



中国比较医学杂志
Chinese Journal of Comparative Medicine
ISSN 1671-7856, CN 11-4822/R

《中国比较医学杂志》网络首发论文

题目： 女性生殖系统恶性肿瘤小鼠人源性肿瘤组织异种移植模型构建可行性探索
作者： 何玥, 张明悦, 吉晨, 王明, 李星明, 崔建芬, 张晶晶, 刘真佑, 魏佳慧, 钟萍萍, 吴玉梅, 王雁
收稿日期： 2025-09-25
网络首发日期： 2026-06-01
引用格式： 何玥, 张明悦, 吉晨, 王明, 李星明, 崔建芬, 张晶晶, 刘真佑, 魏佳慧, 钟萍萍, 吴玉梅, 王雁. 女性生殖系统恶性肿瘤小鼠人源性肿瘤组织异种移植模型构建可行性探索[J/OL]. 中国比较医学杂志.
<https://link.cnki.net/urlid/11.4822.R.20260601.1138.002>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

女性生殖系统恶性肿瘤小鼠人源性肿瘤组织异种移植模型构建可行性探索

何玥^{1,3#}, 张明悦^{1,3#}, 吉晨^{1,3}, 王明^{1,3}, 李星明², 崔建芬^{1,3}, 张晶晶¹,
刘真佑^{1,3}, 魏佳慧^{1,3}, 钟萍萍³, 吴玉梅^{1,3✉}, 王雁^{1✉}

(1.首都医科大学附属北京妇产医院/北京妇幼保健院 妇科肿瘤科, 北京 100006; 2.首都医科大学附属北京妇产医院/北京妇幼保健院 病理科, 北京 100006; 3.首都医科大学女性生殖系统肿瘤前沿技术研发和转化联合实验室, 北京 100006)

*通信作者 吴玉梅 (1959—), 女, 博士, 教授, 主任医师, 研究方向: 妇科肿瘤临床与基础。E-mail: wym597118@ccmu.edu.cn; 王雁 (1968—), 女, 博士, 主任医师, 研究方向: 妇科肿瘤临床与基础。E-mail: wwyy3196@ccmu.edu.cn

摘要 目的 探索女性生殖系统小鼠人源性肿瘤组织异种移植 (PDX) 模型构建可行性及影响因素。方法 收集 2023 年 3 月至 2023 年 10 月在首都医科大学附属北京妇产医院进行治疗的 78 名女性生殖系统恶性肿瘤患者临床信息, 肿瘤组织留存并移植到裸鼠或免疫缺陷小鼠进行 PDX 模型构建和传代, 观察到 2024 年 6 月。结果 在 37 例具有明确结局的小鼠 PDX 模型中, 22 例 (59.5%) 肿瘤组织成功植入小鼠, 其中 7 例 (18.9%) 进一步成功传代并建立了稳定 PDX 模型, 15 例 (40.54%) 失败。成功移植组与失败组在肿瘤分期、类型和分化程度方面无显著性差异 ($P>0.05$)。对于宫颈癌组织 ($n=19$), 移植成功率和建模成功率分别为 63.2% (12/19) 和 15.8% (3/19); 对于子宫内膜癌组织 ($n=10$), 成功率分别为 60.0% (6/10) 和 10.0% (1/10); 对于卵巢癌组织 ($n=5$), 成功率分别为 80.0% (4/5) 和 60.0% (3/5)。新辅助化疗 (NACT) 后获取的肿瘤组织以及来自转移灶的组织也成功用于 PDX 模型的建立。结论 利用女性生殖系统肿瘤构建小鼠 PDX 模型具有可行性, 对于化疗后或者转移部位肿瘤构建同样适用。

关键词 女性生殖系统肿瘤; 人源性肿瘤组织异种移植模型; 宫颈癌; 子宫内膜癌; 卵巢癌

中图分类号 R737.3; R-332; R730.231 **文献标志码** A

Exploring the feasibility of establishing PDX mouse models for female reproductive system malignancies

HE Yue^{1,3#}, ZHANG Mingyue^{1,3#}, JI Chen^{1,3}, WANG Ming^{1,3}, LI Xingming², CUI Jianfen^{1,3}, ZHANG Jingjing¹, LIU Zhenyou^{1,3}, WEI Jiahui^{1,3}, ZHONG Pingping³, WU Yumei^{1,3✉}, WANG Yan^{1✉}

(1. Department of Gynecological Oncology, Beijing Obstetrics and Gynecology Hospital, Capital Medical University. Beijing Maternal and Child Health Care Hospital, Beijing 100006, China; 2. Department of Pathology, Beijing Obstetrics and Gynecology Hospital, Capital Medical University. Beijing Maternal and Child Health Care Hospital, Beijing 100006; 3. Joint Laboratory for Advanced Technology Research and Translational Medicine in Gynecologic Tumors, Capital Medical University, Beijing 100006)

Abstract Objective To evaluate the feasibility of establishing patient-derived tumor xenograft (PDX) models of gynecologic malignancies in mice and to explore influencing factors. Methods Tumor tissues from 78 patients with gynecologic malignancies treated at Beijing Obstetrics and Gynecology Hospital, Capital Medical University, between March 2023 and October 2023 were collected and implanted into nude or immunodeficient mice for PDX model establishment and passaging. Follow-up was conducted until June 2024. Results Among 37 models with definite outcomes, tumor tissues from 22 cases (59.46%) were successfully implanted in mice, of which 7 cases (18.92%) were successfully passaged to establish

收稿日期: 2025-09-25

基金项目: 国家自然科学基金 (82102711); 北京市科协金桥工程种子资金项目 (C 类); 北京市科学技术委员会首都临床特色诊疗技术研究及转化应用 (Z221100007422087); 临床医学发展专项“扬帆”计划 (ZLRK202529); 北京市医师科学家培养计划 (BJPSTP-2025-49)。

作者简介: 何玥 (1987—), 女, 博士, 副教授, 主任医师, 研究方向: 妇科肿瘤临床与基础。E-mail: yueyue870610@ccmu.edu.cn; 张明悦 (2002—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 妇科肿瘤临床与基础。E-mail: zmy14740397996@163.com

网络首发时间: 2026-06-01 14:55:14 网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/11.4822.R.20260601.1138.002>

stable PDX models, while 15 cases (40.54%) failed. No significant differences were observed between successful and failed implantation groups in tumor stage, type, or differentiation ($P>0.05$). For cervical cancer tissues ($n=19$), the implantation and modeling success rates were 63.2% (12/19) and 15.8% (3/19), respectively. For endometrial cancer tissues ($n=10$), the rates were 60.0% (6/10) and 10.0% (1/10), respectively. For ovarian cancer tissues ($n=5$), the rates were 80.0% (4/5) and 60.0% (3/5), respectively. Tumor tissues obtained after neoadjuvant chemotherapy (NACT) and from metastatic sites were also successfully used for PDX model establishment. Conclusions Establishment of PDX models using gynecologic malignancies is feasible, including tumors after chemotherapy or from metastatic lesions.

