

· 实验研究 ·

电化学治疗诱发大鼠种植型肝癌细胞凋亡的实验研究

邵成伟 王培军 田建明 张火俊 左长京 王敏杰 郝西彦 陈炜

【摘要】 目的 比较电化学治疗对大鼠种植型肝癌细胞凋亡的影响。方法 制作大鼠肝癌动物模型,应用电化学疗法进行治疗,7d 后影像学、病理光镜观察肿瘤大小、坏死变化,计算肝肿瘤细胞凋亡指数,与对照组比较。结果 电化学治疗前,大鼠肝肿瘤平均体积为 $(100 \pm 6) \text{ mm}^3$,电化学治疗后 7d,大鼠肝肿瘤平均体积为 $(125 \pm 10) \text{ mm}^3$,而荷瘤对照组肝肿瘤平均体积为 $(190 \pm 11) \text{ mm}^3$ ($P < 0.05$)。治疗组肝肿瘤细胞凋亡指数为 $9.625\% \pm 1.172\%$,荷瘤对照组细胞凋亡指数为 $3.523\% \pm 0.894\%$ ($P < 0.01$)。治疗组病理检查,光镜下肿瘤细胞明显坏死。结论 电化学疗法能诱发细胞凋亡,促进肿瘤坏死,抑制肿瘤生长。

【关键词】 肝癌;电化学治疗;细胞凋亡;动物模型

Experimental study of electrochemotherapy on implanted liver tumor cells apoptosis of rats. SHAO Cheng-wei, WANG Peijun, TIAN Jianming, et al. Department of Radiology, Changhai Hospital Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

【Abstract】 Objective To compare the effects of electrochemotherapy (EChT) on implanted liver tumor cells apoptosis of rats. Methods Immediate cancerous ascitis injection method was used for the formation of rats liver tumor model and then followed by rats liver tumor treatment with EChT. Tumor size, necrosis and apoptosis indexes were observed after one week by imaging or pathologic method. The results were compared with those of control group. Results Before EChT, rats liver tumor volume appeared as $(100 \pm 6) \text{ mm}^3$ and turned to be $(125 \pm 10) \text{ mm}^3$ one week after EChT, which were significantly smaller than those of the control group [$(190 \pm 11) \text{ mm}^3$], $P < 0.05$. Apoptosis indexes were 9.625 ± 1.172 and 3.523 ± 0.894 in EChT group and control group respectively ($P < 0.01$). Tumor necrosis in EChT group increased significantly than those of the control group. Conclusions The growth of rats liver tumor is obviously inhibited through inducing apoptosis and promoting necrosis by EChT.

【Key words】 Neoplasm, liver; Electrochemotherapy; Apoptosis; Animal model

肝癌已经成为严重危害我国人民身体健康的恶性肿瘤之一。当前,原发性肝癌的疗效远不理想,影响疗效的主要因素之一就是能够手术切除的早期肝癌不足 $1/5^{[1]}$ 。绝大部分患者发现时已经为中、晚期,失去了最佳手术机会,因此非手术治疗肝癌成为研究热点。EChT 治疗恶性肿瘤自开展以来,已被众多学者证实为安全有效的治疗方法^[2]。我们以大鼠种植型肝癌作为研究对象,就电化学疗法诱导肿瘤细胞凋亡,促进肿瘤坏死,抑制肿瘤生长进行了初步研究。

材料和方法

一、实验器材

BK-92A 型电化学治疗仪,铂金电极针,常用动物实验手术器材、CT 扫描仪 1 台。

二、实验动物模型建立

选取雄性 SD 健康成年大鼠(由中科院上海实验动物中心提供),体重 $(200 \pm 20) \text{ g}$ 。种植型肝癌采用 Walker-256 瘤株,由上海医药工业研究院提供,将冻存的瘤株复苏,体外培养至细胞数 $(2 \sim 6) \times 10^6/\text{ml}$ 时,取 1ml 注入大鼠腹腔,7d 后抽取血性腹水 1ml,再传至另外 1 只传代大鼠腹腔,7d 后血性腹水生成,肿瘤细胞活性稳定便可使用。大鼠种植型肝癌动物模型制作方法见参考文献 [3]。

