

## 胃癌前病变动物模型研究现状及其评价\*

张泰<sup>1</sup> 胡蓝烁<sup>2</sup> 刘炯<sup>3</sup> 王萍<sup>4</sup> 王凤云<sup>4</sup> 唐旭东<sup>1,4</sup>

**[摘要]** 胃癌前病变是胃癌二级预防的关键。构建操作简单、可控性强、稳定性高的胃癌前病变动物模型是深入研究本病发病机制,开展药物干预研究的基础和前提。本文总结、归纳了常用胃癌前病变动物模型造模方法,包括螺杆菌属感染、化学致癌剂诱导、多因素复合诱导以及基因编辑小鼠模型等,并对各种模型的特征、优缺点以及动物模型评价关键问题做简要评述,为胃癌前病变动物模型的建立和应用提供参考。

**[关键词]** 胃癌前病变;动物模型;模型评价

**DOI:**10.3969/j.issn.1671-038X.2024.05.08

**[中图分类号]** R965.2 **[文献标志码]** A

## Summary and evaluation of animal models for precancerous gastric lesions

ZHANG Tai<sup>1</sup> HU Lanshuo<sup>2</sup> LIU Jiong<sup>3</sup> WANG Ping<sup>4</sup>WANG Fengyun<sup>4</sup> TANG Xudong<sup>1,4</sup>

(<sup>1</sup>Peking University Traditional Chinese Medicine Clinical Medical School[Xiyuan], Beijing, 100091, China; <sup>2</sup>Graduate College, Beijing University of Traditional Chinese Medicine; <sup>3</sup>Department of Pathology, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences; <sup>4</sup>Institute of Digestive Diseases, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences)

Corresponding author: TANG Xudong, E-mail: txedly@sina.com

**Abstract** The development of precancerous lesions in the stomach marks a pivotal juncture for the secondary prevention of gastric cancer. The establishment of animal models for these precancerous conditions, characterized by simplicity of manipulation, robust controllability, and high stability, constitutes the cornerstone for advancing our understanding of the disease's etiology and for pioneering therapeutic interventions. This paper synthesizes and categorizes prevalent methodologies employed in the generation of such animal models, including *Helicobacter* species infection, induction by chemical carcinogens, multifactorial combination inductions, and gene-editing techniques. Additionally, it offers a concise review of the distinct features, advantages, and limitations of each model, alongside a discussion on the critical considerations for evaluating these animal models. The insights provided aim to serve as a comprehensive reference for the conceptualization and utilization of animal models in the study of precancerous gastric lesions.

**Key words** precancerous gastric lesions; animal models; model evaluation

胃癌是威胁人类生命健康的主要恶性肿瘤之一。胃癌是全球第五大常见癌症及第四大癌症死因,大多数胃癌病例发生在亚洲(占75%),中国独占全球胃癌病例的44%;同样,亚洲占据全球75%的胃癌死亡病例,其中中国占比49%<sup>[1]</sup>。因此,我国胃癌新发病例和死亡人数居全球首位,胃癌负担尤为沉重。

肠型胃腺癌占胃癌的绝大多数,与幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)感染相关,并通过经典的Correa演化模型,即非萎缩性胃炎→萎缩性胃炎→肠化生→异型增生→胃腺癌发展而来<sup>[2]</sup>。胃癌前状态(疾病)指非肿瘤性疾病,但具有发展成胃癌的风险,而胃癌前病变指较易转变为浸润性腺癌的病理学变化,前者包括萎缩性胃炎、胃溃疡、胃息肉和残胃,且以萎缩性胃炎最多见,后者指异型增生和Ⅲ型肠化生<sup>[3]</sup>。西方学者常将三者归为广义的胃癌前病变。胃癌前病变的进展程度是胃癌发生的重要风险因素<sup>[4]</sup>。

胃癌的病因和发病机制尚未完全阐明,构建操作简单、稳定性高的胃上皮“炎-癌”转化动物模型是研究胃癌发生机制,对胃癌前病变进行干预性研究的前提和基础。国内外研究最常使用胃癌前病

\*基金项目:提升高水平中医医院临床研究和成果转化能力试点建设项目(No:XYZX0204-03);中国中医科学院科技创新工程创新团队项目(No:CI2021B005);国家中医药管理局国家中医药传承与创新团队项目(No:ZYXCXTD-C-202010)

<sup>1</sup>北京大学中医临床医学院(西苑)(北京,100091)

<sup>2</sup>北京中医药大学研究生院

<sup>3</sup>中国中医科学院西苑医院病理科

<sup>4</sup>中国中医科学院西苑医院脾胃病研究所

通信作者:唐旭东, E-mail: txedly@sina.com

引用本文:张泰,胡蓝烁,刘炯,等.胃癌前病变动物模型研究现状及其评价[J].中国中西医结合消化杂志,2024,32(5):

412-419. DOI:10.3969/j.issn.1671-038X.2024.05.08.

变小鼠模型,通过化学致癌剂,如 N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍 (N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine, MNNG) 和 N-甲基-N-亚硝基脲 (N-Nitroso-N-methylurea, MNU) 以及 Hp 感染等方式来诱导病变的发生,但存在模型稳定性差、成模时间长等不足。近年来,基因编辑技术的快速发展为胃癌前病变小鼠模型的开发提供了新视野。本文将常见胃癌前病变动物模型进行分类总结,分析其优缺点,并对模型评价相关要点进行评述,以期对胃癌前病变动物研究提供参考依据。

## 1 胃癌前病变动物模型概述

### 1.1 螺杆菌属感染模型

1998年 Watanabe 等<sup>[5]</sup>成功报道第1例由 Hp 感染诱导所致胃癌动物模型,经过62周慢性感染,27只蒙古沙鼠中有10只(37%)发展出与人肠型胃癌组织学相似的胃部肿瘤。C57BL/6小鼠对于多种 Hp 菌株具有显著抗性,1990年研究者从猫胃中分离出与 Hp 密切相关的猫胃螺杆菌 (*Helicobacter felis*, Hf),其被证明能有效定植于小鼠腺胃并引起比 Hp 更加严重的黏膜炎症,出现解痉多肽表达化生 (spasmolytic polypeptide expressing metaplasia, SPEM) 和胃体鳞柱交界处沿小弯侧的广泛性异型增生以及胃窦处的息肉样病变,并最终在胃体出现侵袭性肿瘤<sup>[6-8]</sup>。然而该侵袭性病灶为黏膜下囊性病变,即深在性囊性胃炎,恶性潜能较低,因此该模型未能完全复刻出具有侵袭或远处转移能力的肠型腺癌。

