

· 综 述 ·

## 结直肠癌肝转移异种移植小鼠模型研究进展\*

沈可综述, 胡晨<sup>△</sup>审校

(湖州师范学院医学院, 浙江湖州 313000)

**[摘要]** 结直肠癌(CRC)是目前临床确诊率较高的恶性肿瘤,其发病率和死亡率也持续增加。CRC 高发病率在于缺乏常规筛查和不健康的生活方式,CRC 确诊患者的高死亡率主要归咎于肿瘤的侵袭性和转移性,而肝脏是最常受累和最致命的部位。异种移植小鼠模型是研究 CRC 发生肝转移的病理过程、分子机制及临床治疗的主要研究工具之一。该文将对 CRC 肝转移异种移植小鼠模型的研究进展做一综述。

**[关键词]** 结直肠癌; 肝转移; 异种移植模型; 小鼠; 综述

**DOI:**10.3969/j.issn.1009-5519.2023.03.024 **中图分类号:**R73

**文章编号:**1009-5519(2023)03-0482-05 **文献标识码:**A

### Research progress on xenograft mouse models of colorectal cancer with liver metastasis\*

SHEN Ke, HU Chen<sup>△</sup>

(Medical College, Huzhou University, Huzhou, Zhejiang 313000, China)

**[Abstract]** Colorectal cancer (CRC) is currently a malignant cancer with a high clinical diagnosis rate, and its incidence and mortality are also increasing. The high incidence of CRC is due to lack of routine screening and unhealthy lifestyle, and the high mortality rate in patients diagnosed with CRC is mainly attributed to the invasion and metastasis of the tumor, and the liver is the most frequently involved and deadly site. Xenograft mouse model is one of the main research tools to study the pathological process, molecular mechanism and clinical treatment of liver metastasis CRC. The article reviewed the research progress of CRC liver metastasis on xenograft mouse models.

**[Key words]** Colorectal cancer; Liver metastasis; Xenograft models; Mouse; Review

我国是结直肠癌(CRC)的高发地区,发病率位列癌症前三。根据世界卫生组织统计的数据,我国 2020 年有 55.5 万例新增确诊患者,约 28.6 万人死于 CRC,发病率和死亡率分别占全球病例的 28.7% 和 30.6%,并在逐渐增加<sup>[1]</sup>。临床上 CRC 患者的高死亡率主要归咎于病症的不易察觉性,发现时已是结直肠癌中晚期并存在远处转移,而肝脏是最常受累和最致命的部位。在初始诊断时,14%~18% 的 CRC 患者已存在远处转移,大约 70% 的结直肠癌患者会发生肝脏转移<sup>[2]</sup>,80%~90% 的结直肠癌肝转移灶无法得到根治性切除<sup>[3-5]</sup>。

早期发现癌症和控制癌细胞的转移是患者存活的关键,而结直肠癌肝转移研究很大程度上依赖动物肿瘤模型。选择能更好地模拟临床结直肠癌发生、发展和转移的动物模型为研究对象,不仅有利于发现和验证肿瘤特异性生物标志物,阐明结直肠癌发生、发展和转移的分子机制,为其诊断和治疗提供特异性分

子靶点,还能提高抗癌药物临床前研究的可信性,有助于临床结直肠癌患者个性化精准治疗的实施,提高患者的生存率。本文就常用的肿瘤动物、肿瘤异种移植模型及结直肠癌肝转移异种移植模型的构建方法进行综述,供研究者以探讨。

#### 1 常用的肿瘤模型动物

免疫缺陷小鼠被开发并广泛应用于各种肿瘤研究,为人源肿瘤细胞或组织移植提供了一种强有力的载体。本文主要介绍常用的几种免疫缺陷小鼠及其免疫缺陷特征(表 1)。

裸鼠于 1962 年首次被报道,由于 Foxn1 基因突变而引起胸腺退化或缺失,但仍保留了 B 细胞和 NK 细胞,阻碍肿瘤生长和转移。1983 年,SCID 小鼠出现,该小鼠因 Prkdc 基因缺失导致缺乏成熟的 T、B 细胞,不易排斥异种细胞或组织,但异种移植率并没有显著提高。1995 年出现的 NOD-SCID 小鼠的适应性免疫存在缺陷,并且其巨噬细胞、树突状细胞及补体

