

脑胶质瘤实验动物模型及研究进展

毛羽飞^{1,2,3}, 王岩^{1,2,3}, 任中玉^{1,2,3}, 周秀萍^{1,2*}

(1. 徐州医科大学神经系统疾病研究所, 江苏 徐州 221002;

2. 徐州医科大学附属医院神经外科, 江苏 徐州 221002;

3. 徐州医科大学研究生院, 江苏 徐州 221004)

摘要:恶性脑胶质瘤是最常见的原发性中枢神经系统恶性肿瘤,对其发病机制及治疗方法的研究离不开可靠的、能够模拟人脑胶质瘤发生发展过程的动物模型。本文就脑胶质瘤动物模型的发展、目前使用最广泛的脑胶质瘤移植瘤动物模型的建立方法以及脑胶质瘤动物模型检测方面的进展进行综述,为研究脑胶质瘤的科研工作者选择动物模型提供参考,推动脑胶质瘤的研究进程。

关键词:脑胶质瘤;移植瘤;基因工程小鼠;实验动物模型

中图分类号:R-332 文献标志码:A 文章编号:2096-3882(2022)08-0618-07

DOI:10.3969/j.issn.2096-3882.2022.08.013

Research progress on experimental animal models for gliomas

MAO Yufei^{1,2,3}, WANG Yan^{1,2,3}, REN Zhongyu^{1,2,3}, ZHOU Xiuping^{1,2*}

(1. Institute of Nervous System Diseases, Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221002, China;

2. Department of Neurosurgery, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221002;

3. Graduate School, Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221004)

Abstract: Glioma is the most common primary malignant tumor of the central nervous system. Research on its pathogenesis and treatment is inseparable from experimental animal models that can simulate the pathogenesis of human gliomas. This paper reviews the development of glioma animal models, the methods for establishing the most widely used glioma transplantation animal models, and the progression on the detection methods of glioma animal models. These findings will provide good reference for suitable selection of glioma animal models and stimulate further studies on gliomas.

Key words: glioma; transplanted tumor; genetically engineered mice; experimental animal model

脑胶质瘤来源于神经上皮组织,是最常见的原发性中枢神经系统恶性肿瘤,占原发性中枢神经系统恶性肿瘤的80%~90%^[1]。为了更好地揭示脑胶质瘤的发生发展机制及生物学特性,评价治疗方法的效果,完善治疗方案,我们需要建立可靠的、重复性好的动物模型。

Barth等^[2]认为,设计良好的脑胶质瘤动物模型应遵循以下原则:①肿瘤须起源于脑胶质细胞;②肿瘤细胞能在体外或体内正常生长和增殖;③肿瘤生长状况可评估;④模型肿瘤应具有与人脑胶质瘤相似的生物学特征,如浸润性生长、异常血管生成、血-脑屏障通透性的改变等;⑤荷瘤鼠生存期应尽可能长,以用于检验和治疗;⑥肿瘤细胞对同源宿主的

免疫排斥低;⑦肿瘤细胞无皮下或硬膜外腔转移;⑧模型对治疗手段的反应可模拟临床工作中人脑胶质瘤的治疗过程。简而言之,模型应与人脑胶质瘤具有较高的相似度。

多年以来,一代代科学家进行了不懈的研究,建立了多种脑胶质瘤动物模型,虽然现有的脑胶质瘤动物模型还不能十分完美地模拟人脑胶质瘤的全部生物学特性,但其不断发展成熟,肿瘤供体细胞从小鼠、大鼠以及人源永生细胞到原代人源脑胶质瘤细胞与组织,肿瘤受体动物从斑马鱼、小鼠、大鼠、犬猪类到非人类灵长类,为脑胶质瘤的研究提供了有力的工具。本文就目前常见的几种脑胶质瘤实验动物模型进行综述,以期对脑胶质瘤的研究提供参考,

基金项目:国家自然科学基金(82072770);江苏省自然科学基金(BK20201458)

*通信作者, E-mail: xpzhou@xzhmu.edu.cn

推动脑胶质瘤的研究进程。

1 几种常用的脑胶质瘤实验动物模型

1.1 移植瘤模型 脑胶质瘤移植瘤模型是指将脑胶质瘤细胞或组织定植到受体动物的体内,其生长出的肿瘤组织具有某些与人脑胶质瘤相似的生物学特征,用于研究脑胶质瘤的分子机制与治疗手段,是目前使用最多的一种脑胶质瘤动物模型。

