

张娜,刘学芳,冯素香,等. 肺癌骨转移动物模型研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(10): 128-131, 137.
Zhang N, Liu XF, Feng SX, et al. Advanced research on animal models of lung cancer bone metastasis [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(10): 128-131, 137.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020.10.019

肺癌骨转移动物模型研究进展

张 娜¹, 刘学芳^{2*}, 冯素香², 董浩然²

(1.河南中医药大学基础医学院, 郑州 450046; 2.河南中医药大学中医药科学院, 郑州 450046)

【摘要】 骨转移是肺癌的常见并发症之一,随着患者生存率的提高骨转移的发生风险也随之增加。肺癌骨转移动物模型是研究肺癌骨转移的重要工具,对阐释肺癌骨转移的病理生理学机制,研发和评价肺癌治疗药物都具有重要意义。本文综述了国内外报道的肺癌骨转移动物模型的研究现状,对肺癌细胞株、实验动物的品系、模型构建方法以及评价方法进行详细的论述,对于肺癌的研究具有重要的参考价值。

【关键词】 肺癌;骨转移;动物模型

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 10-0128-04

Advanced research on animal models of lung cancer bone metastasis

ZHANG Na¹, LIU Xuefang^{2*}, FENG Suxiang², DONG Haoran²

(1. College of Basic Medicine, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China.
2. Academy of Traditional Chinese Medicine, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046)

【Abstract】 Bone metastasis is a common complication of lung cancer, and patient survival rate increases its risk. Animal models of bone metastasis are useful to investigate lung cancer bone metastasis. An explanation of the pathophysiology of lung cancer bone metastasis is important for medical research in lung cancer. In this paper we review domestic and foreign reports on the research status of animal models of lung cancer bone metastasis and discuss lung cancer cell lines, experimental animal strains, model building method, and evaluation method in detail. It is hoped that this paper will be an important reference for the study of lung cancer.

【Keywords】 lung cancer; bone metastasis; animal model

2018年中国癌症登记中心发布的数据显示,2014年我国肺癌总体发病人数78.2万,死亡人数62.6万,肺癌发病率与死亡率位居癌症首位^[1]。转移是肺癌治疗失败和患者死亡的首要原因,骨转移是肺癌的常见并发症之一,其中非小细胞肺癌(non-small-cell lung cancer, NSCLC)24个月时骨转移的累积发病率为23.8%,小细胞肺癌为18.5%^[2]。随着现代治疗技术水平的提升,肺癌患者的5年生

率显著提高,同时骨转移的发生风险也随之增加^[3]。肺癌骨转移好发部位在脊柱和躯干骨近端,肿瘤对脊柱的损伤常导致顽固性局部疼痛、病理性骨折或脊柱畸形,压迫脊髓可导致根性疼痛、无力行走或四肢瘫痪^[4]。为了深入研究肺癌骨转移的病理生理学机制,建立可重复的、与临床密切相关的肺癌骨转移动物模型至关重要,同时肺癌治疗药物的研发在进入人类临床试验之前,也需要动物模

【基金项目】河南省高等学校重点科研项目(20A360007)。

【作者简介】张娜(1982—),女,博士,副教授,研究方向:肿瘤动物模型。E-mail: zhangnahnzy@163.com

【通信作者】刘学芳(1979—),男,硕士,实验师,研究方向:实验动物模型。E-mail: 616621312@qq.com

型来检测和评估。本文对国内外关于肺癌骨转移动物模型的相关文献进行整理,从肺癌细胞株的选择、实验动物的选择、肺癌骨转移模型的构建方法、模型评价 4 个方面进行综述,以期对肺癌骨转移相关研究提供参考。

1 肺癌细胞株的选择

骨是一个非常特殊的组织,质地坚硬,由骨基质、细胞和纤维组成,基质内富含胶原纤维、蛋白聚糖和糖蛋白,同时有大量的羟基磷灰石结晶沉积,细胞包括成骨细胞、破骨细胞、骨祖细胞和骨细胞^[5]。其中与肺癌骨转移关系密切的是破骨细胞与成骨细胞,破骨细胞在骨发育过程中可溶解吸收骨质,参与骨的生长和改建,但在肿瘤因素的诱导下破骨细胞异常活跃,可降解胶原纤维,导致骨溶解和骨破坏^[6]。成骨细胞可合成骨基质成分,在肿瘤因素的诱导下可形成骨刺或导致骨骼变形。肺癌骨转移模型中采用的肺癌细胞株应能够在骨微环境中生存,具备黏附骨基质和促进破骨细胞形成的能力^[7],能够诱导破骨细胞降解胶原纤维及蛋白聚糖^[4]。根据现有的报道,用于建立肺癌骨转移模型的细胞株包括与动物同种来源的瘤株和异种来源的瘤株(人源肺癌细胞株)。

