评述

人乳腺癌 PDX 模型的研究进展

马丽君, 战军, 张宏权*

北京大学基础医学院分子细胞生物学与肿瘤生物学实验室, 北京 100191

* 联系人, E-mail: hongquan.zhang@bjmu.edu.cn

收稿日期: 2016-02-18; 接受日期: 2016-03-03; 网络版发表日期: 2016-04-14

国家自然科学基金(批准号: 81301802, 81230051, 31170711)、教育部高等学校学科创新引智计划和北京市重点学科基础医学学科建设项目(批准号: BMU20110254)资助

摘要 乳腺癌病人来源的异种移植瘤(patient derived xenografts, PDX)不仅能忠实地保留患者肿瘤的分子表型和基因型变化, 而且能够再现原发肿瘤的异质性, 因此被应用于肿瘤耐药机制和抗肿瘤药物筛选的研究. 该模型保持了患者肿瘤基因表达模式、突变状态、药物反应和肿瘤结构等生物学特性, 在临床肿瘤治疗转化医学研究中具有不可替代的作用. PDX 作为一个新的临床前评价肿瘤药物敏感性的工具越来越受关注. 本文总结了乳腺癌 PDX 模型的发展历史, 阐述了异种移植过程中病人细胞和动物的准备, 以及该模型在抗肿瘤药物研发中的优点和局限性. 总之, 乳腺癌 PDX 模型研究已初见成效, 但在其成功率、时效性和成本控制等方面还有待进一步优化.

关键词 乳腺癌, 病人来源异种移植瘤, 动物模型, 肿瘤干细胞

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一, 近年来其发病率呈迅速上升趋势, 在女性各类肿瘤中居首位, 5 年患病率高达 156/10 万^[1]. 尽管主要的筛查和治疗手段都在进步, 转移性乳腺癌仍是无法治愈的. 大多数病人因原发或获得性药物抵抗最终死于乳腺癌的转移和耐药.

近些年, 随着干细胞理论研究的不断深入, 越来越多的证据表明肿瘤中存在一小群肿瘤干细胞(cancer stem cell), 它们具有自我更新及形成各种不同谱系肿瘤细胞的能力, 它们是导致肿瘤产生以及肿瘤复发和转移的根源. 因此, 针对肿瘤干细胞而研制出有效的药物, 才有望从根本上战胜癌症. 目前,

乳腺癌干细胞异种移植的动物模型已建立, 但是这种模型还处于初级阶段, 有些肿瘤干细胞的成瘤率还不尽人意, 并且近些年的研究也仅局限于乳腺原位接种成瘤. 因此, 如何能模拟出与人乳腺癌发病机制相似的动物模型是亟待解决的问题, 以通过有价值的动物模型来寻求更好的治疗策略.

体内临床前动物模型在癌症新疗法中有重要的用途, 是评估抗肿瘤药物临床前疗效和预测药物毒性的有效工具^[2,3]. 然而不同于结肠癌和胰腺癌等其他癌种, 乳腺癌异种移植模型尤其难建立. 在过去的 50 年里, 大部分临床前知识是基于研究细胞系的异种移植模型, 如将乳腺癌细胞皮下注射获得. 这些模

引用格式: 马丽君, 战军, 张宏权. 人乳腺癌 PDX 模型的研究进展. 中国科学: 生命科学, 2016, 46: 695-704

Ma L J, Zhan J, Zhang Y Q. Recent progress in patient-derived tumor xenograft model of breast cancer. Sci Sin Vitae, 2016, 46: 695-704, doi: 10.1360/N052015-00386

型遗传学背景清楚并能进行基因敲除、转基因等技术操作,但是他们不能预测由于细胞系产生的遗传变异和肿瘤异质性,从而导致不能准确判断药物在临床试验中的作用^[4-7],因此需要重新创建复杂的原发乳腺癌模型来克服这个问题.病人来源异种移植瘤(patient-derived xenografts, PDX)模型是将手术中获得的新鲜乳腺肿瘤组织移植到免疫缺陷小鼠(*Mus musculus*)(图 1),用于药物开发和预测针对病人个体化治疗的靶向制剂^[2].通过基因诊断技术将 PDX 模型和病人来源的肿瘤之间进行复杂多重比较,证实基因拷贝数、基因突变和表达模式等方面二者具有高度一致性.分子指纹的保留和对癌症治疗的预测价值重新燃起人们对 PDX 研究的信心.近年来,有关乳腺癌 PDX 模型研究报道的数量呈指数增加.本文概述乳腺癌 PDX 最显著的特征,总结研发乳腺癌药物模型的最新进展.

1 实验动物的选择

1.1 裸鼠

裸鼠无胸腺,缺乏成熟 T 细胞,不产生细胞毒效应细胞;B 淋巴细胞功能较低,免疫球蛋白主要是免疫球蛋白 M(immunoglobulin M, IgM),只含少量免疫球蛋白 G(immunoglobulin G, IgG).因而裸鼠免疫力低下,移植排斥少.移植到裸鼠体内的肿瘤仍能保持对激素的依赖性,因而可以用裸鼠来制作激素依赖性肿瘤模型.裸鼠体内的自然杀伤(natural killer, NK)细胞,脾脏和淋巴结中含有巨噬细胞和抗原递呈

细胞,以及 B 细胞和免疫球蛋白,有一定的排斥移植物的作用.1951 年,Toolan^[8]首次在免疫缺陷啮齿动物成功移植了人类肿瘤,他在辐照或可的松治疗大鼠(*Rattus norvegicus*)中获得人类表皮样癌.1966 年,Flanagan^[9]发现裸鼠,激发了人们研究移植瘤的实验兴趣,到 1969 年, Rygaard 和 Povlsen^[10]报道人类肿瘤可在裸鼠中连续生长.10 年后,伦敦的 Bailey 小组^[11,12]第一个发表大系列人类乳腺癌移植裸鼠模型.这个小组首次报道移植瘤的组织学特征、移植的可行性和较低的抑制率.尽管这一模型存在明显的潜在价值,但与细胞系模型比较,因其繁琐的方法和昂贵的成本在用于评价药物疗效时受到限制.

