

- role in cancer progression [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1833 (12): 3481 - 3498
- 6 Chen GT, Waterman ML. Cancer: leaping the E - cadherin hurdle [J]. *EMBO J*, 2015, 34(18): 2307 - 2309
 - 7 Bao W, Qiu H, Yang T, *et al.* Upregulation of TrkB promotes epithelial - mesenchymal transition and anoikis resistance in endometrial carcinoma [J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e70616
 - 8 Smit MA, Peeper DS. Zeb1 is required for TrkB - induced epithelial - mesenchymal transition, anoikis resistance and metastasis [J]. *Oncogene*, 2011, 30(35): 3735 - 3744
 - 9 Li Z, Takino T, Endo Y, *et al.* Activation of MMP - 9 by membrane type - 1 MMP/MMP - 2 axis stimulates tumor metastasis [J]. *Cancer Sci*, 2017, 108(3): 347 - 353
 - 10 Luo WR, Gao F, Li SY, *et al.* Tumour budding and the expression of cancer stem cellmarker aldehyde dehydrogenase 1 in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Histopathology*, 2012, 61(6): 1072 - 1081
 - 11 Lu Y, Yan B, Guo H, *et al.* Effect of midkine on gemcitabine resistance in biliary tract cancer [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(4): 2003 - 2011
 - 12 Espinoza I, Pochampally R, Xing F, *et al.* Notch signaling: targeting cancer stem cells and epithelial - to - mesenchymal transition [J]. *Onco Targets Ther*, 2013, 6(1): 249 - 259
 - 13 Rawnaq T, Dietrich L, Wolters - Eisfeld G, *et al.* The multifunctional growth factor midkine promotes proliferation and migration in pancreatic cancer [J]. *Mol Cancer Res*, 2014, 12(5): 670 - 680
 - 14 Yao J, Li WY, Li SG, *et al.* Midkine promotes perineural invasion in human pancreatic cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(11): 3018 - 3024
 - 15 Liebig C, Ayala G, Wilks JA, *et al.* Perineural invasion in cancer: a review of the literature [J]. *Cancer*, 2009, 115(15): 3379 - 3391
 - 16 Gil Z, Carlson DL, Gupta A, *et al.* Patterns and incidence of neural invasion in patients with cancers of the paranasal sinuses [J]. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 2009, 135(2): 173 - 179
 - 17 Abiatari I, DeOliveira T, Kerkadze V, *et al.* Consensus transcriptome signature of perineural invasion in pancreatic carcinoma [J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8(6): 1494 - 1504
 - 18 Pergialiotis V, Pouliakis A, Parthenis C, *et al.* The utility of artificial neural networks and classification and regression trees for the prediction of endometrial cancer in postmenopausal women [J]. *Public Health*, 2018, 16(4): 1 - 6
 - 19 Cavel O, Shomron O, Shabtay A, *et al.* Endoneurial macrophages induce perineural invasion of pancreatic cancer cells by secretion of GDNF and activation of RET tyrosine kinase receptor [J]. *Cancer Res*, 2012, 72(22): 5733 - 5743
 - 20 Arese M, Bussolino F, Pergolizzi M, *et al.* Tumor progression: the neuronal input [J]. *Ann Transl Med*, 2018, 6(5): 89
 - 21 Zeng L, Guo Y, Liang J, *et al.* Perineural invasion and TAMs in pancreatic ductal adenocarcinomas: review of the original pathology reports using immunohistochemical enhancement and relationships with clinicopathological features [J]. *J Cancer*, 2014, 5(9): 754 - 760
 - 22 Huang C, Li Y, Guo Y, *et al.* MMP1/PAR1/SP/NK1R paracrine loop modulates early perineural invasion of pancreatic cancer cells [J]. *Theranostics*, 2018, 8(11): 3074 - 3086
 - 23 Yao J, Li WY, Gao SG. The advances of Midkine with peripheral invasion in pancreatic cancer [J]. *Am J Cancer Res*, 2015, 5(9): 2912 - 2917