1997年 Lee 等<sup>[9]</sup>从十二指肠球部溃疡患者胃黏膜分离出具有细胞毒素相关基因 A (cytotoxin-associated gene A, CagA) 和空泡形成细胞毒素 A (vacuolating cytotoxin A, VacA) 的 Hp SS1 (悉尼菌株),该菌株有效定植于小鼠腺胃,在 C57BL/6 小鼠中实现高水平定植。尽管 SS1 菌株在8个月的感染后会引发慢性活动性胃炎和萎缩,但即使在感染2年后也不会 C57BL/6 野生型小鼠中诱导出胃癌<sup>[9]</sup>。

在 Hf 感染的 C57BL/6 小鼠中进行除菌研究,感染后2个月或晚期6个月进行根除均可促进黏膜炎症消退,壁细胞数量恢复和腺体结构重建,1年后根除可阻断向异型增生的发展<sup>[10]</sup>。在 p27<sup>-/-</sup> 小鼠中,即使已经出现 SPEM,在感染早期(15周)和晚期(45周)进行根除也能有效减少病变的发展。这些研究表明即使在胃癌前病变晚期病理阶段进行 Hp 根除治疗仍然有助于降低胃癌的发生<sup>[11]</sup>。

### 1.2 化学致癌物或饮食诱导模型

1966年, Schoental 等<sup>[12]</sup>成功报道了 MNNG 可高效诱导出大鼠胃腺癌,随后有研究者发现, MNNG 最常诱发大鼠前胃鳞状细胞癌,而仅发生

胃腺癌<sup>[13-14]</sup>。400 ppm MNNG 自由饮用处理蒙古沙鼠50周,胃腺癌发生率可达到64%<sup>[15]</sup>。

随后研究者运用 MNU 进行小鼠胃腺癌诱发实验,发现比 MNNG 更为有效。但发现每周通过胃管给予 Balb/c 小鼠 0.5 mg MNU 可导致小鼠发生前胃鳞状细胞癌而过早死亡,在 MNU 干预前,通过手术去除小鼠前胃,至40周小鼠胃腺癌发生率达到100%<sup>[16]</sup>。因此,尽管小鼠腺胃对 MNU 较为敏感,但前胃对 MNU 的更高敏感性导致前胃鳞状细胞癌相关死亡妨碍了对于胃腺癌的进一步观察。

学者们通过反复实验发现通过低剂量(30~120 ppm) MNU 自由饮用可有效地诱导胃腺癌发生而不诱发前胃肿瘤,并证明胃腺癌的诱导效率取决于 MNU 的浓度而非总量,最终建立了每2周一次、连续5周使用240 ppm MNU 自由饮用的 MNU 诱导小鼠胃腺癌发生的标准方案<sup>[17-18]</sup>。与 Hp 慢性感染导致的 Correa 模型不同, MNNG、MNU 所致胃癌并不经历萎缩→化生→异型增生各阶段。

高盐和腌制饮食是胃癌发生的高危因素,高浓度 NaCl 摄入会降低胃黏蛋白黏度,损伤胃黏膜屏障<sup>[19]</sup>。长期高盐饮食引起蒙古沙鼠和 C57BL/6 小鼠萎缩性胃炎,但不导致肿瘤的发生<sup>[20-22]</sup>。当 NaCl 与 MNNG 或硝基喹啉-1-氧化物共同给药时可促进大鼠胃癌发生,呈现剂量依赖性<sup>[23-25]</sup>。高盐饮食联合 Hp SS1 感染可导致 C57BL/6 小鼠更为显著的萎缩和上皮增生,此外高盐饮食也增加了 MNU 处理的小鼠胃肿瘤的发生<sup>[21,26]</sup>。因此,单独高盐摄入不会诱发胃癌,多与其他因素协同致癌,增加胃癌发生的风险。

MNU 小鼠致癌模型被广泛用于研究胃癌发生中的各种信号通路的作用,包括 p53、核因子- $\kappa$ B、丝裂原活化蛋白激酶通路、 $\beta$ -连环蛋白等<sup>[27-30]</sup>,然而化学致癌物模型也存在不足,比如癌肿出现时间、部位、数量和大小不确定,以及癌肿具有较大的遗传异质性。

### 1.3 螺杆菌属感染、化学致癌物、饮食等多因素复合诱导模型

单因素造模法干预措施单一,成模时间长,与萎缩性胃炎及其癌前病变是多因素参与的复杂疾病的观点并不完全契合。因此学者们尝试在 MNU 和 MNNG 基础上叠加其他致癌因素进行复合诱导,以更加贴近、模拟人类的致病过程。

Takahashi 等<sup>[25]</sup>使用了不同浓度的 NaCl 溶液(10%、5%、2.5%和0%)与100 ppm MNNG 共同处理大鼠,表明10%和5%的 NaCl 显著增加了 MNNG 所致的腺癌和腺瘤发生,尽管2.5%的 NaCl 也显示了增加肿瘤发生的趋势,但差异无统

计学意义。MNNG 叠加 NaCl 溶液所致病变主要分布在胃幽门和贲门区,包括腺瘤和腺癌,其中腺癌可侵入胃壁较深层,但未发现转移。Yin 等<sup>[31]</sup>通过初期第 0 天和第 14 天以每只大鼠 200 mg/kg 进行 MNNG 灌胃给药;之后,以 600  $\mu$ g/kg 剂量灌胃给药,隔日 1 次。期间叠加饱和 NaCl 溶液,前 3 周,3 次/周,1 mL/次;第 5 周开始,与 MNNG 交替给药,隔日 1 次,1 mL/次。于 25 周后观察到轻度胃萎缩,35 周后成功诱导出肠化生。

