



Mô hình động vật trong nghiên cứu ung thư

Phan Lữ Chính Nhân

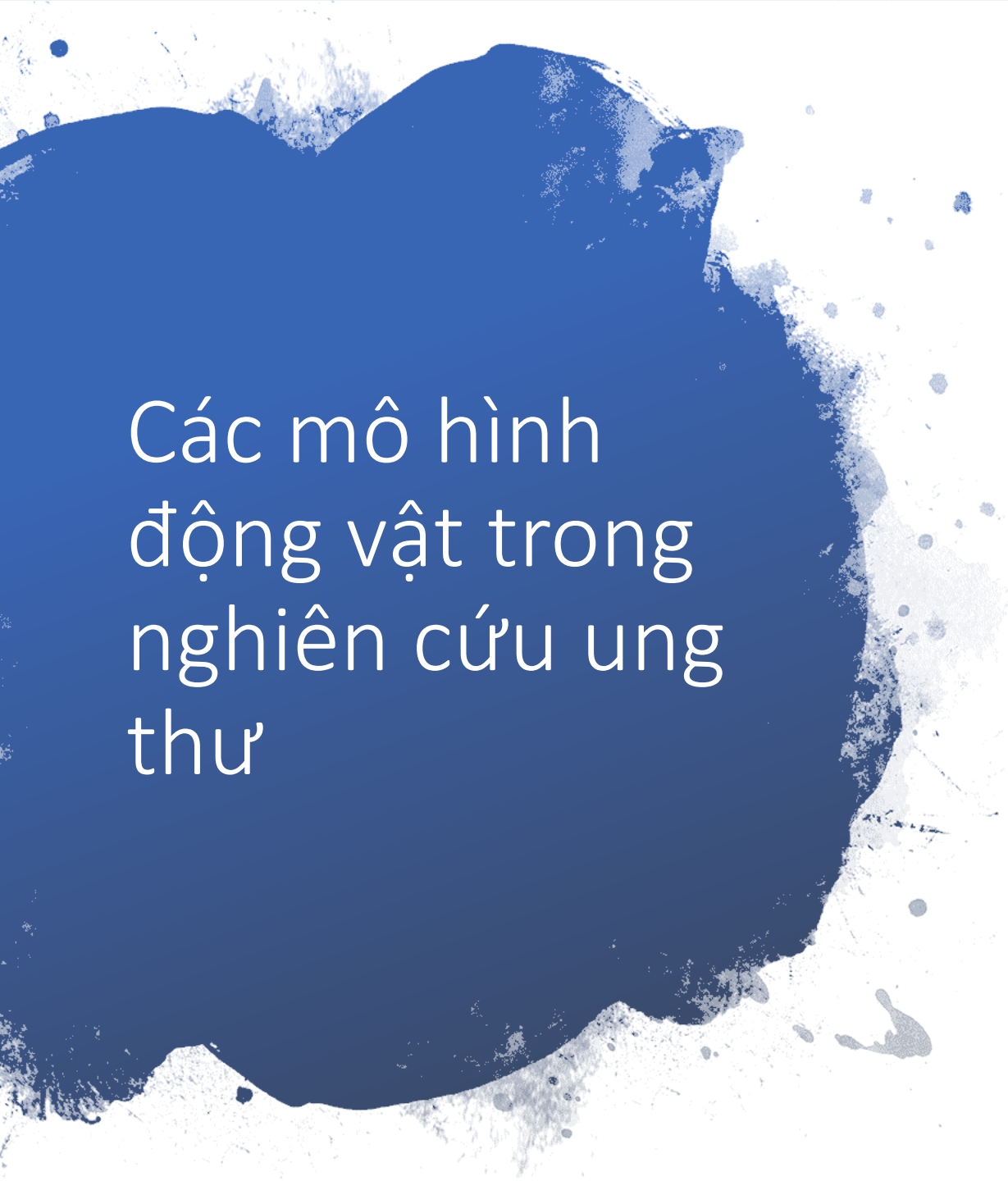
HCM 11-2020

Giới thiệu

- Khám phá những thuốc điều trị ung thư đang phát triển với tốc độ phi thường và phần lớn dựa trên những thiết kế và khám phá những hợp chất mới
- Việc đánh giá đặc tính của những hợp chất là một khâu quan trọng trong quá trình phát triển thuốc
- Lựa chọn không đúng phương pháp đánh giá có thể bỏ qua một số tiềm năng rất lớn trong quá trình phát triển thuốc
- Sàng lọc các hợp chất điều trị ung thư trên dòng tế bào thông lượng cao chỉ phương pháp sàng lọc chính, tuy nhiên thử nghiệm trên động vật *in vivo* là bắt buộc trong suốt quá trình phát triển thuốc

Giới thiệu (tt)

- Trong nhiều trường hợp, việc lựa chọn mô hình động vật trở nên quan trọng nhất. Mô hình động vật trong nghiên cứu ung thư phải đại diện và phản ánh càng đúng càng gần bệnh trên người càng tốt
- Tính khả thi và tính kinh tế của mô hình được dùng trong chương trình sàng lọc cũng là một yếu tố quan trọng



Các mô hình động vật trong nghiên cứu ung thư

1. Các mô hình khối u tự phát
2. Các mô hình khối u do virus gây ra
3. Các mô hình khối u do bức xạ
4. Các mô hình khối u do cảm ứng các hóa chất
5. Các mô hình có khối u do cấy ghép
 - i. Phương pháp cấy ghép đúng vị trí
 - ii. Phương pháp cấy ghép khác vị trí
6. Chuột biến đổi gen
 - i. Chuột được chuyển gen
 - ii. Chuột bị knockout gen

Tại sao phải sử dụng mô hình chuột hơn là các mô hình khác

Chuột nhỏ, dễ thao tác.


