

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.05.030

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.05.030>

## 膀胱癌动物模型的建立方法对比及成瘤监测技术的进展

佟业飞, 修有成 综述 刘赞 审校

(哈尔滨医科大学附属第一医院泌尿外科三科, 哈尔滨 150001)

**[摘要]** 膀胱肿瘤是泌尿系统最常见的肿瘤, 且治疗后容易复发和进展, 因此迫切需要治疗膀胱肿瘤的新方法。无论是研究新治疗方法还是开展个体化治疗, 都有赖于膀胱癌动物模型的成功建立。迄今为止, 膀胱癌的动物模型建立方法很多且各有特点。建模成瘤后肿瘤的监测技术, 特别是活体动态监测技术尤为重要。现将目前膀胱肿瘤动物模型的建立和监测方法方面的进展进行综述, 并讨论各种建立方法的优缺点, 帮助研究者选择出最适合其实验的建模方案与监测技术。

**[关键词]** 膀胱肿瘤; 疾病模型; 动物; 肿瘤监测

## Comparison of the methods of animal models of bladder cancer and the development of tumor monitoring techniques

TONG Yefei, XIU Youcheng, LIU Zan

(Third Department of Urology, First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China)

**Abstract** Bladder tumor is the most common tumor in the urinary system, and is easy to relapse and progress after treatment. Therefore, there is an urgent need for new treatment of bladder tumor. Both the new treatment and individualized treatment depend on the success of the animal model of bladder cancer. Up to now, the animal model of bladder cancer has been established with many methods and characteristics. It is very important to monitor the tumor after the animal model is completed, especially in vivo dynamic monitoring. Now, I reviewed the progress in the establishment and monitoring of the current animal model of bladder tumor and discussed the advantages and disadvantages of various methods that to help researchers select the most suitable modeling scheme and monitoring technology.

**Keywords** bladder tumor; disease model; animal; tumor monitoring

膀胱癌是泌尿系统中最常见的恶性肿瘤之一, 并且发病率逐年增高。在全世界, 膀胱癌发病率居所有恶性肿瘤的第11位, 男性比女性高发<sup>[1]</sup>。我国膀胱癌发病率与世界范围的发病率相

似<sup>[2]</sup>。Black等<sup>[3]</sup>通过实验证实肿瘤微环境对肿瘤进展过程的影响, 认为研究膀胱癌转移的机制离不开膀胱癌动物模型。建立理想的膀胱肿瘤动物模型, 对于膀胱肿瘤的生物学研究、抗肿瘤药物的

收稿日期 (Date of reception): 2018-01-30

通信作者 (Corresponding author): 修有成, Email: 694484688@qq.com

研发、人类膀胱癌个体化治疗至关重要。

Arentsen等<sup>[4]</sup>认为理想的膀胱癌动物模型应与人类膀胱癌在组织结构和生物学行为上相似,且应包括以下生物学特征:1)所诱发的肿瘤应该于膀胱内原位生长。2)所诱发肿瘤的病理类型应该是纯粹的癌,且应包括上皮癌的不同病理分级。3)所应用的动物模型应具有适当的自身免疫力,用以制作成抗癌治疗模型。4)膀胱癌动物模型的建立应追求短的诱发周期,高重复性的模型建立。此外,作为理想的膀胱癌动物模型其诱导致癌剂对其他正常组织器官应追求尽可能小的不良反应;在药物或其他治疗方法的治疗反应上应追求与人类的膀胱癌类似。

膀胱肿瘤动物模型主要分为5类:原位致癌物诱发性膀胱癌动物模型、原位移植瘤膀胱癌动物模型、原位自发性膀胱癌动物模型、原位基因工程膀胱癌动物模型、异位膀胱癌动物模型。Reis等<sup>[5]</sup>的研究表明每一种膀胱癌动物模型都有其优点和缺点,因此实验研究者应按照其实验目的来选择合理的动物模型。

## 1 原位致癌物诱发性膀胱癌动物模型

在此类模型中,只要实验者所给诱导剂剂量、途径及实验动物选择恰当,其所诱发的膀胱癌肿瘤具有特异性强、成瘤率高的共有特点,故在实践中应用广泛<sup>[6]</sup>。目前诱导致癌的主流试剂为硝基咪唑啉甲酰胺(FANFT)、N-丁基-N(4-羟丁基)亚硝胺(BBN)和N-甲基亚硝基脲(MNU)3种。其中FANFT属硝基咪唑啉类间接致癌化合物,一般可予口服途径给药,诱导发生时间8个月以上时实验动物膀胱癌肿瘤形成率接近100%。BBN, MNU属亚硝基类致癌物质,BBN为直接或间接致癌试剂,可口服或膀胱灌注给药,诱导发生时间需5~8个月<sup>[7]</sup>。其诱导的动物模型膀胱癌病理类型绝大多数为移行细胞癌,与人类主要的膀胱癌病理类型十分相似。MNU为直接致癌试剂,经膀胱灌注直接作用于膀胱黏膜,诱导发生时间约为8周<sup>[8]</sup>。