Nakamura 等<sup>[32]</sup>每周交替给予小鼠 200 ppm MNU,为期 5 周;此外,使用 Hp SS1 菌株进行口服接种感染,3 次/周。结果表明,与仅接受 MNU 处理的小鼠相比,MNU 叠加 Hp 感染的小鼠中息肉样病变与腺瘤性增生的发生率降低,说明 Hp 感染并没有增强 MNU 的致癌性,反而表现出了一定的抑制作用。Toyoda 等<sup>[26]</sup>给予小鼠每周交替自由饮用 120 ppm MNU,叠加 10% NaCl 高盐饮食,干预 5 周;并每隔一周通过胃内接种方式使小鼠接受 Hp 感染,共 7 次。至 40 周时,100% 的小鼠发生了胃窦肿瘤,其中 88.8% 为腺癌,肿瘤的平均数目为每只小鼠 2.6 个。而仅接受 MNU 处理小鼠中,61.9% 发生了肿瘤,主要为腺癌,肿瘤的平均数目为每只小鼠 0.9 个。MNU 叠加 10% NaCl 高盐饮食小鼠中 50% 可见胃部肿瘤,其中 42.9% 为腺癌,肿瘤的平均数目为每只小鼠 1.0 个。MNU 叠加 Hp 处理组 100% 出现了腺瘤或腺癌,肿瘤的平均数目为每只小鼠 3.3 个。该研究表明 Hp 感染和(或)高盐饮食协同作用能显著提高 MNU 的致瘤率。但对于联用 Hp 能否促进 MNU 造模的胃癌发生存在一定争议。

#### 1.4 化学损伤剂诱导模型

急性药物模型包括 DMP-777、L635 和大剂量他莫昔芬。DMP-777 是壁细胞分泌膜的质子载体,通过抑制氨基嘧啶的积累来抑制壁细胞的酸分泌。DMP-777 处理 3 d 内迅速导致壁细胞的丢失,连续使用 10~14 d 后诱导 SPEM 的发生。DMP-777 停药后的 7~14 d 后,所有病变完全逆转<sup>[33]</sup>。L635 与 DMP-777 结构相似,但缺乏对中性粒细胞弹性酶的抑制作用,因此 L635 在诱导壁细胞丢失时伴随着显著的炎症<sup>[34]</sup>。高剂量他莫昔芬作为壁细胞质子载体,导致酸回流至壁细胞而引发壁细胞死亡。连续 3 d 每天给予 5 mg 全乳他莫昔芬可使壁细胞数量减少 90%;高剂量他莫昔芬(5 mg/20 g 小鼠)处理小鼠在 3 d 内出现 SPEM,停药 2~3 周后病变发生逆转,因此高剂量他莫昔芬诱导病变与 DMP-777 类似<sup>[35-36]</sup>。

#### 1.5 基因编辑小鼠模型

目前国内外广泛使用基因编辑小鼠模型,通过对特定炎症因子或通路中蛋白异常表达,以及对癌

基因或抑癌基因进行突变等方式,可以更好地模拟胃癌的发生模式,并解析特定基因及其信号通路在胃癌前病变发生、发展中的作用。相比螺杆菌属感染、化学致癌物诱导模型,基因编辑小鼠模型具有成模时间可控,病变同步性发展等优势。

**1.5.1 胃泌素相关模型** Zavros 等<sup>[37]</sup>构建胃泌素缺乏(GAS<sup>-/-</sup>)小鼠,发现自发出现胃炎、萎缩、肠化生和癌变的过程,小鼠在 12 个月时胃窦出现肿瘤并发生黏膜下侵袭,然而没有出现远处转移。DMP-777 干预野生型小鼠 SPEM 出现至少需要 10 d,研究发现 DMP-777 干预的 GAS<sup>-/-</sup>小鼠在 1~3 d 内即可出现 SPEM<sup>[38]</sup>。后续研究通过在不同基因背景小鼠中运用 MNU 诱导胃癌发生对比分析发现 GAS<sup>-/-</sup>小鼠在 MNU 处理后表现出更强的胃癌易感性,而胃泌素过表达的小鼠对 MNU 出现抵抗性,因此胃泌素能够抑制 MNU 诱导的胃泌素依赖性胃腺癌的发生和发展,这与胃泌素能够调节三叶因子 1(trefoil factor 1, TFF1)基因沉默和表观遗传改变有关<sup>[39]</sup>。

另有学者通过在小鼠胰岛  $\beta$  细胞中表达人胃泌素基因,导致胃泌素水平升高,成功构建高胃泌素血症模型(INS-GAS),发现早期(1~4 个月)胃泌素轻微升高,胃酸分泌水平和壁细胞数量增加;晚期( $\geq 5$  个月)时胃泌素显著增加,壁细胞数量下降,胃酸分泌减少;至 20 个月时,小鼠出现胃萎缩、肠化生、异型增生和侵袭性胃癌,但没有明显的转移<sup>[37]</sup>。

**1.5.2 炎症递质诱导相关模型** Tu 等<sup>[40]</sup>通过在小鼠胃壁细胞中特异性表达人类白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1  $\beta$ , IL-1 $\beta$ )建立 IL-1 $\beta$  高表达转基因小鼠模型,超过 70% 的 1 周龄以上小鼠发生胃体黏膜萎缩、肠化生和异型增生,30% 小鼠最终发展为高级别异型增生或胃腺癌,但没有发生黏膜下层侵袭。通过在小鼠胃壁细胞中过表达鼠干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ),发现胃窦和胃体发生显著的炎症浸润,壁细胞和主细胞数量显著减少,被 SPEM 细胞代替,胃体最终出现异型增生,以及部分胃窦出现息肉和腺瘤<sup>[41]</sup>。Oshima 等<sup>[42]</sup>通过系列研究构建了在细胞角蛋白 19(cytokeratin 19, K19)基因的启动子驱动下同时表达环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)和微粒体前列腺素 E 合成酶-1(microsomal prostaglandin E synthase-1, mPGES-1)的转基因小鼠(K19-C2mE),发现腺体底部和颈部细胞增殖率增加,48 周龄时近端腺胃出现大的肿瘤性生长,组织病理学表现为由阿尔新蓝阳性黏液细胞和其他类型的分化上皮细胞组成的良性化生增生。研究者又通过构建 K19-Wnt1 转基因小鼠,在胃黏膜中表达 Wnt1。然后,将 K19-Wnt1 小鼠与 K19-C2mE 杂交,生成了 K19-Wnt1/C2mE 复

