

王洁,赵菊梅,魏晓丽,等. 基于 PDX 模型的胃癌转移相关基因研究进展[J].中国实验动物学报, 2019,27(5):663-667.
Wang J,Zhao JM,Wei XL, et al. Research of metastasis-related genes based on the patient-derived gastric cancer xenograft model[J].
Acta Lab Anim Sci Sin,2019,27(5):663-667.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2019.05.018

基于 PDX 模型的胃癌转移相关基因研究进展

王洁^{1,2},赵菊梅¹,魏晓丽^{1*},师长宏^{2*}

(1. 延安大学医学院,延安 716000; 2. 空军军医大学实验动物中心,西安 710032)

【摘要】 基于临床肿瘤标本的胃癌异种移植模型(patient derived gastric cancer xenograft, PDGCX)较好地保持了原发肿瘤的异质性,进一步建立模拟临床特征的个体化转移模型对于胃癌研究具有重要意义。本文就 PDGCX 转移模型的建立方法、影响因素和评价指标进行综述,归纳筛选胃癌转移相关基因的方法,最终分析 PDGCX 模型在胃癌治疗靶点的鉴定和转移潜能标志物筛选方面的应用。

【关键词】 胃癌;PDX 模型;转移;基因

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2019) 05-0663-05

Research of metastasis-related genes based on the patient-derived gastric cancer xenograft model

WANG Jie^{1,2}, ZHAO Jumei¹, WEI Xiaoli^{1*}, SHI Changhong^{2*}

(1. Medical College of Yan'an University, Yanan 716000, China.
2. Laboratory Animal Center, the Air Force Medical University, Xi'an 710032)

Corresponding author: SHI Changhong. E-mail: changhong@fmmu.edu.cn; WEI Xiaoli. E-mail: weixiaoli3754@163.com

【Abstract】 The patient-derived gastric cancer xenograft (PDGCX) model well maintains the heterogeneity of the primary tumor. Further establishment of an individualized metastasis model that simulates clinical features is of great significance for gastric cancer research. In this review, we focus on the establishment methods, influencing factors and evaluation indexes of the PDGCX metastasis model and summarize the method of screening gastric cancer metastasis-related genes. We further analyze the application of the PDGCX model in the identification of therapeutic targets and screening of potential markers for metastasis of gastric cancer.

【Keywords】 gastric cancer; PDX models; metastasis; gene

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

胃癌(gastric cancer, GC)是我国最常见的恶性肿瘤之一,尽管通过手术和化疗有所改善,但晚期胃癌的预后仍然很差,5 年生存率接近 20%^[1]。侵袭和转移是该病致死的主要原因,并极大影响治疗效果^[2]。胃癌转移是一个复杂的生物学过程,与基因表达密切相关。由于基于临床肿瘤标本异种移植(patient derived xenograft, PDX)模型具有较好的异质性,基本保持了原发性肿瘤的生物学特性,易于发生转移,因此成为胃癌研究的首选模型^[3]。本文就基于胃癌 PDX 模型开展的转移基因筛选和治疗靶点的鉴定进行综述,以期胃癌的转移研究提供良好的动物模型。

[基金项目] 国家自然科学基金(31772546)。
Funded by National Natural Science Foundation of China (31772546).

[作者简介] 王洁(1994—),硕士生,研究方向:肿瘤病理学。Email: 1321175638@qq.com

[通信作者] 师长宏,男,教授,博士生导师,研究方向:人类疾病的动物模型。Email: changhong@fmmu.edu.cn;
魏晓丽,女,教授,硕士生导师,研究方向:肿瘤病理学。Email: weixiaoli3754@163.com

