

毛玉宁,郭文文,赵菊梅,等. 基于动物模型筛选胃癌转移相关基因及鉴定方法 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(7): 112-117.

Mao YN, Guo WW, Zhao JM, et al. Screening and identifying gastric cancer metastasis-related genes using animal models [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(7): 112-117.

doi: 10. 3969/j. issn. 1671-7856. 2021. 07. 017

基于动物模型筛选胃癌转移相关基因及鉴定方法

毛玉宁^{1,2}, 郭文文^{1,2}, 赵菊梅^{1*}, 师长宏^{2*}

(1.延安大学医学院,陕西 延安 716000;2.空军军医大学实验动物中心,西安 710032)

【摘要】 胃癌是全球危害最严重的恶性肿瘤之一,转移是造成其高致死率的主要原因。鉴定出胃癌转移相关基因,有助于理解胃癌转移发展机制,从而为胃癌的预防和靶向治疗研究奠定实验基础。本文就利用动物模型筛选胃癌转移相关基因及基因功能鉴定方法的最新研究进展进行综述,重点比较了不同转移模型的特征和体内体外评估转移相关基因功能的方法,以期胃癌转移机制研究和筛选新的治疗靶点提供实验工具。

【关键词】 胃癌;转移基因;筛选模型;鉴定方法

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2021) 07-0112-06

Screening and identifying gastric cancer metastasis-related genes using animal models

MAO Yuning^{1,2}, GUO Wenwen^{1,2}, ZHAO Jumei^{1*}, SHI Changhong^{2*}

(1. Medical College of Yan'an University, Yan'an 716000, China.

2. Laboratory Animal Center, the Air Force Medical University, Xi'an 710032)

【Abstract】 Gastric cancer is one of the most serious malignant tumors worldwide, and metastasis is the main cause of its high mortality. The identification of genes related to gastric cancer metastasis could help to understand the developmental mechanism of gastric cancer, which will provide a foundation for the prevention and targeted therapy of gastric cancer. In this paper, we review the latest research progress in the use of animal models to screen gastric cancer metastasis-related genes and to study gene function identification method. We focus on the characteristics of different metastasis models and the method for evaluating metastasis-related gene function *in vitro* and *in vivo*. This review aims to present the ideal experimental tools for the study of the mechanism of gastric cancer metastasis and the screening of new therapeutic targets.

【Keywords】 gastric cancer; metastatic gene; screening model; identification method

全球每年新发胃癌人数约有 95 万,死亡近 70 万,是危害最严重的肿瘤之一^[1]。胃癌发病早期临床症状不明显,就诊时可能已经发生转移,预后不

良,是造成胃癌死亡率高的主要原因之一,因此在胃癌诊断和治疗中需要一些转移相关标志物,以提高诊断的精确性,指导针对性治疗。转移相关基因

【基金项目】 国家自然科学基金(31772546)。

【作者简介】 毛玉宁(1998—),女,硕士研究生,研究方向:肿瘤分子病理与药物研究。E-mail: yuningmao98@163.com

【通信作者】 师长宏(1973—),男,教授,博士生导师,研究方向:人类疾病动物模型。E-mail: changhong@fmmu.edu.cn

赵菊梅(1970—),女,教授,硕士生导师,研究方向:肿瘤分子病理与药物研究。E-mail: jzm2003.stu@163.com

* 共同通信作者

在胃癌转移中发挥着重要作用,开展转移相关基因的研究有利于及时发现早期转移、筛选新的标志物和治疗靶点,从而提高患者的生存率。利用动物模型筛选胃癌转移相关基因,充分模拟体内肿瘤转移发生的过程,转移效率高,表型特征明确,具有较好的临床相似性。本文就筛选胃癌转移相关基因的动物模型、监测动物模型中肿瘤转移的方法及转移相关基因功能鉴定进行综述,以期对胃癌转移机制研究和筛选新的治疗靶点提供有效的实验工具。