合转基因小鼠,发现小鼠在5周龄时出现 SPEM;10周龄时,在化生区域发现了不规则分支的增殖细胞,这些细胞具有异型增生的特点;20周龄时,异型增生细胞增多,形成更明显的肿瘤样组织;30周龄时,异型增生区域扩大,出现了癌细胞,该复合转基因小鼠发生的肿瘤具有局部浸润能力可向肌层侵犯<sup>[43]</sup>。Leung 等<sup>[44]</sup>通过构建 COX-2 高表达转基因小鼠模型,发现在50周时转基因小鼠并未发生胃癌;在经过 MNU 处理组中 25% 的野生型小鼠发生胃癌,而 MNU 处理的转基因鼠胃癌发生率高达 47.5%。Nguyen 等<sup>[45]</sup>通过使转基因小鼠表达特异性针对胃壁细胞特有抗原:氢/钾 ATP 酶的 CD4 阳性 T 细胞,模拟自身免疫性胃炎的过程,该模型展现了与人类胃癌发展相似的几个病理阶段:慢性胃炎、壁细胞萎缩、颈黏液细胞增生、SPEM、异型增生。上述阶段从 2~4 个月龄陆续出现,到 12 个月龄时,所有小鼠均发展为高级别异型增生。

**1.5.3 癌基因突变模型** Okumura 等<sup>[46]</sup>通过在 K19 基因启动子下游引入突变型人类 Kirsten 大鼠肉瘤病毒相关癌基因同源体(K-ras)(Val 12),该突变型 K-ras 基因第 12 位氨基酸由正常的鸟氨酸替换为缬氨酸从而导致 Kras 蛋白持续激活,发现小鼠在3个月时出现 SPEM,至20个月时进展为高级别异型增生和侵袭性黏膜内癌,病变主要在窦体交界处。Thiem 等<sup>[47]</sup>通过使用 Tff1-雌激素受体 T2 融合的 Cre 重组酶(Cre recombinase estrogen receptor T2,CreERT2)转基因模型,在胃上皮的干/祖细胞中导入致癌基因突变(KRAS(G12D)或 BRAF(V600E)),发现9个月内小鼠胃窦部出现较大的腺瘤。Till 等<sup>[48]</sup>通过在胃壁细胞中引入 Kras(G12D)、E-钙黏蛋白(E-cadherin, Cdh1)和肿瘤蛋白 53(tumor protein p53, p53)失活,发现第3周开始小鼠丧失壁细胞,并显示出高级别异型增生和(或)黏膜内癌;6周时,40%的小鼠出现侵袭性癌;9周龄时,100%的小鼠出现侵袭性癌;并且肿瘤具有广泛的转移能力,包括淋巴结、肺和肝脏的转移。Choi 等<sup>[49]</sup>通过在小鼠胃主细胞中表达 Kras(G12D)发现1个月后发现 SPEM;3~4个月后再进一步进展为肠化生,4个月时 13%的小鼠出现了侵袭性病变。

**1.5.4 抑癌基因突变模型** Ito 等<sup>[50]</sup>通过构建矮小相关转录因子 3(Runt-related transcription factor 3, Runx3)基因缺失小鼠模型,发现小鼠相继出现 SPEM、肠化生, MNU 干预可加速发展成为胃腺癌。Kuzushita 等<sup>[51]</sup>构建缺失细胞周期依赖性激酶抑制因子 p27kip1(p27<sup>-/-</sup>)小鼠模型,并感染 Hp SS1,发现 p27<sup>-/-</sup>小鼠感染后 30 周时,40%的小鼠发展为肠化生;45 周时,比例上升至 67%;60 周后,12 只中有 7 只出现显著的异型增生和胃癌。

Costa 等<sup>[52]</sup>通过构建上游刺激因子(upstream stimulatory factor 1, USF1)缺失模型,并感染 Hp 发现小鼠出现萎缩、肠化生、异型增生等癌前病变。

**1.5.5 腺体细胞损伤模型** Suzuki 等<sup>[53]</sup>构建了胃特异性钳形蛋白 18(Claudin-18, Cldn18)基因敲除小鼠模型,发现出生后第 3 天,胃体胃酸分泌增加,出现 SPEM;40 周龄时发展为慢性活动性胃炎;60~100 周时有 20%~30%的小鼠进展为胃肿瘤。Nam 等<sup>[54]</sup>构建缺乏双调蛋白基因缺失小鼠模型,发现小鼠在 10 个月大时开始出现 SPEM,18 个月大时,超过 70%小鼠出现 SPEM,42%出现肠化生,28%在胃底部进展为侵袭性病变。Liu 等<sup>[55]</sup>分别构建全身性和壁细胞溶质载体家族 26 成员 9(solute carrier family 26 member 9, Slc26a9)基因敲除小鼠模型,发现全身性敲除模型自出生后 1 个月起观察到壁细胞丢失,2 个月时观察到胃黏膜萎缩,6 个月时观察到 SPEM 和肠化生,18 个月时在胃体发现高级别上皮内瘤变和中分化胃癌;类似地,壁细胞敲除小鼠在出生后 1 个月开始出现壁细胞丢失,6 个月时观察到 SPEM,14 个月时观察到高级别上皮内瘤变,18 个月时观察到低分化癌。Katsha 等<sup>[56]</sup>使用 Tff1 基因敲除小鼠模型发现小鼠从 8 周龄开始出现胃窦部炎症,16 周时约一半小鼠发展为低级别异型增生,12 个月时超过一半小鼠有高级别异型增生,部分小鼠进展成黏膜下层的侵袭性腺癌。Keeley 等<sup>[57]</sup>构建亨廷顿蛋白相互作用蛋白 1 缺陷小鼠模型,发现小鼠从出生后早期开始壁细胞凋亡,随后在 5 周时出现 SPEM,上述病变随着年龄的增长而加剧。Zeng 等<sup>[58]</sup>构建壁细胞特异性视黄酸-干扰素诱导死亡相关的基因 19 缺失小鼠模型,发现 8~10 周陆续出现 SPEM 和肠化生,但未报道最终是否出现异型增生或癌。

