陈峰,周磊,苏静,等. 肝癌相关指征在化学诱发小鼠肝癌过程中的动态研究［J］. 中国比较医学杂志, 2019, 29(10): 105-111.
Chen F, Zhou L, Su J, et al. Dynamic changes of hepatocellular carcinoma-related indicators during the chemical carcinogenesis in mice［J］. Chin J Comp Med, 2019, 29(10): 105-111.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2019.10.018

肝癌相关指征在化学诱发小鼠肝癌过程中的动态研究

陈　峰[1],周　磊[2],苏　静[3],张大维[3*]

(1.吉林省肿瘤医院,长春　130000; 2.长春中医药大学附属医院, 长春　130000; 3.吉林大学基础医学院, 长春　130000)

【摘要】　目的　探讨肝癌相关指征在化学诱发小鼠肝癌模型过程中的动态变化。**方法**　取 42 只 18~22 g 雄性 C57BL/6J 小鼠,随机分为处理组和对照组。利用 DEN 联合 CCl_4 和橄榄油对处理组小鼠进行化学诱导肝癌建模。分别于诱导建模第 4、8、12、16、20、24 和 28 周检测处理组和对照组小鼠肝的形态、颜色、质地和肉眼可见的肝表面癌结节数;获取各组小鼠的肝、肾,测定肝、肾/体重比并进行 HE 染色病理分析;同时测定各组小鼠血液中相关指数的变化。**结果**　与对照组小鼠相比,在 16 周之前建模组小鼠体重有一个低速生长的趋势,随着建模时间的延长呈逐渐下降的趋势。肝脾指数随着建模时间的延长而显著增加。肝癌模型组小鼠血清中谷丙转氨酶(GPT)、谷草转氨酶(GOT)、肌酐和总胆红素水平显著升高($P<0.05$),而血清总蛋白、白蛋白和尿素氮含量则显著降低($P<0.05$)。病理分析结果亦显示,随着建模时间的延长,肝组织中肝细胞呈不规则排列,且可见巨核细胞和较为明显的炎细胞浸润。**结论**　使用优化后的化学方法诱发小鼠肝癌模型的成功率较高,同时建模过程中设定 4、8、12、16、20、24、28 周几个关键时间节点对研究肝癌动态变化具有比较实际的意义,能够反映出模型小鼠肝癌相关指征的发展过程。

【关键词】　原发性肝癌;二乙基亚硝胺;肝癌相关指征;动态变化;小鼠
【中图分类号】R-33　　**【文献标识码】**A　　**【文章编号】**1671-7856(2019) 10-0105-07

Dynamic changes of hepatocellular carcinoma-related indicators during the chemical carcinogenesis in mice

CHEN Feng[1], ZHOU Lei[2], SU Jing[3], ZHANG Dawei[3*]

(1. Jilin Cancer Hospital, Changchun 130000, China. 2. Affiliated Hospital to Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130000. 3. College of Basic Medical Sciences, Jilin University, Changchun 130000)

【Abstract】　Objective　To investigate the dynamic changes in hepatocellular carcinoma-related indicators in the process of chemical induction of hepatocellular carcinoma in mice. **Methods**　A total of 42 male C57BL/6J mice weighing 18 to 22 g were randomly divided into a treatment group and control group. Diethylnitrosamine combined with tetrachloride and olive oil was used to establish a mouse model of liver cancer. At weeks 4, 8, 12, 16, 20, 24, and 28 after treatment, the morphology, color, texture, and number of cancer nodules visible to the naked eye on the surface of the liver were evaluated in both the treatment group and control group. The liver and kidneys of the mice in each group were taken, the

[**基金项目**]吉林省科技发展计划项目(20180623021TC)。
[**作者简介**]陈峰(1967—),男,博士,副主任医师,研究方向:腹部外科。E-mail: sususnake2006@163.com
[**通信作者**]张大维(1963—),男,硕士,研究员,研究方向:实验动物和动物实验。E-mail: dwzhang@jlu.edu.cn

