

原位宫颈癌动物模型的建立及在宫颈癌诊治中的研究

罗 慧 郑丽红 朱雪琼

摘 要 宫颈癌是最常见的妇科恶性肿瘤之一,建立肿瘤动物模型是研究人类肿瘤的重要方法。目前宫颈癌动物模型的建立的方法大多为裸鼠皮下移植瘤模型,但有影响肿瘤生长特性,且裸鼠饲养条件高等缺点。本文就原位宫颈癌动物模型的建立及其在宫颈癌诊治中的相关研究进行综述,展望其在宫颈癌中潜在的应用价值。

关键词 宫颈癌 原位 动物模型 治疗

中图分类号 R71

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.10.002

选择合适的肿瘤动物模型是研究人类肿瘤的重要方法,通过动物模型可探索肿瘤的病因、发病机制,寻求诊断、治疗、预防肿瘤的措施及方法^[1]。宫颈癌动物模型通常分为4类:自发性肿瘤模型、诱发性肿瘤模型、转基因肿瘤模型及移植性肿瘤模型。目前最常见的宫颈癌实验动物模型是皮下移植瘤模型,通过将瘤细胞注射到动物皮下形成移植瘤模型,其与原发瘤的形态学一致,制作简便,易于客观判断疗效,接种成活率高^[2]。但缺点是误差大且只能研究1个时间点,不能持续动态研究肿瘤细胞在体内的生长变化情况;宫颈癌的好发部位并不是皮下,将肿瘤细胞接种于皮下研究,会影响肿瘤的生长特性,对于转移、侵袭的肿瘤评价效果较差;裸鼠的饲养条件高,试验费用贵,而且对化疗的耐受性较差。理想的肿瘤动物模型要求在发生部位、组织学类型、病因发病机制及生物学行为等方面尽量模拟所研究的人类肿瘤^[3]。而原位诱发的动物模型具有以下优点:①肿瘤的恶性程度、转移特性、生物化学特性和组织学特点与人类宫颈癌相似;②动物模型的制备具有可重复性,制备成功率高而死亡率低,动物易获得、价廉(如小鼠);③选取模型的方法简便易行,动物的体形、大小、寿命等适合于实验研究;④对药物和制剂的治疗反应与人宫颈癌相似。

因此,本文将各种原位宫颈癌动物模型建立及应用研究进行综述,利用化学物诱发、肿瘤原位移植于宫颈部等方法,获得与人体内相同或相近的微环境,形成与临床相似的宫颈癌动物模型,为研究宫颈癌的

病因学、生物学、治疗学提供坚实的基础。

一、化学物诱发小鼠原位宫颈癌

1. 甲基胆蒎诱发(又称 murphy 细绳法):小鼠在乙醚麻醉下,将浸有 600 μ g 甲基胆蒎(methylcholanthrene, MCA)蜂蜡的无菌双棉线通过剖腹手术插入小鼠宫颈管。分别在实验前、每两周和处死时记录动物的体重变化^[4]。Cheng 等^[5]用该方法成功建立小鼠宫颈肿瘤模型 48 只,用来研究藏花酸对宫颈癌细胞的作用。这些模型小鼠被随机分成 4 组:甲基胆蒎诱导组(服用生理盐水),甲基胆蒎诱导 + 服用藏花酸 10mg/kg 组,甲基胆蒎诱导 + 藏花酸 20mg/kg 组,甲基胆蒎诱导 + 藏花酸 40mg/kg 组,其他 12 只正常小鼠服用生理盐水作对照。用灌胃针 1 天喂养两次,35 天后处死,收集血清,分析炎性细胞多形核白细胞及炎性介质,检测白细胞介素-1 β (interleukin- β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α)及环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)的水平并记录肿瘤体积;另一方面,培养 HeLa 宫颈癌细胞系,用不同浓度藏花酸(1、10、50、100 μ mol/L)作用 24h,搜集上清测 COX-2 浓度。结果发现,多形核白细胞在对照组显著高于甲基胆蒎诱导组,而在诱导组,藏花酸 40mg/kg 组明显低于其他诱导组,且藏花酸对多形核白细胞的活性呈剂量依赖性抑制作用,可以减少细胞在病变部位的浸润。同时发现甲基胆蒎诱导组癌症相关炎性因子 IL-1 β 及 TNF- α 显著增加,而在甲基胆蒎诱导 + 藏花酸 20mg/kg 及 40mg/kg 组 IL-1 β 明显下降,分别下降 34% 和 56%;甲基胆蒎 + 藏花酸 40mg/kg 组 TNF- α 的浓度也显著下降,且肿瘤体积显著减小。在 HeLa 宫颈癌细胞系中 COX-2 高表达,藏花酸治疗后 COX-2 表达显著下调,尤其是在 50 μ mol/L 和 100 μ mol/L 组,