**1.5.6 信号通路失调模型** Zuo 等<sup>[59]</sup>通过在小鼠胃中的绒毛表达细胞中过表达过氧化物酶体增殖物激活受体  $\delta$ (peroxisome proliferator-activated receptor  $\delta$ , PPAR $\delta$ )研究 PPAR $\delta$  在胃癌发生中的作用,发现小鼠在 10 周时出现 SPEM 和肠化生,25 周发生低级别异型增生,35 周出现高级别异型增生,最终在 55 周发展成侵袭性腺癌,病变主要位于胃体,尤其是胃小弯处,最终扩展至整个胃体。Judd 等<sup>[60]</sup>通过建立白细胞介素(IL)-6 家族辅助受体糖蛋白 130(glycoprotein 130, gp130)上含 Src 同源 2 结构域的蛋白酪氨酸磷酸酶 2 结合位点缺失小鼠模型,导致信号转导和转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT 3)活性增强。小鼠 4 周龄时开始出现以炎症和溃疡为特征的增生性胃窦肿瘤,20 周时肿瘤达到最大,30 周后出现胃黏膜萎缩、肠化生、异型增生和黏膜下侵犯等病理变化。主要病变发生在胃窦,但

随着病程的发展,病变也扩展到胃体部。Nam 等<sup>[61]</sup>构建 SMAD 家族成员基因(SMAD family member, Smad)3<sup>-/-</sup>小鼠模型,发现 6 个月时小鼠出现胃腺瘤和 SPEM,病变从胃小弯的远端贲门/腺体过渡区发展;10 个月时在胃壁肌层中观察到众多囊性结构,表明发展为侵袭性胃腺瘤。髓样分化初级反应蛋白 88(myeloid differentiation primary response 88, MyD88)是炎症途径中的关键适配分子,参与 IL-1/IL-18/类饱和受体信号传导,Banerjee 等<sup>[62]</sup>构建 MyD88 缺失小鼠模型并进行 Hf 感染处理,发现小鼠在感染后 25 周和 47 周后分别显示出胃黏膜萎缩、肠化生、异型增生等病变。Neumeyer 等<sup>[63]</sup>通过在小鼠环指蛋白 43(ring finger protein 43, RNF43)基因中引入两点突变(H292R/H295R)以增强 Wnt 信号通路传导,发现该小鼠感染 Hp PMSS1 6 个月后比未感染组显示出更严重的胃黏膜炎症、萎缩和肠化生。

### 1.5.7 特定腺体细胞中多基因突变或缺失模型

Douchi 等<sup>[64]</sup>研究胃腺体中胃蛋白酶原 C(pepsinogen C, Pgc)阳性细胞在胃癌发生中的作用,通过构建转基因小鼠模型(Pgc-CreERT2)并基于该模型引入 Kras(G12D)、腺瘤性息肉病基因(adenomatous polyposis coli, APC)<sup>flox/flox</sup> 以及 p53<sup>flox/flox</sup> 等基因突变,发现 Pgc-CreERT2;Kras<sup>G12D/+</sup>小鼠 3 个月后发现 SPEM; Pgc-CreERT2; Kras<sup>G12D/+</sup>; Apc<sup>flox/flox</sup> 小鼠 9 个月发生黏膜内异型增生/癌; Pgc-CreERT2; Kras<sup>G12D/+</sup>; Apc<sup>flox/flox</sup>; p53<sup>flox/flox</sup> 小鼠 9 个月发生侵袭性癌和淋巴结和膈肌的转移。Seidlitz 等<sup>[65]</sup>基于附脂蛋白 A10(annexin A10, Anxa10)构建胃上皮特异性转基因小鼠模型(Anxa10-CreERT2),并引入 Kras<sup>G12D/+</sup>、p53<sup>R172H/+</sup>、Smad4<sup>flox/flox</sup> 突变,发现小鼠 3 周时出现异型增生,2~8 周发展为 T<sub>1</sub>/T<sub>2</sub> 癌,8~10 周进展为 T<sub>3</sub>/T<sub>4</sub> 癌,10 周起发生肝和肺转移。Li 等<sup>[66]</sup>在小鼠胃中富含亮氨酸重复序列的 G 蛋白偶联受体(leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor, Lgr)5<sup>+</sup>干细胞中诱导 Smad4 和磷酸酶和张力蛋白同系物(phosphatase and tensin homolog, PTEN)失活,发现胃窦 Lgr5<sup>+</sup>干细胞能够迅速发展成腺瘤直至侵袭性黏膜内癌,部分癌细胞能够侵入肌层,病变部位主要是胃窦区域及窦体交界处。Hayakawa 等<sup>[67]</sup>利用肌肉、肠道和胃表达 1(muscle, intestine, and stomach expression 1, Mist1)-CreERT2 小鼠模型在 Mist1 阳性胃干细胞中引入如 Kras 激活、Apc 失活等基因突变,发现单独 Kras 激活模型导致峡部干细胞快速分裂,并形成异型增生灶,其中包含肠化生细胞;同时激活 Kras 基因并失活 Apc 基因,发现小鼠在 4 个月内发展为肠型胃癌,这表明在 Kras 诱导的肠化生存

的条件下,Apc 的进一步失活可促使干细胞向肠型胃癌发展。Fang 等<sup>[68]</sup>通过在壁细胞中敲除肝激酶 B1 和 PTEN,发现小鼠在平均 20 周后开始出现胃部高增生性息肉,在 40 周后进展为腺癌,导致小鼠死亡,病变出现在胃体、窦部,并向十二指肠侵袭。

## 2 胃癌前病变动物模型评价

### 2.1 模型评价方法

国内多数研究参照新悉尼系统的直观模拟评分法进行病理组织学诊断,但鼠类胃部病变和人类不同,可参考《小鼠模型中胃炎和胃癌的组织学评分》进行半定量评分。此外,鼠类腺体结构异型性比细胞异型性能更好反映异型增生的程度,只有明确的黏膜肌层浸润并突破到黏膜下层才是浸润性癌的重要标志<sup>[69]</sup>。

### 2.2 模型成功评价节点

多数研究以化生性病变的发生表明造模成功,并未报道最终是否可以进展为具有侵袭、远处转移能力的肠型胃癌。若无法出现具有侵袭和远处转移能力的肠型胃癌,提示该化生组织可能并非真正具有恶性转化潜能的癌前病变。因此,模型的评价应涵盖从非萎缩性胃炎到癌形成的全过程,把握不同病理阶段的成模时点,能否构建出具有肿瘤性生长特点的异型增生和具有侵袭或远处转移的肠型腺癌是模型动物构建中的关键问题。