\* 基金项目:国家级大学生创新创业训练计划项目(202110347052)。

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: hzhc@zjhu.edu.cn。

功能受损,对人类癌细胞移植率高,但其胸腺淋巴瘤发病率高,平均寿命短。NOG (NOD/Shi/SCID/IL2R $\gamma$  null)小鼠和 NSG(NOD/SCID/IL2R $\gamma$  null)小鼠是在 NOD-SCID 小鼠上进行 Rag2 和 IL-2R $\gamma$  敲

除,造成机体内 NK、T、B 细胞等缺失,免疫功能严重障碍,同时自身淋巴瘤发生率低。目前,NOG、NSG 小鼠具有最高的肿瘤形成率<sup>[6]</sup>,也是被认为最适合植入人源组织的动物<sup>[7]</sup>。

表 1 常用于制作作为肿瘤宿主的免疫缺陷小鼠品系

小鼠品系	免疫缺陷			肿瘤组织细胞系	原代肿瘤组织	白血病	人免疫系统
	T 细胞	B 细胞	NK 细胞				
Nude	-	+	+	+	+/-	-	-
SCID	-	-	+	+	+	+/-	+/-
NOD-SCID	-	-	+	++	++	+	+
NOG/NSG	-	-	-	+++	++	++	+++

注:Nude 小鼠为无胸腺裸鼠(简称裸鼠);SCID 小鼠为严重联合免疫缺陷小鼠;NOD-SCID 小鼠为非肥胖糖尿病-严重联合免疫缺陷小鼠;NSG 小鼠为敲除 IL-2R $\gamma$  的 NOD-SCID 小鼠;NK 细胞为自然杀伤细胞。

## 2 肿瘤异种移植模型

现常用的肿瘤异种移植动物模型主要有癌细胞来源的异种移植模型(CDX 和 PDX)。由于 CDX 模型的细胞系经过传代培养,不能模拟宿主对肿瘤存在的反应——免疫反应和血管生成<sup>[8]</sup>。此外,传代后缺乏肿瘤内异质性,通常与原代肿瘤在生理和遗传上相似度低<sup>[9]</sup>,临床应用受限。而 PDX 模型保持了原代肿瘤异质性,组织病理和分子遗传特征与临床原代肿瘤高度相似<sup>[10]</sup>。因此,美国国家癌症研究所建议使用 PDX 模型而不是传统的体外细胞培养物进行药物筛选<sup>[11-12]</sup>。

## 3 CRC 肝转移异种种植模型

### 3.1 原位种植模型

**3.1.1 盲肠/直肠注射种植** 原位移植模型需要将 CRC 细胞注射到肠壁中,或将其他动物或人类患者的肿瘤缝合到免疫缺陷小鼠的肠壁上,使肿瘤细胞在肠壁上生长向周围血管侵袭,通过血行转移定植于肝脏,从而构建肝转移模型。该模型能复制肿瘤侵袭、血管扩散,模拟人早期 CRC 和晚期转移的进展。在 20 世纪 80 年代初,SNIPES<sup>[13]</sup>报道了 CRC 细胞系的第一个原位移植,证明了壁内细胞注射引起局部浸润性肿瘤生长的可行性。KOCHALL 等<sup>[14]</sup>在 NSG 小鼠盲肠肠壁内注射 HCT116 细胞,35 d 后发现约为 10 mm 的原发性肿瘤,并且存在肝转移。HITE 等<sup>[15]</sup>使用荧光素酶标记的 HT-29 细胞,建立了直肠种植模型和盲肠种植模型,通过生物发光成像监测肿瘤生长,结果显示直肠内注射的死亡率最低,为 4.0%(1/25),而盲肠内注射组为 17.4%(4/23),60%的直肠种植模型小鼠有肝转移。所以直肠内注射种植模型是人 CRC 原发性肿瘤生长和自发转移最安全、最可重复的原位小鼠模型。

