

Significance and Applications of Murine Models in Cancer Research: Guidelines for Selecting the Best Model

Marjan Abedi¹,
Soheila Rahgozar²

¹ PhD Student in Cellular and Molecular Biology, Faculty of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran

² Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran

(Received May 15, 2017 ; Accepted July 3, 2017)

Abstract

Mice are the preferred model organisms in tumor and cancer research, concerning tumor biology (initiation, progression, and metastasis) or developing and screening the potential therapeutics. Different murine models including genetically engineered mice (GEM), xenografts, and chemical models may be used for this purpose. By reviewing the most recent scientific reports and publications, in the current paper, these models and their applications in different aspects of cancer research are introduced and their advantages and pitfalls are discussed. This article summarizes the opportunities provided by each model and their limitations and the fundamental differences between mouse and human such as species-specific and pharmacological differences. This article shed light on some key points for selection of the best murine model depending on the purpose of the research.

Keywords: mice model, cancer, preclinical studies, *in vivo* assays

J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 27 (154): 212-231 (Persian).

اهمیت و کاربرد انواع مدل‌های موشی در تحقیقات سرطان: راهنمایی‌هایی در انتخاب بهترین مدل

مرجان عابدی^۱سهیلا رهگذر^۲

چکیده

موش یک مدل ارجح ارگانسمی در تحقیقات سرطان و تومور در زمینه بیولوژی سرطان (آغاز، پیشرفت و متاستاز) یا توسعه و بررسی روش‌های بالقوه درمانی است. مدل‌های مختلفی از جمله موش‌های مهندسی ژنتیک شده (GEM)، زئوگرافت‌ها و مدل‌های شیمیایی در این حوزه مورد استفاده قرار می‌گیرند. مطالعه حاضر با مرور و بررسی آخرین یافته‌ها و مقالات این مدل‌های موشی و کاربردهایشان را در جنبه‌های مختلف تحقیقات حوزه سرطان معرفی کرده و مزایا و معایب هریک را مورد بحث قرار داده است. این مقاله با در نظر گرفتن محدودیت‌های مدل‌های مختلف موشی و تفاوت‌های بنیادی بین موش و انسان (هم‌چون اختلافات بین گونه‌ای و تفاوت‌های فارماکولوژیکی) به ذکر فرصت‌های فراهم شده توسط هر یک پرداخته و بسته به هدف تحقیق، نکاتی کلیدی جهت انتخاب بهترین مدل موشی در تحقیقات سرطان را ذکر کرده است.

واژه‌های کلیدی: موش، سرطان، مطالعات پیش-بالینی، سنجش‌های *in vivo*

مقدمه

اهمیت مدل‌های موشی در تحقیقات سرطان

با توجه به بار سنگین اقتصادی و اجتماعی سرطان، آزمایشات و بررسی‌ها در تلاش برای پیروزی در جنگ با این بیماری در چندین سطح، *in vitro* و *in vivo*، در حال انجام است. در شرایط *in vitro*، توانایی رده‌های سلولی در شبیه‌سازی بیماری اولیه محدود است (۱). در *in vitro* میانکنش‌های پیچیده بین انواع مختلف سلول‌ها درون تومور و ریزمحیط آن و هم‌چنین شرایط اسیدی حاکم در ریزمحیط وجود ندارد. از طریق کشت‌های سه‌بعدی، استفاده از سیستم‌های هم‌کشتی و ایجاد شرایط کشت اسیدی ممکن است بتوان تا حدی این نقایص را

رفع کرد (۲). با این حال سلول‌ها در محیط کشت تحت فشار انتخابی رشد می‌کنند و ممکن است به‌طور قابل ملاحظه‌ای ژنوتیپ و فنوتیپ سلول‌ها را متاثر سازد (۳). واکشت‌های (پاساژ) مکرر سبب انباشته شدن تغییرات فنوتیپی و ژنوتیپی می‌شوند. بنابراین انتخاب کلون و واکشت‌های طولانی مدت منجر به سازگار شدن جمعیت‌های هموژن سلول سرطانی به شرایط کشت می‌شود که تا حد بسیار زیادی با جمعیت‌های سلول سرطانی در تومورهای بیماران متفاوت می‌باشد (۲). در بررسی داروها نیز، در شرایط *in vitro*، سلول‌ها پیوسته در معرض دارو هستند. بنابراین به منظور شبیه‌سازی

E-mail: Rahgozar@sci.ui.ac.ir

مؤلف مسئول: سهیلا رهگذر - اصفهان، خیابان هزار جریب، درب شرقی دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

۱. دانشجوی دکتری زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۲. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۲/۲۵ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۶/۳/۱۲ تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۴/۱۲

تجویز بالینی دارو به معنای در معرض دوز زمان‌بندی شده‌ی دارو قرار گرفتن سلول‌ها جهت تحقق ویژگی‌های فارماکودینامیک و فارماکوکینتیک دارو به انجام بررسی‌ها در مدل‌هایی در شرایط *in vivo* نیاز است (۳). این مدل‌ها از الگوی تکثیر و انتشار سلول‌های سرطانی در بدن تقلید کرده و به روشی مشابه به تیمارهای دارویی پاسخ می‌دهند (۱). مزیت اصلی استفاده از مدل‌های *in vivo* بررسی تومور تحت شرایط فیزیولوژیکی نرمال، در تعامل با ریزمحیط تومور و سیستم ایمنی می‌باشد. به همین دلیل این مدل‌ها در بررسی تومورها و پاسخ آن‌ها به داروها اهمیت ویژه‌ای دارند. از میان حیوانات به کار گرفته شده در مطالعات *in vivo*، مدل‌های موشی گسترده‌ترین مدل‌های مورد استفاده در حوزه تحقیقات سرطان هستند، به طوری که بیش از ۹۵ درصد از مطالعات در این جانداران انجام شده است (۴). علت پرکاربرد بودن این جانور، کوچک بودن، نگهداری آسان، دوره‌ی بارداری کوتاه و شباهت ژنتیکی آن به انسان است (۵). از نظر ژنتیکی، موش دارای نواحی هومولوگ با کروموزوم‌های انسانی می‌باشد، واجد ۱۹ کروموزوم اتوزومی به همراه کروموزوم‌های جنسی است. آنالیز مقایسه‌ای ژنوم نشان می‌دهد که موش یک مدل بسیار عالی برای تکوین و بیماری‌های انسانی می‌باشد. این جاندار، ۲۵۰۰۰ ژن دارد که یک به یک آن‌ها با ۸۵ درصد از ژن‌های انسانی تطابق دارند. چرخه زندگی موش طولانی است و به ترتیب دوره‌ی بارداری، سن بلوغ و دوره موثر زندگی آن ۳، ۶-۵ و ۹-۸ هفته می‌باشد (۶). علاوه بر این، مزیت استفاده از موش در تحقیقات سرطان آن است که این

جاندار به تیمار نسبت به بیمار سریع‌تر پاسخ داده و به راحتی می‌توان تیمارها را بر روی تعداد زیادی موش هموزن از نظر جنس، سن، ژنوتیپ، رژیم غذایی و فاکتورهای محیطی در معرض (که متغیرهای اجتناب ناپذیر در مطالعات انسانی هستند) انجام داد (۷). مدل‌های موشی با فراهم کردن امکان کنترل این متغیرها به ساده‌سازی آزمایشات کمک می‌کنند و ابهام حاصل از تاثیر آن‌ها بر بروز و ظهور سرطان در آنالیز تومورها را مرتفع می‌سازند (۸). در مقایسه با دیگر جوندگان پرکاربرد در تحقیقات بیولوژیک (از جمله موش صحرایی)، تعداد سرطان‌های رایج خودبخودی در موش کم‌تر از موش صحرایی می‌باشد (۹). هم چنین تفاوت‌هایی در فعالیت مهاري سيتوکروم P450 علیه برخی از ترکیبات شیمیایی در بین این دو گونه از جوندگان وجود دارد. به طوری که در مقایسه با موش صحرایی، الگوی مهاري اين سيتوکروم علیه برخی از مواد از جمله ترکیب ۷-اتوکسی رسوروفین^۱ در موش به انسان شباهت بیش تری دارد (۱۰). تاریخچه به کارگیری موش به عنوان مدل حیوانی به سال ۱۹۰۰ باز می‌گردد. در این سال محققان دانشگاه هاروارد مطالعه بر روی عوامل ژنتیکی مسئول وراثت مشخصه‌های سوماتیکی خاص را در موش‌ها آغاز کرده و ارتباط بالقوه‌ی بین شیوع تومورهای خودبه‌خودی و سویه‌های موشی خاص را بررسی نمودند و این ایده که موش‌ها می‌توانند مدل‌های سودمندی برای فهم نیروهای ژنتیکی عامل مستعد شدن یا مقاوم شدن انسان به سرطان شوند، توسط لیتل مطرح گردید. وی موش را به عنوان مدلی

^۱ 7-Ethoxyresorufin

مناسب از سرطان انسان پیشنهاد کرد و لابراتور جکسون، یکی از موسسات جهانی فعال در حوزه به کارگیری از مدل‌های ژنتیکی موشی در تحقیقات پاتولوژیک انسانی^۲، را پایه‌گذاری نمود (۷). از آن زمان به بعد موش به عنوان مدل حیوانی در تحقیقات بیولوژی تومور و سرطان وارد شد و در حال حاضر، پلی بین مطالعات *in vitro* و کارآزمایی‌های بالینی محسوب می‌گردد. در این مقاله مروری، پس از بیان اجمالی کاربردهای مختلف موش در این حوزه از مطالعات، انواع مدل‌های موشی معرفی شده‌اند. در این نوشتار تلاش شده است با توجه مزایا و محدودیت هر یک از مدل‌های مذکور، راهنمایی‌هایی جهت انتخاب بهترین مدل بسته به هدف تحقیق ارائه گردد. در پایان با تأکید بر تفاوت‌های بیولوژیکی بین موش و انسان برخی از راهکارها به منظور شبیه‌سازی بیش تر این مدل جانوری به انسان مورد اشاره قرار گرفته‌اند.

