

[DOI] 10.12016/j.issn.2096-1456.202440135

· 专家论坛 ·

头颈部恶性肿瘤研究模型的演化

王安训, 周万航, 曹琮沅

中山大学附属第一医院口腔颌面外科, 广东 广州(510055)

【摘要】 恶性肿瘤发生发展的机制探索以及抗癌药物治疗疗效的评估均有赖于各种体内与体外研究模型的建立。近几十年间,随着生物医学技术的快速发展,恶性肿瘤的体内外研究模型也发生了巨大的变化。基因检测技术从单基因到多基因的进展促进了生物信息学飞速发展和恶性肿瘤概念的转变;体外细胞研究模型从单层的二维培养、原代培养向立体的三维构型发展,从而更好地重现肿瘤组织的细胞间交互作用与功能;体内动物研究模型由传统的致癌物诱导、细胞或组织形成移植瘤逐渐演变为基因编辑的动物模型或人源性肿瘤异种移植模型,从而可以针对性地研究相关基因在肿瘤发生发展中的作用;传统的临床研究也从简单的临床回顾性研究更多地向前瞻性研究转变, I 期/II 期/III 期临床研究,研究者发起的临床研究以及真实世界临床研究,这些研究为临床研究增添了活力。目前恶性肿瘤研究模型存在的主要不足包括模型的单一性、对肿瘤微环境的模拟不足、动物肿瘤模型与人类肿瘤差异性,以及缺乏对个性化医疗的考量。未来仍需要进一步研发和优化研究模型,并更有效地将不同模型整合起来,形成一个优化的整体实验模型系统。本文将系统回顾恶性肿瘤研究模型的演化并对相关模型进行阐述,为科研工作者进行恶性肿瘤的研究提供合理的研究模型。

【关键词】 恶性肿瘤; 研究模型; 3D 培养技术; 肿瘤类器官培养; 动物模型; 人源肿瘤细胞系异种移植瘤; 人源性肿瘤异种移植模型; 基因检测; 生物信息学; 数字肿瘤学; 智能肿瘤学

【中图分类号】 R78 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2024)09-0653-11

【引用著录格式】 王安训,周万航,曹琮沅.头颈部恶性肿瘤研究模型的演化[J].口腔疾病防治,2024,32(9):653-663. doi: 10.12016/j.issn.2096-1456.202440135.

Evolution of research models for malignant head and neck tumors WANG Anxun, ZHOU Wanhang, CAO Congyuan. Department of Oral and Maxillofacial Surgery, the First Affiliated Hospital, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510080, China.

Corresponding author: WANG Anxun, Email: wang_anxun@aliyun.com, Tel: 86-20-87755766

【Abstract】 Exploration of the underlying mechanisms of tumor occurrence and development, as well as evaluation of the efficacy of anticancer drug treatments, relies on various research models both *in vivo* and *in vitro*. Over the past few decades, with the rapid advancement of biomedical technology, significant achievements have been made in this field. Gene detection technology has progressed from a single-gene perspective to multi-gene approaches, resulting in rapid development of bioinformatics and transformation of the conceptual understanding of malignant tumors. Moreover, *in vitro* cell research models have evolved from monolayer two-dimensional and primary cultures to three-dimensional configurations, which better imitate the cellular interactions and functions within tumor tissues. Furthermore, *in vivo* animal research models have transitioned from traditional carcinogen induction and cell or tissue xenografts to genetically engineered animal models or xenograft models, enabling targeted investigation into the roles of relevant genes in the occurrence and development of tumors. Clinical research has shifted from simple retrospective to prospective studies, including phase I/II/III clinical trials, investigator-initiated clinical trials, and real-world clinical trials. The major shortcomings of current malignant tumor research models include their singularity, insufficient simulation of the tumor microenvi-

【收稿日期】 2024-04-08; **【修回日期】** 2024-05-16

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目(82372868, 82173041)

【通信作者】 王安训, 主任医师, 博士, Email: wang_anxun@aliyun.com, Tel: 86-20-87755766



微信公众号

ronment, disparities between animal models and human tumors, and the lack of consideration for personalized medicine. Further research and optimization of the models are still needed in the future, along with more effective integration of different models to form an optimized comprehensive experimental model system. This review systematically examines and comprehensively overviews the evolution of malignant tumor research models with the aim of providing more references to researchers engaged in oncology research.

【Key words】 malignancy; research model; 3D cultivation technology; tumor organoid culture; animal model; cell line derived xenograft; patient-derived xenograft; genetic testing; bioinformatics; digital oncology; intelligent oncology

J Prev Treat Stomatol Dis, 2024, 32(9): 653-663.

【Competing interests】 The authors declare no competing interests.

This study was supported by the grants from National Natural Science Foundation of China (No. 82372868 and No. 82173041).

近年来,随着对恶性肿瘤的深入研究,恶性肿瘤的概念已从单基因疾病、到多基因疾病,再到基因组疾病的转变,反映了对癌症理解的不断深化和认识的逐步拓展。在20世纪早期,人们发现某些具有相似遗传背景的家庭成员患有相同类型的癌症,例如BRCA1/2基因突变常伴有乳腺癌的发生^[1]。因此,科学家最初将癌症归因于单个基因遗传突变引起的疾病,这使得人们相信通过识别和治疗单个突变基因就可以有效地治愈癌症。然而,随着分子生物学和遗传学研究的进展,人们逐渐认识到癌症是一种多基因疾病。癌症发生不仅仅是由于单个基因突变,而是由多个基因异常和复杂的基因-环境相互作用引起的。口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)的发生可能与吸烟、饮酒、咀嚼槟榔以及多个基因的相互作用有关^[2-3]。最近的研究进一步表明,除了基因突变外,癌症细胞的变异还包括染色体重排和拷贝数变异等基因组异常,这种全基因组的异常不仅会影响单个细胞的生长和分化,还可能涉及整个细胞群体的行为^[4]。因此,现在的观点认为癌症是一种基因组疾病。这种演变不仅改变了人们对癌症发生机制的理解,对肿瘤研究模型也提出了更高的要求。

头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)是世界范围内发病率最高的恶性肿瘤之一,每年病死人数超过50万^[5]。其中,最常见的发病形式是OSCC^[6]。近年来,OSCC的早期诊断与多学科治疗取得了长足的进步,新靶向药物和免疫治疗药物的引入也在一定程度上改善了临床结局^[7],但OSCC患者的5年总体生存率仍不够理想,病死率仍居高不下^[8]。因此,寻找

合适的研究模型以进一步探索OSCC发生与发展相关的分子机制,对于OSCC的治疗与预后改善尤为重要。

1 以临床样本为基础的基因检测及肿瘤的生物信息学分析

以患者切除的肿瘤组织样本进行的研究是观察和研究恶性肿瘤发生发展最直接的方式^[9]。传统观点认为基因突变会驱动癌症的发展,如原癌基因的过度激活会破坏细胞的正常活动,导致不受控的细胞分裂并最终形成癌细胞;而抑癌基因的表达不足也会导致细胞分裂失控^[10]。因此,通过分析肿瘤组织的基因表达水平,研究其与正常组织之间的差异,可以确定治疗癌症的潜在靶点。常用的病理样本分析方法包括实时荧光定量聚合酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)、蛋白质印迹(western blot, WB)、免疫组化(immunohistochemistry, IHC)染色和免疫荧光(immunofluorescence, IF)染色等,它们分别从脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)、核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)与蛋白质水平对肿瘤组织内基因的突变、扩增、缺失、重组、过表达、低表达、甲基化、乙酰化等进行分析,为癌症诊断和预后分析提供可靠的信息^[11]。以上生物学技术的优势在于操作简单,只需少量的花费即可对肿瘤的基因表达信息进行分析,但其不足之处在于一次只能检测单个或几个样本的少数基因,难以应用于大量样本的研究或生物标志物的筛选。单基因或少数基因的临床样本检测在恶性肿瘤中的研究价值不断下降^[12],目前该研究手段仅用于背景研究或验证性研究^[13-15]。

