

【 临床前评价方法学专栏 】

人类和啮齿类动物肺肿瘤比较

邱 波¹, 王 艳², 陈 凯¹, 孟广祯¹, 张海静¹, 王凤乾¹, 胡建廷^{1*}

1. 山东省药科学院 山东省化学药物重点实验室, 山东 济南 250101

2. 山东英才学院, 山东 济南 250104

摘 要: 肺癌是一种常见的肺部恶性肿瘤, 近年来, 由于吸烟和各种环境因素的影响, 肺癌的发病率和病死率均迅速上升。啮齿类动物在肺癌的病因、有效致癌物、潜在协同效应、发病机制及新的肺癌诊断和治疗研究中起重要作用。从影响实验动物肺肿瘤反应的因素、人类和啮齿类动物肺肿瘤的形态学差异、肺癌的分子学改变方面进行综述, 为肺肿瘤的临床前动物实验研究提供参考。

关键词: 肺脏; 肿瘤; 啮齿类动物; 大鼠; 小鼠; 人类; 形态学; 分子学

中图分类号: R965.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2018) 08- 1369 - 05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.08.001

Comparisons of human and rodent lung tumors

QIU Bo¹, WANG Yan², CHEN Kai¹, MENG Guangzhen¹, ZHANG Haijing¹, WANG Fengqian¹, HU Jianting¹

1. Shandong Pharmaceutical Academy, Shandong Provincial Key Laboratory of Chemical Drug, Jinan 250101, China

2. Shan Dong Ying Cai University, Jinan 250104, China

Abstract: Lung cancer is a common malignant tumor in the human population. In recent years, with the influence of smoking and various environmental factors, the incidence and mortality of lung cancer have risen rapidly in various countries. Laboratory animals play an important role in the etiology of lung cancer, effective concentrations of carcinogens, potential synergistic effects, identification of pathogenesis, and new diagnosis and treatment of lung cancer. This article only described the factors that affect the response of lung tumors in experimental animals, the morphological differences between lung tumors in humans and rodents, and the molecular changes in lung cancer, to provide references for preclinical animal experiments of lung tumors.

Key words: Lung; cancer; rodent; rat; mouse; human; morphology; molecular

肺癌是一种发病率高、治疗效果差的重大疾病, 尽管肺癌早期可诊断及实施新的治疗方法, 但治疗效果依然很差^[1-3]。肺癌也与一些职业和环境暴露有关, 动物研究对于鉴别病因、有效的致癌物浓度、潜在的协同效应, 确定发病机制, 开发新的诊断和治疗程序具有重要意义。影响实验动物肺肿瘤的因素很多, 动物的种属和品系、致癌物的种类、致癌物的剂量、动物种属的敏感性以及与人类反应的相似性等因素较为关键^[4-6], 分子变化的研究是了解肺癌发生的重要新工具。本文从影响实验动物肺肿瘤的因素、人类和啮齿类动物肺肿瘤的形态学差异、

肺癌的分子学改变几个方面, 对实验动物和人肺肿瘤进行初步探讨。

1 影响实验动物肺肿瘤反应的因素

1.1 动物种属和品系

美国国家毒理部对试验周期为 22~24 个月的 F344 大鼠、B6C3F1 小鼠以及叙利亚仓鼠进行了自发性肺肿瘤的发病率统计^[7-8]。结果显示, F344 雄性和雌性大鼠肺肿瘤的发病率分别为 2.4%、1.2%; B6C3F1 雄性和雌性小鼠肺肿瘤的发病率分别为 17%、7.5%; 而叙利亚雄性和雌性仓鼠肺肿瘤的发病率仅为 0.8%、0.75%。研究发现, 叙利亚仓鼠除

收稿日期: 2018-03-27

基金项目: 山东抗体类和疫苗类生物药物临床前评价公共服务平台的完善与运行 (2015CXPT00001)

