

# 眼眶弥漫大 B 细胞淋巴瘤裸鼠模型的建立

李诗韵 孙丰源

**【摘要】** 背景 近年来眼眶淋巴瘤的发病率逐渐升高,在病理特点、治疗方法以及发病机制方面的研究不断深入。由于眼眶淋巴瘤发病率低,体外培养困难,眼眶淋巴瘤裸鼠模型研究的报道较少。目的 应用细胞系 pfeiffer 建立弥漫大 B 细胞淋巴瘤 (DLBCL) 眼眶裸鼠模型,比较小鼠淋巴瘤模型与人眼眶 DLBCL 病理标本的病理学特点及生物学行为,探讨全身 DLBCL 细胞系 pfeiffer 用于眼眶淋巴瘤研究的可能性。方法 选用 SPF 级 BALB/c 裸鼠 10 只和 nod-SCID 小鼠 5 只,先用<sup>137</sup>Cs 对 BALB/c 裸鼠(吸收剂量为 3.5 Gy)和 nod-SCID 小鼠(吸收剂量为 2.6 Gy)进行照射,照射后 6 h 内分别进行小鼠眼眶内(BALB/c 小鼠 4 只眼)及皮下注射(BALB/c 小鼠和 nod-SCID 小鼠各 4 只眼)pfeiffer 细胞,接种细胞密度约为  $1.5 \times 10^8$ /ml,即眼眶接种组和皮下接种组。注射后每日观察肿瘤的生长状态,并绘制肿瘤生长曲线。于注射后 54 d 无菌条件下完整取出小鼠眼眶肿瘤和皮下肿瘤及附近淋巴结,制备 4  $\mu$ m 厚组织切片。采用苏木精-伊红染色评估肿瘤的组织病理学特点,采用免疫组织化学法检测模型肿瘤切片中 CD20、CD79 $\alpha$ 、CD45RO 蛋白的表达,并根据 CD10、BCL-6 和 mum-1 的表达进行分型,依据 Ki-67 及 survivin 的表达判断肿瘤的预后,并将模型小鼠的检测结果与人眼眶 DLBCL 病理标本的特点进行比较。结果 眼眶接种组和皮下接种组成瘤率均为 100%,nod-SCID 小鼠的肿瘤生长速度快于 BALB/c 裸鼠。组织病理学检查可见眼眶接种组小鼠邻近淋巴结无肿瘤细胞浸润,皮下接种组小鼠腋窝淋巴结少量肿瘤细胞浸润。苏木精-伊红染色显示,小鼠淋巴瘤组织的组织病理学特点与人眼眶 DLBCL 标本一致。BALB/c 小鼠 CD20 表达强度 <50% 和  $\geq 50%$  的淋巴瘤模型中表达例数分别为 3 和 5,CD79 $\alpha$  分别为 2 和 6,CD45RO 分别为 8 和 0;nod-SCID 小鼠 CD20 表达强度 <50% 和  $\geq 50%$  的淋巴瘤模型中表达例数分别为 1 和 3,CD79 $\alpha$  分别 0 和 4,CD45RO 分别为 4 和 0;与人眼眶 DLBCL 标本的 1 和 2,1 和 2,2 和 1 比较,差异均无统计学意义(均  $P=1.00$ );BALB/c 和 nod-SCID 小鼠淋巴瘤模型与人眼眶 DLBCL 中 Ki-67 和 survivin 表达的例数差异均无统计学意义(均  $P=1.00$ )。BALB/c 小鼠、nod-SCID 小鼠淋巴瘤模型和人眼眶 DLBCL 中依据 CD10、BCL-6 和 mum-1 的表达均分为非生发中心来源型。结论 采用 pfeiffer 细胞系接种法可成功建立眼眶和皮下 DLBCL 的小鼠模型,这些模型肿瘤在生物学行为、病理学特点和免疫组织化学染色方面均一致。Nod-SCID 小鼠较 BALB/c 小鼠接种后肿瘤生长更快。

