

# 小鼠早期肺腺癌模型的建立

肖时满, 张玉, 强金伟

(复旦大学附属金山医院, 上海 201508)

**【摘要】** 目的 构建小鼠早期肺腺癌模型,为影像学研究提供工具。方法 210只KM小鼠随机分为5个实验组(每组各40只)和1个对照组(10只)。实验组每周皮下注射亚硝基胍(MNNG)溶液0.2 mL(浓度2.0 mg/mL),按总剂量分为A、B、C、D和E组,分别注射1、2、4、8和12周。于首次注射后的第60、80、100、120天在每组中随机抽取10只处死,解剖肺脏并观察肿瘤鼠发生率、肿瘤数量和大小等。对照组每周皮下注射0.2 mL的生理盐水共12周。**结果** ①成瘤率和成瘤总数与时间、剂量呈正相关,但首次注射第60天时,实验组均无肿瘤生成。②第80天时,A、B、C、D、E组的成瘤率分别为0%、10%、30%、40%和50%,成瘤总数分别为0、4、42、60和81个,直径<0.5 mm的肿瘤数分别为0、4、25、31和40个。③第100天时,每组的成瘤率分别为20%、40%、100%、100%和100%,成瘤总数分别为6、19、187、223和301个,直径<0.5 mm的肿瘤数分别为5、16、132、124和123个。④第120天时,每组的成瘤率分别为30%、50%、100%、100%、100%,成瘤总数分别为30、124、302、351和362个,直径<0.5 mm的肿瘤数分别为21、98、123、140和108个。经病理证实这些肺肿瘤均为肺腺癌。**结论** 浓度为2.0 mg/mL的亚硝基胍溶液0.2 mL每周皮下注射,连续四周,100 d时能获得100%的肺腺癌成瘤率和最多的<0.5 mm肿瘤数,为最佳的小鼠早期肺腺癌模型。

**【关键词】** 肺腺癌;影像学模型;小鼠

**【中图分类号】** Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2015)03-0227-06

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2015.03.002

## Establishment of a mouse model of early lung adenocarcinoma

XIAO Shi-man, ZHANG Yu, QIANG Jin-wei

(Department of Radiology, Jinshan Hospital, Fudan University, Shanghai 201508, China)

**【Abstract】 Objective** To establish a mouse model of early lung adenocarcinoma to serve the imaging studies of early lung adenocarcinoma. **Methods** Two-hundred and ten 4-week old SPF female Kunming mice were randomly divided into 5 experimental groups (40 mice per group) and 1 control group (10 mice). The mice of experimental groups were subcutaneously injected with a dose of 0.2 ml 1-methyl-3-nitro-1-nitroso-guanidine (MNNG) solution in concentration of 2.0 mg/mL weekly for 1, 2, 4, 8, 12 weeks (group A-E), respectively, while the mice of control group was subcutaneously injected with 0.2 mL saline weekly for 12 weeks. Ten mice were randomly sacrificed from each experimental group at the 60th, 80th, 100th and 120th days after initial injection (group A<sub>60</sub>, group A<sub>80</sub>, group A<sub>100</sub>, group A<sub>120</sub>; group B<sub>60</sub>, .....and so on), and the bilateral lungs were dissected. The tumor occurrence rate, number and size of lung tumors were observed and recorded. **Results** 1. The tumor occurrence rate and number of lung tumors were positively proportional to the time and dose of MNNG injection. No tumor was found in any group at the 60th day. 2. At the 80th day, the tumor occurrence rate in the groups A, B, C, D and E was 0, 10%, 30%, 40% and 50%, respectively. The number of tumors in each group was 0, 4, 42, 60 and 81, respectively. The number of tumors smaller than 0.5 mm in diameter was 0, 4, 25,

