

Câncer e modelos experimentais de tumores murinos

Cancer and experimental models of mouse tumor

RIALA6/1312

Claudia PANTALEÃO¹, Adriana LUCHS^{2*}

*Endereço para correspondência: ²Núcleo de Doenças Entéricas, Centro de Virologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil, Av. Dr. Arnaldo, 355 CEP 01246-902, São Paulo/SP, Brasil. Fone: 11 3068-2909. Fax: 11 3085-3505. E-mail: driluchs@gmail.com

¹Departamento de Imunologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Recebido: 04.06.2010 – Aceito para publicação: 10.10.2010

RESUMO

Nos últimos anos, a pesquisa do câncer proporcionou avanços importantes quanto à complexidade de desenvolvimento do tumor, em particular, sobre os mecanismos moleculares que são a base da transformação progressiva de células normais em derivados altamente malignos. A análise molecular do desenvolvimento tumoral em pacientes não é trivial, pois necessita da disponibilidade de biópsias em diversos estágios de transformação. Além disso, os estudos dos processos de metástase, de angiogênese e da resposta imune contra os tumores *in vitro* não mimetizam o que ocorre *in vivo*. Por esta razão, os modelos murinos experimentais de câncer têm desempenhado papel vital na compreensão da tumorigênese e suas relações com o ambiente *in vivo*, em que existe a dificuldade de avaliação de novos métodos diagnósticos e as ações terapêuticas de drogas contra tumores em pacientes. Nesta revisão, são discutidas as abordagens experimentais, técnicas e estratégias utilizadas no estudo de tumores em modelos murinos com ênfase na resposta imune contra o câncer e, ainda, as limitações conceituais e clínicas de cada sistema na sua aplicação no estudo do câncer em humanos.

Palavras-chave. câncer, imunologia, tumor experimental, modelos murinos, tumorigênese, células tumorais.

ABSTRACT

Over the past years, cancer research has gained important insights on the complexity of tumor development, particularly on the molecular mechanisms that underlie the progressive transformation of normal cells into malignant derivatives. The molecular analysis of tumor development in patient is not meaningless, because of the unavailability of biopsies from different tumor transformation stages. Furthermore, studies on metastasis, angiogenesis and the immune response to *in vitro* tumors processes, do not simulate what occur *in vivo*. For this reason, the murine experimental cancer models have played a vital role in understanding the tumorigenesis and its relation with the *in vivo* environment, because it is difficult to assess the novel diagnostic methodologies and the anticancer therapeutic drugs in patients. In the present review, the experimental approach, techniques and strategies used in the study on murine cancer models are considered, emphasizing the immune response against cancer, and also the conceptual and clinical limitations of each system and their applications in the human cancer study.

Key words. cancer, immunology, experimental tumor, murine models, tumorigenesis, tumor cells.

INTRODUÇÃO

Câncer é um nome genérico dado a uma grande variedade de doenças complexas caracterizadas pelo crescimento celular descontrolado. O desenvolvimento do câncer é dependente não apenas de mudanças ocorridas dentro da própria célula transformada, como também de interações entre essas células e o seu microambiente¹. O câncer deriva de alterações genéticas e algumas mudanças fisiológicas na célula são fundamentais para que a doença se manifeste. Dentre essas alterações, Hanahan e Weinberg² enumeram seis que são consideradas essenciais na fisiologia celular e que possibilitam o crescimento tumoral: autossuficiência em sinais de crescimento, insensibilidade a sinais de inibição de crescimento, evasão da apoptose, potencial replicativo ilimitado, manutenção da angiogênese e, finalmente, invasão tecidual e metástase.

De modo geral, os cânceres podem ser classificados em Carcinomas – neoplasias originárias de tecidos epiteliais (epidermóides, quando originado de epitélio; e adenocarcinomas, quando originários de ductos e/ou glândulas), sarcomas (neoplasias originárias de tecidos conjuntivos, de preenchimento ou de sustentação), leucemias (neoplasias originárias de medula) e linfomas (neoplasias originárias de tecidos linfóides)³.

Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) demonstraram em 2005, que de um total de 58 milhões de mortes no mundo, 7,6 milhões (cerca de 13%) ocorreram devido ao câncer e, projeta-se que o número de mortes devido a cânceres continuará crescendo: 9 milhões de mortes em 2015 e 11,4 milhões em 2030. No Brasil, dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA) mostraram uma estimativa de 460 mil novos casos de cânceres, entre homens e mulheres, para os anos de 2008 e 2009³.

Esta revisão resume as abordagens experimentais utilizadas no estudo de tumores em modelos murinos, discute técnicas e estratégias, bem como as limitações conceituais e clínicas dos sistemas em sua aplicação no estudo do câncer humano.

MODELOS EXPERIMENTAIS DE TUMOR

Inúmeros esforços foram empregados nas últimas décadas para a compreensão do processo de tumorigênese. A maior parte do conhecimento a respeito de carcinogênese provém da análise *in vitro* de tecidos tumorais em estágios avançados de desenvolvimento, removidos a partir de pacientes. Essa prática elucidou muitas questões

referentes a mudanças genômicas apresentadas pelas células tumorais, mas pouco contribuiu na obtenção de informações sobre os fatores que influenciam os estágios iniciais do seu desenvolvimento *in vivo*¹.

Vários modelos animais foram desenvolvidos nas últimas décadas, visando elucidar diversas questões referentes ao câncer *in vivo*. A utilização de camundongos como instrumentos de estudos biológicos ocorre de modo intenso, principalmente nas áreas de imunologia, oncologia e genética. Essa prática ocorre por diversas razões, dentre elas, o fato das linhagens de camundongos serem altamente padronizadas, possuírem características conhecidas e monitoradas após várias gerações, além do fato de compartilharem similaridades genéticas e fisiológicas com os humanos, permitindo que múltiplas características da doença sejam estudadas nestes modelos⁴.

Existem critérios fundamentais para que um modelo tumoral murino possa ser utilizado no esclarecimento da tumorigênese: origem e progressão clonal do tumor; evidências da progressão tumoral; patologia e histologia tumoral semelhantes à doença em humanos; possibilidade de estudar aspectos de invasão tecidual e o papel da resposta imune contra tumores; padrões de expressão gênica e a possibilidade de estudo de terapias antitumorais⁴.

Diversos estudos têm utilizado a tecnologia de transfecção de tumores com proteínas fluorescentes para monitorar os tumores *in vivo* e aprimorar o conhecimento da progressão tumoral e metástase^{5,6}. Essas técnicas permitem observar micrometástase *in vivo*, processo que não pode ser detectado por métodos clássicos⁷. Nessa linha, foram publicados trabalhos que avaliaram padrões fisiopatológicos de alguns tumores guiados pela expressão da proteína EGFP (*Enhanced Green Fluorescent Protein*) *in vivo*, tais como os tumores de pulmão⁸, de cérebro⁹, de mama¹⁰ e de carcinoma de cólon¹¹.

Os modelos tumorais murinos transgênicos atuais mimetizam precisamente a sua contraparte humana e, possuem aplicações potenciais nos testes de eficácia de novas terapias anticâncer. Um dos modelos mais promissores de camundongo transgênico deriva de animais construídos para apresentar instabilidade genômica. Esses modelos desenvolvem cânceres semelhantes aos humanos e são utilizados no estudo e compreensão de eventos moleculares que ocorrem nos estágios mais primordiais da tumorigênese *in vivo*¹.

