



陈艳娟, 本科毕业于华中农业大学, 中级兽医师, 现工作于上海实验动物研究中心模式生物研发部。主要从事肿瘤免疫方向的模式动物模型研发及表型研究工作。近3年参与上海市科研项目 and 上海市产业协同创新专项各1项, 发表SCI及中文核心期刊论文4篇, 获得实用新型专利授权2项。

沈如凌, 生物学博士, 副研究员, 上海实验动物研究中心模式生物研发部部长, 上海科学院模式动物转化研究所副所长, 《实验动物与比较医学》杂志青年编委, 中国医药生物技术协会组织生物样本库分会委员。主持基因编辑模式动物研发及模型资源库建设工作, 已带领团队完成基因敲除/敲入小鼠模型研发及表型研究150余种, 为神经退行性疾病、免疫及感染性疾病、肿瘤治疗、代谢和心脑血管疾病等方向的应用研究提供模型支撑, 先后承担或参与国家和省部级疾病动物模型研发及抗肿瘤研究方向的课题多项, 以通信作者或第一作者身份在国内外学术期刊上发表相关论文20余篇, 获得发明专利授权5项, 实用新型专利2项。



模式动物疾病模型在结直肠癌医学研究中的应用进展

陈艳娟, 沈如凌

(上海实验动物研究中心, 上海 201203)

[摘要] 结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是全球第三大常见的恶性肿瘤, 最新统计数据显示CRC发病人数占全球癌症病例总数的10%, 为癌症死亡的第二大主因。CRC是一种高度异质性疾病, 其发生发展是由多个基因表达突变引起功能异常或表观遗传变化所驱动, 并经过不同途径发展为肿瘤。由于遗传、环境、伦理以及患者本身个体差异等复杂因素限制了CRC在人体上的研究, 动物疾病模型已成为研究该疾病必不可少的工具, 在预防、治疗、临床前研究和基础性研究中发挥重要作用。CRC疾病模型种类丰富, 其中小鼠模型应用最为广泛, 根据造模方式不同分为自发性、化学诱导、移植瘤和基因工程小鼠模型, 各有其不同特点及应用前景。本文重点阐述CRC小鼠模型, 同时介绍大鼠、实验猪、斑马鱼等动物模型的最新研究进展, 以期CRC动物模型的选择和应用提供参考。

[关键词] 结直肠癌; 动物模型; 移植瘤模型; 化学诱导模型; 基因工程模型

[中图分类号] R-332; Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2023)05-0512-12



Progress in the Application of Animal Disease Models in the Medical Research on Colorectal Cancer

CHEN Yanjuan, SHEN Ruling

(Shanghai Laboratory Animal Research Center, Shanghai 201203, China)

Correspondence to: SHEN Ruling (ORCID: 0000-0002-7529-810X), E-mail: shenruling@slarc.org.cn

[ABSTRACT] Colorectal cancer (CRC) is the third most common malignant tumor in the world. The latest statistics show that CRC accounts for 10% of all cancer cases worldwide and is the second leading cause of cancer deaths. CRC is a highly heterogeneous disease, the development of which is driven by functional abnormalities or epigenetic changes caused by multiple gene expression mutations, and there are different

[基金项目] 上海市科技创新行动计划实验动物专项课题“人源化小鼠模型的建立和评价平台建设”(2214900102); 上海实验动物研究中心科技创新计划新星项目“自发性肠癌ApcL850X点突变小鼠模型建立及表型研究”(2021NS03)

[第一作者] 陈艳娟(1991—), 女, 本科, 中级兽医师, 研究方向: 模式动物模型研发及表型研究。E-mail: chenyanjuan@slarc.org.cn

[通信作者] 沈如凌(1981—), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 模式动物模型研发及表型研究。E-mail: shenruling@slarc.org.cn。ORCID: 0000-0002-7529-810X

pathways that lead to tumor formation. Complex factors such as genetics, environment, ethics, and individual differences of patients themselves limit the study of CRC in humans, so the disease animal models have become an indispensable tool for the study of CRC, and play an important role in prevention, treatment, preclinical research and basic research. There are various types of CRC animal models, of which mouse models are the most widely used. According to different model establishing methods, the models are divided into spontaneous, chemically induced, transplanted tumor and genetic-engineering mouse models. Different models have different characteristics and application prospects. In this study, we focus on these mouse models of CRC in detail, and introduce the latest research progress of CRC models in rats, experimental pigs and zebrafish, to provide reference for the selection and application of animal models of CRC.

[Key words] Colorectal cancer; Animal model; Transplanted tumor model; Chemical induced model; Genetic-engineering model

结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是最常见的消化道恶性肿瘤^[1]。2020年CRC发病人数占全球癌症病例总数的10.0%,是仅次于肺癌和乳腺癌的全球第三大常见的恶性肿瘤,也是因癌症死亡的第二大主因^[2]。国内数据显示,CRC在我国的发生率和死亡率在未来一段时间仍将呈上升趋势^[3]。CRC按发病因素可以分为遗传性和散发性^[4],按发病年龄又可以分为早发性(患者年龄<50岁)和迟发性(患者年龄>50岁)^[2, 5]。研究显示,遗传性CRC与特定性遗传基因异常相关,其发病多有家族性聚集现象,占发病总数的5%~10%,而90%以上病例属于散发性CRC^[4]。除家族性遗传因素外,环境因素如肥胖、饮酒、吸烟、饮食习惯等不良生活方式使CRC发病年龄提前^[4],早发性CRC的发病率在全球范围内近几年明显上升^[6]。因此,CRC的预防和治疗已成为全球化的公共卫生问题之一^[7]。

动物模型是研究CRC必不可少的工具。用致癌物诱导方法最早建立的CRC模型已过去80多年,至今CRC小鼠模型依然在评估饮食影响、营养元素、化学性预防以及研究肠道菌群与CRC关系中发挥重要作用^[7]。1990年Moser等^[8]首次利用基因工程技术建立了第1个基因突变结肠癌腺瘤性息肉病小鼠模型——*Apc^{Min}*小鼠,用于人类家族性腺瘤性息肉病(familial adenomatous polyposis, FAP)的研究。到目前为止,已有相当数量的CRC动物模型陆续被开发出来。如何从这些动物模型中挑选合适的研究对象成为研究者面临的一大挑战。

本文回顾了近几年CRC动物模型的研究进展,从发病机制、模型种类和模型应用等方面进行详细综述,

以期研究人员在科学研究过程中合理选择和应用CRC动物模型提供借鉴和帮助。

1 CRC发病机制

CRC是一种高度异质性疾病,其发生发展由多个基因表达突变引起的功能异常或表观遗传变化所驱动,这些改变最终导致正常上皮细胞异常增殖,并决定疾病发展进程^[9-10]。CRC发病机制高度复杂,目前尚未完全阐明其恶性病变的发生机制。目前,人们对遗传性CRC如FAP、遗传性非息肉性CRC (hereditary nonpolyposis colorectal cancer, HNPCC) 和Lynch综合征等的肿瘤相关性突变基因已经有了比较精准的认识^[11]。但散发性CRC发病受多种因素影响,研究者根据散发性CRC的发生发展途径划分为三类。首先,约90%的病例起源于异常隐窝(aberrant crypt foci, ACF),随后逐渐演变为良性和腺瘤性息肉,最终发展为散发性CRC,这一过程持续时间可长达10~15年,被认为是传统的“腺瘤-癌-转移”模式的经典途径,即染色体不稳定性分子途径。其分子机制是以*APC*突变为关键起始事件,导致Wnt信号通路异常激活,随后引起肿瘤抑制基因*P53* (tumor suppressor gene *P53*, *TP53*) 和Kirsten大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog, KRAS) 突变事件,从而驱动CRC的侵袭和转移^[12]。另有研究显示,基因磷脂酰肌醇-4, 5-二磷酸3-激酶催化亚基 α (phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha, PIK3CA)、磷酸酶及张力蛋白同源物(phosphatase and tensin homolog, PTEN)、SMAD家族成员(SMAD family member, Smad) 2和SMAD4也参

与CRC的发生发展过程^[4,11]。其次,超过15%的CRC病例是通过锯齿状腺瘤路径进化,根据病变形态特征不同又分为增生性息肉、无柄锯齿状病变、传统锯齿状腺瘤和锯齿状腺瘤伴不典型增生4种,是以CpG岛甲基化为特征表型,基因*BRAF*和*KRAS*呈现较高的突变频率,锯齿状腺瘤的发展速度比传统的腺瘤-癌途径快^[13]。此外,CRC的另一种特殊途径是结肠炎相关癌症,最常见于炎症肠病(inflammatory bowel disease, IBD)患者,随患病时间延长,其发展为CRC的风险增加2~3倍^[14]。正是这种从遗传到表观的复杂分子生物学特性,反过来影响肿瘤治疗反应和患者存活率^[15]。

