

宋韶鹤,苗晋鑫,王峥,等. 食管癌小鼠模型研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(7): 140-146.

Song SH, Miao JX, Wang Z, et al. Advances in mouse models of esophageal cancer [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(7): 140-146.

doi: 10. 3969/ j. issn. 1671-7856. 2021. 07. 021

食管癌小鼠模型研究进展

宋韶鹤¹, 苗晋鑫^{2*}, 王 峥², 张春歆³, 苗明三^{2*}

(1.河南中医药大学第一附属医院,郑州 450000;2.河南中医药大学,郑州 450046;
3.郑州大学第一附属医院,郑州 450052)

【摘要】 食管癌是世界上消化道常见的恶性肿瘤之一,其发病率与死亡率呈逐年上升趋势,且趋于年轻化。食管癌的发病、转移和耐药机制尚未完全清楚。中药抗肿瘤和逆转耐药等作用日益受到关注。食管癌小鼠模型有益于分析人类食管癌发病机制与中医药防治肿瘤的研究策略。食管癌小鼠模型主要分为三大类,诱发性模型、移植性模型和基因工程模型。然而,尚没有一种模型能概括人类食管癌的所有特征,选择合适的食管癌小鼠模型来解决特定食管癌问题尤为重要。本文综合国内外研究文献,对目前常用的小鼠食管癌模型进行综述,归纳总结各类型食管癌小鼠模型制备方法及比较各模型优缺点与适用范围,以期为中医药防治食管癌的研究提供科学基础。

【关键词】 食管癌;小鼠模型;中药

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2021) 07-0140-07

Advances in mouse models of esophageal cancer

SONG Shaohe¹, MIAO Jinxin^{2*}, WANG Zheng², ZHANG Chunyang³, MIAO Mingsan^{2*}

(1. the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China.

2. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046. 3. the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052)

【Abstract】 Esophageal cancer is globally one of the most common malignant tumors of the digestive tract. Its morbidity and mortality are increasing annually, and it tends to affect more young people. The pathogenesis, metastasis, and drug resistance mechanisms of esophageal cancer are not fully understood. The anti-tumor role and reversal of drug resistance by traditional Chinese medicine have received increasing attention. The mouse model of esophageal cancer is helpful to analyze the pathogenesis of human esophageal cancer and the research strategy of traditional Chinese medicine on tumor prevention. Mouse models of esophageal cancer are mainly divided into three categories, induced models, transplanted models, and genetically engineered models. However, no model can represent all the characteristics of human esophageal cancer. It is particularly important to choose a suitable mouse model of esophageal cancer to solve specific esophageal cancer problems. This article summarizes the domestic and international research literature, reviews the current commonly used mouse esophageal cancer models, summarizes the preparation method of various types of esophageal cancer mouse models, and compares the advantages and disadvantages of each model and the scope of application, to provide a research basis for the prevention and treatment of esophageal cancer by traditional Chinese medicine.

【Keywords】 esophageal cancer; mouse model; traditional Chinese medicine

【基金项目】 中国博士后科学基金特别资助(2021T140184);河南省高等学校重点科研项目(21A360021);河南省博士后科研启动项目(202001043);河南省医学科技攻关计划项目(2018020067)。