کاربردهای مدل‌های موشی در تحقیقات سرطان

مدل‌های موشی ابزارهایی مناسب برای شناخت بیولوژی تومور هستند. از جمله کاربردهای مدل حیوانی در تحقیقات تومور و سرطان می‌توان به مقایسه‌های بین گونه‌ای، تعیین نقش فاکتورهای محیطی در تکوین تومور، شناخت فرایند تومورزایی و ژن‌های دخیل در سرطان و غربال‌های *in vivo*، ارزیابی و بررسی کارایی ترکیبات دارویی و سمیت آن‌ها قبل از پایه‌گذاری کارآزمایی‌های بالینی و شناسایی بیومارکرهای پیش‌بینی‌کننده‌ی پاسخ به دارو اشاره کرد (۱۱، ۶).

از آن‌جا که موتاسیون‌ها یا افزایش بیان انکوژن‌ها می‌تواند تکوین تومور را راه‌اندازی کند، با استفاده از مدل‌های حیوانی به خوبی می‌توان نقش انکوژن‌ها را در بیولوژی تومور بررسی نمود. به طور مثال در یک مدل از کارسینومای هپاتوسلولار که به وسیله MYC (یک فاکتور رونویسی که در اکثر سرطان‌ها افزایش بیان داشته یا بی‌تنظیم می‌شود) القا شده بود (۱۲)، فعال شدن مجدد MYC پس از فرونشینی تومور سبب تکوین تومورهایی شد که از نظر کلونال با تومور اولیه ارتباط داشتند. این مشاهده نشان می‌دهد که خاموشی می‌تواند نتیجه غیر فعال شدن یک انکوژن باشد. این مدل جهت پیش‌بینی عواقب تغییر مسیرهای خاص احتمالی موثر بر بقا و پیشرفت تومور می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. از نظر بالینی، غیر فعال کردن انکوژن می‌تواند به صورت موفقیت‌آمیزی رشد تومور را کاهش دهد که حاکی از اعتیاد تومور به انکوژن می‌باشد (۱۳). با استفاده از مدل‌های ژنتیکی می‌توان در شرایط *in vivo* شبکه‌های سرکوبگر تومور، ارتباط بین انکوژن‌ها و ژن‌های هدفشان و همکاری تغییرات ژنی مختلف در پیشبرد آغاز و پیشرفت تومور را مورد مطالعه قرار داد (۱۳). تغییرات ژنتیکی در تومورهای انسانی اغلب پیچیده هستند و بین افراد مختلف گوناگونی آللی قابل ملاحظه‌ای وجود دارد. با مقایسه تغییرات ژنومیکی و ژنتیکی همپوشان، در تومورهای موشی و انسانی از یک نوع (و حتی تومورهایی که محتوی چندین رخداد انکوژنیک یکسان هستند) می‌توان حداقل تغییرات ژنتیکی اساسی (جهت ایجاد تومور) را پایه‌گذاری کرد. به علاوه، این تغییرات می‌توانند از نظر عملکردی در

² <http://jaxmice.jax.org>

مدل‌های موشی بررسی شوند که به شناسایی دقیق‌تر آن‌ها کمک خواهند کرد (۱۳).

از سوی دیگر، توسعه روش‌های درمانی جدید مستلزم طراحی دقیق مطالعات پیش‌بالینی در مدل‌هایی است که بیش‌ترین قرابت را با انسان داشته باشند. مدل‌های زنگرافت تومورها نقطه تکیه‌گاه اصلی در بررسی‌های پیش‌بالینی فعلی هستند (۱۳). شواهد فزاینده نشان می‌دهد که مدل‌های موشی در ارزیابی داروهای ضد سرطان جدید و پیش‌بینی پاسخ به شیمی‌درمانی (سمیت، عوارض جانبی و یا مقاومت به آن دارو) می‌توانند مفید باشند. این مدل‌ها هم‌چنین جهت بررسی اثر سینرژیک شیمی‌درمانی تلفیقی سودمند هستند. به‌طور مثال در مدل موشی لوسمی پرومیلوسیتیک حاد^۳ (APL) که به‌طور مشابه با بیماران مبتلا به APL به درمان با رتینوئیک اسید پاسخ می‌دهد، درمان تلفیقی جدیدی از رتینوئیک اسید و آرسنیک تری‌اکسید در این مدل‌های موشی ارزیابی شده است. بیماران مبتلا به APL به کرات واجد ترانس لوکاسیون‌های کروموزومی هستند که در آن‌ها ژن $RAR\alpha$ ^۴ با ژن‌های مختلفی از جمله PML^۵ و PLZF^۶ ادغام می‌شود. موش‌های ترانس ژنیک بیان‌کننده این ادغام‌های ژنی به APL مبتلا می‌شوند. بررسی‌های صورت‌گرفته نشان داد که این درمان تلفیقی، در موش‌های PML-RAR α اثر سینرژیک دارند، اما در موش‌های PLZF-RAR α بی‌تاثیر می‌باشد (۱۴). شایان توجه آن است که این اثر در بررسی‌های صورت‌گرفته در شرایط *in vitro* مشاهده

نشده بود و همین مطلب، بر اهمیت مدل‌های موشی در بررسی داروها تأکید دارد.

علاوه بر استفاده از موش‌ها به عنوان مدل‌های پیش‌بالینی، مدل‌های موشی می‌توانند در کشف بیومارکرهای توموری جهت تشخیص، پیش‌آگهی و رصد پیشرفت و عود سرطان نیز راهگشا باشند. به‌رغم پیشرفت‌های شگرف در دهه‌های اخیر، به علت هتروژنیتی ژنتیکی و محیطی موجود بین بیماران، کشف بیومارکر در نمونه بیمار با چالش رو به روست. در مقابل، مدل‌های موشی با دارا بودن ژنتیک مشخص و تومورهای هموزن، می‌توانند ابزاری سودمند برای نیل به این هدف باشند (۱۴).

از دیگر کاربردهای مهم مدل‌های موشی آن است که با استفاده از آن‌ها می‌توان به‌طور مستقیم نقش فاکتورهای محیطی، مثل هورمون‌ها، رژیم غذایی، اشعه فرابنفش و مواد شیمیایی را در تکوین تومور بررسی نمود و از این طریق به این سوال پاسخ داد که آیا این فاکتورها به‌طور مستقیم تکوین تومور را راه‌اندازی می‌کنند یا عواملی تسهیل‌کننده جهت بروز سرطان هستند؟ برای نمونه، مطالعات بر روی اثرات افروکتومی^۷ و حذف استروژن سبب کشف اثر مهارت تاموکسی‌فن بر رشد تومورهای انسانی در موش شد و تصویب آن را برای درمان سرطان سینه انسانی تسهیل کرد (۱۴). در جدول شماره ۱، برخی از کاربردهای مدل‌های حیوانی و نتیجه مطالعات سرطان در آن‌ها آورده شده است.

³ Acute Promyelocytic Leukemia

⁴ Retinoic Acid Receptor Alpha

⁵ Promyelocytic Leukemia

⁶ Promyelocytic Leukemia Zinc finger

⁷ oophorectomy

جدول شماره ۱: برخی از کاربردهای مدل‌های حیوانی و نتیجه مطالعات سرطان در آن‌ها (۱۴، ۱۵)

طراحی کارآزمایی	نوع سرطان	نوع مدل	ژن راه‌انداز مهندسی شده	داروها/ نوع تیمار	اهمیت
پیش-بالینی	APL	GEM	ادغام PML-RAR α	ریتونیک اسید و آرسنیک تری اکسید	اثبات کارایی درمان تلفیقی این دو دارو در یک زیر گروه خاص از APL و تایید بالینی آن
پیش-بالینی	پانکراس (تورو-اندوکرین)	GEM	ادغام PLZF-RAR α RIP1-Tag2	Sunitinib	اثبات کارایی درمان تلفیقی Sunitinib به همراه ایماتینیب، تایید بالینی آن و تصویب در FDA در سال ۲۰۱۱ جهت درمان سرطان پانکراس
بررسی همزمان با کارآزمایی بالینی	پانکراس (PDA)	GEM	LSL-Kras ^{G12D} R172H	Gemcitabine Nab-Paclitaxel	فراهم کردن شناخت نسبت به مکانیسم همکاری بالینی بین این دو ماده
بررسی همزمان با کارآزمایی بالینی	پانکراس (PDA)	GEM	Pdx-I-Cre LSL-Kras ^{G12D} R172H	آنتی‌بادی منوکلونال علیه CD40 (Gemcitabine)	اثبات کارایی هدفگیری استروما در درمان PDA ی مناسبتیک
بررسی همزمان با کارآزمایی بالینی	سارکوماهای مختلف	PDX GEM	-	داروهای شیمی‌درمانی مختلف	پیش‌بینی بازده درمان‌های تلفیقی دارویی استفاده در پرتومیکس کمی جهت تعیین پروفاایل پروتئین‌های پلاسما
یومارکر	پانکراس (PDA)	GEM	Kras ^{G12D} Ink4a/Arf ^{fl/fl} Pdx-I-Cre	-	استفاده در آنالیزهای پرتومیکس جهت شناسایی مارکرهای کاندید در سرطان انسانی

انواع مدل‌های موشی سرطان

- مدل‌های ذاتی یا خودبه‌خودی^۱

یک تومور خودبه‌خودی به توموری اندوژن یا *in situ* اطلاق می‌شود که از خود سلول‌های طبیعی جاندار منشأ می‌گیرد. یک‌سری از تومورها به صورت خودبه‌خودی تشکیل شده و وابسته به سن هستند و برخی دیگر مدل‌های شیمیایی می‌باشند (۱۶). مدل‌های خودبه‌خودی بین انسان و موش متفاوت هستند و زمینه ژنتیکی نقش مهمی در دیکته کردن طیف دقیق تومور در سویه‌های مختلف ایفا می‌کند. به طور مثال، در موش‌های پیر، در سویه C57BL/6 لئوفا و لوسمی و در سویه FVB آدنوکارسینوما ریه فرکانس بیش تری دارند (۱۶).

