

• 实验研究 Experimental research •

改良的经大鼠胃十二指肠动脉逆行肝动脉插管实验研究

初金哲, 王黎洲, 张 帅, 王黎明, 许国辉, 周 石

【摘要】 目的 探讨改良的经大鼠胃十二指肠动脉逆行肝动脉插管方法的可行性及价值。方法 Wistar 大鼠 120 只随机分为 4 组, 每组 30 只。A 组、B 组为预实验组, 分别采用改良法与传统法作肝动脉插管。C 组、D 组以穿刺种植法构建大鼠肝癌模型, 分别以改良法与传统法插管作肝动脉造影及经导管动脉化疗栓塞(TACE)治疗, 比较两种插管法成功率、大鼠肝癌建模成功率, TACE 治疗前后肿瘤体积变化、死亡率、死亡原因。结果 A、B 组肝动脉插管成功率分别为 90.0%(27/30)、63.3%(19/30), 差异有统计学意义($\chi^2=4.565, P=0.033$)。C、D 组大鼠肝癌模型均成功构建, 肿瘤种植率为 100%; 插管成功率分别为 93.3%(28/30)、70.0%(21/30), 差异有统计学意义($\chi^2=4.007, P=0.045$); C、D 组 TACE 治疗前后平均肿瘤体积差异无统计学意义($P>0.05$), 但 D 组大鼠术后 10 d 死亡率较 C 组高(42.86%对 10.71%, $\chi^2=5.079, P=0.024$), 死亡原因可能为血管受损、肝脏损伤及麻醉意外等。结论 改良的经胃十二指肠动脉逆行肝动脉插管方法简单易掌握、成功率高, TACE 术后死亡率低、并发症少, 值得继续深入研究和在相关实验中尝试。

【关键词】 胃十二指肠动脉; 肝动脉; 血管造影; 改良; 大鼠

中图分类号: R735.7 文献标志码: A 文章编号: 1008-794X(2016)-09-0798-05

Modified retrograde hepatic artery catheterization via gastroduodenal artery: an experimental study in rats CHU Jin-zhe, WANG Li-zhou, ZHANG Shuai, WANG Li-ming, XU Guo-hui, ZHOU Shi. Department of Interventional Radiology, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou Province 550004, China

Corresponding author: ZHOU Shi, E-mail: 156722229@qq.com

【Abstract】 **Objective** To discuss the technique and feasibility of modified retrograde hepatic artery catheterization via gastroduodenal artery in experimental rats. **Methods** A total of 120 Wistar rats were randomly and equally divided into 4 groups with 30 rats in each group. The group A and the group B were used as the pre-experimental groups, for them modified method and traditional method of hepatic artery catheterization were adopted respectively. Puncture inoculation method was used to establish liver tumor model in the experimental rats of group C and group D, then modified method and traditional method of hepatic artery catheterization were employed in group C and group D respectively to perform hepatic angiography and transcatheter arterial chemoembolization (TACE). The success rate of catheterization, the success rate of liver cancer modeling, the postoperative tumor volume change, mortality and cause of death were calculated and the results were compared between the modified method group and traditional method group. **Results** The success rates of catheterization in group A and group B were 90.0% (27/30) and 63.3% (19/30) respectively, the differences between the two groups were statistically significant ($\chi^2=4.565, P=0.033$). Liver cancer model was successfully established in all experimental rats of group C and group D, and the tumor inoculation rate was 100%. The success rates of catheterization in group C and group D were 93.3% (28/30) and 70.0% (21/30) respectively, the difference between the two groups was statistically significant ($\chi^2=4.007, P=0.045$). The average tumor volume difference before and after TACE between group C and

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2016.09.014

基金项目: 国家自然科学基金(81560297)

作者单位: 550004 贵阳 贵州医科大学附属医院介入科(初金哲、王黎洲、张 帅、王黎明、周 石); 四川省肿瘤医院介入科(许国辉)

