N-甲基亚硝基脲诱导*p53*$^{+/-}$小鼠胸腺淋巴瘤模型的建立

叶润泽[1, 3#]，张 勇[1#]，林 志[1]，屈 哲[1]，李双星[1]，张 頓[1]，杨艳伟[1]，王三龙[1]，刘甦苏[2*]，霍桂桃[1*]

1. 中国食品药品检定研究院 国家药物安全评价监测中心、药物非临床安全评价研究北京市重点实验室，北京 100176
2. 中国食品药品检定研究院实验动物资源研究所，北京 102629
3. 中国药科大学 基础医学与临床药学学院，江苏 南京 211198

摘 要：目的 通过*N*-甲基亚硝基脲（MNU）诱导*p53*$^{+/-}$小鼠产生胸腺T淋巴母细胞淋巴瘤（T-LBL）。**方法** 采用单次ip给予*p53*$^{+/-}$小鼠75 mg·kg^{-1} MNU，并于给药后进行一般症状观察、摄食量及体质量测定；给予MNU 10周后全自动生化分析仪检测血清碱性磷酸酶（ALP）、乳酸脱氢酶（LDH）水平；解剖后进行大体检查，HE染色后进行胸腺组织病理学检查；免疫组化检测胸腺CD20、CD3、CD68表达。**结果** 与对照组比较，*p53*$^{+/-}$小鼠的摄食量和体质量降低（P＜0.05、0.01），第9～10周可见消瘦、弓背及呼吸急促症状，甚至动物死亡；血清ALP明显降低（P＜0.01），LDH明显升高（P＜0.01）；大体病理学检查胸腺体积增大，呈浅黄白色，镜检可见胸腺恶性淋巴瘤；免疫组化检测胸腺恶性淋巴瘤CD3和CD68呈阳性表达，CD20呈阴性表达。**结论** 单次给予75 mg·kg^{-1} MNU可诱导*p53*$^{+/-}$小鼠产生胸腺恶性淋巴瘤，且为T细胞来源，其形态学与免疫学特征与T-LBL相似。

关键词： *N*-甲基亚硝基脲；*p53*$^{+/-}$敲除小鼠；胸腺；T淋巴母细胞淋巴瘤；模型建立

中图分类号：R965.2 **文献标志码：**A **文章编号：**1674-6376（2024）11-2607-06

DOI：10.7501/j.issn.1674-6376.2024.11.016

Establishment of a lymphoma model of thymus in *p53*$^{+/-}$ mice induced by *N*-methyl-*N*-nitrosourea

YE Runze[1], ZHANG Yong[1], LIN Zhi[1], QU Zhe[1], LI Shuangxing[1], ZHANG Di[1], YANG Yanwei[1], WANG Sanlong[1], LIU Susu[2], HUO Guitao[1]

1. Key Laboratory of Beijing for Safety Evaluation of Drugs, National Center for Safety Evaluation of Drugs, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100176, China
2. Institute for Laboratory Animal Resources, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China
3. School of Basic Medicine and Clinical Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

Abstract: Objective Establishment of a new malignant lymphoma model of thymus in *p53*$^{+/-}$ mice induced by *N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU). **Methods** Administration of 75 mg·kg^{-1} MNU to *p53*$^{+/-}$ mice via a single ip, followed by general symptom observation, food intake, and body mass measurement after administration. After 10 weeks of treatment with MNU, the levels of serum alkaline phosphatase (ALP) and lactate dehydrogenase (LDH) were measured using a fully automated biochemical analyzer; Perform gross examination after dissection, and perform histopathological examination of thymus tissue after HE staining; Immunohistochemical detection of CD20, CD3, CD68 expression in thymus. **Results** Compared with the control group, the food intake and body weight of *p53*$^{+/-}$ mice decreased (P < 0.05, 0.01), and symptoms such as emaciation, hunchback, and shortness of breath were observed in weeks 9-10, even leading to animal death. Serum ALP significantly decreased (P < 0.01) and LDH significantly increased (P < 0.01). Gross pathological examination showed an increase in thymus volume, appearing pale yellow white, and microscopic examination revealed malignant lymphoma of the thymus; Immunohistochemical detection showed positive