**【基金项目】**国家自然科学基金(81171340);上海市科委临床重点项目(10411956800)。

**【作者简介】**肖时满(1985年-),男,博士生,研究方向:胸腹部影像学;张玉(1987-),女,博士生,研究方向:胸腹部影像学。共同第一作者。

**【通讯作者】**强金伟, E-mail: dr.jinweiqiang@163.com

31 and 40, respectively. 3. At the 100th day, the tumor occurrence rate was 20%, 40%, 100%, 100% and 100%, respectively. The number of tumors was 6, 19, 187, 223 and 301, respectively, and the number of tumors smaller than 0.5 mm in diameter was 5, 16, 132, 124 and 123, respectively. 4. At the 120th day, the tumor occurrence rate was 30%, 50%, 100%, 100% and 100%, respectively. The number of tumors was 30, 124, 302, 351 and 362 per group, respectively. The number of tumors smaller than 0.5 mm in diameter was 21, 98, 123, 140 and 108, respectively. The induced lung adenocarcinomas were confirmed by pathology. **Conclusions** MNNG solution 0.2 mL (2.0 mg/mL) subcutaneously injected weekly for 4 weeks can produce 100% occurrence rate of lung adenocarcinoma in mice and most tumors are smaller than 0.5 mm in diameter at 100th day after initial injection. It is a most suitable model for imaging studies of mouse early lung adenocarcinoma.

**【Key words】** Early stage lung adenocarcinoma; Tumor model, imaging study; mouse

CT 胸部筛查已成为发现早期肺癌的最重要的工具<sup>[1]</sup>。在高危人群,肺内小结节的发现率达 22%~43%,其中 10% 为恶性结节<sup>[2,3]</sup>。由于结节常较小,恶性肿瘤的征象常不典型,对其定性是影像医师面临的巨大挑战<sup>[4,5]</sup>。因此,探索早期肺癌的发生发展规律,寻找其独特的形态学特征,对于早期微小肺癌的诊断具有重要意义。

然而,临床研究存在诸多局限,由于结节微小,在满足临床诊断后几乎不能再用于科学研究,与病理对照研究很难实现。肺癌动物模型的微型 CT 研究可以弥补临床不足,而制作一个适合微型 CT 研究的早期肺癌动物模型显得尤为重要<sup>[6,7]</sup>。

到目前为止,我们还未见适于影像学研究的早期肺癌的动物模型。本研究探索应用甲基硝基亚硝基胍 (1-methyl-3-nitro-1-nitroso-guanidine, MNNG) 皮下注射 KM 小鼠以诱导肺癌的发生,确定适用于影像学研究的早期肺癌造模方法。

## 1 材料和方法

### 1.1 试剂和药品

诱癌试剂 N-甲基-N-硝基-亚硝基胍,简称亚硝基胍 (N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine, MNNG, 上海如吉生物科技有限公司)。

### 1.2 动物

SPF 级 KM 小鼠 210 只,4 周龄,18~22 g,雌性,购于上海杰思捷实验动物有限公司【SCXK(沪)2012-0006】。实验前适应饲养一周,条件为:23℃,相对湿度 65%~75%,自由摄食、饮水。动物实验在上海市公共卫生临床中心实验动物部进行【SYXK(沪)2010-0098】。

### 1.3 分组

将 210 只 KM 小鼠分为 5 个实验组和 1 个对照组,5 个实验组(A-E)每组各 40 只,每周一次皮下注

射 0.2 mL MNNG 溶液,浓度为 2.0 mg/mL。按剂量分组如下:A、B、C、D、E 组,分别注射 1、2、4、8、12 周;对照组 10 只,每周一次皮下注射生理盐水 0.2 mL,共 12 周。于首次注射后的第 60、80、100、120 天,从每个实验组中随机抽取 10 只牺牲取材,对照组 120d 全部牺牲取材。

### 1.4 病理学观察

解剖出肺脏,观察肿瘤数量,用标尺测量肿瘤大小。肺标本用福尔马林固定、切片、HE 染色,光镜下观察,确定病变性质和肿瘤病理类型。

## 2 结果

### 2.1 5 组成瘤概况

从 A 组到 E 组的成瘤率和成瘤总数与首次染毒剂注射后的时间和剂量呈正相关,不同剂量组在不同时间点肿瘤生成情况见表 1。

表 1 不同时间点肿瘤生成情况

Tab.1 Number of mice with tumor formation and number of tumors in mice of different groups (10 mice in each group)