1.1.1 肿瘤细胞选择 根据肿瘤供体和受体动物的种属,移植瘤模型可分为同种移植瘤模型和异种移植瘤模型。同种移植瘤模型常用的细胞系包括大鼠脑胶质瘤细胞系 C6、9L 和小鼠脑胶质瘤细胞系 GL261、G422 等,异种移植瘤模型常用的细胞系包括人脑胶质瘤细胞系 U87、U251、LN229、T98G、U373 等。近年来,为了更好地模拟人脑胶质瘤的特性,异种移植瘤模型常用原代人源脑胶质瘤细胞、脑胶质瘤干细胞(glioma stem cell, GSC)和脑胶质瘤组织。

1.1.1.1 建立同种移植瘤模型常用的细胞系 大鼠 C6 脑胶质瘤细胞系是 Benda 等^[3]采用 N₂-亚硝基甲脲诱导 Wistar 大鼠产生脑胶质瘤而获得的,其成瘤率高、周期短,模拟恶性度在 WHO 3 级以上,生物学特性也与人脑胶质瘤相似^[4]。但是 Badie 等^[5]发现 C6 脑胶质瘤及其瘤周区域有较多的小胶质细胞和淋巴细胞浸润,免疫原性较强,进而产生强烈的免疫排斥,使肿瘤自然消退。因此,在分析此种模型的实验结果时要考虑到以上可能性。

GL261 细胞是小鼠脑胶质瘤细胞系中应用较广的一种,由向 C57BL/6 小鼠颅内注射 3-甲基胆蒽诱导并经连续传代后获得。朱侗明等^[6]报道该肿瘤细胞生长较 C6 细胞系模型快,且所需细胞量少,肿瘤组织无明显瘤-脑界面,呈侵袭性生长,无自然消退。Szatmári 等^[7]亦发现 GL261 细胞在 C57BL/6 小鼠颅内表现出较高的侵袭性,并提出 GL261 细胞携带 *k-Ras* 和 *p 53* 基因的点突变。

1.1.1.2 建立异种移植瘤模型常用的细胞 U87 和 U251 都是较常用的人脑胶质瘤细胞系。Bu 等^[8]将 U87 细胞注射于裸鼠额叶白质内,发现肿瘤生长稳定,符合人脑胶质瘤的组织病理学特征。王艳华等^[9]在 18 只雄性裸鼠的右侧尾状核区接种 U87 细胞,发现所形成的肿瘤组织具有分化差、微血管丰富、生长快等特点。脑胶质瘤异种移植模型具备人脑胶质瘤的组织学及生物学特性,但经过筛选和人工培养的肿瘤细胞缺乏人脑肿瘤的异质性特

点^[10]。

人源性肿瘤异体种植模型(patient-derived tumor xenograft, PDX)是指直接在皮下移植人脑胶质瘤活检组织或原位移植由活检组织短期培养得到的肿瘤球。该模型在体外培养中的暴露较少,这避免了对非生理条件的适应,并保留了起源肿瘤的特征^[11]。与来源于细胞系的常规异种移植瘤相比,PDX 模型可以更好地再现患者肿瘤的异质性^[12]。

脑胶质瘤的发生和治疗抵抗很大程度上是由 GSC 驱动的^[13],因此目前有越来越多的学者选择 GSC 作为异种移植瘤动物模型的细胞来源,他们将患者肿瘤活检组织通过酶解消化成单细胞悬液,并在无血清培养基中悬浮培养以获得神经球状生长的肿瘤细胞团,进一步鉴定获得 GSC^[14]。Zhang 等^[15]通过这种方法制备了患者肿瘤来源的 GSC,他们将 5×10^4 个 GSC 细胞原位注射到裸鼠的右纹状体中,发现肿瘤生长良好,建立的模型可用于评估药物对脑胶质瘤的疗效。然而,GSC 移植瘤模型的成瘤率存在差异,这可能与培养方法缺乏一致性有关^[16]。

1.1.2 受体动物选择

1.1.2.1 啮齿类动物 建立脑胶质瘤移植瘤动物模型最常用的受体动物为雄性大、小鼠类,Hatch 等^[17]研究表明雌激素及孕激素某种程度上对脑胶质瘤的发生有抑制作用,因此应使用雄鼠构建动物模型。常用的大鼠有 SD 大鼠、Wistar 大鼠、Fischer 344 大鼠等,小鼠有 BALB/C 小鼠、昆明小鼠、C57 小鼠及裸鼠等。裸鼠颅骨较薄,具有较大的扩张余地,没有枕骨大孔的限制,避免了颅内压升高而导致的猝死现象,但由于其存在细胞免疫缺陷,难以用其进行脑胶质瘤免疫治疗的研究^[18]。基于啮齿类动物的脑胶质瘤实验动物模型也存在某些局限性。例如,小鼠的大脑缺乏人类和其他大型动物特有的脑沟、脑回和皮质发育^[19]。新皮质星形胶质细胞比例的增加、周细胞异质性以及人类和小鼠之间血管解剖结构的差异也是啮齿类动物模型的局限^[20-22]。

