·综　　述·

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.14.035
网络首发 https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220419.1125.004.html(2022-04-20)

解痉多肽表达化生动物模型的研究进展*

陈万群[1],张金卫[2],罗　杨[1]综述,杨小军[1△]审校
(重庆市中医院:1.消化科;2.皮肤美容科　400021)

[摘要]　解痉多肽表达化生(SPEM)为胃癌前病变的初始步骤,动物模型的研究作为探索 SPEM 及胃癌发生、发展的载体,对胃癌前病变的研究具有价值。目前国内胃癌前病变动物模型研究鲜有涉及 SPEM。该文回顾了对于不同药物诱导、幽门螺杆菌(Hp)或猫螺杆菌(H.felis)感染所致的 SPEM 模型现有研究,以期为研究胃癌前病变提供更多方式和途径。

[关键词]　解痉多肽表达化生;胃癌前病变;动物模型;幽门螺杆菌
[中图法分类号]　R-1　　[文献标识码]　A　　[文章编号]　1671-8348(2022)14-2499-05

Research progress of antispasmodic polypeptide expression metaplasia animal model*

CHEN Wanqun[1],*ZHANG Jinwei*[2],*LUO Yang*[1],*YANG Xiaojun*[1△]
(1.*Department of Gastroenterology*;2.*Department of Dermatology and Cosmetology*,
Chongqing Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine,*Chongqing* 400021,*China*)

[**Abstract**]　Spasmolytic polypeptide-expressing metaplasia (SPEM) is the initial steps of gastric precancerous lesion (GPL). The animal model study as the carrier for exploring the mechanism of occurrence and development of SPEM and gastric cancer has the profound influence on the GPL study,at present,SPEM is rarely involved in the animal models of GPL in our country. This paper reviews the existing studies on the SPEM animal models induced by different drugs and infected by helicobacter pylori (Hp) or helicobacter felis (H. felis) in our country in order to offer more methods and pathways to the GPL study.

[**Key words**]　spasmolytic polypeptide-expressing metaplasia;gastric precancerous lesion;animal model;helicobacter pylori

胃腺癌作为世界范围内高致死率的肿瘤之一,其中幽门螺杆菌(helicobacter pylori,Hp)感染被认为是其发生、发展最重要的危险因素[1]。持续的感染及慢性炎症导致胃癌前病变患者出现泌酸腺体缺失,即形成慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis,CAG)[2]。CAG 表现为胃单位的重组,即以峡部胃单位(胃小凹和深部胃窦细胞之间)胃祖细胞的增殖,以及胃腺体基底部有丝分裂后的主细胞重组成为增殖的化生细胞[3]。胃单位重组形成慢性萎缩被称为解痉多肽表达化生(spasmolytic polypeptide-expressing metaplasia,SPEM)[4],这种化生形式具有进化保守性,可导致近端胃单位(如胃窦)的短暂性改变,进而使得其在应对深部腺体损伤条件下,具有修复及重组为正常胃黏膜结构的功能[5]。但是在某些条件下,重组被中断后持续的 SPEM 可以进展到异型增生[6]。

既往动物研究证实肠化生(intestinal metaplasia,IM)起源于 SPEM,其中某些研究发现造模方式不同也会导致 SPEM 的进展不同,如 Hp 感染所致的 SPEM 仅进展到异型增生,而不会进展至 IM,但这些研究均证实 SPEM 为癌前级联反应的初始步骤[3,6-8]。目前国内胃癌前病变动物模型研究鲜有涉及 SPEM,本文就 SPEM 动物模型做一综述。

1　DMP-777 诱导的缺乏炎症的 SPEM 模型

为了构建泌酸腺体萎缩模型,在 2000 年,GOLD-

*　基金项目:国家自然科学基金项目(81904175);重庆市科委基金项目(cstc2018jcyjAX0756);重庆市科卫联合项目(ZY201802063,2019ZY013111)。　作者简介:陈万群(1987－),博士,主要从事胃癌前病变的研究。　△　通信作者,E-mail:yangxj88@126.com。