ratio of liver and kidney to body weight was determined, and hematoxylin-eosin staining was performed for pathological analysis. Changes of related blood indexes in the mice in each group were also determined. **Results** Compared with the control group, the body weight of the mice in the treatment group showed a trend of slow growth before 16 weeks and gradually decreased thereafter. Liver and spleen indexes were increased significantly with time. The serum levels of glutamic pyruvic transaminase, glutamic oxaloacetic transaminase, creatinine, and total bilirubin were increased significantly ($P<0.05$), while the serum levels of total protein, albumin, and urea nitrogen were decreased significantly ($P<0.05$). Pathological analysis also showed that as time progressed, the arrangement of hepatocytes in liver tissue gradually became irregular, and megakaryocytes and more obvious inflammatory cell infiltration were observed. **Conclusions** The success rate of a mouse hepatocellular carcinoma model induced by the optimized chemical method is high. Measurement of key indexes at 4, 8, 12, 16, 20, 24, and 28 weeks after treatment has practical significance for studying the dynamic changes of carcinogenesis and can reflect the development process of the relevant indicators of hepatocellular carcinoma in the model mice.

【**Keywords**】 primary hepatocellular carcinoma; diethylnitrosamine; indicators related to hepatocellular carcinoma; dynamic changes; mouse

恶性肿瘤作为世界上危害人类生命健康最严重的疾病之一,一直是医学领域内受到广泛重视的研究课题[1]。肝癌的发生与免疫功能有着密切的关系,免疫防御功能的降低和免疫监视功能低下易造成体内发生肿瘤[2]。肝癌是一种常见的恶性肿瘤,具有死亡率高、转移性强等特点[3-5]。随着科学日新月异的发展,手术、TACE(肝动脉化疗栓塞)、局部治疗、静脉化疗、生物靶向治疗等多种治疗方式能够显著提高肝癌患者的生活质量,延长部分患者的生命,但适应者数量有限,且术后恢复效果不佳,综合而言,肝癌的病死率仍居高不下,治疗效果欠佳[6]。因此深入研究肝癌的发生机制,了解肝癌发生过程中机体的变化,能够为后续肝癌的监控和治疗提供重要的依据和治疗策略[7-9]。建立肝癌动物模型是深入肝癌研究的前提条件,化学诱导法、原位移植法、基因修饰法是常见的三种建模方式[10]。其中化学诱发以操作便捷、价格低廉、易成型且肝癌发生过程与人类相似等特点,被广泛应用,而化学诱发中尤以 DEN(二乙基亚硝铵)的效果最佳,DEN 是一种属于 N-亚硝基的有机物质,能够诱导很多组织形成肿瘤,例如:肝、胃、造血系统、肺等多种组织[11-13]。利用 DEN 进行诱导,可对肝产生严重的损伤,具有较强的致癌性、致畸性和突变性,最直接的表现是中性粒细胞浸润,广泛的小叶出血性坏死,肝细胞异常分裂,胆管增生,纤维化,和桥接坏死,并最终导致肝癌[14]。据研究表明,DEN 致癌剂联合 CCL_4(四氯化碳)促癌剂能够缩短诱导周期,同时能够减少模型动物的死亡率,大大提高成模率[15]。因此,本次试验选择 DEN 联合 CCL_4 共同诱导小鼠肝癌发生,以达到高效建立小鼠肝癌模型的目的[16-18]。判断肝癌模型的相关指征主要有模式动物体重变化,形态特征,肝组织结构,肝脾指数,血液中谷丙转氨酶、谷草转氨酶、肌酐和总胆红素的含量及血清中总蛋白、白蛋白和尿素氮含量变化等[19]。本实验主要从这几个方面进行不同时间点的监测,以呈现出小鼠肝癌模型构建过程中相关指征的动态变化趋势,为肝癌模型构建及其病理研究提供参数和技术依据[19]。

1 材料和方法

1.1 实验动物

实验动物:SPF 级 30 日龄雄性 C57BL/6J 小鼠 42 只,体重 18~22 g,购自长春市亿斯实验动物技术有限责任公司[SCXK(吉)-2016-0003],在吉林大学基础医学院动物实验中心屏障环境下饲养[SYXK(吉)-2018-0001],并按照 3R 原则给予人道关怀。该研究已经通过吉林大学基础医学院伦理委员会审批,审批编号:2019 年 49 号。

1.2 主要试剂与仪器

二乙基亚硝胺(DEN, Sigma);四氯化碳(天津市富宇精细化工有限公司);橄榄油(成都市科龙化工试剂厂)。

多功能酶标仪(型号:HBS-1096),电子分析天平(型号:FA2204B),恒温箱(型号:DHP120)。

1.3 实验方法

1.3.1 实验动物分组及造模

对照组(control group):正常雄性 C57BL/6J 小鼠 21 只,常规喂养;模型组(model group):正常雄性 C57BL/6J 小鼠 21 只,常规喂养。