* 共同通信作者

1 建立胃癌 PDX 转移模型

1.1 胃癌 PDX 模型的特点

大多数胃癌患者在就诊时出现转移,常转移的部位是淋巴结,肺,肝和腹膜。成功建立真实模拟人胃癌组织细胞侵袭和转移生物学行为特征的动物模型已成为胃癌研究的重要前提。与传统的细胞系异种移植模型相比,将患者新鲜的胃癌手术标本移植到免疫缺陷小鼠体内建立的 PDGCX (patient-derived gastric cancer xenograft) 模型,含有源自患者的间质细胞和免疫细胞^[4],可以提供适合肿瘤生长的微环境,保持了原发肿瘤的生物学特征和异质性,为建立胃癌转移模型和筛选胃癌转移基因提供了有力的工具^[5]。Zhang 等^[6]建立了 32 例胃癌 PDX 模型,其组织学和遗传学特征保持与原始肿瘤一致。Zhu 等^[7]首次使用胃镜活检建立胃癌 PDX 模型,确认了生物学特征与患者的一致性,并且遗传特征在传代过程中保持稳定。

1.2 影响 PDGCX 模型建立的因素

PDGCX 模型的移植受多种因素的影响,除了移植宿主免疫缺陷的程度,还包括手术时间、植入组织块的大小和数量、植入的位置,患者性别,化疗状态和肿瘤选取的部位等,而原发肿瘤的特征(肿瘤的侵袭性、劳伦分类和组织中的肿瘤细胞比率)被认为是重要的因素。Choi 等^[8]从 62 例胃癌患者中成功建立 15 例 PDGCX 模型,其中肠型胃癌,植入组织中肿瘤细胞百分比,离体和整体手术时间的减少与移植成功率相关。此外,在一项研究中发现男性患者($P=0.016$)或肠道亚型($P=0.030$)的胃癌组织在小鼠中更容易生长。在弥漫型胃癌中,肿瘤细胞分散于间质组织中,单位面积的肿瘤细胞数量较少,不利于肿瘤的成功植入^[6]。总之,目前比较明确的影响胃癌 PDX 模型建立的因素可概括为肿瘤类型,侵袭性,离体和手术时间,植入肿瘤细胞的数量等。

1.3 建立 PDGCX 转移模型的方法

肿瘤转移的发生与肿瘤细胞的转移潜能和生长的微环境密切相关^[9]。常规建立 PDGCX 转移模型的方法是裸鼠皮下移植。Li 等^[10]将胃癌患者的肿瘤组织皮下植入裸鼠的右侧和左侧腹股沟建立 PDGCX 转移模型,移植瘤在传代中保持相同的组织学特征,并且在食道,胃,脾,肝等部位观察到转移。但是,这些转移性肿瘤未发现 CK8/18, E-钙粘蛋白, VCAM-1, ICAM-1 等和转移相关的黏附分子的表达,提示,皮下移植可能会导致部分表型的丢失。肾包膜移植因其血管丰富增加移植成功率,且利于转移

的发生^[11],是建立实验性转移模型常用的方法。研究表明,原位移植 (patient-derived orthotopic xenograft, PDOX) 比皮下移植更容易发生转移^[12]。可提供与肿瘤发生相似的微环境^[13],准确、客观地模拟人体肿瘤的体内演进过程,利于转移相关基因的表达,易形成与临床肿瘤相似的转移特征。例如,在一项临床相关性研究中,36 例胃癌移植模型中有 20 例植入裸鼠原位发生生长,其中 5 例患有临床肝转移,相应 5 例均在裸鼠中产生肝转移。6 例患者的肿瘤临床腹膜受累,对应其中 5 例发生裸鼠腹膜转移^[14]。王洁等^[15]将胃癌新鲜的手术标本移植到裸鼠皮下,建立胃癌 PDX 模型,进一步通过手术将皮下瘤组织原位移植到裸鼠胃部肌层,发生肺和肝的转移。

