



基于肿瘤个体化治疗药物筛选的异种移植模型评价策略

张贺^{1,2}, 陈薛², 谭邓旭², 师长宏^{2*}

(1. 原沈阳军区总医院医务部, 沈阳 110015; 2. 空军军医大学实验动物中心, 西安 710032)

【摘要】 肿瘤组织异种移植(PDX)模型在遗传学、病理学和生物学特性等方面与患者的原发性肿瘤具有较好的相似性, 药物临床反应一致性高, 在肿瘤个体化治疗领域显示出良好的应用前景。利用PDX模型开展肿瘤靶向药物筛选可有效指导临床用药。本文针对用于化疗药物筛选的PDX模型评价策略进行综述, 总结了建模标准和质量控制要求, 提出组织形态学、测序分析、特异性标志物和STR检测四种模型溯源性评价方法, 综合衡量药物毒性作用、肿瘤体积变化趋势和TGD数学模型结果进行疗效评价, 为PDX模型指导肿瘤个体化治疗提供良好的应用策略。

【关键词】 异种移植模型; 溯源性; 毒性; 疗效评价

【中图分类号】 Q95-33

【文献标识码】 A

【文章编号】 1005-4847(2018) 04-0523-05

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2018.04.019

Evaluation strategy of patient-derived xenograft models based on drug-screening of individualized treatment

ZHANG He^{1,2}, CHEN Xue², TAN Dengxu², SHI Changhong^{2*}

(1. Department of Medical Administration, the General Hospital of Shenyang Military Region, Shenyang 110015, China. 2. Laboratory Animal Center, the Air Force Medical University, Xi'an 710032)

Corresponding author: SHI Changhong. E-mail: changhong@fmmu.edu.cn

【Abstract】 Patient-derived xenograft (PDX) models have high consistency with their primary tumors in terms of genetics, pathology, and biological characteristics. Being perfect in clinical response to drugs, this model shows a good prospect in tumor individualized treatment. It can be used to screen tumor target drug and effectively guide clinical medication. In this review, we focused on the evaluation strategy of PDX models based on chemotherapeutics screening, summarized the standards and quality control requirements of PDX models. We proposed four different ways to evaluate the traceability of models, including histological detection, sequencing analysis, tumor specific marker determination and short tandem repeat (STR) testing. Furthermore, chemotherapeutics effect can be evaluated by measuring drug toxicity, changes of tumor volume and establishment of TGD mathematical model. All these method applied in the PDX models provide perfect strategy for guiding tumor individualized treatment.

【Key words】 patient-derived xenograft models; traceability; toxicity; therapeutic evaluation

Conflict of interest statement: We declare that we have no conflict of interest statement.

将患者的肿瘤组织移植于免疫缺陷小鼠, 建立PDX(patient-derived xenograft, PDX)模型^[1]较好地保持了原发瘤的异质性^[2], 在遗传学^[3]、病理学^[4]和生物学特性^[5]等方面具有较好的同质性。利用

PDX模型开展的肿瘤靶向药物筛选对于临床用药具有较好的指导意义^[6], 在肿瘤个体化治疗中^[7]显示出良好的应用前景。标准化的PDX模型必须具有相应技术规范和质量控制要求, 用于化疗药物筛

【基金项目】 国家自然科学基金(No. 31572340, No. 31772546), 军队实验动物专项课题(No. SYDW2016-006)。

Funded by National Natural Science Foundation of China (No. 315723240, No. 31772546), Supported by Laboratory Animal Foundation of Military (No. SYDW2016-006)