【作者简介】 宋韶鹤(1986—),女,本科,主管药师,主要从事中药药理及动物模型研究。E-mail: 359074172@qq.com

【通信作者】 苗明三(1965—),博士,教授,主要从事中药药理教学与研究。E-mail: miaomingsan@163.com

苗晋鑫(1986—),博士,助理研究员,主要从事动物模型及肿瘤防治研究。E-mail: jinxin.miao@yahoo.com

* 共同通信作者

食管癌(esophageal cancer, EC)是消化道常见的恶性肿瘤之一,其发病率和死亡率分别居全球恶性肿瘤的第 8 位和第 6 位,且逐年上升和趋于年轻化^[1]。我国是食管癌高发地区,食管癌发病率和死亡率均居世界首位,且新发病例占据世界新发食管癌病例一半以上^[2]。食管癌主要有两种病理组织类型,食管腺癌(esophageal adeno-carcinoma, EAC)和食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)^[3],我国食管癌类型主要是食管鳞癌^[4]。尽管现代治疗技术取得了新的进展,但是食管癌预后仍然很差,5 年生存率不足 20%^[5-6]。现今,中药防治肿瘤受到更多关注,临床研究显示中药能显著提高食管癌患者免疫能力、逆转化疗药物的耐药性以及改善预后^[7-8]。但是,中药防治食管癌的分子机制尚不完全清楚。因此,了解这些机制对中药改善食管癌患者的预后至关重要。食管癌小鼠模型是研究 EC 发生、发展、转移和治疗肿瘤策略进行临床前测试重要的实验工具。本文回顾了目前常用的 EC 小鼠模型,包括化学诱导性食管癌模型、移植性食管癌模型、基因工程小鼠模型。对每种 EC 小鼠模型的制备方法、模型特点及使用范围进行阐述和比较,为食管癌小鼠模型的发展和中医药防治食管癌的研究提供科学依据。

1 诱发性食管癌小鼠模型

诱发性食管癌小鼠模型多为致癌因素与动物的食管直接或间接接触,使食管发生癌变,形成食管癌动物模型。化学法是诱发动物的食管癌常用的方法之一,通过化学致癌物使小鼠致癌,建立化学诱导小鼠食管癌模型。化学致癌物的剂量、给药方案、小鼠品系和年龄等诸多因素影响化学致癌物诱发肿瘤发生率。亚硝胺类致癌物是食管癌诱发模型的诱癌剂,但是相关法律规定亚硝胺类化学物不在用于动物实验。本文重点介绍,4-硝基喹啉-N-氧化物(4-NQO)诱发小鼠食管癌以及致癌物结合转基因小鼠模型研究食管癌。

4-NQO 是一种水溶性的喹啉衍生物,在体内 4-NQO 主要在还原酶的作用下引起 DNA 单链断裂、碱基缺失和氧化碱基等 DNA 的损伤而产生癌变。由于食管分布较多的 4-NQO 还原酶,所以食管是 4-NQO 作用的主要靶器官之一。Tang 等^[9]首先用 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 4-NQO 放入水中,使 C57BL/6 或

CBA 小鼠自由饮水 16 周,然后用正常水继续喂养 12 周,28 周病理组织观察所有的小鼠食管出现扁平的鳞状异型增生,外生性乳头鳞状肿瘤和浸润性鳞状细胞癌等食管鳞癌特征。杜展等^[10]用同样的方法建立食管癌模型,利用食管拉网的方法检测 12 周的小鼠食管,病理组织学发现食管上皮不典型增生,且分别在第 16、20 和 24 周观察到浸润性食管鳞癌的发生。研究人员利用复方化浊润燥降气方能有效减轻 4-NQO 诱导的小鼠食管癌前病变模型的病理损害程度,确定复方化浊润燥降气方能够预防和治疗小鼠食管癌前病变^[11]。Zheng 等^[12]在饮水中用 18 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 4-NQO 处理雌雄各 8 只 129J/C57B6/L 小鼠 8 周,然后换成常规饮用水处理 10 周,结果在第 18 周结束时,小鼠食管既有腺癌又有鳞状细胞癌两种类型,且雄性小鼠对 ESCC 的肿瘤发生更敏感。吕翠田等^[13]利用六君子汤对 4-NQO 诱导的食管癌小鼠干预,六君子汤组小鼠活动较正常,体重下降不明显;与模型组相比,六君子汤组显著提高 $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$ T 细胞比例,提高 IL-10 等细胞因子水平提升机体免疫功能,纠正 $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$ T 细胞比例改善免疫功能失衡及免疫抑制。

许多基因工程小鼠对 4-NQO 诱导的食管癌变表现出更高的敏感性。王立群等^[14]利用 4-NQO 诱导 *SLC39A5* 基因敲除的 C57BL/6 小鼠和野生 C57BL/6 小鼠食管癌模型的成瘤情况,*SLC39A5* 基因敲除小鼠诱导成瘤率低于野生小鼠,确定 *SLC39A5* 基因对食管癌发生有影响。另外,miR-31 过表达转基因小鼠模型和 *Cyclin D1* 过表达转基因小鼠, *Nrf2* 基因敲除小鼠模型和 *p53* 突变小鼠模型结合 4-NQO 饮水诱导更易于诱发食管鳞状细胞癌^[15]。以上研究提示,诱发性食管癌模型制备方法稳定,致癌部位集中在上消化道,成模率高,模拟了食管癌动态发展过程,有助于食管癌变机制与形态学的研究。但是化学诱导的食管癌病变演变迅速和成瘤部位难确定,需要控制造模时间。