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81372381)

作者单位:325027 温州医科大学附属第二医院

通讯作者:朱雪琼,教授,电子信箱:zjwzzxq@163.com

表明藏花酸可以降低甲基胆蒽诱导的宫颈癌血清中 IL-1 β 及 TNF- α 的水平,同时减弱多形核白细胞活性,并抑制 COX-2 的产生,提示藏花酸可以作为宫颈癌潜在的化学预防剂及抗炎剂。

Ji 等^[6]亦使用甲基胆蒽诱导建立宫颈肿瘤模型小鼠,来研究富硒冬虫夏草对宫颈癌细胞的作用。48 只模型小鼠被随机分为 4 组,分别口服生理盐水、富硒冬虫夏草(硒 0.4mg)、亚硝酸钠溶液、冬虫夏草(硒 0mg),同时用 12 只正常小鼠口服生理盐水作为对照组。90 天后小鼠被处死,对照组小鼠未发生宫颈癌。造模 4 组小鼠的肿瘤发生率分别为 85.7%、40%、77.7% 和 70%。与生理盐水组相比,富硒冬虫夏草组肿瘤发生率显著减少,而胸腺指数和脾指数明显升高。与生理盐水组相比,冬虫夏草组的胸腺指数和脾指数均明显升高,而亚硝酸钠溶液组差异无统计学意义($P > 0.05$),表明冬虫夏草可以增加免疫功能。另外,与生理盐水组相比,富硒冬虫夏草组血清中乳酸脱氢酶显著减少,而谷胱甘肽水平及脂质过氧化物含量增加,并能显著恢复抗氧化酶及 Na⁺-K⁺-ATP 酶水平,而冬虫夏草组各指标与生理盐水组差异无统计学意义($P > 0.05$),提示冬虫夏草与硒共同作用后可明显降低肿瘤发生率,提高免疫功能,并能降低甲基胆蒽诱导的宫颈癌小鼠的氧化应激能力。

Sreekanth 等^[7]亦用此法作用于 6 周大的瑞士白化小鼠(Swiss albino mice)宫颈癌原位模型进行相关药物研究。在肿瘤诱导 15 天起,1 周触诊 3 次来评估宫颈肿瘤生长,30 天后记录肿瘤体积并将动物随机分成 4 组:3-甲基胆蒽诱导组,3-甲基胆蒽诱导+腹腔注射紫杉醇组,3-甲基胆蒽诱导+腹腔注射姜黄素组,3-甲基胆蒽诱导+腹腔注射紫杉醇+姜黄素组;设两组正常对照组:腹腔注射安慰剂组[空脂质体和(或)蓖麻油],腹腔注射紫杉醇+姜黄素组,每组各 12 只。120 天后处死小鼠。结果发现,4 组肿瘤发生率分别为 66%、44%、60% 和 24%,对照组无肿瘤发生。肿瘤体积(长 $\times$ 宽²/2)分别为 1613.00 $\pm$ 173.42mm³、965.07 $\pm$ 115.96mm³、1293.49 $\pm$ 139.89mm³ 和 655.54 $\pm$ 100.00mm³,这些肿瘤后经病理切片诊断均为鳞癌,而对照组宫颈组织体积为 245.10 $\pm$ 27.89mm³ 和 190.90 $\pm$ 24.54mm³。通过比较单独使用姜黄素、紫杉醇和两者合用对肿瘤的作用,发现两者合用可以协同减少肿瘤发生率和肿瘤体积。此外,又通过免疫组化,电泳迁移率实验及实时定量反转录 PCR 等技术,发现在 3-甲基胆蒽诱导的宫颈肿瘤