ENRING 等[9]开展了 DMP-777 诱导的可逆性泌酸腺体萎缩的研究，即单独以该试剂处理小鼠特定时间后胃黏膜可自行恢复。DMP-777 是一种具有选择性的人白细胞弹性蛋白酶抑制剂，通常以浓度 2%悬浮在 0.5%的甲基纤维素的溶液中。研究证实 DMP-777 可导致特定壁细胞缺失，胃小凹增生而致使正常腺体细胞系缺乏。

有研究发现 DMP-777 处理小鼠在 2 d 内即可导致壁细胞的快速缺失，予野生型小鼠连续灌胃 7 d，在腺体基底部即可出现表达解痉多肽（Trefoil factor 2，TFF2）的黏膜细胞系化生——SPEM；而在敲除胃泌素小鼠中，灌胃 1 d 即可形成在蛋白及核酸水平均阳性表达 TFF2 的 SPEM；经 DMP-777 处理 14 d 后，敲除胃泌素小鼠继续予以戒断 DMP-777 为期 14 d 的观察，SPEM 仍持续存在，故可得出 SPEM 形成依赖于胃泌素[10]。该团队后续又对上皮生长因子受体（epidermal growth factor receptor，EGFR）是否调节泌酸腺体萎缩的化生应答进行了相关研究，分别予敲除双调蛋白、转化生长因子 α 及其野生型小鼠 DMP-777 灌胃，灌胃时间及药物恢复期均为 14 d，结果发现敲除双调蛋白可促进泌酸腺体萎缩，SPEM 及 IM 的形成[8,11-12]。因 DMP-777 诱导 SPEM 具有自身特点，仍在近期研究中与其他几种造模方式形成模型对照，以研究主细胞化生机制[13]。

2 Hp 或猫螺杆菌（H. felis）感染小鼠形成慢性炎症的动物模型

Hp 感染引起慢性浅表性胃炎并可进展至慢性萎缩性胃炎、肠化、异型增生甚至胃癌，现有研究主要通过 Hp 或 H. felis 注射、灌胃或者与黏膜共培养形成相关模型。研究证实 H. felis 可加速 C57BL/6 小鼠胃黏膜萎缩、细胞凋亡及改变细胞系分化[14-15]。抑酸及 Hp 感染均可导致高胃泌素血症，有研究发现胰岛素-胃泌素转基因小鼠在 20 月龄时表现为胃黏膜化生、异型增生、原位癌及具有血管浸润的胃癌，而 H. felis 感染的胰岛素-胃泌素转基因小鼠可进一步加速黏膜内肿瘤的发生（85%），黏膜下肿瘤浸润（54%）及血管内浸润（46%），说明 H. felis 感染对化生、异型增生及肿瘤形成具有重要作用[16]。

此后，又有研究缩胆囊素/胃泌素受体及组胺 H2 受体信号通路在胃黏膜萎缩和胃癌中的作用，证实缩胆囊素/胃泌素及组胺 H2 受体拮抗剂具有协同抑制 H. felis 感染的胰岛素-胃泌素转基因小鼠模型胃黏膜萎缩和胃癌形成的作用[17]。另有研究发现 Hp 感染早期即形成 SPEM，腺体改变起源于持续感染 Hp 的 SPEM 腺体中，即由 SPEM 继发 IM[7]。同样，使用 H. felis 感染 C57BL/6 小鼠 6 个月可形成 SPEM 模型，证实 SPEM 为癌前初始步骤，SPEM 为进展至异型增生乃至胃癌的关键阶段[18]。因 Hp 或 H. felis 感染所致的 SPEM 模型基本可模拟人体的 SPEM 形成过程，故与人体临床标本对照可用于研究 SPEM 腺体细胞的遗传不稳定性[19]。

