

安庆玲, 谭邓旭, 赵亚, 等. 转基因小鼠源性胰腺癌原位移植瘤模型的构建与评价 [J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(1): 1-8.

AN Q L, TAN D X, ZHAO Y, et al. Establishment and evaluation of an orthotopic transplantation tumor model derived from transgenic mouse with spontaneous pancreatic cancer [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(1): 1-8.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2024.01.001

转基因小鼠源性胰腺癌原位移植瘤模型的构建与评价

安庆玲, 谭邓旭, 赵亚, 张彩勤, 师长宏*

(空军军医大学实验动物中心, 西安 710032)

【摘要】 目的 构建转基因 $LSL-Kras^{G12D/+} LSL-Trp53^{R172H/+} Pdx1-Cre$ (KPC) 小鼠胰腺癌原位移植瘤模型, 为研究胰腺癌的发展机制和治疗策略提供稳定、可靠的药物临床前研究动物模型。方法 将 KPC 转基因小鼠的自发胰腺癌的组织块进行 C57BL/6J 小鼠胰腺原位移植, 利用超声进行肿瘤监测, 对原发肿瘤和传代肿瘤进行苏木精-伊红 (HE) 染色和免疫荧光染色评价模型的肿瘤病理学特征。结果 KPC 小鼠的自发肿瘤能够在 C57BL/6J 小鼠的胰腺上稳定生长, 肿瘤增殖指标 Ki67、基质纤维化标志物 α -SMA、免疫细胞标志物 CD45 和 CD206 均稳定表达, 该模型能够稳定地保留原发胰腺癌病理学特征, 并发生与临床胰腺癌患者相似的广泛转移。结论 成功建立转基因小鼠源性胰腺癌原位移植瘤模型, 该模型能够模拟出胰腺癌的基质环境和免疫细胞浸润情况, 具有较好的稳定性和均一性, 可以作为研究胰腺癌进展和治疗策略的有效药物临床前研究模型。

【关键词】 胰腺癌; KPC 小鼠; 自发; 原位移植瘤

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2024) 01-0001-08

Establishment and evaluation of an orthotopic transplantation tumor model derived from transgenic mouse with spontaneous pancreatic cancer

AN Qingling, TAN Dengxu, ZHAO Ya, ZHANG Caiqin, SHI Changhong*

(Laboratory Animal Center, Air Force Medical University, Xi'an 710032, China)

Corresponding author: SHI Changhong. E-mail: changhong@fmmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To establish an orthotopic transplantation tumor model of pancreatic cancer derived from transgenic $LSL-Kras^{G12D/+} LSL-Trp53^{R172H/+} Pdx1-Cre$ (KPC) mice. To provide a stable and reliable drug preclinical research animal model to study the developmental mechanism and treatment strategies of pancreatic cancer. **Methods** Tumor tissue derived from KPC transgenic mice with spontaneous pancreatic cancer was transplanted into the C57BL/6J mouse pancreas. Ultrasound was used to monitor tumor growth. HE and immunofluorescence staining was used to evaluate the pathological characteristics of this model. **Results** The tumor derived from KPC mice grew steadily on the pancreas of C57BL/6J mice. Tumor cell proliferation index Ki67, matrix fibrosis marker α SMA, and immune cell markers CD45 and CD206 were all stably expressed in the tumor. The model stably retained the pathological features of primary pancreatic cancer. Widespread tumor metastases, which were similar to those observed in patients with pancreatic cancer, developed in this

【基金项目】 国家自然科学基金 (32070532), 军队实验动物专项课题 (SYDW_KY[2021]14)。

Funded by National Natural Science Foundation of China (32070532), Laboratory Animal Foundation of Military (SYDW_KY[2021]14).

【作者简介】 安庆玲, 女, 硕士, 研究方向: 肿瘤免疫治疗。Email: 821543157@qq.com

【通信作者】 师长宏, 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 人类疾病的动物模型。Email: changhong@fmmu.edu.cn

model. **Conclusions** An orthotopic transplantation model derived from a transgenic mouse with spontaneous pancreatic cancer was established successfully. The model simulates the stromal environment and immune cell infiltration of pancreatic cancer and retains strong stability and uniformity with the original tumor. It can be used as an effective drug preclinical research model to study pancreatic cancer progression and treatment strategies.

【Keywords】 pancreatic cancer; KPC mice; spontaneous; orthotopic transplanted tumor

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

胰腺癌是恶性程度最高的肿瘤之一,早诊率低、进展快、预后差,患者 5 年生存率仅为 12%^[1-4]。既往首选手术治疗,但仅 20% 患者可手术,且术后复发率高^[5]。很多患者对放疗不敏感,化疗易产生耐药,同样收效甚微,这可能与胰腺癌致密的基质环境和独特的免疫浸润有关^[6-8]。这些基质成分不仅阻滞化疗药物的浸润,还能增加肿瘤细胞的活性、塑造免疫抑制微环境,促进肿瘤发生发展^[9-12]。建立稳定可靠且能够模拟胰腺癌患者的肿瘤基质与免疫微环境的药物临床前研究动物模型^[13-15],对于研究胰腺癌的发病机制,探索更加有效的治疗方案至关重要。