1 基于动物模型筛选转移相关基因

1.1 利用细胞异种移植模型筛选转移相关基因

细胞异种移植 (cell line derived xenograft, CDX) 模型是指将培养的肿瘤细胞移植到免疫缺陷小鼠构建的肿瘤模型。CDX 模型所用细胞系是经过多代体外培养,其生物学特征变化明显,部分适应体外培养、具有转移潜能的肿瘤细胞系被筛选出来,易于获得转移模型。CDX 模型的建立可以通过皮下注射、腹腔注射、尾静脉注射等方式实现。Zhu 等^[2]通过裸鼠后肢皮下注射胃癌细胞系 BGC-823 建立了异种移植模型,发现 miR-106a 有通过靶向 Smad7 促进肿瘤生长的潜力,同时发现 miR-106a 与胃癌发生腹膜转移相关。目前研究发现胃泌素水平与胃癌发展密切相关,Zu 等^[3]通过裸鼠皮下注射人胃癌细胞系 SGC-7901 成功建立细胞异种移植模型,发现胃泌素可以通过激活 ERK-P65-miR23a/27a/24 轴抑制低分化胃癌细胞的增殖并增强顺铂对胃癌的抑制作用。建立 CDX 模型时也可使用带有生物酶标记的肿瘤细胞,有助于动态监测体内肿瘤转移情况,为转移相关基因的筛选提供便利。Miwa 等^[4]用稳定表达荧光素酶的 MKN1 (MKN1-luc) 和 MKN45 (MKN45-luc) 胃癌细胞以及 N87、KATO III、NUGC4、OCUM-1 胃癌细胞注射裸鼠腹腔成功建立腹腔转移模型,通过将 MKN1-Luc 和 MKN45-Luc 直接注射到小鼠门静脉成功建立了肝转移模型。

由于建立 CDX 模型使用的是传代细胞系,缺乏人体内肿瘤生长的微环境,因此不能很好的模拟人体内肿瘤的生长及转移情况。患者源性肿瘤细胞 (patient-derived cell models, PDC) 模型其所用细胞是从患者腹水、胸腔积液等恶性积液中分离出的患者源性肿瘤细胞,因此更能反映患者的个体化特征,在肿瘤转移相关基因的筛选和临床药物筛选方面体现出独特优势。Lee 等^[5]用从转移癌患者收集的细胞建立了 PDC 模型,研究发现原发肿瘤与子代

PDC 模型的基因组改变高度一致,平均变异等位基因频率相关性为 0.878,进一步比较了原发肿瘤 P0、P1、P2 细胞的基因组特征,发现三个样本 (P0、P1 和 P2 细胞) 高度相关,且该模型的药物反应体现了患者对靶向药物的临床反应。通过转移患者源性肿瘤细胞建立的 PDC 模型虽然能反映患者的个体化特征,但其是在体外培养,培养难度大且不能模拟体内肿瘤转移过程,因此用该模型筛选转移相关基因的使用受限。通过上述 CDX 模型和 PDC 模型筛选出的转移相关基因有利于发现促进胃癌转移的相关分子,为临床及早发现胃癌转移提供帮助。

