(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 112980690 A
(43)申请公布日 2021.06.18

(21)申请号 201911300777.9

(22)申请日 2019.12.17

(71)申请人 华东数字医学工程研究院
地址 334000 江西省上饶市信州区广信大道36号星河国际1栋

(72)发明人 刘利彪 饶丽丽 张海涛 龙小燕

(74)专利代理机构 北京林达刘知识产权代理事务所(普通合伙) 11277
代理人 刘新宇 张会华

(51)Int.Cl.
*C12M 3/06*(2006.01)
*A61K 49/00*(2006.01)

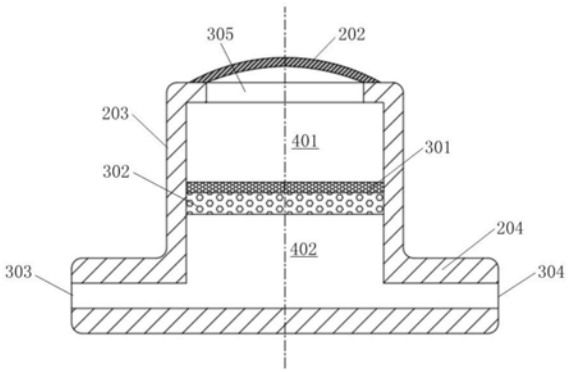
权利要求书2页 说明书6页 附图2页

(54)发明名称

PDX模型孵育装置和抗肿瘤药物筛选方法

(57)摘要

提供一种PDX模型孵育装置和抗肿瘤药物筛选方法,PDX模型孵育装置包括多孔隔膜,多孔隔膜承载目标培养物,PDX模型孵育装置包括主体和连接管,多孔隔膜设于主体并将主体的内部空间划分为第一腔室和第二腔室,第一腔室为密封腔室且用于容纳目标培养物,连接管用于连接宿主的血管和第二腔室,从而第二腔室供宿主的血液通过,目标培养物包括肿瘤组织,血液内的营养物质能够穿透多孔隔膜而进入第一腔室。本公开直接使用肿瘤组织作为目标培养物,省去了采集肿瘤细胞的步骤,节约了时间和试剂,提高了成瘤率。




CN 112980690 A

1.一种PDX模型孵育装置,其用于植入宿主体内并利用所述宿主体内的营养物质培养目标培养物,所述PDX模型孵育装置包括多孔隔膜(302),所述多孔隔膜(302)承载所述目标培养物,其特征在于,

所述PDX模型孵育装置包括主体和连接管,所述多孔隔膜(302)设于所述主体并将所述主体的内部空间划分为第一腔室(401)和第二腔室(402),所述第一腔室(401)为密封腔室且用于容纳所述目标培养物,所述连接管用于连接所述宿主的血管和所述第二腔室(402),从而所述第二腔室(402)供所述宿主的血液通过,所述目标培养物包括肿瘤组织(301),所述血液内的营养物质能够穿透所述多孔隔膜(302)而进入所述第一腔室(401)。

2.根据权利要求1所述的PDX模型孵育装置,其特征在于,所述PDX模型孵育装置设有开口(305),所述开口(305)设于所述主体并与所述第一腔室(401)连通,在所述开口(305)上设有用于封闭其的密封件,所述密封件能够在外力作用下使所述开口(305)反复地与外界连通和隔绝,所述肿瘤组织(301)能够通过所述开口(305)进入或者离开所述第一腔室(401)。

3.根据权利要求2所述的PDX模型孵育装置,其特征在于,所述密封件包括由硅胶材料制成的外隔膜(202),所述外隔膜(202)设于所述开口(305)以使所述开口(305)与外界隔绝。

4.根据权利要求3所述的PDX模型孵育装置,其特征在于,所述外隔膜由透明液体硅胶制成。

5.根据权利要求1所述的PDX模型孵育装置,其特征在于,所述多孔隔膜(302)具有多个渗透孔,所述渗透孔的孔径为0.1微米至0.5微米。

6.根据权利要求1所述的PDX模型孵育装置,其特征在于,所述第一腔室(401)的容积是所述第二腔室(402)的容积的30%至120%。

7.根据权利要求1所述的PDX模型孵育装置,其特征在于,所述主体包括连接的外壳(203)和底座(204),所述第一腔室(401)位于所述外壳(203)内,所述底座(204)具有环形的凸缘(207),所述凸缘(207)与所述连接管连接并设有缝合孔(206),所述缝合孔(206)用于贯穿缝合至所述宿主的缝合线。

