



# 胆道肿瘤动物模型建立的研究现状

李玉泽,任克,徐克

(中国医科大学附属第一医院放射科,沈阳 110001)

**【摘要】** 胆管癌是一种侵袭性很强的胆道恶性肿瘤,全世界的发病率和死亡率逐步增加。建立合适的胆管癌动物模型对胆管癌的早期诊断和治疗具有重要意义。本文就胆道肿瘤动物模型建立方法的现状进行综述。

**【关键词】** 胆道肿瘤;模型;动物

**【中图分类号】** R1; R331 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2011)02-0056-03

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2011.02.13

## Current Status of Establishment Ways of Animal Models of Cholangiocarcinoma

LI Yu-ze, REN Ke, XU Ke

(Department of Radiology, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China)

**【Abstract】** Cholangiocarcinoma is a strongly aggressive malignancy of bile ducts. The worldwide incidence and mortality of cholangiocarcinoma (CC) is steadily rising. Establishing suitable animal models of cholangiocarcinoma is beneficial for its early diagnosis and therapy. We review the current status of establishment methods of animal models of cholangiocarcinoma.

**【Key words】** Biliary tract neoplasms; Model, animal

胆管癌是一种侵袭性很强的胆道恶性肿瘤,全世界的发病率和死亡率逐步增加<sup>[1]</sup>。胆管癌临床症状出现较晚,早期诊断率低,预后较差<sup>[2-4]</sup>,与胆管炎鉴别困难,故如何早期诊断胆管癌是目前急需解决的问题。胆道肿瘤动物模型的建立方法包括诱导法和移植法,移植法包括原位移植和异位移植。现对胆道癌(胆管癌,肝内、外胆管癌)动物模型建立方法的现状作如下综述。

### 1 胆管癌动物模型的建立方法

#### 1.1 胆管癌诱发模型

实验动物常采用大鼠、小鼠或裸鼠,常采用手

术和化学药物联合干预来诱导鼠胆管癌。Ogura Y等<sup>[5]</sup>采用胆总管末端结扎术,实验动物为叙利亚仓鼠,术后分组:一组单纯皮下注射二氧丙基胺(BOP),另一组皮下注射BOP的同时在饮食中添加氯谷胺,假手术组开腹后即关腹,然后注射BOP。氯谷胺在胆囊和肝外胆管中能显著抑制BOP的致癌性,但是在肝内胆管和胰腺的作用不显著。该实验成功建立了胆管癌诱发模型。

Tsuchida A等<sup>[6]</sup>报道:叙利亚仓鼠麻醉后于腹部正中切口,开腹后用戊巴比妥腹膜麻醉,为了使胰液能够返流入胆道,在胆总管末端双重结扎胆管,在胆囊底作一1 mm长的切口,然后将距幽门管

[基金项目] 辽宁省教育厅科学技术研究项目计划基金资助(编号:05L582)。

[作者简介] 李玉泽(1976-),男,主治医师,硕士研究生,现在解放军202医院工作,研究方向:放射诊断, E-mail: liyuze2004@126.com。

[通讯作者] 任克(1964-),男,教授,博士研究生导师,放射科副主任,研究方向:腹部疾病放射诊断。

10 mm 处的十二指肠与胆囊吻合,即胆囊十二指肠吻合术。该实验将实验动物分为三组:第一组仅进行胆囊十二指肠吻合术;第 2 组术后 4 周开始每隔 1 周皮下注射 1 次 BOP(二氧丙基胺),10 mg/kg;第 3 组术后 4 周开始每隔 1 周皮下注射 1 次 10 mg/kg 的 BOP,每日注射 5 mg/kg 体重美洛昔康。结果手术后采用不同的诱导剂诱导成瘤的时间不同,第 2 组 14 周,第 3 组 16 周。

## 1.2 胆囊癌移植模型的建立方法

国内外文献报道的胆囊癌移植模型多为异位移植模型,即将手术中切取的新鲜胆囊癌组织制成细胞悬液,将细胞悬液注入鼠皮下组织中,这种方法的成瘤率可以达到 100%。5~7 d 后就可以检测到实体瘤<sup>[7,8]</sup>。皮下移植瘤动物模型主要用于细胞系的建立,肿瘤病因学、病理学及药物治疗等方面的实验研究。