通信作者: 周 石 E-mail: 156722229@qq.com

group D was not statistically significant ($P>0.05$), although the postoperative 10-day mortality rate of group D was significantly higher than that of group C (42.86% vs. 10.71%, $\chi^2=5.079$, $P=0.024$), and the possible causes of death were vascular damage, liver injury, anesthesia accident, etc. **Conclusion** The modified retrograde hepatic artery catheterization via gastroduodenal artery is technically simple and easy to master, and this technique carries a high success rate. TACE with this catheterization technique has low postoperative mortality rate and less complications. Therefore, this catheterization technique is deserved to be further investigated and to be experimented in the relevant studies. (J Intervent Radiol, 2016, 25: 798-802)

【Key words】 gastroduodenal artery; hepatic artery; angiography; modification; rat

肝癌是世界上最常见恶性肿瘤之一,全球年发病例数估计超过 100 万例,目前治疗方法主要有外科切除、肝脏移植、经导管动脉化疗栓塞(TACE)、立体定向放疗和化疗、消融术等^[1]。原发性与继发性肝癌血供主要来自肝动脉,正常肝血供主要取决于门静脉系统,因此 TACE 术可引起肿瘤广泛缺血性坏死,为不能手术切除肝癌患者提供合理的治疗标准^[2-4]。目前 TACE 基础研究中相关实验方法和步骤繁琐复杂,难以满足大批量实验研究要求。本研究旨在寻求一种简便有效的大鼠肝动脉选择性插管新方法,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物

取皮下肿瘤用清洁级 Wistar 雄性幼鼠 1 只(体重约 100 g)、成年健康清洁级 Wistar 雄性大鼠 120 只(18 周龄,体重 350~400 g)(贵州医科大学实验动物中心提供,合格证号 SYXK 黔 2012-0001)。120 只大鼠随机分为 4 组,A 组($n=30$)为改良插管预实验组,B 组($n=30$)为传统插管预实验组,C 组($n=30$)为肝癌模型改良插管栓塞实验组,D 组($n=30$)为肝癌模型传统插管栓塞实验组。

1.2 大鼠肝癌模型构建

参考以往较为成功的 Walker-256 大鼠肝癌模型制作经验^[5-6],先以 1 000 r/min 速度离心 Walker-256 细胞悬液(上海索研生物科技有限公司)约 5 min,调节细胞密度为 0.4×10^7 个/ml,取 0.3 ml 离心调节后的 Walker-256 细胞悬液注射于幼鼠背部皮下,8~11 d 后长出直径约 1 cm 瘤结节;随后处死携带母瘤幼鼠并取出瘤结节肿瘤组织,选择部分新鲜活肿瘤组织在含有培养基器皿中切取体积约 1.5 mm^3 组织块,并分别将肿瘤组织块植入 C 组及 D 组大鼠肝左叶包膜下;植入后大鼠均饲养在清洁环境中,自由进食并每隔 1~2 d 更换垫料。

1.3 实验器材和设备

手术器械包括显微直剪、直镊、弯镊、动脉夹等

常规器械,1 号、4 号缝线,儿童用 24~26 G 头皮针,Portex PE10 微导管(德国 Wenzel 公司),碘佛醇(50 ml/瓶,江苏恒瑞医药股份有限公司),碘化油注射液(10 ml/瓶,烟台鲁银药业有限公司),注射用盐酸多柔比星(10 mg/支,深圳万乐药业有限公司),Axiom Artis FA 型 DSA 机(德国 Siemens 公司),Somatom Definition AS+128 层 4 D 螺旋 CT 机(德国 Siemens 公司)。

1.4 实验方法

用针头刺入实验鼠左侧或右侧下腹部皮下,沿皮下继续向前推进约 0.5 cm,再使针头与皮肤呈 45° 角方向穿过腹肌刺入腹腔,此时有落空感,回抽无肠液、尿液后缓缓推入 10% 水合氯醛溶液(0.3 ml/100 g)^[7];固定大鼠使之仰卧于 DSA 检查床上,备皮后胸腹部予以聚维酮碘、乙醇常规消毒;沿右上腹肋沿肋缘下 0.5 cm 开腹,无菌手术刀切开皮肤 1.5~2 cm,用镊子提起切开的皮肤,沿右侧肋缘下剪开皮下肌肉(注意不要损伤肋缘下方肝脏、小肠),小心显露肝脏,用棉签分别向上、向右推开肝脏左叶及右叶,即可找到肝总动脉分支的肝固有动脉和胃十二指肠动脉^[8-9]。

