

雍盛,金大成,董信春,等. 恶性间皮瘤动物模型的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(9): 137-145.

Yong S, Jin DC, Dong XC, et al. Research progress on animal models of malignant mesothelioma [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(9): 137-145.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.09.016

恶性间皮瘤动物模型的研究进展

雍 盛^{1,2}, 金大成², 董信春², 苟云久^{2*}

(1. 甘肃中医药大学 第一临床医学院, 兰州 730000; 2. 甘肃省人民医院 胸外科, 兰州 730000)

【摘要】 恶性间皮瘤(malignant mesothelioma, MM)病例罕见且潜伏期长,临床上很难开展研究。动物模型的建立对于MM实验研究开展以及机制阐明具有重要意义。常见的动物模型主要包括自发性、诱发性、移植性和基因工程模型,但不同动物模型的适用范围各有不同。本文通过回顾国内外近十年来MM动物模型相关的实验研究,从造模方法、造模结果、模型优缺点3个方面总结和分析4种MM相关动物模型构建的最新进展,为基于动物模型开展的MM基础研究提供参考依据。

【关键词】 恶性间皮瘤;动物模型;小鼠;大鼠;基因工程

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2024) 09-0137-09

Research progress on animal models of malignant mesothelioma

YONG Sheng^{1,2}, JIN Dacheng², DONG Xinchun², GOU Yunjiu^{2*}

(1. the First Clinical Department of Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China.

2. Department of Thoracic Surgery, Gansu Provincial People's Hospital, Lanzhou 730000)

【Abstract】 Malignant mesothelioma cases are rare and have a long incubation period, making the disease a difficult subject to clinically research. Animal models of malignant mesothelioma are crucial for experimental research and elucidating the pathogenesis of malignant mesothelioma. Common animal models include spontaneous, inducible, transplantable, and genetically engineered models, but the applicability of different animal models varies. This article reviews studies related to the establishment of animal models of malignant mesothelioma published in the past 10 years. Recent progress made in the establishment of four animal models of malignant mesothelioma is summarized from three aspects: modeling method, modeling result, and model advantages and disadvantages. This review summarizes and analyzes the current progress made in the establishment of animal models of malignant mesothelioma and thus provides a reference for basic malignant mesothelioma research using animal models.

【Keywords】 malignant mesothelioma; animal models; mice; rat; genetic engineering

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

恶性间皮瘤(malignant mesothelioma, MM)是一种与石棉暴露密切相关的罕见癌症,主要发生在胸膜、腹膜、心包和睾丸鞘膜等体腔浆膜层。其中约80%起源于胸膜,称为恶性胸膜间皮瘤(malignant pleural mesothelioma, MPM)。由于起病隐匿,临床

表现非特异性,大部分MPM患者确诊时已为晚期,诊断后中位生存期约为10.3个月,治疗选择有限且预后差,5年生存率仅为5%~15%^[1]。流行病学数据显示,2016年我国MPM新发病例330例,发病率约为0.086/100 000,MPM死亡病例215例,死亡率

【基金项目】 甘肃省科技计划项目基金资助(21JR7RA673)。

【作者简介】 雍盛(1996—),男,硕士研究生,研究方向:恶性胸膜间皮瘤的治疗及机制。E-mail:1172214536@qq.com

【通信作者】 苟云久(1974—),男,博士,主任医师,教授,硕士生导师,研究方向:恶性胸膜间皮瘤的治疗及机制。E-mail:gouyunjiu@163.com

约为 0.056/100 000^[2]。该病临床罕见且潜伏期长,诊断数据不足容易导致误诊,改善 MM 的早期诊断和治疗策略已经成为当前研究的焦点^[3]。动物模型在 MM 研究中发挥着重要作用,不仅克服了 MM 潜伏期长、病程长和发病率低的缺点,还避免了人体实验的风险及研究伦理问题,在深入理解 MM 发病机制、开发早期诊断工具、测试潜在治疗干预措施等方面具有重要意义。常见的 MM 动物模型包括自发性、诱发性、移植性和转基因 MM 动物模型等,但不同动物模型的适用范围各有不同。本文回顾国内外近十年已发表的 MM 动物模型相关实验研究,从造模方法、造模结果、模型优缺点等 3 个方面进行总结和分析,旨在为基于动物模型开展的 MM 基础研究提供参考依据。

1 自发性 MM 动物模型

自发性 MM 在犬类中较为常见^[4]。犬类被认为是评估新药和治疗方法的重要动物模型,因为它们会自然发生与人类肿瘤非常相似的疾病,包括 MM^[5]。犬类的 MM 主要发生在胸膜及心包膜,这与人类 MM 的主要发病部位相似^[6-7]。相比之下, Fischer344 雄性大鼠的自发性 MM 主要发生在睾丸鞘膜,并可扩散至整个腹腔,但很少侵及胸腔组织^[8]。这种大鼠模型的发病率为 0.2%~5%,最常见的组织学形态为上皮样亚型,未见肉瘤样亚型。

自发性动物模型的优点在于减少了人为因素的干扰,使动物 MM 的发生过程更接近人类 MM 的自然状态。一项美国研究推测,到 2040 年后几乎所有的人类 MM 病例都将是自发性病例^[9]。尽管自发性动物模型在未来 MM 研究中具有重要应用价值,但由于这些模型是在长期繁殖过程中因遗传基因随机突变而产生,发病率低且呈散发性,模型来源难以获取,通常仅见于孤立的病例报告。此外,研究方案的不标准化和有限的病例数量也使后续研究面临挑战。

