



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：肝细胞癌小鼠模型的构建、应用与未来挑战  
作者：马樱花，李美圆，纪亭如，王静雯，杨轶文，丁淼，李自发，王新宇  
收稿日期：2026-03-13  
网络首发日期：2026-06-18  
引用格式：马樱花，李美圆，纪亭如，王静雯，杨轶文，丁淼，李自发，王新宇. 肝细胞癌小鼠模型的构建、应用与未来挑战[J/OL]. 中国比较医学杂志.  
<https://link.cnki.net/urlid/11.4822.R.20260618.1542.002>



**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。

# 肝细胞癌小鼠模型的构建、应用与未来挑战

马樱花<sup>1</sup>, 李美圆<sup>2</sup>, 纪亭如<sup>3</sup>, 王静雯<sup>4</sup>, 杨轶文<sup>4</sup>, 丁森<sup>5</sup>, 李自发<sup>6,7,8</sup>,  
王新宇<sup>6,7,8</sup>

(1. 山东中医药大学中医药创新研究院, 济南 250355; 2. 山东中医药大学康复医学院, 济南 250355; 3. 山东中医药大学针灸推拿学院, 济南 250355; 4. 山东中医药大学药学院, 济南 250355; 5. 山东中医药大学医学院, 济南 250355; 6. 山东中医药大学实验中心, 济南 250355; 7. 山东中医药大学中医药经典理论教育部重点实验室/山东省中医药基础理论创新与应用研究重点实验室, 济南 250355; 8. 国家中医药管理局高水平中医药重点学科中医基础理论学科, 济南 250355)

\*通信作者 王新宇 (1992—), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 中医情志病证的脑环路基础和中医药干预机制。E-mail: wangxinyu0601@163.com; 李自发 (1977—), 男, 高级实验师, 研究方向: 实验动物设施建设与运行管理、实验动物疾病模型。E-mail: zifa\_0611@163.com

**摘要** 肝细胞肝癌 (HCC) 是最常见的原发性肝癌类型, 为全球范围内发病率和死亡率较高的恶性肿瘤之一。小鼠模型在 HCC 研究中扮演着不可或缺的角色, 为深入探索 HCC 的发病机制、筛选潜在治疗靶点以及评估新疗法的安全性和有效性提供了关键平台。近年来, 随着化学诱导、基因工程和移植模型等技术的不断发展, HCC 小鼠模型的构建策略日益丰富, 为研究者提供了更加多样化的选择。本文系统概述了 HCC 小鼠模型的研究进展, 详细阐述了肝毒性化合物致肝癌小鼠模型、饮食诱导模型、病毒诱导模型、移植模型及基因工程小鼠模型等构建策略的原理、方法与优缺点, 明确对比其与人类 HCC 在病理进程、分子分型及驱动突变谱的匹配程度; 同时分析现有模型的短板与不足, 展望未来精准化、人源化、复合式建模方向, 为 HCC 基础与转化研究提供更贴合临床的模型选择与理论参考。

**关键词** 肝细胞肝癌; 小鼠模型; 基因工程; 化学诱导; 移植模型; 病毒诱导

## Review of the methods for constructing mouse hepatocellular carcinoma

MA Yinghua<sup>1</sup>, LI Meiyuan<sup>2</sup>, JI Tingru<sup>3</sup>, WANG Jingwen<sup>4</sup>, YANG Liwen<sup>4</sup>, DING Miao<sup>5</sup>, LI Zifa<sup>6,7,8</sup>, WANG Xinyu<sup>6,7,8</sup>

(1. Innovative Institute of Chinese Medicine and Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China; 2. School of Rehabilitation Medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355; 3. School of Acupuncture and Tuina, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355; 4. School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355; 5. School of Medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355; 6. Experimental Center, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355; 7. Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Classical Theory, Ministry of Education/Shandong Key Laboratory of Innovation and Application Research in Basic Theory of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355; 8. Discipline of Basic Theories of Traditional Chinese Medicine, a Key Discipline of High-level Traditional Chinese Medicine of the National Administration of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355)

**Abstract** Hepatocellular carcinoma (HCC) is the most common type of primary liver cancer and one of the malignant tumors with high morbidity and mortality worldwide. Mouse models play an indispensable role in HCC research, providing a key platform for in-depth exploration of the pathogenesis of HCC, screening potential therapeutic targets, and evaluating the safety and efficacy of new therapies. In recent years, with the continuous development of chemical induction, genetic engineering and transplantation models, the construction strategies of HCC mouse models have become increasingly abundant, providing researchers with more diversified choices. This article systematically summarizes the research progress of HCC mouse models, and elaborates the principles, methods, advantages and disadvantages of construction strategies such as hepatotoxic compound-induced liver cancer mouse models, diet-induced models, virus-induced models, transplantation models, and genetic engineering mouse models. The degree of matching with human HCC in pathological process, molecular typing, and driver mutation spectrum; at the same time, the shortcomings and shortcomings of the existing models are analyzed, and the future direction of precision, humanization and compound modeling is prospected, so as to provide more clinical model selection and theoretical reference for HCC basic and transformation research.

收稿日期: 2026-03-13

基金项目: 山东省自然科学基金 (ZR2024QH185); 山东省医药卫生科技项目 (202302081721); 2023 年度国家资助博士后研究人员计划 C 档资助 (GZC20231507); 2024 年度山东中医药大学第二批科学研究基金项目 (KYZK2024Q10)。

作者简介: 马樱花 (1999—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 中医情志病证的脑环路基础和中医药干预机制。E-mail: 15609590783@163.com

网络首发时间: 2026-06-18 16:49:06 网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/11.4822.R.20260618.1542.002>

**Key words** hepatocellular carcinoma; mouse models; genetically engineered; chemically induced; graft model; virus induction

肝癌是全球高致死性恶性肿瘤，其中肝细胞癌（hepatocellular carcinoma, HCC）为最主要的病理亚型，占肝癌病例的 80%<sup>[1,2]</sup>。世界卫生组织预测，2030 年全球每年 HCC 相关死亡人数将超 100 万人，已成为重大公共卫生问题之一<sup>[3]</sup>。HCC 发病机制复杂，慢性病毒性肝炎、肝纤维化、肝硬化、酒精性肝损伤及代谢相关脂肪性肝病（metabolic dysfunction associated fatty liver disease, MAFLD）等危险因素，均可逐步诱导肝细胞恶性转化，推动肿瘤发生与进展<sup>[4,5]</sup>。目前临床筛查、外科手术、靶向及免疫治疗手段虽持续更新，但 HCC 具有早期隐匿、进展迅速、易复发转移的特点，多数患者确诊时已至中晚期，整体远期预后仍较差<sup>[6]</sup>。因此，深入阐明 HCC 的发病机制，开发新型诊疗策略，对改善患者生活质量、提升生存率具有重要临床与科研价值<sup>[7]</sup>。