恶性肿瘤侵袭性生长的特点导致其在发生发展过程中肿瘤细胞以及代谢物可以进入血液或体液,因此肿瘤患者的血液和体液,包括唾液、尿液、分泌物等,也可作为临床样本进行恶性肿瘤的相关研究,这种检测手段统称液体活检^[16],目前常见的液体活检包括循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)、循环肿瘤DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)、小RNA(microRNA, miRNA)、外泌体等^[17],本课题组采用qRT-PCR检测口腔癌患者血清miRNAs标志物,结果表明循环miR-31-5p可作为口腔癌诊断的独立生物标志物^[18]。液体活检为肿瘤的无创诊断、精准治疗和实时疗效监控等方面提供了更为便捷的途径。

目前单基因检测技术已无法满足恶性肿瘤研究的需求,随着分子生物学技术的发展,基因组检测技术应运而生,测序作为一种快速且高通量的基因分析方法开始应用于肿瘤学研究。测序被定义为一次性确定生物体基因组的全部或几乎全部核酸序列的过程,需要对生物体的所有染色体以及线粒体中所含的核酸进行测序^[19]。目前基因组的测序技术包括:DNA芯片、表达谱芯片(各种类型的RNA)、蛋白组学和特殊芯片(代谢组学、脂类组学、免疫组学和糖组学、甲基化组学等)^[20];单细胞测序和空间组学在恶性肿瘤中的应用也越来越广泛^[21-22];单细胞测序可以获得每个细胞的异质性,分析细胞亚群差异、细胞通讯和细胞轨迹等重要信息;空间转录组测序可以获得细胞在组织中定位和微环境。目前基因组检测技术已广泛应用于口腔癌的研究,本课题组采用表达谱芯片技术研究口腔癌发病机理,结果发现口腔癌的发生发展与多个miRNA的表达异常密切相关,并在体内外研究中获得证实^[23],这些研究为揭示口腔癌的发病机理提供了大量的证据,为口腔癌的精准诊断和治疗成为可能。

随着芯片组学技术和人工智能的发展,许多大型研究机构建立了各种类型的肿瘤数据库,目前代表性数据库主要为癌症基因组图谱(the cancer genome atlas, TCGA),该项目对来自33种癌症的超过10 000个样本进行了分子特征分析,包括DNA序列、拷贝数、甲基化、信使RNA(messenger RNA, mRNA)、miRNA和蛋白质表达,构建这些肿瘤的综合全景图,以对癌症生物学、发病分子机理和治疗获得更好地了解。TCGA是一项具有里程碑意义的癌症基因组学计划,极大地提高了人们

对癌症生物学和发病分子机理的了解^[24]。TCGA中包含近300例OSCC患者,分析发现HNSCC恶变机制主要与细胞周期控制、细胞生长和存活、WNT- β -连环蛋白信号传导和表观遗传学中的肿瘤抑制基因相关。此外,不同亚型的HNSCC具有不同的分子特征。例如,人类乳头状瘤病毒(human papillomavirus, HPV)相关的HNSCC主要表现出PIK3CA癌基因螺旋结构域的突变、TRAF3的缺失以及细胞周期基因E2F1的扩增。相比之下,与吸烟相关的HNSCC通常具有TP53功能丧失突变和CDKN2A失活的特征,以及频繁的拷贝数改变^[25]。另一个著名的数据库为来自国际癌症基因组联盟(International Cancer Genome Consortium, ICGC)计划,该数据库联合各国科学家对癌症基因组开展研究,绘制较为完整的人类癌症基因图谱,包括50种不同类型的癌症,每种癌症500个标本,总共2 5000例癌症患者的基因图谱。其他的数据库主要来自各国及其研究机构自主研发的数据库平台,目前大多数数据库均为开放性,因此研究者应善于利用数据库,以提高肿瘤研究的效率和被国际接受的程度,达到“借鸡生蛋”的目的^[26]。数据库的建立也促使了临床的回顾性研究从荟萃分析转变为生物信息学分析^[27]。

人工智能的发展促使不同组学技术及其数据库整合成为可能,数字肿瘤学也应运而生,数据化肿瘤通过不同的数据库整合肿瘤的相关研究数据,这种碎片化研究成果的整合可更加系统地阐明肿瘤的发病机理^[20]。精准医学也是得益于基因组测序技术的快速进步,以及生物信息与大数据科学的交叉应用,是一种以个体化医疗为基础的新型医学概念与医疗模式^[28]。

2 细胞及细胞衍生模型

细胞及细胞衍生模型是恶性肿瘤体外研究中最重要的一部分,包括原代细胞、细胞株、细胞系,以及以类器官为代表的3D细胞培养技术等。主要应用于恶性肿瘤发病机理的研究,采用的技术手段包括:qRT-PCR, WB, IHC染色, DNA/表达谱芯片/蛋白组学/特殊芯片;同时体外研究肿瘤细胞的增殖、侵袭迁移、球囊形成、克隆形成、细胞周期、凋亡/自噬等功能;以及进行亚细胞器官功能研究,包括线粒体、内质网、微管、溶酶体、外泌体等的功能研究。

原代细胞被定义为从活体组织中直接获取,并立即在体外培养的细胞,通常把第1~10代以内

的培养细胞统称为原代细胞培养;由于传代次数少,原代细胞可以很好地反映其来源组织的肿瘤细胞异质性,是恶性肿瘤具代表性的研究模型^[29]。早在40年前,科学家们便采用原代细胞模型体外研究HNSCC^[30]。本课题组也应用原代培养技术研究顺铂耐药性与OSCC迁移/侵袭潜力^[31]。然而原代细胞模型也存在明显的缺点,如:在体外的存活时间有限,对环境变化和压力选择较敏感,更易受到包括细菌和真菌在内的微生物污染^[32]。

细胞株是指原代细胞培养物经传代成功后所繁殖的细胞群体;也指可长期连续传代的培养细胞,进一步可分为有限细胞系和无限细胞系^[33]。细胞株研究模型的优点在于容易培养、可快速大量扩增、可进行基因修饰和高通量药物筛选^[34],是恶性肿瘤最重要的临床前研究模型之一^[35],几乎每个抗肿瘤疗法的临床前研究均基于细胞系研究。细胞株研究模型的缺点包括:缺乏肿瘤细胞异质性、缺少细胞与细胞外基质相互作用、容易污染和发生变异。世界上第一个建立的细胞株为Hela细胞株,1953年建立,源自一位美国妇女海莉耶塔·拉克斯(Henrietta Lacks)的宫颈癌细胞的细胞系;目前已成为医学研究的重要工具。经过半个多世纪的发展,目前已获得大量可稳定生长且传代的OSCC细胞系^[36],如:口腔鳞癌细胞株SCC-1/SCC-4/SCC-9/SCC-15/SCC-25/UM1/UM2等;腺涎癌细胞株SACC-1/SACC-M等。应用细胞株研究模型时应注意以下事项:细胞株污染可导致研究结果的失真,因此大多数期刊要求作者提供细胞株的出生证或短串联重复序列(short tandem repeat, STR)检测结果,同时为了提高研究结果的可重复性,需多个常用细胞株的联合使用;细胞株模型只能用于初步的功能和机理研究,研究结论仍须有其他证据辅助,比如体内研究等。