Thời gian thế hệ ngắn & tăng tuổi thọ, chi phí, không gian và thời gian có thể dễ dàng theo dõi được.

Có điểm tương đồng với con người về giải phẫu, sinh lý và di truyền.

Hơn 95% bộ gen của chuột giống với người.

Nhiều gen gây ra các bệnh phức tạp giống nhau giữa chuột và người.

Bộ gen chuột có thể được thao tác trực tiếp



Những mô hình
chuột nào đang
có thể phát triển

Tự phát

Cảm ứng do virus

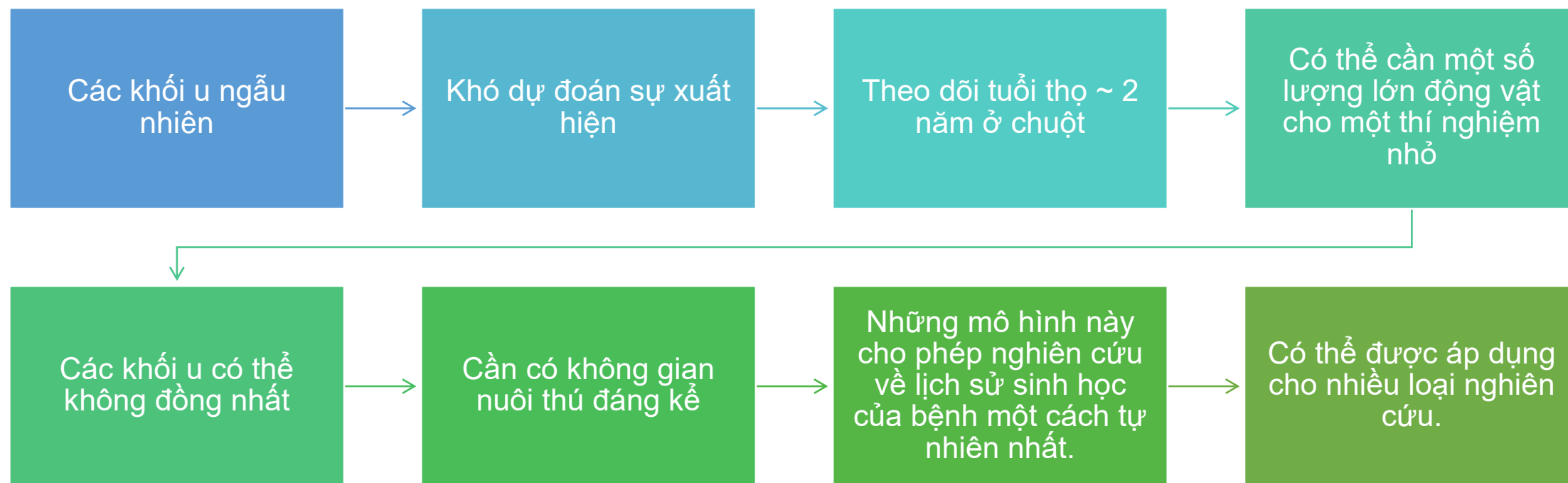
Chuyển gen

Knock in/out

Cảm ứng bằng hóa chất

Cấy ghép tế bào hoặc mảnh u

Đặc điểm các mô hình tự phát



Các mô hình khối u tự phát

- Bao gồm việc lựa chọn và sử dụng động vật có tỷ lệ mắc bệnh ung thư tự nhiên, ví dụ: Chuột thuộc một số chủng lai đặc biệt có khả năng phát triển các dạng ung thư riêng biệt.
- Đặc biệt là bệnh bạch cầu, ung thư tuyến vú, u tuyến phổi và u gan. Ở chuột DA/Han, hơn 60% động vật cái chết vì ung thư biểu mô tuyến nội mạc tử cung.
- Ở chuột BDII/Han, 87 đến 90% động vật chết vì ung thư biểu mô tuyến nội mạc tử cung.
- Các mô hình này mô phỏng tình hình lâm sàng gần nhất. Giống các bệnh ung thư ở người về động học và tính kháng nguyên.


Giới hạn của mô hình tự phát

Không thể thực hiện được tại một thời điểm đủ số lượng các khối u có kích thước tương đương như vậy cho mục đích sàng lọc.

Thông thường các khối u chỉ có thể đo được ở giai đoạn muộn và hình thái di căn không đồng nhất nên rất khó để xác định giai đoạn chính xác.

Các mô hình này thường không thể tái tạo và hầu hết chúng được phát hiện là có nguồn gốc virus.

Tuy nhiên, những khối u như vậy có thể thử nghiệm nghiêm ngặt các thuốc chống khối u và thường không được sử dụng để sàng lọc sơ cấp.



Các mô hình cảm ứng bởi virus

- Mô hình chuột Ung thư bạch cầu Friend (Friend Leukaemia)
 - Khối u này được Friend phát hiện lần đầu tiên ở chuột Swiss trưởng thành. Nó có thể được truyền sang những con chuột khác bằng cách tiêm dịch lọc không có tế bào của một phần lá lách của chuột bệnh
 - Ước chế sự tăng trọng của lá lách, giảm hiệu giá virus sống sót (đánh giá bằng xét nghiệm sinh học) và kéo dài thời gian sống sót là các thông số đánh giá khác nhau.
 - Từ khi cấy vi rút đến khi xuất hiện bệnh bạch cầu khoảng 2-4 tháng, thời gian và công sức là những yếu tố cản trở việc sử dụng các mô hình này trong nghiên cứu sàng lọc chống ung thư.

