

李鹏,黄敏丽,谭邓旭,等.胰腺癌类器官模型的构建与应用[J].中国比较医学杂志,2024,34(6):40-46.

Li P, Huang ML, Tan DX, et al. Construction and application of patient-derived pancreatic tumor organoid model [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(6): 40-46.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.06.005

胰腺癌类器官模型的构建与应用

李 鹏^{1,2}, 黄敏丽^{1,2}, 谭邓旭², 张彩勤², 张永斌¹, 师长宏^{2*}

(1.广州中医药大学动物实验中心,广州 510405;2.第四军医大学实验动物中心,西安 710032)

【摘要】 目的 构建胰腺癌类器官(patient-derived tumor organoid, PDO)并进行药物治疗评价,评估 PDO 模型的有效性。方法 收集胰腺癌患者新鲜手术标本,用于 PDO 培养;分析 PDO 模型与原发瘤的病理学和遗传学特征;利用 PDO 模型开展临床化疗药物的疗效评价,测试模型的有效性。结果 成功建立一例胰腺癌 PDO 模型,组织形态学分析显示 PDO 模型基本保持了原发肿瘤病理学特征。全外显子测序结果显示, PDO 在基因突变类型和特征方面与原始肿瘤保持一致。药物筛选试验显示, PDO 模型对临床常用的化疗药物吉西他滨、伊立替康具有较好的敏感性。结论 成功构建了一例胰腺癌 PDO 模型,该模型能够反应原始肿瘤的组织学和遗传学特征,并可以进行体外药物敏感性实验,证明了 PDO 模型的有效性,有望应用于胰腺癌的个体化治疗。

【关键词】 胰腺癌;类器官;药物筛选;个体化治疗

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2024) 06-0040-07

Construction and application of patient-derived pancreatic tumor organoid model

LI Peng^{1,2}, HUANG Minli^{1,2}, TAN Dengxu², ZHANG Caiqin², ZHANG Yongbin¹, SHI Changhong^{2*}

(1. Animal Laboratory Center, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China.

2. Laboratory Animal Center, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032)

【Abstract】 **Objective** To construct a patient-derived pancreatic tumor organoid (PDO) and evaluate its effectiveness. **Methods** We collected fresh surgical specimens from pancreatic cancer patients for PDO culture and compared the pathological and genetic characteristics of the PDO model with those of primary tumors. The PDO model was used to evaluate the efficacy of clinical chemotherapy drugs, and the effectiveness of the model was assessed. **Results** A PDO model of pancreatic cancer was successfully established. Histomorphological analysis indicated that the PDO model maintained the basic pathological characteristics of the primary tumor. Whole-exon sequencing showed that both the organoids and original tumor tissue remained consistent in their gene mutation type and characteristics. Drug screening tests revealed that the PDO model had good sensitivity to gemcitabine and irinotecan. **Conclusions** A pancreatic cancer PDO was successfully constructed that reflected the histological and genetic characteristics of the original tumor. The model was shown to be effective for drug sensitivity experiments *in vitro* and is expected to have implications for precision medicine assays.

【Keywords】 pancreatic cancer; organoid; drug screening; precision treatment

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

[基金项目] 国家自然科学基金(32270566)。

[作者简介] 李鹏(1996—),男,硕士,研究方向:类器官模型的构建和应用。E-mail:1715557495@qq.com

[通信作者] 师长宏(1973—),男,教授,研究方向:肿瘤模型的制备与评价。E-mail:changhong@fmmu.edu.cn

胰腺导管腺癌 (pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC) 是一种临床常见的恶性肿瘤, 30% 的 PDAC 患者被诊断为临床局限性疾病, 可以进行手术切除。但是手术切除后, 大多数患者会出现局部或远处复发^[1-2]。化疗是患者术后的首要选择, 但是 PDAC 患者的术后化疗通常基于临床经验和患者状态, 仅有一小部分患者对化疗敏感。因此, 建立合适的临床前模型, 为患者最有效的化疗方案选择提供依据成为现在临床的迫切要求。

最近几年, 一种新的临床前类器官 (patient-derived tumor organoid, PDO) 模型为评估患者药物敏感性提供新的选择^[3-4]。PDO 模型是一种 3D 培养的具有自我扩增、自我组织的细胞聚集物。相较于长期传代丧失了亲本组织的遗传学特征和肿瘤异质性的肿瘤细胞系模型, 该模型较好地保留了原始肿瘤的生物特征和肿瘤标志物, 这可能在评估患者的药物敏感性和精准医疗方面具有巨大的潜力^[5-6]。

