

刘梓昕,牛东芹,王东. 4T1 细胞成瘤的乳腺癌小鼠模型临床转化过程中的几个问题 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(9): 145-152.

Liu ZX, Niu DQ, Wang D. Several problems in clinical transformation of 4T1 cell tumorigenic breast cancer mouse model [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(9): 145-152.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.09.020

4T1 细胞成瘤的乳腺癌小鼠模型临床转化过程中的几个问题

刘梓昕,牛东芹,王东*

(江汉大学 医学院,武汉 430056)

【摘要】 动物实验是新化合物向临床转化的基础过程,也是评价其安全性和有效性的关键步骤,因此,合理的剂量设置、动物模型构建与适宜的给药方式是保证实验数据可靠的前提。但是在科学研究的实践中,研究者在选用动物实验条件等方面并没有形成统一标准,使药效评价出现偏差,不能有效促进新化合物向临床的转化。鉴于此种情况,笔者仅以顺铂参与的使用 4T1 细胞构建的异体移植瘤模型为例,来探讨铂类化合物治疗三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC)的药效学研究中动物实验存在的问题与可能的解决方案,从而使动物实验更好的为临床转化服务。

【关键词】 顺铂;4T1 细胞;三阴性乳腺癌;动物模型;临床转化

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 09-0145-08

Several problems in clinical transformation of 4T1 cell tumorigenic breast cancer mouse model

LIU Zixin, NIU Dongqin, WANG Dong*

(School of Medicine, Jianghan University, Wuhan 430056, China)

【Abstract】 Animal experiments not only serve as a basic process of the clinical transformation of new compounds, but also a key step in evaluating the safety and effectiveness of new drugs. Therefore, reasonable dose setting, animal model construction, and appropriate administration method are prerequisites to ensure reliable experimental data. However, in practice, scientific researchers have not formed a unified standard for the selection of animal experimental conditions, leading to deviations in efficacy evaluations and failure to effectively promote the transformation of new compounds into clinical practice. In view of this situation, the author takes the allogeneic tumor model constructed by 4T1 cells with the participation of cisplatin as an example to explore problems and possible solutions in the pharmacodynamic study of platinum compounds for the treatment of triple negative breast cancer. It is our hope that such findings will facilitate animal experiments that better serve clinical transformation.

【Keywords】 cisplatin; 4T1 cell; TNBC; animal model; clinical transformation

世界卫生组织国际癌症研究机构在报告中指出,2020 年乳腺癌成为全球发病率最高的癌症^[1]。我国情况也不容乐观,2020 年乳腺癌新发病例约 42

万,死亡约 12 万。在众多乳腺癌亚型中,三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC)的治疗最为困难^[2-4],因其不表达或低表达人表皮生长因子

【基金项目】湖北省教育厅科学研究计划指导性项目(B2019233)。

【作者简介】刘梓昕(1998—),女,硕士研究生,研究方向:铜配合物对结直肠癌的作用及机制。E-mail: 1223783753@qq.com

【通信作者】王东(1982—),男,博士,讲师,研究方向:纳米药物治疗肿瘤的研究。E-mail: 363439365@qq.com

受体 2 (human epidermal growth factor receptor-2, HER-2)、雌激素受体 (estrogen receptor, ER) 和孕激素受体 (progesterone receptor, PR) 而难以从分子靶向等现代疗法中受益^[5-6], 化疗成为当前较为有效的治疗方法^[7]。蒽环类与铂类药物是治疗 TNBC 的主要选择, 其中铂类药物在临床实践中被推选为治疗 TNBC 的优选方案^[8-9]。但是这并非是最优方案, 与其他亚型乳腺癌相比, 其治疗手段有待拓展、疗效有待提高。

顺铂是铂类药物的典型代表, 为第一个被 FDA 批准用于治疗恶性肿瘤的铂类药物^[10], 然而, 耐药性和严重的毒副作用使顺铂的应用大打折扣^[11-12]。近年来, 通过结构修饰或者开发纳米药物^[13]等方法来克服铂类药物的不足成为临床前研究的热点。但无论使用哪种方法都要经过动物模型的验证, 因此, 正确选取动物模型和准确造模是药物获得临床应用的关键^[14-17]。但是, 在具体实践中即使对于同一种动物模型, 不同课题组的造模手段也会存在较大差异, 这为客观评价实验效果带来诸多偏差。为了推进动物模型选择和构建的同质化, 本文仅以顺铂参与的使用 4T1 细胞株构建的 TNBC 异体移植瘤模型为例, 论述与分析实验研究中存在的问题并提出解决方案。

1 4T1 细胞株的应用中存在的问题及讨论

4T1 细胞株是由 Fred Miller 等学者分离得到的可移植型乳腺癌细胞^[18], 因其恶性程度高易成瘤, 自发向肺、肝、脑等部位转移成为广泛使用的移植瘤细胞。此外, 4T1 细胞移植瘤模型的生长状态及

转移部位非常类似于人类晚期乳腺癌, 成为评估晚期乳腺癌药物的良好模型。笔者统计了近年来 4T1 细胞在有顺铂参与的药效实验中的使用情况 (表 1), 并从细胞的种类、使用浓度、分散介质等方面进行总结。

