

大鼠种植型肝癌外周血 TNF- α 表达水平的变化

邵成伟, 王培军, 田建明, 张火俊, 左长京, 郝西彦, 王敏杰, 陈 炜

(第二军医大学长海医院放射科, 上海 200433)

[摘要] 目的: 了解大鼠种植型肝癌生成前后血清 TNF- α 水平的动态变化及意义。材料与方法: 采用直接注射法制作大鼠肝癌动物模型, 应用 CT 或 MRI 观察大鼠种植型肝癌的影像学特点, 应用免疫试剂盒检测大鼠荷瘤前后外周血 TNF- α 表达水平的变化, 并与对照组进行比较。结果: 大鼠肝癌种植后 7 天, 种植肝叶均可见类圆形、单发瘤灶影, 大小约 0.6~0.8cm, CT 平扫为低密度, MRI 扫描 T₁WI 为低信号。荷瘤大鼠 TNF- α 表达水平较对照组明显增高, 且随肿瘤增大而进一步升高。结论: 大鼠种植型肝癌 TNF- α 表达水平的动态变化与人相似, TNF- α 为肝癌疗效评价提供一个有价值指标。

[关键词] 肝肿瘤, 实验性; 体层摄影术, X 线计算机; 磁共振成像

[中图分类号] R735.7; R814.42; R445.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-1062(2003)04-0262-03

Meaning and alteration of TNF- α expression level of rats with implanted liver tumor

SHAO Cheng-wei, WANG Pei-jun, TIAN Jian-ming, ZHANG Huo-jun,

ZUO Chang-jing, HAO Xi-yan, WANG Min-jie, CHEN Wei

Department of Radiology, Second Military Medical University Changhai Hospital, Shanghai 200433, China

Abstract: Objective: To study the meaning and alteration of TNF- α expression level of rats with implanted liver tumor. **Methods:** Direct cancerous ascite injection method was used to make rats liver tumor model. The imaging features of rats with implanted liver tumor were observed with CT or MRI. Serum cytokines TNF- α expression level was measured using immune kits. The data were compared with those of the control group. **Results:** Imaging examination showed that single, round tumors were seen in the liver of all these rats seven days later. Low density lesions were seen in pre-contrast scan. Low signal lesions were seen in MRI T₁WI. TNF- α level in rats with liver tumor were higher than those of normal rats and increased significantly with increasing of tumor size. **Conclusion:** TNF- α expression level of rats with implanted liver tumor is similar to that of human. It is a valuable target to appraise treatment effects of liver tumor.

Key words: liver neoplasms, experimental; tomography, X-ray computed; magnetic resonance imaging

细胞因子是一群由多种细胞合成分泌的、进入细胞外液后发挥细胞与细胞之间的信息沟通、功能调节的可溶性蛋白分子, 具有多种生物学活性。细胞因子表达水平的变化与肿瘤的发生、发展、预后密切相关。本文就大鼠肝癌种植前后外周血 TNF- α 表达水平变化进行了研究, 为肝癌实验研究进一步开展奠定基础。

1 材料和方法

实验动物分组: SD 雄性健康成年大鼠, 由中科院上海实验动物中心提供, 体重 200±20g。随机分成空白对照组(A)、生理盐水组(B)和肝癌种植组(C), 每组 15 只。空白对照组为正常大鼠未作

任何处理, 生理盐水组模拟 Walker-256 瘤株接种, 所不同的是接种的为生理盐水, 所有操作步骤与肝癌种植组基本相同。

荷瘤大鼠模型制作: Walker-256 瘤株由上海医工院提供, 将冻存的瘤株复苏, 体外培养至细胞数(2~6)×10⁶/ml 时, 取 1ml 注入 1 只大鼠腹腔内, 7 天后抽取血性腹水 1ml, 再传至另外 1 只大鼠腹腔, 1 周后血性腹水生成, 肿瘤细胞活性稳定便可使用。我们采用经浓缩后癌性腹水微量直接肝叶内注射法^[1], 接种 7 天后, 大鼠肿瘤大小可达 6~8mm 应用此方法制作大鼠肝癌模型成功率接近 100%。