由于遗传、环境、伦理以及患者本身的个体差异等复杂因素限制了CRC在人体上的研究,但是这些特征可以在疾病动物模型上得到体现。通过制备疾病动物模型开展研究有助于揭示潜在的致癌机制、肿瘤生物学特征以及特定分子作用对CRC的影响。具有人类CRC特征的疾病动物模型已广泛应用于CRC预防和治疗的研究。然而,由于这些模型在侵袭性、转移性和肿瘤异质性等方面的局限,加上发病后模型动物寿命缩短等因素,目前大多数动物模型只能模拟人类CRC早期病理过程^[8]。因此,本文对现有的CRC动物模型进行了梳理,以期为研究者选择合适的动物模型提供帮助。

2 CRC动物模型

理想的CRC动物模型应能概括从癌前腺瘤到具有转移潜力的浸润性癌的发展过程,同时应能反映该疾病的个体间分子多样性^[8]。但到目前为止还没有一种模型能概括人类CRC的所有典型特征,因而应有选择性地利用现有模型深入了解其致病机制和测试创新治疗手段提供可实施的研究对象^[16]。

2.1 CRC小鼠模型

小鼠因生命周期短、易操作,是进行生物医学研究的最好模式动物之一,也是研究CRC必不可少的工具。根据造模方式不同,CRC小鼠模型大致可分为自发性模型、化学诱导模型、移植瘤模型和基因工程小鼠模型。

2.1.1 自发性CRC小鼠模型

自发性的胃肠道肿瘤在小鼠中发生率极低,多在老龄小鼠肠道内发现上皮腺瘤或增生性病变^[16-17]。研究发现通过饮食诱导可以显著提高自发性肠道肿瘤的

发生率。在使用缺乏钙和维生素D3且甲基供体营养物(包括纤维、叶酸、蛋氨酸和胆碱)含量低的改良西式饮食饲喂2年后,25%的C57BL/6小鼠发生肠道肿瘤且病理显示肿瘤发展为浸润性癌,同时发现在饮食中增加钙和维生素D含量可以完全抑制这种饮食诱导的结肠肿瘤发展^[18]。该研究结论为进一步在人体上研究钙和维生素D如何降低CRC患病风险提供了建议。更多研究显示,饮食通过诱导小鼠肠道微生物生态失调、代谢组失调(溶血磷脂酸升高)和肠道屏障功能障碍而促进肿瘤的发生和发展^[19-20]。

2.1.2 化学诱导小鼠模型

化学诱导模型是指通过给予特定的化学物质如致癌物质或致突变物质,诱导动物CRC形成。这些模型模拟了人类CRC多步骤的发展过程,并可以研究不同阶段的分子机制。用于诱导类似人类恶性肿瘤结直肠病变的化学致癌物主要有以下4类:杂环胺类、芳香胺类、烷化基化合物类、二甲基胍及偶氮氧甲烷类。这些物质的致癌特性及其对组织发生的影响,以及动物遗传背景的易感性和环境因素之间的相互作用已经有相关报道^[21]。

杂环芳香族胺由肉类经煎烤产生,在肝脏中被细胞色素p450转化为羟基氨基衍生物,随后被酯化酶、乙酰转移酶和磺基转移酶进一步活化,最终通过与DNA作用产生终代谢产物,使碱基发生取代、缺失和插入,从而导致DNA序列的变化^[22]。该类致癌物的主要代表是2-氨基-33-甲基咪唑[4, 5-f]喹啉(2-amino-33-methylimidazo [4, 5-f] quinoline, IQ)和2-氨基-1-甲基-6-苯基咪唑[4, 5-b]吡啶(2-amino-1-methyl-6-phenylimidazol [4, 5-b] pyridine, PhIP),已被用于CRC化学诱导实验^[21]。IQ和PhIP能够在小鼠体内诱导产生ACF,并且随着时间的延长,ACF数量显著增加,但这两种化合物诱导的小鼠结肠内未发现肿瘤。此外,这些致癌化合物显示出多器官靶点特异性,在啮齿类动物中也能诱导除CRC之外如乳腺癌、前列腺癌、淋巴瘤等并发癌症^[21]。与PhIP类似,芳香胺二甲基苯并蒽(7, 12-dimethylbenz-anthracene, DMBA)在大鼠中也以多器官为靶点,结直肠、乳腺和前列腺为常见的肿瘤发生部位^[21],并且这些致癌物存在明显的种属特异性。Elizabeth等^[23]研究发现,利用DMBA诱导C57BL/6J小鼠未发现产生ACF,提示小鼠结肠不是DMBA的特异性靶器官。而另一类烷化基化合物甲基亚硝基脲(N-nitroso-N-

methyleurea, MNU) 和 N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍 (N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, MNNG) 与脏器的直接作用可引起多器官恶性肿瘤^[24]。1974 年 Narisawa 等^[25] 采用 MNNG 直肠灌注方式直接引起结肠黏膜病变, 从而导致腺瘤和腺癌的发生。因为不需要代谢激活, 以上这类化合物可能是理想的局部致癌物, 但此类 CRC 动物模型的构建需要多次给药, 并伴有能引起多器官恶性肿瘤的强致癌作用, 因此也暴露了这类化合物致癌特异性不高的使用弱点^[21]。

相比其他类致癌物, 1, 2-二甲基肼 (1, 2-dimethylhydrazine, DMH) 及其代谢物氧化偶氮甲烷 (azoxymethane, AOM) 是最常用的 CRC 致癌物^[24]。给药期间 AOM 比 DMH 具有更强的效力和更高的稳定性^[26]。在啮齿类动物中, AOM 与致炎剂葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium salt, DSS) 联合使用, 已成为研究 CRC 发生机制和化学预防干预 CRC 研究的经典造模方式^[21]。AOM-DSS 动物模型可以模拟人类 CRC 早期发病过程, 同时在分子水平引起一系列参与代谢、氧化应激、黏蛋白产生和炎症相关的功能蛋白差异化表达^[27-28]。其中, 在人类和小鼠 CRC 中均发现存在 β -catenin 和 Kras 突变, 并且其参与 AOM-DSS 诱导 CRC 发生的早期阶段, 与肿瘤发生及肿瘤大小增加有关^[29]。AOM 和 DSS 联合使用时, 肿瘤生长加快, 潜伏期明显缩短^[21]。多种 AOM-DSS 联合使用方案已经被报道, 给药剂量和小鼠遗传背景在 AOM-DSS 联合使用诱导肿瘤中发挥重要作用^[21]。研究显示, 与 C3H/HeN、C57BL/6J 和 DBA/2N 等品系相比, BALB/c 小鼠对 AOM 更易感^[26]。Tanaka 等^[30] 使用 ICR 小鼠单剂量腹腔注射 AOM (10 mg/kg), 2% DSS 饮水饲喂 7 d, 最早在 12 周活检时发现肿瘤。而相比单循环 DSS 暴露, 多次 DSS 循环炎性刺激后, ICR 小鼠肠道肿瘤增长更快, 10 周即发现较大肿瘤^[31]。但值得注意的是, 使用 AOM 联合 DSS 诱导小鼠模型不发生 p53 基因突变, 并且极少见肿瘤发生黏膜侵袭和远端转移^[21]。

AOM-DSS 诱导动物模型应用广泛, 可用于从肠道病变、信号通路蛋白和炎症因子变化, 以及肠道微生物种群影响等方面评估饮食、膳食补充剂、化合物对 CRC 作用的机制研究。Corpet 等^[32] 总结 *Apc*^{min/+} 小鼠和 AOM 诱导大鼠模型是研究食品添加剂对 CRC 影响的主要动物模型, 提示聚乙二醇、橙皮苷、蛋白酶抑制剂等物质作为 CRC 预防剂的可能性。因此, 化学诱导 CRC 模型可为选择预防 CRC 的方法提供指导性意见。

2.1.3 移植瘤小鼠模型

相比其他模型, 移植瘤模型在研究 CRC 临床表现和治疗进展方面具有明显优势^[33]。通常将肿瘤细胞系或组织块置于小鼠体内构建动物移植瘤模型。宿主、异种移植物和移植途径是构建不同移植瘤小鼠模型的关键基础^[34]。

