

· 导向与述评 ·

肝细胞癌人源异种移植模型应用研究进展

李晓娟, 冯 帆, 李瑞生, 貌盼勇

[摘要] 人源异种移植 (patient-derived xenograft, PDX) 模型是将取自临床患者的新鲜肿瘤标本直接异种移植到免疫缺陷小鼠体内而建立的动物模型, 可以较好的保持原发肿瘤的组织形态、异质性以及基因异常等特征, 并保留与患者相似的遗传特性。本文就人肝细胞癌 PDX 模型构建的实验动物、移植组织类型和方式的选择、最新应用进展以及 PDX 未来在肝细胞癌中的运用展望进行综述, 以期为肝细胞癌的个性化治疗提供新的研究方向。

[关键词] 肝细胞癌; PDX 模型; 研究进展

[中国图书资料分类号] R-332; R73-3

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-8134(2021)03-0202-07

DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2021.03.002

Advances in application of patient-derived xenograft model for hepatocellular carcinoma

LI Xiao-juan, FENG Fan, LI Rui-sheng*, MAO Pan-yong*

Institute of Infectious Disease Medicine, Fifth Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100039, China

*Corresponding author. LI Rui-sheng, E-mail: lrsheng@sohu.com; MAO Pan-yong, E-mail: maopy302@163.com

[Abstract] The patient-derived xenograft (PDX) model is established by transplanting fresh tumor specimen of clinical patients directly into immunodeficient mice. It can better maintain the histomorphology, heterogeneity and genetic abnormalities of primary tumors and reserve the genetic characteristics similar to those of patients. In order to provide a new research direction for individualized treatment of hepatocellular carcinoma, this study reviews the selection of the type and methods of experimental animals and transplanted tissues for PDX model of human hepatocellular carcinoma. The latest application progress and the future application prospect of PDX in hepatocellular carcinoma are reviewed.

[Key words] hepatocellular carcinoma; PDX model; research progress

肝细胞癌是我国乃至全世界最常见的高发恶性肿瘤之一, 发病率位居我国恶性肿瘤第三位, 病死率高居第二位^[1-3]。另外, 我国是乙型肝炎高发国家, 因此造成肝细胞癌发病率居高不下^[4-5]。肝细胞癌的早期诊断普及程度低, 多数患者确诊时已为晚期^[6], 失去了手术的机会, 即使进行了手术治疗, 术后复发率也较高^[7]。因此, 建立能够模拟临床特征的肝细胞癌动物模型, 对于肝细胞癌的发生机制、早期诊断、早期干预治疗及新型治疗方法评估等方面的研究具有重要的意义^[8]。

目前研究肝细胞癌常用的实验动物模型包括细胞系肿瘤 (cell line-derived xenografts, CDX) 模型、人源异种移植 (patient-derived xenograft, PDX) 模型和遗传工程小鼠模型 (genetically-engineered mouse models, GEMM) 等。PDX 模型是将取自临床患者的新鲜肿瘤组织直接异种移植到免疫缺陷小鼠体内而建立的动物模型^[9]。相较于其他类型动物模型, PDX 模型更大程度地保留

了人类原发肿瘤的结构、细胞 (如淋巴细胞、巨噬细胞、成纤维细胞等) 以及细胞外基质, 能够更好地反映肿瘤细胞与正常细胞及周围基质之间的密切联系和相互作用, 在模拟人体肿瘤组织的血管生成、发生发展甚至转移等方面具有明显的优势^[10-11]。同时 PDX 模型不仅能够保留原代肿瘤的遗传学特征 (如原始癌症的表型和分子特征), 也可作为筛选抗癌药物、评价药物的临床疗效及不良反应很好的工具^[12], 还能准确反映人类肿瘤间和肿瘤内的异质性^[13], 在药物有效性研究、临床预后预测等方面优势明显^[14]。PDX 模型还能够保留不同患者原代肿瘤的特性并对原代肿瘤进行传代, 可作为肿瘤个性化治疗的研究标本^[15]。因此, 肝细胞癌 PDX 模型在药物和生物标志物筛选及联合临床试验中显示出作为临床前模型的优势。

PDX 模型构建的成功率与很多因素有关, 如肿瘤的类型和恶性程度、受体动物类型、移植方法和部位等^[12]。本文对肝细胞癌 PDX 模型构建中所需实验动物的类型、移植部位和方法、移植手术的影响因素以及 PDX 模型在肝细胞癌研究应用中的最新进展进行综述。

[作者单位] 100039 北京, 中国人民解放军总医院第五医学中心感染病医学部研究所 (李晓娟、冯帆、李瑞生、貌盼勇)

[通信作者] 李瑞生, E-mail: lrsheng@sohu.com; 貌盼勇, E-mail: maopy302@163.com

1 肝细胞癌 PDX 模型实验动物的选择

PDX 模型是不同物种之间的移植类型，必须选用具有免疫缺陷的小鼠。

1.1 裸小鼠 裸小鼠的主要特征是缺乏成熟的 T 淋巴细胞，而 B 淋巴细胞正常，但功能不完善。最常用的品系为 BALB/c 裸小鼠。裸小鼠幼年时 NK 细胞活性低下，成年后 NK 细胞会恢复至略高于正常小鼠，同时 T 淋巴细胞也会增加，这些恢复的 NK 细胞、巨噬细胞以及抗原提呈细胞等使裸小鼠的移植排斥作用也随之增加^[16]。因此一般选用 4~6 周龄裸小鼠。在移植肿瘤实验操作中，无须对裸小鼠进行前处理，成功率较高，移植传代后的肿瘤组织能够很好地保留其原有的特性。

