

转基因肺癌动物模型研究进展

张修彦, 詹纯列

(广州军区广州总医院 动物实验中心, 广东 510010)

【摘要】 肺癌是世界各国常见的恶性肿瘤, 肺癌动物模型在人类肺癌病因、诊断、治疗等方面发挥重要的作用。其中转基因肺癌模型能够更好的模拟肺癌, 更有利于肺癌病因及发病过程的研究。本文介绍了近年来转基因肺癌模型的研究进展。

【关键词】 肺癌; 转基因; 模型; 动物;

【中图分类号】 R33; R734 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2012)10-0064-03

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2012.010.015

Research Progress of Transgenic Animal Models of Lung Cancer

ZHANG Xiu-yan, ZHAN Chun-lie

(Laboratory Animal Center, General Hospital of Guangzhou Military Command, Guangzhou 510010, China)

【Abstract】 Lung cancer is one of the common malignant tumors in the world. Animal models of lung cancer have played very important role in the research on etiology, diagnosis and treatment of human lung cancers. Transgenic animal models of lung cancer are more similar to human lung cancer and are better for studies on the etiology and pathogenesis of lung cancer. This article is focused on the research progress of transgenic animal models of lung cancer in recent years.

【Key words】 Lung cancer, model; Transgene, animals.

肺癌是世界各国常见的恶性肿瘤之一, 它严重威胁人类健康, 近 20 年发病率逐年上升。估计到 2030 年, 全球将有 830 万人死于吸烟有关的疾病, 其中肺癌占 3.1%^[1-3]。目前, 肺癌为我国恶性肿瘤的头号杀手。肺癌实验动物模型选用的动物包括小鼠^[4]、大鼠^[5]、地鼠^[6]、羊^[7]、狗^[8]、兔^[9]、雪貂^[10]等。选用的方法包括吸入、口服、灌注或注射致癌物, 原位或异位移植肿瘤细胞或组织块以及转基因方法。转基因肺癌模型具有可遗传、模型可靠的特点。本文就转基因肺癌动物模型做一综述。

1 K-RAS 基因突变模型

KRAS 是第一个被确定的原癌基因。Ras 蛋白又称 p21 蛋白, 参与的信号转导通路主要包括有丝

分裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPK) 通路及磷酸肌醇 3 激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K) 通路^[11,12]。P21 蛋白位于细胞膜内表面, 其活性形式为 p21-GTP, 非活性形式为 p21-GDP。它可以接受和传递细胞表面信号, 如生长因子、激素、神经递质等。从而影响细胞内核酶等的合成, 对细胞生长和分化进行调控^[13]。K-ras 基因最常见的激活方式是点突变, 当 K-ras 基因发生异常时, p21 与 GTP 牢固结合, 一直处于激活状态, 持续刺激细胞生长、发育、增值, 引起细胞恶化。25% ~ 40% 非典型性腺瘤样增生检测到 KRAS 突变, 老年 A/J 小鼠肺肿瘤 80% 检测出 K-ras 突变^[14]。

Erica L. Johnson 等^[15]通过同源重组构建了 K-

[作者简介] 张修彦 (1986 -), 技师, 主要研究方向: 动物模型。E-mail: 449183654@qq.com。

[通讯作者] 詹纯列 (1963 -), 主任医师, 主要研究方向: 动物模型, 动物饲养与管理。E-mail: Zhanchunlie1963@sina.com。

rasLA 转基因模型, *K-rasLA* 小鼠可以发展出多种肿瘤包括肺恶性转化。由于早期肺恶化导致 *K-rasLA* 小鼠早期死亡影响肿瘤进展的研究。为了改进模型, Erica L. Johnson 等^[16] 在 *K-rasG^{12D}* 编码区放置一个 Loxp-stop-Loxp 盒子, 通过去除终止元件来进行调节, 这样可以控制肿瘤发生的时间、位置和多样性。这种模型被广泛用于肿瘤研究特别是肿瘤激活和发展过程^[17-19]。