中,姜黄素能抑制紫杉醇诱导的 NF- κ B 并下调 NF- κ B 靶基因(如 Cox-2、cyclin D1、ICAM-1、VEGF、MMP-2 和 MMP-9)的转录,下调蛋白激酶、丝裂原活化蛋白激酶和活化蛋白-1 等这些在增殖、生存、血管生成和转移中有重要作用的物质来增加紫杉醇的抗肿瘤效果,认为姜黄素可以作为化疗增敏剂来提高紫杉醇的治疗指数。

2. 二甲基苯蒽诱发法(又称原位埋线法):二甲基苯蒽溶于苯后,将棉线浸入药液内,置于通风橱内待苯挥发后,计算棉线的含药量为 0.5mg/cm。雌性小鼠在不麻醉状态下,借助阴道扩张器及小号弯针,将浸药棉线穿入宫颈,经宫颈口由穹隆部穿出,线结固定于宫颈口。5 个月后,颈椎脱臼处死,剖腹取出完整生殖道,HE 染色后显微镜下观察。二甲基苯蒽作用于宫颈上皮引起上皮恶变的机制可能与下列因素有关:二甲基苯蒽从上皮表面渗透或通过损伤的上皮进入细胞,经过一定的时间直接诱导细胞恶性转化;二甲基苯蒽作用于细胞后,经代谢形成新的致癌因子(如自由基)进一步作用于细胞;宫颈埋线对正常宫颈造成了一定的创伤,这种刺激可能作为一种促进因素而最终导致恶变;已转化或恶变的细胞产生一些刺激细胞分裂的多肽因子,这些细胞因子诱导周围正常的细胞发生恶变^[8]。

韩凤娟等^[9]根据上述方法,原位埋入含有二甲基苯蒽的棉线,观察 5 个月后,成功诱发出小鼠宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)及宫颈癌模型。HE 染色光镜观察结果显示,9 例造模小鼠中,CIN I 1 例,CIN II 3 例,CIN III 2 例,宫颈癌 2 例,宫颈炎 1 例。通过组织学以及细胞超微结构观察,发现本模型与人宫颈上皮内瘤变非常相似。使用该模型^[8],将小鼠分成 5 组:正常组、模型组、中药治疗组(给予 20mg/kg 儿黄散,隔日外用 1 次)、中药对照组(35mg/kg 保妇康栓,隔日外用 1 次)、西药对照组(2mg/kg 爱宝疗栓,隔日外用 1 次)。用药 5 个月后,用免疫组化法观察宫颈组织增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)和细胞凋亡抑制基因(如 B-cell lymphoma-2, Bcl-2)表达水平,三者都随宫颈上皮病变程度进展而表达水平增加。与正常组相比,模型组的 PCNA、EGFR 及 Bcl-2 蛋白表达水平均明显升高;与单纯模型组相比,中药治疗组和西药对照组 PCNA、EGFR 及 Bcl-2 的表达明显减弱,而中药对照组变化不大,

