

泌尿系统肿瘤 PDX 模型的构建及应用进展

黄高敏¹, 何远桥², 高亮¹, 李坤¹, 谢文杰³, 陈捷⁴

(1. 南昌大学医学部, 南昌 330006; 2. 南昌大学实验动物科学中心, 南昌 330006;

3. 南昌大学第一附属医院泌尿外科, 南昌 330006; 4. 江西省人民医院泌尿外科, 南昌 330006)

【摘要】人源性肿瘤异种移植(human-derived tumor xenografts, PDX)模型能够保留原始肿瘤异质性及肿瘤生长的微环境, 与患者肿瘤组织的病理组织学和分子表型相似度高, 可以很好地反映患者临床结果, 能更准确地预测新型药物的临床疗效, 为泌尿系肿瘤(包括肾癌、膀胱癌和前列腺癌等), 特别是临床治疗后耐药复发及转移性肿瘤的研究提供可靠的临床前模型。PDX 模型在新药研发、生物标志物筛选及个性化治疗等应用中具有重要意义, 为实现泌尿肿瘤精准医疗和转化医学研究奠定基础。本文对泌尿系统肿瘤 PDX 模型的构建及应用进展予以综述。

【关键词】人源性肿瘤异种移植模型; 泌尿系肿瘤; 临床前模型; 精准医疗

【中图分类号】R69

【文献标志码】A

【收稿日期】2020-05-08

Progress in the construction and application of PDX model
in the treatment of urological tumorsHuang Gaomin¹, He Yuanqiao², Gao Liang¹, Li Kun¹, Xie Wenjie³, Chen Jie⁴

(1. Department of Medicine, Nanchang University; 2. Laboratory Animal Science Center, Nanchang University;

3. Department of Urology, The First Affiliated Hospital of Nanchang University; 4. Department of Urology,
Jiangxi Provincial People's Hospital)

【Abstract】The human-derived tumor xenografts(PDX) model can retain the original tumor heterogeneity and the microenvironment of tumor growth. It has a high degree of similarity with the patient's tumor tissue in histopathology and molecular phenotype, which can reflect the patient's clinical outcomes very well, more accurately predict the clinical efficacy of new drugs, and provide a reliable preclinical model for patients with urinary tract tumors including renal carcinoma, bladder cancer, and prostate cancer, especially for the study of drug-resistant relapse and metastatic tumors after clinical treatment. The PDX model is of great significance in the application of new drug development, biomarker screening, personalized treatment, and so on, which has laid the foundation for the research of urological tumor precision medicine and translational medicine. This article has reviewed the progress in the construction and application of PDX model in urological tumors.

【Key words】human-derived tumor xenografts model; urological tumors; preclinical model; precision medicine

为了研究肿瘤生物学或评价抗癌药物, 体内异种移植模型已被广泛应用。然而, 这些体内模型大多是基于经过人工纯化及多代培养的细胞系, 通过将这些肿瘤细胞系植入免疫缺陷小鼠中生成体内异种移植(cell line-derived xenograft, CDX)模型。这些体内模型难以再现肿瘤微环境和肿瘤的异

质性, 而这两者对于原发肿瘤的构建、增殖和转移至关重要。这些所谓的肿瘤细胞系尽管方便且易于使用, 但在临床前药物开发中具有局限性, 主要局限性在于生物学特性及药效评价结果与临床相似度极低, 对临床结局的预测价值不佳^[1]。传统癌症模型具有如此差的预测能力的原因尚未完全了解。但是, 随着模型的发展, 其基本生物学特性的变化可能是一个关键因素。适应体外生长条件的过程导致癌细胞的生物信息发生变化, 这些变化(包括遗传信息的获取和丢失, 生长和侵袭特性的变化, 以及特定细胞群的丢失)不同于宿主衍生的实体^[2]。另外, 细胞系通常仅从更具侵袭性的肿瘤建立, 且经过人工纯化及多代培养, 其构建的 CDX 模型不能代表临床上

作者介绍:黄高敏, Email: hgm991948905@163.com,

研究方向: 泌尿系统肿瘤精准医疗研究。

通信作者:陈捷, Email: 1271312955@qq.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号: 30860283); 江西省教育厅科学技术研究资助项目(编号: GJJ180032, GJJ13131)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20201218.0958.010.html>
(2020-12-18)