8.一种抗肿瘤药物筛选方法,其特征在于,所述方法包括采用如权利要求1至7中任一项所述的PDX模型孵育装置植入宿主内来培养第一腔室(401)内的肿瘤组织(301),所述肿瘤组织(301)在扩增后用于筛选抗肿瘤药物。

9.根据权利要求8所述的抗肿瘤药物筛选方法,其特征在于,所述方法包括以下步骤:

S1、先将所述PDX模型孵育装置植入宿主体内以与所述宿主的动脉血管连通,然后将所述肿瘤组织(301)投放到所述第一腔室(401)。

10.根据权利要求9所述的抗肿瘤药物筛选方法,其特征在于,在步骤S1之后还包括以下步骤:

S2、用外力使所述肿瘤组织(301)变碎;

S3、从所述PDX模型孵育装置抽吸变碎的所述肿瘤组织(301);

S4、将变碎的所述肿瘤组织(301)分别投放到多个所述PDX模型孵育装置,并将所述多个PDX模型孵育装置植入宿主体内;以及

S5、向所述宿主注射待测抗肿瘤药物;

S6、观测和检测所述PDX模型孵育装置内的所述肿瘤组织(301)，并统计抗肿瘤药物的药性。

# PDX模型孵育装置和抗肿瘤药物筛选方法

## 技术领域

[0001] 本发明涉及生物医疗技术领域，且特别涉及一种用于辅助成瘤的PDX模型孵育装置和抗肿瘤药物筛选方法。

## 背景技术

[0002] 在传统的治疗方案中，同一种疾病的患者服用的药物种类与剂量是大致一样的。在微观基因和宏观体质上个人具有差异性，不同的人使用同样的治疗方案，治疗效果也可能会有较大的差异。为了更为精准地治疗肿瘤，克服肿瘤异质性的影响，动物模型就成为一个重要的工具。

[0003] 人源肿瘤异种移植模型(PDX模型)是将病人的肿瘤组织直接移植到免疫缺陷鼠内而建立的体内肿瘤模型，保留了原代肿瘤的大部分特点，在新药开发、靶点药物的临床筛选等研究中有着良好的应用。但是PDX模型的运用也具有价格昂贵、周期较长的缺点。以乳腺癌为例，目前建模的价格为5万元，周期为三个月，成功率约为13％，且随着培养代数的增加，宿主实验鼠的基质会慢慢侵入肿瘤组织，影响其各项特性。

[0004] CN107976534A为了克服传统工艺的缺点提出了一种抗肿瘤药物快速药效筛选方法及其专用装置。在上述专利公开中，通过对患者的肿瘤组织进行消化、分选等步骤获得肿瘤细胞，并将肿瘤细胞的载体埋在动物皮下，使肿瘤细胞处于皮下组织液环境中。该方法具有以下缺点：

[0005] 肿瘤细胞没有了肿瘤微环境的支持，肿瘤微环境中的间质细胞对肿瘤的耐药性具有较大影响，只有肿瘤细胞而没有肿瘤微环境，则肿瘤细胞会慢慢变异改性，最终导致与原代组织不同从而导致药物筛选不准确。另外，在短期内(例如，七天)不可能形成血管网络并与宿主相连接，这样，药物在动物体内的代谢与运输则与在患者体内不同，同样会影响药物筛选的准确性。

[0006] 因而，亟待本领域技术人员解决的技术问题是如何提高PDX模型的成瘤率，以及肿瘤药物筛选的准确性。

## 发明内容

[0007] 鉴于上述现有技术的状态而做出本发明。本发明的目的在于提供一种PDX模型孵育装置和抗肿瘤药物筛选方法，其能够提高PDX模型的成瘤率，并且对抗肿瘤药物进行准确的筛选。

[0008] 提供一种PDX模型孵育装置，其用于植入宿主体内并利用所述宿主体内的营养物质培养目标培养物，所述PDX模型孵育装置包括多孔隔膜，所述多孔隔膜承载所述目标培养物，

[0009] 所述PDX模型孵育装置包括主体和连接管，所述多孔隔膜设于所述主体并将所述主体的内部空间划分为第一腔室和第二腔室，所述第一腔室为密封腔室且用于容纳所述目标培养物，所述连接管用于连接所述宿主的血管和所述第二腔室，从而所述第二腔室供所