由表可见, 研究者在细胞的选用方面非常统一, 绝大多数采用未经荧光素酶转染的细胞系进行相关研究, 植瘤前细胞分散介质的选择上也比较一致, 然而细胞数目与注射浓度在各研究中呈多样化。首先, 在细胞类型选择方面两个亚类的 4T1 细胞被使用。就传统的 4T1 细胞而言, 移植瘤的大小通过测量肿瘤的长径和短径尺寸计算而来, 不同实验者对同一肿瘤的测量结果无法从客观上统一。而荧光素酶转染的细胞从一定程度上克服了上述缺点, 可实现荧光定量测定, 结果直观明了, 具备更强的说服力, 但其过渡依赖于贵重仪器, 加之细胞构建方面费用较高未被广泛采用。笔者认为在采取适当措施的情况下, 比如始终由同一测量者进行实验, 传统 4T1 细胞即可满足实验精度要求。

其次, 在细胞数目方面尚未有统一标准。从统计结果来看, 细胞数目的使用范围在 $3 \times 10^4 \sim 1 \times 10^7$ 个/只小鼠之间, 跨度可达 300 倍以上, 这必然会影 响药效评价, 不利于临床转化。因此, 确立相对统一的细胞使用数目十分必要与急迫。但这并不是容易解决的事情, 细胞数目的选择还涉及到移植瘤的类型 (原位或皮下)、植瘤方式 (直接注射或者手术植入)、实验目的 (抑制转移或者抑制原发灶) 等多方面的问题。作为一个折中方案, $(0.3 \sim 1.0) \times 10^6$ 个/只小鼠的细胞数目值得考虑。

表 1 4T1 细胞在异体移植瘤模型中的应用统计

Table 1 Application statistics of 4T1 cells in xenograft tumor model

细胞 Cells	分散介质 Disperse medium	细胞浓度 Cell concentration	细胞数 Cell number	参考文献 References
4T1	PBS	1×10^7	1×10^6	[19]
4T1	PBS	5×10^6	5×10^5	[19]
4T1	PBS	5×10^7	1×10^7	[20]
4T1	-	5×10^7	1×10^7	[21]
4T1	-	1×10^6	1×10^5	[22]
4T1	-	1×10^7	1×10^6	[23]
4T1	-	-	3×10^4	[24]
4T1	-	-	3×10^5	[25]
4T1-Luc	-	-	1×10^6	[26]
4T1	-	-	3×10^5	[27]
4T1	Normal saline	1.5×10^7	1.5×10^6	[28]
4T1	PBS	2×10^6	4×10^5	[29]

注: -, 未给出相关数据。

Note. -, Relevant data are not displayed.

第三,在确认细胞数目的前提下,细胞浓度对植瘤效果也有显著影响。其影响往往是隐性的,比如细胞被悬浮在分散介质中有自发聚集沉淀的倾向,细胞浓度越大沉淀可能越快;细胞过密也会影响自身活性,最终导致移植瘤不均一。细胞浓度由细胞使用数目与注射体积确定,在一般的移植瘤模型中注射体积多为 100 μL ,因此细胞浓度在 10^7 级别及以下较为合理。为了保证模型均匀、药效评价客观,在实验过程中仍需注意某些问题:(1)最好将细胞按每只小鼠的注射量单独分装;(2)临注射前轻柔吹打使细胞充分分散;(3)在尽量短的时间内用完细胞,防止活性降低影响成瘤。

最后,细胞分散介质对成瘤有一定影响但不如其他因素重要,研究中使用 PBS 者较多,无血清的培养基与生理盐水^[28]也能满足植瘤需要。鉴于多篇参考文献没有明确给出所用介质,笔者不能做更详细的评价。

笔者课题组曾以 1×10^5 个/只小鼠的 4T1 细胞进行脂肪垫原位植瘤研究某种铜(II)配合物的药效学实验,实验共使用 30 只 BALB/c 小鼠,通过手术切开小鼠第 4、5 对乳头附近的皮肤暴露脂肪垫注射 100 μL 4T1 细胞。在注射后的第 2 天观察并测

量肿瘤体积,30 只小鼠均成功植入肿瘤,平均体积为 $(90 \pm 9) \text{ mm}^3$,第 4 天观察平均体积为 $(260 \pm 71) \text{ mm}^3$,在第 16 天处死小鼠后检测肺转移结节,发现所有小鼠都有明显肺转移,说明植瘤成功且成功率 100%。在另外的实验中,笔者以尾静脉注射观察肺转移,在 4T1 细胞低至 3×10^4 个/只小鼠的数量时也能很好的发生肺转移,且成功率也为 100%。4T1 细胞易成瘤的特性为乳腺癌的药效学评价提供了极大的方便,然而,作为科研人员即使在使用 4T1 这种容易造模的细胞时也应该仔细选择成瘤的最佳条件,从而避免实验偏差或资源浪费。