【作者简介】 张贺(1981—), 博士生, 主治医师, 研究方向: 人类疾病动物模型制作, E-mail: alwayszh@163.com

【通信作者】 师长宏(1973—), 教授, 博士生导师, 研究方向: 人类疾病动物模型制作, E-mail: changhong@fmmu.edu.cn

选必须建立规范化的疗效评价体系。

1 PDX 模型建立标准

来自临床患者的新鲜肿瘤标本首次移植到免疫缺陷小鼠通常需要 2 ~ 4 月^[8]才能成功生长,激素依赖类型肿瘤^[9]用时会更长,如:前列腺癌^[10]和乳腺癌^[11],而且移植成功率^[12]各不相同。收获小鼠体内生长的移植瘤组织,并成功接种到另外的小鼠称为移植瘤的传代。通常 PDX 模型移植瘤传至第三代能够稳定生长,生长曲线一致性较高,潜伏期趋于稳定,成瘤时间不超过 12 周;收获肿瘤组织,冻存于液氮内,复苏后重新移植于小鼠体内,能够稳定生长^[13],提示模型建立成功^[14]。为了保证与原发肿瘤的一致性,PDX 模型传代次数应不超过 10 代^[15]。通常建立的 P1 代 PDX 模型不适用于药物筛选研究,因为人源肿瘤异体生长状态不稳定,应选择生长状态稳定的 P3 ~ P8 代模型进行实验研究^[16]。

2 PDX 模型溯源性评价

移植瘤在小鼠体内生长,鼠源性成分会逐步替代人源性成分^[17]。为了保证多次传代的 PDX 模型遗传学和组织学特征与原发瘤的相似性,需要对模型进行溯源性评价。目前已报道的溯源性评价方法包括:组织形态学比较、测序分析、肿瘤特异性标志物检测和 STR 分型,应结合不同实验研究的目的选择相应的 PDX 模型溯源方法。

2.1 组织形态学比较

通过组织学类型^[18]和 Lauren 分类^[19]等方法对移植瘤和原发瘤组织形态差异进行分析,判断一致性。通常取患者肿瘤组织和 PDX 模型肿瘤组织固定、切片、染色后,选择两名以上病理学家判断瘤组织的形态结构。在比较分析时不仅关注肿瘤的结构特征,同时也要对特异性的间质结构进行分析。Pergolini 等^[20]对 133 例胰导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)患者建立 PDX 模型,并连续传至 P10 代。通过对比发现,胰导管腺癌独特的腺腔样结构可以判断肿瘤的不同分化程度,而且经过连续传代的移植瘤能够保存不同分化程度的原发瘤特征;PDAC 肿瘤基质是由肿瘤相关的成纤维细胞和丰富的胶原蛋白组成,移植瘤包含 α -平滑肌成纤维细胞,与对应患者的原发瘤相似;此外,天狼星红染色显示异种移植瘤的胶原主要由有序或无序的纤维组成,这些胶原亚型特征在相应的原发瘤上也有发现。这些结果证明 PDAC 的 PDX 模型保留了原发瘤组织学及其微环境特征。

2.2 测序分析

通过多个基因外显子和 RNA 测序,可以确定原发瘤的遗传特征是否在 PDX 模型异体生长和传代期间发生变化;也可通过测序分析 PDX 模型的碱基突变特征、等位基因频率和 RNA 表达水平方面是否与原发瘤具有相关性^[21],这些都称为遗传特征的一致性研究。Choi 等^[22]研究了 726 例胃癌(gastric carcinoma, GC)及 TCGA(the Cancer Genome Atlas)数据库相关的癌症基因,发现所有癌症相关基因在模型的建立和移植过程中都是稳定的,mRNA 测序分析显示 P0 代模型和 P3 代模型之间的表达水平没有显著差异。比较 P0 和 P3 肿瘤之间的等位基因频率时,发现这两代肿瘤之间的等位基因频率相关性良好。此外,726 个癌症相关基因的 mRNA 表达水平在 P0 代和 P3 代肿瘤之间相关性较好($R = 0.99$),提示不仅基因的突变特征,而且相应基因的 RNA 表达水平在传代中都是稳定的。该研究证实胃癌 PDX 模型与原发瘤以及同代模型肿瘤之间的基因组差异不显著,特别是对于已知的癌症相关基因。