动物模型是 HCC 基础研究与转化研究的核心实验工具，其中小鼠模型因基因组与人类同源性高、繁殖周期短、饲养及基因操作成本可控、技术体系成熟等优势<sup>[8]</sup>，已成为衔接基础研究与临床转化的关键载体，也是当前 HCC 研究应用最广泛的实验工具。随着基因编辑、类器官、人源化宿主及多组学技术快速发展，HCC 小鼠模型正朝着复合化、精准化与高仿真化方向发展，为深入解析疾病机制提供了新的工具。然而，现有模型仍难以同时兼顾病理进程、分子分型、免疫微环境与临床转化效率，如何构建兼具高度仿真性、稳定可重复性与临床相关性的 HCC 小鼠模型，已成为本领域亟待突破的核心问题。基于上述内容，本文系统综述肝毒性化合物及饮食诱导、基因工程、移植模型及病毒诱导模型等主流建模策略，阐明其原理、优劣及与人类 HCC 的匹配程度，以期 HCC 机制研究与新药研发提供更可靠的理论与工具参考。

## 1. 肝毒性化合物致肝癌小鼠模型

### 1.1 核心机制与典型造模方案

肝脏长期暴露于肝毒性化合物中，破坏肝脏的稳态诱发癌症<sup>[9]</sup>。肝致癌物分为遗传毒性与非遗传毒性两类，前者通过形成 DNA 加合物致基因突变<sup>[10]</sup>，后者则通过调控细胞增殖、凋亡及分化推动癌前细胞恶变<sup>[11]</sup>。如二乙基亚硝胺（diethylnitrosamine, DEN），是典型的遗传毒性致癌物，经肝脏代谢后引发基因突变，从而促进 HCC 发生<sup>[12,13]</sup>。

既往研究中，DEN 已被广泛用于构建啮齿类 HCC 模型<sup>[14]</sup>，其效果受剂量、日龄、性别与遗传背景影响<sup>[15]</sup>。幼龄小鼠对 DEN 敏感，成瘤率高；成年小鼠则需较高剂量或联合肿瘤促进剂（如四氯化碳（carbon tetrachloride, CCl<sub>4</sub>）、苯巴比妥）才能有效造模<sup>[16]</sup>。DEN 与 CCl<sub>4</sub> 联合使用可以显著缩短 HCC 诱导时间<sup>[17]</sup>，更好地模拟肝损伤→肝纤维化→癌症的发展过程。常用方案包括两种：（1）低剂量 DEN 单次注射：以 2 周龄雄性 C57BL/6 小鼠为研究对象，单次腹腔注射 DEN（25 mg/kg），8~10 个月后能够引起肝脏肿瘤的发生<sup>[16]</sup>。（2）DEN+CCl<sub>4</sub> 联合模型：选用 2 周龄雄性 B6C3F1/J 小鼠，单次腹腔注射 DEN（1 mg/kg）进行起始造模；待小鼠生长至 8 周龄后，以 CCl<sub>4</sub>（0.2 mL/kg）每周给药 2 次，持续干预 14 周；在 CCl<sub>4</sub> 全程给药结束时，该造模方案诱导的小鼠 HCC 成瘤率可达 50%<sup>[18]</sup>（图 1）。

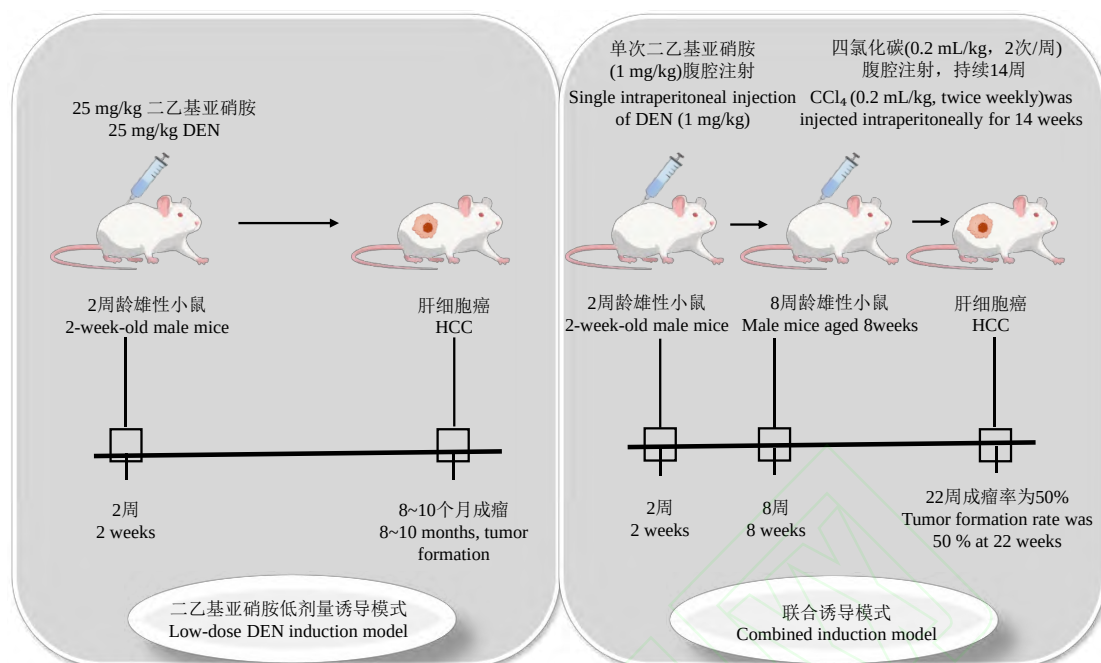


图1 肝毒性化合物构建 HCC 小鼠模型  
Figure 1 Hepatotoxic compounds to construct HCC mouse model

## 1.2 模型特征评析与科研应用展望

肝毒性化合物诱导 HCC 模型具有快速、可控与可规模化优势；通过剂量与时程调控，可在短期内重建 HCC 由“脂肪变性→炎症→纤维化→癌变”的连续病理，适于药效评估与机制研究。其局限在于肿瘤显著异质性，同一动物常多灶且形态/分子特征不一，能产生肝外毒性干扰结果解读，且与人类 HCC 在微环境与分子网络上存在差异，与人类 HCC 整体匹配度较低<sup>[19]</sup>，故实践中常与基因工程或移植模型联用，以提升临床相关性。