1.1 动物源肺癌细胞株

Lewis 肺癌细胞株(LLC)是 1980 年从小鼠 Lewis 肺癌中分离得到的细胞系,LLC 细胞株在 C57BL/6J 小鼠体内具有高度的致瘤性和转移性^[8],应用现代生物学技术修饰可转染荧光素酶基因,在小鼠体内表达荧光信号,常用于肺癌转移模型的构建。

1.2 人源肺癌细胞株

已报道的用于肺癌骨转移模型的包括人肺腺癌细胞系、小细胞肺癌细胞系和非小细胞肺癌细胞系。其中人肺腺癌细胞系包括 PC9 细胞、A549 细胞、PC-14 细胞、SPC-A-1 细胞和 H1299;小细胞肺癌细胞系包括 H446 细胞和 SBC-5 细胞;非小细胞肺癌细胞系为 NSCLC 细胞。

2 实验动物选择

报道显示肺癌骨转移模型使用最多的是啮齿动物小鼠,免疫缺陷型小鼠能够接受不同物种来源的组织或肿瘤移植,不会产生排斥反应,广泛应用于肺癌移植瘤模型^[9]。有相关文献报道的用于

肺癌骨转移模型的小鼠品系包括:裸鼠、SCID(重症联合免疫缺陷)小鼠、BNX(NIH-Beige-Nude-XID)小鼠、NOD/SCID(非肥胖糖尿病/重症联合免疫缺陷)小鼠、C57BL/6J 小鼠。其中,裸鼠是胸腺缺乏的小鼠品系,无胸腺、无 T 淋巴细胞,可用于研究同种或异种肿瘤细胞的移植^[10-11];SCID 小鼠严重缺乏 B 和 T 细胞,对异种的肿瘤细胞或组织的抑制效果优于裸鼠,更适合人类肺癌细胞的移植^[12],但随着鼠龄的增加,T、B 细胞功能可部分恢复,成为影响模型的重要因素;BNX 小鼠是一种 T、B 和 NK 细胞联合免疫缺陷的小鼠,该品系小鼠应用于肺癌移植模型成瘤率高,成瘤时间早,实验重复性好^[13];NOD/SCID 小鼠 T、B 细胞联合免疫缺陷,NK 细胞减少、无循环补体、异种移植人源肺癌细胞后能够保留其病理学特征^[9];C57BL/6J 小鼠是标准的近交系小鼠,免疫功能正常,常用于 Lewis 肺癌模型的构建,肿瘤成活率高,转移率高,常用于肺癌药物的评价^[14-15]。

3 肺癌骨转移模型的构建方法

3.1 左心室注射法

杨顺芳等^[16]将人肺腺癌 SPC-A-1 细胞(1×10^6 个/只)经左心室注射的方法接种于 8~10 周龄 SCID 小鼠,120 d 在放射性核素示踪下约 10% 小鼠可检出骨转移,分离培养骨转移灶细胞,再次经左心室注射接种于 BNX 小鼠体内,经过 3 次 BNX 小鼠体内循环接种后,最终在接种后 23 d,BNX 小鼠骨转移率高达 100%,转移可见于颅骨、颞骨、脊柱、四肢骨和肋骨等。储建军等^[17]将人肺腺癌 PC9 细胞(荧光素酶标记)通过左心室注射接种于 4~5 周龄裸鼠体内,细胞浓度为 $1 \times 10^5/100 \mu\text{L}$,30 d IVIS 活体成像跟踪检查在小鼠胫骨处出现肺癌溶骨性转移灶,X 射线检查(X-ray)显示小鼠胫骨发生溶骨性缺损。崔永奇等^[18]将 4 种肺腺癌细胞系 A549、H1299、SPC-A-1、XL-2 细胞(1×10^6 个/只),采用左心室注射的方法接种于 6~8 周龄的 BLAB/c- nu/nu 裸鼠体内,接种后裸鼠出现消瘦,脊柱弯曲等症状,经 Micro CT 和病理学分析确定 4 种肺腺癌细胞骨转移率分别为 60%、40%、50%、40%,骨转移平均周期为 $(33 \pm 1) \text{d}$ 、 $(57 \pm 4) \text{d}$ 、 $(32 \pm 3) \text{d}$ 、 $(15 \pm 2) \text{d}$,各实验组中轴骨转移的概率显著高于四肢长骨,与临床肺癌骨转移的部位特点相吻合。Cai 等^[19]将 A549 细胞(1×10^5 个/只)采用左心室注射的方法接种至