明显的复杂肿瘤的异质性。由于这些原因,细胞系体内模型的建立对于个性化医学应用而言不是合适的策略。

相比之下,人源性肿瘤异种移植(human-derived tumor xenografts, PDX)模型是将患者来源的肿瘤直接移植到免疫缺陷小鼠宿主体内。建立的移植瘤模型保留了患者原代肿瘤的组织病理学、分子生物学等关键特征,并且通过连续传代得以保留。PDX 模型保留了供体肿瘤的主要特征,包括精细的组织结构和微妙的微观细节,如腺体结构、黏蛋白产生或囊肿形成。在生物学水平上,大多数研究显示出肿瘤与衍生模型之间的良好一致性。基因表达谱分析表明,供体肿瘤与相应的 PDX 之间没有实质性变化。此外,小鼠到小鼠的传代基本上不会改变移植肿瘤的功能特征。比较不同代次(多达十个)的 PDX 模型对药物治疗反应的研究表明,不同世代之间的响应速度稳定,进一步支持了这些模型的表型稳定性^[3]。2016 年,美国国家癌症研究所(National Cancer Institute, NCI)决定从其药物筛选计划中退出 25 年来被全球研究人员大量使用的 NCI-60(NCI-60 是在培养基中生长的 60 种人类癌细胞系),并将重点放在更新的 PDX 模型上。由于 PDX 模型能高保真肿瘤的异质性和微环境,使其成为 NCI 首推的肿瘤研究方法^[4]。近年来,PDX 模型已被用于预测各种癌症类型的药物反应,被广泛应用于肺癌、结直肠癌、乳腺癌、胰腺癌和胃癌等肿瘤。PDX 模型为癌症患者提供了肿瘤标志物预测和筛选个性化药物的工具,在泌尿系统肿瘤的个性化治疗与新药研发等方面有重要意义。

1 泌尿肿瘤 PDX 模型的构建

1.1 样本来源

患者肿瘤标本可从国内的医疗机构和商业供应商获得,且所有患者均应签署知情同意。收集高质量的患者标本是构建泌尿系统肿瘤 PDX 模型的第一步。患者组织的来源决定了 PDX 的成功率及用来研究的科学目的。临床上,侵袭性、转移性肿瘤的成瘤率通常高于非侵袭性、非转移性原发肿瘤。患者肿瘤标本的来源主要包括局部肿瘤、转移性肿瘤、循环肿瘤细胞及分选或原代培养来源的样本。

1.1.1 局部肿瘤 局部肿瘤是 PDX 常见的组织来源。这些带有治疗目的的手术取得的标本可提供大量肿瘤组织,有时还可能从周围淋巴结获得局部晚期肿瘤。肿瘤组织可以用手术刀或活检针从手术标本中分离。无论采用何种方法,都需要保存标本的整体结构,因为这对常规病理报告手术切缘、肿瘤分化和组织学至关重要^[5]。

1.1.2 转移性肿瘤 转移性肿瘤的 PDX 提供了最具侵袭性的癌症进展阶段模型。这使转移性肿瘤的 PDX 成为研究耐药机制和预测新疗法有效性的理想工具^[6]。然而,对于许多癌症来说,与局部疾病相比,转移性肿瘤的可获得性是有限的。

一些癌症患者很少接受手术切除,而是接受放疗或化疗等全身治疗。然而,仍可从患者转移性肿瘤细胞的许多来源建立 PDX。例如,一些实验室已经通过手术切除结肠癌肝转移灶建立了 PDX,还可以从转移性样本包括恶性腹水或胸膜积液中分离出癌细胞并将其注射或移植到小鼠体内^[7]。与外科手术切除、腹水和胸腔积液一样,活检具有的并发症风险小,是转移性肿瘤细胞形成 PDX 的重要来源。

1.1.3 循环肿瘤细胞 循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTC)是一种新型的 PDX 癌细胞来源^[8]。将乳腺癌、前列腺癌和小细胞肺癌的 CTC 直接植入免疫缺陷小鼠体内,成功建立了 PDX。在异种移植时,CTC 数量较多的样本具有较高的成功率。这可能是由于样本中的一些 CTC 更有可能是肿瘤源性的,以及高 CTC 计数与侵袭性肿瘤之间的联系。由于从尿液或其他体液中收集 CTC 的过程是非侵入性的,因此可能获得来自不同疾病进展阶段(如治疗性耐药前后)的一系列样本来建立 PDX。因此,CTC 很可能成为越来越受欢迎的建立 PDX 的样品。

