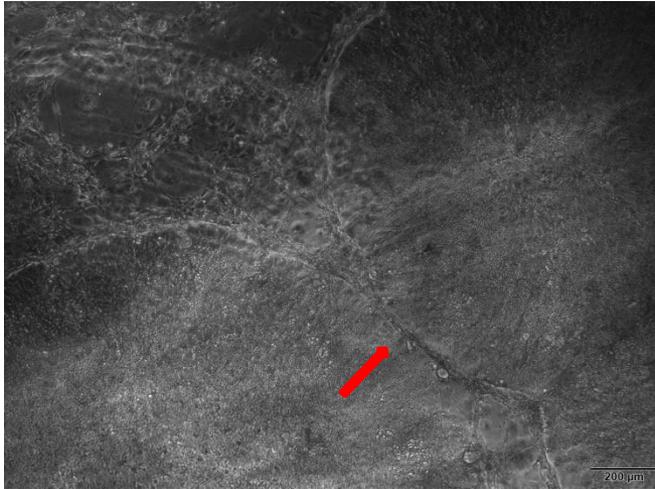


原代结直肠癌细胞 Passage 1

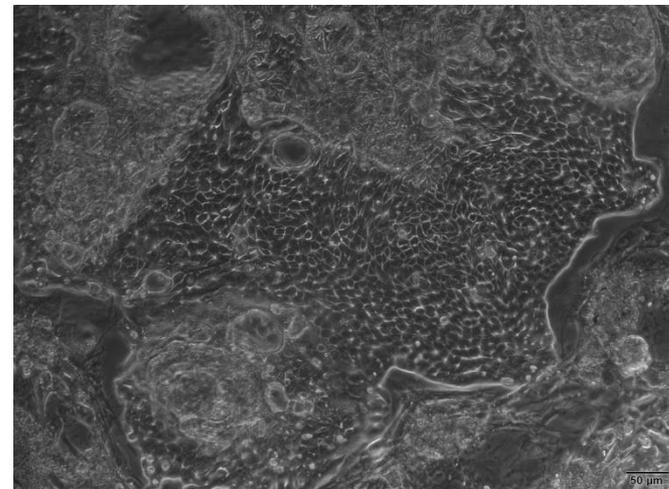
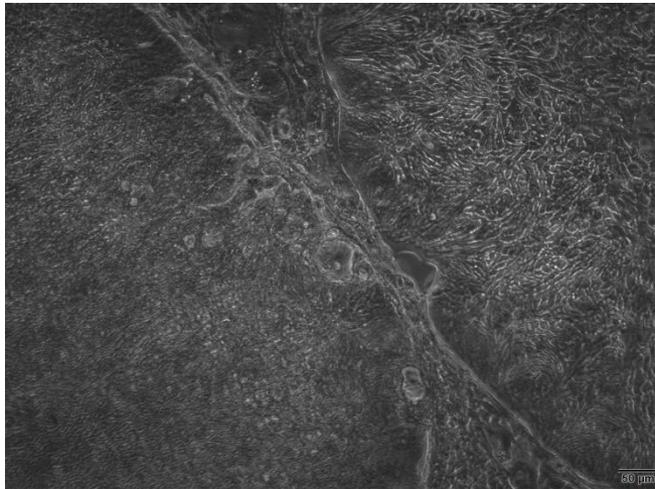
Primary site

Liver metastatic site

4x



10x



肿瘤免疫人源化小鼠的人肿瘤移植瘤模型 (双人源化)



◆ 肿瘤免疫人源化小鼠模型是指将造血干细胞 (Hematopoietic stem cells, HSCs) 移植到免疫缺陷小鼠体内, 在小鼠体内重建人免疫系统, 在此基础上移植人源的肿瘤组织, 获得肿瘤、免疫双人源化小鼠模型。

◆ 建立方法:

- ① Hu-PBMC-NOG; Graft-versus-host disease (GVHD); 敲除MHC-I、II, 低剂量照射; 观察时间短。
- ② Hu-HSC-NSG; CD4 (+) HSC; 抗原选择限制, 而对人抗原激活弱; 转人HLA或同时HSC+人骨髓、胎肝及胸腺 (BLT)

商业化肿瘤免疫人源化小鼠的人 肿瘤移植瘤模型 (双人源化)



Hu-HSC-NPG 模型

- ◆ 移植脐带血 CD34+ 细胞、胎肝 CD34+ 细胞或者骨髓动员血 CD34+ 细胞
- ◆ 模型特点：重建后 T 淋巴细胞比例略低，T 淋巴细胞未有明确功能，模型稳定期为 12~24 周
- ◆ 标准：CD45+ 细胞 > 25% 的人源化小鼠

Hu-BLT-NPG 模型

- ◆ 移植胎肝/胸腺组织或者胎肝 CD34+ 细胞
- ◆ 模型特点：重建后基本具有人的免疫系统，T 淋巴细胞有功能，模型稳定期为 12~18 周
- ◆ 提供标准：CD45+ 细胞 > 25% 的人源化小鼠

Hu-PBMC-NPG 模型

- ◆ 移植外周血单个核细胞
- ◆ 模型特点：重建后免疫系统以 T 淋巴细胞为主，模型稳定期为 3~6 周
- ◆ 提供标准：模型服务提供移植确定数量的人白细胞

基因修饰肿瘤模型

(Gene-modified tumor model)

創新 敬業 友愛 誠實



- ◆ 利用转基因、基因打靶和条件性基因打靶等技术敲除或插入特定基因，从而诱发动物产生肿瘤的模式。
- ◆ 应用：肿瘤发生发展过程的研究。
- ◆ 优点：
 - ① 为环境因素与遗传背景相互作用的研究提供了很好的材料；
 - ② 对于研究肿瘤发生机理、肿瘤免疫逃避，转基因模型有很大的优势。
- ◆ 缺点：
 - ① 模型建立过程较长；
 - ② 费用较高、技术难度较大等。

举例

創
新
教
學
交
流
誠
實



如当K-ras基因突变时，会使细胞内信号传导紊乱，细胞增殖失控而产生肺癌。

Ras/Raf/ERK通路



中山大學

腫瘤防治中心
SUN YAT-SEN UNIVERSITY CANCER CENTER

創新
敬業
友愛
誠實

谢谢!