1.4 PDGCX 转移模型的检测

转移模型的检测方法包括组织学检测, ALU-PCR (ALU-聚合酶链反应), 以及非侵入性成像。常用的组织学检测转移的方法是将肿瘤组织固定, 石蜡包埋后进行 HE 染色和免疫组化^[16], 该方法简单易于操作, 但是由于肿瘤细胞在组织器官内随机分布, 假阴性率高。ALU-PCR 可以从复杂来源样品中特异扩增人基因组 DNA, 是一种在合理的时间内精确测量大样本中转移的非常敏感的方法, 可以在含有低浓度模板的样品上完成, 如石蜡包埋组织^[17]。Schneider 等^[18]发现可以从相当于 1×10^6 个鼠细胞中检测出一个人类肿瘤细胞。但是此种方法需要形成转移灶后, 提取相应的组织, 属于有创性检查。非侵入性成像, 如超声检查 (US)、正电子发射断层扫描 (CT/PET) 可以检测成瘤率和肿瘤生长状况, 同样容易产生较高的假阴性率, 很难识别微小病变和微转移灶, 敏感性、准确性和特异性较低。最近新报道的七甲川菁 (heptamethine cyanine) 近红外荧光染料, 如 IR-783 可特异性识别胃癌细胞^[19], 不需标记探针可直接用于肿瘤模型的活体成像, 具有成像和靶分子的双重功能。王洁等^[15]使用肾包膜和原位移植建立了 PDGCX 转移模型, 通过近红外荧光活体成像技术观察到裸鼠肺和肝脏部位转移信号, 为胃癌 PDX 转移模型早期的检测和筛选提供了可靠的方法。

2 筛选胃癌转移相关基因方法

随着高通量测序和芯片技术的普及, 越来越多的胃癌转移相关基因被发现。目前, 筛选转移相关基因的主要方法是提取转移瘤和原发瘤的 DNA 或 RNA, 进行癌症基因组图谱, 微阵列技术和 PCR 芯片的分析。

2.1 癌症基因组图谱

癌症基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA) 是通过应用基因组分析技术,特别是采用大规模的基因组测序,将人类全部癌症的基因组变异图谱绘制出来,筛选癌基因和抑癌基因,进行系统分析,了解肿瘤发生发展的机制,发展新的诊断和治疗方法。Ye 等^[20]应用 TCGA-胃腺癌 (STAD) 和 NCBI GEO 数据库研究 miR-7 和 NF- κ B、RelA/p65 的表达情况。数据表明,胃癌中 miR-7 的缺失促进了 p65 介导的 NF- κ B 的异常激活,促进了胃癌的转移,提示 miR-7 可能成为 NF- κ B 介导的胃癌远处转移的新的预后生物标记物和潜在的治疗靶点。Liu 等^[21]从 TCGA 中确定了长非编码 RNA00941 (LINC00941) 是一种潜在的诊断和预后的生物标记物,并发现 LINC00941 的表达与胃癌的深度和远处转移有关。然而,无论是 TCGA 还是 GEO 数据库提供的都是 mRNA 水平的数据,无法完全代表胃癌中的蛋白表达情况,并且缺少临床及细胞、动物功能学实验。

2.2 甲基化 CPG 岛扩增微阵列 (MCAM)

随着高通量技术的发展,大量的 DNA 甲基化数据可用于癌症的预测和生物标记物的识别^[22]。胃癌患者抑癌基因的异常甲基化提示表观遗传改变,它往往发生在临床症状出现之前。Li 等^[23]发现基因启动子区 CpG 位点的高甲基化可能是肿瘤转移标本中基因表达下调的原因之一,提示 DNA 甲基化改变可能是促进肿瘤转移的一个重要因素。Liu 等^[24]在胃癌中进行 MCAM 全基因组 DNA 甲基化分析,证明 GFRA1、SRF 和 ZNF382 的甲基化状态可作为预测胃癌转移的潜在协同生物标记物。然而, DNA 甲基化数据的固有缺点,是与大量探针相比,样本数量有限,可能导致分类性能的下降,并增加过度拟合的风险^[25]。

2.3 PCR Array

PCR-Array 亦被称为功能分类芯片或 PCR 阵列,它结合了实时定量 PCR 技术灵敏可靠的优势以及微阵列技术同时检测多种基因表达量的优势,是分析信号通路或某生物学功能相关基因表达状态的首选工具。有人在转染 miR-335 的细胞上进行 PCR-Array,发现参与转移和肿瘤侵袭的 62 个基因中的 19 个 (30.6%) 显示转录水平降低,网络富集分析最终确定 PLAUR 和 CDH11 是参与转移和肿瘤侵袭途径的潜在靶点^[26]。Miwa 等^[27]从转移胃癌患者的手术切除标本中进行转录组分析,确定 HOXC10 是转移性胃癌组织中表达最高的基因。进一步 PCR 阵列分析表明 HOXC10 的功能与肿瘤的

