

- [11] Kobayashi H, Sato N, Saga T, et al. Monoclonal antibody-dendrimer conjugates enable radiolabeling of antibody with markedly high specific activity with minimal loss of immuno-reactivity. *Eur J Nucl Med*, 2000, 27(9): 1334-1339.
- [12] Sato N, Kobayashi H, Saga T, et al. Tumor targeting and imaging of intraperitoneal tumors by use of antisense oligo-DNA complexed with dendrimers and/or avidin in mice. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(11): 3606-3612.
- [13] Presant CA, Blayney D, Proffitt RT, et al. Preliminary report: imaging of Kaposi sarcoma and lymphoma in AIDS with indium-111-labelled liposomes. *Lancet*, 1990, 335(8701): 1307-1309.
- [14] Harrington KJ, Rowlinson-Busza G, Syrigos KN, et al. Biodistribution and pharmacokinetics of ¹¹¹In-DTPA-labelled pegylated liposomes in a human tumour xenograft model: implications for novel targeting strategies. *Br J Cancer*, 2000, 83(2): 232-238.
- [15] Bao A, Goins B, Klipper R, et al. A novel liposome radiolabeling method using ^{99m}Tc-"SNS/S" complexes: in vitro and in vivo evaluation. *J Pharm Sci*, 2003, 92(9): 1893-1904.
- [16] Goldenberg DM. Targeted therapy of cancer with radiolabeled antibodies. *J Nucl Med*, 2002, 43(5): 693-713.
- [17] Chen X, Park R, Shahinian AH, et al. Pharmacokinetics and tumor retention of ¹²⁵I-labeled RGD peptide are improved by PEGylation. *Nucl Med Biol*, 2004, 31(1): 11-19.
- [18] Line BR, Mitra A, Nan A, et al. Targeting tumor angiogenesis: comparison of peptide and polymer-peptide conjugates. *J Nucl Med*, 2005, 46(9): 1552-1560.
- [19] Torchilin VP. Polymeric contrast agents for medical imaging. *Curr Pharm Biotechnol*, 2000, 1(2): 183-215.
- [20] Torchilin VP, Lukyanov AN, Gao Z, et al. Immunomicelles: targeted pharmaceutical carriers for poorly soluble drugs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(10): 6039-6044.

(收稿日期: 2010-06-25)

甲状腺癌骨转移模型的研究

元龙 王辉

【摘要】 甲状腺癌是内分泌系统最常见的恶性肿瘤，其发病率逐年上升，虽然该病预后较好，但若发生骨转移，患者 10 年生存率将明显降低。目前，甲状腺癌发生骨转移的机制尚不明确，对甲状腺癌骨转移的研究不仅具有重要的临床价值，也有很重要的科研价值。甲状腺癌骨转移动物模型的建立是研究甲状腺癌骨转移机制和治疗的基础，根据其建立方法可分为自发性、化学诱导性、转基因诱导性和移植性 4 种。

【关键词】 甲状腺肿瘤；肿瘤转移；模型，动物

Research progress of animal model of bone metastases of thyroid carcinoma

QI Long, WANG Hui.

(Department of Nuclear Medicine, Xinhua Hospital, Shanghai Jiao Tong University of Medicine, Shanghai 200092, China)

【Abstract】 Thyroid carcinoma is the most common endocrine malignancy, its incidence rate increases year by year. Although the disease has good prognosis, if bone metastases happen, 10-year survival rate of patients will obviously reduce. At present, the mechanism of the occurrence of bone metastases is not clear. The research of bone metastases of thyroid carcinoma not only has important clinical value, but also scientific value. Animal model of bone metastasis of thyroid carcinoma is the basis to study the mechanism and therapy of thyroid carcinoma. According to its establishment methods, it can be divided into four types, including spontaneous type, chemical induced type, transgenic induced type and transplanted type.