组别 Groups	60 d	80 d	100 d	120 d
A 组	0 / 0	0 / 0	2 / 6	3 / 30
B 组	0 / 0	1 / 4	4 / 18	5 / 124
C 组	0 / 0	3 / 42	10 / 187	10 / 302
D 组	0 / 0	4 / 60	10 / 223	10 / 351
E 组	0 / 0	5 / 81	10 / 301	10 / 362

C 组、D 组、E 组在首次给药后 100 d 和 120 d 时,成瘤率均为 100%。其中 100 d 时,C<sub>100</sub>组单个小鼠双肺内肿瘤数 5~27 个(图 1B);D<sub>100</sub>组肿瘤数 6~40 个(图 2B);E<sub>100</sub>组肿瘤数 7~56 个(图 2C)。120 天时,C<sub>120</sub>组肿瘤数 9~45 个;D<sub>120</sub>组 10~53 个;E<sub>120</sub>组 12~58 个。每组的单个小鼠体内肿瘤数近似于正态分布。

### 2.2 第 60 天成瘤情况

首次染毒剂注射后第 60 天时,均未发现肺肿瘤

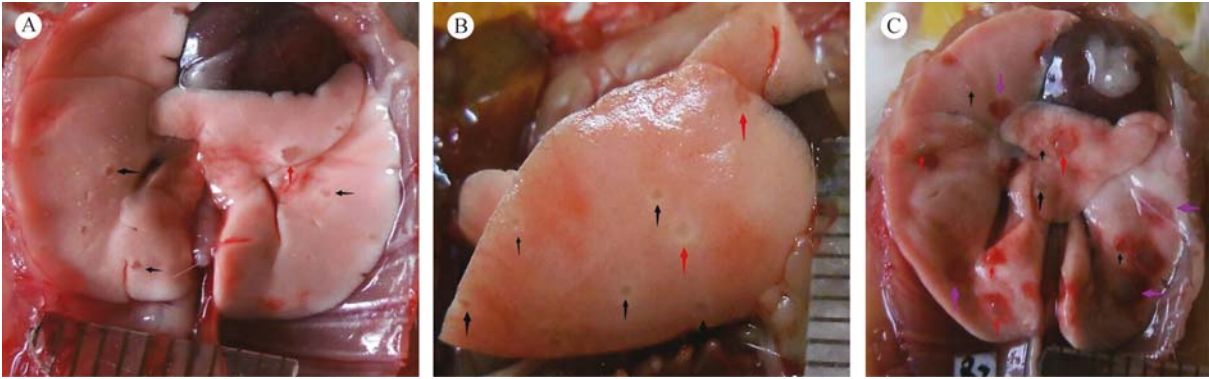
生成。

### 2.3 第 80 天成瘤情况

首次给药 80 d 时肿瘤生成情况见表 2。

第 80 天时,除 A 组(A<sub>80</sub>组)无成瘤外,其余每组都有成瘤,且随剂量增加而成瘤率和成瘤数上升。A<sub>80</sub>、B<sub>80</sub>、C<sub>80</sub>(见图 1A)、D<sub>80</sub>和 E<sub>80</sub>组(每组 10 只)的

成瘤率分别为 0%、10%、30%、40% 和 50%,成瘤总数分别为 0、4、42、60 和 81 个。每组中直径小于 0.5 mm 的肿瘤的数分别为 0、4、25、31 和 40 个,分别占成瘤总数的 0、100%、60%、50% 和 50% (图 1A)。