1.1.2.2 其他动物 斑马鱼模型在癌症研究方面取得了显著的进展,这些研究的一个重要基础是斑马鱼模型和人类肿瘤中的分子通路具有高度的相似性和保守性^[23]。斑马鱼模型的一个严重缺陷是,脑胶质瘤处于 32℃ 的环境中,可能会对新陈代谢和致癌分子通路的活性产生影响^[24]。

某些大型哺乳动物,如猪、犬等,也被用作脑胶质瘤实验动物模型的受体动物^[25]。Selek 等^[26]建立了第 1 个猪高级别脑胶质瘤模型。在环孢素诱导

的免疫抑制下,15头猪的顶叶被植入了人脑胶质母细胞瘤细胞系 U87,14头猪出现了肉眼可见的肿瘤,磁共振检查及肿瘤组织病理切片显示出与人类脑胶质瘤类似的影像学 and 病理学表现。与人类一样,神经胶质瘤是犬科动物最常见的原发性恶性脑肿瘤,且其具有与人类原发性胶质母细胞瘤相似的组织学表现,这些自发性犬脑胶质瘤有助于实现体外实验和小鼠中获得的科研成果的临床转化^[27]。

1.1.3 脑胶质瘤移植瘤模型的构建

1.1.3.1 种植位置选择

脑胶质瘤移植瘤动物模型根据接种位置可分为异位移植瘤模型和原位移植瘤模型。

异位移植瘤模型多通过在动物皮下注射脑胶质瘤细胞悬液,然后用卡尺测量肿瘤体积变化以观察肿瘤生长情况。由于接种位置与中枢神经系统在微环境上存在明显差异,且机体强烈的免疫排斥导致肿瘤产生自愈倾向,使模型稳定性欠佳,限制了异位移植瘤模型的应用^[28]。

近年来,原位移植瘤动物模型的应用逐渐增多。这类模型具有以下性质^[29]:①在颅内形成的移植瘤能较好地模拟中枢神经系统肿瘤的微环境;②生长在脑内的移植瘤能够在种植位置局部以浸润方式生长,与人脑胶质瘤的生物学行为相对一致。过去原位移植瘤模型存在操作复杂、难以观察肿瘤生长情况等缺陷,但随着立体定向注射技术和影像诊断技术的进步,原位移植瘤模型有了更加广泛的应用空间。

1.1.3.2 原位移植瘤手术方法与要点

最初采用剪碎肿瘤组织块,然后用针管将其植入到动物颅内的方法,这种方法虽然操作简单,但难以保证定位的精确性及操作的稳定性,成功率低,且难以定量研究。

1973年,Barker等^[30]在肿瘤接种技术上做出了重大改进。他们利用立体定向技术将经过培养的、标准定量的肿瘤细胞接种到鼠脑中,明显提升了移植后大鼠的成活率。之后,更精准的立体定向仪的使用,注射针、注射方式的改进,使立体定向技术更稳定可靠,成瘤率明显提高。用此法可使脑胶质瘤细胞能定位、定量地注入目标位置,防止针头误入侧脑室,减少颅外生长,从而使构建的模型更为可靠^[28]。此外,肿瘤在大鼠脑内可随时间变化有规律地生长,为脑胶质瘤治疗时间点的选择提供了参考^[31]。诸文献报道一般采用在前囟后1mm、矢状缝旁2~3mm处钻直径约1mm的注射孔,注射深

度为2.5mm。选择此注射点的目的在于保证移植瘤在该靶点的上下、左右、前后方向都有足够空间生长^[9]。

1.2 通过抑癌基因敲除与癌基因敲入所构建的自发成瘤模型

肿瘤的发生常存在癌基因和(或)抑癌基因突变或缺失的基础。随着人们对脑胶质瘤发生的遗传学机制有了逐步深入的认识,以及近年来基因工程技术的蓬勃发展,用基因工程方法构建的动物自发瘤模型应运而生。这种模型通过在分子或细胞水平改变受体动物的遗传物质,模拟所要研究的某种基因异常的致瘤过程,在病因上更接近于肿瘤的自然发生,从而更有利于探究肿瘤的产生机制及治疗方法。

