

## · 实验研究 Experimental research ·

## 大鼠肝癌模型经肝动脉改良给药技术的建立

顾 伟, 沈 婕, 韩克起, 王 喜, 张亚妮, 凌昌全

**【摘要】 目的** 建立大鼠移植性肝癌模型,探讨改良的经肝动脉插管(Lindell 法)给药技术在该模型上运用的可行性及价值。**方法** 20 只 SD 大鼠采用完整组织块肝内植入法建立模型,随机分为两组,在手术显微镜下经胃十二指肠动脉逆行细针穿刺灌注染料,其中组 A 采用改良的 Lindell 给药技术,组 B 采用常规 Lindell 法,观察大鼠各肝叶染色程度,比较两组模型肿瘤重量及体积。**结果** 模型复制和给药成功率均为 100%,两组瘤重和瘤体比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ );在灌注前暂时阻断肝固有动脉右侧分支的改良 Lindell 技术使大鼠尾状叶、右叶及中叶染色程度明显减少( $P < 0.05$ )。**结论** 用完整组织块肝内植入法建立的大鼠移植性肝癌模型稳定;改良的 Lindell 给药技术能模拟临床肝癌介入超选择插管技术,适合于肝癌血管介入治疗的实验研究。

**【关键词】** 肝癌模型;介入技术;改良;大鼠

中图分类号:R73.36 文献标识码:B 文章编号:1008-794X(2006)01-0041-03

**Establishment of improved transarterial intervention technique for hepatomagraft model on rats** GU Wei, SHEN Jie, HAN Ke-qi, WANG Xi, ZHANG Ya-ni, LING Chang-quan. Department of TCM, Changhai Hospital, The Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**【Abstract】 Objective** To establish a hepatomagraft rat model and study the feasibility and value on possible clinical application. **Methods** Implantation of histologically intact Walker-256 tumor tissue in the left extra-lobe of liver was carried out in 20 SD rats. Ten days after implantation, rats were divided into two groups. Under binocular operative microscope, needle was retrograde inserted into the gastroduodenal artery and then infused dye into the liver lobes. Improved technique characterized by temporary block of the right branch of hepatic artery proper during injection in group A, versus the routine transarterial intervention technique in group B (Lindell's method), were carried out. Tumor volume and weight were compared before and after injection of the two groups together with the degrees of staining in liver lobes. **Results** The successful rates of tumor implantation and dye injection reached 100%. No significant difference concerning the tumor volume and weight between the two groups were shown ( $P > 0.05$ ). Staining degrees of caudate lobe, right lobe and middle lobe in group A were significantly mild in comparing with the rest lobes both in group A and group B ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The experimental model is stable and reproducible. The application of the improved transarterial administration technique presents virtual clinical superselective catheterization and might be a valuable method for experimental research in interventional therapy of hepatoma. (J Intervent Radiol, 2006, 15: 41-43)

**【Key words】** Hepatoma model; Transarterial intervention, improved technique; Rats

大鼠移植性肝癌模型是肝癌经导管肝动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)治疗实验研究较为理想的动物模型,成功地复制大鼠肝癌模型,实施经肝动脉插管给药技术对于肝癌介入实验研究的开展起着重要作用。我们前期曾用

该模型进行抗癌中药介入治疗的研究<sup>[1]</sup>,在后续实验中我们改进造模方法及给药技术,取得了较为满意的结果,现报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

Walker-256 细胞株由上海医药工业设计院提供,本实验室保存。SD 雄性成年大鼠、幼鼠和 Wister 雄性幼鼠均由第二军医大学实验动物中心提供。

基金项目:国家中医药管理局基金资助项目(02-03JQ08)

作者单位:200433 上海 第二军医大学长海医院中医科

通讯作者:凌昌全

## 1.2 模型的建立及分组

SD 大鼠移植性肝癌模型的建立方法详见文献[2]。术后将模型鼠随机分为两组:改良组(12 只)和常规组(8 只)。

## 1.3 给药方法

根据 Lindell 肝动脉插管方法<sup>[3]</sup>,并加以改良。大鼠造模后 10 d,严格无菌下再次剖腹,充分暴露大鼠肝门视野区。分离胃十二指肠动脉和肝总动脉;用 9-0 号缝合线游离肝总动脉、胃十二指肠动脉近端,结扎胃十二指肠动脉远端,依次轻轻提拉胃十二指肠动脉近端及肝总动脉缝合线,使游离的胃十二指肠动脉段内血液充盈,同时防止灌注液反流入邻近组织。改良组用改良 Lindell 技术,即灌注染料前用合拢力为 8~12 g 的显微血管夹暂时阻断肝固有动脉右支及头支的右侧分支;常规组用 Lindell 技术,即不阻断肝固有动脉右支及头支的右侧分支。用 29G 胰岛素注射器行胃十二指肠动脉逆行穿刺术,回血后放松胃十二指肠动脉近端缝合线,缓慢灌注墨汁 0.25 ml。注射完毕,结扎胃十二指肠动脉近端,确定无渗血后移去肝总动脉上的缝合线。

