

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2005)18-1673-04

丹参对肝癌致鼠梗阻性黄疸时 VEGF 表达的影响

夏荣龙 陈存平 (华中科技大学同济医学院普外科 湖北 武汉 430030)

Effect of Danshen injection on VEGF expression in SD rats with malignant obstructive jaundice caused by hepatocellular carcinoma

XIA Rong-Long, CHEN Xiao-Ping

Department of General Surgery, Tongji Hospital, Huazhong University of Science & Technology, Wuhan 430030, China

【Abstract】 AIM: To establish malignant biliary obstruction model of SD rats and to study the effects of Danshen injection on the tumor size, inhibition rates and metastasis rates of hepatocellular carcinoma and the expression of vascular endothelial cell growth factor (VEGF) in carcinoma and peri-carcinoma tissues, adjacent lobe (left-internal lobe) as well as lung tissues. METHODS: Malignant biliary obstruction models of SD rats were made by vaccination of transplanted tumor in liver near the porta hepatis with walker-256 hepatocarcinoma cell line, which infiltrated and metastasized to proximal common bile duct and caused its narrowness and obstruction. The SD rats were divided into 4 groups: 0.9% NS ($n=24$), Inosine + VC ($n=40$), Danshen ($n=40$) and 5-FU ($n=40$) respectively. The diameter of transplanted tumor, inhibition rates and metastasis rates of hepatocellular carcinoma and the expression of VEGF in carcinoma and peri-carcinoma tissues, adjacent lobe (left-internal lobe) as well as lung tissues were observed. Statistical analysis was made. RESULTS: The diameter of the tumor was reduced and the inhibition rates and metastasis rates of hepatocellular carcinoma were upgraded after treatment of Danshen injection compared with those in the rats treated by 0.9% NS. and Inosine combined with VC ($P < 0.01$), but the diameter of tumor was slightly downgraded after treatment of Danshen injection compared with that in the rats treated by 5-FU ($P < 0.01$). The inhibition rates (41.7%) and the liver metastasis rate (59.7% and

81.1%) of hepatocellular carcinoma in rats treated by Danshen injection were similar with those in the rats treated by 5-FU ($P < 0.01$). The expressions of VEGF in carcinoma and peri-carcinoma tissues were significantly downgraded after treatment of Danshen injection compared with those in the rats treated by 0.9% NS and Inosine combined with VC ($P < 0.01$) and with those in the rats treated by 5-FU ($P < 0.05$). CONCLUSION: Danshen can inhibit the growth of hepatocarcinoma in SD rat models of malignant biliary obstruction through reducing the proliferation of hepatocarcinoma cells, increasing the reversion of hepatocarcinoma cells and downregulating the expression of VEGF in carcinoma and peri-carcinoma tissues.

【Keywords】 jaundice, obstructive; disease models, animal; liver neoplasms; Walker-256 hepatocarcinoma cell line; vascular endothelial growth factor; Danshen

【摘要】目的: 建立恶性梗阻性黄疸模型, 通过对模型鼠 ip 丹参注射液, 观察其对肝癌瘤体大小、抑癌率及抑转移率和肝癌、癌周、临近肝叶及肺组织中血管内皮生长因子(VEGF)的表达, 评价其作用。方法: 用 Walker-256 肝癌株近肝门部肝实质内种植致移植性肝癌侵袭高位胆管, 造成胆道癌性狭窄, 以建立 SD 大鼠恶性梗阻性黄疸模型。将模型鼠分成 4 组, 通过对模型鼠腹腔内分别注射等量的生理盐水($n=24$)、肌苷 + VC($n=40$)、丹参($n=40$)和 5-FU($n=40$)。观察肝癌瘤体大小、抑癌率及抑转移率和肝癌、癌周、临近肝叶及肺组织中 VEGF 的表达。结果: 丹参组与生理盐水组和肌苷 + VC 组相比, 肝癌平均瘤体减小(0.5 ± 0.2) cm^3 、抑癌率(41.7%)及抑转移率(59.7%、81.1%)增高($P < 0.01$); 与 5-FU 组相比, 平均瘤体却较大($P < 0.01$)。在抑癌率及抑肝转移率方面, 丹参组除抑肺转移率外与 5-FU 组相比无差异。丹参组 VEGF 在肝癌组织和癌周组织中的表达率分别低于生理盐水组($P < 0.01$)、肌苷 + VC 组($P < 0.01$)和 5-FU 组($P < 0.05$)。结论: 丹参在肝癌致梗阻性黄疸时, 通过促进肝癌细胞分化成熟, 抑制肝癌细胞增殖、降低肝癌组织和癌周组织中 VEGF 表达, 而对肿瘤发展起抑制作用。

