

中国实验动物学会
团体标准

《实验动物 食管癌动物模型制备和评
价技术规范》

编制说明

联 系 人：苗明三

联系电话：13203856889

编制单位：河南中医药大学

时 间：2026 年 7 月 日

中国实验动物学会团体标准

《实验动物 食管癌动物模型制备和评价技术规范》编制说明

（一） 工作简况，包括任务来源、协作单位

食管癌作为我国高发恶性肿瘤之一，河南地区更是食管癌的高发区域，严重威胁当地居民的生命健康。在食管癌的基础研究与创新药物研发过程中，标准化的动物模型是关键支撑平台，其制备方法的规范性、评价指标的统一性直接影响研究结果的科学性、可靠性与可重复性。然而，当前国内食管癌动物模型领域缺乏针对中医药研究特点的专项技术规范，现有通用模型制备与评价标准在中医药干预效果评估的适配性上存在不足，导致中医药防治食管癌的基础研究成果难以高效转化。

（二） 主要工作过程、标准主要起草人及其所做的工作等；

本技术规范的编制严格遵循了标准制定的科学性、规范性、实用性和可操作性原则。团队长期从事食管癌的中医药干预作用研究，在前期工作中发现，现有食管癌动物模型的制备标准不一、方法多样，但普遍存在与临床病症契合度不高、难以系统体现食管癌中西医病因病机特点的问题。为此，起草人系统梳理了国内外常用的大、小鼠食管癌造模方法及其特点，从模型构建、成模判断、病理特征、评价指标及操作注意事项等方面进行了全面总结与归纳。在此基础上，重点分析了不同造模方式与食管癌临床特征之间的吻合程度，并对吻合度较高的模型开展了多轮实验验证与优化，旨在为食管癌研究中动物模型的选择与标准化病理评估提供系统、可靠的依据，并为构建更具临床相关性、病证结合特点突出的食管癌动物模型提供完整的技术思路与理论支撑。

（三） 标准编写背景；

食管癌是全球范围内极具挑战性的恶性肿瘤，在我国尤其在河南、河北、山西等华北地区呈现“高发、高死亡率、低早期诊断率”的流行病学特征。食管鳞癌（ESCC）是主要的组织学类型，目前，由于 ESCC 还没有确定具体的治疗靶点，

化疗和放疗仍然是 ESCC 的标准治疗方法，VEGFR2 拮抗剂和 PD-1/PD-L1 阻滞剂已被批准用于治疗 ESCC，现在 PD-1/PD-L1 阻滞剂是大多数患者的标准临床治疗。然而，对这些疗法的反应是高度异质性的。食管癌的早期筛查、精准治疗及预后改善仍面临诸多瓶颈，而基础研究的突破是推动临床诊疗进步的核心动力，标准化的动物模型则是连接基础研究与临床转化的关键桥梁。从当前研究现状来看，食管癌动物模型已成为探究肿瘤发生机制、筛选靶向药物、验证干预方案的核心工具。现有模型制备方法涵盖化学诱导（如 N-亚硝基化合物诱导大鼠食管癌模型）、基因工程（如 CRISPR/Cas9 构建的食管癌转基因小鼠模型）、移植瘤（如人食管癌组织异种移植 PDX 模型、细胞系移植 CDX 模型）等多种类型，但不同研究机构在模型选择、操作流程、质量控制等方面存在显著差异。此外，部分研究为追求“快速成瘤”，采用与人体食管癌病理进程差异较大的模型（如裸鼠 CDX 模型），现有通用动物模型标准多聚焦于西医肿瘤研究，未能充分适配中医药防治食管癌的独特需求。在此背景下，亟须制定一套兼顾科学性、实用性、伦理合规性与中医药特色的食管癌动物模型制备标准，统一模型制备的技术参数、质量控制指标与伦理规范。为中医药防治食管癌基础研究提供标准化支撑，推动更多创新成果从实验室走向临床，最终助力食管癌诊疗水平的整体提升。基于此，本标准通过对 ESCC 动物模型的体重、生存率以及病理学改变等进行观察，现制定 ESCC 动物模型制备和评价技术规范。

（四） 标准编制原则；

1.科学性 with 临床相关性原则

动物模型的制备与评价需要以疾病的临床表现与病理特征为基础，保证模型的科学与临床相关性。ESCC 的主要临床表现为进行性吞咽困难、胸骨后疼痛或不适感、食物反流与呕吐、进而导致后期的体重减轻与营养不良