## 1.4 观察指标

1.4.1 模型成功率及肿瘤体积、瘤重 肝动脉穿刺灌注墨汁,3 min 后已醚过量麻醉处死大鼠,剥离瘤体,在手术显微镜下用游标卡尺测量肿瘤长径(a)和短径(b),按公式: $V(\text{肿瘤体积}) = ab^2/2$ ,计算肿瘤体积;电子天平称测定瘤重。

1.4.2 各肝叶染色程度 手术显微镜下观察大鼠各肝叶染色程度,根据呈粟粒样分布的染料在大鼠每个肝叶所占比例分为:轻度(<30%)、中度(31%~70%)和重度(>70%)。

## 1.5 统计学处理

数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,结果采用 SPSS11.0 统计软件进行分析,检验水准  $\alpha = 0.05$ ,改良组与常规组瘤体积、瘤重比较用  $t$  检验,肝叶染色程度比较用秩和检验(Kruskal-Wallis 法)。

## 2 结果

移植性肝癌模型造模第 10 天,肿瘤移植成功率为 100%。肿瘤直径为  $(0.56 \pm 0.08)$  cm,瘤重为  $(17.63 \pm 3.93)$  mg,变异指数小,提示模型肿瘤大小均一性较好,两组肿瘤重量和体积的瘤体重量分别为改良组  $(17.96 \pm 5.47)$  g 和常规组  $(17.15 \pm 4.71)$  g;平均体积改良组  $(0.0908 \pm 0.0273)$  cm<sup>3</sup> 和常规组  $(0.0878 \pm 0.0241)$  cm<sup>3</sup>,两组比较差异无显著性( $P =$

0.74,  $P = 0.80$ ),可以用于肝癌介入治疗的实验研究。

肝动脉插管灌注成功率为 100%,灌注染料后,大鼠各肝叶立刻出现不同程度的呈粟粒样分布的染色,常规组大鼠荷瘤肝叶虽然在所有肝叶中染色程度最丰富,但差异并无显著性( $P > 0.05$ ),改良组大鼠尾状叶、右叶及中叶染色程度明显少于乳头叶、左外叶和左内叶,与常规组大鼠尾状叶、右叶及中叶染色程度比较差异有显著性( $P < 0.05$ ,表 1)。

表 1 两组模型各肝叶染色程度

组别(n)	肝叶	染色程度		
		轻	中	重
改良组(12)				
	尾状叶 <sup>*</sup>	9	3	0
	右叶 <sup>*</sup>	8	4	0
	中叶 <sup>*</sup>	5	5	2
	左内叶	1	3	8
	左外叶	0	1	11
	乳头叶	2	5	5
常规组(8)				
	尾状叶 <sup>△</sup>	1	3	4
	右叶 <sup>△</sup>	0	1	7
	中叶 <sup>△</sup>	0	2	6
	左内叶 <sup>△</sup>	1	1	6
	左外叶 <sup>△</sup>	0	0	8
	乳头叶 <sup>△</sup>	2	2	4

注:组内肝叶染色度比较,<sup>△</sup>  $P > 0.05$ ;阻断后的肝叶染色度与组 B 对应肝叶比较,<sup>\*</sup>  $P < 0.05$

## 3 讨论

### 3.1 移植性肝癌模型

近年来在肝癌介入治疗的实验研究中常选用的动物有:可移植 Walker-256 癌肉瘤的 Wistar 大鼠<sup>[4]</sup>或 SD 大鼠<sup>[5]</sup>、移植 Morris Hepatoma 3924A 肝细胞癌的 ACI 大鼠<sup>[6]</sup>和移植 VX-2 鳞癌的新西兰大白兔<sup>[7]</sup>。兔 VX-2 肝癌模型是少数建立在大动物体内的肝脏富血供肿瘤模型,可以进行 Seldinger 法操作从而最大程度地模拟临床经 TACE 治疗肝癌的操作过程,该模型也是供介入治疗药动力学研究较好的模型;ACI 大鼠肝细胞癌模型的肿瘤类型与人类大多数肝癌病理组织类型相一致(属 Edmondson III 级、低分化肝细胞癌)<sup>[8]</sup>,属于原位移植性肝癌模型,能较好地重现临床实际,使用该模型介入治疗肝癌的实验研究近年来国内已有报道<sup>[9]</sup>。Wistar 和 SD 大鼠移植性肝癌模型国内研究较多,以其肿瘤血供与人类原发性