## 2 饮食诱导法构建 HCC 小鼠模型

### 2.1 造模方案

饮食诱导法作为构建 HCC 动物模型的重要途径之一，因其能模拟人类 HCC 发生发展的饮食相关危险因素，在 HCC 发病机制研究及干预药物筛选中得到广泛应用，其中胆碱缺乏饮食（diet deficient in choline, DDC）是该方法中最常用的饮食模式之一<sup>[20]</sup>。随着 MAFLD 相关肝癌研究的深入，胆碱缺乏型 L-氨基酸定义高脂饮食（choline-deficient, L-amino acid-defined, high-fat diet, CDAHFD）模型得到广泛应用。研究证实，CDAHFD 喂养 24 周可成功诱导小鼠发生 MAFLD，持续喂养至 36 周时，肝细胞腺瘤及 HCC 开始出现，且在持续给予 CDAHFD 的条件下，HCC 可自 36 周持续发生至 60 周<sup>[21]</sup>，该模型可能是研究 MAFLD 发展为 HCC 的有用工具，并有助于更好地理解肝癌发生过程中的病理改变。进一步研究表明，饮食中补充胆碱可显著抑制肿瘤增殖<sup>[22]</sup>，直接证实胆碱缺乏是饮食诱导 HCC 发生的核心驱动因素。为提升成瘤效率，研究者常将 DDC 与 N-亚硝基二乙胺联合干预，该复合方案可显著加速 HCC 发生<sup>[23]</sup>。除脂代谢紊乱相关饮食干预外，酒精暴露也是临床 HCC 重要致病危险因素，过量饮酒可通过扰乱肝脏代谢、加重炎症损伤，加速肝癌恶性进展<sup>[24]</sup>。相关研究显示，对原位肝癌模型小鼠进行慢性酒精暴露干预，可显著促进肝癌增殖并增强肿瘤肺转移能力<sup>[25]</sup>；同时慢性乙醇暴露可加速 DEN 诱导的小鼠肝癌进程，且存在显著性别差异，为探究酒精相关 HCC 的发病特征及性别差异化机制提供了重要实验依据<sup>[26]</sup>（图 2）。

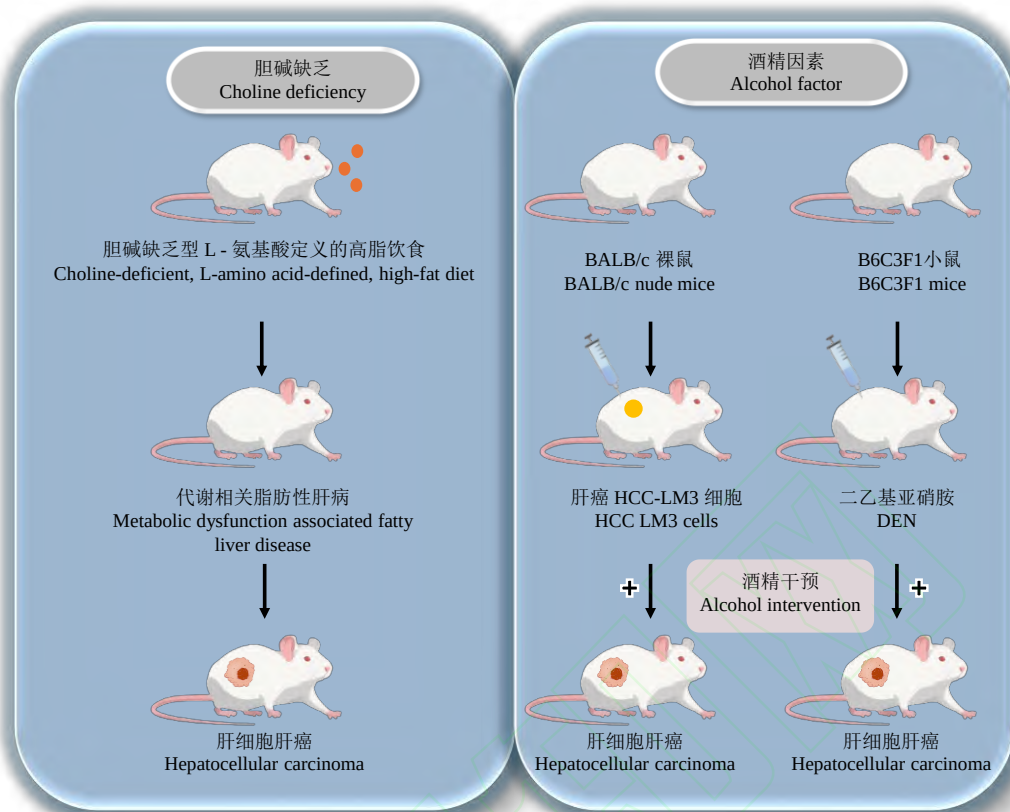


图2 饮食诱导法构建 HCC 小鼠模型  
Figure 2 HCC mouse model constructed by diet induction method

## 2.2 技术优劣剖析与实践应用范畴

饮食诱导是构建代谢、酒精相关 HCC 模型的主要方法，可完整还原 MAFLD、酒精性肝损伤向肝癌演进的全过程，操作简便、条件可控，联合 DEN 可加快成瘤。该模型能分别模拟 MAFLD-HCC 代谢紊乱、酒精促癌及发病性别差异，临床针对性较强。但其造模周期长、饲养成本高，肿瘤异质性与驱动通路单一，无法模拟病毒性、混合型肝癌，与人类代谢相关 HCC 分子匹配度中等。目前该模型主要用于解析相关肝癌恶变机制、筛选作用靶点与抗肿瘤药物，也可用于饮食干预防控肝癌的相关研究。

## 3 病毒诱导法构建 HCC 小鼠模型

HCC 的发病与慢性病毒感染相关，乙型肝炎病毒（hepatitis B virus, HBV）和丙型肝炎病毒（hepatitis C virus, HCV）慢性感染是 HCC 致病的主要因素<sup>[27,28]</sup>。其中慢性 HBV 感染所致 HCC 占病毒性肝癌病例的绝大多数<sup>[29]</sup>，疾病负担远高于 HCV 相关肝癌。基于临床致病特征，病毒诱导法是模拟人类病毒性肝癌发病机制、复刻疾病进展全过程的经典造模方式，目前已形成多种成熟的小鼠造模体系（图 3）。