影像学检测: 肝癌种植组大鼠分别于肿瘤种植后 7、14 天应用 Siemens VZ 多排螺旋 CT 机和

作者简介: 邵成伟 (1974-), 男, 安徽人, 主治医师

基金项目: 国家自然科学基金资助课题, 资助号 30070233

1.0T MR 机分别进行扫描, 观察肿瘤大小变化。

大鼠外周血 TNF- α 检测: 各组大鼠用特制毛细管自眼眶采血 1ml, 离心留取上清冷冻待测。细胞因子试剂盒购自德国 R&D 公司, ABC-HRP 方法, 严格按照产品说明书操作。

病理学观察: 实验组接种 7、14 天后, 将空白对照组、生理盐水组和肝癌种植组大鼠处死(每次 5 只), 切取癌灶及其周围部分肝组织和正常肝组织, 用 10% 中性甲醛固定, 然后石蜡包埋, 切片, HE 染色, 在光镜下观察组织病理学改变。

统计学处理: 结果以均数 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 两组间比较采用计量资料 t 检验, 检验水准 α 取 0.05。

2 结果

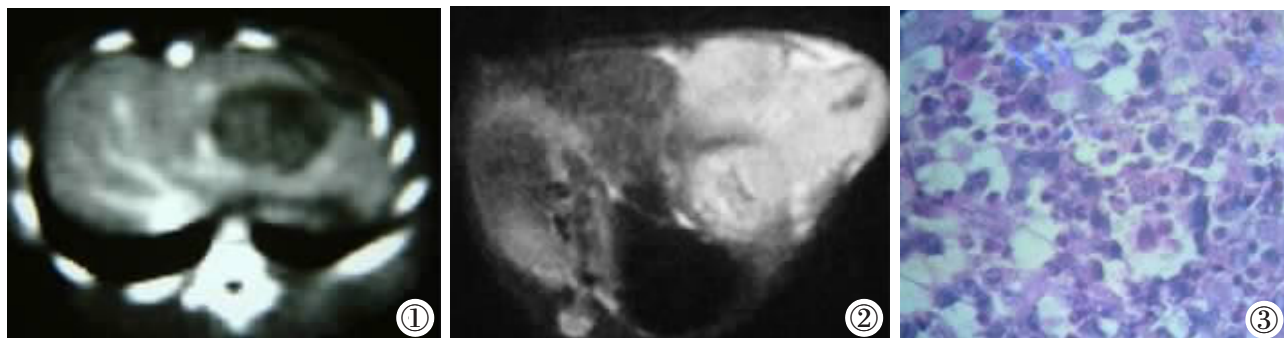


图 1 CT 扫描, 肝左叶可见一直径约 0.8cm 大小低密度病灶。

图 2 肝左叶肿瘤明显增大, 突出腹壁生长。

图 3 HE 染色, 肿瘤细胞呈多形性, 排列紊乱, 核大, 深染。

肝肿瘤体积增大, TNF- α 表达水平进一步增高。

3 讨论

TNF- α 是一种主要由激活的单核巨噬细胞产生的小分子多肽, 其生物学活性相当广泛, 除了在机体抗肿瘤免疫中起着重要作用外, 对免疫反应、机体代谢、炎症反应均具有重要的调节和介导作用。

目前研究发现, TNF- α 在许多恶性肿瘤中都有高水平表达^[2-3]。TNF- α 的增加可使细胞因子网络平衡受到破坏, 比例失调, 由此导致机体发生病理生理改变。我们实验结果也表明, 荷肝癌大

影像学表现: Walker-256 瘤株接种第 7 天行影像学检查。CT 平扫显示所有肝癌种植组大鼠肝叶均可见类圆形、单发、均匀低密度灶影, 大小约 0.6~0.8cm, 边缘模糊。14 天后影像学检查显示, 所有大鼠肝肿瘤均明显增大, 大小约 1.5~2.0cm, 部分与腹壁或邻近脏器粘连(图 1, 2)。

病理学改变: 于光镜下观察, A、B 组大鼠肝细胞均呈多面形, 胞浆丰富, 核浆比例协调, 无肝细胞变性坏死或再生表现。C 组 HE 染色光镜下可见肿瘤细胞呈巢状或片状排列, 不规则, 核大, 深染, 可见较多核分裂象, 坏死不明显, 肿瘤周边少许炎性细胞浸润(图 3)。