三、实验动物分组

接种瘤株 7d 后,根据 CT 检查结果,选取肝肿瘤大小相近(直径 0.6~0.8cm)的大鼠肝癌模型随机分为两组,每组 15 只大鼠,即荷瘤对照组(假手术组)不做任何治疗,开、关腹步骤同治疗组;EChT 组将铂金电极针直视下插入肝肿瘤,连接 EChT 仪进行治疗。

四、EChT 步骤

荷瘤大鼠麻醉、固定,无菌状态下开腹,暴露荷瘤肝叶,直接将铂金电极针插入肝肿瘤中,阳极位于瘤体中心,周边按三角形分布各插 3 根电针,接阴极,两电极针相距约 3~4mm,控制电压设计为 10V,电流在 3mA,时间 10min,总能量约 30J。

2. 观察内容

(一)影像学改变 Walker-256 瘤株接种后第 7 天,所有大鼠均行 CT 扫描,观察影像学特点,并测量肝肿瘤的长、宽径,按公式(肿瘤体积=最大径×最小径÷2)计算肝肿瘤体积。随后治疗组予以相应治疗,治疗后 7d,行 CT 检查,观察 EChT 治疗后肝肿瘤影像学特征变化,并测量肿瘤体积,比较治疗组与对照组肝肿瘤平均体积的差异。

(二)病理学变化 治疗前处死 5 只荷瘤大鼠,切取荷瘤肝组织送病理检查,苏木精-伊红染色和甲基绿派洛宁 G 和马休黄 S 组合染色法(MG-P-MY 组合染色),行光镜检查,观察其病理特征。EChT 治疗后 7d,治疗组与对照组分别处死 5 只大鼠,送病理检查,同上法组合染色,比较肿瘤组织病理学改变。

(三)肝肿瘤细胞凋亡指数 MG-P-MY 组合染色的每张切片随机挑选 5 个视野进行细胞计数,累积 5 个视野(10×40)的凋亡细胞数,细胞凋亡指数是以明显的凋亡阳性染色细胞占同一视野细胞总数的百分比表示:

凋亡指数(AI)=凋亡细胞数/细胞总数×100%

六、统计学处理

所有数据均采用 SAS 6.02 统计软件进行处理,检验水准 α=0.05。

结 果

EChT 治疗后 7d,荷瘤对照组大鼠 CT 检查结果显示,肝肿瘤生长迅速,体积明显增大,近半数肿瘤与前腹壁粘连,浸润生长,腹腔明显膨隆,并且有 4 只死亡,死亡率约 26.7%;EChT 组大鼠 CT 检查显示,原低密度肝肿瘤内可见多处更低密度影,肝肿瘤体积增长与对照组比较均明显减慢。所有治疗组大鼠无一死亡。

病理检查表明,荷瘤对照组苏木精-伊红染色,光镜下均见明显肿瘤细胞染色,核大,深染,坏死不明显,肿瘤周边少许炎性细胞浸润;EChT 组,肿瘤区可见大片坏死,镜下呈一片荒凉景象,肿瘤细胞溶解、破碎,并见细胞核碎片,固缩表现。采用 MG-P-MY 组合染色法,对照组肿瘤组织仅可见少数凋亡细胞,EChT 后凋亡细胞数明显增多(图 1,2)。EChT 组与荷瘤对照组肿瘤体积变化及凋亡指数比较见表 1。