**【关键词】** 眼眶肿瘤/病理; 非霍奇金淋巴瘤/病理; 细胞系; B 细胞淋巴瘤/免疫; 近交系 BALB/c 小鼠; 近交系 NOD 小鼠; SCID 小鼠; 动物模型

**Establishment of mouse model of orbital diffuse large B cell lymphoma** Li Shiyun, Sun Fengyuan. Tianjin Eye Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Corresponding author: Sun fengyuan, Email: eyesunfy@126.com

**【Abstract】** **Background** Recently, the morbidity of orbital lymphoma increased gradually, and we have made deeper research in pathology, therapy and pathogenesis of the disease. There were few reports of mice model of orbital lymphoma up to now for its lower morbidity and culture difficulty. **Objective** This study was to establish a mouse model of orbital diffuse large B cell lymphoma (DLBCL) by injection of systemic DLBCL cell line pfeiffer.

**Methods** Ten SPF BALB/c mice and 5 nod-SCID mice were radiated firstly using <sup>137</sup>Cs, with the absorption dose 3.5 Gy in the BALB/c mice and 2.6 Gy in the nod-SCID mice, and then pfeiffer cells were intraorbitally injected in 4 eyes of BALB/c mice (orbital injection group) and subcutaneously injected in 4 eyes of BALB/c mice and 4 eyes of nod-SCID mice (subcutaneous injection group) at the concentration of  $1.5 \times 10^8$ /ml. The developing status of tumors were examined once per day and the growth curve was drawn. The tumors and nearby lymph nodes were obtained 54 days after injection for the preparation of 4  $\mu$ m thickness of serial sections. Hematoxylin-eosin staining was used to examine the histopathology of the tumors, and immunohistochemistry was employed to detect the expressions of CD20, CD79 $\alpha$  and CD45RO proteins. The tumors were typed based on the expressions of CD10, BCL-6 and mum-1 in the specimens, and the expressions of Ki-67 and survivin were assayed to assess the prognosis of the tumor. All the results

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.11.005

基金项目:天津市自然科学基金项目(09JCYHJC10500)

作者单位:300070 天津医科大学眼科临床学院(李诗韵,现在解放军第二五四医院眼科);300192 天津市第一中心医院眼科(孙丰源)

通信作者:孙丰源,Email:eyesunfy@126.com

were compared with 3 diagnosed human orbital DLBCL sections. The use and care of the mice complied with Chinese Administration Rule of Laboratory Animal. **Results** The tumor formation rates were 100% in both the orbital injection group and subcutaneous injection group, and the tumors grew much faster in nod-SCID mice than BALB/c mice. Infiltration of tumor cells in lymph nodes were found in the subcutaneous injection group rather than the orbital injection group. The pathological features were accordant among the orbital injection group, subcutaneous injection group and human orbital DLBCL sections. The number of  $<50\%$  and  $\geq 50\%$  CD20<sup>+</sup> specimens was 3 and 5, CD79 $\alpha$  was 2 and 6, CD45RO was 8 and 0 in the BALB/c mice; while that in the nod-SCID mice was 1 and 3 in CD20, 0 and 4 in CD79 $\alpha$ , 4 and 0 in CD45RO; the number of human orbital DLBCL specimens was 1 and 2 in CD20, 1 and 2 in CD79 $\alpha$ , 2 and 1 in CD45RO, without significant differences among them (all at  $P=1.00$ ). No significant differences were seen in Ki-67<sup>+</sup> number and survivin<sup>+</sup> number among the BALB/c mice, nod-SCID mice and human orbital DLBCL specimens (all at  $P=1.00$ ). The detection of CD10, BCL-6 and mum-1 expressions indicated that the tumors of BALB/c mice, nod-SCID mice and human orbital DLBCL specimens all were the non-germinal center B cell-like types. **Conclusions** The orbital and subcutaneous DLBCL mouse models are successfully established by injection of pfeiffer cell line. There are the same findings and features in biological behavior, pathology and immunohistochemistry in orbital, subcutaneous models with human orbital DLBCL. Nod-SCID mice appear to be more suitable for the growth of lymphoma cells.

