

食管腺癌细胞系及模型和3D培养的研究进展

刘董剑^{1,3}, 杨 凌^{2,3*}

(1. 内蒙古医科大学 研究生院, 内蒙古 呼和浩特 010110; 2. 内蒙古医科大学附属医院 临床医学研究中心, 内蒙古 呼和浩特 010050; 3. 内蒙古自治区医学细胞生物学重点实验室, 内蒙古 呼和浩特 010050)

摘要:食管腺癌是一种罕见的恶性肿瘤。食管腺癌恶化和转移的性质为肿瘤的治疗带来了一定程度的困难和挑战。近年来,食管腺癌细胞系研究取得了一定程度的进展,但肿瘤细胞内微观分子水平的发生机制还有许多未被知晓,食管腺癌细胞间的差异性仍需要继续探索。食管腺癌细胞模型的建立和发展可用于研究肿瘤细胞性质和特点,各种肿瘤细胞模型为食管腺癌的发生机制提供了研究工具,有利于了解肿瘤细胞内基因的异常表达和微观信号分子对肿瘤增殖的影响因素。类器官的3D-培养能够为肿瘤细胞的异性质和微观水平表达的研究提供理想的平台,为推进对肿瘤细胞性质的研究提供了有利的条件。

关键词:食管腺癌;异种移植;3D培养;类器官

中图分类号:R735.1 文献标志码:A

Advances in the study of esophageal adenocarcinoma cell lines, model development and 3D culture technology

LIU Dong-jian^{1,3}, YANG Ling^{2,3*}

(1. Graduate School of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110;

2. Clinical Medicine Research Center, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010050;

3. Inner Mongolia Key Laboratory of Medical Cell Biology, Hohhot 010050, China)

Abstract: Esophageal adenocarcinoma is a uncommon malignant tumor. The deterioration and metastasis of esophageal adenocarcinoma bring some difficulties and challenges to the treatment of tumor. In recent years, some progress has been made in the study of esophageal adenocarcinoma cell lines. However, there are still many unknown molecular mechanisms in tumor cells, and the differences between esophageal adenocarcinoma cells still need to be further explored. The establishment and development of esophageal adenocarcinoma cell model can be used to study the properties and characteristics of tumor cells, and various tumor cell models provide research tools for the mechanism of esophageal adenocarcinoma pathogenesis, which is conducive to understanding the abnormal expression of genes in tumor cells and the influence factors of microsignaling molecules on tumor proliferation. The 3D-culture of organoid can provide an ideal platform for the study of the heterogeneous properties and microscopic level expression of tumor cells, and provide favorable conditions for the advancement of the study of the properties of tumor cells.

Key words: esophageal adenocarcinoma; xenograft; 3D-culture; organoid

收稿日期:2020-04-10 修回日期:2020-06-27

基金项目:国家自然科学基金(31960153);内蒙古自治区自然科学基金(2018MS08076)

* 通信作者 (corresponding author): yanglingshmily@126.com

1 食管腺癌生物学特点

食管癌(esophageal carcinoma)是一种恶性侵袭性疾病,是癌相关致死性的常见原因之一,每年有多达几十万人死于这种癌。食管腺癌(esophageal adenocarcinoma,EAC)在人群中的发病率较低,仅占食管癌的小部分。食管腺癌易发生于低位食管内,部分食管腺癌来自 Barrett 食管,其他来自食管内腺体的恶变。食管腺癌恶性程度不一,常分为低分化、高分化两种类型腺癌。早期食管癌患者往往无明显症状,易发生淋巴结转移和远处转移,造成食管腺癌晚期患者不易治愈。食管反流物造成的炎性反应会刺激食管内膜化生,是常见的导致食管腺体恶变的因素之一,同时,遗传因素、环境因素及饮食习惯等因素也都与食管腺癌的发生发展密切相关。高通量基因测序发现,食管腺癌细胞内基因组序列常伴发基因突变、缺失、重组及 DNA 甲基化。食管腺癌的染色体非常不稳定,易造成基因编码错误及表达异常。此外,亚硝酸盐、高热食物等因素也容易导致食管腺细胞内 DNA 损伤及修复错误而增加突变频率,造成食管腺细胞增殖异常及恶变。由此可知,肿瘤基因和分子水平调节异常对肿瘤的性质和侵袭性具有高度影响和相关性。