裸鼠体内,建立裸鼠脊柱转移模型,经过三次体内筛选后,分离出一个克隆株 A549 L6,生物发光成像显示该克隆株诱导的脊柱转移率高达 80%,40 d 裸鼠出现神经压迫症状。

Dieterly 等^[20]将 NSCLC 细胞经心内注射接种于裸鼠体内,结果显示约 39% 的小鼠出现自发性椎体转移、脊髓压迫和后肢瘫痪,组织学显示椎体转移灶为肺腺癌表型,肿瘤上皮细胞排列成索状或腺泡状,免疫组化和免疫荧光分析显示,椎体转移灶中波形蛋白表达增加,该研究成功构建了具有自发性椎体转移性肺癌裸鼠模型。

3.2 胫骨注射

俞惠新^[21]采取右后肢胫骨贴骨注射的方法,将小细胞肺癌 H446 细胞(2×10^6 个/只)接种于 6 周龄 BALB/c-nu/nu 雄性裸鼠体内,10 周 X-ray 及病理检查均显示 H446 细胞引起明显的胫骨破坏,病灶周围有广泛的反应性骨生成,骨髓中有肿瘤细胞侵入。王静等^[22]将 A549 细胞(6×10^6 个/只)注射到 4~6 周龄雄性 NOD/SCID 小鼠胫骨外贴骨处,6 周后,X-ray 显示肺癌细胞已浸润到胫骨及周围软组织,并且发生典型的肿瘤侵袭和骨质破坏,病理显示胫骨髓腔中有肿瘤细胞浸润,周围骨质不完整。

通过短暂免疫抑制,在免疫功能正常 C57BL/6J 小鼠体内也能成功复制肺癌骨转移模型,孟越等^[23]采用环磷酰胺(150 mg/kg)腹腔注射 1 次,结合地塞米松钠(100 mg/kg)连续注射 3 次(1 次/天,连续 3 d)的方法,使有正常免疫功能的 C57BL/6J 小鼠免疫力下降,第 5 天将 A549 细胞(2×10^8 个/只)注入小鼠右后肢胫骨平台,7 d 可见接种处肿胀、呈球形,14 d 肿瘤影响后肢运动,28 d 8 只存活,7 只成瘤。X-ray、Micro CT 和病理分析均证实 A549 细胞对免疫抑制小鼠右后肢胫骨的损伤,该研究证实具有正常免疫功能的小鼠在免疫抑制后建立肺癌骨转移模型的可行性。

3.3 尾静脉注射

Otsuka 等^[24]采取尾静脉注射的方法,将 ACC-LC-319/bone2 细胞接种至 NOD/SCID 小鼠体内,28 d 小鼠肺、肝和骨均发生肿瘤转移,X-ray 检测到溶骨性病损,35 d 检测到成骨病损,组织学检查发现骨刺。Miki 等^[25]将小细胞癌细胞系 SBC-5 细胞经尾静脉注射接种于 NOD/SCID 小鼠体内,经 X-ray 评估,28 d 检测到 SBC-5 细胞产生的溶骨性骨转移,所有小鼠在第 35 天出现骨转移。

3.4 尾动脉注射

Kuchimaru 等^[26]将荧光素酶标记的 LLC/luc 细胞,采用尾动脉注射的方法接种到 C57BL/6 小鼠体内,生物荧光报告成像显示在注射后 30 min,骨髓中即可检测到荧光素酶活性信号,7 d 骨髓转移灶数目增加,14 d 小鼠后肢骨出现较大的转移灶,X-ray 和 Micro CT 检测显示,14 d 小鼠骨量出现明显下降,32 d LLC/luc 细胞转移灶主要出现在小鼠后肢骨和囊状腺中,小鼠生存期超过 32 d。尾动脉注射可一次性注入 1×10^6 个癌细胞,不会造成小鼠急性死亡,进入尾动脉的癌细胞在短时间内可经髂总动脉进入股动脉,使癌细胞进入骨髓,最终增加在下肢骨成功转移的机会。

