

门静脉高压脾功能亢进对大鼠肝癌发生率的影响

吴楠 陈勇[△] 周侗 杨帆 陈亚峰 郑志刚 曹阳

(第四军医大学西京医院肝胆胰脾外科 陕西 西安 710032)

摘要 目的 通过对门静脉高压脾功能亢进大鼠药物诱导肝癌过程中进行脾脏切除,探讨门静脉高压脾功能亢进对大鼠肝癌发生率的影响。方法 将雌雄 SD 大鼠性别内分别分为对照组、脾亢组、脾亢切除组,脾功能亢进大鼠模型采用门静脉结扎术联合脾静脉结扎术进行制备,各组均予以 DEN (二乙基亚硝胺) 腹腔注射,按体重 20mg/kg 给药,每周 3 次,12 周停药,14 周处死。其中,脾亢切除组于给药第四周进行脾切除术,手术恢复期间持续给药。观察各组实验动物的肝脏大体变化及病理改变,计算成瘤率。结果 实际成瘤率显示脾亢组较对照组明显升高,而雄性脾亢切除组的成瘤率较脾亢组有所降低。雌性脾亢切除组成瘤率同脾亢组差异不明显。结论 门静脉高压脾功能亢进状态下进行脾切除,对于雄性能减低肝癌发生的风险,对于雌性的意义不大,给临床实际工作提供了新的思路。

关键词 肝癌发生率 脾功能亢进 DEN 大鼠

中图分类号 R735.7 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273 (2012) 10-1842-04

Portal Hypertension and Hypersplenism on the Incidence of Liver Cancer in SD Rats

WU Nan, CHEN Yong[△], ZHOU Ti, YANG Fan, CHEN Ya-feng, ZHENG Zhi-gang, CAO Yang

(Department of Hepatic Surgery, Xi-Jing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, P.R. China)

ABSTRACT Objective: Through the way of portal hypertension and hypersplenism splenectomy during the drug-induced liver cancer in rats, in order to investigate portal hypertension and hypersplenism on the incidence of liver cancer in rats. **Methods:** Male and female SD rats were divided into control group within gender, hypersplenism group, hypersplenism splenectomy group, hypersplenism in rats using portal vein narrowing of the splenic vein ligation surgery for joint preparation, each group is given DEN (diethylnitrosamine) by intraperitoneal injection, dosage is 20mg/kg, three times a week, stop the drug in 12 weeks, kill all the rats in 14 weeks. Among them, splenectomy is in the forth week of drug treatment of hypersplenism splenectomized group, drug is given during the surgery recovery. Observed in each group of the size of the liver and pathological changes of the liver in general, calculate the rate of tumor. **Results:** The actual rate of tumor shows hypersplenism group was significantly higher than the control group, while the tumor rate of males hypersplenism splenectomy group is lower than the hypersplenism group. Female hypersplenism splenectomy group composed of tumor rates with hypersplenism was not significantly different. **Conclusion:** Portal hypertension and hypersplenism state with splenectomy can reduce the risk of liver cancer in the male group, but the female group is not very meaningful, provides a new way of thinking to clinical practice.

Key words: Incidence of Liver Cancer; Hypersplenism; DEN; SD Rats

Chinese Library Classification(CLC): R735.7 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)10-1842-04

前言

肝癌是一种临床常见的肿瘤,起病隐匿,病程短,病死率高^[1]。据报道,肝癌患者中合并肝硬化的占 50~90%。肝硬化引起门静脉高压,脾功能亢进临床上比较常见。肝硬化条件下,脾功能亢进对肝癌的发生是否有影响,国内外尚未有明确报道。本研究通过对模拟肝硬化脾亢条件的大鼠诱癌过程中进行脾脏切除术,观察诱癌后肝脏大体和病理结果,来探讨门静脉高压脾功能亢进对肝癌发生率的影响。

1 材料与方法

1.1 药品及配制

二乙基亚硝胺(DEN),0.95g/ml,纯度>99.9%,美国 Sigma 公司产品。100ml 生理盐水加 0.4ml DEN,振荡混匀,配制成 DEN 浓度为 4 mg/ml 的溶液,避光保存。