食管腺癌(esophageal adenocarcinoma)的增殖、分化、凋亡、远处转移及侵袭性,会受到细胞内信号传导途径传导及调节因子表达的影响。随着对食管肿瘤研究的推进,分子靶向药物广泛用于肿瘤的治疗,Trastuzumab 和 Ramucirumab 是常用于治疗食管腺癌的分子靶向药物,其机制是通过抑制表皮生长因子受体及血管生长因子受体而抑制肿瘤的转移,从而达到治疗肿瘤的目的。此外,治疗食管腺癌的方法还包括手术治疗、放疗及免疫治疗,但食管腺癌患者病死率依然很高。由于食管腺癌很难治愈,远处转移的概率很大,食管癌的科学研究和临床治疗依旧是一项艰巨任务。

因此,为了探索和研究食管腺癌细胞的生物特性及发生机制,食管腺癌模型的 3D 培养可以用于发现腺癌细胞潜在的微观变化及癌变机制。本文综述了近年来食管腺癌细胞系、移植模型、3D 培养研究的最新成果。

2 食管腺癌细胞系

食管腺癌细胞系包括 SKGT、OE、FLO-1、Eso 及 OACM 5.1C 亚系。SKGT-4、SKGT-2 是高分化腺癌,SKGT-5、OE19、FLO-1、ESO51、OE33、Eso26、EsoAd1 及 OACM 5.1C 是低分化食管腺癌。食管腺癌细胞是会发生高度变异和分子水平表达异常的肿瘤。食管腺癌细胞在增殖及分化过程中易产生异质性,形成不同程度的结构及形态差异。同时,食管腺癌细胞易通过血管进入周围循环而形成循环肿瘤,可被认为是肿瘤细胞转移性播散的前兆。构建腺癌培养模型将成为食管腺癌研究和临床治疗的有利工具,特别有利于研究食管腺癌异质性和可塑性。食管腺癌细胞系亚型各自的特点见表 1。

表 1 食管腺癌细胞系特点

Table 1 Characteristics of esophageal adenocarcinoma cell lines

细胞系	来源	分化程度	原发或转移	参考文献
OE19	腺癌	低分化	转移	[1-2]
OE33	腺癌	低分化	转移	[3-5]
FLO-1	腺癌	低分化	转移	[6-7]
ESO51	腺癌	低分化	转移	[8-9]
Eso26	腺癌	低分化	转移	[10-11]
EsoAd1	腺癌	低分化	转移	[12]
OACM 5.1C	腺癌	低分化	转移	[13]
SKGT-5	腺癌	低分化	转移	[14-15]
SKGT-4	腺癌	高分化	原发	[16-17]
SKGT-2	腺癌	高分化	原发	[15]

2.1 低分化食管腺癌细胞系

OE19 是食管腺癌细胞系亚型,呈现高度分化。腺癌细胞内常存在基因扩增或表达异常,并与肿瘤细胞所处的微环境密切相关。OE19 细胞内 PIK3CA 基因呈现扩增,与肿瘤浸润性 T 细胞显著相关,KRAS 扩增与淋巴结阳性患者和较差的总体生存率相关。PIK3CA 或 KRAS 的基因扩增会诱导下游区域的 AKT-mTOR 或 RAF-ERK 通路的活化,而活化的 AKT 通路与炎性肿瘤微环境有关^[1]。肿瘤的进展与食管腺癌周围微环境的变化密切相关。因此,肿瘤微环境会影响肿瘤细胞的增殖及转移,调节肿瘤微环境有利于推进肿瘤的治疗及改善疗效。辛伐他汀通过抑制 COX-2 和 PGE2 的表达而对

