

基因编辑小鼠肝癌模型的研究进展

杨丽超^{1,2}, 欧美珍¹, 李盈琪¹, 张起¹, 吴伟成³, 何敏^{1,2,3,4,5}

(1. 广西医科大学实验动物中心, 南宁 530021; 2. 广西区域性高发肿瘤早期防治研究重点实验室, 南宁 530021; 3. 广西医科大学公共卫生学院, 南宁 530021; 4. 省部共建靶向肿瘤学国家重点实验室, 南宁 530021; 5. 区域性高发肿瘤早期防治研究教育部重点实验室(广西医科大学), 南宁 530021)

摘要 肝癌作为全球致死率极高的恶性肿瘤之一, 其发病机制错综复杂, 涉及遗传、环境及病毒感染等多重因素。随着基因编辑技术的迅猛发展, 基因编辑小鼠肝癌模型在模拟肝癌病理、筛选药物靶点及深入阐明发病机制方面展现出巨大潜力。本研究综述了近年来基因编辑小鼠肝癌模型的研究进展, 涵盖了基因敲入小鼠肝癌模型、基因敲除小鼠肝癌模型、肝脏特异性基因敲除小鼠肝癌模型以及水动力转染小鼠肝癌模型等, 旨在深入理解基因编辑与肝癌发生发展之间的内在联系, 并为肝癌的发病机制研究及预防治疗提供研究工具和新思路。

关键词 肝癌; 基因编辑; 小鼠; 动物模型

中图分类号: R735.7 文献标志码: A 文章编号: 1005-930X(2025)01-0155-08

DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2025.01.020

Advances in gene-edited mouse models of liver cancer

YANG Lichao^{1,2}, OU Meizhen¹, LI Yingqi¹, ZHANG Qi¹, WU Weicheng³, HE Min^{1,2,3,4,5}. (1. Laboratory Animal Center, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Early Prevention and Treatment for Regional High Frequency Tumor, Nanning 530021, China; 3. School of Public Health, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 4. State Key Laboratory of Targeting Oncology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 5. Key Laboratory of Early Prevention and Treatment for Regional High Frequency Tumor [Guangxi Medical University], Ministry of Education, Nanning 530021, China)

Abstract Liver cancer is one of the malignant tumors with extremely high fatality rates worldwide. Its pathogenesis is complex and involves multiple factors such as genetics, environment, and viral infections. With the rapid development of gene editing technology, gene-edited mouse liver cancer models have shown great potential in simulating liver cancer pathology, screening drug targets, and deeply exploring the pathogenesis. This study reviews the research progress of gene-edited mouse liver cancer models in recent years, covering transgenic mouse liver cancer models, gene knockout mouse liver cancer models, liver-specific gene knockout mouse liver cancer models, and liver cancer models constructed by high-pressure hydrodynamic transfection, aiming to deeply understand the intrinsic connection between gene editing and the occurrence and development of liver cancer and provide research tools and new ideas for the study of the pathogenesis and prevention and treatment of liver cancer.

Keywords liver cancer; gene editing; mouse; animal model

肝癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一。肝癌具有死亡率高、预后差, 转移能力强, 复发率高等特点, 其中肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma,

HCC) 是肝癌中最常见的一种类型。肝癌因其复杂的发病机制、高度异质性和治疗挑战而备受关注。为了更好地理解肝癌的发病机制、探索新的治疗策

[基金项目] 广西重点研发项目资助(No. 桂科 AB24010127); 国家自然科学基金项目资助(No. 32000865); 广西自然科学基金项目资助(No. 2023GXNSFBA026251)

[通信作者] 何敏, E-mail: hemin@gxmu.edu.cn

[收稿日期] 2024-07-29

略以及提高患者的生存率,建立可靠的肝癌动物模型显得尤为重要。肝癌动物模型作为连接基础研究与临床应用的桥梁,为我们提供了一个可控、可重复且能够模拟人类肝癌发生发展全过程的重要工具。肝癌动物模型对于深入研究肝癌的分子机制、细胞信号通路以及肿瘤与宿主之间的相互作用,从而揭示肝癌的本质具有重要意义。

近年来,许多肝癌动物模型被用于研究肝癌发病机制、筛选鉴定潜在药物靶点以及开展临床前研究,主要包括化学诱发肝癌模型、移植瘤肝癌模型、基因编辑动物肝癌模型等。基因编辑技术的发展为基因编辑动物模型带来了前所未有的机遇。CRISPR/Cas9技术的出现,使得基因编辑变得更加高效、简便和精确^[1-2]。与传统的锌指核酸酶(ZFNs)和转录激活因子样效应核酸酶(TALENs)等基因编辑方法相比,CRISPR/Cas9技术显著降低了设计难度和实验成本,提高了基因编辑的效率和准确性。在建立肝癌动物模型时,通过基因编辑技术可以精确模拟人类基因改变诱导肝癌发生发展的过程,从而更准确地研究肝癌的发病机制和防治方法。本文通过综述现有的基因编辑肝癌动物模型,以期对肝癌研究提供思路和参考。

