



· 专家述评 ·



谭煌英，中日友好医院中西医结合肿瘤内科主任医师、教授，北京中医药大学/北京协和医学院博士研究生导师，中国抗癌协会胰腺癌专业委员会神经内分泌肿瘤学组副组长，中国临床肿瘤学会神经内分泌肿瘤专家委员会委员，中国医疗保健国际交流促进会神经内分泌肿瘤分会常务委员，中国抗癌协会整合肿瘤学分会常务委员，中国研究型医院学会肿瘤学专业委员会委员，北京中西医结合学会肿瘤专业委员会委员，中日友好医院神经内分泌肿瘤诊疗中心负责人，《中国临床肿瘤学会神经内分泌肿瘤诊疗指南（2021年版）》专家组副组长，《中国抗癌协会神经内分泌肿瘤诊疗指南（2022年版）》编撰小组副主编，欧洲神经内分泌肿瘤学会会员。专注于神经内分泌肿瘤的诊断及中西医治疗，主持国家自然科学基金面上项目2项，参加国家重点研发计划项目1项。以通信作者或第一作者发表文章60余篇。

胃肠胰神经内分泌肿瘤临床前模型的研究进展

崔灵珺^{1,2}，田超^{1,2}，程梓轩^{1,2}，郑佳彬²，苏菲²，谭煌英²

1. 北京中医药大学研究生院，北京 100029；
2. 中日友好医院中西医结合肿瘤内科，北京 100029

[摘要] 胃肠胰神经内分泌肿瘤 (gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasm, GEP-NEN) 是一种近年来发病率逐年升高的罕见异质性肿瘤，根据其分化程度，可分为神经内分泌瘤 (neuroendocrine tumor, NET) 和神经内分泌癌 (neuroendocrine carcinoma, NEC)。随着对其发病机制和治疗手段的探索逐渐加深，临床前模型的重要性日渐凸显。本文就目前已发表的细胞系、类器官模型、人源肿瘤异种移植模型及基因工程小鼠模型等临床前模型进行综述，并探讨这些模型目前的实际应用情况及其优缺点，旨在为未来研究提供新的思路和方向。

[关键词] 胃肠胰神经内分泌肿瘤；细胞系；类器官模型；人源肿瘤异种移植模型；基因工程小鼠模型

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2022.09.004

中图分类号: R735 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2022)09-0779-07

Advances in preclinical research models for gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasm CUI Lingjun^{1,2}, TIAN Chao^{1,2}, CHENG Zixuan^{1,2}, ZHENG Jiabin², SU Fei², TAN Huangying² (1. Graduate School, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 2. Department of Integrative Oncology, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China)

Correspondence to: TAN Huangying, E-mail: tanhuangying@263.net.

[Abstract] Gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasm (GEP-NEN) is a rare, heterogeneous tumor that can be divided into neuroendocrine tumor (NET) and neuroendocrine carcinoma (NEC) due to its degree of differentiation. With the gradual deepening of the exploration of its pathogenesis and treatment methods, the importance of preclinical models has become increasingly prominent. Here we reviewed the published preclinical models such as cell lines, organoid models, patient-derived xenograft models and genetically engineered mouse models. We also discussed the current practical applications of these models and their strengths and

基金项目: 国家重点研发计划 (2019YFB1309704)。

第一作者: 崔灵珺 (ORCID: 0000-0003-3690-7117), 学士。

通信作者: 谭煌英 (ORCID: 0000-0002-6165-5196), 博士, 主任医师, E-mail: tanhuangying@263.net。

weaknesses, to provide threads and directions for future research.

[**Key words**] Gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasm; Cell line; Organoid model; Patient-derived xenograft model; Genetically engineered mouse model

1 引言

胃肠胰神经内分泌肿瘤 (gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasm, GEP-NEN) 是一种罕见的异质性肿瘤, 包括分化良好的神经内分泌瘤 (neuroendocrine tumor, NET) 和分化差的神经内分泌癌 (neuroendocrine carcinoma, NEC), 其发病率在过去30年显著上升。目前美国的GEP-NET发病率为3.56/10万^[1], GEP-NEC发病率为0.4/10万^[2]。

针对GEP-NEN目前已有诸多治疗手段, 但仍难以满足临床需求。基础研究是解决临床问题的基石, 临床前模型对深入研究罕见肿瘤的发生、发展分子机制及新药研制至关重要。本文总结目前临床前GEP-NEN模型, 包括细胞系、原代细胞培养、类器官模型, 人源肿瘤异种移植 (patient-derived xenograft, PDX) 模型, 基因工程小鼠模型 (genetically engineered mouse model, GEMM), 对其优势和局限性进行讨论, 并重点反映近年来的研究进展。