## 3 小结

构建操作简单、可控性强、稳定性高的胃癌前病变动物模型是研究胃癌发生机制和实现胃癌二级预防干预性实验研究的重要前提。目前动物模型包括螺杆菌属感染、化学致癌物等单因素和多因素复合模型以及基因编辑小鼠模型。

动物模型建立成功的关键是复刻出人组织病理表现。螺杆菌属感染模型采用 Hp 难以成功定植小鼠胃腺体引发病变,只有蒙古沙鼠 Hp 感染模型和 Hf 感染小鼠模型能出现类似人的胃上皮“炎-癌”转化病理进程,但不同组别和批次成模效率差异大,最终无法诱导出侵袭性、转移性腺癌,因而具有一定缺陷。化学致癌物常采用 MNNG 和 MNU 进行诱导,但造模周期长,且二者单独使用均无法诱导出化生性病变。此外,螺杆菌属感染、化学致癌物以及饮食诱导(高盐饮食、胆汁酸刺激等)中不同因素的复合联用造模可加快成瘤速度和成瘤率,但对于各关键病理阶段缺乏准确的成模时间点评估,尚不清楚能否出现化生性病变、具有侵袭或远处转移的肠型胃癌。

近年来,基因编辑技术被广泛用于构建各种基因修饰疾病动物模型,极大促进了胃癌前病变动物模型的发展,丰富了对宿主基因、遗传易感性、炎症因素等在胃癌发生过程中的理解和认识,通过在分

子水平上对单基因或多基因进行修饰,多数基因编辑小鼠模型可成功复刻出 Correa 模型各病理阶段,出现高风险癌前病变(累及胃窦、胃体),并发生肿瘤血管侵袭和远处转移,因此更贴近人肠型胃癌的发生特点,有望成为胃癌前病变和胃癌研究的主流模式工具。但全身性基因编辑小鼠由于胃外病变的产生导致动物早死,阻碍了对胃部病理进展的全程观察,因此建议采用特异性靶向胃体或胃窦部上皮细胞的基因编辑小鼠模型,可联合螺杆菌属感染、化学致癌物诱导等方法更加明晰胃上皮“炎-癌”转化的起始事件或异型增生/癌的起源细胞,并更好地模拟人胃上皮“炎-癌”转化病理进程,筛选出真正具有恶性转化潜能的癌前病变,为解析胃癌发生机制以及后续药物药效学和机制研究奠定基础。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] Tan P, Yeoh KG. Genetics and molecular pathogenesis of gastric adenocarcinoma [J]. *Gastroenterology*, 2015, 149(5): 1153-1162. e3.
- [3] Morson BC, Sobin LH, Grundmann E, et al. Precancerous conditions and epithelial dysplasia in the stomach [J]. *J Clin Pathol*, 1980, 33(8): 711-721.
- [4] Song H, Ekhedden IG, Zheng ZL, et al. Incidence of gastric cancer among patients with gastric precancerous lesions: observational cohort study in a low risk Western population [J]. *BMJ*, 2015, 351: h3867.
- [5] Watanabe T, Tada M, Nagai H, et al. *Helicobacter pylori* infection induces gastric cancer in Mongolian gerbils [J]. *Gastroenterology*, 1998, 115(3): 642-648.
- [6] Lee A, Fox JG, Otto G, et al. A small animal model of human *Helicobacter pylori* active chronic gastritis [J]. *Gastroenterology*, 1990, 99(5): 1315-1323.
- [7] Wang TC, Goldenring JR, Dangler C, et al. Mice lacking secretory phospholipase A2 show altered apoptosis and differentiation with *Helicobacter felis* infection [J]. *Gastroenterology*, 1998, 114(4): 675-689.
- [8] Fox JG, Sheppard BJ, Dangler CA, et al. Germ-line p53-targeted disruption inhibits helicobacter-induced premalignant lesions and invasive gastric carcinoma through down-regulation of Th1 proinflammatory responses [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(3): 696-702.
- [9] Lee A, O'Rourke J, De Ungria MC, et al. A standardized mouse model of *Helicobacter pylori* infection: introducing the Sydney strain [J]. *Gastroenterology*, 1997, 112(4): 1386-1397.
- [10] Cai X, Carlson J, Stoicov C, et al. *Helicobacter felis* eradication restores normal architecture and inhibits gastric cancer progression in C57BL/6 mice [J]. *Gastroenterology*, 2005, 128(7): 1937-1952.
- [11] Zhang SH, Lee DS, Morrissey R, et al. Early or late antibiotic intervention prevents *Helicobacter pylori*-induced gastric cancer in a mouse model [J]. *Cancer Lett*, 2015, 359(2): 345-351.
- [12] Schoental R. Carcinogenic activity of N-methyl-N-nitroso-N-nitroguanidine [J]. *Nature*, 1966, 209(5024): 726-727.
- [13] Abe M, Yamashita S, Kuramoto T, et al. Global expression analysis of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced rat stomach carcinomas using oligonucleotide microarrays [J]. *Carcinogenesis*, 2003, 24(5): 861-867.
- [14] Saito T, Inokuchi K, Takayama S, et al. Sequential morphological changes in N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine carcinogenesis in the glandular stomach of rats [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1970, 44(4): 769-783.
- [15] Tatematsu M, Yamamoto M, Shimizu N, et al. Induction of glandular stomach cancers in *Helicobacter pylori*-sensitive Mongolian gerbils treated with N-methyl-N-nitrosourea and N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in drinking water [J]. *Jpn J Cancer Res*, 1998, 89(2): 97-104.
- [16] Tatematsu M, Ogawa K, Hoshiya T, et al. Induction of adenocarcinomas in the glandular stomach of BALB/c mice treated with N-methyl-N-nitrosourea [J]. *Jpn J Cancer Res*, 1992, 83(9): 915-918.
- [17] Tatematsu M, Yamamoto M, Iwata H, et al. Induction of glandular stomach cancers in C3H mice treated with N-methyl-N-nitrosourea in the drinking water [J]. *Jpn J Cancer Res*, 1993, 84(12): 1258-1264.
- [18] Yamachika T, Nakanishi H, Inada K, et al. N-methyl-N-nitrosourea concentration-dependent, rather than total intake-dependent, induction of adenocarcinomas in the glandular stomach of BALB/c mice [J]. *Jpn J Cancer Res*, 1998, 89(4): 385-391.
- [19] Gaddy JA, Radin JN, Loh JT, et al. High dietary salt intake exacerbates *Helicobacter pylori*-induced gastric carcinogenesis [J]. *Infect Immun*, 2013, 81(6): 2258-2267.
- [20] Bergin IL, Sheppard BJ, Fox JG. *Helicobacter pylori* infection and high dietary salt independently induce atrophic gastritis and intestinal *Metaplasia* in commercially available outbred Mongolian gerbils [J]. *Dig Dis Sci*, 2003, 48(3): 475-485.
- [21] Fox JG, Dangler CA, Taylor NS, et al. High-salt diet induces gastric epithelial hyperplasia and parietal cell loss, and enhances *Helicobacter pylori* colonization in C57BL/6 mice [J]. *Cancer Res*, 1999, 59(19): 4823-4828.
- [22] Kodama M, Kodama T, Suzuki H, et al. Effect of rice and salty rice diets on the structure of mouse stomach