述宿主的血液通过，所述目标培养物包括肿瘤组织，所述血液内的营养物质能够穿透所述多孔隔膜而进入所述第一腔室。

[0010] 优选地，所述PDX模型孵育装置设有开口，所述开口设于所述主体并与所述第一腔室连通，在所述开口上设有用于封闭其的密封件，所述密封件能够在外力作用下使所述开口反复地与外界连通和隔绝，所述肿瘤组织能够通过所述开口进入或者离开所述第一腔室。

[0011] 优选地，所述密封件包括由硅胶材料制成的外隔膜，所述外隔膜设于所述开口以使所述开口与外界隔绝。

[0012] 优选地，所述外隔膜由透明液体硅胶制成。

[0013] 优选地，所述多孔隔膜具有多个渗透孔，所述渗透孔的孔径为0.1微米至0.5微米。

[0014] 优选地，所述第一腔室的容积是所述第二腔室的容积的30％至120％。

[0015] 优选地，所述主体包括连接的外壳和底座，所述第一腔室位于所述外壳内，所述底座具有环形的凸缘，所述凸缘与所述连接管连接并设有缝合孔，所述缝合孔用于贯穿缝合至所述宿主的缝合线。

[0016] 还提供一种抗肿瘤药物筛选方法，所述方法包括采用上述技术方案中任一项所述的PDX模型孵育装置植入宿主内来培养第一腔室内的肿瘤组织，所述肿瘤组织在扩增后用于筛选抗肿瘤药物。

[0017] 优选地，所述方法包括以下步骤：

[0018] S1、先将所述PDX模型孵育装置植入宿主体内以与所述宿主的动脉血管连通，然后将所述肿瘤组织投放到所述第一腔室。

[0019] 优选地，在步骤S1之后还包括以下步骤：

[0020] S2、用外力使所述肿瘤组织变碎；

[0021] S3、从所述PDX模型孵育装置抽吸变碎的所述肿瘤组织；

[0022] S4、将变碎的所述肿瘤组织分别投放到多个所述PDX模型孵育装置，并将所述多个PDX模型孵育装置植入宿主体内；以及

[0023] S5、向所述宿主注射待测抗肿瘤药物；

[0024] S6、观测和检测所述PDX模型孵育装置内的所述肿瘤组织，并统计抗肿瘤药物的药性。

[0025] 上述技术方案至少具有以下有益效果：

[0026] 本公开直接使用肿瘤组织作为目标培养物，省去了采集肿瘤细胞的步骤，节约了时间和试剂。肿瘤细胞离体以后的存活率会随着时间的延长迅速下降，而肿瘤组织在体外的存活时间比肿瘤细胞长，从而采用肿瘤组织用于PDX模型的辅助成瘤能够获得较高的成瘤率。本公开采用肿瘤组织作为目标培养物，将可以最大程度的保留肿瘤细胞生长的微环境，提高成瘤率。

[0027] 本公开提供的孵育装置和抗肿瘤药物筛选方法直接将血液作为培养液输出给肿瘤组织，这既能提供肿瘤生长所需的丰富的营养物质，还能更准确的模拟药物动力学和药物代谢过程，从而进行准确的药物筛选试验，且该孵育装置能够被用于后期的药物筛选试验。

## 附图说明

[0028] 图1为本公开提供的PDX模型孵育装置的立体图。

[0029] 图2为本公开提供的PDX模型孵育装置的主体的剖视图。

[0030] 图3为采用本公开提供的PDX模型孵育装置和采用传统的PDX模型孵育装置的成瘤时间的对比图，其中所孵育的肿瘤为胶质瘤。

[0031] 图4为采用本公开提供的PDX模型孵育装置和采用传统的PDX模型孵育装置的成瘤率的对比图，其中所孵育的肿瘤为口腔鳞癌肿瘤。

[0032] 附图标记说明：

[0033] 201导进管、202外隔膜、203外壳、204底座、205导出管、206缝合孔、207凸缘、301肿瘤组织、302多孔隔膜、303进液口、304出液口、305开口、401第一腔室、402第二腔室。

## 具体实施方式

[0034] 下面参照附图描述本发明的示例性实施方式。应当理解，这些具体的说明仅用于示教本领域技术人员如何实施本发明，而不用于穷举本发明的所有可行的方式，也不用于限制本发明的范围。