1.2 SCID 小鼠

重度联合免疫缺陷(severe combined immunodeficiency, SCID)小鼠是由于第 16 号染色体上的隐性突变基因发生突变而产生的. SCID 突变基因属于缺陷的 DNA 修复基因,影响双链断裂后的修复能力.纯合的 SCID 小鼠几乎完全丧失 T、B 淋巴细胞免疫功能.所以 SCID 小鼠肿瘤移植存活率要高于裸鼠. SCID 模型中恶性肿瘤不但转移率高,而且能广泛扩散,与人体肿瘤生物学行为极为相似^[13]. SCID 小鼠是继裸鼠之后,人类发现的又一种十分有价值的免疫缺陷小鼠.目前, SCID 小鼠多用于同种肿瘤移植模型.

从总体上讲,人源性乳腺癌细胞株移植到裸鼠和 SCID 小鼠骨上的成功率还是较低的,这是因为转移也有其种属特异性,人源性的癌细胞浸润和生长

图 1 乳腺癌病人异种移植物的建立(网络版彩图)

需要人类组织微环境的支持^[14-16]。而且, 移植异种组织时, 受体内 NK 细胞、巨噬细胞等仍会或多或少对其产生免疫反应。所以, 为了提高转移的发生率, 更真实地模拟出人类乳腺癌的转移过程, 人们开始考虑将人源性骨移植到小鼠体内, 这同时也对小鼠的免疫力提出了更高的要求。

1.3 NOD/SCID 小鼠

将 SCID 小鼠与 NOD(non-obese diabetic)小鼠杂交后可以得到一种新的 NOD/SCID 小鼠, NOD/SCID 小鼠既有由于 DNA 修补基因缺陷而导致的 T、B 细胞发育缺陷, 又有 NOD 小鼠所具有的 NK 细胞活性下降、补体活性下降和巨噬细胞功能缺陷。而且 NOD/SCID 小鼠的生殖系统和性激素分泌正常, 可以用来研究性激素依赖性肿瘤^[17-22]。

Landis 等人^[23]发表了一篇全面的乳腺癌 PDX 模型综述, 详细比较不同成瘤方法。乳腺癌模型成瘤率(10%~20%)取决于肿瘤的级别、亚型(三阴性乳腺癌高于腔型乳腺癌和人类表皮生长因子受体 2HER2⁺阳性的肿瘤)和位置(腹水、胸腔积液和转移的成瘤率高于原发性乳腺癌)^[23,24-27]。受体小鼠的选择似乎没有什么影响, 成瘤率已证明在重度联合免疫缺陷小鼠中是相似的, 如非肥胖糖尿病/严重联合免疫缺陷小鼠(NOD/SCID)和非肥胖糖尿病/严重联合免疫缺陷/缺失白介素 2 γ 受体(NOD/SCID/ interleukin 2 gamma-receptor-null, NSG)小鼠^[23,26]。外科切除肿瘤的大小和质量是很重要的参数^[28]。坏死区域应该被移除, 肿瘤块应在无菌条件下和极短时间内移植。乳腺癌 PDX 成功率的潜在主要制约因素之一是病人肿瘤雌激素受体的表达。Bailey 等人^[11]提出, 病人的激素水平不同可能是雌激素受体阳性乳腺癌成瘤率低的原因, 但仍然难以建立一个高雌激素受体的乳腺癌移植瘤模型。这表明, 除了体内循环雌激素水平外, 也与病人的其他因素如乳腺癌细胞增殖, 或者与不干涉其他的可移植性肿瘤有关(如结直肠或胰腺肿瘤)。有趣的是, Du Manoir 等人^[29]研究发现, 小鼠移植瘤与病人乳腺肿瘤的生物特性相关, 移植瘤的基因芯片分析显示出调控预后的基因变化明显, 如伤口愈合、增殖和血管生成相关基因。其他基于啮齿动物和人类之间的生理差异也一直在探索。Rui 等人^[30]通过 NSG 小鼠与转基因小鼠杂交产生表达生理水平人催乳素鼠, 提高了雌激素受体阳性乳腺癌的

成瘤率。

Beckhove 等人^[31]将 NOD/SCID 小鼠分成两组, 一组在进行骨移植前对其进行外照射处理, 另一组在骨移植前不进行任何处理, 研究发现在两组中, 人源性乳腺癌细胞株都能正常生长且乳腺癌细胞的组织形态和肿瘤标记物的表达均未发生改变。有报道^[27,32,33]将成人骨移植到 NOD/SCID 小鼠后, 破骨细胞、成骨细胞功能正常, 移植骨内部出现了人源性骨血管的生长, 骨四周则有大量能为成人骨提供营养的小鼠源性血管的生长, 并且人骨中的 B 细胞能在小鼠体内正常存活、成熟、归巢和产生 IgG。由此可见成人骨移植到小鼠体内后不仅可以存活, 而且可以保持原来的形态和功能, 所以将人源性骨移植到小鼠体内是可行的。