2 诱发性 MM 动物模型

2.1 石棉诱发的 MM 动物模型

石棉是一种纤维状的天然硅酸盐矿物,因其耐火和绝缘性能广泛应用于多种建筑材料中。石棉主要分为蛇纹石石棉(温石棉)和角闪石石棉两类,后者包括青石棉、铁石棉、阳起石、透闪石和直闪石石棉。石棉纤维可通过淋巴系统长期沉积在胸膜

和腹膜组织中,导致慢性炎症并释放致突变的氧自由基,从而引发 MM^[10]。

研究表明,青石棉和铁石棉与 MM 死亡病例密切相关^[11]。目前,青石棉是诱发性 MM 模型的主要诱导物。2014 年, Xu 等^[12]研究了 *BRCA1* 相关蛋白 1(*BRCA1* associated protein-1, *BAP1*) 突变是否促进石棉诱导的 MM 发展,建立了 *Bap1*^{+/-} 基因敲除小鼠模型。他们将青石棉注入 25 只 8~10 周龄雄性 FVB 背景的 *Bap1*^{+/-} 基因敲除小鼠和野生型小鼠体内,单次剂量为 0.8 mg,每 3 周注射 1 次,持续 12 周,随访至 87 周龄。结果显示,与野生型小鼠相比,青石棉诱导的 *Bap1*^{+/-} 基因敲除小鼠 MM 发病率显著增加(73% vs 32%),疾病进展加快,肿瘤更具侵袭性,石棉暴露 20 周后小鼠腹部出现肿胀,同时伴有胰腺、肝、肠道平滑肌和肺部的侵犯。此后,大多数研究都采用基因工程小鼠作为石棉诱导 MM 模型。Napolitano 等^[13]研究了 *BAP1* 突变个体中石棉剂量和 MM 致癌的关系,建立了 *Bap1*^{+/-} 基因敲除小鼠模型,将青石棉注入 50 只 10~12 周龄 C57BL/6 背景的 *Bap1*^{+/-} 基因敲除小鼠和野生型小鼠体内,分为高剂量(0.5 mg)组和低剂量(0.05 mg)组,每周注射 1 次,持续 10 周,随访 13 个月。结果显示,与野生型小鼠相比,低剂量石棉诱导的 *Bap1*^{+/-} 小鼠 MM 发病率增加(36% vs 10%),高剂量石棉的 *Bap1*^{+/-} 小鼠 MM 发病率更高(60% vs 28%)。结论表明,即使暴露于最低剂量石棉, *BAP1* 突变个体的 MM 风险仍显著增加,可能是由于 *BAP1* 突变导致石棉诱导的炎症反应变化。Kadariya 等^[14]为了评估炎症是否是石棉诱发 MM 发展的必要条件,建立了半胱天冬酶相关募集结构域的凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase-associated recruitment domain, ASC)敲除小鼠模型,将青石棉注入 29 只 6~8 周龄雄性 C57BL/6 背景的 *Asc* 敲除小鼠和野生型小鼠体内,单次剂量为 0.4 mg,每 3 周注射 1 次,持续 24 周。结果显示,与野生型小鼠相比,青石棉诱导的 *Asc* 敲除小鼠 MM 发病率降低(55% vs 80%),成瘤潜伏期延长(66.2 周 vs 61.6 周),炎性细胞因子释放减少。结论表明,炎症小体有助于石棉诱导的 MM 发展,但缺乏 *Acs* 并不足以预防石棉诱导的 MM。

Okazaki 等^[15]研究了透闪石和直闪石石棉的细胞毒性,建立了 MM 大鼠模型。他们将 1 mg 透闪石注射到 6 周龄的 Fischer344 杂交大鼠体内,4 周后发

现腹膜呈弥漫性增厚,而直闪石仅在腹膜表面引起了局部的纤维化和肉芽肿。这表明透闪石比直闪石更具致癌性。Luo 等^[16]评估了青石棉和温石棉对 *BRCA1* 种系突变个体 MM 发展的影响,建立了 *BRCA1* 突变大鼠模型。他们将青石棉或温石棉注射到 19 只 Sprague-Dawley 背景的 *Brca1*^{L63X/+} 突变大鼠体内,在第 5、6、7 周分别以 3、3、4 mg 剂量给药,随访 110 周。结果显示,*Brca1*^{L63X/+} 突变大鼠和野生型大鼠的 MM 发病率无显著差异 (70.2% vs 72.9%),但温石棉诱导的雄性 *Brca1*^{L63X/+} 突变大鼠的中位生存时间显著短于野生型大鼠 (494 d vs 571 d)。这可能是温石棉快速溶解过程中释放了更多活性铁,导致有毒羟基自由基形成^[17]。

Fisher 等^[18]研究了运动对延缓石棉相关疾病发展的潜力,建立了转基因小鼠模型。他们将青石棉注入 29 只 6~20 周 C57BL/6 背景的 MexTA_g 转基因小鼠体内,单次剂量为 3 mg,每 4 周注射 1 次,持续 8 周。结果显示,这些转基因小鼠的成瘤潜伏期约 43 周,中位生存时间为 45.3 周。