根据接种部位分为皮下注射模型和原位注射模型。皮下注射是构建移植瘤模型的常用方法, 操作简单, 使用方便, 能够监测肿瘤生长, 诱导肿瘤形成的成功率高, 广泛用于肿瘤发展的研究和药效评估, 但是该模型的肿瘤侵袭和转移性较差, 皮下肿瘤生长环境和免疫微环境差异限制了皮下移植瘤的应用。与皮下肿瘤相比, 原位注射模型的最大优点是模拟肿瘤生长环境, 并且将癌细胞注射到特定器官如盲肠、尾静脉和脾脏等可导致肝、肺和骨转移^[34]。原位移植瘤模型的构建为研究肿瘤进展及其对新疗法的反应提供了有价值的研究平台。经过多年的小鼠体内肿瘤发展研究, 癌细胞接种的宿主经历多个阶段变化, 从免疫健全小鼠到免疫缺陷小鼠如无胸腺裸小鼠 (athymic nude mice, Nude), 再到重度免疫缺陷小鼠 (severe combined immunodeficiency mouse, SCID), 最近又到新型联合免疫缺陷小鼠如 NOG/NSG/NOJ 小鼠、Nude R/J 小鼠, 以及在小鼠体内重建人体功能性免疫系统的人源化小鼠^[33]。这些宿主为研究肿瘤和免疫相互作用、监测免疫治疗和评估疗效提供了更好的选择。

根据异种移植物来源又分为 3 类: 细胞系来源的异种移植瘤模型 (cell-derived xenograft, CDX)、人源肿瘤组织来源的移植瘤模型 (patient-derived xenograft, PDX) 和人源肿瘤组织类器官 (patient-derived organoid, PDO)^[33]。不同异种移植物来源的移植瘤模型具有不同特点。与其他模型相比, CDX 模型与人类肿瘤高度同源, 并且造模操作简单, 成瘤率高, 成瘤时间短 (2~8 周)^[33]。经多项研究比较发现, 肿瘤生长速度与肿瘤细胞类型及选择动物种类有关。Rodriguez 等^[35] 将人 CRC HCT116 细胞注射入裸小鼠皮下, 移植 10 d 后大多数动物 (>90%) 出现可测量的肿瘤结节。Bellamkonda 等^[36] 同时在裸小鼠皮下注射 HT29 和 SW480 等人体 CRC 细胞构建移植瘤小鼠模型, 两种移植瘤模型在 21 d 左右的肿瘤体积均达到 1 000 mm³, 并可用于评估药物疗效。Bernhard 等^[37] 分别在 SCID 小鼠和裸小鼠皮下注射人 CRC LIM1215 细胞, 大约 7 周后仅在 SCID 小鼠中形成较大肿瘤, 而裸小鼠中

的肿瘤仍然很小。

另外，肿瘤转移率也取决于细胞系、植入部位和小鼠品系^[24]。Flatmark等^[38]同时分别将12株人CRC细胞系经皮下移植形成的肿瘤组织块移植到裸小鼠的盲肠壁上，发现只有20%的来源于SW620细胞的荷瘤小鼠发生肝转移，而除了SW480和Colo320外的其他肿瘤细胞系均发生淋巴结转移。Céspedes等^[39]将HCT116、SW620和DLD-1肿瘤细胞注入Swiss nu/nu小鼠盲肠壁后发现，HCT116细胞发生原位肿瘤的生长速度相比其他两种肿瘤细胞更快，移植了HCT116和

SW620细胞的小鼠100%发生肠系膜淋巴结病灶，而DLD-1细胞接种小鼠只有57%发生淋巴结病灶，3种肿瘤细胞系发生肝脏和肺脏转移灶的比率也有很大差异。除了常见的人原发肿瘤细胞系外，经化学诱导获得的小鼠CRC细胞系如BALB/c小鼠来源的CT26细胞、C57BL/6J小鼠来源的MC38细胞，它们可接种于同源小鼠品系皮下形成移植瘤，用于研究肿瘤在完整免疫系统环境下的生长情况^[33]。常用于构建移植瘤小鼠模型的CRC细胞系特征归纳见表1。

表1 用于构建移植瘤小鼠模型的结直肠癌细胞系特征

Table 1 Characterization of colorectal cancer cell lines used to construct transplanted tumor mouse models

肿瘤细胞系名称 Tumor cell line names	来源 Source	MSI 状态 MSI status	突变基因 Mutant gene	参考文献 Reference
HCT116	人源	MSI	<i>KRAS</i> 、 <i>PIK3CA</i>	[40]
LIM1215	人源	-	-	-
HT29	人源	MSS	<i>APC</i> 、 <i>BRAF</i> 、 <i>PIK3CA</i> 、 <i>TP53</i>	[40]
SW480	人源	MSS	<i>APC</i> 、 <i>KRAS</i> 、 <i>TP53</i>	[40]
SW620	人源	MSS	<i>APC</i> 、 <i>KRAS</i> 、 <i>TP53</i>	[40]
HCT15	人源	MSI	<i>APC</i> ^[41] 、 <i>KRAS</i> 、 <i>PIK3CA</i> 、 <i>TP53</i>	[40]
Colo320DM	人源	MSS	<i>APC</i> 、 <i>TP53</i>	[40]
Co115	人源	MSI	<i>BRAF</i> 、 <i>PTEN</i>	[40]
CaCo2	人源	MSS	<i>APC</i> 、 <i>TP53</i>	[40]
WiDr	人源	MSS	<i>APC</i> 、 <i>BRAF</i> 、 <i>PIK3CA</i> 、 <i>TP53</i>	[40]
COLO205	人源	MSS ^[42]	<i>BRAF</i> ^[43]	-
DLD-1	人源	MSI	<i>KRAS</i> 、 <i>PIK3CA</i> 、 <i>TP53</i>	[40]
CT26	BALB/c 小鼠	MSS ^[44]	<i>KRAS</i> ^[45]	[44-45]
MC38	C57BL/6J 小鼠	MSI ^[44]	-	[44]

PDX模型是将患者肿瘤直接植入免疫缺陷小鼠而生产的模型。与CDX模型相比，PDX模型在细胞和基因水平上都表现出异质性，为鉴定新的生物标志物和新靶点以及评估治疗反应和耐药机制提供了一个有利的平台^[46]。但其缺点是建模周期长（2~4个月），成本高，建模过程中存在发生突变的可能，PDX移植成功依赖于手术标本来源^[33]。而PDO模型的出现为PDX模型的局限性提供了一个可行的解决方案。PDO是源自患者干细胞或分离器官祖细胞培养的3层立体结构的多细胞聚集体，其不仅保留肿瘤细胞特性，同时还保留其组织功能^[33]。产生类器官的细胞起源包括多能干细胞（pluripotent stem cells, PSCs）和成体干细胞（adult stem cells, ASCs），而PSCs即胚胎干细胞（embryonic stem cells, ESCs）和诱导干细胞（induced PSCs, iPSCs）。在特定培养条件下，PSCs和ASCs能在培养基质中形成3D结构的类器官。但由于道德伦理限

制，人类胚胎干细胞既不方便也不允许使用，而ASCs和iPSCs则广泛用于类器官构建^[47]。2009年，Sato等^[48]利用来源于小鼠肠隐窝单层G蛋白耦合受体5阳性表达的干细胞成功建立了3D隐窝绒毛结构的肠道类器官。随后类器官的发展开启了新时代。而Sato等^[49]也在2011年成功利用类器官培养系统培养小鼠*Apc*缺陷腺瘤、人类CRC细胞和人类巴雷特食管上皮细胞，并尝试用于癌症研究。随着技术的发展，Drost等^[50]使用CRISPR/Cas9技术对培养的人类肠道干细胞中4个最常见的CRC相关基因（*APC*、*TP53*、*KRAS*和*SMAD4*）进行有针对性的基因改造，然后将培养的类器官异种移植到小鼠身上，结果发现该类器官能够作为肿瘤生长，并且具有浸润性癌的特征，这进一步拓展了类器官的应用范围。

