

脊髓胶质瘤动物模型研究进展

滕楚北 综述,王麓山,刘 洪 审校

(南华大学附属第一医院脊柱外科,湖南 衡阳 421001)

摘要: 脊髓胶质瘤是一类罕见但致残致死率极高的疾病,由于其高复发率,目前尚未有效的治疗方法治疗该类疾病。近来,分子生物学及肿瘤靶向治疗的研究为脊髓胶质瘤的治疗带来一线曙光,而新的治疗方法应用于临床前必须经过大量动物实验证实其有效性和安全性。因此建立一种有效具有代表性的动物模型非常重要。根据不同的建模方法可分为肿瘤移植模型、病毒诱导模型及转基因模型等,其中肿瘤移植模型又可分为:同种移植模型和异种移植模型。这些不同的动物模型对研究脊髓胶质瘤治疗学提供了强有力的实验手段。

关键词: 脊髓胶质瘤; 动物模型; 肿瘤; 动物实验

中图分类号: 744

文献标识码: A

脊髓胶质瘤在脊髓髓内肿瘤中占有重要地位,其发病率可占各类脊髓髓内肿瘤 80% 以上,其他类型脊髓髓内肿瘤包括皮样囊肿、表皮样囊肿、肠源性囊肿、畸胎瘤、蛛网膜囊肿和血管母细胞瘤即血管网状细胞瘤等^[1]。脊髓胶质瘤主要病理分型包括:室管膜瘤、星形细胞瘤、神经节细胞神经胶质瘤、少突胶质细胞瘤、毛细胞型星形细胞瘤及多形性胶质母细胞瘤。其中室管膜瘤最为常见^[2]。由于脊髓胶质瘤的高复发率及致残致死率,使其治疗成为非常棘手的问题。目前脊髓胶质瘤的治疗以手术、放疗及化疗为主,但治疗效果都不尽理想。随着分子生物学的发展以及对胶质瘤发病机制研究的逐渐深入,分子靶向治疗和基因治疗为脊髓胶质瘤的治疗提供了新的治疗方向^[3,6]。但这些新的治疗手段在进行临床实验之前需要通过大量的动物实验以证明其有效性和可行性。因此建立稳定可靠、具有代表性的动物模型,对于研究脊髓胶质瘤具有非常重要的意义。脊髓胶质瘤动物模型和脑胶质瘤在一定程度上有许多类似之处,但由于解剖位置、组织分化以及神经功能的不同,使得脊髓胶质瘤模型的建立又有着一些特殊性^[7,9]。本文就不同的模型建立方法、分类进行阐述。

1 肿瘤移植模型

肿瘤移植模型是目前应用最为广泛的方法。这类建模方法所用实验动物的种类有大鼠、兔及犬。而根据肿瘤细胞株来源该模型可划分为同种移植模型和异种移植模型^[10]。这类模型制作的基本方法是通过显微外科手术经后路切除实验动物棘突及椎板,暴露椎管,选择相应节段脊髓(一般为中胸段脊髓)通过细针注入肿瘤细胞株于脊髓内。术后对实验动物的神经功能进行评分,当后肢出现瘫痪时,将动物处死,对实验动物的脊髓进行影像学、病理学检验。

在同种移植模型中,最为经典的是 1973 年 Barker 等^[11]建立的 9L 胶质肉瘤模型。他们所建立的 9L 细胞系是从亚硝基甲基脲诱发的大鼠脑胶质瘤模型中建立的,有表达 *las*、*neu*、*sis* 等癌基因的亚型^[11,12]。至今该细胞株仍被广泛用于脑和脊髓胶质瘤的动物模型建立,这种细胞系虽然可在髓内播散转移,形成明显的肿瘤占位效应,但其生长主要为局限性生长,浸润性生长能力较差。2006 年 Justin 等^[13]首次报道了使用 F98 细胞在大鼠上建立脊髓胶质瘤模型,该种细胞株形成的肿瘤模型则表现出明显的浸润性生长特点。

另一类为异种移植模型,早期的异种移植模型是将肿瘤组织植入到动物免疫力较弱的部位,如豚鼠眼前房和仓鼠的颊囊,以及使用过类固醇激素的兔,该方法移植成功率低。随着实验动物学的发展,1966 年 Flanagan 等^[10]首次报道了将人类神经

收稿日期:2013-9-21

作者简介:滕楚北,硕士研究生,研究方向:脊柱脊髓, E-mail 644160426@qq.com. 通讯作者:王麓山,副主任医师,研究方向:脊柱脊髓, E-mail wang25ssss@sina.cn