Phuoc T. Tran 等^[20] 构建了联合转基因小鼠 *CCSP-rtTA/tetO-KrasG^{12D}/Twist1-tetO₇-luc (CRT)*, 这种小鼠增加了肺癌肿瘤发生的数量和大小。Zuoyan Wang^[21] 等构建了一种雌激素受体条件诱导的转基因模型。利用他莫昔芬激活 *K-rasG^{12D}* 基因可以诱导小鼠肺上皮细胞的恶性转化。

2 p53 基因突变模型

p53 是第二个被确认的抑癌基因, 也是目前所发现的与肿瘤发病最相关的抑癌基因。p53 基因的失活在肺癌发生起非常重要的作用。p53 具有调控细胞周期, 凋亡, DNA 修复、重组等功能^[22]。当 P53 基因发生突变、缺失或灭活时, 上述功能的丧失将导致细胞持续增殖及恶化。P53 在小细胞肺癌 (small cell carcinoma, SCLC) SCLC 中的突变率是 75%, 非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 中的突变率为 50%, 肺腺癌中的突变率比 SCC 或其他非肿瘤的低^[23]。

Ronald A. Lubet^[24] 等构建了 p53, Ink 4A 联合突变转基因小鼠。利用苯并(a)芘处理 p53^{+/+} Ink4a/Arf^{+/+}, p53^{+/+} Ink4a/Arf^{+/+}, p53^{+/+} Ink4a/Arf^{+/+} 小鼠, 7 星期后发现全部发生肺癌。

3 其他转基因模型

Thaddeus Allen 等^[25] 构建了过表达 Grg1 的转基因小鼠 *Grg1^{hPLAP}*, 这种小鼠在 1 个月的时候就激发肺部坏死增生, 3~5 月时就可以在胸腔表面看到肿瘤结节, 5~6 月这些坏死持续增加达到每个老鼠 3.2 ± 2.2 到 8.3 ± 6.0 个。等到 8 个月时, 这些坏死融合成为具有侵蚀性的肿瘤块。

Manabu Soda 等^[26] 在吸烟导致的非小细胞肺癌患者身上筛选到了一个合并原癌基因 *EML4-ALK*, 2 号染色体短臂的一个小插入导致了 *EML4* 与 *ALK* 的连接。由此产生了联合蛋白, 其具有 *EML4* 的氨基末端和 *ALK* 酪氨酸激酶的细胞内部分。他们构建了在肺部上皮细胞表达 *EML4-ALK* 的转基因小鼠。

这种小鼠在出生后几个星期内就在肺部发展处上百个腺癌结节。

子宫珠蛋白是支气管 clara 细胞的标志蛋白。Andrea Sandmoller 等^[27] 用启动子以及兔子宫珠蛋白 5' 末端指导 SV40 T 抗原 (猴病毒 40T 抗原, Simian virus 40 T antigen) 在肺部表达。SV40 T 抗原与 p53 蛋白和 Rb 蛋白结合, 导致细胞恶性增值。通过这种方式建立的转基因小鼠 UT7.1 发展出多灶性细支气管腺癌。

c-myc 是一种调节细胞周期进展及分化的蛋白, TGF α 属于 EGF 家族, 它可以激活 EGF 受体。经常在人肺癌中过量表达。A Ehrhardt 等^[28] 利用 SPC 启动子构建过表达 c-myc 和分泌型 EGF (IgEGF) 的转基因小鼠。杂合子 SP-C/myc 转基因小鼠的平均寿命是 14.25 个月, 纯合子的平均寿命是 9.2 个月。75% 的杂合子和 80% 的纯合子诊断出细支气管肺泡腺癌。SPC/IgEGF 肺泡增生发生在 19 个月。SP-C/myc/IgEGF 双转基因小鼠平均寿命 9 个月, 100% 检出细支气管肺泡腺癌。

RON (recepteur d'origine nantais) 酪氨酸激酶受体属于 MET 原癌基因家族。激活的 RON 磷酸化不同的细胞内蛋白并激活多种调节上皮细胞生长、迁移、分化以及存活的信号通路。研究表明^[29-31], RON 在上皮类癌症比如肺癌、结肠癌、乳腺癌都有过量表达, 表明其在上皮类癌症进程中可能起作用。Yi-Qing Chen^[32] 等用 SPC 启动子指导 RON 在肺上皮细胞表达, 这种转基因小鼠出生时肺部没有形态上的损伤, 但是有肺腺癌。到 2 个月时, 发展成单个肿瘤块。先是沿着肺泡壁生长最后进到肺泡隔内。