(收稿日期:2018-08-08)

(修回日期:2018-09-04)

围绝经期动物模型建立方法的研究进展

杨溢锋 李 倩

摘 要 本文回顾分析了围绝经期动物模型研究的最新进展,比较了目前常用动物模型的优点和劣势,分析表明对于围绝经期动物模型制备方法的优劣判断,不但要从成本方面考虑,更重要的是卵巢功能的下降是否是逐渐下降,模型中卵巢发生的变化是否与正常女性围绝经期的生理变化相似。

关键词 围绝经期 绝经期 动物模型

中图分类号 R71 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.06.041

围绝经期是女性自生育期的规律月经过渡到绝经即永久性无月经状态的阶段,包括从出现与卵巢功

能下降有关的内分泌、生物学和临床特征起至末次月经后一年。建立围绝经期动物模型,模仿人类自然围绝经期的卵巢功能变化,可以帮助研究围绝经期远期疾病和卵巢储备功能下降的发病机制。本文回顾分析了近年来常用的制备围绝经期动物模型的方法,通过比较各类模型的优势和劣势,以期寻找出制备围绝

基金项目:上海市科学技术委员会科研计划项目(17140901300)

作者单位:200030 上海中医药大学附属龙华医院妇科(杨溢锋),科技处(李倩)

通讯作者:李倩,主任医师,硕士生导师,电子信箱:drlj@163.com

经期的理想动物模型。

一、去势模型

最早的围绝经期动物模型主要是去势模型,即手术完全或部分摘除大鼠或小鼠的两侧卵巢。臧凯等^[1]选取3月龄雌性未孕SD大鼠,完全切除或部分切除大鼠的卵巢,术后21只各组大鼠腹主动脉采血的结果均示血清雌二醇(E₂)水平显著降低,卵泡刺激素(FSH)水平显著升高,子宫组织形态学显示各去势组大鼠子宫内膜上皮呈不同程度的萎缩变薄,间质、腺体稀疏,血管减少,结论证明采取手术去势方法制备围绝经期大鼠模型具有可行性。

去势模型分完全去势和部分去势,完全去势即摘除双侧卵巢较摘除部分卵巢操作简单,并且适用范围更广。因为卵巢血供丰富,摘除一侧的部分卵巢不易止血,并且摘除部分的多少不能定量,往往凭借操作者的主观感受。虽然摘除部分卵巢更符合女性围绝经期存在卵巢这一事实,但是手术操作影响卵巢的血供,残存卵巢的功能无法评估,模型之间差异大,无法做到标准化。更重要的是卵巢切除后,除雌激素、孕激素水平下降外,一些卵巢分泌的其他激素如雄激素也会降低,这些激素可能在围绝经期中起重要的作用,并对下丘脑和垂体分泌的激素有反馈作用^[2]。摘除卵巢后,雌激素、促黄体生成素、卵泡刺激素和促性腺激素释放激素(GnRH)的中枢调节器也将随之被耗竭,而这些激素均对大脑有激活作用^[3]。同时还存在其他问题需要解决,如大鼠去势手术的最佳年龄,因为青年鼠和老年鼠对双侧卵巢切除有不同的反应。与年长动物比较,青年鼠的血清雌激素水平下降地更快。此外,对于部分去势手术中另一侧卵巢的保留体积,目前仍没有定论,需要去进一步探索。

总体来说,去势模型成功率高,操作简便,使用广泛,结局可靠,手术完成后雌激素的水平迅速下降,绝经中雌激素降低的诊断标准更容易达到^[4]。但是自然的围绝经期激素水平波动幅度很大,并且是在正常水平上下的波动,激素水平并非立即降低。所以去势模型更适合用于绝经后期相关疾病的研究及人工绝经后的病理研究。同时,两种去势模型对于围绝经期常见的烘热汗出、忧郁健忘、心悸失眠等临床症状都没能很好体现。