OE-19腺癌细胞具有明显的抑制作用,随 MDA 水平的升高而升高。辛伐他汀对食管腺癌的治疗可能具有重要的作用^[2]。

OE33 是低分化食管细胞系亚型。机体免疫应答对识别和杀死肿瘤起重要作用,而免疫功能异常容易导致肿瘤的发生。免疫检查点抑制可能影响高度侵袭性癌细胞的增殖。miRNAs 的过度表达会降低 TAP1、TAP2 的表达及细胞表面 MHC-I 的表达,高表达量的 TAP1 和抗原提呈相关基因能促进调节适应性免疫应答基因 PD-L1、PD-L2 和 IDO1 的高水平表达。OE33 腺癌细胞内 MIR125a-5p 和 MIR148a-3p 水平的增加可以降低抗原提呈所需的 TAP2 和 MHC-I 水平,EAC 细胞内高表达的 MHC-I 分子可显著缩短患者的总生存时间^[3]。肿瘤细胞内小分子信号物质及表达会发生变化。microRNAs 在许多恶性肿瘤相关的生物学过程中发挥着重要作用,包括细胞凋亡、代谢、增殖和分化^[4]。miR-126 是 OE33 细胞活性的调节因子。miR-126 的稳定表达能显著改变细胞凋亡和 DNA 修复相关基因的表达,及调节促凋亡和抗凋亡基因 TP53 和 GATA6 的表达。食管腺癌细胞内 miR-126 高表达可阻滞肿瘤细胞凋亡,并与患者生存率低有关^[5]。

FLO-1 是低分化食管腺癌细胞系亚型。RAD51 是介导同源重组的 DNA 修复机制,在维持基因组完整性和稳定性方面起着关键作用。FLO-1 腺癌细胞内 RAD51 的表达升高与 DNA 断裂的修复和基因组重排有关,而中度抑制该基因可降低同源重组活性,然而强烈或甚至接近完全抑制该基因会激活涉及 SSA 机制、与 RAD51C 相关的同源重组活性。SSA 是一种致突变的同源重组途径,通过增加肿瘤细胞内 DNA 断裂进一步破坏基因组完整性。RAD51 是治疗某些癌的潜在靶点^[6]。TLRs 是机体免疫系统的组成部分,与 FLO-1 细胞的增殖密切相关。通过 TLR4-MyD88-TRAF6-NF- κ B 信号通路,TLR4 激活会促进肿瘤细胞增殖,而抑制 NF- κ B 的途径会导致降低肿瘤细胞的增殖速度。TLR4 可能是抑制食管癌细胞增殖的靶点,对肿瘤的研究和治疗具有重要价值^[7]。

ESO51 是食管腺癌细胞系亚型。ESO51 细胞内存在上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)因子或 HER2 的过表达,与肿瘤的发展具有相关性。福林替尼对 ESO51 细胞的增殖具有明显的

抑制作用,达到 EMT 基因扩增和过表达的水平。福林替尼或 siRNA 特异性下调 EMT 表达会抑制 EMT 信号传导诱导的 ESO51 细胞凋亡。HER2 的异位表达会降低福林替尼对 ESO51-HER2 细胞介导的增殖抑制作用及 ERK 下游磷酸化^[8]。福林替尼和拉帕替尼可有效抑制 EMT 和 HER2 磷酸化,通过诱导细胞凋亡增强对肿瘤细胞增殖的抑制作用,显著提高整体的生存率。福林替尼和拉帕替尼对 HER2 阳性的 EMT 过度表达 EAC 患者的治疗可成为一种新的治疗肿瘤的策略^[9]。

Eso26 是食管腺癌细胞系亚型。肿瘤细胞内的信号分子受到抑制或放大,可影响肿瘤细胞的增殖、凋亡。CDK9 抑制剂具有抗肿瘤作用,MCL-1 是 CDK9 抑制剂的下游靶点。通过抑制 HIF-1 α 与 MCL-1 启动子结合,BAY1143572 会下调 MCL-1,并具有抗肿瘤增殖和促凋亡作用。5-FU 能够增强 BAY1143572 诱导 MCL-1 的下调,MCL-1 的稳定过表达会降低 BAY1143572 和 5-FU 诱导的 ESO26 细胞凋亡。MCL-1 是 EAC 治疗的一个预测因子,与肿瘤患者的生存期密切相关^[10]。SOX9 是肿瘤治疗的一个预后标志物,对肿瘤细胞的增殖和凋亡具有重要影响。通过抑制肿瘤细胞增殖及促进肿瘤细胞凋亡,SOX9 基因敲除能提高 ESO26 细胞对 Trastuzumab 的作用,并可以抑制 AKT 磷酸化。SOX9 可能通过激活磷脂酰肌醇-3-激酶/AKT 信号通路而产生曲妥珠单抗抗性作用^[11]。