实验组与对照组大鼠血清 TNF- α 表达水平见表 1。肝癌种植组大鼠血清 TNF- α 水平明显高于正常对照组和生理盐水组($P<0.05$), 而且随着大鼠

鼠血清 TNF- α 表达水平明显较对照组为高, 分析认为可能由于肿瘤的生成, 对 TNF- α 的产生、灭活的分泌调节功能发生紊乱。除了单核巨噬细胞受刺激增加 TNF- α 的产生外, 肿瘤细胞自身也可能分泌 TNF- α , 因此大鼠血清中 TNF- α 呈现高表达状态。

有研究认为肿瘤患者 TNF- α 增高可能是机体产生的一种保护机制, TNF- α 具有抑制和杀灭肿瘤细胞的功能^[4]。目前, TNF- α 抗肿瘤机理尚不十分明确, 主要涉及以下几个方面^[5]: ①对肿瘤细胞具有直接杀伤作用, TNF- α 对肿瘤细胞在体外具有细胞毒作用。②TNF- α 介导免疫应答, 通过免疫网络中其它的因子发挥作用。③引起肿瘤血管损伤和抑制肿瘤血管生成, 继而引起肿瘤出血坏死。④调节机体的免疫机能。目前 rTNF- α 已广泛用于临床治疗, 但其疗效都不尽人意, 尽管 TNF 在一些体内外实验中对某些 (下转 283 页)

表 1 各实验组、对照组大鼠血清 TNF- α 表达水平 (ng/L)

组别	例数	第 7 天	第 14 天
空白对照组	15	3.209 \pm 0.391	3.214 \pm 0.297
生理盐水组	15	3.256 \pm 0.283	3.178 \pm 0.295
肝癌种植组	15	3.737 \pm 0.325	4.756 \pm 0.345

前、术后评价中发挥重要的作用,随着不断研究和临床经验的积累,其应用前景将十分广阔。

[参考文献]

- [1] Rowley HA, Grant PE, Roberts TP. Diffusion MR imaging: theory and applications. *Neuroimaging Clin North Am*, 1999, 9 (2): 343-361.
- [2] Shimony JS, Mckinstry RC, Akbudak E, et al. Quantitative diffusion-tensor anisotropy brain MR imaging: normative human data and anatomic analysis. *Radiology*, 1999, 212 (3): 770-784.
- [3] Le Bihan D, Mangin JF, Poupon C, et al. Diffusion tensor imaging: concepts and applications. *J Magn Reson Imaging*, 2001, 13 (4): 534-546.
- [4] Westin CF, Maier SE, Mamata H, et al. Processing and visualization for diffusion tensor MRI. *Med Image Anal*, 2002, 6 (2): 93-108.
- [5] Thomas DL, Lythgoe MF, Pell GS, et al. The measurement of diffusion and perfusion in biological systems using magnetic resonance imaging. *Phys Med Biol*, 2000, 45 (8): R97-138.
- [6] Matamaa H, Matamaa Y, Westina CF, et al. High-resolution line scan diffusion tensor MR imaging of white matter fiber tract anatomy. *AJNR*, 2002, 23: 67-75.
- [7] Chepuria NB, Yena YF, Burdette JH, et al. Diffusion anisotropy in the corpus callosum. *AJNR*, 2002, 23: 803-808.
- [8] Bergui M, Zhong J, Bradac GB, et al. Diffusion-weighted images of intracranial cyst-like lesions. *Neuroradiology*, 2001, 43 (10): 824-829.
- [9] Gauvain KM, McKinstry RC, Mukherjee P, et al. Evaluating pediatric brain tumor cellularity with diffusion-tensor imaging. *AJR*, 2001, 177 (2): 449-454.

[10] Inglis BA, Neubauer D, Yang L, et al. Diffusion tensor MR imaging and comparative histology of glioma engrafted in the rat spinal cord. *Am J Neuroradiol*, 1999, 20 (4): 713-716.