脑胶质瘤基因工程动物模型(genetically engineered mice)的制备方法主要是使用质粒或病毒载体向动物的染色体基因组内导入外源致瘤基因,令其在特定的细胞类型中表达,或用基因敲除技术使某种或某些抑癌基因在特定的细胞类型中表达缺失^[10],小鼠是最常用的基因工程模型动物。

1.2.1 传统的基因工程小鼠肿瘤模型

在受精卵和胚胎干细胞水平进行基因导入或敲除可以建立传统基因工程小鼠模型。但是,成人脑胶质瘤主要是后天在环境因素的影响下发病,而传统的基因工程小鼠模型是在其胚胎发育期人为更改肿瘤发生基因或肿瘤抑制基因的表达水平,其肿瘤的发生时间比人类脑胶质瘤的好发年龄早^[32]。此外,由于基因敲除小鼠的所有体细胞基因组上都存在靶基因的缺失或突变,有些基因敲除后动物难以成活^[33],无法进行后续研究。因此,目前已基本不采用此模型。

1.2.2 条件性敲除某些抑癌基因从而构建自发成瘤模型

Cre/LoxP位点特异重组酶系统与基因工程技术的结合,为上述问题的解决提供了可能。Cre是P1噬菌体的cre基因编码的蛋白,它可特异性识别P1噬菌体基因组上一段长约34bp的LoxP靶点,并根据该靶点的方向性引发DNA重组,具有广泛的种属适用性^[33-34]。基于该项技术,可建立多种小鼠脑胶质瘤自发成瘤模型。例如,Zhu等^[35]利用胶质纤维酸性蛋白-Cre(GFAP-cre),在星形胶质细胞中特异性敲除肿瘤抑制基因NF-1和p53,成功构建了小鼠脑胶质瘤模型GFAP-cre/NF-1^{fl/fl}/p53^{-/+},该模型可模拟后天性脑胶质瘤的发生、发展,早期产生WHO 2级脑胶质瘤,逐渐发展为3级、4级脑胶质瘤。

Nestin是一种在发育中的大脑神经干/祖细胞

中特异表达的中间丝蛋白,可能对神经元的分化起作用,它是神经干细胞的一种特异性标志物,在肿瘤干细胞亦有表达,因此可以作为部分肿瘤干细胞的标志物。Chen 等^[36]构建了 *Nestin-creER/NF-1 β ^{+/+}/p53^{-/+}/PTEN ^{β /+}* 脑胶质瘤小鼠模型。该模型在雌激素或雌激素类似物(如他莫昔芬)处理下,在神经干细胞中特异性敲除抑癌基因 *NF-1 β* 、*p53* 和 *PTEN*, 在新生小鼠及成年小鼠的脑室下区诱导肿瘤^[37]。

目前常用的 Cre 驱动基因有 *GFAP*、*Nestin*、*NG2* 等干细胞基因,敲除的抑癌基因有 *Pten*、*p53*、*Rb1*、*NF1*、*Ink4a/Arf* 等,过表达的癌基因有 *Ras*(包括 *H-Ras*、*K-Ras*、*N-Ras* 以及它们的激活突变体)、*Akt*、*EGFR-vIII* 和 *IDH1* 突变等^[38]。

1.2.3 病毒载体介导癌基因表达或抑癌基因沉默从而构建自发成瘤模型 由病毒载体介导外源基因整合到靶细胞基因组内,也是一种脑胶质瘤基因工程动物模型的制备方法。Marumoto 等^[39]用表达癌基因 *H-Ras* 和 *Akt* 的 Cre-LoxP 控制的慢病毒载体将 *GFAP⁺* 细胞导入具有免疫功能的成年小鼠的脑室下区或海马,导致高级别脑胶质瘤样肿瘤的形成。Jacques 等^[40]采用腺病毒 *GFAP-Cre* 系统敲除位于脑室下区干细胞中的抑癌基因 *Rb/p53*、*Rb/p53/PTEN* 或 *PTEN/p53*,发现可以导致脑胶质瘤发生。Li 等^[41]用一种编码 *EGFR-vIII* 的逆转录病毒感染 *PTEN^{-/-}* 神经前体细胞,证明 *EGFR* 的激活和 *PTEN* 的缺失为脑胶质瘤的发生提供了分子基础,并诱发宿主基因组不稳定。因此自发成瘤模型较为简单,应用此模型的研究日益增多,这里不再一一赘述。

