



结直肠癌肝转移动物模型研究进展*

乔大伟^{1,2} 李玉芳^{1,2} 李胜男^{1,2} 肖云^{1,2} 姜礼双^{1,2} 孔桂美¹ 卜平^{1,2,3}

(1. 扬州大学医学院,扬州 225001)(2. 江苏省中西医结合老年病重点防治实验室,扬州 225001)

(3. 江苏省苏北人民医院消化内科,扬州 225001)

摘要:肝脏是结直肠癌转移最主要的靶器官,结直肠癌肝转移也是结直肠癌患者死亡的主要原因。目前,结直肠癌肝转移动物模型构建的方法主要包括原位种植模型,用于研究结直肠癌发生肝转移过程及其相关机制;异位种植模型,用于评价各种治疗方案;异种植模型,用于对患者个体化治疗方案的筛选;转基因动物模型用于准确地引导患者进行靶向治疗。

关键词:结直肠癌;结直肠癌肝转移;动物模型

中图分类号: R735.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-6179(2019)03-0086-05

DOI: 10.3969/j.issn.1006-6179.2019.03.017

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是全球第三大癌症和癌症死亡的第四大原因^[1]。近年来我国结直肠癌发病率和死亡率呈逐步上升趋势,结直肠恶性肿瘤在肿瘤发病率中占据第5位^[2]。肝脏是CRC最常见的远处转移部位,结直肠癌肝转移(colorectal cancer liver metastases, CRLM)严重影响CRC预后。约15%~25%CRC病人在确诊时即合并有肝转移,另有15%~25%病人在行CRC原发灶根治术后发生肝转移,其中80%~90%肝转移灶无法获得根治性切除。且只有15%~20% CRLM患者适合手术切除,术后5年存活率仅为20%~40%。因此选择合适的CRLM动物模型,对研究CRC发生发展及肝转移的机制及正确评价各种治疗方案的疗效,提供与临床应用相关的证据等有重要作用。现将CRLM动物模型的构建方法综述如下。

1 原位种植模型

CRC的原位种植模型根据植入的位置分为原位盲肠种植模型和原位直肠种植模型。

1.1 原位盲肠种植模型

原位盲肠种植模型包括癌细胞直接种植、直接

缝合原位植入、盲肠接种OB医用胶粘贴法、盲肠造瘘原位接种法及结肠造口移植法等。Goodwin和Huang^[3]通过盲肠壁植入CT-26 FL3细胞建立原位CRLM模型,来评估药物的抗癌功效,发现此种造模方法具有高侵袭性和高转移性。Tao等^[4]通过原位盲肠植入HCT-116细胞,建立原位盲肠种植模型,研究胃肠安(WCA)和5-氟尿嘧啶(5-FU)对肠癌和肝转移的影响。结果单独WCA治疗降低转移率(50% vs 100%, $P < 0.05$)。WCA+5-FU联合治疗最有效,转移率(40% vs 100%, $P < 0.01$)。表明WCA与5-FU联合治疗会显著抑制结肠肿瘤生长和肝转移。癌细胞直接种植盲肠,与临床CRC血道和淋巴播散过程相近;直接缝合比较方便,能够从整体上观察CRC成瘤及转移的情况,该模型是一种研究CRC发展及转移的可靠、有效的观察模型;盲肠接种OB医用胶粘贴,癌组织和肠壁的吻合度较直接缝合先进,应用前景大;盲肠造瘘接种法操作简单,成功率高,受其他脏器及肿瘤细胞影响较小,此法较少缝合到肠壁血管,避免肠坏死以及造成肠瘘等缺点;结肠造口种植模型的实验动物生存周期较长,观察时间充裕,但增加了感染的机会,容易影响实验数据。

收稿日期:2019-09-24

* 基金项目:国家自然科学基金(No.81272537)