【Key words】 Thyroid neoplasms; Neoplasm metastasis; Models, animal

甲状腺癌是最常见的内分泌系统恶性肿瘤，其

病死率在内分泌系统肿瘤中居第一位。甲状腺癌分为分化型和未分化型两种，其中以分化型甲状腺癌(differentiated thyroid carcinoma, DTC)居多，其发病率呈逐年上升趋势。DTC 分化程度高、恶性程度低、患者生存率高(10 年和 15 年生存率分别可达

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2010.06.003

作者单位: 200092, 上海交通大学医学院附属新华医院核医学科

通信作者: 王辉 (E-mail: wanghuishanghai@hotmail.com)

94.7%和 87.4%)，是预后最好的甲状腺癌^[1-3]。但是 DTC 术前和术后分别有 21.2%和 7.02%的患者会发生肿瘤复发或转移^[4]，且一旦发生远处脏器的转移，患者 10 年生存率会降低至 25%~40%^[4]；若发生骨转移，10 年生存率则会降至 20%以下^[5]。然而也有文献报道，如果对转移性 DTC 患者采取适当的治疗，其生存期会延长^[6]。因此，甲状腺癌骨转移的研究越来越受到人们的重视。而甲状腺癌骨转移动物模型的建立是研究甲状腺癌骨转移机制和治疗的基础，故本文将对近年来有关甲状腺癌骨转移动物模型的新进展作一综述。

1 理想的甲状腺癌骨转移动物模型

理想的甲状腺癌骨转移动物模型应具备以下条件：①该动物模型应能再现人类肿瘤发生、发展过程中基因型和表现型的改变过程，即肿瘤细胞浸润后，经血液或淋巴转移并定位于骨骼，进而在其微环境内增殖，并最终引起骨质改变的过程；②该动物模型应具有较高的可重复性和较短的成瘤时间，且成瘤后的存活期较长，以便于研究。

2 甲状腺癌骨转移动物模型的建立

2.1 肿瘤细胞来源

建立甲状腺癌骨转移动物模型所需的肿瘤细胞来源有两种：一是将甲状腺癌患者的癌组织进行原代培养并生产所需细胞；二是选用现有的细胞株。

2.1.1 乳头状甲状腺癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)和滤泡性甲状腺癌(follicular thyroid carcinoma, FTC)细胞株

DTC 占甲状腺癌的 90%~95%，其在组织学上包括 PTC 和 FTC。其中，PTC 细胞株包括：L2、NIH3T3^{HOOK3-RET}、BHP2-7、BHP7-13、BHP18-21、BHP10-3、BHP14-9、BHP5-16、NPA187 和 TPC1 等^[7-11]；FTC 细胞株包括：WRO、FTC133、FTC236、FTC238 和 ML1 等^[12-13]。其中，FTC133 是研究 DTC 最常用的细胞株^[14]。以上细胞株均来源于基因突变的正常细胞。如：NIH3T3 本是小鼠成纤维细胞株，经 HOOK3-RET(HOOK3 基因的 11 号外显子与 RET 基因的 12 号外显子的融合产物，其中，RET 基因是一种在转染过程中可重排的基因)转染后得到 NIH3T3^{HOOK3-RET}；BHP2-7、BHP7-13、BHP18-21 和 BHP10-3 是由 RET/PTC 重排产生；BHP14-9、

BHP5-16 和 NPA187 产生自 BRAF^{V600E} 的变异(BRAF 基因是一种编码丝/苏氨酸特异性激酶的基因，其 T1799A 位点突变导致 BRAF 蛋白的 600 个氨基酸残基中的缬氨酸被谷氨酸替代，即 V600E)^[9]。由于这些细胞株均来源于基因突变的正常细胞，故可将其突变基因作为分析药物的作用位点。另外，由于各种细胞株对同一种药物的敏感性不尽相同，使用多种不同的 DTC 细胞株进行实验可以使结果更加可靠、全面^[15]。国外有文献报道，许多研究者曾同时使用 5 种以上的细胞株^[16-18]。

2.1.2 甲状腺髓样癌(medullary thyroid carcinoma, MTC)和甲状腺未分化癌(anaplastic thyroid carcinoma, ATC)细胞株

MTC 细胞株包括：NIH3T3^{MEN2A}、NIH3T3^{H-RAS} 和 TT 等^[19-21]；ATC 的经典细胞株包括：ARO、DRO、C643 和 KAT-4 等^[22-25]。以上细胞株均来源于基因突变的正常细胞。如：NIH3T3 本是小鼠成纤维细胞株，被 C634R 位点突变的 RET 转染后得到了 NIH3T3^{MEN2A}；同样，被 H-RAS(一种原癌基因)转染后得到了 NIH3T3^{H-RAS}，而 ATC 的细胞株都是由第 IV 期肿瘤细胞培养所得。