2 GEP-NEN的分子特征

GEP-NEN从遗传学上可分为家族性或散发性。常见的家族性GEP-NEN包括多发性内分泌肿瘤1型 (multiple endocrine neoplasia 1, MEN1) 综合征、结节性硬化症 (tuberous sclerosis, TSC)、希佩尔-林道 (Von Hippel-Lindau, VHL) 综合征和神经纤维瘤病1型 (neurofibromatosis type 1, NF1)。

MEN1综合征临床常表现为甲状旁腺 (95%)、胰腺 (60%) 和垂体 (30%) 等部位的肿瘤。MEN1基因突变后Menin蛋白表达减少, 主要通过影响细胞周期、DNA损伤修复及磷脂酰肌醇3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) -哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号转导通路机制而致病^[3-4]。TSC主要表现为面部血管纤维瘤和

广泛性错构瘤, 由TSC1和TSC2突变引起mTOR信号转导通路改变。VHL综合征是由VHL基因失活或错义突变引起的。VHL基因为抑癌基因, 编码pVHL蛋白, 与缺氧诱导因子的降解和调控细胞周期蛋白相关。因此VHL综合征肿瘤中富含血管, 并过表达缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α) 及血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 等。NF1则是由于NF1基因失活突变, RAS及其下游激酶激活所致。临床表现为皮肤纤维神经瘤、咖啡牛奶斑、虹膜Lisch结节及胰腺或十二指肠生长抑素瘤。此外, 有研究^[4]证明, IPMK、MUTYH和OGG1基因突变或与家族性小肠NET的发生相关。

散发GEP-NEN中最常见的突变基因为MEN1, 其次为与胰腺NEN患者预后密切相关的DAXX及ATRAX突变^[3, 5]。此外, CDKN1B和调控mTOR-蛋白激酶B (protein kinase B, AKT) 信号转导通路的相关基因突变包括DEPDC5、PTEN、TSC1和TSC2^[5-7]。GEP-NEC中TP53和RB突变更多, TP53突变存在于90%~95%的GEP-NEC患者中, RB突变存在于60%~75%的GEP-NEC患者中^[8-9]。

3 GEP-NEN的体外模型

3.1 GEP-NEN细胞系

细胞系因为条件可控、操作便捷, 常应用于肿瘤临床前研究中, 并对分子机制验证具有独特优势。目前已有多种GEP-NEN细胞系被投入研究中。

较常用的分化良好的胰腺NET细胞系为BON-1^[10]和QGP-1^[11], 虽然这两种细胞系存在很多缺陷, 如生长抑素受体 (somatostatin receptor, SSTR) 表达较肿瘤组织内明显降低^[12], 但仍有较高的应用价值。由于传代数导致的亚克隆性及染色体不稳定性, 不同研究对于BON-1和QGP-1细胞携带的突变基因观点

不同。同为胰腺来源的NT-3细胞系分化良好、功能活跃、生长缓慢，且高表达SSTR，在裸鼠皮下形成的肿瘤Ki-67增殖指数与患者相似（15%~25%）^[13]。CM胰岛素瘤细胞表现出功能性胰岛素分泌^[14]。APL1细胞系可在体内外增殖，且与原肿瘤相似度较高^[15]。来源于小肠的细胞系GOT-1^[16]和P-ST^[17]相关研究分别发表于2001年和2009年，目前GOT-1已被应用于¹⁷⁷Lu-octreotate给药模式的研究中^[18]，而P-ST^[17]已被应用于小肠NET肠系膜纤维化的机制研究中^[19]。

NEC细胞系中，NEC-DUE1、NEC-DUE2来源于同一研究，两者分别属于胃和结肠NEC，表达典型神经内分泌标志物，并且在顺铂、依托泊苷、5-氟尿嘧啶及奥沙利铂的药效评估中与临床表现相似^[20]。胰腺NEC细胞系A99同样也已进行了神经内分泌标志物表达评估，但尚未进行药效评估^[21]。此外还有数种已经发表的人源NET和NEC细胞系，其名称及来源详见表1。

细胞系除了可反映肿瘤部分生物及分子特征外，目前还可应用于药物研究，并可揭示部分肿瘤发病的分子机制。GEP-NEN发病率较低，因此来源稀少，且肿瘤恶性程度较低，细胞分裂率低，要求培养环境严苛，导致细胞系建立效率低，且在培育过程中可能失去原代细胞株的特征或产生新的突变。目前尚缺乏胃NET细胞系，为相关研究带来困难。