- [J]. *Nutr Cancer*, 1984, 6(3): 135-147.
- [23] Tatematsu M, Takahashi M, Fukushima S, et al. Effects in rats of sodium chloride on experimental gastric cancers induced by N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine or 4-nitroquinoline-1-oxide[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1975, 55(1): 101-106.
- [24] Takahashi M, Kokubo T, Furukawa F, et al. Effect of high salt diet on rat gastric carcinogenesis induced by N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine[J]. *Gan*, 1983, 74(1): 28-34.
- [25] Takahashi M, Nishikawa A, Furukawa F, et al. Dose-dependent promoting effects of sodium chloride (NaCl) on rat glandular stomach carcinogenesis initiated with N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine [J]. *Carcinogenesis*, 1994, 15(7): 1429-1432.
- [26] Toyoda T, Tsukamoto T, Yamamoto M, et al. Gene expression analysis of a *Helicobacter pylori*-infected and high-salt diet-treated mouse gastric tumor model: identification of CD177 as a novel prognostic factor in patients with gastric cancer[J]. *BMC Gastroenterol*, 2013, 13: 122.
- [27] Yamamoto M, Tsukamoto T, Sakai H, et al. p53 knockout mice (-/-) are more susceptible than (+/-) or (+/+) mice to N-methyl-N-nitrosourea stomach carcinogenesis[J]. *Carcinogenesis*, 2000, 21(10): 1891-1897.
- [28] Shibata W, Maeda S, Hikiba Y, et al. C-Jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase 1 is a critical regulator for the development of gastric cancer in mice[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(13): 5031-5039.
- [29] Sakamoto K, Hikiba Y, Nakagawa H, et al. Inhibitor of kappaB kinase beta regulates gastric carcinogenesis via interleukin-1alpha expression[J]. *Gastroenterology*, 2010, 139(1): 226-238. e6.
- [30] Takasu S, Tsukamoto T, Cao XY, et al. Roles of cyclooxygenase-2 and microsomal prostaglandin E synthase-1 expression and beta-catenin activation in gastric carcinogenesis in N-methyl-N-nitrosourea-treated K19-C2mE transgenic mice[J]. *Cancer Sci*, 2008, 99(12): 2356-2364.
- [31] Yin J, Yi JY, Yang C, et al. Chronic atrophic gastritis and intestinal metaplasia induced by high-salt and N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine intake in rats[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 21(4): 315.
- [32] Nakamura Y, Sakagami T, Yamamoto N, et al. *Helicobacter pylori* does not promote N-methyl-N-nitrosourea-induced gastric carcinogenesis in SPF C57BL/6 mice[J]. *Jpn J Cancer Res*, 2002, 93(2): 111-116.
- [33] Goldenring JR, Ray GS, Coffey RJ, et al. Reversible drug-induced oxyntic atrophy in rats[J]. *Gastroenterology*, 2000, 118(6): 1080-1093.
- [34] Nam KT, Lee HJ, Sousa JF, et al. Mature chief cells are cryptic progenitors for metaplasia in the stomach [J]. *Gastroenterology*, 2010, 139(6): 2028-2037. e9.
- [35] Huh WJ, Khurana SS, Geahlen JH, et al. Tamoxifen induces rapid, reversible atrophy, and metaplasia in mouse stomach[J]. *Gastroenterology*, 2012, 142(1): 21-24. e7.
- [36] Saenz JB, Burclaff J, Mills JC. Modeling murine gastric *Metaplasia* through tamoxifen-induced acute parietal cell loss[J]. *Methods Mol Biol*, 2016, 1422: 329-339.
- [37] Zavros Y, Eaton KA, Kang WQ, et al. Chronic gastritis in the hypochlorhydric gastrin-deficient mouse progresses to adenocarcinoma [J]. *Oncogene*, 2005, 24(14): 2354-2366.
- [38] Nomura S, Yamaguchi H, Ogawa M, et al. Alterations in gastric mucosal lineages induced by acute oxyntic atrophy in wild-type and gastrin-deficient mice[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2005, 288(2): G362-G375.
- [39] Tomita H, Takaishi S, Menheniott TR, et al. Inhibition of gastric carcinogenesis by the hormone gastrin is mediated by suppression of TFF1 epigenetic silencing[J]. *Gastroenterology*, 2011, 140(3): 879-891.
- [40] Tu SP, Bhagat G, Cui GL, et al. Overexpression of interleukin-1beta induces gastric inflammation and cancer and mobilizes myeloid-derived suppressor cells in mice[J]. *Cancer Cell*, 2008, 14(5): 408-419.
- [41] Syu LJ, El-Zaatari M, Eaton KA, et al. Transgenic expression of interferon- $\gamma$  in mouse stomach leads to inflammation, metaplasia, and dysplasia [J]. *Am J Pathol*, 2012, 181(6): 2114-2125.
- [42] Oshima H, Oshima M, Inaba K, et al. Hyperplastic gastric tumors induced by activated macrophages in COX-2/mPGES-1 transgenic mice [J]. *EMBO J*, 2004, 23(7): 1669-1678.
- [43] Oshima H, Matsunaga A, Fujimura T, et al. Carcinogenesis in mouse stomach by simultaneous activation of the Wnt signaling and prostaglandin E2 pathway [J]. *Gastroenterology*, 2006, 131(4): 1086-1095.
- [44] Leung WK, Wu KC, Wong CY, et al. Transgenic cyclooxygenase-2 expression and high salt enhanced susceptibility to chemical-induced gastric cancer development in mice[J]. *Carcinogenesis*, 2008, 29(8): 1648-1654.
- [45] Nguyen TL, Khurana SS, Bellone CJ, et al. Autoimmune gastritis mediated by CD4<sup>+</sup> T cells promotes the development of gastric cancer[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(7): 2117-2126.
- [46] Okumura T, Ericksen RE, Takaishi S, et al. K-ras mutation targeted to gastric tissue progenitor cells results in chronic inflammation, an altered microenvironment, and progression to intraepithelial neoplasia [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(21): 8435-8445.
- [47] Thiem S, Eissmann MF, Elzer J, et al. Stomach-specific activation of oncogenic KRAS and STAT3-dependent inflammation cooperatively promote gastric tu-