2 移植性食管癌小鼠模型

移植性食管癌小鼠模型是将食管癌组织或细胞系接种于小鼠体内形成食管癌动物模型。根据不同的移植部位,分为异位移植(皮下或腹腔)与原位移植(食管)^[16-17];根据不同的移植肿瘤处理方式,分为细胞移植和组织块移植。同种移植(动物

之间)模型在食管癌中研究很少,我们不做阐述。异种移植(人与动物之间)食管癌小鼠模型是目前应用最多的食管癌动物模型,主要将人食管癌细胞或人食管癌组织接种于免疫缺陷小鼠而建立的模型。本文主要介绍皮下异种移植瘤模型与原位异种移植瘤模型。

2.1 皮下异种移植瘤模型

皮下异种移植瘤是指将人的食管癌细胞系或患者食管癌组织接种于免疫缺陷小鼠的皮下,使免疫缺陷小鼠皮下形成肿瘤。多种人食管鳞癌细胞株 KYSE-270、KYSE-70、KYSE-30 以及食管腺癌细胞株 OACM5.1 和 SK-GT-4 等用于皮下细胞系异种移植 (cell-line-derived xenograft, CDX) 模型的建立^[18]。彭海燕等^[19]将食管鳞癌 Eca109 细胞接种裸鼠皮下,建立食管鳞癌移植瘤模型,体内评价槲寄生碱抑制食管癌移植瘤生长和延长荷瘤小鼠的生存期。利用 Eca109 建立裸鼠皮下异种移植瘤模型评价启膈化痰合剂对顺铂治疗小鼠有增效作用^[20]。Crescenzi 等^[21]将 1×10^6 食管鳞癌 Kyse-30 细胞皮下接种重度联合免疫缺陷 (SCID) 小鼠双背外侧,成功建立了 ESCC 皮下移植瘤模型。Ma 等^[22]利用食管 Eca109 细胞皮下异种移植裸鼠建立食管癌小鼠模型,通过体内模型阐明双氢青蒿素(青蒿素衍生物)可能通过细胞阻滞诱导自噬。柏文等^[23]利用绿色荧光蛋白 (GFP) 和荧光素酶 (Luc) 双标记 ECA109 细胞建立光学 EC 肿瘤模型,动态观察 ECA109 食管癌细胞在裸鼠皮下生长过程。虽然远处转移是 EC 的常见现象,但是极少有研究报道食管癌皮下异种移植模型发生远端转移。Liu 等^[24]比较了 8 种食管癌细胞分别接种 4 种不同类型的免疫缺陷小鼠,发现 5×10^6 的食管腺癌 FLO-1 细胞皮下接种 12 只 NOD-SCID IL-2R γ^{KO} (NSG) 小鼠和 5 只 NOD-SCID 小鼠均能皮下成瘤,但只有 11 只 NSG 小鼠发生了肝转移。细胞系移植皮下肿瘤生长速度快且可以直接评估肿瘤的生长,但是细胞系缺乏肿瘤异质性,无法反应有限数量细胞引起的人类肿瘤发展等局限性。

由于皮下 CDX 移植模型的局限性,研究人员开发患者来源的异种移植 (patient-derived tumor xenograft, PDX) 模型用于肿瘤的研究。Zou 等^[25]利用 EC 患者手术切除的新鲜食管鳞癌组织皮下植于

SCID 小鼠,成功建立 ESCC PDX 移植小鼠模型,结果发现 ESCC PDX 在组织病理学特征和化学敏感性与原发性肿瘤高度吻合。PDX 保留了人类肿瘤的原始结构和基质成分,并保留了人肿瘤的异质性,产生 PDX 的原始组织可以在体内连续扩增等优势。但是较长的模型建立时间和需要免疫缺陷宿主限制了该动物模型的扩大应用。