1.2 重度联合免疫缺陷 (severe combined immunodeficiency, SCID) 小鼠 SCID 小鼠被毛正常，T、B 淋巴细胞均缺失，异种移植肿瘤组织的成功率明显高于裸小鼠。在 SCID 小鼠体内能够观察到较高的肿瘤转移率，因此可作为研究肿瘤生长转移和免疫治疗的良好模型^[17]。SCID 小鼠的 T、B 淋巴细胞的免疫功能也会随着周龄的增加部分恢复^[18]。研究者为保证移植成功率，首次移植可以先选择 SCID 小鼠，而在后续移植传代中为了延长观察时间和节省研究经费选用裸小鼠^[19]。

1.3 NOD/SCID 小鼠 NOD/SCID 小鼠是由 NOD/Lt

小鼠（胰岛素依赖性糖尿病小鼠）和 SCID 小鼠杂交获得，该小鼠 T、B 淋巴细胞缺陷，NK 细胞活性很低，巨噬细胞和抗原提呈细胞的功能也受到损害。由于其免疫缺陷程度高，不易发生免疫逃逸，因此其异种移植成功率显著高于 SCID 小鼠，是目前公认异种移植肿瘤动物模型理想的选择之一。但该小鼠的寿命较短，不建议进行实验周期较长的研究。

1.4 NOG 小鼠 NOG 小鼠是由 NOD/SCID 小鼠与 IL-2 γ^{null} KO 小鼠杂交而获得，缺乏 T、B 淋巴细胞和 NK 细胞，树突状细胞和巨噬细胞功能减退，补体活性缺乏，其免疫功能严重不全，因此异种移植成功率显著高于 NOD/SCID 小鼠，也是公认的异种移植模型理想的选择之一，广泛应用于免疫系统、造血系统和肿瘤方面的研究领域^[20]。

1.5 B-NSG 小鼠 B-NSG 小鼠是利用基因编辑技术将 NOD 小鼠 *Prkdc* 和 *IL2rg* 双基因敲除而获得。该小鼠没有成熟 T、B 淋巴细胞和功能性 NK 细胞，细胞因子信号传递能力缺失，对人源组织几乎不存在排斥反应，免疫缺陷程度最高。同时其平均寿命长达 1.5 年，是进行人源细胞或组织移植最理想的模型小鼠。

总之，免疫缺陷小鼠种类较多，研究者可根据课题的需求及经费等方面综合考虑，选择不同免疫缺陷小鼠用以发挥最佳作用，为肝细胞癌的研究提供合适的 PDX 模型（见表 1）。

表 1 PDX 模型常用免疫缺陷小鼠总结
Table 1 Summary of immunodeficient mice commonly used in PDX model

实验动物	基本特性	造模特点
BALB/c 裸小鼠	① 被毛缺失或稀少 ② 缺乏成熟的 T 淋巴细胞 ③ B 淋巴细胞正常，但功能不完善	① 造模成功率较高 ② 移植传代后保留其原有的特性
SCID 小鼠	① 被毛正常 ② T、B 淋巴细胞均缺失	① 异种移植成功率高于裸小鼠 ② 肿瘤转移率较高 ③ 研究肿瘤生长转移和免疫治疗
NOD/SCID 小鼠	① 被毛正常 ② T、B 淋巴细胞缺陷，NK 细胞活性很低 ③ 巨噬细胞和抗原提呈细胞的功能损害 ④ 寿命较短	① 异种移植成功率显著高于 SCID 小鼠 ② 不易发生免疫逃逸 ③ 不适合周期较长研究
NOG 小鼠	① 缺乏 T、B 淋巴细胞和 NK 细胞 ② 树突状细胞和巨噬细胞功能减退 ③ 补体活性缺乏	① 异种移植成功率高于 NOD/SCID 小鼠 ② 应用于免疫系统、造血系统和肿瘤方面的研究
B-NSG 小鼠	① 没有成熟 T、B 淋巴细胞和功能性 NK 细胞 ② 细胞因子信号传递能力缺失 ③ 免疫缺陷程度最高 ④ 平均寿命 1.5 年	① 对人源组织几乎不存在排斥反应 ② 最理想的异种移植模型

2 肝细胞癌 PDX 模型移植部位和方法的选择

2.1 皮下移植 皮下移植实验操作简单易行，便于观察，是最常采用的方法。移植部位多选择头部皮下、腋下或双侧腹股沟。这些部位操作简单，肿瘤易成活，且易于观察肿瘤，肿瘤的生长也不会影响小鼠的正常活动。该方法常应用于肝细胞癌新药

物筛选实验、药物疗效对比实验等研究^[21-22]。但由于小鼠皮下缺乏肿瘤相关的微环境，很少会出现肿瘤的远处转移现象，因此这种方式不适用于构建分化程度高、恶性程度低的肿瘤移植模型^[23]。

2.2 肝脏原位移植 肝脏原位移植的方式分为原位注射悬液与原位微组织块移植两种。原位注射悬液操作简单，部分研究者采用了此法^[24]。原位

微组织块移植是将肿瘤组织切成微组织块移植到与原发部位相同的动物脏器,也称为患者源性原位异种移植(patient-derived orthotopic xenograft, PDOX)。微组织块能够很好地保留人源肝脏肿瘤的微环境,而肿瘤周边的小鼠肝脏供给肿瘤生长所需营养,不但能够更好地模拟肝脏肿瘤的生长、浸润和转移,还能够保留患者肝脏肿瘤组织的异质性。相比于皮下移植方式, PDOX 模型能够更准确地模拟肿瘤在人体内的进展全过程,同时更易出现与临床相似的肿瘤转移特征^[25]。但原位移植手术操作相对复杂,成瘤率较低,而且不能直接观察,须剖腹才能顺利观察肿瘤的生长情况,是其发展推广的瓶颈。因此,研究者借助多项影像学技术手段,同时依托 PDX 模型来评价新型影像学技术在肝细胞癌早期的预防与诊断,对肝细胞癌的后续治疗与预后可提供宝贵的指导意见。Yang 等^[26]利用 PET 技术对肝癌细胞系、肝癌细胞移植模型和 PDX 模型进行了对比检测,评价 PET 对早期肝细胞癌的检测能力和预测能力。Zhang 等^[27]利用 NIRF/PET 双模成像探针对小鼠 PDX、CDX 模型及家兔肝细胞癌模型进行对比检测分析,以期成为肝细胞癌早期预测和检测的有力手段。