本研究通过收集临床胰腺癌患者手术标本, 建立相应的胰腺癌 PDO 模型, 分析模型与原始肿瘤组织的异质性, 进一步利用 PDO 模型筛选敏感化疗药物, 从而评估 PDO 模型作为临床前模型的有效性, 期望能为胰腺癌的临床治疗提供理想的临床前模型。

1 材料和方法

1.1 胰腺癌组织标本

所有胰腺癌组织样本取自西京医院消化外科进行手术的胰腺癌患者。肿瘤组织通过病理学检查确定为胰腺癌肿瘤组织。所有患者均签署知情同意书, 同意使用肿瘤标本进行科学研究。本研究所有实验过程均通过西京医院医学伦理委员会审查 (KY20203128-1)。

1.2 主要试剂与仪器

DMED/F12 培养基 (Gibco 公司, 11330057); TrypLE 酶 (Gibco 公司, 12605010); Matrigel 基质胶 (Corning 公司, 356231); 胶原酶 II (Sigma-Aldrich 公司, 1148090); 胶原酶 IV (Sigma-Aldrich 公司, C4-BIOC); FGF10 (RD 公司, 345-FG-025/CF); EGF (RD 公司, 236-EG-200); A83-01 (RD 公司, 2939/10); 烟酰胺 (RD 公司, 4106/50); B27 (RD 公司, MAB4212F); Forskolin (RD 公司, 344281-M); Noggin (RD 公司, GF173); Y-27623 (Selleck 公司, S1049);

吉西他滨 (Selleck 公司, S1714); 伊立替康 (Selleck 公司, S1198); 5-氟尿嘧啶 (Selleck 公司, S1209); 紫杉醇 (Selleck 公司, S1150); 胎牛血清 (Gibco 公司, A5669701); CA19-9 (abcam 公司, ab3982); CEA (abcam 公司, ab133633); Ki67 抗体 (abcam, ab238020)。24 孔平底组织培养板 (Corning 公司, 3337); 50 mL 离心管 (Corning 公司, 480143); 70 μ m 滤网 (Corning 公司, 431751); CellTiter-Glo (Promega 公司, G7570); 倒置光学显微镜 (Nikon 公司, 中国); 酶标仪 (Thermo Fisher Scientific 公司, 中国); 全外显子测序由杭州联川生物完成。

1.3 实验方法

1.3.1 样本处理

术后取胰腺癌样本大小约 1 cm $\times$ 1 cm $\times$ 1 cm 置于无血清培养基中。快速转移到超净工作台。将样本分为 3 部分, 较大的部分进行 PDO 培养, 小部分使用 4% 多聚甲醛固定用作包埋切片, 一部分置于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱冷冻用作基因测序。

1.3.2 肿瘤组织消化

使用无菌剪刀将较大的肿瘤组织剪碎, 用 1.5 mg/mL 胶原酶 II, 10 μ g/mL 透明质酸酶 IV 和 10 μ mol Y-27632 进行消化酶解。将消化液和剪碎的组织混合在 15 mL 离心管中, 置于 37 $^{\circ}$ C 恒温摇床上震动消化, 待混合液中无明显组织块后, 使用含有 10% 血清的培养基终止消化。用 100 μ m 滤网将混合液过滤, 过滤后在 4 $^{\circ}$ C 800~1200 r/min 条件下离心 3 min, 弃掉上清。加 PBS 重悬, 洗涤 2~3 次。

1.3.3 类器官培养

Matrigel 提前置于冰上解冻, 将细胞沉淀重悬在 70% 的 Matrigel 和 30% 的 DMED/F12 培养基的混合液中, 以每孔 30 μ L 的体积加入到 24 孔板底部中间, 倒置 24 孔板于 37 $^{\circ}$ C 孵箱中 15~30 min。待 Matrigel 凝固之后, 每孔加入 500 μ L 配好的 PDO 培养。PDO 培养基成分为 DMEM/F12、HEPES 10 mmol、Glutamax 1X、A83-01 500 nmol、hEGF 50 ng/mL、hNoggin 100 ng/mL、hFGF10 100 ng/mL、hGastrin I 0.01 μ mol、Nacetylcysteine 1.25 mmol、Nicotinamide 10 mmol、PGE2 1 μ mol、B27 supplement 1X、Rspodin1 conditioned media 10% 和 Afamin/Wnt3A 条件培养基 50%^[7-8]。每 3 d 换液 1 次, 每 1~2 周传代 1 次。