1.2 利用患者源性异种移植模型筛选转移相关基因

患者源性异种移植 (patient-derived xenograft, PDX) 模型改善了 CDX 模型和 PDC 模型的不足,是目前筛选转移相关基因较好的模型。该模型是将临床新鲜的手术标本移植到免疫缺陷小鼠体内建立的异种移植模型,其保持了原发肿瘤生长的微环境,因此更能模拟体内肿瘤的生物学行为。PDX 模型较好的保留了患者肿瘤的组织学、基因组、细胞异质性和药物反应特性,可以通过整合临床数据、基因组资料和药物反应性数据来指导靶向治疗,应用于个性化药物选择、生物标志物的开发以及转移相关基因的筛选^[6]。PDX 模型较好地保留了患者肿瘤组织学及基因组特征,便于利用该类模型对胃癌发生发展过程进行分析研究。Choi 等^[7]成功建立了 15 例胃癌 PDX 模型,结果发现肿瘤模型的组织学和遗传特征在随后的传代中保持稳定,并与原发肿瘤高度一致,这一发现使利用 PDX 模型进行胃癌发展机制的分子研究和个体化治疗成为可能。PDX 模型与原发肿瘤具有相对一致的基因组学特征,这非常有利于个体化转移相关基因的筛选。Zhang 等^[8]成功建立了 32 个胃癌 PDX 模型,发现 FGFR2、MET、ERBB2 的基因扩增在 PDX 模型和它们的亲本肿瘤之间相似程度很高,PTEN 与 MET 蛋白表达也呈中度一致,这些数据为个体化治疗的体内测试和转移相关基因的筛选提供理论基础。建立 PDX 模型时组织移植的方法有很多,包括皮下移植、肾包膜移植、原位移植等,其中皮下移植是最常用的移植方式。Guo 等^[9]通过皮下移植建立胃癌 PDX 模型,揭示了 ISL1 通过结合 ZEB1 启动子和辅助因子 SETD7 促进胃癌转移的分子机制,ISL1 可能是胃癌潜在的预后标志物。由于原位移植瘤所处的微环境更接近于人体环境,因此原位移植较皮下移植更能模拟人体内肿瘤的生长情况,更容易模拟

临床发生转移,有利于筛选转移相关基因。王洁等^[10]通过皮下移植建立 14 例胃癌 PDX 模型,但均未发生转移,进一步原位移植成功建立 3 例胃癌 PDX 模型,其中 C19751 发生肝和肺的转移,通过 PCR-Array 分析显示与原发瘤比较有三个基因表达显著上调,包括趋化因子 CXCL12、胰岛素样生长因子 1 受体(IGF1R)和基质金属蛋白酶 2(MMP2)。PDX 模型含有的患者基质成分会随着传代数的增加而发生变化^[11],因此在利用 PDX 模型作为临床前研究模型时,低代次的 PDX 模型更能反映患者的个体化特征,更有利于转移相关基因的研究。总之,PDX 模型能较好的保留患者肿瘤的基因组特征,关键基因的表达与患者肿瘤较一致,为 PDX 模型筛选转移相关基因提供理论依据。

2 转移动物模型的检测

及时、准确的检测转移的发生对于肿瘤模型的研究非常重要,目前检测肿瘤转移的方法主要有 ALU-PCR、生物荧光成像的可视化患者来源原位移植转移瘤模型(imageable patient-derived orthotopic xenograft, iPDOX)、近红外荧光(near infrared fluorescence, NIRF)。ALU 的检测需要处死动物,而 NIRF 和 iPDOX 技术可以通过成像系统无损伤并动态的监测动物模型中肿瘤的转移情况。

ALU-PCR 是一种非常灵敏的检测技术,可以从不同来源基因组 DNA 样品中特异性的扩增出人的 ALU 基因序列。由于 ALU 家族是基因组中的一种重复序列且仅存于灵长类基因组,小鼠体内组织中并不存在,因此当动物肿瘤模型发生转移时可以通过 PCR 检测 ALU 基因表达情况,从而评估各组织脏器的转移程度。同时 ALU 在原发瘤和转移瘤中的表达也存在差异,Schneider 等^[12]通过 AIU-PCR 检测发现在肺内转移的 6 例病例中,有 5 例(83%)发现了具有信息性的等位基因带型,而在肺外转移的 14 例病例中,有 9 例(64%)发现了等位基因带型,与正常肺组织或原发性肺肿瘤组织相比,转移瘤细胞中检测到了多种基因组变化。该方法评估转移具有创伤性,需要在处死荷瘤鼠后取其组织检测,因此使用受限。

iPDOX 是通过病人肿瘤组织建立的原位移植小鼠模型,该模型可以复制患者肿瘤生物学行为,包括转移、侵袭、凋亡等。iPDOX 可以通过活体荧光成像系统对原位移植瘤的生长、转移进行动态监测,实时动态的观察肿瘤的增殖以及转移情况。