1.2 实验动物及分组

雄性雌性 SD 大鼠各 70 只 (购自第四军医大学实验动物中心),体重 180~220g,所有大鼠分笼饲养,每笼 5 只,采用标准化光照,自由进食,定期更换垫料,适应环境 7 天后,全部大鼠按随机数字表法分为 雄性对照组 (1 组, n=20), 雄性脾亢组 (2 组, n=30), 雄性脾亢脾切除组 (3 组, n=20) 雌性对照组 (4 组, n=20), 雌性脾亢组 (5 组, n=25), 雌性脾亢脾切除组 (6 组, n=25)。

作者简介 吴楠 (1981-),男,硕士,主要研究方向:肝硬化门脉高压,脾亢,肝癌, Tel:13379219376, E-mail:15256426@qq.com

△通讯作者 陈勇 (1962-),男,教授,主任医师,硕士生导师, Tel:13891915509, E-mail:gdwkey@fmmu.edu.cn

(收稿日期 2012-01-17 接受日期 2012-02-08)

1.3 实验方法

对照组给予假手术,只做开、关腹手术处理。除对照组,其余各组采取门静脉缩窄术联合脾静脉结扎术进行脾亢造模。各组均给予 DEN 进行腹腔注射,按体重 20mg/kg 给药,每周 3 次,12 周停药。其中脾亢切脾组是于脾亢组给药第 4 周进行脾切除术,手术恢复期间持续给药。给药 14 周后处死大鼠,观察肝脏大体变化之后,取出肝脏,置于 10% 的中性福尔马林溶液中固定 24 小时,制备成 2mm 组织片,石蜡包埋,采取 HE 染色,镜下观察肝脏病理变化。各组大鼠于造模后,每两周取尾血 0.5ml,置于 EDTA-K2 预处理过的抗凝管中,采用 Medonic CA620-VET 全自动血细胞计数仪进行红细胞、白细胞以及血小板计数。

1.4 统计学方法

应用 SPSS17.0 统计软件,计量数据用均数 $\pm$ 标准差($\bar{X}\pm S$)表示,计数数据采用卡方检验,行组内组间比较。检验水准 $P=0.05$

2 结果

2.1 血常规检测结果

外周血动态检测显示,从脾亢造模第二周开始脾亢组即开始出现红细胞和血小板的明显下降。手术第四周时,除雄性切脾组的小血小板与对照组差异不大 ($P>0.05$),其他各组的小血小板和红细胞计数均明显低于各对照组的计数 ($P<0.05$)。而在造模

第 4 周之后,红细胞和血小板的计数又转而回升。脾亢切脾组于 4 周切脾后,血象亦有所回升,波动较大。各组白细胞水平波动较大,但经统计各组差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见图 1~6