人类小细胞肺癌中发现高频率肿瘤抑癌基因 *Rb1* 和 *Trp53* 突变^[33-34]。Ralph Meuwissen 等^[35] 构建了条件抑制 *Rb1* 和 *Trp53* 基因的转基因小鼠。这种小鼠肺癌发病率很高, 并却在形态学和免疫学上与小鼠肺癌相似。

参考文献:

- [1] 张伟东, 苗树军. 我国恶性肿瘤死亡率流行病学特征分析 [J]. 中国健康教育, 2009, 25(4): 246-248.
- [2] 李瑞娜, 郝元涛. 肺癌流行病学和病学研究 [J]. 实用医学杂志, 2008, 58(2): 71-96.
- [3] Jenal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics [J]. CA Cancer J Clin, 2008, 58(2): 71-96.
- [4] Forte G, Rega A, Morello S, et al. Polyinosinic-polycytidylic Acid limits tumor outgrowth in a mouse model of metastatic lung cancer [J]. J Immunol, 2012, 188(11): 5357-5364.

- [5] Echiburú-Chau C, Calaf GM. Rat lung cancer induced by malathion and estrogen [J]. *Int J Oncol*, 2008, 33 (3): 603 – 611.
- [6] Schuller HM, Cekanova M. NNK-induced hamster lung adenocarcinomas over-express beta2-adrenergic and EGFR signaling pathways [J]. *Lung Cancer*, 2005, 49 (1): 35 – 45.
- [7] Mornex JF. The sheep, model for human lung pathology [J]. *Rev Prat*, 2003, 53 (3): 241 – 244.
- [8] Kraegel SA, Gumerlock PH, Dungworth DL, et al. K-ras activation in non-small cell lung cancer in the dog [J]. *Cancer Res*, 1992, 52: 4724 – 4727.
- [9] Onohara S, Nakajo M, Abeyama K, et al. Percutaneous injection of cisplatin lipiodol suspension (CLS) in rabbit lung, aiming at intratumoral injection therapy for lung cancer [J]. *Nippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi*, 1992, 52 (10): 1433 – 1442.
- [10] Kim Y, Chongviriyaphan N, Liu C, et al. Combined antioxidant (β -carotene, α -tocopherol and ascorbic acid) supplementation increases the levels of lung retinoic acid and inhibits the activation of mitogen-activated protein kinase in the ferret lung cancer model [J]. *Carcinogenesis*, 2006, 27 (7): 1410 – 1419.
- [11] Sartori G, Cavazza A, S, Sgambato A, et al. EGFR and K-ras mutations along the spectrum of pulmonary epithelial tumors of the lung and elaboration of a combined clinicopathologic and molecular scoring system to predict clinical responsiveness to EGFR inhibitors [J]. *Am J Clin Pathol*, 2009, 131: 478 – 489.
- [12] Lievre A, Bachet J B, Boige V, et al. KRAS mutations as an independent prognostic factor in patients with advanced colorectal cancer treated with cetuximab [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26: 374 – 379.
- [13] Bos JL. Ras oncogenes in human cancer [J]. *Cancer Res*, 1989, 49 (17): 4682 – 4689.
- [14] Rodenhuis S, Slebos RJC. Clinical significance of ras oncogene activation in human lung cancer [J]. *Cancer Res*, 1992, 52 (3): 2665 – 2669.
- [15] Johnson L, Mercer K, Greenbaum D, et al. Somatic activation of the K-ras oncogene causes early onset lung cancer in mice [J]. *Nature*, 2001, 410 (26): 1111 – 1116.
- [16] Jackson EL, Willis N, Mercer K, et al. Analysis of lung tumor initiation and progression using conditional expression of oncogenic K-ras [J]. *Genes Dev*, 15: 3243 – 3248.
- [17] Junttila MR, Karnezis AN, Garcia D, et al. Selective activation of p53-mediated tumour suppression in high-grade tumours [J]. *Nature*, 2010, 468: 567 – 571.