2 动物模型成瘤情况的检测方法

2.1 观察动物表现 既往采用观察症状、体征的方法对动物模型的肿瘤生长情况进行评估,如进食情况、体重、精神状态以及压迫症状(颅内压增高表现、偏瘫)等。但这些表现通常在肿瘤生长较大、病程进入晚期、出现恶病质时才较为明显,因此使用有所限制,但仍是评价肿瘤进展或治疗效果的重要指标。

2.2 组织学检查 肉眼观,瘤体形态欠规则,无包膜,向周围浸润生长,切面色白,呈鱼肉状。H-E 染色后镜下观察,可见肿瘤区较正常脑组织染色深,有较明确的边界。肿瘤细胞丰富、密集,常排列呈束状及小团块状,细胞分化差,胞核大、圆、深染,核分裂象多见^[42]。肿块内部血管丰富,常见栅栏状坏死

区,瘤周组织可有水肿。Ki-67 染色结果可反映肿瘤细胞的增殖能力。

2.3 小动物活体成像检查 目前,活体成像发光技术已广泛应用于肿瘤体内实验。该技术是让肿瘤细胞带上荧光素酶(Luciferase)或绿色荧光蛋白(GFP)标签,然后用小动物活体成像仪检测肿瘤的生物发光或荧光,以直观可视地、动态地观察肿瘤生长。随着时间的推移,种植部位的 Luciferase 显像范围逐渐扩大,代表肿瘤在不断生长。它无须注射造影剂甚至处死动物,即可在活动物体内观察肿瘤生长和扩散。例如,Zhang 等^[43]用带有 Luciferase 的 U87 人脑胶质瘤细胞构建裸鼠脑胶质瘤异种移植瘤模型,采用小动物活体成像仪动态检测肿瘤生长情况以评估肿瘤大小。

2.4 影像学检查 磁共振成像(MRI)技术的应用为动物成瘤过程的检测提供了新的途径。它作为一种无创性的影像学检测方法,可以在不处死动物的情况下对肿瘤的生长情况进行动态的、多方位的观察,便于在适当的时间进行药效学研究。Raila 等^[44]运用 1.5 T MRI 对大鼠脑胶质瘤模型进行头颅平扫后发现,肿瘤在 T₁WI 上呈等信号,T₂WI 上呈高信号,鼠尾静脉注射钆造影剂 Gd-DTPA 增强后可见肿瘤呈环状强化,瘤内出血和坏死改变未见明确显示。吴国祥等^[45]采用腹腔注射造影剂的方法,操作方便且可重复多次注射,比较腹腔注射不同剂量 Gd-DTPA 后的增强效果,发现注射 2~3 ml/kg 时效果较好。MRI 的应用限制主要在于临床常用的 1.5~3.0 T MRI 无法将实体瘤中的细胞、间质和血管显现出来,高场强的磁共振设备(如 7.0 T 动物用磁共振)成像效果较好,但价格昂贵。此外,随着 PET 显像剂研发的不断进展,PET 技术也逐渐应用于脑胶质瘤动物模型的检测,PET 图像和 CT/MRI 图像的融合使得在解剖图像上分析肿瘤的代谢状况成为可能^[46]。

3 脑胶质瘤动物模型的发展趋势及总结

无论如何,动物模型脑胶质瘤与人类脑胶质瘤有所不同,许多在荷瘤动物上取得良好实验结果的抗癌药物进入临床试用后效果却差强人意。对于一些药物,血-脑屏障是一个重要的阻碍,而在模型中模拟这个屏障本身就是一个困难的任务^[47]。类器官的 3D 培养为解决这一问题提供了可能。因为 3D 类器官可模拟肿瘤细胞和细胞外基质的相互作用,因而可使用胶质瘤类器官模型实现在模拟的肿瘤微

环境中开展相关研究。类器官模型可分为 2 种类型。第 1 种模型对活检采集的脑胶质瘤细胞进行 3D 培养,以生成类器官,可用于测试肿瘤对药物和嵌合抗原受体(CAR)-T 细胞的反应^[48]。第 2 种模型在基于胚胎干细胞(ESC)或诱导多能干细胞(iP-SCs)生成的大脑类器官中诱导脑胶质瘤的发生,也可移植患者来源的 GBM 干细胞,以在 3D 大脑类器官中启动肿瘤的生长^[49]。