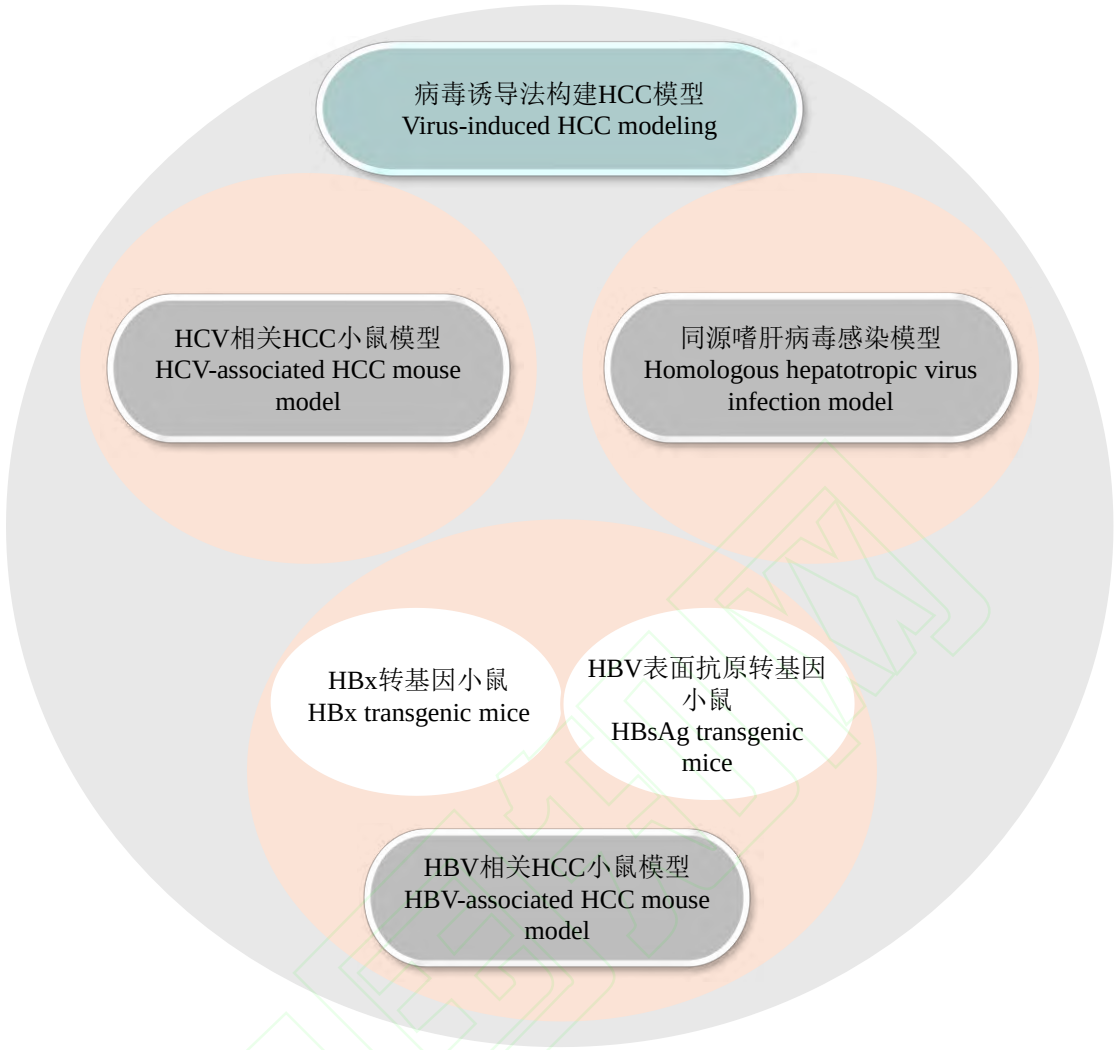


图3 病毒相关 HCC 模型类型  
Figure 3 Types of virus-related HCC models

3.1 HBV 相关 HCC 小鼠模型

HBV 为部分双链环状 DNA 包膜病毒，也是诱导肝脏恶性病变的核心嗜肝病毒，可通过干扰细胞凋亡、调控信号通路、诱发基因组不稳定、重塑肝脏炎症微环境等多重机制促进肿瘤进展<sup>[30]</sup>。在 HBV 编码的多种功能蛋白中，乙型肝炎病毒 X 蛋白（HBV regulatory X protein, HBx）是核心致癌功能蛋白，可调控细胞信号通路，与细胞转录因子相互作用，诱导肝细胞癌变<sup>[31]</sup>，常用于诱导转基因小鼠发生 HCC<sup>[8]</sup>。多项动物实验明确证实了 HBx 的致癌作用及 HBx 转基因模型的造模有效性。研究发现，HBx 转基因小鼠可诱发肝癌，而敲除 X 基因的 HBV 转基因小鼠（HBx<sup>-/-</sup>）肝癌发生率则明显下降<sup>[32]</sup>，直接印证了 HBx 在 HBV 相关 HCC 发生中的关键驱动作用。在经典模型构建研究中，KOIKE 等<sup>[33]</sup>建立了首个高表达 HBx 的转基因小鼠，长期观察结果显示，13~24 月龄的雄性转基因小鼠肝癌成瘤率可达 84%，造模稳定性良好。WU 等<sup>[34]</sup>进一步优化模型，构建了肝特异性 HBx 转基因小鼠，实现 HBx 蛋白在肝脏组织的靶向高表达，结果发现该模型小鼠在 14~16 月龄即可出现较高比例的肝细胞癌，且成瘤效率呈现显著的性别差异。

除了 HBx 转基因小鼠，表达编码 HBV 表面抗原（HBV surface antigen, HBsAg）的转基因小鼠同样也是构建 HCC 模型的重要研究对象<sup>[35]</sup>，这些都是研究 HBV 感染后 HCC 发生、发展和进展过程的有用模型系统。

### 3.2 HCV 相关 HCC 小鼠模型

HCV 是一种小包膜 RNA 病毒, 研究证据表明, HCV 结构蛋白具有引发肝癌的潜能<sup>[36,37]</sup>, 故选取 HCV 转基因小鼠构建 HCC 模型也是一种重要途径。有研究人员采用 HCV 转基因雄性小鼠作为 HCC 自发模型, 该小鼠在 16~18 月龄时约 30% 可自发形成肝细胞腺瘤与肝癌, 若反式脂肪酸饮食连续干预 5 个月, 可以通过高脂代谢应激加速肝脏肿瘤发生, 最终成功构建饮食诱导加速的 HCV 相关肝细胞癌模型<sup>[38]</sup>。

### 3.3 同源嗜肝病毒感染模型

相较于成熟的 HBV、HCV 转基因小鼠模型, 传统天然病毒感染模型的造模局限性更为突出。既往研究发现, 土拨鼠、树鼯等模式动物可支持 HCV 的完整感染过程, 且具备正常免疫功能<sup>[39,40]</sup>, 但目前很少能够构建真实模拟人类疾病的慢性嗜肝病毒感染的小鼠动物模型。然而, 在了一项最新研究报告中, 研究人员采用与 HCV 密切相关的挪威大鼠丙型肝炎病毒 (Norway rat hepacivirus, NrHV) 感染免疫正常的 C57BL/6J 小鼠, 从而成功诱导了慢性肝炎、进行性肝纤维化和 HCC 的发生<sup>[41]</sup>。该研究建立了一种实验上易操作、生理上相关和免疫活性良好的病毒诱导的进行性肝纤维化和癌变小鼠模型, 弥合了小鼠机制研究和人类病毒相关肝癌复杂性之间长期存在的差距。

### 3.4 体系特点总结与临床转化应用

病毒诱导模型可完整复现病毒性肝炎向肝癌演进的病理过程, 免疫背景完整, 与人类 HBV/HCV 相关 HCC 分子、病理特征匹配度高, 适用于探究病毒致癌机制、解析免疫互作<sup>[19]</sup>。但普通小鼠难以自然感染 HBV/HCV, 该模型存在造模周期长、操作复杂、个体差异大等问题, 也无法模拟多病因混合型肝癌。目前该模型主要用于病毒性肝癌机制、联合用药、肿瘤免疫及早期标志物等转化研究, 是模拟病毒相关肝癌发生、做临床前药效评价不可缺少的工具。