此外,利用基因表达图谱进行数据分析,表明 PDX 模型保留了绝大多数原发瘤的癌症关键基因^[23]、信号通路活性^[24]及基因组特征^[25]。但是,也有研究报道 PDX 模型发生了特有的核苷酸突变,导致一些基因消失或新发现,但发生几率较低^[26]。研究推测发生突变的原因是肿瘤适应异体生长环境而产生选择性压力导致的,或许由于原发瘤中存在低于可检测范围的亚克隆过度生长所致。Powell 等^[26]在乳腺癌 PDX 模型的研究中发现, $p53$ 、 $BTG2$ 基因的联合缺失会增加乳腺癌 PDX 模型移植瘤的生长速率,肿瘤的浸润能力增强,同时,增大了移植瘤自发性转移的潜能。类似的自发性转移在其他的类型肿瘤 PDX 模型中也有报道^[25]。

2.3 肿瘤特异性标志物的分析

人源性的特异性标志物检测能够确定移植瘤的来源^[27],进而比较移植瘤与原发瘤的一致性。Jason 等^[28]研究胰腺腺泡细胞癌(pancreatic acinar cell carcinoma, PACC)PDX 模型,结果表明模型的组织学特征与患者胰腺癌组织学特征相似。通过免疫组织化学法检测到人特异性线粒体表面蛋白和人核纤层蛋白 A/C(lamin A/C)的表达,确认小鼠体内的肿瘤组织是人类起源。特异性标志物的表达与某一类型肿瘤的发生密切相关,也是指导临床诊断和治疗策略的潜在分子靶点,比如肝癌中甲胎蛋白^[29](alpha fetal protein, AFP),胰腺癌中糖类抗原 CA19 - 9^[30],以及前列腺癌的特异性抗原^[31]

(prostate specific antigen, PSA), 都是特异性肿瘤主要的致癌驱动因素, 由基因组或蛋白质表达畸变(或两者同时)驱动。因此, 人体肿瘤和 PDX 模型之间以及 PDX 模型不同代际之间特异性标志物的一致性在评价靶向治疗药物的效用方面至关重要。Wang 等^[32]对胃癌 PDX 模型进行了遗传标志物的检测和分析。包括 *EGFR*、*HER2*、*HER3*、*PTEN*、*FGFR2* 和 *MET* 等 6 种基因, 它们是 GC 临床诊断和靶向治疗的已知靶标。通过与对应患者肿瘤的比较, 证明 PDX 模型较好的保持了人源 GC 的组织学和遗传学特征; 进一步检测表明 *HER2* 是 GC 重要的分子靶标, 检测 *HER2* 表达量, 可以比较 GC 原发肿瘤和 PDX 模型移植瘤之间的一致性。

2.4 STR 分型检测

在不同肿瘤类型的 PDX 模型中鼠源成分的替代速率是不同的^[33]。一般认为经过 8 ~ 10 次传代以后, 肿瘤组织的人源性不能保证^[34]。短片段重复序列(short tandem repeat, STR) 基因座检测被称作第二代 DNA 指纹技术, 广泛用于亲子鉴定、个体识别、遗传制图、连锁分析、疾病基因定位和物种多态性研究等领域^[35]。STR 序列广泛存在于哺乳动物的基因组中, 多态性程度高, 通常由 2 ~ 6 个碱基构成一个核心序列, 核心序列串联重复排列, 重复数目的变化决定多态性。对于特定个体, 染色体上某一位置的重复序列和重复次数是固定的, 而对于不同的个体在相同位置的重复次数不同。由于人类基因组中这种重复序列非常多, 通过检测多态性, 就可以明确区分个体的不同, 确定亲缘关系。通过联合应用 16 个 STR 位点, 个体识别率可达 0.999 999 999 9。在 PDX 模型溯源中, 分别提取原发瘤和移植瘤的 DNA, 通过 STR 分型比较二者遗传位点的相似性和稳定性。该方法操作简单, 准确度高, 可迅速确定移植瘤组织的来源。