收稿日期：2024-07-24

基金项目：中国食品药品检定研究院关键技术研究基金（课题编号：GJJS-2022-6-5）；国家“重大新药创制”科技重大专项资助项目（2018ZX09201-017）

#共同第一作者：叶润泽，硕士，研究方向为成药性评价技术与工程。E-mail：3322092007@stu.cpu.edu.cn

张 勇，助理级药师，研究方向为临床前药物安全性评价。E-mail：1256982265@qq.com

***共同通信作者：**霍桂桃，博士，主任药师，研究方向为临床前药物安全性评价及抗肿瘤药物药效学评价。E-mail：huoguitao@nifdc.org.cn

刘甦苏，硕士，副主任技师，研究方向为模式动物研究。E-mail：liususu@nifdc.org.cn

expression of CD3 and CD68 in thymic malignant lymphoma, while CD20 showed negative expression. **Conclusion** Single intraperitoneal injection of 75 mg·kg^{-1} MNU can induce thymus malignant lymphoma in *p53*$^{+/-}$ knockout mice, and the tumor was derived from T cells and the morphological and immunological characteristics were similar to human T-LBL.

Key words: *N*-methyl-*N*-nitrosourea; *p53*$^{+/-}$ mice; thymus; T lymphoblastic lymphoma; model establishment

T淋巴母细胞淋巴瘤（T-LBL）是儿童及青少年第二常见的非霍奇金淋巴瘤（NHL）。目前对该类患者治疗后的无事件生存率（EFS）达到了75%～85%[1]。然而，尽管T-LBL患者接受了治疗，但仍可能复发，且5年生存率很低。相关研究认为T-LBL与异常染色体质量排、DNA拷贝数改变和关键信号因子突变（如Notch1通路）有关[2]。*p53*基因是与人类肿瘤发生相关性最高的基因，约50%以上的恶性肿瘤会出现该基因的突变，因而通过将*p53*等位基因突变所构建的*p53*$^{+/-}$敲除小鼠可以模拟致癌物的致癌过程，以及产生肿瘤的特征性病变[3]。本课题组先前的研究表明，给予*N*-甲基-*N*-亚硝基脲（MNU）后26周，*p53*$^{+/-}$敲除小鼠胸腺淋巴瘤的发生率远高于同品系野生型小鼠[4-6]。由于缺乏有效的临床肿瘤组织样本及临床前动物模型，导致有关T-LBL的研究严重受限，该疾病发生发展的机制尚不完全清楚。为更好地对治疗T-LBL候选药物的临床前药效进行评价，以及建立研究T-LBL发病机制的有效动物模型，本研究通过ip给予*p53*$^{+/-}$敲除小鼠75 mg·kg^{-1} MNU后初步建立小鼠胸腺恶性淋巴瘤模型，并对该模型的整体敏感性、形态学、免疫学特征进行初步研究，以期为临床前评价抗T-LBL药物的药效和研究T-LBL的发生机制提供新的潜在模型。

1 材料

1.1 实验动物

p53$^{+/-}$小鼠（B6-Trp^{tm1}/NIFDC）购自中国食品药品检定研究院实验动物资源研究所，生产许可证号SCXK（京）2017-0005，SPF级，雌雄各20只。动物在恒温（20～26 ℃）、恒湿（40%～70%）、各12 h明暗周期的条件下饲养，饲养密度为每笼3～5只。实验期间给予小鼠全价颗粒饲料喂养，自由摄食及饮水。本研究的实验方案通过中国食品药品检定研究院国家药物安全评价监测中心实验动物福利伦理委员会的伦理审查及批准（伦理审查编号IACUC-2023-K011）。

1.2 试剂

阳性对照品：MNU，购自阿拉丁公司（批号K2320251），保管于本单位阳性试剂库，单独存放，双人双锁管理。MNU溶媒：柠檬酸钠缓冲液，pH值4.5，常温保存。配制方法：给药前，使用无菌容器称量一定量MNU密封，于无菌条件下使用pH值4.5 0.1 mol·L^{-1}柠檬酸钠缓冲液（冰浴预冷）将称量好的MNU配制至所需质量浓度（7.5 mg·mL^{-1}），轻轻翻转混匀；配制时遮光，冰浴（在划定区域配制，配制时人员穿防护服，佩戴口罩、乳胶手套及护目镜）。配制好的给药制剂在出库前由受试物保管负责人保管在冰盒，50 min内完成给药（全程遮光）。