本标准主要对 ESCC 动物模型的一般状态观察、体重、生存率、食管表观形态、食管病理学检测、增殖标志物 Ki67 表达情况进行检测并制定了标准，与 ESCC 的临床表现高度一致，保证了模型的科学与临床相关性。

2.可重复性与质量控制原则

可重复性与质量控制是动物模型能否复制与否的关键因素，本标准对 ESCC 病动物模型所使用的动物品系来源进行规定，同时对动物饲养环境、实验操作进行规范。同时，对动物模型的指标变化规定了统计学要求，对 ESCC 动物模型的质量控制进一步做出了保障。

3.动物福利与伦理优先原则

本标准严格遵循实验动物 3R 原则，即替代(Replacement)、减少(Reduction)、优化(Refinement)。针对操作简单、成模率高的模型制备方法，如减少实验动物的使用数量。通过提高实验人员操作技术、优化实验设备、做好麻醉工作等方式提高成模率，减轻实验动物痛苦，避免动物应激的发生。

同时，本标准严格要求所有动物实验必须在所处机构动物伦理委员会的监督之下，同时取得动物实验伦理批号方可进行。

1.模型涵盖范围

本标准依据国内外研究进展对 ESCC 动物模型的主流制备方法进行了规范，目前实验常用的构建 ESCC 模型的方法化学诱导法(如饮水化合物 4-硝基喹啉-1-氧化物，4-NQO、N-亚硝基化合物)、移植瘤法(如细胞系移植、同种移植模型、人源肿瘤组织异种移植)、基因工程模型等方法。

1.1 化学诱导法

1.1.1 4-NQO 诱导的小鼠 ESCC 模型

C57BL/6 小鼠连续饮用 4-NQO，16 周后，换为普通饮水 12 周，推荐浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 。

1.1.2 NMBA 诱导的小鼠 ESCC 模型

大鼠食管癌模型为例，将 NMBA 以 1mg/kg 剂量，在 10 周内皮下注射给予大鼠。

适用场景：适用于研究食管癌发病机制，尤其是探究环境致癌物暴露与肿瘤发生关联。由于能模拟人类食管癌自然发生过程，在评估潜在抗癌药物对食管癌预防及早期干预效果方面优势显著，可用于筛选预防食管癌发生或阻断癌前病变进展的药物，也被用于不同患者化疗方案优化，助力个性化治疗方案制定。

1.2 移植瘤法

1.2.1 细胞系移植（CDX 模型）

人食管癌来源的细胞系（如 EC9706、KYSE150 等），将对数生长期细胞悬液接种至免疫缺陷小鼠（如裸鼠、SCID 小鼠）皮下、原位（食管部位）等。

1.2.2 人源肿瘤组织异种移植（PDX 模型）

取患者新鲜食管癌组织，经处理后移植到免疫缺陷小鼠体内，可选择皮下、肾包膜下、原位移植等方式。

适用场景：CDX 模型因成瘤速度快、操作相对简单，适用于初步药物筛选，快速评估候选药物对食管癌细胞生长抑制、增殖阻滞、诱导凋亡等基本药效学作用。PDX 模型则更贴近患者肿瘤真实情况，用于深入研究肿瘤对药物的反应，包括耐药机制探索，在临床前药物研发中评估药物有效性与安全性，预测临床治疗效果，为临床试验提供更可靠数据参考。

1.3 基因工程模型

运用 CRISPR/Cas9 等基因编辑技术，对小鼠特定基因进行敲除、插入或编辑。例如敲除 P53 基因，该基因对鳞状上皮干细胞或前体细胞增殖关键，敲除后最终促使 Barrett 样细胞群向鳞柱交界细胞转化；构建具有 P120 连环蛋白的小鼠模型，去除该蛋白可致食管鳞癌发生；还有将食管特异性 EB 病毒 L2 启动子与白介素 1-beta 融合，诱导炎症因子微环境，促使 Barrett 食管形成，若小鼠饮水中加入胆酸，或与 P16 肿瘤抑制基因缺失小鼠杂交，可加速食管腺癌发生。

适用场景：适合深入剖析食管癌发生的分子遗传学机制，明确特定基因在食管癌发生、发展、转移等不同阶段的功能及分子信号通路。为开发针对特定基因突变的靶向治疗药物提供精准模型，用于评估靶向药物疗效及作用机制研究，助力精准医疗发展。