发生、迁移和侵袭所需的恶性表型密切相关。王洁等^[15]通过裸鼠原位移植建立胃癌转移性 PDX 模型,PCR-Array 分析肺部转移瘤和原发瘤中转移相关基因的表达,发现有三个基因表达与原发瘤相比显著上调 ($P < 0.01$),涉及 CXCL12, IGF1 和 MMP2。

3 鉴定胃癌潜在治疗靶点

由于缺乏可以真实模拟患者肿瘤特征的临床前模型,阻碍了胃癌靶向抗肿瘤药物的开发。已知的胃癌临床治疗靶点包括 EGFR、HER2、HER3、PTEN、FGFR2 和 MET。HER2 阳性、FGFR2 扩增、PTEN 丢失和 MET 扩增的 PDX 模型分别对曲妥珠单抗、AZD4547、AZD5363 和沃利替尼敏感^[28-29]。Chen 等^[30]对 50 例晚期胃癌患者 PDX 模型的基因组变异和分子图谱进行分析。发现 EGFR 单克隆抗体 BK011 和西妥昔单抗针对具有 EGFR 扩增的 PDX 模型具有治疗效果。表明 PDGCX 模型保留了原发瘤的异质性,是评价靶向药物抗肿瘤效果的有效工具。

目前,癌细胞对化疗和潜在靶向药物的抵抗性是肿瘤治疗的难点。有一些被确定为潜在靶点的受体具有重叠的细胞内信号转导级联,特别是 PI3K/AKT/MTOR 和 MAPK 通路^[31]。这些信号级联的激活与肿瘤细胞增殖和存活以增加以及细胞凋亡的抑制有关。Li 等^[32]筛选了 15 个 PDGCX 模型,并发现含有 PI3KCA 激活突变的 PDGCX 模型对 AKT 抑制剂 AZD5363 有抗肿瘤反应,而 PTEN 缺失的 PDGCX 模型中未观察到显著功效。然而,当用 AZD5363 和泰索帝的联合治疗可以克服 PTEN 缺失 PDGCX 模型中对泰索帝的内在抗性。

4 评估胃癌转移潜能的标志物

由于缺乏能够预测预后和转移可能性的敏感和特异的生物标记物,胃癌的成功治疗仍然受到阻碍。胃癌常用的肿瘤标志物 CEA、CA19-9、CA24-2、CA7-24 和胃蛋白酶原等,可以对胃癌进行早期的预警和诊断,对复发、转移以及预后判断具有重要意义。血管生成是肿瘤生长和转移所必须的,受血管生成因子的控制。肿瘤细胞分泌的血管内皮生长因子-A (VEGF-A) 促进高通透性和大分子经血管转运,据报道,VEGF-A 的表达与胃癌远处血行转移有关^[33]。Jiang 等^[34]建立的胃神经内分泌癌异种移植模型 GA0087 显示 VEGF-A、B 基因高表达,肺转移潜能高。并且在模型中检测到循环肿瘤细胞 (CTCs)、循环肿瘤微栓子 (CTM) 和肺转移灶。CTC

的数量与肺中转移性结节的数量相关。

研究发现 EZH2 介导的 EphB3 表观遗传抑制通过影响 E-cadherin 和波形蛋白的表达抑制胃癌的增殖和转移,并且 EphB3 水平与 GC 患者的临床特征在侵袭深度,淋巴转移和预后方面相关^[35]。Wang 等^[36]发现曲妥珠单抗+西妥昔单抗可抑制胃癌 PDX 模型的增殖,显著减少转移标志物(VEGF, MMP-7, EGFT, Ki-67 和 PCNA)的表达。Kasurinen 等^[37]首次表明胃癌中高血清可溶性 MMP-14 水平可作为预后不良的标志物,并且可能存在远处转移。Kasai 等^[38]通过对胃癌 PDX 模型进行基因表达和 DNA 甲基化阵列分析,筛选出 TFF2、MUC13、ANG 等候选基因。TFF2 可作为胃癌转移和预后不良的潜在标志物,MUC13 在肠型胃癌中经常过表达,ANG 是一种血管生成因子,促进肿瘤细胞生长,与周围的非肿瘤性胃粘膜相比,在胃癌组织中表达更高。