2.2 成瘤率的结果

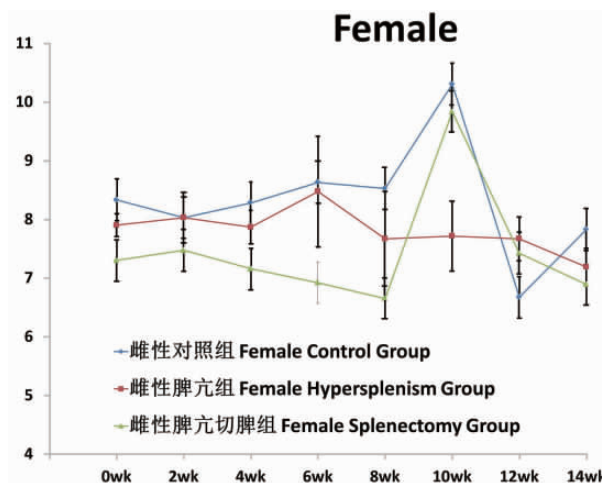
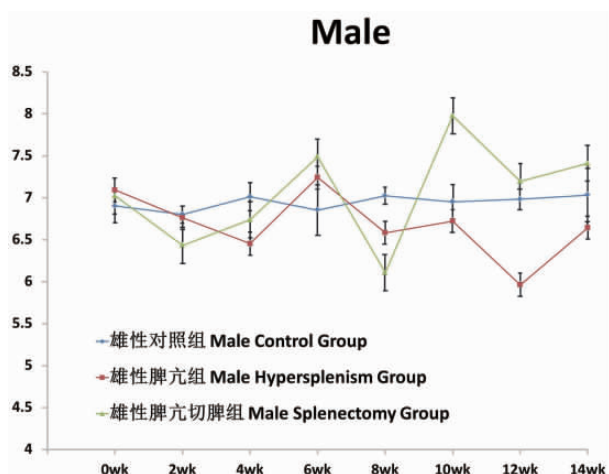
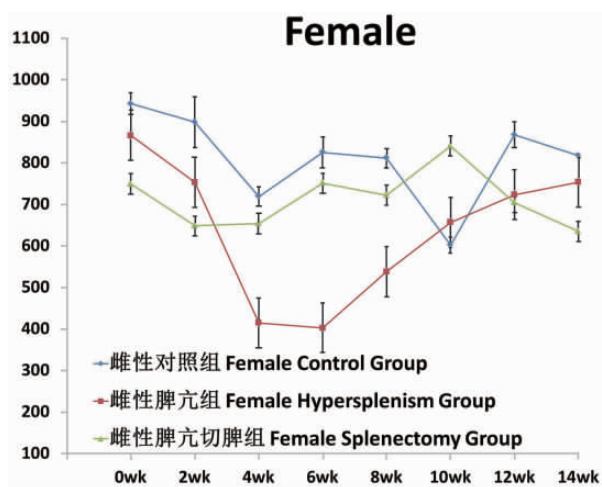
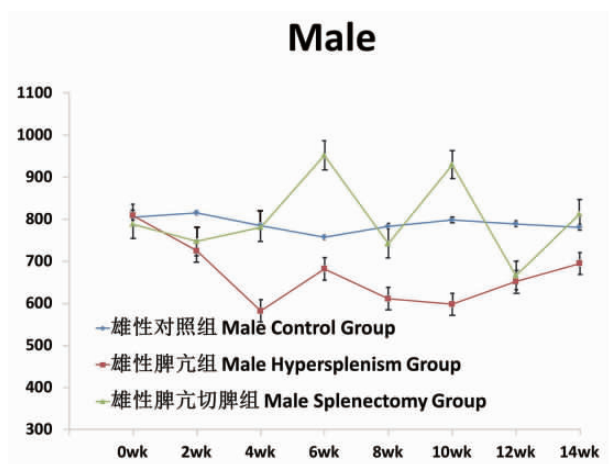
14 周处死大鼠之后,大体可见肝癌肝硬化各个阶段的改变,通过大体改变结合病理诊断结果,得出成瘤率的结果如表 1。经过统计计算,对照组和脾亢组之间的成瘤率明显呈一个提高的趋势,雄性脾亢大鼠在切脾之后,成瘤率也明显降低 ($P<0.05$)。但雌性脾亢大鼠切脾后成瘤率变化不明显 ($P>0.05$)。各个组间的成瘤率变化也没有统计学意义 ($P>0.05$)。

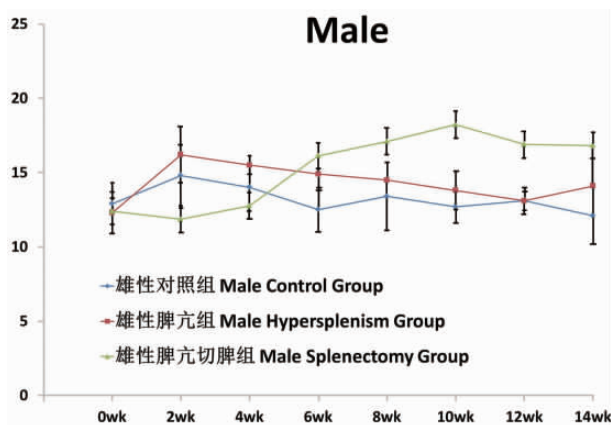
2.3 纤维化分级的结果

我们采用国际上对肝纤维化分级的标准^[2,3],把病理变化按严重程度评分为 0-4 分,并分为轻度 (0-1 分)、中度 (2-3 分)、重度 (4 分)。结果如图 7。组 1 和组 2 之间,组 2 和组 3 之间以及组 4 和组 5 之间的纤维化严重程度的差异均存在统计学的差异 ($P<0.05$)。