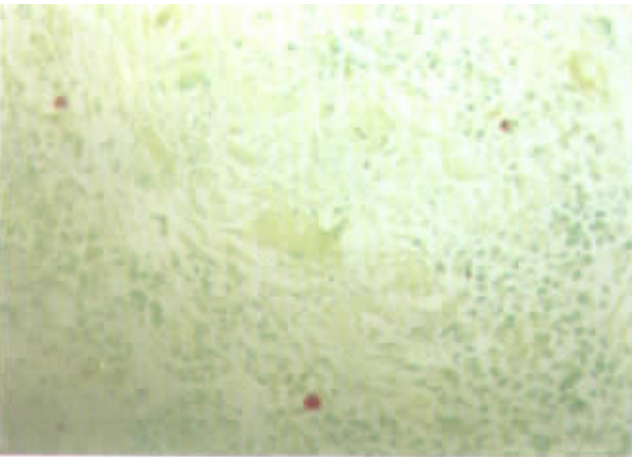


图 1 EChT 治疗前 MG-P-MY 组合染色,见少数凋亡细胞,细胞形态完整,细胞核明显固缩,特殊染色剂明显深染

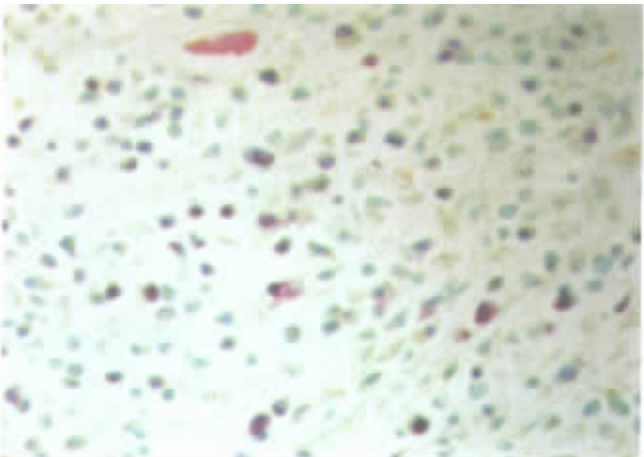


图 2 EChT 治疗后,光镜下每视野可见多个凋亡细胞

表 1 两组肿瘤体积变化及凋亡指数比较

分组	动物数	肿瘤体积(mm ³)		生长率	AI(%)
		治疗前	治疗后		
对照组	15	100±6	190±11	90%	3.523±0.894
EChT 治疗组	15	100±6	125±10	25%	9.625±1.172

治疗后 EChT 治疗组与荷瘤对照组肿瘤体积比较 $P<0.05$,AI 比较 $P<0.01$

讨 论

EChT 是在生物闭合电路学说(biological closed electric circuits ,BCEC)的基础上 ,根据 Norderstrom 等^[4]提出的闭合电路理论建立起来的。EchT 是将正、负铂金电极导入肿瘤组织 ,施以低水平的直流电压 ,在肿瘤组织内部形成一定的生物电场 ,使肿瘤组织发生电解、电泳和电渗等作用 ,肿瘤细胞生存的微环境发生剧烈变化 ,强制性地使组织的代谢发生紊乱 ,导致癌细胞破坏死亡。

目前认为肿瘤的发生和发展与细胞的异常增殖和分化有关 ,同时也与细胞凋亡异常有关。多数学者认为 ,癌组织中细胞凋亡现象并不常见 ,而癌旁组织和癌前病变组织中细胞凋亡现象较易被观察到 ,提示肿瘤细胞凋亡被抑制 ,可能正是肿瘤发病机制之一^[5]。从细胞凋亡的角度研究肿瘤的发生和发展规律 ,将有可能阐明肿瘤的发病机制 ,为肿瘤的治疗开辟新途径 ,还有助于全面评价各种疗法的疗效。

目前常用的细胞凋亡检测方法主要有 :① 流式细胞仪技术(FCM) ,由于凋亡细胞内 DNA 裂解成片段 ,在 DNA 直方图上 G1/G0 峰偏侧出现亚二倍体细胞的峰型即凋亡峰。此峰 DNA 含量的百分比即为凋亡细胞的量。② 末端脱氧核苷酸转移酶(TdT)介导的 dUTP 缺口端标记技术(TUNEL) ,主要通过 DNA 片段的检测来证实细胞凋亡的存在。③ DNA 凝胶电泳 :凋亡细胞 DNA 裂解 ,电泳时出现特征性的梯状 DNA 带。④ 光镜电镜检测 :主要通过寻找特征性的凋亡小体。