目前胰腺癌动物模型包括化学诱导模型、移植瘤模型和基因工程模型。化学诱导模型个体差异大,治疗窗口期较短;移植瘤模型缺乏丰富的基质环境和免疫细胞浸润;基因工程模型能够模拟患者胰腺癌的遗传改变,塑造胰腺癌复杂的基质成分和免疫微环境,是研究胰腺癌发生、进展,筛选治疗策略的理想动物模型^[16]。*LSL-Kras^{G12D/+} LSL-Trp53^{R172H/+} Pdx1-Cre* (KPC) 转基因小鼠是研究胰腺癌最常用的自发转基因小鼠模型,其原癌基因 *LSL-Kras^{G12D/+}* 在胰腺上特异性活化,抑癌基因 *LSL-Trp53^{R172H/+}* 在胰腺被特异性抑制,从而诱导胰腺癌的发生。但是,该小鼠模型自发肿瘤周期长,肿瘤异质性高,成瘤时间不稳定,组内肿瘤一致性较差^[17-18]。为了克服 KPC 小鼠的缺点,扩大其在胰腺癌药物临床前研究中的应用,尝试将其自发性胰腺癌肿瘤组织块移植到 C57BL/6J 小鼠胰尾,完善造模方法和评价技术,从而获得批量、均一旦稳定生长的原位模型,以模拟更加贴合临床特征的胰腺癌微环境和稳定的胰腺癌进展过程,促进胰腺癌发病机制、预防措施和治疗方案的研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

2 只 SPF 级雄性 *LSL-Kras^{G12D/+} LSL-Trp53^{R172H/+}*

(KP) 小鼠、2 只 SPF 级雌性 *Pdx1-Cre* 小鼠和 66 只 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠,6 ~ 8 周龄,18 ~ 22 g,均购自江苏集萃药康生物科技有限公司【SCXK(苏)2023-0009】,饲养在空军军医大学实验动物中心 SPF 级屏障设施内【SYXK(陕)2019-001】。环境温度 23 ~ 25 °C,相对湿度 40% ~ 60%,12 h 昼夜交替,小鼠笼盒、垫料、饲料及饮用水等经高温高压灭菌处理,动物自由摄食和饮水。本动物实验获得空军军医大学实验动物福利及伦理委员会批准(IACUC-20220830)。

1.1.2 主要试剂与仪器

DMEM 培养基、胎牛血清 (Gibco), DMSO (Sigma, D2650), 兔源 Ki67 抗体 (Abcam, ab16667), 鼠源 α -SMA 抗体 (Servicebio, GB13044), 兔源 CD45 抗体 (proteintech, 20103-1-AP), 鼠源 CD206 抗体 (proteintech, 60143-1-Ig), Cy3 标记山羊抗兔 IgG (GB21303-100UL), Cy3 标记山羊抗小鼠 IgG (GB21301-100UL), DAPI (Leagene, DA002), 甘油明胶 (Solarbio, S2150)。彩色多普勒超声系统 (Mindray, ZS3 SCI), 光学显微镜 (OLYMPUS, BX43) 用于 HE 染色拍摄, Image J 1.8.0 软件进行半定量分析, 激光扫描共聚焦显微镜 (ZEISS, LSM 900) 用于免疫荧光染色拍摄和分析。

1.2 方法

1.2.1 原位模型构建以及肿瘤组织的冻存与复苏

将 KP 小鼠与 *Pdx1-Cre* 小鼠合笼进行交配,新生的小鼠经琼脂糖凝胶电泳鉴定基因筛选得到 KPC 小鼠。选择自发胰腺癌的 KPC 小鼠作为移植供体,于状态明显较差、临近仁慈终点的时候进行安乐死,在无菌条件下取出胰腺原发肿瘤,该肿瘤组织为 P0 代 (Passage 0)。将 P0 代原发胰腺癌组织快速转移至 4 °C 的 DMEM 培养液中,去除坏死部分,选择质地均匀的肿瘤部分修剪成 2 mm × 2 mm × 2 mm 大小一致的组织块,用于后续移植或冻存。将 10 只 6 ~ 8 周龄的 C57BL/6J 小鼠作为移植受体,用戊巴比妥钠按照 30 mg/kg 剂量进行麻醉,左侧腹部剃毛后,采用无菌操作进行手术,用缝合线

将胰腺癌组织块缝合到胰尾, 术后将小鼠放置 37 °C 保温毯上直至苏醒。将剩余部分 P0 代肿瘤组织块置入含有 90% 胎牛血清与 10% DMSO 的 1.5 mL 冻存管内, 梯度降温后液氮保存。复苏时, 从液氮拿出冻存管迅速置于 37 °C 水浴锅中复温, DMEM 培养液清洗肿瘤组织去掉残留冻存液后将组织块移植于 36 只 C57BL/6J 小鼠的胰尾, 验证肿瘤复苏成功率。

1.2.2 超声监测

手术完成后, 每 2 ~ 3 d 用彩色多普勒超声对肿瘤的生长情况进行监测, 于肿瘤体积 800 ~ 1000 mm³ 结束观察并对其进行安乐死, 收集胰腺肿瘤、肠、腹膜、脾、肾、肝和肺置于 4% 多聚甲醛中性固定液中, 石蜡包埋后切片。

1.2.3 HE 染色

石蜡切片二甲苯脱蜡, 100%、90%、80%、70% 乙醇各 5 min 覆水, 苏木精染色 5 min, 乙酸分化 2 s, 促蓝液返蓝 1 min, 伊红染色 5 min, 70% ~ 95% 梯度乙醇脱水各 5 min, 浸泡二甲苯后用中性树脂封片, 显微镜下观察并拍照。