Key words female reproductive system tumors; patient-derived tumor xenograft model; cervical cancer; endometrial cancer; ovarian cancer

肿瘤动物模型在肿瘤机理研究和抗癌药物研发过程中具有不可替代的作用。传统的肿瘤动物模型建立应用永生化的细胞株,不能完整反映肿瘤的异质性和生物学特性,得到的临床前实验结果往往与临床治疗结果不一致。近年来,利用患者肿瘤组织直接移植到免疫缺陷鼠建立的人源异种移植肿瘤(patient-derived tumor xenograft, PDX)模型,在组织病理学及分子生物学水平(包括基因水平)上能够较好地保留原发肿瘤的特征,具有较好的临床疗效预测价值。由于妇科肿瘤复发转移不同特质,如何有效保存妇科肿瘤患者肿瘤标本进行研究困扰着很多妇科肿瘤研究人员。本文主要研究如何采集女性生殖系统肿瘤手术标本,植入到免疫缺陷小鼠皮下构建女性生殖系统恶性肿瘤的小鼠 PDX 模型库,统计不同妇科肿瘤小鼠 PDX 模型成功率,初步探索可能会影响建模成功的因素,希望在此研究基础上,开发与临床高度相关的肿瘤模型,为未来 PDX 模型在临床中应用和标准化推广的可行性提供依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

雌性 SPF 级 BALB/c nude 裸鼠(11 只,6~8 周龄,体质量 20~22 g)和雌性 SPF 级 NTG 小鼠(26 只,6~8 周龄,体质量 20~22 g)。NTG 小鼠是在 NOD-SCID 小鼠 *Prkdc* 基因突变基础上,利用 CRISPR/Cas9 技术敲除 *IL2rg* 基因构建而成。实验动物均购自北京斯贝福生物技术有限公司[SCXK(京)2024-0001],饲养于北京亦康科技有限公司中心 SPF 级屏障设施中[SYXK(京)2024-0028]。动物饲养环境温度控制在 22~26 °C,相对湿度为 40%~60%,采用 12 h/12 h 光暗循环,自由摄食饮水。所有动物实验操作均遵循 3R 原则,并经亦康(北京)科技有限公司动物伦理委员会批准(YKBJ-IACUC-21-2301-002)。

1.1.2 肿瘤标本来源

肿瘤标本均来自首都医科大学附属北京妇产医院。纳入标准:(1)经该院病理科确诊为女性生殖系统恶性肿瘤;(2)术前无手术禁忌证,可获取活性组织;(3)经医院伦理委员会的审核批准(2021-KY-082-01, 2023-KY-078-01),受试对象或其亲属签署知情同意书。根据上述纳入标准,收集 2023 年 3 月至 2023 年 10 月在我院进行手术治疗的 78 例女性生殖系统恶性肿瘤患者临床资料信息和肿瘤标本,观察到 2024 年 6 月。

1.2 主要试剂与仪器

苏木素染液(北京雷根生物技术有限公司,BA4099);伊红染液(北京雷根生物技术有限公司,BA4099);磷酸盐缓冲盐溶(PBS,大连美仑生物技术有限公司,MA0015);RPMI1640 培养基(大连美仑生物技术有限公司,MA0215);二甲基亚砜(北京索莱宝科技有限公司,D8371);胎牛血清(上海吉泰依科赛生物科技有限公司,B19063819);青霉素/链霉素双抗(北京索莱宝科技有限公司,P1400);分化液 II 型-1%盐酸酒精溶液(珠海贝索生物技术有限公司,BA4025C);返蓝液 II 型-稀碳酸锂溶液(珠海贝索生物技术有限公司,BA4025D)。独立通风笼具 IVC(苏州市苏杭科技器材有限公司,VNP72G3-2);超净工作台(北京亚泰科隆仪器技术有限公司,双人单面);切片机(徕卡显微系统(上海)贸易有限公司,RM2255)。

1.3 实验方法

1.3.1 肿瘤标本保存及运输

患者经手术或活检进行肿瘤取材后废弃的新鲜组织，将其切块分为 2 份，每份大小至少 1 cm³。其中一部分标本用于建立小鼠 PDX 模型：新鲜的标本立即放入装满运输培养基（RPMI1640 培养基内含 1%青霉素/链霉素）的离心管中，封口膜密封后置于盛有冰袋的保温盒中，6 h 内转移至建模实验室内，一部分经福尔马林固定石蜡包埋用于病理检测，其余部分液氮速冻保存。

1.3.2 患者肿瘤处理和植入并观察肿瘤

将新鲜取材的患者肿瘤标本置于 PBS 中清洗，去除附着的纤维结缔组织，剔除坏死部分后将保留的肿瘤组织剪成直径约 2~3 mm 的小块，使用穿刺针将瘤块植入至少两只 6~8 周龄的雌性 BALB/c nude 裸鼠或 NTG 小鼠皮下进行初代建模。每天观察精神状态、活动力、反应、饮食、体质量、毛色、毛顺滑度及皮下瘤的生长情况。在接种后 1 周每两周记录一次肿瘤生长状态，当植入部位肿瘤生长到 200 mm³ 以上，为实质肿瘤并还持续生长时，视为 P0 代肿瘤成瘤，也称为成功植入模型。大体解剖检查：颈椎脱臼处死小鼠并解剖，观察移植瘤形态、直径、质地、活动度。小鼠皮下成瘤计算方法使用数字游标卡尺测量肿瘤长径和短径大小。