小鼠和大鼠是构建诱发性 MM 疾病模型的常用实验动物。小鼠在出生后平均 6 周龄进入青春期,8~12 周龄达到成年阶段^[19]。因此,实验研究通常选择 6~8 周龄的小鼠。与其他动物相比,小鼠的基因组和人类基因组非常相似,是研究人类肿瘤疾病的理想动物模型^[20]。此外,小鼠体型小,繁殖周期短,饲养方便。然而,MM 小鼠模型的研究中也存在问题。一项对 FVB 背景的 *Bap1* 突变小鼠无干预监测 31 个月的研究^[21]发现,与 43 只野生型小鼠相比,93 只 *Bap1* 突变小鼠中的肿瘤自发生率显著增加 (58% vs 9%)。这种自发性肿瘤高倾向性可能影响石棉诱发率的准确性。此外,C57 背景的小鼠诱发率较低 ($\leq 10\%$)。需要进一步完善小鼠模型^[22-24]。相比之下,大鼠体型较大,操作更为方便,适合外科手术、组织或血液样本采集^[25]。除了常规品系的小鼠和大鼠之外,也有研究采用 MexTA_g 转基因小鼠进行 MM 造模。MexTA_g 转基因小鼠不会发生自发性 MM,且其他肿瘤发生率低。同时,转基因的靶向表达导致石棉诱导的转基因小鼠 MM 发病率更高,疾病进展速度更快,相对于野生型小鼠 20%~30% 的发病率, MexTA_g 转基因小鼠 MM 发病率可达 100%,发病时间从 50~100 周提前到 20~40 周^[26]。此外,性别差异也会影响模型构建。有研究显示,雄性鼠类在石棉纤维等诱导剂的暴露条件下,疾病

进展会显著加快^[27]。

2.2 碳纳米管诱发的 MM 动物模型

碳纳米管 (carbon nanotubes, CNT) 是由石墨烯片层卷曲形成的圆柱体结构,根据石墨烯片层数量,分为单壁碳纳米管 (single-walled carbon nanotubes, SWCNT) 和多壁碳纳米管 (multi-walled carbon nanotubes, MWCNT)。MWCNT 可进一步分为直线型和缠结型。由于 CNT 的纤维状尺寸和生物持久性类似于石棉,其对人体健康具有潜在危害。

为了验证 MWCNT 是否具有类似石棉的致癌潜力,2014 年 Rittinghausen 等^[28]对 400 只雄性 Wistar 大鼠进行了测试,分为高剂量 (5×10^9 WHO fibers) 组和低剂量 (1×10^9 WHO fibers) 组,并与 0.1×10^9 WHO fibers 铁石棉诱导的大鼠进行 2 年对比观察。结果显示,MWCNT 诱导的大鼠 MM 发病率为 40%~98%,其组织学特征和免疫组化标记物与铁石棉诱发 MM 的结果一致,证明 MWCNT 具有与石棉类似的致癌性。然而,由于该研究采用腹腔注射方式,缺乏吸入暴露 MWCNT 的数据,因此对人类 MM 风险评估并不适用。为了克服腹腔注射的局限,Suzui 等^[29]采用经气管肺内喷雾 (trans-tracheal intrapulmonary spraying, TIPS) 的方式,将 MWCNT 吸入 38 只 10 周龄 Fischer344 雄性大鼠体内,单次剂量 0.125 mg,每周 4 次,持续 2 周,随访 109 周。结果显示,大部分 MWCNT 停留在大鼠肺泡并诱发了肺肿瘤 (37%),而 MM 发病率较低 (16%) 且局限于心包胸膜。其他研究也发现 MWCNT 诱导的大鼠 MM 好发于纵隔附近^[30]。可能与纵隔尾部的心后胸膜褶皱 (retrocardiac pleural folds, RPFs) 是致癌颗粒主要的淋巴引流部位有关^[31]。

除了对 MWCNT 与石棉的致癌潜力对比评估外,近年来也有研究关注 MWCNT 不同理化性质亚型的致癌性。Sakamoto 等^[32]比较了 7 种 MWCNT 的致癌性,将 MWCNT 注入 92 只 10 周龄雄性 Fischer344 大鼠体内,单次剂量 1 mg/kg,观察 52 周。结果显示,长且厚的直线型 MWCNT 诱导的大鼠 MM 发病率远高于短且薄的缠结型 MWCNT (100% vs 5%)。Sato 等^[33]比较了气相生长碳纤维 (vapor grown carbon fibers, VGCF) VGCFTM-H 和 MWCNT 的致癌性,将它们通过 TIPS 吸入 189 只 10 周龄 Fischer344 大鼠体内,以 0、0.016、0.08 和 0.4 mg/kg 的单次剂量,每周 1 次,持续 8 周,随访 2 年。结果显示, MWCNT 组的 MM 发病率远高于

VGCFTM-H 组 (57% vs 2%)。MWCNT 诱发的 MM 小鼠模型也有报道。Chernova 等^[34]采用经胸腔腔原位诱导的方式,在 8 周龄雌性 C57BL/6J 小鼠中成功诱导 MM (10%~25%)。与暴露于石棉的人类 MM 发病率 (15%~37%) 较为一致^[35]。

MWCNT 诱发的 MM 动物模型研究多以大鼠为研究对象。Wistar 大鼠的肿瘤自发率为 0%~4%, Fischer344 大鼠的自发性 MM 主要局限于睾丸鞘膜且较为罕见^[36]。大鼠模型的 MM 低自发率可以尽可能排除对诱导结果的干扰。有研究报道, MWCNT 诱导的 MM 大鼠模型最快在 24 周便可成功构建, 42 周时 MM 发病率高达 83%。这与石棉诱导的 MM 基因工程小鼠模型发病率类似^[37]。

目前 MWCNT 的诱导方式尚无统一标准。腹腔注射诱导的 MM 模型药物耐受性较强, 可以观察到 MM 所有的形态学特征, 因此是最常用的诱导方式^[38]。其优点是制作方法简单, 实验条件及因素容易控制, 能够在短时间内根据研究需要复制实验所需模型。尽管腹膜 MM 仅占人类 MM 疾病的 10%, 但在基因组谱和肿瘤发生机制方面与胸膜 MM 具有一定的相似性^[39]。缺点是腹腔注射不同于真实的人体暴露, 忽略了肺泡内巨噬细胞对致癌纤维的清除, 可能遗漏其他相关病理。