MG-P-MY 组合染色法是一种敏感且简便的显示肿瘤细胞凋亡的染色方法^[6]。应用此法染色凋亡细胞核中的 DNA 呈绿黑色 ,细胞浆中的 RNA 呈红色 ,背景呈黄色 ;可见组织中的凋亡小体有透明的

空晕与周围细胞相分离或带有连接等 ;肿瘤细胞中的 DNA 不着色。我们采用 MG-P-MY 组合染色法发现 ,大鼠肝肿瘤未经治疗仅能见到少量凋亡细胞 ,EChT 治疗后 ,每个高倍镜视野内可见多个凋亡细胞 ,镜下表现为细胞形态完整 ,细胞核明显固缩 ,特殊染色剂明显深染。治疗组与荷瘤对照组 AI 比较差异具有显著性。EChT 诱发细胞凋亡的机制可能与以下几点有关 :① 通电后 ,由于细胞膜通透性发生改变 ,质子和其他离子在电场内移动扩散 ,阴离子移向正极 ,阳离子移向负极 ,使阳极区呈强酸性 ,阴极区呈强碱性 ,局部强酸、强碱可诱发细胞凋亡。② EChT 过程中 ,不断有气泡自电极针插入处冒出 ,阳极产生 O₂、Cl₂ ,阴极产生 H₂ 等气体。这些气体是强氧化或还原剂 ,具有杀伤肿瘤细胞 ,诱发细胞凋亡的作用。③ EChT 时 ,局部温度较周围正常组织明显升高 ,治疗局部高温 ,除导致肿瘤细胞坏死外亦具有诱发细胞凋亡的作用。④ 在电渗透作用下 ,水从阳极移向阴极 ,造成阳极凝固性坏死 ,阴极液化性坏死 ,并导致血管收缩、微血栓形成 ,肿瘤组织缺血缺氧也可诱发细胞凋亡。

因此本实验研究结果表明 ,EChT 除明显促进肿瘤组织坏死外 ,还具有诱发肿瘤细胞凋亡的作用。细胞凋亡为细胞的程序性死亡 ,存在着严格的调控机制 ,凋亡的启动对于肿瘤细胞的死亡 ,抑制肿瘤的生长具有一定的意义 ,EChT 诱发细胞凋亡的确切机制和作用尚有待进一步深入研究。

参 考 文 献

1 吴孟超. 肝脏外科的回顾、现状及展望. 中国实用外科杂志 2000 , 20 5.

2 崔恒武,田建明,陈爱华,等. CT 导引下电化学治疗肝癌. 中华放射学杂志 2002 ,36 317-320.

3 邵成伟,王培军,田建明,等. 直接注射法制作大鼠肝癌模型. 中国医学影像技术 2002 ,18 731-732.

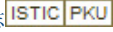
4 Norderstrom BEW. Survey of mechanism in elechochemical treatment of cancer. Eur J Surg ,1994 , 574(Suppl) 93.

5 Kerr JER , Winterford CM , Biol ADA , et al. Apoptosis : its significance in cancer therapy. Cancer ,1994 , 73 2013.

6 龚志锦,詹容洲,郑建明,等. MG-P-MY 显示乳腺肿瘤细胞凋亡的组合染色法. 细胞与分子免疫学杂志 ,1997 ,13(Suppl) 6-7.

(收稿日期 2003-01-29)

电化学治疗诱发大鼠种植型肝癌细胞凋亡的实验研究

作者: 邵成伟, 王培军, 田建明, 张火俊, 左长京, 王敏杰, 郝西彦, 陈炜
作者单位: 200433, 上海, 第二军医大学长海医院放射科
刊名: 介入放射学杂志 
英文刊名: JOURNAL OF INTERVENTIONAL RADIOLOGY
年, 卷(期): 2003, 12(2)
被引用次数: 3次

参考文献(6条)

