

文章编号:1005-6947(2008)08-0777-04

· 基础研究 ·

TAE 和 TACE 治疗对兔肝癌 HIF-1 α , MVD 和 PCNA 的影响

陈锦隆¹, 贺德²

(1. 广东省深圳市宝安区福永医院 普通外科, 广东 深圳 518103; 2. 广东省深圳市宝安区人民医院 普通外科, 广东 深圳 518101)

摘要:目的 观察兔肝癌行 TAE 和 TACE 治疗后 HIF-1 α , MVD, PCNA 的变化情况, 探讨其治疗机制。方法 30 只新西兰大白兔 VX2 瘤细胞株种植瘤成模后 1 周分别给予肝动脉注入生理盐水(对照组)和 TAE 及 TACE 治疗。治疗 2 周后观察肿瘤大小, 肿瘤中 HIF-1 α , MVD, PCNA 的变化。结果 3 组动物的肝左叶均见肿瘤生长, 对照组、TAE 组和 TACE 组分别见 15, 11, 3 个新生结节。对照组 HIF-1 α 和 PCNA 较 TAE 组明显减弱 ($P < 0.05$); 但较 TACE 组中明显增强, 与其他两组比较差异均有显著性 ($P < 0.05$); TAE 组肝肿瘤 MVD [$(115.3 \pm 20.74) / \text{mm}^2$] 明显高于对照组 [$(72.11 \pm 18.95) / \text{mm}^2$] 和 TACE 组 MVD [$(47.33 \pm 15.53) / \text{mm}^2$], 差异有显著性 ($P < 0.01$), TACE 组 MVD 明显低于对照组和 TAE 组 ($P < 0.05$)。结论 TAE 术后肿瘤组织缺血缺氧加重, HIF-1 α 和 PCNA 蛋白表达增加, 可能促进肿瘤细胞增生; TACE 术后肿瘤组织中 HIF-1 α 和 PCNA 蛋白表达减少, 有抑制肿瘤细胞增生的作用。 [中国普通外科杂志, 2008, 17(8): 777-780]

关键词: 肝肿瘤/治疗; 化学栓塞, 治疗性; 缺氧诱导因子; 细胞增殖核抗原

中图分类号: R 735.7

文献标识码: A

Effects of TAE and TACE on HIF-1 α , MVD and PCNA in rabbit liver carcinoma

CHEN Jinlong¹, HE De²

(1. Department of General Surgery, Fuyong Hospital of Baoan, Shenzhen, Guangdong 518103, China;
2. Department of General Surgery, Hospital of Baoan, Shenzhen, Guangdong 518101, China)

Abstract: **Objective** To investigate expression and clinical significance of HIF-1 α , MVD and PCNA after TAE or TACE for rabbit liver carcinoma, and to identify the mechanism of hepatic carcinoma cell proliferation after the operation. **Methods** Thirty rabbits were implanted with liver VX2 tumors for 1 week. Then they were randomly divided into 3 groups. Control group had hepatic arterial infusion of 0.5 to 0.8 mL saline. TAE group was embolized with 0.5 to 0.8 ml UFLP. TACE group was embolized with 0.5 to 0.8 ml UFLP mixed with 2 mg THP. Two weeks after treatment, HIF-1 α , MVD and PCNA expression was detected. **Results** Growth of the liver tumor was found in the 3 groups, and there were 15, 11 and 3 new tumors found in the control group, TAE group and TACE group respectively. The expressions of HIF-1 α and PCNA in control group were higher than those in TACE group, but significantly lower than those in TAE group ($P < 0.05$). The MVD in TAE group ($115.3 \pm 20.74 / \text{mm}^2$) was higher than that in control group ($72.11 \pm 18.95 / \text{mm}^2$) and TACE group ($47.33 \pm 15.53 / \text{mm}^2$) ($P < 0.05$). **Conclusions** The expressions of HIF-1 α and PCNA were higher after TAE and can promote tumor growth. The expressions of HIF-1 α and

收稿日期: 2008-02-04; 修订日期: 2008-06-23。

作者简介: 陈锦隆, 男, 广东省深圳市宝安区福永医院副主任医师, 主要从事肝胆外科方面的研究。

通讯作者: 陈锦隆 E-mail: xiaoyeqiao@yahoo.com.cn

PCNA were lower after the TACE and can suppress tumor growth.