Kawaguchi 等^[13]在广泛表达红色荧光蛋白的转基因裸鼠中培养患者胃平滑肌肉瘤,以稳定标记肿瘤间质,建立了可成像的 PDOX(iPDOX)模型。虽然该模型可以直接观察到肿瘤的转移,但模型建立过程繁琐、需要特异性工具鼠、实验周期长、成本较高,目前在筛选转移相关基因方面应用较少。

聚甲基川菁染料是一类具有肿瘤靶向性的近红外荧光(near-infrared fluorescence, NIRF)染料,该染料荧光背景低、组织穿透能力强,可用于肿瘤模型的活体成像。研究发现七甲川花菁类 NIRF 染料不仅具有成像功能还可以特异性的识别肿瘤细胞,这种识别与 HIF1 α /OATPs 信号分子的活化密切相关,因为大部分肿瘤组织内存在缺氧和 OATP 的高表达,所以该类染料可以在肿瘤细胞内特异性集聚,可用于监测体内肿瘤生长及转移情况^[14]。赵宁宁等^[15]研究发现 NIRF 染料 IR-783 可以特异性识别胃癌肿瘤细胞和胃癌 PDX 移植瘤,这使得动态监测胃癌 PDX 模型的转移成为可能,为通过 PDX 模型筛选转移相关基因提供技术支持。

3 筛选转移相关基因方法

成功建立动物模型并检测到转移后,提取原发瘤和转移瘤的 RNA 或者 DNA 进行转移相关基因的筛选。常用的筛选方式包括微阵列分析以及 PCR 阵列。微阵列分析可以同时大量探针固定于支持物上,一次性对样品大量序列进行检测,因此解决了传统核酸印迹杂交技术操作繁杂、检测序列数量少、检测效率低等问题,Wang 等^[16]通过阵列分析发现有 28 个 miRNAs 在浸润型胃癌中有差异表达,在这 28 个 miRNA 中,miR-29b 是下调最显著的 miRNA 之一,miR-29b 通过与 MMP2 的 miRNA 反应元件(miRNA response element, MRE)结合负调控 MMP2,进而影响胃癌的发展。PCR Array(又称 PCR 阵列)是目前研究基因表达的首选技术,该技术在微阵列高通量的基础上结合 PCR 的高灵敏度和特异性,可以更加快速、准确的反映基因表达情况。Sandoval 等^[17]对转染了 miR-335 的细胞进行 PCR 阵列检测,发现在参与胃癌转移和肿瘤侵袭的 62 个基因中,有 19 个(30.6%)的转录水平下降,进一步网络富集分析将这些基因缩小到 9 个(PLAUR、CDH11、COL4A2、CTGF、CTSK、MMP7、PDGFA、TIMP1、TIMP2)。