优点:1)模型制作简便,BBN及FANFT可口服给药;MNU及BBN可经尿道膀胱灌注给药,精确控制诱导剂剂量、减少环境污染。2)MNU诱导周期短,且联合应用促癌剂(如对苯二酸)可进一步缩短诱导实验动物成瘤时间<sup>[9]</sup>。3)诱导成功率高,如控制好诱导剂作用时间及浓度,诱导成功率可达到100%。4)可诱导的动物模型类型有很多,如大鼠、小鼠、犬、猴。5)诱导剂有较强的特异

性,对膀胱的选择性质,诱导的膀胱癌组织呈现多发、且以尿路上皮细胞病理类型为主的特征,与人类膀胱肿瘤的主要组织病理类型相近。

缺点:1)FANFT, BBN诱导肿瘤发生所需时间长,超过半年。2)诱导剂经肝肾代谢,易损伤实验动物肝肾功能,易导致高病死率。3)诱导肿瘤发生病理类型可为鳞状上皮类型。4)直接致癌试剂MNU易导致实验动物尿道损伤,及相关并发症。5)对实验动物行侵入性操作,对实验人员有一定的技术要求。6)因雌性动物制模容易,故常选雌性动物制模,但这与人类男性较女性多发膀胱肿瘤事实违背。

## 2 原位移植瘤膀胱癌动物模型

在此模型中,将肿瘤单细胞悬液植入膀胱,建立原位移植瘤膀胱癌动物模型。李云龙等<sup>[10]</sup>应用一种新型实验装置,经尿道插入实验小鼠膀胱内,定位膀胱黏膜切割破坏正常膀胱黏膜屏障,再灌入人膀胱癌细胞株EJ进行种植。相比于传统开腹后直视下切割破坏正常膀胱黏膜屏障,其大幅度提高了膀胱癌细胞的成瘤率,且具有微创、简便、高效的进步特点。

其优点:1)注射法能精确控制所植入的膀胱肿瘤细胞数量。2)对比异位膀胱癌动物模型,其更贴近膀胱癌在人体生物学行为。3)灌注法诱导致癌率高,诱导成功率可达97%,且成瘤率与植入肿瘤细胞的数量、存留接触时间有关<sup>[11]</sup>。

缺点:1)需开放手术建立模型,对实验人员有一定的技术要求,动物模型成活率易下降。2)注射深度层次不易掌握,易导致癌细胞种植转移。3)术后需应用抗生素预防感染,可影响膀胱癌的免疫治疗,增加实验变量。4)灌注法所植入膀胱肿瘤细胞数量不定。

## 3 原位自发性膀胱癌动物模型

原位自发性膀胱癌动物模型与人类的原发性膀胱癌在多方面相同<sup>[12]</sup>,实际应用价值极高。其与人类原发性膀胱癌的相同之处主要包括:1)在所有癌症类型中所占比例;2)主要发病年龄;3)致癌危险因素;4)组织病理学特征;5)临床表现;6)癌细胞转移情况;7)TNM分期;8)分子水平生物学特征;9)对单一化疗药物的反应。

缺点:1)原位自发性膀胱癌动物罕见;2)模型制作困难、耗时;3)模型制作重复性较难保证。

## 4 原位基因工程膀胱癌动物模型

原位基因工程膀胱癌动物模型是目的基因或特定基因被敲除及经过基因工程技术转基因后的动物模型<sup>[3]</sup>。通过基因工程技术处理所需实验动物模型的特定目的基因,使其对致癌诱导剂的易感性增加。如携带人C-Ha-*rag*原癌基因转基因鼠模型、V-Ha-*ms*转基因鼠模型及抑癌基因缺陷鼠模型<sup>[13]</sup>。依据特定目的基因通过基因工程技术所植入实验动物的方式,可将其分为显微注射法、反转录病毒转染法、胚胎干细胞法。

优点: 1)动物模型与人膀胱癌极为一致; 2)可从分子水平研究膀胱癌的基因功能。

缺点: 对实验人员技术水平及实验设备要求极高。

## 5 异位膀胱癌动物模型

在此模型中,将肿瘤单细胞悬液或肿瘤组织块植入实验动物皮下<sup>[14]</sup>(常选实验动物肋腹或后腿处)、腹腔<sup>[15]</sup>、静脉<sup>[16]</sup>,建立异位膀胱癌动物模型。以作为研究肿瘤侵袭及转移机制的基础和前提。

