

## 小鼠肿瘤肺转移模型及其应用进展

朱杨壮<sup>1</sup>, 邹纯朴<sup>1</sup>, 陈晓<sup>1</sup>, 朱诗国<sup>1</sup>, 韦璐瑶<sup>1</sup>, 王莉新<sup>1</sup>, 仲海荣<sup>1</sup>, 张飞<sup>2</sup>, 胥孜杭<sup>1\*</sup>

(1. 上海中医药大学基础医学院, 经方理论应用研究中心, 上海 201203;

2. 上海交通大学医学院附属新华医院, 上海 200092)

**[摘要]** 尽管肿瘤的早期诊断和治疗手段不断提高,转移依然是导致恶性肿瘤患者死亡的主要原因。肺由于独特的生理、病理特征,是恶性肿瘤最容易发生远端转移的器官。肿瘤肺转移具有难以预测性,并且可能导致无法逆转的损伤。目前尚未发现肿瘤转移的确切机制和针对其有效的靶向防治手段。中医药凭借独特的辨证论治理论体系,在肿瘤肺转移的防治方面已有显著进展,但其应用方法和具体作用机制等仍待深入的研究和探索。为此,需要更精准、更符合临床疾病发生发展规律的动物模型作为研究媒介,故建立模拟肿瘤患者肺转移的动物模型已成为肿瘤肺转移研究的关键。通过介绍尾静脉注射法、乳垫注射法、皮下注射法、骨髓注射法、组织块原位移植法和基因工程小鼠等常用的肺转移模型的构建方法、应用以及评价,以期能够为研究肺转移小鼠模型的选择提供参考,为肿瘤肺转移的早期诊断、预防治疗及其发病原因、内在分子机制探索等提供更好的研究平台。此外,小鼠肺转移模型的发展还需思维广度及深度的拓展,对现有的模型合理、灵活的叠加运用及多学科的交叉合作,以建立更符合临床实际的动物模型,获得更可靠的研究结果。

**[关键词]** 肿瘤肺转移; 小鼠肿瘤肺转移模型; 应用

**[中图分类号]** R22;R242;R2-031;R285.5;R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)14-0025-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20190627

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181207.1314.001.html>

**[网络出版时间]** 2018-12-08 16:10

### Research Progress and Application of Mouse Tumor Lung Metastasis Models

ZHU Yang-zhuang-zhuang<sup>1</sup>, ZOU Chun-pu<sup>1</sup>, CHEN Xiao<sup>1</sup>, ZHU Shi-guo<sup>1</sup>, WEI Lu-yao<sup>1</sup>,  
WANG Li-xin<sup>1</sup>, ZHONG Hai-rong<sup>1</sup>, ZHANG Fei<sup>2</sup>, XU Zi-hang<sup>1\*</sup>

(1. School of Basic Medical Science, Application and Research Center of Classical Prescription,  
Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China;

2. Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200092, China)

**[Abstract]** Early diagnoses and treatment methods are being constantly improved, but cancer metastasis remains a main cause of mortality in malignant tumor patients. Lung is thought to be the organ most prone to distal metastasis among malignant tumors due to its unique physiological and pathological character. Tumor lung metastasis is unpredictable and may result in irreversible damages. Presently, no exact mechanism or specific targeting therapies are found. Depending on the unique theory system-treatment based on symptom differentiation, traditional Chinese medicine has made significant progress on controlling tumor lung metastasis, but its application methods and mechanism still need further study and exploration. More appropriate and idealized animal models are required as a studying medium. Therefore, the establishment of animal models to simulate lung metastasis of cancer patients has become the key to the study of tumor lung metastasis. In order to produce a better platform for investigating the pathogenesis, underlying mechanism, early diagnosis and therapeutics for tumor lung metastasis,

**[收稿日期]** 20180624(004)

**[基金项目]** 上海市科学技术委员会科研项目(18YF1423500);经方理论应用研究中心项目(A1-Z183020110)

**[第一作者]** 朱杨壮壮,在读硕士,从事中药有效成分抗肿瘤的研究,E-mail:zyzz005@hotmail.com

**[通信作者]** \*胥孜杭,师资博士后,从事中药有效成分抗肿瘤的研究,E-mail:xuzihang19881021@126.com

and to provide reference for the selection and establishment of mouse lung metastasis model, this article would introduce the implementation, application and estimation of several common methods (tail vein injection, mammary fat pad orthotopic injection, tibia injection, tissue orthotopic implantation, transgenic mice and so on). Meanwhile, the development of mouse lung metastasis model still needs expanding of thoughts, rational and flexible utilization of existing models, and interdisciplinary cooperation to establish preferable animal models and make results more reliable.