【关键词】 黄疸 阻塞性; 疾病模型, 动物; 肝肿瘤; Walker-256 肝癌株; 血管内皮生长因子类; 丹参

【中图分类号】 R735.5 **【文献标识码】** A

收稿日期 2004-11-08; 修回日期 2004-12-25

基金项目 河南大学基金项目(XK03YBDYX16)

通讯作者: 夏荣龙(1963-), 男(汉族), 上海市人, 医学硕士, 副教授, 硕士生导师, 科主任。Tel. (0378) 5659077 Email. xiaronglong63092@

163.com

0 引言

本实验用 Walker-256 肝癌株近肝门部肝实质内种植致移植性肝癌侵袭高位胆管,造成胆道癌性狭窄,建立 SD 大鼠恶性梗阻性黄疸模型。通过对模型 ip 不同的药物,肝癌、癌周、临近肝叶及肺组织中血管内皮生长因子(vascular endothelia cell growth factor, VEGF)的表达,并对其结果进行统计学分析。

1 材料和方法

1.1 材料 雄性 SD 大鼠 144 只,体质量(225 ± 25) g,另备雄性 SD 幼鼠 10 只,体质量(100 ± 25) g,以供癌株传代用。以上实验用鼠为西安交通大学医学院动物实验中心提供(均为近交系繁殖和封闭群体饲养)。Walker-256 肝癌细胞株用人乳腺癌肉瘤诱导传代培育而成的鼠肝癌株,由中国科学院上海细胞生物所提供,已稳定传代 50 次以上。抗 VEGF 鼠单克隆抗体(Labvision com)、Supervision 免疫组化试剂盒(单抗鼠 IgG)、Envision 免疫组化染色试剂盒(单抗鼠 IgG)、DAB 显色剂均由 DAKO 公司提供;复方丹参注射液(上海第九制药厂,批号 00124509)。

1.2 方法 恶性梗阻性黄疸模型的建立^[1]:将 Walker-256 瘤株从液氮中复苏,在传代鼠腹腔内进行瘤株扩增后,注入传代 SD 幼鼠下肢内侧皮下。5 d 后,在无菌条件下摘出实体瘤,取边缘生长活跃的鱼肉样癌组织,切成 1 mm × 1 mm × 1 mm 瘤块,置于冰生理盐水中漂洗后备接种用。将 SD 大鼠用 20 g/L 戊巴比妥(1.3 mL/kg) ip 麻醉后,常规消毒,行腹正中切口进腹,充分显露肝门,置手术放大镜视野下,在肝右叶与肝中叶的交界部距肝门 5 mm 处,用眼科镊逆胆管走行方向潜行造隧深约 3 mm,植入备用的瘤块后,用棉签压迫止血。依次关腹,结束手术。常规饲养 7 d,即可完成模型鼠的复制^[1]。将不合格的模型鼠剔除(接种失败、腹腔接种及无黄疸者)后,随机分成 4 组:A 组(生理盐水治疗组)24 只, ip NS, 剂量为 10 mL/kg × 7 d。B 组(肌苷 + VC 治疗组)40 只, ip 肌苷、VC 各 5 mL/kg × 7 d。C 组(丹参治疗组)40 只, ip 丹参 10 mL/kg × 7 d。D 组(5-FU 组)40 只, ip 300 mg/kg × 7 d。结果实际得到观察数为 A 组 16 只、B 组 26 只、C 组 34 只及 D 组 30 只。将 4 组实验鼠分别 ip 不同药物 7 d 后,用乙醚开放吸入麻醉后,行正中十字切口入腹,沿胸骨正中打开胸腔,迅速剪开心包行左心室插管,先快后慢灌注生理盐水 100 mL 和 40 g/L 多聚甲醛(0.1 mol/L)PB 固定液 300 mL,剪开右心耳放血。待全身灌注固定完全后,切取肝脏及肿瘤、肺脏标本。将组织块放入 40 g/L 多聚甲醛溶液