第一作者: 邱 波 (1983—), 男, 山东泰安人, 主管药师, 硕士, 主要从事药物的毒性病理学研究。E-mail: qiubo.1983@163.com

*通信作者: 胡建廷 (1979—), 男, 山东聊城人, 副主任药师, 硕士, 主要从事药物的毒性病理学研究。E-mail: jiantinghu@126.com

了对滴注的致癌物不敏感外,对吸入性致癌物导致的肺癌也具有较大的抵抗力,这一奇怪的特征导致叙利亚仓鼠在肺癌的研究中很少被应用。调查统计的另一显著特征是雄性和雌性自发性发病率之间的差异,在大多数种属的啮齿动物中,雄性自发性肺癌发病率较高。在对3个常用品系B6C3F₁、C57/B1/1cfr和A/J小鼠的肺肿瘤发病率的统计中发现,2年期C57小鼠雄性和雌性的肺肿瘤发病率分别为6.0%、4.8%,B6小鼠雄性和雌性的肺肿瘤发病率分别为17%、7.5%。而A系小鼠肺脏肿瘤发生率很高,6月龄时超过50%,过高的自发性会影响致癌试验的结果判定,但可以用于抗肿瘤药物的研究^[9]。

1.2 组织剂量差异

不同种属肺的组织剂量因肺中物质的沉积和清除(通过物理方式或新陈代谢)方式而有所不同。物质的沉积受给药方法和其物理性质的影响^[10]。吸入是大多数肺致癌物最自然的途径,致癌物在肺中分布最均匀。气管滴注是将致癌物直接输送到肺组织中,但这种给药方式往往会造成组织分布的不均匀性,局部组织有可能暴露较高的物质浓度,高浓度的致癌物可能会导致新陈代谢超负荷或导致与自然暴露无关的局部毒性反应。

化合物的物理性质对沉积在呼吸道中的物质的量和位置具有重要影响,大颗粒(空气动力学直径 $>5\mu\text{m}$)主要沉积在上呼吸道中,而小颗粒主要沉积在小气道和肺泡中;对于气体和蒸汽来说,溶解性是确定沉积位置的关键因素^[11],许多可溶性化合物在上呼吸道被迅速吸收,而不溶性化合物则均匀分布。物质迁移(物质迁移到肺外的物理运动)是决定肺剂量的一个重要因素,不溶性物质可以通过粘膜纤毛摆动进入消化道;可溶性物质可能进入血液被携至身体的所有部位进行代谢(例如通过肾脏或肝脏)或长期储存在体内^[12]。

化合物的代谢是决定肺局部剂量的另一个重要因素^[13],呼吸道由具有代谢功能的上皮细胞构成。鼻上皮细胞将吸入的三氯乙烯代谢为在小鼠鼻腔内诱发癌症的近致癌物质。小气道中的克拉拉细胞将吸入的萘酚代谢为小鼠肺癌的近致癌物。这两种化学物质均不能诱导大鼠的鼻癌或肺癌,因为大鼠的鼻腔不能将化合物代谢为近致癌物质。

1.3 啮齿类动物对人类肺致癌物的反应

国际癌症研究机构(IARC)公布的致癌物清单中引发人类肺癌的致癌物超过30种。而这些致癌物

的获得大都来源于实验室啮齿类动物的研究,其研究结果与人类的研究有很大的相关性。在这30种人类肺致癌物中,15种致癌物在大鼠和或小鼠上均进行了2年的致癌实验。这15种致癌物包括金属和矿物质(石棉、砷、铍、镉、铬和镍的化合物)、有机化合物(双氯甲醚和氯甲醚、芥子气和氯乙烯)、有机碳氢化合物(煤焦油、煤焦油沥青^[14]、柴油烟尘、烟草烟雾^[15])、放射性物质(α 放射粒子和氡及其衰变产物^[16])。结果显示,在15种人类肺致癌物中,除砷和砷化合物、铬化合物、芥子气外,12种致癌物均能引起大鼠肺肿瘤的显著增加。相比之下,只有5种人类肺致癌物(双氯甲醚和氯甲醚、煤焦油、氯乙烯、烟草烟雾、 α 放射粒子)导致小鼠肺肿瘤的显著增加。金属或矿物质均不能引起小鼠肺肿瘤,这一结果提示,大鼠似乎与人类对肺致癌物的反应更为相近,小鼠可能对金属或矿物质缺乏反应^[17]。