1 全身性基因编辑小鼠肝癌模型

1.1 基因敲入小鼠肝癌模型

经典基因敲入小鼠是将肝癌相关的促癌基因或病毒编码基因等通过显微注射导入小鼠受精卵,建立基因敲入小鼠模型(表1)。乙型肝炎病毒(HBV)和丙型肝炎病毒(HCV)感染是导致肝癌的重要原因^[3]。乙型肝炎病毒X蛋白(HBx)作为HBV感染后最常整合的病毒基因序列,在肝癌的发病过程中起关键作用。Kim等^[4]将HBx亚型*adr* DNA片段显微注射到CD1小鼠的胚胎获得HBx转基因小鼠,4个月龄通过肝脏组织学检查发现肝细胞存在多病灶改变,8~10个月龄转基因小鼠开始出现肿瘤结节。Moriya等^[5]将包含整个HCV核心基因的cDNA片段转入C57BL/6小鼠,该小鼠16个月龄出现肝脏肿瘤,呈现慢性HCV感染早期肝癌的病理特征。在肝癌进展过程中,基因突变的积累往往驱动了肝癌发生,促进了致癌过程,最终发展成为肝癌。肝脏特异性表达Alb启动子融合*c-Myc*和转化生长因子 α (*TGF α*)共表达的双转基因小鼠在8个月龄时雄性肝癌发生率为100%,雌性肝癌发生率为30%,且双转基因小鼠比单独过表达*c-Myc*或*TGF α* 的小鼠更早发生肝癌^[6]。

表1 基因敲入小鼠肝癌模型

动物品系规格	涉及基因	建模周期/月	表型	参考文献
C11 H9	<i>HBx gene</i>	8~10	C11品系90.5%(19/21)雄性小鼠以及60.0%(12/20)雌性小鼠出现肝肿瘤;H9品系80.0%(8/10)雄性小鼠以及66.7%(4/6)雌性小鼠出现肝肿瘤	[4]
C57BL/6	<i>HCV core gene</i>	16	雄性和大约50%的雌性转基因小鼠在6个月大时出现肝脏脂肪变性;转基因小鼠在16~19个月大时出现肝结节	[5]
C57BL/6J×CBA/J	<i>c-Myc</i> <i>TGFα</i>	8	早期(2~3个月龄)表现为由增生性和发育不良细胞群组成的多发局灶性病变,14~18个月表现为肝细胞瘤	[6]
C57BL/6	<i>HBsAg</i> <i>HBx</i>	15~24	p21HBsAg雄性杂合子53.3%(8/15)和p21HBsAg纯合子72.7%(8/11)转基因小鼠在15~24个月龄期间发生肝脏肿瘤,雌性小鼠在相同月龄未发生肿瘤	[7]

1.2 基因敲除小鼠肝癌模型

基因敲除小鼠肝癌模型通过精准地敲除与肝癌相关的特定基因,具有较高的遗传稳定性,常见的基因敲除小鼠肝癌模型见表2。近年研究表明microRNA(miRNA)的异常表达与HCC的发生和进展有关^[8]。*miR-122*是一种丰富的肝脏特异性miRNA,可调节胆固醇代谢并促进HCV复制。

*miR-122*敲除小鼠在成年早期会发生微脂肪变性和肝脏炎症,模型揭示了*miR-122*在维持肝脏稳态中的关键功能^[9]。脂肪变性可能进一步进展为肝纤维化、肝硬化,最终可能发展为肝癌,某些基因敲除小鼠肝癌模型早期可呈现脂肪变性的特征,如*Mdr2*敲除小鼠*Mdr2*^{-/-}^[10]、*Aox*敲除小鼠*Aox*^{-/-}^[11]、*Acox1*敲除小鼠*Acox*^{-/-}^[12]、甘氨酸-N-甲基转移酶(*Gnmt*)敲除

小鼠 *Gnmt*^{-/-}[13-14]、*nSMase2* 敲除小鼠 *nSMase2* (*fro/fro*)^{-/-}等,其中 *Mdr2* 也称为 *Abcb4*,是一种位于肝细胞膜上的磷脂转运蛋白,属于 ATP 结合盒(ABC)转运蛋白家族。*Mdr2* 的主要功能是将磷脂从肝细胞的内小叶膜转运到胆小管膜,利用 *Mdr2* 基因敲除小鼠 *Mdr2*^{-/-} 研究肝癌发生前的分子事件,发现肝脏疾病早期阶段诱导的一些保护肝脏免受损伤的适应性机制可能在疾病晚期的肝癌发生中起作用^[10]。*Gnmt* 是肝脏将过量 S-腺苷甲硫氨酸(SAMe)分解代谢的主要酶。Martínez-Chantar 等^[13]发现 *Gnmt*^{-/-} 小鼠 8 个月龄时血清转氨酶、蛋氨酸和 SAMe 升高,出现多病灶 HCC。某些基因敲除小鼠为阐明该基因