中,选材、脱水及石蜡包埋。记录肿瘤体积、肝内转移灶数目及肺转移情况,并计算:肿瘤体积 = 长径 × 短径² ÷ 2,抑瘤率 = [(对照组平均瘤体 - 实验组平均瘤体) ÷ 对照组平均瘤体] × 100%,抑转移率 = [(对照组平均转移率 - 实验组平均转移率) ÷ 对照组平均转移率] × 100%。将选取肝癌组织、瘤周组织、邻近肝近肝叶(左内叶)及肺组织行 HE 染色,进行组织病理学检查,同时选取肝癌、癌周中 VEGF 表达的免疫组化检查。

统计学处理:计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 SPSS 11.0 统计软件对多组计量资料进行 Kruskal-Wallis *H* 检验,对计数资料进行 R × C 表 χ^2 检验, *P* < 0.05 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 形态学观察 A 组肝癌生长良好,异型性高,瘤体大于 1 cm³ 时可见瘤体中心部干酪样坏死,癌周血管丰富,管径大小不一,分布密集(Fig 1)。B 组肝癌生长良好,异型性高,瘤体体积大于 1 cm³ 时可见瘤体中心部干酪样坏死,癌周血管丰富,管径大小不一,分布密集。C 组肝癌生长不良,异型性低,成熟分化比率高,肝癌组织中癌细胞呈片状病变区,周边部以细胞凋亡为主,而中心部以细胞坏死为主。瘤体体积小于 1 cm³ 时就可见瘤体中心部干酪样坏死,癌周血管稀少,管径大小均匀,散在分布。D 组肝癌生长不良,但异型性高。瘤体体积大于 1 cm³ 时才可见瘤体中心部干酪样坏死,癌周血管稀少,管径大小不一,分布集中。

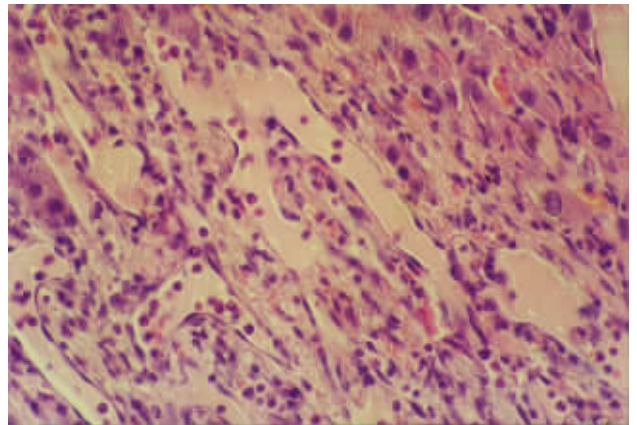


Fig 1 Tumor blood vessel in peri-carcinoma tissues of liver cancer HE × 400

图 1 肝癌周组织肿瘤血管形成

2.2 肝癌生长转移的影响 丹参组抑瘤率明显高于肌苷 + VC 保肝对照组(*P* < 0.01),而与 5-FU 抗癌对

照组抑瘤率相比,虽数值上较低,但无统计学意义。丹参组抑制肝内转移率和抑制肺部转移率明显高于肌苷+VC保肝对照组($P < 0.01$);与5-FU抗癌对照

组相比,在抑制肝内转移率方面数值相近,而在抑制肺部转移率方面,数值上高于5-FU组,但差异无统计学意义(Tab 1)。

表1 各组模型鼠腹腔内不同药物注射对肝癌生长转移的影响

Tab 1 Different medicine treat for the growth of liver cancer

($\bar{x} \pm s$)

| Group | n | Size of tumor (cm ³) | Metastasis(%) | | Inhibitory rates in tumor size (%) | Inhibitory metastasis rate(%) | |
|-------|----|----------------------------------|---------------|----------|------------------------------------|-------------------------------|-------------------|
| | | | Liver | Lung | | Liver | Lung |
| A | 16 | 1.2 ± 0.5 | 14(87.5) | 10(62.5) | - | - | - |
| B | 26 | 1.0 ± 0.6 | 18(69.2) | 12(46.2) | 16.7 | 20.9 | 26.1 |
| C | 34 | 0.7 ± 0.3 | 12(35.3) | 4(11.8) | 41.7 ^b | 59.7 ^b | 81.1 ^b |
| D | 30 | 0.5 ± 0.2 | 10(33.3) | 8(26.7) | 58.3 ^b | 61.9 ^b | 57.3 ^b |