## 4 移植法构建 HCC 小鼠模型

### 4.1 小鼠 HCC 移植模型的分类及常用实验品系特征

移植模型是研究小鼠 HCC 发生与抗癌药物临床前评估的常用策略, 通过将 HCC 细胞系或肿瘤组织移植入受体小鼠建立肿瘤<sup>[42]</sup>。根据肿瘤植入部位, 可将其分为异位移植模型与原位移植模型: 异位移植模型是将肿瘤组织、细胞或瘤体接种于小鼠背侧皮下、腋下、腹腔等非肿瘤原生解剖部位的动物模型<sup>[43]</sup>; 原位移植模型则是将肝癌细胞植入肿瘤起源的对应解剖组织部位, 更贴合肿瘤原发生长微环境<sup>[44]</sup>。依据肿瘤组织来源, 移植模型又可分为同基因移植模型与异种移植模型: 同基因移植模型采用与受体小鼠同品系的 HCC 细胞或组织构建, 而异种移植模型是将人源肿瘤细胞或患者新鲜肿瘤组织<sup>[44]</sup>, 通过原位或异位方式移植至高度免疫缺陷小鼠体内构建<sup>[45]</sup>, 该模型可有效复刻人类肿瘤的异质性及患者的药物治疗响应特征, 现已广泛应用于肿瘤临床前治疗研究。常用免疫缺陷小鼠品系各具特点: 无胸腺裸鼠 T 细胞发育障碍, 是经典的基础免疫缺陷模型<sup>[46]</sup>; 重症联合免疫缺陷 (severe combined immunodeficiency, SCID) 小鼠缺乏功能性 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞<sup>[47]</sup>; 非肥胖-糖尿病严重联合免疫缺陷 (non-obese diabetic, NOD-SCID) 小鼠不仅缺乏 T、B 淋巴细胞, 且 NK 细胞活性显著降低<sup>[48]</sup>, 对人源细胞及组织的植入效率更高<sup>[49]</sup>。在此基础上改良培育的 NOD-LtSz-SCID 白细胞介素-2 受体共同  $\gamma$  链缺陷 (interleukin-2 receptor common gamma chain deficiency, IL2r $\gamma$ null) (NSG) 小鼠与 NOD-Shi-SCID IL2r $\gamma$ null (NOG) 小鼠, 具备肿瘤植入效率高、NK 细胞活性极低、辐射耐受性良好等优势<sup>[49,50]</sup>, 是当前 HCC 移植建模的主流高性能实验品系 (图 4)。

### 4.2 技术综合评价与研究适用场景

移植模型是构建小鼠 HCC 并开展抗肿瘤药物与治疗策略评估的常用平台, 具备操作简便、重复性高的优势。异位移植模型, 成瘤速度快、时间短且成活率高<sup>[43]</sup>, 但缺乏肝脏特异性微环境; 原位移植模型更能重现 HCC 的代谢与免疫生态, 但手术要求高<sup>[51]</sup>。同基因模型的优势在于移植组织、肿瘤微环境和宿主来自同一物种, 然而, 这些模型系统缺乏人类肿瘤的遗传复杂性<sup>[44]</sup>; 异种移植模型需依赖免疫缺陷小鼠以避免排斥, 因而不利于系统性免疫效应研究<sup>[45]</sup>。在各类移植模型中, 异种移植模型可最大程度保留患者肿瘤的分子分型、异质性与药物反应特征, 与人类 HCC 匹配度最高。总体而言, 移植模型操作简便、重复性

好,但受种属差异、免疫缺陷背景及肿瘤异质性限制,临床转化价值有限,更适合药物初筛与短期疗效评估。

## 5 基因工程构建 HCC 小鼠模型

HCC 的发生涉及多层次遗传与表观遗传异常,常与活性氧、炎症因子及纤维化增多相关<sup>[52]</sup>。基因工程小鼠模型可在肝脏中过表达或敲除参与 HCC 发展的基因,解析肿瘤发生的分子机制并用于功能与药效研究。常用策略包括 Cre-LoxP 重组、CRISPR-Cas9 与“睡美人”转座子系统<sup>[53]</sup>(图 4)。

### 5.1 Cre-LoxP 重组技术

Cre-LoxP 是应用最广泛的肝脏特异性位点特异性重组编辑技术,可实现小鼠肝细胞时空特异性基因修饰<sup>[54]</sup>。该系统核心由 Cre 重组酶与 34 bp 特异性 LoxP 位点构成<sup>[55]</sup>,通过在目标基因上下游插入 LoxP 位点获得 floxed 小鼠,依托肝脏特异性白蛋白(albumin, Alb)启动子驱动 Cre 重组酶表达<sup>[56]</sup>,即可特异性敲除肝细胞靶基因。基于该成熟技术体系,目前已成功构建多种靶向 HCC 关键致病基因的肝细胞特异性敲除小鼠模型,为解析疾病发病机制提供了可靠的体内研究平台<sup>[57]</sup>。例如,PTEN 作为人体关键的抑癌基因,其基因突变与功能缺失广泛参与多种恶性肿瘤的发生,在 HCC 的恶性转化进程中发挥核心调控作用。有研究团队利用 Cre-LoxP 系统特异性构建 AlbCrePten<sup>flox/flox</sup>肝细胞特异性 Pten 缺失突变小鼠模型,靶向沉默小鼠肝细胞内 Pten 基因表达。长期造模观察结果显示,小鼠在 74~78 周龄时,肝脏组织 HCC 发生率可达 66%,充分证实肝细胞 Pten 基因缺失可高效驱动 HCC 的发生,为研究抑癌基因异常介导的肝癌发病机制、筛选靶向干预靶点提供了理想的动物模型<sup>[58]</sup>。

### 5.2 CRISPR-Cas9 技术

CRISPR-Cas9 系统是源自原核生物抵御噬菌体和质粒入侵的适应性免疫体系,现已发展为高效、便捷的主流基因组编辑工具<sup>[59]</sup>。依托流体动力学尾静脉注射技术,可实现 CRISPR-Cas9 载体在小鼠肝细胞的高效靶向递送,适用于肝脏基因编辑与原位肝癌建模研究。XUE 等<sup>[60]</sup>研究证实,通过该递送方式靶向敲除小鼠肝细胞 Pten、p53 等核心抑癌基因,可在短期内成功诱导肝脏肿瘤形成,成瘤表型与经典 Cre-LoxP 编辑模型高度一致,验证了 CRISPR-Cas9 快速构建 HCC 模型的可行性。ZHU 等<sup>[61]</sup>将 CRISPR-Cas9 基因编辑与人源化 FRG 小鼠结合,通过构建 Arid1a 基因敲除、Ctnnb1 基因持续激活突变,并联合酒精西式饮食代谢干预,从而实现基因与环境协同诱导肝癌发生。并且双突变小鼠成瘤率达 70%,可高度模拟人类代谢相关 HCC 的病理特征,适用于精准机制研究与靶点筛选<sup>[61]</sup>。