另一种方法是注射肿瘤起始细胞到免疫缺陷小鼠。事实上, 尽管大多数 PDX 是通过体外不经任何操作移植肿瘤块获得, 而一小部分移植瘤是通过注射细胞悬液获得, 这些细胞通过特异肿瘤细胞表面标记被分选获得。Al-Hajj 等人^[34]就是利用这个方法从乳腺肿瘤标本和胸腔积液中分选获得 CD44⁺/CD24⁻/LowLin⁺乳腺癌干细胞注射 NOD-SCID 小鼠。最近研究发现, 乙醛脱氢酶 1(acetaldehyde dehydrogenase, ALDH1)阳性癌细胞移植到人源化 NSG 小鼠乳腺脂肪垫可得到乳腺癌 PDX 模型^[35]。

1.4 NOG 小鼠

NOG 小鼠由日本实验动物研究所(Central Institute for Experimental Animals, CIEA)的 Mamoru Ito 培育而成。Ito 博士领导的小组通过杂交 NOD/SCID 小鼠和 γ -链 IL-2 受体敲除小鼠成功建立了一个免疫功能严重不全的小鼠品系, 称之为 NOG(NOD/Shi-scid, IL-2R γ null)小鼠。NOG 小鼠缺乏 T 细胞、B 细胞和 NK 细胞, 树突状细胞和巨噬细胞功能减退; 缺乏补体活性, 淋巴瘤的发病率非常低; 不会随年龄增长产生 T、B 细胞泄漏; 寿命长, 对辐射敏感, 对微生物病原菌敏感。

与 NOD/SCID 小鼠相比, NOG 小鼠的人体细胞和组织移植存活率显著提高, 同时能够植入更高比例的正常或癌变人类细胞和组织。另外, NOG 小鼠还能满足作为人类免疫系统模型的需求, 植入人类造血干细胞后, NOG 小鼠的外周淋巴组织可以产生人类 T 细胞。可应用于人类造血系统和免疫系统模型、

人类肝脏模型、人类传染病模型、移植物抗宿主病模型、人类癌症模型、多种异种移植和人类细胞移植研究的优质模型,也可应用与癌症、传染病、免疫学、再生医学和人源化研究。

2 原位乳腺癌干细胞异种移植常用的制备方法

2.1 移植前小鼠的准备

(1) 人源化小鼠乳腺的建立。在移植乳腺癌干细胞之前使移植的小鼠乳腺人源化利于人乳腺癌细胞的生长^[36]。小鼠乳腺在青春前期被清除,并且注射一种被放射过的和未被放射过的人成纤维细胞混合物。被放射过的人成纤维细胞(4Gy)能分泌各种生长因子、胶原,因此能支持正常细胞和癌上皮细胞的生长^[37,38]。此种动物模型的建立曾被 Kuperwasser 等人^[39]用于正常乳腺上皮细胞的移植。永生的成纤维细胞是将原代的人乳腺成纤维细胞转染逆转录病毒而表达端粒末端转移酶。乳腺癌干细胞在人源化的乳腺建立 2~4 周后再移植至小鼠的乳腺内。

(2) 降低小鼠的免疫力。极低数量级的人乳腺癌干细胞移植到小鼠体内仍然能存活,而并没有因为小鼠自身的免疫力而被清除。Al-Hajj 等人^[34]利用化疗药物依托泊苷腹腔注射入移植前的小鼠体内,使 NOD/SCID 小鼠的免疫力进一步下降从而有利于干细胞的生长。

(3) 提高小鼠体内的雌二醇(estradiol, E2)水平。E2 受体阳性的人乳腺癌细胞异种移植后需要给小鼠补充一定量的 E2,常用 60 天缓释的 0.72 mg 的 17 β -E2 片,或每隔 10 天,每只小鼠皮下注射 0.4 mg/kg E2^[40],使小鼠血清 E2 保持在一定的水平。但是, E2 促进肿瘤生长的同时,也带来了副作用。其中肾损伤和膀胱结石是导致小鼠死亡的主要原因。因此, E2 如何能促使乳腺癌细胞生长的同时还能尽可能减少对小鼠的损伤是急需解决的难题。Kang 等人^[41]报道 90 天缓释的 0.18 mg 低剂量的 17 β -E2 缓释片不仅能促进乳腺肿瘤的生长,并且埋缓释片小鼠的死亡率显著下降。故在今后的乳腺癌干细胞异种移植成瘤实验中可以尝试应用。此外,异种移植后的生长和转移也依赖于 E2。研究发现,药理学浓度的 17 β -E2 可以抑制裸鼠的 NK 细胞活性,给移植 E2 受体阴性肿瘤的裸鼠一

定量 E2 可以促进肿瘤的转移。因此,无论是 E2 受体阴性或是阳性的人乳腺癌干细胞异种移植时均可给予 E2 以提高成瘤率。

2.2 基质胶的应用

乳腺癌干细胞异种移植时通常将干细胞悬液混合一定的基质胶来提高成瘤率,混合的比例通常为 1:1。基质胶是由层黏连蛋白、IV 型胶原纤维、硫酸乙酰肝素和巢蛋白组成的混合物,在 4℃ 为液体,而在 37℃ 则聚合成一种凝胶^[42,43]。基质胶混合物增加异种移植瘤的成活率可能是因为它能形成一个有效的屏障,使肿瘤细胞免于局部免疫效应细胞的攻击。此外,基质胶也提供一个自然的结构或立体空间,使瘤细胞接近一些黏附分子或促有丝分裂分子,如层黏连蛋白、纤维连接蛋白和 IV 型胶原纤维^[44]。

3 异种移植的动物模型

3.1 原位成瘤动物模型

目前,乳腺癌干细胞异种移植的动物模型包括原代移植(图 2)和细胞系移植。2003 年,AL-Hajj 等人^[34]首次分离出了实体肿瘤干细胞,他们从乳腺癌患者的恶性胸腔积液中分离出一类表型为 CD44⁺-CD24^{-low}ESA⁺人上皮特异性抗原(human epithelial specific antigen, ESA)阳性的癌细胞,仅约 200 个细胞即可在免疫缺陷小鼠中形成肿瘤,成瘤率为 100%。