提示儿黄散可以通过影响 PCNA、EGFR 和 Bcl-2 的表达,来抑制细胞增殖,同时促进细胞凋亡,使宫颈癌前病变细胞向良性转化,阻断宫颈浸润癌的发生。

3. 己烯雌酚诱发:己烯雌酚溶解于芝麻油后,每日皮下注射于怀孕 13~18 天雌性 Balb/c 小鼠,剂量为 67 μ g/kg,未注射组为阴性对照。其雌性小鼠后代在 48~54 天时处死,收集、生殖道并进行 HE 染色,光镜下诊断为宫颈上皮内瘤变(CIN)^[10,11]。Ahmad 等^[12]利用该方法建立 CIN 模型,用顺铂和生理盐水治疗分别做阳性和阴性对照,正常小鼠用生理盐水治疗为正常组。分别检测正常组和模型组血清白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)的表达,发现血清 IL-6 水平在顺铂治疗组(6.00 $\pm$ 3.79pg/ml)明显低于生理盐水治疗组(176.00 $\pm$ 84.18pg/ml),且与正常组相近(4.00 $\pm$ 1.15pg/ml),认为己烯雌酚可导致 CIN 小鼠的 IL-6 水平升高。生理盐水治疗组小鼠宫颈异常改变明显,为 CIN III,上皮细胞排列紊乱,核质比升高;而在顺铂治疗组中(10mg/kg)宫颈病变相对轻微(CIN I),提示己烯雌酚导致的宫颈上皮内瘤变可被顺铂所逆转。顺铂治疗组 IL-6R、PCNA 水平与正常宫颈组织相近,较生理盐水组相比明显下降。进一步用该模型研究花姜酮联合顺铂对 CIN 的治疗作用,发现:将患有 CIN 的小鼠分成 6 组,并依次腹腔注射生理盐水(阴性对照组)、10mg/kg 顺铂(G1 组)、16mg/kg 花姜酮(G2 组)、4mg/kg 花姜酮+1mg/kg 顺铂(G3 组)、4mg/kg 花姜酮+2.5mg/kg 顺铂(G4 组)、4mg/kg 花姜酮+5mg/kg 顺铂(G5 组),1 周中每隔两天注射 1 次,共注射 4 次后处死^[11]。形态学发现阴性对照组宫颈病变表现为 CIN III, G1 和 G2 组为 CIN II, G3~G5 组为 CIN I,推测花姜酮和顺铂对 CIN 有逆转作用,且两者结合使用对逆转 CIN 有协同作用,提示花姜酮可以用来治疗宫颈癌前病变。

此外,在 Abdelwahab 等^[13]的研究中也发现花姜酮(16kg/mg)在治疗 CIN 时与 10mg/kg 顺铂有相似的作用。TUNEL 检测结果显示,用生理盐水治疗组的癌组织没有产生细胞凋亡,而用花姜酮和顺铂治疗组发现癌细胞有明显的凋亡现象,凋亡率为 15.7% 和 21.7%。同时发现,用花姜酮和顺铂治疗组细胞中促凋亡蛋白 Bax(Bcl-2 相关 X 蛋白)过表达,而细胞凋亡抑制基因 Bcl-2 表达下降,提示花姜酮治疗 CIN 与促进细胞凋亡相关。

二、小鼠宫颈癌原位移植

1. 宫颈癌细胞系原位移植:宫颈癌细胞系(CaSki, ME-180 或 SiHa)用含有增强型绿色荧光蛋白或者红色荧光蛋白 2 的质粒转染后,当处于指数生长时移植到 8~12 周的雌性联合免疫缺陷鼠(severe combined immune deficiency, SCID),每只在左侧腓肠肌上注射含 2.5 $\times$ 10⁵ 个细胞的液体 50 μ l,当肿瘤生长至 0.6~0.8g 时在无菌条件下切除,并在 α -MEM 培养基中切成 2~3mm³ 片段,雌性 SCID 鼠用异氟烷吸入麻醉后,腹部正中切口下暴露子宫,将 2~3mm³ 的肿瘤碎片植入宫颈^[14]。

