

神经母细胞瘤动物模型研究进展与应用

谭志刚^{1,2}, 刘锦信^{1,2}, 郑楚雅^{1,2}, 廖文峰^{1,2}, 冯露平^{1,2}, 彭红丽^{1,2}, 严 秀³, 卓振建^{1,2}

(1. 北京大学深圳研究生院实验动物中心, 深圳 518055; 2. 省部共建肿瘤化学基因组学国家重点实验室, 深圳 518055; 3. 佛山科学技术学院, 佛山 528200)

[摘要] 神经母细胞瘤 (neuroblastoma, NB) 是儿童最常见的实体恶性肿瘤, 居我国儿童肿瘤发病率第四位, 占儿童肿瘤死亡人数的15%, 高危患者存活率低。目前对于NB的发病及药物治疗机制知之甚少。NB动物模型可以表征NB发展特征, 是研究预防和治疗NB的重要工具, 然而尚未有一种动物模型可以模拟人类NB的所有特征。本文介绍了当前研究较多的几种NB动物模型 (小鼠模型、鸡胚绒毛尿囊膜模型和斑马鱼模型), 并对每种NB动物模型的种类、构建方法、特征、优缺点及研究进展做了详细阐述, 同时对NB的应用方向及前景进行概括, 以期对NB动物模型构建和NB治疗等提供理论依据。

[关键词] 神经母细胞瘤; 动物模型; 小鼠; 鸡胚绒毛尿囊膜; 斑马鱼

[中图分类号] R-332; Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2023)03-0288-09



Advances and Applications in Animal Models of Neuroblastoma

TAN Zhigang^{1,2}, LIU Jinxin^{1,2}, ZHENG Chuya^{1,2}, LIAO Wenfeng^{1,2}, FENG Luping^{1,2}, PENG Hongli^{1,2}, YAN Xiu³, ZHUO Zhenjian^{1,2}

(1. Laboratory Animal Center, Peking University Shenzhen Graduate School, Shenzhen 518055, China; 2. State Key Laboratory of Chemical Oncogenomics, Shenzhen 518055, China; 3. Foshan University, Foshan 528200, China)

Correspondence to: ZHUO Zhenjian (ORCID: 0000-0003-0142-4086), E-mail: zhenjianzhuo@163.com

[ABSTRACT] Neuroblastoma (NB) is one of the most common malignant solid tumors in children, ranks fourth in the incidence of pediatric tumors, and accounts for 15% of pediatric tumor deaths in children in China. Despite the development of new treatment options, the prognosis for high-risk patients is still poor. An animal model that can replicate the tumorigenesis of NB is an important tool for the prevention and treatment of NB. However, there are currently no animal models that can simulate all features of human NB. To provide a reference for the construction of animal models and treatment of NB, this article introduced several animal models of NB that have been extensively researched: the mouse, chick embryo chorioallantoic membrane, and zebrafish models. At the same time, it elaborated on the species, construction methods, characteristics, advantages and disadvantages, and research progress in NB.

[Key words] Neuroblastoma; Animal model; Mice; Chick embryo chorioallantoic-membrane; Zebrafish

神经母细胞瘤 (neuroblastoma, NB) 是一种儿童交感神经系统的肿瘤, 也是儿童最常见的实体瘤, 死亡率占所有儿童肿瘤的15%, 常见于新生儿期, 主要症状包括疲乏、食欲减退、发热以及关节疼痛^[1]。多数低、中危NB患者靠手术和化疗能够基本痊愈, 甚至

能自行消退; 而高危患者经放化疗、免疫治疗、干细胞移植、骨髓疗法等综合治疗后, 5年生存率仅提升到50%, 且易复发和转移^[2]。近年, 随着免疫治疗的发展, 自体干细胞移植 (autologous stem cell transplant, ASCT) 联合抗GD2抗体治疗高危NB患者后, 生存率

[基金项目] 国家自然科学基金项目“遗传变异调控 ALKBH5 基因表达影响神经母细胞瘤迁移侵袭的作用及机制研究”(82002636); 深圳市自然科学基金项目“N1-甲基腺苷修饰基因与神经母细胞瘤遗传易感的机制研究”(JCYJ20220531093213030)

[第一作者] 谭志刚(1989—), 男, 硕士, 兽医师, 主要从事实验动物设施管理、实验动物疾病研究等。E-mail: 18819267200@163.com

[通信作者] 卓振建(1990—), 男, 博士, 副研究员, 主要从事肿瘤模型构建、实验动物管理、肿瘤机制研究。E-mail: zhenjianzhuo@163.com。ORCID: 0000-0003-0142-4086

可达70%^[3]。然而，目前人们对NB的致病及其药物保护机制知之甚少，迫切需要进行深入研究，以解析高危NB的发生机制，为高效抗肿瘤药物的研发提供理论依据。

在研究NB致病机制过程中，动物模型的建立具有重要作用。由于实验动物、移植术及移植方式均存在较大差异，故建立贴近于临床的NB动物模型对研究NB发病机制及保护性药物意义重大，有利于制定合理的诊疗方案以预防和及时治疗NB并发症。本文对已报告的NB动物模型研究进展、特征及优缺点进行综述，以期对NB的临床研究提供参考依据。

1 NB动物模型

NB动物模型是研究人类NB发病机制、发展、转移与复发等过程的替代品。迄今已报告的NB实验动物模型主要有小鼠模型、鸡胚绒毛尿囊膜模型和斑马鱼模型。

1.1 小鼠模型

由于遗传背景清晰、操作简易、取材方便等特点，小鼠模型在NB研究中最常用，已广泛应用于NB的发病机制研究与新药开发，主要分为移植瘤模型和基因工程小鼠模型。

1.1.1 小鼠移植瘤模型

小鼠移植瘤模型可模拟人肿瘤自然生长过程，是目前研究NB的重要手段，但需仔细考虑宿主、移植术和移植部位等因素，以保证其与人类发病特征的一致性。尽管皮下移植瘤模型制备相对简单，利于药物复合筛选，但是由于宿主、微环境和肿瘤之间的相互作用

等因素，原位瘤更接近人类表型，更有利于肿瘤学与病理学的研究。

1975年，Lawrence将人源NB细胞（SK-N-SH与SK-N-MC细胞）移植于裸小鼠皮下，首次成功建立NB皮下异位移植瘤模型^[4]。此方法操作简易，成瘤率高，至今仍被广泛使用。1979年，Bogden等^[5]首次建立了NB肾膜囊下原位移植瘤小鼠模型，该模型被美国国立癌症研究所（National Cancer Institute，NCI）列为研究抗癌新药物的重要方法之一。其后，Khanna等^[6]研究发现，往肾上腺腹膜后脂肪注射两种NB细胞系（SK-N-AS和SMS-KCNR），可引起NB原位瘤的发生。肿瘤最初发生在肾上腺周围脂肪垫，随后侵入肾上腺皮质，然后延伸并包裹同侧肾脏。此方法已被学者广泛借鉴，但是由于小鼠肾上腺体积小，注射剂量难以控制。Rowe等^[7]对该模型进行优化，提高了注射精准度，并降低了技术要求，注射体积可高达100 μL（1×10⁶个细胞），相比Flickinger等^[8]与Khanna等^[6]模型实验中的10 μL（5×10⁵个细胞）和50 μL（未提及细胞数）明显增多。结果证实，此模型能更好地保持人源性的肿瘤组织学特征，是一种稳定可靠的NB原位瘤模型^[9]。刘波等^[10]通过分别向SCID-Beige小鼠皮下和右侧肾上腺周围脂肪层注射50 μL SK-N-BE2（BE2）细胞，成功建立了皮下异位移植瘤模型与肾上腺原位瘤模型，结果显示肾上腺原位瘤的成瘤率更高，肿瘤生长速度更快，同时更符合临床NB生长位置。此外，也有来自不同NB细胞系的临床前实验模型被报告，详见表1。