2.3 人源化异种移植模型 目前多数构建的 PDX 模型都有一个相同的缺陷,那就是缺乏人类的免疫大环境,因此研究者开发出人源化异种移植模型。在造模过程中,不仅移植人源肿瘤组织,还将其他人源组织和细胞导入或将人类某些特定基因敲入免疫缺陷动物体内,使移植的肿瘤能够更好地在与人类非常相似的免疫大环境中模拟生长^[25, 28]。Zhao 等^[29]在传统 PDX 模型的基础上,成功建立了肝细胞癌 PDX 人源化模型,即具备人类免疫系统的 PDX 模型,能够对肝细胞癌的免疫治疗效果进行评价。而 Jiang 等^[30]利用 NOD/SCID/IL2rg^{-/-}小鼠建立 PDX 模型,评价 Glypican 3-CAR T 细胞对肝细胞癌 PDX 模型的有效性以及对临床的指导意义。此类人源化异种移植模型的优势在于模拟了更加相似的人体肿瘤微环境和大环境,使肿瘤生物学行为充分表达,还可减少肿瘤传代过程中出现的组织差异,因此在肿瘤免疫学研究方面具有显著优势^[31]。但该模型对技术要求较高,操作有一定难度,难以得到广泛应用。

综上所述,影响 PDX 模型构建的因素主要包括①实验动物的选择。综合各项因素首选 NOD/SCID 小鼠和 NOG 小鼠。②肿瘤组织特性。肿瘤标本的病理类型、分化程度和恶性程度等对构建的模型影响也较大^[32]。临床预后不良的患者,其肿瘤的分化程度低,恶性程度高,异种移植的成瘤率高,相反

则低。③手术操作的影响。新鲜肿瘤标本从患者体内取出后,应以最快速度保存于 4℃ 培养基中^[33],随后异体移植尽量在离体 1 h 内完成;手术操作的熟练程度及手术全程的无菌意识均影响成瘤率。

3 PDX 模型在肝细胞癌研究中的应用

3.1 肝细胞癌发病机制研究 PDX 模型多用于肝细胞癌的发病机制等研究。Zhao 等^[34]对肝细胞癌患者和相关 PDX 模型中 CD133、CD90、CD44 等因子的表达进行了定量检测,并与肿瘤患者和 PDX 模型的肿瘤和癌旁组织的免疫组化结果进行了验证。Matsuki 等^[35]应用 2 个 PDX 模型证实了新型分子靶向药物仑伐替尼具有通过抑制 FGF 信号通路活性抑制肝细胞癌肿瘤的增殖、转移及侵袭等作用。Cheung 等^[36]分别用进展期和非进展期肝细胞癌组织构建肝癌细胞系并建立 PDX 模型,为肝细胞癌的研究提供模型平台。Yang 等^[37]利用 PDX 模型进行全基因组测序,评价了以 JAK1 基因为代表的信号通路在肝癌发生、发展过程中的作用。Ding 等^[38]利用 PDX 模型分析了 β -catenin 在基因和蛋白水平上的激活状态。

3.2 临床前抗肿瘤药物疗效评估 PDX 模型广泛用于肝细胞癌的临床前抗肿瘤药物疗效方面的研究,能够对肝细胞癌的临床治疗提供指导,同时对于新药的研发和应用具有很重要的意义。

3.2.1 PDX 模型在肝细胞癌信号通路研究中的应用 目前,索拉非尼是抗肝细胞癌的一线药物,以索拉非尼为代表的分子靶向药物在进展期肝细胞癌治疗中发挥了重要作用,其抗癌机制是通过抑制多种丝氨酸/苏氨酸和受体酪氨酸激酶,从而抑制肿瘤血管生成和促进肿瘤细胞凋亡等方面发挥作用^[39]。虽然索拉非尼能够显著延长部分肝细胞癌患者的生存期,但还存在未能抑制的信号通路,如磷酸化硫醇 3-激酶/蛋白激酶 b 信号通路^[40],这些信号通路反过来能够促进索拉非尼耐药细胞的生长和存活,从而出现更加难以克服的耐药现象。研究者利用 PDX 模型对索拉非尼的抗癌机制以及在抗癌过程中可能会影响其作用的生物标志和信号通路进行了深入的研究,同时也对开发其他抗肝细胞癌的药物和成分展开了研究。Wu 等^[41]通过建立 PDX 模型证明了利用 CDK1 抑制剂阻断 CDK1/PDK1/ β -Catenin 信号通路能够增强索拉非尼抗肿瘤应答。Wang 等^[42]利用 PDX 模型研究发现抑制胰岛素样生长因子受体 1 (insulin-like growth factor 1 receptor, IGF1R) 的活性能够显著增强索拉非尼抑制肝癌细胞生长和存活的作用。Liang 等^[43]应

用 PDX 模型验证 pERK 是评价索拉非尼治疗肝细胞癌时一项显著的生物标志物。当索拉非尼通过 RAF/MEK/ERK 通路发挥作用时, pERK 会出现显著下调。Tao 等^[44]通过构建肝细胞癌 PDX 模型研究索拉非尼耐药组与敏感组中 DKK1 的表达差异,发现通过降低 DKK1 表达可增强索拉非尼的敏感性。