3.2 原代细胞培养

原代细胞培养是利用患者肿瘤组织进行细胞培养，维持数天并保留原始肿瘤特征。该方法获得的组织更接近生物体内状态，可用于研究生物体细胞的生长、代谢及增殖，同时也为以后传代培养创造条件。目前胰腺NET原代培养物已经应用于SSA、依维莫司、舒尼替尼、替莫唑胺等药物的反应性研究中^[33-36]。另外，小肠NET原代培养物已在临床药物治疗敏感性研究中加以应用^[37]。

由于GEP-NEN的时空异质性，原代培养可实时反映临床实际情况，因此未来或可将原代细胞培养应用于个体化治疗。

表1 人源NET和NEC细胞系详情

Tab. 1 Details of human NET and NEC cell lines		
Cell line	Origin	Reference
NET cell line		
BON-1	Pancreas	Evers B M, et al ^[10]
QGP-1	Pancreas	Kaku M, et al ^[11]
NT-3	Pancreas	Benten D, et al ^[13]
CM	Pancreas	Gueli N, et al ^[14]
APL1	Pancreas	Krampitz G W, et al ^[15]
HuNET	Pancreas	Tillotson L G, et al ^[22]
GOT1	Ileum	Kölby L, et al ^[16]
P-ST ^[17]	Ileum	Pfragner R, et al ^[17]
KRJ-I	Ileum	Pfragner R, et al ^[23]
P0NETCL	Rectum	Alvarez M J, et al ^[24]
NEC cell line		
ECC18	Esophagus	Fujiwara T, et al ^[25]
TYUC-1	Esophagus	Okumura T, et al ^[26]
NEC-DUE1	Gastric	Krieg A, et al ^[20]
A99	Pancreas	Yachida S, et al ^[21]
CT-nu-1	Duodenum	Konno H, et al ^[27]
TCC-NECT-2	Duodenum	Yanagihara K, et al ^[28]
NECS-P/NECS-L	Rectum	Takahashi Y, et al ^[29]
NEC-DUE2	Colon	Krieg A, et al ^[20]
LCC-18	Colon	Lundqvist M, et al ^[30]
N-TAK1	Colon	Yamada T, et al ^[31]
SS-2	Colon	Shinji S, et al ^[32]

3.3 类器官模型

肿瘤类器官是用取自患者体内的肿瘤组织在实验室中培养出的微型3D肿瘤细胞模型，其成功率在不同研究中差别较大。这种模型保留了来源组织具有的细胞谱系特征和生物学特征，且比原代细胞培养更能够还原肿瘤微环境，培养传代后仍保持遗传和表型稳定，因此可针对患者个体进行药物筛选并制订诊疗计划^[38]。

在过去几年的研究中，已有研究者^[39-40]建立多种胰腺NET、小肠NET的类器官培养物，其表型和基因型均与亲代肿瘤组织高度相似，并与临床患者表现十分相似。结直肠NEC的类器官模型也已建立。研究者已对这些类器官进行药物反应性测试，其测试前后表现均与临床相似。另外，研究者^[41-42]还通过这些类器官揭示了

TP53、*RB1*等基因对肿瘤发生的影响, 后续可对这些模型进行进一步测序研究, 进一步揭示其他基因突变及NEN发生、发展的分子机制。

除以上研究外, 另有日本学者^[43]建立了1个大型GEP-NEN类器官库, 其中包括食管、胃、肝脏、胆囊、胰腺、结肠部位的NEC及胆囊、胰腺、十二指肠部位的NET类器官模型, 该研究通过25例类器官模型的建立, 并对其进行全基因组测序、表型研究, 研究了GEP-NEN分子特征和生物表型的相关性。

类器官作为GEP-NEN的研究手段具有巨大潜力, 其培养条件相对宽松, 可在长期扩增的同时保持来源组织的基因特点。该模型还可作为肿瘤发展早期阶段的研究手段, 且可以反映肿瘤间和肿瘤内的异质性, 未来可应用于临床前筛查中^[44]。