1.3.2 给药方法

小鼠购入后在屏障环境下进行适应性饲养 1 d,第 2 天针对模型组小鼠首先用 DEN 进行 1 次腹腔

注射 100 mg/kg(生理盐水配制);第 2 周再用 DEN 进行一次腹腔注射 100 mg/kg(生理盐水配制),第 3 周后开始以 CCl_4 和橄榄油(配制体积比 20∶80)灌胃,0.05 mL/10 g,每周 2 次;持续灌胃至第 20 周,其中从第 8 周开始,CCl_4 和橄榄油溶液剂量增加为 0.10 mL/10 g。

1.3.3　常规观察指标及检测指标

DEN 诱发肝癌的过程大概要经过 3 个阶段,即肝硬变前期(1~8 周)、肝硬变期(8~14 周)、癌变期(14~20 周);分别于造模后 4、8、12、16、20、24、28 周检测各项指标,基本能反映出肝癌诱变不同时期的变化特点。

诱癌开始后,每周称量小鼠体重;分别于造模 4、8、12、16、20、24、28 周后,随机选择模型组小鼠 3 只,对照组小鼠 3 只脱颈致死;观察两组小鼠肝的形态、颜色、质地和肉眼可见的肝表面癌结节数(拍照留存);取肝、肾称重并计算肝、肾/体重比,即肝脾指数。并于 20 周开始计算小鼠存活率和诱癌成功率,存活率 = 每组存活的小鼠数/各组小鼠总数 × 100%,诱癌成功率 = 诱癌成功小鼠数/各组小鼠数 × 100%。

将造模 4、8、12、16、20、24、28 周后处死的 3 只小鼠,取肝、肾和脾组织,一部分送去病理检测,一部分用作转录组测序,剩余组织的冻存液氮中以备后续使用。提取血液测定其中谷丙转氨酶、谷草转氨酶、肌酐和总胆红素的含量及血清中总蛋白、白蛋白和尿素氮含量。

1.4　统计学方法

实验数据利用 SPSS 19.0 统计软件进行 One-way ANOVA 程序进行单因素方差分析,数据采用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,以 $P < 0.05$ 表示差异显著。

2　结果

2.1　各组小鼠表征及肝癌发生状况

42 只小鼠在肝癌诱发过程中,模型组小鼠死亡 2 只,一只在建模后的第 6 周死亡,另一只在建模后的第 8 周死亡。存活率为 90.5%。死亡小鼠进行病理检测主要表现在肝水肿、充血、有大量炎细胞浸润。在建模的过程中,对照组小鼠肝无异常变化,肝色泽红润,表面光滑(见图 1-1)。模型组小鼠普遍出现食欲下降、毛色暗淡、脱毛、整体状态差、体重降低等现象,相比对照组小鼠,模型组小鼠的肝组织在不同时期呈现出不同状况:在建模早期肝体积逐渐增大,颜色仍旧红润、质软、表面光滑,未见结节(图 1-2);建模中期,小鼠肝重量增加,颜色逐渐变暗、变硬,表面凹凸不平、粗糙,有大小不等的结节,(图 1-3);建模后期,小鼠肝表面出现大小不一、直径在 1.0~3.0 mm 之间的灰白色肝结节(图 1-4)。建模成型后,肝表面粗糙、质硬,可见诸多结节,既有 4.0~15.0 mm 的单发大结节,也有 1.5~3.0 mm 的多发灰白色小结节(图 1-5)。模型组存活的 19 只小鼠中,诱癌成功 15 只,成功率为 78.95%。