3.2.2 PDX 模型在肝细胞癌药物敏感性方面的研究应用 PDX 模型因保留患者肿瘤的分子特性和异质性,能够再现患者的药物敏感性特征,被广泛应用于肝细胞癌临床前药物敏感性研究。Kissel 等^[21]以瑞戈非尼和索拉非尼为模型药物,比较了 H129 小鼠肝癌模型和 PDX 模型对抗肿瘤药物的敏感性差异。Lv 等^[22]利用肝癌细胞系和 PDX 模型评价了 Vc 通过 SVCT-2 对肝细胞癌的抑制作用。许多研究发现, PDX 模型对抗癌药物的反应与提供肿瘤样本的实际患

者反应相似^[47]。因此, PDX 模型有助于测试某些药物的治疗反应,并且可以从异种移植组织获得治疗后数据^[48]。表 2 总结了肝细胞癌 PDX 模型相关研究的文献资料。另外,我们还注意到,在其他类型肿瘤如肺癌、肠癌等研究中,应用上海立迪生物技术股份有限公司新型开发的 OncoVee® MiniPDX (MiniPDX) 模型进行药物敏感性试验,对临床用药起到指导性作用^[49-50]。MiniPDX 模型将患者或 PDX 来源的肿瘤细胞注入改良的微胶囊和中空纤维培养体系后置入小鼠皮下,其整合了中空纤维和 PDX 模型的优点,将体外分离肿瘤原代细胞与体内药物敏感测试结合起来,可在 7 d 内获得临床针对该患者治疗药物敏感性的试验结果,因此该模型能够满足肿瘤晚期或进展期患者治疗药物选择的迫切需求^[51]。但是目前肝癌的 MiniPDX 模型报道还很少见,可以作为未来研讨和深入研究的方向。

表 2 肝细胞癌 PDX 模型相关文献总结
Table 2 Summary of literature on hepatocellular carcinoma PDX models

模型	造模方式 / 实验动物	研究内容	参考文献
肝癌细胞系移植模型和 PDX 模型	皮下移植 / BALB/c 裸小鼠	通过模型,评价仑伐替尼能够抑制肿瘤扩散和肿瘤 FGF 信号通路发挥作用	[35]
肝癌细胞系移植模型和 PDX 模型	皮下移植 / BALB/c 裸小鼠	评价 Vc 通过 SVCT-2 对肝细胞癌的作用	[22]
肝癌细胞系移植模型和 PDX 模型	皮下移植 / BALB/c 裸小鼠	验证 pERK 可作为索拉非尼治疗肝细胞癌的一项有意义的生物学标志物	[43]
H129 小鼠肝癌模型和 PDX 模型	皮下移植 / BALB/c 裸小鼠	对瑞戈非尼和索拉非尼的抗肿瘤作用进行了比较	[21]
肝癌细胞系移植模型和 PDX 模型	皮下移植 / NOD/SCID 小鼠	骨桥蛋白改变 DNA 甲基化,上调 DNMT1 从而提高 CD133 ⁺ /CD44 ⁺ 肿瘤干细胞向 5-azacytidine 转化	[52]
肝癌细胞系移植模型和 PDX 模型	皮下移植 / SCID 小鼠	抑制 IGF1R 能够显著提升索拉非尼抑制肝癌细胞的有效性和生存期	[42]
肝癌细胞系移植模型和 PDX 模型	皮下移植 / SCID 小鼠	研究 Wnt/ β -catenin 通路在肝细胞癌进展期的作用	[38]
肝癌细胞系移植模型和 PDX 模型	皮下移植 / NOD/SCID 小鼠	为肝细胞癌的研究提供很好的模型平台	[36]
PDX 模型	皮下移植 / NOD/SCID 小鼠	研究通过抗 CDK1 治疗能够增强索拉非尼抗肿瘤应答	[41]
PDX 模型	皮下移植 / NOD/SCID 小鼠 / BALB/c 裸小鼠	利用 PDX 模型证实纳米药物治疗肝细胞癌的作用	[53]
PDX 模型	皮下移植 / SCID 小鼠	研究索拉非尼耐药 PDX 模型表现出不同的信号通路以及多药耐药和染色体的不稳定性	[54]
PDX 模型	皮下移植 / SCID 小鼠	临床前研究分析 65 个 PDX 模型基因表达的差异以及药物反应性	[55]
PDX 模型	皮下移植 / BALB/c 裸小鼠	进行全基因组测序,筛选出 JAK1 基因模型,评价此信号通路在肝细胞癌发生发展过程中的作用	[37]
PDX 模型	皮下移植 / SCID 小鼠	利用 PDX 模型得到 7 种新的人来源肝细胞癌细胞系,并且对每个细胞系进行了检测分析对比	[56]
PDX 模型	皮下移植 / NOD/SCID 小鼠	研究肝细胞癌患者和相关 PDX 模型中 CSC (肿瘤干细胞) 相关标志物可作为判断肝细胞癌预后的标志物	[34]
PDX 模型	皮下移植 / B-NSG 小鼠	评价 Glypican 3-CAR T 细胞对肝细胞癌 PDX 模型的有效性以及对临床的指导意义	[30]
PDX 模型	原位移植 / BALB/c 裸小鼠	新型 Notch 抑制剂 (G-分泌酶抑制剂) PF-03084014 在肝细胞癌中的抗肿瘤和抗转移作用	[57]
PDX 模型	原位移植 / B-NSG 或 FRG 小鼠	研究小儿肝细胞癌治疗试验的新型患者源性异种移植和细胞系模型	[58]
PDX/CDX 模型	皮下移植 + 原位移植 / BALB/c 裸小鼠	评价 NIRF/PET 影像学有望成为肝细胞癌早期预测和检测的有效手段	[27]
肝癌细胞系移植模型和 PDX 模型	皮下移植 + 原位移植 / SCID 小鼠	数据分析两种来源模型和不同移植方式模型的肝细胞癌基因表达谱存在差异	[24]
肝癌细胞系移植模型和 PDX 模型	皮下移植 + 原位移植 / NOD/SCID 小鼠	评价 PET 对早期肝细胞癌的检测能力和预测能力	[26]
肝细胞癌-PDX 人源化模型	皮下移植 + 原位移植 / B-NSG 小鼠	研究其免疫方面的变化,以及对肿瘤进行免疫治疗的效果	[29]
肝癌细胞系移植模型和 PDX 模型	皮下移植 + 原位移植 / BALB/c 裸小鼠	七甲川菁染料 DZ-1 和吡啶菁绿在肝细胞癌异种移植模型中的应用分析了它们的特异性和靶向肿瘤细胞的能力	[59]