4 转移相关基因功能鉴定方法

筛选出胃癌转移相关基因后,可进一步通过体

内和体外实验来鉴定转移基因对于胃癌发生发展的影响。

4.1 体内实验

胃癌转移相关基因体内鉴定实验主要是通过构建敲低或敲高目的基因的胃癌细胞株后,将其注射到小鼠体内建立 CDX 模型,观察目的基因的表达变化对于肿瘤的影响。Ding 等^[18]将 CTHRC1 siRNA 转染人胃癌细胞株后,通过嘌呤霉素持续筛选稳定转染的细胞,发现 siRNA 降低 CTHRC1 表达后胃癌细胞的迁移和侵袭能力下降。Gao 等^[19]为了探讨 NEAT1 在胃癌发生发展过程中的生物学作用,建立了 NEAT1 低表达和过表达胃癌细胞株,RT-qPCR 确认 si-NEAT1 加入后显著降低了胃癌细胞中 NEAT1 的表达,进一步研究发现 NEAT1 促进胃癌细胞迁移及侵袭,并与患者较差的生存率相关。已报道转移相关基因可以通过不同的途径影响胃癌细胞,主要包括上皮间质转化^[20]、RUNX3^[21]、C-MYC^[22]信号通路等。上皮间质转化是影响胃癌发生发展的主要因素之一,Chen 等^[23]通过研究发现异核核糖核酸蛋白 A1(hnRNPA1)在体内外均促进了胃癌细胞的上皮间质转化,将高表达 hnRNPA1 的细胞株经尾静脉注射到小鼠体内,发现 hnRNPA1 高表达可显著诱导小鼠体内肿瘤的生长,并促进肺转移。Zhang 等^[24]通过小鼠腹腔注射转染过表达 SALL4(锌指转录因子)和沉默 SALL4 的稳定细胞株建立 CDX 模型,发现 SALL4 低表达抑制了体内肿瘤的生长,而 SALL4 的过表达促进体内肿瘤的生长,进一步研究发

现 SALL4 通过激活 TGF- α /akt/sMaD 信号通路,诱导上皮间质转化,从而促进胃癌转移。Runt 相关转录因子 3(RUNX3)与胃癌细胞的增殖和侵袭密切相关,Song 等^[25]给胃癌荷瘤鼠分别注射 miR-17-5p 激动剂和拮抗剂,发现 miR-17-5p 激动剂可显著促进体内肿瘤的生长。C-MYC 和 TGF-CADT 信号通路与胃癌发生发展密切相关,Xu 等^[26]将低表达环状 RNA CCDC66 的 SGC-7901 细胞皮下注射至小鼠体内,发现肿瘤生长缓慢,进一步研究发现环状 RNA CCDC66 通过调节 C-MYC 和 TGF-CADT 信号通路促进胃癌进展,并有可能成为胃癌转移的生物标志物。上述体内实验能较好的反映基因在体内对于肿瘤的影响,对于研究基因的功能非常必要(表 1)。

4.2 体外实验

体外鉴定转移相关基因功能的实验主要包括伤口愈合实验、Transwell 实验、集落形成实验、细胞增殖实验、流式检测细胞周期及细胞凋亡实验等。伤口愈合和 Transwell 实验都可以检测细胞的迁移能力,后者也可检测细胞侵袭能力。Liu 等^[27]通过伤口愈合实验和 Transwell 实验发现高表达 DCLK1 的胃癌细胞迁移和侵袭明显增强,SNHG1 通过 DCLK1 介导的 Notch1 通路增强胃癌细胞上皮间质转化过程,从而促进胃癌发展。已证实长链非编码 RNA 与肿瘤的发生发展密切相关,Shuai 等^[28]通过伤口愈合和 Transwell 实验发现过表达 MNX1-AS1 可显著促进胃癌细胞的迁移和侵袭,而降低 MNX1-AS1 表达则产生相反的作用,进一步研究发现

表 1 影响胃癌转移的主要基因和信号通路举例(体内鉴定)

Table 1 Examples of major genes and signaling pathways that influence metastasis of gastric cancer (Identification *in vivo*)

相关基因 Related gene	靶向基因 Targeted gene	模型建立方法 Modeling method	选用细胞系 Selection of cell line	对胃癌的影响 Effects on gastric cancer	文献来源 References
HnRNPA1 高表达 HnRNPA1 high expression	上皮间质转化 Epithelial to mesenchymal transformation	慢病毒转染 CDX(BGC-823) Lentivirus transfection CDX(BGC-823)	AGS BGC-823	促进 Promotion	[23]
SALL4 高表达 SALL4 high expression	上皮间质转化 Epithelial to mesenchymal transformation	过表达 SALL4 质粒 沉默 SALL4 CDX(MGC-803) Overexpression of SALL4 plasmid Silence SALL4CDX(MGC-803)	MGC-803 HGC-27	促进 Promotion	[24]
MiR-17-5p	RUNX3	miR-17-5 激动剂 miR-17-5 拮抗剂 miR-17-5tagomir miR-17-5 antagomir	SGC-7901 MKN-45	促进 Promotion	[25]
环状 RNA CCDC66 Circular RNACCDC66	c-Myc TGF- α akt	慢病毒转染 CDX(SGC-7901) Lentivirus transfection CDX(SGC-7901)	BGC-823 MGC-803 SGC-7901 HGC-27	促进 Promotion	[26]