2 4T1 异体移植瘤模型中实验动物操作的问题及讨论

在乳腺癌异体移植瘤模型中,BALB/c 小鼠为近交系品种,具备遗传背景一致,对 4T1 细胞没有免疫排异,植瘤成功率高的特点^[30-31],成为使用最为普遍实验动物^[32-33]。笔者对表 1 所列文献的小鼠使用情况进行总结(表 2)。

由表可知,除 Zhou 等^[26]使用 BALB/c 裸鼠外,其余研究均使用 BALB/c 小鼠建立移植瘤模型,这是由所使用的细胞株决定的。Zhou 等^[26]使用荧光素酶转染的 4T1 细胞,裸鼠方便成像观测。也有研

表 2 4T1 异体移植瘤模型中实验动物操作状况
Table 2 Operation status of experimental animals in 4T1 xenograft tumor model

类别 Category	周龄 Week age	体重(g) Body weight	植瘤方式 Methods	植瘤位置 Sites	注射体积(μL) Injection volume	参考文献 References
BALB/c	4~6	18~22	直接注射 Direct injection	脂肪垫 Fat pad	100	[19]
BALB/c	/	18~20	直接注射 Direct injection	皮下 Subcutaneous tissue	200	[20]
BALB/c	/	18~22	直接注射 Direct injection	皮下 Subcutaneous tissue	200	[21]
BALB/c	8	22~25	手术接种 Surgical injection	脂肪垫 Fat pad	100	[22]
BALB/c	5	18~22	直接注射 Direct injection	皮下 Subcutaneous tissue	100	[23]
BALB/c	8~10	/	手术接种 Surgical injection	脂肪垫 Fat pad	/	[24]
BALB/c	4	20	直接注射 Direct injection	皮下 Subcutaneous tissue	/	[25]
BALB/c nude	4~5	16~20	皮下注射 Subcutaneous injection	脂肪垫 Fat pad	/	[26]
BALB/c	4	/	皮下注射 Subcutaneous injection	皮下 Subcutaneous tissue	/	[27]
BALB/c	4~5	18~20	皮下注射 Subcutaneous injection	脂肪垫 Fat pad	100	[28]
BALB/c	/	/	皮下注射 Subcutaneous injection	脂肪垫 Fat pad	200	[29]

注:-,未给出相关数据。

Note. -, Relevant data are not displayed.

究者将 4T1 细胞植入 BALB/c 裸鼠以对比普通 BALB/c 小鼠的成瘤状况,为合理选择实验动物提供理论依据^[34]。至于小鼠的年龄与体重则由植瘤方式和位置决定,多数研究采用 4~6 周龄、体重 18~22 g 的小鼠,然而这并非最佳选择。如果构建皮下瘤模型,4~6 周龄的小鼠足以满足要求;若是制作原位瘤采取脂肪垫注射的方法,此时小鼠的乳腺发育不够充分,接种时容易漏掉细胞。显然,7~8 周龄的小鼠更适合原位脂肪垫注射。鉴于 4T1 细胞为乳腺癌细胞系,脂肪垫注射比皮下植瘤在模拟病理状态上更加合理,由此而得出的药效学评价才能更客观和科学^[15]。即使在这样的前提下,笔者发现在造模过程中仍然存在较为严重的偏差,比如表 2 中多数研究者通过直接注射的方法造模。然而,这种方法不能准确的将细胞植入脂肪垫内,笔者曾以台盼蓝对小鼠直接脂肪垫注射然后剖开检测注射效果,结果表明部分台盼蓝泄漏至皮下组织。因此,笔者建议采取手术暴露脂肪垫的方式植瘤,这样可以保证均一和精确的模型构造。在减少小鼠创伤保证植瘤有效的前提下,Tavera-Mendoza 等^[35]提出了一种微创手术乳腺原位植瘤的方法,图 1 列