2.2 甲状腺癌骨转移动物模型种类

根据甲状腺癌骨转移动物模型的建立方法，可将其分为：自发性、化学诱导性、转基因诱导性和移植性 4 种。

2.2.1 自发性甲状腺癌骨转移动物模型

该模型的特点是：①实验动物未经任何与甲状腺癌发生有关因素的人工干预，生存到一定时期便自然发生甲状腺癌伴骨转移；②多采用近交系小鼠，其发生与人类患病过程相似，便于观察遗传及环境因素对甲状腺癌骨转移发生的影响。但由于以下原因：①大多数近交系小鼠甲状腺癌发生率极低；②即使甲状腺癌发生转移，转移部位不定，且极少转移到骨；③即使转移到骨，也仅仅是轻微的癌浸润；④成瘤时间长且成瘤时间参差不齐，因此，该类模型很少应用于研究。目前尚未见有此类建模方式的报道。

2.2.2 化学诱导性甲状腺癌骨转移动物模型

有报道显示，除放射性行业外，从事皮革、木材、造纸等行业的工人易患甲状腺癌，但具体的致癌因素仍有待研究^[26]。目前，国内外尚未见可引起甲状腺癌的化学试剂的报道，故使用化学诱导建立

甲状腺癌骨转移动物模型的方法尚待研究。

2.2.3 转基因诱导性甲状腺癌骨转移动物模型

常利用组织选择性启动子(如基质金属蛋白酶基因启动子、胰岛素样因子3基因启动子、垂体肿瘤转化基因1启动子)、RET/PTC重排或BRAF基因突变等,将调节肿瘤转移的靶基因表达于动物体内,以构建甲状腺癌骨转移动物模型^[27-30]。利用转基因技术构建含特定靶基因(如特定生长因子及受体基因、细胞周期调节因子基因、信号转导通路调节因子基因、癌基因和抑癌基因等)的转基因小鼠,通过诱导使之发生甲状腺癌骨转移。利用该技术建立的动物模型虽具有可预测性,但其缺点是:①成瘤条件与自然生瘤条件相差较大;②成瘤后的存活期较短;③骨转移发生率极低。因此,使用该方法建立的甲状腺癌骨转移模型还有待改进。

2.2.4 移植性甲状腺癌骨转移动物模型

该模型是将已建立的人甲状腺癌细胞株移植于免疫缺陷型动物体内所建立的。按移植部位的不同可分为:原位移植和异位移植模型,而后者又包括经血运和骨局部注射制作的骨转移模型。

2.2.4.1 甲状腺癌原位移植骨转移模型

一些研究者通过将甲状腺癌细胞直接注入裸鼠甲状腺或类似方法,建立了甲状腺癌原位移植的动物模型^[27,31-32],但该模型甲状腺癌骨转移的发生率极低。也有学者将癌细胞直接注射至裸鼠颌区皮下,获得了类似原位移植的效果^[33]。

2.2.4.2 经血运制作的骨转移模型

建立该类模型主要有两种方法:尾静脉注射法和左心室注射法。Zou等^[34]在建立甲状腺癌肺转移模型时,对每只裸鼠经尾静脉注射 2×10^5 个ARO细胞,60d后,取出肺部转移灶,进行细胞培养,然后再次静脉注入裸鼠体内进行新一轮的肺转移。此过程较符合人体的生理过程,可为骨转移模型的制作提供借鉴。静脉注射法虽不能模拟肿瘤转移的全过程(无原发癌最初侵袭周围组织和穿入血管等过程),但可以缩短靶器官内瘤灶形成的时间。然而,该法所建模型与患者经动脉血运引起远处转移的实际情况的可比性差,而左心室注射法可以很好地解决此问题。左心室注射法是目前较广泛使用的一种骨转移模型制作方法,通过左心室注射法所引起的骨转移与患者的骨转移灶无论生长状况还是影像学表现都非常相似。但是,如何获得高致癌性及很强

的骨侵袭性的癌细胞是左心室注射法制作甲状腺癌骨转移模型的关键。目前,国内外尚未见采用此方法建立甲状腺癌骨转移模型报道,但该类建模方法更加符合人体的生理过程,有望成为甲状腺癌骨转移模型的主要制作方法之一。