乳腺癌细胞系也广泛应用于异种移植的动物模型中,如常用的乳腺癌细胞系 MCF-7, MDA-MB-231^[45]。但是,有些细胞系中尚未发现乳腺癌干细胞。Price 等人^[46]曾对比皮下接种和乳腺脂肪垫接种的差异。该研究利用细胞株 MDA-MB-231 和 MDA-MB-435 分别进行皮下注射接种和乳脂垫接种。结果发现,乳脂垫接种后的成瘤率为 100%,而皮下途径为 40%,并且乳脂垫接种后转移率也提高。因此,这种原位移植不仅可以提高乳腺癌细胞的成瘤率也可以增加转移的发生率。

3.2 乳腺癌转移动物模型

Croker 等人^[47]通过鼠尾静脉注射人乳腺癌细胞系的干细胞 ALDH^{hi}CD44⁺CD24⁻,发现注射 MDA-MB-231, MDA-MB-468 细胞系的 NOD/SCID 小鼠分

图2 人乳腺癌 PDX 原代移植及鉴定

A: 手术室取无菌人乳腺癌组织; B: 在小鼠双侧第 4 对乳腺脂肪垫原代移植人乳腺组织小块, 3 个月 NOD/SCID 小鼠成瘤; C 和 D: 免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)检测 PDX 与人乳腺组织都表达雌激素受体(estrogen receptor, ER)(C 图是病人乳腺癌组织, D 图是原代 PDX 乳腺癌组织)

别在 5~7 周和 12 周后会出现肺和其他器官的转移灶。目前, 乳腺癌干细胞的标志物还在继续研究之中, 研究的热点主要集中在原位异种移植, 而乳腺癌干细胞转移动物模型的建立还非常少。Crocker 等人^[47]建立的乳腺癌转移的动物模型, 为乳腺癌干细胞转移动物模型的建立奠定了良好基础, 今后的研究应从乳腺癌细胞系的干细胞逐渐向病人原代乳腺癌干细胞转移, 从而真正建立乳腺癌干细胞转移的动物模型。

4 异种移植的动物模型的应用

4.1 PDX 模型高度再现人乳腺癌的演变

在基因表达层面, 所有不同类型患者的肿瘤及其对应的 PDX 有相同的基因稳定性。此外, 不同代 PDX 基因表达研究显示, 随着时间推移, 这些基因和免疫功能出现异种移植基质间的基因差别, 是由于人源基质被小鼠成分替代^[26,27,48]。一个悬而未决的问题是如何弥补人类丢失的基质。有趣的是, Bergamaschi 等人^[49]在下调人类细胞外基质相关基因的报

上调小鼠细胞外基质成分表明, 人类肿瘤细胞与宿主之间的相互作用在移植瘤生长和发展过程中发挥作用。乳腺癌 PDX 模型也被用于研究乳腺肿瘤新陈代谢等目前仍知之甚少的方面。在异种移植模型和人乳腺癌胆碱代谢基因表达研究中发现二者有相似的分子亚型^[50,51]。

遗传学方面, 异种移植瘤与肿瘤患者的基因拷贝数变化(copy number variations, CNVs) 和外显子组测序数据是相似的^[27,29,50,52]。在已知的染色体特定区域检测 CNVs 与乳腺癌染色体失衡相关^[48]。类似的结果也出现在恶性间叶肿瘤 PDX^[53], 这表明异种移植发生改变可能源于内在肿瘤进展而不是移植相关的人为因素。换句话说, 异种移植, 在某种程度上, 构成一个肿瘤进展的模型。这个假设也被 Ding 等人^[54]证实, 来自基底型乳腺癌病人脑转移瘤和异种移植瘤的基因型都来源于原发肿瘤。这项研究揭示脑转移瘤和异种移植肿瘤的突变频率存在重叠变化, 表明类似的细胞选择可能发生在移植和转移性传播过程中^[54]。这个研究组最近发表了 17 例 PDX 全基因组测序, 分析来自原发乳腺癌或出现皮肤和淋巴结转

移肿瘤的主要亚型^[55], 研究显示, 结构性变化和 CNVs 忠实地保留在 PDX 模型, 等位基因突变频率通常都保存下来, 证明克隆表达的可移植性^[55]。此外, 通过分析经内分泌治疗获得性耐药患者远处转移建立的 PDX 模型, 作者能够确定雌激素受体 1 基因突变。这样的突变在传统雌激素受体阳性细胞系模型没有描述, 可能对转移性乳腺癌的治疗产生深远的影响^[55]。这项工作强调需要开发抵抗常规疗法的转移性 PDX 模型, 用于替代疗法临床前评价和耐药机制的研究。同时提出了一些实际问题, 如缺乏转移性活检样本, 制作大规模 PDX 模型增加测序成本。

4.2 PDX 模型在乳腺癌药物筛选中的应用

表 1 总结了最近关于 PDX 模型药物在实用肿瘤学的研究文献^[56-67]。PDX 具有巨大的潜在应用价值, 包括确定新的治疗目标和最佳治疗时间, 分析和评价临床前肿瘤药物组合和生物标记物的鉴定和耐药机制。在某些情况下, 临床前研究主导临床试验。例如, Schott 等人^[62]研究表明, 在化疗抵抗的转移性乳腺癌 PDX 模型, 药物抑制 Notch 通路减少肿瘤起始细胞的数量。针对晚期乳腺癌患者, γ 分泌酶抑制剂 MK-0752 结合多西他赛的临床前研究已扩展到 Ib 期临床试验。