在肝癌发生发展过程中的关键调控信号通路发挥了重要的作用,如 Farnesoid X 受体(Fxr)敲除小鼠 *Fxr-KO* 肝脏中 Wnt/ β -catenin 激活导致肝癌发生^[6], *pp2r5d* 基因编码 PP2A 调控 B56 δ 亚基, *pp2r5d* 敲除小鼠可能由于 b56 δ 驱动的 GSK-3 β 失活导致 c-Myc 活性异常导致肝癌易感^[17], *Cfh* 敲除小鼠揭示了在缺乏 *Cfh* 的情况下,补体替代途径激活会导致慢性炎症并促进肝癌发生^[18]。由于从受精卵开始进行基因敲除可能会影响小鼠生长发育,甚至因胚胎致死无法存活,因此用于构建肝癌模型的基因敲除小鼠通常为单基因敲除,不适于进行多基因的系统性敲除。

表2 基因敲除小鼠肝癌模型

动物品系规格	敲除基因	建模周期/月	表型	参考文献
C57BL/6J	<i>miR-122</i>	11	雄性(10/20)和雌性(9/19)小鼠均出现HCC,每只小鼠观察到1~12个肉眼可见肿瘤,血清ALT、ALP、胆汁酸和GGT水平显著升高	[9]
FVB/NJ	<i>Mdr2</i>	12	大多数 <i>Mdr2-KO</i> 小鼠肝脏有一个或两个可见的脂肪变性结节,直径为1~3 mm	[10]
C57BL/6J Female	<i>Aox</i>	15	37.9%(11/29)的 <i>Aox</i> ^{-/-} 小鼠出现HCC	[11]
C57BL/6J Female	<i>Acox1</i>	12	形成肝癌并呈现出脂肪变性和肝细胞的死亡	[12]
C57BL/6	<i>Gnmt</i>	8	所有 <i>Gnmt-KO</i> 小鼠 ($n=10$) 均发生HCC,肝索厚达5个细胞 50%(3/6)的雄性 <i>Gnmt</i> ^{-/-} 小鼠在17个月龄时发生HCC, 100%(7/7)的雌性 <i>Gnmt</i> ^{-/-} 小鼠在16.5个月龄时发生HCC	[13] [14]
C3H/C57BL/6 Male	<i>nSMase2</i>	18	27.3%(9/33)的雄性敲除小鼠出现HCC肿瘤切片的HE染色显示许多大小不一、界限清楚的增殖结节,肿瘤内细胞增生明显,淋巴细胞沿门静脉浸润	[15]
C57BL/6J Female	<i>Fxr</i>	14	100%(17/17)的 <i>Fxr-KO</i> 小鼠出现HCC,肝脏结构严重紊乱,肝脏中存在无组织透明细胞、高度嗜酸性细胞和肿瘤中的炎症细胞	[16]
C57BL/6J Female	<i>pp2r5d</i>	12	17%(7/37)的 <i>pp2r5d</i> 敲除小鼠12个月出现HCC,呈现细胞核异常,嗜酸性细胞质,细胞核深染,小梁结构丧失等病理表现	[17]
C57BL/6J Female	<i>Cfh</i>	15	54%(19/35) <i>Cfh</i> 敲除小鼠出现HCC	[18]

2 肝脏特异性基因编辑小鼠肝癌模型

2.1 基于 Cre-LoxP 重组酶系统的肝脏特异性基因敲除小鼠肝癌模型

全身性或系统性将抑癌基因敲除可能导致多个器官组织异常诱发肿瘤,不仅影响对特定表型的精确分析,甚至会由于胚胎致死小鼠无法存活。Cre-LoxP 系统能够实现组织特异性或者时空特异性地诱导原癌基因的表达或灭活肿瘤抑制基因^[19], Cre 重组酶在肝脏特定启动子的控制下表达,进而识别并切割含有 LoxP 位点的目标 DNA 序列,该系统的高效性和精确性为肝癌发病机制的提供了有

力的工具^[20]。肝脏特异性基因敲除小鼠肝癌模型见表3。抑癌基因 *Apc* 在肿瘤发生和 Wnt/ β -catenin 激活中起着关键作用^[21]。*Pten* 是一种多功能磷酸酶,其脂质磷酸酶活性与肿瘤抑制有关,约半数肝癌患者中 *Pten* 表达水平降低或缺失。*Pten* 缺失通过激活丝氨酸/苏氨酸激酶(AKT)介导的 Tsc1 和 Tsc2 复合物抑制 mTOR 促进 HCC,敲除 *Pten* 能促进肝癌的增殖和转移^[22]。肝脏特异性敲除小鼠中双基因敲除和三基因敲除小鼠由于多基因的联合效果通常能加快肝癌建模周期。*Pten* 基因肝细胞特异性单独敲除小鼠 *Pten*^{loxP/loxP}; *Alb-Cre* 在 10 个月才出现肝脏肿瘤^[23], *Tsc1* 基因肝细胞特异性敲除小鼠 *Tsc1*^{fl/fl}; *Alb-Cre* 14 个月才发生 HCC^[24], 而肝脏特异性双敲