免疫组化所用抗体：CD3（批号060345-2，Abcam公司），CD20（批号GR3260990-15，Abcam公司），CD68（批号385A4A26，Invitrogen公司）；兔二步法试剂盒（兔聚合物法检测系统）酶标山羊抗兔IgG聚合物（批号PV-6001）和DAB显色液（批号ZLI-9018）购自中杉金桥公司；其他试剂如乙醇（批号20230410，分析纯）、甲醛（批号20221209，分析纯）、二甲苯（批号20230414，分析纯）均购自国药集团化学试剂有限公司；10%中性缓冲福尔马林固定液现配现用；HE染色液（苏木素，批号C230906；伊红，批号C20230902），购自于珠海贝索生物技术有限公司）。

1.3 主要仪器

仪器包括7180型全自动生化分析仪（日本日立公司），Tissue-Tek VIP6全封闭组织脱水机，徕卡HistoCore Arcadia全自动组织包埋机，徕卡HistoCore全自动轮转式切片机，樱花Tissue-Tek Prisma Plus全自动染色机，樱花Tissue-Tek Film全自动封片机，光学显微镜（日本Olympus公司），显微成像系统（奥林巴斯DP73-ST-SET）。

2 方法

2.1 给药方法

p53$^{+/-}$小鼠分为2个组：即*p53*$^{+/-}$对照组（给予柠檬酸钠缓冲液）和*p53*$^{+/-}$阳性组（给予75 mg·kg^{-1} MNU[5]），每组20只动物，雌雄各半。共给药1次（实验开始第1天给药），给药方式为ip。实验期间观察动物的一般症状，给药后第8周开始每周1次肿瘤触诊并观察肿瘤的发展。

2.2 大体、血清生化及组织病理学检查

给予MNU 10周后进行剖解，动物禁食过夜，解剖当日以异氟烷麻醉动物，采集腹腔大静脉血，全自动生化分析仪检测血清碱性磷酸酶（ALP）、乳酸脱氢酶（LDH）水平。解剖时记录动物的大体病理学改变，死亡动物迅速剖检。对胸腺和发现异常的组织器官用

10%中性缓冲多聚甲醛固定，固定后的组织经修块取材，逐级酒精脱水，石蜡包埋，滑动切片机切片（厚约3 μm），经HE染色，光镜检查。

2.3 免疫组化实验

脱蜡水化组织切片：二甲苯作用3次，每次10 min；依次经无水乙醇、95%乙醇、80%乙醇、70%乙醇分别作用2 min，然后自来水洗涤5 min，蒸馏水洗涤5 min。阻断内源性过氧化物酶：以3% H_2O_2溶液作用10 min；后经蒸馏水洗涤，再用磷酸盐缓冲液（PBS）浸泡5 min。抗原修复：将处理好的切片放入盛有柠檬盐酸溶液（pH值6.0）塑料切片盒，然后放入微波炉，将微波炉调至中高档（98～100 ℃）并持续加热8～12 min，取出后冷却。冷却后以蒸馏水洗涤3次，每次5 min；再以PBS洗涤3次，每次5 min。封闭：将切片以正常羊血清工作液封闭，放置37 ℃温箱孵育60 min。滴加一抗及孵育：滴加合适浓度的一抗（CD20、CD3、CD68），然后放置到4 ℃冰箱孵育过夜。一抗孵育结束，以PBS洗涤3次，每次5 min。滴加二抗及孵育：滴加所用二抗，并于37 ℃温箱孵育20 min，然后以PBS洗涤3次，每次5 min。显色：滴加DAB显色液显色4 min。复染、分化及反蓝：苏木精复染1 min，然后用自来水洗涤5 min，盐酸乙醇分化10 s，返蓝60 min。透明及封片：再用无水乙醇脱水2次，每次10 min；二甲苯透明3次，每次10 min；最后进行封片。

2.4 数据统计与处理

数据采用Graphpad Prism 8统计分析软件分析，对于动物体质量、血清生化指标等数据采用$\bar{x}\pm s$表示，对照组与MNU组之间的差异使用Student's *t* test进行显著性分析。

