恶性黑色素瘤-急性炎症复合动物模型的建立

刘 祎[1],陈爱霞[1],邢敬龙[1],张丹芳[2],韩 健[1],马跃美[1] (1.天津医科大学手术外科学教研室,天津 300070;2.天津市肿瘤医院病理科,天津 300060)

[摘 要] **目的** 建立不同类型的恶性黑色素瘤-急性炎症复合模型,筛选出最佳方案。**方法** 将25只条件相同的小鼠随机分为创伤肿瘤组(A),持续扩创肿瘤组(B),创伤化脓菌肿瘤组(C),创伤冰乙酸肿瘤组(D),单纯肿瘤组(E),每组5只,先建立肿瘤模型,待肿瘤长到500 mm^3 建立急性炎症模型,观察炎症状况与肿瘤生长情况。**结果** A组与E组小鼠肿瘤生长接近,B,C,D组肿瘤生长接近且慢于E组。**结论** 急性炎症期的持续是成功建立模型的重要前提。

[关键词] 恶性黑色素瘤;动物模型;急性炎症

[中图分类号] R739.5;R-332 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2009)01-0024-03

The research of malignant melanoma-acute inflammation model in mouse

LIU Yi, CHEN Ai-xia, XING Jing-long, ZHANG Dan-fang, HAN Jian, MA Yue-mei (Department of Operative Surgery, Tianjin Medical University, Tianjin 300060, China)

Abstract: Objective Studying various types of malignant melanoma-acute inflammation model in mouse to find the best manner. **Methods** 25 mice were divided into five groups by random. (Group A, B, C, D were experimental groups; Group E was control group). The mouse melanoma model was made with B16 cell suspending liquid. When the tumor's volume was about 500 mm^3, four kinds of acute inflammation models were built. The condition of wound and the growth of tumor were recorded. **Results** The growth of tumor in group A was similar to the control; The growth of tumor in group B, C, D were almost the same and slower than the control group. **Conclusion** A sustained acute inflammation process was necessary to this model.

Keywords: malignant melanoma; animal model; acute inflammation

炎症与肿瘤有着非常密切的联系。恶性黑色素瘤具有很强的侵袭与转移能力[1],是研究恶性肿瘤的良好模型。本实验通过建立四种恶性黑色素瘤-急性炎症复合动物模型,阐明各自优劣,为研究恶性肿瘤与炎症的关系提供可借鉴的动物模型。

1 材料与方法

1.1 实验动物

C57小鼠购于北京军事医学科学院动物中心,8周龄,雄性25只,体重25~30 g,编号后随机分为创伤肿瘤组(A),持续扩创肿瘤组(B),创伤化脓菌肿瘤组(C),创伤冰乙酸肿瘤组(D),单纯肿瘤组(E),每组5只,交由天津医科大学动物中心洁净饲养。

1.2 实验方法

1.2.1 荷瘤鼠模型 将黑色素瘤细胞株B16复苏,1 640培养基培养1周,0.2%胰酶消化成单细胞悬液,调整细胞密度达到1×10^7/mL。75%酒精消毒小鼠右鼠蹊部,每只皮下注射0.2 mL细胞悬液。每天观察小鼠生命体征及肿瘤细胞生长情况。10 d后接种部位开始出现皮下肿块,每天测量肿块长径(a)与短径(b),待肿瘤体积(v)达到500 mm^3 ($v = a \times b^2/2$)[2],建立急性炎症模型。

1.2.2 急性炎症模型 乙醚麻醉小鼠后,右侧背部备皮,做直径约1 cm圆形创口。C组小鼠创口涂抹一层金黄色葡萄球菌悬液(ATCC25923);D组小鼠涂抹一层冰乙酸(天津市瑞金特化学品有限公司);B组小鼠每日3PM乙醚麻醉后扩创,使创口直径维持在1 cm左右。