4 PDX 模型相关研究存在的问题

PDX 模型是肝细胞癌基础研究的重要手段之一,目前肝细胞癌 PDX 模型研究已取得一些进展,但仍存在诸多局限性和挑战:①与肺癌、胃癌以及乳腺癌等相比,肝细胞癌相关 PDX 研究报道数量相对较少,研究不够深入。②在临床肿瘤体积很大的情况下,需要病理学家和外科医生的协助选取更合适的肿瘤组织作为后续研究的标本。③现有的 PDX 模型多数是利用肝细胞癌组织标本建立原代细胞系后移植于裸鼠皮下,难以反映肿瘤细胞在肝脏原位的生长情况。④ PDX 模型的建模周期较长,通常需要 2~8 个月。⑤部分患者肿瘤的移植成瘤率比较低。⑥免疫缺陷小鼠传代至 3~5 代时,原代肿瘤的基质成分会被小鼠基质所代替。尽管与现有细胞系相比,原代细胞系更加接近和反映患者的个体特性,但在制备 PDX 的过程中,肿瘤细胞遗传背景是否能够保持稳定,目前尚无高效、准确以及公认的检测方法。⑦现有肝脏肿瘤标本的保存策略主要是保存蜡块和冷冻标本,或冻存原代细胞系,对组织的保存与利用不足。⑧目前应用 PDX 模型进行肝细胞癌相关药物敏感检测的报道仍旧极少。⑨研究成本相对较高,由于免疫缺陷小鼠价格昂贵,肿瘤的形成需要很长的时间,因此开发 PDX 模型需要很高的成本。

正因为肝细胞癌 PDX 模型有上述诸多困难需要克服,其应用并不如其他类型肿瘤 PDX 模型更加广泛。但由于其具有独特性和诸多优势,肝细胞癌 PDX 模型仍然被认为是一种有价值的临床前研究工具。

5 总结与展望

综上所述,尽管肝细胞癌 PDX 模型存在一些局限性,但该模型在药物筛选、生物标志物开发和联合临床试验等临床前试验中具有的优势已经越来越显著。肝细胞癌 PDX 模型还有利于肿瘤患者个性化药物的筛选,能够更好地实现肿瘤的精准医疗。利用 PDX 模型为肝细胞癌患者选择更有效的药物,既能节省治疗费用,又尽可能提高了患者生存率和生活质量。尤其在出现复发转移后,还有助于临床二、三线药物的选择^[60]。对于肝细胞癌 PDX 模型缺乏人源化免疫系统的短板,研究者不断探索将人的造血干细胞移植于 X 线照射的重度免疫缺陷小鼠,再将患者的肿瘤组织移植于该小鼠形成人源化肿瘤模型^[61-62]。此类模型可以很好地模拟人体内的生长环境,多用于研究肝脏

肿瘤靶向治疗,尤其适用于肿瘤免疫治疗方面的研究^[63]。目前,研究者应用肝细胞癌 PDX 模型不断深入地探索肝细胞癌发生发展的原因,可协助对肝细胞癌临床治疗提出多样化和个性化的方案,期待肝细胞癌 PDX 模型在未来的转化医学和精准医疗方面能够发挥更强的作用。