除了腹腔注射外, 胸腔注射和气管吸入等诱导方式各有优势。胸腔注射可以直接作用于胸膜间皮细胞, 大大缩短了诱发时间。但是这种方法需要精确地将物质注入胸腔内, 因此对操作者的技术要求较高。气管吸入更类似于人类的暴露途径, 适用于人类 MM 的风险评估。但气道吸入的诱导物必须经历由肺转移至胸膜处易位积累这一间接过程, 导致其诱发的肺肿瘤比 MM 更常见^[40]。气道吸入需要特定的安全设备, 其实用性受到限制。此外, 大鼠鼻腔中的过滤作用会将较小或较短的纤维颗粒物沉积在气道之外。TIPS 作为一种改进的气道吸入方式更具应用前景, 它绕过上呼吸道将纤维直接输送至肺部。气管吸入适合探究空气中纤维的潜在致癌性, 而 TIPS 更适用于研究致癌纤维暴露后的体内生物反应。

2.3 蔗糖铁诱发的 MM 动物模型

铁作为血红蛋白的组成部分, 是哺乳动物体内含量最多且必需的重金属。然而, 过量的铁与 MM 的致癌作用有关。2015 年, Minami 等^[41]基于既往文献经验成功建立了铁诱导 MM 大鼠模型。他们将

5 mg/kg 蔗糖铁和 83.5 mg/kg 次氨基三乙酸 (nitrilotriacetic acid, NTA) 通过腹腔注入 10 只雄性 Wistar 大鼠体内, 每周 5 次, 持续 12 周, 并随访 2 年。结果显示, 蔗糖铁诱发的大鼠 MM 发病率为 50%, 主要发生在腹膜和睾丸鞘膜处。NTA 作为铁螯合剂, 可以促进芬顿反应, 显著缩短 MM 的致癌时间^[27]。

铁诱导 MM 大鼠模型为 MM 研究提供了新的视角, 但在过去十年中, 仅有这一项研究采用蔗糖铁作为诱导物, 因此, 未来的相关研究需要进一步开发和评估这一模型。尽管 MM 的发生与铁超载具有相关性, 但采用蔗糖铁诱导 MM 大鼠模型得出的研究结论, 仍建议在石棉诱导 MM 模型上进一步验证。

2.4 呋喃诱发的 MM 动物模型

呋喃是一种已知的肝毒物, 通过口服途径接触后对啮齿动物具有毒性作用^[42]。2017 年, Von Tungeln 等^[43]开展了一项研究, 他们将呋喃以 2 mg/kg 的单次剂量通过灌胃方式给予 50 只 7 周龄雄性 Fischer344 大鼠, 每周 5 次, 持续 12 周, 并随访 2 年。结果显示, 与空白对照组相比, 呋喃处理组的大鼠 MM 发病率增加 (12% vs 4%), 主要发病部位集中在睾丸及附睾。此外, 呋喃还诱发了胆管癌, 单核细胞白血病以及胆管纤维化等非肿瘤性肝病。

该研究结果表明, 呋喃与睾丸及附睾 MM 的发病具有显著相关性, 但其具体发病机制尚不清楚。值得注意的是, 呋喃还诱发了多种其他疾病, 这可能限制了其作为 MM 动物模型的标准化应用。此外, 通过灌胃方式诱导 MM 并非常规方法, MM 和消化道暴露的直接联系不明确, 其诱发效果难以预测和评估。尽管呋喃在诱发 MM 方面表现出一定的潜力, 但其多种非特异性毒性效应以及不常规的诱导方式使其在 MM 动物模型构建中的应用存在局限性。未来的相关研究可以探讨呋喃诱导 MM 的具体机制, 并评估其在不同实验条件下的适用性, 以优化其在 MM 动物模型中的应用。

3 移植性 MM 动物模型

3.1 细胞系移植模型

细胞系是从人或动物的原代细胞中建立的, 可以在体外的可控条件下反复繁殖。根据细胞系的来源, 移植性动物模型可分为鼠源细胞系同种移植和人源细胞系异种移植。

AB1 是来自 BALB/c 小鼠的 MM 细胞系, 其在拷贝数变异方面与人类 MM 具有显著的相似性, 而

CDKN2A 基因缺失这一人 MM 的典型改变在小鼠同源区中也同样缺失,因此,AB1 可被视为人类上皮样 MM 的模型^[44]。Mezzapelle 等^[45]的研究显示,经腹腔移植 AB1 的 BALB/c 小鼠在 2~3 周内便能通过超声检测出肿瘤肿块。Digifico 等^[46]则采用经胸腔内植入的方法,使用表达荧光素酶的细胞以精确量化体内肿瘤负荷,在细胞系移植后第 7 天便能进行干预研究,组织学检查证实,MM 沿胸膜生长并扩散至肺部浅表区域,但在胸腔外未发现肿块。

MSTO-211 H 是常用的人源性细胞系之一,主要用于药物疗效的评价^[47]。研究发现,13 种 MM 细胞系中仅有 3 种能在小鼠体内形成肿瘤,其中 MSTO-211 H 的成瘤效果最佳^[48]。Lui 等^[49]利用 MSTO-211 H 建立的小鼠模型测试免疫治疗的疗效,体内成像显示胸腔注入后第 2 天便检测到异种移植物,第 3 天便进行了疗效评价。Schelch 等^[50]对 MSTO-211 H 移植小鼠模型的肿瘤负荷进行量化,当体积达到 250 mm³ 时才进行干预研究。