肿瘤组织组成复杂,不但含有肿瘤细胞,还存在大量间质和间质细胞(肿瘤微环境):因此单纯的二维(two dimension, 2D)培养模型(原代细胞和细胞株)已无法满足肿瘤的研究需求^[37]。3D细胞培养类似于体内环境,常借助各种充填基质(纤维蛋白、聚苯乙烯、人工基底膜等),为细胞提供一个更加接近体内生存条件三维环境的培养方式。目前已开发出多种肿瘤细胞3D培养技术,包括球体、组织工程模型、类器官等,以求更准确地模拟体内的肿瘤结构与行为,包括营养和氧气的获取,以及不同细胞类型之间的相互作用。多细胞球体

是来自单细胞悬浮液或含有来自原代组织的多种细胞类型的组织碎片的细胞聚集体,被认为是继传统的2D单层肿瘤细胞之后最简单的体外肿瘤3D模型^[38],其主要优点是避免了2D培养细胞的不自然扁平形态,更接近于体内立体生长的肿瘤细胞,易于维持原有的分化表型^[39]。此外,随着球体尺寸的增加,外层细胞繁殖迅速,而靠近球体中心的细胞难以获得氧气、营养物质和生长因子,二氧化碳和腐烂产物的量增加^[40],形成缺氧区和坏死。因此,球体不仅表现出了肿瘤组织的氧梯度特征,更模拟了体内生理屏障对肿瘤生物活性物质运输的限制。相较于二维细胞培养物,球体细胞暴露于分布不均匀的理化刺激中,形成了微环境差异,出现了细胞异质性,反映了体内癌组织真实的生长模式,是更加理想的肿瘤研究模型^[41]。例如,Baek等^[42]发现与单层细胞相比,球体细胞的顺铂半数抑制浓度(IC₅₀)明显更高,说明药物敏感性较低,这也更好地匹配了抗癌药物的体内抗肿瘤作用。

多细胞聚集球体作为体外3D模型仍缺乏细胞外基质(extracellular matrix, ECM),无法模拟ECM与肿瘤细胞之间的相互作用^[43]。为了使研究模型更接近于天然的生物学背景,可使用组织工程学方法,在3D支架上进行细胞培养,通过为细胞提供结构支撑、促进其黏附、增殖和分化来模拟ECM。Fischbach等^[44]应用聚丙交酯乙交酯[poly(lactide-co-glycolide), PLG]制成的高度多孔支架内培养OSCC细胞,建立了第一个组织工程学OSCC模型。理论上生物相容的各种天然或合成聚合物材料均可用于构建3D培养模型,如水凝胶^[45]、生物墨水^[46]或多孔基质形式的I型胶原^[47],但目前其应用仍处于早期阶段,仍需进一步深入的研究。

肿瘤类器官培养是近年来在肿瘤研究领域备受关注的技术之一。类器官意味着“类似于器官”,是在体外培养以模拟体内器官的显微3D组织模型,可由患者切除的原代肿瘤组织、成体干细胞或多能干细胞产生^[48],包含多种不同分化水平的器官特异性细胞群,空间结构与原始组织类似,可以模拟肿瘤细胞与ECM的相互作用以及复杂的肿瘤免疫微环境^[49],可以重现对应器官的部分功能^[50],且与天然组织具有高度的遗传和表型相似性,保持了原有的瘤内异质性,从而提供一个高度生理相关系统^[51]。肿瘤类器官培养方法包括浸没式基质胶培养、气液界面培养和类器官芯片等^[52]。浸没式基质胶培养是一种常见的三维细胞培养方法,通过将肿瘤细胞嵌入基质胶中,模拟体

内肿瘤组织的三维结构。这种方法可以更好地保留肿瘤细胞在体内的生长特性,提供更真实的肿瘤微环境。气液界面培养利用生物反应器或生物芯片,在气液界面模拟体内肿瘤的生长环境。这种方法可以更好地模拟肿瘤组织中的氧气和营养物质梯度,促进肿瘤细胞的生长和转移研究。类器官芯片是一种新兴的肿瘤类器官模型,利用微流控技术在芯片上构建微型肿瘤模型。这种方法具有高度可控性和可重复性,可以更精确地研究肿瘤的生长、转移和药物反应^[53]。尽管肿瘤类器官培养方法已取得一定进展,但仍面临一些挑战。首先,目前各种肿瘤类器官培养方法缺乏统一的标准操作流程,导致不同实验室之间的结果难以比较和复制。其次,一些肿瘤类器官模型在长期培养过程中容易失去稳定性,导致结果的不确

定性,限制了其在长期研究和药物筛选中的应用^[54]。Tanaka等^[55]通过IHC染色比较了HNSCC患者样本的类器官和原始肿瘤之间的组织学特征差异,结果显示所有类器官都显示出与其原始肿瘤相似的组织学模式,上皮标记物、间充质标记物和干细胞标志物(CD44和ALDH1A1)的阳性率非常接近;药物敏感性实验和克隆存活实验也证实类器官对于顺铂和多西紫杉醇的IC50与动物实验的IC50值接近,提示类器官可以预测体内药物敏感性。总之,肿瘤类器官培养方法为研究者们提供了重要的工具,帮助他们更好地理解肿瘤的生物特性和治疗机制。然而,仍需克服一系列挑战,进一步提高肿瘤类器官模型的可靠性和可重复性,以推动肿瘤研究的进展。细胞及细胞衍生模型的优缺点总结于表1。

表1 细胞及细胞衍生模型的优缺点

Table 1 Advantages and shortcomings of cells and cell-derived models

	Primary cells	Cell lines	Spheroids	Tissue engineering models	Organoids
Advantage	Partially preserved tumor cell heterogeneity	①Easy to obtain and repeat ②Can be used stably for a long time ③Can be expanded rapidly and in large quantities ④Can be genetically modified ⑤Can be used for high-throughput drug screening	①Closer to the actual growth shape of tumor cells ②The phenotype is easy to maintain	①Simulate the interaction between tumor cells and extracellular matrix ②The size is easy to control	①Simulate the tumor microenvironment ②Simulate the interaction between tumor cells and extracellular matrix ③Simulate nutrient and oxygen gradients ④Composition and structure are similar to the original organization
Shortcoming	①In vitro culture time is limited ②Lack of natural tumor structure and gradient ③Easy to pollute, high technical requirements	①Lack of tumor cell heterogeneity and extracellular matrix ②Easily contaminated and mutated ③Genetic instability	①Difficult to unify sizes ②Central necrosis is prone to occur	Difficult to build	①High cost and long time ②Low construction success rate ③Lack of standardization

3 动物研究模型

尽管体外模型在恶性肿瘤临床研究中被广泛使用,体内动物模型仍是直观了解肿瘤发生和进展的最佳途径。动物研究模型主要用于恶性肿瘤发病机理研究和体内功能研究。研究动物包括鼠类^[56]、犬类^[57]与家猫^[58]等。近年来,斑马鱼也已作为异种移植模型被用于肿瘤建模^[59]。目前常用的动物研究模型包括:自发性/诱发性肿瘤;人源肿瘤细胞系异种移植瘤(cell line derived xenograft, CDX)及其肺转移和淋巴结转移模型;人源性肿瘤异种移植模型(patient-derived xenograft, PDX);转基因/条件敲除动物模型。