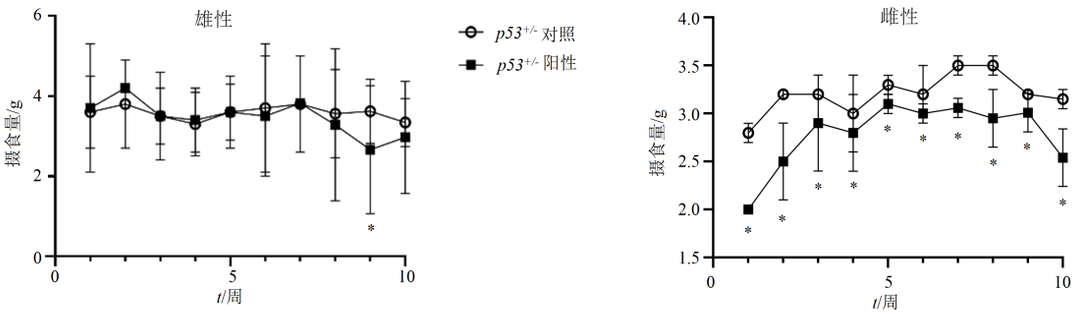
3 结果

3.1 动物摄食量

与*p53*$^{+/-}$对照组雄性及雌性动物相比，*p53*$^{+/-}$阳性组雄性及雌性动物的摄食量下降（$P<0.05$），表现为雄性动物的摄食量呈下降和上升交替出现，总体呈下降趋势；雌性动物的摄食量则总体表现为先下降后上升，然后再下降的趋势（图1）。

3.2 动物的体质量变化

与*p53*$^{+/-}$对照组雄性及雌性动物相比，*p53*$^{+/-}$阳性组雄性及雌性动物的体质量明显下降（$P<0.01$），表现为在给予MNU后，动物的体质量先下降后上升，然后再下降的趋势（图2）。

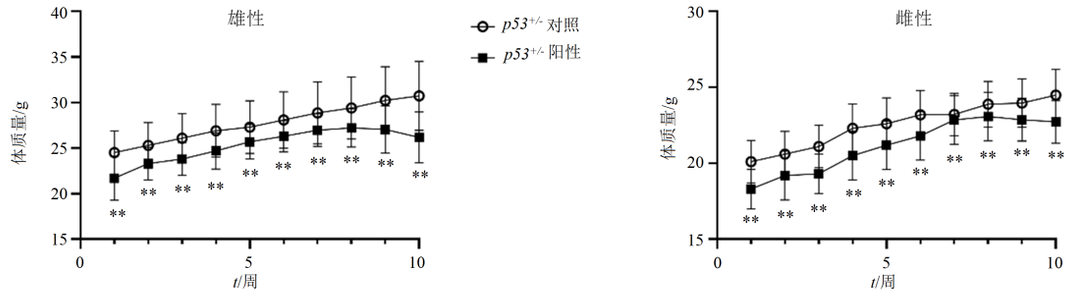


与*p53*$^{+/-}$对照组比较：$^{*}P<0.05$。

$^{*}P < 0.05$ *vs* *p53*$^{+/-}$ control group.

图1 各组动物摄食量的改变

Fig. 1 Changes of food intake in each group



与*p53*$^{+/-}$对照组比较：$^{**}P<0.01$。

$^{**}P < 0.01$ *vs* *p53*$^{+/-}$ control group.

图2 各组动物体质量变化

Fig. 2 Changes of body weight in each group

3.3 动物一般症状及生存率

$p53^{+/-}$对照组动物未见任何异常症状，也未见动物死亡发生。$p53^{+/-}$阳性组的 5/10 只动物在第 9 周表现为消瘦、弓背，以及呼吸急促；给予 MNU 后第 9 周 $p53^{+/-}$阳性组有 1/10 只雌性动物死亡，第 10 周分别有 2/10 只雄性和雌性动物死亡。

3.4 大体病理学改变

死亡动物及计划剖检动物剖检可见胸腺体积不同程度增大，呈浅黄白色或浅黄色，有的体积增大的胸腺占据胸腔大部分位置，压迫肺脏。雌性动物的发生率为9/10，雄性动物的发生率为8/10（图 3）。

