

· 综述 ·

特殊乳腺癌动物模型研究进展

姜 艺, 顾天豪, 夏添松*

南京医科大学第一附属医院乳腺病科, 江苏 南京 210029

[摘要] 乳腺癌发病率在女性恶性肿瘤中位居首位, 乳腺癌动物模型在肿瘤基础与临床研究领域发挥着极其重要的作用。现有的乳腺癌动物模型中, 除啮齿类动物外还有一些特殊的乳腺癌动物模型, 如树鼯、犬、猪、兔等。本文综述了国内外现有的特殊乳腺癌动物模型, 归纳建模背景, 总结建模方式, 讨论模型特点, 以期对乳腺癌的科学研究提供参考。

[关键词] 乳腺癌; 动物模型

[中图分类号] R737.9

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2021)02-292-05

doi: 10.7655/NYDXBNS20210227

Research progress of special animal models of breast cancer

JIANG Yi, GU Tianhao, XIA Tiansong*

Department of Breast Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

[Abstract] The incidence of breast cancer has become the first in female malignant tumors. The animal model of breast cancer plays an important role in the basic and clinical research of breast cancer. In addition to rodents, there are still some special animal models of breast cancer, such as tupaias, dogs, pigs, rabbits and so on. This paper reviews the animal models of special breast cancer at home and abroad, summarizes the background of the models, concludes the modeling methods, and discusses the characteristics of the models, so as to provide references for the research of breast cancer.

[Key words] breast cancer; animal model

[J Nanjing Med Univ, 2021, 41(02):292-295, 309]

在现有的乳腺癌动物模型中, 啮齿类动物模型凭借价格低廉、实验周期短、操作方便等特点, 已经成为乳腺癌研究中的主要动物模型。但啮齿类动物在端粒长度、细胞转化能力、激素反应性和肿瘤微环境等方面和人类存在较大差异^[1]。例如在乳腺癌转移方面, 小鼠更加倾向于肺转移, 而人类主要发生骨转移、肝脏转移和脑转移。啮齿类动物的乳腺癌模型存在一定局限性, 其他动物模型的特殊属性对此作出了有效的补充。

本文检索了近20年来国内外乳腺癌实验的相关文章, 通过综述树鼯、犬、猪、兔和斑马鱼等实验动物,

归纳现有的特殊乳腺癌动物模型, 分析模型的优缺点, 为乳腺癌动物模型的选择提供更恰当的信息。

1 树 鼯

1.1 建模背景

相比于传统的啮齿类动物, 树鼯(*Tupaia belangeri*)通过全基因组测序, 证实其在进化层次和系统发育上更接近于人类^[2]。因此可作为一种新型的乳腺癌实验动物模型。早在1966年, 《自然》杂志首次报道了树鼯可形成自发性乳腺癌^[3]。此外, 也不断有研究者人工诱导树鼯肺癌和肝癌的报道, 证明了诱导树鼯乳腺癌模型具有可行性。

1.2 建模方式

1.2.1 自发性乳腺癌

树鼯常自发乳腺肿瘤, 发病率约为1%, 其病理

[基金项目] 江苏省大学生创新创业训练计划重点项目(201810312009Z)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: xiats@njmu.edu.cn

类型主要为导管内乳头状瘤、乳头状癌和浸润性导管癌^[4]。免疫组化示超过70%的树鼩自发性乳腺肿瘤呈激素受体(hormone receptor, HR)阳性,HER-2基因不扩增;其余为雌激素受体(estrogen receptor, ER α)阴性、孕激素受体(progesterone receptor, PR)阴性、HER-2基因无扩增的三阴性乳腺癌。

1.2.2 化学致癌物诱导

7,12-二甲基苯并蒽(7,12-dimethylbenz anthracene, DMBA)是一种激素依赖性的致癌物,通过乳腺脂肪垫注射、灌胃等方法,诱导树鼩产生乳腺肿瘤而建立树鼩的肿瘤模型,组织病理学检查确认为乳腺原位导管癌。通过对照试验,DMBA处理可能缩短了树鼩的寿命和增加了患乳腺癌的风险^[5]。