2.2 原位异种移植瘤模型

皮下移植瘤模型不是自然形成的肿瘤,难以模拟人类食管癌原位生长的情况以及远处转移的特征,与皮下模型相比,原位移植模型是研究 EC 更好的选择。原位移植是在食管接种人的食管癌细胞或组织,数周后肿瘤形成并发生肿瘤侵袭及远处器官转移。Gros 等^[26]利用质粒转染方法获得 GFP 稳定表达的人食管腺癌 PT1590 细胞,将 PT1590-GFP 细胞皮下注射裸鼠,肿瘤发生后无菌切除、破碎,通过手术将 1 mm^3 的肿瘤块植入小鼠腹部食管腔,建立模拟 EAC 患者原发肿瘤生长以及肝、肺和淋巴结转移模型。另有研究利用荧光素酶标记人食管鳞癌 TE8 细胞, 2×10^6 细胞注射裸鼠腹段食管,利用小动物活体成像发现 3 周开始出现食管肿瘤,表明成功建立了 ESCC 原位移植模型^[27]。有报道利用生物发光成像技术建立 ESCC 原位移植模型,用于评价药物作用^[28]。原位移植模型模拟了患者食管癌发生的局部和转移特征,且能够短期内检测药物的疗效及治疗策略。但是由于解剖部位特殊和移植手术的复杂,此模型应用受到限制。另外,由于是免疫缺陷小鼠,无法研究肿瘤与宿主相关因素。

3 基因工程食管癌小鼠模型

诱发性食管癌小鼠模型是研究环境因素的必要动物模型,而肿瘤的发生和发展还受体内多基因的变化和多因素的累积等综合影响。因此,需要基因工程小鼠模型的建立,该模型加强了对癌症生物学的理解,可用于明确基因功能以及鉴别新的癌症基因和肿瘤生物标志物在食管癌的作用,提高对食管癌发病机制的认识^[29]。基因编辑技术可构建基因敲入和敲除以及条件/诱导动物模型^[30-31]。本文主要阐述转基因食管癌小鼠模型和基因敲除食管癌小鼠模型(表 1)。

表 1 化学诱导和基因工程改造的食管癌小鼠模型
Table 1 Comparison of mouse models of esophageal cancer

动物模型 Animal model	方法 Method	表型 Phenotype	文献 References
4-NQO 诱发模型 4-NQO induced model	饮用含 4-NQO 水 16 周, 然后恢复正常水 12 周 4-NQO water for 16 weeks, then return to normal water for 12 weeks	CBA 和 C57BL/6 小鼠发生乳头状瘤和浸润性 ESCC, 且发生率 100% CBA and C57BL/6 mice developed papilloma and invasive ESCC, 100% incidence	[9]
<i>ED-L2/Cyclin D1</i> ; <i>p53</i> ^{-/-}	<i>Cyclin D1</i> 过表达和 <i>p53</i> 缺失 <i>Cyclin D1</i> overexpression and <i>p53</i> deletion	12 个月的 <i>ED-L2/Cyclin D1</i> ; <i>p53</i> ^{-/-} 小鼠出现 ESCC; 25% 的 <i>ED-L2/Cyclin D1</i> ; <i>p53</i> ^{+/-} 小鼠发生淋巴结转移 12 months old <i>ED-L2/Cyclin D1</i> ; <i>p53</i> ^{-/-} mice have ESCC; 25% of <i>ED-L2/Cyclin D1</i> ; <i>p53</i> ^{+/-} mice have lymph node metastasis	[32]
<i>ED-L2/ Klf4</i>	<i>Klf4</i> 过表达 <i>Klf4</i> overexpression	6 个月的小鼠食管发生慢性炎症和发育不良; 20~24 个月发生 ESCC Chronic inflammation and dysplasia occurred in the esophagus of mice at 6 months; ESCC occurred at 20~24 months	[33]
<i>ED-L2/ IL-1β</i>	<i>IL-1β</i> 过表达 <i>IL-1β</i> overexpression	6 个月小鼠食管发生炎症; 12~15 个月小鼠出现严重的柱状化生; 20~22 个月小鼠发生严重不典型增生或食管腺癌 Inflammation of the esophagus occurred in 6 mice; severe columnar metaplasia occurred in mice at 12~15 months; severe dysplasia or esophageal adenocarcinoma occurred in mice at 20~22 months	[34]