胶质瘤细胞植入裸鼠皮下或脑内,成功制作了胶质瘤模型。2012年 Wesley^[14]等首次报道使用人类胶质母细胞瘤细胞株植入裸鼠脊髓内,建立脊髓胶质瘤模型。使用该类方法具有实验动物生存期长、肿瘤呈浸润性生长、组织学特性更接近于人类等特点,但这类模型也有其局限性,如克隆培养的细胞株易失去原发肿瘤的多形性和混合性,以及裸鼠这类实验动物因为缺乏免疫力相对难以喂养等特点。

其他移植模型还包括狗、兔等一些大型动物模型,1984年 Salcman 等^[15]首次报道了采用狗作为实验动物建立脊髓胶质瘤模型,这也是首个被报道的脊髓胶质瘤动物模型。2005年 Gaurav^[16]等报道将 VX2 鳞状上皮细胞癌的细胞株植入新西兰大白兔脊髓内建立脊髓胶质瘤模型。这类大型实验动物模型更加便于进行影像学以及药物剂量和毒理试验研究。但这类动物模型相对价格昂贵,不利于进行大规模试验,且与之对应的免疫组化抗体也相对缺乏。

2 病毒诱导模型

由于病毒基因组结构简单,分子背景比较清楚,易于改造和操作,所以广泛应用于动物模型的构建之中。该模型基本原理是将携带致瘤基因的病毒注入试验动物脊髓内,通过病毒转染而产生瘤体。其中逆转录病毒具有 2 倍体基因结构,有两个相同的 RNA 分子,二者在 5'端附近经氢键接成 70 s RNA,加热后可分成两条正链 RNA,在细胞周期中发挥作用^[17]。2011年 Jason A. Ellis 等^[18]首次报道使用逆转录病毒传递 PDGF 至野生型大鼠脊髓前体细胞诱导形成脊髓胶质瘤。他们将携带有 PDGF 的逆转录病毒用绿色荧光蛋白标记,将其注入野生型大鼠脊髓内,该种病毒选择性转染脊髓前体细胞并将逆转录信息传递至被转染细胞,该实验结果表明通过转染 PDGF 使其在脊髓中高表达可诱发实验动物形成脊髓胶质瘤,并且该方法的传递效率很高,被转染的实验动物全部都诱发形成了肿瘤。并且可由被转染的基因诱发肿瘤,证明该基因可能是致瘤基因。但这类模型的缺点是导入动物模型中肿瘤组织致癌周期不同,诱发肿瘤的性质不一致。

3 转基因模型

随着转基因技术的发展,通过诱导某种遗传性

状的改变,诱发实验动物高频率地发生特异性肿瘤成为研究热点之一。通常转基因动物模型是将外源性基因导入实验动物受精卵雄原核或早期胚胎中,使之与实验动物染色体稳定融合并传递至后代。并且可以采用杂交技术,将两种致瘤因素相结合,转基因动物可以利用转基因技术创造出特定的模型,使得分子微观水平和整体宏观水平结合起来,然后对基因导入前后表型上的差异进行研究。肿瘤组织尤其是神经胶质瘤的形成是一个多因素、多种生物学行为的过程,包括激活通路、细胞周期破坏通路及抗凋亡通路等。利用导入外源性基因的方法,模仿某种肿瘤形成过程就可以建立相应的动物模型^[17]。2008年 Yasuyuki 等^[19]人报道培育了一种能够在四环素反应因子调控下表达 hPDGFB 的转基因小鼠,并且与表达四环素转录激活因子(tTA)的转基因小鼠杂交。而 tTA 受脊髓中特异性因子 GFAP 调控。这两种转基因鼠形成的杂交鼠在没有土霉素的环境中几乎全部都诱导形成了脊髓胶质瘤。另外 Yasuyuki^[19]等人还建立了受 GFAP 调控表达 hPDGFB 的转基因鼠,同样也诱导出了脊髓胶质瘤模型。这种方法成瘤率较高,瘤细胞性质稳定,利于分子生物学研究。其缺点是诱导过程复杂,且时间周期长,大规模动物实验成本高等。