【参考文献】

- [1] Chen W, Zheng R, Baade PD, *et al.* Cancer statistics in China [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2):115-132.
- [2] Ong HT, Federspiel MJ, Guo CM, *et al.* Systemically delivered measles virus-infected mesenchymal stem cells can evade host immunity to inhibit liver cancer growth [J]. *J Hepatol*, 2013, 59(5):999-1006.
- [3] 邵艳, 管静芝. 原发性肝癌治疗进展 [J]. *传染病信息*, 2016, 29(4):248-252.
- [4] El-Serag HB. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma [J]. *Gastroenterology*, 2012, 142(6):1264-1273.
- [5] 张睿, 朱礼亮, 赵艳. 乙型肝炎肝硬化并发肝癌的危险因素探讨 [J]. *传染病信息*, 2019, 32(6):539-541.
- [6] Wang J, Wang L, Zhu Y, *et al.* A high accuracy cantilever array sensor for early liver cancer diagnosis [J]. *Biomed Microdevices*, 2016, 18(6):110-119.
- [7] Willey CD, Gilbert AN, Anderson JC, *et al.* Patient-derived xenografts as a model system for radiation research [J]. *Semin Radiat Oncol*, 2015, 25(4):273-280.
- [8] 谭邓旭, 张彩勤, 赵宁宁, 等. 肝癌临床标本原位移植模型的建立及其影像学评估 [J]. *实验动物科学*, 2018, 35(3):12-16.
- [9] Kopetz S, Lemos R, Powis G. The promise of patient-derived xenografts: the best laid plans of mice and men [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(19):5160-5162.
- [10] Bruna A, Rueda OM, Greenwood W, *et al.* Abiobank of breast cancer explants with preserved intra-tumor heterogeneity to screen anticancer compounds [J]. *Cell*, 2016, 167(1):260-274.
- [11] 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. DOI: 10.1016/j.addr.2014.09.009.
- [12] 李克娟, 黄昊, 高菁. 人源肿瘤异种移植模型在精准肿瘤医学中的研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27(1):91-98.
- [13] Wang D, Pham NA, Tong J, *et al.* Molecular heterogeneity of non-small cell lung carcinoma patient-derived xenografts closely reflect their primary tumors [J]. *Int J Cancer*, 2017, 140(3):662-673.
- [14] 闫克敏, 孙佳, 王娇娇, 等. PDX 模型在恶性肿瘤中应用的研究进展 [J]. *现代肿瘤医学*, 2019, 27(9):1629-1634.
- [15] 黄昊, 李宝亮, 杨星九, 等. 肝癌人源肿瘤异种移植模型构建及初步应用 [J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27(8):60-65.
- [16] 马丽君, 战军, 张宏权. 人乳腺癌 PDX 模型的研究进展 [J]. *中国科学: 生命科学*, 2016, 46(6):695-704.
- [17] Brown KM, Xue A, Julovi SM, *et al.* Using patient-derived xenograft models of colorectal liver metastases to predict chemosensitivity [J]. *J Surg Res*, 2018, 227:158-167. DOI: 10-1016/j.jss.2018002.018.
- [18] 郝智慧, 孔丽娟, 王成, 等. SCID 与 NOD/SCID 小鼠部分免疫指标的比较 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2016, 33(3):231-236.
- [19] 高露. 卵巢癌 PDX 模型的建立及鉴定 [D]. 西安: 第四军医大学, 2016.
- [20] 李媛, 闫平. 免疫缺陷小鼠平台上的人肿瘤异种移植研究进展 [J]. *武汉大学学报 (医学版)*, 2012, 33(1):137-140.