有研究报告用不同的患者肿瘤组织建立高危NB人

表1 常见的NB细胞系来源的临床前实验小鼠模型

Table 1 Frequently used preclinical laboratory mouse models derived from NB cell lines

细胞系 Cell line	小鼠品系 Mouse strain	MYCN基因状态 MYCN status	ALK基因突变 ALK mutation	P53基因突变 P53 mutation	参考文献 Reference
KELLY	BALB/c-nude 小鼠	扩增	野生型	野生型	[11]
CHP-212	NSG 小鼠	扩增	野生型	野生型	[12]
SKNAS	BALB/c-nude 小鼠	非扩增	野生型	H168R	[13]
SH-SY-5Y	Foxn1nu/Nju 小鼠、ICR 小鼠、BALB/c-nude 小鼠	非扩增	F1174L	野生型	[14-16]
IMR-32	NSG 小鼠	扩增	野生型	野生型	[17]
IMR-05	SHC 小鼠	扩增	野生型	野生型	[18]
LA-N-5	BALB/c-nude 小鼠	扩增	R1275Q	野生型	[19]
NB-1	BALB/c-nude 小鼠	扩增	野生型扩增	野生型	[20-21]
SK-N-BE(2)	SCID-Beige 小鼠	扩增	野生型	C135F	[10]
SK-N-BE(2)-C	BALB/c-nude 小鼠、Foxn1nu/Nju 小鼠	扩增	野生型	C135F	[11, 22]
CHP-134	NOD-SCID 小鼠	扩增	野生型	野生型	[23]
SK-N-DZ	BALB/c-nude 小鼠	扩增	野生型	R110L	[24]

源肿瘤异种移植 (patient derived tumor xenograft, PDX) 模型, 结果显示移植NB复发患者的肿瘤组织建立的PDX模型成功率最高, 而且原位移植比皮下或肌内移植更有效, 这表明高危PDX模型可用不同类型的样本稳定建立^[25]。Byrne等^[26]通过将荧光素酶标记的NB细胞注入小鼠肾上腺, 分析原位瘤模型中肿瘤的生长及转移情况; 该方法为探究NB的疾病发展、转移过程提供了重要手段。近期有文献^[27]报告了一种新型的肾上腺外NB动物模型, 即胸腔NB模型, 通过向C57BL/6J小鼠胸膜下方注射 2×10^6 个小鼠NB细胞9464D, 成功建立了胸膈膜NB肿瘤模型。其中, 小鼠NB细胞9464D是转基因细胞系, 来源于C57BL/6背景的Th-MYCN转基因小鼠(酪氨酸羟化酶)模型, 可产生高表达MYCN的自发肿瘤, 含有人类MYCN转基因, 从酪氨酸羟化酶启动子表达外源性MYCN。该模型重现性高, 创口恢复快, 同时可在免疫功能正常动物体内建模, 可较高程度地模拟临床中机体发病情况, 为阐明肿瘤亚型之间的生物学和微环境差异提供了实践基础, 同时为高危患者开发针对性的治疗方案提供了新手段。

1.1.2 基因工程小鼠模型

1.1.2.1 MYCN扩增的基因工程小鼠模型

1997年, Weiss等^[28]建立了针对NB的第一个基因工程小鼠模型, 即Th-MYCN小鼠模型, 这是NB研究中应用最广泛、最具特征的基因工程小鼠模型。纯合子的MYCN转基因小鼠可自发形成NB, 该模型发病率为临床NB的40倍以上^[29]。在129X1/SvJ基因背景下, 纯合子Th-MYCN小鼠的肿瘤形成潜伏期很短, 为4~7周, 从肿瘤外显至死亡的平均时间仅为5d^[30]。

在表达多巴胺-β-羟化酶(dopamine beta-hydroxylase, dβh)细胞中, 用Cre条件诱导可构建MYCN扩增的基因工程小鼠模型(LSL-MYCN; dβh-

iCre小鼠)^[31]。该模型成瘤于交感神经节和肾上腺髓质, 成瘤时长较Th-MYCN小鼠模型浮动更大, 且时间更长(平均80d), 然而其成瘤率较高的特点使之成为优势配种品系。

1.1.2.2 ALK突变的基因工程小鼠模型

研究发现ALK是一种与家族性NB相关的受体酪氨酸激酶, 多数家族性NB病例中可以检测到ALK基因的激活突变, 是NB中最常见的突变基因^[32]。ALK突变基因工程小鼠模型中含两种最常见的突变: ALK^{R1275}(占43%)与ALK^{F1174}(占30%)^[33]。dβh-iCre; CAG-LSL-ALK^{F1174L}小鼠和Th-IRES-Cre; CAG-LSL-ALK^{F1174L}小鼠可分别在dβh与Th阳性神经嵴组织中表达ALK突变体, 产生低于50%外显率的NB, 肿瘤生长在脊椎旁神经节或肾上腺, 部分小鼠还可能出现肝转移^[34]。当dβh-iCre; CAG-LSL-ALK^{F1174L}小鼠与Th-MYCN小鼠杂交时, 子代小鼠的肿瘤发生率显著升高, 潜伏期显著缩短^[35]。而另一种ALK^{F1174}小鼠模型(即Th-ALK^{F1174L})不自发成瘤^[33], 当其与Th-MYCN小鼠杂交时, 所得后代与相同背景下的Th-MYCN小鼠相比, 肿瘤发生率大幅增加, 潜伏期更短^[34]。同样, 在129×B6遗传背景下, ALK^{R1275Q}基因敲入小鼠与Th-MYCN小鼠杂交, 子代小鼠的肿瘤完全外显, 而亲代在该背景上均未引起肿瘤发生^[36]。

1.1.2.3 LIN28B转基因小鼠模型

RNA结合蛋白LIN28B是let-7 siRNA家族的负调控因子, 可通过负调控MYCN发挥抑制肿瘤生长的作用^[12,37]。在大多数高危NB中可观察到LIN28B过表达, 而在少部分肿瘤中也出现LIN28B扩增^[38]。条件性过表达LIN28B的转基因小鼠(dβh-iCre; CAG-LSL-LIN28B小鼠)有25%的概率自发成瘤。另外, 除以上主要基因工程小鼠外, 目前文献报告的还有其他一些相关模型, 具体见表2。