应用 PDX 模型进行药物研发的关键问题是药物反应程度, 其反映了相关病人的临床有效率。许多

研究组报道移植瘤和患者对药物的反应有一致性^[24-26,60], 尽管个体化治疗难以评估临床治疗, 即疗效不能以一种单一的方式进行评估, 但评估的基本标准是肿瘤不复发。另外, 乳腺癌患者经常接受多种治疗(手术、放疗和化疗), 因此很难评估单一方法的疗效。目前, 已尝试在胰腺癌患者采用 PDX 模型检测个体对不同药物的反应, 并且已成为一个必要的检测步骤, 其对个体化治疗具有指导意义^[68]。

然而, 即使假设原始肿瘤 PDX 模型药敏是稳定的, 但 40 年前首次提出的这个方法很难适用于乳腺癌^[69,70]。事实上, 药敏检测对个体病人是有限的, 获得率低, 即使肿瘤移植成功后, 药敏结果指导临床化疗仍有较长的时间间隔。但也有例外, 如三阴性乳腺癌细胞亚群形成移植瘤, 有一个相对较高的获得率和较短的延迟时间。最近报道, 一例转移性三阴乳腺癌患者的 PDX 模型 3 周内可成瘤, 这个患者已通过移植瘤指导个体化治疗^[71]。

5 PDX 应用的局限性

5.1 多次成瘤会丢失原遗传特性

有研究表明, 当患者来源的肿瘤成功移植到小鼠体内, 通过数代的传代移植, 肿瘤内患者来源的间质细胞被小鼠的间质细胞替代, 这一情况造成了组

表 1 人乳腺癌 PDX 模型在药物治疗中的应用^{a)}

序号	参考文献提出的观点
1	在 BRCA 野生型三阴乳腺癌 PDX 模型, 阻断 PI3K 影响同源重组和 PARP 抑制剂的药敏, 提供 PI3K 和 PARP 抑制剂联用的依据 ^[56]
2	乳腺癌 PDX 用于鉴定 PI3K 抑制剂反应的代谢生物标记 ^[57]
3	在化疗后的三阴乳腺癌移植模型中, 抑制 aurora kinases 可抑制肿瘤生长和预防肿瘤复发 ^[58]
4	药物抑制 Notch 信号通路可以减少体内肿瘤起始细胞的数量 ^[59]
5	Kabos 等人 ^[60] 在 luminal 乳腺癌 PDX 模型发现一种新的雌激素调节基因
6	Wnt 信号旁分泌在体内既有促进也有抑制肿瘤生长的作用, 但这些反应在细胞系没有观察到 ^[61]
7	Notch1 特异性抑制剂通过减少肿瘤干细胞的数量, 提高三阴乳腺癌 PDX 模型化疗的有效性 ^[62]
8	P53 在三阴乳腺癌结合 DNA 损伤并抑制 chk1 治疗中是一个主要决定因素 ^[63]
9	CXCR1/2 抑制剂阻断 IL-8 在肿瘤干细胞球形成中的作用, 并且增加拉帕替尼(lapatinib)在 Her2 阳性 PDX 模型的有效性 ^[64]
10	靶向 mTOR 明显抑制三阴乳腺癌 PDX 的肿瘤生长 ^[65]
11	获得性激素治疗抵抗与 luminal 乳腺癌 PDX 模型的肿瘤特异分子改变有关 ^[66]
12	PTEN 缺失导致对 PI3K 抑制剂的临床抗性 ^[67]

a) BRCA: breast cancer, 乳腺癌易感基因; HER2: human epidermal growth factor receptor 2, 人表皮生长因子受体 2; CXCR: chemokine receptor, 趋化因子受体; mTOR: mammalian target of rapamycin, 哺乳动物雷帕霉素的靶蛋白; PARP: poly (ADP-ribose) polymerase, 多聚腺苷二磷酸核糖聚合酶; PI3K: phosphoinositide 3-kinase, 磷脂酰肌醇 3 激酶; luminal: 腔的; PTEN: phosphatase and tensin homolog, 同源性磷酸酶-张力蛋白

织内细胞角蛋白表达的富集^[27]。另外, 乳腺癌 PDX 大多是三阴性乳腺癌亚型, 而腔内型和 HER2⁺亚型较少。然而, PDX 模型用于发现新药与生物标志物研究越来越被人们所认识^[72]。

5.2 成瘤率低, 成瘤周期长, 对于临床应用的指导作用有限

PDX 模型在原代通常需要 1~12 个月出现肿瘤, 第二代以后成瘤时间缩短, 一般为 1~6 个月^[72]。单个异种移植瘤检测能测试多个病人的肿瘤, 并可选择一最有效的药物组合^[46]。异种移植研究可用以提高临床决策水平, 但仍需要正式的临床试验验证。然而, 这种检测的高昂成本是一个重大问题。

5.3 PDX 模型鼠在肿瘤免疫研究存在局限

用于研究的免疫缺陷小鼠缺乏免疫细胞, 特别是 T 淋巴细胞, 其不能准确模拟机体免疫系统对肿瘤的免疫攻击^[73]。因而无法通过 PDX 模型动物来观察肿瘤免疫发生与发展的全过程, 从而无法阐明其规律。

三阴性乳腺癌 PDX 模型的常规化疗整体有效率

与临床有效率相似^[25], 至少在三阴性乳腺癌显示, 化疗抵抗或化疗应答病人亚群缺乏移植选择。尽管对于大部分乳腺癌的个体化治疗缺乏有效的方法, 然而, PDX 可能在选择治疗方法和肿瘤药敏检测方面是有效的工具。通过结合观察小鼠的反应和肿瘤基因信息, 应该可以开发出个体化的癌症治疗新模式。