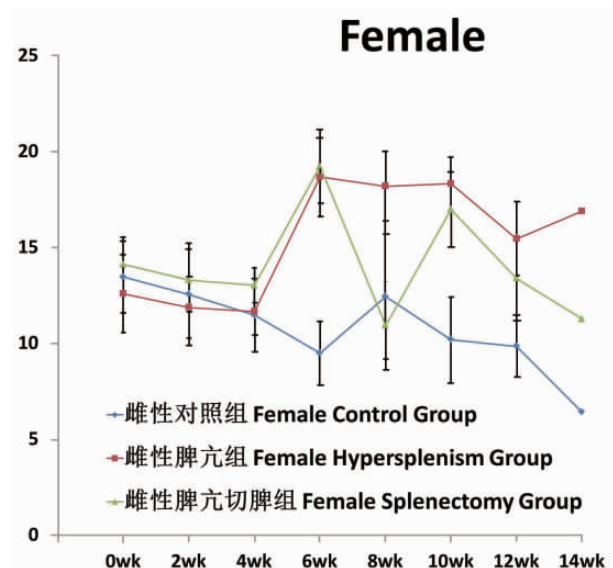
3 讨论

我国,是肝癌发病大国,80% 的肝癌患者合并有不同程度的肝硬化。肝硬化临床上多表现为肝纤维化导致的门静脉高压,长期的门脉高压,导致脾脏血液回流受阻,脾脏肿大,淤积的血细胞破坏增多,直接导致脾脏功能亢进,其发病机理至今还不是很清楚。国际上,对于门脉高压情况下是否要保留脾脏





功能也一直存在争论。脾脏切除对于肝纤维化进程的影响^[4-6]以及对于人体免疫系统的影响^[7,8]一直是研究的热点。通过临床病例回顾研究,我们发现切除脾功能亢进的脾脏降低了肝癌发生的危险性。但尚未有前瞻性的实验研究结果来证明。本研究拟通过研究脾亢大鼠肝癌发生率的情况,明确脾功能亢进的脾脏



对肝硬化肝癌发生的影响。

脾功能亢进的动物模型有很多,从最早的腹腔内注射甲基

表 1 大鼠肝癌发生率

Table 1 The Incidence of Liver Tumors in Rats

Experimental groups	Treatment	Effective No.	Incidence(%)	
			Between	In
Male				
1	Control+DEN	19/20 ^a	10.5(2/19)	10.5(2/19)a)
2	Hypersplenism+DEN	25/30 ^a	44(11/25)	44(11/25)b)
3	Hypersplenism+4-Week-Splenectomy+DEN	18/20 ^a	11.1(2/18)	11.1(2/18)
Female				
4	Control+DEN	20/20	0(0/20)	0(0/20)c)
5	Hypersplenism+DEN	21/25 ^a	23.8(5/21)	23.8(5/21)
6	Hypersplenism+4-Weeks-Splenectomy+DEN	24/25 ^a	12.5(3/24)	12.5(3/24)

Note: a) P<0.05,compared with group 2.

b) P<0.05,compared with group 3.

c) P<0.05,compared with group 5.

d) One rat died of infection in group 1, and others died of surgery.