ایجاد مدل‌های شیمیایی سرطان در سال ۱۹۱۵ آغاز شد. در این سال با مالیدن قیر زغال سنگ^۸ بر روی گوش خرگوش، تومور اپی‌تلیالی پوست تشکیل شد. کمی بعد مشخص شد که قیر زغال سنگ محتوی چندین هیدروکربن آروماتیک چندحلقه‌ای همچون دی‌بنزن تراسن و بنزوپیرن است که با DNA اداکت‌های کووالان تشکیل داده و سبب القای سرطان در پوست می‌شوند. مشخص شده است که ماده شیمیایی ۷،۱۲-دی‌متیل‌بنزن‌آنتراسن (DNBA)^{۱۰} سبب سرطان پوست،

غدد پستان و کولون شده و ترکیب دی‌اتیل نیتروزآمین (DEN) (۱۷، ۱۸). در جدول شماره ۲، برخی از مواد شیمیایی مورد استفاده جهت ایجاد این نوع مدل‌ها آورده شده است.

جدول شماره ۲: برخی از مواد شیمیایی مورد استفاده در ایجاد مدل موشی سرطان (۱۹، ۲۰).

نام ماده شیمیایی	اندام هدف	نوع سرطان ایجاد شده
وئیل کریبات، DEN، دود سیگار، اورتان و اوراسیل خردل OH-BBN ^{۱۱}	ریه	آدنوما و آدنوکارسینوما
DMBA و اشعه فرابنفش	پوست	کارسینوما سلولی گذرا ^{۱۲} پایلوما و کارسینوما سلول سنگفرشی
دی‌متیل‌هیدرازین	تزیق داخل صفاقی	سرطان کولون

از جمله مزایای این مدل‌ها آن است که تکوین تومور را دقیق‌تر تقلید کرده، تومورها به صورت اورتوتوپیک تشکیل شده و امکان رصد کردن مراحل مختلف تکوین تومور از هاپرپلازی تا سرطان‌های بدخیم پیشرفته وجود دارد. این مدل‌ها در شناسایی رخدادهای آغازگر و پیش‌برنده تومور و بررسی نقش فاکتورهای محیطی در سرطان مناسب هستند. اما مطالعه بیولوژی سرطان در این مدل‌ها با محدودیت‌هایی نیز همراه هستند، از جمله دوره طولانی کمون تومور، تغییر و گوناگونی بروز تومور و

^{۱۱} Diethylnitrosamine

^{۱۲} N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine

^{۱۳} Transitional cell carcinomas

^۸ Autochthonous

^۹ Coal tar

^{۱۰} 7,12-dimethylbenz[α]anthracene

نیاز به تعداد زیاد جانور و همچنین محدود بودن این مدل‌ها به تومورهای خاص (۱۶).

- مدل‌های ژنتیکی (GEM)^{۱۴}

پیشرفت تکنولوژی‌های مولکولی امکان دست‌ورزی ژنوم موش را فراهم کرده است. این رخداد فرصت‌های بسیاری را جهت ارزیابی عملکرد ژن‌های خاص در سرطان و ایجاد مدل‌های موشی مقلد سرطان‌های انسانی در اختیار قرار داده است (۲۱). مدل‌های ژنتیکی به طور کلی به دو گروه ترانسژنیک و مدل‌هایی که در آن‌ها تغییرات هدفمند ژنی صورت گرفته است، تقسیم می‌شوند. با ریزترریق DNA نو ترکیب به داخل پیش-هسته‌ی (پرو نوکلئوس) تخم بارور شده می‌توان موش ترانسژن تولید کرد (۶). جهت انتقال DNA می‌توان از ویروس‌ها استفاده نمود (۷) و یا در روشی تلفیقی از لنتی ویروس‌ها جهت تحویل ترانسژن به سلول‌های بنیادی موشی استفاده کرده و یا DNA ی نو ترکیب را با الکتروپوریشن به سلول‌های بنیادی جنینی منتقل کرد (۱۴). هم‌چنین می‌توان با تغییرات هدفمند ژنی، مدل‌های موشی سرطان را ایجاد نمود. یکی از این روش‌ها استفاده از نو ترکیبی هومولوگ در سلول‌های بنیادی جنینی برای جایگزین کردن کروماتین سلول اندوژن یا وکتوری ست که آلل هدف را مختل می‌کند. این روش که مراحل چندگانه‌ای دارد یا منجر به حذف توالی یک ژن (ناک‌اوت)^{۱۵} و یا ورود توالی اگزوژن به داخل لوکوسی خاص (ناک‌این)^{۱۶} می‌شود. مدل‌های ناک‌اوت کمک شایانی به شناخت عملکرد سرکوبگرهای ژن در طول تکوین جنین و تومورزایی کرده است. در تولید مدل‌های ناک‌این، جهت ورود لوکوس خاص ژنی می‌توان از سیستم‌های القاپذیر همچون Cre-LoxP، FLP-FRT و Cre و سیستم‌های کنترل‌شونده با تتراسایکلین (Tet-on یا Tet-off) به

منظور القای موتاسیون‌های سوماتیکی در یک بافت اختصاصی استفاده نمود. از دیگر روش‌های تولید مدل‌های ژنتیکی استفاده از RNAهای مداخله‌گر، مهندسی کروموزوم و ویرایش ژنوم با استفاده از سیستم CRISPR-Cas^{۱۷} و نوکلئازهای انگشت روی (ZFNs)^{۱۸} و نوکلئازهای افکتور شبه فعال کننده رونویسی (TALENs)^{۱۹} می‌باشد (۲۲، ۱۴، ۸). استفاده از RNAهای مداخله‌گر بدون ایجاد تغییر در ژنوم می‌تواند سبب خاموش شدن برگشت‌پذیر بیان ژنی شوند. در مطالعات *in vivo* استفاده از این روش به‌طور موفقیت‌آمیزی منجر به شناسایی TSG های جدید در مدل‌های موشی کارسینومای هپاتوسلولار و لنفوما (۲۵، ۲۳) و ژن‌های دخیل در مقاومت به داروی سرافنیب^{۲۰} در سرطان کبد شده است (۲۶). به‌نظر می‌رسد تکنولوژی CRISPR-Cas راهکاری کارآمد با توان ویرایش‌های ژنومی چندگانه جهت مدل‌سازی سریع سرطان در موش‌ها است. در حال حاضر با به کارگیری این سیستم می‌توان به سرعت همه تغییرات ژنتیکی موجود در تومورهای انسانی را در ژرم لاین موش وارد کرد (۲۷). هم‌چنین از آن می‌توان جهت ویرایش سوماتیکی انکوژن‌ها و TSG ها در موش‌ها استفاده نمود. به این روش نسل جدیدی از مدل‌های غیرژرم‌لاینی از انواع مختلفی از سرطان‌ها از جمله سرطان سینه (۲۸) و پانکراس (۲۹) تولید شده است. استفاده از هریک از این روش‌ها در تولید GEM علاوه بر مزایا و تسهیل روند تولید نسبت به روش‌های قبلی، دارای محدودیت‌هایی می‌باشد که از حوزه موضوع این نوشتار خارج است.

در مطالعات پیش-بالینی از GEM ها می‌توان برای تعیین مولکول‌های هدف، بررسی مکانیسم‌های مقاومت دارویی و برآورد کارایی درمان تلفیقی استفاده نمود (۷). مزیت GEM ها آن است که در این مدل‌ها، در عین وجود کامل سیستم ایمنی میزبان، تومورها در یک

^{۱۷} Clustered Regularly-Interspaced Short Palindromic Repeats

^{۱۸} Zinc-Finger Nucleases

^{۱۹} Transcription-Activator-Like Effector Nucleases

^{۲۰} Sorafenib, a tyrosin kinase inhibitor

^{۱۴} Genetically engineered Mice

^{۱۵} Knock out

^{۱۶} Knock in

ریز محیط مناسب شکل می‌گیرد. ایجاد این مدل‌ها مستلزم شناخت قبلی تغییرات ژنتیکی اصلی در انواع مختلف تومور می‌باشد (۳۰، ۳۱). به علاوه اغلب دوره کمون و نفوذ قابل پیش‌بینی داشته که خود باعث ارتقای امکان آنالیز آن‌ها می‌شود (۳۲). با این حال این مدل‌ها دارای معایب و محدودیت‌هایی نیز هستند. از جمله معایب مدل‌های ترانس ژنیک آن است که گوناگونی در تعداد نسخه‌های ترانس ژن ممکن است تغییرپذیری داده‌ها را افزایش داده و لازمه کاهش این تغییرپذیری انجام آزمایشات بر روی تعداد بیش تری موش است (۳۳). به علاوه در این مدل‌ها یک تغییر ژنتیکی منفرد در ژنوم موشی به منظور تقلید نوعی سرطان انسانی صورت می‌گیرد. هم چنین مراحل چندگانه ژنتیکی و تغییرات اپی‌ژنتیکی در مدل‌های ناک اوت ساختاری محقق نمی‌شود (۱۶) و نمی‌توانند پیچیدگی‌های ژنتیکی تومورهای انسانی را به طور کامل تقلید کنند (۳۴). به عنوان نمونه در ملانومای بدخیم انسانی و دیگر انواع تومورها در عین وجود درجات هتروژنیته ژنتیکی مشابه، در یک تومور سلول به سلول آپلوتیدی گسترده و کسب و فقدان‌های ژنی بسیار متغیری دیده می‌شود (۳۴). به علاوه اکثر تومورهای انسانی نتیجه جهش‌های پراکنده و تک‌گیر در پروتوآنکوژن یا ژن سرکوبگر تومور (TSG)^{۲۱} در سلول‌های سوماتیک هستند، در حالی که در مدل‌های موشی ترانس ژنیک، تغییرات ژنتیکی وارد ژرم لاین شده و ممکن است تکوین موش را متأثر سازد (۳۵). لازم به ذکر است که با ایجاد تغییرات ژنی هدفمند و القاپذیر می‌توان بر این مشکل فائق آمد، به نحوی که تا زمان مورد نظر جهت تومورزایی، ترانس ژن خاموش باشد و با اعمال ماده القاکننده در زمان دلخواه، ترانس ژن فعال گردد (۳۵، ۱۶). به علاوه بسته به هدف مطالعه می‌توان مدلی ایجاد نمود که در آن ترانس ژن در ژرم لاین وجود داشته و یا نداشته باشد. مدل ژرم لاین امکان شناخت مکانیسم