自发性肿瘤模型是指实验动物种群中不经有

意识的人工实验处置而自然发生的一类肿瘤称之为自发性肿瘤。该模型的优点在于自然发生,实验中可通过细致观察和统计分析,发现环境或遗传因素在肿瘤发生上的作用。该研究模型的缺点在于肿瘤的发生情况参差不齐,观察时间可能较长,实验耗费较大。目前仍未见有口腔癌自发性肿瘤的研究模型。

诱发性肿瘤模型是指使用致癌因素在实验条件下诱发动物发生肿瘤的动物模型,它是进行实验肿瘤学研究的常用方法。常用的包括:用放射性照射或局部注射放射性同位素诱发肿瘤的物理方法;使用化学致癌物,如苯并芘、甲基胆蒽、联苯胺、亚硝胺类、黄曲霉素等诱发肿瘤的化学方法;

使用SV40等病毒诱发肿瘤的生物方法。诱发性肿瘤模型的优点在于模拟了肿瘤的自然演变,这对于模拟因重复暴露于特定环境(如持续紫外照射)的人类肿瘤具有非常重要的借鉴意义。其缺点包括:模型费时较长、肿瘤连续监测困难、高异质性可能会造成数据的处理难度增加、缺乏明确的基因操作等。OSCC常用的诱发性动物模型包括^[60]:4硝基喹啉1氧化物(4-Nitroquinoline 1-oxide, 4NQO)^[61]诱导小鼠舌癌和二甲基苯并蒽(7, 12-dimethylbenz(a)anthracene, DMBA)^[62]诱发金黄地鼠颊囊癌;课题组应用4NQO诱导舌鳞癌的发生并应用于METTL3致癌机制的研究^[13]。遗憾的是目前仍未有槟榔诱导口腔癌模型的建立。

CDX是指将体外传代培养的肿瘤细胞接种至免疫缺陷小鼠(SCID, BALB/c)的皮下、尾静脉或足垫等部位形成移植瘤,该模型可用于肿瘤生长能力和转移能力的研究。CDX模型的优点在于细胞系容易获得、建模成本低等优势;其缺点包括:①肿瘤细胞逐渐适应体外培养环境而失去原有特性;②缺乏肿瘤生长的相关环境,如:支持性的非肿瘤基质、血液细胞等;③缺乏肿瘤的多样性和异质性。CDX模型是目前恶性肿瘤最重要的临床前体内研究模型。课题组应用该研究模型进行大量的口腔癌发病机理和诊疗相关研究^[7, 13-15, 63],如应用CDX裸鼠皮下移植瘤模型、足垫淋巴结转移模型和尾静脉注射肺转移模型研究METTL3在OSCC发生发展中的作用^[13]。

尽管致癌物诱导的动物模型可以再现人类原发性肿瘤的基因组改变^[64],但未能针对性地研究在受控遗传背景中特定基因突变在恶性肿瘤发病机制中的作用。精确调控癌基因或抑癌基因的转基因小鼠模型(genetically engineered transgenic mouse models, GEM)可以有效解决这一难题。GEM模型利用基因工程技术,如转座子技术,基于同源重组非同源末端连接的胚胎干细胞和CRISPR-Cas9技术等,将外源基因导入或敲除小鼠基因组中,使其在体内表达特定基因的小鼠模型。Georgy等^[65]建立了GRHL3敲除小鼠,并发现与野生型小鼠相比,GRHL3敲除小鼠对化学致癌物敏感性上升,肿瘤发生速度更快。Squarize等^[66]敲除小鼠中的PTEN基因,发现PTEN敲除小鼠口腔癌发生率高,肿瘤血管生成增强,并激活了PI3K/mTOR通路。课题组也应用条件敲除技术分别建立了METTL3、METTL1条件敲除小鼠诱发舌鳞癌模型,以研

究METTL3和METTL1在舌鳞癌发生发展中的作用^[13, 15]。目前GEM模型已越来越广泛应用于体内研究特定基因在恶性肿瘤发生发展中的作用。

PDX是通过将病人新鲜的瘤组织直接移植到免疫缺陷小鼠体内而建立的肿瘤模型^[67],常见接种部位为皮下,静脉,原位。PDX模型具有众多的优点:①没有体外培养过程对肿瘤进行的“筛选”;②能够保持肿瘤原有特性和异质性;③在传代过程中能够保持分子生物学水平的稳定;④保留了肿瘤组织原有的非肿瘤基质和微环境;⑤可以对多种状态下病人来源的肿瘤进行研究;⑥PDX模型和肿瘤病人有更好的对应性。PDX模型的众多优点使其广泛应用于新药开发,尤其是靶点药物的临床试验和预测性生物标志物的研究。Yen等^[68]的研究显示OSCC原发肿瘤建立的PDX模型基本保留了配对原发肿瘤的基因表达谱。课题组也通过构建OSCC的PDX模型进行大量的相关研究^[7, 18, 69],如研究靶向药物(Anlotinib)治疗OSCC及其耐药机制的研究^[7]、生物标志物miR-31-5p及其致癌机制的研究^[18]。然而,需要指出的是,PDX模型的建立是一个繁琐且难度较高的过程,后续的维护与动物培养的成本也非常昂贵,这也是其目前尚未成为主流OSCC研究模型的主要阻碍。此外,PDX模型需要使用免疫缺陷小鼠,以排除自身免疫反应,这与人体内肿瘤的病理免疫环境存在显著差异^[70]。综上所述,目前尚无理想的单一动物模型能够完全满足人类OSCC发病机制研究和治疗反应预测的要求。各种动物研究模型的优缺点总结见表2。

4 临床研究

临床研究是指以疾病的诊断、治疗、预后、病因和预防为主要研究内容,以患者为主要研究对象,以医疗服务机构为主要研究基地,由多学科人员共同参与组织实施的科学研究活动。在人体内进行的临床试验是肿瘤学研究的终极模型,在过去几十年里一直是抗肿瘤疗法开发与评估的重要基石^[71]。临床试验通常分为4个不同的阶段:I期临床试验是初步的临床药理学及人体安全性评价试验,旨在评估新药在人体内的安全性和耐受性,为制定给药方案提供依据;这一阶段通常包括小规模的健康志愿者,他们接受逐步增加的药物剂量,以确定药物的最大耐受剂量和毒性反应^[72]。II期临床试验是治疗作用初步评价阶段,其目的

表2 动物研究模型的优缺点

Table 2 Advantages and shortcomings of animal research models

	Spontaneous tumor model	Induced tumor model	CDX model	PDX model	Transgenic mouse model
Advantage	①Natural occurrence ②The role of environmental factors in tumorigenesis can be observed	Simulates the natural evolution of tumors, which is of great significance for simulating human tumors caused by repeated exposure to specific environments (such as continuous ultraviolet irradiation)	①Cell lines are easy to obtain ②Low modeling cost	①Maintain the original characteristics and heterogeneity of tumors ②Able to maintain the stability of molecular biology levels during the passage process ③Retains the original non-tumor matrix and microenvironment of the tumor tissue ④Can study tumors derived from patients in various conditions ⑤The PDX model has better correspondence with tumor patients	Precisely study the function of specific genes
Shortcoming	①The occurrence of tumors may vary ②The observation time may be longer ③Experiments are expensive	①The model takes a long time ②Continuous monitoring of tumors is difficult ③High heterogeneity may make data processing more difficult.	①Tumor cells gradually adapt to the <i>in vitro</i> culture environment and lose their original characteristics. ②Lack of relevant environment for tumor growth ③Lack of tumor diversity and heterogeneity	①Modeling is difficult and cannot be obtained repeatedly ②Long construction time and unstable success rate ③Relatively convenient sources of clinical tumor samples are needed ④The cost of establishment and maintenance is higher	①Gene knockout often induces multisystem tumors ②The spontaneous tumor formation cycle is also difficult to synchronize due to individual differences in mice. ③Usually only contains one or two gene changes, while human tumors generally have multiple gene mutations.