4 模型评价方法

4.1 临床症状

肺癌肿瘤转移至脊柱可导致步态异常、后肢不能站立或下肢截瘫。小鼠脊柱损伤的程度可使用巴松-贝蒂-布雷斯纳汉量化评分表(BBB)进行评分^[27],该评分系统包括将动物置于开阔场地,观察其步态 4 min,以 0~21 之间的分数积分,其中 21 分是正常,0 分是完全瘫痪。Tatsui 等^[28]将肺腺癌 PC-14 细胞钻孔植入裸鼠 L-3 椎体内,建立脊柱转移模型,使用 BBB 对裸鼠运动功能进行每日评分,1~14 d, BBB 平均分数从 21 下降到 19,裸鼠从正常带尾行走走到拖尾行走(里程碑事件 1);15~20/21 d(左腿/右腿), BBB 平均分数从 19 下降到 14,动物步态变差,出现背步(里程碑事件 2);22~26/27 d(左腿/右腿), BBB 平均分数从 14 下降到 8,动物行走渐进性困难,仅出现后肢扫动(里程碑事件 3);29~36 d, BBB 平均分数从 8 下降到 0,裸鼠进展到瘫痪(里程碑事件 4)。

4.2 影像学检测

X 射线检查(X-ray)、微计算机断层扫描技术(micro computed tomography, Micro CT)、小动物正电子发射断层显像系统(micro positron emission tomography-computed tomography, Micro PET-CT)技术、单光子发射计算机断层扫描(single photon emission computed tomography, SPECT)都是常规用于肺癌动物模型诊断的影像学技术,其中以 X-ray 应用最为广泛^[21],可显示小鼠骨骼总体形态学变化,优点是操作简单,造价低;缺点是对早期或小肿瘤的检测并不敏感;Micro CT 与 X-ray 相比,分辨率

高、图像不重叠、不伪影,能在活体情况下成像,还可进行骨密度评估、骨体积计算和三维重建^[18]; Micro PET-CT 是专门为研究人类疾病的小动物模型而设计的,其主要目标是能提供与人相似的活体分子影像学,18F-FDG 是 PET 最常用的显像剂,将 18F-FDG 经尾静脉注射到小鼠体内,活动 35 min 后,麻醉动物 Micro PET-CT 静态扫描,病灶处可检测明显的占位性病变^[29]; ⁹⁹Tcm-MDP 全身骨显像技术结合 SPECT 检测用于肺癌骨转移动物模型的检测^[21],反应原理是:亚甲基二膦酸盐(⁹⁹Tcm-MDP)可化学吸附与羟基磷灰石晶体表面,通过有机质与未成熟的骨胶原结合而沉积在骨骼内。将⁹⁹Tcm-MDP 经尾静脉注入裸鼠,SPECT 检测可见骨肿瘤灶有明显的放射性浓聚。

4.3 生物荧光报告成像

生物荧光报告成像是动物肿瘤模型中新兴的成像方式,用荧光素酶转染肺癌细胞株^[17],检测前腹腔或静脉注射荧光素酶底物,病灶几分钟内可产生发光现象,使用 IVIS 活体成像可以多时间点、动态监测到体积约为 0.5 mm³ 的微小转移灶,比 X-ray 更敏感。缺点是检测时间较长,仪器精密度要求高,需要注入荧光素酶底物,实验成本高^[30]。

4.4 病理学诊断

石蜡切片技术结合 HE 染色,仍然是诊断小鼠肺癌骨转移模型的金标准,光镜下可以观察到肺癌骨转移灶的形态、分布及浸润情况,常与影像学技术联合使用,用于模型的评价。病理学诊断的缺点是需要将动物处死,实验步骤繁琐,周期长。

5 结语

综上所述,构建肺癌骨转移模型的方法不断丰富,研究者可根据其研究目的选择合适的细胞株及实验动物,在造模方法上应打破传统思路,如:心内注射、尾静脉注射以及胫骨注射,多探索新的造模方法,如:尾动脉注射和免疫抑制后造模等。肺癌骨转移模型的评价可综合临床症状、影像学及病理学结果综合评价,针对能表达荧光素酶的肺癌细胞株 IVIS 活体成像也是动态的、良好的评价方法。随着我国科研条件的不断提升,许多高端的影像学技术,如:Micro PET-CT、SPECT、IVIS 活体成像,在未来发展中也应受到研究者的广泛关注。

参考文献:

[1] 孙可欣,郑荣寿,曾红梅,等. 2014 年中国肺癌发病和死亡

分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2018, 40(11): 805-811.