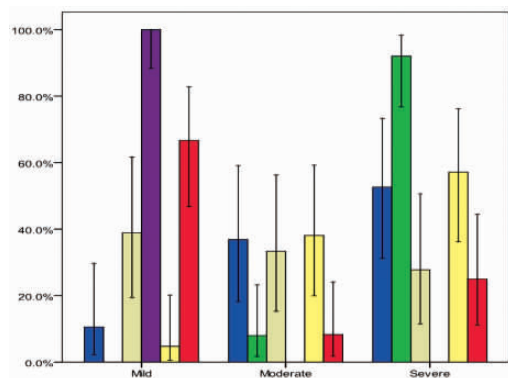


图 7 各组间肝纤维化程度比较

Fig.7 Comparison os the degrees of liver fibrosis in groups

纤维素或者明胶海绵的方法制备^[9],到通过结扎脾静脉主干和

脾静脉属支进行制备^[10],再到采用同种异体脾细胞移植的方法进行制备^[11]以及后来的单纯利用对大鼠门静脉主干缩窄的方法^[12]、采用化学药物诱导肝硬变的方法^[13],都存在各种各样的问题,不适合作为门静脉高压脾功能亢进研究的模型。本实验组通过前期试验,采用门静脉缩窄联合脾静脉结扎的方法^[14],对已知的造模方法进行了改进。

肝癌的动物模型种类比较纷杂,目前研究中常用的肝癌模型有自发性肝癌模型、诱发性肝癌模型、移植性肝癌模型以及转基因动物肝癌模型等^[15-17]。本实验采用小剂量 DEN 间断腹腔注射诱癌。DEN 是一种亚硝胺类化合物,具有中毒剂和致癌剂的双重作用,该物质致癌率高,对肝脏致癌专一性强,是最常用的肝癌诱癌剂^[18]。相对于其他诱癌剂,DEN 诱癌有着如下优点: 1、操作简单、剂量可控、诱癌周期短、成癌效率高。2、以肝细胞癌为主。3、成癌过程中有明显的肝硬化过程,接近人类成癌情况^[19]。实验当中发现,脾亢组成癌率较高,纤维化程度也较为严重 对照组成癌率较低,纤维化程度亦较轻。这说明肝癌的发生同肝的纤维化程度有一定程度的相关性。

研究发现,脾脏的免疫功能在肝纤维化严重的情况下会被破坏,造成脾脏功能的紊乱,不能发挥正常的抗感染和抗肿瘤免疫作用,脾脏分泌的一些细胞因子反而可能加速肝硬化的进程^[20]。故切除病理的脾脏可能会改善肝脏功能,减轻肝纤维化的程度,甚至降低肝癌的发生几率。本实验第四周的时候除了雄性切脾组以外,其他各组的血小板计数都明显低于对照组($P<0.05$),说明手术造模人工制造出了血液淤滞,血细胞破坏。雄性切脾组差异不明显可以归结为,诱癌药物的影响或者实验数据的误差。而第四周切脾之后,两个切脾组的小板和红细胞均有不同程度的提高。说明血细胞破坏减少,数量增加。也有国外学者认为,血细胞特别是血小板数目的增加可以促进肝脏再生,减缓肝纤维化进程^[21]。

本实验结果显示,不同性别的脾亢组的成瘤率均高于对照组($P<0.05$),实际的纤维化程度也表明,脾亢组的肝脏纤维化程度明显高于对照组($P<0.05$),说明脾功能亢进对于肝脏的纤维化具有一定的促进作用,提高了肝癌发生的风险。雄性切脾组的成瘤率低于雄性脾亢组($P<0.05$),而雌性切脾组的成瘤率同脾亢组相比较差异不大($P>0.05$),实际的纤维化分析结果也表明,雄性切脾组的纤维化程度低于脾亢组($P<0.05$),而雌性切脾组纤维化程度同脾亢组差异不大($P>0.05$),这说明对于雄性,门静脉高压脾功能亢进的情况下切除脾脏,可以保护肝脏进一步纤维化,降低肝癌发生风险,而雌性同等情况切除脾脏意义不明显。各个组性别间的成瘤率相差不大($P>0.05$),但除雌雄性切脾组之间纤维化程度差异不明显外($P>0.05$),其余各组性别间纤维化程度均存在差异($P<0.05$),这说明虽然在成瘤率上雌雄性大鼠之间没有什么差异。这于临床上肝癌发生率男性明显高于女性不同,但是从肝纤维化的程度来看,性别间的肝损伤还是存在差异的。实验性性别间成瘤率同实际临床的差异可能受观察周期或者样本量偏小等因素的影响。