稳定的 MM 细胞系衍生的移植物具有高通量数据和几乎无限的生长潜力,操作简单且易于维护,被广泛用作临床前模型。目前,cellosaurus 细胞库已收录了 541 种 MM 细胞系的信息,然而,MM 细胞系作为移植物也存在一些不足之处。同种移植模型所需的鼠源 MM 细胞系大多是经腹膜注射石棉诱导成功后提取,市售的鼠源 MM 细胞系难以获取,而自主建立诱发性 MM 模型所需时间周期较长,可能影响后续实验的开展。异种移植模型为了避免宿主的免疫排斥反应,通常需要使用免疫缺陷小鼠作为载体。这使得它们无法提供人体内复杂的肿瘤-免疫相互作用。大多数移植性 MM 模型是将细胞系经皮下注入动物体内,虽然可轻松观察肿瘤生长和测量治疗反应,但肿瘤在解剖学上无关部位的快速发展可能阻碍正常的基质发育和免疫细胞入侵^[51]。相比之下,经胸膜或腹膜注入更符合人类肿瘤的解剖学发展,但需要掌握高级技术及处理并发症,且需提供基于荧光的小动物成像等技术来克服无法直接观察和测量肿瘤生长的局限。相比于 MM 细胞系,原代 MM 细胞是更好的移植物选择,因为它们与原始肿瘤的分子和组织学特征更为相似^[52]。然而,原代细胞生长潜力有限且分离过程中易污染,培养成本较高,这限制了其广泛使用。

3.2 患者来源的异种移植物 (patient derived xenograft, PDX) 模型

PDX 模型通过将患者的肿瘤组织直接植入免

疫缺陷小鼠体内进行开发,能够保持患者的表观遗传异常,并与人类原发 MM 的侵袭性相关。Yang 等^[53]在 4 只裸鼠体内根据不同的接种瘤细胞剂量分别建立早、晚期 MPM 动物模型。低剂量 (100 μL) 癌细胞组在接种后第 14 天解剖,体内可见灰白质韧的癌结节散布于脾、肾、肠系膜等表面,高剂量 (200 μL) 癌细胞组在接种后第 69 天解剖,体内可见腹腔转移瘤融合成团,质硬,脏器广泛受累,全程小肠和结肠系膜瘤化,并见新生血管和血性腹腔积液。

PDX 模型的构建主要依赖患者的手术标本,但由于 MM 病例罕见,样本较难获取。Chen 等^[54]开发了一种新的建模技术,通过 CT 扫描初筛胸膜增厚的患者,进行超声引导胸膜活检,经病理学分析确诊后再行造模,1 年成功获取了 5 例 MM 样本并构建出 2 例 PDX 模型 (成功率 40%)。

PDX 模型不仅能更好地模拟临床肿瘤样本,还适用于生物标志物检测和药物筛选。Offin 等^[55]从手术切除样本、活检和胸腔积液等不同组织来源建立 PDX 模型,在 75 次总尝试后,造模的成功率为 29%。该模型与配对肿瘤样本在关键标志物 (BAP1、WT1、间皮素、PD-L1) 和基因组改变的表达上高度一致,其中 BAP1 表达一致性为 100%。Potter 等^[56]的研究也证实,PDX 模型与原始 MM 患者样本具有相似的化学脆弱性,79% 的 PDX 模型可重现 MM 患者样本的药物敏感性,肿瘤生长达到研究的预定体积 (150~250 mm³) 均 ≤21 d。

PDX 模型高度接近患者肿瘤的原发特征,避免了细胞系体外克隆扩增导致的分子信息不一致,是 MM 生物学和治疗研究中特别有价值的工具。然而,构建 PDX 模型需要保持新鲜的肿瘤组织标本,且由于 MM 病例罕见,样本难以获取可能是其研究的最大阻碍。其次,肿瘤建立在免疫抑制的小鼠体内,可能无法对刺激适应性免疫系统的新疗法进行评估。另外,免疫缺陷小鼠的价格昂贵,且肿瘤形成所需的时间较长。

4 基因工程 MM 动物模型

基因工程动物模型通过基因编辑技术改变动物的特定基因片段,实现基因敲除、引入突变或外源基因,从而获得基因编辑动物。

在 MM 研究中,BAP1、NF2 和 CDKN2A 基因的突变或缺失是最常见的遗传病变^[57]。Kukuyan 等^[58]利

续表1

诱导物 Inducer	动物种类 Animal species	性别 Gender	周龄 Week age	方法 Method	频率 Frequency	单次剂量 Dosage	样本数 Sample statistics	诱发率 Induced rate
蔗糖铁 Ferric saccharate 呋喃 Furan	Fischer334 rats	♂	10	腹腔注入 ^[32] Intraperitoneal injection	单次 Single	1 mg/kg	51	100%
	Fischer344 rats	♂ + ♀	10	气管注入 ^[33] Intratracheal instillation	1 周 1 次,持续 8 周 Once a weeks, for 8 weeks	0.016 mg/kg	41	5%
						0.08 mg/kg	60	5%
						0.4 mg/kg	60	32%
	C57BL/6 mice	♀	8	胸腔注入 ^[34] Intrapleural injection	单次 Single	1 mg	69	86%
						0.5 mg	4	25%
						0.2 mg	5	20%
	Wistar rats	♂	/	腹腔注入 ^[41] Intraperitoneal injection	1 周 5 次,连续 12 周 Five time a weeks, for 12 weeks	5 mg/kg	12	8%
	Fischer344 rats	♂	7	灌胃 ^[43] Gavage	1 周 5 次,连续 12 周 Five time a weeks, for 104 weeks	2 mg/kg	10	50%
							50	12%

保留肿瘤异质性和模拟治疗反应,逐渐取代了传统的细胞系移植模型,广泛应用于精准医疗和个体化治疗。随着基因编辑技术的进步,基因工程动物能够精确模拟特定基因突变,加快模型构建,为研究MM分子靶点提供了强有力的工具。目前,基因工程动物模型常用于研究多个基因在MM中的协同作用或相互关系。