影响实验动物的肺肿瘤反应的因素包括致癌物的性质、致癌物的组织剂量、暴露的方式、试验动物种属的敏感性以及与人类反应的相似性,肺致癌物在实验室啮齿类动物(大、小鼠)及人类的反应不完全相同,这提示种属间存在对肺致癌物的反应差异,这种反应差异也会反映在人类与啮齿类动物肺肿瘤的形态学方面,因此有必要对人类与啮齿类动物肺肿瘤的形态学进行比较。

2 人类和啮齿类动物肺肿瘤的形态学比较

与人类相比,啮齿动物肺肿瘤的形态特征有很大的差异^[18-19],见图1。肺泡上皮增生和腺瘤在小鼠中较为常见,而在大鼠和人类中罕见。与啮齿动物比较,人体尸检取样的差异掩盖了人类的真实发病率。小鼠的肺腺瘤和一些局灶性增生,都可能被触诊或肉眼可见,人类的肺较大,微小的增生性病变可能被漏诊。在人类,死于原发性肺癌的病人肺

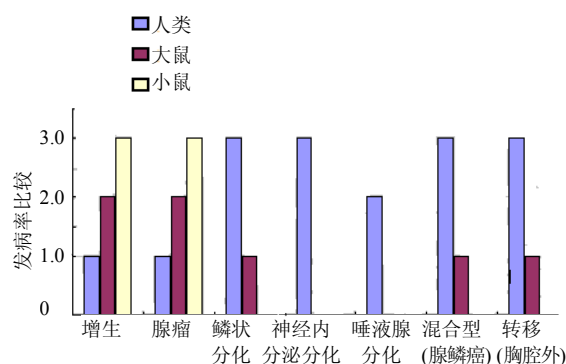


图1 人类与啮齿类动物肺肿瘤的差异

Fig. 1 Differences among human and rodent lung tumors

泡增生和腺瘤常被偶然发现,病变呈多灶性。在吸烟的肺癌患者中,10%的非腺癌患者和40%的腺癌患者都有肺泡增生和腺瘤;在不吸烟的肺癌患者中,3%的患者有肺泡增生和腺瘤。

鳞状细胞分化在人类肺肿瘤中很常见,尤其是与吸烟有关的支气管肿瘤。而鳞状分化在大鼠和小鼠中罕见,大鼠和小鼠的鳞状分化通常与暴露于高浓度的特定致癌物质有关,如大鼠吸入刺激性颗粒或小鼠气管中注入甲基胆碱。

神经内分泌分化在人类中被认为是小细胞肺癌,在大鼠和小鼠中却没有^[20],这是一个重要的区别,小细胞肺癌在人类的肺癌中占了相当大的比例(20%)。混合型腺鳞癌,在人类罕见,在大鼠身上并不罕见,但在小鼠身上却没有。大鼠和小鼠的肺肿瘤转移很少见,胸腔外肺肿瘤转移更加罕见;人类的肺癌通常是侵袭性的,并且在全身广泛转移^[21]。由此可见,人类与啮齿类动物肺肿瘤的形态学特征存在很大的差异,表现为肺肿瘤的表现类型不一致。

3 肺癌的分子学改变

对肺癌分子变化的研究是肿瘤生物学的一个拓展领域,对肿瘤的诊断和治疗有着深远的影响。肺癌的分子变化取决于致癌物质、肿瘤类型和动物种属。

3.1 致癌物

人和啮齿类动物肺肿瘤中,共同的突变基因是K-ras 基因点突变的频率变化,大鼠该基因突变的范围从0到100%不等,其肺肿瘤的分子变化频率取决于致癌物的性质(表1)。如大鼠吸入强效肺致癌物四硝基甲烷,导致K-ras 基因发生100%突变,从而诱导肺脏肿瘤;相反,注射香烟烟雾中常见的一种致癌物亚硝胺,在肺肿瘤中却无K-ras 基因致癌物的暴露方式或剂量。因突变。这种较大的变异范围说明肺癌的发生并不是由单一、独特的分子途径所诱导。有趣的是,K-ras 突变的位置也似乎取决于