相较于单独使用致癌剂DMBA对树鼩进行处理,联合使用孕激素缓释片醋酸甲羟孕酮(medroxyprogesterone acetate, MPA)皮下埋植的实验组肿瘤发生率显著提高。HE染色结果显示肿瘤多为导管内乳头状瘤和浸润性导管癌,其中以导管内乳头状瘤为主^[6]。

1.2.3 生物学因素诱导

多瘤病毒中间T抗原(polyoma virus middle T antigen, PyMT)的慢病毒系统感染树鼩乳腺导管上皮细胞,其过表达的癌基因可高效诱导乳腺癌。将制备好的慢病毒载体注射到树鼩乳腺导管内,8周后树鼩全部产生肿瘤。实验证明PyMT诱导的乳腺癌模型具有成瘤快、潜伏期短、效率高等特点^[7],顺铂、表阿霉素等化疗药物均能有效抑制肿瘤的生长。

1.3 模型特点

树鼩与人类有相近的亲缘关系,其乳腺形态和结构也与人类相似。同时其体型小、繁殖快、饲养成本较低,是一种较为理想的动物模型。但树鼩诱导出的肿瘤形态不规则,难以准确测量,且绝大部分为乳头状癌,与人类主要的浸润性导管癌存在一定差异,也成为阻碍模型进一步发展的主要原因^[8-9]。

2 犬

2.1 建模背景

人乳腺癌(human breast cancer, HBC)与犬乳腺肿瘤(canine mammary tumor, CMT)在发病年龄、病因病程、激素水平和疾病预后等方面具有相似性。其中,人和犬类的乳腺导管原位癌(ductal carcinoma in situ, DCIS)在组织病理、分子特征如激素受体、表皮生长因子、p53抑癌基因突变等方面均尤为相似^[10],因此犬模型可能是乳腺癌研究的良好选择。

2.2 建模方式

犬类常自发良、恶性乳腺肿瘤,发病率占有犬类肿瘤的13.4%。雌性犬类乳腺癌发病率为41.7%,是女性乳腺癌发病率的3倍^[11]。研究表明,孕激素处理的犬患乳腺肿瘤的风险增加,而早期卵巢子宫切除术可以有效降低犬乳腺癌发病率。同时,肥胖和高脂肪饮食也是犬类乳腺癌的影响因素。

病理学研究表明,近半数的犬乳腺肿瘤为恶性,绝大多数起源于上皮细胞。犬乳腺癌多数表达ER,ER表达与组织学分化呈负相关。约50%的犬乳腺转移至局部淋巴结和肺,骨转移并不常见^[12]。

2.3 模型特点

相比于啮齿类动物,犬的基因组序列与人类基因组序列有高度同源性^[13]。因此,犬和人类自发性乳腺肿瘤在组织病理学类型、肿瘤遗传学特点、分子靶点种类、生物学行为和对常规治疗的反应等方面具有许多共同特征^[14-15]。这些共同特性表明犬可能是研究乳腺癌的极佳模型。犬模型在探索乳腺癌发病机制、研究药物疗效和安全性检测等方面都具有广阔的前景^[16]。但是犬类的自发乳腺肿瘤模型诱导困难,目前也尚未有关于犬的人源肿瘤异种移植模型的研究报道。

3 猪

3.1 建模背景

乳腺癌相关基因1(BRCA1)直接与遗传性乳腺癌相关,其突变失活会增加乳腺癌的发病风险。而BRCA1基因在猪体内编码1863个氨基酸的核蛋白,与人类完全一致。猪乳腺癌模型的建立对BRCA1基因研究具有重要意义。Donninger等^[17]开发了猪乳腺癌模型,确定了BRCA1基因在猪细胞中的灭活促进细胞表型转化,验证了以猪为模型研究BRCA1基因缺陷乳腺癌的概念,并建立了首个猪乳腺癌细胞系。