[Chinese Journal of General Surgery, 2008, 17(8): 777-780]

Key words: Liver Neoplasms/ther; Chemoembolization, Therapeutic; Hypoxia Inducible Factor; Proliferating Cell Nuclear Antigen

CLC number: R 735.7

Document code: A

经导管肝动脉栓塞术(TAE)是目前中晚期肝癌的主要治疗手段之一,其主要机制是通过选择性阻断肝癌的动脉血供,使肿瘤细胞坏死,达到抗癌目的,但有报道TAE治疗使肝癌患者的肝内转移率明显升高^[1]。经导管肝动脉化疗栓塞术(TACE)是在TAE的基础上结合化疗药物,达到抑制肿瘤细胞的目的,目前TACE已成为肝癌的主要治疗方法之一,并逐渐替代TAE。本研究对比TAE和TACE对兔种植肝癌的治疗效果,并观察肿瘤生长相关的蛋白缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)和肿瘤细胞增殖核抗原(PCNA)表达的差异,企以揭示TACE治疗肿瘤的机制。

1 材料和方法

1.1 材料

新西兰大白兔30只,体质量2.0~2.5 kg,雌雄不限,由中山大学实验动物中心提供。VX2瘤细胞株由复旦大学上海中山医院惠赠。超液化碘油(ultra-fluid Lipiodol, UFLP)购自法国Gaubert公司;吡柔比星(Pirarubicin, THP)购自深圳万乐公司;优维显(ultravist, 300 mg/mL)购自先灵广州药业公司;兔抗兔HIF-1 α 购自武汉博士德公司;通用型二步法免疫检测试剂盒购自北京中山公司。

1.2 实验方法

1.2.1 动物疾病模型的制作 将VX2肿瘤细胞株接种于1只大白兔大腿部皮下,2周左右当瘤体直径长至1.5 cm时,手术取出肿瘤组织。在细胞培养皿上剪成1~2 mm大小的碎块作为瘤种备用。实验兔30只,20%乌拉坦(5 mL/kg)经耳缘静脉麻醉,剑突下作2 cm长切口,开腹暴露肝脏,用眼科镊在肝左叶于较厚处刺破肝组织,深度约1.5 cm,以嵌插包埋法植入3块瘤种,确切止血后回纳肝脏,逐层缝合。术后3 d按10万U/kg肌内注射青霉素。

1.2.2 荷瘤动物的介入治疗 肿瘤组织种植后10 d进行介入治疗。将荷瘤兔全麻后,固定于手术台上,纵行切开腹股沟区皮肤,暴露股动脉鞘,钝性分离股动脉,长约3 cm;18号穿刺针穿刺股动脉置入导丝,退出穿刺针后置入4F Cobra导管,

在T₁₂~L₁间寻找到腹腔动脉后,行腹腔动脉造影,确认肝固有动脉,置入3F导管,超选择至肝固有动脉或左肝动脉,经造影证实肿瘤显影后。将实验动物随机分成3组,每组10只。对照组:经肝动脉注入生理盐水0.5~0.8 mL。TAE组:单纯碘油栓塞(UFLP 0.5~0.8 mL)。TACE组:碘油抗癌药混悬液(UFLP+THP)栓塞(UFLP 0.5~0.8 mL, THP 2 mg)。术毕拔除导管及鞘管的同时缝合股动脉破口,缝合包扎切口。术后14 d,处死全部动物,取肝脏肿瘤进行大体标本观察并检查HIF-1 α 和PCNA的表达及肝肿瘤MVD等指标。