### 5.3 “睡美人”转座子系统

转座子是一类可在基因组内自由移位的 DNA 组件,依靠转座酶识别末端反向重复序列,通过“剪切-粘贴”方式实现基因片段的切除与基因组整合,是重要的基因编辑工具<sup>[62]</sup>。“睡美人”(sleeping beauty, SB)转座子属于 Tc1/mariner 超家族,可在多种脊椎动物中高效介导基因转座<sup>[63]</sup>,现已广泛应用于功能基因组研究与基因工程建模。在体内肝脏建模应用中,结合流体动力学尾静脉注射技术可实现 SB 转座子在小鼠肝细胞的高效瞬时转染与染色体稳定整合。BELL 等<sup>[64]</sup>研究证实,该方式可在 1 天内实现 5%~40%肝细胞的靶基因表达,并长期稳定维持整合表达,充分验证了 SB 系统肝脏靶向建模的有效性。

### 5.4 效能特点分析与前沿应用领域

三类基因编辑模型各有侧重且优势互补,均被广泛应用于 HCC 机制解析、靶点挖掘与药效评价。Cre-LoxP 系统时空特异性强、编辑精准,适合精细研究特定基因在肿瘤不同阶段的功能,但模型构建周期长、流程复杂;CRISPR-Cas9 技术编辑效率高、灵活度强,是快速构建多基因突变肝癌模型的首选;“睡美人”转座子胜在基因长效稳定表达,适用于致癌基因功能高通量筛选。随着转座子改造、递送体系优化以及基因编辑脱靶风险管控技术的不断完善,基因工程 HCC 小鼠模型的仿真度与应用范围将持续拓展,成为衔接基础研究与临床转化的重要工具。



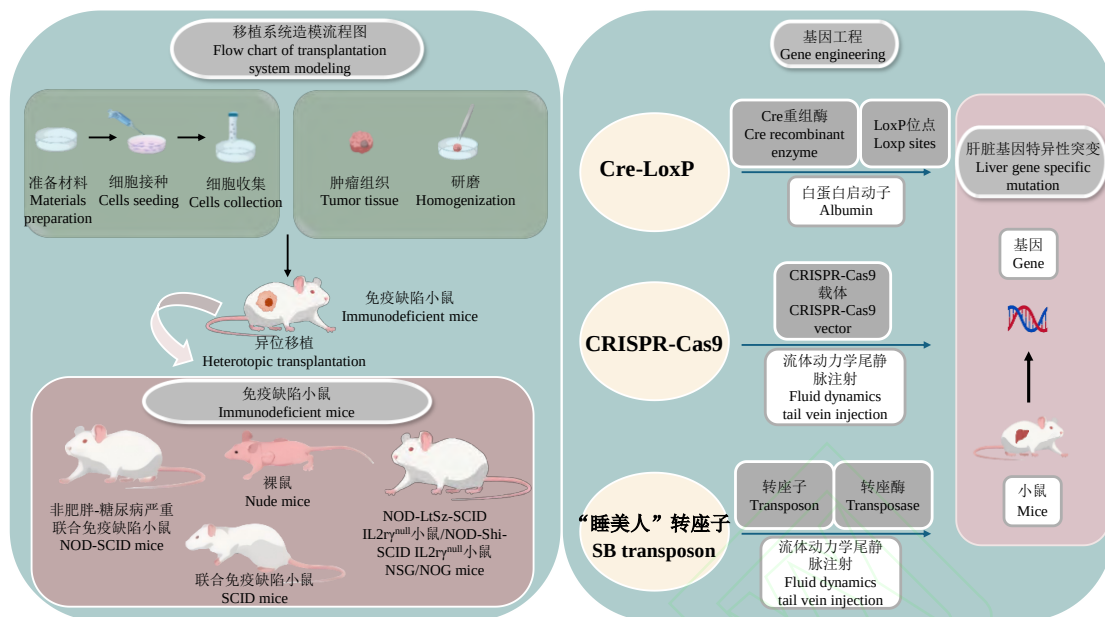


图4 HCC小鼠移植模型与基因工程模型构建体系  
Figure 4 HCC mouse transplantation model and genetic

## 6 总结与展望

本文系统梳理了肝毒性化合物及饮食诱导、病毒诱导、基因工程及移植系统致HCC小鼠模型，各类模型优势互补，可分别应用于肝癌多阶段病变观察、病毒性肝癌研究、基因功能解析以及药物筛选与个体化疗效评估。值得注意的是，国内肝癌致病谱已发生结构性转变：随着环境改善、工业防护升级及病毒性肝炎防治进步，化学、病毒相关肝癌占比持续下降，代谢紊乱相关肝癌已成为临床主流。传统模型多聚焦经典诱因，难以复刻代谢相关肝癌的分子特征与免疫微环境，存在亚型单一、转化价值有限等短板，难以匹配当前精准靶向与免疫治疗的研究需求。

结合临床发展趋势，未来HCC小鼠模型需朝着精准化、复合化、人源化方向升级。通过联合饮食干预与基因编辑技术，搭建模拟MAFLD相关肝癌的复合模型；结合人源化改造与多组学技术，还原肝癌异质性、免疫逃逸及药物耐药等特征，助力代谢型、耐药型肝癌攻关与新型药物研发。持续优化建模体系、突破现有技术局限，能够显著提升模型的临床仿真度与转化价值，为HCC发病机制研究和临床治疗方案优化提供坚实的实验支撑。

综上，HCC小鼠模型的优化革新始终服务于临床研究需求。紧跟肝癌疾病谱演变趋势、突破传统模型局限、发展高精度复合式建模技术，能够进一步提升模型的临床仿真度与转化价值，为新时代HCC发病机制深挖、临床治疗突破及患者预后改善提供可靠的实验支撑。

### 参考文献：

- [1] TOH M R, WONG E Y T, WONG S H, et al. Global epidemiology and genetics of hepatocellular carcinoma [J]. *Gastroenterology*, 2023, 164(5): 766-782.
- [2] XIAO Z, CHEN H, XU N, et al. MATR3 promotes liver cancer progression by suppressing DHX58-mediated type I interferon response [J]. *Cancer Lett*, 2024, 604: 217231.
- [3] FAYED H M, ASAAD G F, ELBASET M A, et al. Therapeutic efficacy of canagliflozin against hepatocarcinogenesis induced by CDD/DEN/TAA in a rat model: regulation of AMPK/HIF-1 $\alpha$ /YAP-1/TAZ signaling pathways [J]. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*, 2025, 398(11): 16131-16148.
- [4] DOPAZO C, SØREIDE K, RANGELOVA E, et al. Hepatocellular carcinoma [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2024, 50(1): 107313.
- [5] JAMAL F, AHMED G, FARAZUDDIN M, et al. Potential of siRNA-bearing subtilosomes in the treatment of diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinoma [J]. *Molecules*, 2023, 28(5): 2191.
- [6] MO Y, HAN Y, CHEN Y, et al. ZDHHC20 mediated S-palmitoylation of fatty acid synthase (FASN) promotes hepatocarcinogenesis [J]. *Mol Cancer*, 2024, 23(1): 274.
- [7] YANG C, YOU J, PAN Q, et al. Targeted delivery of a PD-1-blocking scFv by CD133-specific CAR-T cells using nonviral Sleeping Beauty transposition shows enhanced antitumour efficacy for advanced hepatocellular carcinoma [J]. *BMC Med*, 2023, 21(1): 327.
- [8] GU C Y, LEE T K W. Preclinical mouse models of hepatocellular carcinoma: an overview and update [J]. *Exp Cell Res*, 2022, 412(2): 113042.