[Key words] tumor lung metastasis; mouse tumor lung metastasis models; application

恶性肿瘤是危害人类生命健康的主要致死疾病之一,其死亡人数呈逐年上升趋势,至 2015 年已达 281.4 万人<sup>[1-2]</sup>。同时,有大量研究显示,在乳腺癌、卵巢癌、肝癌、骨癌、淋巴瘤等多数恶性肿瘤中,转移是造成患者死亡的首要原因<sup>[3-6]</sup>。肺部由于有着丰富的血管和淋巴管,是血液循环的关键环节,也是恶性肿瘤常见的转移器官。肿瘤肺转移的临床症状不明显,诊断困难,有学者在研究转移切除术后的肺组织时发现,有 36% 的肺转移瘤灶术前并未被检测到<sup>[7]</sup>。目前临床尚无可靠的肺转移防治方法。而中医药凭借独特的辨证论治理论体系,在控制恶性肿瘤转移方面已有所建树<sup>[8-10]</sup>,但其抗肿瘤转移的深入分子机制的探讨和研究,仍亟需加强。因此,建立理想的肿瘤肺转移动物模型,已成为肺转移的中西医防治、早期诊断以及病因病机等研究极为关键的步骤。其中,因小鼠是最常用的实验动物,其品系繁多,同品系小鼠对肿瘤移植的组织表现一致,且小鼠传代时间短,繁殖力强,被广泛应用于肿瘤研究领域<sup>[11]</sup>。目前研究中常用的小鼠肺转移模型种类繁多,但因其尚无明确的分类及应用标准,使现有的动物模型无法得到充分合理的运用,对研究结果的

可靠性产生影响。故通过介绍尾静脉注射法、乳垫注射法、皮下注射法、骨髓注射法、组织块原位移植法和基因工程小鼠等常用的肺转移模型的建立方法、评价以及应用,以期为实验中小鼠肺转移模型的选择提供参考,从而构建出更贴合临床实际的动物模型,为中西医抗肿瘤研究创造理想的实验平台。

### 1 小鼠肿瘤肺转移模型建立的主要方法

小鼠肺转移模型的建立方法目前主要分为 3 大类,一是直接向小鼠体内注射肿瘤细胞悬液,包括尾静脉注射转移模型、乳垫注射转移模型、皮下注射转移模型、骨髓注射转移模型等。二是向小鼠相应部位移植肿瘤组织碎块,包括组织块原位移植模型和患者来源的肿瘤移植模型(PDXs),见表 1。三是通过基因工程敲除某些抑癌基因,或者通过转基因技术将已知的癌基因插入,以建立与人类肿瘤相似的小鼠肿瘤模型。相关研究通过构建 LSL-K-ras<sup>G12D/+</sup> p53<sup>loxP/loxP</sup> 乳腺癌转基因小鼠并将其与 LSL-EYFP 小鼠杂交从而获得携带黄色荧光的 LSL-K-ras<sup>G12D/+</sup> p53<sup>loxP/loxP</sup> LSL-EYFP 小鼠,建立了可追踪潜在转移的自发转移性乳腺癌模型<sup>[30]</sup>。

表 1 小鼠肺转移模型建立方法

Table 1 Methods for establishing mouse lung metastasis model

造模方法	造模内容
尾静脉注射法 <sup>[12-18]</sup>	将肿瘤细胞悬液通过尾静脉直接注射到小鼠体内
乳垫注射法 <sup>[19-21]</sup>	将小鼠麻醉,切开右侧胸壁 1 cm,暴露第 2 对乳垫后向内注射肿瘤细胞悬液
骨髓注射法 <sup>[22-23]</sup>	①将小鼠麻醉后暴露胫骨结节;②用 1 mL 无菌胰岛素注射器从小鼠胫骨结节处穿刺进入骨髓腔内,抽吸少量髓液以降低骨髓腔压力;③用微量注射器缓慢注入细胞悬液,然后迅速用骨蜡封闭缺口以防悬液溢出;④用酒精棉球擦去胫骨外的肿瘤细胞以避免出现假阳性结果
皮下注射法 <sup>[24-26]</sup>	将肿瘤细胞悬液注射入小鼠背侧肩胛骨间皮下
组织块原位移植法 <sup>[27]</sup>	①肿瘤细胞悬液接种到小鼠皮下;②将长成的皮下肿瘤取出,剪成 3 mm × 3 mm × 3 mm 碎块;③将肿瘤组织碎块移植到相应的肿瘤原发部位
PDX 移植法 <sup>[28-29]</sup>	将 3 mm × 3 mm × 3 mm 的患者来源的肿瘤组织碎块移植到免疫缺陷小鼠皮下或体内肿瘤原发部位

