DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.08.042

文章编号:1000-5404(2001)08-0963-02

论著

氨基比林和亚硝酸钠诱发的肝内胆管癌动物模型

梁 平,庄大勇,陈 海,王细文,李洪艳 (第三军医大学附属新桥医院肝胆外科,重庆 400038)

提 要:目的 用氨基比林和亚硝酸钠诱发叙利亚地鼠肝内胆管癌(ICC)动物模型,观察胆管癌发生过程的病理变化。**方法** 以800 mg/L的氨基比林和亚硝酸钠溶液作为50只6周龄叙利亚地鼠的饮用水,每周饮用6 d,连续饮用24周,定期分批处死动物,观察肝脏组织的病理学改变。**结果** 诱癌早期出现卵圆细胞增生、管状增生及小胆管的囊性增生,中期主要病变为肝内胆管上皮乳头状增生、化生、不典型增生和胆管纤维化,晚期可见肝内胆管腺瘤和腺癌。晚期肝内胆管癌的发生率达50.0%(10/20)。**结论** 该动物模型与人类肝内胆管癌发生发展的过程相似,方法简便、经济、可重复性好,具有良好的应用前景。肝内胆管的各种增生性病变与ICC密切相关,尤其是不典型增生和胆管腺瘤,应视为ICC的高危性癌前病变。

关键词:肝内胆管癌;叙利亚地鼠;氨基比林;亚硝酸钠
中图法分类号:R730.231;R735.7;R735.8 **文献标识码**:A

Intrahepatic cholangiocarcinoma induced by aminopyrine and sodium nitrite in Syrian hamsters

LIANG Ping, ZHUANG Da-yong, CHEN Hai, WANG Xi-wen, LI Hong-yan (Department of Hepatobiliary Surgery, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To establish the intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC) model in Syrian hamsters by aminopyrine and sodium nitrite and to observe dynamically the pathological process of ICC development. **Methods** 800 mg/L aminopyrine and 800 mg/L sodium nitrite were given to 50 as Six-week-old male Syrian hamsters their drinking water in 6 consecutive days per week, with tap water on the remaining day for 24 weeks. At 4, 8, 12, 16, 20 and 24 weeks 5 to 10 animals were killed in the treatment groups and the pathological changes were observed. **Results** Hyperplasia of oval cells and tubular hyperplasias, cystic hyperplasias were found in the early stage of pathogenesis, papillary hyperplasias, metaplasias, atypical hyperplasias, cholangiofibrosis were found in the middle stage and adenomas, cholangiocellular carcinomas of intrahepatic bile duct were successfully induced in the late stage. The incidence of ICC was 50.0% (10/20) in the late stage of carcinoma induction. **Conclusion** The pathological changes of the animal model are similar to those seen in human. This model is simple, economic and reproducible. There is a close relation betweeen intrahepatic bile duct hyperplasia and ICC. Intrahepatic bile duct atypical hyperplasia and adenoma are high risks for premalignant lesions of ICC.

Key words: intrahepatic cholangiocarcinoma; Syrian hamster; aminopyrine; sodium nitrite

胆管癌是恶性程度较高的消化系统肿瘤之一,近年来其发病率有上升的趋势。肝内胆管癌(Intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)是指起源于肝内胆管上皮的恶性肿瘤,占肝脏原发性肿瘤的10%~30%[1]。与肝外胆管癌不同,ICC早期缺乏黄疸等特异性症状,且生长速度相对较快,故ICC早期诊断困难,手术切除率低,预后差,平均生存期仅4~6个月[2]。目前对肝内胆管癌(ICC)的研究较少,对其缺乏足够的了解。为提高ICC的临床诊治水平,我们对其生物学特性进行研究,现将结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 诱癌剂

氨基比林(Aminopyrine),上海试剂一厂生产;亚硝酸钠(Sodium nitrite),重庆北碚化学试剂厂生产。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39670713)
作者简介:梁 平(1962-),男,四川省叙永县人,博士,副主任医师,副教授,主要从事胆管癌的诊断和治疗胰肾联合移植方面的研究,发表论文20余篇。电话:(023)68755606
收稿日期:2001-04-20;修回日期:2001-06-30