3.2 建模方式

3.2.1 生物学因素诱导

利用SV40 LT慢病毒载体破坏细胞p53和Rb抑癌因子的功能,构建永生化的猪乳腺细胞系。Donninger等^[17]使用针对BRCA1的miRNA片段,稳定转染到永生化的猪乳腺细胞,产生配对的BRCA1^{-/-}细胞系。BRCA1基因敲除的细胞几乎无法表达BRCA1核蛋白;BRCA1的下调促进细胞生长增强,并诱导细胞表型转化,转化的细胞表现出了肿瘤干细胞的特征^[18]。

3.2.2 基因修饰

利用重组腺相关病毒(rAAV)介导的基因靶向技术,以第11外显子为靶点,将育卡坦小型猪取下的原代猪成纤维细胞进行基因敲除;筛选后利用人工克隆的体细胞核移植技术,将克隆好的胚胎移植到母猪子宫,成功繁育出克隆BRCA1基因敲除(BRCA1^{-/-})的育卡坦小型猪^[19]。

3.3 模型特点

与啮齿类动物模型相比,猪的生物系统和癌症遗传学与人类更为相似,相比于小鼠只需要2个致癌损伤就可以诱导转化,猪细胞需要5个或更多致癌突变才能发生变化^[20]。BRCA1缺陷乳腺癌的猪模型有应用于乳腺癌预防和治疗相关研究的潜力。但这一模型目前存在的主要问题是BRCA1单倍基因缺失的小猪没有存活超过18 d,这一问题也限制了该模型在乳腺癌研究中的广泛应用。

4 兔

4.1 建模背景

为更好地研究转移性乳腺癌(metastatic breast cancer, MBC),评估新治疗策略对原发肿瘤及其转移的影响,建立了兔转移性乳腺癌模型,以期研究兔转移性乳腺癌模型的肿瘤生长和转移情况,改善敏感的肿瘤转移筛查方式^[21]。

4.2 建模方法

VX2癌是一种鳞状上皮性睾丸癌,细胞株可用于诱导兔乳头状瘤的转化。手术植入肿瘤组织块或注射含有VX2癌细胞的组织块悬浮液至兔的乳垫下,超声影像学表明诱导的乳腺肿瘤在2~4周迅速扩大,随后增长速度相对减慢^[22]。

4.3 模型特点

兔模型发生迅速、病程短,通过乳腺脂肪垫注射VX2肿瘤块悬液,使肿瘤在短时间内快速生长并广泛转移,实现了相对较高的肿瘤诱导率。尤其可观察到兔MBC模型中腋淋巴结和肺的区域性淋巴组织转移,与人类MBC有相似之处,具有肿瘤生长快、转移范围广等特点^[23]。由于VX2的组织病理学类型为鳞癌而非乳腺癌常见的腺癌,因此VX2模型适用于转移性淋巴组织治疗的研究,不适用于肿瘤发生或生物学特性的研究。

5 斑马鱼

5.1 建模背景

斑马鱼(zebrafish)是一种小型的热带淡水鱼,

其透明的胚胎易于观察到肿瘤的发生、侵袭和转移等特点,为一种理想的异种移植肿瘤模型。斑马鱼与哺乳动物在生理和遗传方面具有高度的相似性,适用于临床异种移植模型的研究^[24]。

5.2 建模方式

MDA-MB-231是一种高度侵袭性的三阴性乳腺癌细胞系,广泛用于乳腺癌转移的体内研究,可以在斑马鱼的不同部位播散和定植。将mCherry抗体标记的人乳腺癌MDA-MB-231细胞注射到斑马鱼胚胎卵黄囊中,在荧光显微镜下可以观察到癌细胞的侵入、扩散和转移,以及肿瘤周围和肿瘤内的血管生成^[25]。肿瘤的生长浸润转移依赖于血管的形成,新生微血管密度是反映肿瘤血管形成程度的指标^[26]。