此外,还有利用基因工程技术构建的小鼠肺转移模型,用以探索和验证某基因在转移过程中所发

挥的作用,以实现深度的机制研究。如 More 等<sup>[31]</sup>利用基因工程技术构建了 gal<sup>+/+</sup>, gal<sup>+/-</sup>, gal<sup>-/-</sup> 的

半乳糖凝集素-3 转基因小鼠,用以证明半乳糖凝集素-3 (poly-LacNAc) 的相互作用在肺转移发生中扮演的关键角色。

## 2 不同小鼠转移模型间的比较

在上述的几种小鼠转移模型的建模方法中,尾静脉注射法是目前建立肺转移模型最常用的方法之一。其建模效果稳定,转移效率高,且有研究表明,由原位肿瘤自然形成的转移瘤与尾静脉注射产生的转移肿瘤虽然在形态学上有所不同,但是二者产生的肺转移损伤有着相似的基因谱表达<sup>[32]</sup>。乳垫注射法、皮下注射法和骨髓注射法均为自发性肺转移模型,但骨髓注射法在转移效率上具有显著优势。Cutrera 等<sup>[33]</sup>在分别采用这注射方法 3 种建立小鼠肺转移模型时发现,注射相同数量的肿瘤细胞时,具有免疫活性的骨髓环境更有利于转移的发生。并且当注射的肿瘤细胞为携带荧光素酶 (Luc) 的细胞时,骨髓环境能够使其因携带 Luc 基因而丧失部分转移潜力的肿瘤细胞恢复转移能力。DU 等<sup>[34]</sup>分别将 Saos2-luc 和 Saos2 细胞以  $1 \times 10^7$  个/50  $\mu$ L 注射入 4 周龄 Balb/c 裸鼠的右腿胫骨髓腔内,4 周后均可观察到肺转移,且转移率无统计学差异,也验证了这一观点。除此之外,胥孜杭等<sup>[35]</sup>认为肿瘤生长到转移需经历多个步骤,骨髓注射法还原了肿瘤细胞

入侵血管之前的增殖、血管新生等环节,更为接近人类肿瘤转移的过程,对于肺转移发生机制的研究具有重要应用价值。

在肿瘤细胞转移效率方面,曾有学者指出,利用注射细胞悬液而构建肺转移模型转移率低的原因可能是经过酶解处理的细胞结构遭到了破坏,从而影响其生物学行为<sup>[36]</sup>。并且细胞悬液无法模拟亲代肿瘤细胞间恶性特性表达所必要的相互作用,故降低了其转移能力<sup>[37]</sup>。故产生了肿瘤组织碎块代替细胞悬液的建模方法。而作为组织块原位移植法改良模型的 PDXs 模型在提高转移效率的基础上,更是极大程度地保留了不同患者肿瘤样本的异质性,具体表现在还原不同患者在组织病理学特征、特定部位的转移潜力、治疗反应、耐药性等方面的特异性,并且能够增加肿瘤微环境对药物的应答敏感度,为预临床研究提供了重要的实验平台。例如有研究利用 PDXs 模型的异质性来鉴别卵巢癌的化疗耐药人群<sup>[38]</sup>。

相比以上几种模型,基因工程小鼠模型的建模效果最具理想化,其对于人类肿瘤的模拟具有高度的真实性、稳定性以及还原性,可用于肺转移研究的各个层次,具有广阔的运用前景。但基于表 2 中列举的几点现实原因,该模型仍具有很大的提升空间,见表 2。

表 2 不同小鼠肺转移模型之间的比较

Table 2 Comparison between different mouse metastasis models

接种方法	优势	局限性
尾静脉注射法	成瘤率高,转移迅速	①缺乏原位肿瘤和转移瘤之间交叉作用;②小鼠存活时间短,不利于有时间需求的机制研究的进行
皮下注射法	操作简单便捷,有利于肺转移过程的机制研究	①转移时间长;②原位瘤生长过快,常在发生转移前因其破裂而致死
乳垫注射法	是研究乳腺癌肺转移的理想模型,肺转移发生率高,60 d 内可达 100% <sup>[39]</sup>	操作困难,实验周期长
骨髓注射法	少量肿瘤细胞即可转移 <sup>[33]</sup> ,转移效率高 <sup>[40]</sup>	操作具有一定难度
组织块原位移植法	成瘤率高,转移迅速	种植部位受原位肿瘤部位的限制,为实际操作增加了难度和感染的风险
PDX 移植法	成瘤率高,转移迅速,且能够保留不同患者来源的肿瘤的特异性	①异种移植可能产生免疫排斥;②造模过程中为增加接种成功率而加入的人工基质胶 (matrigel) 可能会与患者肿瘤后期细胞外基质 (ECM) 结构的缺失产生冲突,从而影响相关实验结果 <sup>[41]</sup>
基因工程法	对人类肿瘤肺转移还原度高	操作困难、经济成本过高、实验周期长,往往需要耗时数年