表2 常见的NB基因工程小鼠模型
Table 2 The common genetically engineered mouse models

小鼠模型 Mouse model	优势 Advantage	局限性 Limitation	参考文献 Reference
Th-MYCN	代表高危NB型, 成瘤率高	成瘤时间长, 转移少	[39-40]
LSL-MYCN; dβh-iCre	比Th-MYCN更明确的转基因插入, 发病率更高	转移率低	[31]
Th-MYCN/CASP8(KO)	存在转移, 成瘤率高	引起原发肿瘤细胞外基质结构的改变	[41]
Th-MYCN/Trp53(KI)	诱导性P53丢失	P53突变多发于复发肿瘤中, 小鼠的存活率低	[42]
ALK(F1174)	符合NB表型	临床常见率低	[33]
Th-MYCN/ALK(F1174)	成瘤率高, 肿瘤生长快	相关性低	[35]
SV40 Tag	与NB表型一致, 肿瘤发病率高, 存在转移	所有小鼠在28周龄前死亡	[43]

1.2 鸡胚绒毛尿囊膜模型

鸡胚绒毛尿囊膜 (chick embryo chorioallantoic membrane) 模型是最早的异种移植瘤模型之一^[44]。此时雏鸡的免疫系统未完全发育, 排斥反应尚未建立, 因此肿瘤生长具有良好条件。然而该模型在NB研究中鲜有报告, 可比性较低。1998年, Ribatti等^[45]首次在鸡胚绒毛尿囊膜实验中证明了人源NB细胞系的细胞悬液可刺激机体血管生成。同时, 免疫组织化学结果显示, NB细胞呈簇状排列于血管周围及内部。Mangieri等^[46]进一步研究发现, 在基质凝胶中培养数天后的NB细胞表现出多种与人类疾病类似的特征, 如血管生成活性与内皮生长因子-A、低氧诱导因子-2 α 的转录产物高表达等相关, 表明该实验模型可用于人类肿瘤进展研究及抗血管生成分子的筛选。

Herrmann等^[47]证实NB细胞可在鸡胚绒毛尿囊膜上成功形成肿瘤。此外, 缺氧预处理可改变NB细胞表型, 促进肿瘤转移到其他器官, 该模型被证明适用于肿瘤治疗药物研究。Swadi等^[48]进一步探究在鸡胚绒毛尿囊膜上形成的NB分化情况, 结果表明在成瘤的3 d中, 将反式维甲酸注射到尿囊内, 可以减少两种MYC扩增的NB细胞系增殖。

1.3 斑马鱼模型

近年来, 斑马鱼已成为科学家进行生物学及其他研究的热门工具。斑马鱼具有繁殖力强、饲养成本低、易于观察等特点, 是一种良好的脊椎动物模型^[49]。1965年, Stanton^[50]利用二乙基亚硝胺诱导斑马鱼肝脏发生瘤变, 这是斑马鱼首次在肿瘤学方面的应用研究。2003年, 有学者通过Rag2启动子调控过表达MYC致癌基因, 成功建立了第一个斑马鱼T细胞白血病基因模型^[51]。近十年来, 该模型不断衍生出适用于不同研究领域的转基因和突变品系, 包括黑色素瘤、横纹肌肉瘤、肝癌等肿瘤类型^[52-54]。

斑马鱼NB模型首次报告于2012年, 该研究通过使用斑马鱼将d β h启动子驱动增强绿色荧光蛋白 (enhanced green fluorescent protein, EGFP) 融合到MYCN的氨基末端, 驱使致癌基因MYCN和激活突变的ALK (这是原发NB中最常见的突变基因与靶向治疗候选基因) 基因表达^[32]。2017年, Tao等^[55]对原始模型进行了改进, 采用共注射法构建了一种稳定的斑马鱼品系 (TgMYCN-TT), 该方法将肿瘤外显率提高到70%。接下来, 为了探究ALK在NB中的作用, Zhu等^[56]将d β h融合到野生型ALK或ALK (F1174L) 构

建了转基因斑马鱼, 结果显示活化的ALK在斑马鱼发育过程中减轻了MYCN诱导的交感神经肾上腺祖细胞凋亡反应, 但嗜铬细胞系的分化仍然受阻。2017年, Zhang等^[57]利用MYCN过表达的斑马鱼NB模型, 探究了蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型11 (protein tyrosine phosphatase nonreceptor 11, PTPN11) 突变基因在NB中的作用。结果表明, MYCN转基因斑马鱼中PTPN11的表达促进了NB的形成, 同时增加了肿瘤外显率, 这为PTPN11通过激活RAS-MAPK信号通路与MYCN协同促进NB形成提供了直接证据。图1概述了应用斑马鱼模型进行NB研究的基本流程。

斑马鱼PDX模型 (zebrafish Patient-derived tumor xenograft, zPDX) 可用于监测肿瘤发展, 筛选新的肿瘤治疗方法。Costa等^[58]与Fior等^[59]建立了结直肠癌zPDX模型, 为临床治疗方案的筛选提供了新途径。Almstedt等^[60]通过高通量斑马鱼NB移植瘤模型, 探究大麻素受体2 (cannabinoid receptor 2, CNR2) 和丝裂原激活蛋白激酶8 (mitogen-activated protein kinase 8, MAPK8) 的治疗效果。药物筛选发现, GW405833和AS601245是最有效和耐受性良好的CNR2和MAPK8靶向化合物, 可有效抑制斑马鱼异种移植瘤的生长。