2.2.4.3 骨局部注射制作的骨转移模型

在骨转移部位直接注射癌细胞,可以获得较高的骨转移发生率。Kim等^[14]将癌细胞直接注入胫骨皮质,成功地制作了骨转移模型。该法的建模时间短、荷瘤动物存活时间长,较适于实验研究。

但Ahn等^[9]认为,原位移植最能模拟人甲状腺癌的发生过程,故转移癌模型也应该采用原位移植。

3 结语

目前,甲状腺癌骨转移的机制尚不明,且该病治疗效果差,而甲状腺癌骨转移动物模型的建立是研究甲状腺癌骨转移机制和治疗的基础。鉴于目前尚未建立一种与人体内恶性肿瘤骨转移完全一致的理想模型,而各种骨转移模型都有其自身特点和应用价值,研究者可以根据需要进行选择并加以优化,使其更便捷,更符合实验要求。

参 考 文 献

- [1] Sciuto R, Romano L, Rea S, et al. Natural history and clinical outcome of differentiated thyroid carcinoma: a retrospective analysis of 1503 patients treated at a single institution. *Ann Oncol*, 2009, 20(10): 1728-1735.
- [2] Muresan MM, Olivier P, Leclère J, et al. Bone metastases from differentiated thyroid carcinoma. *Endocr Relat Cancer*, 2008, 15(1): 37-49.
- [3] Mihailovic JM, Stefanovic LJ, Malesevic MD, et al. Metastatic differentiated thyroid carcinoma: clinical management and outcome of disease in patients with initial and late distant metastases. *Nucl Med Commun*, 2009, 30(7): 558-564.
- [4] Durante C, Haddy N, Baudin E, et al. Long-term outcome of 444 patients with distant metastases from papillary and follicular thyroid carcinoma: benefits and limits of radioiodine therapy. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91(8): 2892-2899.
- [5] Schlumberger M, Tubiana M, De Vathaire F, et al. Long-term results of treatment of 283 patients with lung and bone metastases from differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*, 1986, 63(4): 960-967.
- [6] Sugitani I, Fujimoto Y, Yamamoto N, et al. Papillary thyroid carcinoma with distant metastases: survival predictors and the importance of local control. *Surgery*, 2008, 143(1): 35-42.
- [7] Baitei EY, Zou M, Al-Mohanna F, et al. Aberrant BRAF splicing