由于 DEN 诱导肝癌周期短,成瘤率高,诱癌后期死亡率也增高^[22],到诱癌 16-20 周,成瘤率几乎达到 100%,处死时间过早各组均未成癌,过晚则可能几乎全部成癌,导致各组差异不明显。通过查阅大量文献,和前期的预实验结果,我们将处死时间定为诱癌后 14 周。另外,切脾的时间选择应该也对成瘤率变化影响很大,通过预实验和本实验血象的检测,我们发现脾亢造模后,各实验组的小板和红细胞计数均有所下降,而至造模第四周后,计数又重新开始回升。加之,前期预实验采用造模第 8 周切脾所得的成瘤率同脾亢组差异不大。所以,我们选择造模后第 4 周作为脾脏切除的时间。由于本实验的结果呈现明显的性别差异,下一步,我们将从性激素水平来继续探讨造成这种差异的原因。

参考文献(Reference)

- [1] Tang ZY, Ye SL, Liu YK, et al. A decade S studies on metastasis of hepatocellular carcinoma[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 130: 187-196
- [2] Brunt EM et al. Grading and staging the histopathological lesions of chronic hepatitis: the Knodell histology activity index and beyond[J]. Hepatology, 2000, Jan; 31(1): 241-246
- [3] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会联合修订.病毒性肝炎防治方案[J]. 中华传染病杂志, 2001, 19(1): 56-62
Joint revision by Chinese Medical Association infectious and
- Parasitic Diseases Branch and Liver Diseases Branch. The strategy for viral hepatitis prevention and treatment[J]. Chin J Infect Dis, 2001, 19(1): 56-62
- [4] Imura S, Shimada M, Utsunomiya T, et al. Impact of splenectomy in patients with liver cirrhosis: Results from 18 patients in a single center experience [J]. Hepatol Res, 2010, 40(9): 894-900
- [5] Akahoshi T, Hashizume M, Tanoue K, et al. Role of the spleen in liver fibrosis in rats may be mediated by transforming growth factor beta-1 [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2002, 17(1): 59-65
- [6] Murata K, ho K, Yoneda K, et al. Splenectomy improves liver function in patients with liver cirrhosis [J]. Hepatogastroenterology, 2008, 55(85): 1407-1411
- [7] Bisharat N, Omari H, Lavi I, et al. Risk of infection and death among post-splenectomy patients[J]. J Infect, 2001, 43(3): 182-186
- [8] Cadili A, de Gara C. Complications of splenectomy [J]. Am J Med, 2008, 121(5): 371-375
- [9] Altman KI, Watman RN, Salomon K. Surgically induced splenogenic anaemia in the rabbit[J]. Nature, 1951, 168(4280): 827
- [10] 刘全达, 马宽生, 何振平, 等. 快速建立继发性脾功能亢进的犬动物模型[J]. 第三军医大学学报, 2003, 25: 301-304
Liu Quan-da, Ma Kuan-sheng, He Zhen-ping, et al. Rapid establishment of a canine model of secondary hypersplenism [J]. Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae, 2003, 25: 301-304
- [11] Salman H, Bessler H, Bergman M, et al. Functional hypersplenism in mice induced by adoptive transfer of syngeneic spleen cells [J]. Exp Biol Med (Maywood), 2006, 231(1): 112-116
- [12] 李宗芳, 刘保荣, 贾红生, 等. 大鼠门静脉主干缩窄后脾脏的变化研究[J]. 中华实验外科杂志, 2004, 4: 433-435
Li Zong-fang, Liu Bao-rong, Ja Hong-sheng, et al. Dynamical changes of spleen following portal hypertension in Sprague-Dawley rats by portal vein stenosis[J]. China J Exp Surg, 2004, 4: 433-435
- [13] 周丁华, 应大君, 肖凌云, 等. 大鼠肝硬变门脉高压症模型建立方法改进[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2000, 1: 22-24
Zhou Ding-hua, Ying Da-jun, Xiao Ling-yun, et al. Modified Procedure for Rat Model of Hepatocirrhosis with Portal Hypertension in Rats[J]. Chin J Bases Clin General Surg, 2000, 1: 22-24
- [14] 周佩, 陈勇, 尤楠, 等. 一种大鼠门静脉高压脾功能亢进模型的建立[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2011, 18(6): 610-614
Zhou Ti, Chen Yong, You Nan, et al. A Rat Model of Portal Hypertension with Hypersplenism[J]. Chin J Bases Clin General Surg, 2011, 18(6): 610-614
- [15] Heindryckx F, Colle I, Van Vlierberghe H. Experimental mouse models for hepatocellular carcinoma research [J]. Int J Exp Pathol, 2009, 90(4): 367-386
- [16] Fausto N, Campbell JS. Mouse models of hepatocellular carcinoma [J]. Semin Liver Dis, 2010, 30(1): 87-98
- [17] Tang ZY, Ye SL, Liu YK, et al. A decade's studies on metastasis of hepatocellular carcinoma [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2004, 130(4): 187-196
- [18] Gold LS, Slone TH, Manley NB, et al. Target organs in chronic bioassays of 533 chemical carcinogens [J]. Environ Health Perspect, 1991, 93: 233-246