除 *Tsc1* 和 *Pten* 的小鼠 *Tsc1^{loxP/loxP}*; *Pten^{loxP/loxP}* 在 12 周龄即出现肝癌^[25]。与 *Pten* 敲除联合构建的双敲除小鼠品系还有 *Smad4^{co/co}*; *Pten^{co/co}*; *Alb-Cre^[26]* 和 *Pten/Scap^{AL[27]}*, 均比单独敲除 *Pten* 的小鼠肝癌建模成功周期短。在 小鼠中, 由于 *Tsc1* 缺失而激活 mTORC1 或由于 *Atg5* 缺失引起肝自噬缺陷可导致自发性肝肿瘤发生。所有的 L-*Atg5* KO 和 L-*Tsc1* KO 小鼠在 12 个月时均出现了肝肿瘤, 其中大多数 L-*Atg5* KO (83%) 和 L-*Tsc1* KO (57%) 小鼠在 9 个月时出现肿瘤。而 L-*Atg5/Tsc1/p62* TKO 三敲除小鼠在 6 个月时就出现了肝肿瘤, 并且在 12 个月时仍持续存在^[28]。

TGF-β-活化激酶 1 (Tak1) 是 MAP3K 家族成员, 通过 toll 样受体和 IL-1、TNF-α、TGF-β 受体激活 NF-κB 和 JNK。肝细胞特异性 *Tak1* 敲除小鼠 *Tak1^{AHEP}* 在 1 月龄时即表现出自发性肝细胞死亡、代偿性增殖、炎症细胞浸润和肝窦周围纤维化。老龄 *Tak1^{AHEP}* 小鼠发展为多发肝癌结节^[29]。

综上所述, 基因敲除和敲入小鼠肝癌模型靶向的基因众多, 其诱发肝癌的机制也各有不同(图 1), 研究者可根据自身的实验需要选择合适的基因进行敲入和敲除来构建肝癌模型。

表 3 肝脏特异性基因敲除小鼠肝癌模型

动物品系规格	基因	建模周期/月	表型	参考文献
<i>Apc^{lox/lox}</i>	<i>Apc</i>	8~9	67%的小鼠在 Cre 重组酶处理后的 8~9 个月内出现了显著的肝脏肿瘤	[21]
<i>Pten^{loxP/loxP}</i> ; <i>Alb-Cre</i> Male	<i>Pten</i>	10	所有纯合子雄鼠出现 HCC, 肿瘤体积 ≥ 7.5 mm ³ ; 杂合子雄鼠未出现肿瘤	[23]
<i>Tsc1^{fl/fl}</i> mice <i>Alb-Cre</i> mice	<i>Tsc1</i>	14	L-Tsc1KO 小鼠在 6 个月时没有检测到肿瘤, 68.89% (31/45) 在 10~14 个月时自发发生 HCC, 多灶性肿瘤随机分布于所有肝叶	[24]
<i>Smad4^{co/co}</i> ; <i>Pten^{co/co}</i> ; <i>Alb-Cre</i>	<i>Smad4</i> <i>Pten</i>	12	2~3 个月大时开始出现增生, 大约 22% (2/9) 的小鼠在 5~6 个月大时发生胆管癌, 部分小鼠在 1 年后发生 HCC	[26]
<i>Pten^{AL}</i> <i>Pten/Scap^{AL}</i>	<i>Pten</i> <i>Scap</i>	7	5 个月出现严重的肝纤维化, 7 个月发生了肝癌	[27]
<i>Atg5^{Flox/Flox}</i> <i>Tsc1^{F/F}</i> <i>Alb-Cre</i>	<i>Atg5</i> <i>Tsc1</i> <i>p62</i>	6~12	在 8 个月龄时, DKO 小鼠开始死亡, 肝脏 HE 染色分析显示未形成肿瘤, 但囊性样阳性腺体结构严重。在 9 个月龄时, 超过 80% 的 L- <i>Atg5</i> KO 和 50% 的 L- <i>Tsc1</i> KO 小鼠发生自发性肿瘤, 在 12 个月龄时, 所有 L- <i>Atg5</i> KO 和 L- <i>Tsc1</i> KO 小鼠发生肿瘤	[28]
<i>Tak1^{AHEP}</i> <i>Tak1^{AHEP}</i> ; <i>Ripk1^{D138N/D138N}</i>	<i>Ripk1</i> <i>Tak1</i>	9~10	在 4 周龄时, <i>Tak1^{AHEP}</i> 小鼠的肝脏中发现了小但肉眼可见的结节, 6 周龄时数量和大小增加, 在 12 周龄时发展成可见的小肿瘤。大多数 <i>Tak1^{AHEP}</i> 小鼠在 9~10 月龄时表现出明显的肝肿瘤; 相比之下, <i>Tak1^{AHEP}</i> ; <i>Ripk1^{D138N/D138N}</i> 小鼠的肝脏肿瘤较少	[29]