近年来，Pauli等^[51]建立了56个肿瘤源性类器官（即PDO）和19个患者源性异种移植（即PDX）模型

用于高通量药物筛选平台, 经过体外3D培养和体内PDX模型验证药物和药物组合的有效性, 为新治疗方法的发现和个性化治疗选择提供了评估方法。肿瘤类器官培养也成为PDO模型成功建立的关键, 其发展为个性化医疗和癌症研究提供了新的研究工具和方向。CRC类器官的应用方向除了文献^[50]所体现的CRC动物模型构建方法外, 还包括直接进行CRC分子与遗传学研究, 例如Ponsioen等^[52]利用来自KRAS和BRAF突变的CRC患者源性类器官(即PDOs), 研究EGFR信号通路在肿瘤发展过程中的作用。与癌细胞系相比, 肿瘤类器官更显优势: 一是可以在长期培养中保持遗传稳定性, 保留细胞-细胞和细胞-基质的相互作用, 并可反映其来源的原始肿瘤的特征(如组织学和突变表型); 二是就药物敏感性而言, 肿瘤类器官可能提供个性化的临床使用数据, 类器官可以来源于多种类型肿瘤, 更容易建立和反映肿瘤的异质性^[33]。在最新研究中, 研究者利用患者来源的结肠上皮细胞构建结肠芯片以模拟人类结肠黏液生理的体外模型, 构建了一种新的临床前工具, 可以用于分析黏液在人体肠道稳态以及溃疡性结肠炎和癌症等疾病中的作用^[33]。

2.1.4 基因工程小鼠模型

基因工程小鼠广泛用于研究CRC^[34]。根据人类CRC发病机制, 基因工程小鼠模型分为三大类: 一是针对人类遗传综合征FAP, 以Apc基因突变为主要的基因工程小鼠模型; 二是针对HNPCC研究的基因工程小鼠模型; 三是结肠炎相关癌(IBC-CRC)基因工程小鼠模型^[24, 53-54]。

FAP是一种高外显率的遗传性疾病, 会导致结肠内出现大量息肉。APC基因的功能是在研究FAP过程中被发现的^[55], 约90%的CRC患者发生APC基因突变^[34]。1990年, Moser等^[8]建立第一个肠道多发性肿瘤基因突变小鼠Apc^{min/+}, 该小鼠模型在日龄120~140 d时小肠中产生大量腺瘤, 并且随着年龄增大, 因肠梗阻和贫血出现高死亡率, 但是肿瘤不会进一步发展成为浸润性癌。为避免因肿瘤抑制基因完全敲除引起胚胎致死的情况, 研究人员进一步采用基因点突变方法, 构建了多个其他Apc基因突变小鼠, 如Apc^{Δ716}、Apc^{Δ14}和Apc^{1638N}等。与Apc^{Δ716}、Apc^{Δ14}小鼠相比, Apc^{1638N}小鼠只有小肠发现少量肿瘤, 而另外两种突变小鼠的小肠和结肠肿瘤数量显著增多^[7]。这些Apc突变小鼠的肿瘤数量及组织病理学各有不同, 表明Apc基因不同突变位点具有敏感性差异^[34, 56]。

Cre-Loxp系统的应用可在Apc^{Min/+}小鼠上建立多种条件性基因突变小鼠模型, 单独的Apc^{min}和Apc^{Δ716}小鼠模型只能生成腺瘤, 但Apc^{min}与Smad3^{-/-}小鼠交配繁育得到Apc^{Min/+}Smad3^{+/-}双杂合小鼠品系, 或者Apc^{Δ716/+}与Smad4^{+/-}小鼠交配繁育得到Apc^{Δ716/+}Smad4^{+/-}双杂合小鼠品系, 则可发展成结直肠癌^[34]。另一项研究中, 研究者利用Cre-Loxp系统探讨了p53突变对结直肠肿瘤侵袭的影响, 即利用在Apc基因上携带有floxed片段(Apc^{fl/+})的Ah-Cre转基因小鼠与Tp53^{-/-}小鼠或Tp53^{172H/+}点突变小鼠进行交配, 得到Tp53条件性敲除品系(Ah-Cre-Apc^{fl/+}, Tp53^{fl/+})或条件性敲入品系(Ah-Cre-Apc^{fl/+}, Tp53^{172H/+}), 这两个品系分别有25%和100%的肿瘤发展为侵袭性腺癌^[57]。致癌基因Kras点突变小鼠(Kras^{G12V/+})中的Apc基因发生突变则加速了肠道肿瘤的发生, 而单独Kras^{G12V/+}点突变小鼠则需要更长时间(>500 d)发展为肿瘤^[58]。

另外研究显示, Apc基因联合Smad2、Smad4、Kras或Tp53基因突变建立的双基因突变小鼠模型, 其肿瘤不发生转移^[59]。为深入研究CRC后期转移, 研究者通过对Kras基因突变(Kras^{tm4tyj/+})的Apc^{-/-}小鼠(Apc-CKO/LSL-Kras小鼠)结肠注射Cre腺病毒(adeno-cre), 结果发现约20%的小鼠发生侵袭性腺癌, 并偶有肝转移^[60]。该模型是首次报道的转移性Apc相关基因小鼠模型。近年来Boutin等^[61]构建了另外一种基因工程小鼠, 将条件性Cre诱导小鼠Villin-Cre^{ERT2}分别与Apc^{-/-}、Tp53^{-/-}、Tet-on诱导的Kras^{G12D}小鼠交配, 获得3种条件性基因敲除小鼠, 这些模型约6周就可实现腺瘤-腺癌进展, 而且肿瘤转移到肝和肺^[59]。除了Apc基因突变, 在Vil-Cre; Brf^{N637E/+}; p53^{LSL-R172H/+}小鼠模型中, 12%~25%的小鼠肿瘤转移到局部淋巴结、胰腺或肺, 证实Tp53基因在肿瘤侵袭过程中发挥重要作用^[62]。同样Kras^{G12D}和转化生长因子受体2(transforming growth factor, beta receptor II, Tgfr2)同时缺失可诱导结肠肿瘤, 其中15%转移到淋巴结和肺部^[63]。HNPCC患者在结肠和直肠中发生较早, 一般多由DNA错配修复基因(DNA mismatch repair, MMR)基因如错配修复基因mutL同源物1(mutL homolog 1, MLH1)、mutS同源物2(mutS homolog 2, MSH2)、mutS同源物6(mutS homolog 6, MSH6)突变导致。杂合子基因缺失小鼠不能成功诱导遗传性非息肉性结直肠癌(hereditary non-polyposis colorectal cancer, HNPCC)的发生, 因此,

携带纯合缺失的小鼠已被用作 HMPCC 样癌症研究的疾病模型。*Mlh1*、*Msh2* 和 *Msh6* 基因敲除纯合小鼠表现为包括胃肠道在内的多个器官发生肿瘤，但是小鼠过早死于侵袭性淋巴瘤^[21]。因此，技术手段的更新运用以及模型的改进和完善是目前研究者亟需突破的关键。

免疫炎症可促进 CRC 发展^[64]。白细胞介素 2 (interleukin 2, *IL-2*) 和白细胞介素 10 (interleukin 10, *IL-10*) 基因敲除小鼠能诱导与人类相似的结直肠炎，并与结直肠腺癌的发生有关^[64]。黏蛋白 2 (*mucin2*, *Muc2*) 基因编码胃肠道黏液蛋白，形成一层黏液屏障可保护肠道。*Muc2* 基因敲除小鼠表现出异常的肠隐窝形态、细胞成熟及迁移的改变，并在小肠发展成腺瘤，进一步发展为浸润性腺癌和直肠肿瘤^[65]。但是这些模型的肿瘤发生率低，周期长，并且受肠道菌群的影响^[64]。另外，不同遗传背景的免疫系统对疾病的敏感性也不同^[66]。例如在 *IL-10*^{-/-} 小鼠中，相对敏感基因背景的小鼠是 C3H/HeJBir 和 129/Sv，其次是 BALB/c，而 C57BL/6 背景小鼠则相对不敏感^[67]。

目前基因工程小鼠模型已广泛应用于 CRC 机制研究，由驱动基因罕见突变引起的遗传异质性成为原发肿瘤转移和抵抗治疗的根源。Takeda 等^[68] 研究发现，携带 CRC 发展早期突变基因的小鼠比携带晚期突变基因的小鼠生存期短，提示致癌基因突变发生的顺序在肿瘤发展过程中起着重要作用；同时研究过程中发现，锌指蛋白 292 基因 (zinc finger protein 292, *Znf292*) 是与 CRC 相关的一种新的肿瘤抑制基因。

综上所述，基因工程小鼠模型对人类理解 CRC 发生、进展及分子作用做出了巨大的贡献，是基础研究中的重要工具。一方面，由于小鼠基因组异质性和人类肿瘤发展过程的差异性，以及基因工程小鼠本身发病早，寿命短的特点等因素，使得基因工程小鼠模型在临床前研究中的应用受到一定限制。另一方面，通过这种转基因技术结合可以快速筛选与 CRC 相关的潜在的驱动基因和突变途径，加快了创新药物和新疗法的研发进程^[7]。