1.1.4 分选或原代培养来源的样本 PDX 也可以通过分选或原代培养的肿瘤细胞来建立。细胞分选是根据癌细胞表面抗原或表型的表达来增加癌细胞数量,常用的技术包括流式细胞术、磁珠分离和涂布板的差速附着^[9]。另一种常见的癌症细胞预选方法是原代细胞培养。这些体外细胞培养可以用来选择更有可能成功建立 PDX 的患者标本,对于低采样率的样本特别有用。因为更容易在体外监测它们的生长,然后将细胞移植到宿主小鼠中^[10]。但一个尚未解决的问题是,除了早期明显缺乏人类基质外,从组织块建立的 PDX 与培养细胞是否存在差异。总之,通过分选或原代培养对癌细胞进行预选,为研究人员提供了一种控制 PDX 成功率的方法。

1.1.5 快速尸检 一旦逻辑上和伦理上的挑战被克服,快速尸检能够克服从活着的患者身上收集样本的某些限制。快速尸检也称温检或即时尸检,是在患者死亡后几小时内收集肿瘤组织。它的独特优势是对多个转移部位进行广泛采样,包括那些在死亡前无法进入的转移部位,而没有患者不适或并发症的风险^[11]。

1.2 新鲜组织样本的处理

在获得手术切除或活检的患者标本后,建立成功的 PDX 的下一个重要步骤是仔细准备用于异种移植的组织。患者肿瘤移植前先进行预处理,用台盼蓝染液进行肿瘤组织活性检测,反复消毒及冲洗后剔除坏死组织和非肿瘤部分。剪成约 2 mm × 2 mm × 2 mm 的组织块用于接种^[12],剩余样本剪成厚度 5 mm 左右的两部分:一份装入 10%胎牛血清与二甲亚砜按比例配置的冻存液中,在-80 °C 下快速冷冻保存或在液氮罐中长期冻存,用于基因组分析;另一份固定于多聚甲醛溶液并进行包埋,用于组织病理学分析。

1.3 小鼠品系的选择

Nude 小鼠:无毛,又称裸鼠,无胸腺,T 细胞缺失,但是 B

细胞和 NK 细胞功能正常。

重度联合免疫缺陷(severe combined immunodeficiency, SCID)小鼠:缺乏 T 细胞和 B 细胞,但巨噬细胞及 NK 细胞处于正常水平。

非肥胖糖尿病-严重免疫缺陷(nonobese diabetic-severe combined immunodeficiency, NOD-SCID)小鼠:T 细胞和 B 细胞缺乏,而且巨噬细胞及 NK 细胞能力弱,免疫缺陷程度较 SCID 小鼠更高。

IL-2R γ 基因缺乏的 NOD-SCID 小鼠,称为 NSG 小鼠,无成熟 T 细胞和 B 细胞,功能性 NK 细胞几乎丧失,细胞和体液免疫功能严重降低,免疫缺陷程度最高,是目前最适用于细胞或组织移植的小鼠^[13]。

选用小鼠的免疫缺陷程度不同是影响 PDX 模型成瘤率的一个重要因素。小鼠免疫功能缺陷降低免疫排斥作用,使移植的组织更容易存活。尽管很少有研究比较宿主小鼠品系对 PDX 移植率的影响,但选择免疫缺陷程度高的小鼠进行移植,会在一定程度上提高移植成功率。在成瘤率与费用平衡下, NOD-SCID 小鼠有较弱的 NK 细胞功能,但是成瘤率相对较高,是许多实验室进行异种移植的实验对象;而裸鼠因其在肿瘤监测方面的优势,仍然是 PDX 实验研究的不错选择^[14]。

1.4 小鼠激素水平影响性别的选择

动物性别的选择取决于实验研究目的,以及性激素对肿瘤类型、分析指标等是否存在明显影响。使激素依赖性癌症的 PDX 获得最大成功的简单方法是在宿主小鼠中补充类固醇激素水平^[15],例如前列腺癌 PDX,通常是前列腺组织移植到雄性小鼠体内并添加雄激素建立的,因为维持前列腺的分化需要较高的睾酮水平,而成年雄性小鼠的雄激素水平仅相当于性腺功能低下的成年男性^[16];对于非激素依赖性癌症的 PDX,多采用雌雄各半的原则以避免性别因素引起的误差。