6 展望

越来越多的证据表明, 乳腺癌 PDX 模型对于测试抗癌新药物和药物组合是非常有价值的。这些模型不仅成功地再现了病人肿瘤的分子生物学、组织学和病理学特点, 更重要的是, 这些肿瘤模型保留了肿瘤的间质细胞, 以及形成远隔转移灶的能力和对某些药物的耐药性。因功能性免疫反应缺乏、药物代谢存在差异、制作耗时等原因, PDX 模型的应用受到限制。总之, 癌症个体化治疗, 应努力在临床前研究中提高乳腺肿瘤模型的复杂性和多样性, 完善、改进和发展乳腺癌 PDX 模型还有长远的路程要走。

参考文献

- 1 Zheng R S, Zeng H M, Zhang S W, et al. National estimates of cancer prevalence in China, 2011. *Cancer Lett*, 2016, 370: 33–38
- 2 Tentler J J, Tan A C, Weekes C D, et al. Patient-derived tumor xenografts as models for oncology drug development. *Nat Rev Clin Oncol*, 2012, 9: 338–350
- 3 Sausville E A, Burger A M. Contributions of human tumor xenografts to anticancer drug development. *Cancer Res*, 2006, 66: 3351–3354
- 4 Voskoglou-Nomikos T, Pater J L, Seymour L. Clinical predictive value of the *in vitro* cell line, human xenograft, and mouse allograft preclinical cancer models. *Clin Cancer Res*, 2003, 9: 4227–4239
- 5 Hidalgo M, Amant F, Biankin A V, et al. Patient derived xenograft models: an emerging platform for translational cancer research. *Cancer Dis*, 2014, 4: 998–1013
- 6 Gillet J P, Calcagno A M, Varma S, et al. redefining the relevance of established cancer cell lines to the study of mechanisms of clinical anticancer drug resistance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 18708–18713
- 7 Gillet J P, Varma S, Gottesman M M. The clinical relevance of cancer cell lines. *J Natl Cancer Inst*, 2013, 105: 452–458
- 8 Toolan H W. Successful subcutaneous growth and transplantation of human tumors in X-irradiated laboratory animals. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1951, 77: 572–578
- 9 Flanagan S P. “Nude” a new hairless gene with pleiotropic effects in the mouse. *Genet Res*, 1966, 8: 295–309
- 10 Rygaard J, Povlsen C O. Heterotransplantation of a human malignant tumour to “Nude” mice. *Acta Pathol Microbiol Scand*, 1969, 77: 758–760
- 11 Bailey M J, Gazet J C, Peckham M J. Human breast-cancer xenografts in immune-suppressed mice. *Br J Cancer*, 1980, 42: 524–529
- 12 Bailey M J, Ormerod M G, Imrie S F, et al. Comparative functional histopathology of human breast carcinoma xenografts. *Br J Cancer*, 1981, 43: 125–134
- 13 Boehncke W H. The SCID-hu xenogeneic transplantation model: complex but telling. *Arch Dermatol Res*, 1999, 291: 367–373
- 14 Waller E K, Kamel O W, Cleary M L, et al. Growth of primary T-cell non-Hodgkin’s lymphomata in SCID-hu mice: requirement for a human lymphoid microenvironment. *Blood*, 1991, 78: 2650–2665
- 15 Juhasz I, Albelda S M, Elder D E, et al. Growth and invasion of human melanomas in human skin grafted to immunodeficient mice. *Am J*