传统肝动脉插管方法:钝性分离并小心显露胃十二指肠动脉,同时分离肝总动脉及肝固有动脉,用丝线轻柔地将肝固有动脉吊起并暂时夹闭肝总动脉;在胃十二指肠动脉前壁用显微剪横向剪开 $1/3 \sim 1/2$ 血管壁,经口插入微导管至肝固有动脉,松开动脉夹确认血流通畅后用丝线固定导管前端;动脉夹夹闭肝总动脉,作肝动脉 DSA 造影或 TACE;术毕拔管,结扎胃十二指肠动脉,腹腔内灌注加入 2 000 U 庆大霉素的生理盐水 3~4 ml,逐层关腹。

改良肝动脉插管方法:取儿童头皮针弯曲 90° ,尾端接 1 ml 规格注射器,注射生理盐水检查针是否通畅并排空空气,此为自制改良穿刺针及“造影导管”;小心显露出肝固有动脉及胃十二指肠动脉,插入自制穿刺针至胃十二指肠动脉并回抽血液通畅,手推生理盐水 0.5 ml 确认管腔通畅且穿刺点无明显

显渗血,即可作肝动脉 DSA 造影等实验操作,根据胃十二指肠动脉穿刺点有无渗血调整造影或 TACE 注射速度;实验完毕缓慢拔出导管,立即予以明胶海绵轻压胃十二指肠动脉穿刺点 5 min,观察有无出血,彻底止血后常规消毒并腹腔内灌注加入 2 000 U 庆大霉素的生理盐水 3~4 ml,逐层关腹。

对比剂及化疗栓塞剂配制:A、B 组将碘佛醇与生理盐水按 1:3 比例配置使用,造影时每次总量控制在 1~2 ml;C、D 组化疗栓塞剂配置为多柔比星 0.6 mg+碘化油 0.1 ml+生理盐水 0.3 ml。

TACE 前后肿瘤体积测量:接受瘤块接种的 C、D 组小鼠均于 10 d 后作腹部 CT 扫描(管电压 120 kV,管电流 25 mAs,层厚 2.0 mm),测量肝左叶肿瘤体积。根据公式 $V=ab^2/2(\text{cm}^3)$ 计算 TACE 术前肿瘤体积(V_1),其中 a 为肿瘤最大径,b 为与其呈垂直方向的最小径^[10];TACE 术后 10 d 对各组大鼠再作 CT 检查,再次测量肿瘤体积(V_2)。

记录各组大鼠实验后死亡率、死亡原因、肝癌建模成功率,C 组和 D 组 TACE 前后肿瘤体积变化。

1.5 统计学处理

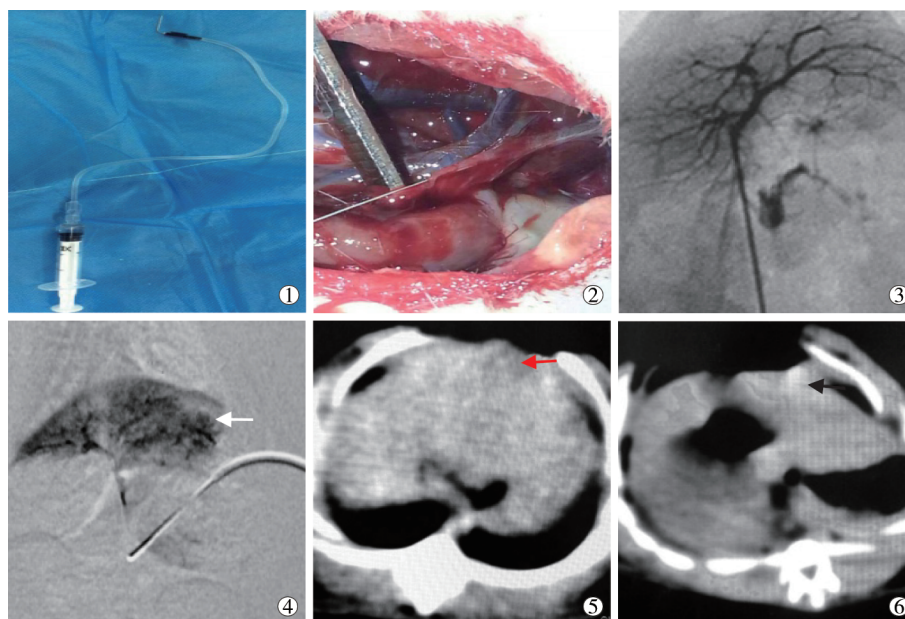
采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。计量资料用单因素方差分析,以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两两配对比较用 t 检验,各组间插管成功率比较用卡方检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