1.5 肿瘤移植方式及部位

移植部位是建立 PDX 要考虑的重要因素,因为小鼠宿主的局部特征影响 PDX 的成瘤率、可靠性和实用性。

1.5.1 异位移植 与移植物的组织来源不同,皮下接种是最常见的异位移植部位。于小鼠双侧肩胛区的皮下区域植入肿瘤组织块。此法简单便捷且易于监测肿瘤生长,是高成瘤率或在其他移植部位连续移植肿瘤 PDX 的最常用方式^[17]。对于皮下移植成瘤率低的肿瘤,肾包膜下移植是泌尿肿瘤常用的异位移植部位,也是肾癌 PDX 原位移植的部位。由于营养供应优越和增强了肾包膜下移植物的微血管供应,能在一定程度上提高 PDX 的建立成功率,甚至缩短成瘤时间。例如,通过肾包膜下移植,已经从进行诊断的少量穿刺活检组织成功建立了前列腺癌 PDX 模型^[18]。因此,对于异位的 PDX,移植部位的选择取决于最佳的成瘤率、移植的难易程度及肿瘤生长的监测之间的平衡。

1.5.2 原位移植 研究发现,局部微环境会影响 PDX 的成

瘤率和表型。原位移植确保了宿主的微环境,尽可能地接近患者的原始组织。在许多肿瘤建立 PDX 的过程中,原位移植比皮下移植有更高的成瘤率^[7,19]。而且,移植物的位置也会影响 PDX 的表型,如原位 PDX 可能比异位 PDX 更容易发生转移^[20],也比异位 PDX 更能反映患者对治疗的反应。然而,建立原位移植可能更加困难和耗时,需要使用专门的成像设备进行监测。

1.6 其他因素

一些额外的处理因素可能会提高难以生长为 PDX 的组织成瘤率,这是因为移植物的微环境和组织的制备方法对建立 PDX 至关重要。一种方法是使用组织切片来切薄精确的样品,通常厚约 300 μm 。这些薄片可能比大的组织片含氧量更高^[21],还可以在肿瘤样本移植到小鼠体内之前与基质胶混合,提供生长因子和细胞外基质来促进患者组织和宿主血管的生长,提高移植成功率^[7]。另一种提供支持微环境的方法是在移植物中添加间质,当与胚胎或新生小鼠的精囊间质重新结合时,原发性前列腺 PDX 的成瘤率增加^[5,7]。

2 PDX 模型在泌尿系肿瘤中的应用

2.1 PDX 在肾癌中的应用

尽管手术和化疗有所改善,晚期肾癌的预后仍然很差,5 年生存率甚至不到 10%^[22]。过去十年,肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)的治疗已经从非特异性免疫方法(又称细胞因子时代)过渡到针对血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的靶向治疗,现在又进展到新的免疫治疗,但这些方法仍不能治愈 RCC。寻找新的治疗方法或药物是肾癌精准医疗的重要策略。阻碍治疗方法进展的主要障碍之一是缺乏适当的临床前模型。建立合适的 PDX 肾癌模型,对肾癌的肿瘤生物学研究和新型药物的开发不可或缺。Lang H 等^[23]收集了 336 例接受手术的患者 RCC 组织(所有阶段/亚型),在裸鼠皮下移植并连续传代到新的小鼠中。通过组织病理学、mRNA 表达谱、VHL 基因测序、生长特性和对当前治疗方法的反应,分析来自原发肿瘤和传代培养的小鼠肿瘤组织的生物组织稳定性。并通过原位植入建立转移模型,进行影像学分析。由此建立了一个 30 个 RCC 模型的大数据库,组织病理学、分子和遗传特征在原发肿瘤和病例匹配的异种移植之间得以保留。这些模型为临床设计有效的治疗、识别预测生物标志物和转化研究提供了一个宝贵的工具。

基因组学和转录组学研究显示,肾癌是人类肿瘤广泛的瘤内异质性和克隆进化的一个典型例子^[24]。Saeed K 等^[25]研究基因组克隆进化如何影响药物反应,通过从 4 例 RCC 患者的不同肿瘤区域建立了多个患者来源的细胞(patient-derived cell, PDC),并通过基因组测序验证了它们之间以及与未培养的肿瘤组织之间的克隆关系。然后,用 460 种肿瘤药物对