EsoAd1 是食管腺癌细胞系亚型。EsoAd1 细胞内 AR 的核定位区和 FKBP5 的表达与食管癌患者生存率降低有关。FKBP5 的表达与肿瘤细胞增殖呈正相关,FKBP5 阳性细胞比例高的 EAC 细胞增殖指数高。二氢睾酮(dihydrotestosterone, DHT)会诱导 FK506 基因的表达,DHT 通过肿瘤细胞内 AR 抑制增殖、细胞分裂、诱导细胞周期阻滞及细胞凋亡。肿瘤细胞内的信号途径异常激活与肿瘤的进展具有重要联系。DHT 会抑制肿瘤细胞增殖、分化及诱导抗原相关基因表达和细胞周期停滞^[12]。

OACM 5.1C 是食管腺癌细胞系亚型。OACM 5.1C 细胞内 galectin-9 具有抗增殖作用。Gal-9 可以诱导肿瘤细胞凋亡,增加细胞内 caspase 裂解的角蛋白 18 的表达水平、活化 caspase-3 及 caspase-9。Gal-9 能升高 IL-8 表达水平,显著改变 miRNA 的表

达,但不会通过降低细胞周期相关蛋白水平而促进细胞周期阻滞。因此,该研究对于 EAC 的临床治疗具有重要意义^[13]。

SKGT-5 是食管腺癌细胞系亚型。SKGT-5 细胞内 Notch 信号会驱动表皮细胞的自我更新。SKGT-5 存在完整激活肿瘤细胞内 Notch 的信号通路,肿瘤细胞内会表达 NOTCH1-3,但不表达 NOTCH4,暗示存在一个活跃的 Notch 信号通路^[14]。食管腺癌内 Rb、细胞周期蛋白 D1、p16 和 p53 基因的表达会发生变化。氟哌利多会诱导 SKGT-5 细胞周期阻滞和凋亡,细胞内周期蛋白 D1、Rb 和 p107 蛋白水平的表达会下降。细胞周期阻滞和肿瘤生长抑制与肿瘤细胞的基因型没有明显的相关性,氟哌利多对食管癌的治疗很有前景^[15]。

2.2 高分化食管腺癌细胞系

SKGT-4 是高分化食管腺癌细胞系亚型。食管腺癌细胞内存在 LncRNA XIST 过度表达。XIST 的表达可以显著抑制 SKGT-4 细胞的增殖、迁移和侵袭,并诱导凋亡。肿瘤细胞内 miR-494 表达下调,会抑制 p-JAK2 和 p-STAT3 表达增加。XIST 的异常表达可能通过 JAK2/STAT3 信号通路的 miR-494/CDK6 轴在食管癌的发生发展中起致癌作用,为肿瘤细胞的分子机制研究提供理论依据^[16]。SIX3 是一种人类细胞内的转录因子。SKGT-4 细胞内 SIX3 高表达,与食管癌低存率有关,SIX3 基因的敲除显著抑制肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭。si-SIX3 转染肿瘤细胞后,PI3K/Akt 信号通路中一些关键蛋白的表达明显降低,可能导致 PI3K/Akt 信号失活。研究表明,SIX3 对人肿瘤细胞具有潜在促进作用,可能是预测食管癌患者预后的生物标志物和治疗靶点^[17]。SKGT-2 是食管腺癌细胞系亚型。SKGT-2 细胞缺乏 Rb 表达,而肿瘤细胞内 cyclin D1 和活性 p16 呈现中度表达^[15]。

3 放化疗抗性模型

肿瘤细胞对放化疗的敏感性差异很大,易导致放疗抗性。放化疗也会改变肿瘤细胞结构及遗传物质而产生适应性,从而影响治疗效果。尽管有很多方法治疗肿瘤,但效果都不是很理想。放化疗仍是治疗肿瘤的常用方法。放化疗模型不仅可以研究和探索肿瘤细胞抗性的原因,也有助于研究和探索