**[Key words]** Orbital neoplasms/pathology; Lymphoma, non-Hodgkin/pathology; Cell line; Lymphoma, B-cell/immunology; Mice, inbred BALB/c; Mice, inbred NOD; Mice, SCID; Disease model, animal

近年淋巴瘤的发病率有所升高,受到广泛关注,虽然淋巴瘤的临床治疗、病理分型及基础研究均有一定的进展,但其病理类型与治疗及预后的关系尚未明确。眼眶淋巴瘤发病率低,其中 80% 以上为低度恶性淋巴瘤,因此用于临床研究的标本难以获得,体外培养比较困难,给研究工作带来一定困难。动物模型是相关实验研究中常用的研究工具,但国内外未见眼眶淋巴瘤裸鼠模型研究的报道。本研究中采用来自胸腔积液的弥漫大 B 细胞淋巴瘤 (diffuse large B cell lymphoma, DLBCL) 细胞系 pfeiffer, 建立眼眶 DLBCL 的裸鼠模型,并与眼眶 DLBCL 进行生物细胞学比较,探讨其用于眼眶 DLBCL 研究的可行性。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 细胞系** Pfeiffer 细胞系 [美国模式培养物保藏所 (American Type Culture Collection, ATCC)] 来源于 DLBCL 患者的胸腔积液。

**1.1.2 实验动物** SPF 级 BALB/c 裸鼠 10 只, 体质量 17~20 g, SPF 级 nod-SCID 鼠 5 只, 体质量 10~12 g, 均购自天津市血液病研究所动物实验室。鼠龄 4 周, 雌雄兼用, 饲养温度为 25~27 °C, 湿度为 25%~50%。实验动物的饲养管理和实验操作遵循《中国医学科学院血液学研究所血液病医院实验动物管理条例》。

**1.1.3 主要试剂及仪器** RPMI-1640 干粉、二甲基亚砷 (美国 Gibco 公司); 小牛血清 (美国 Hyclone 公司); 鼠抗人 CD20、CD79 $\alpha$ 、CD45RO、CD10、BCL-6、mum-1、Ki-67 单克隆抗体、兔抗人 survivin 多克隆抗体 (工作液) (北京中杉金桥生物技术有限公司)。超低温冰箱 (日本

SANYO 公司); 超净工作台 (珠海市再鑫仪器有限公司); 电热恒温培养箱 (天津市三水科学仪器有限公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 动物模型制备及分组** Pfeiffer 细胞按照 ATCC 提供的方法 37 °C 水浴复苏, RPMI-1640 培养液培养, 每隔 1~2 天更换培养基或传代, 待细胞进入稳定增生状态时, 选取 2~3 代细胞冻存。所有小鼠用 <sup>137</sup>Cs 进行照射, BALB/c 裸鼠吸收剂量为 3.5 Gy, nod-SCID 鼠吸收剂量为 2.6 Gy, 照射后 6 h 内接种肿瘤细胞。采用注射器注射细胞方法在眼眶和皮下接种 pfeiffer 细胞, 眼眶接种组选取 4 只 BALB/c 裸鼠, 皮下接种组选取 4 只 BALB/c 裸鼠和 4 只 nod-SCID 小鼠, 每组设置空白对照, 分别在眼眶和皮下注射等容量 PBS, 接种细胞密度约为  $1.5 \times 10^8$  /ml。注射后每日观察小鼠生长状态及局部肿瘤生长情况。皮下接种组每 2 天测量肿瘤体积, 分别测量肿瘤最长径 (a) 和最短径 (b), 肿瘤体积测量公式为  $V = \pi ab^2 / 6$ , 并绘制肿瘤生长曲线。接种后 54 d, 无菌条件下完整取出小鼠眼眶肿瘤和皮下移植瘤及附近淋巴结, 体积分数 10% 甲醛固定, 脱水, 石蜡包埋, 行 4  $\mu$ m 厚组织切片。