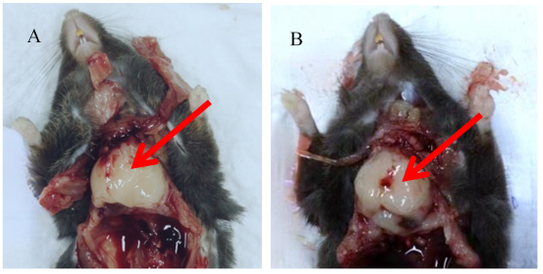


图 3 MNU 诱导 $p53^{+/-}$小鼠胸腺大体病理学改变

Fig. 3 Gross lesion of thymus in $p53^{+/-}$ mice induced by MNU

3.5 血清生化指标改变

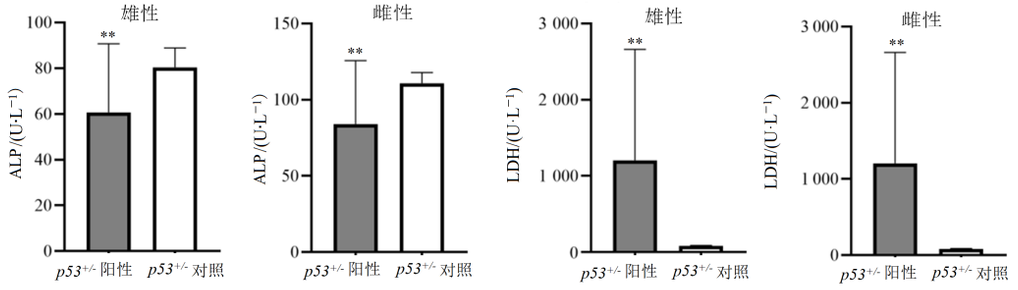
与 $p53^{+/-}$对照组动物相比，$p53^{+/-}$阳性组动物的血清 ALP 水平明显降低（$P<0.01$），血清 LDH 水平则明显升高（$P<0.01$）（图 4）。LDH 水平的改变提示 MNU 可引起动物发生淋巴瘤，ALP 水平下降提示动物肝脏或骨骼存在严重损伤或肿瘤性疾病。

3.6 组织病理学改变

给予 MNU 10 周后，$p53^{+/-}$对照组动物胸腺未见明显的组织病理学改变，$p53^{+/-}$阳性组 5/10 只雄性动物、8/10 只雌性动物镜检胸腺可见恶性淋巴瘤（淋巴母细胞性淋巴瘤），如图 5 所示，低倍镜下可见胸腺结构被肿瘤细胞破坏，肿瘤细胞中等大小，形态较一致，并且呈单一性、弥漫性生长，可见“星空现象”；高倍镜下可见肿瘤细胞的胞质较少，呈弱嗜酸性，细胞核呈圆形或椭圆形，还可见到核扭曲和核分裂象。$p53^{+/-}$阳性组动物胸腺所见组织病理学改变与人 LBL 的形态学特征相似。

3.7 免疫组化检测

根据组织病理学检查结果，对 $p53^{+/-}$阳性组镜检为恶性淋巴瘤的动物的胸腺进行免疫组化检测。免疫组化检测结果显示（图 6），$p53^{+/-}$对照组动物胸腺 CD20 及 CD68 均呈阴性表达；CD3 呈阳性表达，

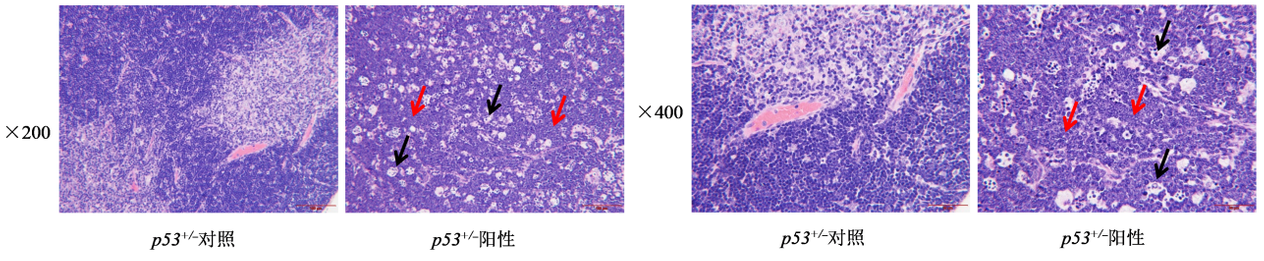


与 $p53^{+/-}$对照组比较：$^{**}P<0.01$。

$^{**}P < 0.01$ *vs* $p53^{+/-}$ control group.