作者简介:乔大伟(1993—),男,硕士在读,研究方向:消化道肿瘤.E-mail:782285296@qq.com

通信作者:卜平(1955—),男,博士,教授,研究方向:消化系统疾病.E-mail:boping@yzu.edu.cn

1.2 原位直肠种植模型

原位直肠种植模型包括非手术经肛门直肠注射法、肛门切开直肠注射法及肛门直肠癌组织块种植模型。非手术经肛直肠注射法:麻醉后使实验动物直肠脱垂,在10×和100×显微镜下将0.1 mL(2.5×10^4 个/mL)的鼠源性肠癌细胞CT26注入距肛门>5 cm(超出肛管近端1~2 mm)的远端直肠黏膜内,进针深度为黏膜层下约1 mm,避免穿透肠壁。肛门切开直肠黏膜层注射法:用两个金属夹夹紧小鼠肛门部直肠的前壁,在金属夹之间剪开长6~7 mm直肠壁,再将肿瘤细胞悬液注射到直肠黏膜层内。肛门直肠癌组织块法:主要步骤用缝针轻轻破坏直肠壁,用6/0吸收线缝针把肿块缝于该处。Wang等^[5]采用自制接种器将0.1 mL细胞密度为 2×10^7 个/mL的结肠癌细胞HCT116接种于BALB/c裸鼠直肠上,成功建立原位移植性直肠动物模型,直肠原位接种18只成瘤率为100%,未发现肝转移灶。优点:种植操作简单,创伤较小,能更好地模拟结直肠癌的临床生物学行为,比如肿瘤的局部生长、肿瘤的浸润、癌细胞原位脱落穿过血管壁进入门静脉循环血运转移等过程。缺点:直肠壁较薄种植成功率较低,不易操作,远处转移少,影响实验结果。

2 异位种植模型

异位种植模型按植入位置不同可以分为脾脏种植、门静脉/肠系膜种植、肝脏种植及腹腔扩散种植。

2.1 脾脏种植模型

脾脏种植法是目前CRLM模型公认的最佳模式之一。肿瘤细胞从脾内种植,植入的细胞能避开大量免疫细胞攻击,通过血管浸润而发生肝转移。因此,能较好模拟人体内CRC切除后肝脏转移。根据是否切除脾脏分为脾脏保留法和脾脏切除法。

2.1.1 脾脏保留法:在显微外科镜下,于小鼠左侧腋后线肋缘下纵行切开长约0.5~1 cm创口,进腹后找到柳叶状脾脏并牵出腹腔外,用1 mL注射器吸取混悬好的单细胞液0.2~0.5 mL(细胞数约为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个/mL),从脾下极进针,缓慢注射(约2~3 min)入脾内,注射区可见脾被膜变白隆起。缓慢拔针后酒精棉球按压针眼,使瘤细胞得经脾静脉进入肝脏,防止肿瘤外溢。查无出血后依次间断缝合肌肉、皮肤,关腹。Fleten等^[6]通过脾脏注射HT细胞株HT29和HCT116,在裸鼠中建立实验性肝转

移。注射后,HCT116和HT29细胞在所有动物中产生肝肿瘤。Xu等^[7]为了观察ART1对体内肿瘤生长或肝转移的影响,成功构建了BALB/c小鼠CT26细胞的脾移植肿瘤模型。优点:操作简单,易于实施,且保留了脾脏部分免疫功能即保存了宿主固有的抗肿瘤免疫功能。缺点:肝脏转移瘤形成的同时发生脾脏肿瘤,转移灶常为散在癌结节,影响小鼠的存活时间,且脾脏肿瘤通常在肝转移瘤前发生,会影响实验的准确性,不适于验证周期较长的药物实验。

2.1.2 脾脏切除法:脾脏注入肿瘤细胞后,约5~10 min,待注射区苍白隆起消失后结扎脾血管及胃短动静脉,切除脾脏,检查无出血后逐层关腹。Fu等^[8]和Márquez等^[9]将CT-26细胞注入BALB/c小鼠脾囊并切除脾脏,成功建立了CRLM模型。Oshima等^[10]建成了一组用荧光素酶和tdTomato稳定标记的HCT116人CRC细胞的单克隆衍生物,并具有不同的生长特性。脾脏注射及脾切除术后,大部分克隆能够产生肝转移。该模型提供定量可视化肝脏中个体肿瘤克隆的发展的能力,并估计其生长动力学和定殖效率。优点:更好地模拟了CRC根治术后因血行转移而发生肝转移的过程,肝转移率高,模型稳定,转移瘤向各个肝叶呈弥漫性转移。可以满足各种检测方法的取材需要。缺点:肿瘤分泌降解酶降解细胞外基质,形成伪足,浸润血管后进入血液等关键步骤不能模拟。一定程度上令免疫系统受损,术后动物死亡率高,操作较复杂,对实验者技术要求较高。主要应用于研究肿瘤形成和分析新的治疗效果及宿主免疫机能与癌细胞的关系。