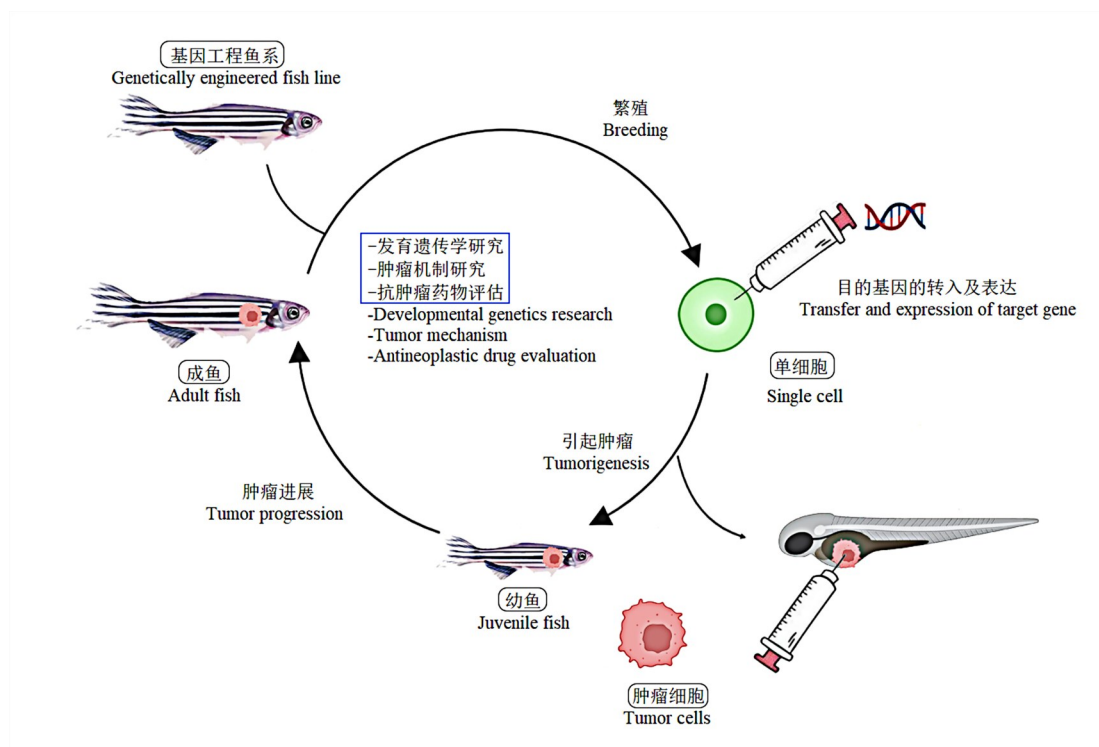
斑马鱼模型在研究NB发病机制及体内药物筛选中的作用日益显著, 研究者已成功将不同遗传背景的人源肿瘤细胞移植到胚胎期或成熟期斑马鱼体内^[61]。其中已有不同注射部位的研究, 包括卵黄周间隙、心包间隙、卵黄和脑部等^[58, 61-62]。近期还有研究者将NB细胞异种移植到斑马鱼胚胎迁移神经嵴干细胞中, 并结合共聚焦延时成像和细胞跟踪技术, 为研究肿瘤微环境和肿瘤细胞与宿主的相互作用提供了新手段^[63]。

迄今为止, 现有的斑马鱼模型均是基于MYCN基因高表达。因此, 迫切需要发展非依赖MYCN的斑马鱼模型, 以用于非MYCN扩增患者的治疗。

2 NB动物模型的应用

2.1 肿瘤生物学特性及机制研究

肿瘤转移的过程、机制和预防是研究的重点, 而这都需要合适的动物模型来进行。Ibarra等^[64]将NB细胞异种移植到斑马鱼胚胎建立斑马鱼模型, 通过共聚焦延时成像和细胞跟踪等手段监测人类NB细胞在胚胎微环境中的体内动向。Delloye-Bourgeois等^[65]使用鸡胚绒毛尿囊膜模型证明了信号素3C (semaphorin 3C, SEMA3C) 在NB细胞凝聚中的作用, 表明SEMA3C水



注：斑马鱼肿瘤模型主要用于发育遗传学研究、肿瘤机制研究和抗肿瘤药物评估。

Note: Zebrafish tumor model can be mainly used for the developmental genetics research, studies on tumor mechanisms, and antineoplastic drug evaluation.

图1 斑马鱼模型进行NB研究的流程示意图

Figure 1 Process diagram of zebrafish model for NB research

平降低阻碍了细胞的集体迁移，导致细胞扩散和转移扩散的增加。在斑马鱼NB模型中，LIM结构域的转录辅助因子LMO1被证明与MYCN有协同作用，可促进NB的发生、发展和广泛转移^[66]。Dong等^[67]利用斑马鱼和小鼠模型探究生长休止基因GAS7缺失对MYCN扩增的NB细胞扩散转移的影响，结果显示在斑马鱼模型中，GAS7基因缺失对肿瘤的形成无显著影响，而GAS7缺失在哺乳动物模型中有抑制NB转移的作用。

在肿瘤机制研究方面，本课题组前期研究发现在小鼠NB异种移植瘤模型中，甲状腺转录因子1 (thyroid transcription factor-1, TTF1) -TrkA-miR-204/TrkB轴对NB生长及其神经源性分化发挥重要作用^[68]。通过注射SK-N-SH细胞于小鼠肾上腺和尾静脉，成功建立NB原位瘤模型与转移模型，进一步研究发现脂肪酸结合蛋白4 (fatty acid-binding protein 4, FABP4)可能介导巨噬细胞通过泛素化ATPB使NF- κ B-IL1 α 通路失活，从而促进NB细胞的增殖和迁移^[69]。

2.2 肿瘤药物评估及耐药机制研究

皮下注射NB细胞SK-N-BE2于NOD-SCID小鼠的

腹部，建立皮下移植瘤模型后进行药物评估，可以探究三联疗法产生的协同作用，结果发现乙酰唑胺与苯地胺和顺铂联合使用可增加化疗药物的细胞毒性，增强治疗效果^[70]。柳氮磺胺吡啶 (sulfasalazine, SSZ) 是FDA批准适用于治疗类风湿关节炎及溃疡性结肠炎的药物，被证明对海蝶呤还原酶 (sepiapterin reductase, SPR) 有抑制作用^[71]。而SPR是一种还原型辅酶II (NADPH) 依赖酶，可产生NB增殖过程所需的代谢辅助因子^[72]。Mooney等^[73]建立小鼠异种移植瘤模型后研究SSZ对NB的抑制效果，结果显示SSZ单独或与羧甲基纤维素 (sodium carboxymethyl cellulose, CMC) 联合给药在体内可以显示抗肿瘤作用，可用于治疗NB等对其敏感的实体肿瘤疾病。

另有研究通过建立NB小鼠PDX模型，开发并使用一种类似COJEC的治疗方案 (顺铂、卡铂、环磷酰胺、依托泊苷和长春新碱5种化疗药物交替给药)，详细分析NB治疗期间和复发时转录组学和基因组学变化，以期揭示NB的耐药机制，结果显示原发性耐药与高遗传多样性和胚胎表型有关^[74]。Zhang等^[75]通过建立小

鼠皮下移植瘤模型, 探究生长激素受体 (growth hormone receptor, GHR) 对耐依托泊苷的NB细胞系与肿瘤形成之间的影响, 结果表明GHR下调可引起依托泊苷的抗肿瘤作用增强, 同时发现依托泊苷耐药是由MEK/ERK信号通路失活引起, 推测GHR表达上调可能是依托泊苷耐药机制之一。

2.3 寻找新的治疗靶点和治疗方法

研究发现, 核糖核苷酸还原酶亚基M2 (ribonucleotide reductase regulatory subunit M2, RRM2) 可能是影响NB发生发展的候选因子之一^[76]。在MYCN驱动的斑马鱼NB模型中, RRM2过表达可加速NB形成, 增加肿瘤外显率, 激活共济失调毛细血管扩张Rad3相关蛋白 (ataxia telangiectasia and Rad3-related protein, ATR) - 细胞周期检测点激酶 (checkpoint kinase 1, CHK1) 信号通路。同时, RRM2和CHK1的抑制剂在高危NB细胞系和患者来源的异种移植模型中均显示出良好的协同作用, 该发现对研发NB新药和指导联合用药具有重要意义。