Các mô hình chuyển nhiễm virus

- Mouse Mammary Tumor Virus (MMTV) là loại virus đầu tiên trên chuột, được phân lập tại phòng thí nghiệm Jackson như là “yếu tố phi nhiễm sắc thể” gây ra các khối u ở tuyến vú của chuột.
- Một số vi rút gây ung thư thông qua tích hợp ngẫu nhiên trong các tế bào nhất định
- Một số vi rút mang gen ung thư tế bào
- Vi rút bệnh bạch cầu ở chuột Abelson - Abl
- Vi rút sarcoma chuột Moloney - Raf
- Các vi rút đã được biến đổi hiện nay được sử dụng thường xuyên trong phòng thí nghiệm để gây ung thư.

Mô hình Rous Sarcoma

- Khối u này lần đầu tiên được Rous phát hiện ở gà con.
- Nó có thể được truyền bằng cách cấy ghép các mảnh khối u hoặc cấy vật liệu không có tế bào từ các chất đồng nhất của khối u.
- Ước chế sự phát triển của khối u và thời gian sống sót là các thông số đánh giá thường được sử dụng trên mô hình này
- Đây là khối u cục bộ nên dễ dàng đánh giá sự phát triển của khối u.
- Tuy nhiên, nó không nhạy cảm với nhiều loại tác nhân nên có thể bỏ sót nhiều hợp chất quan trọng.

Khối u được cảm ứng bằng tia xạ

- Bức xạ UV là chất gây ung thư. Tính chất này được khai thác để gây ung thư ở động vật thí nghiệm bằng cách cho chúng tiếp xúc với liều lượng bức xạ định trước.
- Các mô hình này chủ yếu là mô hình khối u trên da. Đôi khi bức xạ được sử dụng kết hợp với tác nhân hóa học khác, như TPA hoặc DMBA. (**7,12-Dimethylbenz[*a*]anthracene, tetradecanoylphorbol-13-acetate**)
- ☐ Sự hình thành khối u trên da do tia UV gây ra ở chuột không lông SKH-1. Mô hình 2 giai đoạn để tạo khối u trên da là ví dụ của loại mô hình này.
- ☐ Ưu điểm của các mô hình này là các khối u xuất hiện trên da, vì vậy chúng có thể dễ dàng đánh giá được. Việc sử dụng bức xạ có thể gây ra nguy cơ bức xạ cho nhà nghiên cứu.

- Các khối u gây ra bởi các chất gây ung thư hóa học phát sinh từ các tế bào của chính vật chủ và do đó giống với bệnh ung thư lâm sàng ở người hơn là các khối u cấy ghép.
- Hạn chế đối với các khối u do hóa chất gây ra là tác động có thể có của chất gây ung thư đối với hành vi của khối u và các mối nguy hiểm đối với các động vật khác và đối với con người có thể phát sinh từ chất gây ung thư được bài tiết và các chất chuyển hóa của nó trong phân và nước tiểu của động vật

Khối u cảm ứng bằng hóa học

Mô hình cảm ứng bằng hóa chất



DMBA gây ra u nhú trên da chuột

Mô hình Sinh ung thư thực nghiệm hai giai đoạn

- Chất khởi đầu - DMBA (dimethylbenz [a] anthracen),

- Chất thúc đẩy - TPA. (12-O-tetradecanoyl-phorbol-13- acetate) □

Chuột: Liều duy nhất - 2,5 μ g DMBA và liều 5 đến 10 μ g TPA trong 0,2 ml aceton hai lần mỗi tuần.

- U nhú bắt đầu xuất hiện sau 8 đến 10 tuần - Tỷ lệ mắc và tính đa dạng của khối u của nhóm điều trị được so sánh với nhóm đối chứng DMBA

Mô hình cảm ứng ung thư biểu mô tuyến

- Gây ra các khối u phụ thuộc hormone
- Tiêm tĩnh mạch 50 mg / kg methylnitrosourea - chuột 50 ngày tuổi.
- Ung thư biểu mô tuyến sẽ được tạo ra trong vòng 180 ngày kể từ ngày hậu ung thư - 75 đến 95%