Outros modelos tumorais são desenvolvidos a partir de implantes xenográficos dos tumores humanos

em camundongos imunologicamente comprometidos¹². Dentre os exemplos do uso desses modelos estão o estudo do tratamento hormonal em implantes de linhagens tumorais de mama em camundongos atímicos (*nude*), os quais não apresentam linfócitos T maduros¹³; a criação de uma linhagem altamente tumorigênica e metastática de melanoma humano para o estudo do crescimento, metástase e expressão de moléculas em camundongo atímico¹⁴; e o estudo da destruição óssea causados pela inoculação de mieloma em camundongos SCID (*Severe Combined Immunodeficiency*), os quais não apresentam linfócitos T nem B¹⁵. O uso desses modelos murinos no estudo da eficácia clínica é uma questão importante, já que cada modelo apresenta vantagens e fraquezas inerentes, espelhando o processo extremamente complexo da carcinogênese humana. As diferenças em tamanho e fisiologia, bem como as variações na homologia entre ratos e seres humanos, acarretam em limitações de translação¹². Há duas desvantagens principais no uso desses modelos xenográficos: não permitem o estudo do desenvolvimento tumorigênico e o câncer tratado como uma doença celular isolada e não como o resultado da interação tumor-hospedeiro¹⁶.

O entendimento biológico de que o câncer é uma doença genética e de que o comportamento irregular da célula cancerígena se deve a alterações genéticas e epigenéticas complexas, levou ao desenvolvimento de modelos experimentais mais sofisticados, nos quais camundongos são geneticamente manipulados para expressar ou não determinadas moléculas, tais como a superexpressão de oncogenes ou a inibição de genes supressores tumorais. O papel desempenhado pelos oncogenes e/ou pelos genes supressores tumorais são estudados em modelos animais experimentais, os quais transportam deleções e/ou mutações gênicas, as quais foram inicialmente identificadas em amostras teciduais provenientes de pacientes. A riqueza dos dados gerados, a partir desses modelos sobre as funções biológicas dos genes e das vias de sinalização envolvidas no processo tumoral, permitiu a construção do conceito atual de metástase¹⁷. A superexpressão de oncogenes também está relacionada à indução de tumores. O trabalho de Arbeit et al¹⁸ demonstrou que camundongos modificados e superexpressando os genes E6 e E7 do HPV (*Human Papiloma Vírus*) apresentaram carcinogênese de células neuroepiteliais e tumores cerebrais entre os 4 e 10 meses de idade.

A superexpressão de oncogenes em camundongos geneticamente modificados é uma técnica discutível,

uma vez que não mimetiza os estágios iniciais do desenvolvimento tumoral. Porém, esse fato não exclui a possibilidade de que os eventos moleculares e celulares subsequentes apresentados pelos modelos possam ser importantes para desvendar questões relacionadas à biologia dos tumores. A inibição de genes supressores tumorais também está associada ao surgimento de tumores, sendo considerada menos artificial como modelo experimental, uma vez que o aparecimento da doença em humanos ocorre justamente devido à perda de função destes genes. Um exemplo da utilização desse tipo de modelo experimental está no desenvolvimento de camundongos heterozigotos para o gene *p53*. Esta molécula supressora tumoral tem sido denominada como “guardiã do genoma” devido a sua habilidade em bloquear o ciclo celular de células que sofreram algum tipo de dano no DNA¹⁹ e/ou induzir morte por apoptose. Nestes modelos, o desenvolvimento tumoral ocorre aos 18 meses em camundongos heterozigotos e aos 4 meses e meio nos camundongos deficientes em *p53*²⁰.

Vale ressaltar que as modificações genéticas que levam ao desenvolvimento tumoral, muitas vezes requerem mais de uma alteração, e não somente a expressão de oncogenes ou a perda de função de genes supressores tumorais. A fim de esclarecer essas contribuições foram desenvolvidos modelos murinos que superexpressam ou nocauteiam mais de um gene envolvido no aparecimento da doença. Um exemplo é o trabalho de Johnson et al²¹, o qual desenvolveu linhagens de camundongos que carregam o alelo do gene *K-ras*. Esse gene pode ser ativado por recombinação espontânea em todo o animal e resulta no aparecimento de diversos tumores, entre eles tumores pulmonares. Ao nocautear o gene *p53*, em tumores que possuem a mutação de *K-ras*, os autores caracterizaram um modelo experimental ainda mais agressivo do que o anterior.