出了操作流程。在注射体积的问题上,等于或少于 100 μL 的注射量是正确的选择,否则将面临细胞泄漏的难题。

3 在 4T1 异体移植瘤中顺铂的使用问题及讨论

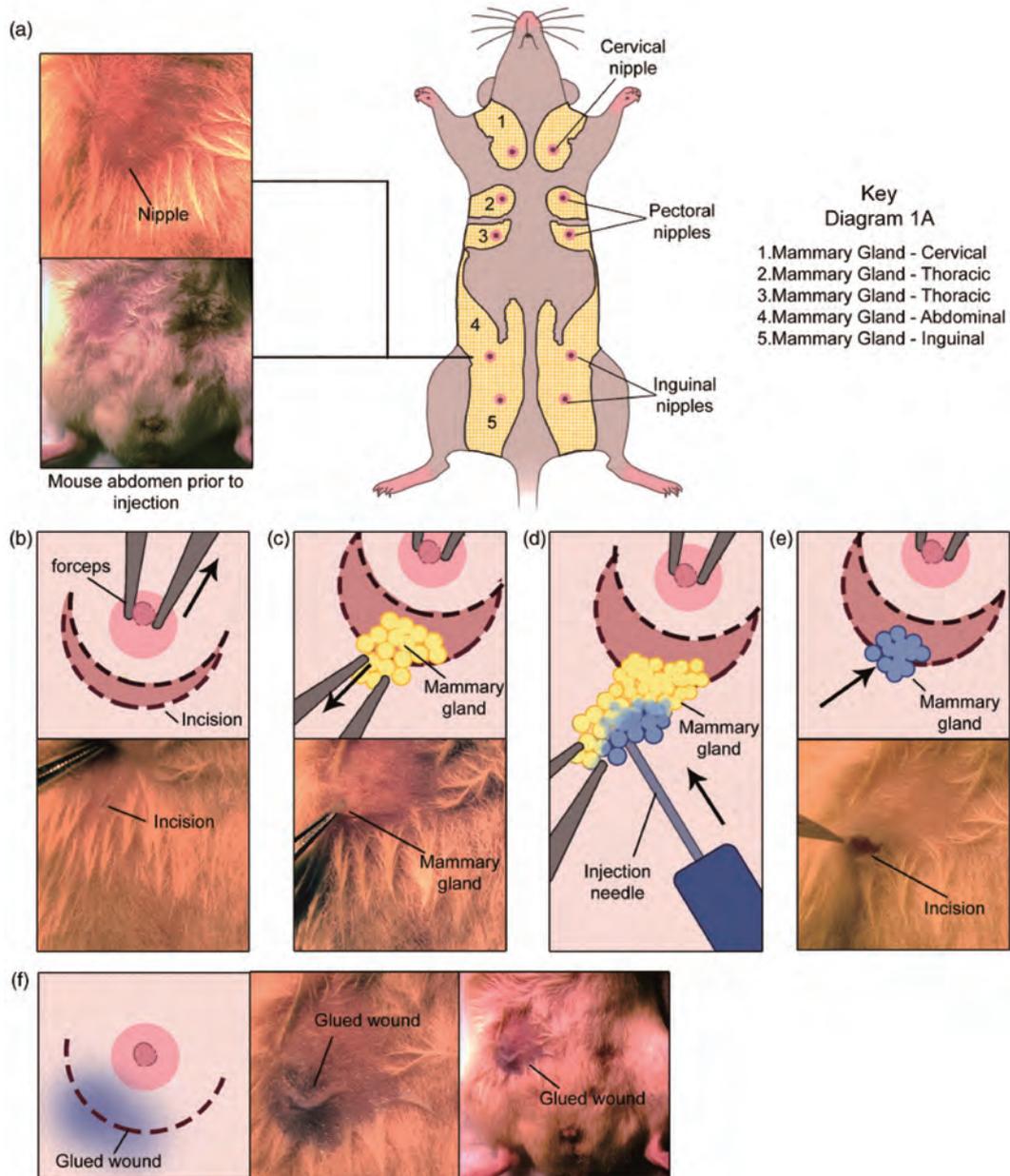
铂类药物以形成 DNA-铂交联物干扰 DNA 复制而抑制肿瘤增殖^[8],因其对携带乳腺癌易感基因 1/2(Breast Cancer gene 1/2, BRCA 1/2)突变的细胞敏感^[36],被推荐为晚期 TNBC 患者的救治药物,这些患者约 75%携带 BRCA 1/2 突变。顺铂是最早开发的铂类药物,但其副作用大,应用受限,所以多种结构优化的铂类药物如卡铂^[37]、奥沙利铂^[38]等先后应用于临床。目前,仍有较多铂类化合物正处于临床前研究阶段^[10],如 Cheng 等^[39]报道了反式铂与 DNA 的作用,Muhammad 等^[40]研究了含有生物素的 Pt(IV)配合物对乳腺癌细胞的抑制作用。纳米化的铂类药物也处于不断被开发的过程并取得突出进展,曾沛玉等^[41]制备了一种含顺铂前药的介孔硅纳米粒,任玉双等^[42]进行了顺铂前药接枝修饰硫代 DNA 及其自组装靶向纳米药物研究。顺铂在这些研究中通常当做阳性对照来使用,规范的给药

表 3 顺铂在 4T1 异体移植瘤中的应用现状
Table 3 Application status of cisplatin in 4T1 xenograft tumor