ترانسفورماسیون انکوژنیک و بررسی کینتیک پاسخ‌ها به درمان در ریز محیط دست نخورده را فراهم می‌کند. اما مدل‌های ترانس ژنیک غیر ژرم لاینی با کاهش هزینه بر سرعت و انعطاف‌پذیری تولید مدل‌های ژنتیکی می‌افزاید (۳۰). از دیگر معایب این مدل‌ها آن است که در ایجاد آن‌ها، تمرکز بر انکوژن‌ها و TSG ها است و جنبه‌های تکوین از صفر (*de novo*) تومور، از جمله ریز محیط تومور و نقش سیستم ایمنی میزبان انسانی در این مدل‌ها نادیده گرفته می‌شود. هم چنین اکثر تغییرات ژنتیکی در مدل‌های موشی منجر به افزایش یا حذف ژن‌های خاص می‌گردد. در حالی که سرطان‌های انسانی معمولاً حاوی موتاسیون‌های نقطه‌ای هستند. به علت تعداد محدود تغییرات ژنتیکی آغازگر در تومورهای موشی، این تومورها نسبت به انواع انسانی هموژن تر می‌باشند (۳۲، ۱۴). این هموژنیته در تشریح عملکرد ژن مورد نظر و شناسایی بیومارکرها مفید و در بررسی پاسخ به دارو می‌تواند گمراه کننده باشد (۱۴). به همین دلیل در بررسی داروها، مدل‌های ترانس ژنیک گزینه‌هایی ایده‌آل محسوب نمی‌شوند. شایان ذکر است که این مدل‌ها محدود هستند و نمی‌توان تطبیق کامل برخی از سرطان‌ها (از جمله لوسمی‌های حاد انسانی) را با این مدل‌ها محقق ساخت (۳). ماهیت سیال لوسمی‌ها، ریز محیط پیچیده‌ای که خاستگاه آن‌هاست و تغییرات چندگانه ژنتیکی تولید مدل‌های مناسب برای آن‌ها را با مشکل مواجه کرده است (۳۶). به عنوان نمونه، مدل‌های مختلفی با استفاده از ترانس لوکاسیون‌های متفاوت دخیل در لوکوموژنریز و ژن‌های مربوط به لوسمی لنفوبلاستی حاد (ALL)، متداول‌ترین لوسمی در بین کودکان (۳۷)، تولید شده است. با این حال در موارد چشمگیری بیان ژن‌ها، ورود ترانس لوکاسیون‌ها و موتاسیون‌های وابسته به ALL سبب لوسمی میلوئیدی حاد (AML) شده است (۳). هم چنین ترانسداکشن رتروویروسی ترانس لوکاسیون ETV6-RUNX1، مکررترین بازآرایی در کودکان مبتلا به ALL (۳۸)، در

²¹ Tumor Suppressor Gene

چندین مدل موشی بجای ایجاد لوسمی منجر به توقف تمایز سلول‌های B شده است (۳۹). علاوه بر دلایل مذکور، پر هزینه بودن، زمانبر بودن و سختی تولید GEMها از دیگر موانع پیش رو در استفاده از آنها می‌باشد. باید توجه داشت که در نهایت سلول‌های توموری در این مدل‌ها منشأ موشی دارند و به علت تفاوت‌های بین گونه‌ای، اثر بسیاری از داروها را نمی‌توان به انسان تعمیم داد (۳).

- مدل‌های قابل پیوند^{۲۲}

به‌طور کلی می‌توان با پیوند سلول‌های توموری در موش، سرطان را شبیه‌سازی کرد. پیوند می‌تواند به صورت سینژنیک یا زئوگرافت باشد. در پیوند سینژنیک، سلول‌های توموری به همان سوبه‌ای که سلول توموری از آن منشأ گرفته است، پیوند می‌شود. به همین دلیل ناسازگاری بین میزبان و سلول‌های پیوندی وجود ندارد. در این مدل‌ها، جهت بررسی تومور، یک محیط واقعی فراهم می‌گردد. چون ریزمحیط حقیقی آن و هم چنین میانکنش‌های ضروری بین گیرنده‌های سلولی و لیگاند‌ها و عملکرد سیستم ایمنی وجود داشته و شرایط تکوین تومور واقعی‌تر می‌باشد. اما مشکل آن است که سلول‌های توموری موشی با تومورهای انسانی متناظر در برخی فرایندهای سلولی (که در ادامه به آن پرداخته شده است) تفاوت دارند. به همین دلیل، استفاده از مدل‌های زئوگرافت بسیار رایج می‌باشد (۱۶). واژه زئوگرافت به پیوند سلول‌های توموری کشت شده یا اکسپلنت‌های توموری انسانی به موش‌های دارای نقص ایمنی، جهت ممانعت از رد پیوند، اطلاق می‌گردد (۱۶). اولین موش کاندید جهت انجام این نوع پیوند، موش nude بود که در اواخر دهه ۱۹۶۰ تکوین یافت (۳). پس از آن، موش‌های دارای نقص ایمنی دیگری مورد استفاده قرار گرفتند که اسامی و ویژگی‌های هر یک در جدول شماره ۳ آمده است. اولین پیوند زئوگرافت موفق

توسط Giovannella و همکارانش در موش‌های nude انجام گرفت. آن‌ها سوسپانسیون از سلول‌های ملانومای انسانی را به صورت زیرجلدی به این موش‌ها پیوند زدند (۴۰). در تولید مدل‌های زئوگرافت، سلول‌های توموری را می‌توان به روش‌های مختلفی پیوند کرد که عبارتند از پیوند زیرجلدی، زیر کپسول کلیوی، تزریق به داخل سیاهرگ دمی-یا ورید اوربیتال، تزریق داخل صفاقی و یا پیوند اورتوتوپیک. در پیوند اورتوتوپیک، سلول‌های توموری در جایگاه آناتومیکی خاص خود قرار می‌گیرند و به نظر می‌آید این نوع پیوند بهترین حالت قرارگیری تومور در ریزمحیطش را شبیه‌سازی می‌کند. به طور نمونه، گزارش شده است که در برخی از سرطان‌ها، در صورتی که پیوند به صورت زیرجلدی انجام شود، امکان متاستاز محدود شده و مدل موشی نمی‌تواند مدلی مناسب از مراحل پیشرفته بیماری باشد. توجه به انتخاب روش پیوند، بسته به نوع سرطان، بسیار ضروری است، چون ممکن است پاسخ به درمان در مدل موشی با کارآزمایی بالینی متفاوت باشد (۱۶). شایان توجه است که بسته به نوع سرطان، روش پیوند اورتوتوپیک متفاوت خواهد بود. به طور مثال، تزریق داخل وریدی سلول‌های لوسمیک به علت توانایی آن‌ها در لانه‌گزینی به مغز استخوان یک پیوند سیستمیک محسوب می‌گردد، حال آن‌که در پیوند اورتوتوپیک، پیوند داخل استخوان‌های فمور و یا تیبا و یا داخل طحال صورت می‌گیرد. در مورد تومورهای جامد جهت پیوند اورتوتوپیک به جراحی (SOI) نیاز است (۱۶). این روش جهت بررسی بیولوژی پایه سرطان کاربرد دارد. منبع سلول‌های توموری در مدل‌های زئوگرافت می‌تواند رده سلولی یا بیوپسی از بیمار باشد. استفاده از رده‌های سلولی به علت در دسترس بودن، شناخته بودن جهش‌ها و سیتوژنتیک سلول‌ها و بقای بیش تر آن‌ها، آسان‌تر بوده (۱۶) و علاوه بر این، تکرارپذیری آزمایش‌ها را به همراه دارد (۷). اما عیب استفاده از

²³ Surgical Orthotopic Implantation

²² Transplantable

رده‌های سلولی، وجود ناهنجاری‌های ژنتیکی، جهش‌ها، اختلالات متابولیکی در رشد چندین دهه‌ای رده‌های سلولی و ایجاد اشکال در تفسیر صحیح نتایج حاصل است (۷). در عین حال در استفاده از رده‌های سلولی، بررسی آلودگی‌های میکروبی نیز حائز اهمیت می‌باشد. ابتلا به عفونت خاموش و بی‌علامت موش‌های میزبان می‌تواند ویژگی‌های تومور را تحت تأثیر قرار دهد (۴). با این حال پیوند سلول‌های بیمار پیچیده، معتبرتر اما با کارایی کم‌تر می‌باشد (۷). همان‌طور که اشاره شد، کار کردن با رده‌های سلولی ساده‌تر است و بیان شده که پذیرش پیوند در استفاده از این سلول‌ها آسان‌تر و کم‌هزینه‌تر می‌باشد (۷). با این حال در زئوگرافت‌های حاصل از نمونه‌های بیمار (PDXs)^{۲۴}، معماری اصلی تومور حفظ می‌شود و برخلاف زئوگرافت‌های حاصل از رده سلولی، مشخصه‌های هیستولوژیکی مشاهده شده در شرایط بالینی و هتروژنیته بافت توموری را نشان می‌دهند (۲) و در حین واکشت در موش‌ها^{۲۵} از لحاظ الگوی بیان ژنی، وضعیت موتاسیونی، پتانسیل متاستاز، پاسخ‌دهی به دارو و معماری تومور از نظر بیولوژیکی پایدار هستند (۴۱). به‌همین دلیل این مدل‌ها علی‌رغم هزینه‌های سنگین، تغییرپذیری بالا و کندی تولید، بازتاب بهتری از رفتار حقیقی تومورهای انسانی را به نمایش گذاشته (۴۲) و به‌طور فزاینده‌ای جهت کشف داروها، بررسی کارایی و سمیت داروها و همچنین مطالعه بیومارکرها مورد استفاده قرار می‌گیرند (۵). این مدل‌ها در سرطان‌هایی که مدل حیوانی مناسبی از آن‌ها موجود نبوده است، بسیار راهگشا بوده‌اند. به‌طور مثال در اپندیموما^{۲۶} (یک تومور مغزی بدخیم در کودکان که گزینه‌های درمانی محدودی برای آن وجود دارد) Yu و همکارانش به‌طور موفقیت‌آمیزی یک مدل PDX تولید کردند که مشخصه‌های هیستولوژیکی و رشد تهاجمی تومورهای مبدأ در بیمار را به خوبی شبیه‌سازی