2.2 其他 CRC 动物模型

近年来，大鼠和猪的 CRC 动物模型研究也有所进展。携带 *Apc* 基因种系杂合突变的 Pirc (*F344/NTac-Apc^{am1137}*) 大鼠，自发地在结肠中发生多发性肿瘤，可模拟 FAP 和 CRC 的发生，且大鼠肠道肿瘤的分布与人类 FAP 患者的肿瘤相似；相比其他 *Apc* 突变小鼠模型，该模型更适合化学预防研究^[69-70]。另外一种 *Apc* 突变

大鼠 Kyoto *Apc* Delta (KAD) 是纯合品系，存活时间长，不自发肿瘤，但对引起结直肠肿瘤的化合物敏感，经 AOM/DSS 联合诱导后可在直肠和结肠远端发现肿瘤^[71]。以上这两种互补的大鼠模型能够从散发性和环境因素角度研究结直肠肿瘤^[71]。

实验猪是转化生物医学研究中重要的研究对象之一，其体型和器官大小、解剖学、生理学和病理生理学与人类有较多的相似之处，可在诊断和治疗方法的开发和评估中提供有价值的依据^[72]。Flisikowska 等^[73] 采用胚胎干细胞重组方法，构建了第一个携带 *Apc¹³¹¹* 突变的猪 FAP 模型。杂合猪在 1 岁龄有异常隐窝灶和低、高级别发育不良的大肠腺瘤，可为大动物转基因模型在 CRC 诊断和治疗方面提供帮助。国内魏红江研究团队采用 CRISPR/Cas9 技术构建了 *p53* 双等位基因敲除的滇南小耳猪模型，但该模型未观察到肿瘤进展^[74]。在转移模型研究中，Callesen 等^[75] 采用克隆方法获得 Flox 转基因小型猪，使用 4-羟基他莫昔芬 (4-OH-tamoxifen, 4-OHT) 诱导致癌基因 *Kras^{G12D}*、原癌基因 *cMyc* 和猿猴病毒 40 大 T 抗原 (*SV40LT*) 的表达，发现该模型在 2 个月发展出癌并伴随淋巴结转移，但是该模型肿瘤只发生在十二指肠。迄今为止，*Apc^{1311/+}* 转基因猪模型是唯一携带内源性突变导致结直肠腺瘤的模型^[72]。

目前常用的 CRC 动物模型特点及应用范围汇总见表 2。另外，有研究人员通过将人类肿瘤细胞移植到斑马鱼体内构建一种快速、简便的移植瘤模型，并对肿瘤细胞生物学特性、侵袭和转移进行研究^[76]。由于 3 周龄内的斑马鱼幼鱼缺乏适应性免疫系统，肿瘤细胞得以在健康的胚胎和幼虫阶段移植^[77]。Maradonna 等^[78] 通过在斑马鱼胚胎中移植 HCT116 细胞而构建移植瘤模型，以此验证大麻素在个性化癌症治疗中的功效，结果有力地支持了将斑马鱼异种移植瘤模型作为一种新型癌症研究模型平台的可行性。Huebner 等^[79] 则通过将人 CRC 细胞移植入鸡胚绒毛尿囊膜建立鸡胚移植瘤模型，证明激活转录因子 2 (activating transcription factor 2, *ATF2*) 基因缺失可促进肿瘤的侵袭。以上这些新的模型均为人类 CRC 建模开辟了新的途径^[80]。

3 总结和展望

综上所述，CRC 动物模型在研究 CRC 发病机制、药物筛选和治疗方案评估方面取得了重要进展，并为

表2 目前常用CRC动物模型的特点及应用范围汇总

Table 2 The summary of characteristics and applications of currently used CRC animal models

模型分类 Model classification	诱导方式 Induction mode	动物品种品系 Species	涉及化合物 及细胞系 Relates to compounds and cell lines	突变基因 Mutant gene	局限性 Limitation	有无转移 Metastasis	应用范围 Application	参考文献 Reference
自发性肠道肿瘤模型	自发性	C57BL、BALB/c-nu小鼠	-	-	发生率极低	无	老龄化研究	[16-17]
	单纯饮食诱导	C57BL/6小鼠	-	-	诱导时间长	无	饮食对肿瘤的影响	[18]
化合物诱导模型	致癌物诱导模型	F344大鼠	PhIP、IQ	<i>Apc</i>	PhIP诱导未发现 <i>Kras</i> 和 <i>Tp53</i> 基因突变	无	化合物预防 and 风险因素识别	[81]
		F344大鼠	MNNG、MNU	<i>Apc</i> 、 <i>Kras</i>	引起多器官恶性肿瘤	-		[24]
		F344大鼠	DMBA	<i>Apc</i> 、 <i>Kras</i>	引起多器官恶性肿瘤	-		[22]
		F344大鼠、A/J小鼠	DMH、AOM	<i>Apc</i> 、 <i>Kras</i>	诱导时间长,极少转移	无		[27]
		F344大鼠、ICR小鼠	AOM/DSS	<i>Apc</i> 、 <i>Kras</i>	极少转移	无		[24, 31]
移植瘤模型	CDX模型	BALB/c、C57BL/6小鼠	C T26、MC38	-	不能准确反映人类CRC发病过程	可发生转移	发现新的肿瘤标志物,测试化合物,手术模型	[33]
	PDX模型	免疫缺陷小鼠、人源化小鼠	HCT116、HT29、LIM1215、SW480、SW620	-	建立周期长(2~4个月),成本高,过程中存在发生突变的可能	可发生转移		[38-39]
基因工程模型	<i>Apc</i> 突变相关模型	<i>Apc</i> ^{min} 小鼠	-	<i>Apc</i>	缺乏转移,肿瘤集中在小肠	缺乏转移	研究特定基因,化合物预防,风险因素识别	[56]
		<i>Apc</i> ^{Δ716} 、 <i>Apc</i> ^{Δ14} 和 <i>Apc</i> ^{1638N} 小鼠	-	<i>Apc</i>	缺乏转移,肿瘤集中在小肠	缺乏转移		[7, 29]
		<i>Apc</i> CKO/LSL- <i>Kras</i> 小鼠	-	<i>Apc</i> 、 <i>Kras</i>		肝转移		[60]
		<i>Apc</i> ^{min} <i>Smad3</i> ^{-/-} 、 <i>Apc</i> ^{Δ716/+} <i>Smad4</i> ^{+/-} 小鼠	-	<i>Apc</i> 、 <i>Smad3</i> 或者 <i>Smad4</i>	寿命短,缺乏转移	缺乏转移		[29]
		<i>Apc</i> ^{fl/+} <i>p53</i> ^{fl/+} 、 <i>Apc</i> ^{fl/+} <i>p53</i> ^{R172H/+} 小鼠	-	<i>Apc</i> 、 <i>p53</i>	缺乏转移	无		[57]
		<i>iKAP</i> 小鼠	-	<i>Apc</i> 、 <i>Kras</i> 、 <i>p53</i>	寿命短	肝和肺		[61]
	其他基因突变模型	<i>Kras</i> ^{G12D} <i>Tgfb2</i> ^{-/-} 小鼠	-	<i>Kras</i> 、 <i>Tgfb2</i>	-	12%~25%的小鼠肿瘤转移到局部淋巴结、胰腺或肺		[62]
		<i>Vil</i> -Cre; <i>Braf</i> ^{A637E/+} ; <i>p53</i> ^{LSL-R172H/+} 小鼠	-	<i>BRAF</i> 、 <i>p53</i>	-	15%转移到淋巴结和肺部		[63]
Apc突变模型	HNPCC	<i>Mlh1</i> ^{-/-} 、 <i>Msh2</i> ^{-/-} 、 <i>Msh6</i> ^{-/-} 小鼠	-	-	过早死于侵袭性淋巴瘤	无		[21]
	IBD-CRC	<i>Il</i> -10 ^{-/-} 、 <i>Il</i> -2 ^{-/-} 、 <i>Muc2</i> ^{-/-} 小鼠	-	-	较低肿瘤发生率,受肠道菌群影响	无		[64-65]
	<i>Apc</i> 突变模型	Pirc: F344/NTac- <i>Apcam</i> ¹¹³⁷ 大鼠	-	<i>Apc</i>	4个月自发肠道腺瘤,缺乏转移	无	化合物预防	[69-70, 63]
	<i>Apc</i> 突变模型	KAD大鼠	-	<i>Apc</i>	不自发肿瘤,经过AOM/DSS联合诱导发生肿瘤	无	化合物预防	[71]
	<i>Apc</i> 突变模型	<i>Apc</i> ¹³¹¹ 猪	-	<i>Apc</i>	肠道肿瘤为腺瘤	无	转化医学研究	[73]

