

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2021 年 6 月 17 日 (17.06.2021)



(10) 国际公布号
WO 2021/114129 A1

(51) 国际专利分类号:
C12M 3/00 (2006.01) *C12M 1/00* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2019/124504

(22) 国际申请日: 2019 年 12 月 11 日 (11.12.2019)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(71) 申请人: 中国科学院深圳先进技术研究院 (SHENZHEN INSTITUTES OF ADVANCED TECHNOLOGY CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区深圳大学城学苑大道 1068 号, Guangdong 518055 (CN)。

(72) 发明人: 阎梦蒙(YAN, Mengying); 中国广东省深圳市南山区深圳大学城学苑大道1068号, Guangdong 518055 (CN)。 鲁艺(LU, Yi); 中国广东省深圳市南山区深圳大学城学苑大道1068号, Guangdong

518055 (CN)。 钟成(ZHONG, Cheng); 中国广东省深圳市南山区深圳大学城学苑大道1068号, Guangdong 518055 (CN)。 李梦(LI, Meng); 中国广东省深圳市南山区深圳大学城学苑大道1068号, Guangdong 518055 (CN)。 王璐璐(WANG, Lulu); 中国广东省深圳市南山区深圳大学城学苑大道1068号, Guangdong 518055 (CN)。 王立平(WANG, Liping); 中国广东省深圳市南山区深圳大学城学苑大道1068号, Guangdong 518055 (CN)。

(74) 代理人: 北京市诚辉律师事务所 (BEIJING CHENGHUI LAW FIRM); 中国北京市朝阳区朝阳北路99号2号楼905, Beijing 100123 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK,