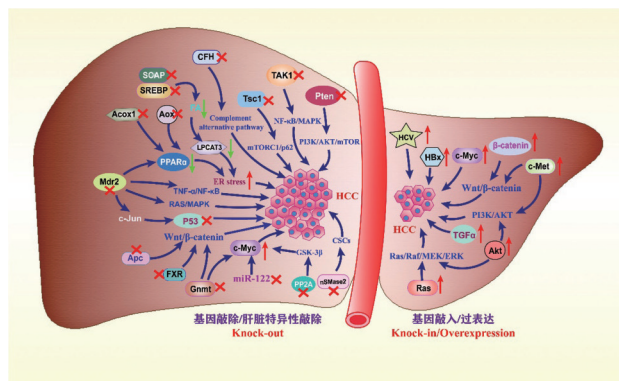


图 1 敲除和敲入小鼠肝癌模型靶向的基因诱发肝癌的机制

2.2 基于高压水动力转染的肝脏基因编辑小鼠肝癌模型

水动力转染小鼠肝癌模型由于操作简便、效率高, 能够快速产生肿瘤, 极大缩短了研究周期, 已成为研究肝癌发病机制和评估基因治疗策略的重要工具。水动力转染与 CRISPR/Cas9 联用可实现肝脏抑癌基因的敲除, 与睡美人转座子联用可实现促癌基因的靶向肝脏过表达。水动力转染肝癌模型较常转染的目的基因有 *c-Met*、*myr*、*AKT*、*c-Myc*、*Cyclin D1* 和 *N90-β-catenin* 等(图 2), 洪昕等^[30]对高压水动力转染技术在构建小鼠肝癌模型中的应用及

其研究进展进行了全面深入的综述。本研究主要聚焦 2021 年以来的水动力转染小鼠肝癌模型最新进展(表 4)。c-Myc 是一种转录因子,c-Myc 的扩增和过度表达可以促进肝癌的发生和发展,通过激活或抑制多个生物学过程的关键基因,参与肝癌的多个阶段。β-连环蛋白(β-catenin)是一种多功能的蛋白质,主要位于细胞膜上,N90-β-catenin 与肿瘤的发生发展密切相关。另外,p53 作为一种肿瘤抑制蛋白,是一种在正常细胞的细胞核中几乎无法检测到的磷蛋白^[31],其失活突变广泛存在于 HCC 中,作为一种重要的肿瘤抑制因子,诱导细胞凋亡、细胞周期阻滞和衰老。抑癌基因 Pten 的缺失引起细胞异常增殖和迁移,进而促进肿瘤的发生^[32]。水动力转染小鼠肝癌模型中,基于睡美人转座子过表达促癌基因 c-Myc 和 N90-β-catenin^[33] 以及利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术敲除抑癌基因 Pten 和 p53 是肝癌模型最常用的建模策略^[34-35]。目前已有多种基因组合的水动力转染肝癌模型构建成功^[36-45],水动力转染模型可同时转入多个促癌基因或敲除多个抑

癌基因,以模拟人类肝癌发生过程中的多基因突变现象。这种不同基因组合搭配建立模型的灵活性使得模型能够更准确地反映肝癌的复杂性和多样性。同时,该模型具有较高的造模成功率,较短的建模周期,避免了构建基因工程小鼠的高昂成本,显著降低了实验所需的小鼠数量,从而极大地节省了科研经费和时间。