- [18] Ji HB, Ramsey MR, Hayes DN, et al. LKB1 modulates lung cancer differentiation and metastasis [J]. *Nature*, 2007, 448: 807 – 810.
- [19] Mukhopadhyay A, Krishnaswami SR, Yu BD. Activated Kras alters epidermal homeostasis of mouse skin, resulting in redundant skin and defective hair cycling [J]. *J Invest Dermatol*, 2011, 131: 311 – 319.
- [20] Tran PT, Shroff EH, Burns TT, et al. Twist1 suppresses senescence programs and thereby accelerates and maintains mutant Kras-induced lung tumorigenesis [J]. *Plos Genet*, 2012, 8 (5): 1 – 16.
- [21] Wang ZY, Feng Y, Bardesly N, et al. Temporal dissection of K-rasG12D mutant in vitro and in vivo using a regulatable K-rasG^{12D} mouse allele [J]. *Plos One*, 2012, 7 (5): e37308.
- [22] Sengupta S, Harris CC. p53: traffic cop at the crossroads of DNA repair and recombination [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 6: 44 – 55.
- [23] Takahashi T, Nau MM, Chiba L, et al. p53: a frequent target for genetic abnormalities in lung cancer [J]. *Science*, 1989, 246 (4929): 491 – 494.
- [24] Lubet RA, Zhang ZQ, Wang Y, et al. Chemopreventing of lung cancer in transgenic mice [J]. *Chest*, 2004, 125 (5): 144 – 147.
- [25] Allen T, van Tuyl M, Iyengar P, et al. Grg1 acts as a lung-specific oncogene in a transgenic mouse model [J]. *Cancer Res*, 2006, 66 (3): 1294 – 1300.
- [26] Soda M, Takada S, Takeuchi K, et al. A mouse model for EML4 – ALK-positive lung cancer [J]. *PNAS*, 2008, 105 (50): 19893 – 19897.
- [27] Sandmoller A, Halter R, Suske G, et al. A transgenic mouse model for lung adenocarcinoma [J]. *Cell Growth Differ*, 1995, 6: 97 – 103.
- [28] Ehrhardt A, Bartels T, Geick A, et al. Development of pulmonary bronchiolo-alveolar adenocarcinomas in transgenic mice overexpressing murine c-myc and epidermal growth factor in alveolar type II pneumocytes [J]. *Br J Cancer*, 2001, 84 (6): 813 – 818.
- [29] Maggiora P, Marchio S, Stella MC, et al. Overexpression of the RON gene in human breast carcinoma [J]. *Oncogene*, 16: 2927 – 2933.
- [30] Chen YQ, Zhou YQ, Angeloni D, et al. Overexpression and activation of the RON receptor tyrosine kinase in a panel of human colorectal carcinoma cell lines [J]. *Exp Cell res*, 2000, 261: 229 – 238.
- [31] Willett CG, Smith DI, Shridhar V, et al. Differential screening of a human chromosome-3 library identifies hepatocyte growth factor-like/macrophage stimulating protein and its receptor in injured lung possible implications for neuroendocrine cell survival [J]. *J Clin Invest*, 1997, 99: 2979 – 2991.
- [32] Chen YQ, Zhou YQ, Fu LH, et al. Multiple pulmonary adenomas in the lung of transgenic mice overexpressing the RON receptor tyrosine kinase [J]. *Carcinogenesis*, 2002, 23 (11): 1811 – 1819.
- [33] Minna JD, Roth JA, Gazdar AF, et al. Focus on lung cancer [J]. *Cancer Cell*, 2002, 1: 49 – 52.
- [34] Sattler M, Salgia R. Molecular and cellular biology of small cell lung cancer [J]. *Semin Oncol*, 2003, 30: 57 – 71.
- [35] Meuwissen R, Linn SC, Linnola RI, et al. Induction of small cell lung cancer by somatic inactivation of both Trp53 and Rb1 in a conditional mouse model [J]. *Cancer cell*, 2003, 4: 181 – 189.