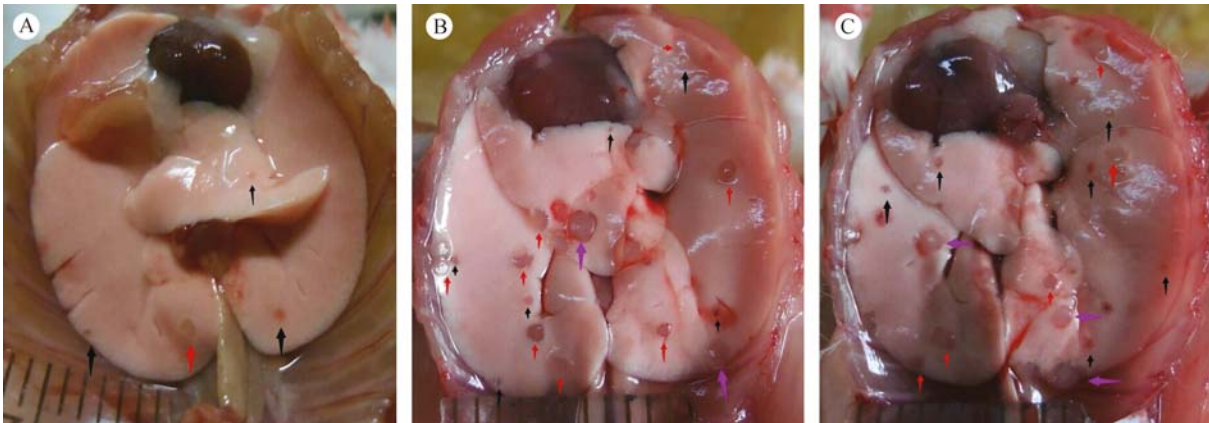


注:A、B 和 C 分别为 C 组(MNNG 0.2 mL/周 × 4 周)80、100 和 120 d 时的大体肺标本。肿瘤呈灰白色点状或结节状,其中粉红色箭头为大于 1 mm 的肿瘤,红色箭头为肿瘤大小 0.5 ~ 1 mm,黑色箭头为肿瘤大小小于 0.5 mm。第 100 天时成瘤率 100%, < 0.5 mm 的肿瘤数最多。实物尺每小格为 1 mm。

图 1 C 组不同时间点的肿瘤生成图

Note. A. Gross appearance of the lungs with visible tumors in a mouse of the 80th day group. B. Gross appearance of the lungs with visible tumors in a mouse of the 100th day group. C. Gross appearance of the lungs with visible tumors in a mouse of the 120th day group. The MNNG-induced tumors appear as grey nodules. The pink, red and black arrows point at tumors > 1 mm, 0.5 - 1 mm, and < 0.5 mm, respectively. At the 100th day, there is a 100% tumor formation rate and most tumors are smaller than 0.5 mm. Scale bar = 1 mm.

Fig. 1 Gross appearance of the lungs with visible tumors in different groups at different time points.



注:A、B 和 C 分别为 A 组(MNNG 0.2 mL/周 × 1 周)、D 组(MNNG 0.2 mL/周 × 8 周)和 E 组(MNNG 0.2 mL/周 × 12 周)100 d 时的大体标本图,其中 A 组肿瘤稀少,D 和 E 组肿瘤以大于 1 mm(粉红色箭头)和 0.5 ~ 1 mm(红色箭头)为主,实物尺每小格为 1 mm。

图 2 100 d 时不同组别的肿瘤生成图

Note. A. Gross appearance of the lungs with sparse visible tumors in a mouse after MNNG 0.2 mL/wk administration for one week. B. Gross appearance of the lungs with visible tumors in a mouse after MNNG 0.2 mL/wk administration for 8 weeks. Most tumors are > 1 mm (pink arrows). C. Gross appearance of the lungs with visible tumors in a mouse after MNNG 0.2 mL/wk administration for 8 weeks. Most tumors are 0.5 - 1 mm in size (red arrows).

Scale bar = 1 mm.

Fig. 2 Gross appearance of the lungs with visible tumors in different groups at the 100<sup>th</sup> day.