1. 吴孟超 肝脏外科的回顾、现状及展望[期刊论文]-中国实用外科杂志 2000(01)
2. 崔恒武, 田建明, 陈爱华 CT引导下电化学治疗肝癌[期刊论文]-中华放射学杂志 2002(04)
3. 邵成伟, 王培军, 田建明 直接注射法制作大鼠肝癌模型[期刊论文]-中国医学影像技术 2002(08)
4. Norderstrom BEW Survey of mechanism in elechochemical treatment of cancer 1994(zk)
5. Kerr JER, Winterford CM. Biol ADA Apoptosis: its significance in cancer therapy 1994
6. 龚志锦, 詹容洲, 郑建明 MG-P-MY显示乳腺肿瘤细胞凋亡的组合染色法 1997(Suppl)

相似文献(10条)

1. 期刊论文 邵成伟, 王培军, 田建明, 张火俊, 左长京, 郝西彦, 任方远, 袁庆中, 李树平 大鼠种植型肝癌电化学治疗后感影像学特征的改变 -介入放射学杂志2003, 12(2)

目的了解大鼠种植型肝癌电化学治疗前后的影像学特征变化。方法采用直接注射法制作大鼠肝癌动物模型, 应用CT、MRI观察大鼠种植型肝癌电化学治疗前后肿瘤大小、密度、边缘、强化、信号等影像学特征变化。结果大鼠肝癌种植后7d, 种植肝叶均可见类圆形、单发瘤灶影, 大小约0.6~0.8cm, CT平扫为低密度, 增强后边缘强化; MRI扫描T1WI为低信号, T2WI为高信号。电化学治疗后7d, CT平扫均为低密度, 增强后无明显强化; MRI扫描T1WI为高信号为主混杂信号, T2WI为相对低信号。结论大鼠种植型肝癌电化学治疗前后影像学特征分析有助于评价治疗效果。

2. 期刊论文 邵成伟, 王培军, 田建明, 张火俊, 左长京, 郝西彦, 任方远, 袁庆中, 李树平 电化学治疗对荷肝癌大鼠细胞因子表达水平的影响 -中国医学影像技术2003, 19(4)

目的了解电化学治疗对大鼠种植型肝癌外周血细胞因子表达水平的影响。方法应用免疫试剂盒检测荷瘤大鼠电化学治疗前后外周血IL-2、sIL-2R、IL-6、TNF- α 表达水平的变化, 并与对照组进行比较。结果荷瘤大鼠电化学治疗前IL-2水平呈低表达, sIL-2R、IL-6、TNF- α 则高表达, 与正常大鼠比较差异显著。电化学治疗后, 与同期荷瘤大鼠对照组比较, IL-2表达水平升高, sIL-2R、IL-6、TNF- α 表达水平下降。结论肿瘤负荷可导致大鼠细胞因子表达紊乱, 电化学治疗可改善和纠正机体免疫紊乱, 增强大鼠免疫力。

3. 期刊论文 邵成伟, 王培军, 田建明, 张火俊, 左长京, 郝西彦, 任方远, 袁庆中, 李树平 大鼠种植型肝癌电化学治疗与细胞免疫功能的改变 -中国医学影像技术2003, 19(5)

目的了解大鼠种植型肝癌电化学治疗(ECHT)后细胞免疫功能状态的变化。方法应用流式细胞仪检测荷瘤大鼠治疗前后T细胞表面抗原(CD3、CD4、CD8)及应用免疫试剂盒检测外周血IL-2表达水平的变化, 并与对照组进行比较。结果荷瘤大鼠治疗前CD3+、CD4+、CD8+、CD4+/CD8+、外周血IL-2表达水平均低于对照组。电化学治疗后CD3+、CD4+、CD8+、CD4+/CD8+均有所回升, 外周血IL-2水平回升。结论荷瘤大鼠存在免疫功能低下, 电化学治疗可纠正免疫紊乱, 提高大鼠免疫功能。

4. 期刊论文 邵成伟, 王培军, 田建明, 张火俊, 左长京, 郝西彦, 任方远, 袁庆中, 李树平 大鼠种植型肝癌电化学治疗的实验研究 -中国医学影像技术2003, 19(6)