1.3.4 类器官传代

机械传代, 用 1000 μ L 枪头轻轻刮下 Matrigel,

吹打 2~3 min, 离心弃上清。以每孔 30 μL 的体积加入到 24 孔板底部中间, 倒置 24 孔板于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵箱中 15~30 min。Matrigel 凝固之后, 每孔加入 500 μL 配好的 PDO 培养; 消化液传代, 待 PDO 直径达到 200 μm , 弃去 PDO 培养基。每孔加入 500 μL TrypLE 酶, 用 1000 μL 枪头轻轻刮下 Matrigel, 轻轻吹散, 在显微镜下观察 PDO 破碎之后, 加入含有 10% 血清的培养基终止消化。离心弃上清, 使用预冷的含 1% 双抗的 PBS 重复 2~3 次, 其余操作同上。传代后的 PDO 根据数量按照 1:2~1:4 的比例重新铺板。

1.3.5 类器官冻存和复苏

类器官的冻存: 待 PDO 直径达到 100 μm , 用 1000 μL 枪头轻轻刮下 Matrigel, 离心弃上清, 使用预冷的含 1% 双抗的 PBS 重复 2~3 次, 在 90% 的血清和 10% 的 DMSO 配成的冻存液重悬, 置于冻存管中, 放入冻存盒后转移到 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱, 24 h 后放入到液氮中保存。

类器官的复苏: 快速将冻存管从液氮中取出, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中解冻, 后使用含有 10% 血清的培养基重悬, 离心弃上清得到 PDO, 其余操作同类器官培养。

1.3.6 HE 染色及免疫组化检测

待 PDO 直径达到 200~300 μm 时, 将 PDO 从板中刮下离心, 收集 PDO 于 4% 多聚甲醛中, 进行石蜡包埋切片。HE 染色: 石蜡切片脱蜡后, 使用梯度浓度乙醇脱水, 细胞核使用苏木精染色, 细胞质使用伊红染色, 脱水后用中性树脂封片, 干燥后置于显微镜下拍摄。

免疫组化染色: 脱蜡后的石蜡切片梯度浓度乙醇脱水, 抗原修复, 封闭, 添加抗体 CA19-9 (1:200)、CEA (1:2000)、Ki-67 (1:200) 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。辣根过氧化物酶标记的二抗室温孵育 15 min, DAB 显色, 细胞核使用苏木精染色, 脱水后用中性树脂封片, 干燥后置于显微镜下拍摄。

1.3.7 药物敏感性测试

PDO 被消化成单细胞, 计数后重悬在 10 μL 10% Matrigel/PDO 培养基中, 每孔 3500 个细胞铺在 96 孔板中。第一列和最后一列不加细胞, 第二列和倒数第二列加入细胞和 DMSO。待基质胶凝固后加入 100 μL PDO 培养基, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵箱中。24 h 后, 按照人的血药浓度为最高计量, 以 5 倍稀释设置 5 个给药浓度给予吉西他滨 (Gemcitabine)、紫杉醇

(Paclitaxel)、5-FU 尿嘧啶 (5-Fluorouracil) 和伊利替康 (Irinotecan), 72 h 后使用 CellTiter-Glo 试剂盒由酶标仪检测并读数。

1.3.8 全外显子测序

使用 1 mL 移液枪将 PDO 由 24 板孔中吹下, 转移到 15 mL 离心管中。以 1200 r/min, 5 min 进行离心, 弃去上清。对沉淀吹打 30~50 次, 加入预冷的 PBS 清洗细胞沉淀 2~3 次, 最后加入 200 μL PBS 重悬细胞备用。全外显子测序由杭州联川生物完成。