## 3 小鼠肺转移模型的应用

### 3.1 小鼠肺转移模型在新药研究中的应用

尾静脉注射法、皮下注射法、乳垫注射法和骨髓注射法建立的肺转移模型可广泛应用于抗转移药物的研发中。如 REN 等<sup>[42]</sup>在研究间质干细胞产生的干扰素

(IFN)- $\alpha$  对黑色素瘤肺转移的治疗作用时发现,IFN- $\alpha$  能够减少 B16F10 黑色素瘤细胞的增殖并且能够显著延长存活时间。Sitti 等<sup>[43]</sup>对模型小鼠每周注射树突细胞并每日给予生育三烯酚,持续 3 周,在小鼠出现濒死迹象时处死并解剖肺部,观察到

生育三烯酚协同树突细胞对原位瘤的增殖有明显抑制作用,并且给药组肺部转移瘤灶数量明显减少。

肺转移模型对于中药抗转移单体药物的开发同样具有重要的意义。如 Choi 等<sup>[44]</sup>每日分别给予治疗组模型小鼠不同浓度的印尼莪术提取物束骨姜黄,两周后解剖小鼠肺部发现,治疗组转移结节的数量显著减少,证明了束骨姜黄的抗转移潜力。PEI 等<sup>[45]</sup>在造模后第 5 天给予实验组模型小鼠日常注射大车前苷溶液,21 d 后发现实验组原位肿瘤体积、质量以及肺转移瘤灶数量明显减少,证实了大车前苷对乳腺癌肿瘤生长和肺转移的抑制作用。HUANG 等<sup>[46]</sup>发现地胆草提取物——脱氧苦地胆素 (DET)对模型小鼠的预治疗能够显著抑制肿瘤的生长和 TS/A 细胞的肺转移以及延长小鼠中位生存期,且疗效明显优于紫杉醇,证明了 DET 可成为一种潜在的针对乳腺癌的化学预防单体药物。陈斌等<sup>[47]</sup>发现裸花紫珠乙酸乙酯提取物可显著抑制 p-Snail 的活性及其靶蛋白 E-cadherin 的表达,从而抑制乳腺癌肺转移。

表 3 小鼠肺转移模型应用

Table 3 Application of mouse lung metastasis model

造模方法	肿瘤类型	细胞	小鼠品系	细胞数量/个	应用药物
尾静脉注射法	黑色素瘤	B16F10	C57BL/6	$5 \times 10^4$	IFN- $\alpha$ <sup>[42]</sup>
	大肠癌	CT26	Balb/c	$1 \times 10^6$	束骨姜黄 <sup>[44]</sup>
	乳腺癌	MBA-MA-231	裸鼠	$2 \times 10^6$	裸花紫珠 <sup>[47]</sup>
皮下注射法	前胃癌	MFC	615	$5 \times 10^5$	健脾补肾联合氟脲嘧啶 <sup>[50]</sup>
	乳腺癌	4T1	Balb/c	$1.5 \times 10^6$	大车前苷 <sup>[45]</sup>
乳垫注射法	乳腺癌	4T1	Balb/c	$1 \times 10^4$	生育三烯酚 <sup>[43]</sup>
	乳腺癌	4T1-luc	Balb/c	$2 \times 10^4$	乳癌术后方 <sup>[48]</sup>
	乳腺癌	TS/A	Balb/c	$1 \times 10^6$	脱氧苦地胆素 <sup>[46]</sup>
骨髓注射法	骨肉瘤	UMR106-01	Balb/c	$5 \times 10^5$	芪癭胶囊和甲氨喋呤 <sup>[49]</sup>
PDX 移植法	胃神经内分泌癌	患者来源组织	Balb/c 裸鼠	$3 \times 3 \times 3 \text{ mm}^3$	顺铂 <sup>[51]</sup>

除此之外,PDXs 模型作为组织原位移植模型的改良版本,在药物预临床研究中发挥着重要作用。JIANG 等<sup>[51]</sup>将顺铂作用于 PDXs 小鼠模型后,观察到小鼠原位肿瘤生长受到抑制,肺部转移瘤灶数量减少,转移损伤减小或消失,小鼠存活时间明显延长,并且不同表型的循环肿瘤细胞 (CTC) 对顺铂敏感性有显著差异,为顺铂临床耐药性机制提供了思路。