[0035] 如图1和图2所示，本公开提供一种PDX模型孵育装置，其用于植入到宿主体内并利用宿主体内的营养物质培养目标培养物。该目标培养物包括肿瘤组织301，特别是原代肿瘤组织，肿瘤组织301包括肿瘤细胞、间质细胞和细胞外基质。

[0036] 本公开直接使用肿瘤组织301作为目标培养物，省去了采集肿瘤细胞的步骤，节约了时间和试剂。肿瘤细胞离体以后的存活率会随着时间的延长迅速下降，而肿瘤组织在体外的存活时间比肿瘤细胞长，从而采用肿瘤组织用于PDX模型的辅助成瘤能够获得较高的成瘤率。实际上，肿瘤细胞是需要周围的微环境来维持的，本公开采用肿瘤组织作为目标培养物，可以最大程度地保留肿瘤细胞生长的微环境，提高成瘤率。

[0037] 该孵育装置包括主体和连接管，肿瘤组织301容纳在主体内，连接管用于将主体与宿主的血管(特别是动脉血管)连通从而将血液中的营养物质运送到主体内供肿瘤组织301利用。

[0038] 肿瘤的生长包括自身发展出血管，以及沿着宿主体内的血管生长，从血管中获得养分与氧气。在治疗过程中，药物被注射到血液循环系统，然后再通过血液被运送到肿瘤组织。本公开提供的孵育装置和药物筛选方法直接将血液作为培养液输出给肿瘤组织301，这既能提供肿瘤生长所需的丰富的营养物质，还能更准确地模拟药物动力学和药物代谢过程，从而进行准确的药物筛选试验，且该孵育装置能够被用于后期的药物筛选试验。

[0039] 主体包括外壳203、底座204、多孔隔膜302和外隔膜202，外壳203与底座204连接，底座204与连接管连接，外壳203的内部空间与底座204的内部空间连通。外壳203和底座204可以采用高分子合成材料制成，外壳203可以为筒状，其外径例如为15毫米。外壳203能够保护内部的部件、细胞和组织的生长，避免试验动物的植入部位的肌肉对它们的挤压。

[0040] 多孔隔膜302设于主体内(特别是外壳203内)，多孔隔膜302将主体的内部空间划分为第一腔室401和第二腔室402。第一腔室401在外壳203内形成且为为密封腔室，第一腔室401用于容纳肿瘤组织301，第二腔室402的一部分在外壳203内形成，另一部分在底座204内形成，连接管连接第二腔室402与宿主的血管从而宿主的血液能够进入第二腔室402。当

血液流经连接管并进入第二腔室402时，血液内的营养物质能够穿透多孔隔膜302而进入第一腔室401。当PDX模型孵育装置植入宿主体内时，第一腔室401位于第二腔室402的外侧。

[0041] 第一腔室401的容积可以是第二腔室402的容积的30％至120％。这样设置可以兼顾营养物质的量和肿瘤组织301的量，从而高效率地进行培养。

[0042] 主体可以设有开口305、进液口303和出液口304，连接管包括导进管201和导出管205。开口305用于投放未经培养的肿瘤组织301和提取经培养的肿瘤组织301。进液口303与导进管201连接。出液口304与导出管205连接。开口305特别地可以设于外壳203并与第一腔室401连通，进液口303和出液口304特别地可以设于底座204并与第二腔室402连通。

[0043] 在开口305上设有密封其的密封件，通过用外力操作密封件能够使该开口305反复地与外界连通(打开)和与外界隔绝(关闭)。

[0044] 密封件可以包括由硅胶材料制成的外隔膜202，外隔膜202封住开口305，用于投放或提取肿瘤组织301的针头能够穿透外隔膜202。当针头穿透外隔膜202时，开口305具有与外界连通的针孔从而接收肿瘤组织301或者使肿瘤组织301离开，例如被吸出，当针头从外隔膜202拔除时，在外隔膜202留下的针孔自动闭合从而开口305关闭。应当理解，开口305与外界连通时仅是与外部一个密封腔(如注射器)连通，用于接收肿瘤组织301，而不与外部空气连通从而防止肿瘤组织受污染。

[0045] 该开口305可以反复地打开和关闭，从而反复地与外界连通和隔绝，这样可以多次地提取经培养的肿瘤组织301，提高该孵育装置的利用率。采用硅胶材料制成的外隔膜202形成密封件，开口305可以自动地闭合，具有操作方便、减小宿主(实验动物)感染和肿瘤组织受污染的风险的优点。