5.3 模型特点

与传统的啮齿类动物模型相比,斑马鱼模型遗传操作简单,胚胎发育快速,内部结构可视,繁衍后代丰富。其模型制作方法简单、周期短,可以减少药物反应时间,更好地了解药物敏感性,在药物活性评价方面发挥独特优势。胚胎透明可以在显微镜下实时活体观察肿瘤血管生成和迁移特征。繁殖能力强便于进行统计实验和遗传研究。但斑马鱼模型也存在着无乳腺组织、无组织器官发病等问题,模型的适用范围存在局限性^[27]。

6 其他

除上述列举的乳腺癌动物模型外,还有一些特殊动物模型具有研究价值。猫乳腺癌与人类乳腺癌在发病年龄、发病情况、组织病理学特征和转移模式等方面具有相似性。80%以上猫乳腺肿瘤为恶性,早期即迅速发展和转移,故猫乳腺癌为良好的侵袭性乳腺癌模型。肿瘤细胞经过培养后,将稳定的细胞株作为转移性乳腺癌种植到小鼠体内,以便进一步研究^[28-29]。

非人类灵长类动物模型,如猕猴,在许多病理生理特征上与女性相似。雌性猕猴的月经周期、生殖器官对激素反应与人类相似,乳腺的分泌和神经支配也有解剖学上的相似性。猴模型证实了雌激素治疗可能会影响乳腺上皮细胞癌变的风险,而雌激素+黄体酮治疗会大幅增加乳腺癌发病风险^[30]。

7 总结

理想的乳腺癌动物模型应当有助于研究乳腺癌的发生机制、诊断方式和治疗方案,有助于提高

治疗效果和预后。啮齿类动物作为乳腺癌研究的主要动物模型,仍存在着和人类相似程度低等一系列问题。常见的特殊动物乳腺癌模型采用不同的建模方法,具有各自的模型特点(表1),可以从不同方面、在不同程度上弥补啮齿类动物模型的不足。针对不同类型乳腺癌选择特殊动物模型进行研究,可以丰富乳腺癌实验动物的种类,对乳腺癌研究具有重要意义。其中,树鼯和犬是良好的乳腺癌研究

模型,具有基因序列高度同源等特点,在研究乳腺癌发病机制和药物疗效等方面具有广阔前景。猪模型因BRCA1基因与人相近适用于基因工程。兔模型因转移方式与人类相似,适合转移性乳腺癌的研究。斑马鱼模型易于观察,可以通过异种移植模型研究三阴性乳腺癌。猫自发性乳腺癌多为恶性,适合于研究侵袭性乳腺癌。

乳腺癌特殊动物模型在遗传进化、肿瘤特性、

表1 特殊乳腺癌动物模型特点

Table 1 Characteristics of special breast cancer animal models

动物	建模方法	建模背景	优势	劣势	备注
树鼯	自发性乳腺癌	基因组测序	亲缘性近	病理类型	发病率约为1%
	化学致癌物诱导	接近人类	实用性高	存在差异	DMBA(7,12-二甲基-1,2-苯并蒽)
	生物学因素诱导				PyMT慢病毒载体
犬	自发性乳腺癌	基因序列高度同源	共同性多	无异种移植模型	雌性犬类发病率高
猪	生物学因素诱导	BRCA1基因	癌症遗传学与人类相似	克隆猪存活时间短	SV40 LT慢病毒载体+miRNA
	基因修饰	缺陷模型			基因靶向技术+人工克隆
兔	肿瘤移植	转移性乳腺癌	转移方式与人类相似	模型适用范围小	VX2癌细胞乳房注射
斑马鱼	肿瘤移植	异种移植模型	模型可视化	无乳腺组织	MDA-MB-231细胞胚胎卵黄囊注射
猫	自发性乳腺癌	侵袭性乳腺癌	病理类型与人类相似	需构建小鼠模型	超过80%的肿瘤为恶性

生物特性等方面更有优势,可以在一定程度上弥补啮齿类动物模型的缺陷。但目前这些模型也存在着如建模形式单一、研究成本过高、实验数据偏少等诸多制约因素,仍需更多的研究探索其在肿瘤研究中的价值。