### 3.2 肺转移模型在肺转移机制研究中的应用 小鼠肺转移模型除了在新药研发上体现出重要的应用

肺转移模型在证实中医药具有良好的抗转移疗效的同时,还揭示了中医药抗转移的分子作用机制。廖明娟等<sup>[48]</sup>用扶正祛邪的“乳癌术后方”及其拆方对模型小鼠连续灌胃 30 d,结果显示乳癌术后方及各拆方均能通过上调 CD4<sup>+</sup>,下调 Foxp3, TGF- $\beta_1$  的表达来抑制荷瘤小鼠肿瘤生长和肺转移。

在中西医结合治疗药物的研究中,肺转移模型更发挥着难以替代的作用。叶友友<sup>[49]</sup>用芪癭胶囊和甲氨喋呤对原位移植骨肉瘤肺转移模型小鼠给药后发现,芪癭胶囊和甲氨喋呤能够通过抑制 MMP-9 的表达和提高 TIMP-1 的表达来抑制裸鼠原位移植骨肉瘤肺转移,并且二者联合用药对于抑制疗效具有增强作用。ZHU 等<sup>[50]</sup>分别给予模型组小鼠健脾补肾中药、氟脲嘧啶单独及联合治疗连续 7 d,发现健脾补肾法和氟脲嘧啶联合治疗对模型小鼠前胃癌肺转移的抑制作用显著增强。小鼠肺转移模型在此的应用为临床中西结合药物治疗提供了有力的实验室依据。关于小鼠肺转移模型的研究应用见表 3。

价值,其对肿瘤肺转移机制的研究也具有重要意义。如 Zaynagetdinov 等<sup>[52]</sup>发现白细胞介素-5 (IL-5) 能够通过募集嗜酸性粒细胞,并调节肺部微环境中的其他炎性/免疫细胞微环境来促进肺转移的发生。Terlizzi 等<sup>[53]</sup>在研究阿霉素的抗肿瘤作用时发现,阿霉素诱导的肺转移抑制与浆细胞样树突状细胞 (pDC) 的大量募集有关。

基因工程小鼠和肺转移模型的结合更为肺转移发生机制的研究提供了理想的平台。Fischer 等<sup>[54]</sup>在转基因小鼠的基础上建立自发性肺转移模型后

发现,细胞的上皮-间质转化(EMT)并不影响肺转移的发生,但其在肿瘤化学抗性的产生中扮演着重要角色。Husmann 等<sup>[55]</sup>利用携带不同表达程度的 MMP-1 质粒的骨肉瘤细胞建立小鼠模型,观察到不同程度的肺转移,证明了 MMP-1 在促进骨肉瘤在肺转移的发生中发挥的重要作用。

#### 4 结语与展望

小鼠肿瘤肺转移模型是进行肿瘤研究的重要手段和平台,根据各模型的特点以及肿瘤自身特点和实际需要选择适当动物模型,对于研究结果的可靠性具有重要意义。同时,小鼠肿瘤肺转移模型的完善和发展仍需要多角度的思维拓展。例如有关肿瘤增殖和转移方面的研究,能够为现有转移模型的改进提供思路。如 Croker 等<sup>[56]</sup>发现乙醛脱氢酶(ALDH)高表达的细胞株比 ALDH 低表达的细胞株具有更强的肿瘤形成和转移能力,为利用基因工程构建更高效的转移模型提供了依据。DeRose 等<sup>[57]</sup>将人骨髓来源的间充质干细胞(MSCs)和患者来源的肿瘤组织联合移植入小鼠体内,发现 MSCs 能通过募集小鼠内皮细胞来促进血管增殖,从而在一定程度上促进移植瘤的生长、增殖和转移。还有研究表明影响肿瘤细胞增殖和转移能力的肿瘤细胞的异质性与其“干性(stemness)”密切相关<sup>[58]</sup>。故提高肿瘤细胞的“干性”有利于解决移植瘤或移植细胞转移潜力下降的缺陷。多方面交叉学科的合作能够扩大动物模型发展的宽度。例如肖毅等<sup>[59]</sup>利用基因工程技术建立了稳定表达 hTERT 基因和报告基因(Luc)的小鼠肿瘤细胞株,为建立探索 hTERT 基因在恶性肿瘤发生、发展中的作用机制和研究以 hTERT 基因为靶点的抗肿瘤治疗的动物模型提供了理想的细胞株。而在影像学技术方面,目前用于小动物活体成像的双光子显微镜<sup>[60]</sup>,其灵敏度高,对活细胞损伤小,可广泛应用于检测肿瘤的形成和转移、靶基因监测、小动物脊髓成像等方面,为动物模型的检测提供了更好的技术平台。