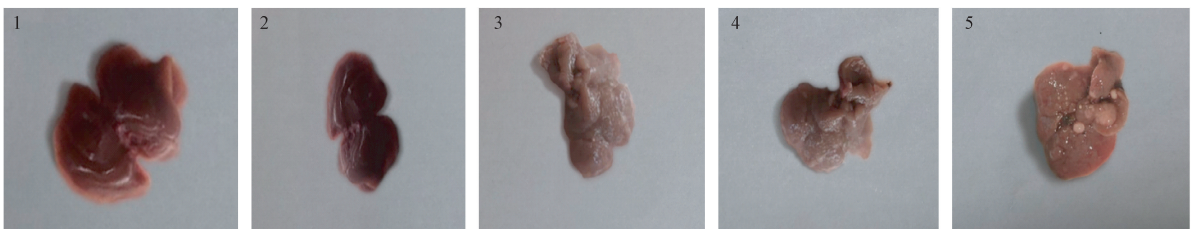

图 1　肝癌模型小鼠各阶段肝的形态变化

Figure 1　Changes of gross appearance of the mouse livers

2.2　各组小鼠体重变化

与对照组小鼠比较,造模前各组组小鼠体重无明显差异。化学诱导建模第 4 周时,模型组小鼠平均体重开始下降。造模 4~12 周,模型组小鼠体重均低于正常组;造模第 12~28 周,模型组小鼠均明显低于正常组小鼠($P<0.05$,图 2)。

2.3　各组小鼠肝、肾功能和肝中蛋白含量的变化

实验测定、分析了不同时期建模组和对照组小鼠的肝肾功能变化,结果表明:模型组小鼠血清中

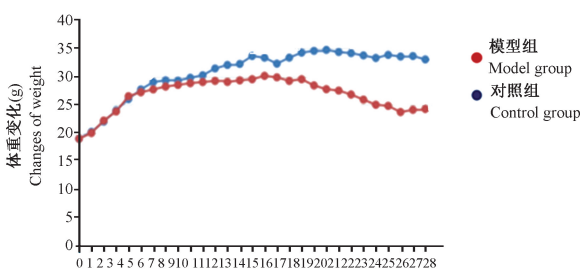

图 2　各组小鼠体重变化对比

Figure 2　Comparison of the changes of body weight in the mice

谷丙转氨酶(GPT)、谷草转氨酶(GOT)、肌酐和总胆红素显著升高,说明模型组小鼠肝受到严重损伤。与对照组小鼠比较,模型组小鼠血清中总蛋白、白蛋白和尿素氮含量显著降低,模型小鼠血清中尿素氮可能与小鼠体内低蛋白水平有关,而 γ-谷氨酰转肽酶(γ-GT)和碱性磷酸酶(ALP)虽有轻微增高的变化,但变化不明显(图 3)。

2.4 各组小鼠肝、脾指数变化

模型组小鼠的肝、脾指数均明显高于对照组,同时,随着建模时间的延长,肝脾指数逐渐增加,表明建模组小鼠的肝脾受到一定程度的损伤(表 1)。

2.5 各组小鼠肝、肾病理结果

成模结束后,选取肝癌模型小鼠和对照组小鼠进行 HE 染色病理分析,结果显示:对照组小鼠肝组织结构无异常现象,肝小叶结构清晰,肝细胞索以中央静脉为中心向四周整齐排列;而模型组小鼠肝组织逐渐出现异常,建模 12 周以前,肝的变化主要表现在细胞变大,并呈现空泡状变化,细胞排列混乱,细胞核都挤向细胞一侧,同时能够观察到有部分炎性细胞的浸润,可以看到为数不多的由于肝细胞凝固坏死形成的嗜酸性小体。在建模 16 周后,模型组小鼠的肝小叶结构逐渐消失不见,形成假小叶,中央静脉缺失或偏离原来位置,肝细胞索结构紊乱,并出现肝细胞越来越多的坏死,有些会出现空泡状的变化,细胞核出现大小不一的现象,同时很容易观察到嗜酸性小体,细胞形状出现明显变化。建模 20 周后,模型组小鼠肝细胞状态明显表现出肝癌特征,细胞排列非常紊乱并拥挤,细胞的大小、形态各异,可见巨核,核异型性非常明显,间质间可见较明显的炎细胞浸润(图 4)。