肿瘤细胞基因信号通路及细胞因子调节的相关机制。食管腺癌抗性细胞系总结见表 2。

表 2 食管腺癌细胞系抗性特点

Table 2 Resistance characteristics of esophageal gland cancer cells

细胞系	来源	分化程度	治疗方式	参考文献
OE19-ERBB	腺癌	低分化	Trastuzumab Pertuzumab	[18]
OE33-ERBB	腺癌	低分化	Rastuzumab Pertuzumab	[18]
FLO-1R	腺癌	低分化	Radiation	[19]
SKGT-4R	腺癌	低分化	Radiation	[19]
OE33R	腺癌	低分化	Radiation	[19]
OE33 Cis R	腺癌	低分化	Radiation	[20]

3.1 化疗抗性模型

OE19-ERBB 和 OE33-ERBB 是食管腺癌细胞系亚型,会对曲妥珠单抗和帕妥株单抗产生抗性。肿瘤细胞内 ERBB3 呈高表达,TGFB1 与 ERBB3 表达呈负相关。存在 Trastuzumab 培养的 EAC 细胞会降低上皮标志物表达,增加间充质标志物表达。不存在 Trastuzumab 培养的肿瘤细胞,会诱导 EMT。与 ERBB 抑制剂培养的 EAC 细胞会分泌 TGFβ 受体配体,并导致 EMT 的发生。与曲妥珠单抗、帕妥株单抗培养的肿瘤会表达 EMT 标记,且肿瘤细胞分化较差,而存在曲妥珠单抗、帕妥株单抗及 TGFβ 抑制剂联合作用培养的肿瘤细胞会表达上皮标记,肿瘤细胞分化程度较高。OE19 或 33 细胞是通过激活 TGFβ 信号通路,对 Trastuzumab 和 Pertuzumab 产生抗药性,从而诱导上皮细胞向间质细胞转变,但阻断 TGFβ 信号传导会可提高单抗的抗肿瘤作用^[18]。

3.2 放疗抗性模型

FLO-1R、SKGT-4R、OE33R 是食管细胞接受放疗后产生抗性的食管腺癌细胞系亚型。细胞周期蛋白依赖性激酶 9(CDK9)在细胞内转录水平上调控辐射诱导组织损伤的几个核心蛋白和细胞途径。BAY1143572 是高特异性 CDK9 抑制剂,对食管腺癌的放射具有增敏作用。作为 CDK9 抑制的候选靶点,Axl 在 FLO-1 和 SKGT4 细胞中的过表达会增强 CDK9 抑制剂的放射增敏性,CDK9 抑制剂会提高 OE33R 食

管腺癌对放射抗性的敏感作用。BAY1143572 以 CDK9 为靶点可显著增强放疗效应^[19]。

OE33 Cis R 腺癌细胞对放疗产生抗性。食管腺癌是一种由炎性反应驱动的癌症,OE33 Cis R 细胞分泌的蛋白水平显著改变。OE33 Cis R 细胞 ALDH1 活性增加,转化生长因子 β 信号、Wnt 信号和类固醇生物合成显著上调。Cisplatin 抗性导致炎性反应因子 IL-7 分泌的水平增加,且耗氧率显著升高。获得性顺铂耐药的同基因 OAC 模型的分子和表型变化为这项研究提供了新的见解,并突出了肿瘤细胞内顺铂耐药的靶点^[20]。

4 食管腺癌异种移植模型

食管腺癌异种移植模型分为原位移植模型、皮下移植模型和 PDX 模型(表 3)。

4.1 原位移植模型

食管腺癌原位移植模型是将食管腺癌手术标本或活检组织植入免疫缺陷的小鼠食管内^[21],构建相似的肿瘤生长环境而建立的模型。原位移植模型能够更好的反应肿瘤的细胞生物学特点,有利于研究肿瘤细胞的侵袭性和异质性。由于实验复杂和移植难度大,食管腺癌的原位移植在科学研究中很少应用,更多被认为是一种理论模型。

4.2 皮下移植模型

食管腺癌皮下移植模型是将食管腺癌细胞移植入 NOD-SCID 小鼠皮下而构建移植模型。皮下移植模型能够反应肿瘤细胞的异质性,是研究食管腺癌细胞增殖和侵袭的有力工具。虽然不能对肿瘤细胞进行多层次的研究,但皮下移植模型有助于分析食管腺癌细胞的增殖和代谢的机制。