除此之外,现有的动物模型也需要更为灵活的叠加运用。如 ZHAO 等<sup>[61]</sup>将患者来源的肿瘤组织精密切片,移植到 MET 基因活动性突变的 RAG2<sup>-/-</sup>γC<sup>-/-</sup>小鼠肾囊中,构建了具有高度成瘤和肺转移能力的新型 PDXs 肾脏乳头状细胞癌(pRCC)模型,以探究酪氨酸激酶抑制剂卡博替尼对肿瘤发展和转移的影响,为 MET 突变产生的 pRCC 的发展与靶向治疗提供了可靠的预临床模型。跨学科合作、对新模型的不断探索、对现有模型

的灵活运用才能为科研创造更优越、更贴合临床的模型,在动物模型上取得更大突破。研究者应当根据各模型的特点以及肿瘤自身特点和实际需要选择适当动物模型,这对于研究结果的可靠性亦具有重大意义。

#### [参考文献]

- [1] 陈万青,郑荣寿,张思维,等. 2013 年中国恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中国肿瘤,2017,26(1):1-7.
- [2] CHEN W, ZHENG R, Baade P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2):115-132.
- [3] Scully O J, Bay B H, Yip G, et al. Breast cancer metastasis [J]. Cancer Genomics Proteomics, 2012, 9(5):311-320.
- [4] Yeung T, Leung C S, Yip K, et al. Cellular and molecular processes in ovarian cancer metastasis. A review in the theme: cell and molecular processes in cancer metastasis [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2015, 309(7):C444-C456.
- [5] Sonnenschein C, Soto A M. Cancer metastases; so close and so far[J]. J Natl Cancer Inst, 2015, 107(11):236.
- [6] Thomas N S, Leanne C H. On the origin of cancer metastasis[J]. Crit Rev Oncog, 2013, 18(1/2):43-73.
- [7] Althagafi K T, Alashgar O A, Almaghrabi H S, et al. Missed pulmonary metastasis [J]. Asian Cardiovasc Thorac Ann, 2013, 22(2):183-186.
- [8] 李佳桓,杜钢军,刘伟杰,等. 牵牛子酒提取物对 Lewis 肺癌的抗肿瘤和抗转移机制研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(5):879-884.
- [9] 吕红,邹乐兰,麻俊超,等. 三白草提取物抗乳腺癌转移作用及其机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(7):123-127.
- [10] 郭炜,董文亮,李坤星. 桑黄云芝胶囊对 Lewis 肺癌自发肺转移模型小鼠的抑瘤作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(4):128-130.
- [11] 张永江,陈洪岩,夏长友. 实验研究中实验动物的选择及其相关干扰因素[J]. 中国实验动物学杂志, 2002, 12(5):63-66.
- [12] WU G, Kim D, Kwon Park B, et al. Anti-metastatic effect of the TM4SF5-specific peptide vaccine and humanized monoclonal antibody on colon cancer in a mouse lung metastasis model [J]. Oncotarget, 2016, 7(48):79170-78186.
- [13] Linda C, Whitney B, Halina M O, et al. NF-kappaB activation within macrophages leads to an anti-tumor phenotype in a mammary tumor lung metastasis model [J]. Breast Cancer Res, 2011, 13(4):R83.