1.4 统计学方法

应用 GraphPad Prism 8 软件对实验数据进行绘图和统计学分析。

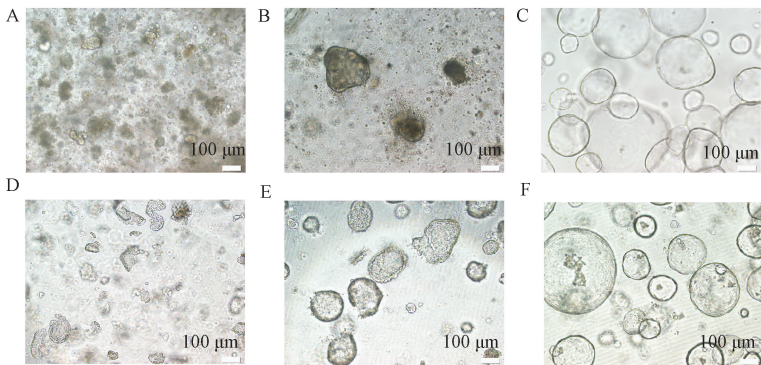
2 结果

2.1 胰腺癌 PDO 模型的构建

本研究从接受外科手术的胰腺癌患者手术标本中获取部分肿瘤组织, 2 h 内运输到实验室。经过肿瘤组织消化酶处理后过滤得到胰腺癌肿瘤细胞, 包裹在 Matrigel 胶中培养。光镜下, 部分肿瘤细胞在 48 h 内已经组装成 PDO, 呈现管腔与实心的混合形态, 较大的 PDO 直径已经达到 100 μm (图 1A)。P1 代时, PDO 直径达到 200 μm 。为了保护细胞活性, P1 代选择机械消化, 继续培养 15 d 后, PDO 最大直径可达到 400 μm (图 1B)。P3 代可观察到 PDO 数量明显增多, Matrigel 背景逐渐干净, PDO 呈现管腔样并大量扩增 (图 1C)。传代、复苏和冻存操作会短时间丧失 PDO 结构 (图 1D 和 1E), 72 h 后 3D 结构恢复 (图 1F)。该例胰腺癌 PDO 可持续生长, 并可传代 5 代以上。

2.2 胰腺导管腺癌 PDO 形态学鉴定

将原始肿瘤组织和 PDO 模型包埋成石蜡切片。对原始肿瘤组织和 PDO 模型进行组织形态学鉴定。HE 染色显示, 导管腺癌 PDO 呈现管腔样形态, 在形态上和原始肿瘤组织基本保持一致 (图 2A)。进一步做 IHC 染色, PDO 在糖类蛋白肿瘤标志物 CA19-9 (图 2B)、癌胚抗原 CEA (图 2C)、增殖标志物 Ki-67 (图 2D) 的表达上均为阳性, 并和原始组织保持一致^[9]。值得注意的是, 在 PDO 模型中, 肿瘤标志物 CA19-9 和 CEA 的表达明显高于原始组织。这可能是由于肿瘤干细胞的富集导致^[10-11]。结果显示, 胰腺导管腺癌 PDO 可以较好的维持原肿瘤形态结构和特征。



注:A:肿瘤组织处理后 48 h 后的明场图;B、C:类器官构建后的 P1 代和 P3 代的明场结果;D、E:传代和复苏操作使类器官短时间会失去结构;F:复苏 72 h 后类器官恢复完整的 3D 结构。

图 1 类器官光镜图

Note. A, Bright field image of the tumor tissue in this case 48 hours after processing. B/C, Bright field results of the P1 and P3 generations after organoid construction. D/E, Generations and resuscitation operations can cause the organoids to lose their structure in a short period of time. F, After 72 hours of resuscitation, the organoids have regained their complete 3D structure.