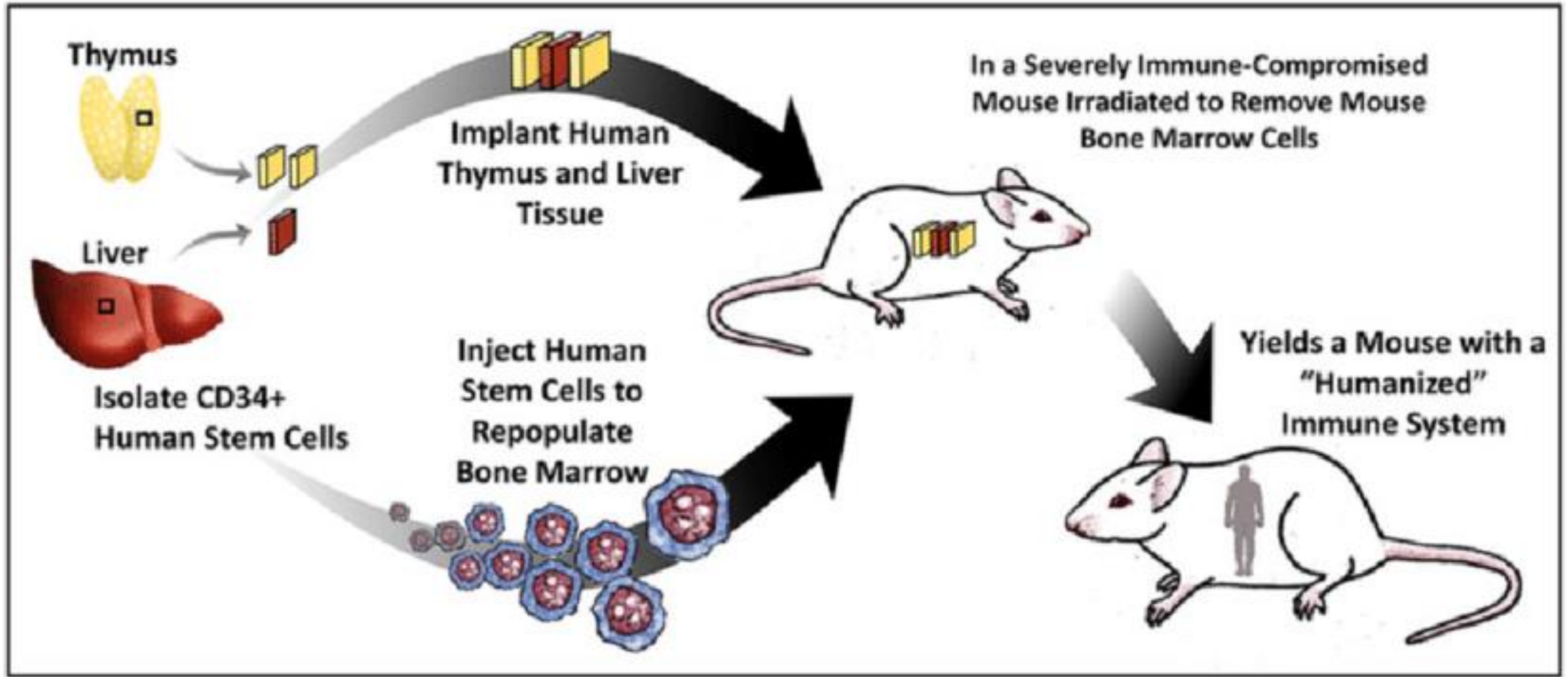
AT MAMMARY GLAND CA

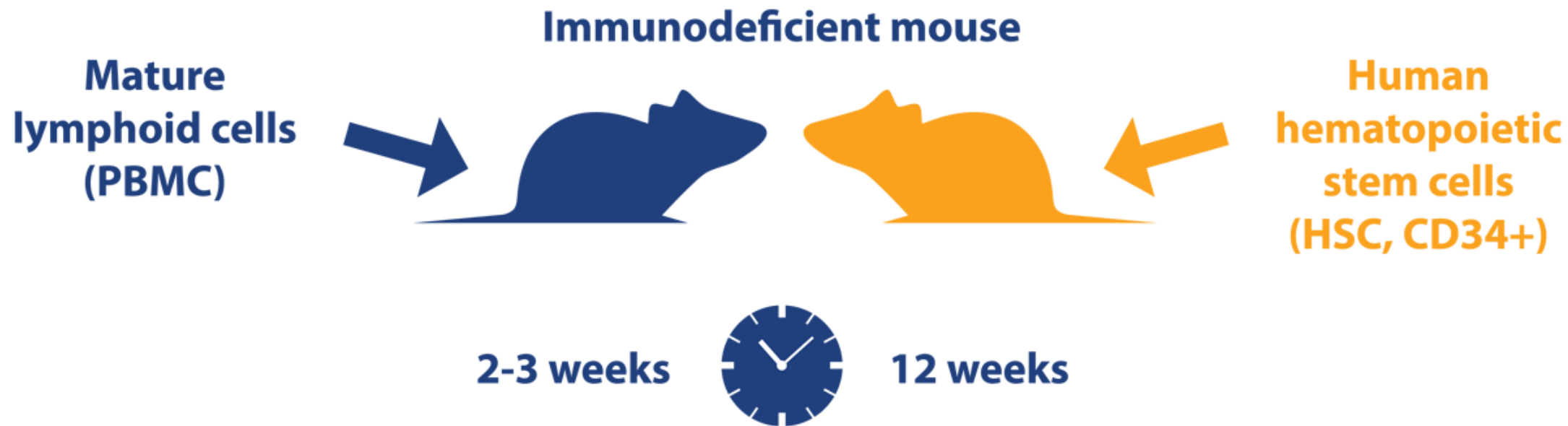
Cancer site	Cancer Type	Species	Carcinogen
Colon	Adenocarcinomas	Rat	AOM (azoxymethane)
Prostate	Adenocarcinomas	Rat	MNU (methylnitrosourea)
Esophagus	Squamous cell carcinoma	Rat	NMBA(N-nitroso-methylbenzylamine)
Breast	Adenocarcinoma	Mice	NMU (N-Nitroso-N-methylurea)



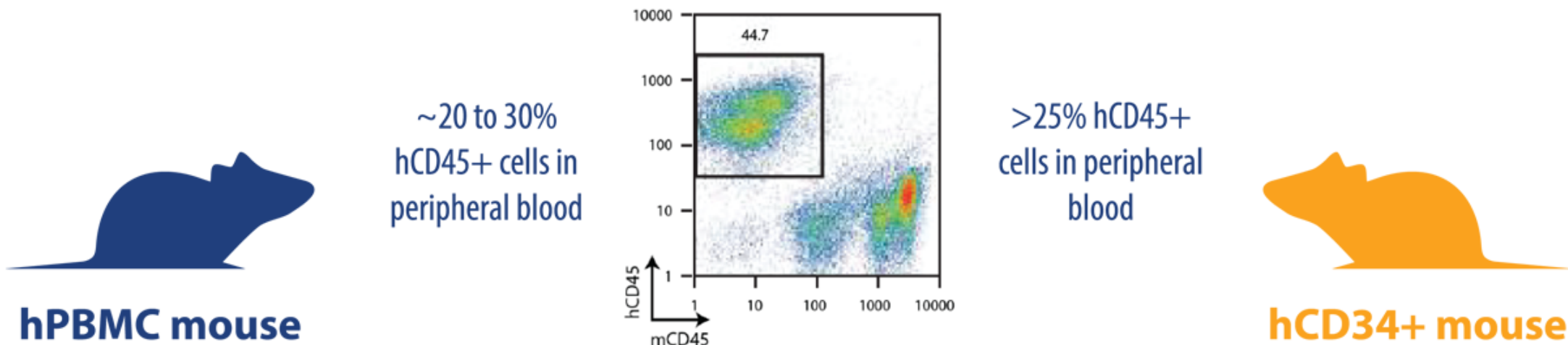
Mô hình chuột nhân hóa
trong nghiên cứu ung thư