图 4 各组动物血清 ALP、LDH 水平变化

Fig. 4 Changes of serum ALP and LDH levels in each group



红色箭头-弥漫性生长；黑色箭头-“星空现象”。

red arrow-diffuse growth; black arrow-"starry sky phenomenon".

图 5 MNU 诱导 $p53^{+/-}$小鼠胸腺组织病理学改变

Fig. 5 Histopathological changes of thymus in $p53^{+/-}$ mice induced by MNU

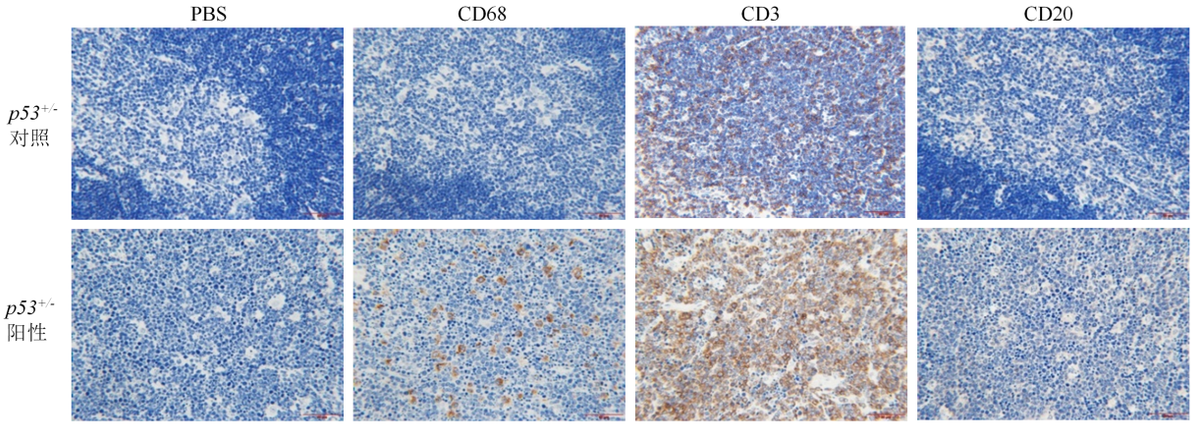


图6 $p53^{+/-}$敲除小鼠胸腺恶性淋巴瘤免疫组化结果（×400）

Fig. 6 Immunohistochemical results of malignant lymphoma of thymus in $p53^{+/-}$ knockout mice (×400)

为胸腺正常T细胞免疫组化的着色反应。$p53^{+/-}$阳性组动物（13/20只）胸腺CD20均呈阴性表达，提示胸腺肿瘤非B细胞来源；CD68均呈阳性表达，为巨噬细胞的免疫学标志，并且与胸腺组织病理学改变中“星空现象”相符；CD3均呈阳性表达，提示胸腺肿瘤细胞为T细胞来源。上述免疫组化检测结果显示，$p53^{+/-}$阳性组动物胸腺恶性淋巴瘤为T细胞来源，并且其免疫学特点与T-LBL相似。