(54) Title: IN VITRO EXPERIMENTAL MODEL FOR RESEARCH OF MECHANISM OF TUMOR PERINEURAL INVASION

(54) 发明名称: 一种用于肿瘤嗜神经侵袭机制研究的体外实验模型

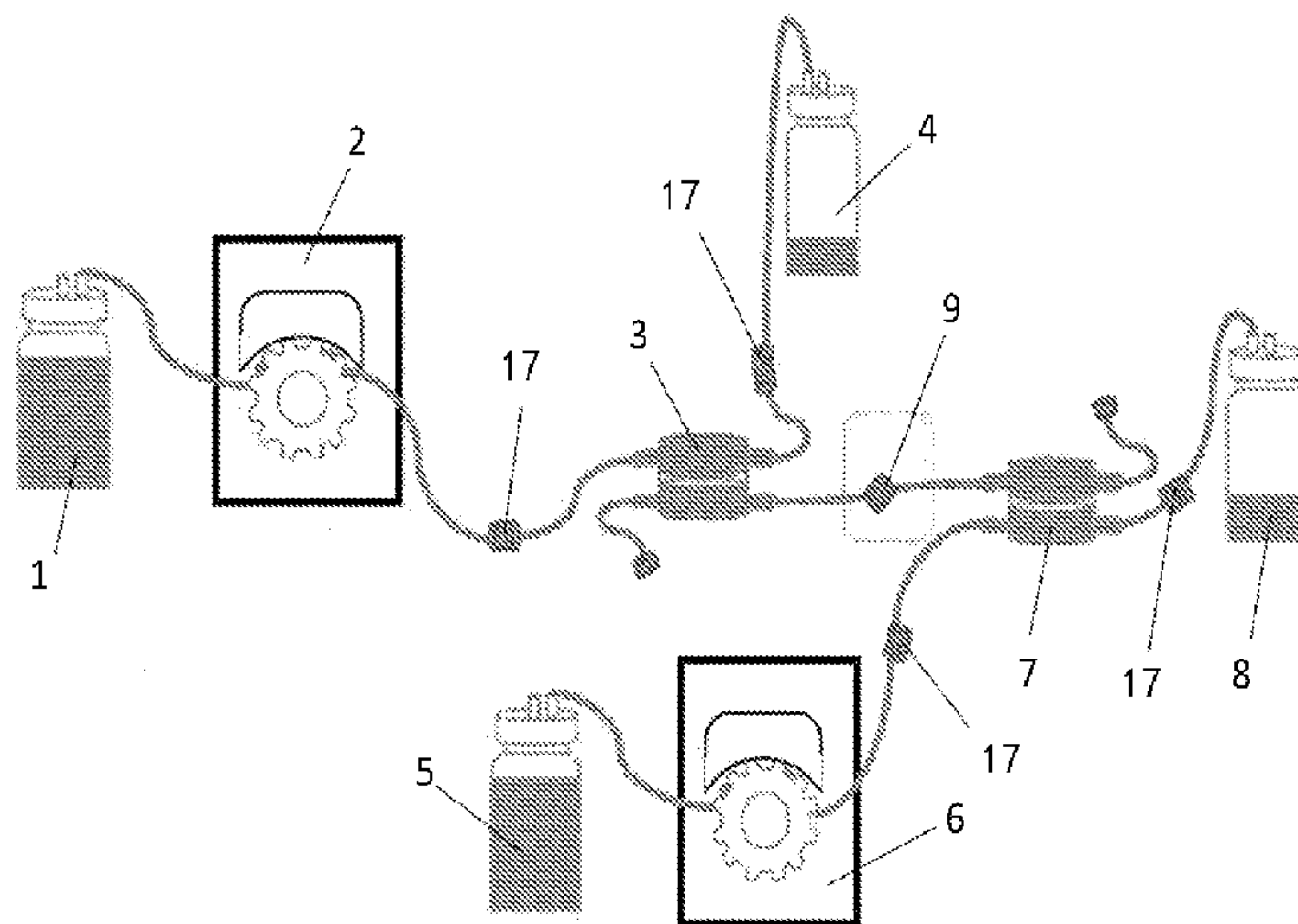


图 1

(57) Abstract: An in vitro experimental model for research of the mechanism of tumor perineural invasion, comprising: a first culture medium supply bottle, a first pump, a first culture chamber, a first waste liquid collection bottle, a second culture medium supply bottle, a second pump, a second culture chamber, and a second waste liquid collection bottle. The first culture medium supply bottle, the first pump, the first culture chamber, and the first waste liquid collection bottle are successively connected; the second culture medium supply bottle, the second pump, the second culture chamber, and the second waste liquid collection bottle are successively connected; a first valve is disposed between the first culture chamber and the second culture chamber; the first culture chamber is located on the left side of the second culture chamber.



LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明，要求每一种可提供的地区保护)：ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布：
— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(57) 摘要：一种用于肿瘤嗜神经侵袭机制研究的体外实验模型，包括第一培养基供应瓶、第一泵、第一培养室、第一废液收集瓶、第二培养基供应瓶、第二泵、第二培养室、第二废液收集瓶；第一培养基供应瓶、第一泵、第一培养室和第一废液收集瓶依次连接，第二培养基供应瓶、第二泵、第二培养室和第二废液收集瓶依次连接，第一培养室和第二培养室之间设有第一阀门，第一培养室位于第二培养室的左侧。

一种用于肿瘤嗜神经侵袭机制研究的体外实验模型

技术领域

本发明属于生命科学技术领域，具体涉及一种用于肿瘤嗜神经侵袭机制研究的体外实验模型。

背景技术

肿瘤嗜神经侵袭（PNI）是肿瘤细胞在神经纤维周围沿着神经侵入神经外膜、神经束膜或神经内膜并延伸的肿瘤局部浸润转移现象。PNI 是患者预后不良的独立因素，增加了复发的可能性和降低了存活率，常见于鳞状细胞癌，胰腺癌，头颈，结肠和直肠，胆道和胃的恶性肿瘤。它不是一种简单的扩散方式，涉及了神经和肿瘤之间复杂的相互作用，肿瘤细胞可以沿着神经浸润到肿瘤边界之外的距离，并且神经侵袭的发生也与炎症反应和神经性疼痛相关。目前的研究中因为缺少有效的体内或体外模型，使关于神经侵袭机制的研究陷入了瓶颈，驱动肿瘤细胞向神经侵袭的主要机制目前尚不明确。

目前已构建的体外研究模型大多是采用肿瘤细胞与小鼠背根神经节在基质胶（MATRIGEL[®] Basement Membrane Matrix）中共培养的方式。基本步骤如下：

- 1) 体外分离小鼠背根神经节；
- 2) 将小鼠背根神经节置于玻片上，并用基质胶将其表面完全覆盖，此过程冰上操作；
- 3) 将含有背根神经节并覆盖了基质胶的玻片置于孔板中，放于 37℃ 培养箱，使基质胶固化；
- 4) 均匀注射肿瘤细胞液于含有基质胶覆盖的背根神经节的孔板中进行共同培养；
- 5) 单独培养背根神经节或单独培养肿瘤细胞作为对照组；
- 6) 定期观察肿瘤细胞和背根神经节的生长状态。

现有技术的缺点是肿瘤细胞和背根神经节处于同一室中共同培养，某些肿瘤细胞在注射进基质胶时已与背根神经节接触，不能反应体内肿瘤嗜神经侵袭时的远距离浸润现象，肿瘤细胞和神经组织共混一室，也很难分辨某些诱导变化是肿瘤细胞的代谢影响的神经还是神经影响的肿瘤，再者孔板中培养，更换培养基使细胞营养有短暂的间断性，不能模拟体内脉管网络血液运输连续性的微环境，微环境的偏差会影响细胞的表达，可能导致某些相关的信号分子不被发现，进而影响实验效果。针对这些缺点本发明的目的即创造更加接近体内真实微环境的体外模拟系统，提高实验结果的准确性和有效性。

本发明中更改了孔板培养方式，结合使用双流式生物反应器双室培养，一室培养肿瘤细

胞，一室培养施万细胞或背根神经节或其它神经外植体，在连续性的培养基供应更换条件下并可结合使用其它新型多孔水凝胶支架进行三维培养，高度模拟体内真实的生理微环境。

发明内容

本发明专利主要是设计一种有效的用于肿瘤嗜神经侵袭机制研究的体外模型，其设计意在模拟一个与体内微环境高度相似的体外组织及细胞培养的三维模型，从而减少优化动物实验，高度符合当下动物伦理中的 3R 原则，并且可以提高实验结果的有效性，弥合了生理病理及药理研究中细胞分子水平到动物实验及临床实验的鸿沟。