Foram desenvolvidos, ainda, modelos murinos experimentais que permitem a expressão de oncogenes de maneira condicional, possibilitando a expressão e a reversão dessa expressão (sistemas *Cre-loxP*, Tet-On). Com esses modelos, descobriu-se que a expressão contínua do gene alterado é necessária para a manutenção do tumor em alguns casos, dando suporte a ideia de que seriam alvos terapêuticos interessantes^{4,22}. A utilização desses modelos também permitiu descobrir que a expressão do gene *Bcr-abl* durante o desenvolvimento do camundongo tem efeito tóxico devido à atividade tirosina-quinase da proteína. Esse efeito pode ser evitado através da expressão condicional do gene *Bcr-abl*, mas somente em células de medula óssea^{23,24}.

VIGILÂNCIA IMUNOLÓGICA CONTRA TUMORES

Segundo Sengupta et al²⁵, o artigo original publicado por Burnet e Thomas em 1957, apresentou a hipótese de que o sistema imune seria capaz de reconhecer e destruir células transformadas. Essa teoria foi chamada de vigilância imunológica (*immunosurveillance*) e acreditava-se que esse processo era um importante mecanismo de proteção do hospedeiro na inibição da carcinogênese e manutenção da homeostase celular. Também foi sugerido que a vigilância imunológica seria a etapa inicial de um processo mais amplo chamado edição imunológica de tumores (*immunoediting*).

A edição imunológica de tumores é a habilidade do sistema imune em controlar e moldar o câncer, sendo esse processo composto por 3 fases: fase de eliminação, fase de equilíbrio e fase de escape. Essas fases podem funcionar de maneira independente ou em sequência. A fase de eliminação é anterior ao aparecimento dos sintomas clínicos. Nessa fase, as células do sistema imune inato reconhecem a presença do tumor em crescimento, o qual gera danos teciduais locais, causados pela remodelagem estromal. Essa remodelagem induz uma resposta inflamatória essencial para o recrutamento das células do sistema imune inato em direção ao sítio do tumoral. Durante esse processo, os linfócitos infiltradores, tais como as células NK (*Natural Killers*), são estimulados a produzir interferon-gama (IFN- γ), o qual induz a morte da célula tumoral^{25,26,27}. Corroborando este conceito, estudos mostraram que deficiências em INF- γ e perforina aumentam a susceptibilidade à tumores induzidos, tanto quimicamente quanto espontâneos²⁶. A participação de células NK também foi demonstrada em estudos utilizando camundongos desprovidos dessa população celular. Os animais deficientes são mais susceptíveis ao aparecimento de tumores induzidos quimicamente em comparação a animais controles²⁶.

Quimiocinas também são produzidas durante a fase de eliminação, as quais exercem um papel importante na progressão tumoral, prevenindo a angiogênese. Ainda na fase de eliminação, células NK e macrófagos são capazes de ativar um ao outro através de uma via recíproca de produção de IFN- γ e interleucina-12 (IL-12). A morte das células tumorais ocorre via apoptose, com produção de oxigênio reativo e intermediários de nitrogênio. Finalmente, as células T CD4+, específicas para tumor, e células T CD8+ se dirigem para o sítio tumoral, onde os linfócitos T citolíticos destroem o antígeno apresentado pelas células tumorais²⁵. Foi demonstrado que tumores

induzidos química ou espontaneamente surgem mais rapidamente e em alta frequência nos camundongos deficientes em linfócitos T e B maduros, quando comparados a animais controles. Dessa forma, os animais que possuem linfócitos parecem estar mais protegidos contra o aparecimento de tumores²⁶.