- [21] Kissel M, Berndt S, Fiebig L, *et al.* Antitumor effects of regorafenib and sorafenib in preclinical models of hepatocellular carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(63):107096–107108.
- [22] Lv H, Wang C, Fang T, *et al.* Vitamin C preferentially kills cancer stem cells in hepatocellular carcinoma via SVCT-2 [J] . *NPJ Precis Oncol*, 2018, 2(1):1. DOI: 10.1038/s41698-017-0044-8.
- [23] Jin K, Teng L, Shen Y, *et al.* Patient-derived human tumour tissue xenografts in immunodeficient mice: a systematic review [J] . *Clin Transl Oncol*, 2010, 12(7):473–480.
- [24] Wang W, Iyer NG, Tay HT, *et al.* Microarray profiling shows distinct differences between primary tumors and commonly used preclinical models in hepatocellular carcinoma [J] . *BMC Cancer*, 2015, 15:828. DOI: 10.1186/s12885-015-1814-8.
- [25] Lai Y, Wei X, Lin S, *et al.* Current status and perspectives of patient-derived xenograft models in cancer research [J] . *J Hematol Oncol*, 2017, 10(1):106. DOI: 10.1186/s13045-017-0470-7.
- [26] Yang X, Liu H, Sun CK, *et al.* Imaging of hepatocellular carcinoma patient-derived xenografts using ⁸⁹Zr-labeled anti-glypican-3 monoclonal antibody [J] . *Biomaterials*, 2014, 35(25):6964–6971.
- [27] Zhang C, Zhao Y, Zhao N, *et al.* NIRF optical/PET dual-modal imaging of hepatocellular carcinoma using heptamethine carbocyanine dye [J] . *Contrast Media & Mol Imaging*, 2018. DOI: 10.1155/2018/4979746.
- [28] Rea D, Del Vecchio V, Palma G, *et al.* Mouse models in prostate cancer translational research: from xenograft to PDX [J] . *Biomed Res Int*, 2016, 2016:9750759. DOI: 10.1155/2016/9750759.
- [29] Zhao Y, Shuen TWH, Toh TB, *et al.* Development of a new patient-derived xenograft humanised mouse model to study human-specific tumour microenvironment and immunotherapy [J] . *Gut*, 2018, 67(10):1845–1854.
- [30] Jiang Z, Jiang X, Chen S, *et al.* Anti-GPC3-CAR T cells suppress the growth of tumor cells in patient-derived xenografts of hepatocellular carcinoma [J] . *Front Immunol*, 2016, 7:690. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00690.
- [31] Wahl A, Garcia JV. The use of BLT humanized mice to investigate the immune reconstitution of the gastrointestinal tract [J] . *J Immunol Methods*, 2014, 410:28–33. DOI: 10.1016/j.jim.2014.06.009.
- [32] Zhang XC, Zhang J, Li M, *et al.* Establishment of patient-derived patient derived non-small cell lung cancer xenograft models with genetic aberrations within EGFR, KRAS and FGFR1: useful tools for preclinical studies of targeted therapies [J] . *J Transl Med*, 2013, 11:168. DOI: 10.1186/1479-5876-11-168.
- [33] Zhao NN, Shi CH, Liu YL, *et al.* Research progress of PDX model [J] . *Progress in Modern Biomedicine*, 2016, 16(10):1998–2000.
- [34] Zhao Q, Zhou H, Liu Q, *et al.* Prognostic value of the expression of cancer stem cell-related markers CD133 and CD44 in hepatocellular carcinoma: from patients to patient-derived tumor xenograft models [J] . *Oncotarget*, 2016, 7(30):47431–47443.
- [35] Matsuki M, Hoshi T, Yamamoto Y, *et al.* Lenvatinib inhibits angiogenesis and tumor fibroblast growth factor signaling pathways in human hepatocellular carcinoma models [J] . *Cancer Medicine*, 2018, 7(6):2641–2653.
- [36] Cheung PF, Yip CW, Ng LW, *et al.* Comprehensive characterization of the patient-derived xenograft and the paralleled primary hepatocellular carcinoma cell line [J] . *Cancer Cell Int*, 2016, 16:41. DOI: 10.1186/s12935-016-0322-5.
- [37] Yang S, Luo C, Gu Q, *et al.* Activating JAK1 mutation may predict the sensitivity of JAK-STAT inhibition in hepatocellular carcinoma [J] . *Oncotarget*, 2015, 7(5):5461–5469.
- [38] Ding Z, Shi C, Jiang L, *et al.* Oncogenic dependency on β -catenin in liver cancer cell lines correlates with pathway activation [J] . *Oncotarget*, 2017, 8(70):114526–114539.
- [39] Keating GM, Santoro A. Sorafenib: a review of its use in advanced hepatocellular carcinoma [J] . *Drugs*, 2009, 69(2):223–240.
- [40] Chen KF, Chen HL, Tai WT, *et al.* Activation of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway mediates acquired resistance to sorafenib in hepatocellular carcinoma cells [J] . *J Pharmacol Exp Ther*, 2011, 337(1):155–161.
- [41] Wu CX, Wang XQ, Chok SH, *et al.* Blocking CDK1/PDK1/ β -Catenin signaling by CDK1 inhibitor RO3306 increased the efficacy of sorafenib treatment by targeting cancer stem cells in a preclinical model of hepatocellular carcinoma [J] . *Theranostics*, 2018, 8(14):3737–3750.
- [42] Wang F, Bank T, Malnassy G, *et al.* Inhibition of insulin-like growth factor 1 receptor enhances the efficacy of sorafenib in inhibiting hepatocellular carcinoma cell growth and survival [J] . *Hepatol Commun*, 2018, 2(6):732–746.
- [43] Liang Y, Chen J, Yu Q, *et al.* Phosphorylated ERK is a potential prognostic biomarker for sorafenib response in hepatocellular carcinoma [J] . *Cancer Medicine*, 2017, 6(12):2787–2795.
- [44] Tao QF. The construction and description of hepatocellular carcinoma patient-derived xenografts model and resistant biomarkers of sorafenib based on this model [D] . Shanghai: The Second Military Medical University, 2016.
- [45] Kerbel RS. Human tumor xenografts as predictive preclinical models for anticancer drug activity in humans: better than commonly perceived—but they can be improved [J] . *Cancer Biol Ther*, 2003, 2(4 Suppl 1):S134–S139.
- [46] Richmond A, Su Y. Mouse xenograft models *vs* GEM models for human cancer therapeutics [J] . *Dis Model Mech*, 2008, 1(2–3):78–82.
- [47] Jung J, Seol HS, Chang S. The generation and application of patient-derived xenograft model for cancer research [J] . *Cancer Res Treat*, 2018, 50(1):1–10.
- [48] Smith DJ, Lin LJ, Moon H, *et al.* Propagating humanized BLT mice for the study of human immunology and immunotherapy [J] . *Stem Cells Dev*, 2016, 25(24):1863–1873.
- [49] 贾麟, 陈滴雯, 姜昊声, 等. MiniPDX模型在晚期肺癌伴恶性胸腔积液患者治疗中的指导作用 [J] . *中国医药导报*, 2020, 17(20):131–134.
- [50] 王静远, 廖海燕, 郭林, 等. 间接体内 Mini 人源肿瘤异种移植模型再现转移性肠癌患者的药物治疗疗效 [J] . *肿瘤综合治疗电子杂志*, 2020, 6(3):96–102.
- [51] Zhang F, Wang W, Long Y, *et al.* Characterization of drug responses of mini patient-derived xenografts in mice for predicting cancer patient clinical therapeutic response [J] . *Cancer Commun(Lond)*, 2018, 38(1):60. DOI: 10.1186/S40880-018-0329-5.
- [52] Gao X, Sheng Y, Yang J, *et al.* Osteopontin alters DNA methylation through up-regulating DNMT1 and sensitizes CD133⁺/CD44⁺ cancer stem cells to 5 azacytidine in hepatocellular carcinoma [J] . *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1):179. DOI: 10.1186/s13046-018-0832-1.
- [53] Wang H, Zhou L, Xie K, *et al.* Polylactide-tethered prodrugs in polymeric nanoparticles as reliable nanomedicines for the efficient eradication of patient-derived hepatocellular carcinoma [J] . *Theranostics*, 2018, 8(14):3949–3963.
- [54] Hu G, Zhang Y, Ouyang K, *et al.* *In vivo* acquired sorafenib-resistant patient-derived tumor model displays alternative angiogenic pathways, multi-drug resistance and chromosome instability [J] . *Oncol Lett*, 2018, 16(3):3439–3446.
- [55] Gu Q, Zhang B, Sun H, *et al.* Genomic characterization of a large panel of patient-derived hepatocellular carcinoma xenograft tumor models for preclinical development [J] . *Oncotarget*, 2015, 6(24):20160–20176.