^b $P < 0.01$ vs B. A : 9 g/L NS ; B : Insoine + VC ; C : Danshen ; D : 5-FU.

2.3 肝癌、癌周、临近肝叶(肝左内叶)组织 VEGF 的表达 丹参治疗组肝癌、癌周 VEGF(Fig 2)的表达例数均明显低于生理盐水组(Fig 3)和肌苷+VC组($P < 0.01$)。而在临近肝叶(肝左内叶)及肺组织中丹参组 VEGF 的表达例数与生理盐水组和肌苷+VC组相比,无统计学意义。与5-FU抗癌对照组相比,虽数值上表达较低,但无统计学意义(Tab 2)。

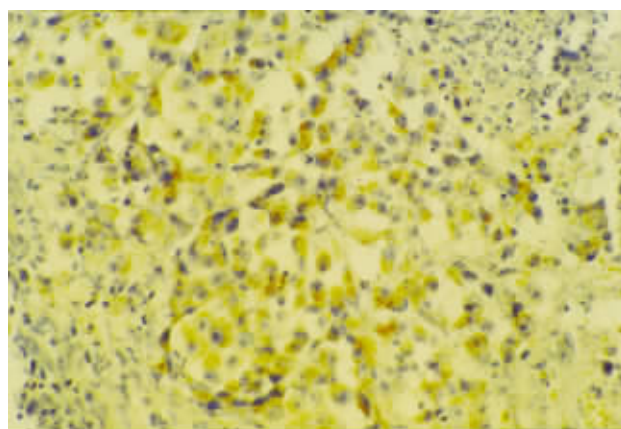


Fig 3 Expression of VEGF in peri-carcinoma tissues of liver cancer NS group SP × 400

图3 生理盐水组肝癌周组织 VEGF 的表达

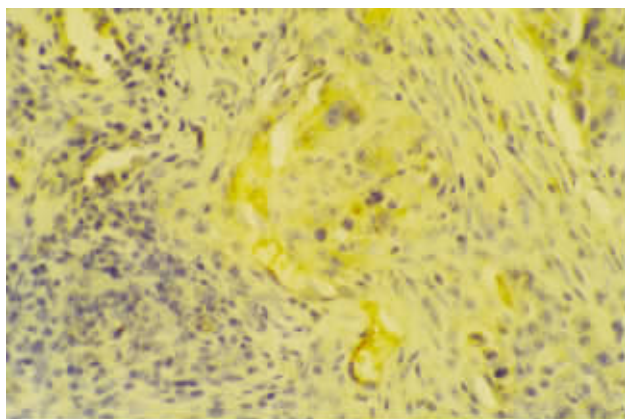


Fig 2 Expression of VEGF in peri-carcinoma tissues of liver cancer Danshen group SP × 400

图2 丹参组肝癌周组织 VEGF 的表达

表2 肝癌、癌周、临近肝叶及肺组织中 VEGF 的表达

Tab 2 Expression of VEGF in cancinoma, peri-carcinoma, adjacent lobe tissues and lung tissues ($\bar{x} \pm s$)

| Group | n | Carcinoma | Peri-carcinoma | Adjacent lobe tissues | Lung tissues |
|-------|----|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| A | 16 | 0.95 ± 0.06 | 0.85 ± 0.28 | 0.3 ± 0.11 | 0.45 ± 0.20 |
| B | 26 | 0.90 ± 0.13 | 0.85 ± 0.27 | 0.25 ± 0.24 | 0.50 ± 0.35 |
| C | 34 | 0.25 ± 0.24 ^b | 0.18 ± 0.13 ^b | 0.20 ± 0.20 | 0.38 ± 0.01 |
| D | 30 | 0.35 ± 0.33 ^b | 0.2 ± 0.17 ^b | 0.25 ± 0.25 ^b | 0.4 ± 0.33 ^b |

^b $P < 0.01$ vs B. A : 9 g/L NS ; B : Insoine + VC ; C : Danshen ; D : 5-FU.