Figure 1 Photomicrographs of PDO

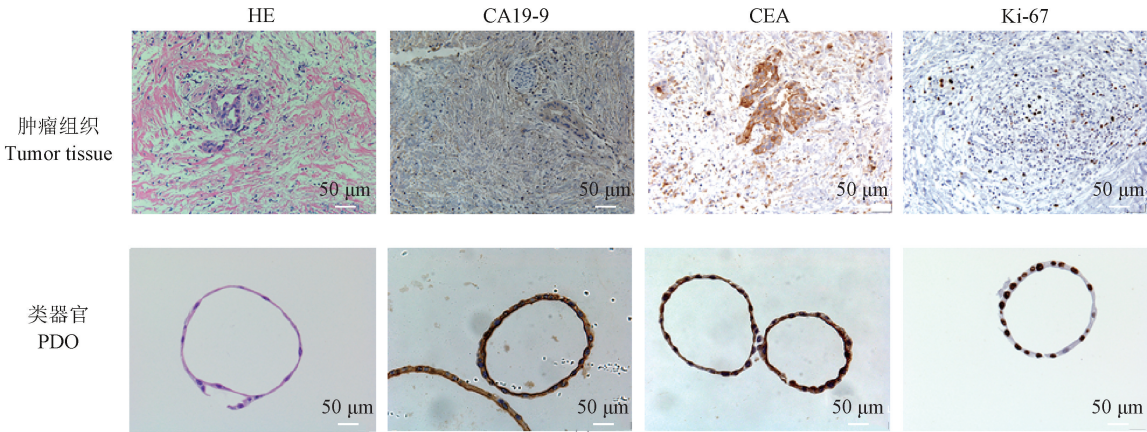


图 2 胰腺癌组织和对应 PDO 的 HE 染色和免疫组化染色

Figure 2 HE staining and Immunohistochemical staining of pancreatic cancer tissue and PDO

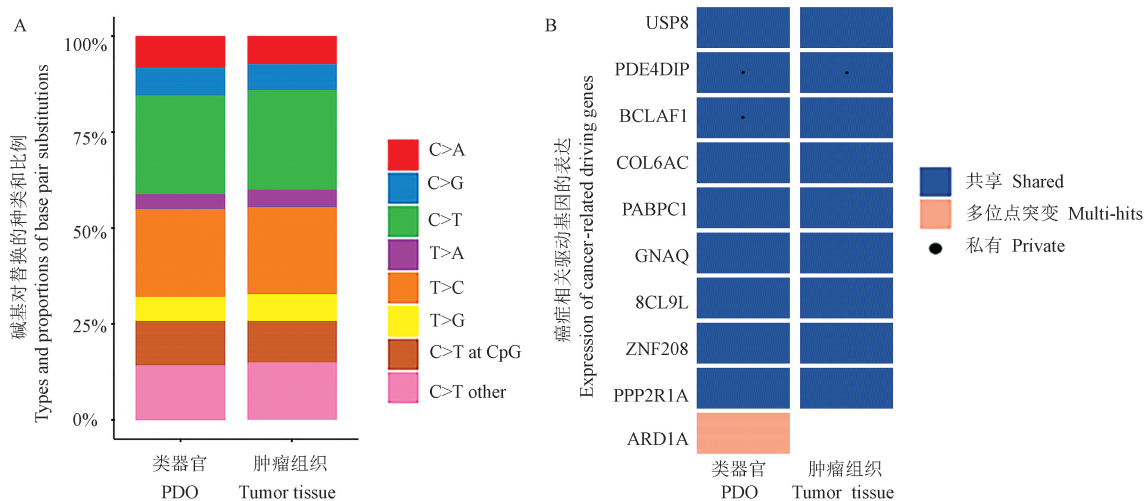
2.3 胰腺癌 PDO 与肿瘤组织基因组学测序

为进一步探究 PDO 能否在基因水平上反应原始肿瘤的生物学特性,我们对 PDO 和原始组织进行 WGS 测序。外显子是指一个物种基因组全部外显子区域的总和,其中包含着合成蛋白质所需的重要信息。由于和生物体表型变化相关的功能性突变大部分位于外显子区域,因此外显子对于研究疾病和个体差异具有重要意义。测序结果显示,胰腺癌 PDO 和原始组织的单核苷酸变体 (single nucleotide variant, SNV) 高度相似,说明 PDO 保留了原始肿瘤组织的突变特征(图 3A)。分析来自 PDO 和原始组织的癌症相关基因的体细胞变异结果,用来说明两者在体细胞突变层面具有遗传稳定性(图 3B)。结

果显示胰腺癌类器官和原始肿瘤组织在突变特征上和体细胞基因突变高度相似,胰腺癌 PDO 很好地保留了原发瘤的遗传特征。

2.4 胰腺癌 PDO 药物敏感性

为了检测 PDO 对化疗药物的敏感性。使用 4 种临床常用的一线化疗药物盐酸吉西他滨、紫杉醇、5-氟尿嘧啶和伊立替康对 PDO 进行药物敏感性测试。参考文献以血药浓度为最高浓度,以 5 倍稀释设置五个浓度梯度,并根据结果绘制剂量效应曲线^[12]。结果显示,该 PDO 对于盐酸吉西他滨(图 4A)、紫杉醇(图 4B)、5-氟尿嘧啶(图 4C)和伊立替康(图 4D)呈现出不同的药物敏感性,并呈浓度依赖。盐酸吉西他滨和伊立替康最为敏感,72 h 的肿