剂量(mg/kg) Dosages	频次 Frequencies	给药方式 Administrations	首剂标志 Initial dose marks	疗程 Course of treatments	研究目的 Purposes	参考文献 References
2	每天 1 次,连续 5 d 停 2 d Once a day, for 5 days, 2 days off	腹腔 Intraperitoneal injection	/	/	对照 Control	[17]
2	每天 1 次 Once a day	腹腔 Intraperitoneal injection	0.7~0.8 cm	15 d	联合用药 Drug combination	[17]
1	每天 1 次 Once a day	腹腔 Intraperitoneal injection	/	14 d	对照 Control	[18]
1	每 2 天 1 次 Once on alternate days	腹腔 Intraperitoneal injection	/	28 d	联合用药 Drug combination	[19]
2	每 2 天 1 次 Once on alternate days	尾静脉 Tail vein injection	80~120 mm ³	/	对照 Control	[20]
3	每周 3 次 3 times per week	腹腔 Intraperitoneal injection	植瘤后 5 d 5 d after modeling	9 次 9 times	对照 Control	[21]
3	每 2 天 1 次 Once on alternate days	尾静脉 Tail vein injection	50 mm ³	5 次 5 times	对照 Control	[22]
1 ^{Pt}	每周 1 次 Once a week	尾静脉 Tail vein injection	50 mm ³	3 次 3 times	对照 Control	[23]
1 ^{Pt} , 3 ^{Pt}	每 2 天 1 次 Once on alternate days	尾静脉 Tail vein injection	植瘤后 9 d 9 d after modeling	3 次 3 times	对照 Control	[24]
/	每 5 天 1 次 Once every five days	尾静脉 Tail vein injection	60~100 mm ³	5 次 5 times	联合用药及对照 Drug combination and control	[25]
3	每 3 天 1 次 Once every three days	腹腔 Intraperitoneal Injection	植瘤后 5 d 5 d after modeling	21 d	联合用药及对照 Drug combination and control	[26]

注: -, 未给出相关数据; Pt: 以铂元素计量。

Note: -, Relevant data are not displayed. Pt, Measured by platinum element.



注:a:腹部乳腺和乳头;b:在第四个乳头下方作小于 3 mm(外部和尾部)的切口;c:暴露脂肪垫;d:细胞注射体积小于 120 μ L;e:脂肪垫复位;f:用组织粘合剂密封切口。图片来自于参考文献^[35]。

图 1 小鼠乳腺原位注射乳腺癌细胞的微创手术

Note. a, Abdominal mammary gland and nipple. B, Small incision 3 mm (external and caudal) below the fourth nipple. c, Exposed fat pad. d, Exposed fat pad can be injected with a volume 120 μ L. e, Fat pad is allowed to go back to its position. f, Incision is sealed using tissue adhesive. The pictures are from reference^[35].

Figure 1 Less invasive procedure for orthotopic injection of breast cancer cells into the mouse mammary gland

方式及剂量是衡量新药药效的基础,然而在实践存在较多问题,笔者对顺铂在 4T1 细胞移植瘤中的应用现状进行总结,表 3 展示了研究中存在的某些问题。

顺铂是当前临床使用的抗肿瘤药物,在乳腺癌治疗中常规剂量为 75 mg/m^2 ^[43],在联合治疗中的用量常为 25 mg/m^2 ^[44],另有文献报道大剂量顺铂疗

法,其用量为 150 mg/m^2 ^[45]。按照等效剂量换算^[46],小鼠对应的等效剂量分别为 25、8.3、50 mg/kg 。然而,在实际动物实验中小鼠的使用剂量通常为 1、2、3 mg/kg ,这可能是由小鼠对顺铂的耐受剂量决定的。所以,在选择剂量的同时有必要评价药物对实验动物的毒副作用,在相对安全的剂量下从事药效学研究。在药物剂量表达方式上也存在影

响药效评估的问题,大多数研究以化合物本身为度量标准,个别文献则以铂元素的质量为度量标准,Zhou 等^[26]和 Sengupta 等^[27]以 1 或 3 mg/kg 铂元素的剂量给药,忽略了配体对药物活性的影响,显然不符合临床用药标准,但是从实验目的上来看这又是合理的,因为二者均采用纳米药物提高顺铂的活性,顺铂被偶联在聚合物上。在动物实验中另外一项不规范在于给药频次,从表 3 的数据可知,即使相同的给药剂量,不同研究者的给药频次相差较大,这些偏差都应该以符合临床用药的标准予以校正。第三,各研究者在初次给药标志与疗程的问题上也远没有达到统一,笔者认为初次给药时间设定在移植瘤模型造模成功之后较为合理,即肿瘤大小在 50~100 mm³ 之间即可实施给药,总给药时间则由药物长期毒性实验确定。在给药方式上,多数研究者使用腹腔注射,少数报道采用尾静脉注射,这是实验目的决定的,例如纳米药物需尾静脉注射,作为对照的顺铂也应采取尾静脉注射的方式,在这一点上研究者们意见一致。在 4T1 细胞移植瘤药效学研究的实验中,顺铂的使用存在诸如剂量、频次、初次给药时间与疗程不统一的问题,作为研究者应充分考虑动物实验与临床应用有效转化的问题。

4 结语

常见的乳腺癌荷瘤小鼠模型包括皮下瘤、原位瘤和肺转移等模型。由于模型的多样性和实验目的的不同,所以在构建的模型方面并没有一个统一的参数,笔者仅就文献报道和个人经验做一个大体的总结,以供读者探讨。在构建皮下瘤模型中,(3~5)×10⁵ 细胞/小鼠较为合理,植瘤 5~9 d 可达到给药标准,且早期不会出现肿瘤迅速生长的现象,便于延长治疗周期及提高疗效;原位瘤则无需注射过多细胞,以(0.5~1)×10⁵ 细胞/小鼠较好;尾静脉注射肺转移模型注射细胞相对较多,以(0.5~1)×10⁶ 细胞/小鼠较为理想,若细胞注射过多则会导致肺组织损伤严重,小鼠过早死亡。就注射体积而言,应特别注意将脂肪垫造模的注射体积控制在 100 μL 以内,以防止泄露;其他的植瘤方式可将体积控制在 200 μL 以下。细胞浓度则由细胞数目与注射体积决定。在分散介质的选择上相对宽松,3 种造模方式均可选择 PBS 和无血清培养基,但是在注射肿瘤细胞时要注意不能一次在注射器中吸取过多