3 L-635 形成快速诱导的具有炎症应答的 SPEM 小鼠模型

由于 DMP-777 可抑制中性粒细胞弹性蛋白酶，在早期固有免疫应答阶段阻止炎症应答，因此 DMP-777 形成的壁细胞缺失的 SPEM 模型缺乏炎症应答。而人体内化生的形成均在一系列炎性反应的条件下产生，为了形成具有炎症的新型的壁细胞缺失的 SPEM 模型，有研究者用德国默克公司合成的结构性相关的 β 内酰胺复合物，该复合物可以保持壁细胞质子载体潜在的活性，但却不会攻击中性粒细胞弹性蛋白酶。予 C57BL/6 小鼠连续灌胃 3 d 后，TFF2、内因子均阳性表达的 SPEM 模型快速形成，这一模型再次证实炎症和壁细胞缺失共同构成 SPEM。

在前期研究基础上，研究者比较了 DMP-777、L-635 及 H. felis 诱导的 SPEM 模型，结果发现，3 种不同的造模方式均可形成 SPEM，至少是主细胞的部分转化，L-635 造模的特点为快速形成具有炎症应答的主细胞转化的 SPEM 模型[3]，缺点是合成 L-635 价格昂贵，不易获得，在一般实验室难以得到推广。使用前面所述的 3 种造模方式，研究发现凝集素（clusterin）在 3 种不同方式造模小鼠中均异常升高，而囊性纤维化跨膜传导调节蛋白（cystic fibrosis transmembrane conductance regulator，CFTR）仅在具有炎症表达的模型中表达升高，在人胃黏膜中，CFTR 在肠化组织而非 SPEM 中表达[20]。由于 L-635 与 DMP-777 形成的 SPEM 存在炎症有无的差别，故研究炎症细胞通路在 SPEM 生成的作用可利用此两种不同的造模方式，作为良好的对比模型，IL-33/13 细胞因子信号通路在化生中的作用得到证实[21]。此后，基于该信号通路，后续研究发现外源性给予 IL-33 可使正常小鼠诱导 SPEM 形成[22]。由此看出，随着 SPEM 形成机制的深入研究，未来 SPEM 构建模型将出现多样化趋势。

4 Tamoxifen 诱导的急性 SPEM 小鼠模型

由于 DMP-777 所致 SPEM 模型缺乏炎症应答，L-635 价格昂贵而不易获得，H. felis 诱导的 SPEM 造模时间长且可能伴有异型增生乃至胃癌，故探索新型

的造模剂极为迫切。Tamoxifen 是一种广泛使用于临床与研究的选择性雌激素受体调节剂，研究发现予 Tamoxifen≥3 mg/20 g 正常小鼠体重 3 d，即可导致超过 90%胃壁细胞凋亡及酶原主细胞化生，且胃组织可在 3 周后恢复正常[23]。这一造模方式成为目前研究 SPEM 最常用的造模方式，并形成了相关方法学文献指导，使得这一造模方式具有均一、可重复验证而得以推广[24]。

鉴于 Tamoxifen 造模的稳定性，借助此模型开展了对 SPEM 相关炎性因子如白细胞介素-10(IL-10)的研究[25]，急性药物及慢性炎症所致胃黏膜损害所致 SPEM 的单细胞转录分析[26]。构建此项模型后，同样也为研究 Hp 与化生改变之间的关系创造了良好条件，将 Tamoxifen 诱导的急性 SPEM 小鼠胃黏膜形成自由浮动的组织块，与 Hp 共培养后证实，不管在人还是小鼠 SPEM 腺体中，均可通过路易斯抗原(sialyl-Lewis X，sLex)连接[27]。同时，为了研究颈黏液细胞、主细胞及 SPEM 细胞在小鼠中增殖和分化模式，最新研究在使用 Tamoxifen 及 Hp 诱导形成胃黏膜损害的同时，予以溴尿苷作为诱变剂进行干预，进一步对稳态或化生诱导的胃黏膜损害的细胞增殖和分化进行了研究报道[28]。以 SPEM 为代表的各类化生究竟如何增加致癌的风险，为了研究这一问题，有研究者将 C57BL/6 小鼠共同饲以高剂量 Tamoxifen 及雷帕霉素，在诱导 SPEM 同时可阻滞哺乳动物雷帕霉素靶蛋白敏感型复合体(mammalian target of rapamycin complex 1，mTORC1)活性，并让小鼠自由饮用含亚硝基脲的水诱导胃癌形成[29]。