## 2.4 第 100 天时成瘤情况

首次给药 100 d 时肿瘤生成情况见表 2。

第 100 天时, A<sub>100</sub> (见图 2A)、B<sub>100</sub>、C<sub>100</sub> (见图 1B)、D<sub>100</sub> (见图 2B) 和 E<sub>100</sub> (见图 2C) 组的成瘤率分别为 20%、40%、100%、100% 和 100%, 成瘤总数分别为 6、19、187、223 和 301 个。A<sub>100</sub>、B<sub>100</sub>、C<sub>100</sub>、D<sub>100</sub> 和 E<sub>100</sub> 组, 每组中直径小于 0.5 mm 的肿瘤数分别为 5、16、132、124 和 123 个, 分别占总瘤数的 83%、84%、71%、56% 和 41% (图 1B)。

表 2 首次给药 80、100、120 d 时肿瘤生成情况

Tab. 2 Tumor formation in the mice of different groups at 80, 100, 120 days after MNNG administration. (10 mice in each sub-group)

首次给药 时间点/d Time point	剂量分组 Dose groups	肿瘤总数 Total number of tumors	肿瘤大小 Tumor size/mm				
			<0.5	0.5~1	1~2	2~3	>3
80	A <sub>80</sub> 组	0	0	0	0	0	0
	B <sub>80</sub> 组	4	4	0	0	0	0
	C <sub>80</sub> 组	42	25	17	0	0	0
	D <sub>80</sub> 组	60	31	29	0	0	0
	E <sub>80</sub> 组	81	40	41	0	0	0
100	A <sub>100</sub> 组	6	5	1	0	0	0
	B <sub>100</sub> 组	19	16	2	1	0	0
	C <sub>100</sub> 组	187	132	50	5	0	0
	D <sub>100</sub> 组	223	124	76	23	0	0
	E <sub>100</sub> 组	301	123	147	31	0	0
120	A <sub>120</sub> 组	30	21	9	0	0	0
	B <sub>120</sub> 组	124	98	20	6	0	0
	C <sub>120</sub> 组	302	123	158	18	3	0
	D <sub>120</sub> 组	351	140	174	28	7	2
	E <sub>120</sub> 组	362	108	196	42	11	5

## 2.6 C<sub>100</sub> 组病理学观察概况

从 C<sub>100</sub> 组的 187 个肿瘤中随机选取 106 个肿瘤病理观察, 证实这些肺肿瘤均为肺腺癌 (图 3A、3B)。106 个肿瘤大小 0.19 ~ 1.60 mm, 平均 0.49 mm。实验组注射部位和肺以外其他部位未见肿瘤发生, 对照组所有部位未见肿瘤。

可见三种生长方式: ①鳞屑型 6 个, 大小 0.29 ~ 0.41 mm, 平均 0.34 mm; ②实性 29 个, 大小 0.19 ~ 1.60 mm, 平均 0.57 mm; ③混合型 71 个, 大小 0.19 ~ 1.10 mm, 平均 0.47 mm。混合型中鳞屑性成分大于 75%、50% ~ 75%、25% ~ 50% 和小于 25% 的肿瘤平均大小分别为 0.30、0.37、0.42、0.59 mm。