二、药物损伤卵巢模型

药物损伤卵巢模型一般采用抗肿瘤药物,免疫抑制剂等有生殖毒性的药物通过腹腔注射或灌胃的方式连续给药一段时间后,造成卵巢功能的下降,从而

制备围绝经期的动物模型。张娟等^[5]选取家兔予环磷酰胺连续注射一段时间后,卵巢切片HE染色发现,使用环磷酰胺后原始卵泡和初级卵泡的异常率升高,卵泡中的颗粒细胞凋亡率增高,且雌激素的水平呈现出逐渐下降的趋势。并得出结论以50mg/kg剂量连续注射2天是建立环磷酰胺诱导家兔卵巢早衰模型的最佳造模方式。

近些年,人们又逐渐发现了雷公藤的生殖毒性,长时间服用的女性出现卵巢功能下降甚至衰竭,具体表现为雌激素的分泌降低,导致FSH和LH的升高,女性出现月经量少甚至闭经^[6]。受此启发,有研究者提出采用雷公藤多苷片制备围绝经期动物模型。何国珍等^[7]选择SD大鼠,予雷公藤多苷片溶液40mg/(kg·d),连续灌胃10周后发现,雷公藤大鼠模型组的生长卵泡和黄体数减少,血清中雌激素和孕酮水平降低,卵巢指数降低,但卵泡刺激素的水平无明显变化,认为雷公藤多苷片可以导致雌性大鼠的卵巢功能降低,用于建立卵巢功能低下的模型可行。目前,采用雷公藤多苷片建立卵巢功能衰退的模型在国内外都非常经典,造模简单可行,但用药时间的长短和使用剂量说法不一,不易把握,对于用药后多长时间能达到围绝经期及卵巢早衰的诊断标准尚无统一意见。如何标准化雷公藤多苷片造模使用的剂量和时间及各时间节点卵巢及内分泌出现的相应变化是下一步亟待解决的问题。

药物损伤卵巢的造模方法简单,并且卵巢切片示各级卵泡不同程度地减少,动情周期表现为不同形式的紊乱,与围绝经期的卵巢组织学和内分泌表现类似,但这些实验研究均未长时间连续监测大鼠的激素水平和动情周期的变化,所以停止用药后是否大鼠持续卵巢功能衰退的状态以及持续的时间,卵巢开始恢复排卵的时间不得而知。

三、射线损伤卵巢的动物模型

1. X线照射破坏卵巢动物模型:卵巢是女性生殖系统中对放射治疗最敏感的器官,所以经过X线放射治疗后卵巢较全身其他器官损伤更为严重。X线主要作用于细胞核,可引起DNA双链或单链的断裂,从而抑制DNA的合成和复制,阻止细胞的有丝分裂。X线对细胞有丝分裂的不同阶段都有杀伤作用,但处于有丝分裂G₂期和M期的细胞对放射尤其敏感。而卵巢中的生殖细胞恰巧多处于第一次减数分裂前期和第二次减数分裂中期,相当于有丝分裂的M期^[8]。所以X线照射会直接影响卵巢生殖细胞的有

丝分裂,从而破坏卵巢功能。同时 X 线也会增加卵巢内氧化应激水平,促进细胞凋亡^[9]。

贺宇恒等^[10]采用放射治疗的方式加速卵巢功能衰竭,选取 8 周龄 C57BL6 雌性小鼠,单次全身照射一定剂量的 X 线,7 天后发现小鼠的双侧卵巢湿重下降,并且血清卵泡刺激素的水平显著升高,卵巢切片原始卵泡和生长卵泡计数均显著下降。追踪监测放疗后 14 天、21 天、28 天和 42 天的相关指标,发现随着时间的延长,小鼠的卵巢湿重逐渐下降,血清 FSH 水平逐渐升高,血清 E₂ 水平则逐渐降低;卵巢内原始卵泡数和生长卵泡数逐渐减少至完全耗尽,至 42 天时卵巢内仅见闭锁卵泡。

