

## · 综述 ·

## 人源性肿瘤异种移植模型在三阴性乳腺癌研究中的应用

郭俏丽<sup>1,2</sup> 胡慧<sup>1</sup>

**【摘要】** 三阴性乳腺癌是一种缺乏雌激素受体、孕激素受体和人表皮生长因子受体2表达的乳腺癌亚型,与其他类型乳腺癌相比,三阴性乳腺癌发病年龄更早、恶性程度更高、预后更差,一直是研究关注的重点。人源性异种移植模型是一种把来源于患者肿瘤组织或原代细胞移植入免疫缺陷小鼠内形成移植瘤的模型,能很好地保留原代肿瘤的生物特性,它在肿瘤研究中的应用越来越多,特别是三阴性乳腺癌的研究。本文就人源性肿瘤异种移植模型在三阴性乳腺癌研究中的应用进行综述。

**【关键词】** 三阴性乳腺癌; 人源性异种移植; 动物模型

**Application of patient-derived xenograft model in study of triple-negative breast cancer** Guo Qiaoli<sup>1,2</sup>, Hu Hui<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Department of Breast and Thyroid Surgery, Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen 518036, China; <sup>2</sup>Shantou University Medical College, Shantou 515041, China  
Corresponding author: Hu Hui, Email: sapphiretjmu@yahoo.com

**【Abstract】** Triple-negative breast cancer is one of the subtypes of breast cancer, which exhibits a lack of the expression of estrogen receptor and progesterone receptor and the amplification of human epidermal growth factor receptor 2. Compared with other subtypes, triple-negative breast cancer has a younger onset age, higher degree of malignancy, and worse prognosis, which has always been the focus of clinical and research. Patient-derived xenograft model is established by engrafting tumor tissue or primary cells into immunodeficient mice, which faithfully retains the biological features of the primary tumor. It has been widely used in the study of triple-negative breast cancer. This review describes the application of patient-derived xenograft model in the study of triple-negative breast cancer.

**【Key words】** Triple-negative breast cancer; Patient-derived xenograft model; Animal model

据世界卫生组织国际癌症研究机构发布的最新癌症负担数据<sup>[1]</sup>,2020年全球乳腺癌新发病例高达226万,超越了肺癌,成为了当今世界发病率最高的癌症,每8例确诊的癌症中就有1例是乳腺癌。乳腺癌是全球癌症死亡的第五大原因,2020年因乳腺癌死亡的人数高达68.5万人。其中,以分型来看,三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)是导致乳腺癌患者死亡的主要亚型,与其他亚型相比,三阴性乳腺癌发病年龄更早、恶性程度更高、预后更差<sup>[2-3]</sup>。三阴性乳腺癌是一种雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)和人表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)均表达阴性的乳腺癌亚型<sup>[4]</sup>。受体阳性的乳腺癌亚型患者可针对这些受体进行内分泌治疗和/或靶向治疗<sup>[5]</sup>,这些治疗显著提高了乳腺癌患者的生存率。然而,由于在大多数三阴性乳腺癌缺乏明确的分子靶点,目

前尚无有效针对三阴性乳腺癌的靶向治疗。目前三阴性乳腺癌主要采用蒽环类和紫杉类进行化疗,而那些对化疗耐药的患者目前缺乏有效的治疗手段<sup>[6]</sup>。因此三阴性乳腺癌一直是学术界关注的一个重点和难点。

人源性异种移植(patient-derived xenograft, PDX)模型是一种把来源于患者的肿瘤组织或原代细胞移植入免疫缺陷小鼠体内形成移植瘤的模型,其构建过程如图1。PDX模型很好地保留了原代肿瘤的异质性和微环境,传代肿瘤与原代肿瘤具有较好的生物一致性<sup>[7]</sup>,在组织学、转录组学、蛋白质组学和基因组水平上均具有表型稳定性,并与临床治疗反应相似<sup>[8]</sup>,为研究药物耐药机制、肿瘤发生机制、药物筛选、个体化治疗等基础研究和临床前研究提供了强大的研究方法。PDX模型越来越多地被用来研究乳腺癌,2016年美国肿瘤研究所官方宣布用PDX建立新的癌症模型库来替代传统的NCI-60细胞系筛选大部分药物<sup>[9]</sup>。