1.2 实验动物

6周龄的雄性叙利亚地鼠(Syrian hamster)70只,分为实验组50只,对照组20只。两组饲养条件相同,控制温度为20~25℃,相对湿度45%~55%,保持环境清洁,地鼠专用饲料喂养,饮用水及饲料新鲜无污染。

1.3 诱癌方法

(1)实验组:参照Bergman[3]的方法,每日以蒸馏水新鲜配制氨基比林和亚硝酸钠混合溶液,二者浓度均为800 mg/L,并调整pH值至7.0,作为实验组动物饮用水,每周连续饮用6 d,第7天饮用自来水,连续饮用24周。(2)对照组:动物饮用自来水,所有动物均自由饮水。每隔4周处死实验动物5~10只,对照组动物2~3只,至第24周处死所有动物,实验过程中濒死或死亡的动物立即处死、解剖。

1.4 观察方法

(1)大体观察:每日观察动物的精神、饮食及活动情况,动物自然死亡或处死后,立即做尸检,观察肝脏的大小、色泽、外形及有无肿瘤结节形成。同时观察胆囊及肝外胆道、胰腺、胃、脾、心、肺、肾等重要脏器的情况。(2)组织学检查:取肝脏、胆囊及肝外胆道,12周以后处死/死亡的动物同时取胰腺、肺、胃、肾脏等组织,福尔马林固定24~48 h,常规石蜡包埋、切片、苏木素-伊红(HE)染色后镜检,病理诊断主要依据组织结构及细

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

胞的异型性和浸润程度。

2 结果

实验组动物出现以下主要病理改变(正常对照组动物肝脏及胆道未见任何相应病变)。

2.1 早期(8周以前)

本期内实验动物无死亡。肝脏的主要改变为肿大和淤血。镜检见肝细胞变性坏死(因诱癌剂的毒性作用引起),同时可见卵圆细胞增生(9/10)和炎性细胞浸润,多见于汇管区。8周时,少数动物出现小胆管管状增生(2/10):增生的小胆管多位于汇管区或大胆管周围,呈数量不一簇状分布,被包围于纤维组织中。还可见小胆管的囊性增生(1/10):增生的小胆管呈囊状扩张,形成单个或多个扩张程度不一的小囊,上皮细胞呈扁平状,单层排列。

2.2 中期(9~16周)

此期实验组动物开始出现死亡,死亡动物多伴有腹水及出血。肝脏淤血较前加重,少数动物出现肝萎缩,肝叶间粘连,肝缘变钝。镜检见肝细胞变性坏死较前加重,部分动物肝内见新生血管形成,肝内胆管除上述早期病变加重外,还可见:(1)胆管上皮杯状细胞化生(11/20);(2)胆管上皮乳头状增生(15/20);(3)胆管纤维化(8/20)。上述病变多发生于大胆管,上述3种病变在同一病变胆管可同时出现。(4)不典型增生(4/20):多发生在乳头状增生的基础上,上皮细胞呈多层排列,极向消失,核大,深染,核浆比例失调。在此阶段后期已有少数动物出现肝胆管腺瘤(5/20)及ICC(4/20)。

2.3 晚期(17~24周)

此期动物死亡明显增多,肝脏多表现为萎缩,少数动物肝脏淤胆。肝叶间界限消失,整个肝脏融合为一体。胆囊表现为扩张或萎缩,可伴有胆囊结石。发生肿瘤的动物肝脏表面见大小不等的白色结节,最大者直径达0.7 cm。镜检:肝内胆管的各种增生性病变多见,胆管腺瘤(12/20)及ICC(10/20)常见。胆管腺瘤:常为多发,由腺管样排列的胆管上皮细胞构成,多呈单层排列,腺管大小不一,形状不规则,间质成分较少,少数可见向腺癌的移行。ICC:多中心发生,多为高分化腺癌,中分化腺癌少见(2/14,且均出现于第24周),腺腔大小及形态极不规则,癌细胞呈单层或复层排列,腺管间为多少不等的纤维结缔组织,有时间质甚少,使腺体呈背靠背排列。较大肿瘤组织中央可出现坏死。癌灶附近常伴有胆管腺瘤和/或不典型增生。肝内可见增生的肝细胞结节,但未见肝细胞癌发生。部分动物胆囊、肝外胆管上皮出现增生,但无肿瘤形成。胃、胰腺、肺等器官未见肿瘤发生及ICC转移病灶。