2. 钴 60 γ 射线破坏卵巢动物模型:孙萍等^[11]对于造模大鼠予钴 60 γ 射线照射,结果发现钴 60 γ 射线会加快大鼠卵巢功能衰退的进程,能直接阻碍卵泡的正常发育,损伤大鼠的生殖功能。此种方法造模可靠,且成功率比较高。但如同 X 线照射,对实验室设备要求较高,一般实验室人员不易掌握剂量及暴露时间,且对实验人员的健康有潜在的威胁,临床主要用于研究恶性肿瘤放射治疗对组织器官的影响。

射线损伤卵巢的造模方法操作简便,耗时短,成功率高且动物病死率低,为围绝经期疾病的基础研究提供了稳定可靠的动物模型来源,但是对实验室的设备和条件要求高,并且 X 线照射的时间及剂量需要摸索不易掌握,同时 X 线照射对实验人员有一定的伤害,所以限制了此方法在临床上的应用。

四、加速卵巢衰竭模型

目前,国内外常用 VCD 作为加速卵巢衰竭模型(AOF 模型)制备的造模药^[12]。AOF 模型包括了围绝经期和绝经后模型,笔者主要研究的是围绝经期的动物模型^[13]。VCD 为 4-乙烯基环己烯(VCH)的代谢物(VCD),VCH 是轮胎生产硫化过程中产生的 1,3-丁二烯的二聚体。VCD 目前常被用作双环氧化物和环氧树脂的有效中间体和反应稀释剂。化工原料 4-乙烯基环己烯(VCD)可选择性作用于动物原始及初级卵泡,能加速卵母细胞的闭锁率,从而促进卵母细胞的凋亡^[14]。Dinh 等^[15]联合使用 VCD 和邻苯二甲酸盐,结果发现,联合用药组血清 AMH 水平明显降低。此外,联合用药组血清促卵泡激素水平显著升高。

VCD 制备的围绝经期模型更接近于人类的围绝经期。此模型维持了卵巢组织的存在,这点符合人类围绝经期存在卵巢这一事实。同时 VCD 模型大鼠的

内分泌变化也符合人类的围绝经期表现。因为 VCD 是逐渐耗竭了小鼠或大鼠的原始卵泡和初级卵泡,而对次级卵泡和窦卵泡无影响,由于可供募集的卵泡减少,最终导致血清 E₂ 水平下降,LH 和 FSH 水平的升高,与生理性卵巢功能衰退的表现类似。体现出了卵巢功能逐渐下降的过程,能够反应出围绝经期动情周期的不规则性和波动性,尤其是雌激素水平的波动性,成功复制了人类的围绝经期,是目前制备围绝经期大鼠的理想模型。同时,VCD 在低剂量给药时,在引起原始卵泡凋亡的同时不影响其他周围组织,如肝脏和脾脏,也不穿过血-脑脊液屏障,安全性较高。目前国外已将 AOF 模型用于实验研究更年期心血管疾病、糖尿病、骨质疏松、肿瘤等。

五、自然衰老动物模型

在人类的绝经期,雌激素水平非常低或不可检测,孕酮水平下降,促卵泡激素(FSH)和促黄体生成素(LH)水平升高。自然状态下中年大鼠从 9~12 个月龄开始表现出不规则的动情周期,通常以动情周期的延长为特征,将此阶段定义为围绝经期,此阶段的大鼠可作为围绝经期模型,用于围绝经期的病因、机制及治疗的相关研究。自然衰老的模型与人类围绝经期生物学特征相似,子宫、卵巢、胸腺等器官的重量和形态上的改变以及性激素、神经递质、自由基等的改变与人类围绝经期的拟合度较高,而且能避免去卵巢或射线照射等原因造成的动物意外死亡,是研究围绝经期的典型动物模型,使用比较广泛,但造模周期长,费用较高,时间和人力成本高,因此限制了此类模型的应用。