3 药物的毒性与疗效评价

3.1 药物的毒性评价

PDX 模型的给药方案对于化疗药物的筛选及评价至关重要。人和小鼠的给药剂量存在较大差别, 必须按照人与鼠换算的剂量进行毒性评估, 确定给药剂量、方式和频次。观察小鼠的状态, 以及与治疗相关^[28](treatment related, TR) 的副作用。如果临床体征和尸体解剖能够证明或最后一次给药 14 d 以内的动物死亡被称为 TR, 该个体死亡前的数据将被统计; 如果没有证据显示死亡与治疗副作用有关, 动物死亡被归类为非治疗相关^[28](non-

treatment related, NTR), 该个体数据将不被统计。最大耐受剂量^[38](maximum tolerated dose, MTD) 可接受毒性定义为试验期间组平均体重损失小于 20%, TR 死亡率不超过 10%。定期称量小鼠体重^[39](body weight, BW), 如果出现 BW 损失超过限度, 说明剂量过大或频率过高, 该治疗组暂停试验, 待恢复平均 BW, 使用较低剂量或较低频次的给药方案。

3.2 肿瘤体积变化趋势

肿瘤体积的变化趋势可以直观反映药物的治疗效果, 通过对比治疗组与对照组肿瘤体积的差异来评价。根据实验动物福利及伦理要求^[38], 当肿瘤体积过大, 影响动物正常的生理活动时, 应停止试验。同时, 肿瘤体积和重量呈正相关, 随着肿瘤体积的增加, 其重量占小鼠体重的比例越高, 通过体重评价药物毒性作用的可行性就越低。在实验中应设定肿瘤体积增长的上限值, Cuppens 等^[39]选择 1500 mm³, Winters 等^[40]选择 1000 mm³, 作为实验研究的终点。受药物作用影响, 肿瘤增长过慢或呈减小趋势, 理论上达到体积上限时间过长或无法达到, 在体积变化趋势能够说明药物疗效时即可终止试验。

3.3 TGD 数学模型

在测量肿瘤体积时由于测量人员自身的差异易导致数据出现偏差, 形成人为的系统误差。采用 TGD(tumor growth delay) 数学模型^[28]评价治疗效果能够最大限度的减小系统误差, 比较准确地评价肿瘤生长情况。模型公式为:

$$TTE = \frac{\log_{10}(\text{endpoint volume}) - b}{m}$$

$$TGD = T - C$$

$$\% TGD = \frac{T - C}{C} \times 100$$

TTE(time to endpoint) 值表示达到治疗终点的时间, 以 d 为单位; endpoint volume 表示各时间节点肿瘤体积及设定的肿瘤终点体积, 以 mm³ 为单位。T 表示某治疗组 TTE 值的中位数, C 表示对照组 TTE 值的中位数, 均以 d 为单位, TGD 值与对照组差异呈正相关。治疗效果被定义为肿瘤生长相对延迟, 其含义为治疗组与对照组相比 TTE 中值的增加, 或是相对比率百分数。TGD 值(或是% TGD) 越大, 表明与对照组相比差异越大, 治疗效果越好。而且通过 m 值可以准确判断肿瘤的生长趋势, 值越大表明肿瘤生长速度越快, 若 m 值为负数, 表明肿瘤体积呈减小趋势。采用 TGD 数学模型法评价药

物的治疗效果,与单一观察肿瘤体积变化趋势的方法相比拥有很多的优点。①通过曲线能够准确模拟出每一个试验对象全治疗周期移植瘤的生长情况,治疗效果可以通过具体的量化数值进行评价,提高了评价体系的准确性;②对每一个时间节点肿瘤体积取对数,并绘制回归曲线,能够最大限度的减少人为因素的系统误差,提高了评价体系的可信性;③单纯的体积变化往往因趋势的波动而无法准确判断肿瘤的生长情况,引入回归曲线斜率 m 值能够准确判断肿瘤增长或减小趋势,提高了评价体系的预判性。