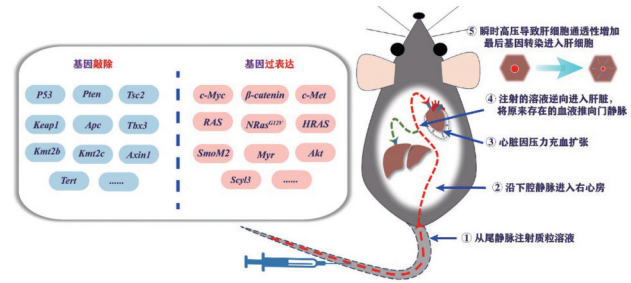


图2 水动力转染小鼠肝癌模型的原理及常用过表达/敲除基因

表4 水动力转染小鼠肝癌模型

动物品系规格	过表达基因	敲除基因	建模周期	表型	参考文献
8周龄 C57BL/6	c-Myc	p53	3~5周	Trp53 ^{KO} /c-Myc ^{OE} 小鼠在3~5周内出现肝脏肿瘤,注射抗PD1并没有减缓肿瘤的发展	[35]
6周龄 C57BL/6	c-Myc RAS β-catenin SmoM2	p53	5~50周	同时表达β-cateninS33Y或SmoM2和c-Myc的小鼠没有发生肝脏肿瘤,但在同时表达shp53和c-Myc的小鼠中,约有40%发现肝脏肿瘤。同时表达HRASG12V和c-Myc的小鼠5周就开始出现异常,该组所有小鼠中都观察到肝脏肿瘤	[36]
8~12周龄 C57BL/6	HRAS Myc	p53	3个月	HRAS在野生型和纯合子p53-KO小鼠中均诱导了肝脏肿瘤,在HRAS/Myc诱导的肿瘤中,纯合子p53-KO小鼠比杂合子p53-KO小鼠的去分化更明显	[37]
5.5~6.5周龄 FVB/N	c-Met β-catenin	Tbx3	6~10周	Tbx3 ^{flax/flax} 小鼠注射c-Met/β-catenin/pCMV后8~10周内肝脏出现肿瘤,注射c-Met/β-catenin/Cre后6周内监测出现肿瘤	[38]
8~10周龄雄性 C57BL/6	Myc	Trp53 Pten Tsc2 Keap1 Apc	6~12周	Trp53 ^{KO} /Myc ^{OE} 、Keap1 ^{KO} /Myc ^{OE} 、Pten ^{KO} /Myc ^{OE} 、Tsc2 ^{KO} /Myc ^{OE} 均100%发生HCC、Apc ^{KO} /Myc ^{OE} 10~12周40%发生HCC	[39]
6周龄 C57BL/6	Myc β-catenin (CTNNB1)	Tp53 Kmt2b Kmt2c Pten Axin1 Tert	6个月	在验证的23对基因编辑组合中,有9对在6个月内有20%以上产生肝脏肿瘤:Myc;sg-p53、Myc;sg-Kmt2b、Myc;sg-Kmt2c、Myc;sg-Pten、Myc;CTNNB1、Myc;sg-Axin1、CTNNB1;sg-Pten、CTNNB1;Tert、Myc;Tert	[40]
6~8周龄 C57BL/6J	NRas ^{G12V}		3个月	野生型小鼠在NRAS ^{G12V} 水动力注射后3个月60只小鼠中有22只(36.7%)就检测到肉眼可见的肝脏肿瘤	[41]
6~8周龄 C57BL/6J	Scyl3 Myc	Tp53		与对照组c-Myc/sgTp53相比,c-Myc/sgTp53/Scyl3-OE组肿瘤结节数量增加,肿瘤侵袭性更强、不规则性更强	[42]
8~10周龄 C57BL/6	Myc	Keap1		HFD促进肝脏脂质积累,而Keap1-KO导致Nrf2激活,产生高侵袭性小鼠HCC模型	[43]
8周龄 C57BL/6 N	c-Myc PUS1	p53	5.5周	过表达PUS1可显著加速p53 ^{KO} /c-Myc ^{OE} 小鼠肿瘤的形成,而敲除PUS1则可减缓肿瘤的形成	[44]
8~12周龄 C57BL/6	Akt1 N-Ras ^{G12V}		4~6周	转染6周后小鼠肝脏明显增大,肿瘤负担加重	[45]

3 小结与展望

借助基因编辑技术的强大力量,我们能够精准地激活或抑制小鼠体内的特定基因,这些基因或是促进癌症发展的,或是抑制肿瘤形成的,从而在小鼠模型中模拟出促癌/抑癌基因改变导致的肝癌相关信号通路变化,成功诱导出与人类肝癌高度相似的病理变化,更有利于模拟肝癌病理和研究肝癌发病机制。某些形成品系的基因编辑小鼠具有良好的可重复性和可控性,使得实验结果更加可靠、稳定,这种模型在药物筛选和治疗效果评估方面具有重要应用价值。

随着基因编辑技术的不断进步,未来将会有靶向更精准的个性化基因编辑肝癌模型被研发,其不仅能够模拟肝癌的遗传异质性,还能考虑到肿瘤微环境、免疫反应等复杂因素的影响。此外,结合高通量筛选和多组学技术,基因编辑肝癌模型将极大地加速药物发现和精准医疗的进程,为肝癌研究提供更强大的工具。

参考文献:

- [1] PLATT R J, CHEN S D, ZHOU Y, et al. CRISPR-Cas9 knockin mice for genome editing and cancer modeling[J]. *Cell*, 2014, 159(2): 440-455.
- [2] XUE W, CHEN S D, YIN H, et al. CRISPR-mediated direct mutation of cancer genes in the mouse liver[J]. *Nature*, 2014, 514(7522): 380-384.
- [3] CAPASSO M, COSSIGA V, GUARINO M, et al. The role of hepatitis viruses as drivers of hepatocarcinogenesis[J]. *Cancers*, 2024, 16(8): 1505.
- [4] KIM C M, KOIKE K, SAITO I, et al. HBx gene of hepatitis B virus induces liver cancer in transgenic mice[J]. *Nature*, 1991, 351(6324): 317-320.
- [5] MORIYA K, FUJIE H, SHINTANI Y, et al. The core protein of hepatitis C virus induces hepatocellular carcinoma in transgenic mice[J]. *Nature medicine*, 1998, 4(9): 1065-1067.
- [6] MURAKAMI H, SANDERSON N D, NAGY P, et al. Transgenic mouse model for synergistic effects of nuclear oncogenes and growth factors in tumorigenesis: interaction of c-myc and transforming growth factor alpha in hepatic oncogenesis[J]. *Cancer research*, 1993, 53(8): 1719-1723.
- [7] WANG Y L, CUI F, LV Y X, et al. HBsAg and HBx knocked into the p21 locus causes hepatocellular carcinoma in mice[J]. *Hepatology*, 2004, 39(2): 318-324.
- [8] FORNARI F, GRAMANTIERI L, CALLEGARI E, et al. MicroRNAs in animal models of HCC[J]. *Cancers*, 2019, 11(12): 1906.
- [9] HSU S H, WANG B, KOTA J, et al. Essential metabolic, anti-inflammatory, and anti-tumorigenic functions of miR-122 in liver[J]. *The journal of clinical investigation*, 2012, 122(8): 2871-2883.
- [10] KATZENELLENBOGEN M, PAPP O, BARASH H, et al. Multiple adaptive mechanisms to chronic liver disease revealed at early stages of liver carcinogenesis in the Mdr2-knockout mice[J]. *Cancer research*, 2006, 66(8): 4001-4010.
- [11] FAN C Y, PAN J, USUDA N, et al. Steatohepatitis, spontaneous peroxisome proliferation and liver tumors in mice lacking peroxisomal fatty acyl-CoA oxidase. Implications for peroxisome proliferator-activated receptor alpha natural ligand metabolism[J]. *The journal of biological chemistry*, 1998, 273(25): 15639-15645.
- [12] HUANG J S, VISWAKARMA N, YU S T, et al. Progressive endoplasmic reticulum stress contributes to hepatocarcinogenesis in fatty acyl-CoA oxidase 1-deficient mice [J]. *The American journal of pathology*, 2011, 179(2): 703-713.
- [13] MARTÍNEZ-CHANTAR M L, VÁZQUEZ-CHANTADA M, ARIZ U, et al. Loss of the glycine N-methyltransferase gene leads to steatosis and hepatocellular carcinoma in mice[J]. *Hepatology*, 2008, 47(4): 1191-1199.
- [14] LIAO Y J, LIU S P, LEE C M, et al. Characterization of a glycine N-methyltransferase gene knockout mouse model for hepatocellular carcinoma: implications of the gender disparity in liver cancer susceptibility[J]. *International journal of cancer*, 2009, 124(4): 816-826.
- [15] ZHONG L S, KONG J N, DINKINS M B, et al. Increased liver tumor formation in neutral sphingomyelinase-2-deficient mice[J]. *Journal of lipid research*, 2018, 59(5): 795-804.
- [16] WOLFE A, THOMAS A, EDWARDS G, et al. Increased activation of the Wnt/ β -catenin pathway in spontaneous hepatocellular carcinoma observed in farnesoid X receptor knockout mice[J]. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 2011, 338(1): 12-21.
- [17] LAMBRECHT C, LIBBRECHT L, SAGAERT X, et al.