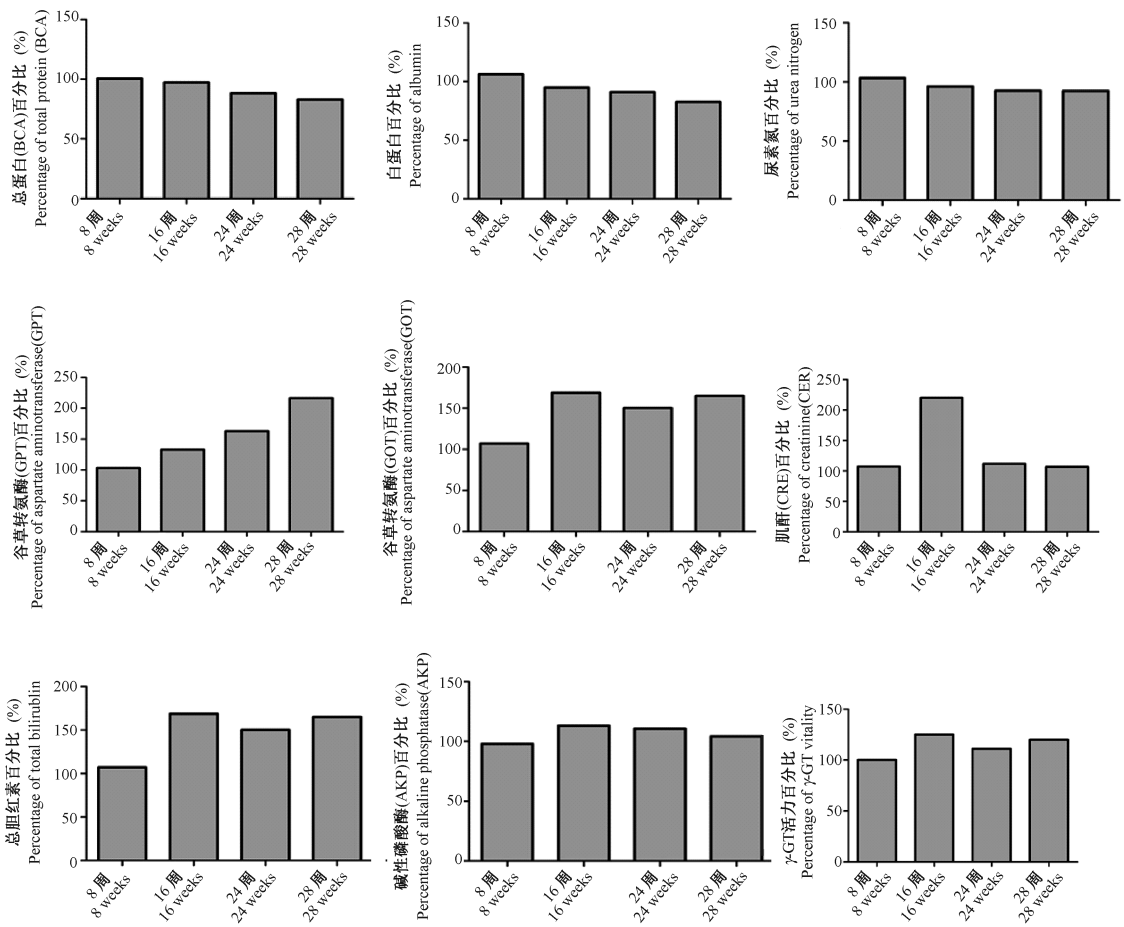

图 3 各组小鼠肝、肾功能和肝中蛋白含量的变化

Figure 3 Changes of liver and kidney functions and liver protein contents in the mice

表 1　小鼠肝、脾指数

Table 1　Liver and spleen indexes of the mice

时间 Time	组别 Groups	肝指数 Liver index	脾指数 Spleen index
4 周 4 weeks	对照组 Control group	0.59±0.128	0.086±0.028
	模型组 Model group	0.58±0.128	0.085±0.028
8 周 8 weeks	对照组 Control group	0.60±0.126	0.084±0.027
	模型组 Model group	0.70±0.153*	0.093±0.026
12 周 12 weeks	对照组 Control group	0.59±0.126	0.086±0.027
	模型组 Model group	0.93±0.197*	0.101±0.026*
16 周 16 weeks	对照组 Control group	0.58±0.129	0.085±0.029
	模型组 Model group	1.06±0.226*	0.116±0.026*
20 周 20 weeks	对照组 Control group	0.59±0.126	0.086±0.027
	模型组 Model group	1.20±0.359*	0.136±0.030*
24 周 24 weeks	对照组 Control group	0.60±0.125	0.086±0.023
	模型组 Model group	1.38±0.359*	0.140±0.031*
28 周 28 weeks	对照组 Control group	0.58±0.129	0.086±0.027
	模型组 Model group	1.45±0.412*	0.147±0.038*

注：与对照组比较，* $P<0.05$。

Note. Compared with the control group, * $P<0.05$.