Desafiando os mecanismos descritos acima e a destruição das células tumorais pelo sistema imune, algumas células cancerígenas são capazes de resistir e sobreviver à pressão exercida pela vigilância imunológica, dando origem a variantes com mutações que conferem resistência ao ataque do sistema imune do hospedeiro, permitindo que o tumor entre na fase de equilíbrio²⁶. As células tumorais resistentes que sobreviveram à fase de eliminação e passaram pela fase de equilíbrio entram na fase de escape²⁵. Nessa fase, as células tumorais continuam a crescer dentro do hospedeiro e a expandir de uma maneira descontrolada, sendo então consideradas células tumorais editadas, os quais podem eventualmente levar a malignidade. Para escapar dessa pressão, alguns tumores perdem a expressão de moléculas de MHC (*Major Histocompatibility Complex*) de classe I e, assim, escapam do ataque dos linfócitos T citotóxicos, os quais são restritos à apresentação de antígenos no contexto do MHC. Outra alteração observada em tumores editados é a secreção de citocinas imunossupressoras que inibem as respostas do hospedeiro²⁶.

Avanços significativos são realizados continuamente no campo da imunologia do câncer e da imunoterapia. Uma melhor compreensão dos mecanismos de escape e daqueles envolvidos na supressão do sistema imune poderá auxiliar no desenvolvimento de protocolos novos e mais eficientes na área da imunoterapia clínica²⁸.

MODELOS MURINOS EXPERIMENTAIS PARA A INVESTIGAÇÃO DA VIGILÂNCIA IMUNOLÓGICA CONTRA TUMORES

O conceito de vigilância imunológica foi proposta há várias décadas, mas só recentemente é que a teoria tem sido rigorosamente examinada. Com o advento das tecnologias de supressão (*knockout*), a vigilância imunológica pôde ser evidenciada em camundongos e humanos. Modelos tumorais murinos de surgimento espontâneos ou quimicamente induzidos têm sido úteis na demonstração de que o sistema imunológico vigia constantemente o aparecimento de células aberrantes e desempenha papel fundamental na prevenção da formação de tumores^{25,26}.

Utilizando linfoma T murino, alguns trabalhos conseguiram elucidar as funções de determinadas células do sistema imune na vigilância imunológica contra tumores. Como demonstrada pela teoria do *missing self*, a qual sugeriu que as células NK são capazes de reconhecer de forma eficiente e, eliminar tumores que não expressam MHC de classe I na superfície celular²⁹. Células tumorais que apresentam esse defeito são frequentemente encontradas em cânceres humanos e são capazes de escapar do reconhecimento pelos linfócitos T citotóxicos, os quais dependem da apresentação de antígenos na molécula MHC de classe I. Contudo, a expressão de antígenos de MHC de classe I em tumores não está necessariamente associada à susceptibilidade ao ataque pelos linfócitos T citotóxicos. Isso pode ocorrer, por exemplo, quando não há peptídeos derivados de antígenos tumorais ligados ao MHC I ou quando há a coexpressão de moléculas imunossupressoras³⁰.

No trabalho de Karre et al²⁹, o estudo sobre o mecanismo de ataque que as células NK desempenham contra tumores foi realizado utilizando-se duas linhagens celulares denominadas RMA e RMA-S. Em 1985, os autores geraram estas linhagens celulares durante o desenvolvimento de um estudo que tinha por objetivo obter estirpes tumorais que não expressavam moléculas de MHC de classe I na superfície celular, a fim de observar os mecanismos de vigilância imunológica no caso de tumores que escapavam ao ataque de linfócitos T citotóxicos. Para tal, os autores induziram mutações genéticas na linhagem celular RBL-5 (linfoma T induzido por vírus Rauscher), sendo, então, selecionada através de exposição, ou não, a anticorpos anti-MHC I e ao sistema complemento. As células que não foram expostas aos anticorpos e ao sistema complemento receberam o nome de RMA e as células que sobreviveram a exposição e que, portanto, foram selecionadas a expressar baixos níveis de MHC de classe I na superfície celular, receberam o nome de RMA-S. Posteriormente, descobriu-se que uma das mutações ocorridas nesta última linhagem era a deficiência da molécula responsável em transportar as proteínas citoplasmáticas para o retículo endoplasmático – TAP 2 (*Transporter Associated with Antigen Processing 2*)^{31,32,33}. A formação do complexo MHC de classe I e peptídeo são iniciados no retículo endoplasmático. O peptídeo degradado é levado do citosol para dentro do retículo endoplasmático pelas moléculas transportadoras, TAP 1 e TAP 2³⁴, que estabilizam a molécula de MHC de classe I ao se ligarem a ela. Após a formação do complexo, este é expresso na superfície celular para que os peptídeos