OE33 细胞接种 NOD-SCID 小鼠皮下成瘤。食管腺癌细胞内 TGF β 和 JNK 信号通路过度激活,肿

瘤组织磷酸化 JUN 和 SMAD 蛋白的核定位增强,受其调控的基因在 EAC 过度表达。通过移植模型中 SMAD4 的独立方式,药物抑制或敲除 FLO-1 或 EsoAd1 中的 TGF β 或 JNK 信号成分,可以显著降低小鼠的肿瘤细胞增殖、集落形成、细胞迁移或异种肿瘤的生长。阻断 TGF β 和 JNK 信号通路可能是治疗 EAC 的策略^[22]。其对于肿瘤的治疗研究和探索提供了不同的途径。

4.3 PDX 模型

食管腺癌 PDX 模型是从患者的食管腺癌组织中分离出腺癌细胞,接种在 NOD-SCID 小鼠皮下成瘤所构建的模型。PDX 模型可以用于临床研究和药物实验,有助于了解食管腺癌细胞的生理病理学特点。相比于其他移植模型,用于研究的食管腺癌细胞直接来源于患者,研究肿瘤样品易获取,保留了肿瘤细胞原有的性质和特点。获取的肿瘤细胞存在细胞分化差异,PDX 模型的肿瘤细胞更易呈现异质性,为肿瘤研究提供了有力的研究材料。

食管腺癌细胞接种在 NOD-SCID 小鼠皮下构建 PDX 模型,用于评价治疗肿瘤细胞的疗效。精确照射会显著延缓 PDX 模型的异种移植瘤生长,联合放疗化疗会进一步延缓生长。照射后,PDX 模型显示 Hh 转录的持续调节。5E1 是一种单克隆 SHH 抗体,LDE225 是一种抑制 Hh (Hedgehog) 信号通路的临床 SMO 抑制剂。LDE225、辐射及单独使用 5E1 的 Hh 反应性 PDX 模型中,单独使用任何一种治疗,都可延迟生长,但非反应性 PDX 模型中没有呈现。表明,Hh 信号传导介导了 EAC-PDX 模型中的辐射反应,抑制该信号通路可能增强 Hh 依赖性肿瘤的辐射效应^[23]。

食管腺癌细胞 PDX 模型为抗血管生成药物的联合化疗提供了治疗肿瘤的重要策略。PDX 模型可

表 3 食管腺癌异种植物模型

Table 3 Xenograft models of esophageal adenocarcinoma

异种植物模型	细胞或组织	小鼠类型	研究关注	参考文献
原位移植模型	EAC	athymic	ECA 细胞的异质性	[21]
皮下移植模型	FLO-1	NOD-SCID	5-FU 及 MCL-1	[22]
	EsoAd1	NOD-SCID	BAY1143572 及 5-FU	[22]
PDX 模型	EAC	NOD-SCID	Hh 信号传导	[23]
	EAC	NOD-SCID	抗 VEGFR2 治疗	[24]

以阐述血管内皮生长因子受体 2 (vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR2) 针对腺癌血流动力学及药物渗透的影响。长期抗 VEGFR2 治疗的肿瘤会造成导致化疗摄取减少的相对较低的流量和血管密度,短期的 VEGFR2 靶向治疗则相反。短期抗血管生成治疗通过诱导一氧化氮的合成和透明质酸的降解彻底重塑肿瘤基质,从而扩张血管,改善肿瘤内化疗的传递。所确定的有针对性的机制,提高了直接选择的抗血管生成治疗联合化疗治疗 EAC 的疗效^[24]。

5 3D 培养

3D 培养是通过微环境影响对细胞的功能和反应特点进行研究的平台,对肿瘤细胞的研究和探索具有推动作用。肿瘤细胞具有很强的分化和克隆能力,往往会因细胞基因表达错误和缺失而形成异质性。肿瘤细胞的异质性给临床研究和治疗带来了巨大的困难和挑战。肿瘤细胞的增殖分化、凋亡转移受到微环境变化的影响。因此,肿瘤的 3D 培养可以更好的研究和观察肿瘤细胞生物学变化。3D 类器官培养能够复述细胞的特点和特征,对肿瘤研究具有重要作用。