PDX 模型在三阴性乳腺癌中的应用逐渐成为了热点, 本文将从发现药物耐药的机制、发现药物疗效的预测因子、指导靶向治疗和免疫治疗药物的开发、指导个体化药物筛查、预后相关研究以及其局限和展望等 6 个方面对 PDX 模型在三阴性乳腺癌研究中的应用进行综述。

### 一、PDX 模型在发现三阴性乳腺癌药物耐药机制中的应用

长期以来, 化疗是三阴性乳腺癌治疗的基石, 以蒽环类和紫杉类为主的标准化疗是主要的治疗方法。与其他亚型乳腺癌相比, 三阴性乳腺癌虽然表现出更高的化疗敏感性, 但由于常规化疗结束后缺乏有效的药物巩固治疗, 三阴性乳腺癌复发风险比其他类型乳腺癌更高, 特别是肿瘤耐药后, 复发转移更难控制, 因此明确药物的耐药机制并克服耐药性在三阴性乳腺癌治疗的研究中显得至关重要。

Gómez-Miragaya 等<sup>[10]</sup> 为了研究三阴性乳腺癌对紫杉类药物的耐药性及其与 CD49f 阳性肿瘤起源细胞的动态关系, 建立了三阴性乳腺癌患者的 PDX 模型, 发现对三阴性乳腺癌持续给予多西他赛会使其逐渐获得耐药性, 同时发现存在于对多西他赛敏感的肿瘤中的 CD49f 阳性细胞群会在肿瘤获得耐药性的同时扩增, 而撤药后不但肿瘤恢复了对多西他赛的敏感性, 同时, CD49f 阳性细胞群还会减少, 这种药物敏感性的恢复被称为“药物假期”。该研究揭示了三阴性乳腺癌对紫杉类药物耐药与 CD49f 阳性细胞存在相关性, 并为三阴性乳腺癌对多西他赛获得性耐药存在“药物假期”效应提供了证据。

越来越多的证据表明, 肿瘤细胞外基质也可能造成肿瘤的耐药性产生。赖氨酰氧化酶 (lysyl oxidase, LOX) 家族蛋白可介导胶原蛋白和弹性蛋白前体中的赖氨酸残基转化为高活性醛, 触发细胞外基质蛋白的交联和稳定, 可调节细胞黏附、运动和侵袭<sup>[11]</sup>。Saatci 等<sup>[12]</sup> 利用体内化疗耐药异种移植模型、全基因组转录组法、3D 细胞培养系统、原发性乳腺癌的类器官和三阴性乳腺癌患者的 PDX 模型等多种方法来研究如何通过靶向 LOX 来克服三阴性乳腺癌化疗耐药性, 发现 LOX 是一个关键的化疗耐药诱导因子, 耐药机制是由 HIF-1 $\alpha$ /miR-142-3p/LOX/ITGA5/FN1 轴所驱动的, 靶

向 LOX 或其下游的 FAK/Src 信号通路, 或者使 miR-142-3p 过表达, 可以用来克服三阴性乳腺癌的化疗耐药, 为开发和试验 LOX 抑制剂来克服三阴性乳腺癌化疗耐药提供了有力的临床前基础。

哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 是细胞生长增殖的重要调节因子, mTOR 通路在三阴性乳腺癌患者肿瘤中经常在基因组、基因表达和蛋白水平被异常激活, 多项体外和体内临床前研究发现 mTOR 抑制剂可以抑制三阴性乳腺癌细胞系的生长, 也被积极应用于很多临床试验中。Zhang 等<sup>[15]</sup> 利用三阴性乳腺癌患者 PDX 模型测定西罗莫司和替西罗莫司 2 种 mTOR 抑制剂在三阴性乳腺癌中的临床前药物疗效, 发现 mTOR 抑制剂可显著抑制肿瘤生长, 抑制率为 77%~99%, 但是并不能完全消除肿瘤, 建议将 mTOR 抑制剂作为三阴性乳腺癌联合治疗的一部分与其他药物一起使用, 为 mTOR 抑制剂进行临床前和临床研究提供了指导。