1.3 检测方法

每日记录肿瘤生长情况与伤口情况,绘制肿瘤生长曲线。

1.4 统计学处理

应用SPSS13.0软件进行数据处理,$P<0.05$具有统计学意义。

2 结果

2.1 创口情况

A组:伤口明显收缩,表面干燥。B组:伤口边缘组织较陈旧,中央为新鲜肉芽组织。C组:伤口表面有脓苔。D组:伤口与组织粘连明显。

2.2 肿瘤体积

4个实验组与对照组肿瘤体积随时间推移而出现差异。A组与E组肿瘤生长曲线上升较快且趋于一致,B、C、D三组肿瘤生长曲线上升趋势则慢于A、E两组(图1),急性炎症对肿

[作者简介] 刘 祎(1983-),女,重庆市涪陵区人,硕士,主要从事创伤愈合与肿瘤血管方面的研究。电话:(022)23542573

[通讯作者] 马跃美,E-mail:mindyma@126.com

[收稿日期] 2008-10-25 [修回日期] 2008-11-10

瘤的生长可能存在抑制作用,不同干扰措施对肿瘤生长的影响可能不同。采用单因素多变量方差分析处理肿瘤体积数据,"时间"及"分组"两项对应 P 值小于 0.05,证实除时间因素外,急性炎症对肿瘤体积的变化有影响(表 1)。B、C、D 三组两两相比 P 值均大于 0.05,说明三组肿瘤体积无差异;A、E 两组相比 P 值大于 0.05,说明二者肿瘤体积无差异;B、C、D 分别与 A 组比较 P 值均小于 0.05,说明 B、C、D 三组肿瘤体积小于 A 组;B、C、D 分别与与 E 组比较 P 值均小于 0.05,说明 B、C、D 三组肿瘤体积小于 E 组(表 2)。统计分析证实不同干扰措施对肿瘤生长的影响不同,模型 A 对肿瘤的生长基本无影响,模型 B、C、D 可抑制肿瘤生长且作用效果相同。

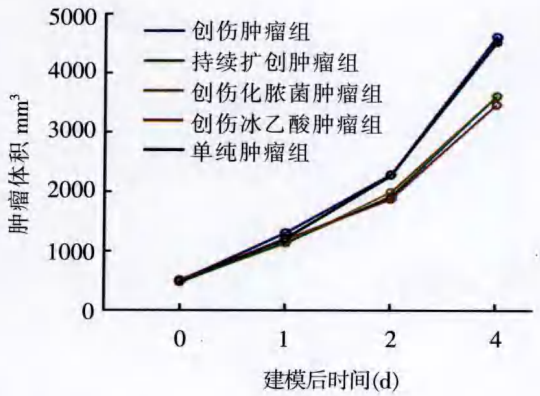


图 1 不同实验组与对照组肿瘤生长曲线

表 1 不同因素对肿瘤生长的影响

变异源	Type III SS	df	方差	F 值	P 值
Corrected Model	177241101.328	19	9328479.017	372.467	0.000
Intercept	373102061.223	1	373102061.223	14897.203	0.000
时间	170031124.468	3	56677041.489	2262.998	0.000
分组	3267460.615	4	816865.154	32.616	0.000
时间 * 分组	3942516.245	12	328543.020	13.118	0.000
Error	2003608.700	80	25045.109		
Total	552346771.250	100			
Corrected Total	179244710.028	99			

表 2 不同分组肿瘤体积比较 P 值表

分组	A	B	C	D	E
A	—	0.000	0.000	0.000	0.338
B	0.000	—	0.809	0.549	0.000
C	0.000	0.809	—	0.401	0.000
D	0.000	0.544	0.401	—	0.000
E	0.338	0.000	0.000	0.000	—