尽管基于MM动物模型进行了许多临床试验,但试验成果很少从模型研究转化为临床应用。当前的动物模型在模拟人类MM发病过程、评估疗效等方面仍存在一些局限性。一方面,常用的石棉或碳纳米管等纤维诱发的动物模型虽能模拟人类MM的发生,但不能完全再现疾病在人体的所有特征,且诱导模型发病周期长、个体差异大,无法精确控制病变部位。移植模型中,肿瘤的快速生长会阻碍正常基质发育和免疫细胞侵袭,对肿瘤微环境造成影响。基因工程模型虽然可以针对特定分子机制进行研究,但忽视了环境因素的作用。另一方面,动物与人类在解剖结构、生理功能、肿瘤微环境等方面存在差异,模型中观察到的药物疗效往往难以直接推广到临床应用。

随着3D细胞模型技术的球状体和类器官问世,动物模型作为临床前模型工具面临着一定的挑战,但MM动物模型在未来的研究中仍有很大发展空间。首先,针对动物模型的多样化和精准化进一步开发,如模拟MM不同亚型的模型,结合单细胞测序技术构建更为精准的基因工程模型等。其次,随着免疫治疗在肿瘤治疗中的崛起,开发能够模拟MM免疫微环境的动物模型将有助于研究免疫治疗的机制,评估新型治疗措施的疗效。最后,应加强基础研究和临床应用的结合,未来研究可以基于大

数据和人工智能技术,整合分析动物模型和临床病例的数据,提高研究效率和结论准确性的同时,也有助于基础研究的成果转化和推广。

综上所述,动物模型为MM的研究和治疗提供强有力的支持。不同动物模型都有其自身的优势和局限性,应根据研究目的合理选择适用的动物模型。

参考文献:

[1] BOU-SAMRA P, CHANG A, AZARI F, et al. Epidemiological, therapeutic, and survival trends in malignant pleural mesothelioma: a review of the National Cancer Database [J]. Cancer Med, 2023, 12(11): 12208–12220.

[2] 赫捷, 魏文强. 2019 中国肿瘤登记年报 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2020.

[3] BERTIN B, ZUGMAN M, SCHVARTSMAN G. The current treatment landscape of malignant pleural mesothelioma and future directions [J]. Cancers, 2023, 15(24): 5808.

[4] UZAL F A, PLATTNER B L, HOSTETTER J M. Jubb, Kennedy & Palmer’s pathology of domestic animals [M]. 6th ed. Philadelphia: Saunders Ltd, 2015.

[5] ZEIRA O, GHEZZI E, PETTINARI L, et al. Case report: microfragmented adipose tissue drug delivery in canine mesothelioma: a case report on safety, feasibility, and clinical findings [J]. Front Vet Sci, 2020, 7: 585427.

[6] MOBERG H L, GRAMER I, SCHOFIELD I, et al. Clinical presentation, treatment and outcome of canine malignant mesothelioma: a retrospective study of 34 cases [J]. Vet Comp Oncol, 2022, 20(1): 304–312.

[7] LAJOINIE M, CHAVALLE T, FLOCH F, et al. Outcome of dogs treated with chemotherapy for mesothelioma: a retrospective clinical study on 40 cases and a literature review [J]. Vet Comp Oncol, 2022, 20(4): 825–835.

[8] TOKARZ D A, GRUEBBEL M M, WILLSON G A, et al.