表 2 影响胃癌转移的主要基因和信号通路举例(体外鉴定)
Table 2 Examples of major genes and signaling pathways affected by metastasis-related genes in gastric cancer
(Identification *in vitro*)

相关基因 Related gene	基因靶向 Targeted gene	选用细胞系 Selection of cell line	体外鉴定方法 <i>In vitro</i> identification method	对胃癌影响 Effects on gastric cancer	来源文献 References
LncRNA SNHG1	miR-15b/DCLK1/ Notch1	GES-1,SGC7901, MKN-28,N-87	Transwell,划痕实验,细胞增殖 实验 Transwell, Scratch assay, Cell proliferation assay	促进 Promotion	[27]
LncRNA MNX1-AS1	BTG2,BCL2	MGC803,SGC7901, BGC823,GES-1	细胞增殖实验,流式细胞术,集 落形成实验,Transwell,划痕实验 Cell proliferation assay, Flow cytometry assay, Colony formation experiment,Transwell, Scratch assay	促进 Promotion	[28]
LncRNA HOXC-AS3	YBX1	SGC7901,BGC823, GES-1	细胞增殖实验,流式细胞术,集 落形成实验,Transwell Cell proliferation assay, Flow cytometry assay, Colony formation experiment,Transwell	促进 Promotion	[29]
MDGA2	DMAP1	AGS,BGC823, MKN-1	集落形成实验,流式细胞术,细 胞增殖实验 Colony formation experiment,Flow cytometry assay,Cell proliferation assay	抑制 Inhibition	[30]

MNX1-AS1 通过抑制 BTG2 和上调 BCL2 的表达促进胃癌发展。也有一些基因通过影响细胞周期及细胞凋亡进而影响肿瘤发生发展,因此通过流式分析细胞周期及凋亡可以验证转移基因功能。Zhang 等^[29]发现在敲除 HOXC-AS3 基因后,胃癌细胞在 G1-G0 期显著停滞,下调 HOXC-AS3 后胃癌细胞凋亡明显增加,异常组蛋白修饰激活的 HOXC-AS3 在胃癌的发生过程中发挥了重要作用,并可能作为胃癌诊断和治疗的靶点。细胞增殖实验和集落形成实验可以检测肿瘤细胞的增殖能力,Wang 等^[30]人发现 MDGA2 可以显著抑制胃癌细胞增殖及菌落形成,MDGA2 的抗肿瘤作用通过直接稳定 DNA 甲基转移酶相关蛋白 1(DMAP1)实现。上述体外实验周期短、操作简单、影响因素少,是转移基因功能鉴定中不可缺少的环节。但体外实验类型较多,在选择体外鉴定实验时应关注目的基因对于肿瘤细胞能力影响方面均选取相应的实验,例如,可分别选择增殖、凋亡、迁移和侵袭能力检测等(表 2)。