4 问题与展望

脊髓髓内胶质瘤是一类发病少见,但复发率及致死致残率很高的疾病。至今仍没有十分有效的治疗方法。建立一种有效的动物模型对于研究新的治疗方法十分重要。理想的脊髓胶质瘤动物模型应满足以下条件:(1)肿瘤细胞起源于神经胶质细胞;(2)肿瘤诱发时间短,实验动物生存期长;(3)实验动物易于获得,可进行大规模实验;(4)肿瘤恶性程度及生长速度具有可预见性和重复性;(5)肿瘤生长特征与人脊髓恶性胶质瘤相近,可以产生胶质瘤细胞浸润生长及占位效应的特征,有新生肿瘤血管、无包膜;(6)可以产生相应的神经功能缺失症状^[20]。随着研究的深入,越来越多新的脊髓胶质瘤动物模型被建立,这些模型各自有其优缺点,仍不完全是理想的模型,因此仍需不断完善。

参考文献:

- [1] Hong GL, Yue SY, Zhang JN. Advance of treatment for

- spinal cord gliomas [J]. Neuromed, 2006, 5 (1): 106-108.
- [2] Miller DC. Surgical pathology of intramedullary spinal cord neoplasms[J]. Neurooncology, 2000, 4(7): 189-194.
- [3] Bowers DC, Weprin BE. Intramedullary spinal cord tumors Current Treat Options[J]. Neurology, 2003, 5: 207-212.
- [4] Constantini S, Miller DC, Allen JC, et al. Radical excision of intramedullary spinal cord tumors: surgical morbidity and long-term follow-up evaluation in 164 children and young adults [J]. Neurosurgery Spine, 2000, 9 (3): 183-193.
- [5] Balmaceda C. Chemotherapy for intramedullary spinal cord tumors[J]. Neurooncology, 2000, 4(7): 293-307.
- [6] Parsa AT, Lee J, Parney IF, et al. Spinal cord and intradural-extraparenchymal spinal tumors: current best care practices and strategies[J]. Neurooncology, 2004, 6(9): 291-318.
- [7] Siu IM, Tyler BM, Chen JX, et al. Establishment of a human glioblastoma stemlike brainstem rodent tumor model [J]. Neurosurgery Pediatric, 2010, 6(1): 92-97.
- [8] Jallo GI, Penno M, Sukay L, et al. Experimental models of brainstem tumors: development of a neonatal rat model [J]. Childs Nerve System, 2005, 2(1): 399-403.
- [9] Ellis JA, Canoll P, McCormick PC, et al. Platelet-derived growth factor receptor (PDGFR) expression in primary spinal cord gliomas[J]. J Neurooncology, 2012, 106(2): 235-242.
- [10] 郭正品. 脑胶质瘤动物模型的建立[J]. 国外医学·神经病学神经外科学分册, 1996, 23(3): 149-152.
- [11] Barker M, Hoshino T, Gurcay O, et al. Development of an animal brain tumor model and its response to therapy with 1,3 bis (2-chloroethyl) 1 nitrosourea [J]. Cancer Research, 1973, 3(3): 976-986.
- [12] Weizsaecker M, Deen DF, Rosenblum ML, et al. The 9L rat brain tumor: description and application of an animal model[J]. Neurology, 1981, 22(4): 183-192.
- [13] Justin C, Gustavo P. A Novel model of intramedullary spinal cord tumors in rats: functional progression and histopathological haracterization [J]. Neurosurgery, 2006, 58(7): 193-198.
- [14] Hsu W, Siu IM, Pradilla G, et al. Animal model of intramedullary spinal cord glioma using human glioblastoma multiforme neurospheres[J]. Neurosurgery Spine, 2012, 16(3): 315-319.
- [15] Salcman M, Botero E, Rao KC, et al. Intramedullary canine spinal cord tumor model[J]. Neurosurgery, 1984, 6(1): 761-766.
- [16] Mavinkurve G, Pradilla G, Legnani FG, et al. A novel intramedullary spinal cord tumor model: functional, radiological, and histopathological characterization [J]. J Neurosurgery Spine, 2005, 3(2): 142-148.
- [17] Hesselager G, Holland EC. Using mice decipher the molecular genetics of brain tumors[J]. Neurosurgery, 2003, 53(3): 685-693.
- [18] Ellis JA, Castelli M, Bruce JN, et al. Retroviral delivery of PDGF to spinal cord progenitor cells drives the formation of intramedullary gliomas [J]. Neurosurgery, 2012, 70(1): 198-204.
- [19] Hitoshi Y, Harris BT, Liu H, et al. Spinal glioma: platelet-derived growth factor B-mediated oncogenesis in the spinal cord [J]. Cancer Research, 2008, 6(8): 8507-8515.
- [20] 赵澎. 鼠胶质瘤动物模型的建立及应用[J]. 国外医学·神经病学神经外科学分册, 2005, 32(1): 38-41.

(此文编辑:秦旭平)