类器官 3D 培养在肿瘤研究中得到越来越多的应用,为探索肿瘤细胞的性质及对微环境变化的影响提供了有力的工具。类器官培养能够提供肿瘤

细胞更接近增殖的体外环境,能够更加容易调节和干涉肿瘤细胞增殖的微观因素,便以观察肿瘤细胞生物学特点和恶变机制。类器官 3D 培养可以研究肿瘤细胞的分子水平的调节和表达异常,有助于深入研究肿瘤细胞多重因素间的作用靶点。此外,食管腺癌细胞内的分子表达异常会影响肿瘤的增殖和转移。shRNA 介导的 MKK6 基因敲除抑制类器官模型内 OE33 和 OE19 细胞增殖, MKK6 抑制会导致转录因子 SOX9 水平降低。敲除 CRISPR/Cas9 和 SOX9 基因会导致 EACs 在 3D 器官培养中的增殖下降,肿瘤生长速度减慢。食管腺癌细胞内的分子表达异常会影响肿瘤的增殖分化^[25]。

6 结论

食管腺癌移植模型对细胞功能和特点提供了一个不同的探索方式。肿瘤微环境能够影响肿瘤细胞的信息传导和信号途径的激活,甚至可以引发肿瘤的恶性克隆和远处转移。肿瘤细胞的基因突变和 mRNA 分子表达异常会导致异质性和对放疗微环境的适应性。异种移植模型能够研究食管腺癌细胞的生理病理学特点和肿瘤细胞异质性,但很少涉及多重因素和复杂微环境的相互作用。3D 类器官培养能够反应食管腺癌细胞的异质性和形态变化,有助于研究和探索肿瘤细胞微观水平表达的问题,推动食管腺癌研究不断向前迈进。

参考文献:

- [1] Essakly A, Loeser H, Kraemer M, *et al.* Pik3ca and kras amplification in esophageal adenocarcinoma and their impact on the inflammatory tumor microenvironment and prognosis[J]. *Transl Oncol*, 2020, 13:157-164.
- [2] Chen Y, Li LB, Zhang J, *et al.* Simvastatin, but not pravastatin, inhibits the proliferation of esophageal adenocarcinoma and squamous cell carcinoma cells: a cell-molecular study[J]. *Lipids Health Dis*, 2018, 17:290. doi: 10.1186/s12944-018-0946-7.
- [3] Mari L, Hoefnagel SJM, Zito D, *et al.* MicroRNA 125a regulates mhc-i expression on esophageal adenocarcinoma cells, associated with suppression of antitumor immune response and poor outcomes of patients[J]. *Gastroenterology*, 2018, 155:784-798.
- [4] Kong X, Gong S, Su L, *et al.* Expression signatures and roles of micrnas in human oesophageal adenocarcinomas [J]. *J Cell Mole Med*, 2018, 22:123-130.
- [5] Toxopeus E, Lynam-Lennon N, Biermann K, *et al.* Tumor microRNA-126 controls cell viability and associates with poor survival in patients with esophageal adenocarcinoma[J]. *Exp Biol Med*, 2019, 244:1210-1219.
- [6] Pal J, Nanjappa P, Kumar S, *et al.* Impact of RAD51C-mediated homologous recombination on genomic integrity in Barrett's adenocarcinoma cells [J]. *J Gastroenterol Hepatol Res*, 2017, 6:2286-2295.
- [7] Kohtz PD, Halpern AL, Eldeiry MA, *et al.* Toll-like re-