CDX: cell line derived xenograft; PDX: patient-derived xenograft

是初步评价药物或治疗方法对目标适应症患者的治疗效果和副作用;这一阶段通常包括患有特定疾病的患者,他们接受新药或治疗方法的治疗,并与对照组进行比较,以确定疗效和安全性^[73]。Ⅲ期临床试验,也叫随机对照试验,采用随机分组的方法比较目标药物治疗与标准治疗的差异,以明确目标药物的治疗作用和安全性,其结果通常用于药物的注册和上市批准^[74]。Ⅳ期临床试验也称为后期临床试验或上市后监测试验,是在新药上市后进行的研究^[75];这一阶段是在监管部门批准下在大样本人群中进一步评估药物的长期安全性和有效性,以及在更大范围内的真实世界环境中的使用效果。

临床研究的种类繁多,其中由研究者发起的试验(investigator initiated trials, IITs)、真实世界研究、前瞻性研究和回顾性研究应用最为广泛。IIT是由医学或科学研究人员主导设计和执行的临床试验,试验设计更加灵活,可以更好地满足研究者的特定科学兴趣或临床需求^[76]。真实世界研究是

在日常临床实践中,利用临床记录、医疗数据库或健康保险数据等真实世界数据进行分析而进行的研究,旨在评估药物、治疗方法或医疗干预在真实世界环境中的效果和安全性^[77]。前瞻性研究是指在研究开始之前制定并执行的研究计划,其目的是收集新的数据以测试预先确定的假设或研究问题^[78];常用于评估特定干预措施对疾病结果的影响,如药物治疗、行为干预或手术治疗。回顾性研究是基于已有数据进行的研究,其目的是发现新的关联、评估治疗效果或回顾性评估疾病的发生和发展^[79];这些研究通常利用临床记录、医疗数据库或疾病登记数据库等已有数据进行分析;常用于识别潜在的风险因素、预后因素或治疗策略与特定疾病或结果之间的关联。

世界各地已针对HNSCC患者开展了大量临床试验。截至2024年2月,在ClinicalTrials.gov数据库中已找到1607项以HNSCC相关的临床研究。目前的研究主要集中在化疗、分子靶向治疗和免疫治疗3个方面,而大量的临床结果表明,联合治

疗策略,如多西紫杉醇、顺铂和5-氟尿嘧啶联合用药是最有效的治疗选择^[80]。除了这些药物外,美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)还批准了其他3种药物:西妥昔单抗、派姆单抗和纳武单抗。因此,未来尚需更多大样本临床试验对HNSCC抗肿瘤疗法做进一步的探索。

5 总结

恶性肿瘤诊治的研发和评估都有赖于良好的体内外模型,因此,构建一种易于获取、可重复高且忠实反映体内原始肿瘤组织的研究模型一直是临床肿瘤学热点的主题。本文回顾目前最常用的口腔癌研究模型:临床标本可以提供肿瘤组织的基因表达信息,有助于发现新的治疗靶点;体外细

胞模型模拟了肿瘤在体外的生长和行为,可用于评估抗肿瘤药物的毒性和效力,以及研究肿瘤微环境对肿瘤发展的影响;体内动物模型用于模拟肿瘤在体内的发展过程,该模型可用于评估新药的疗效、了解肿瘤的转移机制等;临床试验用于评估新药的安全性和有效性,以及优化治疗方案(图1)。此外,近年来演化出许多肿瘤衍生模型,如肿瘤微环境研究模型、免疫与靶向治疗模型、放疗耐药模型等,为深入理解肿瘤发生、发展的机制,以及寻找新的治疗策略提供了重要工具和平台。未来仍需要进一步研发和优化研究模型,并更有效地将不同模型整合起来,形成一个优化的OSCC实验模型系统。

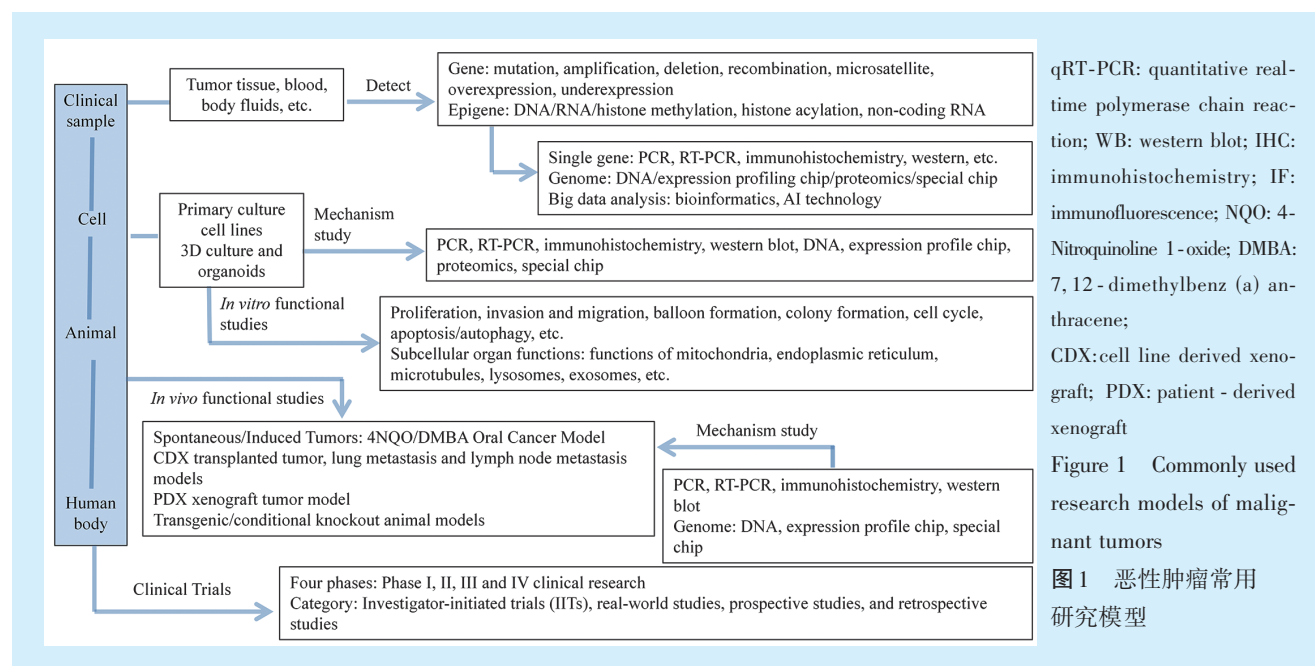


Figure 1 Commonly used research models of malignant tumors
图1 恶性肿瘤常用研究模型

[Author contributions] Wang AX conceptualized and wrote the article, reviewed the article. Zhou WH wrote the article. Cao CY conceptualized and wrote the article, reviewed the article. All authors read and approved the final manuscript as submitted.