**1.2.2 组织病理学检查** 收集天津市眼科医院病理科 3 例眼眶 DLBCL 病理标本, 染色体异位, EB 病毒阴性。接种后 54 d 过量麻醉法处死小鼠, 无菌条件下取眼眶内容物、皮下肿瘤、附近颈部和腋下淋巴结。分别取小鼠移植瘤和人眼眶 DLBCL 病理组织切片, 行苏木精-伊红染色, 光学显微镜下观察。

**1.2.3 CD20、CD79 $\alpha$ 、CD45RO、CD10、BCL-6、Ki-67、survivin 的免疫组织化学染色** 小鼠移植瘤标本和人眼眶 DLBCL 病理组织标本分别脱蜡、水化、修复抗原、

阻断内源性过氧化物酶活性、加入相应一抗和二抗、苏木精复染等,进行免疫组织化学染色。根据需要加做 mum-1 免疫组织化学染色。任意选取 5 个高倍视野,每个视野计数 200 个细胞,计算其阳性细胞数所占比例,取其平均值。阳性细胞数 > 10% 为阳性,11% ~ 49% 为低表达,≥ 50% 为高表达。光学显微镜下评估 CD20、CD79α、CD45RO、Ki-67、survivin 的表达程度,而仅判断 CD10、BCL-6、mum-1 是否阳性。病理切片皱褶、边缘处颜色改变者不计算在内。

**1.2.4 肿瘤细胞的定型及分型** 参照文献[1]的标准,根据 CD10、BCL-6、mum-1 的表达进行生发中心来源(germinal center B-cell-like, GCB) DLBCL 和非 GCB 的免疫分型。CD10 阳性或者 CD10 和 BCL-6 全部阳性者为 GCB 型;CD10 和 BCL-6 全部阴性者为非 GCB 型;CD10 阴性而 BCL-6 和 mum-1 表达阳性者为非 GCB 型;mum-1 表达阴性者为 GCB 型。

**1.3 统计学方法**

采用 SPSS 17.0 统计学软件进行统计分析。本研究中测量指标的计数资料比较采用 Fisher 精确概率法,生存期分析采用 Kaplan-Meier 生存曲线。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 各组小鼠移植瘤生长情况**

眼眶接种组 4 只 BALB/c 裸鼠接种成瘤率为 100%。接种后平均 24 d 小鼠出现流泪、球结膜水肿等眼部症状,眼球突出不明显。随着时间推移,眼球突出逐渐明显,肿瘤逐渐包裹眼球,眼睑无法闭合,结膜暴露,肿瘤破溃出血(图 1)。皮下接种组 4 只 BALB/c 裸鼠及 4 只 nod-SCID 鼠接种成瘤率为 100%,BALB/c 裸鼠接种后 21 d 及 nod-SCID 鼠接种后 16 d 可触及局部皮下绿豆大小结节,呈弥漫性,边界不清。接种后起始阶段 nod-SCID 小鼠肿瘤的生长速度快于 BALB/c 裸鼠,40 d 后 2 种小鼠的肿瘤生长速度趋于一致(图 2)。

**2.2 各组小鼠淋巴瘤模型的组织病理学表现**

光学显微镜下可见眼眶内肿瘤组织包裹眼球,皮下移植瘤与周围组织粘连,不易剥离,肿瘤组织均为质软、灰白色肿物。淋巴结均为小米样大小,黄白色,无明显增大。眼眶接种组淋巴瘤模型均为中心母细胞型 DLBCL,肿瘤细胞中等大小,呈圆形,核大,嗜碱性染色,染色质较细,有 2~4 个小核仁,也有少量细胞核呈嗜酸性染色(图 3);眼球结构大部分完好,仅 1 例巩膜内侵犯(图 4);眼眶接种组颈部淋巴结结构完整,未见肿瘤细胞浸润。皮下接种组小鼠肿瘤形态与眼眶接种