### 二、PDX 模型在发现药物疗效的预测因子中的应用

发现药物疗效的预测因子可以帮助临床筛选药物治疗的获益人群, 亦可帮助患者在治疗过程中节约时间及金钱。Marangoni 等<sup>[16]</sup> 为确定对新辅助化疗后残余肿瘤的有效化疗药物及有效预测因子建立了 PDX 模型, 研究发现卡培他滨对 60% 来自于曾用蒽环类和紫杉类药物治疗过的三阴性乳腺癌 PDX 模型有效, 确定了卡培他滨是对蒽环类、紫杉类和铂类交叉耐药的三阴性乳腺癌 PDX 模型的有效化疗药物, 并利用转录组数据分析确定和验证了视网膜母细胞瘤蛋白 1 (retinoblastoma protein 1, RB1) 和胸苷磷酸化酶 (thymidylate phosphorylase, TYMP) 可以作为卡培他滨反应的预测生物标志物。

地西他滨是一种 DNA 甲基化转移酶 (DNA methyltransferase, DNMT) 抑制剂, 它在实体肿瘤中疗效不一, 肿瘤缓解率从生殖肿瘤的 6% 到乳腺癌的 50% 不等<sup>[17]</sup>, 因此发现 DNMT 抑制剂的敏感人群显得十分重要。Jia 等<sup>[18]</sup> 为发现地西他滨疗效预测因子构建了三阴性乳腺癌患者的 PDX 模型, 依据模型对地西他滨的治疗反应发现, DNMT 蛋白水平可以作为预测三阴性乳腺癌对 DNMT

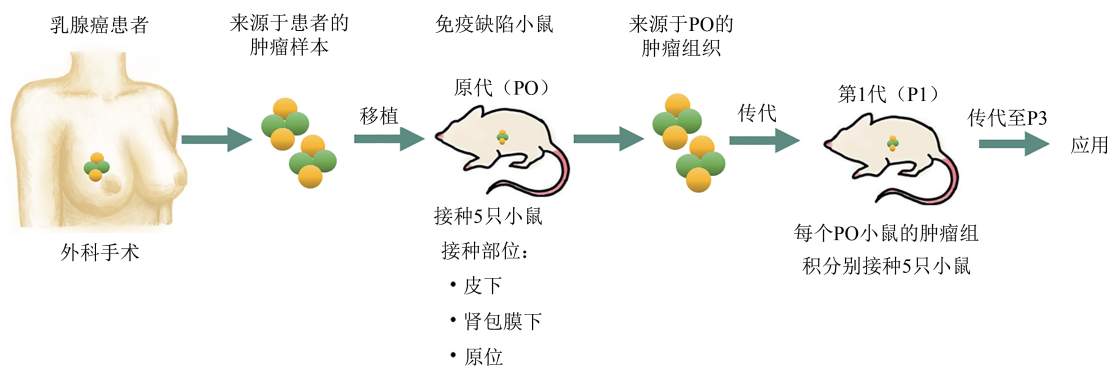


图 1 人源性异种移植 (PDX) 模型构建过程示意图



抑制剂敏感性的生物标志物,为临床药物决策提供了重要参考。

### 三、PDX 模型在指导靶向治疗和免疫药物的开发中的应用

MYC 基因是一种核内癌基因,其表达产物 MYC 是一种重要的、多效性的转录因子,可调控数百个基因的表达<sup>[19]</sup>。Dai 等<sup>[20]</sup>发现,相比于受体阳性乳腺癌,三阴性乳腺癌的 MYC 信号异常升高。Dai 等<sup>[21]</sup>发现, PIM1 激酶表达水平升高且与三阴性乳腺癌患者预后差相关, PIM1 激酶抑制剂可通过抑制 MYC 癌基因的转录活性和恢复内源性细胞周期抑制剂 p27 的功能,使 MYC 表达水平高的三阴性乳腺癌 PDX 模型及 MYC 驱动的转基因乳腺癌模型的肿瘤停止生长。该研究认为 PIM1 激酶是一种在三阴性乳腺癌中特异性上调的因子,对于 MYC 表达水平升高的肿瘤患者 PIM1 激酶是一种新的药物作用靶点,为三阴性乳腺癌患者靶向治疗提供了新思路。