虽然该模型能复制肿瘤的局部侵袭过程,伴有淋

巴血管转移,能较好地模拟临床上 CRC 的发生、发展,但因肿瘤发生和肝转移过程时间长,原位原发肿瘤自发转移形成的效率和可预测性较差。并且手术过程中癌细胞与腹腔接触,因此不能排除某些转移是腹腔内细胞溢出的结果<sup>[16]</sup>。此外,该模型具有高度侵入性,耗时,并且需要外科手术,这些手术不仅会影响肿瘤微环境,而且还可能改变肿瘤的生长和传播能力。

**3.1.2 肛门注射种植** 肛门注射移植是近年来较新的一种转移模型,通过在免疫缺陷小鼠肛门内注射肿瘤细胞或种植肿瘤块,细胞/肿瘤块种植到黏膜层,可以完整地观察结直肠癌局部生长、浸润、侵袭并发生经过静脉血行转移的过程。DONIGAN 等<sup>[17]</sup>在 Balb/c 小鼠肛门开口处进行肛门扩张,将结肠癌 CT26 细胞或 CT26(CT26-luc)细胞注射到直肠远端后部中,肿瘤生长的总体成功率为 65%,且注射后第 50 天显示肝脏内存在转移性结肠腺癌。但是该方法需要注意注射深度,勿将结肠癌细胞注射到盆腔。

该建模方法不仅能够最大限度地模拟肿瘤肝转移的发展过程,建立模型还属于一种非手术原位小鼠模型,易于创建,比传统的原位模型(即盲肠注射)侵入性更小,可以更准确地研究炎症和手术干预的免疫反应。但由于注射部位为肛门,小鼠可于早期出现肛门梗阻,致使其临床状态较差,严重者甚至死亡。而且发生肝转移的效率低,可预测性差。

### 3.2 异位种植模型

**3.2.1 脾脏种植** 脾脏种植被认为是 CRC 肝转移模型最常用也是最佳的方法之一。该方法将肿瘤细胞种植到脾脏,随着肿瘤细胞的生长,浸润、侵袭脾静脉,再通过肝门静脉定植于肝脏从而构建肝转移模型。该方法广泛地应用于制备肝转移模型,可分为保脾法、脾切除法及脾脏半切除法。

**3.2.1.1 脾脏法** 脾脏法即在脾脏注射肿瘤细胞后保留脾脏,该方法在建立 CRC 肝转移模型方面相对易于实施,且具有较高的肝转移率。MAGISTRIS 等<sup>[18]</sup>使用成功表达荧光素酶的 HCT 116-fLuc 细胞,注入裸鼠脾内,21 d 后检测到与肝脏解剖定位一致的生物发光源,通过肝脏的离体生物发光分析进一步证实了肝转移的存在。BAE 等<sup>[19]</sup>将 30 只裸鼠分为 2 组,使用 HCT116 细胞建立 CRC 肝转移的脾脏注射模型和手术原位移植模型,通过肉眼和显微镜检查证实肝转移,且脾脏注射模型在更短的观察时间内具有更高的肝脏转移率和克隆动力学,因此该模型是识别新靶点和开发 CRC 肝转移药物的良好动物模型。

但该模型只能模拟 CRC 细胞肝转移最后阶段,并不能研究整个转移的过程及 CRC 早期发生、发展的机制。此外,保留脾脏会使得部分肿瘤细胞在脾脏内生长并发脾肿瘤,不仅降低小鼠的存活率,也对肝转移的研究造成了一定的干扰。