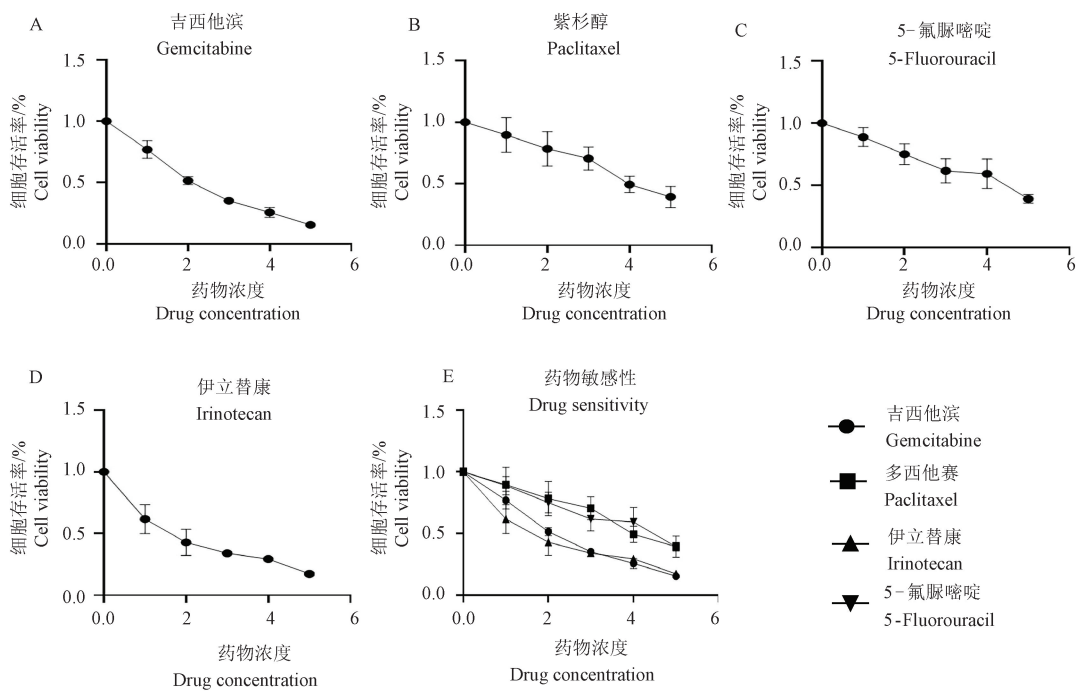


注:A:在 SNV 中原始肿瘤组织和类器官在碱基对替换的类型和比例;B:原始组织和类器官在癌症相关驱动基因的表达。

图 3 胰腺癌组织与胰腺癌类器官的突变特征

Note. A, Types and proportion of base pair replacement in the original tumor tissue and organoids in SNV. B, Expression of cancer-related driving genes in primitive tissues and organoids.

Figure 3 Mutation characteristics of pancreatic cancer tissues and PDO



注:按照不同浓度处理 72 h 后,通过 CellTiter-Glo 测定细胞活力,并将结果标准化为与 DMSO 处理的对照细胞。每个数据点代表 3 个副本的均值。

图 4 胰腺癌 PDO 的药物敏感性

Note. After treatment with various concentrations for 72 hours, cell viability was measured using CellTiter-Glo and the results were normalized to control cells treated with DMSO. Each date point represents the mean of the three replicas.

Figure 4 Drug sensitivity of PDO in pancreatic cancer

瘤抑制率分别达到 85%、87%(图 4E)。

3 讨论

胰腺导管腺癌是一种具有高度异质性的恶性

肿瘤,目前的临床治疗面临着巨大难题。建立合适的临床前模型对于预测胰腺癌患者的药物敏感性、制定有效的治疗策略具有重要意义^[13]。PDO 模型作为现在最有前景的临床前模型备受瞩目。相比

较于传统的 2D 模型, PDO 模型较好地保留了原始肿瘤组织的分子特征和空间结构, 并且存在更高的建立效率, 在多种癌症中得到应用^[14]。相比较于 PDX 模型, PDO 模型成本低、建模速度快, 可以在体外长期传代, 还可进行高通量药物筛选, 这使得 PDO 模型作为临床前模型存在巨大优势。