随着对 SPEM 机制研究的深入，近期研究倾向于将多种模型对比使用或联合使用，或联合使用关键基因、蛋白敲除小鼠等复合形成动物模型，或加用其他化学药物，以达到验证既定研究假设的作用[29-31]。如使用 DMP-777、L-635、H. felis 之间形成不同对照模型，研究主细胞转化的机制[32]。或者为了研究特定蛋白对 SPEM 的影响，使用敲除该蛋白如人附睾蛋白 4(human epididymis protein 4，HE4)基础上，分别使用 DMP-777、L-635、高剂量 Tamoxifen 诱导的 SPEM 模型，以研究 HE4 蛋白在胃癌形成中的作用[33]。

5 脱氧胆酸(deoxycholic acid，DCA)刺激巨噬细胞源外泌体促进 SPEM 形成

DCA 作为一种对人类有害的次级胆汁酸，有研究证实其可促进肠化生标记物的表达。基于此，有研究者将 6 周龄大的 C57BL/6 雄性小鼠随机分成正常对照组(无菌水灌胃)、DCA 组(100 μmol/L DCA 溶于无菌水中)，两组中每只小鼠每天用 200 μL 无菌水灌胃(含或不含 DCA)，4 周后收获胃黏膜标本，荧光免疫检测 SPEM 标记物 TFF2、GSⅡ外源凝集素，结果显示此种造模方式同样可形成 SPEM[34]。但此种造模方式目前仅有一个研究采用，其稳定性尚待更多研究予以证实。

6 总　　结

综上所述，不管药物诱导还是 Hp 或 H. felis 感染均可形成 SPEM 模型，但因不同药物及 Hp 或 H. feli 感染的不同特性，使得诱导模型具有自身特点，均可为目前研究 SPEM 生成及进展机制使用。研究者可根据研究目的选择相应造模方式，同时由于各个模型的自身局限性，开展不同模型进行对照研究可以较好揭示 SPEM 在胃癌前病变中的作用机制。

参考文献

[1] FERLAY J，SOERJOMATARAM I，DIKSHIT R，et al. Cancer incidence and mortality worldwide：sources，methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. Int J Cancer，2015，136(5)：E359-E386.

[2] CORREA P，PIAZUELO M B. The gastric precancerous cascade[J]. J Dig Dis，2012，13(1)：2-9.

[3] NAM K T，LEE H J，SOUSA J F，et al. Mature chief cells are cryptic progenitors for metaplasia in the stomach[J]. Gastroenterology，2010，139(6)：2028-2037.

[4] SCHMIDT P H，LEE J R，JOSHI V，et al. Identification of a metaplastic cell lineage associated with human gastric adenocarcinoma[J]. Lab Invest，1999，79(6)：639-646.

[5] WILLET S G，MILLS J C. Stomach organ and cell lineage differentiation：from embryogenesis to adult homeostasis[J]. Cell Mol Gastroenterol Hepatol，2016，2(5)：546-559.

[6] GOLDENRING J R，NAM K T，WANG T C，et al. Spasmolytic polypeptide-expressing metaplasia and intestinal metaplasia：time for reevaluation of metaplasias and the origins of gastric cancer[J]. Gastroenterology，2010，138(7)：2207-2210.