肝癌相似,造模周期短、实验成本低、移植成功率高,广为国内学者所喜用。

保证动物模型的稳定性是开展肝癌介入实验研究的基础,对此我们有如下体会:①保证瘤株活性。Walker-256 瘤株来源于 Wistar 大鼠自发的乳腺癌肉瘤,以 Wistar 幼鼠为种鼠制作腹水瘤的成功率高,适合瘤株的保种传代。移植用瘤块必须选用皮下瘤周边呈鱼肉样、质地偏硬的肿瘤组织;②提高操作技术。从制备瘤块到关腹的各个环节都应严格无菌操作,努力将手术打击降至最低,防止因感染和脏器粘连而影响大鼠的自然生存期;保证肿瘤器械专用,防止因腹壁或邻近脏器肿瘤种植而影响后续血管介入操作的成功率。

### 3.2 血管介入技术

提高 TACE 抗肿瘤疗效、降低不良反应除选择合理的化疗栓塞剂以增强药物对肿瘤细胞的靶向性等外,运用超选择插管技术至关重要。该项技术已广泛运用于肝癌 TACE 的治疗中,然而就大鼠血管介入治疗实验而言,大鼠肝叶多,肝动脉各分支细,肝脏分为 6 叶,以肝门为中心逆时针依次为乳头叶、左外叶、左内叶、中叶、右叶和尾状叶,肝固有动脉分为左、右、头 3 支入肝实质,其中左支进入 2 片乳头叶,右支入右叶前分支及尾状叶,头支较粗分为 3 支,分别入左外叶、左内叶和中叶<sup>[10]</sup>。肝动脉灌注染料后观察肝脏染料弥散度,可以在一定程度上模拟药物在肝内分布、代谢的过程,我们在对正常大鼠行经胃十二指肠动脉逆行插管术并灌注染料的实验中,发现除大鼠尾状叶及乳头叶染料弥散较少外,其余肝叶染料弥散均非常丰富。虽然从理论上讲,肿瘤组织对灌注的染料具有一定的“虹吸作用”,但是从常规组的实验结果分析,该作用未能将所有染料靶向性地吸收入荷瘤肝叶,提示常规的大鼠血管给药技术并不能模拟临床超选择插管的效果。鉴于此,我们改进实验技术,用血管夹暂时阻断肝固有动脉的右侧分支(即:肝固有动脉右支及头支的右侧分支),明显地降低了大鼠肝脏尾状叶、右叶和中叶的染料灌注量,从而达到间接的“超选择插管”的效果。因此,大鼠移植性肝癌模型的改良 Lindell 给药技术能进一步地模拟肝癌 TACE 操作方法,使大鼠肝癌经肝动脉介入治疗的实验研究结果更好地指导临床运用。


在对大鼠移植性肝癌模型实施插管给药操作过程中,我们认为需要注意以下几点:①尽可能地减小

人为因素对模型鼠的肝功能损害。暴露手术视野时,固定肝叶的动作须轻柔,因大鼠肝叶较脆,极易造成肝包膜下瘀血;游离肝总动脉及灌注药物时,肝门血管阻断时间不宜过长,尽量将肝脏缺血再灌注损伤降低至最低程度;②门静脉在大鼠肝脏附属管道中直径最粗,但管壁薄易撕裂。胃十二指肠动脉和部分肝总动脉通过系膜及脂肪组织紧贴门静脉并走行于其上方,故术中血管分离操作必须十分小心,以免误伤大鼠门静脉;③肝固有动脉右侧分支较细,游离困难。在阻断肝总动脉前,先找到充盈的靶血管,用显微血管夹将靶血管连同周围系膜、胆管同时阻断,给药后及时放松血管夹,并不影响靶血管的再通;④对模型鼠实施治疗的时机不宜过晚。肿瘤生长过大可能影响术中视野的暴露,部分模型晚期因肝门淋巴结转移可导致血管游离困难;⑤严格控制麻醉剂量。麻醉过浅影响血管穿刺成功率,麻醉过深则不利于术后模型鼠的恢复。