- ceptor-4 is a mediator of proliferation in esophageal adenocarcinoma[J]. *Ann Thorac Surg*, 2019, 107:233-241.
- [8] Goltsov AA, Fang B, Pandita TK, *et al.* Her2 confers resistance to foretinib inhibition of met-amplified esophageal adenocarcinoma cells[J]. *Ann Thorac Surg*, 2018, 105: 363-370.
- [9] Hassan MS, Williams F, Awasthi N, *et al.* Combination effect of lapatinib with foretinib in HER2 and MET co-activated experimental esophageal adenocarcinoma [J]. *Sci Rep*, 2019, 9: 17608. doi: 10.1038/s41598-019-54129-7.
- [10] Tong Z, Mejia A, Veeranki O, *et al.* Targeting CDK9 and MCL-1 by a new CDK9/p-TEFb inhibitor with and without 5-fluorouracil in esophageal adenocarcinoma [J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2019, 11:1758835919864850.
- [11] Hong Y, Chen H, Rao Z, *et al.* *In vitro* study on the role of SOX9 in trastuzumab resistance of adenocarcinoma of the esophagogastric junction [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15:3103-3107.
- [12] Palethorpe HM, Drew PA, Smith E. Androgen signaling in esophageal adenocarcinoma cell lines *in vitro* [J]. *Dig Dis Sc*, 2017, 62:3402-3414.
- [13] Akashi E, Fujihara S, Morishita A, *et al.* Effects of galectin-9 on apoptosis, cell cycle and autophagy in human esophageal adenocarcinoma cells [J]. *Oncol Rep*, 2017, 38:506-514.
- [14] Menke V, van Es JH, de Lau W, *et al.* Conversion of metaplastic Barrett's epithelium into post-mitotic goblet cells by gamma-secretase inhibition [J]. *Dis Model Mech*, 2010, 3:104-110.
- [15] Schrupp DS, Matthews W, Chen GA, *et al.* Flavopiridol mediates cell cycle arrest and apoptosis in esophageal cancer cells [J]. *Clin Cancer Res*, 1998, 4:2885-2890.
- [16] Chen Z, Hu X, Wu Y, *et al.* Long non-coding RNA XIST promotes the development of esophageal cancer by sponging miR-494 to regulate CDK6 expression [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109:2228-2236.
- [17] Du J. Upregulation of sine oculis homeobox homolog 3 is associated with proliferation, invasion, migration, as well as poor prognosis of esophageal cancer [J]. *Anti Cancer Drugs*, 2019, 30:596-603.
- [18] Ebbing EA, Steins A, Fessler E, *et al.* Esophageal adenocarcinoma cells and xenograft tumors exposed to Erb-b2 receptor tyrosine Kinase 2 and 3 inhibitors activate transforming growth factor Beta signaling, which Induces epithelial to mesenchymal transition [J]. *Gastroenterology*, 2017, 153:63-76.
- [19] Veeranki OL, Tong Z, Dokey R, *et al.* Targeting cyclin-dependent kinase 9 by a novel inhibitor enhances radiosensitization and identifies Axl as a novel downstream target in esophageal adenocarcinoma [J]. *Oncotarget*, 2019, 10:4703-4718.
- [20] Buckley AM, Bibby BA, Dunne MR, *et al.* Characterisation of an isogenic model of cisplatin resistance in oesophageal adenocarcinoma cells [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2019, 12. doi: 10.3390/ph12010033.
- [21] Veeranki OL, Tong Z, Mejia A, *et al.* A novel patient-derived orthotopic xenograft model of esophageal adenocarcinoma provides a platform for translational discoveries [J]. *Dis Model Mech*, 2019, 12. doi: 10.1242/dmm.041004.
- [22] Blum AE, Venkitachalam S, Ravillah D, *et al.* Systems biology analyses show hyperactivation of transforming growth factor- β and JNK signaling pathways in esophageal cancer [J]. *Gastroenterology*, 2019, 156:1761-1774.
- [23] Teichman J, Dodbibala L, Thai H, *et al.* Hedgehog inhibition mediates radiation sensitivity in mouse xenograft models of human esophageal adenocarcinoma [J]. *PLoS One*, 2018, 13: e0194809. doi: 10.1371/journal.pone.0224827.
- [24] Steins A, Klaassen R, Jacobs I, *et al.* Rapid stromal remodeling by short-term VEGFR2 inhibition increases chemotherapy delivery in esophagogastric adenocarcinoma [J]. *Mol Oncol*, 2020, 14:704-720.
- [25] Lin S, Liu K, Zhang Y, *et al.* Pharmacological targeting of p38 MAP-Kinase 6 (MAP2K6) inhibits the growth of esophageal adenocarcinoma [J]. *Cell Signal*, 2018, 51: 222-232.