[0046] 在其他实施方式中，还可以例如在开口305上设置硬质的不可被针头穿透的密封件，通过例如移除和盖上密封件来反复地打开和关闭开口305。

[0047] 特别地，外隔膜202可以由透明液体硅胶材料制成。开口305可以露出宿主的皮肤表面，而孵育装置的其他部分位于皮肤表面以下。这样，可以在开口305处形成观察窗，以便随时观察孵育装置的内部情况。

[0048] 多孔隔膜302具有多个渗透孔，渗透孔的孔径例如为0.1微米至0.5微米，优选地为0.3毫米，渗透孔的孔径小于免疫细胞的直径。这样，渗透孔可以供血液中的营养物质穿过而阻挡免疫细胞，既为肿瘤组织301提供营养物质，又防止免疫细胞对肿瘤组织301进行攻击。

[0049] PDX模型孵育装置中可以被放入肿瘤组织301，肿瘤组织301经切割而形成为柱状，其体积可以为1立方毫米左右，其长度可以为1毫米至6毫米，其厚度可以为0.5毫米至1.5毫米。可以采用例如1毫升的注射器将经切割的肿瘤组织301注射到第一腔室401。

[0050] 底座204可以连接在外壳203的轴向一端并具有向径向外侧凸出的凸缘207。凸缘207形成为环形，凸缘207与连接管连接并设有缝合孔206，缝合孔206用于贯穿缝合至宿主的缝合线。凸缘207例如具有沿外壳203的周向间隔设置的四个缝合孔206。这样底座204缝合至宿主并且为外壳203提供稳定的支撑，使得孵育装置被稳定地植入宿主体内。

[0051] 本公开还提供一种抗肿瘤药物筛选方法，该方法包括以下步骤：

[0052] S1、先将PDX模型孵育装置植入宿主体内以与宿主的动脉血管连通，然后将肿瘤组织301投放到PDX模型孵育装置，从而将肿瘤组织301培养至预定数量；

[0053] S2、在观测到所述肿瘤组织301被培养至预定数量后，用外力使所述肿瘤组织301变碎，例如用穿刺针捣碎肿瘤组织301；

[0054] S3、从PDX模型孵育装置抽吸变碎的所述肿瘤组织301；

[0055] S4、将多个PDX模型孵育装置植入宿主体内，然后将被抽吸的肿瘤组织301分别投放到多个PDX模型孵育装置；

[0056] S5、向植入有上述多个PDX模型孵育装置的宿主注射待测抗肿瘤药物。

[0057] S6、观测和检测所述PDX模型孵育装置内的肿瘤组织301，并统计抗肿瘤药物的药性。

[0058] 从患者体内提取的肿瘤组织通常情况下体积较小，当将其扩增至一定的数量时可以对其进行提取、切割和分组，可以对每组肿瘤组织重复地进行提取、分割和分组，优选地采用三代以前的肿瘤组织进行试验。将多组肿瘤组织投放到多个上述PDX模型孵育装置，从而能够进行高通量的平行式药物筛选实验。

[0059] 在进行步骤S5之前，可以重复步骤S2至步骤S4以进行传代操作，获得三代以前的肿瘤组织时停止传代。

[0060] 在步骤S5之后，定期观测实验动物体内肿瘤的生长状态，然后统计测试药物的药效。

[0061] 在一个具体的实施例中，利用PDX孵育装置辅助成瘤的操作过程如下：

[0062] 筛选健康、状态稳定的实验动物，例如裸大鼠、豚鼠和实验用兔等。

[0063] 然后通过满足伦理要求的方法、采用试剂将实验动物麻醉，并将上述PDX模型孵育装置植入实验动物体内，将与进液口303连接的导进管201插进实验动物的动脉血管的上游位置，将与出液口304连接的导出管205插进同一血管的下游位置，使外隔膜202露出实验动物的表皮以便于观察。

[0064] 缝合植入部位，用生物胶水封闭缝合口并在缝合口覆盖上无菌纱，在封闭、经过过滤、有洁净风循环的环境内正常饲养实验动物两周。

[0065] 经患者与伦理委员会同意后，将患者的肿瘤组织301切碎为柱状，体积约为1立方毫米，厚度约为0.5mm至1.5mm，长度约为1mm至6mm，然后将肿瘤组织301与基质胶混合后放进1ml注射器内。