另一个挑战在于开发可用于研究免疫治疗的模型,基于免疫缺陷动物构建的异种移植模型不适合用于免疫相关研究。最近的研究表明,人源化小鼠模型可能有助于克服这一挑战。人源化小鼠模型指的是构建具有人类免疫系统的小鼠,以进行肿瘤免疫治疗的研究。它们一般是用 SCID 小鼠进行全身照射,然后在血管内注射人类 CD34⁺造血干细胞制成的。12 周龄后,用流式细胞术评估人类免疫系统

的移植是否成功,然后向这些人源化小鼠注射患者来源的肿瘤组织,以构建人源化 PDX 模型^[50-51]。

此外,和人类种属关系最近的非人灵长类动物脑胶质瘤模型也在开发和应用中,Rodgers 等^[52] 2020 年发表的文献采用了非人灵长类动物恒河猴,评估了治疗弥漫性固有脑桥胶质瘤的药物帕诺比诺司他(panobinostat)的中枢神经系统药代动力学。但是非人灵长类动物模型价格昂贵,且有较多伦理学方面的限制。

我们总结了现有各种脑胶质瘤模型的特点,见表 1。事实上,目前还没有一种动物模型能符合理想的脑胶质瘤模型的所有标准。尽管如此,现有的模型仍有较大的应用价值,最重要的是认识到常用模型的优点和缺点,并基于所研究的问题选择最合适的脑胶质瘤模型。

表 1 各种脑胶质瘤模型的特点综述

模型类别	能否模拟患者来源肿瘤遗传学背景	能否模拟肿瘤异质性	能否模拟肿瘤微环境	能否用于免疫治疗研究	技术难度	成本	用途
传统异种移植瘤模型	否	否	否,通常使用裸鼠	否	低	低	传统分子机制研究
PDX 或基于干细胞的异种移植瘤模型	能	能	否,通常使用裸鼠	否	中等	中等	非免疫治疗研究
斑马鱼模型	使用患者来源的细胞时可以使用	使用患者来源的细胞时可以使用	模型中的肿瘤微环境尚不清楚	否	低	低	药物筛选
犬及非人灵长类动物自发成瘤模型	能	能	能	能	较大,需要专业的兽医手术技能和设施	昂贵	大动物模型
基因工程小鼠模型	仅能模拟特定的基因改变	否	能	能	中等	传代饲养成本较高	体内功能基因组学研究
人源化小鼠肿瘤模型	使用 PDX 或胶质瘤干细胞时可以使用	使用患者来源的细胞时可以使用	否,通常使用重度免疫缺陷小鼠	能	较大,可购买成品人源化小鼠	昂贵	可实现免疫治疗研究
脑胶质瘤类器官模型	使用 PDX 或胶质瘤干细胞时可以使用	能	能	否(短期 T 细胞测试除外)	中等	相对较低	相对短期的研究

参考文献:

- [1] Jiang T, Nam DH, Ram Z, et al. Clinical practice guidelines for the management of adult diffuse gliomas[J]. *Cancer Lett*, 2021, 499: 60-72.
- [2] Barth RF, Kaur B. Rat brain tumor models in experimental neuro-oncology; the C6, 9L, T9, RG2, F98, BT4C, RT-2 and CNS-1 gliomas[J]. *J Neurooncol*, 2009, 94(3): 299-312.
- [3] Benda P, Lightbody J, Sato G, et al. Differentiated rat glial cell strain in tissue culture[J]. *Science*, 1968, 161(3839): 370-371.
- [4] Bernstein JJ, Woodard CA. Glioblastoma cells do not intravasate into blood vessels[J]. *Neurosurgery*, 1995, 36(1): 124-132.
- [5] Badie B, Scharfner JM. Flow cytometric characterization of tumor-associated macrophages in experimental gliomas[J]. *Neurosurgery*, 2000, 46(4): 957-961.
- [6] 朱侗明, 何升学, 胡新华, 等. 三种鼠脑胶质瘤模型的建立与比较[J]. *立体定向和功能神经外科杂志*, 2011, 24(3): 144-148.
- [7] Szatmári T, Lumniczky K, Désaknai S, et al. Detailed characterization of the mouse glioma 261 tumor model for experimental glioblastoma therapy[J]. *Cancer Sci*, 2006, 97(6): 546-553.
- [8] Bu X, Zhang X, Lang WE. Experimental study on the establishment for orthotopic implantation model of human glioma cells in nude mice[J]. *Chin J Neurosurg Dis Res*, 2006, 5(2): 100-105.
- [9] 王艳华, 楚建杰, 李子敏, 等. U87-MG 脑胶质瘤细胞裸鼠原位移植模型的建立[J]. *中国药理学通报*, 2018, 34(5): 735-739.
- [10] 康德智. 脑肿瘤动物模型的研究进展[J]. *中华神经医学杂志*, 2011, 10(6): 544-547.
- [11] Akter F, Simon B, de Boer NL, et al. Pre-clinical tumor models of primary brain tumors: challenges and opportunities[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2021, 1875(1): 188458.
- [12] Brighi C, Reid L, Genovesi LA, et al. Comparative study of pre-clinical mouse models of high-grade glioma for nanomedicine research; the importance of reproducing blood-brain barrier heterogeneity[J]. *Theranostics*, 2020, 10(14): 6361-6371.
- [13] Alcantara Llaguno S, Parada LF. Cancer stem cells in gliomas; evolving concepts and therapeutic implications[J]. *Curr Opin Neurol*, 2021, 34(6): 868-874.
- [14] Zhang L, Yu HW, Yuan YH, et al. The necessity for standardization of glioma stem cell culture; a systematic review[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 84.
- [15] Zhang X, Wang J, Wang YF, et al. MELK inhibition effectively suppresses growth of glioblastoma and cancer stem-like cells by blocking AKT and FOXM1 pathways[J]. *Front Oncol*, 2021, 10: 608082.
- [16] Kelly PN, Dakic A, Adams JM, et al. Tumor growth need not be driven by rare cancer stem cells[J]. *Science*, 2007, 317(5836): 337.
- [17] Hatch EE, Linet MS, Zhang JY, et al. Reproductive and hormonal factors and risk of brain tumors in adult females[J]. *Int J Cancer*, 2005, 114(5): 797-805.
- [18] Moore XL, Lu J, Sun L, et al. Endothelial progenitor cells “homing” specificity to brain tumors[J]. *Gene Ther*, 2004, 11(10): 811-818.
- [19] Lind NM, Moustgaard A, Jelsing J, et al. The use of pigs in neuroscience; modeling brain disorders[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2007, 31(5): 728-751.
- [20] O Brown NM, Pfau SJ, Gu CH. Bridging barriers; a comparative look at the blood-brain barrier across organisms[J]. *Genes Dev*, 2018, 32(7/8): 466-478.
- [21] Bohannon DG, Long D, Kim WK. Understanding the heterogeneity of human pericyte subsets in blood-brain barrier homeostasis and neurological diseases[J]. *Cells*, 2021, 10(4): 890.
- [22] Barone FC, Knudsen DJ, Nelson AH, et al. Mouse strain differences in susceptibility to cerebral ischemia are related to cerebral vascular anatomy[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1993, 13(4): 683-692.
- [23] Huang XQ, Agrawal I, Li Z, et al. Transcriptomic analyses in zebrafish cancer models for global gene expression and pathway discovery[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2016, 916: 147-168.
- [24] Xie J, Farage E, Sugimoto M, et al. A novel transgenic zebrafish model for blood-brain and blood-retinal barrier development[J]. *BMC Dev Biol*, 2010, 10: 76.
- [25] Hicks WH, Bird CE, Pernik MN, et al. Large animal models of glioma: current status and future prospects[J]. *Anticancer Res*, 2021, 41(11): 5343-5353.
- [26] Selek L, Seigneuret E, Nugue G, et al. Imaging and histological characterization of a human brain xenograft in pig: the first induced glioma model in a large animal[J]. *J Neurosci Methods*, 2014, 221: 159-165.
- [27] Candolfi M, Curtin JF, Nichols WS, et al. Intracranial glioblastoma models in preclinical neuro-oncology; neuropathological characterization and tumor progression[J]. *J Neurooncol*, 2007, 85(2): 133-148.
- [28] 党欢, 王济, 王鹏远, 等. 脑胶质瘤实验动物模型及研究进展[J]. *中华神经外科杂志*, 2014, 30(4): 422-425.
- [29] 王晓冬, 魏静, 徐安然. 浅谈人脑胶质瘤裸鼠原位移植模型的近期研究进展[J]. *当代医药论丛*, 2015, 13(8): 155-157.
- [30] Barker M, Hoshino T, Gurcay O, et al. Development of an animal brain tumor model and its response to therapy with 1, 3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea[J]. *Cancer Res*, 1973, 33(5): 976-986.
- [31] 蔡山, 杨智勇. 脑胶质瘤原位移植瘤动物模型的研究进展[J]. *实用临床医学*, 2007, 8(2): 134-135, 138.
- [32] 朱惠芳, 张旭远, 赵旭东. 脑胶质瘤动物模型的研究及应用进展[J]. *动物学研究*, 2012, 33(3): 337-342.
- [33] 朱焕章, 史景泉. Cre/LoxP 系统在转基因小鼠上的应用策略[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2000, 27(3): 235-238.
- [34] Sauer B. Inducible gene targeting in mice using the Cre/lox system[J]. *Methods*, 1998, 14(4): 381-392.
- [35] Zhu Y, Guignard F, Zhao DW, et al. Early inactivation of p53 tumor suppressor gene cooperating with NF1 loss induces malignant astrocytoma[J]. *Cancer Cell*, 2005, 8(2): 119-130.