می‌کند (۴۳). علاوه بر این، در مقایسه با GEM ها، در PDX ها حداقل برای دوره‌ای پس از اولین پیوند ریزمحیط اختصاصی انسانی حفظ می‌گردد (۴۴). شایان توجه است که در موفقیت پیوند زئوگرافت روش پیوند، سویه (۴۴)، سن و جنس موش و نوع سلول پیوندی (استفاده از رده سلولی یا سلول‌های حاصل از نمونه بیمار و حتی مرحله بیماری، نمونه اولیه یا عود) موثر می‌باشد (۴۵). هم‌چنین به علت آرام‌تر بودن و زندگی اجتماعی موش‌های ماده، تمایل به استفاده از این جنس در مطالعات وجود دارد (۴۶). علاوه بر این گزارش شده است که پذیرش پیوند زئوگرافت با استفاده از نمونه عود نسبت به نمونه اولیه از بیماری، زمان تشخیص، سریع‌تر صورت می‌گیرد (۴۸، ۴۷).

به‌طور کلی، مزایای مدل‌های زئوگرافت عبارتند از سهولت ایجاد، ارزان بودن و سرعت بالای تولید آن‌ها نسبت به GEM ها، انسانی بودن منشأ تومورها و امکان دست‌ورزی سلول‌ها در شرایط *in vitro* قبل از پیوند، میزان بالای تکرارپذیری آزمایش و امکان آغاز تیمار در شرایطی که اندازه تومور به حد مناسب رسیده باشد (۴۶، ۴۴، ۳۵، ۷). هم‌چنین جهت بررسی داروها، مدل‌های زئوگرافت‌ها در مقایسه با GEM ها گزینه‌های مناسب‌تری هستند (۱۴). با این حال، در مدل‌های زئوگرافت سیستم ایمنی کاملی وجود ندارد، در نتیجه برهمکنش سیتوکاین‌ها و نقش سیستم ایمنی در بیولوژی تکوین سلول‌های توموری و حمایت یا مخالفت با آن‌ها را نمی‌توان بررسی کرد. علاوه بر این، درمان‌های جدید مبتنی بر سیستم ایمنی (روش‌های مختلف ایمنی‌درمانی) را نمی‌توان در این مدل‌ها ارزیابی نمود (۴۵). هم‌چنین در این مدل، سلول‌های توموری پیوند می‌شوند و امکان شبیه‌سازی فرایند پیشروی نئوپلاستیک از یک سلول نرمال اولیه (مراحل پیش‌بدخیمی) تا تشکیل یک تومور وجود ندارد. بنابراین، این مدل‌ها برای بررسی بیولوژی تومور مناسب نیستند (۴۹). هم‌چنین با توجه به آن که این موش‌ها فاقد سیستم ایمنی، یا دارای سیستم

²⁴ Patient-Derived Xenografts

²⁵ In vivo passaging

²⁶ Ependymoma

ایمنی معیوب هستند، نگهداری از آن‌ها نیاز به شرایطی بسیار ویژه و ملزوماتی خاص دارد (۴۹، ۵۰، ۳). متأسفانه به‌طور ذاتی این موش‌ها مستعد لنفومای خودبه‌خودی هستند و پذیرش سلول‌های T انسانی (حاصل از پیوند مغز استخوان) منجر به نرخ بالای مرگ ناشی از Xeno-GVHD می‌شود (۳).

جدول شماره ۳: انواع موش‌های دارای نقص ایمنی که به عنوان میزبان پیوند زئوگرافت مورد استفاده قرار می‌گیرند (۵۱).

نام مدل	نام اختصاری	ژن جهش‌یافته	سلول T	سلول B	NK
Athymic nude	NU	<i>Foxn1</i>	-	+	+
XID	XID	<i>Btk</i>	+	-	+
Beige	BG	<i>Lyst</i>	+	+	-
SCID	SCID	<i>Prkdc</i>	-	-	+
SCID beige	SCIDbeige	<i>Prkdc;Lyst</i>	-	-	-
SCID Hairless	SHO	<i>Prkdc;Hr</i>	-	-	+
NOD-SCID	NODSCID	<i>Prkdc</i>	-	-	+
NOD-SCID- <i>Il2rg</i>	NSG	<i>Prkdc; Il2rg</i>	-	-	-
RAG2(null)- <i>Il2rg</i>	Rag2/Il2rg	<i>Rag2; Il2rg</i>	-	-	-
Beige nude	NIH-III	<i>Lyst; Foxn1; Btk</i>	-	-	-
XID					
NOD-SCID.HrN	SHrN	<i>Prkdc; Hr</i>	-	-	-

- بهترین مدل موشی در تحقیقات سرطان

با توجه به آنچه در مورد سه نوع مدل موشی سرطان، مدل‌های خودبه‌خودی، ژنتیکی و قابل پیوند، بیان گردید، روشن است که انتخاب بهترین مدل باید مبتنی بر هدف تحقیق صورت گیرد. به عنوان نمونه در صورت بررسی بیولوژی تومور مدل‌های ژنتیکی و در مطالعه داروها، به جز درمان‌های مبتنی بر سیستم ایمنی، مدل‌های زئوگرافت اولویت دارند. باید دقت شود که توسعه روش‌های درمانی برای سرطان به انتخاب مدل موشی مناسب وابسته است و انتخاب مدلی نادرست ممکن است سبب شکست تعمیم نتایج موفق حاصل از بررسی‌های پیش-بالینی به موارد بالینی گردد. به‌طور مثال در مدل‌های موشی آزمایشگاهی مشخص شد که اندوآستاتین مشتق شده از کلاژن XVIII در کاهش رگ‌زایی و رشد اولیه تومور بسیار موثر است (۵۲). اما در

کارآزمایی‌های بالینی انسانی هیچ فعالیت ضدتوموری برای این ماده مشاهده نشد (۵۴، ۵۳). یک دلیل برای این تناقض آن است که سیستم‌های سینژتیک و پیوند زئوگرافت زیرجلدی مراحل پیشرفته بیماری را نشان نمی‌دهند. در حقیقت فقدان متاستاز از جایگاه رشد زیرجلدی سبب اختلاف در کارایی این ترکیب در موش‌ها و موارد بالینی شده است (۱۶). شناخت نقاط قوت و ضعف هر مدل حیوانی برای استفاده به‌جا از آن‌ها به منظور تسهیل توسعه داروها و ترکیبات دارویی ضروری می‌باشد. بین مدل‌های موشی، تفاوت در پایداری ژنومی می‌تواند با تفاوت در زیر-نوع تومور ارتباط داشته باشد. مثلاً HRAS انسانی در سویه SJL با فرکانس ۵۰-۵۵ درصد کارسینومای سینه ایجاد کرده است، اما در سویه FVB، فرکانس ۱۰۰ درصدی داشته است. شناخت اثر زمینه ژنتیکی بر روی گوناگونی‌های فنوتیپی برای ایجاد مدل‌های موشی معتبر از سرطان انسانی و جهت کاربرد مناسب این مدل‌ها در تحقیقات سرطان ضروری می‌باشد. عدم توجه به زمینه ژنتیکی سبب سردرگمی و اختلال در تفسیر نتایج حاصل از بررسی در مدل‌های موشی خواهد شد (۴۴، ۳۰).

- آیا موش مدلی ایده‌آل در تحقیقات سرطان است؟

همان‌طور که در بالا اشاره شد، موش به عنوان ابزاری سومند و مدلی پرکاربرد و جذاب در تحقیقات سرطان و بیولوژی تومورها مورد استفاده قرار می‌گیرد. گزارشاتی مبنی بر تطابق نویدبخش بررسی‌های انجام شده در مدل‌های موشی و تجربیات بالینی وجود دارد. به‌طور مثال گروهی از محققان بیان داشته‌اند تجربیات بالینی حاصل از مصرف دو ماده رتینوئیک اسید و آرسنیک با استفاده از آن‌ها در مدل موشی لوسمی پرومیلوسیتیک حاد (در صورت وجود تغییرات یکسان ژنتیکی موجود در تومور انسانی) هماهنگی دارد. این نکته در مورد داروی ایماتینیب در درمان لوسمی میلویدی مزمن نیز

²⁷ Graft versus Host disease

²⁸ Natural killer cells

صادق است (۳۵). با این حال در مطالعات باید به تفاوت‌های مهم بین گونه‌ای دقت نمود. این تفاوت‌ها شامل تفاوت‌های ژنتیکی، سلولی، مولکولی، تکوینی و متابولیکی هستند (۱۶). یکی از تفاوت‌ها، اختلاف در مستعد بودن به ابتلا به سرطان در طی دوره زندگی می‌باشد. انسان طول عمر بیش‌تری داشته، اندازه بدنش بزرگ‌تر است و تعداد بیش‌تری سلول دارد که متحمل تقسیم سلولی می‌شوند. پس از نظر تئوریک، احتمال آسیب به DNA، که نهایتاً منجر به سرطان در انسان می‌شود، بیش‌تر است. اما این گونه نیست. با آن‌که در هر دو گونه با افزایش سن، سرطان بیش‌تر می‌شود (۵۵)، اما در انسان با افزایش سن، هم‌چنان نرخ سرطان در مقایسه با موش کم‌تر است. برآورد شده است که انباشت ۴-۷ جهش برای ترانسفورم سلول اپی‌تلیالی نیاز است، در حالی‌که برای ترانسفورماسیون سلول‌های موشی، تغییرات کم‌تری لازم می‌باشد که بخشی از آن به علت تفاوت در مسیرهای p53، Rb و عملکرد تلومر در کنترل تقسیم و طول عمر سلول‌هاست (۱۶). در موش، p53 در تنظیم پیری فیبروبلاست موشی عملکردی غالب دارد در حالی‌که در تنظیم پیری سلول‌های انسانی Rb نقش غالب را عهده‌دار می‌باشد. هم‌چنین تفاوت‌هایی در افکتورهای پایین‌دستی مسیر RAS بین دو گونه وجود دارد (۵۵). سرعت متابولیک پایه در موش ۷ برابر انسان است که با تأثیر بر سطح اکسیدان‌های اندوژن، سلامت DNA را متأثر می‌سازد (۵۵). طیف توموری و کاریوتیپ هم بین دو گونه متفاوت است. موش‌های آزمایشگاهی تمایل به ایجاد تومورهای مزانشیمی مثل سارکوما و لنفوما دارند، در حالی‌که انسان به کارسینوماهای اپی‌تلیالی مستعدتر است (۱۶). تفاوت‌ها در ساختارهای سایتوژنیک احتمالا