1.3.3 小鼠 PDX 模型的肿瘤传代

当 P0 代小鼠肿瘤生长至 500~800 mm³ 时，将小鼠安乐死，于无菌条件下取出移植瘤，一部分组织分别置于 4%中性甲醛溶液固定，剩余部分样本（至少 2~3 mm³ 组织小块）移植至 2 只 BALB/c nude 裸鼠或 NTG 小鼠皮下（计为 P1 代），当植入部位肿瘤达 100 mm³，且持续生长时，视为 P1 代成功植入，待肿瘤继续生长至 500~800 mm³ 进行传代。经检测确定各代 PDX 与患者肿瘤的病理一致后，视为该 PDX 模型建模成功。连续移植到下一只小鼠中的 PDX 被称为 P2、P3、P4 代，以此类推。本研究从 PDX 组织的每次传代中收集并冻存各代肿瘤组织。

1.3.4 成功率计算

在肿瘤量充足的前提下（原始肿瘤组织至少 0.5 cm³，1 cm³ 为宜），确保至少植入 2 只小鼠，优选 NTG 小鼠（重度免疫缺陷）。每只小鼠 2 个接种点，最多 4 个接种点。只要 2 只小鼠接种点中有一个点生长，并且，传代后还能正常生长，本研究则认为传代成功。如果，接种后观察 3~4 个月未见任何点肿瘤生长，或传代后肿瘤未能正常生长，则认为传代失败。

1.3.5 苏木精-伊红染色法（HE 染色）

人体组织 HE 染色及判读由首都医科大学附属北京妇产医院病理科医生完成。小鼠组织 HE 染色由亦康（北京）科技有限公司完成，判读由合作临床病理科医生进行。为了保证肿瘤组织的准确性，亦康（北京）科技有限公司建立了一套严格的质控规范，同时对于每次传代肿瘤均进行 HE 染色和肿瘤组织病理结果判断，以确定肿瘤与原肿瘤的一致性。具体 HE 染色步骤如下：将组织放入甲醛溶液固定；石蜡包埋、切片（连续切片，切片厚度 4 μm）；常规脱蜡、水化；孵育；抗原修复；苏木素染色；冲洗；1%盐酸乙醇溶液分化；冲洗；返蓝；伊红染色；冲洗；脱水 I、脱水 II；透明封固。

1.4 统计学方法

采用微软 Excel 2020 录入和管理数据库，统计分析采用 SPSS 23.0 软件，计数资料的统计描述采用 n（%）表示，植入成功组和植入失败组间的临床情况对比采用 Fisher 确切概率法，以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 女性生殖系统恶性肿瘤患者资料及小鼠应用情况分析

2023 年 3 月至 2023 年 10 月总共纳入 78 例女性妇科恶性肿瘤患者，观察到 2024 年 6 月，年龄 27~81（55.3±12.7）岁，其中宫颈癌 36 例，子宫内膜癌 21 例，卵巢癌 15 例，阴道肿瘤 3 例，外阴肿瘤 2 例，子宫肉瘤 1 例。41 例患者观察中，剩余 37 例患者中，22 例（59.46%）的肿瘤组织成功植入小鼠，其中 7 例（18.92%）成功建模（传代），15 例（40.54%）植入失败。包括：宫颈癌患者 19 例

(P0代: 3例裸鼠, 16例 NTG 小鼠), 成功植入 12 例 (3 例裸鼠(100%), 9 例 NTG 小鼠(56.3%)), 失败 7 例, 成功建模 3 例 (2 例裸鼠 (66.7%), 1 例 NTG 小鼠 (6.25%)); 子宫内膜癌患者 10 例 (P0代: 3 例裸鼠, 7 例 NTG 小鼠), 6 例成功植入 (2 例裸鼠(66.7%), 4 例 NTG 小鼠(57.14%)), 失败 4 例, 1 例成功建模 (1 例裸鼠 33.3%); 卵巢癌患者 5 例 (P0代: 1 例裸鼠, 4 例 NTG 小鼠), 4 例成功植入 (4 例 NTG 小鼠 (100%)), 1 例失败, 3 例成功建模 (NTG 小鼠 75%); 阴道癌患者 2 例 (2 例裸鼠), 外阴癌患者 1 例 (1 例裸鼠), 均未植入成功。

P0 代小鼠植入成功率: 宫颈癌组织植入裸鼠成功率为 100% (3/3), 植入 NTG 小鼠为 56.3% (9/16); 子宫内膜癌组织植入成功率裸鼠为 66.7% (2/3), 植入 NTG 小鼠为 57.1% (4/7); 卵巢癌组织植入裸鼠成功率为 100% (1/1), 植入 NTG 小鼠植入成功率为 75.0% (3/4)。