组相同,腋窝淋巴结有轻度肿瘤细胞浸润,但仍存在正常淋巴结内小梁等结构(图 5)。

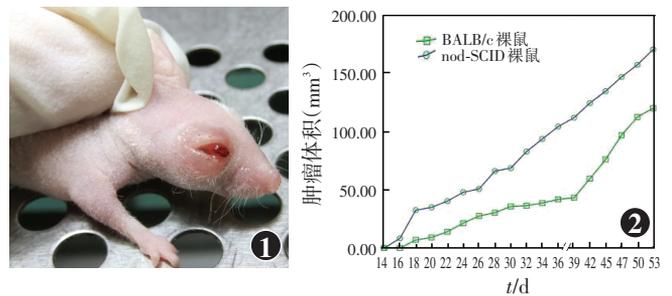


图 1 眼眶移植后 42 d BALB/c 裸鼠的外观 眼眶肿瘤包裹眼球,眼睑闭合不全,结膜破溃出血 图 2 BALB/c 裸鼠和 nod-SCID 裸鼠皮下肿瘤生长曲线 接种后起始阶段 nod-SCID 小鼠肿瘤的生长速度快于 BALB/c 裸鼠,40 d 后 2 种小鼠的肿瘤生长速度趋于一致

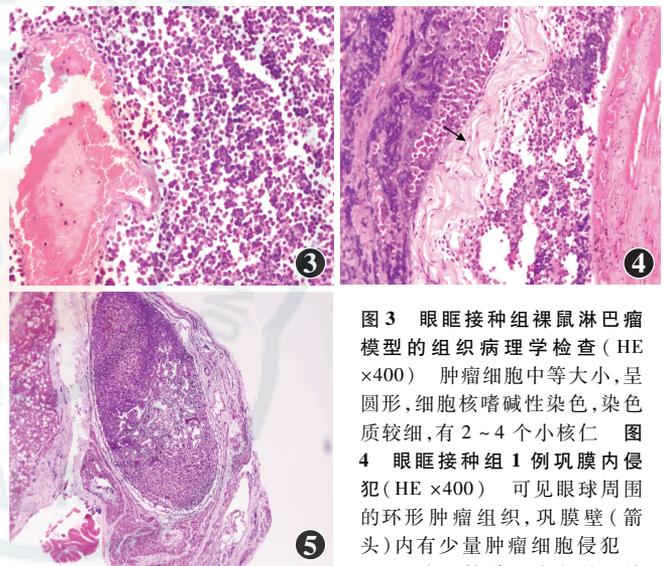


图 3 眼眶接种组裸鼠淋巴瘤模型的组织病理学检查(HE ×400) 肿瘤细胞中等大小,呈圆形,细胞核嗜碱性染色,染色质较细,有 2~4 个小核仁 图 4 眼眶接种组 1 例巩膜内侵犯(HE ×400) 可见眼球周围的环形肿瘤组织,巩膜壁(箭头)内有少量肿瘤细胞侵犯 图 5 皮下接种组小鼠淋巴结浸润情况(HE ×100) 受肿瘤细胞浸润的淋巴结内仍存在正常小梁和淋巴滤泡结构

**2.3 各组小鼠淋巴瘤组织中表面标志物表达及肿瘤分型**

BALB/c 裸鼠皮下接种组、nod-SCID 小鼠皮下接种组以及眼眶临床 DLBCL 病理标本中均可见 CD20、CD79α、CD45RO、CD10、BCL-6、mum-1、Ki-67 及 survivin。3 个组免疫抗原表达的样本数比较差异均无统计学意义(均  $P = 1.00$ ),各组免疫分型无差别(表 1~3)。