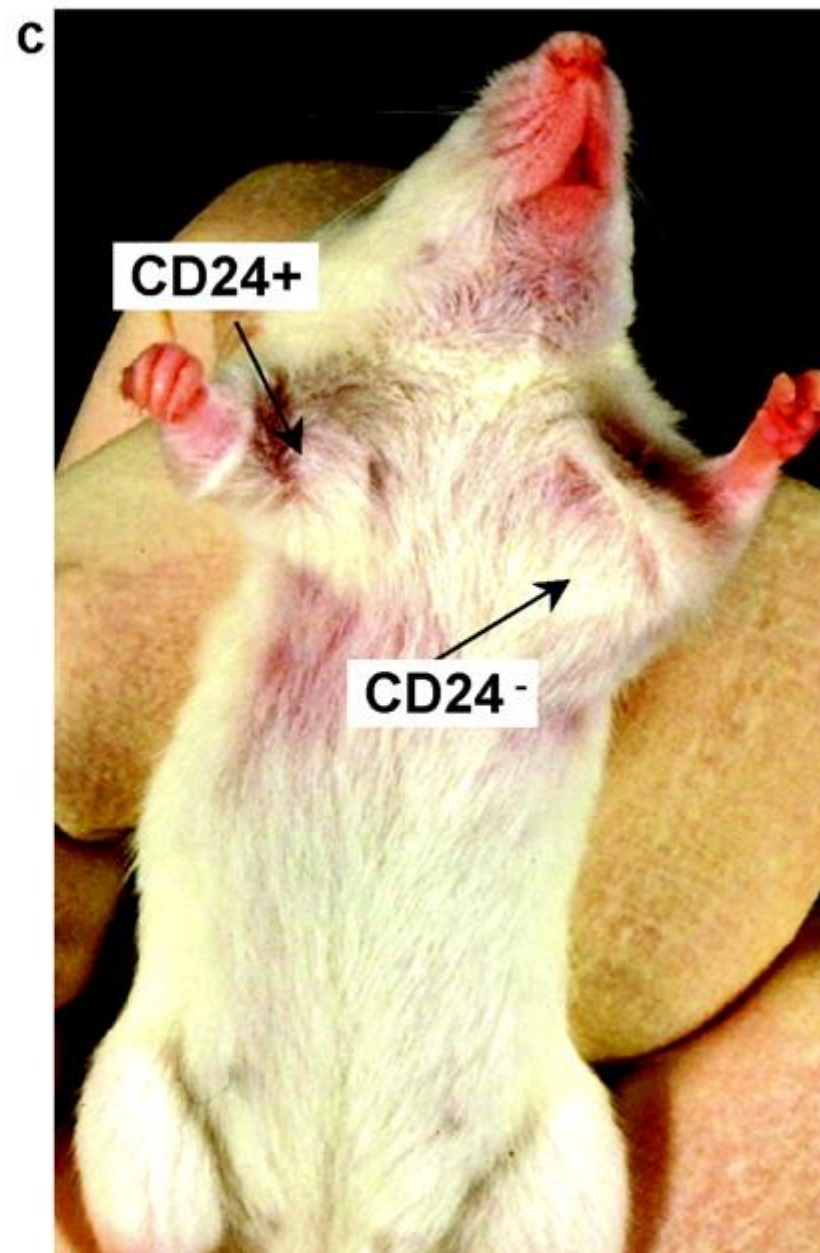
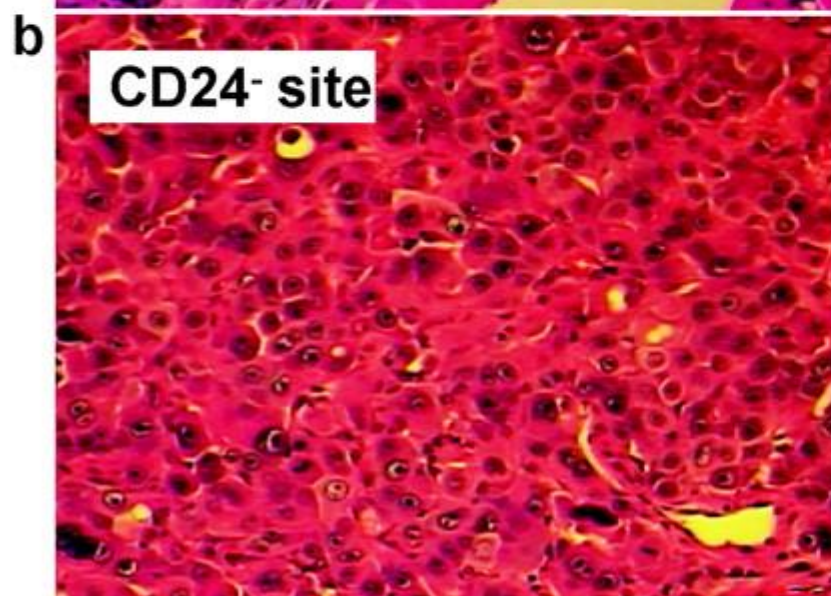
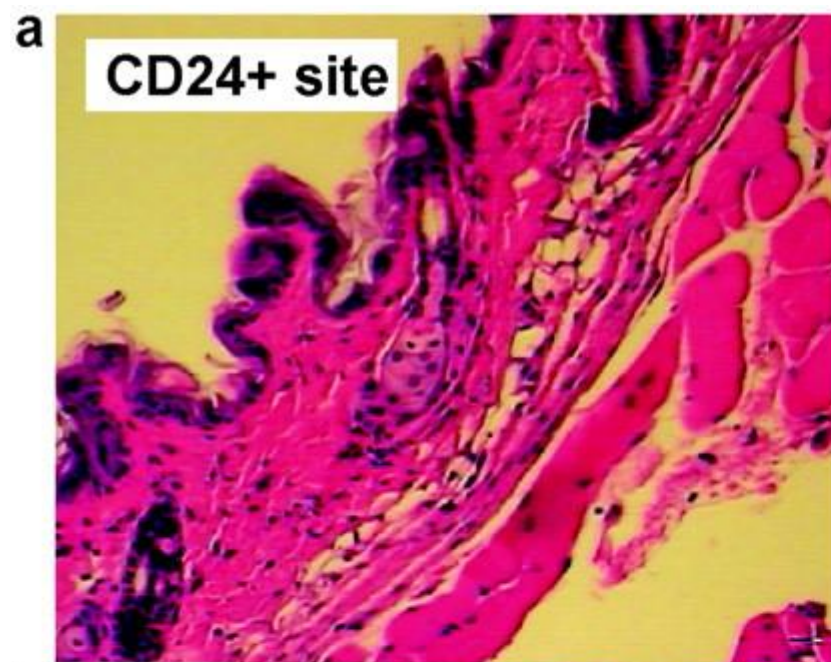
Making a Mouse with a Human Immune System