表皮生长因子(epidermal growth factor receptor, EGFR)也是治疗三阴性乳腺癌的潜在治疗靶点,目前一些抗 EGFR 单克隆抗体和小分子酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine-kinase inhibitors, TKIs)已经在治疗三阴性乳腺癌的临床试验中进行了尝试,但这些分子的活性期短限制了它们的治疗效果,因此很有必要开发一种优化的 EGFR 靶向治疗药物。Liu 等<sup>[22]</sup>将 EGFR 抗体的单链抗体与人工合成的受体分子融合生成 EGFR 特异性嵌合抗原受体自然杀伤细胞(EGFR-specific Chimeric antigen receptor-engineered natural killer cells, EGFR-CAR-NK),发现 EGFR-CAR NK 细胞可有效抑制三阴性乳腺癌细胞系来源异种移植(cell line-derived xenograft, CDX)模型和 PDX 模型的 EGFR 水平,证实了 EGFR-CAR NK 细胞能够有效识别 EGFR 表达上调的三阴性乳腺癌细胞,为高 EGFR 表达的三阴性乳腺癌患者的治疗提供了新的免疫治疗策略。

组织因子(tissue factor, TF)是肿瘤细胞、肿瘤血管内皮细胞和肿瘤干细胞等常见但特异的表面靶受体,在乳腺癌患者和乳腺癌小鼠模型的乳腺癌细胞和肿瘤血管内皮细胞上均能检测到 TF 的表达,而在相邻的正常乳腺组织中不能检测到<sup>[23-24]</sup>。Hu 等<sup>[25]</sup>通过研究 161 例患者肿瘤组织、三阴性乳腺癌 CDX 模型和 PDX 模型,认为 TF 可作为三阴性乳腺癌的表面靶点,和 Bourcy 等<sup>[26]</sup>的研究结果相似,提示 TF 可能是治疗三阴性乳腺癌的一个有用的治疗靶点;该研究还发现,相比于他们研发的第一代以 TF 为靶点的免疫偶联药物 ICON,改进后的第二代免疫偶联药物 L-ICON1 对三阴性乳腺癌 PDX 模型的治疗效果和安全性更好。

### 四、PDX 模型在指导个体化药物筛查中的应用

PDX 模型已被证实可以再现在人体肿瘤中所观察到的药物敏感性反应,利用个体化的 PDX 模型进行药物筛查可以评估更多治疗方案的有效性,可针对性地为患者选择有效的治疗策略。在 Bousquet 等<sup>[27]</sup>报道 1 例三阴性乳腺癌患者术后按照标准化疗及放疗方案进行治疗,但治疗结

束时出现了局部复发和转移,并伴多发性膈下淋巴结转移。在取得患者知情同意及通过伦理机构审批同意的情况下,作者为患者进行了个体化的 PDX 模型构建,取患者膈下转移性淋巴结进行基因分析及异种移植,移植成功后,在模型上测试 8 种不同的化疗方案 1 个月,选取在模型上联合治疗效果最好的紫杉醇和西妥昔单抗给患者使用,经过 3 个月的联合化疗后,通过 PET 发现患者乳腺及转移淋巴结病变的代谢率明显降低。利用 PDX 模型进行个体化的药物筛查给予产生了耐药性的三阴性乳腺癌患者新的希望,也为三阴性乳腺癌的个体化精准治疗提供了新思路。

### 五、PDX 模型在研究三阴性乳腺癌预后中的应用

Moon 等<sup>[28]</sup>利用 PDX 模型研究与三阴性乳腺癌预后相关的基因及其功能。该研究提示肿瘤能成功构建 PDX 模型预示着该肿瘤更具侵袭性、无病生存时间更短,可以用三阴性乳腺癌肿瘤在小鼠乳腺脂肪垫中适应和存活情况作为肿瘤侵袭性的衡量指标。在移植成功后的肿瘤中, *P4HA2*、*TKT* 及 *PHLDA2* 基因表达均上调,利用细胞系进行体外功能测试,也发现这些上调的基因参与了乳腺癌细胞的存活和侵袭。目前 PDX 模型在三阴性乳腺癌预后方面的研究相对较少。