**3.2.1.2 脾切除术** 为了减少 CRC 细胞在脾脏内形成肿瘤原发灶,学者们又研究出了脾切除术,即在脾脏内注射肿瘤细胞后,再将脾脏切除。HACKL 等<sup>[20]</sup>对 3 种 CRC 异种移植模型(盲肠原位模型、脾内注射模型和脾切除模型)进行了对比,在 6 周龄的雌性 SCID 小鼠上,将表达荧光素酶的 HCT116 肿瘤细胞进行脾内注射,部分小鼠注射后 1 min 进行脾切除,建立脾切除模型,结果发现保脾组和脾切除组均观察到广泛的肝转移,与盲肠原位模型相比,脾内注射或脾内注射后切除组存活率均较低。

该方法同样具备肝脏高转移性,但是脾脏作为免疫器官,是成熟 T、B 淋巴细胞的定居所,也是免疫应答的发生场所,因此切除脾脏会使小鼠的免疫力降低,增加小鼠的死亡率及建模难度。

**3.2.1.3 半脾模型** 半脾模型(脾脏半切除术)是保脾法和脾切除术经过改良后的建模方法。该方法是将通过在脾脏中心放置 2 个钛夹,将小鼠脾脏分成 2 个带血管蒂的半脾(上极和下极),注射 CRC 细胞后将该半脾切除。半脾模型既保证了高肝转移率又保留了动物的部分免疫功能,减少了脾脏原生瘤对肝转移的影响。乔大伟等<sup>[21]</sup>将结肠腺癌 CT26 细胞注入脾的下极并且按压 30 s 以上,10 min 后结扎该侧血管和韧带,夹闭、切断并游离下极脾脏,通过电凝器止血,7 d 后研究发现 CRC 细胞肝转移率为 100%。YANG 等<sup>[22]</sup>在近端半脾缓慢注入 HT29 CRC 细胞悬液,10 min 后夹闭、切断近端半脾脏血管,切除并移除,远端半脾摆放在皮下储存囊内,肝转移成瘤率为 100%。

半脾切除法不仅模拟 CRC 的血行转移,而且肝

转移率高。脾内注射或局部肿瘤生长引起的死亡率可通过注射后脾切除术或半切除术控制。但其动物实验技术要求高,难度较大,需要熟练的手术技能来完成。

**3.2.2 门静脉种植** 肝门静脉是由脾静脉、肠系膜上静脉汇合而成,再进入肝脏后分支汇入肝血窦。通过门静脉直接注射,肿瘤细胞经过肝脏的截留后在其内部定植生长,模拟肿瘤细胞回流入门静脉至肝脏血行播散而发生肝转移的过程,较其他方法肝转移率更高,因此该模型非常适合研究转移形成方面及分析新型治疗剂的疗效。柴燕涛等<sup>[23]</sup>在裸鼠中经肝门静脉注射  $5 \times 10^5$  个高侵袭性的转移性 CRC SW480 细胞系,经 4~6 周生长后进行正电子发射计算机断层显像(PET)/CT 检测,结果在裸鼠肝脏形成多发弥散的肿瘤病灶,建立基于肝门静脉注射的新型进展期肝脏肿瘤动物模型,为进展期肝脏肿瘤相关药物筛选奠定了坚实基础。FOUBERT 等<sup>[24]</sup>在裸鼠脾内注射荧光素酶转染的 LS174T 细胞,并通过生物发光法证实肿瘤肝转移,从而比较预靶向免疫 68Ga-PET 成像(68Ga-pPET)与抗癌胚抗原(CEA)、抗组胺-琥珀酰-甘氨酸(HSG)重组人源化双特异性单克隆抗体(TF2)和 68Ga 的性能。BOCUK 等<sup>[25]</sup>通过 C57BL 小鼠的门静脉注射 CRC 细胞 CMT-93,且在 4 周内形成稳定的肝转移肿瘤,从而建立肝转移模型来研究转移时 CRC 细胞侵袭和扩增时发生的基因表达变化。