4 讨论

MNU是短期致癌性实验或肿瘤发生机制研究常用的阳性致癌剂[7-9]。课题组先前的研究结果显示，单次ip给予75 mg·kg^{-1} MNU 12～13周后，$p53^{+/-}$小鼠出现弓背、消瘦、活动减少，以及呼吸急促等临床症状，并且大多数$p53^{+/-}$小鼠死于第13～17周，提示$p53^{+/-}$小鼠发生淋巴瘤的时间早于给予MNU后的第12周；给予MNU后第26周，$p53^{+/-}$小鼠产生高度一致的、T细胞来源的恶性淋巴瘤，并且发生率高达100%[5]。有文献报道血清生化指标，如白蛋白、总蛋白、LDH和ALP可作为淋巴瘤诊断的辅助指标[10-11]。本研究中给予75 mg·kg^{-1} MNU后第9～10周，$p53^{+/-}$小鼠出消瘦、弓背等临床症状，血清LDH显著升高，与文献报道一致[9]，提示$p53^{+/-}$小鼠在给予MNU后第9周已经发生肿瘤。有研究报道，在部分类型的淋巴瘤[如霍奇金淋巴瘤，弥漫性大B细胞淋巴瘤（diffuse large B-cell lymphoma，DLBCL）等]，以及III期或IV淋巴瘤病人的血清ALP水平升高，而在其他类型淋巴瘤中ALP水平未见明显变化[10-12]，血清ALP水平显著降低也提示肝脏或骨骼存在严重损伤或肿瘤性疾病[13]。在本研究中，MNU诱导$p53^{+/-}$阳性组动物血清ALP水平明显降低，镜检该组部分动物肝脏、脾脏、胸骨（骨髓）、大腿骨，以及肾脏等组织器官均可见淋巴瘤，因而考虑$p53^{+/-}$阳性组动物血清ALP水平明显降低与胸腺恶性淋巴瘤转移至肝脏、胸骨（骨髓）等组织脏器有关。考虑MNU诱导$p53^{+/-}$小鼠发生胸腺恶性淋巴瘤也可通过检测血清LDH水平进行早期确认。$p53^{+/-}$敲除小鼠胸腺的大体病理学、组织病理学及免疫组化结果表明胸腺恶性淋巴瘤为T细胞来源，并且与人LBL在形态学及免疫学特征方面相似。本研究既验证了课题组先前的研究结果，也进一步确认75 mg·kg^{-1} MNU诱导$p53^{+/-}$敲除小鼠发生胸腺恶性淋巴瘤的时间早于给予MNU后的第9周。

在国外的相关研究报道中，$p53^{+/-}$小鼠可用于替代长期致癌实验及致癌性机制研究[9,14]。国际上用于致癌性研究的$p53^{+/-}$敲除小鼠一般为B6.129-Trp53tmlBrdN5杂合子小鼠，该种小鼠采用129/Sv干细胞系建成，其应用不如C57BL/6背景小鼠广泛，其原因是建立该种小鼠需要回交至少5代以上，因而导致动物遗传背景不一致，个体差异较大[5,15-16]，由此利用该种小鼠开展致癌性实验或建立肿瘤模型动物的一致性较差。本研究中所使用的$p53^{+/-}$小鼠（B6-Trp^{tm1}/NIFDC）为中国食品药品检定研究院自主建立，其应用C57BL/6背景来源的胚胎干细胞，通过基因打靶技术敲除*p53*基因第2～6外显子获得，而B6.129-Trp53tmlBrdN5杂合子小鼠仅敲除*p53*基因的部分外显子5。因而，本研究中使用的$p53^{+/-}$小鼠具有种群无需回交、动物遗传背景一致、个体差异小的优点，因而通过MNU诱导建立的肿瘤模型也更加一致。从本实验的结果来看，MNU可诱导$p53^{+/-}$小鼠胸腺产生一致性的胸腺T淋巴母细胞性淋巴瘤，也可见较为特异性的血清ALP及LDH水平的改变，同时本实验中动物的体质量、摄

食量、死亡率，以及临床症状改变也很好地反映了该模型的敏感性。

本实验经 ip 给予 75 mg·kg^{-1} MNU 后诱导 *p53*$^{+/-}$ 小鼠胸腺发生恶性淋巴瘤，通过分析 *p53*$^{+/-}$ 敲除小鼠的体质量、摄食量、死亡率、临床症状、血清生化指标、大体及组织病理学和免疫组化结果，也结合课题组之前的研究结果，认为 *p53*$^{+/-}$ 小鼠对 MNU 的致癌敏感性高，并且在给予 MNU 后第 9 周前后即可检查到胸腺恶性淋巴瘤发生，而且明显早于文献报道[5-6]。免疫组化结果表明 *p53*$^{+/-}$ 敲除小鼠胸腺淋巴瘤为 T-LBL，其与 T-LBL 极其相似，将来有望作为临床前评价治疗 T-LBL 药物的模型，以及研究 T-LBL 发生机制的候选模型之一。尚需对该模型的早期肿瘤发生的特异性血清生化标志物进行进一步确定，并对肿瘤发生发展的阶段性免疫指标和药效学评价指标进行有效筛选及完善。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Miles R R, Shah R K, Frazer J K. Molecular genetics of childhood, adolescent and young adult non-Hodgkin lymphoma [J]. Br J Haematol, 2016, 173(4): 582-596.