citosólicos sejam apresentados aos linfócitos T CD8+³⁵ e, com isso, promover o reconhecimento de moléculas próprias ou não próprias do organismo. Com a ausência da molécula TAP 2, os peptídeos citoplasmáticos não são transportados para o interior do retículo endoplasmático e, conseqüentemente, não se ligam a molécula de MHC de classe I, a qual fica instável e não é expressa de maneira adequada na superfície celular. Portanto, a linhagem RMA-S praticamente não expressa esta molécula na superfície celular e, dessa forma, as proteínas citosólicas não podem ser reconhecidas pelos linfócitos T citotóxicos^{31,32,33}.

Sabapathy e Nam³⁶ descreveram outra diferença entre essas duas linhagens celulares, onde a molécula p53, ao invés de se encontrar no compartimento nuclear, se acumula no compartimento citosólico de células RMA-S. Normalmente, quando essa molécula é ativada por sinais de estresse, migra para o núcleo celular, onde se liga a seqüências responsivas no genoma e transcreve inúmeros genes, dentre eles, vários relacionados à indução de morte por apoptose. Por não apresentarem essa translocação de p53 do citosol para o núcleo, as células RMA-S se tornam mais resistentes à indução de morte por apoptose por ambas as vias: extrínseca e/ou intrínseca^{37,38}.

Utilizando-se as duas linhagens tumorais descritas, alguns mecanismos de ação efetora das células NK contra tumores foram elucidados, tais como a importância da IL-12 na imunidade inata e adquirida na supressão de tumores³⁹.

Humblet et al⁴⁰ demonstraram que camundongos irradiados de forma letal desenvolviam linfomas de células do timo após 1 ano. Quando estes animais eram submetidos a um enxerto com células normais de medula óssea após 2 e 10 dias de irradiação, tornavam-se protegidos contra o aparecimento de linfomas. Porém, o mesmo não ocorria se o enxerto fosse realizado após 15 e 30 dias de irradiação. Esses dados demonstraram que as células pré-tumorais sofriam alterações intrínsecas após 15 dias, tornando-se resistentes ao ataque das células de medula óssea enxertada.

CONCLUSÃO

O desenvolvimento de terapias efetivas contra o câncer é um objetivo importante e presente nas ciências biomédicas modernas. O estudo de modelos revela as complexas interações entre as células tumorais e o seu ambiente, onde a progressão tumoral e a metástase são promovidas e moduladas.

O papel de vários genes supressores e oncogenes foram estudados funcionalmente em modelos murinos, e

isso tem permitido abordar novos conceitos e mecanismos subjacentes à doença. Embora muitos camundongos geneticamente modificados sejam gerados, as limitações dos modelos murinos incluem diferenças de componentes moleculares entre as espécies e perfis diferentes de expressão gênica, dificultando a aplicação direta desses conhecimentos no tratamento de pacientes. Porém, o conhecimento acumulado, a partir do estudo de modelos animais, permitiu superar obstáculos e avançar em uma ampla gama técnico-metodológica¹.

Projetos de humanização de camundongos são desenvolvidos com o objetivo de mimetizar um sistema imunológico humano parcial em ratos, e no futuro, esses animais poderão gerar populações de células humanas. Em suma, os modelos murinos caracterizam métodos poderosos para elucidar os mecanismos subjacentes à progressão tumoral e a metástase, além de permitir o desenvolvimento de drogas específicas para o tratamento de pacientes com câncer.

