正性脾自体移植对 DEN 诱发大鼠肝癌的治疗作用

韩殿冰[1],梁 玲[2],张朝阳[3],赵 刚[3],冯大猛[3] (1. 汝州市第四人民医院肝胆外科,河南 汝州 467500;2. 临沂市妇幼保健院药剂科,山东 临沂 276000;3. 汝州市第一人民医院普通外科,河南 汝州 467500)

[摘 要] **目的** 探讨正性脾自体移植对 DEN 诱发大鼠肝癌的治疗作用。**方法** 40 只健康大鼠平均随机分为 A、B 2 组,全部行脾切除,切除的脾冻存于液氮中;以 DEN 液喂食切除脾的大鼠以诱导肝癌;12 周后诱癌成功的 A 组大鼠行自体脾移植,诱癌成功的 B 组假手术作为对照。**结果** A 组大鼠术后生存期显著高于 B 组大鼠,但 A 组大鼠死亡时移植脾组织尚未恢复到正常形态结构。**结论** 正性脾自体移植对 DEN 诱发的大鼠肝癌具有治疗作用。

[关键词] 脾;移植;肝癌;治疗
[中图分类号] R657.6;R735.7 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2015)02-0138-03

Therapeutic effect of splenic autologous transplantation on rat liver cancer induced by DEN

HAN Dian-bing, LIANG Ling, ZHANG Zhao-yang, ZHAO Gang, FENG Da-meng (1. Department of Hepatobiliary Surgery, Fourth People's Hospital of Ruzhou City, Ruzhou Henan 467500; 2. Department of Pharmacy, Maternity and Child Care Centers of Linyi City, Linyi Shandong 276000; 3. Department of General Surgery, First Hospital of Ruzhou City, Ruzhou Henan 467500, China)

Abstract: Objective To investigate the therapeutic effect of autologous transplantation of spleen on rat liver cancer induced by DEN. **Methods** Forty rats were randomly divided into A and B group on average. Total spleens of 40 rats were resected, which preserved in liquid nitrogen. All splenectomy rats were feeded with DEN to induce hepatocellular carcinoma. After 12 weeks, all rats which had were successfully induced liver cancer were transplanted by autologous spleen in group A. Group B were sham operation as control. **Results** Survival period was significantly higher in group A than that in group B. But transplanted splenic tissue had not recovered to normal morphological structure until these rats died. **Conclusion** Autologous transplantation of spleen has therapeutic effect for liver cancer induced by DEN.

Keywords: spleen; transplantion; liver cancer; treatment

脾是人体最大的免疫器官,具有重要的免疫功能和抗癌作用[1-2]。脾的抗癌作用表现为双时相性,在癌症晚期可能促进癌症的进展,在癌症早期脾尚有一定的抗癌作用[3-4],那么,在更早期,即尚未发生癌症的时候,脾的抗癌作用如何呢? 目前尚未见此类报道。为叙述方便,在此,我们将无癌症时的健康脾称为"正性脾",癌症晚期的脾脏称为"负性脾"。基于正性脾的抗癌作用及脾与肝的密切关系,本研究试图探讨正性脾自体移植对 DEN 诱发的大鼠肝癌的治疗作用。现报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

5 周龄健康雄性 SD 大鼠 40 只,体质量 145 ~ 160 g,随机分为 2 组,每组 20 只。A 组为实验组,B 组为对照组。2 组大鼠全部行脾切除,切除的脾编号后放在液氮中保存[5-6]。

1.2 大鼠肝癌模型的建立

脾切除后大鼠的编号保持清晰可辨,必要时以记号笔重写以免造成混乱。术后7d用0.01% 二乙基亚硝胺(DEN,购于北京百灵威科技有限公司)的饮用水让大鼠自由饮用诱癌。因 DEN 液易挥发,饮水瓶应避光,每 2 d 更换 1 次新配的 DEN 液以保持浓度一致。

1.3 自体脾移植

诱癌 12 周后全部大鼠开腹探查,对疑有肝癌的部位取肝组织备病理学检查,同时对 A 组行大网膜内自体脾组织移植。B 组假手术作为对照,病理证实未发现肝癌者弃之不用。术后所有大鼠开始自由饮用不含 DEN 液的饮用水。

脾移植方法:取上腹部横切口,探查肝。将 12 周前置于液氮中保存的脾解冻后,去除表面的包膜,将其剪成约 1 mm × 1 mm × 1 mm 大小碎片,在大网膜上用 3-0 的丝线做 1 个荷包,将脾组织包埋移植于大网膜的荷包内。假手术组仅用 3-0 的丝线荷包缝合大网膜,腹部切口丝线缝合。注意脾组织移植时应做到自体移植。