Cairns 等^[15]利用上述方法成功建立了用荧光标记的宫颈癌小鼠整体荧光成像转移模型。肿瘤碎片植入后发现肿块主要在宫颈生长,并扩散至整个生殖道,但很少侵犯腹腔中其他器官如膀胱和直肠。各型别肿瘤在实验 7~13 天时切除,其平均体积是 0.9 $\pm$ 0.2g,与在 42 天由荧光信号计算出的体积类似(1.1 $\pm$ 0.2g,假设密度为 1g/cm³)。通过组织学研究,发现 CaSki 细胞原位移植肿瘤由于大面积的坏死和出血表现出低分化, SiHa 肿瘤显示低分化,而 ME-180 原位移植肿瘤分化良好。CaSki 肿瘤的淋巴和肺转移率都为 94%,部分还转移至肝脏、肾脏及肠。ME-180 和 SiHa 转移至局部淋巴结(分别为 90% 和 80%),但较少转移至肺(分别为 30% 和 20%)。此外,通过 ME-180 宫颈癌细胞系建立相似荧光成像转移模型,用于研究体内急性缺氧和自发性淋巴结转移之间的关系。20 只模型小鼠在缺氧环境中每天 4h,1 次/天,共 7 天,另 20 只为对照组^[14]。38 只小鼠在肿瘤切除 3h 前注射缺氧标志物 EF5,2 只小鼠未注射用作对照。通过免疫组化染色 EF5 和 CD31 来量化缺氧及血管分布,并用荧光显微镜观察肿瘤的直径及转移。结果发现:肿瘤直径与淋巴结转移具有显著相关性,宫颈肿瘤直径和肿瘤内血管面积在缺氧环境下明显小于未缺氧组,但缺氧环境下向局部淋巴结转移率明显增高。

Mujcic 等^[16]利用该模型研究缺氧与肿瘤转移及预后的关系,他们前期研究发现认为缺氧是 PERK/eIF2 α 信号通路的潜在激动者,是未折叠蛋白(unfolded protein response, UPR)的组成部分,也是缺氧耐受性和肿瘤生长的重要中介,通过建立一系列可在缺氧情况下干扰 PERK 信号通路的 ME-180 宫颈癌细胞系,并将其应用于上述低氧环境中的原位宫颈癌模型中,发现在原位移植瘤中干扰该信号通路可完全抑

制缺氧诱导的淋巴结转移,这可能是由于 UPR 通路对缺氧耐受性有直接影响。然而,他们也发现 LAMP3 基因是缺氧诱导的淋巴结转移的重要中介,通过其促进转移特性包括细胞迁移能力。提示缺氧、转移和预后不良之间的关系部分可能是缺氧激活了 LAMP3 和 UPR 的表达。

2. 人体宫颈癌组织原位移植:将 4~6 周雌性裸鼠肌内注射麻醉,将 HER-2 阳性宫颈癌患者手术切除的肿瘤组织切成 3mm^3 的碎片,小鼠腹部做 1 个 6~10mm 的小切口后暴露子宫,肿瘤碎片用 8-0 号手术线缝合于宫颈,移植结束后,子宫放回腹部,腹部切口用 6-0 号手术线缝合。Yukihiko 等^[17]利用该方法建立原位移植宫颈癌模型,结果发现与皮下移植瘤相比,皮下移植瘤成瘤率为 70% (7/10 只)且无转移现象,而原位移植瘤其成瘤率为 75% (6/8 只),并有 50% 出现转移现象 (4/8 只),其转移包括腹膜转移、肝转移、肺转移及腹主动脉旁淋巴结转移。原发肿瘤的生长速度较皮下移植瘤快,倍增时间在 10~15 天。采用抗-HER-2 抗体染色发现所有小鼠宫颈癌肿瘤包括转移性肿瘤具有类似于原发肿瘤的组织学结构,该原位移植裸鼠模型的建立可为难治性宫颈癌的有效治疗提供帮助。