致癌物,即密码子12、13或61,其特征突变谱已经在四硝基甲烷、丁二烯和尿烷引起的小鼠肺肿瘤中发现^[22]。这些特征性突变是重要的,因为可能揭示由这些化学物质引发的肿瘤启动的机制。此外,这些特征性突变谱可用于确

3.2 肺肿瘤类型

肺肿瘤的形态与分子的变化有关。图2说明了钚诱导大鼠肺肿瘤中两种不同类型的肿瘤类型的发展和分子变化。k-ras 点突变是肺泡上皮增生的早期分子变化^[23]。如果增生性病变发展为鳞状细胞癌,p53 会出现功能紊乱。然而,如果发生了腺癌,p53 功能紊乱反而不会出现^[24]。



图2 钚颗粒吸入引起大鼠肺肿瘤分子变化的顺序

Fig. 2 Sequence of molecular changes in lung tumors in rats that inhaled plutonium particles

3.3 动物种属

物种之间肺癌的分子变化往往不一样,但最近的研究表明,在小鼠和人类中,一些肺癌的主要途径可能是相似的。例如,在香烟烟雾引起的肺癌中,小鼠和人类在源自肺泡区的肺癌中有一些类似的分子变化(图3)。在小鼠中,密码子12的K-ras 点突变发生的较早,并存在于局灶性肺泡上皮增生性的病变中。死亡相关蛋白(DAP)激酶和维甲酸

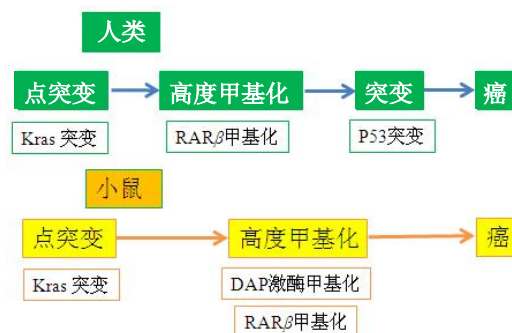


图3 香烟烟雾诱导肺肿瘤-人类和小鼠

Fig. 3 Cigarette smoke induced lung tumors - man and mouse

表1 致癌物对大鼠肺癌的K-ras 基因突变率的影响

Table 1 Effects of carcinogens on the mutation rate of

K-ras gene in lung cancer of rats

致癌物	暴露模式	K-ras 基因突变率/%
四硝基甲烷	烟雾吸入	100
二氧化钚	颗粒吸入	40
金属	颗粒吸入	10
柴油机废气	颗粒吸入	6
X-发射线	外部照射	3
4-甲基亚硝胺基-1-3-吡啶基-1-丁酮 (NNK)	im	0

受体 (RAR) β 基因启动子在随后发展的腺癌中存在高度甲基化^[25]。K-ras 基因突变频率与对照组中小鼠的肺肿瘤无明显差异,然而,香烟烟雾引起的小鼠恶性肿瘤在密码子 12 处有更大的基因突变谱。此外,吸烟小鼠 DAP 激酶和 RAR- β 甲基化的频率更高。在人类吸烟的腺癌中也发现了类似的基因突变和表观沉默模式。在吸烟者中, K-ras 突变途径在肺腺癌中是首选的,然而,在与其他致癌物质相关的腺癌中,表皮生长因子途径发生突变,这两条路径似乎相互排斥^[26]。p53 肿瘤抑制因子突变失活是肺癌中常见现象,非小细胞肺癌约有一半发生 P53 突变,但在早期的病变中罕见^[27]。