[11] Sinha S, Bastin ME, Whittle IR, et al. Diffusion tensor MR imaging of high-grade cerebral gliomas. *Am J Neuroradiol*, 2002, 23 (4): 520-527.

[12] Kuriowa T, Nagaoka T, Miyasaka N, et al. Time course of trace of diffusion tensor[Trace(D)] and histology in brain edema. *Acta Neurochir Suppl*, 2000, 76: 191-194.

[13] Brunberg J, Chenevert T, Mckeever P, et al. *In vivo* MR determination of water diffusion coefficients and diffusion anisotropy: correlation with structural alteration in gliomas of the cerebral hemispheres. *AJNR*, 1995, 16 (2): 361-371.

[14] Mori S, Frederiksen K, van Zijl PC, et al. Brain white matter anatomy of tumor patients evaluated with diffusion tensor imaging. *Ann Neurol*, 2002, 51 (3): 377-380.

[15] Hiano S, Murata T, Umetsu A, et al. Usefulness of diffusion-weighted images in the postoperative stage of brain tumors. *Neuroradiology*, 2001, 43 (11): 902.

[16] Bastin ME, Delgado M, Whittle IR, et al. The use of diffusion tensor imaging in quantifying the effect of dexamethasone on brain tumours. *Neuroreport*, 1999, 10 (7): 1385-1391.

[17] Wieshmann UC, Symms MR, Parker GJM, et al. Diffusion tensor imaging demonstrates deviation of fibres in normal appearing white matter adjacent to a brain tumour. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2000, 68 (4): 501-503.

[18] Mamata Y, Mamata H, Nabavi A, et al. Intraoperative diffusion imaging on a 0.5 Tesla interventional scanner. *J Magn Reson Imaging*, 2001, 13 (1): 115-119.

(2002-12-08 收稿)

(上接 263 页) 肿瘤有杀伤作用。

近来研究表明 TNF- α 对肿瘤的作用是双向性的,即 TNF- α 不但可杀伤肿瘤细胞又可促进肿瘤细胞生长和浸润。现在越来越多的研究发现 TNF 可诱导肿瘤细胞异常增殖和促进肿瘤细胞浸润与转移。TNF 可在基因水平上调控肿瘤细胞周期,促进 DNA 合成,加速 S 期进程,并能诱导其它加速细胞周期蛋白的分泌,促进肿瘤生长,而且 TNF 还能激活 NF- κ B,使肿瘤细胞凋亡逃逸,导致肿瘤细胞无限生长。另外 TNF 还可破坏间皮表层,刺激血管生成,增加肿瘤细胞粘附能力,从而促进肿瘤浸润和转移。至于大鼠肝癌血清 TNF- α 高表达是否能导致上述变化,目前尚缺乏有效的实验证据。但我们发现,随着肿瘤不断长大、浸润、转移,血清 TNF- α 表达水平也不断增高,二者呈正相关关系。

通过对大鼠肝癌血清 TNF- α 水平的检测,有

助于我们进一步开展肝癌介入治疗相关实验研究,这为评价介入治疗的疗效和阐明介入治疗方法的深层次机理,提供了有益的帮助。

[参考文献]

- [1] 邵成伟,王培军,田建明,等.直接注射法制作大鼠肝癌模型. *中国医学影像技术*, 2002, 18 (8): 731-732.
- [2] 孟庆润,张军,金虎,等.癌症患者血浆细胞因子水平的变化. *中国普外基础与临床杂志*, 1998, 5 (3): 146-147.
- [3] Jablonska E, Kiluk M, Markiewicz W, et al. TNF- α , IL-6 and their soluble receptor serum levels and secretion by neutrophils in cancer patients. *Arch Immunol Ther Exp*, 2001, 49 (1): 63.
- [4] 董志珍,姚登福,吴玮,等. HSB, GST 和 TNF- α 联合检测诊断肝癌的比较分析. *中国综合临床*, 2000, 16 (5): 394-395.
- [5] Giraud E, Primo L, Audero E, et al. TNF- α regulates expression of vascular endothelial growth factor receptor-2 and of its co-receptor neuropilin-1 in human vascular endothelial cells. *J Biol Chem*, 1998, 273 (34): 22128-22135.

(2003-01-14 收稿)