5 展望

弥漫型胃癌临床易发生转移,但 PDX 模型总体成功率较低,主要原因是肿瘤细胞分散于间质组织中,单位面积的肿瘤细胞数量较少,不利于肿瘤的成功植入,因此,探索和开发这一亚型的新模式体系和治疗策略是迫切需要解决的问题。Park 等^[39]开发了 *Pdx-1-Cre*、*Cdh1*^{F/+}、*Trp53*^{F/F}、*Smad4*^{F/F} (*pC^{he}* PS) 小鼠模型,该模型自发的产生与人弥漫型胃癌相似的转移性胃癌,显示 E-cadherin 表达几乎完全缺失(由 *Cdh1* 编码),而其余 *Cdh1* 等位基因没有杂合性缺失(LOH)和 DNA 启动子高甲基化,暗示它是弥漫型胃癌癌变的关键步骤。条件重编程(Conditional Reprogramming, CR)细胞技术,一种新的细胞培养系统,促进从患者活检中产生稳定的培养物,建立维持亲本 PDX 肿瘤特征的 PDX 衍生细胞系,这些 CR-PDX 细胞株保持了亲本驱动基因突变和等位基因频率,不存在克隆漂移。通过再植入 CR-PDX 细胞增殖形成肿瘤,保持了 PDX 肿瘤的生长动力学、组织学和药理学反应^[40]。应用于胃癌 PDX 模型可以克服生长缓慢、植入率可变和体外缺乏持续生长等缺点,提高移植成功率,促发转移。

抗 PD1 抗体等免疫调节剂在 PDX 模型中的应用受到限制,因为 PDX 模型使用的免疫缺陷小鼠缺乏成熟的免疫系统^[41]。为了克服这一障碍,移植人类造血干细胞和祖细胞建立人源化小鼠模型可用于癌症免疫治疗研究^[42]。提示人源化的胃癌 PDX 模型更利于转移发生,药物的反应性与人相似,利于药物的筛选。总之,胃癌转移的发生和诸多基因

密切相关,不同的病人应该有各自的特征,随着精准医学时代的到来,基于已有的胃癌 PDX 模型,探索个体化转移模型中肿瘤相关基因表达特征,特别是胃癌转移相关基因表达水平的变化,可能为胃癌转移发生机制和治疗研究提供可靠的动物模型。

参考文献(References)