为了达到上述目的，本发明所采用的技术方案为：一种用于肿瘤嗜神经侵袭机制研究的体外实验模型，包括第一培养基供应瓶、第一泵、第一培养室、第一废液收集瓶、第二培养基供应瓶、第二泵、第二培养室、第二废液收集瓶；第一培养基供应瓶、第一泵、第一培养室和第一废液收集瓶依次连接，第二培养基供应瓶、第二泵、第二培养室和第二废液收集瓶依次连接，第一培养室和第二培养室之间设有第一阀门，第一阀门将第一培养室和第二培养室连接在一起，第一培养室位于第二培养室的左侧。

进一步地，第一培养室和第二培养室结构相同，第一培养室和第二培养室中均设有微孔膜，微孔膜将第一培养室和第二培养室分隔为室上层和室下层，室上层和室下层均设有一进一出两个接口，分别为上进口、上出口、下进口、下出口。

进一步地，微孔膜用于覆盖基质胶或者放置多孔水凝胶支架。

进一步地，第一泵与第一培养室之间、第一培养室与第一废液收集瓶之间、第二泵与第二培养室之间以及第二培养室与第二废液收集瓶之间均设有第二阀门。

进一步地，第一培养室用于培养肿瘤细胞；第二培养室用于培养施万细胞或背根神经节或其他神经外植体。

进一步地，第一培养室用于培养施万细胞或背根神经节或其他神经外植体；第二培养室用于培养肿瘤细胞。

进一步地，模型可建立三种培养模式：1) 关闭第一阀门，第一培养室单独培养肿瘤细胞，第二培养室单独培养施万细胞或背根神经节或其他神经外植体，此时模型为两个完全独立的三维培养系统，可单独进行分析检测，作为对照组实验；其中第一培养室和第二培养室内的培养物可调换；

2) 打开第一阀门，第一培养室单独培养肿瘤细胞，第二培养室单独培养施万细胞或背根神经节或其他神经外植体，此时模型可模拟体内组织间的分子串音，可以观察肿瘤细胞在上游位

置时对神经侵袭的影响，可以检测肿瘤细胞代谢对神经的诱导作用；

3) 打开第一阀门，第一培养室单独培养施万细胞或背根神经节或其他神经外植体，第二培养室单独培养肿瘤细胞，此时模型可模拟体内组织间的分子串音，可以观察肿瘤细胞在下游位置时对神经侵袭的影响，可以检测神经细胞代谢对肿瘤细胞的诱导作用。

进一步地，当不需要区分收集第一培养室和第二培养室的代谢产物进行分析时，该模型可以简化为：包括第一培养基供应瓶、第一泵、第一培养室、第二培养室、第一废液收集瓶，第一培养基供应瓶、第一泵、第一培养室、第二培养室、第一废液收集瓶依次连接；或包括第二培养基供应瓶、第二泵、第一培养室、第二培养室、第二废液收集瓶，第二培养基供应瓶、第二泵、第一培养室、第二培养室、第二废液收集瓶依次连接；

第一培养室和第二培养室之间设有第一阀门，所述第一培养室和第二培养室通过第一阀门连接在一起，所述第一培养室位于第二培养室的左侧。

进一步地，第一泵与第一培养室之间、第二培养室与第一废液收集瓶之间或第二泵与第一培养室之间、第二培养室与第二废液收集瓶之间均设有第二阀门。

现有的体外模型主要的缺点是：一、不能反应肿瘤沿神经的远距离浸润现象；二、不能模拟血液连续流通的培养微环境；三、很难探寻肿瘤或神经相关细胞的代谢产物对彼此的影响。本发明的优点在于：一、采用双培养室的模型，一室培养肿瘤细胞，另一室培养神经施万细胞或背根神经节或其它神经外植体，拉开了两者的距离，可以模拟体内组织间的串联，肿瘤细胞远距离向神经侵袭；二、可以调整双培养室的相互位置，对照肿瘤细胞位于神经上游和下游时产生的不同影响；三、本发明是一个连续性地供应和更新培养基的系统，很真实的模拟了体内血液循环，再结合使用多孔水凝胶支架等三维培养方式，更加接近体内真实的生理微环境，使细胞表达更接近体内真实情况。四、该模型还可以进一步用于如何可以及时有效阻断肿瘤向神经侵袭的研究。本发明模型模拟了一个与体内微环境高度相似的体外组织及细胞培养的三维模型，从而减少优化动物实验，高度符合当下动物伦理中的 3R 原则，并且可以提高实验结果的有效性，弥合了生理病理及药理研究中细胞分子水平到动物实验及临床实验的鸿沟。

附图说明

图 1 为本发明用于肿瘤嗜神经侵袭机制研究的体外实验模型的结构示意图；

图 2 为本发明用于肿瘤嗜神经侵袭机制研究的体外实验模型简化后的结构示意图；

图 3 为本发明第一培养室和第二培养室的结构示意图。

附图标记说明：

1.第一培养基供应瓶, 2.第一泵, 3.第一培养室, 4.第一废液收集瓶, 5.第二培养基供应瓶, 6.第二泵, 7.第二培养室, 8.第二废液收集瓶, 9.第一阀门, 10.微孔膜, 11.上进口, 12.上出口, 13.下进口, 14.下出口, 15.室上层, 16.室下层, 17.第二阀门。