六、免疫模型

免疫模型主要利用免疫反应破坏动物卵巢组织。王佩娟等^[16]将 A/J 雄鼠和 C57BL/6 雌鼠进行杂交繁殖 B6AF1 小鼠,筛选出 B6AF1 雌性小鼠,然后利用透明带 ZP3 多肽免疫 B6AF1 雌性小鼠 14 天,发现小鼠动情周期紊乱,卵巢组织有炎性细胞浸润,卵巢中有明显透明带出现,血清中性激素 E₂ 含量下降,并且 FSH 含量上升,利用透明带多肽 ZP3 免疫 B6AF1 雌性小鼠能够成功建立自身免疫性卵巢早衰模型,该模型发生率高,方法简单,但临床上主要用于免疫性因素导致的卵巢早衰的研究,应用于围绝经期卵巢功能下降的研究则较少见。

七、制动应激致大鼠卵巢功能衰退

申可佳等^[17]采用慢性制动应激的方法建立卵巢早衰及卵巢低反应小鼠模型,自制制动器限制小鼠的

活动,连续14天将小鼠放入制动器内制动,制动时间从3h开始,逐渐延长至每天6h,造成小鼠慢性应激状态,制动期间发现小鼠的进食、毛色等一般情况变差,体重明显减轻($P < 0.05$),动情周期异常的例数明显增多($P < 0.05$),结果提示慢性制动应激可以引起小鼠卵巢功能紊乱或减退。该模型相比去势模型,操作较繁琐,制备时间长,成功率不高,且有悖伦理,因此限制了该模型的临床应用。

目前,用于制备围绝经期综合征动物模型的实验动物除了大(小)鼠,还有雌性绵羊、兔、狗及灵长类动物等。但笔者常采用的是雌性大鼠、小鼠制备围绝经期模型。因为灵长类动物成本高、难得到,限制了其应用。绵羊、狗因为体积大或价格较高而应用受限,家兔手术时死亡较多,操作不易。但是,如果不考虑成本等因素,我们应该去寻求和使用灵长类动物作为更好的模型,因为灵长类动物与人的生理过程更相似。

苗明三等^[18]将围绝经期动物模型分为病因模型,病理模型和病证结合模型,病因模型即本文所述的自然衰老模型,病理模型即去势法制备的模型,包括完全去势法和部分去势法。对于病理模型,该研究仅提到了去势法和乙醇损伤卵巢的方法,结合本文的分析,还应包括抗肿瘤药物损伤卵巢,及VCD等其他药物损伤卵巢的方法。文中的病证结合模型主要用于中医药治疗围绝经期综合征的研究,模型制备基于的是中医的理论基础,应用范围受到一定限制。

对于围绝经期动物模型的制备,笔者认为难点不在于制备方法,制备方法的选择有多种,难点在于判定的疗效指标,因为围绝经期女性的卵巢功能并非完全丧失,血清激素的水平波动很大,动物之间的个体差异也很大。苗明三等对模型的判断指标包括生化指标、表观指标和病理学指标。其中生化指标是最重要的指标,核心指标为雌二醇(E_2)和血清卵泡生成激素(FSH)、LH、T等,生化指标权重系数为0.4。表观的核心指标为毛发光泽度、毛发脱落情况,精神状态和饮食量,权重系数为0.3。病理学指标中重要的是卵巢和子宫,权重系数也为0.3,最终计算出的总积分 > 0.6 ,则可认为该模型制备成功。笔者认为这3种指标中的表观指标有待商榷,因为表观指标的判定没有量化标准,受人为主观因素影响非常大,苗明三起草的表观指标中尤其是毛发脱落情况和精神状态的判断,不容易标准化^[22]。笔者认为对于模型造模成功的最主要判断方法应该是生化指标和