- [2] Silva GT, Silva LM, Bergmann A, et al. Bone metastases and skeletal-related events: incidence and prognosis according to histological subtype of lung cancer [J]. *Future Oncol*, 2019, 15(5): 485-494.
- [3] 董智,赵军,柳晨,等. 肺癌骨转移诊疗专家共识(2019 版)[J]. 中国肺癌杂志, 2019, 22(4): 187-207.
- [4] Cossigny D, Quan GM. *In vivo* animal models of spinal metastasis [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2012, 31(1-2): 99-108.
- [5] 周忠光. 组织学与胚胎学. 第四版[M]. 北京:中国中医药出版社; 2016.
- [6] Mitsuhashi A, Okuma Y, Zenke Y, et al. Prognostic effects of osteoclast inhibitors in extensive stage small cell lung cancer patients with bone metastases [J]. *Mol Clin Oncol*, 2018, 9(5): 561-565.
- [7] Sterling JA, Edwards JR, Martin TJ, et al. Advances in the biology of bone metastasis: how the skeleton affects tumor behavior [J]. *Bone*, 2011, 48(1): 6-15.
- [8] Bertram JS, Janik P. Establishment of a cloned line of lewis lung carcinoma cells adapted to cell culture [J]. *Cancer Lett*, 1980, 11(1): 63-73.
- [9] 胡丽丽,阮永华. 移植性肺癌动物模型的建立和研究进展[J]. 临床与实验病理学杂志, 2012, 28(8): 906-908.
- [10] 马媚,张燕,张玲,等. 人胃癌细胞株裸鼠皮下移植瘤模型的建立及其生物学特性[J]. 中国实验动物学报, 2012, 20(6): 57-60.
- [11] 张彩勤,张海,赵勇,等. 人前列腺癌骨转移裸鼠移植模型的建立及其循环肿瘤细胞的特性[J]. 中国实验动物学报, 2016, 24(1): 14-19.
- [12] 汪歌. 严重联合免疫缺陷(SCID)小鼠的研究概况[J]. 中国比较医学杂志, 1992 (Z2): 97-100.
- [13] 范士明,姚明,邢华,等. BNX 小鼠生物学特性及其肿瘤模型的初步应用[J]. 实验动物与比较医学, 2006, 26(2): 75-79.
- [14] Xu C, Zhou L, Lu L, et al. Inflammation has a role in urethane-induced lung cancer in C57BL/6J mice [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(4): 3323-3328.
- [15] Zhao L, Zhong Y, Liang J, et al. Effect of astragalus polysaccharide on the expression of vegf and egfr in mice with lewis transplantable lung cancer [J]. *J Coll Physicians Surg Pak*, 2019, 29(4): 392-394.
- [16] 杨顺芳,董强刚,姚明,等. 高转移性人肺腺癌细胞株 SPC-A-1BM 的建立及其特性分析[J]. 肿瘤, 2006, 26(12): 1059-1063.
- [17] 储建军,丁建东. 白桦丹醌通过抑制 PC9 细胞迁移及 PC9 诱导的破骨细胞形成阻止肺癌骨转移的实验研究[J]. 中国医学创新, 2014, 11(11): 11-13.
- [18] 崔永奇,耿沁,顾爱琴,等. 肺腺癌骨转移裸小鼠模型的建立及 MicroCT 观察[J]. 中国肺癌杂志, 2013, 16(9): 452-459.