- [9] ZIMMERMAN H J, LEWIS J H. Chemical- and toxin-induced hepatotoxicity [J]. *Gastroenterol Clin N Am*, 1995, 24(4): 1027-1045.
- [10] FUKUSHIMA S, GI M, KAKEHASHI A, et al. Qualitative and quantitative approaches in the dose-response assessment of genotoxic carcinogens [J]. *Mutagenesis*, 2016, 31(3): 341-346.
- [11] BAYLY A C, ROBERTS R A, DIVE C. Suppression of liver cell apoptosis *in vitro* by the non-genotoxic hepatocarcinogen and peroxisome proliferator nafenopin [J]. *J Cell Biol*, 1994, 125(1): 197-203.
- [12] SHEWEITA S A, EL BANNA Y Y, BALBAA M, et al. N-nitrosamines induced infertility and hepatotoxicity in male rabbits [J]. *Environ Toxicol*, 2017, 32(9): 2212-2220.
- [13] PUNVITTAYAGUL C, CHARITYAKORNKUL A, CHEWONARIN T, et al. Augmentation of diethylnitrosamine-induced early stages of rat hepatocarcinogenesis by 1, 2-dimethylhydrazine [J]. *Drug Chem Toxicol*, 2019, 42(6): 641-648.
- [14] LIN R, XIE S, XU F, et al. Improvement of rat hepatocellular carcinoma model induced by diethylnitrosamine [J]. *Tissue Cell*, 2024, 86: 102261.
- [15] RAO K V N, VESSELINOVITCH S D. Age- and sex-associated diethylnitrosamine dealkylation activity of the mouse liver and hepatocarcinogenesis [J]. *Cancer Res*, 1973, 33(7): 1625-1637.
- [16] SCHULIEN I, HASSELBLATT P. Diethylnitrosamine-induced liver tumorigenesis in mice [J]. *Methods Cell Biol*, 2021, 163: 137-152.
- [17] AHMAD Z, ISHFAQ P M, JAIN S K, et al. Mitigation of experimental hepatocellular Carcinoma by *Inonotus obliquus* Mushroom extract in association with oxidative stress and inflammation signaling [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2025, 114: 104648.
- [18] UEHARA T, POGRIBNY I P, RUSYN I. The DEN and CCl<sub>4</sub>-induced mouse model of fibrosis and inflammation-associated hepatocellular carcinoma [J]. *Curr Protoc*, 2021, 1(8): e211.
- [19] CHEN Z, YANG J, SONG Y, et al. HCC model induced by *P53* and *Pten* knockout in HBV-transgenic mice mirrors human HCC at the transcriptome level [J]. *J Med Virol*, 2024, 96(12): e70120.
- [20] SUZUKI-KEMURIYAMA N, ABE A, NAKANE S, et al. Nonalcoholic steatohepatitis-associated hepatocarcinogenesis in mice fed a modified choline-deficient, methionine-lowered, L-amino acid-defined diet and the role of signal changes [J]. *PLoS One*, 2023, 18(8): e0287657.
- [21] IKAWA-YOSHIDA A, MATSUO S, KATO A, et al. Hepatocellular carcinoma in a mouse model fed a choline-deficient, L-amino acid-defined, high-fat diet [J]. *Int J Experimental Path*, 2017, 98(4): 221-233.
- [22] BROWN A L, CONRAD K, ALLENDE D S, et al. Dietary choline supplementation attenuates high-fat-diet-induced hepatocellular carcinoma in mice [J]. *J Nutr*, 2020, 150(4): 775-783.
- [23] GALVÃO F H F, TRALDI M C C, ARAÚJO R S S, et al. Preclinical models of liver cancer [J]. *Arq Gastroenterol*, 2023, 60(3): 383-392.
- [24] HUANG D Q, MATHURIN P, CORTEZ-PINTO H, et al. Global epidemiology of alcohol-associated cirrhosis and HCC: trends, projections and risk factors [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2023, 20(1): 37-49.
- [25] CHEN D, YAN Y, WANG X, et al. Chronic alcohol exposure promotes HCC stemness and metastasis through  $\beta$ -catenin/miR-22-3p/TET2 axis [J]. *Aging*, 2021, 13(10): 14433-14455.
- [26] BRANDON-WARNER E, WALLING T L, SCHRUM L W, et al. Chronic ethanol feeding accelerates hepatocellular carcinoma progression in a sex-dependent manner in a mouse model of hepatocarcinogenesis [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2012, 36(4): 641-653.
- [27] ZHANG Y, CAO W, WANG S, et al. Epigenetic modification of hepatitis B virus infection and related hepatocellular carcinoma [J]. *Virulence*, 2024, 15: 2421231.
- [28] HINO K, NISHINA S, SASAKI K, et al. Mitochondrial damage and iron metabolic dysregulation in hepatitis C virus infection [J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 133: 193-199.
- [29] BUENDIA M A, NEUVEUT C. Hepatocellular carcinoma [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2015, 5(2): a021444.
- [30] LI Y T, WU H L, LIU C J. Molecular mechanisms and animal models of HBV-related hepatocellular carcinoma: with emphasis on metastatic tumor antigen 1 [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(17): 9380.
- [31] XU Z, BENEDICT YEN T S, WU L, et al. Enhancement of hepatitis B virus replication by its X protein in transgenic mice [J]. *J Virol*, 2002, 76(5): 2579-2584.
- [32] 吴胜昔. 乙型肝炎病毒 X 蛋白上调共抑制分子 B7-H1 在肝癌细胞中的表达 [D]. 重庆: 第三军医大学, 2010: 10.  
WU S X. study on hepatitis b virus x protein upregulating the expression of co-inhibitory molecule b7-h1 in hepatocellular carcinoma cells [D]. Chongqing: Third Military Medical University, 2010: 10.
- [33] KOIKE K, MORIYA K, IINO S, et al. High-level expression of hepatitis B virus HBx gene and hepatocarcinogenesis in transgenic mice [J]. *Hepatology*, 1994, 19(4): 810-819.
- [34] WU B K, LI C C, CHEN H J, et al. Blocking of G1/S transition and cell death in the regenerating liver of Hepatitis B virus X protein transgenic mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 340(3): 916-928.
- [35] LI Y, TANG Z Y, HOU J X. Hepatocellular carcinoma: insight from animal models [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2012, 9(1): 32-43.
- [36] HE L, TIAN D A, LI P Y, et al. Mouse models of liver cancer: Progress and recommendations [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(27): 23306-23322.
- [37] PASCUT D, HOANG M, NGUYEN N N Q, et al. HCV proteins modulate the host cell miRNA expression contributing to hepatitis C pathogenesis and hepatocellular carcinoma development [J]. *Cancers*, 2021, 13(10): 2485.
- [38] HU X, WANG X, JIA F, et al. A trans-fatty acid-rich diet promotes liver tumorigenesis in HCV core gene transgenic mice [J]. *Carcinogenesis*, 2020, 41(2): 159-170.
- [39] POPPER H. Viral versus chemical hepatocarcinogenesis [J]. *J Hepatol*, 1988, 6(2): 229-238.
- [40] YANG E B, CAO J, SU J J, et al. The tree shrews: useful animal models for the viral hepatitis and hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatogastroenterology*, 2005, 52: 613-616.
- [41] BATISTA M N, BORDIGNON J, P MOSIMANN A L, et al. An immunocompetent murine model of virus-elicited liver fibrosis and hepatocellular carcinoma [J]. *J Hepatol*, 2026, 84(6): 1062-1076.
- [42] 刘瑶, 杨大宇, 郭玉岩, 等. 肝癌实验动物模型的研究进展 [J]. *现代肿瘤医学*, 2026, 34(3): 475-480.  
LIU Y, YANG D Y, GUO Y Y, et al. Research progress of experimental animal models of hepatocellular carcinoma [J]. *J Mod Oncol*, 2026, 34(3): 475-480.
- [43] 梁成刚. HepG2 细胞小鼠异位移植瘤模型的建立及基因 Nanog、Oct4 表达的研究 [D]. 遵义: 遵义医科大学, 2021: 8.  
LIANG C G. study on the establishment of ectopic xenograft tumor model of hepg2 cells in mice and the expression of nanog and oct4 genes [D]. Zunyi: Zunyi Medical University, 2021: 8.
- [44] KHANNA C. Modeling metastasis *in vivo* [J]. *Carcinogenesis*, 2004, 26(3): 513-523.
- [45] BI Y, LI S, TANG H, et al. A novel xenograft model of human hepatocellular carcinoma in immunocompetent mice based on the microcarrier-6 [J]. *Transpl Immunol*, 2023, 76: 101738.