3 讨论

炎症与肿瘤的生长、发展、侵袭和转移关系密切。目前大部分研究都着眼于慢性炎症与肿瘤的关系,对急性炎症关注甚少。研究证明慢性炎症可以促进肿瘤的生长[3],而急性炎症对肿瘤的作用效果与机制尚不明朗。Madalena 通过在充满粒细胞的空腔中移植 B16 细胞证实粒细胞可以减缓表皮性黑色素瘤的生长[4],这提示急性炎症可能抑制肿瘤细胞的生长。粒细胞虽是急性炎症的主要成分,但急性炎症进程中还会产生其他炎症因子与细胞,比如单核细胞,淋巴细胞,而在慢性炎症进程中单核细胞,淋巴细胞及其分泌的细胞因子是促进肿瘤生长的动力之一[5-7],所以建立一个稳定可靠的动物模型来研究急性炎症与肿瘤生长的关系是必要的。Madalena 实验的另一缺陷是肿瘤由充满粒细胞的环境发生发展而来罕见于临床;调查显示临床上大部分肿瘤在发现的时候并非早期[8],而建立中晚期恶性肿瘤与急性炎症的动物模型未见报道,本实验我们先为小鼠移植 B16 细胞,待肿瘤体积达到 500 mm^3 后又制造了急性炎症,建立了恶性黑色素瘤 - 急性炎症的复合模型,不仅弥补了 Madalena 实验的缺陷,也使动物模型更符合临床实际需求。

本实验中,在建立急性炎症模型以前,对照组与实验组肿瘤体积集中在 450 ~ 550 mm^3 之间,施加不同干扰后,肿瘤生长出现了不同趋势。A 组与 E 组肿瘤生长比较接近,其他实验组肿瘤生长速度趋缓,体积逐渐低于 E 组。A 组只做了一次创口,所产生的炎细胞浓度与作用时效均有限,B,C,D 三组则采用不同的方法维持炎症的作用强度,延长作用时效。这说明急性炎症若要发挥维持肿瘤生长的作用应该具备两个条件:①急性炎症反应需要达到一定的强度;②急性炎症进程要持续一定时间。

我们采用维持急性炎症的方法有三种,分别是持续扩创,创伤 + 金葡菌,创伤 + 冰乙酸。图 1 中代表 B,C,D,三组的肿瘤生长曲线叠加在一起,统计分析证实这三种手段对肿瘤生长的抑制作用没有差异。

综上所述,结合创口的情况,B 组小鼠创口处组织成分新老交替,但创面干净,没有异物,适合无菌要求较高实验,但建模操作复杂,需每日麻醉小鼠,对小鼠的生理状况可能有影响;C 组小鼠创面有脓茄覆盖,小鼠有罹患败血症的危险,且由于金葡菌感染力强,要求单独饲养,但建模操作简便,炎症持续效果有保障;D 组小鼠的创面较 C 组干净,创口处组织成分较 B 组均一,但冰乙酸具有腐蚀能力,对实验部位要求严格,建模过程中应避开大中型血管及其他敏感部位。三种建模方式各有优劣,究竟选用何种模型,在保证效果的前提下,应结合实际条件,遵循科学、经济、方便的原则最终确定[9]。

[参考文献]

[1] 刘巍峰,牛晓辉. 皮肤黑色素瘤的诊断与治疗[J]. 中国骨肿瘤骨病,2008,7(3):171-175.

[2] 王登山,沈美玲,卢根福,等. 内皮抑素对结肠癌增殖和转移抑制效应的实验观察[J]. 临床与实验病理学杂志,2005,20(3):342-346.

[3] Mantovani A, Allavena P, Sica A, et al. Cancer-related inflammation [J]. Nature, 2008,454 (7203): 436-444.

[4] Costa MM, Aguas AP. Inflammatory granulocytes decrease subcutaneous growth of melanoma in mice[J]. Inflammation, 2004, 8(6): 355-357.

[5] Hillen F, Baeten CI, van-de-Winkel A, et al. Leukocyte infiltration and tumor cell plasticity are parameters of aggressiveness in primary cutaneous melanoma[J]. Cancer Immunol Immunother, 2008, 57(1): 97-106.

[6] Lin WW, Karin M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer[J]. J Clin Invest, 2007, 117(5): 1175-1183.

[7] 蒋登金,郭光金,张天飞,等. 小肠浆肌膜腔内自体脾组织移植动物模型的建立与意义[J]. 局解手术学杂志,2005,14(5):289-291.