优点: 1)操作相对简单; 2)膀胱癌异位植入后发生率高,近100%。

缺点: 1)肿瘤在鼠类中的传代成功率低,为15%~38%<sup>[6,17]</sup>; 2)肿瘤组织块植入法(肿块包埋法)所植入膀胱肿瘤细胞数量不定。

## 6 膀胱癌动物模型诱导成瘤情况的监测

监测诱导成瘤情况十分重要,因为膀胱癌动物模型诱导成瘤的成瘤率总是<100%<sup>[18]</sup>。主流的监测方法包括直接测量肿瘤直径、影像学监测(超声、MRI、生物荧光成像)、迷你膀胱镜。其中许天源等<sup>[19]</sup>提出一种经过改良的CT扫描及CT尿路成像(CTU)活体检测的方法,该方法给活体连续监测肿瘤情况提供了新思路。与传统CT检查相比,这种新方法更为全面和直观地显示膀胱内的肿瘤情况,有利于膀胱癌动态生长和治疗效果的连续观测,并且其对上尿路或尿道的原位肿瘤的动物实验,CTU的监测价值将更加突出。同时Raman等<sup>[20]</sup>的研究也强调诊断人体肿瘤时CT的重要性。

对于活体动物的体内光学成像技术,主要采用生物发光与荧光两种技术。应用成像试剂标记目标后,利用灵敏的光学监测仪器,可以直接监

测活体生物内的细胞活动和基因行为。与以上活体动物监测成像技术(超声,CT,MRI,PET等)相比,体内光学成像技术有许多独特优点,如操作简洁方便、结果直接便于观察、监测的速度迅捷、灵敏度高及费用低廉等。此项技术已广泛地应用于生命科学、医学研究及药物研发等各领域。当然体内光学成像技术在膀胱肿瘤的成瘤监测及肿瘤转移监测实验中也同样扮演重要角色。

王浩等<sup>[21]</sup>的实验研究提供了一种新的具有高度特异性的近红外荧光(near infrared fluorescence, NIRF)显像试剂——七甲川菁, NIRF可及时、准确发现肿瘤细胞,并可连续无创地观察其变化,具有监测时间快(最快可达1 s)、不用注射底物的独特优点。这是现在肿瘤诊断与治疗领域的研究热点与方向,应用前景巨大,不局限于动物成瘤的科学实验。张超等<sup>[22]</sup>通过应用具有高侵袭能力及稳定高表达力的增强型绿色荧光蛋白(enhanced green fluorescent protein, EGFP)单克隆细胞株观察膀胱癌细胞转移情况的实验,证明此技术在膀胱癌转移动物模型中的重要作用,进一步拓展了活体荧光成像技术的应用。

## 7 结语

综上所述,膀胱癌动物模型的建立及其成瘤或转移情况的监测已较为成熟,各具优点与缺点,且均不能完全模拟人类膀胱肿瘤的生物行为,故如何选择适于自身情况的实验方案,达到理想的实验效果,对于膀胱肿瘤的生物学研究、抗肿瘤药物的研发、人类膀胱癌个体化治疗至关重要。期待发展更加完善的模型制作方案及监测技术。

## 参考文献

1. Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69-90.
2. 韩苏军,张思维,陈万青,等.中国膀胱癌发病现状及流行趋势分析[J].*癌症进展*, 2013, 11(1): 89-95.  
HAN Sujun, ZHANG Siwei, CHEN Wanqing, et al. Analysis of the current situation and epidemic trend of bladder cancer in China[J]. *Oncology Progress*, 2013, 11(1): 89-95.
3. Black PC, Dinney CP. Bladder cancer angiogenesis and metastasis—translation from murine model to clinical trial[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2007, 26(3/4): 623-634.