参考文献

[1] Paul A, Paul S. The breast cancer susceptibility genes (BRCA) in breast and ovarian cancers [J]. Front Biosci (Landmark Ed), 2014, 19(4): 605-618. doi: 10.2741/4230.

[2] 王安训. 表观遗传与口腔鳞状细胞癌 [J]. 口腔疾病防治, 2020, 28(10): 613-622. doi: 10.12016/j.issn.2096-1456.2020.10.001.

Wang AX. Epigenetic and oral squamous cell carcinoma[J]. J Prev Treat Stomatol Dis, 2020, 28(10): 613 - 622. doi: 10.12016/j.issn.2096-1456.2020.10.001.

[3] 王安训. 舌鳞状细胞癌侵袭和转移的研究进展 [J]. 口腔疾病防治, 2016, 24(5): 261-266. doi: 10.12016/j.issn.2096-1456.2016.05.001.

Wang AX. Research progress on the invasion and metastasis of tongue squamous cell carcinoma [J]. J Prev Treat Stomatol Dis, 2016, 24(5): 261-266. doi: 10.12016/j.issn.2096-1456.2016.05.001.

[4] Steele CD, Pillay N, Alexandrov LB. An overview of mutational and copy number signatures in human cancer [J]. J Pathol, 2022, 257(4): 454-465. doi: 10.1002/path.5912.

[5] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249. doi: 10.3322/caac.21660.

[6] Miranda-Filho A, Bray F. Global patterns and trends in cancers of the lip, tongue and mouth [J]. Oral Oncol, 2020, 102: 104551. doi:

- 10.1016/j.oraloncology.2019.104551.
- [7] Huang Z, Su Q, Li W, et al. Suppressed mitochondrial respiration via NOX5-mediated redox imbalance contributes to the antitumor activity of anlotinib in oral squamous cell carcinoma [J]. *J Genet Genomics*, 2021, 48(7): 582-594. doi: 10.1016/j.jgg.2021.06.014.
- [8] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(1): 7-30. doi: 10.3322/caac.21332.
- [9] Conn B, Pring M, Jones AV. Macroscopy of specimens from the head and neck [J]. *J Clin Pathol*, 2024, 77(3): 185-189. doi: 10.1136/jcp-2023-208834.
- [10] Bailey MH, Tokheim C, Porta-Pardo E, et al. Comprehensive characterization of cancer driver genes and mutations [J]. *Cell*, 2018, 173(2): 371-385.e18. doi: 10.1016/j.cell.2018.02.060.
- [11] Narrandes S, Xu W. Gene expression detection assay for cancer clinical use [J]. *J Cancer*, 2018, 9(13): 2249-2265. doi: 10.7150/jca.24744.
- [12] Ding X, Zhang N, Cai Y, et al. Down-regulation of tumor suppressor MTUS1/ATIP is associated with enhanced proliferation, poor differentiation and poor prognosis in oral tongue squamous cell carcinoma [J]. *Mol Oncol*, 2012, 6(1): 73 - 80. doi: 10.1016/j.molonc.2011.11.002.
- [13] Liu L, Wu Y, Li Q, et al. METTL3 promotes tumorigenesis and metastasis through BMI1 m6A methylation in oral squamous cell carcinoma [J]. *Mol Ther*, 2020, 28(10): 2177 - 2190. doi: 10.1016/j.ymthe.2020.06.024.
- [14] Chen J, Li S, Huang Z, et al. METTL3 suppresses anlotinib sensitivity by regulating m6A modification of FGFR3 in oral squamous cell carcinoma [J]. *Cancer Cell Int*, 2022, 22(1): 295. doi: 10.1186/s12935-022-02715-7.
- [15] Chen J, Li K, Chen J, et al. Aberrant translation regulated by METTL1/WDR4-mediated tRNA N7-methylguanosine modification drives head and neck squamous cell carcinoma progression [J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2022, 42(3): 223-244. doi: 10.1002/cac2.12273.
- [16] Zhong D, Wang Z, Ye Z, et al. Cancer-derived exosomes as novel biomarkers in metastatic gastrointestinal cancer [J]. *Mol Cancer*, 2024, 23(1): 67. doi: 10.1186/s12943-024-01948-6.
- [17] Ren F, Fei Q, Qiu K, et al. Liquid biopsy techniques and lung cancer: diagnosis, monitoring and evaluation [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2024, 43(1): 96. doi: 10.1186/s13046-024-03026-7.
- [18] Lu Z, He Q, Liang J, et al. MiR-31-5p is a potential circulating biomarker and therapeutic target for oral cancer [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019, 16: 471-480. doi: 10.1016/j.omtn.2019.03.012.
- [19] Zhao EY, Jones M, Jones SJM. Whole-genome sequencing in cancer [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2019, 9(3): a034579. doi: 10.1101/cshperspect.a034579.
- [20] Dorado G, Gálvez S, Rosales TE, et al. Analyzing modern biomolecules: the revolution of nucleic-acid sequencing - review [J]. *Biomolecules*, 2021, 11(8): 1111. doi: 10.3390/biom11081111.
- [21] Huang L, Li H, Zhang C, et al. Unlocking the potential of T-cell metabolism reprogramming: advancing single-cell approaches for precision immunotherapy in tumour immunity [J]. *Clin Transl Med*, 2024, 14(3): e1620. doi: 10.1002/ctm2.1620.
- [22] Yuan CU, Quah FX, Hemberg M. Single-cell and spatial transcriptomics: bridging current technologies with long-read sequencing [J]. *Mol Aspects Med*, 2024, 96: 101255. doi: 10.1016/j.mam.2024.101255.
- [23] He Q, Zhou X, Li S, et al. MicroRNA-181a suppresses salivary adenoid cystic carcinoma metastasis by targeting MAPK - Snai2 pathway [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1830(11): 5258-5266. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.07.028.
- [24] Cooper LA, Demicco EG, Saltz JH, et al. Pancancer insights from the cancer genome atlas: the pathologist's perspective [J]. *J Pathol*, 2018, 244(5): 512-524. doi: 10.1002/path.5028.
- [25] Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive genomic characterization of head and neck squamous cell carcinomas [J]. *Nature*, 2015, 517(7536): 576-582. doi: 10.1038/nature14129.
- [26] Yu M, Wu G, Chen Y, et al. Bioinformatic screening and experimental analysis identify SFRP1 as a prognostic biomarker for tongue squamous cell carcinomas [J]. *Arch Oral Biol*, 2020, 110: 104587. doi: 10.1016/j.archoralbio.2019.104587.
- [27] He Q, Chen Z, Cabay RJ, et al. MicroRNA-21 and microRNA-375 from oral cytology as biomarkers for oral tongue cancer detection [J]. *Oral Oncol*, 2016, 57: 15-20. doi: 10.1016/j.oraloncology.2016.03.017.
- [28] Weng L, Zhou J, Guo S, et al. The molecular subtyping and precision medicine in triple-negative breast cancer: based on Fudan TNBC classification [J]. *Cancer Cell Int*, 2024, 24(1): 120. doi: 10.1186/s12935-024-03261-0.
- [29] Esparza-López J, Martínez-Aguilar JF, Ibarra-Sánchez MJ. Deriving primary cancer cell cultures for personalized therapy [J]. *Rev Invest Clin*, 2019, 71(6): 369-380. doi: 10.24875/RIC.19002832.
- [30] Easty DM, Easty GC, Carter RL, et al. Ten human carcinoma cell lines derived from squamous carcinomas of the head and neck [J]. *Br J Cancer*, 1981, 43(6): 772-785. doi: 10.1038/bjc.1981.115.
- [31] Zhao L, Ren Y, Tang H, et al. Deregulation of the miR-222-ABCG2 regulatory module in tongue squamous cell carcinoma contributes to chemoresistance and enhanced migratory/invasive potential [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(42): 44538-44550. doi: 10.18632/oncotarget.6253.
- [32] Shao S, Scholtz LU, Gendreizig S, et al. Primary head and neck cancer cell cultures are susceptible to proliferation of Epstein-Barr virus infected lymphocytes [J]. *BMC Cancer*, 2023, 23(1): 47. doi: 10.1186/s12885-022-10481-y.
- [33] Maqsood MI, Matin MM, Bahrami AR, et al. Immortality of cell lines: challenges and advantages of establishment [J]. *Cell Biol Int*, 2013, 37(10): 1038-1045. doi: 10.1002/cbin.10137.
- [34] Seliger B, Al-Samadi A, Yang B, et al. *In vitro* models as tools for screening treatment options of head and neck cancer [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2022, 9: 971726. doi: 10.3389/fmed.2022.971726.
- [35] Demers I, Donkers J, Kremer B, et al. *Ex vivo* culture models to indicate therapy response in head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Cells*, 2020, 9(11): 2527. doi: 10.3390/cells9112527.
- [36] Arutyunyan I, Jumaniyazova E, Makarov A, et al. *In vitro* models of head and neck cancer: from primitive to most advanced [J]. *J Pers Med*, 2023, 13(11): 1575. doi: 10.3390/jpm13111575.