具体实施方式

下面结合附图, 对本发明的一个具体实施方式进行详细说明, 但应当理解本发明的保护范围并不受具体实施方式的限制。本发明的体外培养模型系统不局限于研究肿瘤嗜神经侵袭这一种病理机制, 还可拓展应用到其他病理药理机制的研究。

一种用于肿瘤嗜神经侵袭机制研究的体外实验模型, 如图 1 所示, 包括第一培养基供应瓶 1、第一泵 2、第一培养室 3、第一废液收集瓶 4、第二培养基供应瓶 5、第二泵 6、第二培养室 7、第二废液收集瓶 8; 第一培养基供应瓶 1、第一泵 2、第一培养室 3 和第一废液收集瓶 4 依次连接, 第二培养基供应瓶 5、第二泵 6、第二培养室 7 和第二废液收集瓶 8 依次连接, 第一培养室 3 和第二培养室 7 之间设有第一阀门 9, 第一阀门 9 将第一培养室 3 和第二培养室 7 连接在一起, 第一培养室 3 位于第二培养室 7 的左侧。

第一泵 2 将第一培养基供应瓶 1 内的培养基输送进第一培养室 3, 第一培养室 3 内代谢后的废液排入第一废液收集瓶 4, 第一阀门 9 打开时, 也有一部分培养基流经第一培养室 3 再进入第二培养室 7, 第二泵 6 将第二培养基供应瓶 5 内的新鲜培养基输送进第二培养室 7, 第二培养室 7 内代谢的废液排入第二废液收集瓶 8。其中可通过调节泵的电压带动的齿轮转速来控制液体流速。

第一培养室 3 和第二培养室 8 结构相同, 如图 3 所示, 第一培养室 3 和第二培养室 8 中均设有微孔膜 10, 微孔膜 10 将第一培养室 3 和第二培养室 8 分隔室上层 15 和室下层 16, 室上层 15 和室下层 16 均设有一进一出两个接口, 分别为上进口 11、上出口 12、下进口 13、下出口 14。微孔膜 10 用于覆盖基质胶或者放置多孔水凝胶支架。这样第一培养室 9 和第二培养室 7 连接后可以同时模拟细胞垂直方向以及水平方向的迁移。

第一泵 2 与第一培养室 3 之间、第一培养室 3 与第一废液收集瓶 4 之间、第二泵 6 与第二培养室 7 之间以及第二培养室 7 与第二废液收集瓶 8 之间均设有第二阀门 17。这样可以根据实验条件进行开关, 来选择控制培养基的流向。

第一培养室 3 用于培养肿瘤细胞; 第二培养室 7 用于培养施万细胞或背根神经节或其他神经外植体。或第一培养室 3 用于培养施万细胞或背根神经节或其他神经外植体; 第二培养室 7 用于培养肿瘤细胞。

模型可建立三种培养模式: 1) 关闭第一阀门 9, 第一培养室 3 单独培养肿瘤细胞, 第二培

养室 7 单独培养施万细胞或背根神经节或其他神经外植体，此时模型为两个完全独立的三维培养系统，可单独进行分析检测，作为对照组实验；其中第一培养室 3 和第二培养室 7 内的培养物可调换；

2) 打开第一阀门 9，第一培养室 3 单独培养肿瘤细胞，第二培养室 7 单独培养施万细胞或背根神经节或其他神经外植体，此时模型可模拟体内组织间的分子串音，可以观察肿瘤细胞在上游位置时对神经侵袭的影响，可以检测肿瘤细胞代谢对神经的诱导作用；

3) 打开第一阀门 9，第一培养室 3 单独培养施万细胞或背根神经节或其他神经外植体，第二培养室 7 单独培养肿瘤细胞，此时模型可模拟体内组织间的分子串音，可以观察肿瘤细胞在下游位置时对神经侵袭的影响，可以检测神经细胞代谢对肿瘤细胞的诱导作用。

当不需要区分收集第一培养室 3 和第二培养室 7 的代谢产物进行分析时，该模型可以简化为如图 2 所示：包括第一培养基供应瓶 1、第一泵 2、第一培养室 3、第二培养室 7、第一废液收集瓶 4 所述第一培养基供应瓶 1、第一泵 2、第一培养室 3、第二培养室 7、第一废液收集瓶 4 依次连接；或包括第二培养基供应瓶 5、第二泵 6、第一培养室 3、第二培养室 7、第二废液收集瓶 8，所述第二培养基供应瓶 5、第二泵 6、第一培养室 3、第二培养室 7、第二废液收集瓶 8 依次连接；第一培养室 3 和第二培养室 7 之间设有第一阀门 9，第一培养室 3 和第二培养室 7 通过第一阀门 9 连接在一起，第一培养室 3 位于第二培养室 7 的左侧。第一泵 2 与第一培养室 3 之间、第二培养室 7 与第一废液收集瓶 4 之间或第二泵 6 与第一培养室 3 之间、第二培养室 7 与第二废液收集瓶 8 之间均设有第二阀门 17。第一泵 2 或第二泵 6 将第一培养基供应瓶 1 或第二培养基供应瓶 5 内的培养基输送进第一培养室 3 和第二培养室 7，最后废液流入第一废液收集瓶 4 或第二废液收集瓶 8。