CRC 在遗传和表型变化的多样性研究提供了丰富的工具和强有力的平台。

尽管动物模型在 CRC 研究中具有重要的应用潜力, 但仍然存在一些挑战和局限性需要克服。从基因突变位点到肿瘤的发生发展过程, 都是研究者需要考虑的因素。首先, 在机制研究中, 基因工程模型更具优势, 从遗传突变筛选相关肿瘤基因, 再结合其他不同类型的动物模型 (如化学诱导模型、移植瘤模型), 可以更全面地了解 CRC 的发病机制、表型变化和治疗效果。其次, 在化学性预防研究中, 化学诱导模型应用最广泛, 实验周期短, 操作方便, 结果可靠, 能为化学性预防和治疗 CRC 提供前瞻性依据。最后, 在 CRC 转化研究方面, 移植瘤模型更能直观评估药物治疗效果, 是临床前药物研究的关键性数据。在精准医疗时代下, 个性化诊疗方案已成为趋势的基础上, 未来的研究应通过引入新的技术和方法, 如基因编辑技术、单细胞测序、肿瘤组织切片技术、类器官培养技术, 不断对 CRC 动物模型进行改进和创新, 尤其是结合患者个体的临床数据, 建立个性化的动物模型, 不断突破模型的局限性, 从而更好地预测治疗效果, 为个体化治疗提供指导, 并为 CRC 的预防、诊断和治疗提供更有效的策略。

[作者贡献 Author Contribution]

陈艳娟负责拟定论文提纲、资料收集、初稿撰写及修订;
沈如凌负责确定论文方向, 获取资助, 论文修订。

[利益声明 Declaration of Interest]

所有作者声明无利益冲突、无署名争议。

[参考文献 References]

- [1] 张正杰, 程云章, 黄陈. 影像组学在结直肠癌诊疗中的应用及研究进展[J]. 生物医学工程研究, 2023, 42(1):96-99. DOI: 10.19529/j.cnki.1672-6278.2023.01.14.
ZHANG Z J, CHENG Y Z, HUANG C. Application and research progress of radiomics in the diagnosis and treatment of colorectal cancer[J]. J Biomed Eng Res, 2023, 42(1): 96-99. DOI: 10.19529/j.cnki.1672-6278.2023.01.14.
- [2] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA A Cancer J Clin, 2021, 71(3):209-249. DOI: 10.3322/caac.21660.
- [3] XIA C F, DONG X S, LI H, et al. Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants[J]. Chin Med J (Engl), 2022, 135(5): 584-590. DOI: 10.1097/CM9.0000000000002108.
- [4] WEITZ J, KOCH M, DEBUS J, et al. Colorectal cancer[J]. Lancet, 2005, 365(9454):153-165. DOI: 10.1016/s0140-6736(05)17706-x.
- [5] GAO X H, LI J, LIU L J, et al. Trends, clinicopathological features, surgical treatment patterns and prognoses of early-onset versus late-onset colorectal cancer: a retrospective cohort study on 34067 patients managed from 2000 to 2021 in a Chinese tertiary center[J]. Int J Surg, 2022, 104:106780. DOI: 10.1016/j.ijsu.2022.106780.
- [6] SARAIVA M R, ROSA I, CLARO I. Early-onset colorectal cancer: a review of current knowledge[J]. World J Gastroenterol, 2023, 29(8): 1289-1303. DOI: 10.3748/wjg.v29.i8.1289.
- [7] BÜRTIN F, MULLINS C S, LINNEBACHER M. Mouse models of colorectal cancer: past, present and future perspectives[J]. World J Gastroenterol, 2020, 26(13):1394-1426. DOI: 10.3748/wjg.v26.i13.1394.
- [8] MOSER A R, PITOT H C, DOVE W F. A dominant mutation that predisposes to multiple intestinal neoplasia in the mouse[J]. Science, 1990, 247(4940): 322-324. DOI: 10.1126/science.2296722.
- [9] STASTNA M, JANECKOVA L, HRCKULAK D, et al. Human colorectal cancer from the perspective of mouse models[J]. Genes, 2019, 10(10):788. DOI: 10.3390/genes10100788.
- [10] COLUSSI D, BRANDI G, BAZZOLI F, et al. Molecular pathways involved in colorectal cancer: implications for disease behavior and prevention[J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(8):16365-16385. DOI: 10.3390/ijms140816365.
- [11] 周雄, 胡明, 蒋栋铭, 等. 结直肠癌进展相关关键分子事件研究进展[J]. 肿瘤防治研究, 2023, 50(6): 609-615. DOI: 10.3971/j.issn.1000-8578.2023.22.1242.
ZHOU X, HU M, JIANG D M, et al. Research progress of key molecular events related to progression of colorectal cancer [J]. Cancer Res Prev Treat, 2023, 50(6): 609-615. DOI: 10.3971/j.issn.1000-8578.2023.22.1242.
- [12] DEKKER E, TANIS P J, VLEUGELS J L A, et al. Colorectal cancer[J]. Lancet, 2019, 394(10207): 1467-1480. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)32319-0.
- [13] CARBALLAL S, BALAGUER F, IJSPEERT J G. Serrated polyposis syndrome; epidemiology and management[J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2022, 58-59:101791. DOI: 10.1016/j.bpg.2022.101791.
- [14] ZHOU Y J, LU X F, CHEN H M, et al. Single-cell transcriptomics reveals early molecular and immune alterations underlying the serrated neoplasia pathway toward colorectal cancer[J]. Cell Mol Gastroenterol Hepatol, 2023, 15(2):393-424. DOI: 10.1016/j.jcmgh.2022.10.001.
- [15] CIARDIELLO F, CIARDIELLO D, MARTINI G, et al. Clinical management of metastatic colorectal cancer in the era of precision medicine[J]. CA A Cancer J Clin, 2022, 72(4):372-401. DOI: 10.3322/caac.21728.
- [16] JOHNSON R L, FLEET J C. Animal models of colorectal cancer[J]. Cancer Metastasis Rev, 2013, 32(1): 39-61. DOI: 10.1007/s10555-012-9404-6.
- [17] ANISIMOV V N, ZABEZHINSKI M A, ROSSOLINI G, et al. Long-live euthymic BALB/c-nu mice. II: spontaneous tumors and