1.2.4 免疫荧光染色

石蜡切片二甲苯脱蜡, 100%、90%、80%、70% 乙醇各 5 min 覆水, 柠檬酸钠缓冲液抗原修复, 2% BSA 封闭非特异性抗原表位 1 h, 4 °C 过夜孵育一抗, 次日常温避光孵育荧光标记的二抗 2 h, DAPI 复染细胞核 10 min, 甘油明胶封片, 应用激光共聚焦显微镜观察并拍照。

1.3 统计学分析

使用 SPSS 21.0 软件对数据进行统计学分析, Graphpad Prism 8.0 软件进行图片制作, 以平均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。多组间比较采用单因素方差分析进行组间差异性分析, 用 Tukey's 检验进行多重比较, 生存率用 Log-rank test 检验比较与无症状小鼠的指标差异, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 KPC 小鼠自发胰腺癌情况

将 KP 小鼠与 *Pdx1-Cre* 小鼠合笼进行交配, 新生的小鼠经琼脂糖凝胶电泳鉴定基因筛选得到 24 只 KPC 小鼠(图 1A)。在饲养过程中密切关注 KPC 小鼠的状态, 当出现体重下降、行动迟缓、精神萎靡或者腹部异常肿大时, 通过体外无创超声监测技术观察其自发胰腺癌的情况(图 1B)。KPC 小鼠体重

下降 10% 或者自发肿瘤体积达到 800 ~ 1000 mm³, 判断为仁慈终点, 通过解剖再次确认 KPC 小鼠自发胰腺癌的情况, 其中 4 只(16.66%) KPC 小鼠自发胰腺癌, 平均寿命 124.5 d; 10 只(41.67%) KPC 小鼠自发皮下肉瘤, 多发生在四肢, 由于肉瘤发生较早, 进展迅速, 肿瘤负荷比较大, 这类小鼠生存期最短, 平均寿命 92.5 d; 其余 10 只(41.67%) KPC 小鼠没有观察到明确的自发胰腺肿瘤和皮下肉瘤, 平均寿命 169.9 d(图 1C ~ 1E)。KPC 小鼠自发胰腺癌组织的 HE 染色结果显示, 肿瘤细胞呈无序排列, 具有中等分化的导管样结构, 间质成分丰富, 富含胶原蛋白和各种免疫细胞。

2.2 组织块原位移植瘤模型构建

选择 C57BL/6J 小鼠作为移植受体, 将 KPC 小鼠自发胰腺癌组织块移植到受体小鼠的胰尾, 具体操作同方法“1.2.1”(图 2A, 2B)。移植后, 观察 2 ~ 3 周, 并通过体外无创超声技术监测移植肿瘤的生长速度(图 2C), 绘制生长曲线, 结果显示, 移植术后 6 d 瘤体增长速度明显加快。KPC1 在移植 17 d 时, 瘤体体积在 $(621.4 \pm 180.9) \text{ mm}^3$, KPC2 在移植 13 d 时, 瘤体体积在 $(744.9 \pm 107.1) \text{ mm}^3$, KPC3 在移植 13 d 时, 瘤体体积在 $(800.6 \pm 142.9) \text{ mm}^3$ (图 2D)。表明这种方法构建的转基因小鼠源性胰腺癌组织块原位移植瘤具有稳定增殖能力。将冻存复苏后的肿瘤组织块移植于 36 只 C57BL/6J 小鼠胰尾, 其中 35 只小鼠成功生长胰腺癌, 肿瘤组织块冻存后复苏成功率高达 97.22%。

2.3 模型评价

2.3.1 模型病理学特征稳定性的评价

肿瘤传代的病理学稳定性对于肿瘤研究具有重要意义, 是评价肿瘤模型可靠性和可重复性的关键因素。为验证转基因小鼠源性胰腺癌组织块原位移植瘤的移植稳定性, 将其进行传代移植, 在连续传代 4 次后, 取正常胰腺、P0 代原发胰腺癌组织和不同传代次数的原位移植瘤组织进行 HE 染色, 结果显示传代 4 次后, KPC 小鼠 P4 代原位移植瘤组织仍能保持其导管样腺体瘤形态, 间质成分丰富, 与 P0 代原发胰腺癌组织形态一致, 说明该模型能稳定地保留原发胰腺癌病理学特征(图 3A)。