3.1 转基因食管癌小鼠模型

不同组织和细胞的特异性启动子已被用于研究食管功能。疱疹病毒 (EBV) 的 *ED-L2* 启动子在上皮细胞中表达, 尤其在食管的基底层分化细胞中更具活性。*ED-L2* 在转基因小鼠模型中靶向细胞周期蛋白 D1 (CyclinD1), 导致食管鳞状细胞发育不良和食管的癌前病变^[35]。此小鼠模型具有严重的不典型增生特点, 其核细胞质比例异常, 导致口腔和食道发育异常, 这是癌症的重要前兆。与 *p53* 基因缺失的小鼠杂交的 *ED-L2/Cyclin D1* 小鼠发生食管鳞癌, 其中约三分之一的小鼠发现淋巴结转移^[32]。Tetreault 等^[33] 采用 *ED-L2* 启动子在小鼠食管上皮细胞中过表达 Krüppel 样因子 4 (Klf4) 转录调节因子, 建立转基因食管癌小鼠模型。该小鼠模型出现食管鳞状上皮不典型增生和鳞状细胞癌。除了转基因 ESCC 小鼠模型, 研究人员还开发了转基因 EAC 小鼠模型。Quante 等^[34] 构建 *ED-L2* 启动子驱动细胞因子 1β (IL-1β) 在食管过表达的转基因小鼠, 发现 *IL-1β* 过表达的小鼠在 6 个月时出现中度炎症, 在 12~15 个月时出现巴雷特化生, 到 20~22 个月时, 小鼠会发展为高度不典型增生或食管腺癌。这些转基因小鼠模型可以准确地概括人类肿瘤中发现的遗传改变, 并研究相关基因与食管癌发生的相互作用。

3.2 基因敲除食管癌小鼠模型

Stairs 等^[35] 使用 *ED-L2* 启动子和条件性敲除

p120-catenin 基因的小鼠, 在 9~12 个月时会导致食管、前胃和口腔发生不典型增生和浸润性鳞状细胞癌的形成。最早在 *L2Cre*; *p120ctn*^{loxP/loxP} 小鼠 4 月龄时, 即可发生食管癌浸润。*p120-catenin* 基因敲除小鼠模型概括了人类的 ESCC 特征, 同时验证了 *p120-catenin* 的抑癌作用。研究提示, 该模型为食管和口腔鳞状细胞癌早期诊断与治疗策略提供新的动物模型。

4 其他

食管癌转移动物模型报道数量有限。静脉内注射癌细胞是通常用于癌细胞进入远端器官的造模方法。Wang 等^[36] 通过小鼠尾静脉注射 1×10^6 食管鳞癌 KYSE150 细胞建立食管癌肺转移小鼠模型, 发现注射肿瘤细胞 35 d 后出现肺转移。在肺转移模型中, 云南藤黄提取的天然化合物 oblongifolin C 能有效抑制肺转移^[36]。另一项研究将 5×10^6 YES-2 食管鳞癌细胞腹腔注射 SCID 小鼠, 导致食管鳞癌细胞在腹膜腔中定植并产生血性腹水, 建立腹膜转移小鼠模型^[37]。该模型用于评价三萜类化合物和抗癌药物的组合治疗效果, 结果表明三萜类化合物增强 5-氟尿嘧啶对食管癌的化疗作用。这些模型虽然不能模拟发生在患者上的完整转移过程和可能掩盖对转移生物学的理解, 但是可用于评价抗转移中药及其化学成分的验证。

5 结论与展望

中医药对改善食管癌患者生存质量,提高生存预后有良好的作用。食管癌小鼠模型对中医理论的实践和中药抗食管癌的评价至关重要。比较分析食管癌小鼠模型特征发现(表2),诱发性食管癌小鼠模型能很好模拟人类食管癌发生和发展病理过程,是良好的食管癌及其癌前病变的诱发性食管癌模型,用于研究特定化学物对食管的致癌作用及