**表 1 小鼠淋巴瘤模型与眼眶 DLBCL CD20、CD79α 和 CD45RO 表达的样本数(n)**

组别	样本量	不同 CD20 表达强度的例数		不同 CD79α 表达强度的例数		不同 CD45RO 表达强度的例数	
		<50%	≥50%	<50%	≥50%	(弱阳性) <50%	<50%
BALB/c	8	3	5	2	6	8	0
nod-SCID	4	1	3	0	4	4	0
眼眶 DLBCL	3	1	2	1	2	2	1
P		1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

注:DLBCL:弥漫大 B 细胞淋巴瘤(Fisher 精确概率法)

**表 2 小鼠淋巴瘤模型与眼眶 DLBCL 中 Ki-67 和 survivin 表达的样本数(n)**

组别	样本量	不同 Ki-67 表达强度的例数		不同 survivin 表达强度的例数	
		(-) <50%	≥50%	(-) <50%	≥50%
BALB/c	8	0	2	6	0
nod-SCID	4	0	1	3	0
眼眶 DLBCL	3	0	3	0	1
P		1.00	1.00	1.00	1.00

注: DLBCL: 弥漫大 B 细胞淋巴瘤 (Fisher 精确概率法)

**表 3 小鼠淋巴瘤模型与眼眶 DLBCL 的免疫分型比较**

组别	BALB/c nod-SCID		眼眶 DLBCL		
	(n=8)	(n=4)	1	2	3
CD10	-	-	-	-	-
BCL-6	+	+	+	+	-
mum-1	+	+	+	+	
类型	N	N	N	N	N

注: N: 非生发中心来源型; DLBCL: 弥漫大 B 细胞性淋巴瘤

DLBCL,并在接种前对所有小鼠进行<sup>137</sup>Cs 照射,抑制其体内 B 细胞和 NK 细胞活性,进一步降低其免疫力。

本研究中眼眶接种成瘤率为 100%,接种后平均 24 d 眼部表现与人眼眶 DLBCL 一致,组织病理学特征与人眼眶 DLBCL 标本的临床特征相符。本研究结果显示,2 种小鼠皮下 DLBCL 的移植成功率也为 100%,肿瘤细胞在 nod-SCID 小鼠淋巴瘤的生长更快,肿瘤增生在起始阶段快于 BALB/c 裸鼠。2 种小鼠淋巴瘤

### 3 讨论

眼眶淋巴瘤占全部非霍奇金淋巴瘤 (non Hodgkin lymphoma, NHL) 的 1% 和全部结外 NHL 的 6%<sup>[2]</sup>,其中最常见的是边缘区黏膜相关淋巴组织淋巴瘤,其次为滤泡淋巴瘤和 DLBCL,最少见的是套细胞淋巴瘤、小淋巴细胞淋巴瘤和淋巴母细胞性淋巴瘤等。眼眶 DLBCL 是眼眶发病率最高的恶性淋巴瘤<sup>[3]</sup>。

理想的眼眶淋巴瘤模型应具有能够再现肿瘤发生和发展的自然病程、可人为控制进行实验、成瘤时间短、成瘤率稳定、容易复制、成本低及操作简便等特点<sup>[4]</sup>。小鼠的生理特征与人接近,裸鼠、SCID、nod-SCID 等免疫缺陷小鼠适合建立模型。裸鼠先天性胸腺发育不全,体内缺乏 T 细胞,不能引起细胞免疫,但其体内尚存在自然杀伤 (nature killer, NK) 细胞、B 细胞和非依赖 T 细胞免疫活性;SCID 鼠缺乏 T 细胞和缺少 B 细胞;nod-SCID 鼠除了上述特点之外, NK 细胞功能也低下,后 2 种小鼠能为人淋巴瘤细胞提供更有利的生长环境。