目的探讨电化学疗法(ECHT)对大鼠种植型肝癌的治疗效果。方法制作大鼠肝癌动物模型, 应用电化学疗法进行治疗, 1周后影像学、病理光镜观察肿瘤大小、坏死、凋亡变化, 与对照组比较, 并观察生存期的长短。结果电化学治疗前, 大鼠肝肿瘤平均体积为(100 \pm 6)mm³, 电化学治疗后1周, 大鼠肝肿瘤平均体积为(125 \pm 10)mm³, 而荷瘤对照组肝肿瘤平均体积为(190 \pm 11)mm³; 治疗组肿瘤生长率为25%, 而荷瘤对照组肝肿瘤生长率为90%, P<0.05。治疗组病理光镜下肿瘤明显坏死, 并可诱发细胞凋亡; 生存期明显延长。结论电化学疗法可明显抑制肿瘤生长, 促进肿瘤坏死, 诱发细胞凋亡, 延长大鼠生存期。

5. 期刊论文 邵成伟, 王培军, 田建明, 张火俊, 左长京, 郝西彦, 任方远, 袁庆中, 李树平 大鼠种植型肝癌电化学治疗与射频治疗的疗效比较 -介入放射学杂志2003, 12(2)

目的比较电化学疗法与射频治疗对大鼠种植型肝癌的治疗效果。方法制作大鼠肝癌动物模型, 分别应用电化学疗法与射频疗法进行治疗, 1周后影像学、病理光镜观察肿瘤大小、坏死、凋亡变化, 与荷瘤对照组比较, 并观察生存期的长短。结果治疗前, 所有大鼠肝肿瘤平均体积为(100 \pm 6)mm³, 治疗后1周, 电化学治疗组大鼠肝肿瘤平均体积为(125 \pm 10)mm³, 射频治疗组大鼠肝肿瘤平均体积为(143 \pm 12)mm³, 而荷瘤对照组肝肿瘤平均体积为(190 \pm 11)mm³; 两治疗组间比较差异无显著性, 与对照组比较差异有显著性P<0.05。两治疗组组织病理检查, 光镜下均见肿瘤组织坏死明显, 并可诱发细胞凋亡; 生存期明显延长。结论电化学疗法与射频治疗均可明显促进肿瘤坏死, 诱发细胞凋亡, 抑制肿瘤生长, 延长大鼠生存期。

6. 期刊论文 王培军, 崔恒武, 辛育龄, 左长京, 陈爱华, 邵成伟, 张火俊, 李树平, 李晓兵 CT引导下肝癌电化学治疗的临床应用研究 -放射学实践2002, 17(1)

目的: 评价电化学疗法(ECT)治疗肝癌的价值。方法: 229例肝癌, 163例经穿刺活检证实, 66例根据典型的临床症状和体征、CT和/或MRI表现、实验室有关检测结果等作出诊断。临床Ⅱ期64例、Ⅲ期96例、Ⅳ期69例。全部病例行CT引导下ECT治疗, 其中58例行2次治疗, 8例行3次治疗。结果: 近期疗效: 治疗后1年随访, 完全缓解(CR)47例(20.5%)、部分缓解(PR)72例(31.4%)、稳定(NC)40例(17.5%)、进展(PD)19例(8.2%)。远期疗效: 治疗后1年、2年、3年、5年的生存率分别为77.7%、41.5%、29.3%、9.6%。治疗后即时CT扫描示肿瘤内均有低密度坏死灶及气体影。1个月CT或MRI复查, 肿瘤有不同程度坏死和缩小。1年后CT或MRI随访, 47例肿瘤灶消失, 112例肿瘤有广泛的坏死和缩小, 19例肿瘤增大。治疗后86例AFP转阴, 78例AFP值明显下降。治疗后2周~2个月, 对132例原有肝功能异常、18例有腹水患者进行随访, 未发现肝功能恶化及腹水加重情况。结论: ECT对肝癌具有确切疗效, 且安全、并发症少, 与经肝动脉栓塞

化疗 (TACE)、经皮酒精消融 (PEI) 和射频治疗 (RFT) 方法联合应用, 提高疗效。

7. 期刊论文 [陈静瑜, 潘兆麟, 吴鹏西, 何毅军](#) [超声引导离子加速电化学治疗晚期肝癌13例报告](#) -[中国航天医药杂志](#)