- Spontaneous primary pleural mesothelioma in Fischer 344 (F344) and other rat strains: a retrospective review [J]. *Toxicol Pathol*, 2022, 50(2): 167–175.
- [9] PRICE B. Projection of future numbers of mesothelioma cases in the US and the increasing prevalence of background cases: an update based on SEER data for 1975 through 2018 [J]. *Crit Rev Toxicol*, 2022, 52(4): 317–324.
- [10] CARBONE M, YANG H. Molecular pathways: targeting mechanisms of asbestos and erionite carcinogenesis in mesothelioma [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(3): 598–604.
- [11] VISONÀ S D, BERTOGLIO B, FAVARON C, et al. A postmortem case control study of asbestos burden in lungs of malignant mesothelioma cases [J]. *J Transl Med*, 2023, 21(1): 875.
- [12] XU J, KADARIYA Y, CHEUNG M, et al. Germline mutation of Bap1 accelerates development of asbestos-induced malignant mesothelioma [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(16): 4388–4397.
- [13] NAPOLITANO A, PELLEGRINI L, DEY A, et al. Minimal asbestos exposure in germline BAP1 heterozygous mice is associated with deregulated inflammatory response and increased risk of mesothelioma [J]. *Oncogene*, 2016, 35(15): 1996–2002.
- [14] KADARIYA Y, MENGES C W, TALARCHEK J, et al. Inflammation-related IL1 β /IL1R signaling promotes the development of asbestos-induced malignant mesothelioma [J]. *Cancer Prev Res*, 2016, 9(5): 406–414.
- [15] OKAZAKI Y, MISAWA N, AKATSUKA S, et al. Frequent homozygous deletion of Cdkn2a/2b in tremolite-induced malignant mesothelioma in rats [J]. *Cancer Sci*, 2020, 111(4): 1180–1192.
- [16] LUO Y, AKATSUKA S, MOTOOKA Y, et al. BRCA1 haploinsufficiency impairs iron metabolism to promote chrysotile-induced mesothelioma via ferroptosis resistance [J]. *Cancer Sci*, 2023, 114(4): 1423–1436.
- [17] GUALTIERI A F, LUSVARDI G, ZOBOLI A, et al. Biodurability and release of metals during the dissolution of chrysotile, crocidolite and fibrous erionite [J]. *Environ Res*, 2019, 171: 550–557.
- [18] FISHER S A, PEDDLE-MCINTYRE C J, BURTON K, et al. Voluntary exercise in mesothelioma: effects on tumour growth and treatment response in a murine model [J]. *BMC Res Notes*, 2020, 13(1): 435.
- [19] 陈玥, 苏丹, 贵文娟, 等. 实验动物与人类年龄相关性研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2019, 29(11): 116–122.
- CHEN Y, SU D, GUI W J, et al. Advances in research on the correlation of ages between laboratory animals and humans [J]. *Chin J Comp Med*, 2019, 29(11): 116–122.
- [20] 王硕, 苏杭, 袁经权, 等. 实验小鼠在癌症研究中的应用及其进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2011, 21(9): 63–67.
- WANG S, SU H, YUAN J Q, et al. Application and recent advances of laboratory mouse in cancer research [J]. *Chin J Comp Med*, 2011, 21(9): 63–67.
- [21] KADARIYA Y, CHEUNG M, XU J, et al. Bap1 is a bona fide tumor suppressor: genetic evidence from mouse models carrying heterozygous germline Bap1 mutations [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(9): 2836–2844.
- [22] BLUM W, HENZI T, CHÂTEL-SOULET H E, et al. Absence of calretinin protein expression in malignant mesotheliomas from asbestos-exposed NF2^{+/−} mice and mouse mesothelioma cell lines from various mouse strains [J]. *Biomark Res*, 2018, 6: 19.
- [23] HUAUX F, D'URSEL DE BOUSIES V, PARENT M A, et al. Mesothelioma response to carbon nanotubes is associated with an early and selective accumulation of immunosuppressive monocytic cells [J]. *Part Fibre Toxicol*, 2016, 13(1): 46.
- [24] REHRAUER H, WU L, BLUM W, et al. How asbestos drives the tissue towards tumors: YAP activation, macrophage and mesothelial precursor recruitment, RNA editing, and somatic mutations [J]. *Oncogene*, 2018, 37(20): 2645–2659.
- [25] 张乐颖, 徐威, 左琴. 浅谈国外实验大鼠资源的开发与利用 [J]. *中国实验动物学报*, 2023, 31(11): 1512–1518.
- ZHANG L Y, XU W, ZUO Q. Brief review of the cultivation and utilization of rat resources [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2023, 31(11): 1512–1518.
- [26] ROBINSON C, WALSH A, LARMA I, et al. MexTA mice exposed to asbestos develop cancer that faithfully replicates key features of the pathogenesis of human mesothelioma [J]. *Eur J Cancer*, 2011, 47(1): 151–161.
- [27] JIANG L, AKATSUKA S, NAGAI H, et al. Iron overload signature in chrysotile-induced malignant mesothelioma [J]. *J Pathol*, 2012, 228(3): 366–377.
- [28] RITTINGHAUSEN S, HACKBARTH A, CREUTZENBERG O, et al. The carcinogenic effect of various multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) after intraperitoneal injection in rats [J]. *Part Fibre Toxicol*, 2014, 11: 59.
- [29] SUZUI M, FUTAKUCHI M, FUKAMACHI K, et al. Multiwalled carbon nanotubes intratracheally instilled into the rat lung induce development of pleural malignant mesothelioma and lung tumors [J]. *Cancer Sci*, 2016, 107(7): 924–935.
- [30] HOJO M, MAENO A, SAKAMOTO Y, et al. Two-year intermittent exposure of a multiwalled carbon nanotube by intratracheal instillation induces lung tumors and pleural mesotheliomas in F344 rats [J]. *Part Fibre Toxicol*, 2022, 19(1): 38.
- [31] PEREIRA A S, GRANDE N R. Particle clearance from the canine pleural space into thoracic lymph nodes: an experimental study [J]. *Lymphology*, 1992, 25(3): 120–128.
- [32] SAKAMOTO Y, HOJO M, KOSUGI Y, et al. Comparative study for carcinogenicity of 7 different multi-wall carbon nanotubes with different physicochemical characteristics by a single intraperitoneal injection in male Fischer 344 rats [J]. *J Toxicol Sci*, 2018, 43(10): 587–600.
- [33] SATO K, FUKUI H, HAGIWARA Y, et al. Difference in carcinogenicities of two different vapor grown carbon fibers with different physicochemical characteristics induced by intratracheal instillation in rats [J]. *Part Fibre Toxicol*, 2023, 20(1): 37.
- [34] CHERNOVA T, MURPHY F A, GALAVOTTI S, et al. Long-fiber carbon nanotubes replicate asbestos-induced mesothelioma with disruption of the tumor suppressor gene Cdkn2a (Ink4a/arf)