2.1.3 半脾模型:半脾模型为脾脏保留和脾脏全切的改良造模方法。Bai等^[11]利用裸鼠脾脏特殊解剖结构,建成CRLM半脾模型。用一次性钛夹夹闭脾脏中央并切断,分成两个带血管蒂的半脾。将HT29细胞接种到近端半脾被膜下,而远端半脾埋入皮下备治疗。一共分6组制模,30 d后观察肝转移评分、淋巴结转移及血性腹水等情况。结果HT29细胞建立的CRLM半脾模型成瘤率为100%。优点:既保留了脾脏的部分免疫功能,又大大降低模型建立时脾脏肿瘤的干扰率。且此模型可以经静脉给药,更加贴近于临床,可应用于CRLM的生物学机制和预防性肝转移治疗的实验设计及抗肿瘤药物的筛选。缺点在于动物实验手术操作相对复杂,对试验者技术要求极高。

2.2 门静脉/肠系膜种植模型

门静脉/肠系膜种植模型是将结直肠癌细胞悬液直接注射入门静脉/肠系膜静脉,随静脉回流至肝脏后发生转移。操作要点:取正中切口,使用小的盐水纱条将肠管放至腹腔左侧,显露门静脉或者回结肠静脉,将浓度为 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ 个/mL 肿瘤悬液 0.1 mL 经门静脉缓慢注入,用棉签压迫注射部位数分钟,防止注射部位出血及癌细胞外渗,造成小鼠死亡或腹腔种植。Bocuk 等^[12]通过小鼠门静脉注射 CMT-93 细胞,成功构建门静脉小鼠肠癌肝转移动物模型,肝转移率约 70%~80%。优点:肿瘤转移速度较快,肝转移发生率较高,有效模拟肠癌术后肝转移,适用于肿瘤药物的筛选。缺点:不能模拟肿瘤转移全过程,减少原发瘤最初侵袭周围组织及穿入血管等步骤,且手术操作难度大,手术中死亡率高。

2.3 肝脏种植模型

肝脏种植模型是将 CRC 细胞直接注射到肝脏中,或者在肝脏表面做一小切口,将大小为 2 mm^3 左右的癌组织植入肝实质内。White 等^[13]用 29 号针头将密度为 5×10^6 个/mL CC-531 细胞悬液注射入同基因 WAG/Rij 大鼠中肝叶的囊下,成功建立大鼠 CRLM 模型,发现 24 h 内,所有植入细胞的大鼠肝脏都生长肿瘤。优点:肿瘤生长速度快,转移率高。操作简单,重复性好。适用于药物效果的评价。缺点:大部分在注射部位成瘤,周围很少有转移卫星结节,不符合临床上 CRLM 多发转移的特点。且只涉及 CRC 转移的晚期过程,没有涉及 CRC 原位生长的演进过程,与人体内 CRC 转移观察模拟度较差,不适合 CRC 通过血道及淋巴道为主要转移途径的肿瘤模型制作。

2.4 腹腔扩散种植模型

腹腔扩散种植模型是将 CRC 细胞通过微型注射器直接注射入动物腹腔内,使其播散性生长,引起腹水,解剖后观察肝脏转移或其他脏器转移。若将带瘤腹水移植到下一代动物,则构建腹水瘤动物模型。Miyoshi 等^[14]通过将 miR-139-5p 转染的 Caco-2 细胞注射入小鼠腹腔,结果具有较高的肝脏腹膜转移率,成功建立 CRC 腹膜转移小鼠模型。优点:操作简单,肝脏转移率高。转移周期短,短期内可复制大量模型。缺点:没有专一性器官转移,仅仅模拟晚期肿瘤患者转移途径,对于淋巴转移及血行转移意义不大。该模型常用于癌症晚期腹腔广泛转移和 CRC 术后腹腔种植播散的病理生理研究。