2001, 3 (2)

目的: 进一步探讨超声引导下离子加速电化学治疗肝癌的可行性和疗效。方法: 13例晚期肝癌患者进行超声引导下离子加速电化学治疗, 术中电压6~9伏特, 电流50~70毫安, 治疗时肿瘤内注入5%盐水2ml+卡铂100~200mg。结果: CR (完全缓解) 5例 (38. 5%), PR (部分缓解) 4例 (30. 7%), 有效率 (CR+PR) 69. 2%。一年生存率为84. 6% (11/13), 三年生存率38. 5% (5/13), 五年生存率7. 7% (1/13)。结论: 超声引导下离子加速电化学治疗是一种安全、有效的治疗方法, 尤其适合于中晚期肝癌和转移性肝癌、术后复发的肝癌治疗。

8. 期刊论文 [崔屹, 张安忠, 孙尧, 刘吉勇](#) [肝动脉栓塞化疗加电化学治疗肝癌近期疗效观察](#) -[肿瘤防治杂志](#)2001, 8 (4)

目的: 比较无手术指征肝癌患者单纯肝动脉栓塞化疗与在肝动脉栓塞化疗基础上行电化学治疗的近期疗效。方法: 选择无手术指征的肝癌患者59例, 随机分为单纯肝动脉栓塞化疗组 (化疗组) 和肝动脉栓塞化疗加电化学治疗组 (化疗+电疗组), 比较两种治疗方法的近期疗效。结果: 在肝动脉栓塞化疗基础上行电化学治疗在肿瘤缩小、肝区疼痛消失方面优于单纯肝动脉栓塞化疗。结论: 无手术指征肝癌患者在肝动脉栓塞化疗的基础上行电化学治疗近期疗效显著。肿瘤防治杂志, 2001, 8 (4): 398-399

9. 期刊论文 [彭玉兰, 刘继彦, 卢实春, 马步云, 魏于全, 罗锋](#) [中晚期肝癌电化学治疗前后肿瘤血供变化及病理学变化](#)

-[中国超声医学杂志](#)2002, 18 (5)

目的: 探讨电化学治疗 (ECT) 中晚期肝癌的作用机理和评价疗效。方法: 对32例中晚期肝癌在超声导向下进行ECT 71次, 治疗前、后用彩色多普勒超声 (CDFI) 观察肿瘤血供变化, 用病理学方法观察肿瘤细胞的变化。结果: ECT后CDFI发现肿瘤血供减少 ($P<0. 05$), 病理学证实肿瘤细胞坏死。结论: ECT对中晚期肝癌有肯定的疗效, 可以使肿瘤细胞凋亡, 对巨块型肝癌则难以达到肿瘤组织完全坏死的目的。