## 3 讨论

理想的适合于影像学研究的肺癌模型应该具有以下特点: ①动物具正常免疫, 容易获得; ②肺癌由诱导引起, 生物学和组织学特性与人类相同; ③致癌

## 2.5 第 120 天成瘤情况

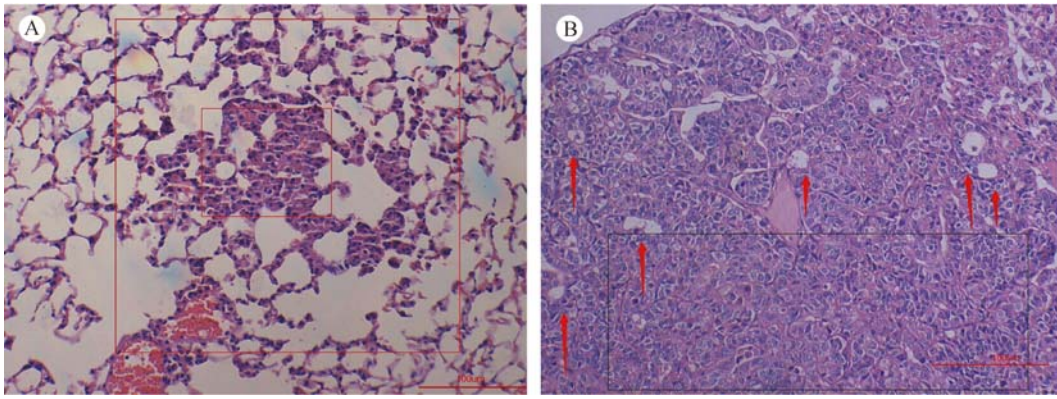
首次给药 120 d 时肿瘤生成情况见表 2。

A<sub>120</sub>、B<sub>120</sub>、C<sub>120</sub> (见图 1C)、D<sub>120</sub> 和 E<sub>120</sub> 组的成瘤率分别为 30%、50%、100%、100% 和 100%, 成瘤总数分别为 30、124、302、351 和 362。A<sub>120</sub>、B<sub>120</sub>、C<sub>120</sub>、D<sub>120</sub> 和 E<sub>120</sub> 组, 每组中直径小于 0.5 mm 的肿瘤数分别为 21、98、123、140 和 108, 分别占总瘤数的 70%、79%、41%、40% 和 30% (图 1C)。

因子的作用机制与人类相同, 剂量和作用时间与成瘤率有相关性; ④成瘤率高, 重复性好; ⑤所需时间短, 操作简单, 费用低。

小鼠的肺癌在生物学、组织学、分子学和基因表达方面与人肺癌相似, 因而在肺癌研究中应用较多<sup>[8]</sup>。小鼠有饲养繁殖容易、肿瘤的发展不受性别和年龄的影响、成瘤周期短等优点。用作肺癌模型的常用小鼠品种有<sup>[9]</sup>: A/J 系小鼠、SWR 系小鼠、BALB/c 小鼠、C<sub>57</sub>BL 小鼠、裸鼠和 KM 小鼠等, 但前几者或为近交系、有免疫缺陷或易产生免疫耐受, 或成瘤率低、价格较贵; KM 小鼠是远交系, 具有正常免疫功能, 且不容易产生免疫耐受, 且价格便宜<sup>[9]</sup>, 故本研究其作为模型动物诱导肺癌。

诱发型肺癌模型是指通过加入能够诱发肿瘤形成的因素而使动物产生肺癌的方法, 可经人为控制实验条件以及在限定的时间内获得可靠的结果, 同时可以通过试验品系的选择而减少个体差异, 可以



注:A. 腺瘤样增生 大红框为肿瘤整体,小红框内为小范围实变区,大框与小框之间为鳞屑样结构(lepidic pattern)。bar = 100 $\mu$ m。B. 腺癌 红色箭头示肿瘤腺管组织,框内为肿瘤实性浸润区。bar = 100 $\mu$ m。(HE,  $\times 100$ )

**图 3** 早期、晚期肺腺癌镜下病理学表现

Note. A. Microscopic appearance of an early lung tumor in a mouse. The large red frame shows the whole tumor, while the small frame shows the solid component. The area between them shows the lepidic components. The scale bar in the lower right corner is 100  $\mu$ m. B. Invasive adenocarcinoma of the lung. The red arrows indicate the acinar structures of the tumor, while the structures inside black frame are the invasive components of the tumor. The scale bar in the lower right corner is 100  $\mu$ m.

**Fig. 3** Microscopic appearance of an early invasive adenocarcinoma(HE,  $\times 100$ )

模拟相似的人类环境包括主要毒性物质的接触方式,从而制造出与人类肺癌发生、发展过程类似的肺肿瘤<sup>[10,11]</sup>。此类模型不要求动物有免疫缺陷,不要求改变整个动物的肺组织或体细胞遗传基因,能最大程度的模拟了人体内环境,所以本研究采取此种研究方法。