- [37] Kapalczyńska M, Kolenda T, Przybyła W, et al. 2D and 3D cell cultures-a comparison of different types of cancer cell cultures [J]. Arch Med Sci, 2018, 14(4): 910-919. doi: 10.5114/aoms.2016.63743.
- [38] Kimlin LC, Casagrande G, Virador VM. *In vitro* three-dimensional (3D) models in cancer research: an update [J]. Mol Carcinog, 2013, 52(3): 167-182. doi: 10.1002/mc.21844.
- [39] Bonartsev AP, Lei B, Kholina MS, et al. Models of head and neck squamous cell carcinoma using bioengineering approaches [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2022, 175: 103724. doi: 10.1016/j.critrevonc.2022.103724.
- [40] Han SJ, Kwon S, Kim KS. Challenges of applying multicellular tumor spheroids in preclinical phase [J]. Cancer Cell Int, 2021, 21(1): 152. doi: 10.1186/s12935-021-01853-8.
- [41] Dehghankelishadi P, Maritz MF, Badiie P, et al. High density lipoprotein nanoparticle as delivery system for radio-sensitising miRNA: an investigation in 2D/3D head and neck cancer models [J]. Int J Pharm, 2022, 617: 121585. doi: 10.1016/j.ijpharm.2022.121585.
- [42] Baek N, Seo OW, Lee J, et al. Real-time monitoring of cisplatin cytotoxicity on three-dimensional spheroid tumor cells [J]. Drug Des Devel Ther, 2016, 10: 2155-2165. doi: 10.2147/DDDT.S108004.
- [43] Zhou WH, Du WD, Li YF, et al. The overexpression of fibronectin 1 promotes cancer progression and associated with M2 macrophages polarization in head and neck squamous cell carcinoma patients [J]. Int J Gen Med, 2022, 15: 5027-5042. doi: 10.2147/IJGM.S364708.
- [44] Fischbach C, Chen R, Matsumoto T, et al. Engineering tumors with 3D scaffolds [J]. Nat Methods, 2007, 4(10): 855-860. doi: 10.1038/nmeth1085.
- [45] Kort-Mascort J, Bao G, Elkashty O, et al. Decellularized extracellular matrix composite hydrogel bioinks for the development of 3D bioprinted head and neck *in vitro* tumor models [J]. ACS Biomater Sci Eng, 2021, 7(11): 5288-5300. doi: 10.1021/acsbomaterials.1c00812.
- [46] Kort-Mascort J, Shen ML, Martin E, et al. Bioprinted cancer-stromal-vitromodels in a decellularized ECM-based bioink exhibit progressive remodeling and maturation [J]. Biomed Mater, 2023, 18(4). doi: 10.1088/1748-605X/acd830.
- [47] Miserochi G, Cocchi C, De Vita A, et al. Three-dimensional collagen-based scaffold model to study the microenvironment and drug-resistance mechanisms of oropharyngeal squamous cell carcinomas [J]. Cancer Biol Med, 2021, 18(2): 502-516. doi: 10.20892/j.issn.2095-3941.2020.0482.
- [48] Luo Z, Zhou X, Mandal K, et al. Reconstructing the tumor architecture into organoids [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2021, 176: 113839. doi: 10.1016/j.addr.2021.113839.
- [49] Zhou WH, Wang Y, Yan C, et al. CC chemokine receptor 7 promotes macrophage recruitment and induces M2-polarization through CC chemokine ligand 19&21 in oral squamous cell carcinoma [J]. Discov Oncol, 2022, 13(1): 67. doi: 10.1007/s12672-022-00533-x.
- [50] Yan HHN, Chan AS, Lai FP, et al. Organoid cultures for cancer modeling [J]. Cell Stem Cell, 2023, 30(7): 917-937. doi: 10.1016/j.stem.2023.05.012.
- [51] Papaccio F, Cabeza-Segura M, Garcia-Micò B, et al. Will organoids fill the gap towards functional precision medicine? [J]. J Pers Med, 2022, 12(11): 1939. doi: 10.3390/jpm12111939.
- [52] Sun CP, Lan HR, Fang XL, et al. Organoid models for precision cancer immunotherapy [J]. Front Immunol, 2022, 13: 770465. doi: 10.3389/fimmu.2022.770465.
- [53] Zhang J, Tavakoli H, Ma L, et al. Immunotherapy discovery on tumor organoid-on-a-chip platforms that recapitulate the tumor microenvironment [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2022, 187: 114365. doi: 10.1016/j.addr.2022.114365.
- [54] LeSavage BL, Suhar RA, Broguiere N, et al. Next-generation cancer organoids [J]. Nat Mater, 2022, 21(2): 143-159. doi: 10.1038/s41563-021-01057-5.
- [55] Tanaka N, Osman AA, Takahashi Y, et al. Head and neck cancer organoids established by modification of the CTOS method can be used to predict *in vivo* drug sensitivity [J]. Oral Oncol, 2018, 87: 49-57. doi: 10.1016/j.oraloncology.2018.10.018.
- [56] Hu F, Martin H, Martinez A, et al. Distinct angiogenic changes during carcinogenesis defined by novel label-free dark-field imaging in a hamster cheek pouch model [J]. Cancer Res, 2017, 77(24): 7109-7119. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-17-1058.
- [57] Boss MK, Harrison LG, Gold A, et al. Canine oral squamous cell carcinoma as a spontaneous, translational model for radiation and immunology research [J]. Front Oncol, 2023, 12: 1033704. doi: 10.3389/fonc.2022.1033704.
- [58] Ballegeer EA, Madril NJ, Berger KL, et al. Evaluation of hypoxia in a feline model of head and neck cancer using ⁶⁴Cu-ATSM positron emission tomography/computed tomography [J]. BMC Cancer, 2013, 13: 218. doi: 10.1186/1471-2407-13-218.
- [59] Costa B, Estrada MF, Mendes RV, et al. Zebrafish avatars towards personalized medicine-a comparative review between avatar models [J]. Cells, 2020, 9(2): 293. doi: 10.3390/cells9020293.
- [60] Chaves P, Garrido M, Oliver J, et al. Preclinical models in head and neck squamous cell carcinoma [J]. Br J Cancer, 2023, 128(10): 1819-1827. doi: 10.1038/s41416-023-02186-1.
- [61] Warner BM, Casto BC, Knobloch TJ, et al. Chemoprevention of oral cancer by topical application of black raspberries on high at-risk mucosa [J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol, 2014, 118(6): 674-683. doi: 10.1016/j.oooo.2014.09.005.
- [62] Kim TW, Chen Q, Shen X, et al. Oral mucosal carcinogenesis in SENCAR mice [J]. Anticancer Res, 2002, 22(5): 2733-2740.
- [63] Li S, Cao C, Huang Z, et al. SOD2 confers anlotinib resistance via regulation of mitochondrial damage in OSCC [J]. Oral Dis, 2024, 30(2): 281-291. doi: 10.1111/odi.14404.
- [64] Fantini D, Glaser AP, Rimar KJ, et al. A carcinogen-induced mouse model recapitulates the molecular alterations of human muscle invasive bladder cancer [J]. Oncogene, 2018, 37(14): 1911-1925. doi: 10.1038/s41388-017-0099-6.
- [65] Georgy SR, Cangkrana M, Srivastava S, et al. Identification of a novel proto-oncogenic network in head and neck squamous cell carcinoma [J]. J Natl Cancer Inst, 2015, 107(9): djv152. doi: 10.1093/jnci/djv152.