3 讨论

恶性梗阻性黄疸是普外科常见症候群,其发病肝脏局部而危及全身脏器,引起不可逆的病理生理改变,故在围手术期处理方面历来受到医学界的高度重视。VEGF 是主要的促血管生长因子,是肿瘤血管形成的关键因素^[2],是肝癌细胞浸润和转移的基础。以往对丹参的非瘤疾病的药理作用研究较彻底^[3],如抗血小板聚集、改善微循环、调节血液流变学、增强机体

免疫、逆转慢性肝病纤维化作用、调节血脂、抗脂质过氧化作用及对心肌细胞缺血再灌注损伤保护作用,并在临床得到广泛应用,取得较满意的疗效。但丹参对肿瘤细胞的细胞毒杀伤作用、诱导肿瘤成熟分化、促进肿瘤细胞凋亡等机制研究甚少。近年来随着抗癌中药研究的日益深入,丹参抗肿瘤的基础和临床研究得以重视。本实验观察显示,丹参组肝癌平均瘤体减

小、抑癌率及抑转移率增高,丹参组 VEGF 表达在肝癌组织与正常肝细胞交界处表达丰富,肝癌组织中心部 VEGF 表达反而减少,形态学肿瘤血管管径较粗、大小均一。癌组织中瘤体体积小于 1 cm³ 可见干酪样坏死,提示丹参在肝癌致梗阻性黄疸时,通过促进丹参诱导肝癌细胞成熟分化^[4],降低肝癌、癌周组织中 VEGF 表达,阻止肝肿瘤血管形成等机制而对肿瘤发展起抑制作用。

【参考文献】

[1] 夏荣龙,刘青光,倪卫东,等. 恶性梗阻性黄疸模型的建立及评价[J]. 西安医科大学学报, 2001 22(5) 350-351.
Xia RL, Liu QG, Ni WD, et al. The establishment and evaluation of malignant biliary obstruction model on the SD rats [J]. *J Xi'an Med Univ*, 2001 22(5) 350-351.

[2] 李晓明,汤钊猷,周洛,等. 血管内皮细胞生长因子的表达与肝癌细胞浸润和转移的关系[J]. 中华肿瘤杂志, 1998 20 12-14.
Li XM, Tang ZY, Zhou L, et al. Expression of vascular endothelial growth factor correlates with invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma [J]. *Chin J Oncol January*, 1998 20 12-14.

[3] 梁勇,羊裔明,袁淑兰. 丹参酮药理作用及临床研究进展[J]. 中草药, 2000 31(4) 304-306.
Liang Y, Yang YM, Yuan SL. Danshentong pharmacological effects and development of clinic research [J]. *Chin Trad Herb Drug*, 2000 31(4) 304-306.

[4] 夏荣龙,刘青光,潘承恩,等. 丹参对肝癌致梗阻性黄疸时增殖细胞核抗原表达的作用[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2004 25(3) 247-249.
Xia RL, Liu QG, Pan CE, et al. The effect of Danshen on the expression of PCNA during malignant biliary obstruction [J]. *J Xi'an Jiaotong Univ (Med Sci)*, 2004 25(3) 247-249.

编辑 袁天峰

· 经验交流 · 文章编号 1000-2790(2005)18-1676-01

青年女性面部烧伤 54 例的心理护理

周琴,石雪芹,邹小梅,梁敏

(第四军医大学西京医院烧伤外科,陕西西安 710033)

【关键词】面部,烧伤,心理护理

【中图分类号】R644; R395.1 【文献标识码】B

0 引言 为了适应现代医学的发展,心理护理已成为新的医学模式的重要组成部分,也是维护人们身心健康,使患者取得最好治疗效果的必要条件^[1]。青年女性面部烧伤的心理护理是一个比较棘手的问题,面部烧伤带来的直接后果是面部畸形和色素沉着,影响美观,给青年女性带来巨大的思想负担和心理压力。我们通过对 54 例青年女性面部烧伤患者的观察,采取相对应的心理护理,取得满意效果。