2.2 女性生殖系统肿瘤小鼠 PDX 模型构建

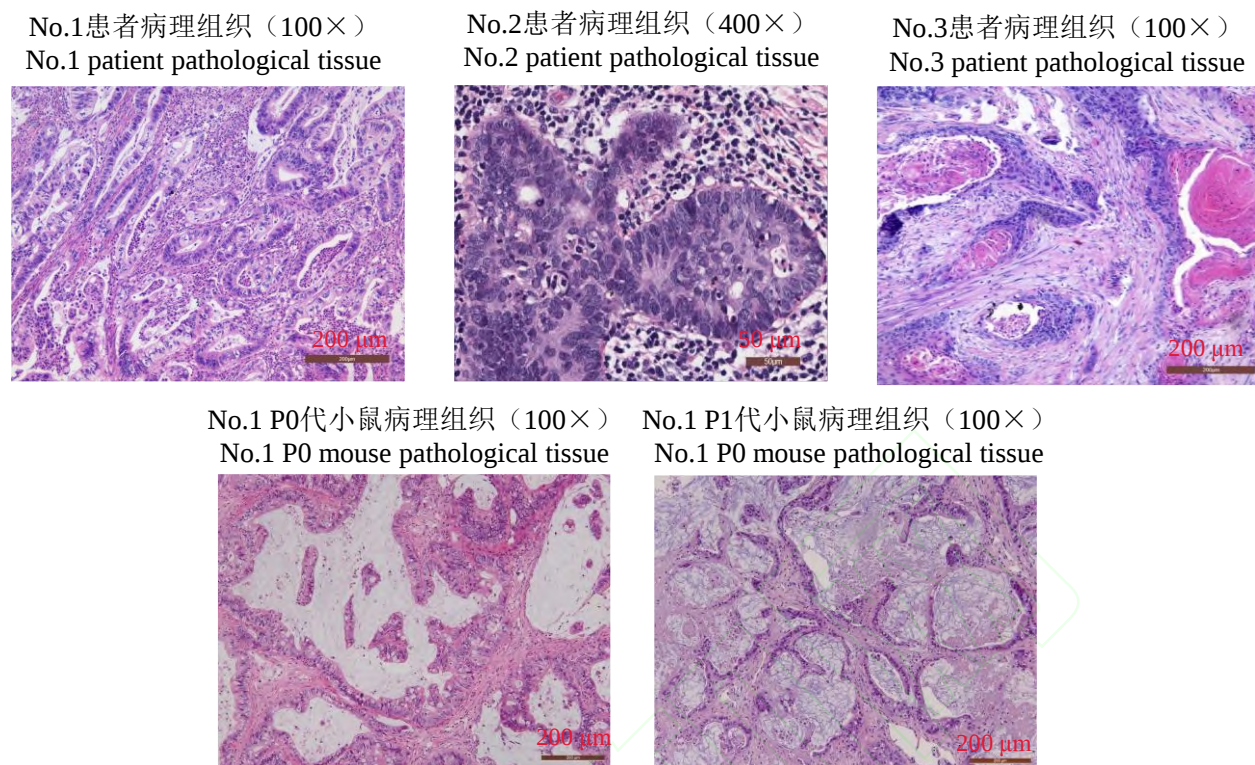
2.2.1 宫颈癌

19 例宫颈癌患者的肿瘤组织, 成功植入小鼠 12 例, 成功建模 3 例, 失败 7 例。宫颈癌患者建模成功率为 15.8% (3/19), 总植入成功率为 63.2% (12/19), 失败率为 36.8% (7/19)。3 例成功建模模型的肿瘤组织, 1 例来源于放化疗后复发患者, 1 例来源于新辅助化疗 (neoadjuvant chemotherapy, NACT) 后患者。12 例成功植入模型的肿瘤组织, 3 例 (75%成功率) 来源于 NACT 化疗后达到部分缓解的患者, NACT 后不影响小鼠 PDX 模型的构建, 模型构建所需时间 P0 代 25~87 d (47±16.7 d); P1 代均为 55 d; P2 代 69 d (见表 1)。P2 代传代以后小鼠与患者肿瘤病灶 HE 检测, 小鼠 PDX 模型病理与患者病理结果一致, 传代成功 (见图 1)。宫颈癌小鼠 PDX 模型植入失败组与成功组比较, 肿瘤分期、肿瘤类型 (鳞癌和腺癌)、分化 (低分化—高分化) 和 HPV 感染情况均无显著差异。在 19 例宫颈癌中, 腺癌 8 例, 鳞癌 11 例。按病理类型分层分析, 腺癌中 4 例成功植入, 成功率为 50.0% (4/8); 鳞癌中 8 例成功植入, 成功率为 72.7% (8/11)。

表1 宫颈癌成功植入小鼠PDX模型
Table 1 Mouse PDX models of cervical cancer successfully implanted

编号 No	年龄/岁 Age /years	肿瘤分期 stage	Cancer Tumor type	肿瘤类型 Tumor type	分化 Differentiation	部位 site	Tumor	植入前治疗 implantation treatment	Pre- 状态 Outcome	小鼠类型 Mouse strain	成功时间/d Time establishment /d	to
1	54	IIIC2p	腺癌 (胃型) Gastric-type adenocarcinoma	G3		癌灶 Primary tumor	无 None HPV16+	建模成功 Successfully established	BALB/c nude	P0: 42 P1: 55 P2: 69		
2	41	IIIC1p	小细胞神经内分泌癌 Small cell neuroendocrine carcinoma	G3		癌灶 Primary tumor	NACT HPV18+	建模成功 Successfully established	BALB/c nude	P0: 45 P1: 55		
3	59	放化疗后复发 Recurrence	鳞癌 (复发) Squamous cell carcinoma (Recurrence)	G2		残端复发病 灶 Recurrent lesion	放化疗后 (Post- CRT) HPV16+	建模成功 Successfully established	NTG	P0: 31 P1: 55		
4	72	IB3	腺癌 (胃型) Gastric-type adenocarcinoma	G3		癌灶 Primary tumor	无 None HR-HPV-	植入成功 Successfully implanted	BALB/c nude	P0: 34		
5	43	IIA2	鳞癌 Squamous cell carcinoma	G2		癌灶 Primary tumor	NACT HPV16+	植入成功 Successfully implanted	NTG	P0: 25		
6	58	术后放化疗后复发 Recurrence	鳞癌 (复发) Squamous cell carcinoma (Recurrence)	G2		残端复发病 灶 Recurrent lesion	放化疗后 (Post- CRT) HPV16+	植入成功 Successfully implanted	NTG	P0: 87		
7	65	IIA2	鳞癌 Squamous cell carcinoma	G2		癌灶 Primary tumor	无 None HPV16+	植入成功 Successfully implanted	NTG	P0: 47		
8	36	IB3	鳞癌 Squamous cell carcinoma	G2		癌灶 Primary tumor	NACT HPV16/18+	植入成功 Successfully implanted	NTG	P0: 69		

9	43	IA2	鳞癌 Squamous carcinoma cellG2	癌灶 Primary tumor	无 None HPV16+	植入成功 Successfully implanted	NTG	P0: 50
10	34	IB3	鳞癌 Squamous carcinoma cellG2	癌灶 Primary tumor	无 None HPV16+	植入成功 Successfully implanted	NTG	P0: 47
11	52	IIIC1p	腺癌 Adenocarcinoma G3	转移灶 (卵巢) Metastatic lesion (ovary)	无 None HPV16+	植入成功 Successfully implanted	NTG	P0: 42
12	33	IB3	鳞癌 Squamous carcinoma cellG3	癌灶 Primary tumor	无 None HPV16+	植入成功 Successfully implanted	NTG	P0: 48
13	36	IIIC2p	腺鳞癌 Adenosquamous carcinoma	癌灶 Primary tumor	HPV16+	失败 Failed	NTG	-
14	48	IIIC1p	腺癌(胃型) Squamous carcinoma G3 (Recurrence)	癌灶 Primary tumor	HR-HPV-	失败 Failed	NTG	-
15	68	IB2	鳞癌 Squamous carcinoma cellG2	癌灶 Primary tumor	HPV16+	失败 Failed	NTG	-
16	32	IIIC1p	鳞癌 Squamous carcinoma cellG2	癌灶 Primary tumor	HPV16+	失败 Failed	NTG	-
17	52	IB3	腺癌(HPV 相关) HPV-related adenocarcinoma	癌灶 Primary tumor	其他 Other HR-HPV+	失败 Failed	NTG	-
18	34	IB3	腺癌 Adenocarcinoma G3	癌灶 Primary tumor	NACT(TC2 程后) HPV16+	失败 Failed	NTG	-
19	34	IB3	鳞癌 Squamous carcinoma cellG2	癌灶 Primary tumor	HPV16+	失败 Failed	NTG	-