最近有研究者采用Th-MYCN转基因小鼠肿瘤样本, 通过单细胞RNA测序、流式细胞技术和聚类分析等手段, 探究了NB微环境的免疫成分, 为未来的NB靶向治疗提供了新的方向^[77]。此外Li等^[78]在NSG小鼠皮下及原位接种荧光标记的NBEB (NBEB-Luc) 细胞建立移植瘤模型, 以评估心肌特异性肌钙蛋白T抗体3 (cardiac troponin T 3, CT3) 来源的嵌合抗原受体T细胞 (chimeric antigen receptor T-cell, CAR-T) 的抗肿瘤活性, 结果显示所有接受CT3 CAR-T细胞治疗的个体中, 肿瘤可消退至极小, 甚至完全消退。这一结果表明CT3 CAR-T细胞治疗可诱导NB持续消退, 提示可利用RNA-SEQ数据来识别与肿瘤相关的基因外显子, 从而为靶向治疗实体肿瘤提供有效策略。Theruvath等^[79]在MYCN扩增的NB异体移植小鼠模型中探索双唾液酸神经节苷脂 (disialoganglioside, GD2) 与整合素相关蛋白CD47抗体药的协同能力, 发现联用后可促进肿瘤消退, 提高小鼠生存率。最近有报告^[80]利用鸡胚绒毛尿囊膜模型研究了CDK抑制剂对NB细胞分化、增殖等过程的影响, 结果表明CDK1抑制剂促使SK-N-AS和SK-N-BE2细胞增殖及缺氧预处理驱动的肿瘤迁移减少了60%, 即CDK1可用于NB的靶点治疗。

3 总结与展望

大多数关于胚胎发育的研究都基于以下假设: 在

动物模型中, 尤其是啮齿类动物中, 可重现人类恶性肿瘤疾病。小鼠模型上的大量研究提高了人们对NB生物学和遗传学特性的认知, 然而NB在小鼠身上无法自发形成, 这在一定程度上限制了NB发生机制的研究。动物模型在NB发生、发展、分子机制和治疗研究中起着至关重要的作用。不同动物模型有各自的特点, 可以模拟人类NB发展的不同特征。斑马鱼的基因组和疾病信号通路与人类具有高度同源性, 器官发生、疾病生理与人类相似度较高, 因此其成为了动物化学遗传学研究和药物发现的主要模式生物, 可用于研究胚胎和成年阶段的人类疾病和药物治疗方法。然而, 斑马鱼与哺乳类动物的免疫系统相比, 仍然存在一定差异。斑马鱼有哺乳动物免疫系统的重要部分, 如巨噬细胞、B淋巴细胞和T淋巴细胞等, 但是斑马鱼的先天免疫系统和适应性免疫系统高度保守, 而人类免疫系统更为复杂, 两者免疫反应也有所差异^[81]。皮下移植的NB小鼠模型成瘤重复性好, 测量方便, 可用于评估肿瘤生长及药物疗效, 但极少发生肿瘤转移, 而且测试药物反应时与人源肿瘤部位可能不一致。原位移植的NB小鼠模型可反映NB原位发生及转移的特征, 尤其是类器官原位移植小鼠模型, 多用于评估抗肿瘤及转移药物。基因工程小鼠可用于探究NB相关基因在疾病发生发展中的机制作用, 用于研究新疗法 (如新型免疫疗法) 并评估预防癌症策略, 但靶向胚胎的NB基因激活或失活可以启动肿瘤的发生, 这与人类NB的发展仍有区别。鸡胚绒毛尿囊膜模型的独特优势在于血管网络丰富、成本低、免疫系统发育缓慢, 不引起免疫排斥反应, 便于异种组织 (如人类肿瘤) 的移植等, 但该模型无法模拟肿瘤与机体之间的免疫反应, 也无法评测肿瘤与免疫细胞之间的相互作用。

不同特征的动物模型可用于不同目的的实验研究, 选择合适的动物模型尤为重要。同时, 不同动物模型都具有其优势和不足。人源化小鼠模型的建立为疾病的病因学、发展过程和治疗研究提供了极大的帮助, 尤其是近年来分子生物学技术进步及在人源化小鼠模型中的应用, 为各种疾病相关基因研究奠定了基础, 为进一步研究疾病发生机制及靶向治疗提供了依据。随着免疫治疗的发展, 虽然目前尚未有一种能将人类NB与完整免疫系统结合起来的小鼠, 但可以确信未来在构建人源化免疫小鼠模型方面会有所突破。综上所述, NB动物模型为研究NB提供了一定的理论基础和科学依据。

[作者贡献 Author Contribution]

谭志刚提出文章思路, 撰写、修订文章;
 刘锦信对文章思路有重要建议, 对文章框架及内容作批评性
 审阅;
 郑楚雅对文章的知识性内容作批评性审阅, 并给予指导性
 支持;
 廖文峰提供图文素材, 补充内容;
 冯露平、彭红丽负责部分英文材料翻译;
 严秀协助修改论文;
 卓振建选题, 制定论文框架, 审阅及修订。

[利益声明 Declaration of Interest]

所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献 References]