3 源于患者原代肿瘤组织的异种移植 (Patient-derived tumor xenograft, PDX) 模型

PDX 模型指在手术期间获得患者肿瘤组织直接移植或组织经原代培养制成细胞悬液注射到免疫缺陷小鼠来构建。由于该模型能保留原发肿瘤生物学特性,在抗肿瘤药物机制研究发挥了重要作用^[15]。常用于 PDX 模型小鼠类型是裸鼠,SCID 小鼠,NOD/SCID 小鼠和 NSG 小鼠。最新报道 B-NSG 小鼠,综合了 NOD-SCID-IL2rg 背景特征,具有重度免疫缺陷表型,与 NOD/SCID 小鼠相比寿命更长,平均长达 1.5 年;对人源细胞和组织几乎没有排斥反应;少量细胞即可成瘤,依赖于细胞系或细胞类型;无 B 淋巴细胞泄漏,B-NSG 小鼠是目前国际公认的免疫缺陷程度最高、最适合人源细胞或组织移植的工具小鼠。Bettenworth 等^[16]使用内窥镜,在 NOD/SCID 小鼠结肠黏膜下注射 HT-29 细胞,注射后 12 d 发现明显的肿瘤生长,且肝转移率 28.6%,腹腔转移率 14.3%。Ye 等^[17]用 TLR4 scramble 或 TLR4 siRNA 转染的 SW480 细胞通过注射到裸鼠皮下,成功建立裸鼠异种移植模型,肝转移率较低。Leuci 等^[18]用患者肝转移切除术获得转移性 CRC 样品。处理后并植入 2 只不同的 4 至 6 周龄雌性 NOD/SCID 小鼠中。肿瘤形成后,传代并扩增 2 代,直到产生 32 只小鼠。成功建立了患者来源的 CRLM 小鼠肿瘤移植模型,认为 PDX 模型可能为预测癌症进展提供有效的临床前工具,可用于进一步进行个性化治疗的基因组学和药理学研究。Prall 等^[19]从手术室收到肠癌新鲜的标本,将小立方体 (约 3 mm^3) 从皮下异种移植入 NSG 小鼠,研究 CRC 转移性相关的肿瘤出芽和足底形成。优点:更准确地反映肿瘤生物学,细胞复合物和结构,包括基质细胞,更好地反映了原始肿瘤的特征和遗传多样性,可以反映每个患者的特征,有个性化药物的前景,并且可用于预测对新疗法的反应。为临床前药效的评估以及生物标志物的鉴定提供了有效的研发资源。已被证明适用于研究转移和药物反应^[20]。因此,这些模型是测试药物反应的最佳临床前模型,特别是难治性癌症患者。缺点:费用高,建模周期长,且移植率和肝转移率较低。患者组织中通常存在的坏死区域使移植成功更具挑战性,缺乏在肿瘤发展和转移

过程中起重要作用的先天和适应性免疫系统。

4 遗传修饰小鼠模型

遗传修饰小鼠模型包括两类:转基因小鼠模型和基因敲除小鼠模型。转基因小鼠指通过实验导入方法将外源目的基因导入小鼠早期胚胎细胞或受精卵,使之与小鼠本身基因组结合,产生携带外源目的基因小鼠品系,且可以通过生殖细胞将外源目的基因传递给后代。基因敲除又称基因打靶,指将外源DNA与受体细胞染色体DNA上的同源序列之间进行重组,使之整合到预定位点,并代替原有基因,改变细胞遗传性的方法。遗传修饰小鼠模型通过基因组表达的改变,提供对整个致癌进展和特定癌症相关基因的研究机制,可替代PDTX模型,用于了解人类癌症进展^[21]。然而,它们通常不能完全模拟人的遗传复杂性肿瘤。Roper等^[22]通过CRISPR-Cas9的编辑结肠上皮细胞中Apc和Trp53肿瘤抑制基因并通过原位移植Apc编辑的结肠组织诱导自体肿瘤形成。Apc Δ/Δ ;Kras^{G12D/+};Trp53 Δ/Δ (AKP)小鼠结肠组织和人类CRC组织移植到远端结肠并转移到肝脏。证实建立的结肠腺瘤中癌基因的顺序激活,并重现整个肿瘤进展和转移。O'Rourke等^[23]使用基因工程小鼠模型组织的细胞,原位移植快速构建CRC转移性小鼠模型。在这个模型中,描述了CRC从腺瘤(6周)到局部播散性疾病(11~12周)和自发转移(>20周)的基因型和时间依赖性进展。因此,该模型提供了快速和灵活的手段用于遗传和临床前研究。Atlasi等^[24]使用不同的转基因和基因敲除小鼠模型分析了S100a4在肠肿瘤起始和进展中的体内作用。发现在Apc和Smad4突变小鼠中,S100a4的基因切除或过表达不影响肠道中的肿瘤起始。相反,Apc^{1638 N/+}/KRAS^{V12G}小鼠中的S100a4上皮基因过表达增加了肠肿瘤细胞向肝脏的传播,与其在肿瘤转移中的作用一致。优点:提供肿瘤发生过程中特异性基因突变影响的信息,与可移植模型相比,该模型更准确地表现肿瘤发展的自然过程和肿瘤细胞与组织微环境之间的相互作用,用于评估肿瘤发生的早期步骤,有望引导CRLM患者进行靶向治疗以延长其生命。随着基因操作技术的不断开发与改进^[25],遗传修饰小鼠模型在研究CRC及其转移发病机理和筛选预防或治疗药物中扮演着越来越重要的角色。缺点:价格昂贵,费力,肝转移率