پیشرفت تومور را متأثر می‌سازند. برای نمونه در موش، BRCA1 و p53 بر روی یک کروموزوم قرار دارند و بنابراین حذف هر دو ژن رخدادی متداول در تومورهای موشی است (۵۶). تفاوت در پیولوژی تلومر نیز سبب اختلاف در فرکانس و نوع رخداد‌های سایتوژنیک ثانویه در طی پیشرفت تومور در موش‌ها نسبت به انسان می‌شود (۵۷). تلومر موش طول بسیار بیش‌تری نسبت به تلومر انسانی دارد و آنزیم تلومراز در اکثر سلول‌های موشی فعال می‌باشد. در حالی‌که بسیاری از سلول‌های سوماتیک بالغ انسانی، فاقد سطح قابل شناسایی از فعالیت آنزیم هستند (۵۵). هم‌چنین شایان ذکر است که در مطالعات، متاستاز و تهاجم سلول‌های توموری باید به الگوهای انتشار متاستاتیک در انسان و مدل‌های مختلف موشی (زنگرافت و GEM) دقت نمود. زیرا تروپیس اندامی در برخی موارد بین آن‌ها متفاوت است. به‌طور مثال در ملانوما، جایگاه عود بیماری در انسان، اندام‌های مختلفی می‌باشد و اندام‌های هدف عمدتاً گره لنفاوی، ریه‌ها، کبد، استخوان و مغز است. حال آن‌که در GEM، الگوهای متاستاتیک ملانوما در گره لنفاوی و ریه‌ها می‌باشد. در مدل‌های قابل پیوند، ملانوما گرهی لنفاوی، ریه‌ها، استخوان و مغز را درگیر می‌کند (۵۸). بنابراین در مطالعات متاستاز بسته به مرحله مورد بررسی مدل‌های مختلفی پیشنهاد شده است. باس و همکارانش بیان کردند که در بررسی روند آغاز شکل‌گیری تومور و انتشار اولیه آن در جایگاه مبدأ GEM‌ها مناسب هستند. اما در اندام مقصد متاستاز انجام بررسی‌ها در مدل‌های قابل پیوند (زنو یا آلوگرافت) پیشنهاد شده است (۵۸). هم‌چنین بیان شده است که در اکثر موارد، در تروپیس اندامی مدل‌های موشی وضعیت موجود در انسان را تقلید نمی‌کنند (۵۹). به علاوه انسان و موش در

ترکیب و اجزای عناصر استرومال، متابولیسم زنبیوتیک و توانایی ترانسفورماسیون متفاوت هستند (۶۰). تفاوت‌هایی نیز بین انسان و موش در سرعت جذب دارو، توزیع، متابولیسم و دفع آن وجود دارد. در اکثر موارد تفاوت در سطح بیان گیرنده‌ی زنبیوتیک (XR) و سیتوکروم P450، توزیع بافتی و فعالیت‌های آنزیمی، اولویت سوبسترا و افینیتی لیگاند سبب تفاوت چشمگیر در پاسخ به دارو در موش نسبت به انسان می‌شود (۳۱). بررسی‌ها نشان می‌دهند که تعدادی از ترانسپورترهای مسئول جذب سلولی و یا حذف داروهای مختلف آنیونی و کاتیونی در نفرون‌های موش در سطح mRNA و پروتئین دارای تفاوت‌هایی وابسته به جنس هستند در حالی که در انسان برخی از این ترانسپورترها وجود نداشته، برخی مکان قرارگیریشان در غشای سلولی متفاوت بوده و بیان وابسته به جنس را نشان نمی‌دهند. تفاوت‌های گونه‌ای در انتخاب سوبسترا، پراکنش سلولی در طول نفرون‌ها، سطح بیان mRNA و پروتئین، حساسیت به مهارکننده‌ها و تنظیم در برخی از ترانسپورترها مشخص شده است (۶۱). هم‌چنین برخی از کارسینوژن‌های انسانی برای جوندگان از جمله موش‌ها کارسینوژنیک نیستند و در عین حال برخی از داروهای مشهور از جمله مترونیدازول و کلرامفنیکل در آن‌ها کارسینوژنیک می‌باشند. این نکته تعمیم نتایج بررسی‌های صورت گرفته در مدل‌های شیمیایی را با چالش روبه رو می‌سازد (۹).

به طور خلاصه، مدل‌های موشی فرای نوع آن‌ها، تا حد زیادی به شناخت ما از بیولوژی پایه‌ی سرطان انسانی، ژن‌ها و مسیرهای دخیل در سرطان، نقش سایر سلول‌ها و فاکتورها در پیشرفت متاستاز کمک کرده‌اند (۶۰). با این حال، هم‌چنان ناسازگاری‌ها و تفاوت‌های موجود بین

مدل‌های موشی و بیماری متناظر انسانی اشکالاتی را ایجاد می‌کند. از آن جمله می‌توان به عدم اطلاع دقیق از رفتار فارموکینتیک و فارمودینامیک یک دارو در انسان تا زمان تجویز آن برای جمعیتی از انسان‌ها اشاره کرد (۶۲). حدود ۵۰ درصد از داروهای که به‌طور چشمگیر منجر به آسیب کبدی القا شده با دارو می‌شوند، در مطالعات حیوانی عدم سمیت یا سمیت حداقلی نشان داده‌اند (۶۳). برای رفع این اشکالات، دو راه پیش روی محققان می‌باشد: ۱) انسانی کردن^{۲۹} موش که به معنای ایجاد تغییراتی در مدل‌های موشی برای شبیه‌سازی واقعی‌تر شرایط سرطان و رفتار تومورهای انسانی (آغاز، رشد، پیشرفت و متاستاز) می‌باشد و ۲) استفاده از سایر حیوانات از جمله پیرمات‌ها به‌عنوان مدل حیوانی برتر نسبت به موش.

یکی از مکانیسم‌های انسانی کردن قرار دادن ژن‌های انسانی به داخل ژنوم موش است. این روش را می‌توان از طریق ناک این cDNA ی انسانی به داخل لوکوس متناظر موشی انجام داد. اخیراً نشان داده شده است که قراردادی لوکوس گلوبین آلفای جهش‌یافته‌ی انسانی به جای لوکوس گلوبین آلفای موشی به طور بسیار دقیق‌تری نسبت به ایجاد موتاسیون در ژن موشی بیماری تالاسمی را شبیه‌سازی می‌کند (۳۱). در تلاش برای شبیه‌سازی بیش تر متابولیسم موش به انسان، تولید مدل‌های ترانس ژن بیان‌کننده‌ی ژن‌های CYP و XR انسانی، که موش فاقد ژن متناظر آن‌هاست، صورت گرفته است. بیش از ۱۵ سویه‌ی انسانی شده برای آنزیم‌های متابولیکی وجود دارد با این حال سویه‌های انسانی شده در دو آنزیم CYP2D6 (۶۴) و CYP3A4 (۶۵) بیش تر مورد

²⁹ Humanized

توجه هستند. چون این دو آنزیم بیش از ۷۰ درصد از داروهای موجود را متابولیزه می کنند (۶۶).

در استفاده از سایر حیوانات نیز پیریمات‌های غیرانسانی (NHP)^{۳۰} توصیه شده اند. آن‌ها از نظر سیستم‌های اندامی، بیوشیمی، فیزیولوژی، آناتومی و تکامل ژنتیکی نسبت به موش به انسان شبیه تر هستند. تلاش‌هایی در استفاده از این جانداران به منظور مدل سرطان انسانی صورت گرفته است. به عنوان نمونه از کارسینوژن‌های بیولوژیکی، هورمون‌ها، باکتری‌ها و ویروس‌ها و کارسینوژن‌های فیزیکی جهت القای انواع مختلفی از تومورها در NHP‌های مختلف از جمله بوزینه‌ی دم کوتاه و شروی^{۳۱} درختی استفاده شده است. این مدل‌ها به علت شباهت‌هایشان با سرطان‌های انسانی اطلاعات ارزشمندی را فراهم کرده اند. با این حال به علت پرهزینه بودن، اندازه‌ی بزرگ، دوره‌ی کمون طولانی و پیشرفت کند تومور در آن‌ها، تحقیقات بیش تری جهت تسهیل استفاده از آن‌ها در این حوزه نیاز است و اعتقاد بر این است که در تحقیقات آتی سرطان، NHP‌ها نقشی چشمگیرتر ایفا خواهند کرد (۶۷).