细胞,可保持在 5 只注射量以下,并及时更换注射器,防止注射期间细胞聚沉吸附到注射器壁上,从而避免植瘤不均一。在小鼠选择上,以 4~6 周龄的小鼠居多,但脂肪垫注射最好选择 7~8 周龄的小鼠,此时小鼠性成熟脂肪垫发育完善方便注射。如何选择实验条件最终由实验目的确定,考察物质的肿瘤抑制作用可选用皮下或脂肪垫植瘤,而肺转移则可以选择尾静脉造模。

临床前药物评价是衔接临床应用与基础研究的桥梁^[47],而动物实验扮演着不可或缺的角色,准确而客观的动物实验包括细胞选择、动物选择、造模与给药观测等多个流程,每一步都可能对药效学研究产生重大影响。笔者以顺铂参与的使用 4T1 细胞株构建的 TNBC 异体移植瘤模型为例总结了研究中存在的问题,这些问题涉及到实验的每一个流程,从而使得动物实验中取得良好抗肿瘤效果的化合物在临床试验中屡屡失效,由此可见一斑。截至 2020 年 7 月,小鼠肿瘤生物学数据库显示至少有 19242 篇研究论文与小鼠肿瘤模型有关,仅由美国国立卫生研究院资助的正在进行的人源性异种移植瘤相关研究的总预算达到 1.16 亿美元之多。临床试验的失败沉重打击了药物开发的积极性,Yuan 等^[48]针对肿瘤模型探讨了临床试验失败的原因,在 184 个人源性异种移植瘤模型中有 170 个感染了小鼠病毒,这很可能导致该模型的评价药效的可靠性。除了实验过程存在偏差外,有些文献报道缺失相关信息,甚至是细胞数目、给药剂量、初次给药标志以及疗程等重要信息,这给不同研究者的交流带来很多不确定性,进而影响实验评价的客观性。全世界每年开展大量癌症移植瘤模型相关动物实验,错误设定实验条件将浪费大量人力、财力,而且给临床转化制造不可估量的困难,这就要求科研工作者慎重选择动物模型,以权威的参考文献为指导,严格执行实验流程,客观评价实验结果。新化合物进入临床研究的前提是动物实验,而动物实验的关键则在于统一而准确的操作规范,只有纠正实验偏差动物实验的数据才能更好的为临床转化服务。

参考文献:

- [1] Latest global cancer data: Cancer burden rises to 19.3 million new cases and 10.0 million cancer deaths in 2020. [J/OL] <https://www.iarc.fr/fr/news-events/latest-global-cancer-data-cancer-burden-rises-to-19-3-million-new-cases-and-10-0-million-cancer-deaths-in-2020/>.