注：显示宫颈癌患者原发肿瘤及对应小鼠 PDX 模型 P0 代和 P1 代的 HE 染色结果。小鼠 PDX 模型 P0 代和 P1 代 HE 图像需在 P2 代建成后获取。No.1~3 分别对应宫颈癌患者 1~3 号病例。

图 1 宫颈癌患者及小鼠 PDX 模型各代肿瘤组织 HE 染色结果

Note. Representative HE staining images of primary cervical cancer tissues and corresponding PDX tumors at passages P0 and P1. HE images of P0 and P1 tumors were obtained after successful establishment of P2 passage. No.1~3 correspond to cases 1~3 of cervical cancer patients.

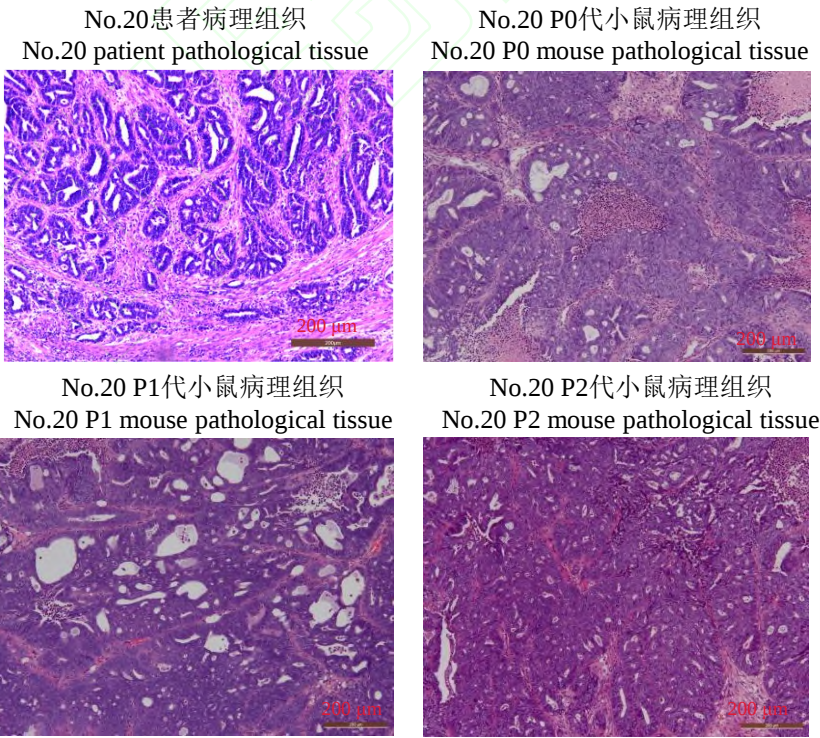
Figure 1 Hematoxylin-eosin (HE) staining of tumor tissues from cervical cancer patients and corresponding PDX models

2.2.2 子宫内膜癌

子宫内膜癌 10 例，植入小鼠成功 6 例，失败 4 例，成功建模 1 例，建模成功率 10.0% (1/10)，总植入年成功率 60.0% (6/10)，失败率为 40.0% (4/10)。其中构建所需时间 P0 代 24~93 d (50 ± 19.7 d)；P1 代 55 天；P2 代 41 天；P3 代 55 天 (见表 2)。P2 代传代以后各代小鼠肿瘤病灶均行 HE 检测，小鼠 PDX 模型病理与患者病理结果均一致 (见图 2)，传代成功。子宫内膜癌小鼠 PDX 模型植入失败组与成功组比较，肿瘤分期 (无法统计)、肿瘤类型和分化均无显著差异。

表2 子宫内膜癌成功植入小鼠PDX模型
Table 2 Mouse PDX models of endometrial cancer successfully implanted

编号 No	年龄 / 岁 Age / years	肿瘤分期 Cancer stage	肿瘤类型 Tumor type	分化 Differentiation	部位 Tumor site	植入前治疗 implantation treatment	Pre-状态 Outcome	小鼠类型 Mouse strain	成功时间/d Time establishment /d	to
20	61	IA	子宫内膜样癌 Endometrioid carcinoma	G2	癌灶 Primary tumor	无 None	建模成功 Successfully established	BALB/c nude	P0: 24 P1: 55 P2: 41 P3: 55	
21	54	IA	子宫内膜样癌 Endometrioid carcinoma	G1	癌灶 Primary tumor	无 None	植入成功 Successfully implanted	NTG	P0: 93	
22	55	IA	子宫内膜样癌 Endometrioid carcinoma	G2	癌灶 Primary tumor	无 None	植入成功 Successfully implanted	NTG	P0: 57	
23	60	IA	子宫内膜样癌 Endometrioid carcinoma	G3	癌灶 Primary tumor	无 None	植入成功 Successfully implanted	NTG	P0: 47	
24	52	IB	子宫内膜样癌 Endometrioid carcinoma	G2	癌灶 Primary tumor	无 None	植入成功 Successfully implanted	BALB/c nude	P0: 45	
25	60	IB	子宫内膜样癌 Endometrioid carcinoma	G1	癌灶 Primary tumor	无 None	植入成功 Successfully implanted	BALB/c nude	P0: 31	
26	60	IA	子宫内膜样癌 Endometrioid carcinoma	G1	癌灶 Primary tumor	无 None	失败 Failed	BALB/c nude-		
27	69	IA	子宫内膜浆液性癌 Serous carcinoma	G3	癌灶 Primary tumor	无 None	失败 Failed	NTG	-	
28	35	II	子宫内膜样癌 Endometrioid carcinoma	G2	癌灶 Primary tumor	无 None	失败 Failed	NTG	-	
29	34	IA	子宫内膜样癌 Endometrioid carcinoma	G2	癌灶 Primary tumor	无 None	失败 Failed	NTG	-	



注：显示子宫内膜癌患者原发肿瘤及对应小鼠 PDX 模型 P0~P2 代的 HE 染色结果。No.20 为子宫内膜癌患者 20 号病例。

图2 子宫内膜癌（子宫内膜样癌）患者及小鼠 PDX 模型各代肿瘤组织 HE 染色结果（100×）
Note. Representative HE staining images of primary endometrial cancer tissue and corresponding PDX tumors at passages P0~P2. No.20 represents case 20 of endometrial cancer.