该模型更具有组织特异性,而且简化了癌细胞由原发肿瘤侵入,向远处器官转移扩散的动态过程,可预测性好,建模速度快,肿瘤肝转移率高。但注射过程中注射部位易出血及癌细胞容易外渗进入腹腔,造成小鼠死亡或腹腔种植。此外该模型只能研究肿瘤转移形成的晚期阶段。

**3.2.3 肝种植** 肝种植法是在肝实质上做一个小切口,然后将 CRC 细胞或肿瘤组织植入,从而构建肝转移模型。该方法被广泛用于晚期 CRC 的肝转移机制、抗肿瘤药物研究。BRUNO 等<sup>[26]</sup>将新鲜的肿瘤碎片植入小鼠肝实质,转移性肿瘤在裸鼠体内成功生长,然后连续植入第二、三代小鼠体内。在第一次传代期间肿瘤植入后,肿瘤生长时间缩短,但肿瘤特性没有丧失。这项试点研究成功地建立了 PDX 模型临床前平台,以研究新的治疗策略、疾病进展生物标志物和治疗反应性。

该方法操作简单,重复性好,肿瘤生长速度快,转移率高。但术中易大量出血,以及肿瘤细胞易外渗。此外该模型不能客观模拟 CRC 细胞的发生、发展、侵袭及转移的整个过程,多数都只在肝脏形成实体瘤,肿瘤转移点较少。

**3.2.4 腹腔扩散种植** 腹腔扩散法是将 CRC 细胞注入腹膜和腹膜腔中,导致腹膜上肿瘤结节的发展并通过腹膜腔播散性扩散到肝脏的过程。杨剑锋等<sup>[27]</sup>在裸鼠的下腹部正中偏右注入 CT26 细胞悬液,待其死亡后开腹观察原位肿瘤生长情况和肝脏转移情况,存在大量血性腹水,肝转移率较低。

BASTIAENEN 等<sup>[28]</sup>开发了一个体内模型来评估 15 种 CRC 细胞系的腹膜扩散模式。在免疫缺陷小鼠腹膜内注射结直肠癌细胞,使用腹膜癌指数 (PCI) 评分系统评估腹膜腔 7 个解剖区域,在不同的细胞系中均观察到肝脏肿瘤结节。

该模型易于执行,建模速度快,但是腹腔内注射会导致广泛的移植瘤和癌性腹水,肝转移率低,且不能模拟单一器官的转移,因此该模型常用于癌症晚期腹腔广泛转移和 CRC 术后腹腔种植扩散的病理生理研究。

#### 4 小结与展望

CRC 的转移途径,一般包括直接浸润、淋巴转移、血行转移,其中肝转移发生的主要途径为血行转移。而 CRC 肝转移动物模型对探究 CRC 肝转移过程中的分子机制、肿瘤特异性靶点、药物干预及肿瘤微环境的研究提供了一个绝佳的研究工具。通过掌握各种肝转移模型特点有利于选用客观可靠的实验模型,更好地进行 CRC 肝转移的基础和临床研究。制备 CRC 肝转移小鼠模型各有利弊,脾内、肝种植或直接门静脉注射结直肠癌细胞来诱导肝转移符合临床肿瘤转移过程,适合研究转移形成的许多方面及分析新型治疗剂的功效,但只能研究转移形成的晚期阶段且手术难度较大;对研究自发转移形成的早期阶段或肿瘤转移的全过程,需要以原位方式生长转移性肿瘤,但原位肿瘤自发转移形成的效率和可预测性较差。

由于普通肝转移模型难以实时观察,且细胞系与临床肿瘤相似度低。本课题组正构建以人 CRC 组织中的细胞为接种细胞源,经转染荧光素酶基因和肝门静脉注射等步骤,制备出 CRC 肝转移模型(M-PDX),该模型不仅较好地保留了 CRC 的异质性与临床肿瘤组织相似度高,而且还具备易于大规模扩展、移植成功率极高和便于实时观察等优点,能较好地模拟 CRC 的血行转移,必将有助于 CRC 肝转移的基础和应用性研究。