1.2.3 免疫组织化学检测与判定 采用二步法染色。标本经甲醛固定后,行连续切片;将石蜡切片脱蜡、高压煮沸抗原修复3 min,3% H₂O₂溶液室温孵育10 min;滴加兔抗兔一抗工作液(HIF-1 α 或PCNA),4℃过夜,滴加即用型非生物素标记的二抗,室温下孵育40 min。显色3~5 min。PCNA与HIF-1 α 呈现棕褐色为阳性。图像分析采用HEMIS彩色图像分析系统对免疫组化切片进行灰度扫描,每张切片取5个视野记录平均光密度(OD)。MVD的测定标准首先在低倍视野下检查微血管染色情况,以新生血管内皮染成棕黄色为阳性判定标准。取癌巢间质血管最多的视野,血管腔和腔内的红细胞不作为计数,如有肌层的血管或管腔>50 mm者亦排除。

1.3 统计学处理

所有数值变量均采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,所有数据采用SPSS11.0统计软件包进行分析,计量资料采用 t 检验。

2 结果

2.1 各组动物病理特点

2.1.1 大体观察 3组荷瘤兔的肝左叶均见肿瘤生长,呈圆形,结节状,无包膜,灰白色,鱼肉样,质硬。肿瘤直径:对照组(3.71 \pm 0.84) cm, TAE组(2.61 \pm 0.67) cm, TACE组(1.24 \pm 0.42) cm, 3组间差异均有显著性($P < 0.05$),对照组和TAE, TACE组分别见15, 11, 3个新生结节。

2.1.2 病理检查 光镜下,对照组可见肝内浸润性癌巢,与肝实质无明显边界,间质分界不清,结缔组织较少,肿瘤细胞弥散排列,并有纤维间隔,新生毛细血管丰富,间质内可见淋巴细胞、浆细胞浸润。TAE组可见部分坏死灶,面积小,肿瘤与正常组织交界处新生毛细血管丰富;TACE组肿瘤呈片状坏死,残留肿瘤细胞少,肿瘤与正常组织交界处新生毛细血管明显减少。

2.2 HIF-1 α 和PCNA的表达

HIF-1 α 表达为胞浆内出现棕黄色或棕褐色颗粒,PCNA表达为细胞核内出现棕黄色或棕褐色颗粒。对照组HIF-1 α 和PCNA较TAE组明显减弱($P < 0.05$);但较TACE组明显增强($P < 0.05$) (表1)(图1A,B,C;图2A,B,C)。

2.3 各组肝肿瘤MVD和肝肿瘤直径的比较

TAE组肝肿瘤MVD明显高于对照组,差异有显著性($P < 0.05$)。TACE组MVD明显低于对照组与TAE组($P < 0.05$) (表1)。TAE组毛细血管大量增生,形态不规则,数量相差悬殊,呈异质性,且毛细血管增生富集在肿瘤边缘处。TACE组可见肿瘤边缘处有少量新生毛细血管。

表1 3组间HIF-1 α ,PCNA表达和的肝肿瘤MVD比较

组别	n	HIF-1 α (平均光密度)	PCNA(平均光密度)	MVD(个/mm ²)
对照	10	0.11 \pm 0.05 ^{1),2)}	0.25 \pm 0.11 ^{1),2)}	72.11 \pm 18.95 ^{1),2)}
TAE	10	0.19 \pm 0.06 ¹⁾	0.41 \pm 0.13 ¹⁾	115.3 \pm 20.74 ¹⁾
TACE	10	0.06 \pm 0.02	0.11 \pm 0.05	47.33 \pm 15.53