所有 PDC 克隆进行了综合药物敏感性试验。来自患者不同肿瘤区域的细胞克隆显示了不同的药物反应谱,这表明基因组的异质性导致了药物反应的变异性。这种方法提示可以促进药物和药物组合的个性化定制。Schuller AG 等^[26]测定了选择性 MET 抑制剂 AZD6094 在 2 个肾癌患者来源的异种移植模型中的药效学和抗肿瘤反应。通过每日 25 mg/kg 的剂量反应进行测试,这代表了临床可达到的暴露水平,并与 RCC 标准用药舒尼替尼或多激酶抑制剂克唑替尼的活性进行了比较。结果发现,AZD6094 治疗导致肿瘤消退,而舒尼替尼或克唑替尼治疗导致非持续性生长抑制。肿瘤药效学分析表明,AZD6094 能明显抑制 pMET,且抑制时间与剂量有关,其还抑制 MAPK、PI3K 等多个信号转导节点。这些数据为肾癌的临床前体内模型的治疗试验提供了第一份报告,并支持 AZD6094 在该适应证中的临床应用。

2.2 PDX 在膀胱癌中的应用

大多数膀胱癌为尿路上皮癌,其中大多数为非肌层浸润性膀胱癌(non-muscle invasive bladder cancer,NMIBC),通常预后较好,但发病率高、治疗费用高。相比之下,肌层浸润性膀胱癌的预后相对较差。膀胱癌的治疗方案及其疗效因临床分期及相关危险因素而异。NMIBC 的一线治疗是经尿道电切术(transurethral resection,TUR),术后根据疾病的分期、分级和其他临床特征,给予膀胱内灌注化疗,如丝裂霉素 C 或卡介苗。在与疾病结局和临床反应相关的多种亚型中,TP53 和 HER2 突变的患者预后最差^[27]。膀胱高级别尿路上皮细胞癌在累及淋巴结时预后较差,超过一半的肌层浸润性尿路上皮细胞癌患者将出现转移并在 5 年内死亡。因此,有必要建立非肌层浸润性和肌层浸润性膀胱癌模型,阐明复发性体细胞突变的生物学功能及其在介导转化和促进疾病进展中的作用,为制定合理的治疗策略奠定基础。Gills J 等^[28]建立的患者来源的原位异种移植瘤模型能够持续模拟尿路上皮细胞癌转移。通过膀胱内灌注 NOD/SCID 小鼠,每周监测小鼠的生物荧光成像,利用荧光素酶/荧光报告基因双标记,并以评估肿瘤的生长和转移,采集原发肿瘤及器官进行生物发光成像。这为研究肿瘤形成和转移的机制提供了可能,对未来检测传统药物的最佳组合或新型治疗药物的疗效具有重要意义。

对于肌层浸润性膀胱癌,目前的治疗标准是顺铂为主的新辅助化疗,然后行根治性膀胱切除术。许多肌层浸润性膀胱癌患者不能接受基于顺铂的化疗,或者无法从化疗中获益,因此需要评估患者的药物敏感性。Kettunen K 等^[29]研究了条件重编程产生患者来源的膀胱癌细胞培养物,其对膀胱癌特性表征的适应性,以及用于个体化药物敏感性筛选的可行性。一些科学团队已经使用全基因组表达谱和广泛的分子标记物将膀胱癌分为基底型、腔型和 p53 亚型。膀胱癌的 3 种固有亚型对一线化疗表现出不同的临床行为和反应^[30]。由于膀

胱癌的内在分子亚型分类提供了预后信息,并可能有助于确定对化疗敏感性增加的一组患者。PD-1/PD-L1 信号在肿瘤发生中的评估因需要 T 细胞参与仍然具有挑战性,且 PD-L1 信号在不同亚型 NMIBC 生长和进展中的参与仍不清楚^[31]。Blinova E 等^[32]建立了 6 个 NMIBC 主要分子亚型 PD-1 阳性表达的 PDX 模型,包括原发性及复发性 gata3 表达/腔内型、KRT5/6 表达/基底型及 p53 亚型 NMIBC,结果发现 PD-L1 阻断剂并不能抑制膀胱癌所有亚型的肿瘤生长。特别是 p53 非肌层浸润性膀胱癌 PDX,在 PD-L1 表达明显低于正常对照组的情况下,仍能耐受抗 PD-L1 治疗。相反地,所有已建立的 PDX 亚型转移活性受到显著抑制,突显了 PD-L1 信号在上述过程中的参与,可能涉及 T 细胞对特定治疗反应的异质性。由于 NMIBC 分子亚型和肿瘤抑制因子的不同,建立的 PD-L1 阳性 NMIBC PDXs 对抗 PD-L1 治疗有不同的应答。这一结果可能对进一步的临床研究具有重要意义。通过编码 mRNA 检测或蛋白组学分析膀胱癌所有分子亚型为代表的模型,评估 PD-L1 相关侵袭性以及检测 PD-1/PD-L1 通路信号分子水平将更有意义。这将是进一步探索的方向。