[7] YOSHIZAWA N，TAKENAKA Y，YAMAGUC

HI H, et al. Emergence of spasmolytic polypeptide-expressing metaplasia in Mongolian gerbils infected with Helicobacter pylori[J]. Lab Invest, 2007, 87(12): 1265-1276.

[8] NAM K T, LEE H J, MOK H, et al. Amphiregulin-deficient mice develop spasmolytic polypeptide expressing metaplasia and intestinal metaplasia[J]. Gastroenterology, 2009, 136(4): 1288-1296.

[9] GOLDENRING J R, RAY G S, COFFEY R J, et al. Reversible drug-induced oxyntic atrophy in rats[J]. Gastroenterology, 2000, 118(6): 1080-1093.

[10] 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.

[11] OGAWA M, NOMURA S, VARRO A, et al. Altered metaplastic response of waved-2 EGF receptor mutant mice to acute oxyntic atrophy[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2006, 290(4): G793-G804.

[12] NAM K T, VARRO A, COFFEY R J, et al. Potentiation of oxyntic atrophy-induced gastric metaplasia in amphiregulin-deficient mice[J]. Gastroenterology, 2007, 132(5): 1804-1819.

[13] HATA M, KINOSHITA H, HAYAKAWA Y, et al. GPR30-expressing gastric chief cells do not dedifferentiate but are eliminated via PDK-dependent cell competition during development of metaplasia[J]. Gastroenterology, 2020, 158(6): 1650-1666.

[14] FOX J G, LI X, CAHILL R J, et al. Hypertrophic gastropathy in Helicobacter felis-infected wild-type C57BL/6 mice and p53 hemizygous transgenic mice[J]. Gastroenterology, 1996, 110(1): 155-166.

[15] WANG T C, GOLDENRING J R, 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.

[16] WANG T C, DANGLER C A, CHEN D, et al. Synergistic interaction between hypergastrinemia and Helicobacter infection in a mouse model of gastric cancer[J]. Gastroenterology, 2000, 118(1): 36-47.

[17] TAKAISHI S, CUI G, FREDERICK D M, et al. Synergistic inhibitory effects of gastrin and histamine receptor antagonists on Helicobacter-induced gastric cancer[J]. Gastroenterology, 2005, 128(7): 1965-1983.

[18] NOMURA S, BAXTER T, YAMAGUCHI H, et al. Spasmolytic polypeptide expressing metaplasia to preneoplasia in H. felis-infected mice[J]. Gastroenterology, 2004, 127(2): 582-594.

[19] CHEN J, ZHU C, WANG C, et al. Evidence for heightened genetic instability in precancerous spasmolytic polypeptide expressing gastric glands[J]. J Med Genet, 2020, 57(6): 385-388.

[20] WEIS V G, SOUSA J F, LAFLEUR B J, et al. Heterogeneity in mouse spasmolytic polypeptide-expressing metaplasia lineages identifies markers of metaplastic progression[J]. Gut, 2013, 62(9): 1270-1279.

[21] PETERSEN C P, MEYER A R, DE SALVO C, et al. A signalling cascade of IL-33 to IL-13 regulates metaplasia in the mouse stomach[J]. Gut, 2018, 67(5): 805-817.

[22] DE SALVO C, PASTORELLI L, PETERSEN C P, et al. Interleukin 33 triggers early eosinophil-dependent events leading to metaplasia in a chronic model of gastritis-prone mice[J]. Gastroenterology, 2021, 160(1): 302-316.

[23] HUH W J, KHURANA S S, GEAHLEN J H, et al. Tamoxifen induces rapid, reversible atrophy, and metaplasia in mouse stomach[J]. Gastroenterology, 2012, 142(1): 21-24.

[24] SAENZ J B, BURCLAFF J, MILLS J C. Modeling murine gastric metaplasia through tamoxifen-induced acute parietal cell loss[J]. Methods Mol Biol, 2016, 1422: 329-339.