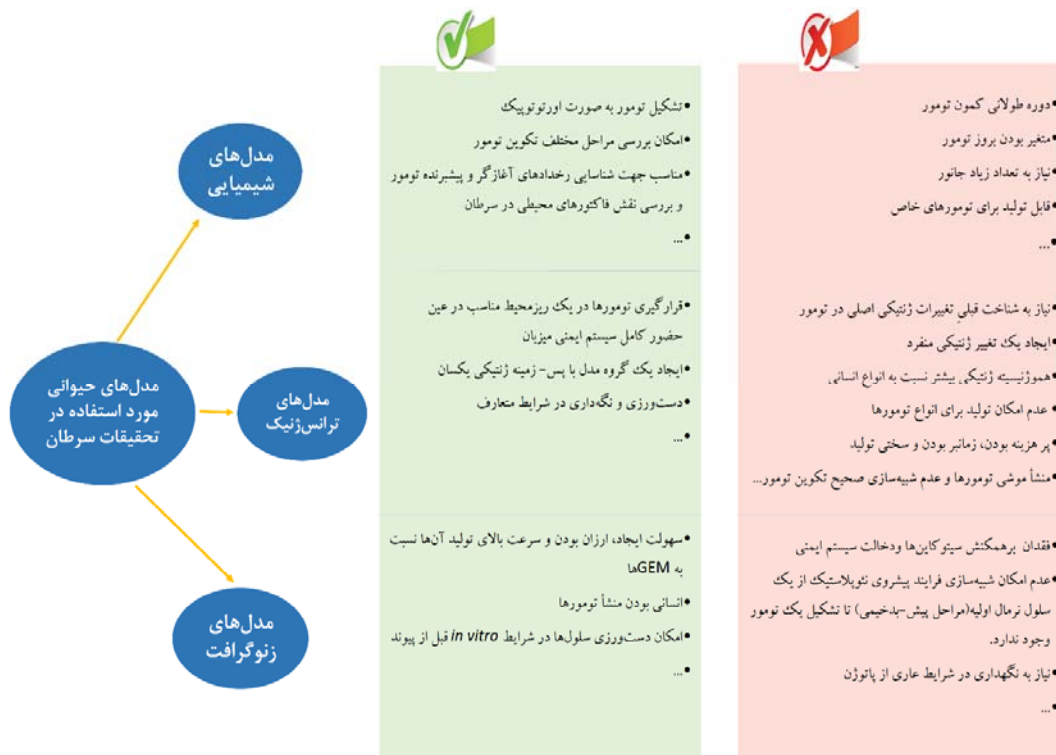
در پایان می توان نتیجه گرفت که به طور خلاصه یک مدل موشی ایده آل برای سرطان باید به طور اطمینان بخشی، جنبه‌های مختلف سرطان (اتولوژی، پاتولوژی، ژنتیک) و مراحل مختلف تکوین و پیشرفت تومور را منعکس نماید. یک مدل مناسب باید امکان تشکیل تومور از صفر را در ریزمحیط اصلی و در حضور سیستم ایمنی فراهم نماید. باید بتواند فرایندهای چندمرحله‌ای گذار از سلول‌های پیش-نئوپلاستیک تا سلول‌های متاستاتیک را شبیه سازی نماید. فنوتیپ‌های توموری باید مشخصه‌های هیستولوژیکی و پاتولوژیکی

متناظر در سرطان انسانی را نشان دهد. تومورهای تشکیل شده باید واجد مسیرهای مولکولی بی تنظیم شده در سرطان و رخدادهای مولکولی کلیدی موجود در سرطان‌های انسانی باشد. در یک مدل ایده آل جهت مطالعات پیشگیری و درمان سرطان، تومورها باید هتروژنیته موجود در سرطان انسانی را نشان دهند و تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت‌های انسانی را شبیه سازی نمایند (۳۲). در این مقاله علاوه بر کاربردهای مختلف مدل‌های موشی در تحقیقات سرطان، انواع آن‌ها و مزایا و معایب هر یک بیان گردید (شکل شماره ۱). با در نظر داشتن تفاوت‌های بین انسان و موش (از جنبه‌های مختلف) و همچنین بسته به هدف تحقیق (بررسی بیولوژی تومور در مراحل اولیه، پیشرفت یا متاستاز و یا بررسی داروهای مختلف و مطالعه فارموکینتیک و فارموژنتیک آن‌ها) هر یک از انواع مدل‌های موشی سرطان (مدل‌های ذاتی، ژنتیکی و زئوگرافت) می توانند مورد استفاده قرار گیرند. در نظر داشتن ویژگی‌های مولکولی، بیان و موتاسیون ژن هدف و دیگر رخدادهای مولکولی پاتولوژیک (۴) و توجه به مزایا و محدودیت‌های هر مدل، ما را به انتخاب مدل صحیح حیوانی در تحقیقات سرطان رهنمون خواهند ساخت (۶۸). ارتقای کیفیت مدل‌های موشی با افزایش کیفیت استفاده از مدل‌های موجود، طراحی و اجرای مناسب و دقیق آزمایشات و سرمایه گذاری در توسعه مدل‌های پیش-بالینی دقیق تر (استفاده از موش‌های انسانی شده و مدل‌های پریماتی) همراه با استفاده از ابزارهای مختلف (هم چون سیستم-فارماکولوژی کمی^{۳۲} و بیومارکرها) و روش‌های تلفیقی برای افزایش ارزش این مطالعات جهت تعمیم نتایج به کارآزمایی‌های بالینی توصیه می شود (۶۹).

³⁰ Non-Human primate

³¹ Shrew

³² Quantitative systems pharmacology



شکل شماره ۱: برخی از مزایا و معایب هریک از مدل‌های موشی مورد استفاده در تحقیقات سرطان. جهت توضیحات تفصیلی موارد ذکر شده و هم‌چنین مطالعه سایر مزایا و معایب به متن رجوع کنید.

References

- Samuels AL, Peeva VK, Papa RA, Firth MJ, Francis RW, Beesley AH, et al. Research article Validation of a mouse xenograft model system for gene expression analysis of human acute lymphoblastic leukaemia. BMC Genomics. 2010; 11: 256.
- Choi SY, Lin D, Gout PW, Collins CC, Xu Y, Wang Y. Lessons from patient-derived xenografts for better in vitro modeling of human cancer. Adv Drug Deliv Rev. 2014; 79-80: 222-237.
- Jacoby E, Chien CD, Fry TJ. Murine models of acute leukemia: important tools in current pediatric leukemia research. Front Oncol. 2014;4 :95.
- Workman P, Aboagye EO, Balkwill F, Balmain A, Bruder G, Chaplin DJ, et al. Guidelines for the welfare and use of animals in cancer research. Bri J Cancer. 2010;102 (11):1555-7157.
- Malaney P, Nicosia SV, Dave V. One mouse, one patient paradigm: New avatars of personalized cancer therapy. Cancer Lett. 2014; 344(1):1-12.
- Watson JD. Molecular biology of the gene. Molecular biology of the gene. 7th ed. New York: WA Benjamin, 2014.
- Lunardi A, Nardella C, Clohessy JG, Pandolfi PP. Of model pets and cancer models: an introduction to mouse

- models of cancer. Cold Spring Harb Protoc. 2014; 2014(1):17-31.
8. Walrath JC, Hawes JJ, Dyke T Van, Reilly KM. Genetically Engineered Mouse Models in Cancer Research. Adv Cancer Res. 2010;106 :113-164.
 9. Anisimov VN, Ukraintseva SV, Yashin AI. Cancer in rodents: does it tell us about cancer in humans? Nat Rev Cancer. 2005;5 (10):807-819.
 10. Bogaards JJ, Bertrand M, Jackson P, Oudshoorn MJ, Weaver RJ, Van Bladeren PJ, et al. Determining the best animal model for human cytochrome P450 activities: a comparison of mouse, rat, rabbit, dog, micropig, monkey and man. Xenobiotica. 2000;30 (12):1131-1152.
 11. Wong NC, Bhadri VA, Maksimovic J, Parkinson-Bates M, Ng J, Craig JM, et al. Stability of gene expression and epigenetic profiles highlights the utility of patient-derived paediatric acute lymphoblastic leukaemia xenografts for investigating molecular mechanisms of drug resistance. BMC Genomics. 2014;15 :416.
 12. van Miltenburg MH, Jonkers J. Using genetically engineered mouse models to validate candidate cancer genes and test new therapeutic approaches. Curr Opin Genet Dev. 2012;22 (1):21-27.
 13. Mendelsohn J, Howley PM, Israel MA, Gray JW, Thompson CB. The Molecular Basis of Cancer: Expert Consult-Online. 3rd ed. Elsevier Health Sciences; 2008.
 14. Cheon DJ, Orsulic S. Mouse models of cancer. Annu Rev Pathol. 2011; 6: 95-119.
 15. Day C, Merlino G, Dyke T. Preclinical Mouse Cancer Models: A Maze of Opportunities and Challenges. Cell. 2015; 163(1):39-53.
 16. Brakebusch C, Pihlajaniemi T. Mouse as a model organism: from animals to cells. Springer Netherland, 2011.
 17. Luch A. Nature and nurture – Lessons from chemical carcinogenesis. Nat Rev Cancer. 2005;5(2):113–125.
 18. Loeb L, Harris C. Advances in chemical carcinogenesis: A historical review and prospective. Cancer Res. 2008; 68(17):6863–6872.
 19. Steele VE, Lubet RA, Moon RC. Preclinical animal models for the development of cancer chemoprevention drugs: Cancer Chemoprevention. Springer, 2005. p. 39-46.
 20. Enker WE, Jacobitz JL. Experimental carcinoma of the colon induced by 1, 2-dimethylhydrazine-diHCl: value as a model of human disease. J Surg Res. 1976; 21(4):291-299.
 21. Justice M, Siracusa L, Stewart A. Technical approaches for mouse models of human disease. Dis Model Mech. 2011(4):305-310.
 22. Torres-Ruiz R, Rodriguez-Perales S. CRISPR-Cas9: A Revolutionary Tool for Cancer Modelling. Int J Mol Sci. 2015; 16(9):22151-2268.
 23. Zender L, Xue W, Zuber J, Semighini C, Krasnitz A, Ma B, et al. An oncogenomics-based in vivo RNAi