- [2] Bonaccorsi PM, La Bb Ozzetta M, Barattucci A, et al. Synthesis of curcumin derivatives and analysis of their antitumor effects in triple negative breast cancer (TNBC) cell lines [J]. *Pharmaceuticals*, 2019, 12(4) : 1-19.
- [3] Sun X, Wang M, Wang M, et al. Metabolic reprogramming in triple-negative breast cancer [J]. *Front Oncol*, 2020, 10 (428) : 1-15.
- [4] Kim B, Hebert JM, Liu D, et al. A lipid targeting, pH-responsive nanoemulsion encapsulating a DNA intercalating agent and HDAC inhibitor reduces TNBC tumor burden [J]. *Adv Therap*, 2021, 4(3) : 2000211-2000211.
- [5] Mccann KE, Hurvitz SA. Innovations in targeted therapies for triple negative breast cancer [J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2021, 33(1) : 34-47.
- [6] Khosravi-Shahi P, Cabezón-Gutiérrez L, Aparicio Salcedo MI. State of art of advanced triple negative breast cancer [J]. *Breast J*, 2019, 25(5) : 967-970.
- [7] Yu M, Gai C, Li Z, et al. Targeted exosome-encapsulated erastin induced ferroptosis in triple negative breast cancer cells [J]. *Cancer Sci*, 2019, 110(10) : 3173-3182.
- [8] 中国医师协会肿瘤医师分会乳腺癌学组. 铂类药物晚期乳腺癌应用专家共识(2020 版) [J]. *中华肿瘤杂志*, 2021, 43 (2) : 167-175.
- [9] Li CY, Zhang S, Zhang XB, et al. Clinicopathological and prognostic characteristics of triple-negative breast cancer (TNBC) in Chinese patients; a retrospective study [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(6) : 3779-3784.
- [10] 朱阳, 程璐洁, 刘扬中. 铂类抗肿瘤配合物的研究进展 [J]. *药理学进展*, 2020, 44(4) : 243-255.
- [11] 王悦璇, 刘秀均. 顺铂的作用靶点及耐药机制的研究进展 [J]. *中国医药生物技术*, 2020, 15(3) : 316-319.
- [12] 任俊, 柯重伟. 奥沙利铂抗肿瘤及其耐药机制的研究进展 [J]. *上海医药*, 2021, 42(4) : 3-8.
- [13] Di H, Wu H, Gao Y, et al. Doxorubicin- and cisplatin-loaded nanostructured lipid carriers for breast cancer combination chemotherapy [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2016, 42(12) : 2038-2043.
- [14] Zeng L, Li W, Chen CS. Breast cancer animal models and applications [J]. *Zool Res*, 2020, 41(5) : 477-494.
- [15] 孙丽华, 崔海峰, 彭博, 等. 4 种方法制备小鼠乳腺癌移植瘤模型比较研究 [J]. *中国新药杂志*, 2020, 29(4) : 449-455.
- [16] 李日飞, 袁娜, 冶冬阳, 等. 乳腺癌实验动物模型的研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2018, 28(2) : 113-118.
- [17] 王峥, 苗晋鑫. 黑色素瘤小鼠模型研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2021, 31(2) : 120-127.
- [18] Pulaski BA, Ostrand-Rosenberg S. Mouse 4T1 breast tumor model [J]. *Curr Portoc Immunol*, 2001, 5(39) : 1-16.
- [19] 赵帅. 九香虫血淋巴对小鼠乳腺癌移植瘤生长抑制作用 [D]. 贵阳: 贵州大学, 2020.
- [20] 孙浩, 沈卫星, 徐长亮, 等. 消癌解毒方联合顺铂通过调控组蛋白去甲基化酶抑制 4T1 荷瘤小鼠肿瘤生长 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(13) : 78-84.
- [21] 张荣嘎. 芪术蚤复方对乳腺癌模型小鼠的抑制作用及机制研究 [J]. *四川中医*, 2018, 36(12) : 53-56.
- [22] Mohamad NE, Abu N, Yeap SK, et al. Bromelain enhances the anti-tumor effects of cisplatin on 4t1 breast tumor model *in vivo* [J]. *Integr Cancer Ther*, 2019, 18(1) : 1-7.
- [23] Li Y, Yue K, Li L, et al. A Pt (IV)-based mononitro-naphthalimide conjugate with minimized side-effects targeting DNA damage response via a dual-DNA-damage approach to overcome cisplatin resistance [J]. *Bioorg Chem*, 2020, 101 (2020) : 1-9.
- [24] Milena J, Aleksandar A, Jelena P, et al. The organic ester O,O'-diethyl-(S, S)-ethylenediamine- N, N'-Di-(3-cyclohexyl) propanoate dihydrochloride attenuates murine breast cancer growth and metastasis [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(46) : 28195-28212.
- [25] Paraskar A, Soni S, Basu S, et al. Rationally engineered polymeric cisplatin nanoparticles for improved antitumor efficacy [J]. *Nanotechnology*, 2011, 22(26) : 265101-265109.
- [26] Zhou FY, Feng B, Yu HJ, et al. Cisplatin prodrug-conjugated gold nanocluster for fluorescence imaging and targeted therapy of the breast cancer [J]. *Theranostics*, 2016, 6(5) : 679-687.
- [27] Sengupta P, Basu S, Soni S, et al. Cholesterol-tethered platinum II-based supramolecular nanoparticle increases antitumor efficacy and reduces nephrotoxicity [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(28) : 11294-11299.
- [28] Yu T, Li YS, Gu XY, et al. Development of a hyaluronic acid-based nanocarrier incorporating doxorubicin and cisplatin as a pH-sensitive and cd44-targeted anti-breast cancer drug delivery system [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11(1) : 1370-1381.
- [29] Lee JO, Kang MJ, Byun WS, et al. Metformin overcomes resistance to cisplatin in triple-negative breast cancer (TNBC) cells by targeting RAD51 [J]. *Breast Cancer Res*, 2019, 21 (1) : 115-133.
- [30] 徐林, 蒋正刚, 李宝华, 等. 小鼠乳腺癌实验动物模型中 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞的变化及意义 [J]. *复旦学报(医学版)*, 2006, 33(6) : 736-740.
- [31] Xia TS, Wang J, Yin H, et al. Human tissue-specific microenvironment: an essential requirement for mouse models of breast cancer [J]. *Oncol Rep*, 2010, 24(1) : 203-211.
- [32] 范萍, 王水, 查小明, 等. BALB/C 小鼠乳腺癌移植模型的研究 [J]. *中华实验外科杂志*, 2004, 21(7) : 873-873.
- [33] 严丽, 李莉, 郝芳, 等. BALB/c 小鼠乳腺癌 4 T1 细胞株移植模型的建立 [J]. *中国免疫学杂志*, 2014, 30(6) : 794-796.
- [34] 王硕. 小鼠乳腺癌细胞 4T1 对不同品系小鼠乳腺癌模型的影响 [J]. *天津医科大学学报*, 2018, 24(4) : 11-13.
- [35] Tavera-Mendoza LE, Brown M. A less invasive method for orthotopic injection of breast cancer cells into the mouse mammary gland [J]. *Lab Anim*, 2017, 51(1) : 85-88.
- [36] 徐向勇, 王清, 许平, 等. 晚期非小细胞肺癌组织 ERCC1 和 BRCA1 表达与铂类化疗敏感性临床研究 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2017, 24(3) : 178-182.