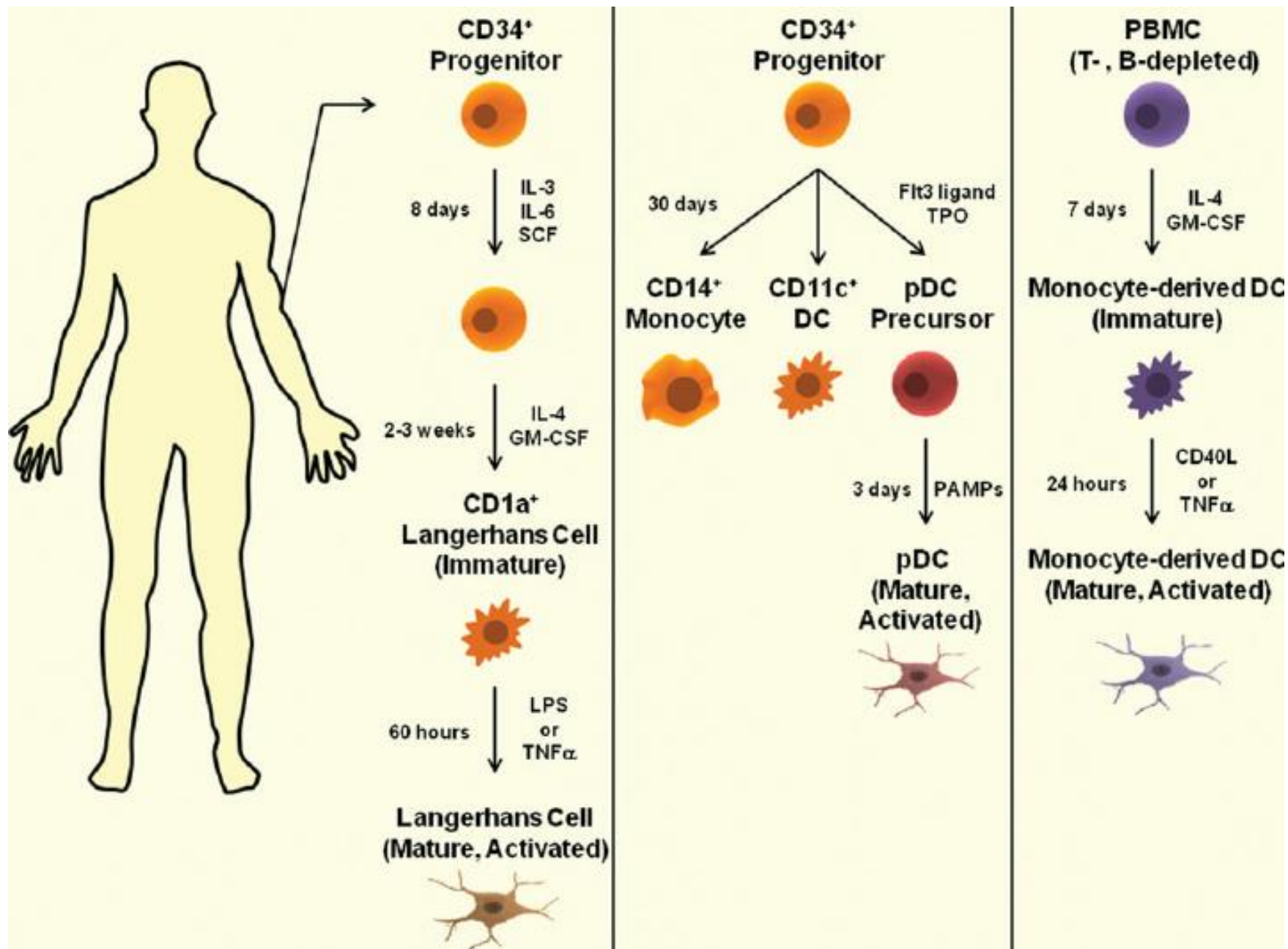


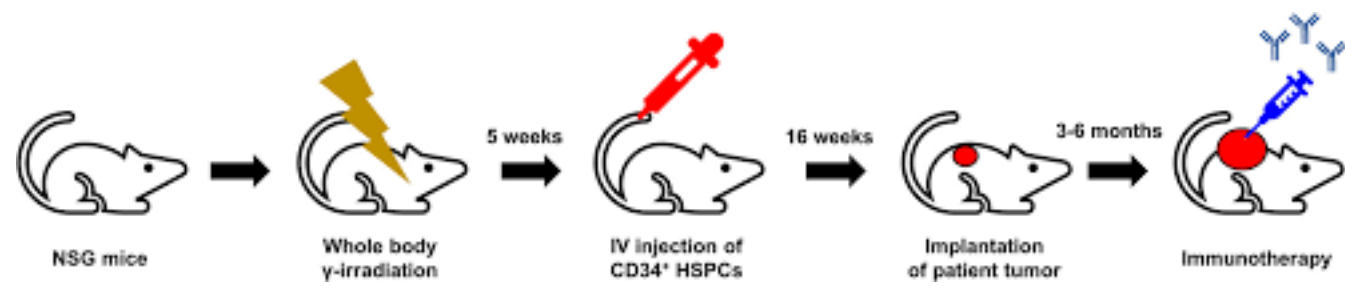


Engraftment validation





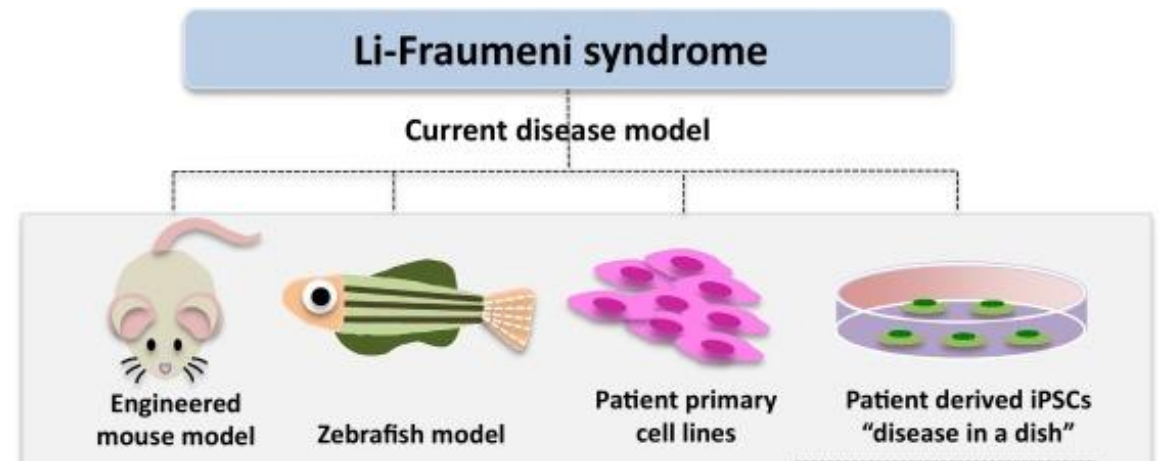




Mô hình Li-fraumeni – phát sinh ngẫu nhiên ung thư

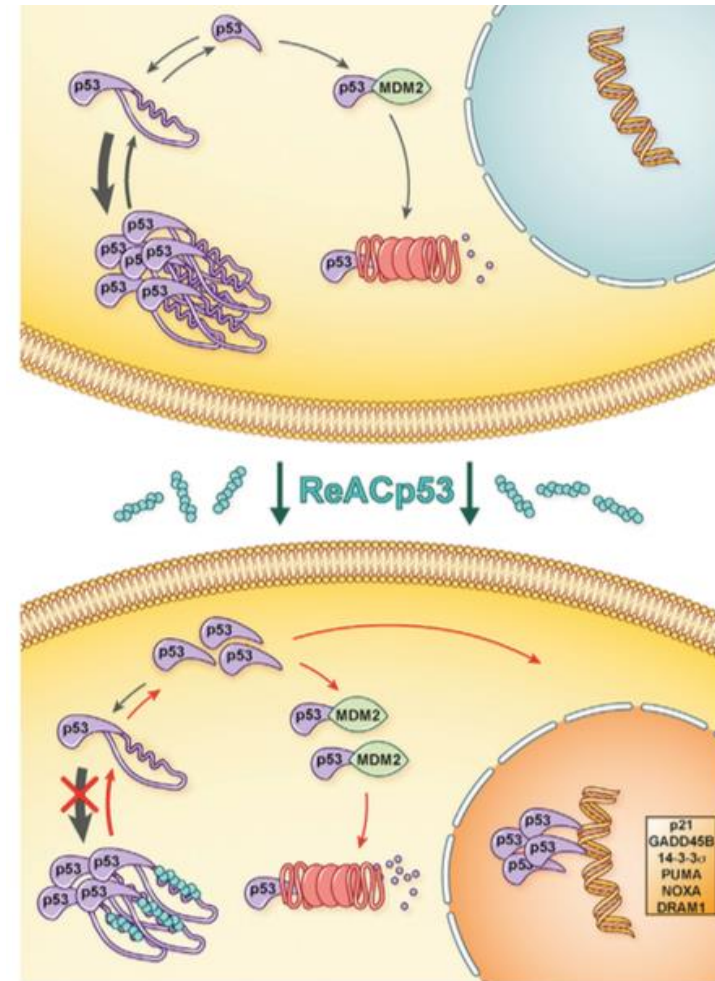
- Frederick Pei Li and Joseph F. Fraumeni, Jr.
- Đột biến p53
- **sarcoma, breast, leukaemia and adrenal gland (SBLA) syndrome.**

Children and young adults are susceptible to developing several multiple cancers, most notably soft-tissue and bone sarcomas, breast cancer, brain tumors, adrenocortical carcinoma and acute leukemia. Other cancers seen in LFS patients include gastrointestinal cancers and cancers of the lung, kidney, thyroid, and skin, as well as in gonadal organs (ovarian, testicular, and prostate.)