3 讨论

与肝外胆管癌和肝细胞癌相比,该病发病率相对较低,因此通过临床研究探讨该病发病机制和有效治疗手段的工作受到一定限制。本动物模型的建立则为该病的深入研究提供了一种稳定、简便的实验手段。

Lijinsky等[4]研究证实氨基比林和亚硝酸钠在小鼠胃内生成二甲基亚硝胺(DMN),后者导致了小鼠肝血管肉瘤的发生。我们以叙利亚地鼠为实验对象,以相同的诱癌剂和相同的给药途径诱发出了ICC,而未见肝血管肿瘤和肝细胞癌的产生,与Bergman[3]的研究结果一致。同样以DMN作为诱癌剂,则可诱发大鼠的肝细胞癌。造成上述差异的原因是不同种属的动物对亚硝胺类化合物反应的差别很大,其中包括产生肿瘤的靶器官和肿瘤的组织类型[5,6]。在本研究中我们采有了3种不同浓度的致癌剂,其中A组致癌剂的浓度及给药方法与Linjinsky和Bergman所报道的相同,B组致癌剂的浓度虽然降低,但延长了给药时间,动物每周摄入的致癌剂总量基本与A组动物相同,C组动物致癌剂的摄入量最低,仅相当于A、B组动物的60%。比较三组动物的自然死亡率及肿瘤发生率,发现二者随致癌剂浓度的升高和诱癌时间的延长均呈逐渐增高的趋势。

本实验结果表明,随着实验时间的推移,肝内胆管癌程度逐渐加重,并且在ICC的病灶周围常可见各种增生性病变及腺瘤,说明本实验所诱发的叙利亚地鼠ICC与人类ICC相似,本模型可模拟人类ICC发生发展的基本过程[7,8]。

我们认为本动物模型具有以下优点:(1)肿瘤发生率较高,组织学类型单一;(2)癌变过程与人类ICC的发生过程类似,可用于ICC病因、发生机制、化学预防和治疗等方面的研究;(3)致癌物质二甲基亚硝胺在动物体内生成,消除了实验者直接接触致癌的危险;(4)致癌剂及实验动物价廉,诱癌方法简便,易重复。

参考文献:

[1] Chijiiwa K, Ohsato T, Shinohara M, *et al*. Clinicopathological findings of asymptomatic intrahepatic cholangiocellular carcinoma: report of two cases and review of the literature[J]. Eur J Surg Oncol, 1996,22(2):186-188.

[2] Tengchaisri T, Chawengkirttikal R, Rachaphaew N, *et al*. Antitumor activity of triptolide against cholangiocarcinoma growth *in vitro* and in hamsters[J]. Cancer Lett, 1998,133(1):169-175.

[3] Bergman F, Wahlin T. Tumour induction in syrian hamsters fed a combination of aminopyrine and nitrite[J]. Acta Path Microbiol Scand Sect A, 1981,89(2):241-245.

[4] Lijinsky W, Conrad E, Vande B R. Carcinogenic nitrosamines formed by drug/nitrite interactions[J]. Nature(Lond),1972,239(5 368):165-167.

[5] 梁 平,陈 海,庄大勇,等.DIPN诱发金仓鼠肝内胆管癌动物模型[J].第三军医大学学报,2001,23(6):677-679.

[6] Ogura Y, Matsuda S, Usui M, *et al*. Effect of pancreatic juice reflux into biliary tract on N-Nitrosobis (2-oxopropyl) amine (BOP)-induced biliary carcinogenesis in syrian hamsters[J]. Dig Dis Sci, 1999,44(1):79-86.

[7] Tajima Y, Eto T, Tsunoda T, *et al*. Induction of extrahepatic biliary carcinoma by N-Nitrosobis (2-oxopropyl) amine in hamsters given cholecystoduodenostomy with dissection of the common duct[J]. Jpn J Cancer Res, 1994,85(8):780-788.

[8] 梁 平,陈 海,庄大勇,等.PCNA和bcl-2在金仓鼠胆管癌和胆管细胞增生中的表达[J].第三军医大学学报,2001,23(7):790-792.

(编辑 王 红)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net