- other pathologies[J]. *Mech Ageing Dev*, 2001, 122(5):477-489. DOI: 10.1016/s0047-6374(01)00228-7.
- [18] NEWMARK H L, YANG K, KURIHARA N, et al. Western-style diet-induced colonic tumors and their modulation by calcium and vitamin D in C57Bl/6 mice: a preclinical model for human sporadic colon cancer[J]. *Carcinogenesis*, 2009, 30(1):88-92. DOI: 10.1093/carcin/bgn229.
- [19] YANG J, WEI H, ZHOU Y F, et al. High-fat diet promotes colorectal tumorigenesis through modulating gut microbiota and metabolites[J]. *Gastroenterology*, 2022, 162(1):135-149.e2. DOI: 10.1053/j.gastro.2021.08.041.
- [20] SONG M Y, CHAN A T, SUN J. Influence of the gut microbiome, diet, and environment on risk of colorectal cancer[J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(2): 322-340. DOI: 10.1053/j.gastro.2019.06.048.
- [21] DE ROBERTIS M, MASSI E, POETA M L, et al. The AOM/DSS murine model for the study of colon carcinogenesis: from pathways to diagnosis and therapy studies[J]. *J Carcinog*, 2011, 10:9. DOI: 10.4103/1477-3163.78279.
- [22] SUGIMURA T. Nutrition and dietary carcinogens[J]. *Carcinogenesis*, 2000, 21(3): 387-395. DOI: 10.1093/carcin/21.3.387.
- [23] MCLELLAN E A, BIRD R P. Specificity study to evaluate induction of aberrant crypts in murine colons[J]. *Cancer Res*, 1988, 48(21):6183-6186.
- [24] EVANS J P, SUTTON P A, WINIARSKI B K, et al. From mice to men: Murine models of colorectal cancer for use in translational research[J]. *Crit Rev Oncol*, 2016, 98:94-105. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2015.10.009.
- [25] NARISAWA T, MAGADIA NE, WEISBURGER J H, et al. Promoting effect of bile acids on colon carcinogenesis after intrarectal instillation of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in rats[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1974, 53(4):1093-1097. DOI: 10.1093/jnci/53.4.1093.
- [26] NEUFERT C, BECKER C, NEURATH M F. An inducible mouse model of colon carcinogenesis for the analysis of sporadic and inflammation-driven tumor progression[J]. *Nat Protoc*, 2007, 2(8):1998-2004. DOI: 10.1038/nprot.2007.279.
- [27] SEDLAK J C, YILMAZ Ö H, ROPER J. Metabolism and colorectal cancer[J]. *Annu Rev Pathol*, 2023, 18:467-492. DOI: 10.1146/annurev-pathmechdis-031521-041113.
- [28] FERNÁNDEZ-PONCE C, GERIBALDI-DOLDÁN N, SÁNCHEZ-GOMAR I, et al. The role of glycosyltransferases in colorectal cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(11):5822. DOI: 10.3390/ijms22115822.
- [29] LIANG X, HU J N, HE J M. An optimized protocol of azoxymethane-dextran sodium sulfate induced colorectal tumor model in mice[J]. *Chin Med Sci J*, 2019, 34(4):281-288. DOI: 10.24920/003495.
- [30] TANAKA T, KOHNO H, SUZUKI R, et al. A novel inflammation-related mouse colon carcinogenesis model induced by azoxymethane and dextran sodium sulfate[J]. *Cancer Sci*, 2003, 94(11):965-973. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2003.tb01386.x.
- [31] MODESTO R, ESTARREJA J, SILVA I, et al. Chemically induced colitis-associated cancer models in rodents for pharmacological modulation: A systematic review[J]. *J Clin Med*, 2022, 11(10):2739. DOI: 10.3390/jcm11102739.
- [32] CORPET D E, PIERRE F. Point: From animal models to prevention of colon cancer. Systematic review of chemoprevention in Min mice and choice of the model system[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2003, 12(5): 391-400.
- [33] YANG Y S, LIU C Y, WEN D, et al. Recent advances in the development of transplanted colorectal cancer mouse models[J]. *Transl Res*, 2022, 249: 128-143. DOI: 10.1016/j.trsl.2022.07.003.
- [34] LI C G, LAU H C H, ZHANG X, et al. Mouse models for application in colorectal cancer: understanding the pathogenesis and relevance to the human condition[J]. *Biomedicines*, 2022, 10(7): 1710. DOI: 10.3390/biomedicines10071710.
- [35] RODRIGUEZ R, RITTER M A, FOWLER J F, et al. Kinetics of cell labeling and thymidine replacement after continuous infusion of halogenated pyrimidines *in vivo*[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1994, 29(1):105-113. DOI: 10.1016/0360-3016(94)90232-1.
- [36] BELLAMKONDA K, SATAPATHY S R, DOUGLAS D, et al. Montelukast, a CysLT1 receptor antagonist, reduces colon cancer stemness and tumor burden in a mouse xenograft model of human colon cancer[J]. *Cancer Lett*, 2018, 437:13-24. DOI: 10.1016/j.canlet.2018.08.019.
- [37] BERNHARD O K, GREENING D W, BARNES T W, et al. Detection of cadherin-17 in human colon cancer LIM1215 cell secretome and tumour xenograft-derived interstitial fluid and plasma[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1834(11): 2372-2379. DOI: 10.1016/j.bbapap.2013.03.022.
- [38] FLATMARK K, MAELANDSMO G M, MARTINSEN M, et al. Twelve colorectal cancer cell lines exhibit highly variable growth and metastatic capacities in an orthotopic model in nude mice[J]. *Eur J Cancer*, 2004, 40(10): 1593-1598. DOI: 10.1016/j.ejca.2004.02.023.
- [39] CÉSPÉDES M V, ESPINA C, GARCÍA-CABEZAS M A, et al. Orthotopic microinjection of human colon cancer cells in nude mice induces tumor foci in all clinically relevant metastatic sites[J]. *Am J Pathol*, 2007, 170(3):1077-1085. DOI: 10.2353/ajpath.2007.060773.
- [40] AHMED D, EIDE P W, EILERTSEN I A, et al. Epigenetic and genetic features of 24 colon cancer cell lines[J]. *Oncogenesis*, 2013, 2(9): e71. DOI: 10.1038/oncsis.2013.35.
- [41] GAYET J, ZHOU X P, DUVAL A, et al. Extensive characterization of genetic alterations in a series of human colorectal cancer cell lines[J]. *Oncogene*, 2001, 20(36):5025-5032. DOI: 10.1038/sj.onc.1204611.
- [42] KOUSTAS E, SARANTIS P, THEOHARIS S, et al. Autophagy-related proteins as a prognostic factor of patients with colorectal cancer[J]. *Am J Clin Oncol*, 2019, 42(10): 767-776. DOI: 10.1097/coc.0000000000000592.
- [43] KOUMAKI K, KONTOGIANNI G, KOSMIDOU V, et al. BRAF

- paradox breakers PLX8394, PLX7904 are more effective against BRAFV600E CRC cells compared with the BRAF inhibitor PLX4720 and shown by detailed pathway analysis[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2021, 1867(4): 166061. DOI: 10.1016/j.bbdis.2020.166061.
- [44] RIOS-DORIA J, STEVENS C, MADDAGE C, et al. Characterization of human cancer xenografts in humanized mice[J]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8(1): e000416. DOI: 10.1136/jitc-2019-000416.
- [45] CASTLE J C, LOEWER M, BOEGEL S, et al. Immunomic, genomic and transcriptomic characterization of CT26 colorectal carcinoma[J]. *BMC Genomics*, 2014, 15(1):190. DOI: 10.1186/1471-2164-15-190.
- [46] RIVERA M, FICHTNER I, WULF-GOLDENBERG A, et al. Patient-derived xenograft (PDX) models of colorectal carcinoma (CRC) as a platform for chemosensitivity and biomarker analysis in personalized medicine[J]. *Neoplasia*, 2021, 23(1):21-35. DOI: 10.1016/j.neo.2020.11.005.
- [47] ZHAO X F, JIANG Y H, LIU C L, et al. Organoid technology and clinical applications in digestive system cancer[J]. *Engineering*, 2022, 9:123-130. DOI: 10.1016/j.eng.2021.04.017.
- [48] SATO T, VRIES R G, SNIPPERT H J, et al. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures *in vitro* without a mesenchymal niche[J]. *Nature*, 2009, 459(7244):262-265. DOI: 10.1038/nature07935.
- [49] SATO T, STANGE D E, FERRANTE M, et al. Long-term expansion of epithelial organoids from human colon, adenoma, adenocarcinoma, and Barrett's epithelium[J]. *Gastroenterology*, 2011, 141(5):1762-1772. DOI: 10.1053/j.gastro.2011.07.050.
- [50] DROST J, VAN JAARSVELD R H, PONSIOEN B, et al. Sequential cancer mutations in cultured human intestinal stem cells[J]. *Nature*, 2015, 521(7550): 43-47. DOI: 10.1038/nature14415.
- [51] PAULI C, HOPKINS B D, PRANDI D, et al. Personalized *in vitro* and *in vivo* cancer models to guide precision medicine[J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(5):462-477. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-16-1154.
- [52] PONSIOEN B, POST J B, BUISSANT DES AMORIE J R, et al. Quantifying single-cell ERK dynamics in colorectal cancer organoids reveals EGFR as an amplifier of oncogenic MAPK pathway signalling[J]. *Nat Cell Biol*, 2021, 23(4): 377-390. DOI: 10.1038/s41556-021-00654-5.
- [53] GOBERT A P, LATOUR Y L, ASIM M, et al. Protective role of spermidine in colitis and colon carcinogenesis[J]. *Gastroenterology*, 2022, 162(3): 813-827. e8. DOI: 10.1053/j.gastro.2021.11.005.
- [54] BAYDI Z, LIMAMI Y, KHALKI L, et al. An update of research animal models of inflammatory bowel disease[J]. *Sci World J*, 2021, 2021:7479540. DOI: 10.1155/2021/7479540.
- [55] MIYOSHI Y, ANDO H, NAGASE H, et al. Germ-line mutations of the APC gene in 53 familial adenomatous polyposis patients[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89(10):4452-4456. DOI: 10.1073/pnas.89.10.4452.
- [56] KUCHERLAPATI M H. Mouse models in colon cancer, inferences, and implications[J]. *iScience*, 2023, 26(6):106958. DOI: 10.1016/j.isci.2023.106958.
- [57] MULLER P A J, CASWELL P T, DOYLE B, et al. Mutant p53 drives invasion by promoting integrin recycling[J]. *Cell*, 2009, 139(7):1327-1341. DOI: 10.1016/j.cell.2009.11.026.
- [58] SANSOM O J, MENIEL V, WILKINS J A, et al. Loss of Apc allows phenotypic manifestation of the transforming properties of an endogenous K-ras oncogene *in vivo*[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(38): 14122-14127. DOI: 10.1073/pnas.0604130103.
- [59] ROMANO G, CHAGANI S, KWONG L N. The path to metastatic mouse models of colorectal cancer[J]. *Oncogene*, 2018, 37(19):2481-2489. DOI: 10.1038/s41388-018-0155-x.
- [60] HUNG K E, MARICEVICH M A, RICHARD L G, et al. Development of a mouse model for sporadic and metastatic colon tumors and its use in assessing drug treatment[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(4):1565-1570. DOI: 10.1073/pnas.0908682107.
- [61] BOUTIN A T, LIAO W T, WANG M, et al. Oncogenic *Kras* drives invasion and maintains metastases in colorectal cancer[J]. *Genes Dev*, 2017, 31(4): 370-382. DOI: 10.1101/gad.293449.116.
- [62] RAD R, CADIÑANOS J, RAD L. A genetic progression model of BraFV600E-induced intestinal tumorigenesis reveals targets for therapeutic intervention[J]. *Cancer Cell*, 2013, 24(1):15-29. DOI: 10.1016/j.ccr.2013.05.014.
- [63] TROBRIDGE P, KNOBLAUGH S, WASHINGTON M K, et al. TGF-beta receptor inactivation and mutant *Kras* induce intestinal neoplasms in mice via a beta-catenin-independent pathway[J]. *Gastroenterology*, 2009, 136(5):1680-1688.e7. DOI: 10.1053/j.gastro.2009.01.066.
- [64] TONG Y G, YANG W C, KOEFFLER H P. Mouse models of colorectal cancer[J]. *Chin J Cancer*, 2011, 30(7):450-462. DOI: 10.5732/cjc.011.10041.
- [65] VELCICH A, YANG W C, HEYER J, et al. Colorectal cancer in mice genetically deficient in the mucin *Muc2*[J]. *Science*, 2002, 295(5560):1726-1729. DOI: 10.1126/science.1069094.
- [66] VAN DER KRAAK L, GROS P, BEAUCHEMIN N. Colitis-associated colon cancer: is it in your genes? [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(41):11688-11699. DOI: 10.3748/wjg.v21.i41.11688.
- [67] BRISTOL I J, FARMER M A, CONG Y Z, et al. Heritable susceptibility for colitis in mice induced by IL-10 deficiency[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2000, 6(4): 290-302. DOI: 10.1097/00054725-200011000-00006.
- [68] TAKEDA H, WEI Z B, KOSO H, et al. Transposon mutagenesis identifies genes and evolutionary forces driving gastrointestinal tract tumor progression[J]. *Nat Genet*, 2015, 47(2):142-150. DOI: 10.1038/ng.3175.
- [69] FEMIA A P, BECHERUCCI C, CRUCITTA S, et al. Apc-driven colon carcinogenesis in Pirc rat is strongly reduced by polyethylene glycol[J]. *Int J Cancer*, 2015, 137(9): 2270-2273. DOI: 10.1002/ijc.29581.