REFERÊNCIAS

1. Conmy S, Nasheuer HP. The use of transgenic mice in cancer and genome stability research. *Subcell Biochem* 2010;50:325-36.
2. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100(1):57-70.
3. Instituto Nacional de Câncer - INCA. Atlas TNM. Classificação de Tumores Malignos. 6ª ed. Springer - Verlag; 2004.
4. Hann B, Balmain A. Building validated mouse models of human cancer. *Curr Opin Biol* 2001;13(6):778-84.
5. Kim HS, Cho HR, Choi SH, Woo JS, Moon WK. In vivo imaging of tumor transduced with bimodal lentiviral vector encoding human ferritin and green fluorescent protein on a 1.5T clinical magnetic resonance scanner. *Cancer Res* 2010;70(18):7315-24.
6. Wei S, Sun Y, Yang Z, Song Y. Establishment of orthotopic lung cancer model expressing enhanced green fluorescent protein. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi* 2010;13(7):670-5.
7. Kaneko K, Yano M, Yamano T, Tsujinaka T, Miki H, Akiyama Y et al. Detection of peritoneal micrometastases of gastric carcinoma with green fluorescent protein and carcinoembryonic antigen promoter. *Cancer Res* 2001;61(14):5570-4.
8. Huang DC, Cory S, Strasser A. Bcl-2, Bcl-XL and adenovirus protein E1B19kD are functionally equivalent in their ability to inhibit cell death. *Oncogene* 1997;14(4):405-14.
9. MacDonald TJ, Tabrizi P, Shimada H, Zlokovic BV, Laug WE. Detection of brain tumor invasion and micrometastasis in vivo by expression of enhanced green fluorescent protein. *Neurosurgery* 1998;43(6):1437-42.
10. Li X, Wang J, An Z, Yang M, Baranov E, Jiang P et al. Optically imageable metastatic model of human breast cancer. *Clin Exp Metastasis* 2002;19(4):347-50.
11. Sturn JW, Keese MA, Petruch B, Bonninghoff RG, Zhang H, Gretz N et al. Enhanced green fluorescent protein-transfection of murine colon carcinoma cells: key for early tumor detection and qualification. *Clin Exp Metastasis* 2003;20(5):395-405.
12. de Jong M, Maina T. Of mice and humans: are they the same? - Implications in cancer translational research. *J Nucl Med* 2010;51(4):501-4.
13. Clarke R. Human breast cancer cell line xenografts as models of breast cancer. The immunobiologies of recipient mice and the characteristics of several tumorigenic cell lines. *Breast Cancer Res Treat* 1996;39(1):69-86.
14. van Muijen GN, Jansen KF, Cornelissen IM, Smeets DF, Beck JL, Ruiter DJ. Establishment and characterization of a human melanoma cell line (MV3) which is highly metastatic in nude mice. *Int J Cancer* 1991;48(1):85-91.
15. Roodman GD. Mechanisms of bone lesions in multiple myeloma and lymphoma. *Cancer* 1997;80(Suppl 8):1557-63.
16. Hillman GG, Singh-Gupta V, Al-Bashir AK, Zhang H, Yunker CK, Patel AD et al. Dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging of sunitinib-induced vascular changes to schedule chemotherapy in renal cell carcinoma xenograft tumors. *Transl Oncol*. 2010;3(5):293-306.
17. Kim IK, Baek SH. Mouse models for breast cancer metastasis. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;394(3):443-7.
18. Arbeit JM, Munger K, Howley PM, Hanahan D. Neuroepithelial carcinomas in mice transgenic with human papillomavirus type 16 E6/E7 ORFs. *Am J Pathol* 1993;142(4):1187-97.
19. Lane DP. Cancer. P53, guardian of the genome. *Nature* 1992;358(6381):15-6.
20. Donehower LA. The p53-deficient mouse: a model for basic and applied cancer studies. *Semin Cancer Biol* 1996;7(5):269-78.
21. Johnson L, Mercer K, Greenbaum D, Bronson RT, Crowley D, Tuveson DA et al. Somatic activation of the K-ras oncogene causes early onset lung cancer in mice. *Nature* 2001;410(6832):1111-6.
22. Resor L, Bowen TJ, Wynshaw-Boris A. Unraveling human cancer in the mouse: recent refinements to modeling and analysis. *Hum Mol Genet* 2001;10(7):669-75.
23. Bernardi R, Grisendi S, Pandolfi PP. Modeling haematopoietic malignancies in the mouse and therapeutic implications. *Oncogene* 2002;21(21):3445-58.
24. Ren R. Modeling the dosage effect of oncogenes in leukemogenesis. *Curr Opin Hematol* 2004;11(1):25-34.
25. Sengupta N, MacFie TS, MacDonald TT, Pennington D, Silver AR. Cancer immunoediting and "spontaneous" tumor regression. *Pathol Res Pract* 2010;206(1):1-8.
26. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting. *Immunity* 2004;21(2):137-48.
27. Malmberg KJ, Ljunggren HG. Escape from immune- and nonimmune-mediated tumor surveillance. *Semin Cancer Biol* 2006;16(1):16-31.
28. Mincheff M. Immunosurveillance and immunoediting - can the immune response be made more "immunodemocratic"? *J BUON* 2010;14(Suppl 1):S89-96.