2.3 PDX 在前列腺癌中的应用

前列腺癌是最常见的癌症,也是男性癌症相关死亡的主要原因。肿瘤进展和侵袭性的机制尚不完全清楚,因此建立和表征前列腺癌分子异质性的实验模型具有重要意义,以便在临床前环境中更好地再现前列腺癌的生物多样性。Yoshikawa T 等^[33]将 1 名患者的前列腺癌组织样本皮下移植到 SCID 雄性小鼠体内,并命名为 KUCaP3,在去势前后观察肿瘤体积的连续变化。免疫组化检测雄激素受体(androgen receptor,AR)、前列腺特异性抗原(prostate-specific antigen,PSA)等分子标志物,对 AR 进行序列分析以检测突变。KUCaP3 表现为囊肿形成,最初表现为雄激素依赖性生长,在小鼠去势后数月出现抗去势生长。在荷瘤小鼠的囊液和血清中检测到包括 PSA 在内的多种蛋白,可能作为识别治疗效果和耐药性的生物标志物,并更好地了解前列腺癌生物学。

前列腺癌的 PDX 模型之前已经通过将人类前列腺癌细胞移植到免疫缺陷小鼠中而产生。然而,由于前列腺癌对在免疫缺陷小鼠中的低移植率,这类模型的建立受到阻碍。最近,CTC 被用于制造前列腺癌的 PDX 模型,这些肿瘤细胞从原发肿瘤中逃逸,进入循环,在肿瘤转移和复发中起关键作用,而转移和复发是癌症相关死亡的最常见原因^[34]。与传统的 PDX 模型相比,该方法的优点包括不依赖手术样本采集和在不同疾病阶段生成实验模型。Williams ES 等^[35]采用密度梯度离心、红细胞裂解和流式细胞术去除 CD45 阳性单核细胞的方法来丰富从转移性疾病患者外周血中采集的 CTC,然后将 CTC 注射到免疫缺陷小鼠体内;随后生成的异种移植瘤可用于功能或分子表征研究。CTC 生成的 PDX 模型为前列腺癌研究提供了一种新的实验模型。

类固醇激素水平影响激素依赖性癌症的移植和生长,因此初期前列腺癌 PDX 模型的成功率很低。研究者们提出了多种提高成瘤率的方案,主要有补充外源性雄激素、肿瘤组织与鼠精囊混合植入及其低温保存前列腺癌组织等^[5,15]。Porter LH 等^[16]研究比较了 3 种不同的冷冻保存方案,以确定一种可用于重复冷冻保存前列腺癌 PDX 模型的方法。包括胎牛血清(fetal bovine serum,FBS)与 10%二甲亚砜(dimethyl sulfoxide,DMSO)缓慢冷冻;含 10% DMSO 的 FBS,辅以 RHO 相关激酶抑制剂 Y-27632;对另外 17 例前列腺癌患者进行慢速冷冻方案的有效性评估。结果表明,慢速冷冻维持了前列腺癌 PDX 的生存能力和组织学特征,在低温保存后添加一种 RHO 相关激酶抑制剂增加了它们的生长,这有可能显著提高 PDX 模型维护与保存的实用性。低温保存也可能增加这些重要资源的可获得性,并为前列腺癌更广泛的临床前研究提供新的机会。

3 PDX 的局限性与挑战性

患者来源的 PDX 模型在癌症研究中越来越受欢迎,可用于新型药物评估、肿瘤标志物研究和个性化治疗策略。PDX 模型在稳定传代过程中能保留了患者肿瘤的关键特征,与患者临床反应具有较好的相似性,使其成为美国国家癌症研究所首推的肿瘤研究方法,但仍具有诸多局限与挑战。