- [1] ZAFAR A, WANG W, LIU G, et al. Molecular targeting therapies for neuroblastoma: progress and challenges[J]. *Med Res Rev*, 2021, 41(2):961-1021. DOI: 10.1002/med.21750.
- [2] CHUNG C, BOTERBERG T, LUCAS J, et al. Neuroblastoma[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2021, 68: e28473. DOI: 10.1002/pbc.28473.
- [3] SUN X F, ZHEN Z J, GUO Y, et al. Oral metronomic maintenance therapy can improve survival in high-risk neuroblastoma patients not treated with ASCT or anti-GD2 antibodies[J]. *Cancers*, 2021, 13(14): 3494. DOI: 10.3390/cancers13143494.
- [4] HELSON L, DAS S K, HAJDU S I. Human neuroblastoma in nude mice[J]. *Cancer Res*, 1975, 35(9): 2594-2599.
- [5] BOGDEN A E, COBB W R, LEPAGE D J, et al. Chemotherapy responsiveness of human tumors as first transplant generation xenografts in the normal mouse: six-day subrenal capsule assay[J]. *Cancer*, 1981, 48(1):10-20. DOI: 10.1002/1097-0142(19810701)48:1<10: AID-CNCR2820480105>3.0.CO;2-I.
- [6] KHANNA C, JABOIN J J, DRAKOS E, et al. Biologically relevant orthotopic neuroblastoma xenograft models: primary adrenal tumor growth and spontaneous distant metastasis[J]. *In Vivo*, 2002, 16(2):77-85.
- [7] ROWE D H, HUANG J Z, LI J, et al. Suppression of primary tumor growth in a mouse model of human neuroblastoma[J]. *J Pediatr Surg*, 2000, 35(6): 977-981. DOI: 10.1053/jpsu.2000.6946.
- [8] FLICKINGER K S, JUDWARE R, LECHNER R, et al. Integrin expression in human neuroblastoma cells with or without N-myc amplification and in ectopic/orthotopic nude mouse tumors[J]. *Exp Cell Res*, 1994, 213(1): 156-163. DOI: 10.1006/excr.1994.1185.
- [9] KANG J, ISHOLA T A, BAREGAMIAN N, et al. Bombesin induces angiogenesis and neuroblastoma growth[J]. *Cancer Lett*, 2007, 253(2):273-281. DOI: 10.1016/j.canlet.2007.02.007.
- [10] 刘波, 苗佳宁, 张斯萌, 等. 神经母细胞瘤肾上腺原位移植瘤动物模型的建立[J]. *中国比较医学杂志*, 2021, 31(12):1-6. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7856.2021.12.001.
 LIU B, MIAO J N, ZHANG S M, et al. Establishment of an orthotopic xenografted animal model of neuroblastoma[J]. *Chin J Comp Med*, 2021, 31(12):1-6. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7856.2021.12.001.
- [11] SENEVIRATNE J A, CARTER D R, MITTRA R, et al. Inhibition of mitochondrial translocase SLC25A5 and histone deacetylation is an effective combination therapy in neuroblastoma[J]. *Int J Cancer*, 2023, 152(7): 1399-1413. DOI: 10.1002/ijc.34349.
- [12] MISSIOS P, DA ROCHA E L, PEARSON D S, et al. LIN28B alters ribosomal dynamics to promote metastasis in MYCN-driven malignancy[J]. *J Clin Invest*, 2021, 131(22):e145142. DOI: 10.1172/JCI145142.
- [13] CANDIDO M F, MEDEIROS M, VERONEZ L C, et al. Drugging hijacked kinase pathways in pediatric oncology: opportunities and current scenario[J]. *Pharmaceutics*, 2023, 15(2):664. DOI: 10.3390/pharmaceutics15020664.
- [14] GU Y Y, ZHONG K, PENG L Z, et al. TRAF4 silencing induces cell apoptosis and improves retinoic acid sensitivity in human neuroblastoma[J]. *Neurochem Res*, 2023, 48(7): 2116-2128. DOI: 10.1007/s11064-023-03882-3.
- [15] CONDURAT A L, AMINZADEH-GOHARI S, MALNAR M, et al. Verteporfin-induced proteotoxicity impairs cell homeostasis and survival in neuroblastoma subtypes independent of YAP/TAZ expression[J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 3760. DOI: 10.1038/s41598-023-29796-2.
- [16] HE Y, LUO M H, LEI S, et al. Luteoloside induces G0/G1 phase arrest of neuroblastoma cells by targeting p38 MAPK[J]. *Molecules*, 2023, 28(4):1748. DOI: 10.3390/molecules28041748.
- [17] GAO Y, VOLEGOVA M, NASHOLM N, et al. Synergistic anti-tumor effect of combining selective CDK7 and BRD4 inhibition in neuroblastoma[J]. *Front Oncol*, 2022, 11: 773186. DOI: 10.3389/fonc.2021.773186.
- [18] MAKVANDI M, SAMANTA M, MARTORANO P, et al. Pre-clinical investigation of astatine-211-parthanatine for high-risk neuroblastoma[J]. *Commun Biol*, 2022, 5(1): 1260. DOI: 10.1038/s42003-022-04209-8.
- [19] ZHU Q Q, FENG C, LIAO W W, et al. Target delivery of MYCN siRNA by folate-nanoliposomes delivery system in a metastatic neuroblastoma model[J]. *Cancer Cell Int*, 2013, 13(1):65. DOI: 10.1186/1475-2867-13-65.
- [20] RYU S, HAYASHI M, AIKAWA H, et al. Heterogeneous distribution of alectinib in neuroblastoma xenografts revealed by matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry imaging: a pilot study[J]. *Br J Pharmacol*, 2018, 175(1):29-37. DOI: 10.1111/bph.14067.
- [21] NOMURA M, SHIMBO T, MIYAMOTO Y, et al. 13-*Cis* retinoic acid can enhance the antitumor activity of non-replicating Sendai virus particle against neuroblastoma[J]. *Cancer Sci*, 2013, 104(2):238-244. DOI: 10.1111/cas.12063.
- [22] SEPPORTA M V, PRAZ V, BALMAS BOURLOUD K, et al. TWIST1 expression is associated with high-risk neuroblastoma and promotes primary and metastatic tumor growth[J]. *Commun Biol*, 2022, 5(1):42. DOI: 10.1038/s42003-021-02958-6.
- [23] LAMPIS S, RAIELI S, MONTEMURRO L, et al. The MYCN inhibitor BGA002 restores the retinoic acid response leading to differentiation or apoptosis by the mTOR block in MYCN-amplified neuroblastoma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, 41(1): 160. DOI: 10.1186/s13046-022-02367-5.
- [24] XIAO H L, LI Y H, ZHANG Y, et al. Long noncoding RNA LINC01296 regulates the cell proliferation, migration and invasion in neuroblastoma[J]. *Metab Brain Dis*, 2022, 37(4): 1247-1258. DOI: 10.1007/s11011-022-00935-4.
- [25] KAMILI A, GIFFORD A J, LI N, et al. Accelerating development of high-risk neuroblastoma patient-derived xenograft models for preclinical testing and personalised