2.3.2 模型微环境相似性的评价

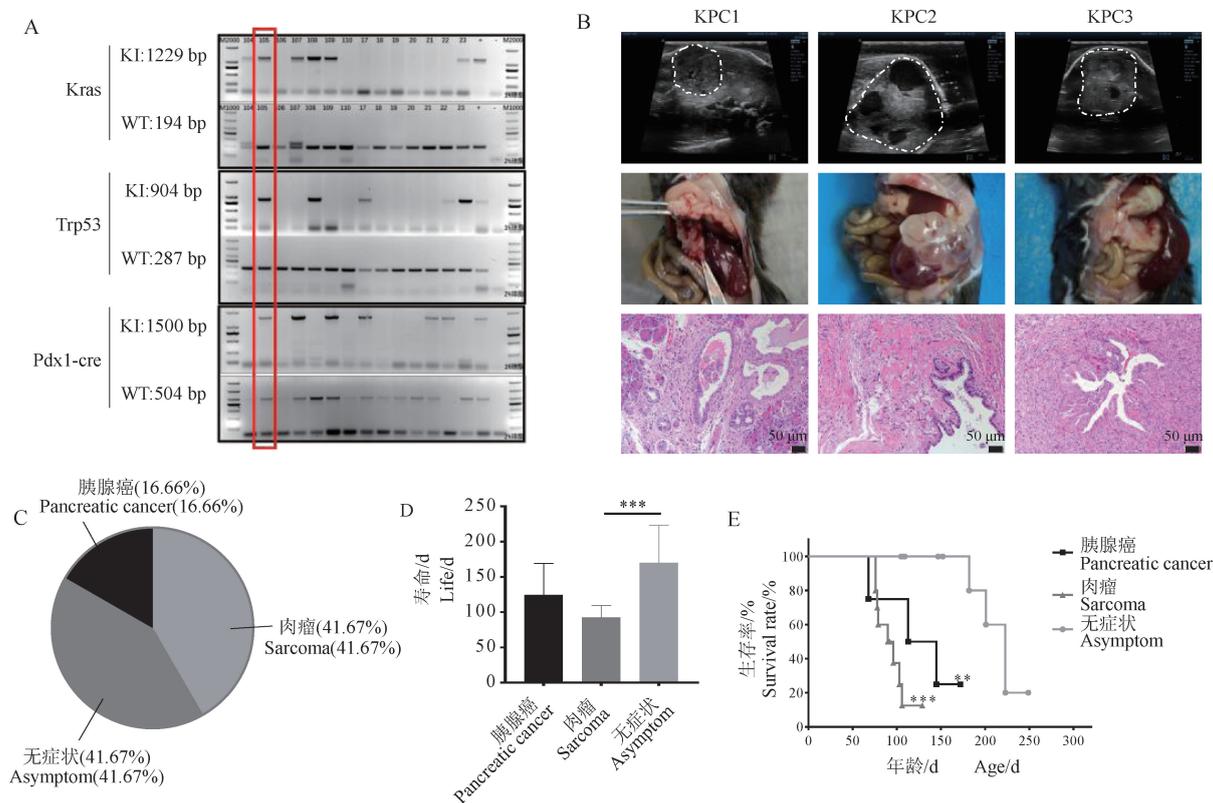
胰腺癌拥有复杂的微环境, 包括致密的基质环境和独特的免疫浸润情况。为了验证该模型的基质和免疫浸润情况, 选择传代 4 次的 P4 代原位移植

瘤组织和 P0 代原发胰腺癌组织及正常胰腺组织进行对比。首先,采用 Ki67 和 α -SMA 分别作为肿瘤增殖和基质纤维化的指标,通过免疫荧光染色技术分析其基质情况。结果显示,第 4 代原位移植瘤组织的增殖和纤维化程度相较于正常胰腺组织均明显升高,原位移植瘤组织的增殖和纤维化程度相较于 KPC P0 代自发原位胰腺癌组织也有升高, Ki67 阳性面积分别为 $(2.7500 \pm 0.0841)\%$ vs. $(1.2730 \pm 0.1652)\%$, α -SMA 阳性面积分别为 $(3.3110 \pm 0.3585)\%$ vs. $(2.2000 \pm 0.1394)\%$,这说明原位移植瘤传代保持病理学特征的同时,还可以将其增殖能力和间质特征扩大(图 3B)。免疫荧光结果表明,正常胰腺组织、P0 代原发胰腺癌组织、第 4 代原位移植瘤组织,均可发现不同程度的 CD45 阳性免疫细胞和 CD206 阳性免疫抑制细胞浸润,且与正常胰腺组织相比,P0 代原发胰腺癌和第 4 代原位移植瘤组织的免疫细胞浸润数量更多(图 3C)。这说明

该模型既能模拟胰腺癌的进展过程,也能真实地反映基质和免疫系统在胰腺癌进展过程中的作用。

2.3.3 模型肿瘤转移能力的评价

转移的发生一直是肿瘤学研究的热点,是肿瘤治疗失败和预后恶化的主要原因之一,构建具有肿瘤转移能力的药物临床前研究的动物模型对于揭示肿瘤转移机制和患者预后至关重要。本研究构建的模型在仁慈终点还发生了广泛的侵袭转移,可以直接在腹膜、脾和肠道观察到肿瘤包块(图 4A)。HE 染色及统计学分析结果显示,该原位胰腺癌模型 96.67% 发生肠转移,93.33% 发生腹膜转移,76.67% 发生脾转移,20% 发生肺转移(图 4B)。另外,虽然肾和肝没有发生明显的肿瘤细胞转移病灶,但是观察到肾小球数量增多、体积增大,少数肝细胞发生坏死,凋亡小体增多(图 4C)。因此,该模型可以作为研究胰腺癌转移机制及预防治疗方案的药物临床前研究的动物模型。