本发明的具体方案阐述中仅具体地表达了本发明的几种实施方式，但并不能因此而理解为本发明专利范围的限制。应当指出的是，该实验模型并不局限使用于肿瘤嗜神经侵袭机制的研究，还可以用于看肿瘤药物效用的研究以及其它一些涉及多器官组织相互作用的病理机制研究，这些都属于本发明的保护范围。因此，发明专利的保护范围应以所附权利要求为准。

权 利 要 求 书

1、一种用于肿瘤嗜神经侵袭机制研究的体外实验模型，其特征在于，包括第一培养基供应瓶（1）、第一泵（2）、第一培养室（3）、第一废液收集瓶（4）、第二培养基供应瓶（5）、第二泵（6）、第二培养室（7）、第二废液收集瓶（8）；所述第一培养基供应瓶（1）、第一泵（2）、第一培养室（3）和第一废液收集瓶（4）依次连接，所述第二培养基供应瓶（5）、第二泵（6）、第二培养室（7）和第二废液收集瓶（8）依次连接，所述第一培养室（3）和第二培养室（7）之间设有第一阀门（9），所述第一培养室（3）和第二培养室（7）通过第一阀门（9）连接在一起，所述第一培养室（3）位于第二培养室（7）的左侧。

2、根据权利要求1所述的用于肿瘤嗜神经侵袭机制研究的体外实验模型，其特征在于，所述第一培养室（3）和第二培养室（8）结构相同，所述第一培养室（3）和第二培养室（8）中均设有微孔膜（10），所述微孔膜（10）将第一培养室（3）和第二培养室（8）分隔为室上层（15）和室下层（16），所述室上层（15）和室下层（16）均设有一进一出两个接口，分别为上进口（11）、上出口（12）、下进口（13）、下出口（14）。

3、根据权利要求2所述的用于肿瘤嗜神经侵袭机制研究的体外实验模型，其特征在于，所述微孔膜（10）用于覆盖基质胶或者放置多孔水凝胶支架。

4、根据权利要求1所述的用于肿瘤嗜神经侵袭机制研究的体外实验模型，其特征在于，所述第一泵（2）与第一培养室（3）之间、第一培养室（3）与第一废液收集瓶（4）之间、第二泵（6）与第二培养室（7）之间以及第二培养室（7）与第二废液收集瓶（8）之间均设有第二阀门（17）。

5、根据权利要求1-4任一所述的用于肿瘤嗜神经侵袭机制研究的体外实验模型，其特征在于，所述第一培养室（3）用于培养肿瘤细胞；所述第二培养室（7）用于培养施万细胞或背根神经节或其他神经外植体。

6、根据权利要求1-4任一所述的用于肿瘤嗜神经侵袭机制研究的体外实验模型，其特征在于，所述第一培养室（3）用于培养施万细胞或背根神经节或其他神经外植体；所述第二培养室（7）用于培养肿瘤细胞。

7、根据权利要求1-4任一所述的用于肿瘤嗜神经侵袭机制研究的体外实验模型，其特征在于，模型可建立三种培养模式：1）关闭第一阀门（9），第一培养室（3）单独培养肿瘤细胞，第二培养室（7）单独培养施万细胞或背根神经节或其他神经外植体，此时模型为两个完全独立的三维培养系统，可单独进行分析检测，作为对照组实验；其中第一培养室（3）和第二培养室（7）内的培养物可调换；

2）打开第一阀门（9），第一培养室（3）单独培养肿瘤细胞，第二培养室（7）单独培养施

万细胞或背根神经节或其他神经外植体，此时模型可模拟体内组织间的分子串音，可以观察肿瘤细胞在上游位置时对神经侵袭的影响，可以检测肿瘤细胞代谢对神经的诱导作用；

3) 打开第一阀门(9)，第一培养室(3)单独培养施万细胞或背根神经节或其他神经外植体，第二培养室(7)单独培养肿瘤细胞，此时模型可模拟体内组织间的分子串音，可以观察肿瘤细胞在下游位置时对神经侵袭的影响，可以检测神经细胞代谢对肿瘤细胞的诱导作用。

8、根据权利要求1所述的用于肿瘤嗜神经侵袭机制研究的体外实验模型，其特征在于，当不需要区分收集第一培养室(3)和第二培养室(7)的代谢产物进行分析时，该模型可以简化为：包括第一培养基供应瓶(1)、第一泵(2)、第一培养室(3)、第二培养室(7)、第一废液收集瓶(4)，所述第一培养基供应瓶(1)、第一泵(2)、第一培养室(3)、第二培养室(7)、第一废液收集瓶(4)依次连接；或包括第二培养基供应瓶(5)、第二泵(6)、第一培养室(3)、第二培养室(7)、第二废液收集瓶(8)，所述第二培养基供应瓶(5)、第二泵(6)、第一培养室(3)、第二培养室(7)、第二废液收集瓶(8)依次连接；

所述第一培养室(3)和第二培养室(7)之间设有第一阀门(9)，所述第一培养室(3)和第二培养室(7)通过第一阀门(9)连接在一起，所述第一培养室(3)位于第二培养室(7)的左侧。