### [参考文献]

- [1] Ling CH, Li Q, Liu XH, et al. Infusion of Melittin-poly lactic-co-glycolic acid microspheres via hepatic artery for hepatocarcinoma in rats[J]. World Chin J Digestol, 2003, 11:900-903.
- [2] 严德辉, 严律南. SD 大鼠移植性肝癌模型建立的几个问题探讨[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2003, 10:128-130.
- [3] Lindell B, Aronson KF, Nesselin B, et al. Repeated arterial embolization of rat liver by degradable microspheres[J]. Eur Surg Res, 1988, 9: 347-352.
- [4] Zheng CS, Feng CS. An implantable rat liver tumor model for experimental transarterial chemoembolization therapy and its imaging features[J]. World J Gastroenterol, 2002, 8:1035-1039.
- [5] Tancredi T, Cuskey P A. Changes in rat liver microcirculation after experimental hepatic arterial embolization; comparison of different embolic agents[J]. Radiology, 1999, 211:177-181.
- [6] Trubenbach J, Graepler F, Pereira PL, et al. Growth characteristics and imaging properties of the morris hepatoma 3924A in ACI rats: a suitable model for transarterial chemoembolization[J]. Cardiovasc Intervent Radiol, 2000, 23: 211-217.
- [7] Sotaro S, Toshiyuki S, Kenji I, et al. Pharmacokinetics of 5-fluorouracil following hepatic intra-arterial infusion in a VX2 hepatic metastasis model[J]. Jpn J Clin Oncol, 2003, 33:377-381.
- [8] Yang R, Liu Q, Rescorla FJ, et al. Experimental liver cancer: Improved response after hepatic artery ligation and infusion of tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma[J]. Surgery, 1995, 118: 768-774.
- [9] Qian J, Trubenbach J, Graepler F, et al. Application of poly-lactide-co-glycolide-microspheres in the transarterial chemoembolization in an animal model of hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2003, 9:94-98.
- [10] 吕毅, 潘承恩, 孟令衷, 等. SD 大鼠肝脏及附属管道的应用解剖[J]. 西安医科大学学报, 1998, 19:70-73.

(收稿日期:2005-09-29)

作者：[顾伟](#)，[沈婕](#)，[韩克起](#)，[王喜](#)，[张亚妮](#)，[凌昌全](#)，[GU Wei](#)，[SHEN Jie](#)，[HAN Ke-qi](#)，[WANG Xi](#)，[ZHANG Ya-ni](#)，[LING Chang-quan](#)  
作者单位：[200433, 上海, 第二军医大学长海医院中医科](#)  
刊名：[介入放射学杂志](#)   
英文刊名：[JOURNAL OF INTERVENTIONAL RADIOLOGY](#)  
年，卷(期)：[2006, 15\(1\)](#)  
被引用次数：[1次](#)

参考文献(10条)

1. [Ling CH, Li Q, Liu XH](#) [hffusion of Melittin-poly lactic-coglycolic acid microspheres via hepatic artery for hepatocarcinoma in rats](#) 2003
2. [严德辉, 严律南](#) [SD大鼠移植性肝癌模型建立的几个问题探讨](#)[期刊论文]-[中国普外基础与临床杂志](#) 2003
3. [Lindell B, Aronson KF, Ncsslin B](#) [Repeated artial embolization of rat liver by degradable microspheres](#) 1988
4. [Zheng CS, Feng GS](#) [An implantable rat liver tumor model for experimental transarterial chemoembolization therapy and its imaging features](#)[期刊论文]-[World J Gastroenterol](#) 2002
5. [Tancredi T, Cuskey P A](#) [Changes in rat liver microcirculation after experimental hepatic arterial embolization:comparison of different embolic agents](#) 1999
6. [Trubenbach J, Graepler F, Pereira PL](#) [Growth characteristics and imaging properties of the morris hepatoma 3924A in ACI rats:a suitable model for transarterial chemoembolization](#) 2000
7. [Sotaro S, Toshiyuki S, Kenji I](#) [Pharmacokinetics of 5-fluorouracil following hepatic intra-arterialInfusion in a VX2 hepatic metastasis model](#) 2003
8. [Yang R, Liu Q, Rescorla FJ](#) [Experimental liver cancer:Improved response after hepatic artery ligation and infusion of tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma](#) 1995
9. [Qian J, Truebenbach J, Graepler F](#) [Application of polylactide-co-glycolide-microspheres in the transarterial chemoembolization in an animal model of hepatocellular carcinoma](#)[期刊论文]-[World J Gastroenterol](#) 2003
10. [吕毅, 潘承恩, 孟令衷](#) [SD大鼠肝脏及附属管道的应用解剖](#) 1998

引证文献(1条)

1. [许卫国, 杨建勇, 李鹤平, 陈伟, 庄文权](#) [建立大鼠肝动脉插管途径的方法学研究](#)[期刊论文]-[介入放射学杂志](#) 2007(4)

本文链接：[http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_jrfsxzz200601013.aspx](http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_jrfsxzz200601013.aspx)  
授权使用：[qkxb11\(qkxb11\)](#)，授权号：[150c2fa1-7013-4423-9feb-9ele018ad44f](#)

下载时间：2010年10月29日