在本研究中, 我们成功建立胰腺癌 PDO 模型。在 PDO 构建过程中, 我们观察到伴随传代的进行, 细胞死亡减少, PDO 直径和数量逐渐增加, 细胞增殖速度加快。P3 代即可获得足够数量的细胞, 以支持高通量药物筛选。这一整个过程只需要 1~2 个月的时间。因此, PDO 模型作为一种临床前模型, 在时间和通量上具有巨大的优势。

CA19-9、CEA 和 Ki-67 作为胰腺癌组织学的常用指标, 可以提供关于肿瘤的诊断、治疗反应和预后等方面的重要信息^[15]。通过 HE 染色和组化分析检测其在 PDO 和 PDOX 模型中的表达, 发现 PDO 和原始组织的表达均为阳性。值得注意的是, 在 PDO 模型中, 肿瘤标志物和增殖标志物的表达更高。这可能是由于 PDO 培养基对于上皮细胞和肿瘤干细胞具有选择性。全外显子测序结果显示, PDO 在突变特征和体细胞突变基因上和原始组织一致, 很好地保留了胰腺癌原始组织的基因组学特征。证明 PDO 模型作为肿瘤发生发展的研究模型具有重要意义。

最后, 我们使用了临床常用的一线化疗药物对胰腺癌 PDO 进行药物敏感性实验^[16]。结果显示, 该胰腺癌 PDO 对伊立替康和吉西他滨具有较好的敏感性, 可能对患者的临床药物选择具有指导意义。在使用 PDO 进行药物敏感性测试时, 为减少体外培养产生的突变对测试结果的影响, 建议使用低代次的样本(2~3 代)进行药物测试^[8]。如果使用冻存后解冻的样本, 则至少传代 1 次再进行测试, 以避免复苏时 PDO 失去形态带来的影响。若存在细胞活力低下的情况, 则需延长培养时间以恢复细胞状态。在药敏实验过程中, PDO 作为具有 3D 结构的细胞团相较于传统 2D 细胞体积较大, 在重力作用下会导致铺板不均匀。因此可根据实际情况进行消化, 尽量将其直径缩小或消化到单个细胞。同时, 为了更好模拟体内环境, 仍需将 PDO 包裹在基质胶中以有效支撑 PDO 的三维结构, 且不会阻碍药物进入。最后使用 3D 细胞专用检测试剂盒来进行药物敏感性检测^[17-18]。但本研究也存在一些局限

性, 缺乏体内实验验证。通过将 PDO 植入到免疫缺陷小鼠皮下, 可以构建类器官异种移植模型(PDOX)。体内、体外实验的相互验证, 可以进一步检测类器官模型作为临床前模型的有效性。

总之, PDO 是目前最具有前景的个性化临床前模型, 通过建立胰腺癌 PDO 模型, 为基础研究提供快速、精准、高通量的实验平台。同时, 这种模型有助于优化患者治疗方案、推动精准治疗、改善患者预后, 促进药物研发和临床转化的进程。

参考文献:

- [1] KHORANA A A, MANGU P B, BERLIN J, et al. Potentially curable pancreatic cancer: American society of clinical oncology clinical practice guideline [J]. J Clin Oncol, 2016, 34(21): 2541-2556.
- [2] WINTER J M, CAMERON J L, CAMPBELL K A, et al. 1423 pancreaticoduodenectomies for pancreatic cancer: a single-institution experience [J]. J Gastrointest Surg, 2006, 10(9): 1199-1211.
- [3] BOJ S F, HWANG C I, BAKER L A, et al. Organoid models of human and mouse ductal pancreatic cancer [J]. Cell, 2015, 160(1/2): 324-338.
- [4] TIRIAC H, BUCOBO J C, TZIMAS D, et al. Successful creation of pancreatic cancer organoids by means of EUS-guided fine-needle biopsy sampling for personalized cancer treatment [J]. Gastrointest Endosc, 2018, 87(6): 1474-1480.
- [5] LI L, KNUTSDOTTIR H, HUI K, et al. Human primary liver cancer organoids reveal intratumor and interpatient drug response heterogeneity [J]. JCI Insight, 2019, 4(2): e121490.
- [6] SHI X, LI Y, YUAN Q, et al. Integrated profiling of human pancreatic cancer organoids reveals chromatin accessibility features associated with drug sensitivity [J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 2169.
- [7] GROSSMAN J E, MUTHUSWAMY L, HUANG L, et al. Organoid sensitivity correlates with therapeutic response in patients with pancreatic cancer [J]. Clin Cancer Res, 2022, 28(4): 708-718.
- [8] TIRIAC H, BELLEAU P, ENGLE D D, et al. Organoid profiling identifies common responders to chemotherapy in pancreatic cancer [J]. Cancer Discov, 2018, 8(9): 1112-1129.
- [9] DRIEHUIS E, VAN HOECK A, MOORE K, et al. Pancreatic cancer organoids recapitulate disease and allow personalized drug screening [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2019, 116(52): 26580-26590.
- [10] KRETZSCHMAR K. Cancer research using organoid technology [J]. J Mol Med, 2021, 99(4): 501-515.
- [11] MAI C W, SHU Y, CHEONG S K, et al. Prostate organoid technology-the new POT of gold in prostate stem cell and cancer research [J]. Acta Physiol Sin, 2021, 73(2): 181-196.

[12] TAN D, AN J, GONG M, et al. Screening of an individualized treatment strategy for an advanced gallbladder cancer using patient-derived tumor xenograft and organoid models [J]. Front Oncol, 2022, 12: 1043479.

[13] CORSINI N S, KNOBLICH J A. Human organoids: new strategies and methods for analyzing human development and disease [J]. Cell, 2022, 185(15): 2756–2769.

[14] DROST J, CLEVERS H. Organoids in cancer research [J]. Nat Rev Cancer, 2018, 18(7): 407–418.

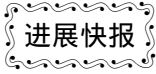
[15] GE L, PAN B, SONG F, et al. Comparing the diagnostic accuracy of five common tumour biomarkers and CA19-9 for pancreatic cancer: a protocol for a network meta-analysis of diagnostic test accuracy [J]. BMJ Open, 2017, 7(12): e018175.

[16] ADAMSKA A, DOMENICHINI A, FALASCA M. Pancreatic ductal adenocarcinoma: current and evolving therapies [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(7): 1338.

[17] VLACHOGIANNIS G, HEDAYAT S, VATSIUO A, et al. Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers [J]. Science, 2018, 359(6378): 920–926.

[18] GONG M, MENG H, TAN D, et al. Establishment of organoid models for pancreatic ductal adenocarcinoma and screening of individualized therapy strategy [J]. Animal Model Exp Med, 2023, 6(5): 409–418.

[收稿日期] 2023–11–10



焦虑症动物模型与病理机制的最新研究进展

焦虑症是一种以持续性的精神性焦虑、躯体性焦虑、睡眠障碍等为主要特征的精神疾病,其全球患病率为 7.3%~28.0%,被列为全球残疾的第六大贡献者,也是位居我国成人精神疾病首位。焦虑症受到多种复杂且相互作用的遗传、心理、社会和环境因素的影响,导致体内稳态破坏或失衡,并最终导致病理性焦虑。由于动物模型在探索疾病的病因、病理生理以及促进新药开发中均发挥着基石作用,本文在重点综述焦虑症最新的病理机制研究进展时,也对现有的焦虑动物模型及其评价方法进行了总结。

在本综述中,作者总结了现有的焦虑疾病动物模型,包括天敌暴露、社会隔离、母婴分离等非条件性应激模型、束缚应激、条件恐惧等条件性应激模型、药物诱导模型、转基因动物模型,以及常见的焦虑模型评价方法,并探讨上述模型和评价方法的优点与局限性。

通常认为,焦虑症的发生与神经递质功能、神经内分泌功能或者免疫功能的改变有关,而随着前沿科技手段的应用,一些新的潜在病理机制也被逐步发现,如离子通道信号改变、杏仁核线粒体自噬、神经环路协同损伤等。本文从神经递质、神经内分泌、免疫功能、神经营养因子、突触可塑性、离子通道、内源性大麻素系统、神经环路、肠道菌群、线粒体自噬、遗传等 11 个方面对焦虑症的病理机制进行综述,以期焦虑症的后续研究提供参考。

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*, 2023, 6(6): 559–572. <https://doi.org/10.1002/ame2.12360>)。