[0066] 将注射器与针头结合，针头穿透外隔膜202，肿瘤组织301被注射进PDX模型孵育装置的第一腔室401，然后拔出针头，外隔膜202的针孔自动封闭。

[0067] 将实验动物送回饲养室，正常饲养，观察并记录肿瘤组织的成瘤情况。

[0068] 如图3和图4所示，统计了采用本公开提供的PDX模型孵育装置孵育胶质瘤的成瘤时间和采用传统的工艺(即将切碎后的肿瘤组织直接注射在宿主，例如实验鼠的皮下成瘤)孵育胶质瘤的成瘤时间，以及采用本公开提供的PDX模型孵育装置孵育口腔鳞癌瘤和采用传统的孵育工艺孵育口腔鳞癌瘤的成瘤率。

[0069] 如图3所示，采用本公开PDX模型孵育装置的实验组A的平均成瘤时间(成瘤后可进行药物筛选)是7天，采用传统PDX模型孵育装置的实验组B的平均的成瘤时间是25天。

[0070] 如图4所示，采用本公开PDX模型孵育装置的实验组M的平均的成瘤率是75％，采用传统PDX模型孵育装置的实验组N的平均的成瘤率是40％(在被植入的10只实验鼠内，只有4只实验鼠长出肿瘤)。