2. 模型评价方法与标准

本研究根据食管癌的临床症状对模型小鼠进行一般形态的观察、体重检测、此外实验结束时计算生存率；判断模型成功与否的主要标准为观察食管外观和内

壁整体的表观变化；苏木素-伊红（HE）染色观察食管整体的微观病理变化和细胞增殖标志物 Ki67 的变化情况。成模标准：与对照组小鼠相比，这些指标应该具有明显的差异

成模标准：

食管表观变化：对照组食管长约 3.0cm-4.0cm，食管光滑细长且无突起肿大现象。ESCC 组食管较对照组显著缩短，长约 2.0cm-2.5cm，食管变粗，有突起肿大表现；剖开后对照组食管内侧光滑，无凸起，而 ESCC 组食管内壁有大小不等的白色菜花样凸起。

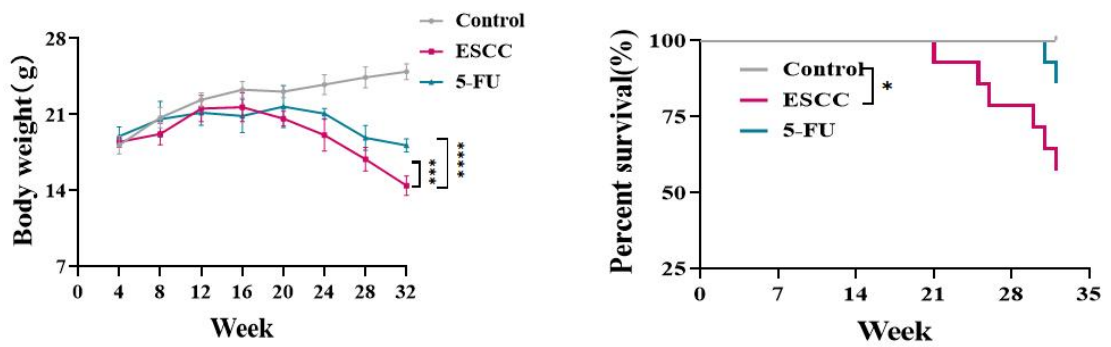
HE 染色：癌细胞已突破基层至粘膜下层，出现弥漫的间质浸润，核分裂活性较高，细胞核深染，部分区可见角化珠形成，间质血管较丰富，可见大量炎细胞浸润。

（六）主要试验（或验证）的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效果；

1.4-NQO 诱导的 ESCC 模型的模型验证及阳性药验证：

1.1 小鼠体重、生存率变化、食管表观变化

造模后，与对照组相比，模型组小鼠体重明显的下降，生存率显著降低，对照组小鼠食管光滑细长且无突起肿大现象，而模型组小鼠食管显著缩短，长约 2.0cm-2.5cm，食管变粗，且有突起肿大表现。见图 1。