- morigenesis in a preclinical model[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(8):2277-2287.
- [48] Till JE, Yoon C, Kim BJ, et al. Oncogenic KRAS and p53 loss drive gastric tumorigenesis in mice that can be attenuated by E-cadherin expression[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(19):5349-5359.
- [49] Choi E, Hendley AM, Bailey JM, et al. Expression of activated ras in gastric chief cells of mice leads to the full spectrum of metaplastic lineage transitions[J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(4):918-930. e13.
- [50] Ito K, Chuang LSH, Ito T, et al. Loss of Runx3 is a key event in inducing precancerous state of the stomach[J]. *Gastroenterology*, 2011, 140(5):1536-1546. e8.
- [51] Kuzushita N, Rogers AB, Monti NA, et al. p27kip1 deficiency confers susceptibility to gastric carcinogenesis in *Helicobacter pylori*-infected mice[J]. *Gastroenterology*, 2005, 129(5):1544-1556.
- [52] Costa L, Corre S, Michel V, et al. USF1 defect drives p53 degradation during *Helicobacter pylori* infection and accelerates gastric carcinogenesis[J]. *Gut*, 2020, 69(9):1582-1591.
- [53] Suzuki K, Sentani K, Tanaka H, et al. Deficiency of stomach-type claudin-18 in mice induces gastric tumor formation independent of *H. pylori* infection[J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2019, 8(1):119-142.
- [54] Nam KT, Lee HJ, Mok H, et al. Amphiregulin-deficient mice develop spasmodic polypeptide expressing metaplasia and intestinal metaplasia[J]. *Gastroenterology*, 2009, 136(4):1288-1296.
- [55] Liu XM, Li TL, Ma ZY, et al. SLC26A9 deficiency causes gastric intraepithelial neoplasia in mice and aggressive gastric cancer in humans[J]. *Cell Oncol*, 2022, 45(3):381-398.
- [56] Katsha A, Soutto M, Sehdev V, et al. Aurora kinase A promotes inflammation and tumorigenesis in mice and human gastric neoplasia[J]. *Gastroenterology*, 2013, 145(6):1312-1322. e1-8.
- [57] Keeley TM, Samuelson LC. Cytodifferentiation of the postnatal mouse stomach in normal and Huntingtin-interacting protein 1-related-deficient mice[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2010, 299(6):G1241-G1251.
- [58] Zeng X, Yang MH, Ye TB, et al. Mitochondrial GRIM-19 loss in parietal cells promotes spasmodic polypeptide-expressing metaplasia through NLR family pyrin domain-containing 3 (NLRP3)-mediated IL-33 activation via a reactive oxygen species (ROS)-NRF2-Heme oxygenase-1 (HO-1)-NF- $\kappa$ B axis[J]. *Free Radic Biol Med*, 2023, 202:46-61.
- [59] Zuo XS, Deguchi Y, Xu WG, et al. PPAR $\delta$  and interferon gamma promote transformation of gastric progenitor cells and tumorigenesis in mice[J]. *Gastroenterology*, 2019, 157(1):163-178.
- [60] Judd LM, Alderman BM, Howlett M, et al. Gastric cancer development in mice lacking the SHP2 binding site on the IL-6 family co-receptor gp130[J]. *Gastroenterology*, 2004, 126(1):196-207.
- [61] Nam KT, O'Neal R, Lee YS, et al. Gastric tumor development in Smad3-deficient mice initiates from forestomach/glandular transition zone along the lesser curvature[J]. *Lab Invest*, 2012, 92(6):883-895.
- [62] Banerjee A, Thamphiwatana S, Carmona EM, et al. Deficiency of the myeloid differentiation primary response molecule MyD88 leads to an early and rapid development of *Helicobacter*-induced gastric malignancy[J]. *Infect Immun*, 2014, 82(1):356-363.
- [63] Neumeyer V, Vieth M, Gerhard M, et al. Mutated *Rnf43* aggravates *Helicobacter pylori*-induced gastric pathology[J]. *Cancers*, 2019, 11(3):372.
- [64] Douchi D, Yamamura A, Matsuo I, et al. Induction of Gastric Cancer by Successive Oncogenic Activation in the Corpus[J]. *Gastroenterology*, 2021, 161(6):1907-1923. e26.
- [65] Seidlitz T, Chen YT, Uhlemann H, et al. Mouse models of human gastric cancer subtypes with stomach-specific CreERT2-mediated pathway alterations[J]. *Gastroenterology*, 2019, 157(6):1599-1614. e2.
- [66] Li XB, Yang G, Zhu L, et al. Gastric Lgr5(+) stem cells are the cellular origin of invasive intestinal-type gastric cancer in mice[J]. *Cell Res*, 2016, 26(7):838-849.
- [67] Hayakawa Y, Ariyama H, Stancikova J, et al. Mist1 expressing gastric stem cells maintain the normal and neoplastic gastric epithelium and are supported by a perivascular stem cell niche[J]. *Cancer Cell*, 2015, 28(6):800-814.
- [68] Fang KT, Hung H, Lau NYS, et al. Development of a genetically engineered mouse model recapitulating LKB1 and PTEN deficiency in gastric cancer pathogenesis[J]. *Cancers*, 2023, 15(24):5893.
- [69] Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, et al. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994[J]. *Am J Surg Pathol*, 1996, 20(10):1161-1181.

(收稿日期:2024-03-25)