1.4 观察指标

病理变化:大鼠自然死亡后即刻打开腹腔暴露肝脏,疑为肝癌的部位取部分肝组织,同时在大网膜内切取部分脾组织以备病理检查。所有切取的肝脾组织均置于 10% 福尔马林液中固定,石蜡包埋,切片,HE 染色后观察病理学变化。所有大鼠最后死亡时抽取心内血液 2 mL 留待检查肝功能及 AFP。HITACH717 全自动生化分析仪进行肝功能测定,ELISA 法测定血清 AFP 水平。术后生存时间是指自体脾移植手术(或假手术)后至自然死亡的时间。

doi:10.11659/jjssx.09E014014
[收稿日期] 2014-09-29 [修回日期] 2014-10-27

1.5 数据处理

样本均数以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。单因素方差分析进行结果分析,$P<0.05$为有统计学差异。

2 结果

2.1 诱发肝癌的情况

诱癌 12 周末 A 组存活 17 只,病理证实有肝癌 15 只。B 组存活 18 只,病理证实有肝癌 15 只。诱癌成功的 30 只大鼠的肝癌结节散在分布于肝表面,在肝不同部位可见同时存在的癌结节。这些癌结节直径 1 ~ 3 mm,常有 10 ~ 20 个聚集成团,如芝麻粒样呈灰白色,肉眼观察无明显肝硬化表现(图 1a)。这些癌肿镜下呈典型的肝细胞癌表现,肝小叶结构消失,肝细胞异形性明显,细胞核深染,大小不等,核仁明显(图 1b)。

2.2 移植脾的情况

液氮中保存 12 周的脾行病理检查发现无明显坏死区,脾组织结构清晰,红髓、白髓、边缘带分界清楚,可见巨噬细胞,脾组织结构基本正常(图 1c)。脾移植后 48 d,脾组织的中心区以片状坏死为主,红、白髓结构不清,在移植脾组织的周边部位残存有少量的组织细胞及散在淋巴细胞(图 1d)。

2.3 肝功能及 AFP 的情况

肝功能及 AFP 的情况见表 1,A 组血清 AFP 明显低于 B 组,2 组比较 $P<0.05$,差异有统计学意义。

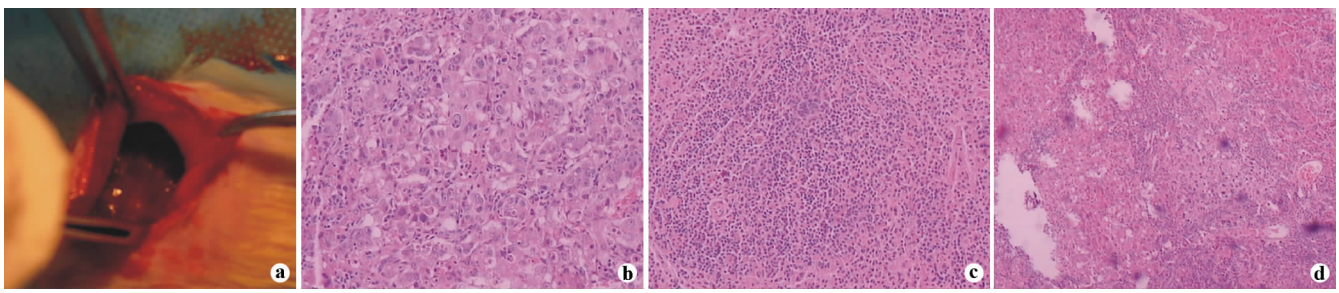
表 1 大鼠肝功能及 AFP 情况($n=15$,$\bar{x} \pm s$)

组别	ALT	AST	ALP	AFP
A 组	69.32 ± 13.34	83.25 ± 16.74	329.28 ± 30.26	8.74 ± 1.21 *
B 组	78.65 ± 11.21	89.57 ± 18.21	358.74 ± 31.36	13.25 ± 2.06
P 值	0.58	0.68	0.65	0.01