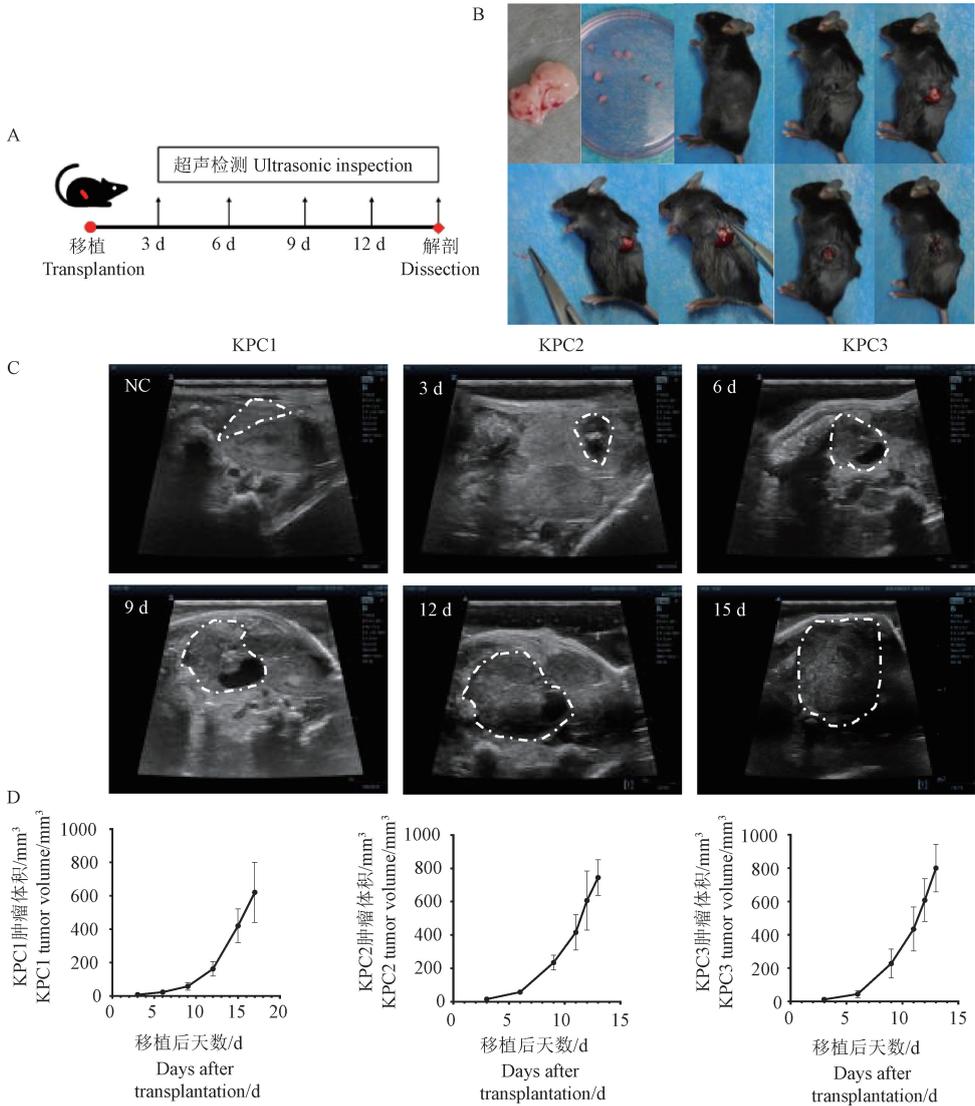


注:A:基因鉴定图;B:自发胰腺癌超声图、实拍图、HE 染色图;C:肿瘤自发情况;D:平均寿命;E:生存曲线;与无症状相比,** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图 1 KPC 小鼠自发胰腺癌情况

Note. A. Gene identification map. B. Spontaneous pancreatic cancer ultrasound, real imaging, HE imaging. C. Tumor spontaneity. D. Average life span. E. Survival curve. Compared with asymptom, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

Figure 1 Spontaneous pancreatic cancer in KPC mice



注: A:原位模型的构建模式图;B:手术移植过程;C:超声动态监测;D:原位移植瘤生长曲线。

图2 组织块原位移植瘤模型构建

Note. A. Diagram of model construction and evaluation. B. Process of surgical transplantation. C. Ultrasonic dynamic monitoring. D. Growth curve of orthotopic transplantation tumor.

Figure 2 Construction of pancreatic cancer orthotopic transplantation

3 讨论

胰腺癌基因工程小鼠模型能够反应胰腺癌患者遗传物质变化情况,完整地模拟了胰腺癌的发生与进展过程,富含丰富的肿瘤基质成分和免疫微环境,是研究胰腺癌最理想的动物模型^[19]。但是其造模周期长,胰腺癌自发时间不能预测,发生比例低,且不同个体自发的胰腺癌异质性强,同一时期获得足够实验的动物数量需要很多时间和经济成本,从而限制了应用^[20]。