- [37] 陈艳宇, 傅思莹, 赵文珍, 等. 紫杉醇联合卡铂方案在三阴性乳腺癌新辅助化疗中的治疗效果及对患者病理变化的影响 [J]. 中国妇幼保健, 2021, 36(7): 1477-1480.
- [38] 徐亮, 梁文昌, 阚随随, 等. 紫杉醇、奥沙利铂与吉西他滨注射液联合治疗晚期三阴性乳腺癌的效果及安全性 [J]. 现代医药卫生, 2020, 36(11): 1701-1703.
- [39] Cheng LJ, Li C, Yuan SM, et al. Reaction of Histone H1 with trans-Platinum complexes and the effect on DNA platination [J]. Inorg Chem, 2019, 58(9): 6485-6494.
- [40] Muhammad N, Sadia N, Zhu CC, et al. Biotin-tagged platinum (iv) complexes as targeted cytostatic agents against breast cancer cells [J]. Chem Commun, 2017, 53(72): 9971-9974.
- [41] 曾沛玉, 陈敏, 王丹, 等. 一种磁性介孔硅纳米复合物的制备及其对顺铂前药的释放研究 [J]. 广东化工, 2021, 48(5): 22-23.
- [42] 任玉双, 郭园园, 刘学怡, 等. 顺铂前药接枝修饰硫代 DNA 及其自组装靶向纳米药物研究 [J]. 高等学校化学学报, 2020, 41(8): 1721-1730.
- [43] 孙晓萌, 高社干. 三阴性乳腺癌的临床治疗现状及新进展 [J]. 实用癌症杂志, 2020, 35(6): 1037-1039.
- [44] 刘艳杰. 吉西他滨联合铂类药物治疗转移性三阴性乳腺癌的分析 [J]. 中国医药指南, 2020, 18(18): 160-161.
- [45] 张宪生, 陆家齐. 大剂量顺铂治疗晚期乳腺癌(附 36 例报告)[J]. 河北医药, 2002, 24(12): 941-942.
- [46] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [47] 肖洋洋, 卿吉琳, 李宝绚, 等. 鼻咽癌实验动物模型的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(12): 108-112.
- [48] Yuan ZH, Fan XJ, Zhu JJ, et al. Presence of complete murine viral genome sequences in patient-derived xenografts [J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 2031-2043.

[收稿日期]2021-06-01

综述: 肠道微生物与肠病关系的研究进展

肠道微生物是指多达 $10^{13} \sim 10^{14}$ 种微生物聚集在营养丰富的肠道中, 共同构成了具有复杂且相对平衡的富有多样化特征的微生物群。肠道微生物参与物质代谢和宿主生理活动, 抑制病原微生物的生长。肠上皮细胞和黏液层与共生微生物共同构成肠上皮黏膜屏障维持肠道微生态稳态。肠道微生态失衡对多种系统疾病有重要影响, 尤其是炎症性肠病。根据世界卫生组织分类, 炎症性肠病 (Inflammatory bowel disease, IBD) 包括溃疡性结肠炎 (Ulcerative Colitis, UC) 和克罗恩病 (Crohn's disease, CD)。来自中国中央民族大学的研究者们总结归纳了目前肠道微生物在肠上皮黏膜屏障中的变化以及不同治疗方法干预后肠道微生物的变化。

文中提到, 肠黏液层分为内外黏液层, 外黏液层直接与微生物群接触且作为共生菌能量来源, 其中阿克曼菌和脆弱拟杆菌释放黏蛋白水解酶溶解黏液层为定植提供能量。在炎症性肠病模型中, 存在大量具有促炎作用的微生物群, 且 UC 模型中拟杆菌门、厚壁菌门、变形杆菌的丰度更高; 在 CD 模型中厚壁菌门显著低于健康组, 尤其是健康组动态变化的微生物群与 CD 缺少的微生物群高度重叠。

本文也介绍了不同治疗方法对炎症性肠病模型肠道微生物的影响, 包括益生菌、益生元、粪便微生物移植、饮食疗法、中草药干预, 这些方式均在不同程度上调节肠道微生物并改善肠病模型症状。

综上所述, 本文全面概括了目前肠道微生态与肠上皮黏膜屏障的关系以及不同肠道模型中肠道菌群的变化, 指出了研究者通过选择合适的动物模型来研究不同的菌群功能, 有利于进一步探索肠道微生态的功能机制以及开展相应的临床研究。

该研究成果发表于《动物模型与实验医学(英文)》期刊 (*Animal Models and Experimental Medicine*, 2022, 8(4): 297-310; <https://doi.org/10.1002/ame2.12262>)。