29. Karre K, Ljunggren HG, Piontek G, Kiessling R. Selective rejection of H-2-deficient lymphoma variants suggests alternative immune defence strategy. *Nature* 1986;319(6055):675-8.
30. Chang CC, Campoli M, Ferrone S. HLA class I antigen expression in malignant cells: why does it not always correlate with CTL-mediated lysis? *Curr Opin Immunol* 2004;16(5):644-50.
31. Powis SJ, Townsend AR, Deverson EV, Bastin J, Butcher GW, Howard JC. Restoration of antigen presentation to the mutant cell line RMA-S by MHC-linked transporter. *Nature* 1991;354(6354):528-31.
32. Attaya M, Jameson S, Martinez CK, Hermel E, Aldrich C, Forman J et al. Ham-2 corrects the class I antigen-processing defect in RMA-S cells. *Nature* 1992;355(6361):647-9.
33. Yang Y, Früh K, Chambers J, Waters JB, Wu L, Spies T et al. Major histocompatibility complex (MHC)-encoded HAM2 is necessary for antigenic peptide loading onto class I MHC molecules. *J Biol Chem* 1992;267(17):11669-72.
34. Kleijmeer MJ, Kelly A, Geuze HJ, Slot JW, Townsend A, Trowsdale J. Location of MHC-encoded transporters in the endoplasmic reticulum and cis-Golgi. *Nature* 1992;357(6376):342-4.
35. Townsend A, Bodmer H. Antigen recognition by class I-restricted T lymphocytes. *Annu Rev Immunol* 1989;7:601-24.
36. Sabapathy K, Nam SY. Defective MHC class I antigen surface expression promotes cellular survival through elevated ER stress and modulation of p53 function. *Cell Death Differ* 2008;15(9):1364-74.
37. Levine AJ, Hu W, Feng Z. The P53 pathway: what questions remain to be explored? *Cell Death Differ* 2006;13(6):1027-36.
38. Aylon Y, Oren M. Living with p53, dying of p53. *Cell* 2007;130(4):597-600.
39. Grufman P, Kärre K. Innate and adaptive immunity to tumors: IL-12 is required for optimal responses. *Eur J Immunol* 2000;30(4):1088-93.
40. Humblet C, Greimers R, Boniver J, Defrense MP. Stages in the development of radiation-induced thymic lymphomas in C57 BL/Ka mice: preleukemic cells become progressively resistant to the tumor preventing effects of a bone marrow graft. *Exp Hematol* 1997;25(2):109-13.