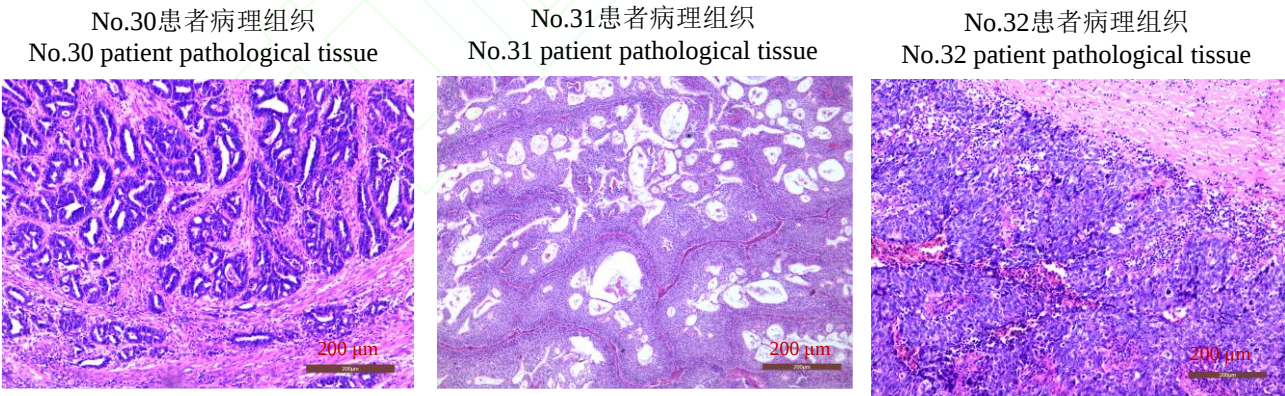
Figure 2 Hematoxylin–eosin (HE) staining of tumor tissues from endometrial cancer (endometrioid carcinoma) patients and corresponding PDX models□100×□

2.2.3 卵巢癌

卵巢癌 5 例，植入小鼠成功 4 例，失败 1 例，成功建模 3 例（均为 NTG 小鼠）。总植入成功率 80.0%（4/5），建模成功率 60.0%（3/5），失败率为 20.0%（1/5），1 例（50%成功率）转移病灶植入成功。其中构建所需时间 P0 代 30~75 d（50±20.7 d）；P1 代 68~125 d（88±32.1 d）（见表 3）。图 3 为患者病灶 HE 结果，因未进行 P2 代传代，故暂未进行小鼠组织 HE 检测。卵巢癌小鼠 PDX 模型植入失败组与成功组比较，肿瘤分期、肿瘤类型和分化均无显著差异。

表3 卵巢及输卵管癌植入成功小鼠PDX模型
Table 3 Mouse PDX models of ovarian and fallopian tube cancer successfully implanted

编号 No	年龄 / 岁 Age /years	肿瘤分期 Cancer stage	肿瘤类型 Tumor type	分化 Differentiation	部位 Tumor site	植入前治疗 implantation treatment	Pre-状态 Outcome	小鼠类型 strain	成功时间/d Time establishment/d	to
30	69	IIIC	高级别浆液性癌 High-grade carcinoma	serousG3	癌灶 Primary tumor	无 None	建模成功 Successfully established	NTG	P0: 36 P1: 71	
31	48	IC	卵巢恶性 Brenner Malignant tumor	BrennerG3	癌灶 Primary tumor	无 None	建模成功 Successfully established	NTG	P0: 30 P1: 125	
32	71	IIB	高级别浆液性癌 High-grade carcinoma	serousG3	癌灶 Primary tumor	无 None	建模成功 Successfully established	NTG	P0: 58 P1: 68	
33	67	IIIC	高级别浆液性癌 High-grade carcinoma	serousG3	大网膜转移灶 Metastatic lesion (omentum)	无 None	植入成功 Successfully implanted	NTG	大网 P0: 75	
34	61	IIIC	高级别浆液性癌 High-grade carcinoma	serousG3	癌灶/转移灶 Primary tumor metastatic lesion	/TC NACT	失败 Failed	BALB/c nude	-	



注：显示卵巢癌患者原发肿瘤的 HE 染色结果。由于尚未完成 P2 代传代，小鼠 PDX 模型暂未进行 HE 检测。No.30~32 分别对应卵巢癌患者 30~32 号病例。

图3 卵巢癌患者肿瘤组织 HE 染色结果（100×）
Note. Representative HE staining images of primary ovarian cancer tissues. HE staining of PDX tumors was not performed due to the absence of P2 passage. No.30~32 correspond to cases 30~32 of ovarian cancer patients.

Figure 3 Hematoxylin–eosin (HE) staining of tumor tissues from ovarian cancer patients□100×□

2.2.4 其他罕见肿瘤

阴道癌 2 例、外阴癌 1 例均植入失败（其中 1 例为阴道恶性黑色素瘤），失败率 100%。

表4 其他罕见肿瘤植入小鼠PDX模型
Table 4 Mouse PDX models of ovarian and fallopian tube cancer successfully implanted

编号 No	年龄 / 岁 Age /years	肿瘤分期 Cancer stage	肿瘤类型 Tumor type	分化部位 Differentiation Tumor site	植入前治疗 implantation treatment	Pre-状态 Outcome	小鼠类型 Mouse strain	成功时间/d Time establishment/d	to
35	74	II	非 HPV 相关浸润性鳞癌 Non-HPV-related invasive squamous cell carcinoma	G3	外阴癌灶 Vulvar lesion	无 None	失败 Failed	BALB/c nude	-
36	57	I	小细胞神经内分泌癌 Small neuroendocrine carcinoma	cell G3	阴道癌灶 Vulvar lesion	无 None	失败 Failed	BALB/c nude	-
37	54	不详（未进一步诊治） Unknown	高级别浆液性癌 High-grade serous carcinoma	G3	阴道癌灶 Vulvar lesion	无 None	失败 Failed	BALB/c nude	-