- Pathol, 1993, 143: 528–537
- 16 Namikawa R, Ueda R, Kyoizumi S. Growth of human myeloid leukemias in the human marrow environment of SCID-hu mice. *Blood*, 1993, 82: 2526–2536
- 17 Shultz L D, Schweitzer P A, Christianson S W, et al. Multiple defects in innate and adaptive immunologic function in NOD/LtSz-scid mice. *J Immunol*, 1995, 154: 180–191
- 18 Yang W, Lam P, Kitching R, et al. Breast cancer metastasis in a human bone NOD/SCID mouse model. *Cancer Biol Ther*, 2007, 6: 1289–1294
- 19 Lumkul R, Gorin N C, Malehorn M T, et al. Human AML cells in NOD/SCID mice: engraftment potential and gene expression. *Leukemia*, 2002, 16: 1818–1826
- 20 Rice A M, Wood J A, Milross C G, et al. Prolonged *ex vivo* culture of cord blood CD34⁺ cells facilitates myeloid and megakaryocytic engraftment in the non-obese diabetic severe combined immunodeficient mouse model. *Br J Haematol*, 2001, 114: 433–443
- 21 Wang J C, Lapidot T, Cashman J D, et al. High level engraftment of NOD/SCID mice by primitive normal and leukemic hematopoietic cells from patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase. *Blood*, 1998, 91: 2406–2414
- 22 Hogan C J, Shpall E J, McNulty O, et al. Engraftment and development of human CD34⁺-enriched cells from umbilical cord blood in NOD/LtSz-scid/scid mice. *Blood*, 1997, 90: 85–96
- 23 Landis M D, Lehmann B D, Pietenpol J A, et al. Patient-derived breast tumor xenografts facilitating personalized cancer therapy. *Breast Cancer Res*, 2013, 15: 201
- 24 Cottu P, Marangoni E, Assayag F, et al. Modeling of response to endocrine therapy in a panel of human luminal breast cancer xenografts. *Breast Cancer Res Treat*, 2012, 133: 595–606
- 25 Marangoni E, Vincent-Salomon A, Auger N, et al. A new model of patient tumor-derived breast cancer xenografts for preclinical assays. *Clin Cancer Res*, 2007, 13: 3989–3998
- 26 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. *Cancer Res*, 2013, 73: 4885–4897
- 27 DeRose Y S, Wang G, Lin Y C, et al. Tumor grafts derived from women with breast cancer authentically reflect tumor pathology, growth, metastasis and disease outcomes. *Nat Med*, 2011, 17: 1514–1520
- 28 DeRose Y S, Gligorich K M, Wang G, et al. Patient-derived models of human breast cancer: protocols for *in vitro* and *in vivo* applications in tumor biology and translational medicine. *Curr Protoc Pharmacol*, 2013, 14: 1–43
- 29 Du Manoir S, Orsetti B, Bras-Goncalves R, et al. Breast tumor PDXs are genetically plastic and correspond to a subset of aggressive cancers prone to relapse. *Mol Oncol*, 2014, 8: 431–443
- 30 S Rui H, Utama F E, Yanac A F, et al. Prolactin-humanized mice: an improved animal recipient for therapy response-testing of patient-derived breast cancer xenotransplants. In: *Thirty-Fifth Annual CTRC-AACR San Antonio Breast Cancer Symposium*, San Antonio: Cancer Research, 2012
- 31 Beckhove P, Schütz F, Diel I J, et al. Efficient engraftment of human primary breast cancer transplants in nonconditioned NOD/Scid mice. *Int J Cancer*, 2003, 105: 444–453
- 32 Kuperwasser C, Dessain S, Bierbaum B E, et al. A mouse model of human breast cancer metastasis to human bone. *Cancer Res*, 2005, 65: 6130–6138
- 33 Moreau J, Anderson K M, Mauney J R, et al. Studies of osteotropism on both sides of the breast cancer-bone interaction. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 1117: 328–344
- 34 Al-Hajj M, Wicha M S, Benito-Hernandez A, et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 3983–3988
- 35 Charafe-Jauffret E, Ginestier C, Bertucci F, et al. ALDH1-positive cancer stem cells predict engraftment of primary breast tumors and are governed by a common stem cell program. *Cancer Res*, 2013, 73: 7290–7300
- 36 Ginestier C, Hur M H, Charafe-Jauffret E, et al. ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome. *Cell Stem Cell*, 2007, 1: 485–487
- 37 Orimo A, Gupta P B, Sgroi D C, et al. Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion. *Cell*, 2005, 121: 335–348
- 38 Tlsty T D, Hein P W. Know thy neighbor: stromal cells can contribute oncogenic signals. *Curr Opin Genet Dev*, 2001, 11: 54–59
- 39 Kuperwasser C, Chavarria T, Wu M, et al. Reconstruction of functionally normal and malignant human breast tissues in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 4966–4971

- 40 Ponti D, Costa A, Zaffaroni N, et al. Isolation and *in vitro* propagation of tumorigenic breast cancer cells with stem/progenitor cell properties. *Cancer Res*, 2005, 65: 5506–5511
- 41 Kang J S, Kang M R, Han S B, et al. Low dose estrogen supplementation reduces mortality of mice in estrogen-dependent human tumor xenograft model. *Biol Pharm Bull*, 2009, 32: 150–152
- 42 Mehta R R, Graves J M, Hart G D, et al. Growth and metastasis of human breast carcinomas with Matrigel in athymic mice. *Breast Cancer Res Treat*, 1993, 25: 65–71
- 43 Friman R, Kibbey M C, Royce L S, et al. Enhanced tumor growth of both primary and established human and murine tumor cells in athymic mice after coinjection with Matrigel. *J Natl Cancer Inst*, 1991, 83: 769–774
- 44 Clarke R. Human breast cancer cell line xenografts as models of breast cancer. The immunobiologies of recipient mice and the characteristics of several tumorigenic cell lines. *Breast Cancer Res Treat*, 1996, 39: 69–86
- 45 Charafe-Jauffret E, Ginestier C, Iovino F, et al. Breast cancer cell lines contain functional cancer stem cells with metastatic capacity and a distinct molecular signature. *Cancer Res*, 2009, 69: 1302–1313
- 46 Price J E, Polyzos A, Zhang R D, et al. Tumorigenicity and metastasis of human breast carcinoma cell lines in nude mice. *Cancer Res*, 1990, 50: 717–721
- 47 Croker A K, Goodale D, Chu J, et al. High aldehyde dehydrogenase and expression of cancer stem cell markers selects for breast cancer cells with enhanced malignant and metastatic ability. *J Cell Mol Med*, 2008, 13: 2236–2252
- 48 Reyat F, Guyader C, Decraene C, et al. Molecular profiling of patient-derived breast cancer xenografts. *Breast Cancer Res*, 2012, 14: R11
- 49 Bergamaschi A, Hjortland G O, Triulzi T, et al. Molecular profiling and characterization of luminal-like and basal-like *in vivo* breast cancer xenograft models. *Mol Oncol*, 2009, 3: 469–482
- 50 Moestue S A, Borgan E, Huuse E M, et al. Distinct choline metabolic profiles are associated with differences in gene expression for basal-like and luminal-like breast cancer xenograft models. *BMC Cancer*, 2010, 10: 433
- 51 Grinde M T, Skrbø N, Moestue S A, et al. Interplay of choline metabolites and genes in patient-derived breast cancer xenografts. *Breast Cancer Res*, 2014, 16: R5
- 52 Reyat F, Belichard C, Rouzier R, et al. Non-sentinel lymph node metastasis prediction in breast cancer with metastatic sentinel lymph node: impact of molecular subtypes classification. *PLoS One*, 2012, 7: e47390
- 53 Kresse S H, Meza-Zepeda L A, Machado I, et al. Preclinical xenograft models of human sarcoma show nonrandom loss of aberrations. *Cancer*, 2012, 118: 558–570
- 54 Ding L, Ellis M J, Li S, et al. Genome remodeling in a basal-like breast cancer metastasis and xenograft. *Nature*, 2010, 464: 999–1005
- 55 Li S, Shen D, Shao J, et al. Endocrine-therapy-resistant ESR1 variants revealed by genomic characterization of breast-cancer-derived xenografts. *Cell Rep*, 2013, 4: 1116–1130
- 56 Ibrahim Y H, Garcia-Garcia C, Serra V, et al. PI3K inhibition impairs BRCA1/2 expression and sensitizes BRCA-proficient triple-negative breast cancer to PARP inhibition. *Cancer Discov*, 2012, 2: 1036–1047
- 57 Moestue S A, Dam C G, Gorad S S, et al. Metabolic biomarkers for response to PI3K inhibition in basal-like breast cancer. *Breast Cancer Res*, 2013, 15: R16
- 58 Romanelli A, Clark A, Assayag F, et al. Inhibiting aurora kinases reduces tumor growth and suppresses tumor recurrence after chemotherapy in patient derived triple-negative breast cancer xenografts. *Mol Cancer Ther*, 2012, 11: 2693–2703
- 59 Qiu M, Peng Q, Jiang I, et al. Specific inhibition of Notch1 signaling enhances the antitumor efficacy of chemotherapy in triple negative breast cancer through reduction of cancer stem cells. *Cancer Lett*, 2013, 328: 261–270
- 60 Kabos P, Finlay-Schultz J, Li C, et al. Patient-derived luminal breast cancer xenografts retain hormone receptor heterogeneity and help define unique estrogen-dependent gene signatures. *Breast Cancer Res Treat*, 2012, 135: 415–432
- 61 Green J L, La J, Yum K W, et al. Paracrine Wnt signaling both promotes and inhibits human breast tumor growth. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 6991–6996
- 62 Schott A F, Landis M D, Dontu G, et al. Preclinical and clinical studies of gamma secretase inhibitors with docetaxel on human breast tumors. *Clin Cancer Res*, 2013, 19: 1512–1524
- 63 Ma C X, Cai S, Li S, et al. Targeting Chk1 in p53-deficient triple-negative breast cancer is therapeutically beneficial in human-in-mouse tumor models. *J Clin Invest*, 2012, 122: 1541–1552
- 64 Singh J K, Farnie G, Bundred N J, et al. Targeting CXCR1/2 significantly reduces breast cancer stem cell activity and increases the efficacy of inhibiting HER2 via HER2-dependent and -independent mechanisms. *Clin Cancer Res*, 2013, 19: 643–656
- 65 Zhang H, Cohen A L, Krishnakumar S, et al. Patient-derived xenografts of triple-negative breast cancer reproduce molecular features of