4 GEP-NEN的体内模型

4.1 细胞系异种移植模型

人源肿瘤细胞系异种移植模型主要是将体外培养的人源肿瘤细胞系接种到免疫缺陷小鼠体内而构建的肿瘤模型^[45]。在GEP-NEN中, 研究者发现此类模型可不同程度地在皮下、原位生长, 或产生转移性肿瘤, 但另有研究^[37, 46]发现, 形成的肿瘤缺乏神经内分泌活动。近年来, Maharjan等^[47]将人源细胞系QGP-1和BON-1通过静脉及心脏注射入NSG小鼠, 成功构建了胰腺NET多处转移模型, 其中QGP-1和BON-1接种小鼠肝转移灶形成率分别为100%和60%。该方法成瘤率较高, 未来或可应用于胰腺NET肝转移的研究中。

4.2 PDX模型

PDX模型是将人肿瘤组织接种于免疫缺陷小鼠体内形成的肿瘤研究模型。该模型保留了其供体肿瘤的主要组织学和遗传学特征, 能够在后续传代中保持稳定, 可用于临床前药物疗效预测^[48]。但PDX模型的建立是以免疫缺陷小鼠为载体, 因此不适合肿瘤免疫相互作用或免疫疗法的研究^[49]。

2016年, Yang等^[50]研究发现, GEP-NET的PDX模型建立成功率较低, 不足10%, 该研

究最终建立成功的PDX模型表现出较高的Ki-67增殖指数(70%~90%), 与NEC更为相似。同年Krampitz等^[15]以胰腺NET患者肿瘤组织构建了PDX模型, 发现细胞表面蛋白CD90的表达可作为胰腺NET的标志物, 并发现阻断CD47信号可促进体外巨噬细胞吞噬肿瘤细胞, 抑制异种移植瘤生长, 防止转移, 延长生存期。此外, 该类模型目前已应用于药物评估中。2018年, Chamberlain等^[51]构建了胰腺NET患者的PDX模型, 组织来源于1例晚期胰岛素瘤肝转移患者行减瘤术后的标本, 应用该PDX模型对mTOR抑制剂依维莫司和新药沙帕色替进行了药物反应性研究, 发现两药对胰腺NET均有很强的抑制作用, 但沙帕色替对依维莫司耐药的肿瘤依然有效。

在GEP-NEC中, 已有多项研究在NEC细胞系的建立中提到相关PDX模型, 但并未进行详细记述。1999年, Tanaka等^[52]建立的直肠NEC的PDX模型来源于直肠NEC患者转移的腹股沟淋巴结。2016年, Fujii等^[53]在1个结直肠肿瘤模型库中构建了2例结直肠NEC模型, 该模型与源肿瘤在组织学及表型上基本一致。2015年, Jiang等^[54]建立了1例胃NEC的PDX模型, 肿瘤来源于1例T₃N₁M₀期患者的手术标本。该PDX模型具有VEGF-A和VEGF-B高表达特征, 并容易产生肺转移, 该研究证明循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTC)可作为转移性PDX模型中抗癌药物疗效评价的有效指标, 且CTC的CK18表达及克隆倍数可能为胃NEC顺铂敏感性的影响因素。

4.3 GEMM

GEMM是指利用基因工程技术改造与修饰小鼠的胚胎干细胞或受精卵基因, 促进特定肿瘤形成的模型。目前已应用于突变基因、肿瘤演化转移机制、肿瘤微环境、药物安全性评价等领域中^[55]。然而, 小鼠和人类之间存在明显的生物学差异, 因此GEMM能否反映人类GEP-NEN的遗传背景及其诊断组织学特征仍有待商榷。此外, GEMM可能无法精确还原散发型GEP-NEN的生物学特性^[56]。2021年, Detjen等^[49]列出详细表格综述了GEMM信息, 包括小鼠品系、肿瘤类型、突变基因等。

GEP-NET的GEMM包括基因敲除模型和SV40-Tag转基因模型。

4.3.1 基因敲除模型

在基因敲除GEMM中,最常见的是MEN1基因敲除,不同种系小鼠及不同造模方法导致成功率为11%~100%不等。若纯合敲除GEMM的MEN1基因将会使小鼠在孕中期因多器官缺陷死亡。而在杂合敲除MEN1基因的GEMM中则表现出与人类似的MEN1综合征内分泌肿瘤表型,该表型揭示了肿瘤发生的各个过程,为进一步的研究和治疗提供思路^[57]。ATP4a功能丧失的GEMM会出现胃酸缺乏,进而引起高胃泌素血症并导致ECL细胞增生。研究者观察到这些小鼠胃腺结构恶化,发生严重增生、发育不良和腺体化生,然而,当酸化胃内环境时,胃腺化生和异常增生可得到改善^[58]。而在大鼠胰岛素启动子(rat insulin promoter, RIP)背景下过表达AKT1的GEMM则可表现出β细胞增殖和高血浆胰岛素水平,并约有80%的小鼠会发展成胰岛素瘤^[59]。