建立胆囊癌原位移植瘤动物模型的文献较少。Egberts JH 等报道<sup>[9]</sup> 8 只裸鼠麻醉后取仰卧位,腹部剪毛、消毒,上腹部正中切口,显露胆囊,将 Mz-ChA-1 肿瘤细胞悬液 30  $\mu$ L ( $1 \times 10^6$  cells) 注入胆囊或胆管组织中,注意不要将肿瘤细胞注入胆道内,等待大约 30 s 基质胶凝固后关腹。2、4、6、8 周时分别处死 2 只裸鼠,结果 8 只裸鼠胆囊上均能见到肿块,并且肿块大小随时间呈线性增长。

国内有一篇文献报道了裸鼠胆囊原位移植瘤模型的建立方法,具体方法为:0.5% 戊巴比妥腹腔内注射麻醉,上腹正中切口约 1 cm,于肝叶间暴露裸鼠胆囊,干纱布擦拭胆囊表面,破坏其浆膜面,将一约 1 mm<sup>3</sup> 大小的瘤块置于其上,8-0 无损伤线缝合周围胆囊壁,以包裹瘤块,依层关腹<sup>[10]</sup>。原位移植部位是肿瘤生长最适宜的地方,肿瘤能维持原有结构,充分保持其生物学特性<sup>[11]</sup>。

## 2 肝内外胆管癌动物模型的建立方法

### 2.1 肝内外胆管癌诱发模型

诱发肝内胆管癌模型常用化学物质、微生物寄生虫感染等诱发手段建成。应用化学药物诱发模型的优点是模型简便,诱发率高,成本较低,可重复性强,缺点是诱发时间周期较长,而且多同时诱发了肝、胃、胰腺、胸腺、甲状旁腺和血液系统等其它类型的肿瘤,使其使用范围受到一定限制<sup>[12]</sup>。

诱发肝外胆管癌模型的建立主要是通过化学药物和手术干预等手段实现的,并主要用于肝外胆

管癌的病因、病理方面的研究。该类模型成本低廉,建立方法简单,但要求实验操作精细,实验周期长,且受麻醉、手术的影响,成功率低,现在该类模型在胆管癌的研究中应用较少。

目前,胆管癌诱发动物模型已经建立了多种,但都是小动物模型。鼠类单纯应用寄生虫感染<sup>[13-17]</sup>(如华支睾吸虫或麝猫后睾吸虫)、单纯喂食化学物质<sup>[18,19]</sup>(如 DMN 即二甲基亚硝胺)、寄生虫感染与化学物质联合应用及化学物质与手术联合应用均可导致胆管癌的发生<sup>[20]</sup>。Chun-Nan Yeh 等<sup>[21]</sup>报道,在 SD 小鼠的饮用水中每天投入硫代乙酰胺(TAA/1) 300 mg,连续 20 周,结果成瘤率 100%。Boonmars T 等<sup>[14]</sup>报道,对于各种鼠感染麝猫后睾吸虫均可诱导胆管癌发生,但是不同鼠对其敏感性不同。诱发模型的诱发周期较长,诱发时间受很多因素的影响,采用的实验动物不同、诱导物不同、化学物质的浓度不同以及是否联合应用诱发手段等均影响诱发模型的成瘤时间。

### 2.2 肝内外胆管癌移植模型

目前开展的多为裸鼠移植瘤模型,分为皮下移植瘤模型和原位移植瘤模型两种<sup>[22]</sup>。皮下瘤模型的制备分为细胞悬液注射法与组织块法,细胞悬液注射法是向裸鼠股外侧皮下或腹腔注射细胞悬液,组织块法就是当细胞悬液法制备的皮下瘤长至直径 1.0 cm 时,将其剪成约 1 mm<sup>3</sup> 大小的瘤块再次接种。皮下瘤模型与原位移植瘤模型相比,皮下瘤与周围组织粘连较轻,原位瘤与周围粘连重,侵及肝脏和膈肌,界限不清。

目前国内外文献尚没有肝内外胆管癌原位移植瘤模型建立的报道。目前国内外广泛开展的是在小鼠、大鼠等小动物上建立的异位移植瘤模型,主要为皮下移植模型。利用新鲜胆管癌组织或已有的细胞系(如 QBC939),制成混悬液或小组织块,注入裸鼠皮下<sup>[23-26]</sup>。唐文皓等<sup>[27]</sup>将手术中切取的新鲜胆管癌组织制成 2 mm<sup>3</sup> 的小组织块,用 20 号穿刺套管将瘤块移植于裸小鼠(BALB/cAnu/nu,为 4 周龄)的前肢背侧皮下、肝脏和肾包膜下,从而建立了人胆管癌裸鼠移植瘤 1 号和 2 号模型,经鉴定 1 号模型为人胆管癌高分化黏液腺癌模型,2 号模型为人胆管癌中分化乳头状腺癌模型,在形态、结构、生物学特性等方面均保持了人胆管癌的特性,并分别命名为 HBDCM1-ZSH 和 HBDCM2-ZSH。人胆管癌裸鼠移植瘤 1 号和 2 号模型是比较接近人体的胆