- patient tumors and respond to mTOR inhibition. *Breast Cancer Res*, 2014, 16: R36
- 66 Cottu P H, Bieche I, Assayag F, et al. Acquired resistance to endocrine treatments is associated to tumor-specific molecular changes in patient-derived luminal breast cancer xenografts. *Clin Can Res*, 2014, 20: 4314–4325
- 67 Juric D, Castel P, Griffith M, et al. Convergent loss of PTEN leads to clinical resistance to a PI(3)K inhibitor. *Nature*, 2015, 518: 240–244
- 68 Garralda E, Paz K, Lopez-Casas P P, et al. Integrated next-generation sequencing and avatar mouse models for personalized cancer treatment. *Clin Cancer Res*, 2014, 20: 2476–2484
- 69 Berenbaum M C, Sheard C E, Reittie J R, et al. The growth of human tumours in immunosuppressed mice and their response to chemotherapy. *Br J Cancer*, 1974, 30: 13–32
- 70 Bailey M J, Jones A J, Shorthouse A J, et al. Limitations of the human tumour xenograft system in individual patient drug sensitivity testing. *Br J Cancer*, 1984, 50: 721–724
- 71 Bousquet G, Feugeas J P, Ferreira I, et al. Individual xenograft as a personalized therapeutic resort for women with metastatic triple-negative breast carcinoma. *Breast Cancer Res*, 2014, 16: 401
- 72 Malaney P, Nicosia S V, Dave V. One mouse, one patient paradigm: new avatars of personalized cancer therapy. *Cancer Lett*, 2014, 344: 1–12
- 73 Kopetz S, Lemos R, Powis G. The promise of patient derived xenografts: the best laid plans of mice and men. *Clin Cancer Res*, 2012, 18: 5160–5162

Recent Progress in Patient-Derived Tumor Xenograft Model of Breast Cancer

MA LiJun, ZHAN Jun & ZHANG HongQuan

Laboratory of Molecular Cell Biology and Tumor Biology, Peking University School of Basic Medical Sciences, Beijing 100191, China

Patient-derived xenografts (PDXs) model of breast cancer faithfully maintains the biological characteristics of the donor tumors and reproduces the heterogeneity of primary tumor. PDXs have been used in the investigations of uncovering the mechanism of drug resistance. This preservation of breast cancer biology involves a number of different aspects, including gene expression patterns, mutational status, drug response and tumor architecture. Therefore, PDXs are of great value in the translational research of cancer drug discovery. These models have been shown to be a valuable tool for the identification of new treatment targets in the translation of cancer therapeutics into clinical settings. This review summarizes the recent progress of methodologies of establishing PDXs and the limitations of PDXs used in the development of anti-tumor drugs. In conclusion, as the development of PDX models is time-consuming and expensive, their development and use for a personalized cancer therapy should be improved in the future.

breast cancer, patient derived xenografts, animal model, cancer stem cells

doi: 10.1360/N052015-00386