*:与 B 组比较,$P<0.05$

2.4 术后生存情况

诱癌成功的 30 只大鼠无手术死亡,术后生存期 A 组 24 ~ 48 d,平均(35.8 ± 6.7)d,B 组 13 ~ 26 d,平均(18.5 ± 3.6)d,2 组大鼠术后生存期有显著差异($P<0.05$)。死亡原因均为肝癌破裂出血,死亡后剖腹发现 2 组大鼠癌肿均明显变大。



a:诱癌 12 周后,肉眼见肝癌结节散在分布于肝脏的表面,如芝麻粒大小呈灰白色;b:诱癌 12 周后,病理切片见肝小叶结构消失,细胞异形性明显(HE × 1 000);c:保存 12 周的脾组织结构基本正常(HE × 100);d:脾移植后 48 d,脾组织的中心区以片状坏死为主,红、白髓结构不清(HE × 100)

图 1 实验组诱发肝癌移植脾情况

3 讨论

DEN 是一种很强的化学毒剂,作用的靶器官主要是肝,其诱发的大鼠肿瘤多为肝细胞癌,与人肝细胞癌发生过程相似,常被用于肝癌动物模型的制备[7-10]。脾脏是机体最大的免疫器官,具有很强的抗癌能力,如人类脾本身的恶性肿瘤发生率比其他实质性脏器要少,有实验也表明以 DEN 诱发大鼠肝癌, 脾切除组大鼠的成癌更快、数目更多、直径更大[11]。

恶性肿瘤的病因及发病机制尚不完全清楚,可以认为,恶性肿瘤的发生不仅是肿瘤自身的病变,也是一种全身性、系统性病变,这包括机体免疫功能的病变,即对恶性肿瘤免疫监视和免疫排斥能力减弱。鉴于此,我们设想,肝癌发生时作为机体最大的免疫器官脾也发生了病变,其免疫功能减退,不能对肝癌的发展起到抑制作用。因此,我们设计了该实验,即将健康大鼠的“正性脾”切除后冻存,此时脾属健康脾,具有正常的免疫功能,待诱导肝癌成功后再将冻存的脾予以自体移植,以此来检验正性脾的抗癌作用。

本实验表明,正性脾自体移植组肝癌大鼠的生存期明显高于假手术组,血清 AFP 低于假手术组,表明移植的脾组织发挥了抗癌作用,但是,脾移植组大鼠术后最长生存期为 48 d,最终死于癌肿的增大和破裂出血,表明移植脾在生存期内发挥的抗癌作用是有限的。有资料表明,小鼠大网膜内自体脾移植 2 个月后出现白髓、红髓结构,术后 6 个月其结构和功能才接近正常[12-13]。因此本实验可能是出现了这种情况,肝癌的发展速度快于移植脾的生长速度,即移植脾尚未恢复到完全发挥其功能的时候,大鼠已过早地死亡。我们观察到移植脾 48 d 时脾组织仍以坏死为主。如果我们能采取一些措施延缓肝癌的发展(如肿瘤切除)或加速移植脾功能的恢复,如肝表面脾片移植[14],此不失为一种治疗肝癌的非常有效的方法。

临床上器官或组织移植治疗恶性肿瘤的方法很多,如肝移植治疗肝癌,骨髓移植治疗白血病等,这些移植无论配型如何成功,或多或少都会表现出排异反

一段式小直径细颈种植体在小缺牙间隙即刻修复与延迟修复中的应用

刘方宇,朱加林,丁存善 (泰州职业技术学院口腔门诊部,江苏 泰州 225300)

[**摘 要**] **目的** 探讨一段式小直径细颈种植体在小缺牙间隙即刻修复与延迟修复中的应用效果。**方法** 我院门诊部2009 年1 月至2011 年 1 月 80 例小缺牙间隙患者就诊,行非翻瓣式一期法环切术于缺失区植入一段式细颈种植体,按修复方法分为即刻加载修复组(观察组)和常规延迟修复组(对照组),2 组患者在愈合 3 个月后粘结永久烤瓷冠修复,定期进行临床和 X 线片检查,评价 2 组患者牙齿临床疗效及并发症。**结果** 观察组患者的临床治疗效果较对照组好,稳定系数(ISQ)评分较对照组高,$P<0.05$ 差异有统计学意义;观察组术后并发症显著降低,与对照组比较,$P<0.05$ 差异有统计学意义。**结论** 牙齿缺失患者采用一段式小直径细颈种植体即刻种植修复可在短时间内解除患者痛苦,而且术后并发症发生较少,牙齿稳固不易脱落,比延迟修复更具优势。

[**关键词**] 小缺牙间隙;一段式小直径细颈种植体;即刻修复;延迟修复
[**中图分类号**] R783.3 [**文献标识码**] A [**文章编号**] 1672-5042(2015)02-0140-03