管癌模型,为胆管癌的研究提供了两个很好的实验平台。该类模型具有建立方法简单,成功率高,易于观察,成本低廉、可复制性强,移植入裸鼠体内后,基本保持了人胆管癌细胞生长的微环境,且所建模型更具特异性。“拟人”化,使实验结果更具“个体化”特征。

胆道肿瘤移植模型的优点是原位移植部位最适宜肿瘤生长,肿瘤能维持原有结构,充分保持其生物学特性,更接近于人体胆道肿瘤。不足之处是移植手术需要一定的手术技巧和严格的无菌操作,术后感染率高,实验动物死亡率高。

综上所述,在肝内和肝外胆管癌的研究中,主要集中于诱发模型和异位移植模型的建立,并得到了广泛的应用。但诱发模型不能完全模拟人胆管癌的自然发病过程,异位移植模型中胆管癌的生长环境与人体胆管癌的生长环境迥然不同,必然会对模型中胆管癌的生物学特性产生影响。所以,只有建立原位胆管癌模型,才能使动物模型真正“拟人”化<sup>[12]</sup>。

#### 参考文献:

- [ 1 ] Briggs CD, Neal CP, Mann CD, et al. Prognostic molecular markers in cholangiocarcinoma: a systematic review [J]. *Eur J Cancer* 2009, 45(1):33-47.
- [ 2 ] Olnes MJ, Erlich R. A review and update on cholangiocarcinoma [J]. *Oncology* 2004, 66(3):167-179.
- [ 3 ] Sirica AE. Cholangiocarcinoma: molecular targeting strategies for chemoprevention and therapy [J]. *Hepatology*, 2005, 41(1):5-15.
- [ 4 ] Blechacz B, Gores GJ. Cholangiocarcinoma: Advances in pathogenesis, diagnosis, and treatment [J]. *Hepatology*, 2008, 48(1):308-321.
- [ 5 ] Ogura Y, Matsuda S, Itho M, et al. Inhibitory effect of Ioxiglumide (CR1505), a cholecystokinin receptor antagonist, on N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine-induced biliary carcinogenesis in Syrian hamsters [J]. *World J Surg* 2002, 26(3):359-365.
- [ 6 ] Tsuchida A, Itoi T, Kasuya K, et al. Inhibitory effect of meloxicam, a cyclooxygenase-2 inhibitor, on N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine induced biliary carcinogenesis in Syrian hamsters. *Carcinogenesis* [J]. *Carcinogenesis*, 2005, 26(11):1922-1928.
- [ 7 ] Xu LN, Wang X, Zou SQ. Effect of histone deacetylase inhibitor on proliferation of biliary tract cancer cell lines [J]. *World J Gastroenterol* 2008, 14(16):2578-2581.
- [ 8 ] Emura F, Kamma H, Ghosh M, et al. Establishment and characterization of novel xenograft models of human biliary tract carcinomas [J]. *Int J Oncol* 2003, 23(5):1293-1300.
- [ 9 ] Egberts JH, Schniewind B, Schafmayer C, et al. Establishment of a novel orthotopic xenograft model of human gallbladder carcinoma [J]. *Clin Exp Metastasis* 2007, 24(3):141-148.
- [10] 常新志,王占民,李志伟,等. 人胆管癌裸鼠原位移植瘤模型的建立与初步观察 [J]. *中华肝胆外科杂志*, 2004, 10:468-472.
- [11] 暨玲,屠金夫. 人胆管癌模型研究现状 [J]. *中华肝胆外科杂志* 2007, 13(11):791.
- [12] 刘斌,李晶,冯德元,等. 人胆管癌模型的研究现状 [J]. *消化外科* 2005, 4(4):293-294, 295-296.
- [13] Songserm N, Prasongwattana J, Sithithaworn P, et al. Cholangiocarcinoma in experimental hamsters with long-standing *Opisthorchis viverrini* infection [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2009, 10(2):299-302.
- [14] Boonmars T, Boonjaraspinyo S, Kaewsamut B. Animal models for *Opisthorchis viverrini* infection [J]. *Parasitol Res*, 2009, 104(3):701-703.
- [15] Chaimuangraj S, Thamavit W, Tsuda H, et al. Experimental investigation of opisthorchiasis-associated cholangiocarcinoma induction in the Syrian hamster-pointers for control of the human disease [J]. *Asian Pac J Cancer Prev* 2003, 4(2):87-93.
- [16] Loilome W, Yongvanit P, Wongkham C, et al. Altered gene expression in *Opisthorchis viverrini*-associated cholangiocarcinoma in hamster model [J]. *Mol Carcinog* 2006, 45(5):279-287.
- [17] Pinlaor S, Prakobwong S, Hiraku Y, et al. Oxidative and nitrate stress in *Opisthorchis viverrini*-infected hamsters: an indirect effect after praziquantel treatment [J]. *Am J Trop Med Hyg*, 2008, 78(4):564-573.
- [18] Mansuroglu T, Ramadori P, Dudás J, et al. Expression of stem cell factor and its receptor c-Kit during the development of intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *Lab Invest* 2009, 89(5):562-574.
- [19] Fava G, Alpini G, Rychlicki C, et al. Leptin enhances cholangiocarcinoma cell growth [J]. *Cancer Res* 2008, 68(16):6752-6761.
- [20] Piscaglia AC, Shupe TD, Pani G, et al. Establishment of cancer cell lines from rat hepatocholangiocarcinoma and assessment of the role of granulocyte-colony stimulating factor and hepatocyte growth factor in their growth, motility and survival [J]. *J Hepatol* 2009, 51(1):77-92.
- [21] Yeh CN, Lin KJ, Hsiao IT, et al. Animal PET for thioacetamide-induced rat cholangiocarcinoma: a novel and reliable platform [J]. *Mol Imaging Biol* 2008, 10(4):209-216.
- [22] Kobliakov VA, Somova OG, Kandyba AG, et al. Comparative study of lipid composition and proliferative activity of rat cholangiocarcinoma RS1 and sarcoma M1 depending on the transplantation organ [J]. *Biochemistry (Mosc)* 2002, 67(11):1258-1261.
- [23] Tang T, Zheng JW, Chen B, et al. Effects of targeting magnetic drug nanoparticles on human cholangiocarcinoma xenografts in nude mice [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2007, 6(3):303-307.
- [24] Onori P, DeMorrow S, Gaudio E, et al. Caffeic acid phenethyl ester decreases cholangiocarcinoma growth by inhibition of NF-