A 组肝动脉插管成功率为 90.0%(27/30),1 只大鼠肝动脉走行变异引起逆行插管不成功,1 只术前麻醉过深死亡,1 只造影拔管后穿刺点出血死亡。B 组插管成功率为 63.3%(19/30),1 只麻醉意外死亡,4 只肝动脉畸形插管失败,2 只操作粗鲁造成胃十二指肠及肝动脉损伤插管未成功,4 只造影拔管后出血致死。A 组插管成功率明显高于 B 组($\chi^2=4.565, P=0.033$)。

经过 A、B 组预实验后,C 组肝动脉插管成功率为 93.3%(28/30),1 只肝动脉走行变异逆行插管不成功,1 只造影完毕拔管后出血死亡。D 组插管成功率为 70.0%(21/30),4 只胃十二指肠动脉较纤细插管失败,2 只操作不慎致动脉损伤插管未成功,3 只造影拔管后出血死亡。C 组插管成功率明显高于 D 组($\chi^2=4.007, P=0.045$)。

C、D 组大鼠肝癌模型均成功构建,肿瘤种植率 100%。C、D 组大鼠术前 CT 扫描肝左叶,均可见大小不一团块状低密度影,边缘较清晰,未见腹水及肝左叶灶形成;术后 10 d 复查 CT 前,C 组死亡 3 只,D 组死亡 9 只,存活大鼠中均可见肝左叶病灶高密度碘油栓塞剂较术前不同程度沉积(图 1),沉积较多的肿瘤体积较术前略有缩小,沉积较少的体积较术前略有增大。



①自制改良肝动脉穿刺针及导管;②改良经胃十二指肠动脉逆行向肝动脉插管;③改良肝动脉插管 DSA 造影见肝动脉及远端分支显示良好;④C 组荷瘤鼠改良肝动脉插管造影示肝左叶肿瘤染色(箭头);⑤大鼠肝癌模型构建成功后 CT 示肝左叶稍低密度占位影(箭头);⑥TACE 术后 10 d 复查 CT 示肝左叶病灶内高密度碘油沉积(箭头)

图 1 大鼠肝动脉选择性插管新方法

比较 C、D 组 TACE 前后平均肿瘤体积 V_1 与 V_2 (表 1), 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 但 D 组大鼠术后死亡率较 C 组明显升高 ($P<0.05$)。

表 1 C、D 组 TACE 前后平均肿瘤体积 V_1 与 V_2 $\bar{x}\pm s$

| 项目 | C 组 (n=28) | D 组 (n=21) | t 值或 χ^2 值 | P 值 |
|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|-------|
| V_1/cm^3 | 0.017 \pm 0.008 | 0.018 \pm 0.007 | $t=38.761$ | 0.812 |
| V_2/cm^3 | 0.019 \pm 0.011 | 0.017 \pm 0.009 | $t=43.641$ | 0.983 |
| 术后 10 d 死亡率/% | 10.71 | 42.86 | $\chi^2=5.079$ | 0.024 |