### 六、PDX 模型的局限和展望

虽然 PDX 模型在三阴性乳腺癌研发抗癌药物、研究耐药机制和指导临床决策方面的研究中应用越来越多,但是 PDX 模型也存在着一些缺陷。PDX 模型是利用免疫缺陷的小鼠作为移植宿主,抗肿瘤药物在小鼠和人体内的吸收、分布和药代动力学上存在差异,这有可能会使研究结果出现假阴性或假阳性<sup>[29]</sup>。此外,成功构建 PDX 模型难度较大。首先需要足够的新鲜肿瘤组织,若肿瘤较小或者储存不当则无法获得。另一方面, PDX 模型成瘤率低, PDX 模型的平均成功移植率约为 49%,乳腺癌仅有 30% (155 例)<sup>[30]</sup>。利用模型研究得出的结果缺乏时效性,模型成瘤时间和实验周期长,从模型构建到药物暴露平均时间为 16 周<sup>[28]</sup>,无法为术后立即实施的全身治疗提供治疗指导,对于耐药患者,如果其病情进展较快,则会因为不能及时得到实验结果而耽误治疗。此外,成瘤率低、周期长和实验室维护成本高等使得利用 PDX 模型进行个体化药物筛查的费用高昂,限制了其在实际临床中的应用。当然,这与患者对 PDX 模型的接受程度也有一定相关性,也有学者考虑在患者发病初期就开始建立相关的 PDX 模型,模拟预测耐药,可能为耐药的乳腺癌患者带来新的治疗希望。但也不可否认 PDX 模型正在迅速取代长期以来建立的传统细胞系,成为了许多基础和临床前研究的首选模型,在肿瘤耐药及药物筛查方面的应用尤为广泛。目前, PDX 模型尚存在一些不足,但相信随着免疫缺陷小鼠的研究不断的发展,会构建出能更加代表原代肿瘤在人体中的生物学特性的 PDX 模型,为三阴性乳腺癌的研究提供更有力的支持。