5 展望

成功建立高保真的 PDX 模型和 CDX 模型为胃癌转移相关基因的筛选奠定了良好基础,但如何模拟人体微环境促发肿瘤转移是急需解决的问题。

近年来,人源化小鼠模型和斑马鱼模型的开发为筛选胃癌转移相关基因增添了新的实验工具。通过重度联合免疫缺陷小鼠移植人的 PBMC 或 CD34⁺造血干细胞构建的人源化小鼠模型,可以更好的模拟在人体免疫系统存在下肿瘤细胞的迁移能力、侵袭能力、转移特性^[31],但该类模型构建周期长、实验过程繁琐、影响因素多,经济成本高。斑马鱼模型近年来也成为一种重要的肿瘤生物模型,斑马鱼在早期没有免疫力,移植入肿瘤细胞后成瘤性较好,转移性强,同时斑马鱼模型易于观察、实验周期短、费用较低。Wu 等^[32]将两株人胃癌细胞(AGS 和 SGC-7901)以及 14 个人胃癌组织原代细胞异种移植到斑马鱼胚胎中,建立基于斑马鱼胚胎的异种移植模型,其中有 9 例移植成功,并在活胚胎中显示出增殖、血管生成和转移潜能,该模型有可能成为未来胃癌转移研究的潜在实验平台。总之,依据人体肿瘤转移模型筛选转移相关基因,能够有效加快人们对于胃癌转移分子机制的认识,便于发现更多转移标志物及治疗靶点,从而使大量的胃癌患者受益。

参考文献:

[1] Van CE, Sagaert X, Topal B, et al. Gastric cancer [J]. Lancet, 2016, 388: 2654-2664.
[2] Zhu M, Zhang N, He S, et al. Exosomal miR-106a derived from