- [J]. *Curr Biol*, 2017, 27(21): 3302–3314.
- [35] BERRY G, REID A, ABOAGYE-SARFO P, et al. Malignant mesotheliomas in former miners and millers of crocidolite at Wittenoom (Western Australia) after more than 50 years follow-up [J]. *Br J Cancer*, 2012, 106(5): 1016–1020.
- [36] BLACKSHEAR P E, PANDIRI A R, TON T V, et al. Spontaneous mesotheliomas in F344/N rats are characterized by dysregulation of cellular growth and immune function pathways [J]. *Toxicol Pathol*, 2014, 42(5): 863–876.
- [37] HOJO M, YAMAMOTO Y, SAKAMOTO Y, et al. Histological sequence of the development of rat mesothelioma by MWCNT, with the involvement of apolipoproteins [J]. *Cancer Sci*, 2021, 112(6): 2185–2198.
- [38] JOHNSON B W, TAKAHASHI K, CHENG Y Y. Preclinical models and resources to facilitate basic science research on malignant mesothelioma-A review [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 748444.
- [39] HILTBRUNNER S, FLEISCHMANN Z, SOKOL E S, et al. Genomic landscape of pleural and peritoneal mesothelioma tumours [J]. *Br J Cancer*, 2022, 127(11): 1997–2005.
- [40] XU J, ALEXANDER D B, FUTAKUCHI M, et al. Size-and shape-dependent pleural translocation, deposition, fibrogenesis, and mesothelial proliferation by multiwalled carbon nanotubes [J]. *Cancer Sci*, 2014, 105(7): 763–769.
- [41] MINAMI D, TAKIGAWA N, KATO Y, et al. Downregulation of TBXAS1 in an iron-induced malignant mesothelioma model [J]. *Cancer Sci*, 2015, 106(10): 1296–1302.
- [42] BATOOL Z, XU D, ZHANG X, et al. A review on furan; Formation, analysis, occurrence, carcinogenicity, genotoxicity and reduction methods [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2021, 61(3): 395–406.
- [43] VON TUNGELN L S, WALKER N J, OLSON G R, et al. Low dose assessment of the carcinogenicity of furan in male F344/N Nctr rats in a 2-year gavage study [J]. *Food Chem Toxicol*, 2017, 99: 170–181.
- [44] WAHLBUHL E, LIEHR T, RINCIC M, et al. Cytogenomic characterization of three murine malignant mesothelioma tumor cell lines [J]. *Mol Cytogenet*, 2020, 13: 43.
- [45] MEZZAPELLE R, RRAPAJ E, GATTI E, et al. Human malignant mesothelioma is recapitulated in immunocompetent BALB/c mice injected with murine AB cells [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 22850.
- [46] DIGIFICO E, ERRENI M, MANNARINO L, et al. Important functional role of the protein osteopontin in the progression of malignant pleural mesothelioma [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1116430.
- [47] DELL'ANNO I, MELANI A, MARTIN S A, et al. A drug screening revealed novel potential agents against malignant pleural mesothelioma [J]. *Cancers*, 2022, 14(10): 2527.
- [48] CALVET L, DOS-SANTOS O, SPANAKIS E, et al. YAP1 is essential for malignant mesothelioma tumor maintenance [J]. *BMC Cancer*, 2022, 22(1): 639.
- [49] LUI K S, YE Z, CHAN H C, et al. Anti-PD1 does not improve pyroptosis induced by $\gamma\delta$ T cells but promotes tumor regression in a pleural mesothelioma mouse model [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1282710.
- [50] SCHELCH K, EMMINGER D, ZITTA B, et al. Targeting YB-1 via entinostat enhances cisplatin sensitivity of pleural mesothelioma *in vitro* and *in vivo* [J]. *Cancer Lett*, 2023, 574: 216395.
- [51] HESDORFFER M, BATES-PAPPAS G E. Caring for patients with mesothelioma; principles and guidelines [M]. Switzerland: Springer Nature Switzerland AG, 2019.
- [52] OEY H, DANIELS M, RELAN V, et al. Whole-genome sequencing of human malignant mesothelioma tumours and cell lines [J]. *Carcinogenesis*, 2019, 40(6): 724–734.
- [53] YANG Z R, LIN Y L, ZHANG J, et al. Establishment and characterization of patient derived xenograft model of malignant peritoneal mesothelioma in nude mice [J]. *Chin J Pathol*, 2020, 49(2): 162–167.
- [54] CHEN Z, YANG C, GUO Z, et al. A novel PDX modeling strategy and its application in metabolomics study for malignant pleural mesothelioma [J]. *BMC Cancer*, 2021, 21(1): 1235.
- [55] OFFIN M, SAUTER J L, TISCHFIELD S E, et al. Genomic and transcriptomic analysis of a diffuse pleural mesothelioma patient-derived xenograft library [J]. *Genome Med*, 2022, 14(1): 127.
- [56] POTTER D S, DU R, BOHL S R, et al. Dynamic BH3 profiling identifies pro-apoptotic drug combinations for the treatment of malignant pleural mesothelioma [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 2897.
- [57] HMEJAK J, SANCHEZ-VEGA F, HOADLEY K A, et al. Integrative molecular characterization of malignant pleural mesothelioma [J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(12): 1548–1565.
- [58] KUKUYAN A M, SEMENTINO E, KADARIYA Y, et al. Inactivation of *Bap1* cooperates with losses of *Nf2* and *Cdkn2a* to drive the development of pleural malignant mesothelioma in conditional mouse models [J]. *Cancer Res*, 2019, 79(16): 4113–4123.
- [59] SEMENTINO E, MENGES C W, KADARIYA Y, et al. Inactivation of *Tp53* and *Pten* drives rapid development of pleural and peritoneal malignant mesotheliomas [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(11): 8952–8961.
- [60] MARQUÉS M, TRANCHANT R, RISA-EBRÍ B, et al. Combined MEK and PI3K/p110 β inhibition as a novel targeted therapy for malignant mesothelioma displaying sarcomatoid features [J]. *Cancer Res*, 2020, 80(4): 843–856.
- [61] SUAREZ J S, NOVELLI F, GOTO K, et al. HMGB1 released by mesothelial cells drives the development of asbestos-induced mesothelioma [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2023, 120(39): e2307999120.
- [62] SHAMSEDDIN M, OBACZ J, GARNETT M J, et al. Use of preclinical models for malignant pleural mesothelioma [J]. *Thorax*, 2021, 76(11): 1154–1162.
- [63] JEAN D, JAURAND M C. Mesotheliomas in genetically engineered mice unravel mechanism of mesothelial carcinogenesis [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(8): 2191.