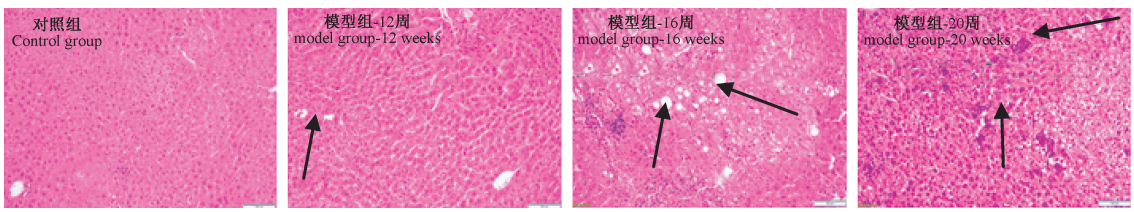

图 4　肝病理图（HE 染色，×200）

Figure 4　Pathological changes in the liver tissues of the mice at different stages. HE staining

3　讨论

肝癌动物模型的建立是肝癌研究的基础，而化学诱发小鼠肝癌模型是基础科学研究和临床研究中经常使用的模型建立方式，同时由于其类似人类肝癌形成过程，因此，是目前进行肝癌研究的首选建模方式[20-22]。

DEN 作为比较常用的化学致癌剂，致癌率较高，因此，常被用作肝癌动物模型的启动剂和致癌剂[23]。另外，有研究表明，CCL_4 对肝也具有较大的毒性，也会对肝造成损伤，因此，本实验通过以 DEN 为启动剂进行腹腔注射，在这里经过改良，将一次注射，改为两次注射，以增加启动刺激性，为成功建模奠定基础[19]。而后通过以 CCl_4 和橄榄油混合液进行灌服，联合诱发小鼠肝癌模型的建立，通过这种方式建立模型的病理变化会经过肝炎、肝硬化、非典型性增生，最后肝癌形成的过程，这些变化过程与人类肝癌形成的变化过程非常相似，另外，此

种模型的重复性和稳定性都较好,因此,该模型的建立对研究人类肝癌具有重要作用,为肝癌的治疗奠定基础[19-22]。本实验以 C57BL/6J 小鼠为实验对象,在诱癌实验早期观察到模型小鼠的病理改变主要为肝细胞的炎性损伤、增生浸润引起肝组织的变性和肿大。在诱癌的中-晚期则出现嗜酸性结节小体、空泡结构和肝硬化、肝癌的发生[10,23]。本实验组肝细胞性肝癌阳性率为 78.95%,肝组织均呈明显肝硬化改变。这些病理改变与人类肝癌在肝硬化的基础上发生有一定的相似之处[24-25]。小鼠在诱癌实验过程中死亡的主要原因在早期和中期为诱癌剂的毒性作用引起的中毒性死亡,而在晚期则主要是因为肿瘤晚期动物体质衰竭引起的死亡[26]。

由于致癌剂二乙基亚硝胺(DEN)的化学毒性作用,传统一次性给药方法后小鼠在诱癌阶段的实验性死亡明显增加,影响了诱癌数量及诱癌周期,导致实验观察结果的误差[27]。在本研究中笔者采用化学诱癌剂 DEN 分次饲喂法结合后期添加一定配比 CCl4/橄榄油建模方法,这样可缓解诱癌剂对建模小鼠的毒副作用,有效地降低了建模小鼠的实验性死亡率。

本实验中,通过对模型组小鼠和对照组小鼠体重、肝脾指数、病理、血清中谷丙转氨酶(GPT)、谷草转氨酶(GOT)、肌酐和总胆红素及血清中总蛋白、白蛋白和尿素氮含量的检测获得了建模不同时期的动态数据。在建模初期各项指标与对照组相差无几,随着建模时间的延长,模型组小鼠逐渐表现出肝癌的症状。实验结果显示,在建模 16 周左右,建模小鼠各项指标表现出较为显著的变化,24~28 周均表现出明显的肝癌症状,实验对不同时间节点检测分析的表征数据能够很好体现肝癌模型的发展变化。

通过本肝癌小鼠建模实验,笔者认为:①建模小鼠的分组要合理,每笼动物 7~8 只,尽可能给动物充足的活动空间;②保证每只动物同时进食,药量均匀;③饲料、饮水要清洁充足;④由于小鼠有啃食死鼠的习性,如发现精神状态差、不好动、不进食的动物,要分笼喂养,以防患病小鼠死后被同类吃掉;⑤诱癌剂 DEN 应按照所需配制浓度充分溶解于生理盐水。

本实验结果表明,随着诱癌时间的延长,小鼠肝硬化程度逐渐加重,肝癌的发生率明显上升。发生肿瘤的模型小鼠肝表面见有大小不等的灰白色结节,肿块增大、数量增多并相互融合。说明本实验所诱发的小鼠肝癌与人类肝癌相似,本模型可以模拟人类肝癌发生、发展的基本过程[28]。

参考文献:

[1] Chang W, He W, Li PP, et al. Protective effects of Celastrol on diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinoma in rats and its mechanisms [J]. Eur J Pharmacol, 2016, 784: 173-180.