注:1)与TACE组比较, $P < 0.05$; 2)与TAE组比较; $P < 0.05$

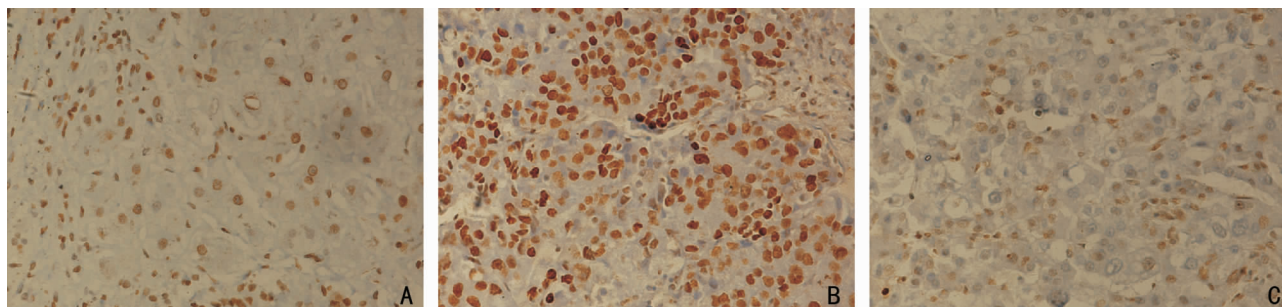


图1 3组PCNA免疫组化结果($\times 100$) A:对照组PCNA的表达;B:TAE组PCNA的表达;C:TACE组PCNA的表达

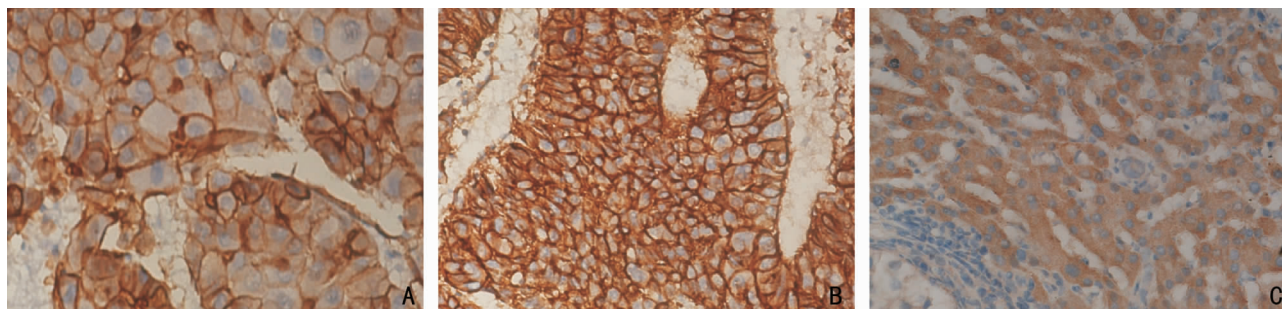


图2 3组HIF-1 α 免疫组化结果($\times 100$) A:对照组HIF-1 α 的表达;B:TAE组HIF-1 α 的表达;C:TACE组HIF-1 α 的表达

3 讨论

HIF-1 α 是调节细胞适应缺氧的一个主要调控因子,是在缺氧条件下广泛存在于哺乳动物和人体内的一种转录因子,介导缺氧反应基因(HRG)的调控,使HRG的转录增强,表达产物增多;它涉及物质和能量代谢、血管生成、红细胞增生等,激活包含血管内皮生长因子(VEGF)、血红素氧合酶-1等数十种靶基因转录^[2]。在肝脏恶性肿瘤进展中,肿瘤组织增生过快造成局部组织

严重缺氧和代谢紊乱,HIF-1能通过诱导VEGF的表达,增加供血、供氧、供能,使肿瘤细胞能适应缺氧的微环境^[3-4]。

PCNA是真核细胞DNA合成所必需的一种核蛋白,其合成和表达与细胞增殖有关,对DNA复制起着重要作用;其表达能反映细胞的增殖状态,合成于G₁,S期达到高峰,G₂,M期减少,在生长迅速的肿瘤组织或各种原因引起的肝再生结节中,增殖细胞均呈PCNA阳性反应。研究表明PCNA阳性率与肿瘤的侵袭性及肝细胞肝癌患者

的生存时间有显著的相关性^[5-6]。

本实验结果显示, HIF-1 α 和 PCNA 在对照组肿瘤组织中普遍表达, TAE 术后肿瘤组织周围、肿瘤坏死组织周围表达较对照组明显增强, 而 TACE 组中 HIF-1 α 表达最弱; 3 组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$); PCNA 表达在 TAE 组中最强, TACE 组最弱, 3 组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$); MVD 的数量以 TAE 组为最多, TACE 组最少 ($P < 0.05$)。笔者认为其原因可能是 TAE 不能使肿瘤细胞发生完全性坏死, 但栓塞后肿瘤滋养血管的破坏、血流动力学的紊乱使术后残存瘤细胞发生缺血、缺氧, 诱发并明显上调 HIF-1 α 的表达, 促进细胞分裂增生, 加速肿瘤微血管生成, MVD 增加, 从而使残瘤得以生存并促进了 TAE 术后肿瘤的转移。本研究对照组和 TAE 组分别见 15 个和 11 个新生结节。而 TACE 组由于栓塞和化学药物的双重作用, 抑制并杀灭了大量肿瘤细胞, 使局部肿瘤细胞明显减少; 同时也减缓了新生血管的形成, 使 HIF-1 α 及 PCNA 表达减弱, MVD 数量减少, 肿瘤体积缩小, 新生结节数明显少于其他两组别。所以笔者认为, 对肝