[参考文献]

[1] KIM J B, O'HARE M J, STEIN R. Models of breast cancer: is merging human and animal models the future? [J]. BCR, 2004, 6(1): 22-30

[2] FAN Y, HUANG Z Y, CAO C C, et al. Genome of the Chinese tree shrew [J]. Nat Commun, 2013, 4: 1426

[3] ELLIOT O S, ELLIOT M W, LISCO H. Breast cancer in a tree shrew (*Tupaia glis*) [J]. Nature, 1966, 211 (5053): 1105

[4] XIA H, HE B L, WANG C Y, et al. PTEN/PIK3CA genes are frequently mutated in spontaneous and medroxyprogesterone acetate-accelerated 7, 12-dimethylbenz (a) anthracene-induced mammary tumours of tree shrews [J]. Eur J Cancer, 2014, 50(18): 3230-3242

[5] 徐小珊, 侯小明, 王伟, 等. DMBA 诱导树鼯乳腺肿瘤(中缅树鼯) [J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(2): 228-232

[6] 何保丽, 夏厚军, 角建林, 等. 人工诱导树鼯乳腺肿瘤的病理分析 [J]. 中国比较医学杂志, 2016, 26(3): 6-10

[7] 葛广哲. 树鼯乳腺癌模型的建立 [D]. 昆明: 昆明理工大学, 2015

[8] ABDELMEGEED S M, MOHAMMED S. Canine mammary tumors as a model for human disease [J]. Oncol Lett, 2018, 15(6): 8195-8205

[9] YAO Y G. Creating animal models, why not use the Chinese tree shrew (*Tupaia belangeri chinensis*) [J]. Zoological Res, 2017, 38(3): 118-126

[10] ABDELMEGEED S M, Mohammed S. Canine mammary tumors as a model for human disease [J]. Oncol Lett, 2018, 15(6): 8195-8205

[11] SORENMO K. Canine mammary gland tumors [J]. Vet Clin North Am Small Anim Pract, 2003, 33(3): 573-596

[12] CANADAS A, FRANCA M, PEREIRA C, et al. Canine mammary tumors: comparison of classification and grading methods in a survival study [J]. Vet Pathol, 2019, 56(2): 208-219

[13] LINDBLAD-TOH K, WADE C M, MIKKELSEN T S, et al. Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog [J]. Nature, 2005, 438 (7069): 803-819

[14] GOEBEL K, MERNER N D. A monograph proposing the use of canine mammary tumours as a model for the study of hereditary breast cancer susceptibility genes in humans (下转第 309 页)

- pyridoxine-dependent epilepsy[J]. *Sci Rep-Uk*, 2019, 9(1):11371
- [10] MATHEW E M, MOORKOTH S, LEWIS L, et al. Biomarker profiling for pyridoxine dependent epilepsy in dried blood spots by HILIC-ESI-MS[J]. *Int J Anal Chem*, 2018, 2018:2583215
- [11] CROWTHER L M, MATHIS D, POMS M, et al. New insights into human lysine degradation pathways with relevance to pyridoxine-dependent epilepsy due to antiquitin deficiency[J]. *J Inher Metab Dis*, 2019, 42(4):620-628
- [12] COUGHLIN C R, VAN KARNEBEEK C D, AL-HERTANI W, et al. Triple therapy with pyridoxine, arginine supplementation and dietary lysine restriction in pyridoxine-dependent epilepsy: neurodevelopmental outcome[J]. *Mol Genet Metab*, 2015, 116(1-2):35-43
- [13] GOSPE S M. Developmental outcome in pyridoxine-dependent epilepsy: better late(onset)than early[J]. *Eur J Paediatr Neuro*, 2018, 22(4):575-576
- [14] DE ROOY R L P, HALBERTSMA F J, STRUIJS E A, et al. Pyridoxine dependent epilepsy: Is late onset a predictor for favorable outcome? [J]. *Eur J Paediatr Neuro*, 2018, 22(4):662-666
- [15] MARGUET F, BARAKIZOU H, TEBANI A, et al. Pyridoxine-dependent epilepsy: report on three families with neuropathology[J]. *Metab Brain Dis*, 2016, 31(6):1435-1443
- [16] ZABINYAKOV N, BULLIVANT G, CAO F, et al. Characterization of the first knock-out *aldh7a1* zebrafish model for pyridoxine-dependent epilepsy using CRISPR-Cas9 technology[J]. *PLoS One*, 2017, 12(10):e0186645
- [17] PENA I A, ROUSSEL Y, DANIEL K, et al. Pyridoxine-dependent epilepsy in zebrafish caused by *Aldh7a1* deficiency[J]. *Genet*, 2017, 207(4):1501-1518
- [收稿日期] 2020-06-30