Application of one-part form mini-implant in immediately and delayed repair of edentulous space

LIU Fang-yu, ZHU Jia-lin, DING Cun-shan (Department of Oral Out-patient, Taizhou Polytechnic College, Taizhou Jiangsu 225300, China)

Abstract: Objective To analyze the effect of one-part form mini-implant in treatment of immediately and delayed repair of edentulous space. **Methods** Retrospectively analyzed 80 cases of edentulous space patients in our hospital from Jan. 2009 to Jan. 2011, and divided them into the immediately repair group (observation group) and the delayed repair group (control group) according to time of edentulous space repair. Patients of the two groups were given permanent PFM 3 months later, and regular clinical and X-ray examinations were made to evaluated clinical efficacy and complications of the two groups. **Results** The score of ISQ of the observation group was higher than that in the

doi:10.11659/jjssx.06E014305
[**收稿日期**] 2014-11-20 [**修回日期**] 2014-12-07

应,且免疫抑制剂的应用常促进肿瘤的复发[15]。本实验设计的出发点不同于上述的器官或组织移植,我们是基于一种“自救”的想法设计了该实验:假设全身的免疫功能降低是恶性肿瘤发生的原因,则在恶性肿瘤发生前预存一些自体免疫器官或组织,待肿瘤发生后再移植这些器官或组织使其发挥抗肿瘤作用。基于这种“自救理论”,我们还将进行一系列的实验研究。

[参考文献]

[1] 张 磊,陈积圣. 自体脾移植及食管横断吻合术治疗门静脉高压症的临床与基础研究:可供选择的一种新疗法的 30 年观察[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2013,20(1): 13 - 17.
[2] 曾 强, 刘文鹏,曹经琳,等. 门静脉高压症患者脾切除术后外周血 Th17 细胞的变化及其对免疫功能的影响[J]. 中华普通外科杂志, 2014,29(5): 400 - 401.
[3] 夏穗生,张伟杰. 脾脏外科的沿革与展望[J]. 中华肝胆外科杂志, 2011,17(4): 273 - 278.
[4] 王继洲,姜洪池. 当前脾脏外科的研究热点与难点[J]. 中华实验外科杂志,2011,28(7): 1021 - 1022.
[5] 池一凡,许 慧, 林 明,等. 组织工程血管基质的制备及保存[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2010,14(51): 9555 - 9558.
[6] 池一凡,林明山,孙 龙,等. 液氮保存时间对脱细胞血管基质支架材料组织形态及力学特性的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2008,12(27): 5235 - 5238.
[7] 芮文娟,何淑芳,黄先甲,等. DEN 诱导大鼠肝纤维化 - 肝癌过程中 pSmad3L 和 PAI-1 蛋白的表达[J]. 中国药理学通报,2012,28(10):1393 - 1397.
[8] 梁囡囡,金守杰,宋 扬. 刺参酸性粘多糖对二乙基亚硝胺诱发肝癌大鼠细胞周期的影响[J]. 营养学报,2013,35(6): 582 - 586.
[9] 张 斌,李 琦,殷佩浩,等. 二乙基亚硝胺诱导大鼠肝癌过程中肝组织血管内皮生长因子及其受体 2 的表达[J]. 中华实验外科杂志,2013,30(1):167 - 168.
[10] 王金娥,姜慧杰. 二乙基亚硝胺诱导的大鼠实验性原发性肝细胞癌模型建立及应用[J]. 癌症进展,2011,9(6): 683 - 687.
[11] 张 杰,陈积圣,邱培才,等. 脾切除对大鼠肝癌形成过程的影响[J]. 腹部外科,2001,14(4):211 - 212.
[12] 兰阳军,陈维佩,郭光金. 小鼠自体脾组织网膜内移植后的形态学观察[J]. 第三军医大学学报,2001,23(6):8 - 10.
[13] 蒋登金,陈维佩,郭光金,等. 自体移植脾组织的主要免疫功能观察. 中华医学杂志,1999,79(1):66 - 67.
[14] 赵 国,石 民,李晓春,等. 大鼠肝表面脾片移植的组织学观察[J]. 中华普通外科杂志,1999,14(5):385 - 386.
[15] 刘全达,宋 杨,乔海泉. 脾动脉盗血综合征——被忽视的概念[J]. 局解手术学杂志,2011,20(1):1 - 2.

(编辑:左艳芳)