第一,PDX 建模周期长,常要数月时间甚至长达 1 年。虽然有研究报道临床分期更高的肿瘤模型建立 PDX 模型更容易成功,但高分期患者病情进展迅速,因样本肿瘤移植后需较长的成瘤等待时间,PDX 模型不能与患者临床过程完全同步,难以针对患者进行个性化治疗方案制定。第二,PDX 模型移植成功率也不能保证,患者肿瘤样本的个体差异、宿主小鼠的品系与性别及肿瘤移植的部位等多种因素会不同程度地影响移植成功率。第三,PDX 模型移植部位通常选用皮下部位,因为肾包膜下移植及原位移植操作难度较大,在技术上具有一定挑战性,而且需要借助影像学监测。第四,PDX 建模需要投入较高成本,使用免疫缺陷程度更高的小鼠,能相应提高移植成功率,但实验中小鼠品系的选择仍取决于成瘤率与费用之间的平衡。据报道,美国冠军公司等机构开展个体化治疗制订方案,每例患者费用高达上万美元。从成本收益考虑,PDX 模型在相当一段时间内不会成为一项常规筛查。第五,PDX 模型比细胞系培养或基因工程小鼠更好地再现人类癌症的复杂性及异质性,但因宿主小鼠缺乏人体主要的免疫细胞及免疫环境,这在一定程度上限制了其在免疫系统相互作用及免疫反应研究中的应用。

近年来,以 PD-1 和 PD-L1 抗体为代表的免疫检查点抑制剂已在临床上广泛应用,这就迫切需要建立能更好地结合免疫反应的模型。有研究者提出,重建人免疫系统的“人源

化”肿瘤免疫小鼠构建新一代 PDX 模型。通过将人造血干细胞或外周血单核细胞植入小鼠体内,能在宿主小鼠中模拟人类部分免疫系统,为肿瘤提供所需的免疫微环境^[17],为肿瘤免疫系统相互作用和评价免疫治疗反应提供新的工具,进一步提升 PDX 模型在肾癌、前列腺癌等肿瘤中个体化治疗的应用价值。

4 结 语

PDX 模型是泌尿系肿瘤研究较为理想的工具,可用于新药评估、生物标志物研究和个性化治疗筛选等领域。但目前泌尿系肿瘤 PDX 模型建立成功率不稳定,建立时间周期长,所需成本高昂,限制了泌尿系肿瘤 PDX 模型在临床上的广泛应用。但是,随着免疫治疗的兴起,肿瘤免疫与 PDX 模型结合,为肿瘤免疫系统相互作用和评价免疫治疗反应提供了新的平台,这对新的治疗药物开发和免疫疗法研究具有重要意义,为泌尿系肿瘤治疗与研究提供可靠的临床前模型,使泌尿系肿瘤向精准医疗方向转变。

参 考 文 献

- [1] Johnson JJ,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.
- [2] 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 USA,2011,108(46):18708-18713.
- [3] 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.
- [4] Ledford H. US cancer institute to overhaul tumour cell lines[J]. Nature,2016,530(7591):391.
- [5] 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.
- [6] Juric D,Castel P,Griffith M,et al. Convergent loss of PTEN leads to clinical resistance to a PI(3)K α inhibitor[J]. Nature,2015,518(7538):240-244.
- [7] 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.
- [8] Hodgkinson CL,Morrow CJ,Li Y,et al. Tumorigenicity and genetic profiling of circulating tumor cells in small-cell lung cancer[J]. Nat Med,2014,20(8):897-903.
- [9] Skowron KB,Pitroda SP,Namm JP,et al. Basal tumor cell isolation and patient-derived xenograft engraftment identify high-risk clini-