- [1] Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world [J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24 (14): 2137-2150.
- [2] Gupta GP, Massagué J. Cancer metastasis: Building a framework [J]. *Cell*, 2006, 127(4): 679-695.
- [3] Julien S, Merino-Trigo A, Lacroix L, et al. Characterization of a large panel of patient-derived tumor xenografts representing the clinical heterogeneity of human colorectal cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(19): 5314-5328.
- [4] Kopetz S, Lemos R, Powis G. The promise of patient-derived xenografts: the best laid plans of mice and men [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(19): 5160-5162.
- [5] Guo S, Qian W, Cai J, et al. Molecular pathology of patient tumors, patient-derived xenografts, and cancer cell lines [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(16): 4619-4626.
- [6] Zhang T, Zhang L, Fan S, et al. Patient-derived gastric carcinoma xenograft mouse models faithfully represent human tumor molecular diversity [J]. *PLoS One*, 2015, 10 (7): e134493.
- [7] Zhu Y, Tian T, Li Z, et al. Establishment and characterization of patient-derived tumor xenograft using gastroscopic biopsies in gastric cancer [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 8542.
- [8] Choi YY, Lee JE, Kim H, et al. Establishment and characterisation of patient-derived xenografts as preclinical models for gastric cancer [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 22172.
- [9] Brackeveldt N, Wigerup C, Gisselsson D, et al. Neuroblastoma patient-derived orthotopic xenografts retain metastatic patterns and geno- and phenotypes of patient tumours [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5): E252-E261.
- [10] Li K, Du H, Lian X, et al. Establishment and characterization of a metastasis model of human gastric cancer in nude mice [J]. *BMC Cancer*, 2016, 16: 54.
- [11] Lee C, Xue H, Sutcliffe M, et al. Establishment of subrenal capsule xenografts of primary human ovarian tumors in SCID mice: potential models [J]. *Gynecol Oncol*, 2005, 96(1): 48-55.
- [12] Hoffman RM. Patient-derived orthotopic xenografts: better mimic of metastasis than subcutaneous xenografts [J]. *Nat Rev Cancer*, 2015, 15(8): 451-452.
- [13] Hiroshima Y, Maawy A, Zhang Y, et al. Patient-derived mouse models of cancer need to be orthotopic in order to evaluate targeted anti-metastatic therapy [J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (44): 71696.
- [14] Furukawa T, Kubota T, Watanabe M, et al. Orthotopic transplantation of histologically intact clinical specimens of stomach cancer to nude mice: correlation of metastatic sites in