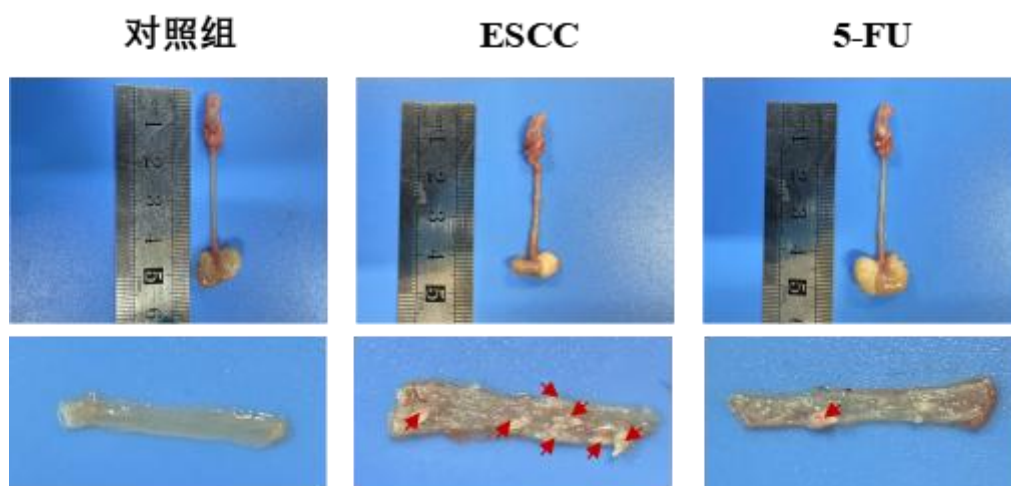


图 1 小鼠体重、生存率变化、食管表观变化

1.2 病理指标

对照组小鼠食管粘膜正常, 包含约 1-3 层基底/基底上层细胞、3-4 层中间层、表层鳞状细胞和角化层, 细胞排列整齐, 视野下无明显异形细胞或病理性核分裂像。造模后, 模型组小鼠食管粘膜形成食管鳞状细胞癌。主要表现为多角形、圆形、梭形的肿瘤细胞无序、紧密排列, 病理性核分裂多见, 形成癌巢。癌细胞已突破基底层至粘膜下层, 出现弥漫的间质浸润, 核分裂活性较高, 细胞核深染, 部分区可见角化珠形成, 间质血管较丰富, 可见大量炎细胞浸润。Ki67 的荧光明显强于对照组见图 2。

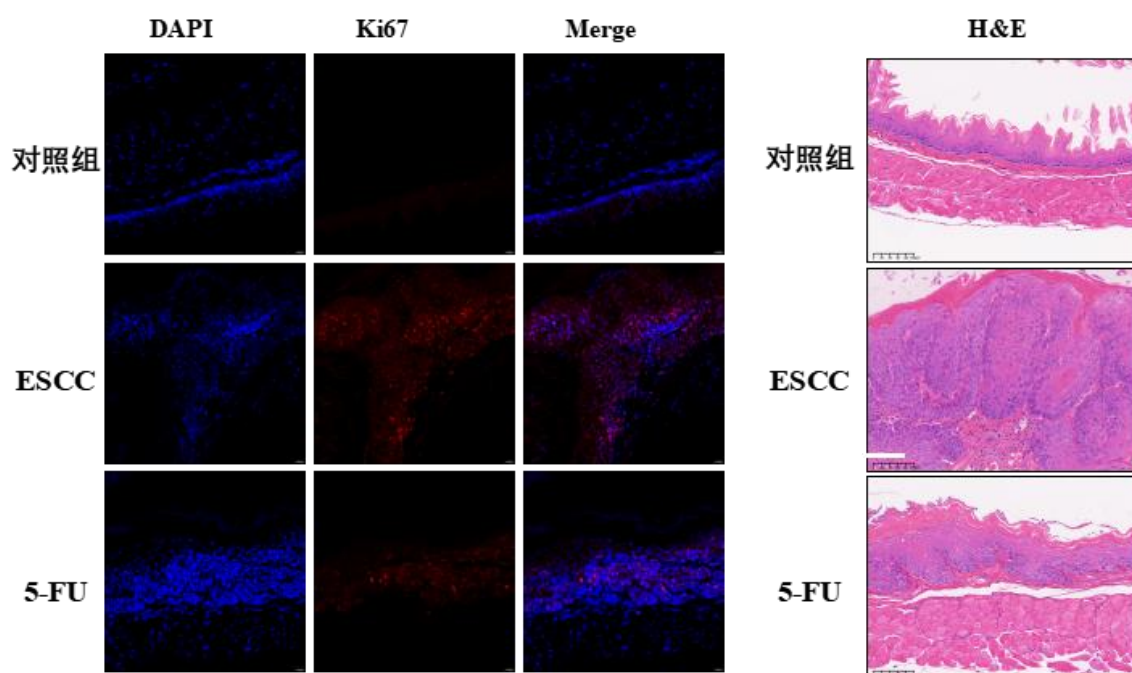


图 2 病理指标验证结果

（七） 采用国际标准和国外先进标准的程度，以及与国际、国外同类标准水平的对比情况，或与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况；

目前国内外尚未发布关于 ESCC 动物模型的标准。本标准依据国内外文献及标准起草人团队大量实验基础制定。

（八） 与有关的现行法律、法规和强制性标准的关系；

与现行法律、法规没有冲突。

（九） 重大分歧意见的处理经过和依据；

无

（十） 标准作为强制性标准或推荐性标准的建议；

推荐性标准

（十一）贯彻标准的要求和措施建议（包括组织措施、技术措施、过渡办法等内容）；

将本标准以期刊论文形式发布，宣传贯彻本标准。中国实验动物学会可以本标准为依据，开展实验动物鉴定和评价相关的标准化工作。

（十二） 废止现行有关标准的建议；

无

（十三） 其他应予说明的事项。

无