所有存活实验大鼠均于术后 2~3 h 后苏醒, 6 h 左右基本清醒, 24 h 内可正常活动及饮食; 手术切口 3~4 d 愈合, 未发现切口及腹腔感染发生。

3 讨论

3.1 大鼠肝动脉插管意义

大鼠是相对于犬类、猫类、兔子等更接近人类基因的动物, 具有生长周期较短、体积适中、繁殖能力强、价格经济、自发性肿瘤发生率低、生存能力强、抗感染力好等诸多优点, 是目前实验研究中应用最多的动物之一^[11]。其实, 需要直视下对动脉插管的肝脏实验研究大多可在大鼠上进行, 然而由于大鼠动脉细小, 且被肝脏、肠道遮挡, 肝动脉显露及插管难度较大, 使得很多涉及肝动脉插管的实验不得不在兔、犬、猪等大动物上进行。随着实验条件改善及大量研究, 目前已能对大鼠作 TACE 实验研究^[12], 但肝动脉插管多采用传统的夹闭胃十二指肠动脉两端, 剪口后导管直接插入胃十二指肠动脉的操作步骤。本研究受 TACE 术中传统插管方法启发, 改良建立一种经胃十二指肠动脉插管至肝动脉的方法, 其操作相对传统方法简单, 可由 1 人单独操作完成, 且导管制作方便、成本低, 实验动物对插管耐受性较好。传统插管方法需剪开胃十二指肠动脉前壁, 故要用动脉夹夹闭肝总动脉, 以防止栓塞剂反流, 而改良插管方法为直接穿刺胃十二指肠动脉, 无需剪开血管壁和夹闭肝总动脉, 只要控制好栓塞剂注入速度和量即可防止反流。本研究结果显示改良插管法成功率较传统插管法高, 尤其是动物接受 TACE 治疗后 10 d 内死亡率较低, 考虑可能系改良穿刺法对大鼠血管损伤较小, 且 TACE 治疗拔管后栓塞剂经血管渗漏较少的缘故。

3.2 改良肝动脉插管法操作经验

改良肝动脉插管法成功操作的关键, 在于熟练掌握大鼠腹腔干及肝动脉、胃十二指肠动脉等分支解剖结构。大鼠腹腔干大多发源于膈肌下方 0.8~1 cm 处腹主动脉右前方, 长约 0.8 cm, 粗约 1 mm,

起始段向下行后绕至右前上方, 呈 U 形; 于腹腔干起始部同一高度, 呈逆时针方向发出脾动脉、胃左动脉及肝动脉等 3 个主要分支, 空间上与腹腔干主干形成十字形。肝动脉与胃十二指肠动脉主干处于腹腔干发出的上下同一直线的分支, 肝总动脉向上延续发出肝固有动脉, 向下延续发出胃十二指肠动脉, 空间上为人字形, 因此可以经胃十二指肠动脉逆行插管至肝动脉^[13]。

穿刺插管过程中应注意: ①改良穿刺针可大大降低胃十二指肠游离长度, 避免分离较长血管所带来的血管及肝脏、肠道损伤, 更便于穿刺, 但仍需提高穿刺成功率, 避免反复穿刺, 插管时要轻柔, 以减轻肝脏、肠道损伤。②穿刺后用明胶海绵压迫胃十二指肠动脉, 防止穿刺点大出血。③穿刺针制备要尽量减少针头损伤, 插入血管深度约为 5 mm, 以降低造影或栓塞渗漏风险。④大鼠肝脏体积小、血供丰富且胃肠道冗长、质脆, 术中应尽量用宽镊或钝器操作。⑤术后可注入含庆大霉素生理盐水防止感染, 并利于补充出血所致血容量降低。

3.3 大鼠肝动脉 TACE 术相关分析

本研究构建的 Walker-256 大鼠肝癌模型与人类原发性肝癌血供特点及生长方式较相似, 可用于动物实验评价改良肝动脉插管法及传统插管法行 TACE 的有效性。既往 Nakamura 等^[14]对比分析经肝动脉注射阿霉素与阿霉素+碘油乳剂 2 种疗法, 发现加碘油栓塞可使阿霉素从碘油乳剂缓慢释放并高浓度聚集在瘤体内, 但外周血液浓度却很低。本研究中 C、D 组 TACE 术后 10 d 复查 CT 可见肿瘤体积较术前无明显增大, 且病灶碘油沉积较好大鼠肿瘤体积较术前有所缩小, 表明 TACE 对肝癌模型肿块有一定抑制作用。

本研究存在的问题是构建的大鼠肝癌模型未经历大多数人类原发性肝癌所经历的病毒性肝炎及肝硬化过程, TACE 治疗有效性不能完全相同于人类肝癌治疗。

综上, 改良的经胃十二指肠动脉逆行肝动脉插管方法简单易掌握、成功率高, 应用于大鼠肝癌模型肝动脉 TACE 后死亡率低、并发症少, 有助于增强动物实验研究深度和介入治疗基础研究广度, 值得继续深入研究和在相关实验中尝试。

[参考文献]

- [1] Maluccio M, Covey A. Recent progress in understanding, diagnosing, and treating hepatocellular carcinoma[J]. CA Cancer