4 小结与展望

PDX 模型在肿瘤研究中发挥了积极的作用,使用 PDX 模型进行药物筛选的研究几乎都显示出了改善临床效果的预期性^[41]。但由于自身缺陷,免疫缺陷鼠不能真实模拟免疫系统在肿瘤发生发展中的作用,一定程度上限制了模型的应用。特别是以提高机体免疫力为目的的抗癌药物,选择 PDX 模型进行药物筛选局限性显而易见。有研究通过移植人体免疫组织成功创建了“人源化”小鼠模型^[42,43],弥补了上述缺陷,拓展了肿瘤免疫治疗方面的进展。另外,患者肿瘤异体生长时,鼠源间质为移植瘤提供生长所需的各类营养物质,此时肿瘤新生成的血管不同于人体的血管。对于有物种区别的抗血管生成类抗癌药物^[37],利用 PDX 模型进行药物筛选往往难以达到理想效果。

在肿瘤研究领域 PDX 模型的应用将会越来越广。如:PDX 模型可以用于鉴定肿瘤生物标记物,发现新的药物作用靶点,进而开发全新的抗肿瘤药物;利用 PDX 模型分析患者特定的治疗反应和预后的不同,并将患者分为不同亚群,开发新的肿瘤临床诊断方法,建立新的个体化治疗方案;利用 PDX 模型探寻患者肿瘤异质性的分子机制,根据个体化机制差异,精准预测临床药物疗效,推进肿瘤的精准化治疗;建立全球化的肿瘤异种移植模型数据库^[44],共享 PDX 模型研究成果与信息,提高肿瘤的临床治愈率。未来,随着对 PDX 模型研究及应用的不断发展和推进,精准和优化的癌症个体治疗方案将使更多患者受益。

参 考 文 献(References)

[1] Perez MR, Fleming JB. Patient-derived tumor xenograft models promise, potential and practice [M]. New York: Academic Press, 2016, 49-82.
[2] Julien S, Merinotriga A, Lacroix L, et al. Characterization of a