[2] Wang L, Sui M H, Wang X L. MiR-338-3p suppresses the malignancy of T-cell lymphoblastic lymphoma by downregulating HOXA3 [J]. Mol Med Rep, 2019, 20(3): 2127-2134.

[3] Attardi L D, Jacks T. The role of p53 in tumour suppression: Lessons from mouse models [J]. Cell Mol Life Sci, 1999, 55(1): 48-63.

[4] Wu X, Liu S S, Lyu J J, et al. Endogenous controls of gene expression in N-methyl-N-nitrosourea-induced T-cell lymphoma in p53-deficient mice [J]. BMC Cancer, 2017, 17(1): 545.

[5] Liu S S, Lyu J J, Li Q Q, et al. Generation of a uniform thymic malignant lymphoma model with C57BL/6J p53 gene deficient mice [J]. J Toxicol Pathol, 2022, 35(1): 25-36.

[6] 黄榕芳, 余英豪, 吴在增, 等. *N*-甲基亚硝基脲诱导胸腺淋巴瘤病理形态学及超微结构研究 [J]. 中国实验血液学杂志, 2009, 17(6): 1448-1452.
Huang R F, Yu Y H, Wu Z Z, et al. Pathological features and ultrastructure of *N*-methyl-*N*-nitrosourea(MNU) -induced thymic lymphomas in mice [J]. J Exp Hematol, 2009, 17(6): 1448-1452.

[7] Morton D, Bailey K L, Stout C L, et al. *N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU): A positive control chemical for p53$^{+/-}$ mouse carcinogenicity studies [J]. Toxicol Pathol, 2008, 36(7): 926-931.

[8] Kim N W, Seo S M, Yoo E S, et al. Short-term carcinogenicity study of N-methyl-N-nitrosourea in FVB-Trp53 heterozygous mice [J]. PLoS One, 2023, 18(1): e0280214.

[9] Hoivik D J, Allen J S, Wall H G, et al. Studies evaluating the utility of *N*-methyl-*N*-nitrosourea as a positive control in carcinogenicity studies in the p53+/- mouse [J]. Int J Toxicol, 2005, 24(5): 349-356.

[10] 张妍, 高艳红, 向荣, 等. 淋巴瘤患者血清乳酸脱氢酶、碱性磷酸酶、总蛋白及白蛋白水平变化 [J]. 军医进修学院学报, 2010, 31(12): 1171-1172, 1183.
Zhang Y, Gao Y H, Xiang R, et al. Serum levels of lactic dehydrogenase, alkaline phosphatase, total protein and albumin in patients with malignant lymphoma [J]. J Chin PLA Postgrad Med Sch, 2010, 31(12): 1171-1172, 1183.

[11] Chai X P, Yinwang E, Wang Z N, et al. Predictive and prognostic biomarkers for lung cancer bone metastasis and their therapeutic value [J]. Front Oncol, 2021, 11: 692788.

[12] Shalata W, Yakobson A, Steckbeck R, et al. Is elevation of alkaline phosphatase a predictive factor of response to alectinib in NSCLC? [J]. Curr Oncol, 2021, 29(1): 173-177.

[13] Su W H, Qiu T, Zhang M, et al. Systems biomarker characteristics of circulating alkaline phosphatase activities for 48 types of human diseases [J]. Curr Med Res Opin, 2022, 38(2): 201-209.

[14] MacDonald J, French J E, Gerson R J, et al. The utility of genetically modified mouse assays for identifying human carcinogens: A basic understanding and path forward. the alternatives to carcinogenicity testing committee ILSI HESI [J]. Toxicol Sci, 2004, 77(2): 188-194.

[15] Harvey M, McArthur M J, Montgomery C A Jr, et al. Genetic background alters the spectrum of tumors that develop in p53-deficient mice [J]. FASEB J, 1993, 7(10): 938-943.

[16] Smith G S, Walford R L, Mickey M R. Lifespan and incidence of cancer and other diseases in selected long-lived inbred mice and their F1 hybrids [J]. J Natl Cancer Inst, 1973, 50(5): 1195-1213.

[责任编辑 兰新新]