较低,造模时间长,不利于评估药物疗效,特异性基因的突变可导致胚胎致死性,严重的发育缺陷或发生转移之前的不育。

本文仅概述了结直肠癌肝转移建模的常用方法,这些动物模型为探究人结直肠癌肝转移的各种特征提供了一定的方便,笔者认为理想的CRLM模型是具有可预测性和可重复性,能有效地代表人类CRLM微环境,并且能用于验证患者新的治疗方案。目前研究人类CRLM动物模型比较常用且易操作的是种植模型,具有一定研究前景的是PDTX模型和遗传修饰小鼠模型。

参考文献

- [1] Gong C, Long Z, Yu Y, *et al.* Dietary factors and polymorphisms in vitamin D metabolism genes: the risk and prognosis of colorectal cancer in northeast China[J]. *Sci Rep*, 2017, **7**:8827.
- [2] Chen W, Zheng R, Baade P D, *et al.* Cancer statistics in China [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, **66**(2):115-132.
- [3] Goodwin T J, Huang L. Investigation of phosphorylated adjuvants co-encapsulated with a model cancer peptide antigen for the treatment of colorectal cancer and liver metastasis[J]. *Vaccine*, 2017, **35**(19):2550-2557.
- [4] Tao L, Yang J K, Gu Y, *et al.* Weichang'an and 5-fluorouracil suppresses colorectal cancer in a mouse model [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, **21**(4):1125-1139.
- [5] Wang J, Ren L, Yan L, *et al.* Establishment of animal model of transplanted human colorectal cancer [J]. *Cancer Research and Clinic*, 2017, **29**(4):223-226.
- [6] Fleten K G, Bakke K M, Mælandsmo G M, *et al.* Use of non-invasive imaging to monitor response to aflibercept treatment in murine models of colorectal cancer liver metastases[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2017, **34**(1):51-62.
- [7] Xu J X, Xiong W, Zeng Z, *et al.* Effect of ART1 on the proliferation and migration of mouse colon carcinoma CT26 cells *in vivo* [J]. *Mol Med Rep*, 2017, **15**(3):1222-1228.
- [8] Fu M, Song Y, Wen Z, *et al.* Inositol Hexaphosphate and Inositol Inhibit Colorectal Cancer Metastasis to the Liver in BALB/c Mice [J]. *Nutrients*, 2016, **8**(5):E286.
- [9] Márquez J, Mena J, Hernandez-Unzueta I, *et al.* Ocoxin[®] oral solution slows down tumor growth in an experimental model of colorectal cancer metastasis to the liver in Balb/c mice [J]. *Oncol Rep*, 2016, **35**(3):1265-1272.
- [10] Oshima G, Stack M E, Wightman S C, *et al.* Advanced Animal Model of Colorectal Metastasis in Liver; Imaging Techniques and Properties of Metastatic Clones [J]. *J Vis Exp*, 2016. doi: 10.3791/54657
- [11] Bai J, Wang J, Zhao X. Nude mice hemispleen method in hepatic