4.3.2 SV40-Tag转基因模型

RIP-Tag的GEMM是SV40-Tag转基因模型的代表,RIP特异性地驱动胰岛细胞中Tag的表达,致使β细胞高度增殖^[49]。RIP-Tag的GEMM已被广泛应用于GEP-NEN模型中,该造模方法成功率接近100%,目前已用于依维莫司和舒尼替尼疗效评估^[60],并在人体临床试验中得到验证^[61-62]。此外,目前还有基于Tag构建的其他GEP-NET模型,如胰高血糖素瘤和结肠NET模型,但均未进行药物疗效评估^[63-64]。

5 结论

GEP-NEN的罕见性使其基础研究数量少,发病机制及治疗研究并不充分。随着其发病率及临床观察研究增多,研究者逐渐意识到这类疾病的治疗手段贫乏、预后不佳,因此其机制研究日渐增多。近年来,随着研究的加深,研究者已经从基因、信号转导通路、表型等方面解释部分GEP-NEN的发病机制,由此丰富了临床治疗手段,这些进展与模型研究息息相关^[65]。目前已经投入应用的稳定细胞系、类器官培养、PDX模

型、原代细胞培养及基因工程小鼠可从多个角度揭示肿瘤发生、发展的过程,并对药物开发及个性化治疗提供研究工具。未来研究者们将会开发更多、更全面的模型,为进一步研究GEP-NEN提供有效的手段。

利益冲突声明:所有作者均声明不存在利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] DASARI A, SHEN C, HALPERIN D, et al. Trends in the incidence, prevalence, and survival outcomes in patients with neuroendocrine tumors in the United States [J]. JAMA Oncol, 2017, 3(10): 1335-1342.
- [2] DASARI A, MEHTA K, BYERS L A, et al. Comparative study of lung and extrapulmonary poorly differentiated neuroendocrine carcinomas: a SEER database analysis of 162 983 cases [J]. Cancer, 2018, 124(4): 807-815.
- [3] JIAO Y C, SHI C J, EDIL B H, et al. DAXX/ATRX, MEN1, and mTOR pathway genes are frequently altered in pancreatic neuroendocrine tumors [J]. Science, 2011, 331(6021): 1199-1203.
- [4] MAFFICINI A, SCARPA A. Genetics and epigenetics of gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms [J]. Endocr Rev, 2019, 40(2): 506-536.
- [5] SCARPA A, CHANG D K, NONES K, et al. Whole-genome landscape of pancreatic neuroendocrine tumours [J]. Nature, 2017, 543(7643): 65-71.
- [6] FRANCIS J M, KIEZUN A, RAMOS A H, et al. Somatic mutation of CDKN1B in small intestine neuroendocrine tumors [J]. Nat Genet, 2013, 45(12): 1483-1486.
- [7] ALVAREZ M J, SUBRAMANIAM P S, TANG L H, et al. A precision oncology approach to the pharmacological targeting of mechanistic dependencies in neuroendocrine tumors [J]. Nat Genet, 2018, 50(7): 979-989.
- [8] YACHIDA S, VAKIANI E, WHITE C M, et al. Small cell and large cell neuroendocrine carcinomas of the pancreas are genetically similar and distinct from well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumors [J]. Am J Surg Pathol, 2012, 36(2): 173-184.
- [9] PIZZI S, AZZONI C, BASSI D, et al. Genetic alterations in poorly differentiated endocrine carcinomas of the gastrointestinal tract [J]. Cancer, 2003, 98(6): 1273-1282.
- [10] EVERS B M, TOWNSEND C M Jr, UPP J R, et al. Establishment and characterization of a human carcinoid in nude mice and effect of various agents on tumor growth [J]. Gastroenterology, 1991, 101(2): 303-311.
- [11] KAKU M, NISHIYAMA T, YAGAWA K, et al. Establishment of a carcinoembryonic antigen-producing cell line from human pancreatic carcinoma [J]. Gan, 1980, 71(5): 596-601.
- [12] EXNER S, PRASAD V, WIEDENMANN B, et al. Octreotide