9、根据权利要求8所述的用于肿瘤嗜神经侵袭机制研究的体外实验模型，其特征在于，所述第一泵(2)与第一培养室(3)之间、第二培养室(7)与第一废液收集瓶(4)之间或第二泵(6)与第一培养室(3)之间、第二培养室(7)与第二废液收集瓶(8)之间均设有第二阀门(17)。

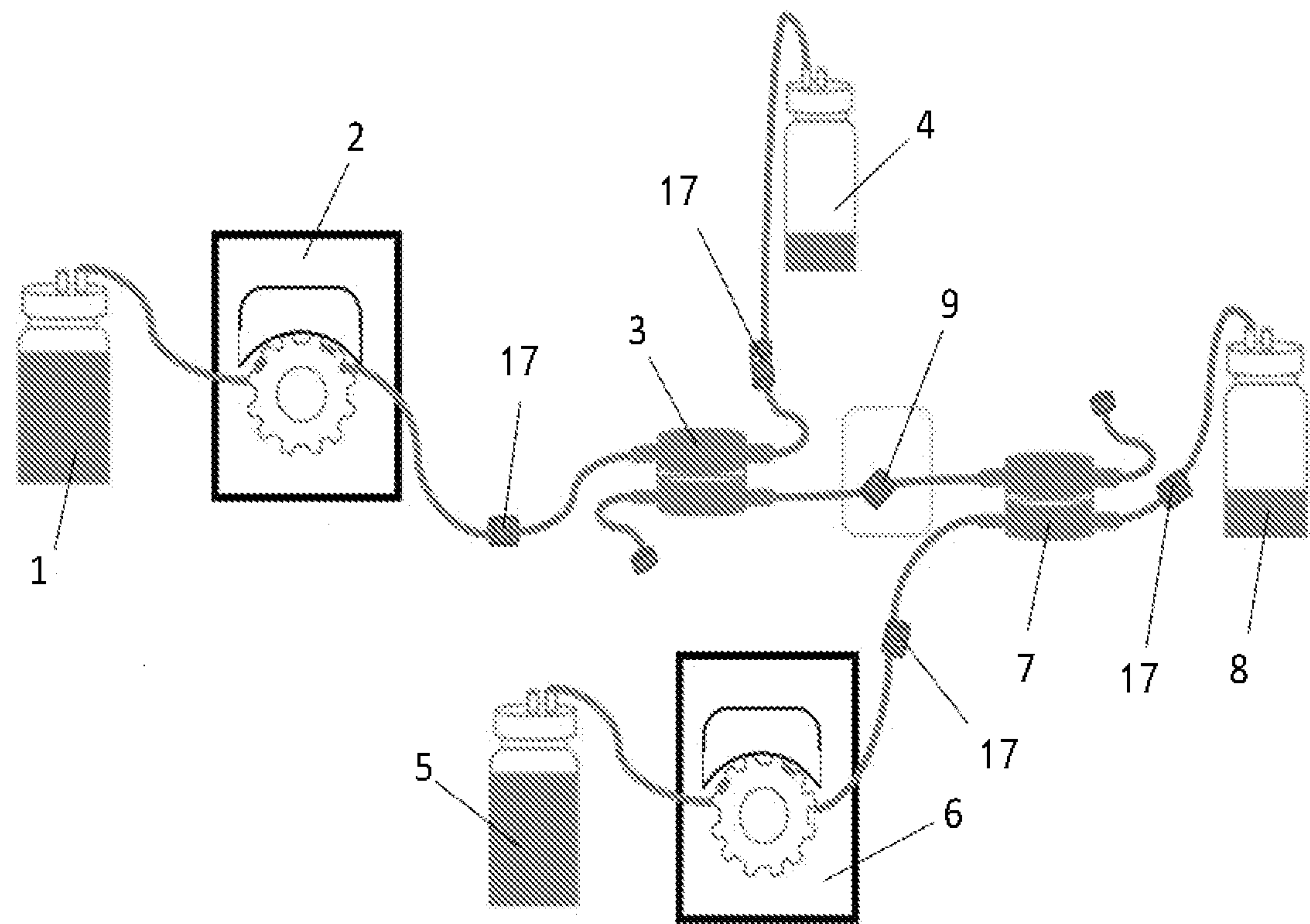


图 1

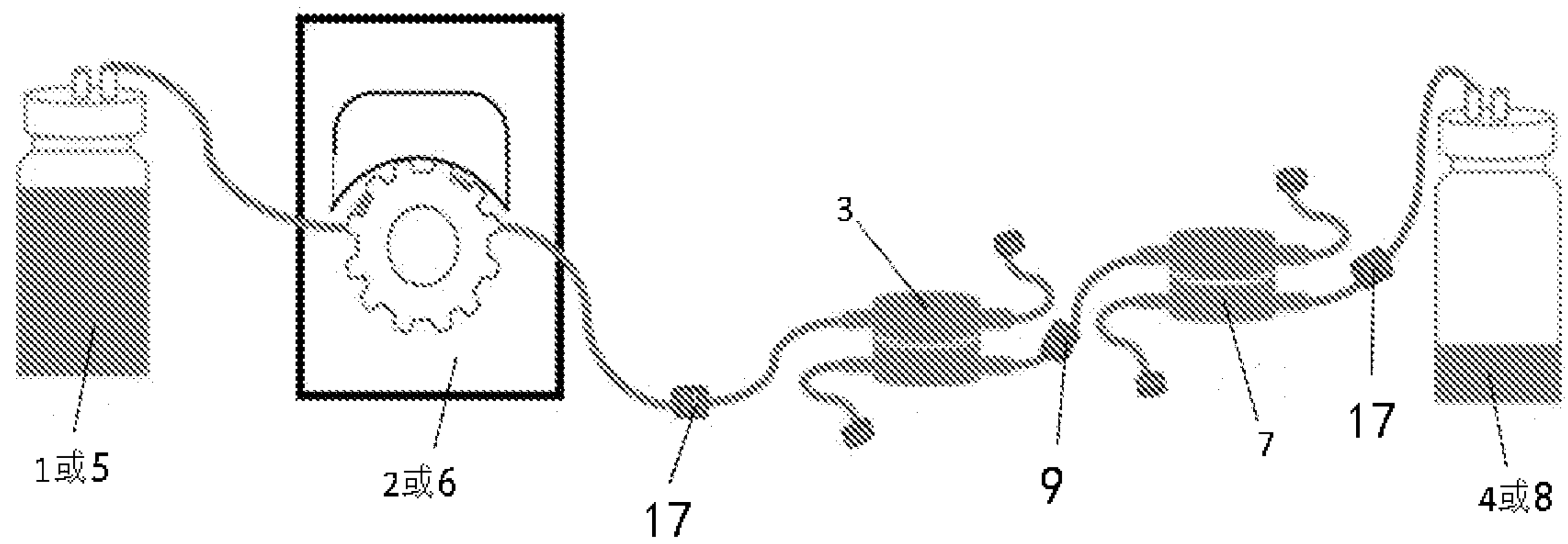


图 2