large panel of patient-derived tumor xenografts representing the clinical heterogeneity of human colorectal cancer [J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(19): 5314-5328.
[3] Mattie M, Christensen A, Chang MS, et al. Molecular characterization of patient-derived human pancreatic tumor xenograft models for preclinical and translational development of cancer therapeutics [J]. Neoplasia, 2013, 15(10): 1138-1150.
[4] Cho SY, Kang W, Han JY, et al. An integrative approach to precision cancer medicine using patient-derived xenografts [J]. Mol Cells, 2016, 39(2): 77-86.
[5] Guo S, Qian W, Cai J, et al. Molecular pathology of patient tumors, patient derived xenografts and cancer cell lines [J]. Cancer Res, 2016, 76(16): 4619-4626.
[6] Rosfjord E, Lucas J, Li G, et al. Advances in patient-derived tumor xenografts; from target identification to predicting clinical response rates in oncology [J]. Biochem Pharmacol, 2014, 91(2): 135-143.
[7] Malaney P, Nicosia SV, Davé V. One mouse, one patient paradigm: New avatars of personalized cancer therapy [J]. Cancer Lett, 2014, 344(1): 1-12.
[8] Lai Y, Wei X, Lin S, et al. Current status and perspectives of patient-derived xenograft models in cancer research [J]. J Hematol Oncol, 2017, 10(1): 106.
[9] Cassidy J, Batra AS, Greenwood W, et al. Patient derived tumour xenografts for breast cancer drug discovery [J]. Endocr-related Cancer, 2016, 23(12): T259-T270.
[10] Lin D, Xue H, Wang Y, et al. Next generation patient-derived prostate cancer xenograft models [J]. Asian J Androl, 2014, 16(3): 407-412.
[11] Whittle JR, Lewis MT, Lindeman GJ, et al. Patient-derived xenograft models of breast cancer and their predictive power [J]. Breast Cancer Res, 2015, 17(1): 1-13.
[12] Wang Y, Wang JX, Xue H, et al. Subrenal capsule grafting technology in human cancer modeling and translational cancer research [J]. Differentiation, 2015, 91(4-5): 15-19.
[13] Ilie M, Nunes M, Blot L, et al. Setting up a wide panel of patient-derived tumor xenografts of non-small cell lung cancer by improving the preanalytical steps [J]. Cancer Med, 2015, 4(2): 201-211.
[14] Eyre R, Alférez DG, Spence K, et al. Patient-derived mammosphere and xenograft tumour initiation correlates with progression to metastasis [J]. J Mam Gland Biol Neopl, 2016, 21(3): 1-11.
[15] Hoffman RM. Patient-derived orthotopic xenograft (PDOX) models of melanoma [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(9): E1875.
[16] Kasai N, Sasakawa A, Hosomi K, et al. Anti-tumor efficacy evaluation of a novel monoclonal antibody targeting neutral amino acid transporter ASCT2 using patient-derived xenograft mouse models of gastric cancer [J]. Am J Transl Res, 2017, 9(7): 3399-3410.
[17] Kageyama K, Ohara M, Saito K, et al. Establishment of an orthotopic patient-derived xenograft mouse model using uveal melanoma hepatic metastasis [J]. J Transl Med, 2017, 15(1): 145.
[18] Wang H, Lu J, Tang J, et al. Establishment of patient-derived gastric cancer xenografts: a useful tool for preclinical evaluation of targeted therapies involving alterations in HER-2, MET and