(上接第295页)

- [J]. *Vet Med Sci*, 2017, 3(2):51-62
- [15] KUPPUSAMY K, RAJAN A, WARRIER A, et al. Cytological grading of breast tumors - the human and canine perspective[J]. *Front Vet Sci*, 2019, 6:283
- [16] CARVALHO M I, PIRES I, PRADO J, et al. A role for T-lymphocytes in human breast cancer and in canine mammary tumors[J]. *Bio Med Res Intern*, 2014, 2014:1-11
- [17] DONNINGER H, HOBGING K, SCHMIDT M L, et al. A porcine model system of BRCA1 driven breast cancer[J]. *Front Genet*, 2015, 6:269
- [18] HUEN M S, SY S M, CHEN J. BRCA1 and its toolbox for the maintenance of genome integrity [J]. *Nat Rev Mdd Cell Biol*, 11:138-148
- [19] LUO Y, LI J, LIU Y, et al. High efficiency of BRCA1 knockout using rAAV-mediated gene targeting: developing a pig model for breast cancer [J]. *Transgenic Res*, 2011, 20(5):975-988
- [20] ADAM S J, RUND L, UZMUK K N, et al. Genetic induction of tumorigenesis in swine [J]. *Oncogene*, 2007, 26(7):1038-1045
- [21] 徐加菊. 兔多器官 VX2 动物模型建立的实验研究[D]. 泰安:泰山医学院, 2010
- [22] ZHANG W, CHAI W, ZENG J, et al. Irreversible electroporation for the treatment of rabbit VX2 breast cancer[J]. *Biomed Microdevices*, 2017, 9(2):29.1-29.12
- [23] WANG L, YAO Q, WANG J, et al. MRI and hybrid PET/CT for monitoring tumour metastasis in a metastatic breast cancer model in rabbit [J]. *Nucl Med Commun*, 2008, 29(2):137-143
- [24] MERCATALI L, LA MANNA F, GROENEWOUD A, et al. Development of a patient-derived xenograft (PDX) of breast cancer bone metastasis in a zebrafish model [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(8):E1375
- [25] REN J, LIU S, CUI C, et al. Invasive behavior of human breast cancer cells in embryonic zebrafish [J]. *J Vis Exp*, 2017, 122:55459
- [26] 谢智慧,王蕾,吕庆,等. COX-2 与 MVD 在三阴性乳腺癌中的表达及相关性研究[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2013, 33(10):1410-1414
- [27] 陈锡强,韩利文,王希敏,等. 人乳腺癌斑马鱼移植瘤模型建立[J]. *中国药理学通报*, 2016, 32(1):128-132
- [28] WIESE D A, THAIWONG T, YUZBASIYAN-GURKAN V, et al. Feline mammary basal-like adenocarcinomas: A potential model for human triple-negative breast cancer (TNBC) with basal-like subtype [J]. *BMC Cancer*, 2013, 13:403
- [29] HASSAN B B, ELSHAFAE S M, SUPSAVHAD W, et al. Feline mammary cancer [J]. *Vet Pathol*, 2017, 54(1):32-43
- [30] CLARKSON T B, APPT S E. Controversies about HRT—lessons from monkey models [J]. *Maturitas*, 2005, 51(1):64-74
- [收稿日期] 2020-06-13