由此可见,在不同动物种属致癌物引起的肺癌分子变化中,一些主要途径可能是相似的,但也存在着某些基因位点的差异。

4 结语

肺癌是人类常见且严重的一种癌症,毒理及病理学家需要了解肺肿瘤的比较肿瘤学。众所周知,人类的肺癌是由吸烟和环境中其他一些致癌物质引起的。动物研究需要阐明,人在环境或职业环境中可能与其他潜在致癌物的相互作用,此外,需要了解剂量-反应关系和潜在的协同效应,以最大限度地减少有害影响,了解常见的肺肿瘤的发病机制有助于预防、诊断和治疗疾病。

影响肺癌反应的重要因素有:致癌物的性质、组织剂量、暴露的方式,试验动物种属的敏感性,以及与人反应的相似性。致癌物质的组织剂量因其在各物种肺中的沉积、清除方式的不同而有所差异,沉积主要受给药方法和物质物理性质的影响,给药化合物的物理性质决定了沉积在呼吸道中的物质的数量和位置;物质迁移(物质在肺外的物理运动)、化合物的代谢在确定肺的剂量方面也很重要。

15 种人类肺部致癌物质中,有 11 种引起了大鼠肺肿瘤的显著增加,相比之下,只有 5 种使小鼠的肺肿瘤显著增加。大鼠似乎与人类对肺致癌物的反应的相关性比小鼠更好,这主要是因为小鼠缺乏对金属或矿物复合体的反应。

啮齿动物肺肿瘤的形态学特征与人类有着重要的差异。最近的研究表明,终身暴露在香烟烟雾中的雌性小鼠或大鼠的肺肿瘤显著增加。这些研究已经被用来证明,在小鼠和人类身上,一些主要的肺癌分子途径可能是相似的。例如,香烟烟雾引起小

鼠和人类肺癌,在源自肺泡区的肺癌中有一些类似的分子变化。

分子变化的研究是了解肺癌发生的重要新工具,不同物种、品系、种属和性别的动物对致癌物质的反应不同^[28-30],不同的肺肿瘤形态等均与分子变化相关,需要着重考虑的是人和动物对致癌物质反应的相似性。

本文从影响实验动物肺肿瘤反应的因素、人类和啮齿类动物肺肿瘤的形态学差异、肺癌的分子学改变几个方面,对人类和啮齿类动物肺肿瘤进行比较,可为肺肿瘤的形态学、分子学研究提供参考。

参考文献

- [1] 胡海洋,林之峰,林 强. 肺癌早期诊断的研究进展 [J]. 现代生物医学进展, 2013, 13(14): 2768-2773.
- [2] Aberle D R, Berg C D, Black W C, et al. The national lung screening trial: overview and study design [J]. Radiology, 2011, 258(1): 243-253.
- [3] 李文武. 肺癌的 CT 诊断及技术进展 [A]. //第三届全国肺癌诊断及综合治疗进展学习班暨山东省抗癌协会肺癌分会成立大会论文汇编 [C]. 济南: 山东省肿瘤医院, 2007.
- [4] 马 慧,周清华. 动物模型在肺癌研究中的应用 [J]. 中国肺癌杂志, 2007, 10(1): 72-75.
- [5] 彭 鹏. 肺癌动物模型的制作概况 [J]. 徐州医学院学报, 2005, 25(3): 263-265.
- [6] 李永明,张 敏,夏长友,等. 肺肿瘤实验动物模型的构建 [J]. 实验动物, 2008, 11: 35-37.
- [7] Hahn F F. *Concepts in Inhalation Toxicology* [M]. Washington, D.C.: Taylor & Francis Group, 1995.
- [8] Hahn, F F. *Toxicology of the lung* [M]. Washington, D. C.: Taylor & Francis Group, 1999.
- [9] Witschi H. The complexities of an apparently simple lung tumor model: the A/J mouse [J]. Exper Toxicol Pathol, 2005, 57: 171-181.
- [10] Hahn F F, Gigliotti A, Hutt J A. Comparative oncology of lung tumors [J]. Toxicol Pathol, 2007, 35: 130-135.
- [11] 孙若凡,毛 莉,郭琦琦,等. 吸入性氟化粒子在人体肺部组织中吸收剂量的研究 [J]. 原子核物理评论, 2015, 32(2): 212-217.
- [12] 周宗灿. 毒理学教程 [M]. 北京: 北京医科大学出版社, 2006: 443-457.
- [13] Bond J A. *Toxicology of the Lung* [M]. Washington, D. C.: Taylor & Francis Group, 1993.
- [14] 梁宗英,张 乐,孙光蕊,等. 煤焦油沥青烟气诱导 SD 大鼠肺癌动物模型的实验研究 [J]. 临床和实验医学杂志, 2015(22): 1844-1846.