1 临床资料 本组 54 例患者均系年轻女性,年龄 21~38 岁,未婚 20 例,已婚 34 例。致伤原因:火焰烧伤 22 例,热液伤 14 例,酸碱伤 10 例,爆炸伤 8 例。其中伴有其他部位烧伤 42 例。烧伤面积:4.1%~55.1%,Ⅱ°~Ⅲ°烧伤。54 例患者经过精心治疗和护理,均痊愈出院,效果良好。

2 心理问题及护理对策

2.1 主要心理问题 ① 恐惧、痛苦、紧张心理。由于患者均系青年女性,对突如其来的烧伤,内心无法承受,她们认为自己正值青春年华,担心被毁容,影响以后的工作、生活,再加之对病情不了解,烧伤后体液渗出,烧伤处肿胀疼痛均可使患者产生恐惧紧张。② 苦闷自卑、抑郁、焦虑心理。青年人是人生一个最重要的时期,既是家庭的主要成员,又是工作岗位上的骨干,面部烧伤后,她们害怕毁容会影响自己的学习、工作、经济收入及个人前途,更害怕的是自己所担任的恋人、妻子、母亲的角色会受到影响。在住院期间多表现为抑郁哭泣、焦躁、

烦恼、自制力下降,每日都陷入痛苦之中。③ 回避心理。受伤后由于容貌丑陋,不愿意接触周围的人,对周围的一切冷漠麻木,害怕别人对自己品头论足,有与世隔绝、逃避现实的心理。④ 悲观绝望心理。青年女性天生爱美,她们对于烧伤后导致的面部畸形及容貌变丑无法接受,觉得自己无法面对世界、面对亲人,产生悲观绝望心理,甚至出现轻生念头。

2.2 心理护理措施 ① 稳定情绪。面部烧伤的青年女性入院后我们应迅速热情地接待,建立优良的医疗环境,给患者以安全、舒适感,并从言谈举止上给患者及亲友以适当安慰和心理指导,减轻或消除她们的紧张、恐惧和焦虑心理,稳定患者情绪,使其增加信心,配合治疗。② 合理运用心理疗法,耐心地与患者进行心理沟通。鉴于护患均系女性,又都是同龄人,思想很快就会沟通在一起。经常与患者谈心,倾听她们的主诉,准确了解她们的内心活动。通过心理交谈,能减少她们惧怕和不安心理,有利于转移她们的消极情绪,提高疗效。③ 正确的疏导和解释。对于青年女性患者要处处关心体贴,掌握其思想变化,对不良的心态反应及时疏导和帮助。有计划、有针对性地给她们讲解烧伤后的病理生理特点、给予的治疗及愈后情况,让她们对本病有科学的认识,消除疑虑、恐惧、悲观情绪,增强其治愈疾病的信心。在护理过程中,要帮助她们树立正确的人生观,正视现实,乐于接受治疗和护理。同时给患者家属及同事进行指导,配合做好患者的思想工作,使患者体会到自己仍是生活中的一员,帮助患者接纳自我,坚定生活的勇气和信心,建立内在动力,战胜自我,走向生活。

3 效果观察与体会 通过对 54 例青年女性面部烧伤患者的心理护理,我们基本熟悉了面部烧伤患者的心理特征,针对这些心理特征,我们做了大量和细致的心理护理工作,并收到了良好的效果,让患者有一个积极健康的心态配合治疗并勇敢走向社会。同时我们体会到青年女性面部烧伤患者的心理护理是整个护理工作的重要组成部分,应该贯穿整个烧伤治疗过程的始终。

【参考文献】

[1] 张燕平,刘海珍. 心理护理在烧伤科的应用[J]. 青海医药杂志, 2001 31(7) 39-40.

编辑 袁天峰

收稿日期 2005-07-12; 修回日期 2005-08-23

作者简介 周琴(1976-),女(汉族),安徽省合肥市人。学士,护师,护士长。Tel. (029) 83375297