(下转第 137 页)

- [33] Brevini TAL, Pennarossa G, Manzoni EFM, et al. Safety and efficacy of epigenetically converted human fibroblasts into insulin-secreting cells: a preclinical study [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1079: 151–162.
- [34] Izrael M, Slutsky SG, Admoni T, et al. Safety and efficacy of human embryonic stem cell-derived astrocytes following intrathecal transplantation in SOD1 (G93A) and NSG animal models [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 152.
- [35] Doering CB, Denning G, Shields JE, et al. Preclinical development of a hematopoietic stem and progenitor cell bioengineered factor viii lentiviral vector gene therapy for hemophilia A [J]. *Hum Gene Ther*, 2018, 29(10): 1183–1201.
- [36] Ni K, Liu M, Zheng J, et al. PD-1/PD-L1 pathway mediates the alleviation of pulmonary fibrosis by human mesenchymal stem cells in humanized mice [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2018, 58(6): 684–695.
- [37] Guess AJ, Daneault B, Wang R, et al. Safety profile of good manufacturing practice manufactured interferon gamma-primed mesenchymal stem/stromal cells for clinical trials [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6(10): 1868–1879.
- [38] Wen H, Qu Z, Yan Y, et al. Preclinical safety evaluation of chimeric antigen receptor-modified T cells against CD19 in NSG mice [J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(23): 735.
- [39] Quesada MP, García-Bernal D, Pastor D, et al. Safety and biodistribution of human bone marrow-derived mesenchymal stromal cells injected intrathecally in non-obese diabetic severe combined immunodeficiency mice: preclinical study [J]. *Tissue Eng Regen Med*, 2019, 16(5): 525–538.
- [40] Sawant S, Gokulan R, Dongre H, et al. Prognostic role of Oct4, CD44 and c-Myc in radio-chemo-resistant oral cancer patients and their tumorigenic potential in immunodeficient mice [J]. *Clin Oral Investig*, 2016, 20(1): 43–56.

〔收稿日期〕2020-07-07

(上接第 131 页)

- [19] Cai X, Luo J, Yang X, et al. *In vivo* selection for spine-derived highly metastatic lung cancer cells is associated with increased migration, inflammation and decreased adhesion [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(26): 22905–22917.
- [20] Dieterly AM, Uzunalli G, Kemet CM, et al. Epithelial-mesenchymal transition phenotypes in vertebral metastases of lung cancer [J]. *Toxicol Pathol*, 2019, 47(4): 515–527.
- [21] 俞惠新. 埃本膦酸钠对肺癌骨转移动物模型的干预作用 [J]. *肿瘤防治研究*, 2007, 34(5): 331–333.
- [22] 王静, 刘芳, 杨晓琼. BMP9 对裸鼠非小细胞肺癌骨转移的影响 [J]. *检验医学与临床*, 2018, 15(23): 3566–3569.
- [23] 孟越, 李春雨, 郝松, 等. 肺癌骨转移小鼠模型的建立 [J]. *南方医科大学学报*, 2014, 34(5): 664–668.
- [24] Otsuka S, Hanibuchi M, Ikuta K, et al. A bone metastasis model with osteolytic and osteoblastic properties of human lung cancer ACC-LC-319/bone2 in natural killer cell-depleted severe combined immunodeficient mice [J]. *Oncol Res*, 2009, 17(11–12): 581–591.
- [25] Miki T, Yano S, Hanibuchi M, et al. Bone metastasis model with multiorgan dissemination of human small-cell lung cancer (SBC-5) cells in natural killer cell-depleted SCID mice [J]. *Oncol Res*, 2000, 12(5): 209–217.
- [26] Kuchimaru T, Kataoka N, Nakagawa K, et al. A reliable murine model of bone metastasis by injecting cancer cells through caudal arteries [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 2981.
- [27] Basso DM, Fisher LC, Anderson AJ, et al. Basso Mouse Scale for locomotion detects differences in recovery after spinal cord injury in five common mouse strains [J]. *J Neurotrauma*, 2006, 23(5): 635–659.
- [28] Tatsui CE, Lang FF, Gumin J, et al. An orthotopic murine model of human spinal metastasis: histological and functional correlations [J]. *J Neurosurg Spine*, 2009, 10(6): 501–512.
- [29] 沈艳, 王韵, 张汝, 等. 两种小鼠肺癌模型的构建及 Micro PET-CT 观察 [J]. *实验动物与比较医学*, 2019, 39(1): 39–45.
- [30] 代国, 郑迪, 余铃, 等. 脊柱转移瘤动物模型的比较及研究进展 [J]. *医学研究杂志*, 2018, 47(1): 165–167.

〔收稿日期〕2020-03-06