[2] 柴红涛,唐恩奇,李滨,等. N-亚硝基二乙胺(DEN)诱导 SD 大鼠肝癌模型的研究 [J].安徽医学,2016,37(4):383-385.

[3] 单鹏,宁厚法. 小鼠原发性肝癌模型的研究进展 [J].医学综述, 2018, 24(20): 4010-4015.

[4] 罗利婷,牛俊奇. 通过简单饮食和化学诱导构建一种可迅速进展为肝纤维化和肝癌的非酒精性脂肪性肝炎小鼠模型 [J]. 临床肝胆病杂志, 2018, 34(06): 1190.

[5] 常伟,张稳稳,李培培,等. 二乙基亚硝胺联合四氯化碳诱导原发性肝癌小鼠模型的方法 [J]. 中国新药杂志,2017, 26(10):1169-1173.

[6] 信波,覃君慧,梁媛,等. BALB/c 小鼠肝癌模型建立及其形态学特征分析 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2013, 20(7): 481-484,538.

[7] Wang FS, Fan JG, Zhang Z, et al. The global burden of liver disease: the major impact of China [J]. Hepatology, 2014, 60(6): 2099-2108.

[8] 李晓娟,白云峰,崔智,等. 常用实验动物肝癌模型研究进展 [J].中国比较医学杂志, 2012, 22(4): 73-77.

[9] 宋祥福,吕喆,刘欣,等. 两种方式接种肝癌模型的比较 [J]. 中国比较医学杂志, 2007, 27(2): 96-98.

[10] 尹君,李景丁莎,左从林,等.人源性肝癌细胞小鼠原位移植瘤模型的建立及特点的比较研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(12): 68-74.

[11] Lee WY, Hong HK, Ham SK, et al. Comparison of colorectal cancer in differentially established liver metastasis models [J]. Anticancer Res, 2014, 34(7): 3321-3328.

[12] 常伟,饶玲,张稳稳,等. 肝癌动物模型常用致癌化合物及其机制研究进展 [J].海峡药学, 2018, 30(11): 9-11.

[13] Qi Y , Chen Y, Chan CY, et al. Two-dimensional differential gel electrophoresis/analysis of diethylnitrosamine induced rat hepatocellular carcinoma [J]. Int J Cancer, 2008, 122(12): 2682-2688.

[14] Salguero PR, Roderfeld M, Hemmann S, et al. Activation of hepatic stellate cells is associated with cytokine expression in thioacetamide-induced hepatic fibrosisin mice [J]. Lab Invest, 2008, 88(11): 1192-1203.

[15] 罗桂芳,张娟娟,邓青,等. 小鼠循环肝癌细胞模型的建立与评价 [J]. 中国实验动物学报, 2017, 25(3): 301-305,315.

[16] 沈智勇,陈瑜凤,邵晶晶,等. 裸鼠原位肝癌动态影像检查与病理对照研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(11): 74-80.

[17] 温丽娜,郭杨志,仝永娟,等. 消癌平注射液对原发性肝癌模型大鼠病理形态和肝癌细胞迁移的影响及其作用机制 [J].