- screen identifies tumor suppressors in liver cancer. *Cell*. 2008;135(5):852 – 864.
24. Bric A, Miething C, Bialucha C, Scuoppo C, Zender L, Krasnitz A, et al. Functional identification of tumor suppressor genes through an in vivo RNA interference screen in a mouse lymphoma model. *Cancer Cell*. 2009;16(4):324 – 335.
 25. Hemann M, Fridman J, Zilfou J, Hernando E, Paddison P, Cordon-Cardo C, et al. An epi-allelic series of p53 hypomorphs created by stable RNAi produces distinct tumor phenotypes in vivo. *Nat Genet*. 2003;33(3):396 – 400.
 26. Rudalska R, Dauch D, Longerich T, McJunkin K, Wuestefeld T, Kang T-W, et al. In vivo RNAi screening identifies a mechanism of sorafenib resistance in liver cancer. *Nat Med*. 2014;20(10):1138 – 1146.
 27. Kersten K, Visser K, Miltenburg M, Jonkers J. Genetically engineered mouse models in oncology research and cancer medicine. *EMBO Mol Med*. 2017;9(2):137-153.
 28. Annunziato S, Kas S, Nethe M, Yucel H, Del Bravo J, Pritchard C, et al. Modeling invasive lobular breast carcinoma by CRISPR/Cas9-mediated somatic genome editing of the mammary gland. *Genes Dev*. 2016; 30(12):1470 – 1480.
 29. Maresch R, Mueller S, Veltkamp C, Ollinger R, Friedrich M, Heid I, et al. Multiplexed pancreatic genome engineering and cancer induction by transfection-based CRISPR/Cas9 delivery in mice. *Nat Commun*. 2016;7: 10770.
 30. Heyer J, Kwong LN, Lowe SW, Chin L. Non-germline genetically engineered mouse models for translational cancer research. *Nat Rev Cancer*. 2010;10(7):470-480.
 31. Frese KK, Tuveson DA. Maximizing mouse cancer models. *Nat Rev Cancer*. 2007; 7 (9):645-658.
 32. Le Magnen C, Dutta A, Abate-Shen C. Optimizing mouse models for precision cancer prevention. *Nat Rev Cancer*. 2016; 16(3): 1-10.
 33. Ma Y, Jia Y, Chen L, Ezeogu L, Yu B, Xu N, et al. Weaknesses and Pitfalls of Using Mice and Rats in Cancer Chemoprevention Studies. *J Cancer*. 2015;6 (10):1058-1065.
 34. Richmond A, SU Y. Mouse xenograft models vs GEM models for human cancer therapeutics. *Dis Model Mech*. 2008;1(2-3):77-82.
 35. Becher OJ, Holland EC. Genetically engineered models have advantages over xenografts for preclinical studies. *Cancer Res*. 2006; 66 (7):3355-3359.
 36. Kohnken R, Porcu P, Mishra A. Overview of the Use of Murine Models in Leukemia and Lymphoma Research. *Fron Oncol* 2017;7: 22.
 37. Rahgozar S, Moafi A, Abedi M, Entezar E, Moshtaghian J, Ghaedi K, et al. mRNA expression profile of multidrug resistant genes in acute lymphoblastic leukemia of children, a prognostic value for ABCA3 and

- ABCA2. *Cancer Biol Ther*. 2014;15(1):35–41.
38. Shurtleff SA, Buijs A, Behm FG, Rubnitz JE, Raimondi SC, Hancock ML. TEL/AML1 fusion resulting from a cryptic t(12;21) is the most common genetic lesion in pediatric ALL and defines a subgroup of patients with an excellent prognosis. *Leukemia*. 1995; 9 (12):1985–1989.
39. Fischer M, Schwieger M, Horn S, Niebuhr B, Ford A, Roscher S. Defining the oncogenic function of the TEL/AML1 (ETV6/RUNX1) fusion protein in a mouse model. *Oncogene*. 2005; 24(51):7579–7591.
40. Giovannella B, Yim S, Stehlin J, Williams L. Development of invasive tumors in the “nude” mouse after injection of cultured human melanoma cells. *J Natl Cancer Inst*. 1972(48):1531–1533.
41. Tentler JJ, Tan AC, Weekes CD, Jimeno A, Leong S, Pitts TM, et al. Patient-derived tumour xenografts as models for oncology drug development. *Nat Rev Clin Oncol*. 2012;9(6):338–350.
42. Aparicio S, Hidalgo M, Kung AL. Examining the utility of patient-derived xenograft mouse models. *Nat Rev Cancer*. 2015; 15(15):311–316.
43. Yu L, Baxter P, Voicu H, Gurusiddappa S, Zhao Y, Adesina A, et al. A clinically relevant orthotopic xenograft model of ependymoma that maintains the genomic signature of the primary tumor and preserves cancer stem cells in vivo. *Neuro Oncol*. 2010;12(6):580–594.
44. Bult CJ, Krupke DM, Begley DA, Richardson JE, Neuhauser SB, Sundberg JP, et al. Mouse Tumor Biology (MTB): a database of mouse models for human cancer. *Nucleic Acids Res*. 2015; 43(Database issue):D818–D824.
45. Meyer LH, Debatin KM. Diversity of human leukemia xenograft mouse models: implications for disease biology. *Cancer Res*. 2011; 71 (23):7141–7144.
46. Hollingshead MG, Stockwin LH, Alcoser SY, Newton DL, Orsburn BC, Bonomi CA, et al. Gene expression profiling of 49 human tumor xenografts from in vitro culture through multiple in vivo passages--strategies for data mining in support of therapeutic studies. *BMC Genomics*. 2014; 15:393.
47. Kamel-Reid S, Letarte M, Doedens M, Greaves A, Murdoch B, Grunberger T, et al. Bone marrow from children in relapse with pre-B acute lymphoblastic leukemia proliferates and disseminates rapidly in scid mice. *Blood*. 1991;78 (11):2973–2981.
48. Woiterski J, Ebinger M, Witte KE, Goecke B, Heininger V, Philippek M, et al. Engraftment of low numbers of pediatric acute lymphoid and myeloid leukemias into NOD/SCID/IL2Rγnull mice reflects individual leukemogenicity and highly correlates with clinical outcome. *Int J Cancer*. 2013(133):1547–1556.

49. Harvey S, Muller W. Transgenic Mouse Models—A Seminal Breakthrough in Oncogene Research. *Mouse Models of Cancer: a Laboratory manual*: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2014. p. 17-26.
50. Marx V. Models: stretching the skills of cell lines and mice. *Nat Methods*. 2014;11(6):617-620.
51. de Jong M, Essers J, van Weerden WM. Imaging preclinical tumour models: improving translational power. *Nat Rev Cancer*. 2014; 14 (7):481-493.
52. Folkman J. Antiangiogenesis in cancer therapy-endostatin and its mechanisms of action. *Exp Cell Res*. 2006; 312(5):594-607.
53. Kulke M, Bergsland E, Ryan D, Enzinger P, Lynch T, Zhu AX, et al. Phase II study of recombinant human endostatin in patients with advanced neuroendocrine tumors. *J Clin Oncol*. 2006;24(22):3555-3561.
54. Moschos S, Odoux C, Land S, Agarwala S, Friedland D, Volker K, et al. Endostatin plus interferon-alpha2b therapy for metastatic melanoma: A novel combination of antiangiogenic and immunomodulatory agents. *Melanoma Res*. 2007; 17(17):193-200.
55. Rangarajan A, Weinberg RA. Opinion: Comparative biology of mouse versus human cells: modelling human cancer in mice. *Nat Rev Cancer*. 2003;3(12):952-959.
56. Sharpless NE, DePinho RA. The mighty mouse: genetically engineered mouse models in cancer drug development. *Nat Rev Drug Discov*. 2006; 5(9):1-14.
57. Artandi SE, Chang S, Lee SL, Alson S, Gottlieb GJ, Chin L. Telomere dysfunction promotes non-reciprocal translocations and epithelial cancers in mice. *Nature*. 2000; 406(6796):641-645.
58. Bos PD, Nguyen DX, Massague J. Modeling metastasis in the mouse. *Curr Opin Pharmacol*. 2010;10 (5):571-577.
59. Rampetsreiter P, Casanova E, Eferl R. Genetically modified mouse models of cancer invasion and metastasis. *Drug Discov Today Dis Models*. 2011; 8(2):67-74.
60. Saxena M, Christofori G. Rebuilding cancer metastasis in the mouse. *Mol Oncol*. 2013; 7(2):283-296.
61. Sabolic I, Breljak D, Ljubojevic M, Brzica H. Are mice, rats, and rabbits good models for physiological, pharmacological and toxicological studies in humans? *Periodicum Biologorum*. 2011; 113(1):7-16.
62. Xu D, Peltz G. Can Humanized Mice Predict Drug “Behavior” in Humans? *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2016; 56: 323-338.
63. Olson H, Betton G, Robinson D, Thomas K, Monro A, Kolaja G, et al. Concordance of the toxicity of pharmaceuticals in humans and in animals. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2000; 32(1):56-67.
64. Corchero J, Granvil CP, Akiyama TE, Hayhurst GP, Pimprale S, Feigenbaum

- L. The CYP2D6 humanized mouse: effect of the human CYP2D6 transgene and HNF4a on the disposition of debrisoquine in the mouse. *Mol Pharmacol*. 2001; 60 (6):1260–1267.
65. Granvil CP, Yu AM, Elizondo G, Akiyama TE, Cheung C, Feigenbaum L. Expression of the human CYP3A4 gene in the small intestine of transgenic mice: in vitro metabolism and pharmacokinetics of midazolam. *Drug Metabo Dispos*. 2003; 31(5):548–58.
66. Gonzalez FJ, Yu AM. Cytochrome P450 and xenobiotic receptor humanized mice. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2006; 46:41-64.
67. Xia HJ, Chen CS. Progress of non-human primate animal models of cancers. *Dongwuxue Yanjiu*. 2011; 32 (1):70-80.
68. Abedi M, Rahgozar S. The best animal models in cancer research: Genetically engineered mice or Xenografts (In Persian). *The First National Congress of Animal Models Applications in Experimental Medicine Research*. 2016:144.
69. Denayer T, Stohr T, Van Roy M. Animal models in translational medicine: Validation and prediction. *New Horizons in Translational Medicine*. 2014; 2(1):5-11.