- does not inhibit proliferation in five neuroendocrine tumor cell lines [J] . *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2018, 9: 146.
- [13] BENTEN D, BEHRANG Y, UNRAU L, et al. Establishment of the first well-differentiated human pancreatic neuroendocrine tumor model [J] . *Mol Cancer Res*, 2018, 16(3): 496-507.
- [14] GUELI N, TOTO A, PALMIERI G, et al. In vitro growth of a cell line originated from a human insulinoma [J] . *J Exp Clin Cancer Res*, 1987, 6(1): 281-285.
- [15] KRAMPITZ G W, GEORGE B M, WILLINGHAM S B, et al. Identification of tumorigenic cells and therapeutic targets in pancreatic neuroendocrine tumors [J] . *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(16): 4464-4469.
- [16] KÖLBY L, BERNHARDT P, AHLMAN H, et al. A transplantable human carcinoid as model for somatostatin receptor-mediated and amine transporter-mediated radionuclide uptake [J] . *Am J Pathol*, 2001, 158(2): 745-755.
- [17] PFRAGNER R, BEHMELE A, HÖGER H, et al. Establishment and characterization of three novel cell lines-P-STC, L-STC, H-STC-derived from a human metastatic midgut carcinoid [J] . *Anticancer Res*, 2009, 29(6): 1951-1961.
- [18] ELVBORN M, SHUBBAR E, FORSSELL-ARONSSON E. Hyperfractionated treatment with ¹⁷⁷Lu-octreotate increases tumor response in human small-intestine neuroendocrine GOT1 tumor model [J] . *Cancers (Basel)*, 2022, 14(1): 235.
- [19] LASKARATOS F M, LEVI A, SCHWACH G, et al. Transcriptomic profiling of *in vitro* tumor-stromal cell paracrine crosstalk identifies involvement of the integrin signaling pathway in the pathogenesis of mesenteric fibrosis in human small intestinal neuroendocrine neoplasms [J] . *Front Oncol*, 2021, 11: 629665.
- [20] KRIEG A, MERSCH S, BOECK I, et al. New model for gastroenteropancreatic large-cell neuroendocrine carcinoma: establishment of two clinically relevant cell lines [J] . *PLoS One*, 2014, 9(2): e88713.
- [21] YACHIDA S, ZHONG Y, PATRASCU R, et al. Establishment and characterization of a new cell line, A99, from a primary small cell carcinoma of the pancreas [J] . *Pancreas*, 2011, 40(6): 905-910.
- [22] TILLOTSON L G, LODESTRO C, HÖCKER M, et al. Isolation, maintenance, and characterization of human pancreatic islet tumor cells expressing vasoactive intestinal peptide [J] . *Pancreas*, 2001, 22(1): 91-98.
- [23] PFRAGNER R, WIRNSBERGER G, NIEDERLE B, et al. Establishment of a continuous cell line from a human carcinoid of the small intestine (KRJ-I) [J] . *Int J Oncol*, 1996, 8(3): 513-520.
- [24] ALVAREZ M J, YAN P R, ALPAUGH M L, et al. Reply to 'H-STC, L-STC and KRJ-I are not authentic GEPNET cell lines' [J] . *Nat Genet*, 2019, 51(10): 1427-1428.
- [25] FUJIWARA T, MOTOYAMA T, ISHIHARA N, et al. Characterization of four new cell lines derived from small-cell gastrointestinal carcinoma [J] . *Int J Cancer*, 1993, 54(6): 965-971.