现有的 CRC 肝转移模型多为 PDX 模型,但因实验动物免疫系统与人类差异性较大而无法模拟人类肿瘤发生时的免疫反应,从而限制了抗肿瘤免疫疗法的研发。为了重现人抗肿瘤免疫系统应答过程,目前常使用人源淋巴细胞(Hu-PBL)或 CD34 阳性人源造血干细胞(Hu-HSC)移植、人源化基因改造等方法对

免疫缺陷小鼠进行免疫重建,在人源化免疫缺陷小鼠的基础上构建 PDX 模型,该免疫、肿瘤双人源化模型更有利于肿瘤在人类免疫系统环境生长机制的研究,有利于评估抗肿瘤药物疗效,促进抗肿瘤免疫疗法等的研发。虽然尚缺乏利用免疫、肿瘤双人源化模型构建肝转移模型的研究,但作者认为其在肿瘤肝转移研究方向有较高的潜力和意义。

总之,临床前肿瘤模型是理论基础和临床转化研究的基石,对癌症研究具有无法衡量的价值,目前的动物模型具有巨大的潜力。选择最佳的动物模型,将为研究生物学和评估结直肠癌的新型化疗药物开辟新的知识维度,新的成像和分子工具将进一步提高动物模型的功效、准确性和再现性。

#### 参考文献

- [1] Global Cancer Observatory (GCO): <https://gco.iarc.fr/>.
- [2] KOW A W C. Hepatic metastasis from colorectal cancer. [J] *Gastrointest Oncol*, 2019, 10(6): 1274-1298.
- [3] WANG R, SU Q, YAN Z P. Reconsideration of recurrence and metastasis in colorectal cancer [J]. *World J Clin Cases*, 2021, 9(24): 6964-6968.
- [4] ZHAO J, ZHU J, SUN R, et al. Primary tumor resection improves prognosis of unresectable carcinomas of the transverse colon including flexures with liver metastasis: A preliminary population-based analysis [J]. *BMC Cancer*, 2021, 21(1): 503.
- [5] GIANNIS D, SIDERIS G, KAKOS C, et al. The role of liver transplantation for colorectal liver metastases: A systematic review and pooled analysis [J]. *Transplant Rev (Orlando)*, 2020, 34(4): 100570.
- [6] NAGATANI M, KODERA T, SUZUKI D, et al. Comparison of biological features between severely immuno-deficient NOD/Shi-SCID IL2R<sup>gnull</sup> and NOD/LtSz-SCID IL2R<sup>gnull</sup> mice [J]. *Exp Anim*, 2019, 68(4): 471-482.
- [7] AJITH A, MULLOY L L, MUSA M A, et al. Humanized mouse model as a novel approach in the assessment of human allogeneic responses in organ transplantation [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 687715.
- [8] KUWATA T, YANAGIHARA K, IINO Y, et