- metastases of colon cancer model[J]. Journal of Dalian Medical University, 2015, **37**(5):447-450
- [12] Bocuk D, Wolff A, Krause P, *et al.* The adaptation of colorectal cancer cells when forming metastases in the liver: expression of associated genes and pathways in a mouse model [J]. BMC Cancer, 2017, **17**(1):342.
- [13] White S B, Procissi D, Chen J, *et al.* Characterization of CC-531 as a Rat Model of Colorectal Liver Metastases [J]. PLoS One, 2016, **11**(5):e0155334.
- [14] Miyoshi J, Toden S, Yoshida K, *et al.* MiR-139-5p as a novel serum biomarker for recurrence and metastasis in colorectal cancer [J]. Sci Rep, 2017, **7**:43393.
- [15] 胡斌权, 陈城明, 张同弟, 等. 人体肿瘤 PDX 移植模型的优与劣[J]. 2015, **5**(32):59-62
- [16] Bettenworth D, Mücke M M, Schwegmann K, *et al.* Endoscopy-guided orthotopic implantation of colorectal cancer cells results in metastatic colorectal cancer in mice [J]. Clin Exp Metastasis, 2016, **33**(6):551-562.
- [17] Ye K, Wu Y, Sun Y, *et al.* TLR4 siRNA inhibits proliferation and invasion in colorectal cancer cells by downregulating ACAT1 expression[J]. Life Sci, 2016, **155**:133-139.
- [18] Leuci V, Maione F, Rotolo R, *et al.* Lenalidomide normalizes tumor vessels in colorectal cancer improving chemotherapy activity[J]. J Transl Med, 2016, **14**(1):119.
- [19] Prall F, Maletzki C, Hühns M, *et al.* Colorectal carcinoma tumour budding and podia formation in the xenograft microenvironment [J]. PLoS One, 2017, **12**(10):e0186271.
- [20] Van Marion D M, Domanska U M, Timmer-Bosscha H, *et al.* Studying cancer metastasis: Existing models, challenges and future perspectives[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2016, **97**:107-117.
- [21] Oh B Y, Hong H K, Lee W Y, *et al.* Animal models of colorectal cancer with liver metastasis[J]. Cancer Lett, 2017, **387**:114-120.
- [22] Roper J, Tammela T, Cetinbas N M, *et al.* *In vivo* genome editing and organoid transplantation models of colorectal cancer and metastasis[J]. Nat Biotechnol, 2017, **35**(6):569-576.
- [23] O'Rourke K P, Loizou E, Livshits G, *et al.* Transplantation of engineered organoids enables rapid generation of metastatic mouse models of colorectal cancer[J]. Nat Biotechnol, 2017, **35**(6):577-582.
- [24] Atlasi Y, Noori R, Marolin I, *et al.* The role of S100a4 (Mts1) in Apc- and Smad4- driven tumour onset and progression [J]. Eur J Cancer, 2016, **68**:114-124.
- [25] Clark C R, Starr T K. Mouse models for the discovery of colorectal cancer driver genes [J]. World J Gastroenterol, 2016, **22**(2):815-822.

Research Progress in Animal Model of Liver Metastasis of Colorectal Cancer

QIAO Dawei^{1,2}, LI Yufang^{1,2}, LI Shengnan^{1,2}, XIAO Yun^{1,2}, JIANG Lishuang^{1,2}, KONG Guimei¹, BO Ping^{1,2,3}

(1. School of Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225001, China) (2. Jiangsu Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Geriatrics, Yangzhou 225001, China) (3. Department of Gastroenterology, Jiangsu Subei People's Hospital, Yangzhou 225001, China)

Abstract: Liver is the main target of colorectal cancer metastasis, colorectal cancer liver metastasis is also the main cause of death in patients with colorectal cancer. At present, the method of constructing liver metastasis model of colorectal cancer mainly includes *in situ* planting model, which is used to study the process of liver metastasis and its related mechanism in colorectal cancer; Heterosis planting model, which is used to filter the individualized treatment programs of patients; Transgenic animal model, which is used to accurately guide patients with targeted therapy.

Key words: Colorectal cancer; Colorectal cancer liver metastasis; animal model