- FGFR2 signaling pathways [J]. *BMC Cancer*, 2017, 17(1): 191.
- [19] Ma J, Shen H, Kapersa L, et al. Lauren classification and individualized chemotherapy in gastric cancer [J]. *Oncol Lett*, 2016, 11(5): 2959–2964.
- [20] Pergolini I, Morales-Oyarvide V, Mino-Kenudson M, et al. Tumor engraftment in patient-derived xenografts of pancreatic ductal adenocarcinoma is associated with adverse clinicopathological features and poor survival [J]. *PLoS One*, 2017, 12(8): e0182855.
- [21] Zhang H, Cohen AL, Krishnakumar S, et al. Patient-derived xenografts of triple-negative breast cancer reproduce molecular features of patient tumors and respond to mTOR inhibition [J]. *Breast Cancer Res*, 2014, 16(2): R36.
- [22] Choi YY, Lee JE, Kim H, et al. Establishment and characterisation of patient-derived xenografts as preclinical models for gastric cancer [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 22172.
- [23] Reyat F, Guyader C, Decraene C, et al. Molecular profiling of patient-derived breast cancer xenografts [J]. *Breast Cancer Res*, 2012, 14(1): R11.
- [24] Tentler JJ, Tan AC, Weekes CD, et al. Patient-derived tumor xenografts as models for oncology drug development [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2012, 9(6): 338–350.
- [25] Hao C, Wang L, Peng S, et al. Gene mutations in primary tumors and corresponding patient-derived xenografts derived from non-small cell lung cancer [J]. *Cancer Lett*, 2015, 357(1): 179.
- [26] Powell E, Shao J, Yuan Y, et al. p53 deficiency linked to B cell translocation gene 2 (BTG2) loss enhances metastatic potential by promoting tumor growth in primary and metastatic sites in patient-derived xenograft (PDX) models of triple-negative breast cancer [J]. *Breast Cancer Res*, 2016, 18(1): 13–29.
- [27] Francis OL, Milford TM, Martinez SR, et al. A novel xenograft model to study the role of TSLP-induced CRLF2 signals in normal and malignant human B lymphopoiesis [J]. *Haematologica*, 2016, 101(4): 417–426.
- [28] Hall JC, Marlow LA, Mathias AC, et al. Novel patient-derived xenograft mouse model for pancreatic acinar cell carcinoma demonstrates single agent activity of oxaliplatin [J]. *J Translat Med*, 2016, 14(1): 129–143.
- [29] Cheung PF, Yip CW, Ng LW, et al. Comprehensive characterization of the patient-derived xenograft and the paralleled primary hepatocellular carcinoma cell line [J]. *Cancer Cell Int*, 2016, 16(1): 41.
- [30] Pandiaraja J, Viswanathan S, Antony TB, et al. The role of CA19–9 in predicting tumour resectability in carcinoma head of pancreas [J]. *J Clin Diagn Res*, 2016, 10(3): PC06–09.
- [31] Liu X, Chen X, Kiera R, et al. Systematic dissection of phenotypic, functional, and tumorigenic heterogeneity of human prostate cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(27): 23959–23986.
- [32] Wang H, Lu J, Tang J, et al. Establishment of patient-derived gastric cancer xenografts: a useful tool for preclinical evaluation of targeted therapies involving alterations in HER–2, MET and FGFR2 signaling pathways [J]. *BMC Cancer*, 2017, 17(1): 191.
- [33] Pearson AT, Finkel KA, Warner KA, et al. Patient-derived xenograft (PDX) tumors increase growth rate with time [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(7): 7993–8005.
- [34] Carita G, Némati F, Decaudin D. Uveal melanoma patient-derived xenografts [J]. *Ocul Oncol Pathol*, 2015, 1(3): 161–169.
- [35] Gettings KB, Aponte RA, Vallone PM, et al. STR allele sequence variation: current knowledge and future issues [J]. *Forensic Sci Int Genet*, 2015, 18: 118–130.
- [36] Yapp DT, Wong MQ, Kyle AH, et al. The differential effects of metronomic gemcitabine and antiangiogenic treatment in patient-derived xenografts of pancreatic cancer: treatment effects on metabolism, vascular function, cell proliferation, and tumor growth [J]. *Angiogenesis*, 2016, 19(2): 229–244.
- [37] Tai CJ, Wang H, Wang CK, et al. Bevacizumab and cetuximab with conventional chemotherapy reduced pancreatic tumor weight in mouse pancreatic cancer xenografts [J]. *Clin Exp Med*, 2017, 17(2): 141–150.
- [38] Gettayacamin M, Retnam L. AAALAC International Standards and Accreditation Process [J]. *Toxicolog Res*, 2017, 33(3): 183–189.
- [39] Cuppens T, Depreeuw J, Annibaldi D, et al. Establishment and characterization of uterine sarcoma and carcinosarcoma patient-derived xenograft models [J]. *Gynecol Oncol*, 2017, 146(3): 538–545.
- [40] Winters B, Brown L, Coleman I, et al. Inhibition of ERG activity in patient-derived prostate cancer xenografts by YK–4–279 [J]. *Anticancer Res*, 2017, 37(7): 3385–3396.
- [41] Izumchenko E, Meir J, Bedi A, et al. Patient derived xenografts as tools in pharmaceutical development [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2016, 99(6): 612–621.
- [42] Fleming JM, Miller TC, Kidacki M, et al. Paracrine interactions between primary human macrophages and human fibroblasts enhance murine mammary gland humanization in vivo [J]. *Breast Cancer Res*, 2012, 14(3): R97.
- [43] Perales-Patón J, Piñero-Yañez E, Tejero H, et al. Pancreas cancer precision treatment using avatar mice from a bioinformatics perspective [J]. *Public Health Genomics*, 2017, 20(2): 77.
- [44] Meehan TF, Conte N, Goldstein T, et al. PDX-MI: Minimal information for patient-derived tumor xenograft models [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(21): e62.