4. Arentsen HC, Hendricksen K, Oosterwijk E, et al. Experimental rat bladder urothelial cell carcinoma models[J]. *World J Urol*, 2009, 27(3): 313-317.
5. Reis LO, Pereira TC, Favaro WJ, et al. Experimental animal model and RNA interference; a promising association for bladder cancer research[J]. *World J Urol*, 2009, 27(3): 353-361.
6. 孙俊, 徐达. 膀胱癌动物模型的研究进展[J]. *中华实验外科杂志*, 2009, 26(5): 679-680.  
SUN Jun, XU Da. Advances in animal model of bladder cancer[J]. *Chinese Journal of Experimental Surgery*, 2009, 26(5): 679-680.
7. 李云, 许传亮, 李志华, 等. 两种构建大鼠膀胱癌模型方法的比较研究[J]. *临床泌尿外科杂志*, 2008, 23(10): 783-784.  
LI Yun, XU Chuanliang, LI Zhihua, et al. The comparative study in the construction of experimental animal model of bladder tumor in rat induced by BBN and MNU[J]. *Journal of Clinical Urology*, 2008, 23(10): 783-784.
8. 方杰, 王翔, 方祖军, 等. 大鼠膀胱癌模型的光动力学治疗[J]. *中华实验外科杂志*, 2002, 19(6): 506-507.  
FANG Jie, WANG Xiang, FANG Zujun, et al. Efficacy of photodynamic therapy on rat bladder cancer model[J]. *Chinese Journal of Experimental Surgery*, 2002, 19(6): 506-507.
9. Cui L, Shi Y, Dai G, et al. Modification of N-Methyl-N-Nitrosourea initiated bladder carcinogenesis in Wistar rats by terephthalic acid[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2006, 210(1/2): 24-31.
10. 李云龙, 严春寅, 李巧星, 等. 裸小鼠原位人膀胱癌细胞浅表膀胱癌模型的建立[J]. *中华实验外科杂志*, 2013, 30(12): 2738-2740.  
LI Yunlong, YAN Chunyin, LI Qiaoxing, et al. Establishment of the orthotopic superficial bladder cancer model device in human bladder cancer cell in nude mice[J]. *Chinese Journal of Experimental Surgery*, 2013, 30(12): 2738-2740.
11. Xiao Z, McCallm TJ, Brown KM, et al. Characterization of a novel transplantable orthotopic rat bladder transitional cell tumour model[J]. *Br J Cancer*, 1999, 81(4): 638-646.
12. Knapp DW, Waters DJ. Naturally occurring cancer in pet dogs: important models for developing improved cancer therapy for humans[J]. *Mol Med Today*, 1997, 3(1): 8-11.
13. Gollapudi BB, Stott WT, Yano BL, et al. Mode of action considerations in the use of transgenic animals for mutagenicity and carcinogenicity evaluations[J]. *Toxicol Lett*, 1998, 102-103: 479-484.
14. Karam JA, Fan J, Stanfield J, et al. The use of histone deacetylase inhibitor FK228 and DNA hypomethylation agent 5-azacytidine in human bladder cancer therapy[J]. *Int J Cancer*, 2007, 120(8): 1795-1802.
15. Watanabe T, Shinohara N, Sazawa A, et al. An improved intravesical model using human bladder cancer cell lines to optimize gene and other therapies[J]. *Cancer Gene Ther*, 2000, 7(12): 1575-1580.
16. Montie JE. Profiling the evolution of human metastatic bladder cancer[J]. *J Urol*, 2005, 174(2): 485-486.
17. Iwata H, Otoshi T, Takada N, et al. Validation of silver-stained nucleolar organizer regions for evaluation of invasive character of urinary bladder carcinoma in rats and mice[J]. *Urol Res*, 1995, 23(1): 27-32.
18. Chart E, Patel A, Heston W, et al. Mouse orthotopic models for bladder cancer research[J]. *BJU Int*, 2009, 104(9): 1286-1291.
19. 许天源, 朱照伟, 夏磊磊, 等. 改良CT扫描及CT尿路成像在大鼠膀胱癌动物模型活体检测中的价值[J]. *现代泌尿外科杂志*, 2015, 20(9): 655-658.  
XU Tianyuan, ZHU Zhaowei, XIA Leilei, et al. Significance of modified CT scanning and CT urography for the living body detection of rat models of bladder cancer[J]. *Journal of Modern Urology*, 2015, 20(9): 655-658.
20. Raman SP, Fishman EK. Bladder malignancies on CT: the underrated role of CT in diagnosis[J]. *AJR Am J Roentgenol*, 2014, 203(2): 347-354.
21. 王浩, 杨子龙, 师长宏, 等. FTS与NIRF共轭化合物用于小鼠肿瘤模型的成像和治疗[J]. *中国实验动物学报*, 2017, 25(4): 245-349.  
WANG Hao, YANG Zilong, SHI Changhong, et al. Application of FTS and NIRF conjugated compounds in imaging and therapy of mouse tumor models[J]. *Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica*, 2017, 25(4): 245-349.
22. 张超, 杨德林, 张小德, 等. 增强型绿色荧光蛋白示踪人膀胱癌细胞裸鼠膀胱腔内种植转移的观察[J]. *中国临床医师杂志*, 2016, 10(3): 387-391.  
ZHANG Chao, YANG Delin, ZHANG Xiaode, et al. Observing human bladder cancer cell implantation metastasis in urinary bladder of athymic mouse by green fluorescent protein expression[J]. *Chinese Journal of Clinicians*, 2016, 10(3): 387-391.

本文引用: 佟业飞, 修有成, 刘赞. 膀胱癌动物模型的建立方法对比及成瘤监测技术的进展[J]. *临床与病理杂志*, 2018, 38(5): 1092-1095. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.05.030

**Cite this article as:** TONG Yefei, XIU Youcheng, LIU Zan. Comparison of the methods of animal models of bladder cancer and the development of tumor monitoring techniques[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2018, 38(5): 1092-1095. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.05.030