- [14] WANG L, LIANG W, PENG N, et al. The synergistic antitumor effect of arsenic trioxide combined with cytotoxic T cells in pulmonary metastasis model of colon cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(65):109609-109618.
- [15] YANG R, Mondal G, Ness R A, et al. Polymer conjugate of a microtubule destabilizer inhibits lung metastatic melanoma[J]. *J Control Release*, 2017, 249: 32-41.
- [16] Wieckowski S, Hemmerle T, Prince S S, et al. Therapeutic efficacy of the F8-IL2 immunocytokine in a metastatic mouse model of lung adenocarcinoma[J]. *Lung Cancer*, 2015, 88(1):9-15.
- [17] WANG L, HU X, XU Y, et al. Arsenic trioxide inhibits lung metastasis of mouse colon cancer via reducing the infiltration of regulatory T cells[J]. *Tumor Biol*, 2016, 37(11):15165-15173.
- [18] Tsai C H, CHENG H C, WANG Y S, et al. Small GTPase Rab37 targets tissue inhibitor of metalloproteinase 1 for exocytosis and thus suppresses tumour metastasis [J]. *Nat Commun*, 2014, doi: 10.1038/ncomms5804.
- [19] Lee E, Pandey N B, Popel A S. Pre-treatment of mice with tumor-conditioned media accelerates metastasis to lymph nodes and lungs: a new spontaneous breast cancer metastasis model[J]. *Clin Exp Mstastas*, 2014, 31(1):67-79.
- [20] 刘晓, 范萍, 王水, 等. 小鼠人乳腺癌自发性肺转移模型的建立[J]. *中华实验外科杂志*, 2003, 20(7): 86-87.
- [21] Kocatürk B, Versteeg H H. Orthotopic injection of breast cancer cells into the mammary fat pad of mice to study tumor growth [J]. *J Vis Exp*, 2015, (96):e51967.
- [22] Lee H, YU H, Papadopoulos J N, et al. Targeted antivascular therapy with the apolipoprotein(a) kringle V, rhLK8, inhibits the growth and metastasis of human prostate cancer in an orthotopic nude mouse model[J]. *Neo Plasia*, 2012, 14(4):335-343.
- [23] Sasaki H, Iyer S V, Sasaki K, et al. An improved intrafemoral injection with minimized leakage as an orthotopic mouse model of osteosarcoma [J]. *Anal Biochem*, 2015, 486:70-74.
- [24] Katoh M, Neymaier M, Nezam R, et al. Correlation of circulating tumor cells with tumor size and metastatic load in a spontaneous lung metastasis model [J]. *Anticancer Res*, 2004, 24(3a):1421-1425.
- [25] ZOU M, JIAO J, ZOU Q, et al. Multiple metastases in a novel LNCaP model of human prostate cancer [J]. *Oncol Rep*, 2013, 30(2):615-622.
- [26] Lobos-Gonzalez L, Aguilar-Guzmán L, Fernandez J G, et al. Caveolin-1 is a risk factor for postsurgery metastasis in preclinical melanoma models [J]. *Melanoma Res*, 2014, 24(2):108-119.
- [27] 杨宁, 范清宇, 殷剑宁, 等. 完整瘤组织块原位移植法建立人成骨肉瘤转移模型[J]. *癌症*, 2000, 19(10): 843-846.
- [28] Giuliano M, Herrera S, Christiny P, et al. Circulating and disseminated tumor cells from breast cancer patient-derived xenograft-bearing mice as a novel model to study metastasis [J]. *Breast Cancer Res*, 2015, doi: 10.1186/s13058-014-0508-5.
- [29] 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 Res*, 2013, 73(15): 4885-4897.
- [30] Melanie R R, Michael J A, Nikolaos S, et al. Initiation of metastatic breast carcinoma by targeting of the ductal epithelium with adenovirus-cre: a novel transgenic mouse model of breast cancer [J]. *J Vis Exp*, 2014, 85: e51171.
- [31] More S K, Srinivasan N, Budnar S, et al. N-glycans and metastasis in galectin-3 transgenic mice [J]. *Biochem Bioph Res Co*, 2015, 460(2):302-307.
- [32] Rashid O M, Nagahashi M, Ramachandran S, et al. Is tail vein injection a relevant breast cancer lung metastasis model? [J] *J Thorac Dis*, 2013, 5(4): 385-392.
- [33] Cutrera J, Johnson B, Ellis L, et al. Intraosseous inoculation of tumor cells cbone marrow promotes distant metastatic tumor development: a novel tool for mechanistic and therapeutic studies [J]. *Cancer Lett*, 2013, 329(1):68-73.
- [34] DU L, XU W T, FAN Q R, et al. Tumorigenesis and spontaneous metastasis by luciferase-labeled human xenogra osteosarcoma cells in nude mice [J]. *Chin Med J*, 2012, 125(22):4022-4030.
- [35] 胥孜杭, 胡洁淼, 陈晓, 等. 小鼠肺癌模型研究进展 [J]. *中国医药导报*, 2016, 13(9):63-67.
- [36] FU X, Guadagni F, Hoffman R M. A metastatic nude-mouse model of human pancreatic cancer constructed orthotopically with histologically intact patient specimens [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89(12): 5645-5649.
- [37] du Manoir S, Orsetti B, Bras-Gonçalves R, 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.