卵巢的病理指标。生化指标中最重要的是 E_2 和FSH的波动水平,并且不能是单一的一次采血结果,应该至少连续3次在同一动情周期采血。目前,造模后取材和采血的时间点的确定是个很大的难点。因为对于啮齿类动物来说,不同的时间点动情周期不一致,在不同的动情周期中,生化指标和卵巢切片的结果不一定一致,所以应该根据每只大鼠的动情周期确定采血时间,反复采血监测生化指标的波动情况,但连续采血对动物本身伤害大,常用的眼眶采血对操作者的技术水平要求高,容易造成大鼠失明,对于实验结果也会有一定的干扰。总之,反复采血的间隔时间及造模后怎样规定采血时间仍需要我们进一步探索,毕竟,围绝经期的激素水平并非是直接跌入谷底,而是在正常值的基础上出现较大幅度的波动,直到真正绝经后才维持在持续的低水平。而对于病理指标,应以卵巢为主,因为围绝经期的本质就是卵巢功能的逐渐衰退,子宫内膜的变化是受卵巢分泌激素的影响。同时,造模的参考标准不应该是去势模型,而是自然衰老的动物模型,因为去势模型与自然的围绝经期存在卵巢这一事实完全不符。所以,应先探索出自然衰老模型的动情周期变化,总结出规律后,再去判断其他模型是否成功。

综上所述,目前比较理想的制备围绝经期大鼠的模型是VCD制备的模型和雷公藤损伤卵巢的模型,它们操作简便,给药方便,耗时短,花费相对较低,并且模型原理与人类围绝经期的生理变化类似,拟合度更高。实验人员在具体的研究中应根据实验条件和目的选择合适的动物模型。同时期望日后有更符合人类围绝经期自然生理过程且操作方便的动物模型,也希望有更多大样本围绝经期模型的疗效指标数据,以便于造模后的疗效判定指标也能够标准化,从而为女性围绝经期及卵巢功能下降的研究奠定更坚实的基础。

参考文献

- 1 臧凯,罗小光,李伟,等.围绝经期综合征渐衰动物模型选择[J].贵州医科大学学报,2017,42(11):1262-1265
- 2 Havelock J, Rainey W, Bradshaw K, et al. The post-menopausal ovary displays a unique pattern of steroidogenic enzyme expression[J]. Hum Reprod, 2006, 21(1):309-317
- 3 Labrie F, Martel C, Balser J. Wide distribution of the serum dehydroepiandrosterone and sex steroid levels in postmenopausal women: role of the ovary? [J]. Menopause, 2011, 18(1):30-43
- 4 Acosta J, Mayer L, Braden B, et al. The cognitive effects of conjugated equine estrogens depend on whether menopause etiology is transitional or surgical[J]. Endocrinology, 2010, 151(8):3795-3804

- 5 张娟,周月希,刁波,等. 环磷酰胺诱导家兔卵巢早衰动物模型的建立和评价[J]. 中国比较医学杂志,2018,28(1):38-43
- 6 刘小燕,祁爱蓉,罗登贵,等. 雷公藤制剂生殖毒性及联用减毒研究进展[J]. 中国中医药信息杂志,2018,25(4):133-135
- 7 何国珍,杨美春,谢桂珍,等. 雷公藤多苷诱导大鼠卵巢功能低下模型的实验研究[J]. 广西中医药大学学报,2017,20(4):9-11
- 8 Field S, Dasgupta T, Cummings M, et al. Cytokines in ovarian folliculogenesis, oocyte maturation and luteinisation [J]. Mol Reprod Dev,2014, 81(4):284-314
- 9 Mishra B, Ripperdan R, Ortiz L, et al. Very low doses of heavy oxygen ion radiation induce premature ovarian failure [J]. Reproduction, 2017,154(2):123-133
- 10 贺宇恒,谭容容,浦丹华,等. 放疗致卵巢早衰小鼠动物模型的构建[J]. 生殖医学杂志,2017,26(12):1243-1249
- 11 孙萍,包秀芳. 不同剂量钴⁶⁰γ射线致大鼠卵巢早衰的实验研究[J]. 世界最新医学信息文摘,2017,17(47):55
- 12 Kappeler C, Hoyer P. 4-vinylcyclohexene diepoxide: a model chemical for ovotoxicity[J]. Sys Biol Reprod Med, 2012, 58(1): 57-62
- 13 Van Kempen T, Gorecka J, Gonzalez A, et al. Characterization of neural estrogen signaling and neurotrophic changes in the accelerated ovarian failure mouse model of menopause[J]. Endocrinology, 2014, 155(9):3610-3623
- 14 Reis F, Pestana - Oliveira N, Leite C, et al. Hormonal changes and increased anxiety-like behavior in a perimenopause - animal model induced by 4-vinylcyclohexene diepoxide (VCD) in female rats [J]. Psychoneuroendocrinology, 2014, 49(11):130-140
- 15 Dinh N, Eui - Man J, Yeong - Min Y, et al. Depletion of follicles accelerated by combined exposure to phthalates and 4-vinylcyclohexene diepoxide, leading to premature ovarian failure in rats [J]. Reprod Toxicol, 2018, 80(9):60-67
- 16 王佩娟,陈思,卢燕. 基于免疫性卵巢早衰小鼠模型的建立研究卵巢早衰的免疫机制[J]. 中国临床研究,2017,30(3):298-301
- 17 申可佳,申奏秦旋,刘碧源,等. 慢性制动应激建立卵巢早衰及卵巢低反应小鼠模型的研究[J]. 中国医药导报,2017,14(17):19-22
- 18 苗明三,田硕,辛卫云,等. 围绝经期综合征动物模型制备规范(草案)[J]. 中华中医药杂志(原中国医药学报),2018,33(3):996-1000