- mouse and individual patient donors [J]. *Int J Cancer*, 1993, 53 (4): 608-612.
- [15] 王洁, 赵宁宁, 张彩勤, 等. 基于临床肿瘤标本的胃癌转移模型建立[J]. *中国实验动物学报*, 2019, 27(1): 7-12.
Wang J, Zhao NN, Zhang CQ, et al. Establishment of a nude mouse model of gastric cancer metastasis derived from clinical tumor specimens[J]. *Acta Lab Anim Sci*, 2019, 27(1): 7-12.
- [16] Chambers AF, Macdonald IC, Schmidt EE, et al. Steps in tumor metastasis: new concepts from intravital videomicroscopy [J]. *Cancer Metast Rev*, 1995, 14(4): 279-301.
- [17] Furmaga WB, Ryan JL, Coleman WB, et al. Alu profiling of primary and metastatic nonsmall cell lung cancer [J]. *Exp Mol Pathol*, 2003, 74(3): 224-229.
- [18] Schneider T, Osl F, Friess T, et al. Quantification of human Alu sequences by real-time PCR – an improved method to measure therapeutic efficacy of anti-metastatic drugs in human xenotransplants [J]. *Clin Exp Metastas*, 2002, 19(7): 571-582.
- [19] 赵宁宁, 张彩勤, 赵勇, 等. 近红外荧光染料对胃癌细胞的特异性识别[J]. *科学技术与工程*, 2016, 16(17): 17-21.
Zhao NN, Zhang CQ, Zhao Y, et al. Near infrared fluorescent dye specific identification of gastric cancer cells [J]. *Sci Tech Eng*, 2016, 16(17): 17-21.
- [20] Ye T, Yang M, Huang D, et al. MicroRNA-7 as a potential therapeutic target for aberrant NF- κ B-driven distant metastasis of gastric cancer [J]. *J Exp Clin Canc Res*, 2019, 38(1): 55.
- [21] Liu H, Wu N, Zhang Z, et al. Long non-coding RNA LINC00941 as a potential biomarker promotes the proliferation and metastasis of gastric cancer[J]. *Front Genet*, 2019, 10: 5.
- [22] Carmona FJ, Azuara D, Berenguer-Llgero A, et al. DNA methylation biomarkers for noninvasive diagnosis of colorectal cancer [J]. *Cancer Prev Res*, 2013, 6(7): 656-665.
- [23] Li M, Hong G, Cheng J, et al. Identifying reproducible molecular biomarkers for gastric cancer metastasis with the aid of recurrence information [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 24869.
- [24] Liu Z, Zhang J, Gao Y, et al. Large-scale characterization of DNA methylation changes in human gastric carcinomas with and without metastasis [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(17): 4598-4612.
- [25] Hijazi H, Chan C. A classification framework applied to cancer gene expression profiles[J]. *J Healthc Eng*, 2013, 4(2): 255-284.
- [26] Sandoval-Borquez A, Polakovicova I, Carrasco-Veliz N, et al. MicroRNA-335-5p is a potential suppressor of metastasis and invasion in gastric cancer [J]. *Clin Epigenetics*, 2017, 9: 114.
- [27] Miwa T, Kanda M, Umeda S, et al. Homeobox C10 influences on the malignant phenotype of gastric cancer cell lines and its elevated expression positively correlates with recurrence and poor survival[J]. *Ann Surg Oncol*, 2019, 26(5): 1535-1543.
- [28] Xie L, Su X, Zhang L, et al. FGFR2 gene amplification in gastric cancer predicts sensitivity to the selective FGFR inhibitor AZD4547 [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(9): 2572-2583.
- [29] Liu YJ, Shen D, Yin X, et al. HER2, MET and FGFR2 oncogenic driver alterations define distinct molecular segments for targeted therapies in gastric carcinoma [J]. *Brit J cancer*, 2014, 110(5): 1169-1178.
- [30] Chen Z, Huang W, Tian T, et al. Characterization and validation of potential therapeutic targets based on the molecular signature of patient-derived xenografts in gastric cancer [J]. *J Hematol Oncol*, 2018, 11(1): 20.
- [31] Cascone T, Heymach JV. Targeting the angiopoietin/Tie2 pathway: cutting tumor vessels with a double-edged sword? [J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(4): 441-444.
- [32] Li J, Davies BR, Han S, et al. The AKT inhibitor AZD5363 is selectively active in PI3KCA mutant gastric cancer, and sensitizes a patient-derived gastric cancer xenograft model with PTEN loss to Taxotere [J]. *J Transl Med*, 2013, 11: 241.
- [33] Ding S, Li C, Lin S, et al. Distinct roles of VEGF-A and VEGF-C in tumour metastasis of gastric carcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2007, 17(2): 369-375.
- [34] Jiang J, Wang DD, Yang M, 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.
- [35] Zhao K, He J, Wang Y, et al. EZH2-mediated epigenetic suppression of EphB3 inhibits gastric cancer proliferation and metastasis by affecting E-cadherin and vimentin expression [J]. *Gene*, 2019, 686: 118-124.
- [36] Wang CJ, Tong PJ, Zhu MY. The combinational therapy of trastuzumab and cetuximab inhibits tumor growth in a patient-derived tumor xenograft model of gastric cancer [J]. *Clin Transl Oncol*, 2016, 18(5): 507-514.
- [37] Kasurinen A, Tervahartiala T, Laitinen A, et al. High serum MMP-14 predicts worse survival in gastric cancer [J]. *PLoS One*, 2018, 13(12): e208800.
- [38] Kasai N, Sakakawa A, Hosomi K, et al. Anti-tumor efficacy evaluation of a novel monoclonal antibody targeting neutral amino acid transporter ASCT2 using patient-derived xenograft mouse models of gastric cancer [J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(7): 3399.
- [39] Park JW, Kim M, Voon DC, et al. Multi-omics analysis identifies pathways and genes involved in diffuse-type gastric carcinogenesis induced by E-cadherin, p53, and Smad4 loss in mice [J]. *Mol Carcinogen*, 2018, 57(7): 947-954.
- [40] Borodovsky A, Mcquiston TJ, Stetson D, et al. Generation of stable PDX derived cell lines using conditional reprogramming [J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 177.
- [41] Hidalgo M, Amant F, Biankin AV, et al. Patient-derived xenograft models: an emerging platform for translational cancer research [J]. *Cancer Discov*, 2014, 4(9): 998-1013.
- [42] Morton JJ, Bird G, Keysar SB, et al. XactMice: humanizing mouse bone marrow enables microenvironment reconstitution in a patient-derived xenograft model of head and neck cancer [J]. *Oncogene*, 2016, 35(3): 290-300.