致癌剂引入的途径可分成以下几类:经口、吸入、经皮穿刺肺内注射、支气管灌注、皮下注射和腹腔注射<sup>[12-15,18]</sup>。其中皮下注射途径是指皮下注射肺癌诱导剂,吸收入血后循环至肺部后作用于肺部,从而诱导肺癌的方法。该方法操作简单,不损伤肺部组织原来的结构,不会引起感染等干扰。王修杰等<sup>[15]</sup>用 0.6% 的亚硝基胍经皮下注射后雌性 KM 小鼠,每周一次,共 12 次,于第 82 天解剖发现肉眼肺肿瘤发生率为 92%,镜下肺肿瘤恶变率 54%。但他们诱导的肺癌多为晚期,用于影像学研究意义不大。我们借鉴其多次注射的方式,在保证了剂量足够的情况下可获得 100% 的致瘤率,仅需时 100 天,且模型稳定均一,均为腺癌。在 100 d 时能获得最多小于 0.5 mm 的早期肿瘤,平均每只鼠有 13.2 个。而且,0.5 ~ 1 mm 大小的肿瘤较少,只有极少的肿瘤达 1 ~ 2 mm,未发现大于 2 mm 的肿瘤。我们还随机在镜下观察和测量了 C<sub>100</sub> 组的 106 个肿瘤,见鳞屑型、实性和混合型三种生长方式。其中鳞屑型最小,平均大小 0.34 mm;实性最大,平均 0.57 mm;混合型

大小介于两者间,平均 0.47 mm。混合型中随着肿瘤增大,鳞屑性成分下降。上述生长方式及其与肿瘤大小的关系与人类肺癌是相同的。虽然小鼠早期肺癌的诊断标准未见报道,而且人类关于不典型腺瘤样增生、原位腺癌和浸润性腺癌的标准也不能套用于小鼠肺癌,但我们对照研究了 20 个小鼠肺和 20 个人类肺的直径和肺泡大小,发现两者大小均相差 20 倍。因此 0.5 mm 大小的小鼠肺癌相当于 10 mm 的人类肺癌,故以 0.5 mm 大小为小鼠早期肺癌的标准是合理的。

能够诱导动物发生肿瘤的因素很多,主要有化学致癌物、物理致癌因素及生物致癌因素等,其中最常用的为化学致癌剂,包括芳香胺、曲霉毒素和亚硝基类等<sup>[15-17]</sup>。芳香胺需要长期大量给药才能致癌,致癌作用常常受营养或者激素的影响。霉菌及其毒素,致癌性极强,小剂量即可引起动物死亡,不易把握,故较少用于制备动物肺癌模型<sup>[17]</sup>。亚硝基类致癌性强,小剂量一次给药即可致癌,对多种动物的许多器官都致癌,具有不同结构的亚硝胺有明显的器官亲和性,其中二戊基亚硝胺、乙基亚硝胍和亚硝基胍等均能引起肺癌<sup>[15,19]</sup>。本实验采用的亚硝基胍虽需多次给药,但总的使用剂量小,致癌剂量与致死剂量差距大,通过小鼠皮下注射药物后缓慢吸收,能特异性的引起肺肿瘤而不产生其他器官肿瘤,是理想的肺癌致癌剂。

本研究着眼点在早期肿瘤的形态学方面,所以设置了多个时间点,一方面明确肿瘤发生的时间点、各时间段的肿瘤发生率;另一方面明确早期肺癌的最佳时间段。另外,在剂量方面,通过简单的分组,我们得出了比前人更节省剂量的肺癌诱导型模型,为进一步研究早期肺腺癌的形态学奠定了基础。本研究结果表明:采用浓度为 2.0 mg/mL 的亚硝基胍溶液 0.2 mL 每周皮下注射,连续注射四周(C组),100 天时能获得 100% 的肺腺癌成瘤率和最多的 < 0.5 mm 肿瘤数,为最佳的小鼠早期肺腺癌模型。

(本文小鼠肺癌病理诊断得到上海市胸科医院病理科邵晋晨副主任医师的大力支持,在此致谢!)