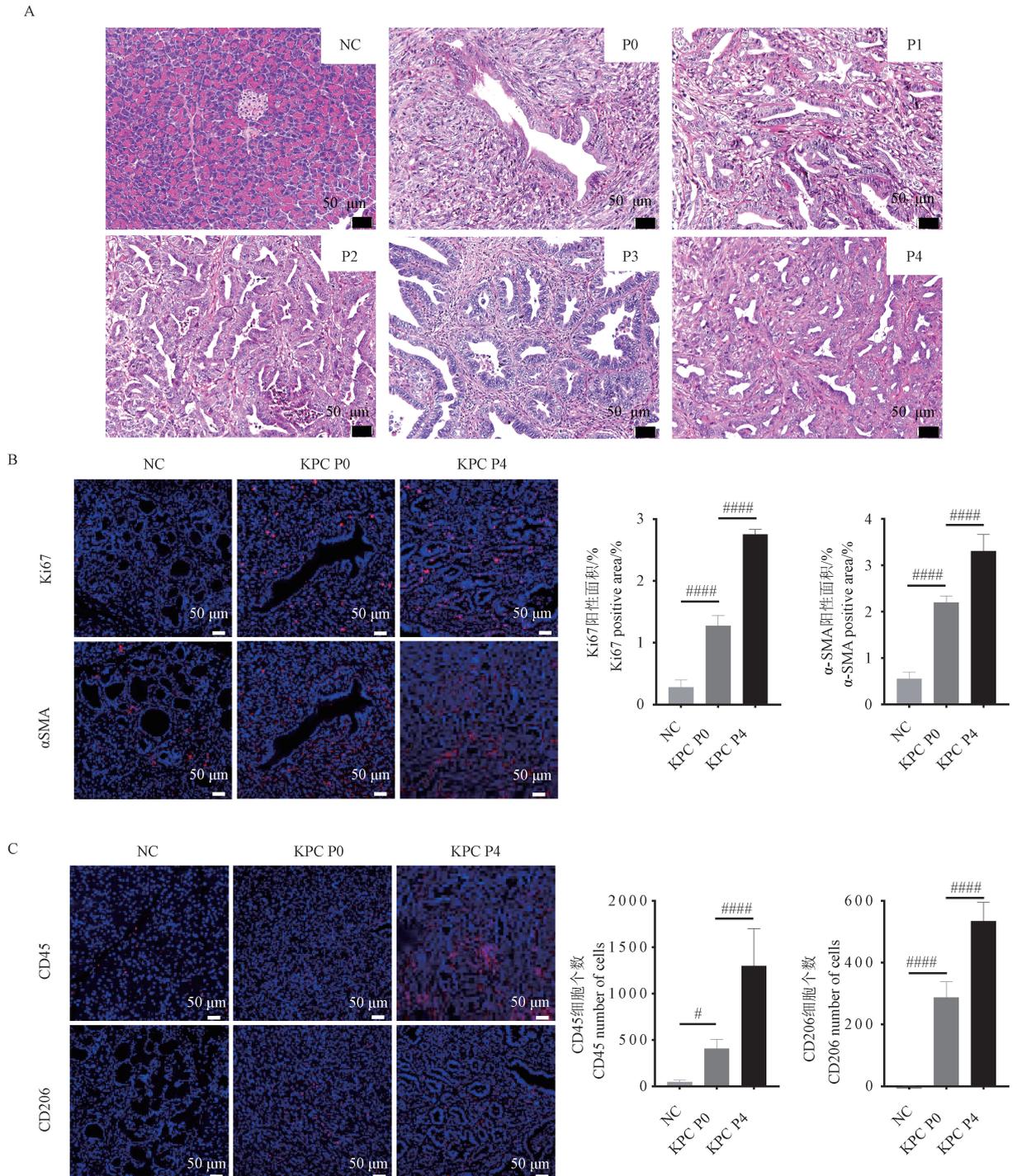
在自发胰腺癌 KPC 小鼠的基础上,将肿瘤组织去除坏死部分,选择质地均匀的肿瘤部分修剪成大

小一致的组织块,移植到野生的 C57BL/6J 小鼠的胰尾,构建了基于 KPC 自发胰腺癌肿瘤的原位移植瘤模型。选择 Ki67 作为肿瘤增殖指标,α-SMA 作为纤维化指标,评价胰腺癌的基质情况;CD45 作为免疫细胞标志物,CD206 作为免疫抑制细胞标记物,评价胰腺癌免疫细胞浸润情况^[21-22]。通过免疫荧光染色分析,该模型能够稳定的模拟并且遗传胰腺癌的导管腺瘤形态,具有良好的增殖能力,拥有与患者相似的纤维环境和免疫细胞浸润。采用这种造模方式可以快速、大规模的进行胰腺癌相关研究。为防止体内连续传代导致肿瘤生物学特征发生变化,选择将低代次(P0、P1 代)的肿瘤组织进行