- [46] 关万青. 人胸腺组织切片的体外制备, 移植裸鼠的体内有效性验证和分子质量评估模型的构建 [D]. 广州: 南方医科大学, 2025: 6.  
GUAN W Q. Study on the *in vitro* preparation of human thymic tissue slices, *in vivo* efficacy verification after transplantation into nude mice and construction of molecular quality evaluation model [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2025: 6.
- [47] BOSMA G C, FRIED M, CUSTER R P, et al. Evidence of functional lymphocytes in some (leaky) scid mice [J]. *J Exp Med*, 1988, 167(3): 1016-1033.
- [48] HESSELTON R M, GREINER D L, MORDES J P, et al. High levels of human peripheral blood mononuclear cell engraftment and enhanced susceptibility to human immunodeficiency virus type 1 infection in NOD/LtSz-scid/scid mice [J]. *J Infect Dis*, 1995, 172(4): 974-982.
- [49] ITO M, KOBAYASHI K, NAKAHATA T. NOD/Shi-scid IL2gamma(null) (NOG) mice more appropriate for humanized mouse models [J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2008, 324: 53-76.
- [50] KITSER A M, BRUNETTI J E, RODRÍGUEZ E. Recent developments in NSG and NRG humanized mouse models for their use in viral and immune research [J]. *Viruses*, 2023, 15(2): 478-491.
- [51] BIBBY M C. Orthotopic models of cancer for preclinical drug evaluation [J]. *Eur J Cancer*, 2004, 40(6): 852-857.
- [52] MOON H, CHO K, SHIN S, et al. High risk of hepatocellular carcinoma development in fibrotic liver: role of the hippo-YAP/TAZ signaling pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(3): 581.
- [53] ZHENG H C, XUE H, YUN W J. An overview of mouse models of hepatocellular carcinoma [J]. *Infect Agent Cancer*, 2023, 18(1): 49.
- [54] 赵安竹, 付辉蓉, 李响, 等. Cre-LoxP 技术构建肝脏特异性 *HIF-2α* 基因敲除小鼠模型 [J]. 中华肝脏外科手术学电子杂志, 2019, 8(3): 270-275.  
ZHAO A Z, FU H R, LI Y, et al. Establishment of a mouse model with liver-specific *HIF-2α* gene knockout with Cre-loxP technique [J]. *Chin J Hepatic Surg*, 2019, 8(3): 270-275.
- [55] FOSTER M P, BENEDEK M J, BILLINGS T D, et al. Dynamics in cre-loxP site-specific recombination [J]. *Curr Opin Struct Biol*, 2024, 88: 102878.
- [56] DONG M, ZHANG J, LONG L, et al. Establishment of a liver-specific Albumin-Cre recombinase transgenic golden *Hamster* model using gRosa26-Targeted dual-fluorescent reporter system for hepatocyte-specific genetic manipulation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2025, 792: 152912.
- [57] NI Q, DING K, WANG K Q, et al. Deletion of *HNF1α* in hepatocytes results in fatty liver-related hepatocellular carcinoma in mice [J]. *FEBS Lett*, 2017, 591(13): 1947-1957.
- [58] HORIE Y, SUZUKI A, KATAOKA E, et al. Hepatocyte-specific Pten deficiency results in steatohepatitis and hepatocellular carcinomas [J]. *J Clin Invest*, 2004, 113(12): 1774-1783.
- [59] MA L, YANG S, PENG Q, et al. CRISPR/Cas9-based gene-editing technology for sickle cell disease [J]. *Gene*, 2023, 874: 147480.
- [60] XUE W, CHEN S, YIN H, et al. CRISPR-mediated direct mutation of cancer genes in the mouse liver [J]. *Nature*, 2014, 514(7522): 380-384.
- [61] ZHU Y, TAHARA S M, TSUKAMOTO H, et al. Protocol for generation of humanized HCC mouse model and cancer-driver mutations using CRISPR-Cas9 [J]. *STAR Protoc*, 2023, 4(4): 102389.
- [62] 赵子杰, 宋豪, 董小鸥, 等. 转座组件系统介导的大片段 DNA 定向插入技术研究进展 [J]. 中国农业科学, 2026, 59(6): 1141-1156.  
ZHAO Z J, SONG H, DONG X O, et al. Progress in transposable element-assisted targeted insertion of large DNA fragments [J]. *Sci Agric Sin*, 2026, 59(6): 1141-1156.
- [63] 谢飞. “睡美人”转座子系统对于外源基因整合和表达促进作用 [D]. 扬州: 扬州大学, 2008: 4.  
XIE F. Study on the promoting effect of sleeping beauty transposon system on exogenous gene integration and expression [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2008: 4.
- [64] BELL J B, PODETZ-PEDERSEN K M, ARONOVICH E L, et al. Preferential delivery of the Sleeping Beauty transposon system to livers of mice by hydrodynamic injection [J]. *Nat Protoc*, 2007, 2(12): 3153-3165.