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Henschke CI, Boffetta P, Gorlova O, et al. Assessment of lung-cancer mortality reduction from CT screening [J]. *Lung Cancer*, 2011, 71 (3): 328 - 332.
- [ 2 ] Henschke CI, McCauley DI, Yankelevitz DE, et al. Early lung cancer action project: overall design and findings from baseline screening [J]. *Lancet*, 1999, 354(9173): 99 - 105.
- [ 3 ] Diederich S, Wormanns D, Semik M, et al. Screening for early lung cancer with low-dose spiral CT: prevalence in 817 asymptomatic smokers [J]. *Radiology*, 2002, 222(3): 773 - 781.
- [ 4 ] Sone S, Nakayama T, Honda T, et al. Long-term follow-up study of a population-based 1996 - 1998 mass screening programme for lung cancer using mobile low-dose spiral computed tomography [J]. *Lung Cancer*, 2007, 58(3): 329 - 341.
- [ 5 ] Xing Y, Li Z, Jiang S, et al. Analysis of pre-invasive lung adenocarcinoma lesions on thin-section computerized tomography [J]. *Clin Respir J*, 2014, 11(4): 282 - 286.
- [ 6 ] Cavanaugh D, Johnson E, Price RE, et al. In vivo respiratory-gated micro-CT imaging in small-animal oncology models [J]. *Mol Imaging*, 2004, 3(1): 55 - 62.
- [ 7 ] Li M, Jirapatnakul A, Biancardi A, et al. Growth pattern analysis of murine lung neoplasms by advanced semi-automated quantification of micro-CT images [J]. *PLoS ONE*, 2013, 8(12): e83806.
- [ 8 ] Malkinson AM. Primary lung tumors in mice as an aid for understanding, preventing, and treating human adenocarcinoma of the lung [J]. *Lung Cancer*, 2001, 32(3): 265 - 279.
- [ 9 ] 李怡岚, 何宁, 乔珊珊, 等. 不同品系小鼠对乌拉坦诱导肺肿瘤的敏感性 [J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 2006, 24(11): 671.
- [ 10 ] Liu J, Johnston MR. Animal models for studying lung cancer and evaluating novel intervention strategies [J]. *Surg Oncol*, 2002, 11(4): 217 - 227.
- [ 11 ] Tuveson DA, Jacks T. Modeling human lung cancer in mice: similarities and shortcomings [J]. *Oncogene*, 1999, 18(38): 5318 - 5324.
- [ 12 ] De Flora S, Izzotti A, D'Agostini F, et al. Induction and modulation of lung tumors: genomic and transcriptional alterations in cigarette smoke-exposed mice [J]. *Exp Lung Res*, 2005, 31(1): 19 - 35.
- [ 13 ] 顾其华, 胡成平, 夏莹, 等. 3,4-苯并芘肺内注射构建大鼠肺肿瘤模型的实验研究 [J]. *中国肺癌杂志*, 2007, 10(1): 172 - 175.
- [ 14 ] Koohdani F, Sasani F, Mohammad K, et al. Comparison of ki-67 antigen expression and K-ras mutation in lung tumours induced by urethane in mice [J]. *Singapore Med J*, 2009, 50(7): 729 - 733.
- [ 15 ] 王修杰, 罗德元, 王朝俊. 甲基硝基亚硝基胍诱发小鼠肺腺癌的病理观察 [J]. *华西医科大学学报*, 1988, 19(4): 376 - 379.
- [ 16 ] 罗琳琳, 李秋银. 实验动物模型的建立方法 [J]. *国际呼吸杂志*, 2011, 32(16): 1264 - 1267.
- [ 17 ] 黄向华, 张祥宏, 李月红, 等. 三种真菌毒素诱发 NIH 小鼠肺癌的试验研究 [J]. *河北医科大学学报*, 2003, 24(1): 22 - 23.
- [ 18 ] 张修彦, 詹纯列. 转基因肺癌动物模型研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2012, 22(10): 64 - 66.
- [ 19 ] 侯敏, 戴丽军, 谭小军, 等. 小鼠肺腺癌模型的建立及肿瘤病理分析 [J]. *中国实验动物学杂志*, 2012, 20(4): 75 - 79.

[ 收稿日期 ] 2014-10-30