冷冻保存, 复苏后原位移植成功率高达 97.22%。除此之外, 发现该模型中, 胰腺癌能够转移到肠、腹膜等多器官, 这与临床上胰腺癌发生转移的部位和

病理特征相似, 所以可以作为研究胰腺癌转移机制的优质模型。

实验过程中, 需要有效的技术手段监测原位肿

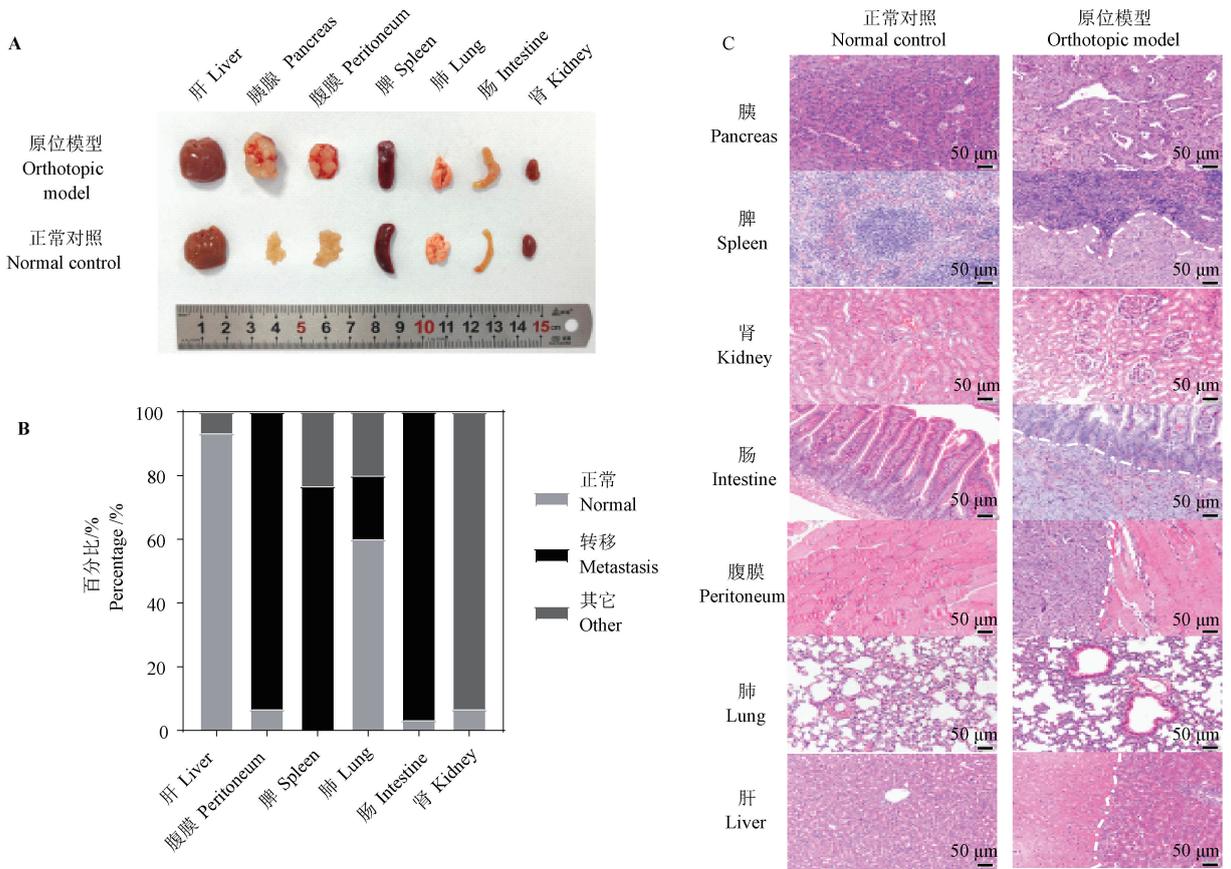


注: A: 移植瘤的 HE 染色结果; B: 肿瘤基质的免疫荧光染色图; C: 免疫浸润细胞的荧光染色图; 与 NC 相比, $^{\#}P < 0.05$, $^{####}P < 0.0001$ 。

图 3 模型病理学稳定性和微环境相似性的评价

Note. A. HE images of transplantation tumor. B. Immunofluorescence staining images of matrix conditions. C. Immunofluorescent staining images of immunoinfiltrating cells. Compared with the NC, $^{\#}P < 0.05$, $^{####}P < 0.0001$.

Figure 3 Evaluation of pathological stability and microenvironment similarity of the model



注:A:各器官转移情况图;B:转移情况统计图;C:转移瘤的 HE 染色结果。

图 4 肿瘤模型转移特征的评价

Note. A. Images of organ metastasis. B. Statistics results of metastasis characters. C. HE staining results of metastasis tumor.

Figure 4 Evaluation the tumor metastasis characters of this model

瘤的动态生长情况。在本研究主要用到腹部超声动态监测了该模型的生长情况并绘制了肿瘤生长曲线。超声波技术是一种无创、无辐射的方法,可以用来检测胰腺肿块,并评估其性质(囊实性、实质性)^[23]。为了获取清晰可靠的实验数据,在进行超声检查之前,需要对实验动物进行隔夜禁食,以减少胃肠蠕动对胰腺的干扰。次日将造模小鼠呈仰卧位放置,沿腹主动脉横切扫查,以脾和肾的解剖位置辅助判断胰腺的大体位置,彩色多普勒成像显示血流,少血供、低回声区域即为胰腺肿瘤区域,通过计算获取胰腺肿瘤的体积大小。尽管胰腺肿瘤超声检查的敏感性高度依赖于操作者的经验和疾病进展的程度,但其检查结果比较准确,能够作为胰腺肿瘤原位实验动物模型的影像诊断工具^[24]。

构建转基因小鼠源性胰腺癌组织块原位移植瘤模型的优势在于其易于操作、成本相对较低,且肿瘤与人胰腺癌具有较高的生物相似性。此外,这种模型可以更好地模拟肿瘤在体内生长和发展的

过程,并为新药物的筛选提供可靠的动物模型^[25]。然而,该模型也存在一些限制。首先,该模型仍然是以小鼠作为宿主,而非完全模拟人类的生理环境。其次,这种模型对于特定基因突变类型的胰腺癌可能并不适用,因为不同的基因突变可能产生不同的生物学行为和病理学特征^[26-27]。

综上所述,转基因小鼠源性胰腺癌组织块原位移植瘤模型是一种可行的模型,可以用于研究胰腺癌的发生机制和治疗方法的评估。通过对模型的构建与评价,可以更好地了解胰腺癌的发展过程,并为治疗策略的研究提供有效的平台。

参 考 文 献 (References)

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, WAGLE N S, et al. Cancer statistics, 2023 [J]. CA Cancer J Clin, 2023, 73(1): 17-48.
- [2] KLEIN A P. Pancreatic cancer epidemiology: understanding the role of lifestyle and inherited risk factors [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2021, 18(7): 493-502.
- [3] DELVECCHIO F R, FINCHAM R E A, SPEAR S, et al. Pancreatic cancer chemotherapy is potentiated by induction of