- J Clin, 2012, 62: 394-399.
- [2] Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma: an update[J]. Hepatology, 2011, 53: 1020-1022.
- [3] Bruix J, Sala M, Llovet JM. Chemoembolization for hepatocellular carcinoma[J]. Gastroenterology 2004, 127 (5 Suppl 1): S179 - S188.
- [4] Jiang H, Meng Q, Tan H, et al. Antiangiogenic therapy enhances the efficacy of transcatheter arterial embolization for hepatocellular carcinomas[J]. Int J Cancer, 2007, 121: 416-424.
- [5] Wintzell M, Lofstedt L, Johansson J, et al. Repeated cisplatin treatment can lead to a multiresistant tumor cell population with stem cell features and sensitivity to 3-bromopyruvate[J]. Cancer Biol Ther, 2012, 13: 1454-1462.
- [6] Xiao H, Li S, Zhang D, et al. Separate and concurrent use of 2-deoxy-D-glucose and 3-bromopyruvate in pancreatic cancer cells [J]. Oncol Rep, 2013, 29: 329-334.
- [7] 姜乃澄, 卢建平. 动物学实验[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 2010: 28-29.
- [8] 向贤红, 杨建勇, 余 雷, 等. 大鼠脾动脉选择性插管方法的建立[J]. 临床放射学杂志, 2009, 28: 874-876.
- [9] Lafortune M, Denys A, Sauvanet A, et al. Anatomy of the liver: what you need to know[J]. J Radiol, 2007, 88 (7-8 Pt 2): 1020-1035.
- [10] Carlsson G, Gullberg B, Hafstrom L. Estimation of liver tumor volume using different formulas: an experimental study in rats [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 1983, 105: 20-23.
- [11] 李凤奎, 王纯耀. 实验动物与动物实验方法学[M]. 郑州: 郑州大学出版社, 2007: 110-117.
- [12] 许卫国, 杨建勇, 李鹤平, 等. 建立大鼠肝动脉插管途径的方法学研究[J]. 介入放射学杂志, 2007, 16: 264-265.
- [13] 向贤红, 李鹤平, 陈 伟, 等. Wistar 大鼠腹腔干及其分支动脉的实验解剖学特征[J]. 世界华人消化杂志, 2008, 16: 2988-2991.
- [14] Nakamura H, Hashimoto T, Oi H, et al. Transcatheter oily chemoembolization of hepatocellular carcinoma [J]. Radiology, 1989, 170(3 Pt 1): 783-786.

(收稿日期:2016-01-27)

(本文编辑:边 佑)

·消 息·

湖北省医学会介入医学分会成立

2016 年 8 月 6 日,湖北省医学会介入医学分会成立大会在车城十堰市顺利召开。盛夏雨后的十堰阳光灿烂、空气清新,50 多位介入医学专家齐聚,共同分享了这一具有里程碑意义的光辉时刻。湖北省医学会副秘书长林勇主持会议,副秘书长孙铁汉宣布介入医学分会第一届委员会委员名单并颁发聘书,主任委员为郑传胜,副主任委员为王南、胡红耀、龙清云、谭伟、徐霖。

湖北省是全国率先开展介入诊疗的省份之一,经过几代介入医学专家的努力拼搏,已形成较完备的介入医学学科体系和规模。介入治疗以创伤轻微、适应证广、治疗精准、疗效确切为特点,已成为与内科、外科并列的第三大临床治疗手段。无论在临床、科研还是在教学培训方面,湖北省介入医学都在向专业化、规范化、精细化方向发展。介入医学分会的成立将极大地推动湖北省介入医学的发展。会上,郑传胜主任委员代表介入医学分会筹备委员会,报告了分会筹备经过,衷心感谢各级领导、各位专家给予的关心和支持,还结合国内外介入医学发展趋势,对介入医学分会工作提出了全新的工作思路和具体措施。

中华医学会放射学分会现任主任委员徐克教授发来贺信,代表中华医学会放射学分会第十四届委员会对湖北省医学会介入医学分会的成立表示祝贺,希望湖北省介入同仁“借介入医学分会成立的东风,再接再厉、努力拼搏、再创佳绩”。湖北省医学会放射学分会也发来贺信。