## 参 考 文 献

- International Agency for Research on Cancer. Global Cancer Observatory: Cancer Today [EB/OL]. [2021-01-11]. <https://gco.iarc.fr/today>.
- Sasaki Y, Tsuda H. Clinicopathological characteristics of triple-negative breast cancers [J]. Breast Cancer, 2009, 16(4): 254-259.
- Rhee J, Han SW, Oh DY, et al. The clinicopathologic characteristics and prognostic significance of triple-negativity in node-negative breast cancer [J]. BMC Cancer, 2008, 8(1): 307.
- Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, et al. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence [J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(15): 4429-4434.
- Romond EH, Perez EA, Bryant J, et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer [J]. N Engl J Med, 2009, 353(16): 1673-1684.
- Peto R, Davies C, Godwin J, et al. Comparisons between different polychemotherapy regimens for early breast cancer: meta-analyses of long-term outcome among 100000 women in 123 randomised trials [J]. The Lancet, 2012, 379(9814): 432-444.
- Zhang X, Claerhout S, Prat A, et al. A renewable tissue resource of phenotypically stable, biologically and ethnically diverse, patient-derived human breast cancer xenograft models [J]. Cancer Research, 2013, 73(15): 4885-4897.
- Manoir SD, Orsetti B, Rui BG, et al. Breast tumor PDXs are genetically plastic and correspond to a subset of aggressive cancers prone to relapse [J]. Mol Oncol, 2014, 8(2): 431-443.
- Ledford H. US cancer institute to overhaul tumour cell lines [J]. Nature, 2016, 530(7591): 391-391.
- Gómez-Miragaya J, Palafox M, Paré L, et al. Resistance to taxanes in triple-negative breast cancer associates with the dynamics of a CD49<sup>+</sup> tumor-initiating population [J]. Stem Cell Reports, 2017, 8(5): 1392-1407.
- Kagan HM, Li W. Lysyl oxidase: properties, specificity, and biological roles inside and outside of the cell [J]. J Cell Biochem, 2003, 88(4): 660.
- Saatci O, Kaymak A, Raza U, et al. Targeting lysyl oxidase (LOX) overcomes chemotherapy resistance in triple negative breast cancer [J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 2416.
- Marty B, Maire V, Gravier E, et al. Frequent PTEN genomic alterations and activated phosphatidylinositol 3-kinase pathway in basal-like breast cancer cells [J]. Breast Cancer Res, 2008, 10(6): R101.
- Zeng Q, Yang Z, Gao YJ, et al. Treating triple-negative breast cancer by a combination of rapamycin and cyclophosphamide: an in vivo bioluminescence imaging study [J]. Eur J Cancer, 2010, 46(6): 1132-1143.
- Zhang H, Cohen AL, Krishnakumar S, et al. Patient-derived xenografts of triple-negative breast cancer reproduce molecular features of patient tumors and respond to mTOR inhibition [J]. Breast Cancer Res, 2014, 16(2): R36.
- Marangoni E, Laurent C, Coussy F, et al. Capecitabine efficacy is correlated with TYMP and RB expression in PDX established from triple-negative breast cancers [J]. Clin Cancer Res, 2018, 24(11): 2605-2615.
- Cowan LA, Talwar S, Yang AS. Will DNA methylation inhibitors work in solid tumors? A review of the clinical experience with azacitidine and decitabine in solid tumors [J]. Epigenomics, 2010, 2(1): 71-86.
- Jia Y, Bo Q, Moyer AM, et al. DNA methyltransferase expression in triple-negative breast cancer predicts sensitivity to decitabine [J]. J Clin Invest, 2018, 128(6): 2376-2388.
- Dang C. MYC on the path to cancer [J]. Cell, 2012, 149(1): 22-35.
- Dai H, Kusdra L, Huskey NE, et al. MYC pathway activation in triple-negative breast cancer is synthetic lethal with CDK inhibition [J]. J Exp Med, 2012, 209(4): 679-696.
- Dai H, Camarda R, Zhou AY, et al. PIM1 kinase inhibition as a targeted therapy against triple-negative breast tumors with elevated MYC expression [J]. Nat Med, 2016, 22(11): 1321-1329.
- Liu Y, Zhou Y, Huang KH, et al. Targeting epidermal growth factor-overexpressing triple-negative breast cancer by natural killer cells expressing a specific chimeric antigen receptor [J]. Cell Prolif, 2020, 53(8): e12858.
- Contrino J, Hair G, Kreutzer DL, et al. In situ detection of tissue factor in vascular endothelial cells: correlation with the malignant phenotype of human breast disease [J]. Nat Med, 1996, 2(2): 209-215.
- Duanmu J, Cheng J, Xu J, et al. Effective treatment of chemoresistant breast cancer in vitro and in vivo by a factor VIII-targeted photodynamic therapy [J]. Br J Cancer, 2011, 104(9): 1401-1409.
- Hu Z, Shen R, Campbell A, et al. Targeting tissue factor for immunotherapy of triple-negative breast cancer using a second-generation ICON [J]. Cancer Immunol Res, 2018, 6(6): 671-684.
- Bourey M, Suarez-Carmona M, Lambert J, et al. Tissue factor induced by epithelial-mesenchymal transition triggers a pro-coagulant state that drives metastasis of circulating tumor cells [J]. Cancer Res, 2016, 76(14): 4270-4282.
- Bousquet G, Feugeas JP, Ferreira I, et al. Individual xenograft as a personalized therapeutic resort for women with metastatic triple-negative breast carcinoma [J]. Breast Cancer Res, 2014, 16(1): 401-403.
- Moon HG, Oh K, Lee J, et al. Prognostic and functional importance of the engraftment-associated genes in the patient-derived xenograft models of triple-negative breast cancers [J]. Breast Cancer Res Treat, 2015, 154(1): 13-22.
- Peterson JK, Houghton PJ. Integrating pharmacology and in vivo cancer models in preclinical and clinical drug development [J]. Eur J Cancer, 2004, 40(6): 837-844.
- Izumchenko E, Paz K, Ciznadija D, et al. Patient-derived xenografts effectively capture responses to oncology therapy in a heterogeneous cohort of patients with solid tumors [J]. Ann Oncol, 2017, 28(10): 2595-2605.

(收稿日期: 2021-04-03)

(本文编辑: 程铭)

郭俏丽, 胡慧. 人源性肿瘤异种移植模型在三阴性乳腺癌研究中的应用[J/OL]. 中华临床医师杂志(电子版), 2021, 15(10): 790-793.