近年来淋巴瘤动物模型的研究主要集中在异种原位移植方面, Li 等<sup>[5]</sup>将人 B 细胞淋巴瘤细胞系 CA46 注射到 SCID 小鼠的玻璃体腔,并通过眼底检查、肿瘤形态学、免疫组织化学以及一些分子标志物 4 个方面对模型进行鉴定,该模型也验证了 B 细胞特异性抗毒素 HA22 对眼内 B 细胞淋巴瘤有一定疗效。Touitou 等<sup>[6]</sup>用鼠源性 B 细胞淋巴瘤细胞系 IIA1.6 经睫状体扁平部注射到 BALB/c 裸鼠玻璃体腔,成功建立了裸鼠眼内鼠源淋巴瘤动物模型。目前国内外均未发现关于眼眶淋巴瘤动物模型建立方法的报道。

血液病肿瘤的异种移植造模方法较其他实性肿瘤困难得多<sup>[7]</sup>,移植 NHL 或者白血病来源的细胞系需要对免疫缺陷小鼠进行预处理,如放射线照射、脾切除或者共同移植已被照射过的 HT1080 纤维肉瘤细胞,且在血液系统肿瘤中,高度恶性肿瘤的异种移植造模比低度恶性肿瘤容易。因此,本研究选择高度恶性

模型的组织病理学表现符合 DLBCL 中心母细胞型淋巴瘤的特点,也与人眼眶 DLBCL 病理标本一致。此外,小鼠眼眶和皮下 DLBCL 和人眼眶 DLBCL 标本的免疫组织化学特点相似。Survivin 和 Ki-67 均为肿瘤的预后指标,小鼠淋巴瘤模型中 survivin 的表达与眼眶 DLBCL 相同, Ki-67 表达与人眼眶 DLBCL 的表达例数比较,差异均无统计学意义,但以高表达居多,可能是由于细胞建立成系后,细胞会向高度恶性转化,增生能力变强,且细胞群经过多次传代逐渐纯化,分裂能力低的杂细胞减少而肿瘤细胞居多所致。

本研究中应用 pfeiffer 细胞系成功建立了眼眶 DLBCL 的裸鼠模型,小鼠淋巴瘤模型与人眼眶 DLBCL 标本的生物学行为和组织病理学特点大致相同,可用于眼眶 DLBCL 的实验研究。当然,我们仍需进一步观察动物模型的自然病程并进行分子遗传学染色体核型分析,更全面地了解该动物模型。

### 参考文献

- [1] Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray [J]. *Blood*, 2004, 103 (1): 275-282.
- [2] Rosado MF, Byrne GE Jr, Ding F, et al. Ocular adnexal lymphoma: a clinicopathologic study of a large cohort of patients with no evidence for an association with Chlamydia psittaci [J]. *Blood*, 2006, 107 (2): 467-472.
- [3] Ahmed S, Shahid RK, Sison CP, et al. Orbital lymphomas: a clinicopathologic study of a rare disease [J]. *Am J Med Sci*, 2006, 331 (2): 79-83.
- [4] 刘芳, 赵彤. 淋巴瘤动物模型研究进展 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2009, 17 (5): 1390-1393.
- [5] Li Z, Mahesh SP, Shen de F, et al. Eradication of tumor colonization and invasion by a B cell-specific immunotoxin in a murine model for human primary intraocular lymphoma [J]. *Cancer Res*, 2006, 66 (21): 10586-10593. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-1981.
- [6] Touitou V, Daussy C, Bodaghi B, et al. Impaired th1/te1 cytokine production of tumor-infiltrating lymphocytes in a model of primary intraocular B-cell lymphoma [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 48 (7): 3223-3229. doi: 10.1167/iovs.07-0008.
- [7] Fidler IJ. Rationale and methods for the use of nude mice to study the biology and therapy of human cancer metastasis [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 1986, 5 (1): 29-49.

(收稿日期: 2015-08-11)

(本文编辑: 尹卫靖 杜娟)