暴时, D-D 水平明显升高, D-D 水平与细胞因子风暴的严重程度相关^[14-15], 这可能是 D-D 水平持续升高与 COVID-19 重症化相关的原因。

另外, 本研究结果也显示了相对于 D-D 不升高组, D-D 持续升高组患者年龄更高, 淋巴细胞绝对数更低, LDH 水平更高, 由于样本量不大, 未能进行多因素分析, 结合既往的研究, 考虑上述 3 个因素也是疾病进展的风险因素^[1, 6, 16], 但需要获得更多的临床数据进行多因素分析后才能明确。

总之, COVID-19 患者病死率高, 本研究通过倾向性匹配, 消除混杂因素的影响, 采用生存分析与单因素 CoX 风险回归分析后, 明确了血浆 D-D 的持续升高与 COVID-19 重症化相关, 可以早期预警疾病的进展风险, 有助于改善患者预后, 极大地节约紧张的医疗资源。

【参考文献】

- [1] Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, *et al.* Clinical characteristics of 2019 novel coronavirus infection in China [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(18):1708–1720.
- [2] Cui S, Chen S, Li X, *et al.* Prevalence of venous thromboembolism in patients with severe novel coronavirus pneumonia [J]. *J Thromb Haemost*, 2020, 18(6):1421–1424.
- [3] Lippi G, Favalaro EJ. D-dimer is associated with severity of coronavirus disease 2019: a pooled analysis. *thromb haemost* [J]. *Thromb Haemost*, 2020, 120(5):876–878.
- [4] 国家卫生健康委员会办公厅, 国家中医药管理局办公室. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版) [EB/OL]. (2020-02-19) [2020-02-24]. http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2020-02/19/content_5480948.htm.
- [5] Huang CL, Wang YM, Li XW, *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China [J]. *Lancet*, 2020, 395(10223):497–506.
- [6] Chen NS, Zhou M, Dong X, *et al.* Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study [J]. *Lancet*, 395(10223):507–513.
- [7] 吕靖, 董思思, 顾宏图, 等. 肝硬化并发门静脉血栓的危险因素及中医证候特点 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2019, 35(10):2210–2213.
- [8] Palareti G, Cosmi B, Legnani C, *et al.* D-dimer to guide the duration of anticoagulation in patients with venous thromboembolism: a management study [J]. *Blood*, 2014, 124(2):196–203.
- [9] Le Gal G, Righini M, Wells PS. D-dimer for pulmonary embolism [J]. *JAMA*, 2015, 313(16):1668–1669.
- [10] Zhang L, Yan X, Fan Q, *et al.* D-dimer levels on admission to predict in-hospital mortality in patients with COVID-19 [J]. *J Thromb Haemost*, 2020, 18(6):1324–1329.
- [11] 曹文静, 王嗣予, 杨涛, 等. 北京 65 例新型冠状病毒肺炎患者临床特征分析 [J]. *传染病信息*, 2020, 33(3):202–206.
- [12] Cavalcanti DD, Raz E, Shapiro M, *et al.* Cerebral venous thrombosis associated with COVID-19 [J]. *Am J Neuroradiol*, 2020, 41(8):1370–1376.
- [13] Connors JM, Levy JH. COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation [J]. *Blood*, 2020, 135(23):2033–2040.
- [14] Chiappetta S, Ripa M, Galli L, *et al.* Soluble endothelial protein C receptor (sEPCR) as an inflammatory biomarker in naive HIV-infected patients during ART [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2016, 71(6):1627–1631.
- [15] Erduran E, Bahadır A, Palanci N, *et al.* The treatment of crimean-congo hemorrhagic fever with high-dose methylprednisolone, intravenous immunoglobulin, and fresh frozen plasma [J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2013, 35(1):e19–e24.
- [16] Yang X, Yu Y, Xu J, *et al.* Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study [J]. *Lancet Respir Med*, 2020, 8(5):475–481.

(2020-07-04 收稿 2021-05-17 修回)
(本文编辑 闫晶晶)

(上接第 207 页)

- [56] Xin H, Wang K, Hu G, *et al.* Establishment and characterization of 7 novel hepatocellular carcinoma cell lines from patient-derived tumor xenografts [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1):e85308.
- [57] Wu CX, Xu A, Zhang CC, *et al.* Notch inhibitor PF-03084014 inhibits hepatocellular carcinoma growth and metastasis via suppression of cancer stemness due to reduced activation of Notch1-Stat3 [J]. *Mol Cancer Ther*, 2017, 16(8):1531–1543.
- [58] Bissig-Choisat B, Kettlun-Leyton C, *et al.* Novel patient-derived xenograft and cell line models for therapeutic testing of pediatric liver cancer [J]. *J Hepatol*, 2016, 65(2):325–333.
- [59] Zhang C, Zhao Y, Zhang H, *et al.* The application of heptamethine cyanine dye DZ-1 and indocyanine green for imaging and targeting in xenograft models of hepatocellular carcinoma [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(6):1332. DOI: 10.3390/ijms18061332.
- [60] Zitvogel L, Pitt JM, Daill re R, *et al.* Mouse models in oncoimmunology [J]. *Nat Rev Cancer*, 2016, 16(12):759–773.
- [61] Morton JJ, Bird G, Keysar SB, *et al.* Xact mice: humanizing mouse bone marrow enables microenvironment reconstitution in apatient-derived xenograft model of head and neck cancer [J]. *Oncogene*, 2016, 35(3):290–300.
- [62] Meehan TF, Conte N, Goldstein T, *et al.* PDX-MI: minimal information for patient-derived tumor xenograft models [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(21):e62–e66. DOI: 10.1158/0008-5472.
- [63] Rongvaux A, Willinger T, Martinek J, *et al.* Development and function of human innate immune cells in a humanized mouse model [J]. *Nat Biotechnol*, 2014, 32(4):364–372.

(2021-01-08 收稿 2021-05-14 修回)
(本文编辑 闫晶晶)