- gastric cancer promotes peritoneal metastasis via direct regulation of Smad7 [J]. *Cell cycle*, 2020, 19(10): 1200–1221.
- [3] Zu LD, Peng XC, Zeng Z, et al. Gastrin inhibits gastric cancer progression through activating the ERK-P65-miR23a/27a/24 axis [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 115.
- [4] Miwa T, Kanda M, Umeda S, et al. Establishment of peritoneal and hepatic metastasis mouse xenograft models using gastric cancer cell lines [J]. *In Vivo*, 2019, 33: 1785–1792.
- [5] Lee JY, Kim SY, Park C, et al. Patient-derived cell models as preclinical tools for genome-directed targeted therapy [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(28): 25619–25630.
- [6] Cho SY, Kang W, Han JY, et al. An integrative approach to precision cancer medicine using patient-derived xenografts [J]. *Mol Cells*, 2016, 39(2): 77–86.
- [7] Choi YY, Lee JE, Kim H, et al. Establishment and characterisation of patient-derived xenografts as paraclinical models for gastric cancer [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 22172.
- [8] Zhang T, Zhang L, Fan S, et al. Patient-derived gastric carcinoma xenograft mouse models faithfully represent human tumor molecular diversity [J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0134493.
- [9] Guo T, Wen XZ, Li ZY, et al. ISL1 predicts poor outcomes for patients with gastric cancer and drives tumor progression through binding to the ZEB1 promoter together with SETD7 [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(2): 33.
- [10] 王洁, 赵宁宁, 张彩勤, 等. 基于临床肿瘤标本的胃癌转移模型建立 [J]. *中国实验动物学报*, 2019, 27(1): 7–12.
- [11] Ji X, Chen S, Guo Y, et al. Establishment and evaluation of four different types of patient-derived xenograft models [J]. *Cancer Cell Int*, 2017, 17: 122.
- [12] Schneider T, Osl F, Friess T, et al. Quantification of human Alu sequences by real-time PCR-an improved method to measure therapeutic efficacy of anti-metastatic drugs in human xenotransplants [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2002, 19(7): 571–582.
- [13] Kawaguchi K, Igarashi K, Murakami T, et al. Combination of gemcitabine and docetaxel regress both gastric leiomyosarcoma proliferation and invasion in an imageable patient-derived orthotopic xenograft (iPDOX) model [J]. *Cell Cycle*, 16(11): 1063–1069.
- [14] Wu JB, Shao C, Li X, et al. Near-infrared fluorescence imaging of cancer mediated by tumor hypoxia and HIF1 α /OATPs signaling axis [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(28): 8175–8185.
- [15] 赵宁宁, 张彩勤, 赵勇, 等. 近红外荧光染料对胃癌细胞的特异性识别 [J]. *科学技术与工程*, 2016, 16(17): 17–21.
- [16] Wang T, Hou JJ, Jian S, et al. miR-29b negatively regulates MMP2 to impact gastric cancer development by suppress gastric cancer cell migration and tumor growth [J]. *J Cancer*, 2018, 9(20): 3776–3786.
- [17] Sandoval B, Alejandra, Polakovicova I, et al. microRNA-335-5p is a potential suppressor of metastasis and invasion in gastric cancer [J]. *Clinical Epigenetics*, 2017, 9(1): 114.
- [18] Ding X, Huang R, Zhong Y, et al. CTHRC1 promotes gastric cancer metastasis via HIF-1 α /CXCR4 signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 123: 109742.
- [19] Gao M, Liu L, Zhang D, et al. Long non-coding RNA NEAT1 serves as sponge for miR-365a-3p to promote gastric cancer progression via regulating ABCC4 [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 3977–3985.
- [20] Dong JQ, Wang R, Ren G, et al. HMGA2 – FOXL2 axis regulates metastases and epithelial-to-mesenchymal transition of chemoresistant gastric cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(13): 3461–3473.
- [21] Li QL, Ito K, Sakakura C, et al. Causal relationship between the loss of RUNX3 expression and gastric cancer [J]. *Cell*, 2002, 109(1): 113–124.
- [22] Wang S, Tang D, Wang W, et al. CircLMTK2 acts as a sponge of miR-150 – 5p and promotes proliferation and metastasis in gastric cancer [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 162.
- [23] Chen Y, Liu J, Wang W, et al. High expression of hnRNP A1 promotes cell invasion by inducing EMT in gastric cancer [J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(4): 1693–1701.
- [24] Zhang X, Zhang P, Shao M, et al. SALL4 activates TGF- β /SMAD signaling pathway to induce EMT and promote gastric cancer metastasis [J]. *Cancer Manag Res*, 2018, 10: 4459–4470.
- [25] Song J, Liu Y, Wang T, et al. miR-17 – 5p promotes cellular proliferation and invasiveness by targeting RUNX3 in gastric cancer [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 128: 110246.
- [26] Xu G, Chen Y, Fu M, et al. Circular RNA CCDC66 promotes gastric cancer progression by regulating c-Myc and TGF- β signaling pathways [J]. *J Cancer*, 2020, 11(10): 2759–2768.
- [27] Liu ZQ, He WF, Wu YJ, et al. LncRNA SNHG1 promotes EMT process in gastric cancer cells through regulation of the miR-15b/DCLK1/Notch1 axis [J]. *BMC Gastroenterol*, 2020, 20(1): 156.
- [28] Shuai Y, Ma ZH, Liu WT, et al. TEAD4 modulated LncRNA MNX1 – AS1 contributes to gastric cancer progression partly through suppressing BTG2 and activating BCL2 [J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 6.
- [29] Zhang E, He XZ, Zhang CG, et al. A novel long noncoding RNA HOXC-AS3 mediates tumorigenesis of gastric cancer by binding to YBX1 [J]. *Genome Biol*, 2018, 19(1): 154.
- [30] Wang K, Liang Q, Li X, et al. MDGA2 is a novel tumour suppressor cooperating with DMAP1 in gastric cancer and is associated with disease outcome [J]. *Gut*, 2016, 65(10): 1619–1631.
- [31] 郭文文, 乔天运, 张彩勤, 等. 免疫系统人源化小鼠模型的构建及其在肿瘤治疗研究中的应用 [J]. *中国比较医学杂志*, 2019, 29(11): 98–104.
- [32] Wu JQ, Zhai J, Li CY, et al. Patient-derived xenograft in zebrafish embryos: a new platform for translational research in gastric cancer [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, 36(1): 160.

[收稿日期] 2020–08–31