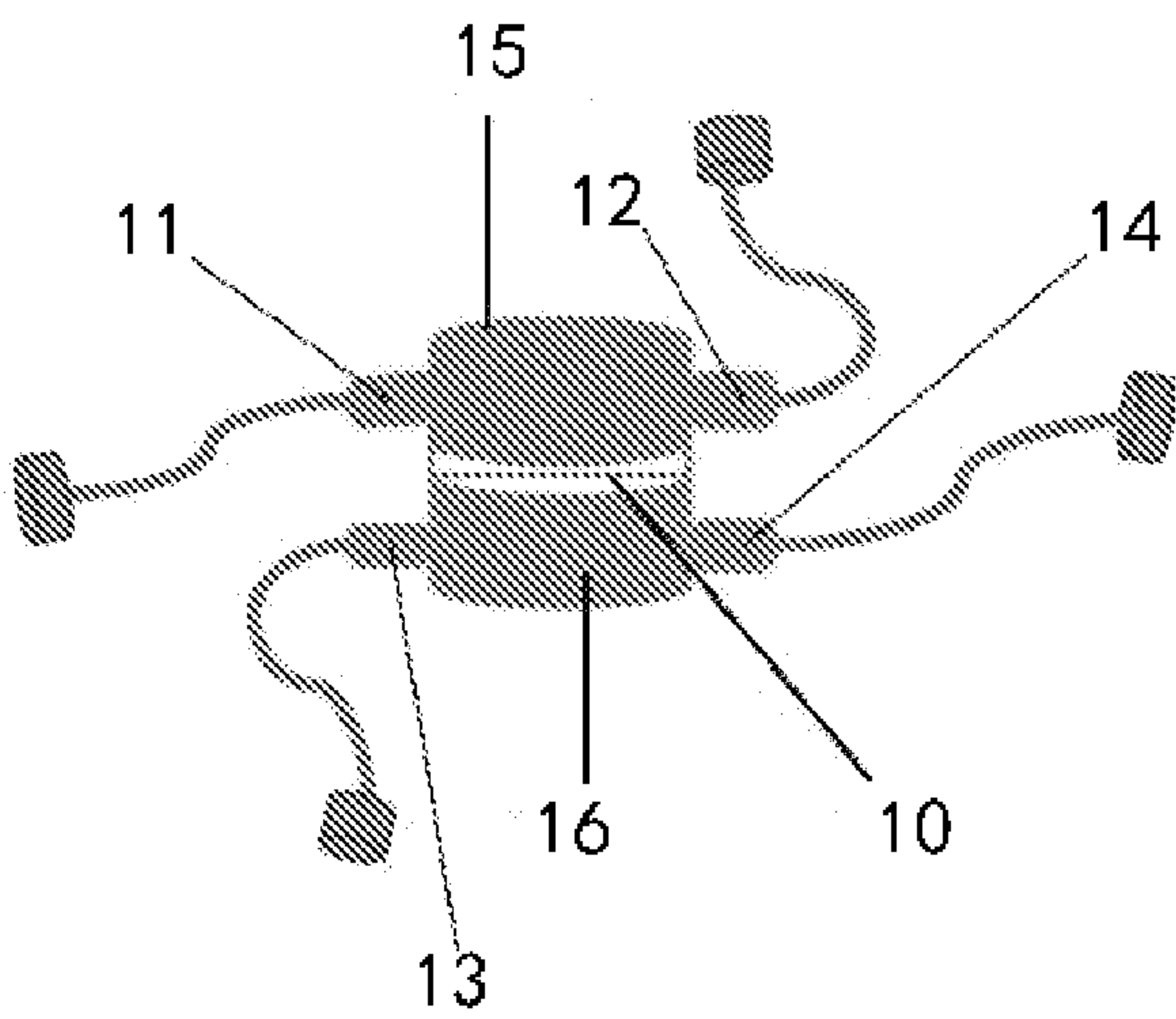


图 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/124504

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12M 3/00(2006.01)i; C12M 1/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12M