(收稿日期:2018-08-28)

(修回日期:2018-09-19)

体外肿瘤模型在药敏试验及药物研发中的应用

徐怡朦 杨亚冬 杨 耿 宋勇飞 张文元

摘要 迄今为止,许多研究已经促成癌症研究方式从传统的二维(2D)培养系统向三维(3D)培养系统转变。研究人员认识到肿瘤不仅仅是肿瘤细胞增殖形成的肿块,还有处于动态变化的细胞外基质,以及基质、免疫细胞和内皮细胞相互作用所组成的高度复杂的组织。而肿瘤模型的药敏试验在指导临床用药及个体化治疗方面具有重要作用。本文综述了2D、3D肿瘤细胞培养模型的研究现状、3D生物打印肿瘤模型的进展,以及在药敏试验和抗癌药物研发中的应用和展望。

关键词 二维肿瘤模型 三维肿瘤模型 3D生物打印 药敏试验 抗癌药物研发

中图分类号 R318

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.06.042

癌症是全球死亡的主要原因之一,尽管研发人员和制药界作出了巨大努力,但肿瘤药物开发仍然充满挑战,即使是最先进的临床前药物测试,也难以预料药物毒性作用、不良反应、药物耐受及药物相互作用。肿瘤模型的药敏试验在指导临床用药及个体化治疗方面具有重要作用。可靠的药敏试验,可帮助选择有效的化疗药物,避免药物毒性不良反应,设计合理的

治疗方案,提高治疗效果。一个理想的肿瘤模型应与其模拟的肿瘤在分子、形态、组织结构及生物学特征方面有许多共同性,即真实地仿生^[1]。细胞培养模型一直是抗癌药物研发计划的核心。为了在体外肿瘤模型中了解肿瘤微环境的详细情况,研究人员开发了大量二维(2D)和三维(3D)模型。其中3D体外模型正成为传统2D细胞培养和动物模型之间的桥梁。而3D生物打印肿瘤模型可将细胞与材料同时操作,实现多种细胞和细胞外基质材料的特定空间排布,构建比传统3D模型更为仿真的3D肿瘤模型,以发挥其在抗癌药物筛选评估中的作用。

一、二维(2D)肿瘤模型与药敏试验及药物研发

2D细胞培养是生物技术中最核心、最基础的技术

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(LY17H280008, LY18H180010);浙江省医药卫生科技计划项目(2015ZDA011, 2017KY299, 2017KY307);浙江省中医药科技计划项目(2015ZA045, 2016ZA044, 2018ZA017)

作者单位:310013 杭州,浙江省医学科学院生物工程研究所

通讯作者:张文元,电子邮箱:zhangwy61@163.com