三、阴道细胞滴注接种

1. TC-1 细胞诱导:醋酸甲羟孕酮 (2.5 毫克/只)注射 C57BL/6 小鼠 (6~8 周龄)右侧腹部皮下 7 天后。麻醉小鼠后,用细胞刷破坏小鼠的子宫颈阴道上皮,通过阴道滴注接种表达荧光素酶和绿色荧光蛋白的宫颈癌 TC-1 细胞系 (1×10^5 个/只)。在肿瘤接种 7 天后,活体动物荧光成像监测肿瘤生长,用磁共振成像来评估肿瘤直径^[18]。

Zeng 等^[19]利用该法建立宫颈癌小鼠模型来研究 HPV-16 E7 多肽疫苗及 5,6-二甲基-4-乙酸 (5,6-dimethylxanthenone-4-acetic acid, DMXAA) 对宫颈癌作用,将模型小鼠分为 4 组 (HPV-16 E7 多肽疫苗组,皮下或腹腔注射 DMXAA 组,HPV-16 E7 多肽疫苗与 DMXAA 合用组, PBS 阴性对照组),通过不同时间点的发光信号来检测肿瘤,发现肿瘤先植入上皮,后侵入基底层,此过程与原位肿瘤相似。和其他 3 组相比,DMXAA 与 HPV-16 E7 多肽疫苗结合使用在宫颈阴道 TC-1 肿瘤生长模型中可以显著增强 E7-特异性 CD8⁺T 细胞免疫反应,缩小肿瘤体积并提高生存率。其作用不是直接杀死肿瘤细胞,而是破坏血管和肿瘤特异性免疫反应,因此,DMXAA 与

HPV-16 E7 多肽疫苗联合可产生最佳抗肿瘤作用并提高生存率。Yang 等^[17]建立该模型来研究传统紫杉醇药载多聚纳米粒子 (conventional particles, CP) 和黏液穿透颗粒普朗尼克 F127 相似粒子 (mucus-penetrating particles, MPP) 两者治疗宫颈肿瘤的疗效,在小鼠肿瘤生成 3 天后阴道内使用紫杉醇 (paclitaxel, PTX)、紫杉醇/传统颗粒 (PTX/CP) 及紫杉醇/黏液穿透颗粒 (PTX/MPP) 来进行治疗 (3mg/kg),无治疗组小鼠为对照组,采用活体动物生物荧光成像来监测不同时间点的肿瘤生长。发现 TC-1 肿瘤沿着子宫颈阴道腔长轴生长并扩展至外侧周围组织,PTX/MPP 相比于 PTX/CP 分布均匀,包括上皮细胞和肿瘤,并能使 PTX 达到更大的浓度,且在小鼠阴道腔可停留更长的时间 (初始剂量的 70% 可维持 24h,而 PTX/CP 前 4h 迅速下降至初始剂量的 14%,只有 1% 维持了 24h)。同时,还发现 PTX/MPP 较 PTX/CP 或 PTX 更能有效抑制肿瘤的生长 (肿瘤发生率分别是对照组的 7%、42% 和 60%) 和延长小鼠的中位生存率 (与对照组 9 天相比,中位生存期分别为 19 天,11 天和 11 天,明显延长),提示 PTX/MPP 在阴道内使用是安全的,且对定位于黏膜表面的肿瘤具有治疗优势。