中国比较医学杂志, 2018, 28(6): 46-52.
[18] 刘伟,肖俊,兰金芝,等. 肝癌模型大鼠癌组织组蛋白乙酰化水平观察 [J]. 贵州医科大学学报, 2017, 42(12): 1370-1374.
[19] Kota J, Chivukula RR, O'Donnell KA, et al. Therapeutic microRNA delivery suppresses tumorigenesis in a murine liver cancer model [J]. Cell, 2009, 137(6): 1005-1017.
[20] 孙静,魏虎来. 人源肝癌 HepG2 细胞胰岛素抵抗和逆转模型中 FoxO1 mRNA 和蛋白表水平及其意义[J].吉林大学学报(医学版),2017,43(04):709-714.
[21] 李军,王庆学,王镜辉,等. 肝癌研究中常用造模方法的应用概况及特点 [J]. 贵阳中医学院学报, 2019, 41(2): 97-100.
[22] 米热阿依·亚力昆,迪那拉·恰热甫汗,阿合尔扎马尼·麦麦提,等. 二乙基亚硝胺诱导的肝癌模型大鼠尿液代谢组学研究 [J].西北药学杂志, 2019, 34(3): 341-345.
[23] 徐自慧,王雅蕾,万亮琴,等. 肝癌小鼠外周血及脾脏 T 淋巴细胞亚群的变化及其意义 [J].现代生物医学进展, 2019, 19(8): 1406-1409.
[24] Khalaf MH, Sundaram V, Mohammed MAA, 等. 肝细胞肝癌经肝动脉化学栓塞后栓塞综合征的预测模型 [J].国际医学放射学杂志, 2019, 42(2): 234-235.
[25] 韦武,郭红星.大鼠肝癌模型建立的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2019,27(1): 119-123.
[26] 何晓东,邵一贺,黎冰林,等.不同配方饲料对 DEN 诱导小鼠肝癌模型建立的影响 [J].中国实验动物学报, 2017, 25(3): 306-310.
[27] 鄂颖,尚德高,尤胜.苦参碱联合顺铂对人肝癌细胞株 HepG2 裸鼠移植瘤模型瘤体生长及 caspase-3 和 Survivin 表达的影响 [J]. 临床和实验医学杂志, 2019, 18(5): 457-460.
[28] Ko YH, Pedersen PL, Geschwind JF. Glucose catabolism in the rabbit VX2 tumor model for liver cancer: characterization and targeting hexokinase [J]. Cancer Letters, 2001, 173(1): 83-91.

〔收稿日期〕2019-04-10

(上接第 25 页)

[28] 中华医学会妇产科学分会内分泌学组及指南专家组. 多囊卵巢综合征中国诊疗指南 [J]. 中华妇产科杂志, 2018, 53(1): 2-6.
[29] 徐园,郭淑丽,马玉芬,等. 重度肥胖症患者生活质量与抑郁状况的相关性 [J]. 中国医学科学院学报, 2018, 40(5): 625-629.
[30] Preiss K, Brennan L, Clarke D. A systematic review of variables associated with the relationship between obesity and depression [J]. Obes Rev, 2013, 14(11): 906-918.
[31] 乌斯曼阿巴伯克力,艾力艾克拜尔. 肥胖症与抑郁症相关性的研究进展 [J]. 中华肥胖与代谢病电子杂志, 2019, 5(1): 37-40.
[32] Slyepchenko A, Maes M, Jacka FN, et al. Gut microbiota, bacterial translocation, and interactions with diet: Pathophysiological links between major depressive disorder and non-communicable medical comorbidities [J]. Psychother Psychosom,2017, 86(1): 31-46.
[33] Arnold M, Pandeya N, Byrnes G, et al. Global burden of cancer attributable to high body-mass index in 2012: a population-based study [J]. Lancet Oncol, 2015, 16(1): 36-46.
[34] 于洋,关海霞. 肥胖与甲状腺癌:已知证据的思考和未来研究的展望 [J]. 中华内科杂志, 2019, 58(1): 5-9.
[35] Brown KF, Rumgay H, Dunlop C, et al. The fraction of cancer attributable to modifiable risk factors in England, Wales, Scotland, Northern Ireland, and the United Kingdom in 2015 [J]. Br J Cancer, 2018, 118(8): 1130-1141.
[36] Koroukian SM, Dong W, Berger NA. Changes in age distribution of obesity-associated cancers [J]. JAMA Netw Open, 2019, 2(8): e199261.
[37] Chen H, Deng Y, Li S. Relation of body mass index categories with risk of sudden cardiac death [J]. Int Heart J, 2019, 60(3): 624-630.
[38] Sun YQ, Burgess S, Staley JR, et al. Body mass index and all cause mortality in HUNT and UK Biobank studies: linear and non-linear mendelian randomisation analyses [J]. BMJ, 2019, 364: l1042.
[39] Wade K H, Carslake D, Tynelius P, et al. Variation of all-cause and cause-specific mortality with body mass index in one million Swedish parent-son pairs: An instrumental variable analysis [J]. PLoS Med, 2019, 16(8): e1002868.

〔收稿日期〕2019-08-28