多种中医药(化浊润燥降气方、六君子汤)抗食管癌及癌前病变的研究^[13,38];移植性食管癌小鼠模型较好模拟食管癌的主要临床特征,可用于研究食管癌生长和转移研究以及为食管癌开发新的疗法,为临床实践做出贡献;基因工程食管癌小鼠模型可用于研究特定基因功能对食管癌的影响,以及食管癌发生的细胞与分子机制,有助于了解肿瘤生物学特性。移植性小鼠模型是肿瘤研究、开发和评价中医药抗肿瘤应用最多的动物模型^[39-42]。皮下移植模

表2 食管癌小鼠模型
Table 2 Mouse models of esophageal cancer

模型类型 Model type	制备方法 Method	优点 Advantage	缺点 Disadvantage	应用范围 Applicable scope	文献 References
诱发型 Induced	致癌物处理 Carcinogen treatment	诱导癌变率高;模拟外环境等因素致食管癌 Induces highly rate of cancer; simulates the external environment factors to esophageal cancer	诱发周期长;小鼠背景影响造模;未有转移 Induction cycle is long; genetic background affects the mice modeling; no metastasis	研究形态学和化学物致癌机制 Study morphology, carcinogenic mechanism of chemicals	[9,14]
皮下异种移植模型 Subcutaneous xenograft model	CDX	易操作;成瘤率高;成本低 Simple operation; high tumor formation rate; low cost	生物学特征单一;无法研究肿瘤细胞与宿主免疫应答的相互作用;很少发生转移 Biological characteristics single; a large number of cells need to be injected; the interaction between tumor cells and the host immune response cannot be studied; rarely metastasis	研究食管癌机制和抗食管癌药物的筛选 Research on the mechanism of esophageal cancer and screening of anti-esophageal cancer drugs	[18]
	PDX	保留肿瘤异质性;组织和生物学特征相似 Preserving tumor heterogeneity; similar tissue and biological characteristics	无法研究肿瘤细胞与宿主免疫应答的相互作用;不能反映食管癌变的过程 Unable to study the interaction between tumor cells and the host immune response; unable to reflect the entire process of esophageal carcinogenesis	抗食管癌药物的筛选,食管癌基础及转化医学研究 Screening of anti-esophageal cancer drugs, esophageal cancer basic and translational medicine research	[25]
原位异种移植模型 Orthotopic xenograft model	人食管癌细胞植入小鼠食管壁 Human esophageal cancer cells implanted to mouse esophagus	与人类疾病的发展极为相似;简化候选基因的功能分析 Similar to the development of human diseases; simplifies the functional analysis of candidate genes	技术较难;模型制备较贵;确定治疗效果的终点更为复杂;发生转移 Technology difficult; model preparation is more expensive; determining the end point of treatment effect is more complicated; metastasis occurs	发病及转移机制研究,抗食管癌及食管癌转移药物的筛选 Research on the pathogenesis and metastasis mechanism, screening of anti-esophageal cancer and metastasis drugs	[26]
基因工程小鼠模型 Genetic engineered mice model	基因缺失或插入 Gene deletion or insertion	小鼠具有免疫能力;肿瘤自发生和发展;致癌物可增强其表型 Immune mice; tumors grow and develop spontaneously; carcinogens can enhance their phenotypes	价格较贵;食管中特异表达基因的选择有限 Expensive; limited options for specifically expressed genes in the esophagus	明确新的癌症基因和肿瘤生物标志物在食管癌的作用;抗食管癌药物的筛选 Clarify new cancer genes and tumor biomarkers in esophageal cancer; screening of anti-esophageal cancer drugs	[32]

型易操作、成瘤快和成功率高,但较少的转移限制其应用;原位移植模型模拟食管癌体内发生发展及转移的过程,符合食管癌临床实际。以上常见的食管癌小鼠模型各具特色,应根据实验目的选择合适的小鼠模型。最大化的发挥食管癌小鼠模型的潜力,多种模型相结合,更好地了解食管癌发病机理及中药防治抗肿瘤的分子机制。随着对食管癌研究的不断深入和技术的进步,食管癌小鼠模型能更好的模拟人类患者食管癌,探索食管癌发病及中药治疗机制。为食管癌小鼠模型的开发及抗食管癌中药的评价提供理论基础和科学依据。

参考文献:

- [1] World Health Organization. The international agency for research on cancer (2020) [N]. World Health Organization, 2020, <https://www.iarc.fr/faq/latest-global-cancer-data-2020-qa/>.
- [2] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018 [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(1): 7-30.
- [3] Zhang Z, Zhang C, Miao J, et al. A Tumor-targeted replicating oncolytic adenovirus Ad-TD-nsIL12 as a promising therapeutic agent for human esophageal squamous cell carcinoma [J]. Cells, 2020, 9(11): E2438.
- [4] Bray F, Ferla J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- [5] Li X, Francies HE, Secrier M, et al. Organoid cultures recapitulate esophageal adenocarcinoma heterogeneity providing a model for clonality studies and precision therapeutics [J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 2983.
- [6] Huang FL, Yu SJ. Esophageal cancer: Risk factors, genetic association, and treatment [J]. Asian J Surg, 2018, 41(3): 210-215.
- [7] 曹志秀,李厚华,李媛,等. 转基因天山雪莲类黄酮成分及抗肿瘤活性分析 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(22): 133-139.
- [8] 王振祥,李志刚,王小伟,等. 散结通膈汤联合替吉奥治疗中晚期痰气互阻型食管癌的临床观察 [J]. 中医肿瘤学杂志, 2020, 2(3): 31-35.
- [9] Tang XH, Knudsen B, Bemis D, et al. Oral cavity and esophageal carcinogenesis modeled in carcinogen-treated mice [J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(1): 301-313.
- [10] 杜展,王超,张勇,等. C57BL/64 小鼠食管鳞状细胞癌早期病变的形态学改变 [J]. 世界华人消化杂志, 2013, 21(2): 116-121.
- [11] 范焕芳,单保恩,韩长辉. 复方化浊润燥降气方对小鼠食管癌前病变的干预作用 [J]. 中国癌症防治杂志, 2015, 7(6): 389-393.
- [12] Zheng D, Li Z. A sex-dimorphic mouse model of esophageal squamous cell carcinoma [J]. Am J Cancer Res, 2019, 9(2): 429-433.
- [13] 吕翠田,董志斌,陈玉龙. 六君子汤对 4-硝基喹啉-1-氧化物诱导食管癌小鼠免疫调节的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(7): 2831-2834.
- [14] 王立群,靳晶,刘聪敏,等. 敲除 SLC39A5 基因对 4-NQO 诱发 C57BL/6 小鼠食管癌模型建立的影响 [J]. 肿瘤防治研究, 2018, 45(2): 61-66.
- [15] Tseng SH, Yang CC, Yu EH, et al. K14 - EGFP-miR-31 transgenic mice have high susceptibility to chemical-induced squamous cell tumorigenesis that is associating with Ku80 repression [J]. Int J Cancer, 2015, 136(6): 1263-1275.
- [16] Lee NP, Chan CM, Tung LN, et al. Tumor xenograft animal models for esophageal squamous cell carcinoma [J]. J Biomed Sci, 2018, 25(1): 66-74.
- [17] Hassan MS, von Holzen U. Animal model: Xenograft mouse models in esophageal adenocarcinoma [J]. Methods Mol Biol, 2018, 1756: 151-164.
- [18] Nair DV, Reddy AG. Laboratory animal models for esophageal cancer [J]. Vet World, 2016, 9(11): 1229-1232.
- [19] 彭海燕,章永红,韩英,等. 榭寄生碱抗肿瘤作用的研究 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(5): 381-382, 387.
- [20] 周青,孙长侠,孙斐,等. 启膈化痰合剂对顺铂治疗小鼠食管癌的减毒增效作用 [J]. 中国现代中药, 2018, 20(3): 283-287, 297.
- [21] Crescenzi M, Persano L, Esposito G, et al. Vandetanib improves anti-tumor effects of L19mTNFalpha in xenograft models of esophageal cancer [J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(3): 447-458.
- [22] Ma Q, Liao H, Xu L, et al. Autophagy-dependent cell cycle arrest in esophageal cancer cells exposed to dihydroartemisinin [J]. Chin Med, 2020, 15: 37.
- [23] 柏文,彭晓清,王佩文,等. GFP/Luc 双标食管癌细胞动物模型建立及其活体成像观察 [J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(11): 89-94.
- [24] Liu DS, Hoefnagel SJ, Fisher OM, et al. Novel metastatic models of esophageal adenocarcinoma derived from FLO-1 cells highlight the importance of E-cadherin in cancer metastasis [J]. Oncotarget, 2016, 7(50): 83342-83358.
- [25] Zou J, Liu Y, Wang J, et al. Establishment and genomic characterizations of patient-derived esophageal squamous cell carcinoma xenograft models using biopsies for treatment optimization [J]. J Transl Med, 2018, 16(1): 15.
- [26] Gros SJ, Dohrmann T, Peldschus K, et al. Complementary use of fluorescence and magnetic resonance imaging of metastatic esophageal cancer in a novel orthotopic mouse model [J]. Int J Cancer, 2010, 126(11): 2671-2681.
- [27] Kuroda S, Fujiwara T, Shirakawa Y, et al. Telomerase-dependent oncolytic adenovirus sensitizes human cancer cells to ionizing radiation via inhibition of DNA repair machinery [J]. Cancer Res, 2010, 70(22): 9339-9348.
- [28] Ip JC, Ko JM, Yu VZ, et al. A versatile orthotopic nude mouse