- Loss of protein phosphatase 2A regulatory subunit B56 δ promotes spontaneous tumorigenesis in vivo[J]. *Oncogene*, 2018, 37(4): 544-552.
- [18] LASKOWSKI J, RENNER B, PICKERING M C, et al. Complement factor H-deficient mice develop spontaneous hepatic tumors[J]. *The journal of clinical investigation*, 2020, 130(8): 4039-4054.
- [19] REGUA A T, ARRIGO A, DOHENY D, et al. Transgenic mouse models of breast cancer[J]. *Cancer letters*, 2021, 516: 73-83.
- [20] KANEGAE Y, LEE G, SATO Y, et al. Efficient gene activation in mammalian cells by using recombinant adenovirus expressing site-specific Cre recombinase[J]. *Nucleic acids research*, 1995, 23(19): 3816-3821.
- [21] COLNOT S, DECAENS T, NIWA-KAWAKITA M, et al. Liver-targeted disruption of Apc in mice activates beta-catenin signaling and leads to hepatocellular carcinomas [J]. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 2004, 101(49): 17216-17221.
- [22] ZHOU X L, LI R B, JING R W, et al. Genome-wide CRISPR knockout screens identify ADAMTSL3 and PTEN genes as suppressors of HCC proliferation and metastasis, respectively[J]. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 2020, 146(6): 1509-1521.
- [23] ENGEL B J, PAOLILLO V, UDDIN M N, et al. Gender differences in a mouse model of hepatocellular carcinoma revealed using multi-modal imaging[J]. *Cancers*, 2023, 15(15): 3787.
- [24] LI T, ZHANG G H, WANG L L, et al. Defects in mTORC1 network and mTORC1-STAT3 pathway cross-talk contributes to non-inflammatory hepatocellular carcinoma[J]. *Frontiers in cell and developmental biology*, 2020, 8: 225.
- [25] GURI Y, COLOMBI M, DAZERT E, et al. mTORC2 promotes tumorigenesis via lipid synthesis[J]. *Cancer cell*, 2017, 32(6): 807-823.e12.
- [26] ZHAO M, QUAN Y Y, ZENG J M, et al. Cullin3 deficiency shapes tumor microenvironment and promotes cholangiocarcinoma in liver-specific Smad4/Pten mutant mice[J]. *International journal of biological sciences*, 2021, 17(15): 4176-4191.
- [27] KAWAMURA S, MATSUSHITA Y, KUROSAKI S, et al. Inhibiting SCAP/SREBP exacerbates liver injury and carcinogenesis in murine nonalcoholic steatohepatitis[J]. *The Journal of clinical investigation*, 2022, 132(11): e151895.
- [28] CHAO X J, WANG S G, FULTE S, et al. Hepatocytic p62 suppresses ductular reaction and tumorigenesis in mouse livers with mTORC1 activation and defective autophagy [J]. *Journal of hepatology*, 2022, 76(3): 639-651.
- [29] TAN S X, ZHAO J, SUN Z Y, et al. Hepatocyte-specific TAK1 deficiency drives RIPK1 kinase-dependent inflammation to promote liver fibrosis and hepatocellular carcinoma[J]. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 2020, 117(25): 14231-14242.
- [30] 洪 昕, 高铭舒, 许小君, 等. 基于高压水动力注射基因转染法构建小鼠原发性肝癌模型的方法及研究进展[J]. *中国癌症防治杂志*, 2022, 8(4): 363-369.
- [31] BENCHIMOL S, PIM D, CRAWFORD L. Radioimmunoassay of the cellular protein p53 in mouse and human cell lines[J]. *The EMBO journal*, 1982, 1(9): 1055-1062.
- [32] KHALID A, HUSSAIN T, MANZOOR S, et al. PTEN: a potential prognostic marker in virus-induced hepatocellular carcinoma[J]. *Tumour biology*, 2017, 39(6): 1010428317705754.
- [33] TWARD A D, JONES K D, YANT S, et al. Distinct pathways of genomic progression to benign and malignant tumors of the liver[J]. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 2007, 104(37): 14771-14776.
- [34] LIU Y Z, QI X W, ZENG Z Z, et al. CRISPR/Cas9-mediated p53 and Pten dual mutation accelerates hepatocarcinogenesis in adult hepatitis B virus transgenic mice[J]. *Scientific reports*, 2017, 7(1): 2796.
- [35] CHIU D K C, YUEN V W H, CHEU J W S, et al. Hepatocellular carcinoma cells up-regulate PVRL1, stabilizing PVR and inhibiting the cytotoxic T-cell response via TIGIT to mediate tumor resistance to PD1 inhibitors in mice[J]. *Gastroenterology*, 2020, 159(2): 609-623.
- [36] MOON H, PARK H, RO S W. C-myc-driven hepatocarcinogenesis[J]. *Anticancer research*, 2021, 41(10): 4937-4946.
- [37] LIU Y, XIN B, YAMAMOTO M, et al. Generation of combined hepatocellular-cholangiocarcinoma through transdifferentiation and dedifferentiation in p53-knockout mice [J]. *Cancer science*, 2021, 112(8): 3111-3124.
- [38] LIANG B Y, ZHOU Y, QIAN M N, et al. TBX3 functions as a tumor suppressor downstream of activated CTNNB1 mutants during hepatocarcinogenesis[J]. *Journal of hepa-*

- tology, 2021, 75(1): 120-131.
- [39] YUEN V W H, CHIU D K C, LAW C T, et al. Using mouse liver cancer models based on somatic genome editing to predict immune checkpoint inhibitor responses[J]. Journal of hepatology, 2023, 78(2): 376-389.
- [40] MOLINA-SÁNCHEZ P, DE GALARRETA M R, YAO M A, et al. Cooperation between distinct cancer driver genes underlies intertumor heterogeneity in hepatocellular carcinoma[J]. Gastroenterology, 2020, 159(6): 2203-2220.e14.
- [41] KLEMM S, EVERT K, UTPATEL K, et al. Identification of DUSP4/6 overexpression as a potential rheostat to NRAS-induced hepatocarcinogenesis[J]. BMC cancer, 2023, 23(1): 1086.
- [42] LEI M M L, LEUNG C O N, LAU E Y T, et al. SCYL3, as a novel binding partner and regulator of ROCK2, promotes hepatocellular carcinoma progression[J]. JHEP reports, 2023, 5(1): 100604.
- [43] CHEU J W S, LEE D, LI Q D, et al. Ferroptosis suppressor protein 1 inhibition promotes tumor ferroptosis and anti-tumor immune responses in liver cancer[J]. Cellular and molecular gastroenterology and hepatology, 2023, 16(1): 133-159.
- [44] HU Y X, DIAO L T, HOU Y R, et al. Pseudouridine synthase 1 promotes hepatocellular carcinoma through mRNA pseudouridylation to enhance the translation of oncogenic mRNAs[J]. Hepatology, 2024, 80(5): 1058-1073.
- [45] CHEN Z H, ZHU W J, ZHU S H, et al. METTL1 promotes hepatocarcinogenesis via m⁷G tRNA modification-dependent translation control[J]. Clinical and translational medicine, 2021, 11(12): e661.

本文引用格式:

杨丽超, 欧美珍, 李盈琪, 等. 基因编辑小鼠肝癌模型的研究进展[J]. 广西医科大学学报, 2025, 42(1): 155-162.

DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2025.01.020

YANG L C, OU M Z, LI Y Q, et al. Advances in gene-edited mouse models of liver cancer [J]. Journal of Guangxi medical university, 2025, 42(1): 155-162. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2025.01.020