- therapy[J]. *Br J Cancer*, 2020, 122(5): 680-691. DOI: 10.1038/s41416-019-0682-4.
- [26] BYRNE F L, MCCARROLL J A, KAVALLARIS M. Analyses of tumor burden *in vivo* and metastasis *ex vivo* using luciferase-expressing cancer cells in an orthotopic mouse model of neuroblastoma[J]. *Methods Mol Biol*, 2016, 1372: 61-77. DOI: 10.1007/978-1-4939-3148-4_5.
- [27] GRANT C N, WILLS C A, LIU X M, et al. Thoracic neuroblastoma: a novel surgical model for the study of extra-adrenal neuroblastoma[J]. *In Vivo*, 2022, 36(1): 49-56. DOI: 10.21873/in vivo.12675.
- [28] WEISS W A, ALDAPE K, MOHAPATRA G, et al. Targeted expression of MYCN causes neuroblastoma in transgenic mice[J]. *EMBO J*, 1997, 16(11): 2985-2995. DOI: 10.1093/emboj/16.11.2985.
- [29] MARSHALL G M, CARTER D R, CHEUNG B B, et al. The prenatal origins of cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14(4): 277-289. DOI: 10.1038/nrc3679.
- [30] Rasmuson A, Segerström L, Nethander M, et al. Tumor development, growth characteristics and spectrum of genetic aberrations in the TH-MYCN mouse model of neuroblastoma[J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e51297.
- [31] ALTHOFF K, BECKERS A, BELL E, et al. A Cre-conditional MYCN-driven neuroblastoma mouse model as an improved tool for preclinical studies[J]. *Oncogene*, 2015, 34(26): 3357-3368. DOI: 10.1038/ncr.2014.269.
- [32] ROSSWOG C, FASSUNKE J, ERNST A, et al. Genomic ALK alterations in primary and relapsed neuroblastoma[J]. *Br J Cancer*, 2023, 128(8): 1559-1571. DOI: 10.1038/s41416-023-02208-y.
- [33] BRESLER S C, WEISER D A, HUWE P J, et al. ALK mutations confer differential oncogenic activation and sensitivity to ALK inhibition therapy in neuroblastoma[J]. *Cancer Cell*, 2014, 26(5): 682-694. DOI: 10.1016/j.ccell.2014.09.019.
- [34] HEUKAMP L C, THOR T, SCHRAMM A, et al. Targeted expression of mutated ALK induces neuroblastoma in transgenic mice[J]. *Sci Transl Med*, 2012, 4(141): 141ra91. DOI: 10.1126/scitranslmed.3003967.
- [35] BERRY T, LUTHER W, BHATNAGAR N, et al. The ALK(F1174L) mutation potentiates the oncogenic activity of MYCN in neuroblastoma[J]. *Cancer Cell*, 2012, 22(1): 117-130. DOI: 10.1016/j.ccr.2012.06.001.
- [36] UEDA T, NAKATA Y, YAMASAKI N, et al. ALK(R1275Q) perturbs extracellular matrix, enhances cell invasion and leads to the development of neuroblastoma in cooperation with MYCN[J]. *Oncogene*, 2016, 35(34): 4447-4458. DOI: 10.1038/ncr.2015.519.
- [37] LIN Z H, RADAIEVA M, CHERKASOV A, et al. Lin28 regulates cancer cell stemness for tumour progression[J]. *Cancers*, 2022, 14(19): 4640. DOI: 10.3390/cancers14194640.
- [38] MOLENAAR J J, DOMINGO-FERNÁNDEZ R, EBUS M E, et al. LIN28B induces neuroblastoma and enhances MYCN levels via let-7 suppression[J]. *Nat Genet*, 2012, 44(11): 1199-1206. DOI: 10.1038/ng.2436.
- [39] MASSUDI H, LUO J S, HOLIEN J K, et al. Inhibitors of the oncogenic PA2G4-MYCN protein-protein interface[J]. *Cancers*, 2023, 15(6): 1822. DOI: 10.3390/cancers15061822.
- [40] KAMBE K, IGUCHI M, HIGASHI M, et al. Development of minimally invasive cancer immunotherapy using anti-disialoganglioside GD2 antibody-producing mesenchymal stem cells for a neuroblastoma mouse model[J]. *Pediatr Surg Int*, 2022, 39(1): 43. DOI: 10.1007/s00383-022-05310-z.
- [41] TEITZ T, INOUE M, VALENTINE M B, et al. Th-MYCN mice with caspase-8 deficiency develop advanced neuroblastoma with bone marrow metastasis[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(13): 4086-4097. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2681.
- [42] YOGEV O, BARKER K, SIKKA A, et al. p53 loss in MYC-driven neuroblastoma leads to metabolic adaptations supporting radioresistance[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(10): 3025-3035. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-1939.
- [43] EIBL R H, SCHNEEMANN M. Medulloblastoma: from TP53 mutations to molecular classification and liquid biopsy[J]. *Biology*, 2023, 12(2): 267. DOI: 10.3390/biology12020267.
- [44] MITREVSKA K, MERLOS RODRIGO M A, CERNEI N, et al. Chick chorioallantoic membrane (CAM) assay for the evaluation of the antitumor and antimetastatic activity of platinum-based drugs in association with the impact on the amino acid metabolism[J]. *Mater Today Bio*, 2023, 19: 100570. DOI: 10.1016/j.mtbio.2023.100570.
- [45] RIBATTI D, ALESSANDRI G, VACCA A, et al. Human neuroblastoma cells produce extracellular matrix-degrading enzymes, induce endothelial cell proliferation and are angiogenic *in vivo*[J]. *Int J Cancer*, 1998, 77(3): 449-454. DOI: 10.1002/(sici)1097-0215(19980727)77:3<449:aid-ijc22>3.0.co;2-1.
- [46] MANGIERI D, NICO B, COLUCCIA A M L, et al. An alternative *in vivo* system for testing angiogenic potential of human neuroblastoma cells[J]. *Cancer Lett*, 2009, 277(2): 199-204. DOI: 10.1016/j.canlet.2008.12.014.
- [47] HERRMANN A, RICE M, LÉVY R, et al. Cellular memory of hypoxia elicits neuroblastoma metastasis and enables invasion by non-aggressive neighbouring cells[J]. *Oncogenesis*, 2015, 4(2): e138. DOI: 10.1038/ncncs.2014.52.
- [48] SWADI R, MATHER G, PIZER B L, et al. Optimising the chick chorioallantoic membrane xenograft model of neuroblastoma for drug delivery[J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 28. DOI: 10.1186/s12885-017-3978-x.
- [49] LI S, YEO K S, LEEVE T M, et al. Zebrafish as a neuroblastoma model: progress made, promise for the future[J]. *Cells*, 2021, 10(3): 580. DOI: 10.3390/cells10030580.
- [50] STANTON M F. Diethylnitrosamine-induced hepatic degeneration and neoplasia in the aquarium fish, brachydanio rerio[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1965, 34: 117-130. DOI: 10.1093/jnci/34.1.117.
- [51] LANGENAU D M, TRAVER D, FERRANDO A A, et al. Myc-induced T cell leukemia in transgenic zebrafish[J]. *Science*, 2003, 299(5608): 887-890. DOI: 10.1126/science.1080280.
- [52] ETCHIN J, KANKI J P, LOOK A T. Zebrafish as a model for the study of human cancer[J]. *Methods Cell Biol*, 2011, 105: 309-337. DOI: 10.1016/B978-0-12-381320-6.00013-8.
- [53] FEITSMA H, CUPPEN E. Zebrafish as a cancer model[J]. *Mol Cancer Res*, 2008, 6(5): 685-694. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-07-2167.
- [54] BENJAMIN D C, HYNES R O. Intravital imaging of metastasis in adult Zebrafish[J]. *BMC Cancer*, 2017, 17(1): 660. DOI: 10.1186/s12885-017-3647-0.
- [55] TAO T, SONDALE S B, SHI H, et al. The pre-rRNA processing factor DEF is rate limiting for the pathogenesis of MYCN-driven neuroblastoma[J]. *Oncogene*, 2017, 36(27): 3852-3867. DOI: 10.1038/ncr.2016.527.
- [56] ZHU S Z, LEE J S, GUO F, et al. Activated ALK collaborates