- [26] OKUMURA T, SHIMADA Y, OMURA T, et al. microRNA profiles to predict postoperative prognosis in patients with small cell carcinoma of the esophagus [J] . *Anticancer Res*, 2015, 35(2): 719-727.
- [27] KONNO H, ARAI T, TANAKA T, et al. Antitumor effect of a neutralizing antibody to vascular endothelial growth factor on liver metastasis of endocrine neoplasm [J] . *Jpn J Cancer Res*, 1998, 89(9): 933-939.
- [28] YANAGIHARA K, KUBO T, MIHARA K, et al. Establishment of a novel cell line from a rare human duodenal poorly differentiated neuroendocrine carcinoma [J] . *Oncotarget*, 2018, 9(92): 36503-36514.
- [29] TAKAHASHI Y, ONDA M, TANAKA N, et al. Establishment and characterization of two new rectal neuroendocrine cell carcinoma cell lines [J] . *Digestion*, 2000, 62(4): 262-270.
- [30] LUNDQVIST M, MARK J, FUNA K, et al. Characterisation of a cell line (LCC-18) from a cultured human neuroendocrine-differentiated colonic carcinoma [J] . *Eur J Cancer*, 1991, 27(12): 1663-1668.
- [31] YAMADA T, ONDA M, TANAKA N. Establishment and characterization of a human rectal neuroendocrine cell carcinoma in vitro [J] . *J Exp Clin Cancer Res*, 2001, 20(4): 561-567.
- [32] SHINJI S, SASAKI N, YAMADA T, et al. Establishment and characterization of a novel neuroendocrine carcinoma cell line derived from a human ascending colon tumor [J] . *Cancer Sci*, 2019, 110(12): 3708-3717.
- [33] FALLETTA S, PARTELLI S, RUBINI C, et al. mTOR inhibitors response and mTOR pathway in pancreatic neuroendocrine tumors [J] . *Endocr Relat Cancer*, 2016, 23(11): 883-891.
- [34] MOHAMED A, BLANCHARD M P, ALBERTELLI M, et al. Pasireotide and octreotide antiproliferative effects and sst2 trafficking in human pancreatic neuroendocrine tumor cultures [J] . *Endocr Relat Cancer*, 2014, 21(5): 691-704.
- [35] MOHAMED A, ROMANO D, SAVEANU A, et al. Anti-proliferative and anti-secretory effects of everolimus on human pancreatic neuroendocrine tumors primary cultures: is there any benefit from combination with somatostatin analogs? [J] . *Oncotarget*, 2017, 8(25): 41044-41063.
- [36] APRIL-MONN S L, WIEDMER T, SKOWRONSKA M, et al. Three-dimensional primary cell culture: a novel preclinical model for pancreatic neuroendocrine tumors [J] . *Neuroendocrinology*, 2021, 111(3): 273-287.
- [37] HOFVING T, ARVIDSSON Y, ALMOBARAK B, et al. The neuroendocrine phenotype, genomic profile and therapeutic sensitivity of GEPNET cell lines [J] . *Endocr Relat Cancer*, 2018, 25(4): X1-X2.
- [38] DRIEHUIS E, GRACANIN A, VRIES R G J, et al. Establishment of pancreatic organoids from normal tissue and tumors [J] . *STAR Protoc*, 2020, 1(3): 100192.
- [39] DAYTON T, DEN HARTIGH L, MCFALINE J L, et al. Using adult stem cell-derived organoids to model neuroendocrine