- model for study of esophageal squamous cell carcinoma [J]. Biomed Res Int, 2015, 2015; 910715.
- [29] Zhu L, Xu Y, Chen X, et al. The establishment of esophageal precancerous lesion model by using *p53* conditional knockout mouse in esophageal epithelium [J]. BioMed Res Int, 2020, 2020; 4534289.
- [30] Khan SH. Genome-editing technologies; concept, pros, and cons of various genome-editing techniques and bioethical concerns for clinical application [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2019, 16; 326–334.
- [31] Li R, Miao JX, Fan ZQ, et al. Production of genetically engineered golden syrian hamsters by pronuclear injection of the CRISPR/Cas9 complex [J]. J Vis Exp, 2018, 131; 56263.
- [32] Opitz OG, Harada H, Suliman Y, et al. A mouse model of human oral-esophageal cancer [J]. J Clin Invest, 2002, 110(6); 761–769.
- [33] Tetreault MP, Wang ML, Yang Y, et al. Klf4 overexpression activates epithelial cytokines and inflammation-mediated esophageal squamous cell cancer in mice [J]. Gastroenterology, 2010, 139(6); 2124–2134.
- [34] Quante M, Bhagat G, Abrams JA, et al. Bile acid and inflammation activate gastric cardia stem cells in a mouse model of Barrett-like metaplasia [J]. Cancer Cell, 2012, 21(1); 36–51.
- [35] Stairs DB, Bayne LJ, Rhoades B, et al. Deletion of p120-catenin results in a tumor microenvironment with inflammation and cancer that establishes it as a tumor suppressor gene [J]. Cancer Cell, 2011, 19(4); 470–483.
- [36] Wang X, Lao Y, Xu N, et al. Oblongifolin C inhibits metastasis by up-regulating keratin 18 and tubulins [J]. Sci Rep, 2015, 5; 10293.
- [37] Yamai H, Sawada N, Yoshida T, et al. Triterpenes augment the inhibitory effects of anticancer drugs on growth of human esophageal carcinoma cells *in vitro* and suppress experimental metastasis *in vivo* [J]. Int J Cancer, 2009, 125(4); 952–960.
- [38] 范焕芳, 黄茂, 单保恩, 等. 小鼠食管癌前病变组织 P53 表达及化浊润燥降气方的干预作用 [J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(16); 3950–3951.
- [39] 崔清, 董昀, 张铭, 等. 食道通结方对裸鼠食管癌移植瘤中 TE-1 细胞增殖及凋亡的影响 [J]. 上海中医药杂志, 2016, 50(5); 65–69.
- [40] Chen Y, Huang K, Ding X, et al. Magnolol inhibits growth and induces apoptosis in esophagus cancer KYSE-150 cell lines via the MAP kinase pathway [J]. J Thorac Dis, 2019, 11(7); 3030–3038.
- [41] 苗晋鑫, 宋韶鹤, 李秀敏. 结直肠癌小鼠模型研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(2); 267–272.
- [42] 王峥, 苗晋鑫. 黑色素瘤小鼠模型研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(2); 120–127.

[收稿日期]2020-08-28