(下转第 1864 页)

膜附近这一过程影响不是很大。然而,ESYT-2 缺失的突变体中,在膜上停留(囊泡荧光强度相对稳定,位移不超过一个像素点且持续拍摄三帧以上)的致密核心囊泡数目大大减少。这一现象说明,ESYT-2 与致密核心囊泡和细胞膜的栓系过程相关。

3 讨论

使用线虫为模型,研究 ESYT-2 蛋白在致密核心囊泡分泌过程中起到的作用。我们首先在生理条件下确定蛋白确实为致密核心囊泡所需,然后进一步使用全内反射荧光显微镜技术研究单个致密核心囊泡的运动情况,从微观角度来看 ESYT-2 对分泌的影响。我们的结论是 ESYT-2 是致密核心囊泡分泌所需的,它调控了囊泡与细胞膜的栓系过程。

ESYT-2 是一个扩展的 SYnapTotagmin 同源物,在线虫中对 *esyt-2* 的研究还比较少,只是通过生物信息学的方法进行比对得知它是 Ca^{2+} 依赖的囊泡膜结合蛋白。在哺乳动物细胞中对 E-Syt 有一定的了解,其为钙敏感蛋白,其复合的 C_2 结构域与囊泡的上膜有关^[7],近期也有文章指出 E-Syt2 与内吞可能有关^[20]。然而,哺乳动物细胞有一系列的 E-Syts,据目前来看有 E-Syt1, E-Syt2 和 E-Syt3 三种,这三者 E-Syts 之间功能是否一致,是否有冗余作用,这些问题都需要进一步讨论。而线虫中则只发现了 *esyt-2*,所以我们认为在线虫中研究这个蛋白具有一定的优势。当然它如何接受钙信号并且和哪些蛋白相互协调调节分泌还需进一步研究。

参考文献(References)