- with MYCN in neuroblastoma pathogenesis[J]. *Cancer Cell*, 2012, 21(3):362-373. DOI: 10.1016/j.ccr.2012.02.010.
- [57] ZHANG X L, DONG Z W, ZHANG C, et al. Critical role for GAB2 in neuroblastoma pathogenesis through the promotion of SHP₂/MYCN cooperation[J]. *Cell Rep*, 2017, 18(12):2932-2942. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.02.065.
- [58] COSTA B, ESTRADA M F, MENDES R V, et al. Zebrafish avatars towards personalized medicine-a comparative review between avatar models[J]. *Cells*, 2020, 9(2):293. DOI: 10.3390/cells9020293.
- [59] FIOR R, PÓVOA V, MENDES R V, et al. Single-cell functional and chemosensitive profiling of combinatorial colorectal therapy in zebrafish xenografts[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(39):E8234-E8243. DOI: 10.1073/pnas.1618389114.
- [60] ALMSTEDT E, ELGENDY R, HEKMATI N, et al. Integrative discovery of treatments for high-risk neuroblastoma[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1):71. DOI: 10.1038/s41467-019-13817-8.
- [61] VEINOTTE C J, DELLAIRE G, BERMAN J N. Hooking the big one: the potential of zebrafish xenotransplantation to reform cancer drug screening in the genomic era[J]. *Dis Model Mech*, 2014, 7(7):745-754. DOI: 10.1242/dmm.015784.
- [62] HANEY M G, MOORE L H, BLACKBURN J S. Drug screening of primary patient derived tumor xenografts in zebrafish[J]. *J Vis Exp*, 2020(158):10.3791/60996. DOI: 10.3791/60996.
- [63] CABEZAS-SÁINZ P, PENSADO-LÓPEZ A, SÁINZ B Jr, et al. Modeling cancer using zebrafish xenografts: drawbacks for mimicking the human microenvironment[J]. *Cells*, 2020, 9(9):1978. DOI: 10.3390/cells9091978.
- [64] IBARRA B A, JIANG X H, TREFFY R W, et al. Injection of human neuroblastoma cells into neural crest streams in live zebrafish embryos[J]. *STAR Protoc*, 2022, 3(2):101380. DOI: 10.1016/j.xpro.2022.101380.
- [65] DELLOYE-BOURGEOIS C, BERTIN L, THOINET K, et al. Microenvironment-driven shift of cohesion/detachment balance within tumors induces a switch toward metastasis in neuroblastoma[J]. *Cancer Cell*, 2017, 32(4):427-443. e8. DOI: 10.1016/j.ccell.2017.09.006.
- [66] ZHU S Z, ZHANG X L, WEICHERT-LEAHEY N, et al. LMO1 synergizes with MYCN to promote neuroblastoma initiation and metastasis[J]. *Cancer Cell*, 2017, 32(3):310-323. e5. DOI: 10.1016/j.ccell.2017.08.002.
- [67] DONG Z W, YEO K S, LOPEZ G, et al. GAS7 deficiency promotes metastasis in MYCN-Driven neuroblastoma[J]. *Cancer Res*, 2021, 81(11):2995-3007. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-20-1890.
- [68] YANG T Y, LI J H, ZHUO Z J, et al. TTF₁ suppresses neuroblastoma growth and induces neuroblastoma differentiation by targeting TrkA and the miR-204/TrkB axis [J]. *iScience*, 2022, 25(7):104655. DOI: 10.1016/j.isci. 2022.104655.
- [69] MIAO L, ZHUO Z J, TANG J, et al. FABP4 deactivates NF- κ B-IL1 α pathway by ubiquitinating ATPB in tumor-associated macrophages and promotes neuroblastoma progression[J]. *Clin Transl Med*, 2021, 11(4):e395. DOI: 10.1002/ctm2.395.
- [70] GARBATI P, BARBIERI R, CALDERONI M, et al. Efficacy of a three drug-based therapy for neuroblastoma in mice[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(13):6753. DOI: 10.3390/ijms22136753.
- [71] HARUKI H, PEDERSEN M G, GORSKA K I, et al. Tetrahydrobiopterin biosynthesis as an off-target of sulfa drugs[J]. *Science*, 2013, 340(6135):987-991. DOI: 10.1126/science.1232972.
- [72] SHANG T S, KOTAMRAJU S, ZHAO H T, et al. Sepiapterin attenuates 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced apoptosis in neuroblastoma cells transfected with neuronal NOS: role of tetrahydrobiopterin, nitric oxide, and proteasome activation[J]. *Free Radic Biol Med*, 2005, 39(8):1059-1074. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2005.05.022.
- [73] MOONEY M R, GEERTS D, KORT E J, et al. Anti-tumor effect of sulfasalazine in neuroblastoma[J]. *Biochem Pharmacol*, 2019, 162:237-249. DOI: 10.1016/j.bcp.2019.01.007.
- [74] MAÑAS A, AALTONEN K, ANDERSSON N, et al. Clinically relevant treatment of PDX models reveals patterns of neuroblastoma chemoresistance[J]. *Sci Adv*, 2022, 8(43):eabq4617. DOI: 10.1126/sciadv.abq4617.
- [75] ZHANG H M, XIA H F, CHEN H, et al. The inhibition of GHR enhanced cytotoxic effects of etoposide on neuroblastoma [J]. *Cell Signal*, 2021, 86:110081. DOI: 10.1016/j.celsig. 2021.110081.
- [76] NUNES C, DEPESTEL L, MUS L, et al. RRM2 enhances MYCN-driven neuroblastoma formation and acts as a synergistic target with CHK₁ inhibition[J]. *Sci Adv*, 2022, 8(28):eabn1382. DOI: 10.1126/sciadv.abn1382.
- [77] COSTA A, THIRANT C, KRAMDI A, et al. Single-cell transcriptomics reveals shared immunosuppressive landscapes of mouse and human neuroblastoma[J]. *J Immunother Cancer*, 2022, 10(8):e004807. DOI: 10.1136/jitc-2022-004807.
- [78] LI N, TORRES M B, SPETZ M R, et al. CAR T cells targeting tumor-associated exons of glypican 2 regress neuroblastoma in mice[J]. *Cell Rep Med*, 2021, 2(6):100297. DOI: 10.1016/j.xcrm.2021.100297.
- [79] THERUVATH J, MENARD M, SMITH B A H, et al. Anti-GD2 synergizes with CD47 blockade to mediate tumor eradication [J]. *Nat Med*, 2022, 28(2):333-344. DOI: 10.1038/s41591-021-01625-x.
- [80] SWADI R R, SAMPAT K, HERRMANN A, et al. CDK inhibitors reduce cell proliferation and reverse hypoxia-induced metastasis of neuroblastoma tumours in a chick embryo model[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):9136. DOI: 10.1038/s41598-019-45571-8.
- [81] LEIBA J, ÖZBILGIÇ R, HERNÁNDEZ L, et al. Molecular actors of inflammation and their signaling pathways: mechanistic insights from zebrafish[J]. *Biology*, 2023, 12(2):153. DOI: 10.3390/biology12020153.
- (收稿日期:2022-12-29 修回日期:2023-04-11)
(本文编辑:张俊彦,富群华,姜怡欣,丁宇菁)

引用本文

谭志刚, 刘锦信, 郑楚雅, 等. 神经母细胞瘤动物模型研究进展与应用 [J]. 实验动物与比较医学, 2023, 43(3): 288-296. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2022.194.

TAN Z G, LIU J X, ZHENG C Y, et al. Advances and applications in animal models of neuroblastoma[J]. *Lab Anim Comp Med*, 2023, 43(3): 288-296. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2022.194.