- [36] Chen J, Kwon CH, Lin L, et al. Inducible site-specific recombination in neural stem/progenitor cells [J]. *Genesis*, 2009, 47 (2) : 122-131.
- [37] Alcantara Llaguno S, Chen J, Kwon CH, et al. Malignant astrocytomas originate from neural stem/progenitor cells in a somatic tumor suppressor mouse model [J]. *Cancer Cell*, 2009, 15 (1) : 45-56.
- [38] Hicks WH, Bird CE, Traylor JI, et al. Contemporary mouse models in glioma research [J]. *Cells*, 2021, 10 (3) : 712.
- [39] Marumoto T, Tashiro A, Friedmann-Morvinski D, et al. Development of a novel mouse glioma model using lentiviral vectors [J]. *Nat Med*, 2009, 15 (1) : 110-116.
- [40] Jacques TS, Swales A, Brzozowski MJ, et al. Combinations of genetic mutations in the adult neural stem cell compartment determine brain tumour phenotypes [J]. *EMBO J*, 2010, 29 (1) : 222-235.
- [41] Li L, Dutra A, Pak E, et al. EGFRvIII expression and PTEN loss synergistically induce chromosomal instability and glial tumors [J]. *Neuro-oncology*, 2009, 11 (1) : 9-21.
- [42] Wang X, Wang ZH, Zhang Y, et al. Golgi phosphoprotein 3 sensitizes the tumour suppression effect of gefitinib on gliomas [J/OL]. *Cell Prolif*, 2019, 52 (4) : e12636.
- [43] Zhang Y, Wang Y, Zhou D, et al. Radiation-induced YAP activation confers glioma radioresistance via promoting FGF₂ transcription and DNA damage repair [J]. *Oncogene*, 2021, 40 (27) : 4580-4591.
- [44] Raila FA, Bowles AP Jr, Perkins E, et al. Sequential imaging and volumetric analysis of an intracerebral C6 glioma by means of a clinical MRI system [J]. *J Neurooncol*, 1999, 43 (1) : 11-17.
- [45] 吴国祥, 余绍祖, 李承晏, 等. 大鼠脑胶质瘤模型的 MRI 表现 [J]. *卒中与神经疾病*, 2001, 8 (1) : 32-34.
- [46] Ma H, Zhao J, Liu SY, et al. 18 F-trifluoromethylated D-cysteine as a promising new PET tracer for glioma imaging; comparative analysis with MRI and histopathology in orthotopic C6 models [J]. *Front Oncol*, 2021, 11 : 645162.
- [47] Lenting K, Verhaak R, Ter Laan M, et al. Glioma: experimental models and reality [J]. *Acta Neuropathol*, 2017, 133 (2) : 263-282.
- [48] Jacob F, Salinas RD, Zhang DY, et al. A patient-derived glioblastoma organoid model and biobank recapitulates inter- and intra-tumoral heterogeneity [J]. *Cell*, 2020, 180 (1) : 188-204. e22.
- [49] Ogawa J, Pao GM, Shokhirev MN, et al. Glioblastoma model using human cerebral organoids [J]. *Cell Rep*, 2018, 23 (4) : 1220-1229.
- [50] Morton JJ, Bird G, Refaeli Y, et al. Humanized mouse xenograft models; narrowing the tumor-microenvironment gap [J]. *Cancer Res*, 2016, 76 (21) : 6153-6158.
- [51] Choi Y, Lee S, Kim K, et al. Studying cancer immunotherapy using patient-derived xenografts (PDXs) in humanized mice [J]. *Exp Mol Med*, 2018, 50 (8) : 1-9.
- [52] Rodgers LT, Lester McCully CM, Odabas A, et al. Characterizing the pharmacokinetics of panobinostat in a non-human primate model for the treatment of diffuse intrinsic pontine glioma [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2020, 85 (4) : 827-830.

收稿日期:2022-05-19 修回日期:2022-08-10

本文编辑:李昕