- [38] Zachary C D, Ashwini A K, Adam D S, et al. Using heterogeneity of the patient-derived xenograft model to identify the chemoresistant population in ovarian cancer [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(18): 8750-8764.
- [39] Paschall A V, LIU K. An orthotopic mouse model of spontaneous breast cancer metastasis [J]. *J Vis Exp*, 2016, doi: 10.3791/54040.
- [40] ZHANG L, YE Y, YANG D, et al. Survivin and vascular endothelial growth factor are associated with spontaneous pulmonary metastasis of osteosarcoma: Development of an orthotopic mouse model [J]. *Oncol Lett*, 2014, 8(6): 2577-2580.
- [41] Cassidy J W, Caldas C, Bruna A. Maintaining tumor heterogeneity in patient-derived tumor xenografts [J]. *Cancer Res*, 2015, 75(15): 2963-2968.
- [42] REN C, Kumar S, Chanda D, et al. Therapeutic potential of mesenchymal stem cells producing interferon- $\alpha$  in a mouse melanoma lung metastasis model [J]. *Stem Cells*, 2008, 26(9): 2332-2338.
- [43] Sitti R A H, Srikumar C, Kalanithi N, et al. Tocotrienol-adjuvanted dendritic cells inhibit tumor growth and metastasis: a murine model of breast cancer [J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e74753.
- [44] Choi M, Kim S H, Chung W, et al. A natural sesquiterpenoid from *Curcuma xanthorrhiza*, has an anti-metastatic potential in experimental mouse lung metastasis model [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 326(1): 210-217.
- [45] PEI S, YANG X, WANG H, et al. Plantamajoside, a potential anti-tumor herbal medicine inhibits breast cancer growth and pulmonary metastasis by decreasing the activity of matrix metalloproteinase-9 and -2 [J]. *BMC Cancer*, 2015, doi: 10.1186/s12885-015-1960-z.
- [46] HUANG C C, LO C P, CHIU C Y, et al. Deoxyelephantopin, a novel multifunctional agent, suppresses mammary tumour growth and lung metastasis and doubles survival time in mice [J]. *Br J Pharmacol*, 2010, 159(4): 856-871.
- [47] 陈斌, 罗跃华, 王珊, 等. 裸花紫珠提取物的抗乳腺癌转移作用及其机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(18): 94-98.
- [48] 廖明娟, 王永灵, 李琰, 等. 乳腺癌术后方及其拆方对乳腺癌肺转移模型小鼠 Foxp3、TGF- $\beta_1$ 、CD4<sup>+</sup> 的影响 [J]. *上海中医药杂志*, 2015, 49(7): 77-81.
- [49] 叶友友. 芪莢胶囊对裸鼠原位移植骨肉瘤肺转移的作用及机制探讨 [D]. 福州: 福建中医药大学, 2014.
- [50] ZHU X, ZHOU Y, XU Q, et al. Traditional Chinese medicine Jianpi Bushen therapy suppresses the onset of pre-metastatic niche in a murine model of spontaneous lung metastasis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 86: 434-440.
- [51] JIANG J H, Daisy W, Mengmeng Y, et al. Comprehensive characterization of chemotherapeutic efficacy on metastases in the established gastric neuroendocrine cancer patient derived xenograft model [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(17): 15639-15651.
- [52] Zaynagetdinov R, Sherrill T P, Gleaves L A, et al. Interleukin-5 facilitates lung metastasis by modulating the immune microenvironment [J]. *Cancer Res*, 2015, 75(8): 1624-1634.
- [53] Terlizzi M, Popolo A, Pinto A, et al. Plasmacytoid dendritic cells contribute to doxorubicin-induced tumor arrest in a mouse model of pulmonary metastasis [J]. *J Immunother*, 2014, 37(4): 214-224.
- [54] Fischer K R, Durrans A, Lee S, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition is not required for lung metastasis but contributes to chemoresistance [J]. *Nature*, 2015, 527(7579): 472-476.
- [55] Husmann K, Arlt M J E, Muff R, et al. Matrix Metalloproteinase 1 promotes tumor formation and lung metastasis in an intratibial injection osteosarcoma mouse model [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1832(2): 347-354.
- [56] Croker A K, Goodale D, Chu J, et al. High aldehyde dehydrogenase and expression of cancer stem cell markers selects for breast cancer cells with enhanced malignant and metastatic ability [J]. *J Cell Mol Med*. 2009, 13(8b): 2236-2252.
- [57] DeRose Y S, WANG G, LIN Y, et al. Tumor grafts derived from women with breast cancer authentically reflect tumor pathology, growth, metastasis and disease outcomes [J]. *Nat Med*, 2011, 17(11): 1514-1520.
- [58] Antonija K, John E D. Evolution of the cancer stem cell model [J]. *Cell Stem Cell*, 2014, 14(3): 275-291.
- [59] 肖毅, 高江平, 高昆, 等. 稳定表达 hTERT/Luc 的小鼠黑色素瘤肺转移模型的建立 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2013, 29(1): 89-92.
- [60] 张文豪, 李建军, 杨德刚, 等. 双光子显微镜在小动物活体光学成像中的研究进展 [J]. *中国康复理论与实践*, 2017, 23(1): 37-41.
- [61] ZHAO H, Nolley R, Chan A M W, et al. Cabozantinib inhibits tumor growth and metastasis of a patient-derived xenograft model of papillary renal cell carcinoma with MET mutation [J]. *Cancer Biol Ther*, 2017, 18(11): 863-871.

[责任编辑 张丰丰]