- kappaB and induction of apoptosis [J]. *Int J Cancer* ,2009 ,125 (3) :565 - 576.
- [25] Ishige K ,Shoda J ,Kawamoto T ,et al. Potent in vitro and in vivo antitumor activity of interleukin-4-conjugated *Pseudomonas* exotoxin against human biliary tract carcinoma [J]. *Int J Cancer* , 2008 ,123 (12) :2915 - 2922.
- [26] Shiraso S ,Katayose Y ,Yamamoto K ,et al. Overexpression of adenovirus-mediated p27kip1 lacking the Jab1-binding region enhances cytotoxicity and inhibits xenografted human cholangiocarcinoma growth [J]. *Anticancer Res* ,2009 ,29 (6) : 2015 - 2024.
- [27] 唐文浩,袁胜涛,王炳生,等. 人胆管癌裸鼠移植瘤模型的建立[J]. *外科理论与实践* 2003 8(2) :111 - 114.

(修回日期)2010-09-28



## 《中国比较医学杂志》《中国实验动物学报》合订本征订启事

为方便读者检阅、收藏两刊,编辑部将少量库存期刊装订成合订本,如有需要,可直接汇款至编辑部(北京市朝阳区潘家园南里5号,邮编100021。电话:010-67779337,E-mail:b67761337@126.com)。如需挂号请另加3元。

### 《中国比较医学杂志》

创刊~2000年(1~10卷),共计175元;  
 1991年(创刊)~1993年(1~3卷)30元;  
 1994年~1995年(4~5卷)20元;  
 1996年~1997年(6~7卷)25元;  
 2001~2002年(11~12卷),110元;  
 2003年(13卷),75元;  
 2004年(14卷),75元;  
 2005年(15卷),75元;  
 2006年(16卷),150元;  
 2007年(17卷),150元;  
 2008年(18卷),150元;  
 2009年(19卷),250元。

### 《中国实验动物学报》

创刊~2000年(1~8卷),共计125元;  
 1993年(创刊)~1997年(1~5卷)50元;  
 1998年~2000年(6~8卷)75元;  
 2001~2002年(9~10卷),90元;  
 2003年(11卷),55元;  
 2004年(12卷),55元;  
 2005年(13卷),55元;  
 2006年(14卷),75元;  
 2007年(15卷),75元;  
 2008年(16卷),80元;  
 2009年(17卷),130元。