- as an alternative mechanism for oncogenic B-Raf activation in thyroid carcinoma. *J Pathol*, 2009, 217(5): 707-715.
- [8] Kogai T, Sajid-Crockett S, Newmarch LS, et al. Phosphoinositide-3-kinase inhibition induces sodium/iodide symporter expression in rat thyroid cells and human papillary thyroid cancer cells. *J Endocrinol*, 2008, 199(2): 243-252.
- [9] Ahn SH, Henderson Y, Kang Y, et al. An orthotopic model of papillary thyroid carcinoma in athymic nude mice. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 2008, 134(2): 190-197.
- [10] Younes MN, Kim S, Yigitbasi OG, et al. Integrin-linked kinase is a potential therapeutic target for anaplastic thyroid cancer. *Mol Cancer Ther*, 2005, 4(8): 1146-1156.
- [11] Schweppe RE, Kerege AA, Sharma V, et al. Distinct genetic alterations in the mitogen-activated protein kinase pathway dictate sensitivity of thyroid cancer cells to mitogen-activated protein kinase kinase 1/2 inhibition. *Thyroid*, 2009, 19(8): 825-835.
- [12] Cheng SP, Yin PH, Chang YC, et al. Differential roles of leptin in regulating cell migration in thyroid cancer cells. *Oncol Rep*, 2010, 23(6): 1721-1727.
- [13] Schweppe RE, Klopper JP, Korch C, et al. Deoxyribonucleic acid profiling analysis of 40 human thyroid cancer cell lines reveals cross-contamination resulting in cell line redundancy and misidentification. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93 (11): 4331-4341.
- [14] Klopper JP, Berenz A, Hays WR, et al. In vivo and microarray analysis of retinoid-responsive anaplastic thyroid carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(2): 589-596.
- [15] Kim S, Yazici YD, Calzada G, et al. Sorafenib inhibits the angiogenesis and growth of orthotopic anaplastic thyroid carcinoma xenografts in nude mice. *Mol Cancer Ther*, 2007, 6(6): 1785-1792.
- [16] Nahari D, Satchi-Fainaro RS, Chen M, et al. Tumor cytotoxicity and endothelial Rac inhibition induced by TNP-470 in anaplastic thyroid cancer. *Mol Cancer Ther*, 2007, 6(4): 1329-1337.
- [17] Lin X, Zhu B, Liu Y, et al. Follicular thyroid carcinoma invades venous rather than lymphatic vessels. *Diagn Pathol*, 2010, 5: 8.
- [18] Hombach-Klonisch S, Bialek J, Radestock Y, et al. INSL3 has tumor-promoting activity in thyroid cancer. *Int J Cancer*, 2010, 127(3): 521-531.
- [19] Ercolino T, Lombardi A, Becherini L, et al. The Y606C RET mutation causes a receptor gain of function. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2008, 69(2): 253-258.
- [20] Quidville V, Segond N, Tebbi A, et al. Anti-tumoral effect of a celecoxib low dose on a model of human medullary thyroid cancer in nude mice. *Thyroid*, 2009, 19(6): 613-621.
- [21] Vitagliano D, De Falco V, Tamburrino A, et al. The tyrosine kinase inhibitor ZD6474 blocks proliferation of RET mutant medullary thyroid carcinoma cells. *Endocr Relat Cancer*, 2010, 18(1): 1-11.
- [22] Chen MC, Yu CH, Wang SW, et al. Anti-proliferative effects of evodiamine on human thyroid cancer cell line ARO. *J Cell Biochem*, 2010, 110(6): 1495-1503.
- [23] Arcinas A, Yen TY, Kebebew E, et al. Cell surface and secreted protein profiles of human thyroid cancer cell lines reveal distinct glycoprotein patterns. *J Proteome Res*, 2009, 8(8): 3958-3968.
- [24] Hoffmann S, Rockenstein A, Ramaswamy A, et al. Retinoic acid inhibits angiogenesis and tumor growth of thyroid cancer cells. *Mol Cell Endocrinol*, 2007, 264(1-2): 74-81.
- [25] Fortin MA, Salnikov AV, Nestor M, et al. Immuno-PET of undifferentiated thyroid carcinoma with radioiodine-labelled antibody cMAb U36: application to antibody tumour uptake studies. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2007, 34(9): 1376-1387.
- [26] Leux C, Guénel P. Risk factors of thyroid tumors: role of environmental and occupational exposures to chemical pollutants. *Rev Epidemiol Sante Publique*, 2010, 58(5): 359-367.
- [27] Alfano RW, Leppia SH, Liu S, et al. Inhibition of tumor angiogenesis by the matrix metalloproteinase-activated anthrax lethal toxin in an orthotopic model of anaplastic thyroid carcinoma. *Mol Cancer Ther*, 2010, 9(1): 190-201.
- [28] Hombach-Klonisch S, Bialek J, Radestock Y, et al. INSL3 has tumor-promoting activity in thyroid cancer. *Int J Cancer*, 2010, 127(3): 521-531.
- [29] Zatelli MC, Tagliati F, Amodio V, et al. Role of pituitary tumour transforming gene 1 in medullary thyroid carcinoma. *Anal Cell Pathol (Amst)*, 2010, 33(5): 207-216.
- [30] Henderson YC, Ahn SH, Kang Y, et al. Sorafenib potently inhibits papillary thyroid carcinomas harboring RET/PTC1 rearrangement. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(15): 4908-4914.
- [31] Nucera C, Nehs MA, Meikel M, et al. A novel orthotopic mouse model of human anaplastic thyroid carcinoma. *Thyroid*, 2009, 19(10): 1077-1084.
- [32] Kim S, Park YW, Schiff BA, et al. An orthotopic model of anaplastic thyroid carcinoma in athymic nude mice. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(5): 1713-1721.
- [33] Schiff BA, McMurphy AB, Jasser SA, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) is overexpressed in anaplastic thyroid cancer, and the EGFR inhibitor gefitinib inhibits the growth of anaplastic thyroid cancer. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(24): 8594-8602.
- [34] Zou M, Famulski KS, Parhar RS, et al. Microarray analysis of metastasis-associated gene expression profiling in a murine model of thyroid carcinoma pulmonary metastasis: identification of S100 A4 (Mts1) gene overexpression as a poor prognostic marker for thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89(12): 6146-6154.

(收稿日期: 2010-08-22)