- neoplasms [C] . *Neuroendocrinology*, 2019, 108(suppl 1): 1–273.
- [40] ICHIKAWA Y A, HIROSHIMA Y, KOBAYASHI N, et al. Establishment of patient-derived tumor organoid (PDTO) derived from pancreatic neuroendocrine tumor [C] . *Neuroendocrinology*, 2019, 108(suppl 1): 1–273.
- [41] VAN DE WETERING M, FRANCIES H E, FRANCIS J M, et al. Prospective derivation of a living organoid biobank of colorectal cancer patients [J] . *Cell*, 2015, 161(4): 933–945.
- [42] LI F, SU Y T, CHENG Y L, et al. Conditional deletion of Men1 in the pancreatic β -cell leads to glucagon-expressing tumor development [J] . *Endocrinology*, 2015, 156(1): 48–57.
- [43] KAWASAKI K, TOSHIMITSU K, MATANO M, et al. An organoid biobank of neuroendocrine neoplasms enables genotype-phenotype mapping [J] . *Cell*, 2020, 183(5): 1420–1435.e21.
- [44] LÖHMUSSEAR K, BORETTO M, CLEVERS H. Human-derived model systems in gynecological cancer research [J] . *Trends Cancer*, 2020, 6(12): 1031–1043.
- [45] 余苏云, 汪思亮, 贾琦, 等. 临床前癌症模型的研究进展 [J] . *肿瘤*, 2017, 37(8): 878–882.
YU S Y, WANG S L, JIA Q, et al. Research progress in preclinical cancer models [J] . *Tumor*, 2017, 37(8): 878–882.
- [46] GROZINSKY-GLASBERG S, SHIMON I, RUBINFELD H. The role of cell lines in the study of neuroendocrine tumors [J] . *Neuroendocrinology*, 2012, 96(3): 173–187.
- [47] MAHARJAN C K, EAR P H, TRAN C G, et al. Pancreatic neuroendocrine tumors: molecular mechanisms and therapeutic targets [J] . *Cancers (Basel)*, 2021, 13(20): 5117.
- [48] 古轩林, 石文贵, 焦作义. PDX模型在肿瘤研究中的应用 [J] . *生物医学转化*, 2020, 1(1): 50–55.
GU Q L, SHI W G, JIAO Z Y. The applications of patient-derived tumor xenograft model in cancer research [J] . *Biomed Transform*, 2020, 1(1): 50–55.
- [49] DETJEN K, HAMMERICH L, ÖZDIRIK B, et al. Models of gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms: current status and future directions [J] . *Neuroendocrinology*, 2021, 111(3): 217–236.
- [50] YANG Z Y, ZHANG L, SERRA S, et al. Establishment and characterization of a human neuroendocrine tumor xenograft [J] . *Endocr Pathol*, 2016, 27(2): 97–103.
- [51] CHAMBERLAIN C E, GERMAN M S, YANG K, et al. A patient-derived xenograft model of pancreatic neuroendocrine tumors identifies sapanisertib as a possible new treatment for everolimus-resistant tumors [J] . *Mol Cancer Ther*, 2018, 17(12): 2702–2709.
- [52] TANAKA N, ONDA M, SEYA T, et al. Establishment and characterization of a human rectal neuroendocrine carcinoma xenograft into nude mice [J] . *Digestion*, 1999, 60(2): 117–124.
- [53] FUJII M, SHIMOKAWA M, DATE S, et al. A colorectal tumor organoid library demonstrates progressive loss of niche factor requirements during tumorigenesis [J] . *Cell Stem Cell*, 2016, 18(6): 827–838.
- [54] JIANG J H, WANG D D, YANG M M, et al. Comprehensive characterization of chemotherapeutic efficacy on metastases in the established gastric neuroendocrine cancer patient derived xenograft model [J] . *Oncotarget*, 2015, 6(17): 15639–15651.
- [55] 周云振, Santosh Kumar Jha, 孙海明, 等. 肿瘤小鼠模型建立应用进展 [J] . *中华肿瘤防治杂志*, 2022, 29(2): 92–101.
ZHOU Y Z, JHA S, SUN H M, et al. Development and application of tumor mouse model [J] . *Chin J Cancer Prev Treat*, 2022, 29(2): 92–101.
- [56] KAWASAKI K, FUJII M, SATO T. Gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms: genes, therapies and models [J] . *Dis Model Mech*, 2018, 11(2): dmm029595.
- [57] AGARWAL S K. Exploring the tumors of multiple endocrine neoplasia type 1 in mouse models for basic and preclinical studies [J] . *Int J Endocr Oncol*, 2014, 1(2): 153–161.
- [58] CALVETE O, VARRO A, PRITCHARD D M, et al. A knockin mouse model for human ATP4aR703C mutation identified in familial gastric neuroendocrine tumors recapitulates the premalignant condition of the human disease and suggests new therapeutic strategies [J] . *Dis Model Mech*, 2016, 9(9): 975–984.
- [59] ALLIOUACHENE S, TUTTLE R L, BOUMARD S, et al. Constitutively active AKT1 expression in mouse pancreas requires S6 kinase 1 for insulinoma formation [J] . *J Clin Invest*, 2008, 118(11): 3629–3638.
- [60] CASANOVAS O, HICKLIN D J, BERGERS G, et al. Drug resistance by evasion of antiangiogenic targeting of VEGF signaling in late-stage pancreatic islet tumors [J] . *Cancer Cell*, 2005, 8(4): 299–309.
- [61] YAO J C, FAZIO N, SINGH S, et al. Everolimus for the treatment of advanced, non-functional neuroendocrine tumours of the lung or gastrointestinal tract (RADIANT-4): a randomised, placebo-controlled, phase 3 study [J] . *Lancet*, 2016, 387(10022): 968–977.
- [62] RAYMOND E, DAHAN L, RAOUL J L, et al. Sunitinib malate for the treatment of pancreatic neuroendocrine tumors [J] . *N Engl J Med*, 2011, 364(6): 501–513.
- [63] EFRAT S, TEITELMAN G, ANWAR M, et al. Glucagon gene regulatory region directs oncoprotein expression to neurons and pancreatic alpha cells [J] . *Neuron*, 1988, 1(7): 605–613.
- [64] ASA S L, LEE Y C, DRUCKER D J. Development of colonic and pancreatic endocrine tumours in mice expressing a glucagon-SV40 T antigen transgene [J] . *Virchows Arch*, 1996, 427(6): 595–606.
- [65] 吉顺荣, 徐晓武, 虞先瀟. 神经内分泌肿瘤基础与转化研究进展 [J] . *中华胃肠外科杂志*, 2021, 24(10): 867–874.
JI S R, XU X W, YU X J. Advances in basic and translational research in neuroendocrine neoplasms [J] . *Chin J Gastrointest Surg*, 2021(10):867–874.