- [66] Squarize CH, Castilho RM, Abrahao AC, et al. PTEN deficiency contributes to the development and progression of head and neck cancer [J]. *Neoplasia*, 2013, 15(5): 461 - 471. doi: 10.1593/neo.121024.
- [67] Karamboulas C, Meens J, Ailles L. Establishment and use of patient-derived xenograft models for drug testing in head and neck squamous cell carcinoma [J]. *STAR Protoc*, 2020, 1(1): 100024. doi: 10.1016/j.xpro.2020.100024.
- [68] Yen WC, Chang IY, Chang KP, et al. Genomic and molecular signatures of successful patient - derived xenografts for oral cavity squamous cell carcinoma [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 792297. doi: 10.3389/fonc.2022.792297.
- [69] Ban L, Mei T, Su Q, et al. Anti-fungal drug itraconazole exerts anti-cancer effects in oral squamous cell carcinoma via suppressing Hedgehog pathway [J]. *Life Sci*, 2020, 254: 117695. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117695.
- [70] Sausville EA, Burger AM. Contributions of human tumor xenografts to anticancer drug development [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(7): 3351-3354, discussion3354. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-3627.
- [71] Fountzilias E, Tsimberidou AM, Vo HH, et al. Clinical trial design in the era of precision medicine [J]. *Genome Med*, 2022, 14(1): 101. doi: 10.1186/s13073-022-01102-1.
- [72] Desai J, Alonso G, Kim SH, et al. Divarasib plus cetuximab in KRAS G12C-positive colorectal cancer: a phase 1b trial [J]. *Nat Med*, 2024, 30(1): 271-278. doi: 10.1038/s41591-023-02696-8.
- [73] Burcher KM, Bloomer CH, Gavrila E, et al. Study protocol: phase II study to evaluate the effect of cetuximab monotherapy after immunotherapy with PD-1 inhibitors in patients with head and neck squamous cell cancer [J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2024, 16: 17588359231217959. doi: 10.1177/17588359231217959.
- [74] Guigay J, Ortholan C, Vansteene D, et al. Cetuximab versus methotrexate in first-line treatment of older, frail patients with inoperable recurrent or metastatic head and neck cancer (ELAN UNFIT): a randomised, open-label, phase 3 trial [J]. *Lancet Healthy Longev*, 2024, 5(3): e182 - e193. doi: 10.1016/S2666 - 7568(23)00284-2.
- [75] Guigay J, Chamorey E, Lefebvre G, et al. Observational, prospective, phase 4 study in patients with first-line recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck treated with cetuximab and platinum-based therapy: DIRECT [J]. *Cancer Rep (Hoboken)*, 2022, 5(2): e1467. doi: 10.1002/enr2.1467.
- [76] Pfeiffer P, Yilmaz M, Möller S, et al. TAS-102 with or without bevacizumab in patients with chemorefractory metastatic colorectal cancer: an investigator-initiated, open-label, randomised, phase 2 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(3): 412-420. doi: 10.1016/S1470-2045(19)30827-7.
- [77] Pataky RE, Bryan S, Sadatsafavi M, et al. Real-world cost effectiveness of a policy of KRAS testing to inform cetuximab or panitumumab for third-line therapy of metastatic colorectal cancer in British Columbia, Canada [J]. *Pharmacoecon Open*, 2023, 7(6): 997-1006. doi: 10.1007/s41669-023-00444-9.
- [78] Takahashi H, Saito Y, Sugawara K, et al. Quantitative assessment of skin disorders induced by panitumumab: a prospective observational study [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2024, 93(4): 319-328. doi: 10.1007/s00280-023-04619-3.
- [79] Xuan T, Wang Z, Meng S, et al. Efficacy and safety of maintenance therapy using cetuximab in patients with metastatic colorectal cancer: retrospective study [J]. *Cancer Manag Res*, 2024, 16: 185-197. doi: 10.2147/CMAR.S443666.
- [80] Goel B, Tiwari AK, Pandey RK, et al. Therapeutic approaches for the treatment of head and neck squamous cell carcinoma - an update on clinical trials [J]. *Transl Oncol*, 2022, 21: 101426. doi: 10.1016/j.tranon.2022.101426.

(编辑 周春华,曾曙光)



Open Access

This article is licensed under a Creative Commons

Attribution 4.0 International License.

Copyright © 2024 by Editorial Department of Journal of Prevention and Treatment for Stomatological Diseases



官网



【通信作者简介】 王安训,1993年毕业于中山医科大学口腔系,2001年毕业于中山医科大学肿瘤学专业,获博士学位,现任中山大学附属第一医院口腔颌面外科教授、博士生导师。兼任广东省口腔医学会口腔颌面外科专业委员会副主任委员、中国抗癌协会肿瘤微创外科治疗专业委员会副主任委员。主要从事口腔颌面部肿瘤的临床及基础研究,致力于提高早期预测口腔鳞癌的侵袭转移能力以及提高口腔鳞癌疗效的研究。目前已公开发表学术论文170余篇,其中SCI论文70余篇。培养的多名研究生获得广东省优秀研究生和优秀研究生论文。负责多项国家级及省部级基金资助项目研究,包括教育部新世纪优秀人才支持计划、国家自然科学基金面上项目、广东省自然科学基金重点项目等。主编并编写了多本口腔医学专业著作,包括《口腔疾病》(副主编,科学技术文献出版社)、《牙槽外科手术视听教材》(主编,人民卫生电子音像出版社,“十五”国家重点音像出版规划)等。获教育部提名国家科技进步奖二等奖。