10. 学位论文 [邵成伟](#) [大鼠种植型肝癌电化学治疗的实验研究](#) 2003

第一部分 大鼠种植型肝癌模型的建立; 研究目的: 分别采用直接注射法和瘤块嵌插法制作大鼠Walker-256种植型肝癌动物模型, 观察种植型肝癌的影像学、病理学特征, 比较两种方法的接种阳性率、肿块大小、生长速度、肝临近脏器浸润转移情况。材料和方法: 冻存的Walker-256瘤株复苏, SD雄性成年大鼠40只, 体重 200 ± 20 g; 随机分两组。直接注射法是将经过离心浓缩的微量瘤性腹水直接注入大鼠肝脏, 瘤块嵌插法采用微小瘤组织块嵌入大鼠肝脏包膜下种植肿瘤。1周后, 两组大鼠均行CT平扫、增强扫描及MRI扫描, 观察肿瘤的大小、密度、信号、边缘等。病理大体及HE染色后光镜下观察其病理学特征。根据影像学、病理学结果比较两种方法的接种阳性率、肿块大小、生长速度、肝临近脏器浸润转移情况。结论: 大鼠Walker-256种植型肝癌在肝内呈膨胀性和浸润性生长, 其影像学表现与人原发性肝癌相似, 适宜于肝癌介入治疗的实验研究。直接注射法与瘤块嵌插法比较具有以下优点: 1、成瘤时间短, 大大缩短了实验周期。2、制作方法更简易。但直接注射法由于采用瘤性腹水直接注射, 存在沿针道返流可能性, 邻近脏器浸润机会增多。第二部分 大鼠种植型肝癌电化学疗效评价的实验研究; 研究目的: 采用电化学疗法治疗大鼠处型肝癌, 通过大鼠种植型肝癌电化学疗法治疗前后影像学、病理组织学、细胞凋亡、细胞免疫功能改变、系列细胞因子 (IL-2、sIL-2R、IL-6、TNF- α) 表达水平变化、生存期的观察比较, 全面而合理地评价电化学疗法对大鼠种植型肝癌的疗效, 为临床相关研究工作的开展奠定基础。材料和方法: Walker-256种植型肝癌大鼠50只, 随机分两组: 电化学治疗组35只, 荷瘤对照组15只, 另取同样大小正常大鼠10只做空白对照组。电化学治疗组大鼠无菌状态下开腹, 暴露出荷瘤肝叶, 直视下将铂金电极针平行插入肝肿瘤中, 深度要穿通肿瘤, 阳极位于瘤体中心, 周边按等边三角形分布各插入三根阴极电极针, 阴阳极电极针相距约 $3\sim 4$ mm, 接通电化学治疗仪, 控制电压为6~8V, 电流 $10\sim 20$ mA, 治疗时间约10min, 总电量约30库仑。大鼠种植型肝癌电化学疗法治疗后1、2周, 分别行CT、MRI扫描, 观察肿瘤大小、密度、信号、边缘等影像学特征变化。大鼠种植型肝癌电化学疗法治疗后1周, 治疗组和荷瘤对照组各将处死5只大鼠, 切取肿瘤行病理学检查, HE染色和甲基绿派洛宁G和马体黄S组合染色 (MG-P-MY组合染色) 观察肝肿瘤的坏死及细胞凋亡情况, 并计算细胞凋亡指数。大鼠种植型肝癌电化学疗法治疗后1、2周, 治疗组大鼠和荷瘤、空白对照组大鼠一起, 分别从眼眶采血, 行流式细胞仪检测外周血T淋巴细胞亚群 (CD3、CD4、CD8)。电化学疗法治疗组和对对照组大鼠于治疗后1、2周, 分别采用外周血进行IL-2、sIL-2R、IL-6、TNF- α 水平检测, 并与空白对照组大鼠进行比较。电化学治疗后, 治疗组大鼠和荷瘤对照组大鼠各取10只, 不再给予任何干预, 在相同情况下, 观察它们的生存时间, 并进行生存期的比较。结论: 大鼠种植型肝癌肿瘤负荷导致细胞免疫功能和细胞因子表达紊乱, 电化学治疗促进肿瘤坏死, 诱发肿瘤细胞凋亡, 可明显抑制肿瘤生长, 改善和纠正机体免疫紊乱, 增强大鼠免疫力, 延长大鼠生存期。电化学疗法是一种有效的肝癌非手术治疗方法。

[引证文献 \(3条\)](#)

1. [陈艳华, 黎丹戎, 朱波, 蒋志峰](#) [直流电治疗诱导宫颈癌HELA细胞凋亡与外环境离子浓度变化关系的研究](#) [期刊论文]

-[中国现代医学杂志](#) 2006 (3)

2. [陈艳华, 黎丹戎, 朱波, 蒋志峰](#) [直流电治疗诱导宫颈癌HELA细胞凋亡与外环境离子浓度变化关系的研究](#) [期刊论文]

-[中国现代医学杂志](#) 2006 (3)

3. [刘彩霞, 陈瑞, 唐伟椿, 杨晋明, 刘志刚](#) [电化学疗法治疗血管瘤22例分析](#) [期刊论文] -[中国药物与临床](#) 2005 (5)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_jrfsxzz200302017.aspx

授权使用: 西安交通大学 (xajtdx), 授权号: 9ea9d49d-86ed-43c9-ae5-9e4100d2dbaa

下载时间: 2010年12月3日