[8] 张成琪. PET-CT在妇科恶性肿瘤诊断中的应用[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2008,24(3):179-181.

[9] 韩明勇,刘 奇,余捷凯等. 血清蛋白质指纹图谱与人工神经网络模型在肺癌诊断中的应用[J]. 山东大学学报(医学版),2008,46(6):604-607.

(编辑:郭光金)

45例甲基苯丙胺中毒的急救护理体会

王 虹 (成都市第六人民医院急诊科,四川 成都 610051)

[关键词] 甲基苯丙胺;中毒急救;护理

[中图分类号] R749 [文献标识码] B [文章编号] 1672-5042(2009)01-0026-01

甲基苯丙胺俗称"冰毒",属拟交感胺类中枢兴奋剂,长期滥用极易产生依赖性和耐药性,精神依赖比躯体依赖强烈而突出,并可导致精神障碍,使其易激动,过度兴奋,出现暴力行为,多语、失眠、焦虑、抑郁、幻觉等症状[1]。现将我院收治的45例吸毒患者的急救护理体会报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

本组吸毒患者45例,其中男34例,女11例;年龄17~38岁,平均23岁。由他人送入医院抢救40例,现场抢救5例。自服43例,被骗服2例。45例均在迪厅、歌厅、酒吧等娱乐场所服用。服用量:12例0.5~1 g,28例1~2 g,5例2 g以上。服药后至发病就诊时间为4~28 h。

1.2 方法

1.2.1 急救与治疗 以对症支持为主,严重者以处理高血压、心律失常和惊厥为主。服药时间不超过4 h者,洗胃、催吐、导泻。服药超过4 h的患者,可用20%甘露醇加活性碳30 g制成混悬液口服,每日2次。惊厥患者可用安定10~20 mg肌肉注射;兴奋激越、行为紊乱患者可注射氯丙嗪25~50 mg;有肺水肿者,可给氧,但禁用氨茶碱;高热惊厥或谵妄者加用苯巴比妥纳0.1~0.2 g肌肉注射[2]。

1.2.2 护理方法 高热患者出汗多,勤换衣服保持皮肤干燥。嘱患者多饮水。精神混乱、躁动不安、伴幻觉的患者可安置约束带,以保证患者安全。专人护理,严密监控心率、血压、体温、腹痛、腹泻等变化并做好记录。

2 结果

45例抢救成功43例,抢救成功率98.01%,死亡2例。死亡原因是患者入院时已昏迷,在抢救中突发心跳呼吸骤停,经心肺复苏,抢救无效死亡。

3 讨论

兴奋剂甲基苯丙胺,因其原料外观为纯白结晶体,晶莹剔透,故称之为"冰毒",冰毒为非儿茶酚胺的拟交感神经胺化合物,其能兴奋及肾上腺素能神经末梢,刺激中枢神经系统及心脏、呼吸器官、有升高血、压收缩四周、血管兴奋、心脏松弛支气管和肠肌、散大瞳孔、收缩膀胱括约肌等作用。治疗剂量可减少疲乏和产生自我欣快的感觉。吸毒人员为了追求短暂的强烈快感或兴奋而忽略了其所带来的巨大危害,如:过量及反复用药可引起病态嗜好,并使兴奋与抑制过程平衡失调,出现精神症状。此外,该药还可引起颅内出血,机制可能为:①药物本身损伤脑血管;②兴奋心脏,使心率增快,血管收缩,血压增高;③溶剂不纯,引起脉管炎;④血小板凝聚并释放5-羟色胺;⑤耗竭综合征,在兴奋期后极度疲乏,需要睡眠;长期情绪抑郁,可能发生自杀。因此患者入院后要立即进入ICU进行密切观察,严密监测生命体征的变化,及时进行心脏、肝肾功能测定,及时了解水、电解质、酸碱平衡情况,以便采取有效的抢救措施,挽救患者生命。同时让患者知道冰毒的危害性,要珍惜生命,远离毒品[3]。

(编辑:郭光金)

[收稿日期] 2008-10-25 [修回日期] 2008-11-10