[0071] 应当理解，上述实施方式仅是示例性的，不用于限制本发明。本领域技术人员可以在本发明的教导下对上述实施方式做出各种变型和改变，而不脱离本发明的范围。

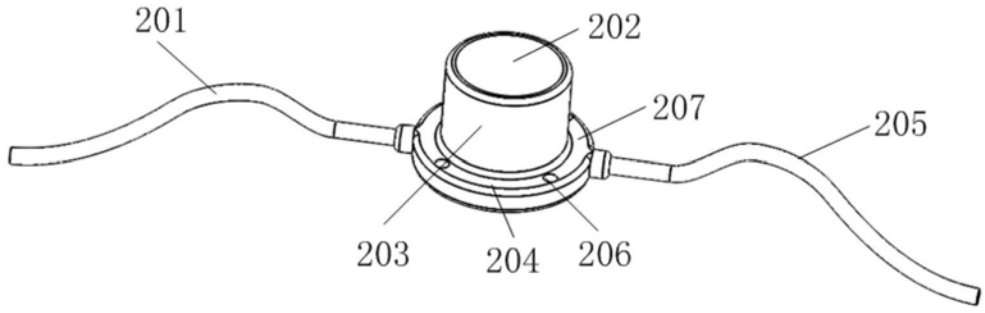

201
202
207
205
203
204
206

图1

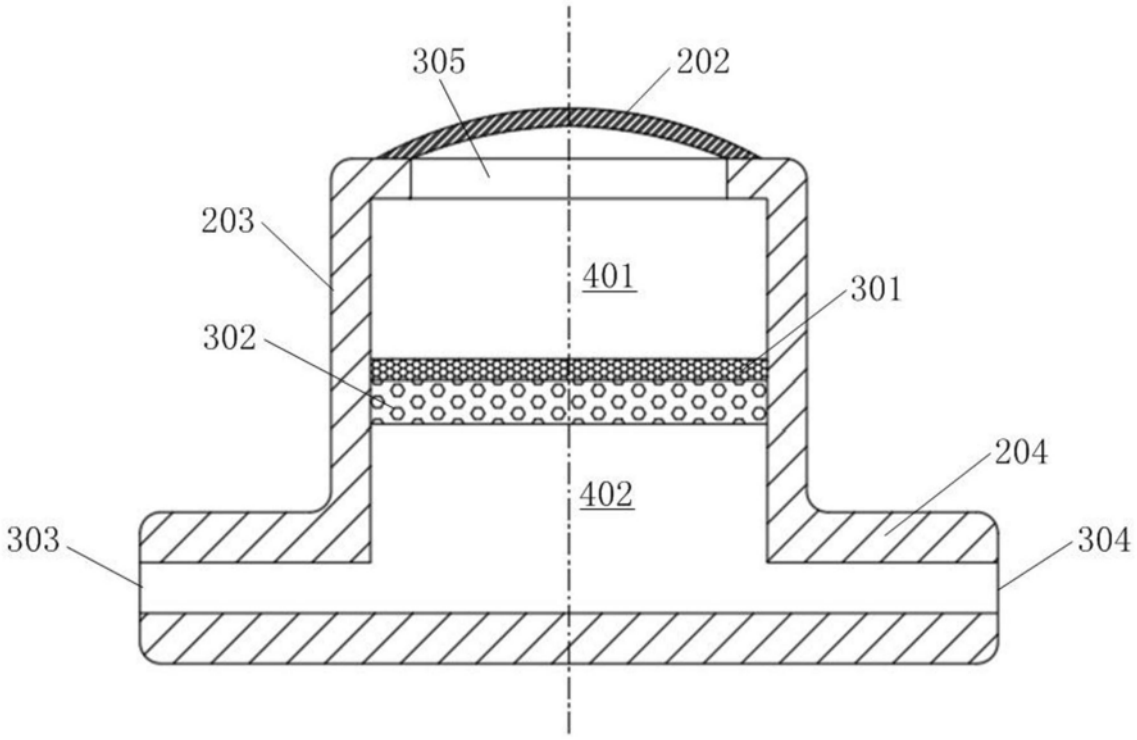

305
202
203
401
301
302
204
402
303
304

图2

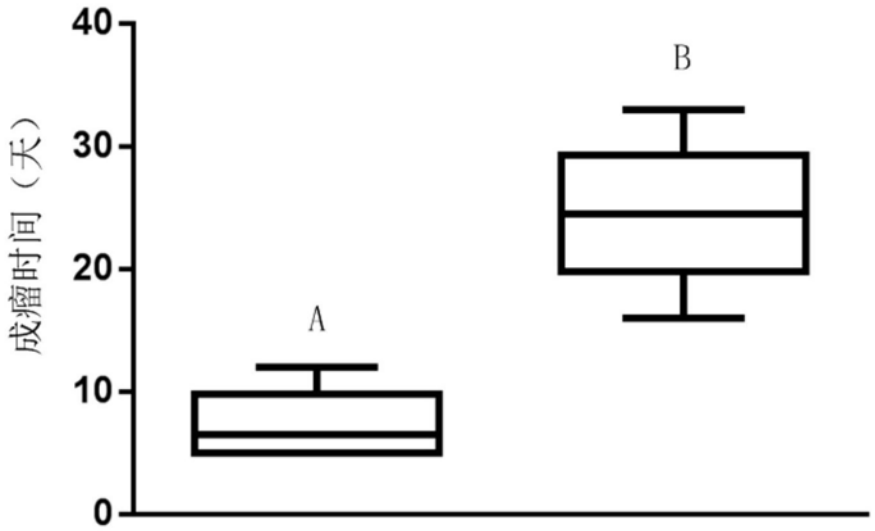



图3

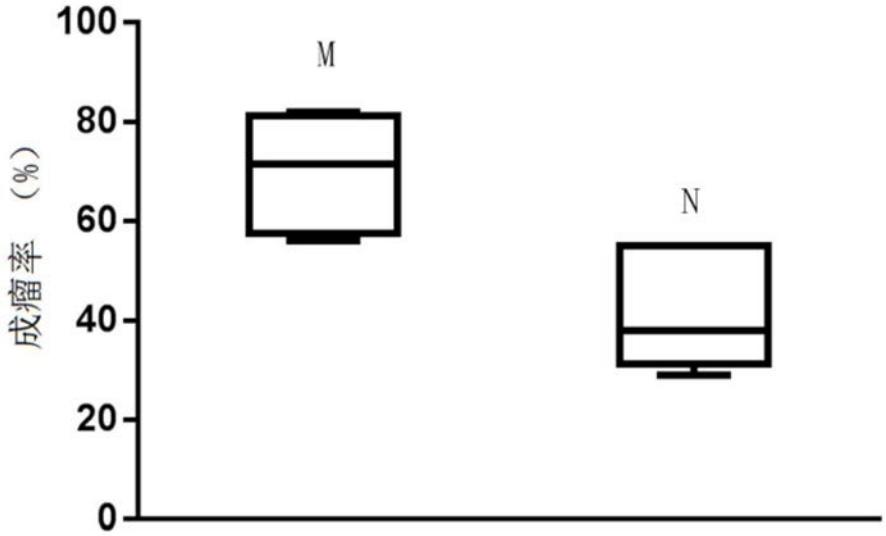



图4