- tertiary lymphoid structures in mice [J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2021, 12(5): 1543–1565.
- [4] WANG Y, YAN Q, FAN C, et al. Overview and countermeasures of cancer burden in China [J]. *Sci Chin Life Sci*, 2023, 66(11): 2515–2526.
- [5] MAJUMDER K, ARORA N, MODI S, et al. A novel immunocompetent mouse model of pancreatic cancer with robust stroma; a valuable tool for preclinical evaluation of new therapies [J]. *J Gastrointest Surg*, 2016, 20(1): 53–65.
- [6] SHERMAN M H, BEATTY G L. Tumor microenvironment in pancreatic cancer pathogenesis and therapeutic resistance [J]. *Annu Rev Pathol*, 2022, 18: 123–148.
- [7] AEFNER F, MARTIN N T, PELJTO M, et al. Quantitative assessment of pancreatic cancer precursor lesions in IHC-stained tissue with a tissue image analysis platform [J]. *Lab Invest*, 2016, 96(12): 1327–1336.
- [8] HESSMANN E, PATZAK M S, KLEIN L, et al. Fibroblast drug scavenging increases intratumoural gemcitabine accumulation in murine pancreas cancer [J]. *Gut*, 2018, 67(3): 497–507.
- [9] HASSELLUHN M C, KLEIN L, PATZAK M S, et al. Stromal features of the primary tumor are not prognostic in genetically engineered mice of pancreatic cancer [J]. *Cells*, 2019, 9(1): 58.
- [10] ORR S, HUANG L, MOSER J, et al. Personalized tumor vaccine for pancreatic cancer [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2023, 72(2): 301–313.
- [11] STRITTMATTER N, RICHARDS F M, RACE A M, et al. Method to visualize the intratumor distribution and impact of gemcitabine in pancreatic ductal adenocarcinoma by multimodal imaging [J]. *Anal Chem*, 2022, 94(3): 1795–1803.
- [12] BOCHNER F, MOHAN V, ZINGER A, et al. Intravital imaging of vascular anomalies and extracellular matrix remodeling in orthotopic pancreatic tumors [J]. *Int J Cancer*, 2020, 146(8): 2209–2217.
- [13] RENZ B W, TAKAHASHI R, TANAKA T, et al. β 2 adrenergic-neurotrophin feedforward loop promotes pancreatic cancer [J]. *Cancer Cell*, 2018, 34(5): 863–867.
- [14] ALONSO-NOCELO M, RUIZ-CANˆAS L, SANCHO P, et al. Macrophages direct cancer cells through a LOXL2-mediated metastatic cascade in pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Gut*, 2023, 72(2): 345–359.
- [15] LUO Y, LI Z, KONG Y, et al. KRAS mutant-driven SUMOylation controls extracellular vesicle transmission to trigger lymphangiogenesis in pancreatic cancer [J]. *J Clin Invest*, 2022, 132(14): e157644.
- [16] KONG K, GUO M, LIU Y, et al. Progress in animal models of pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *J Cancer*, 2020, 11(6): 1555–1567.
- [17] GOPINATHAN A, MORTON J P, JODRELL D I, et al. GEMMs as preclinical models for testing pancreatic cancer therapies [J]. *Dis Model Mech*, 2015, 8(10): 1185–1200.
- [18] NIKNAFS N, ZHONG Y, MORAL J A, et al. Characterization of genetic subclonal evolution in pancreatic cancer mouse models [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 5435.
- [19] LI J, QIAN W, QIN T, et al. Mouse-derived allografts: a complementary model to the KPC mice on researching pancreatic cancer *in vivo* [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2019, 17: 498–506.
- [20] ARISTON GABRIEL A N, JIAO Q, YVETTE U, et al. Differences between KC and KPC pancreatic ductal adenocarcinoma mice models, in terms of their modeling biology and their clinical relevance [J]. *Pancreatol*, 2020, 20(1): 79–88.
- [21] YU S Y, LUAN Y, TANG S, et al. Uncovering tumor-promoting roles of activin A in pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Adv Sci*, 2023, 10(16): e2207010.
- [22] AZAD A, LIM SY, D' COSTA Z, et al. PD-L1 blockade enhances response of pancreatic ductal adenocarcinoma to radiotherapy [J]. *EMBO Mol Med*, 2017, 9(2): 167–180.
- [23] HAY C A, SOR R, FLOWERS A J, et al. Ultrasound-guided orthotopic implantation of murine pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *J Vis Exp*, 2019, 153: 1–10.
- [24] LANDER V E, BELLE J I, KINGSTON N L, et al. Stromal reprogramming by FAK inhibition overcomes radiation resistance to allow for immune priming and response to checkpoint blockade [J]. *Cancer Discov*, 2022, 12(12): 2774–2799.
- [25] MALLYA K, GAUTAM S K, AITHAL A, et al. Modeling pancreatic cancer in mice for experimental therapeutics [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2021, 1876(1): 188554.
- [26] MAZUR P K, SIVEKE J T. Genetically engineered mouse models of pancreatic cancer; unravelling tumour biology and progressing translational oncology [J]. *Gut*, 2012, 61(10): 1488–1500.
- [27] COLVIN E K, SCARLETT C J. A historical perspective of pancreatic cancer mouse models [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2014, 27: 96–105.

[收稿日期] 2023-09-05