- cal bladder cancers[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 35854.
- [10] Grillet F, Bayet E, Villeronce O, et al. Circulating tumour cells from patients with colorectal cancer have cancer stem cell hallmarks in *ex vivo* culture[J]. *Gut*, 2017, 66(10): 1802–1810.
- [11] Alsop K, Thorne H, Sandhu S, et al. A community-based model of rapid autopsy in end-stage cancer patients[J]. *Nat Biotechnol*, 2016, 34(10): 1010–1014.
- [12] 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.
- [13] Okada S, Vaeteewootacharn K, Kariya R. Application of highly immunocompromised mice for the establishment of patient-derived xenograft (PDX) models[J]. *Cells*, 2019, 8(8): 889.
- [14] Collins AT, Lang SH. A systematic review of the validity of patient derived xenograft (PDX) models; the implications for translational research and personalised medicine[J]. *Peer J*, 2018, 6: e5981.
- [15] Wu P, Xu R, Chen X, et al. Establishment and characterization of patient-derived xenografts for hormone-naïve and castrate-resistant prostate cancers to improve treatment modality evaluation[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(4): 3848–3861.
- [16] Sedelaar JPM, Dalrymple SS, Isaacs JT. Of mice and men—warning: intact versus castrated adult male mice as xenograft hosts are equivalent to hypogonadal versus abiraterone treated aging human males, respectively[J]. *Prostate*, 2013, 73(12): 1316–1325.
- [17] Igarashi K, Kawaguchi K, Kiyuna T, et al. Patient-derived orthotopic xenograft (PDOX) mouse model of adult rhabdomyosarcoma invades and recurs after resection in contrast to the subcutaneous ectopic model[J]. *Cell Cycle*, 2017, 16(1): 91–94.
- [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] 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.
- [20] 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.
- [21] Zhao H, Thong A, Nolley R, et al. Patient-derived tissue slice grafts accurately depict response of high-risk primary prostate cancer to androgen deprivation therapy[J]. *J Transl Med*, 2013, 11: 199.
- [22] Hsieh JJ, Purdue MP, Signoretti S, et al. Renal cell carcinoma[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2017, 3: 17009.
- [23] Lang H, Béraud C, Bethry A, et al. Establishment of a large panel of patient-derived preclinical models of human renal cell carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(37): 59336–59359.
- [24] Sankin A, Hakimi AA, Mikkilineni N, et al. The impact of genetic heterogeneity on biomarker development in kidney cancer assessed by multiregional sampling[J]. *Cancer Med*, 2014, 3(6): 1485–1492.
- [25] Saeed K, Ojames P, Pellinen T, et al. Clonal heterogeneity influences drug responsiveness in renal cancer assessed by *ex vivo* drug testing of multiple patient-derived cancer cells[J]. *Int J Cancer*, 2019, 144(6): 1356–1366.
- [26] Schuller AG, Barry ER, Jones RD, et al. The MET inhibitor AZD6094 (Savolitinib, HMPL-504) induces regression in papillary renal cell carcinoma patient-derived xenograft models[J]. *Clin. Cancer Res*, 2015, 21(12): 2811–2819.
- [27] Hedegaard J, Lamy P, Nordentoft I, et al. Comprehensive transcriptional analysis of early-stage urothelial carcinoma[J]. *Cancer Cell*, 2016, 30(1): 27–42.
- [28] Gills J, Moret R, Zhang X, et al. A patient-derived orthotopic xenograft model enabling human high-grade urothelial cell carcinoma of the bladder tumor implantation, growth, angiogenesis, and metastasis[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(66): 32718–32729.
- [29] Kettunen K, Boström PJ, Lamminen T, et al. Personalized drug sensitivity screening for bladder cancer using conditionally reprogrammed patient-derived cells[J]. *Eur Urol*, 2019, 76(4): 430–434.
- [30] Eifler JB, Scarpato KR, Clark PE. Management of noninvasive bladder cancers[J]. *Curr Opin Oncol*, 2015, 27(3): 185–190.
- [31] Liu ZH, Zheng FF, Mao YL, et al. Effects of programmed death-ligand 1 expression on OK-432 immunotherapy following transurethral resection in non-muscle invasive bladder cancer[J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(6): 4818–4824.
- [32] Blinova E, Roshchin D, Kogan E, et al. Patient-derived non-muscular invasive bladder cancer xenografts of main molecular subtypes of the tumor for anti-Pd-L1 treatment assessment[J]. *Cells*, 2019, 8(6): 526.
- [33] Yoshikawa T, Kobori G, Goto T, et al. An original patient-derived xenograft of prostate cancer with cyst formation[J]. *Prostate*, 2016, 76(11): 994–1003.
- [34] Tjensvoll K, Nordgård O, Smaaland R. Circulating tumor cells in pancreatic cancer patients: methods of detection and clinical implications[J]. *Int J Cancer*, 2014, 134(1): 1–8.
- [35] Williams ES, Rodriguez-Bravo V, Rodriguez-Bravo V, et al. Generation of prostate cancer patient derived xenograft models from circulating tumor cells[J]. *J Vis Exp*, 2015(105): 53182.
- [36] Porter LH, Lawrence MG, Wang H, et al. Establishing a cryopreservation protocol for patient-derived xenografts of prostate cancer[J]. *Prostate*, 2019, 79(11): 1326–1337.
- [37] Izumchenko E, Meir J, Bedi A, et al. Patient-derived xenografts as tools in pharmaceutical development[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2016, 99(6): 612–621.

(责任编辑:冉明会)