- [70] AMOS-LANDGRAF J M, KWONG L N, KENDZIORSKI C M, et al. A target-selected Apc-mutant rat kindred enhances the modeling of familial human colon cancer[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(10): 4036-4041. DOI: 10.1073/pnas.0611690104.
- [71] IRVING A A, YOSHIMI K, HART M L, et al. The utility of Apc-mutant rats in modeling human colon cancer[J]. *Dis Model Mech*, 2014, 7(11):1215-1225. DOI: 10.1242/dmm.016980.
- [72] KALLA D, KIND A, SCHNIEKE A. Genetically engineered pigs to study cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(2):488. DOI: 10.3390/ijms21020488.
- [73] FLISIKOWSKA T, MERKL C, LANDMANN M, et al. A *Porcine* model of familial adenomatous polyposis[J]. *Gastroenterology*, 2012, 143(5): 1173-1175. e7. DOI: 10.1053/j.gastro.2012.07.110.
- [74] LI H H, CHENG W M, CHEN B W, et al. Efficient generation of P53 biallelic mutations in Diannan miniature pigs using RNA-guided base editing[J]. *Life (Basel)*, 2021, 11(12): 1417. DOI: 10.3390/life11121417.
- [75] CALLESEN M M, ÁRNADÓTTIR S S, LYSKJÆR I, et al. A genetically inducible porcine model of intestinal cancer[J]. *Mol Oncol*, 2017, 11(11): 1616-1629. DOI: 10.1002/1878-0261.12136.
- [76] TOBIA C, GARIANO G, DE SENA G, et al. Zebrafish embryo as a tool to study tumor/endothelial cell cross-talk[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1832(9): 1371-1377. DOI: 10.1016/j.bbdis.2013.01.016.
- [77] LOBERT V H, MOURADOV D, HEATH J K. Focusing the spotlight on the zebrafish intestine to illuminate mechanisms of colorectal cancer[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2016, 916:411-437. DOI: 10.1007/978-3-319-30654-4_18.
- [78] MARADONNA F, FONTANA C M, SELLA F, et al. A zebrafish HCT116 xenograft model to predict anandamide outcomes on colorectal cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(12):1069. DOI: 10.1038/s41419-022-05523-z.
- [79] HUEBNER K, ERLNBACH-WUENSCH K, PROCHAZKA J, et al. ATF2 loss promotes tumor invasion in colorectal cancer cells via upregulation of cancer driver TROP2[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2022, 79(8):423. DOI: 10.1007/s00018-022-04445-5.
- [80] JACKSTADT R, SANSOM O J. Mouse models of intestinal cancer[J]. *J Pathol*, 2016, 238(2): 141-151. DOI: 10.1002/path.4645.
- [81] KAKIUCHI H, WATANABE M, USHIJIMA T, et al. Specific 5'-GGGA-3'→5'-GGA-3' mutation of the Apc gene in rat colon tumors induced by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4, 5-b]pyridine[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(3): 910-914. DOI: 10.1073/pnas.92.3.910.
- (收稿日期:2023-06-13 修回日期:2023-08-14)
(本文编辑:张俊彦,富群华,丁宇菁,陆佳雯)

[引用本文]

陈艳娟, 沈如凌. 模式动物疾病模型在结直肠癌医学研究中的应用进展[J]. *实验动物与比较医学*, 2023, 43(5): 512-523. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2023.076.

CHEN Y J, SHEN R L. Progress in the application of animal disease models in the medical research on colorectal cancer[J]. *Lab Anim Comp Med*, 2023, 43(5): 512-523. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2023.076.

《实验动物与比较医学》有关实验动物福利伦理内容的说明

本刊是我国实验动物科学与比较医学领域的一本专业学术期刊, 严格遵守国家实验动物相关法律、法规和标准, 包括但不限于《实验动物管理条例》(2017年3月1日修订版)和《实验动物福利伦理审查指南》(GB/T 35892—2018)等, 同时参考借鉴国际生物医学期刊关于动物实验研究报告的相关指南共识(如ARRIVE 2.0、IGP 2012、IAVE Guidelines 2010等)。因此, 本刊对所有涉及动物实验的来稿均需审查实验动物福利与伦理相关内容。现将一些具体要求说明如下:

1. 涉及动物实验的来稿, 需提供实验动物生产许可证和质量合格证, 以及动物实验场所的实验动物使用许可证。以上证明须与使用动物种类及动物实验单位名称相匹配, 并在正文中列出其对应的许可证编号。

2. 涉及动物实验的来稿, 需在考虑3R(替代、减少和优化)原则的基础上设计动物实验, 并提供作者单位实验动物福利伦理委员会(或相关机构)出具的实验动物福利伦理审查批件。批件中所列内容须与投稿文章相吻合, 并在正文中列出对应的批准编号。

3. 实验动物的用药, 尤其是麻醉镇痛用药必须优先使用药用级麻醉剂, 特别是当涉及存活手术的动物实验时。鉴于无法确定非药用级麻醉剂(如三溴乙醇、水合氯醛等)的相关性状的实验动物的影响, 从而不能保障实验动物福利及研究结果的可靠性, 而且目前已有更优的市售麻醉药剂可供选择, 因此本刊不建议使用上述试剂。如确需使用, 请提供充足理由说明及相应的批准文件。

4. 涉及肿瘤动物模型的研究, 本刊参考国内及国际通用准则, 建议单个肿瘤体直径不超过20 mm(小鼠)或40 mm(大鼠)且不出出现明显的肿瘤溃疡。如投稿文章有超出上述标准的研究内容, 需提交作者单位相关肿瘤动物模型研究的指导原则文件, 以及从科学角度判断肿瘤体积合理性的依据材料。

《实验动物与比较医学》编辑部