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

VEN, CNABS, PubMed, CNKI, ISI Web of Knowledge, 细胞培养, 培养基, 废液, 泵, 阀门, 微孔膜, 基质胶, 水凝胶, 肿瘤嗜神经侵袭, 实验模型, 细胞模型, cell culture, medium, waste lipid, pump, valve, microporous membrane, model, Perineural invasion, PNI

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 206783688 U (AK (SUZHOU) BIOMEDICAL LTD.) 22 December 2017 (2017-12-22) description, figure 1, specific embodiments	1-9
A	CN 106467892 A (AK (SUZHOU) BIOMEDICAL LTD.) 01 March 2017 (2017-03-01) entire document	1-9
A	CN 206783658 U (AK (SUZHOU) BIOMEDICAL LTD.) 22 December 2017 (2017-12-22) entire document	1-9
A	CN 110462019 A (OLYMPUS CORPORATION) 15 November 2019 (2019-11-15) entire document	1-9
A	邵喆 等 (SHAO, Zhe et al.). "腺样囊性癌嗜神经侵袭体外模型的建立 (Construction of PNI in Vitro Model of Adenoid Cystic Carcinoma)" 口腔医学研究 (Journal of Oral Science Research), Vol. 30, No. 3, 31 March 2014 (2014-03-31), pp. 209-215	1-9

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents: “A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance “E” earlier application or patent but published on or after the international filing date “L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) “O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means “P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention “X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone “Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art “&” document member of the same patent family
--	--

Date of the actual completion of the international search 03 July 2020	Date of mailing of the international search report 29 July 2020
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088 China Facsimile No. (86-10)62019451	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/124504

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Chen, S.H et al. "Perineural invasion of cancer: a complex crosstalk between cells and molecules in the perineural niche" <i>American Journal of Cancer Research</i> , Vol. 9, No. 1, 01 January 2019 (2019-01-01), pp. 1-21	1-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2019/124504

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	206783688	U	22 December 2017	None			
CN	106467892	A	01 March 2017	CN	106467892	B	18 December 2018
CN	206783658	U	22 December 2017	None			
CN	110462019	A	15 November 2019	WO	2018186426	A1	11 October 2018
				JP	WO2018186426	A1	11 April 2019
				JP	6502593	B2	17 April 2019
				US	2019390151	A1	26 December 2019

国际检索报告		国际申请号 PCT/CN2019/124504
A. 主题的分类 C12M 3/00(2006.01)i; C12M 1/00(2006.01)i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类		
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) C12M 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) VEN, CNABS, PubMed, CNKI, ISI Web of Knowledge, 细胞培养, 培养基, 废液, 泵, 阀门, 微孔膜, 基质胶, 水凝胶, 肿瘤嗜神经侵袭, 实验模型, 细胞模型, cell culture, medium, waste lipid, pump, valve, microporous membrane, model, Perineural invasion, PNI		
C. 相关文件		
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 206783688 U (奥凯苏州生物技术有限公司) 2017年 12月 22日 (2017 - 12 - 22) 说明书附图图1, 说明书具体实施方式	1-9
A	CN 106467892 A (奥凯苏州生物技术有限公司) 2017年 3月 1日 (2017 - 03 - 01) 全文	1-9
A	CN 206783658 U (奥凯苏州生物技术有限公司) 2017年 12月 22日 (2017 - 12 - 22) 全文	1-9
A	CN 110462019 A (奥林巴斯株式会社) 2019年 11月 15日 (2019 - 11 - 15) 全文	1-9
A	邵喆等. "腺样囊性癌嗜神经侵袭体外模型的建立" 口腔医学研究, 第30卷, 第3期, 2014年 3月 31日 (2014 - 03 - 31), 第209-215页	1-9
A	Chen, S.H et al. "Perineural invasion of cancer: a complex crosstalk between cells and molecules in the perineural niche" Am J Cancer Res, 第9卷, 第1期, 2019年 1月 1日 (2019 - 01 - 01), 第1-21页	1-9
☐ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。		
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件		
国际检索实际完成的日期 2020年 7月 3日		国际检索报告邮寄日期 2020年 7月 29日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		授权官员 刘宝 电话号码 86-(10)-53962038

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2019/124504

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	206783688	U	2017年 12月 22日	无			
CN	106467892	A	2017年 3月 1日	CN	106467892	B	2018年 12月 18日
CN	206783658	U	2017年 12月 22日	无			
CN	110462019	A	2019年 11月 15日	W0	2018186426	A1	2018年 10月 11日
				JP	W02018186426	A1	2019年 4月 11日
				JP	6502593	B2	2019年 4月 17日
				US	2019390151	A1	2019年 12月 26日