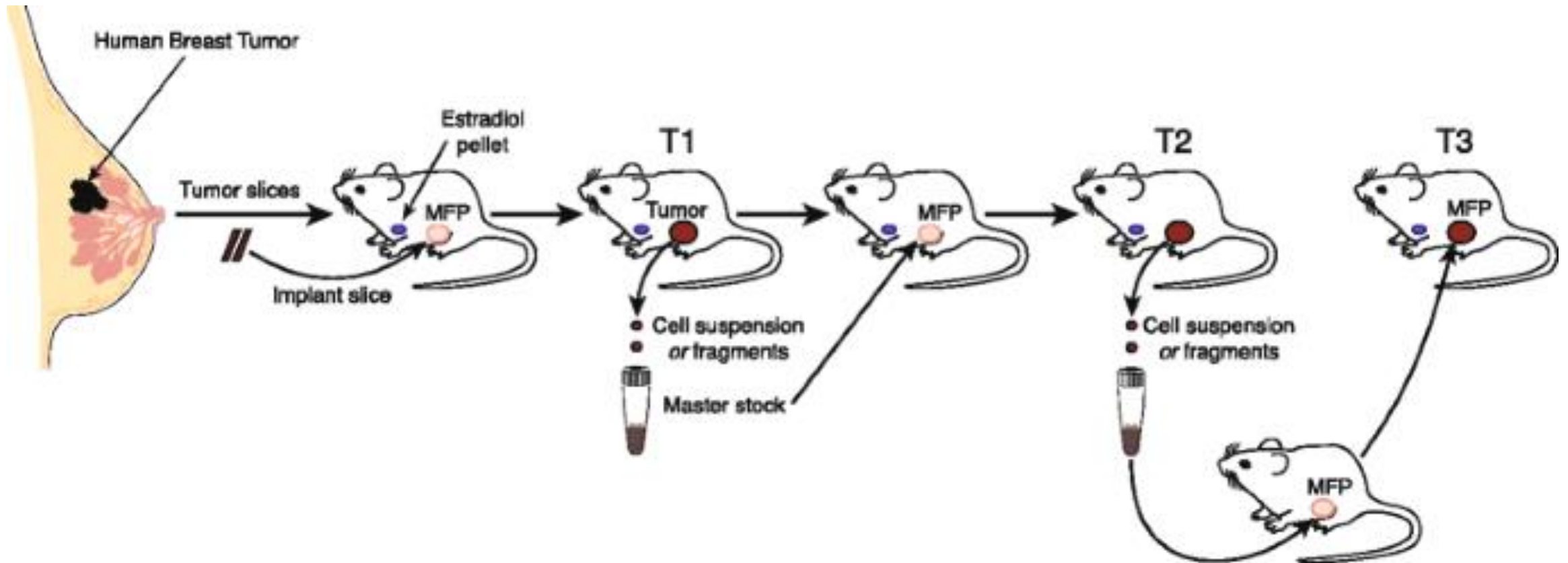
Mutant p53 aggregation in cancer

- P53 is a tumor suppressor gene
- Most mutated gene in cancer
- Mutant p53 is unstable and aggregates
- The Eisenberg lab designed a structure-based aggregation inhibitor (ReACp53)
- ReACp53 has anticancer effects in vitro and In vivo



Soragni, A., et al. (2016). "A Designed Inhibitor of p53 Aggregation Rescues p53 Tumor Suppression in Ovarian Carcinomas." Cancer Cell **29**(1): 90-103.

Mô hình chuột ghép khối u người



Một số lưu ý

- ☐ Các khối u tự phát là mô hình ung thư nguyên thủy nhất.
- ☐ Mặc dù không hữu ích nhiều trong việc nghiên cứu thuốc, nhưng những mô hình này đã cung cấp cái nhìn sâu sắc trong việc nghiên cứu sự tiến triển tự nhiên của bệnh.
- ☐ Hiện nay hiếm khi sử dụng khối u do vi rút gây ra.
- ☐ Các khối u cảm ứng hóa học và bức xạ có vị trí riêng trong việc sàng lọc và đánh giá thuốc. Tuy nhiên, do một số hạn chế của chúng (đặc biệt là thời gian cảm ứng dài) nên việc sử dụng chúng trong các chương trình sàng lọc quy mô lớn là không khả thi.
- ☐ Trong thiết lập như vậy, đòi hỏi các kỹ thuật ngắn hạn, có thể lặp lại thí nghiệm và rẻ hơn.
- ☐ mô hình khối u cấy ghép cung cấp lựa chọn tốt nhất.

Một số lưu ý

- Sử dụng các dòng tế bào (trong ống nghiệm hoặc trong khối u có thể cấy ghép) mang lại sự linh hoạt tuyệt vời cho loại sàng lọc này
- Các mô hình Chuột được Biến đổi Di truyền cũng có tiềm năng được sử dụng để sàng lọc định hướng bệnh tật.
- (Tuy nhiên, các dòng tế bào được ưu tiên hơn vì những lý do rõ ràng) Nhưng chủ yếu được sử dụng để nghiên cứu chất sinh ung thư.
- Việc sử dụng các mô hình này đã tạo ra một số phân tử thuốc được nhắm mục tiêu đầy hy vọng, cho thấy những kết quả thú vị trong các nghiên cứu lâm sàng.
- Như vậy, mỗi mô hình đều có điểm tốt và điểm kém riêng. Không có mô hình nào là lý tưởng. Vì vậy, sự hiểu biết thấu đáo về các mô hình có sẵn và cách sử dụng hợp lý của nó là điều quan trọng