3 讨论

目前 PDX 模型广泛应用于新药开发，多种类型药物的临床前验证，临床试验患者筛选和生物标志物的研究中。本研究针对女性生殖系统肿瘤（宫颈癌、子宫内膜癌、卵巢癌）包括复发及耐药等难治性患者以及罕见女性生殖系统肿瘤，采集手术标本，将采集的肿瘤组织植入到免疫缺陷小鼠皮下构建女性生殖系统恶性肿瘤的小鼠 PDX 模型库。研究结果显示，总体植入成功率为 59.46%，建模成功率为 18.92%，提示女性生殖系统肿瘤 PDX 模型构建具备一定可行性，但也反映出其在技术稳定性和普适性方面仍存在挑战。在此研究基础上，希望开发与临床高度相关的肿瘤模型，包括妇科原发肿瘤模型、转移瘤模型、耐药模型及复发模型，为进一步了解妇科肿瘤转移、复发、耐药等机制，以及临床转化研究奠定基础，同时也为未来小鼠 PDX 模型临床转化应用提供依据。

3.1 PDX 模型构建小鼠种类选择

PDX 模型为癌症精准治疗和临床转化研究提供了一个强大的工具。PDX 造模技术的建立和发展源于高免疫缺陷小鼠的应用。免疫缺陷小鼠出现后，使得通过移植人体免疫组织或细胞到其体内，构建人鼠嵌合模型（即人源化免疫系统小鼠，简称人源化小鼠）成为可能。本研究构建 PDX 小鼠模型应用 NTG 小鼠，即利用 CRISPR/Cas9 技术敲除 *IL2rg* 形成突变的小鼠：IL-2 受体 gamma 链（又称 CD132）是具有重要免疫功能的细胞因子 IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15 和 IL-21 的共同受体亚基。该基因敲除后的小鼠机体免疫功能严重降低，通过多种受体阻断细胞因子信号传导，导致功能性 NK 细胞缺陷，因而成为 PDX 模型构建的理想小鼠。由于与人类免疫系统缺陷相似，人源化小鼠模型在干细胞和再生医学、器官移植、肿瘤 PDX 模型建立以及构建人源化小鼠方面具有明显优势^[1]。

小鼠 PDX 模型的植入成功率与所选动物模型密切相关。采用免疫缺陷程度较高的小鼠通常可获得更高的植入成功率。目前，多种免疫缺陷小鼠被用于 PDX 模型构建，如重度免疫缺陷小鼠、SCID 小鼠及裸鼠等^[2-3]。本研究构建女性生殖系统恶性肿瘤首选 NTG 小鼠这种重度联合免疫缺陷小鼠品系，与裸鼠相比，发现前者更易成瘤。本研究结果显示，在纳入分析的 37 例具有明确结局的 PDX 模型中，分别有 11 例采用 BALB/c nude 裸鼠、26 例采用 NTG 小鼠进行建模。在多数肿瘤类型综合来看，两种小鼠的植入成功率相近，裸鼠为 54.5%（6/11），NTG 小鼠为 61.5%（16/26）。其中，NTG 小鼠在卵巢癌中的建模成功率可达 60%，提示其在维持肿瘤微环境及促进异种肿瘤生长方面可能具有一定优势。植入瘤阶段，为了增加植入成功率，本研究同时也应用另一种免疫缺陷品系 BALB/c nude 裸鼠建模，因为在研究中发现部分女性生殖系统恶性肿瘤在该种免疫缺陷小鼠上更容易成活，可以降低成本，尤其在 P0 代主要为培养肿瘤细胞的前提下，可以作为植入首选小鼠模型，例如，本研究中裸鼠在宫颈癌病例中表现出 100%（3/3）的植入成功率，但由于样本量有限，尚不足以明确得出其与 NTG 小鼠的优劣结论。未来应扩大样本量，进一步明确不同免疫缺陷品系在妇科肿瘤 PDX 建模中的适用性。后续传代或研究过程中，可以选择 NTG 小鼠。

3.2 小鼠妇科肿瘤 PDX 模型构建成功的影响因素

目前,在常见妇科良恶性疾病中均有小鼠 PDX 模型成功构建的研究报道,如宫颈癌^[4]、子宫内膜癌^[5]、子宫内膜异位症纤维化^[6]、卵巢癌^[7]。其中宫颈癌^[8]、卵巢癌^[9]和子宫内膜癌^[5]这三大妇科常见癌症的小鼠 PDX 模型已经多次成功建立并证实 PDX 肿瘤组织病理学特征与原发肿瘤高度一致性,而且原位移植 PDX 模型的转移模式与患者相似^[8]。有多项研究^[10-12]报道应用小鼠 PDX 模型进行化疗效果预判和治疗药物(包括化疗、靶向和免疫等药物)的效果评价等研究。LARMOUR 等^[13]采用 NSG 小鼠肾被膜下移植构建宫颈癌 PDX 模型,报道其植入成功率约为 71.4%。本研究结果显示女性生殖系统肿瘤成功植入率为 59.46%,成功建模率(传代)为 18.92%。与既往研究相比,本研究的植入成功率与文献报道接近,但建模(传代)成功率偏低,可能与样本来源、移植部位(皮下)及传代标准严格有关。卵巢癌植入和建模成功率最高,考虑与卵巢癌种植转移方式及恶性程度有关。

本研究初步发现,肿瘤类型、组织学分级、取材方式及移植瘤块大小等因素均可能影响 PDX 建模成功率。例如,卵巢癌因其高侵袭性与种植转移特性,建模成功率显著高于子宫内膜癌和宫颈癌;鳞癌的植入成功率(72.7%)高于腺癌(50%),提示肿瘤生物学行为对建模具有重要影响。关于小鼠 PDX 模型建立的影响因素,已有诸多文献报道,主要包括:组织中较高的肿瘤细胞百分比与较高的成功率相关^[14];活检取材方式的成功率为 14.3%,远低于手术取材的成功率 48.1%^[15];血供丰富且相对固定的地方容易成功建模^[14,16];移植的肿瘤大于 $2 \times 2 \times 2 \text{ mm}^3$ 成瘤率更高^[17];肿瘤分化程度反映肿瘤的恶性程度和侵袭性,低分化肿瘤和侵袭性强成功率高^[18];肿瘤移植时间是影响成功率的重要因素^[19],离体时间越短,建模成功率越高。本研究建模过程中还发现进行过化疗和复发转移的肿瘤组织植入不影响建模的成功,但是如果 NACT 后肿瘤退缩明显,瘤灶减少可能会影响小鼠 PDX 的建模。本研究中有 3 例宫颈癌模型来源于 NACT 后患者,且仍能成功建模,提示 PDX 模型在预测化疗耐药与复发机制研究中具有独特价值,拓展了其在难治性/复发肿瘤研究中的应用前景。在本研究基础上总结小鼠 PDX 植入成功有利因素:鳞癌植入成功率较高;中低分化植入成功率高。总结小鼠 PDX 植入不成功考虑因素:NACT 后病灶减小和坏死,肿瘤组织成分减低;植入部位为皮下,是否植入腹腔或者小鼠生殖系统会提高植入率有待进一步研究,未来可尝试原位移植以更好地模拟肿瘤微环境,提高建模效率。肿瘤恶性程度低,侵袭性差的肿瘤也不宜成功。