2. U14 细胞诱导:宫颈癌 U14 细胞 (2×10^7 /ml) 溶解于 PBS 溶液 (25 μ l) 后,注射入雌性昆明小鼠靠近宫颈部位的阴道黏膜下层,持续注射 7 天。该宫颈癌模型的成功率为 100%^[20]。Zong 等^[20]利用该方法建立宫颈癌模型,并研究载药纤维对其疗效。荷瘤小鼠随机分成 6 组,为组 1~组 6 (组 1~组 4 每组 6 只,组 5~组 6 每组 5 只)。组 1:阴道插入顺铂/聚乳酸-聚氧乙烯纤维 (10mg/kg);组 2:阴道插入顺铂/聚乳酸-聚氧乙烯纤维 (5mg/kg);组 3:静脉注射顺铂 (5mg/kg);组 4:静脉注射顺铂 (2.5mg/kg);组 5:阴道插入空白聚乳酸-聚氧乙烯纤维;组 6:对照组未经任何治疗。这些药物在第 0、3、6 天 (使用当天为第 0 天) 重复使用 3 次,每次称重。在顺铂治疗后第 9 天处死所有动物,搜集生殖道/肿瘤并称量,进行肉眼观察和组织学分析。结果发现,肿瘤在与空白纤维组 ($2.40 \pm 0.18\text{g}$) 和对照组 ($2.48 \pm 0.21\text{g}$) 相比,顺铂治疗组中组 1 ($0.88 \pm 0.29\text{g}$)、组 2 ($1.17 \pm 0.60\text{g}$)、组 3 ($0.73 \pm 0.06\text{g}$) 和组 4 ($0.96 \pm 0.19\text{g}$) 肿瘤重量明显下降,计算肿瘤抑制率 [抑制率 = (组 6 肿瘤的平均重量 - 组 1~组 5 肿瘤的平均重量) / 组 6 肿瘤的平均重量 $\times 100\%$]。发现组 3 抑制率

(70.5%) > 组 1 抑制率 (68.3%) > 组 4 抑制率 (61.6%) > 组 2 抑制率 (52.7%), 但是组 3 和组 4 小鼠在第 9 天时平均体重减轻 30.6% 和 12.1%, 且组 3 中只有 3 只小鼠生存时间超过 9 天, 相比之下, 组 2 和组 1 小鼠平均体重减轻 2.8% 和 15.8%, 但是所有小鼠都存活。由此认为, 顺铂/聚乳酸-聚氧乙烯纤维在阴道壁有较强的黏膜附着力, 且在体内试验中发现, 顺铂载药纤维在阴道使用过程中没有泄漏并能使顺铂更集中分布在直肠, 子宫和肿瘤, 而在周边器官中浓度非常低。与注射顺铂组相比, 顺铂载药纤维在安全性和抗肿瘤功效之间达到了一个良好的平衡, 为局部治疗宫颈/阴道癌提供新兴剂型, 可用于非手术治疗的宫颈/阴道癌, 亦可成为这些癌症手术切除的辅助治疗。

综上所述, 利用化学物诱发、原位移植、阴道细胞滴注接种等方法建立的原位宫颈癌模型, 一定程度上在发生部位、组织学类型、病因发病机制及生物学行为等方面与临床上相似, 并且该类模型制作简便、易于掌握、重复性好, 可以利用宫颈癌原位诱发模型对宫颈癌进行各种基础和临床研究, 探索其发生发展规律、开发新的治疗方法和药物。但这种方法也有一定的局限性, 如成瘤率低、诱发瘤个体差异大、肿瘤直径不一、病程不同, 制作所需时间长等。也有研究者认为手术操作复杂, 且不可避免地引起局部炎性反应和组织修复所致的纤维化和瘢痕形成, 可能会影响肿瘤正常的生长和演化, 有待于不断改进并完善。