- [15] Hahn F F, Gigliotti A P, Hutt J A, et al. A review of the histopathology of cigarette smoke- induced lung cancer in rats and mice [J]. *Int J Toxicol*, 2007, 26(4): 307-313.
- [16] Cuttler J M, Sanders C L. Threshold for radon-induced lung cancer from inhaled plutonium data [J]. *Dose Response*, 2015, 12: 1-4.
- [17] 柯居中, 卓龙冉, 卢伟, 等. IARC 公布的致癌物和接触场所对人类致癌性的综合评价分类 1~102 卷 [J]. *环境与职业医学*, 2012, 29(7): 464-466.
- [18] Nikitin A Y, Alcaraz A, Anver M R, et al. Classification of proliferative pulmonary lesion of the mouse: recommendations of the mouse models of human cancers consortium [J]. *Cancer Res*, 2004, 64: 2307-2316.
- [19] Wakamatsu N, Devereux T R, Hong H H, et al. Overview of the molecular carcinogenesis of mouse lung tumor models of human lung cancer [J]. *Toxicol Pathol*, 2007, 35: 75-80.
- [20] Pandiri A R, Sills R C, Ziglioli V, et al. Differential transcriptomic analysis of spontaneous lung tumors in b6c3f1 mice: comparison to human non-small cell lung cancer [J]. *Toxicol Pathol*, 2012, 40: 1141-1159.
- [21] Pandiri A. Comparative pathobiology of environmentally induced lung cancers in humans and rodents [J]. *Toxicol Pathol*, 2015, 43: 107-114.
- [22] Hong H H, Houle C D, Ton T V, et al. K-ras mutations in lung tumors and tumors from other organs are consistent with a common mechanism of ethylene oxide tumorigenesis in the B6C3F1 mouse [J]. *Toxicol Pathol*, 2007, 35: 81-85.
- [23] Wakamatsu N, Collins J B, Parker J S, et al. Gene expression studies demonstrate that the K-ras/Erk MAP kinase signal transduction pathway and other novel pathways contribute to the pathogenesis of cumene-induced lung tumors [J]. *Toxicol Pathol*, 2008, 36: 743-752.
- [24] Hahn F F. *Testing predicting and interpreting carcinogenicity* [M]. New York: Marcel Dekker, 1998.
- [25] Hutt J A, Vuilleminot B R, Barr E B, et al. Life-span inhalation exposure to mainstream cigarette smoke induces lung cancer in B6C3F1 mice through genetic and epigenetic pathways [J]. *Carcinogenesis*, 2005, 26(11): 1999-2009.
- [26] Wistuba I I, Gazdar A F. Lung cancer preneoplasia [J]. *Annu Rev Pathol*, 2006, 1: 331-348.
- [27] Westra W H. Early glandular neoplasia of the lung [J]. *Respirat Res*, 2000, 1: 163-169.
- [28] 治洪, 段志刚, 张月, 等. 大鼠肺癌模型及其早期指征的研究 [J]. *环境与健康杂志*, 2008, 25(4): 302-307.
- [29] 胥孜杭, 胡洁淼, 陈晓, 等. 小鼠肺癌模型研究进展 [J]. *中国医药导报*, 2016, 13(9): 63-67.
- [30] 肖时满, 李勇爱, 强金伟, 等. 小鼠早期肺腺癌模型的病理学研究 [J]. *中国实验动物学报*, 2016, 24(1): 1-6.