癌的介入治疗在患者身体条件允许的情况下尽量采用 TACE 方法^[7]。

参考文献:

- [1] 郑延波, 徐克. 缺氧诱导因子-1 α 在兔 VX2 肝癌模型 tace 术后的表达及其临床意义[J]. 介入放射学杂志, 2007, 16(5): 334-338.
- [2] 丁磊, 陈孝平, 王海平. 肝癌和癌旁组织中 HIF-1 α 基因蛋白的表达及其临床意义[J]. 肝胆外科杂志, 2004, 12(1): 32-34.
- [3] 梁辉, 窦科峰. 肝癌组织中 Glut1 与 HIF-1 α 基因蛋白表达及意义[J]. 中国癌症杂志, 2008, 18(3): 181-185.
- [4] 郑立, 刘超, 胡军红. IGF-1、HIF-1 α 在肝细胞肝癌中的表达及其临床意义[J]. 中国误诊学杂志, 2007, 7(30): 7227-7229.
- [5] 刘基巍, 赵翌, 富力. PCNA、P16、MMP9 在人参皂甙 Rg3 抗肝癌淋巴道转移中的表达及意义[J]. 临床肿瘤学杂志, 2004, 9(3): 225-229.
- [6] 李立人, 施公胜, 孙超. PCNA 和 VEGF 在肝细胞肝癌中的表达意义[J]. 世界华人消化杂志, 2005, 13(4): 560-562.
- [7] 张坤, 江艺, 张绍庚, 等. 肝动脉化疗栓塞对原发性肝癌患者术后生存及肿瘤复发的影响[J]. 中国普通外科杂志, 2007, 16(3): 206-208.

文章编号: 1005-6947(2008)08-0780-01

· 病案报告 ·

腹股沟斜疝疝壁囊肿 1 例

沙明法¹, 李海燕²

(1. 山东省枣庄市台儿庄区中医院 外科, 山东 枣庄 277400; 2. 山东省枣庄市峄城区中医院 外科, 山东 枣庄 277300)

关键词: 腹股沟斜疝; 疝壁囊肿; 病例报告

中图分类号: R 656.2 **文献标识码:** D

患者 女, 38 岁。因左腹股沟区可复性肿物 2 年余入院。体查: 左腹股沟区有约 5 cm × 4 cm × 3 cm 大小肿物, 可推入腹腔指压外环口咳嗽

有冲击感。诊断: 左腹股沟斜疝。行手术治疗, 术中打开疝囊发现疝内容物为小肠, 推入腹腔后发现疝囊左侧壁为褐色囊性肿物, 约直径 3 cm, 压之不缩小, 穿刺抽出褐色液体, 打开囊肿, 放出液体, 彻底游离, 完全切除, 缝合结扎疝囊颈部, 常规修补。

讨论 该例临床上实属罕见, 易误诊误治, 可能误将囊肿看作滑疝, 但仔细分析, 就能判断出不是滑疝。因该疝囊颜色为褐色, 患者术前却无

疼痛史及梗阻病史, 加之压之不缩小, 故不像肠管嵌顿所致肠管坏死。且在术中采取穿刺定性的方法, 抽出褐色液体, 如为肠管则其内容物为粪样液。故在术中采取切开囊肿游离后切除。其成因可能系疝囊壁内出血, 后液化形成囊肿。

收稿日期: 2008-04-29。

作者简介: 沙明法, 男, 山东省枣庄市台儿庄区中医院主治医师, 主要从事普通外科方面的研究。

通讯作者: 沙明法 E-mail: sha316@163.com