3.3 本研究局限性和不足

本研究仍存在一定局限性。首先,本研究样本量相对有限,尤其是在部分亚组(如罕见病理类型或特殊治疗背景)中,统计效能仍有待提高。其次,本研究中部分罕见妇科肿瘤(如阴道癌、外阴癌)未能成功构建 PDX 模型,提示此类肿瘤在模型建立方面仍存在一定技术挑战,可能与肿瘤生物学特性及样本获取难度有关。此外,本研究未对 PDX 模型与原发肿瘤在分子层面的一致性进行系统验证,相关结果仍需通过后续免疫组化及基因测序等手段进一步完善。最后,PDX 模型构建周期相对较长,在个体化实时临床决策中的应用仍存在一定局限。未来研究将进一步扩大样本量,优化建模策略,并结合多层次分子特征分析,系统评估 PDX 模型的稳定性与生物学保真度,同时探索其在临床转化中的应用价值。

参考文献:

- [1] WANG W, LI Y, LIN K, et al. Progress in building clinically relevant patient-derived tumor xenograft models for cancer research [J]. *Anim Models Exp Med*, 2023, 6(5): 381-398.
- [2] ZHANG C, LIU M, LUAN L, et al. Establishment and characterization of a patient-derived metastatic extraskelatal Ewing sarcoma cell line ES-ZSS-1 [J]. *Hum Cell*, 2024, 38(1): 12.
- [3] HUANG Y, LIU C, YOU L, et al. Synergistic effect of PARP inhibitor and BRD4 inhibitor in multiple models of ovarian cancer [J]. *J Cell Mol Med*, 2023, 27(5): 634-649.
- [4] LIU L, WU M, HUANG A, et al. Establishment of a high-fidelity patient-derived xenograft model for cervical cancer enables the evaluation of patient's response to conventional and novel therapies [J]. *J Transl Med*, 2023, 21(1): 611.
- [5] SENGAL A T, POLLOCK P M. Development and expansion of patient-derived xenografts for endometrial cancer [M]. *Patient-Derived Xenografts*. New York, NY: Springer US, 2024: 101-115.
- [6] 刘馨雨, 张艳芹, 邓梦琪, 等. 异种移植裸鼠子宫内膜异位症纤维化模型的构建 [J]. *中国妇产科临床杂志*, 2023, 24(4): 397-400.
- [7] LIU X Y, ZHANG Y Q, DENG M Q, et al. Establishment of endometriosis fibrosis nude mice model using xenotransplantation of human endometrium [J]. *Chin J Clin Obstet Gynecol*, 2023, 24(4): 397-400.

- [7] TRAN T M, HO G Y, CHU S. Patient-derived xenograft models for ovarian cancer [M]. Patient-Derived Xenografts. New York, NY: Springer US, 2024: 187-196.
- [8] HIROSHIMA Y, ZHANG Y, ZHANG N, et al. Establishment of a patient-derived orthotopic xenograft (PDOX) model of HER-2-positive cervical cancer expressing the clinical metastatic pattern [J]. PLoS One, 2015, 10(2): e0117417.
- [9] THOREL L, DIVOUX J, LEQUESNE J, et al. The OVAREX study: Establishment of *ex vivo* ovarian cancer models to validate innovative therapies and to identify predictive biomarkers [J]. BMC Cancer, 2024, 24(1): 701.
- [10] KOJIMA Y, YOSHIDA H, OKUYA T, et al. Therapeutic target biomarkers of patient-derived xenograft models of gastric-type cervical adenocarcinoma [J]. Gynecol Oncol Rep, 2023, 50: 101302.
- [11] SANTIAGO-O'FARRILL J M, BLESSING BOLLU A, YANG H, et al. Crizotinib enhances PARP inhibitor efficacy in ovarian cancer cells and xenograft models by inducing autophagy [J]. Mol Cancer Res, 2024, 22(9): 840-851.
- [12] WANG Y, WANG C, GUAN X, et al. PRMT3-mediated arginine methylation of METTL14 promotes malignant progression and treatment resistance in endometrial carcinoma [J]. Adv Sci, 2023, 10(36): 2303812.
- [13] LARMOUR L I, COUSINS F L, TEAGUE J A, et al. A patient derived xenograft model of cervical cancer and cervical dysplasia [J]. PLoS One, 2018, 13(10): e0206539.
- [14] CHOI Y Y, LEE J E, KIM H, et al. Establishment and characterisation of patient-derived xenografts as preclinical models for gastric cancer [J]. Sci Rep, 2016, 6: 22172.
- [15] HERNANDEZ M C, BERGQUIST J R, LEITING J L, et al. Patient-derived xenografts can be reliably generated from patient clinical biopsy specimens [J]. J Gastrointest Surg, 2019, 23(4): 818-824.
- [16] REDDAVID R, CORSO S, MOYA-RULL D, et al. Patient-Derived Orthotopic Xenograft models in gastric cancer: a systematic review [J]. Updates Surg, 2020, 72(4): 951-966.
- [17] LEE C H, 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.
- [18] KUWATA T, YANAGIHARA K, IINO Y, et al. Establishment of novel gastric cancer patient-derived xenografts and cell lines: pathological comparison between primary tumor, patient-derived, and cell-line derived xenografts [J]. Cells, 2019, 8(6): 585.
- [19] 尹振宇, 刘乾, 李晓梅, 等. 人源性肿瘤组织异种移植模型的建立及应用 [J]. 肿瘤防治研究, 2020, 47 (11): 871-879.
- YIN Z Y, LIU Q, LI X M, et al. Establishment and application of patient-derived tumour xenograft model [J]. Cancer Res Prev Treat, 2020, 47(11): 871-879.