- [1] Brenner S. The genetics of *Caenorhabditis elegans* [J]. Genetics, 1974, 77: 71-94
- [2] Golstein P. Controlling cell death[J]. Science, 1997, 275: 1081-1082
- [3] Fire A, Xu S, Montgomery MK, et al. Mello, Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*[J]. Nature, 1998, 391: 806-811
- [4] Sudhof TC. The synaptic vesicle cycle [J]. Annu Rev Neurosci, 2004, 27: 509-547
- [5] Kasai H. Comparative biology of Ca^{2+} -dependent exocytosis: implications of kinetic diversity for secretory function [J]. Trends Neurosci, 1999, 22: 88-93
- [6] Sugita S. Mechanisms of exocytosis[J]. Acta Physiol (Oxf), 2008, 192: 185-193
- [7] Min SW, Chang WP, Sudhof TC. E-Syts, a family of membranous Ca^{2+} -sensor proteins with multiple C_2 domains [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104: 3823-3828
- [8] Stiernagle T. Maintenance of *C. elegans*, WormBook, 2006: 1-11
- [9] Cai T, Fukushige T, Notkins AL, et al. Insulinoma-Associated Protein IA-2, a Vesicle Transmembrane Protein, Genetically Interacts with UNC-31/CAPS and Affects Neurosecretion in *Caenorhabditis elegans* [J]. J Neurosci, 2004, 24: 3115-3124
- [10] Speese S, Petrie M, Schuske K, et al. UNC-31 (CAPS) is required for dense-core vesicle but not synaptic vesicle exocytosis in *Caenorhabditis elegans*[J]. J Neurosci, 2007, 27: 6150-6162
- [11] Christensen M, Estevez A, Yin X, et al. A primary culture system for functional analysis of *C. Elegans* neurons and muscle cells[J]. Neuron, 2002, 33: 503-514
- [12] Strange K, Christensen M, Morrison R. Primary culture of *Caenorhabditis elegans* developing embryo cells for electrophysiological, cell biological and molecular studies[J]. Nat Protoc, 2007, 2: 1003-1012
- [13] Bai L, Zhu D, Zhou K, et al. Differential properties of GTP- and Ca^{2+} -stimulated exocytosis from large dense core vesicles [J]. Traffic, 2006, 7: 416-428
- [14] Zhou KM, Dong YM, Ge Q, et al. PKA activation bypasses the requirement for UNC-31 in the docking of dense core vesicles from *C. elegans* neurons[J]. Neuron, 2007, 56: 657-669
- [15] Lin XG, Ming M, Chen MR, et al. UNC-31/CAPS docks and primes dense core vesicles in *C. elegans* neurons [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 397: 526-531
- [16] Iwasaki K, Staunton J, Saifee O, et al. Thomas, *aex-3* encodes a novel regulator of presynaptic activity in *C. elegans* [J]. Neuron, 1997, 18: 613-622
- [17] Burchfield JG, Lopez JA, Mele K, et al. Exocytotic vesicle behaviour assessed by total internal reflection fluorescence microscopy [J]. Traffic, 2010, 11: 429-439
- [18] Axelrod D. Chapter 7: Total internal reflection fluorescence microscopy[J]. Methods Cell Biol, 2008, 89: 169-221
- [19] Zahn TR, Macmorris MA, Dong W, et al. *Caenorhabditis elegans* homolog of the diabetic autoantigens IA-2 and phogrin, is expressed in peptidergic neurons in the worm [J]. J Comp Neurol, 2001, 429: 127-143
- [20] Jean S, Mikryukov A, Tremblay MG, et al. Extended-synaptotagmin-2 mediates FGF receptor endocytosis and ERK activation in vivo [J]. Dev Cell, 2010, 19: 426-439
- [21] Murata S, Matsuo R, Ikeda O, et al. Platelets promote liver regeneration under conditions of Kupffer cell depletion after hepatectomy in mice[J]. World J Surg, 2008, 32(6):1088-1096
- [22] 程延安,袁利超,党双锁,等.间断小剂量 DEN 诱发大鼠肝癌模型研究[J]. 肿瘤防治杂志, 2005, 12 (11): 806-808

(上接第 1845 页)

- [19] 周侗,陈勇,尤楠,等.二乙基亚硝胺诱导大鼠肝癌模型的建立及评价[J]. 现代生物医学进展, 2010, 10(20): 3812-3815
- Zhou Ti, Chen Yong, You Nan, et al. Establishment and evaluation of hepatocellular carcinoma model induced by diethylnitrosamine in rats [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2010, 10(20): 3812-3815
- [20] Witters P, Freson K, Verslype C, et al. Review article: blood platelet number and function in chronic liver disease and cirrhosis[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2008, 27(11): 1017-1029

- [21] Murata S, Matsuo R, Ikeda O, et al. Platelets promote liver regeneration under conditions of Kupffer cell depletion after hepatectomy in mice[J]. World J Surg, 2008, 32(6):1088-1096
- [22] 程延安,袁利超,党双锁,等.间断小剂量 DEN 诱发大鼠肝癌模型研究[J]. 肿瘤防治杂志, 2005, 12 (11): 806-808
- Cheng Yan-an, Yuan Li-chao, Dang Shuang-suo, et al. Research of rat hepatocarcinogenesis model induced by low doses of DEN intermittently[J]. Chin J Cancer Prev Treat, 2005, 12 (11): 806-808