[25] LEE C, LEE H, HWANG S Y, et al. IL-10 plays a pivotal role in tamoxifen-induced spasmolytic polypeptide-expressing metaplasia in gastric mucosa[J]. Gut and liver, 2017, 11(6):

789-797.
[26] BOCKERSTETT K A, LEWIS S A, WOLF K J, et al. Single-cell transcriptional analyses of spasmolytic polypeptide-expressing metaplasia arising from acute drug injury and chronic inflammation in the stomach[J]. Gut, 2020, 69(6):1027-1038.
[27] SAENZ J B, VARGAS N, MILLS J C. Tropism for spasmolytic polypeptide-expressing metaplasia allows helicobacter pylori to expand its intragastric niche[J]. Gastroenterology, 2019, 156(1):160-174.
[28] BURCLAFF J, WILLET S G, SAENZ J B, et al. Proliferation and differentiation of gastric mucous neck and chief cells during homeostasis and injury-induced metaplasia[J]. Gastroenterology, 2020, 158(3):598-609.
[29] MIAO Z F, SUN J X, ADKINS-THREATS M, et al. DDIT4 licenses only healthy cells to proliferate during injury-induced metaplasia[J]. Gastroenterology, 2021, 160(1):260-271.
[30] BURCLAFF J, OSAKI L H, LIU D, et al. Targeted apoptosis of parietal cells is insufficient to induce metaplasia in stomach[J]. Gastroenterology, 2017, 152(4):762-766.
[31] RADYK M D, BURCLAFF J, WILLET S G, et al. Metaplastic cells in the stomach arise, independently of stem cells, via dedifferentiation or transdifferentiation of chief cells[J]. Gastroenterology, 2018, 154(4):839-843.
[32] SHIMIZU T, SOHN Y, CHOI E, et al. Decrease in miR-148a expression during initiation of chief cell transdifferentiation[J]. Cell Mol Gastroenterol Hepatol, 2020, 9(1):61-78.
[33] JEONG H, LEE B, KIM K H, et al. WFDC2 promotes spasmolytic polypeptide-expressing metaplasia through the up-regulation of IL33 in response to injury[J]. Gastroenterology, 2021, 161(3):953-967.
[34] XU X, CHENG J, LUO S, et al. Deoxycholic acid-stimulated macrophage-derived exosomes promote spasmolytic polypeptide-expressing metaplasia in the stomach[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 524(3):649-655.

（收稿日期：2021-11-29 修回日期：2022-03-17）

（上接第 2498 页）

[24] RUAN J, GUO J, HUANG Y, et al. Adolescent exposure to environmental level of PCBs (Aroclor 1254) induces non-alcoholic fatty liver disease in male mice[J]. Environ Res, 2020, 181:108909.
[25] FHU C W, ALI A. Fatty acid synthase: an emerging target in cancer[J]. Molecules, 2020, 25(17):3935.
[26] HUANG J, TANG Y, ZOU X, et al. Identification of the fatty acid synthase interaction network via iTRAQ-based proteomics indicates the potential molecular mechanisms of liver cancer metastasis[J]. Cancer Cell Int, 2020, 20:332.
[27] LI M, GAO X, TAN L, et al. Effects of bisphenol A at the safe reference dose on abdominal fat deposition in aged hens[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2020, 206:111398.
[28] GUAN Y, ZHANG T, HE J, et al. Bisphenol A disturbed the lipid metabolism mediated by sterol regulatory element binding protein 1 in rare minnow gobiocypris rarus[J]. Aquat Toxicol, 2019, 207:179-186.
[29] LONG Z, FAN J, WU G, et al. Gestational bisphenol A exposure induces fatty liver development in male offspring mice through the inhibition of HNF1b and upregulation of PPARgamma[J]. Cell Biol Toxicol, 2021, 37(1):65-84.

（收稿日期：2021-12-03 修回日期：2022-03-15）