- al. Establishment of novel gastric cancer patient-derived xenografts and cell lines; Pathological comparison between primary tumor, patient-derived, and cell-line derived xenografts [J]. *Cells*, 2019, 8(6):585.
- [9] HUO K G, D'ARCANGELO E, TSAO M S. Patient-derived cell line, xenograft and organoid models in lung cancer therapy[J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2020, 9(5):2214-2232.
- [10] XU C, LI X, LIU P, et al. Patient-derived xenograft mouse models; A high fidelity tool for individualized medicine[J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(1):3-10.
- [11] Ledford H. US cancer institute overhauls cell lines[J]. *Nature*, 2016, 530(7591):391.
- [12] ABDOLAH S, GHAZVINIAN Z, MUHAMMADNEJAD S, et al. Patient-derived xenograft (PDX) models, applications and challenges in cancer research[J]. *J Transl Med*, 2022, 20(1):206.
- [13] SNIPES R L. Anatomy of the cecum of the laboratory mouse and rat [J]. *Anat Embryol (Berl)*, 1981, 162(4):455-474.
- [14] KOCHALL S, THEPKAYSONE M L, GARCÍA S A, et al. Isolation of circulating tumor cells in an orthotopic mouse model of colorectal cancer[J]. *J Vis Exp*, 2017 (125):55357.
- [15] HITE N, KLINGER A, HELLMERS L, et al. An optimal orthotopic mouse model for human colorectal cancer primary tumor growth and spontaneous metastasis[J]. *Dis Colon Rectum*, 2018, 61(6):698-705.
- [16] OLIVEIRA R C, ABRANTES A M, TRALHÃO J G, et al. The role of mouse models in colorectal cancer research-The need and the importance of the orthotopic models [J]. *Animal Model Exp Med*, 2020, 3(1):1-8.
- [17] DONIGAN M, LOH B D, NORCROSS L S, et al. A metastatic colon cancer model using nonoperative transanal rectal injection[J]. *Surg Endosc*, 2010, 24(3):642-647.
- [18] MAGISTRI P, BATTISTELLI C, TOIETTA G, et al. In vivo bioluminescence-based monitoring of liver metastases from colorectal cancer: An experimental model [J]. *J Microsc Ultrastruct*, 2019, 7(3):136-140.
- [19] BAE K B, KIM S H, KANG M S, et al. An animal model of colorectal cancer liver metastasis with a high metastasis rate and clonal dynamics [J]. *Anticancer Res*, 2020, 40(6):3297-3306.
- [20] HACKL C, MAN S, FRANZIA G, et al. Metronomic oral topotecan prolongs survival and reduces liver metastasis in improved preclinical orthotopic and adjuvant therapy colon cancer models[J]. *Gut*, 2013, 62(2):259-271.
- [21] 乔大伟, 张蕾, 李玉芳, 等. 小鼠结直肠癌半脾肝转移模型用于 Hippo 信号通路的研究[J]. *肿瘤*, 2019, 39(8):616-622.
- [22] YANG Y S, WEN D, ZHAO X F. Preventive and therapeutic effect of intraportal oridonin on BALB/c nude mice hemispleen model of colon cancer liver metastasis[J]. *Transl Cancer Res*, 2021, 10(3):1324-1335.
- [23] 柴燕涛, 姜棋予, 冯帆, 等. 基于肝门静脉注射肿瘤细胞的新型进展期肝脏肿瘤动物模型的建立[J]. *中国比较医学杂志*, 2018, 28(9):55-60.
- [24] FOUBERT F, GOUARD S, SAÏ-MAUREL C, et al. Sensitivity of pretargeted immuno PET using Ga-peptide to detect colonic carcinoma liver metastases in a murine xenograft model: Comparison with FDG PET-CT [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(44):27502-27513.
- [25] BOCUK D, WOLFF A, KRAUSE P, et al. The adaptation of colorectal cancer cells when forming metastases in the liver: Expression of associated genes and pathways in a mouse model [J]. *BMC Cancer*, 2017, 17(1):342.
- [26] BRUNO R L, AUGUSTO R, DIRLEI B M, et al. Development of patient-derived orthotopic xenografts from metastatic colorectal cancer in nude mice[J]. *J Drug Target*, 2019, 27(9):943-949.
- [27] 杨剑锋, 张森, 高枫, 等. 结直肠癌肝转移动物模型的建立[J]. *结直肠肛门外科*, 2009, 15(3):139-143.
- [28] BASTIAENEN V P, KLAVER C E L, VAN DER HEIJDEN M C S, et al. A mouse model for peritoneal metastases of colorectal origin recapitulates patient heterogeneity[J]. *Lab Invest*, 2020, 100(11):1465-1474.