参考文献

- Day CP, Merlino G, Van Dyke T. Preclinical mouse cancer models: a maze of opportunities and challenges[J]. *Cell*, 2015, 163(1): 39-53
- Lee YY, Cho YJ, Choi JJ, *et al.* The effect of high-intensity focused ultrasound in combination with cisplatin using a Xenograft model of cervical cancer[J]. *Anticancer Res*, 2012, 32(12): 5285-5289
- 侯柏龙, 杜王琪, 熊一融, 等. 人宫颈癌 SiHa 细胞荷瘤裸鼠模型的建立及鉴定[J]. *温州医科大学学报*, 2016, 46(2): 92-96
- Ji J, Liu J, Liu H, *et al.* Comparison of serum and tissue levels of trace elements in different models of cervical cancer[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2014, 159(1-3): 346-350
- Chen B, Hou ZH, Dong Z, *et al.* Crocetin downregulates the proinflammatory cytokines in methylcholanthrene-Induced rodent tumor model and inhibits COX-2 expression in cervical cancer cells[J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 829513
- Ji J, Liu J, Liu H, *et al.* Effects of fermented mushroom of cordyceps sinensis, rich in selenium, on uterine cervix cancer[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014, 2014: 173180
- Sreekanth CN, Bava SV, Sreekumar E, *et al.* Molecular evidences for the chemosensitizing efficacy of liposomal curcumin in paclitaxel chemotherapy in mouse models of cervical cancer[J]. *Oncogene*, 2011, 30: 3139-3152
- 韩凤娟, 陈惠铮, 姜醒, 等. 儿黄散对宫颈上皮内瘤变小鼠宫颈组织 PCNA、EGFR 和 bcl-2 表达的影响[J]. *山东中医杂志*, 2006, 25(12): 835-837
- 韩凤娟, 陈惠铮, 于燕, 等. 二甲苯苾诱发小鼠宫颈上皮内瘤变动物模型的初步[J]. *中国现代医学杂志*, 2008, 18(14): 1995-1996
- Suzuki A, Sugihara A, Uchida K, *et al.* Developmental effects of perinatal exposure to bisphenol-A and diethylstilbestrol on reproductive organs in female mice[J]. *Reprod Toxicol*, 2002, 16(2): 107-116
- Bustamam A, Ibarhim S, Devi N, *et al.* The establishment and use of an in vivo animal model for cervical intra-epithelial neoplasia[J]. *Int J Cancer Res*, 2008, 4(3): 61-70
- Abdul AB, Abdelwahab SI, Bin Jalinas J, *et al.* Combination of zerumbone and cisplatin to treat cervical intraepithelial neoplasia in female BALB/c mice[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2009, 19(6): 1004-1010
- Abdelwahab SI, Abdul AB, Devi N, *et al.* Regression of cervical intraepithelial Neoplasia by zerumbone in female Balb/c mice prenatally exposed to diethylstilboestrol: involvement of mitochondria-regulated apoptosis[J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2010, 62(5): 461-469
- Cairns RA, Hill RP. A fluorescent orthotopic model of metastatic cervical carcinoma[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2004, 21(3): 275-281
- Cairns RA, Hill RP. Acute hypoxia enhances spontaneous lymph node metastasis in an orthotopic murine model of human cervical carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(6): 2054-2061
- Mujic H, Nagelkerke A, Rouschop KM, *et al.* Hypoxic activation of the PERK/eIF2 α arm of the unfolded protein response promotes metastasis through induction of LAMP3[J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(22): 6126-6137
- Hiroshima Y, Zhang Y, Murakami T, Establishment of a patient-derived orthotopic xenograft (PDOX) model of HER-2-positive cervical cancer expressing the clinical metastatic pattern[J]. *PLoS One*, 2015, 10(2): 1-9
- Yang M, Yu T, Wang YY, *et al.* Vaginal delivery of paclitaxel via nanoparticles with non-mucoadhesive surfaces suppresses cervical tumor growth[J]. *Adv Healthc Mater*, 2014, 3(7): 1044-1052
- Zeng Q, Peng S, Monie A, *et al.* Control of cervicovaginal HPV-16 E7-expressing tumors by the combination of therapeutic HPV vaccination and vascular disrupting agents[J]. *Hum Gene Ther*, 2011, 22(7): 809-819
- Zong S, Wang X, Yang Y, *et al.* The use of cisplatin-loaded mucoadhesive nanofibers for local chemotherapy of cervical cancers in mice[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2015, 93: 127-135

(收稿日期: 2016-03-07)

(修回日期: 2016-03-07)