

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2024.16.005
文章编号: 1005-8982 (2024) 16-0026-07

实验研究·论著

无需缝合外科嵌入式小鼠原位肝癌 肿瘤模型的复制及应用价值*

应卓鹏¹, 方贾栩¹, 杨小红¹, 战跃福², 陈建强¹

(1.海南医学院第一附属医院 放射科, 海南 海口 570102; 2.深圳市龙岗区
第三人民医院 放射科, 广东 深圳 518100)

摘要: **目的** 探讨无需缝合的外科嵌入式方法在复制小鼠原位肝癌(HCC)肿瘤模型中的应用, 并评估该模型在肿瘤生物学研究中的价值。**方法** 通过体外培养Hepa1-6细胞至适宜浓度, 并采用小动物一体式麻醉系统对C57 BL/6J小鼠实施麻醉。该研究采用细胞法、挂线法和嵌入式复制原位肝癌移植瘤模型, 并对手术时长、小鼠复苏时间及存活率进行比较。此外, 通过MRI技术动态监测肿瘤的形成过程, 并对比3种方法的肿瘤成瘤率、单瘤率及腹壁肿瘤种植率。通过病理学检测评估肿瘤组织的结构和病理特征。**结果** 细胞法组手术时间较挂线法组短($P < 0.05$), 嵌入式组手术时间较挂线法组短($P < 0.05$), 细胞法组与嵌入式组手术时间比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。细胞法组复苏时间较挂线法组短($P < 0.05$), 嵌入式组复苏时间较挂线法组短($P < 0.05$), 细胞法与嵌入式组复苏时间比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。MRI结果显示, 挂线法组肿瘤呈块状生长, 可见分隔及类圆形伪影, 局部观察受限。细胞法组肿瘤呈片状不规则生长, 可见多发肿瘤。嵌入式组肿瘤呈团块状均匀生长, 边缘较清。细胞法组模型复制后第7天平均肿瘤体积较挂线法组大($P < 0.05$), 嵌入式组模型复制后第7天平均肿瘤体积较挂线法组小($P < 0.05$), 细胞法组与嵌入式组模型复制后第7天平均肿瘤体积比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。各组模型复制后第21天平均肿瘤体积比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。各组平均肿瘤重量比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。各组单瘤率、腹壁肿瘤种植率比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 嵌入式组单瘤率较细胞法组高($P < 0.05$)。各组成瘤率比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。HE染色结果示, 各组肿瘤细胞呈巢状分布, 排列紧密, 核深染呈分裂象, 肿瘤浸润肝组织, 符合肝癌病理学特点。**结论** 采用嵌入式复制的原位移植瘤小鼠模型操作简单, 手术时间短, 可重复性高, 为肝癌的相关基础实验研究及在体动态监测提供了一种重要的实验工具。

关键词: 肝癌; 原位移植瘤; 磁共振成像

中图分类号: R735.7

文献标识码: A

Establishment and application value of mouse model of hepatocellular carcinoma via sutureless surgical orthotopic implantation*

Ying Zhuo-peng¹, Fang Jia-xu¹, Yang Xiao-hong¹, Zhan Yue-fu², Chen Jian-qiang¹

(1. Department of Radiology, The First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou, Hainan 570102, China; 2. Department of Radiology, The Third People's Hospital of Longgang District, Shenzhen, Guangzhou 518100, China)

Abstract: Objective To explore the application of sutureless surgical orthotopic implantation in the

收稿日期: 2024-01-26

* 基金项目: 海南省自然科学基金面上项目(No:820MS172); 海南省重点研发计划项目(No:ZDYF2023SHFZ142)

[通信作者] 陈建强, E-mail: hnchenjq@163.com; Tel: 13707577955

establishment of mouse model of hepatocellular carcinoma (HCC) and to assess the value of this model in tumor biology researches. **Methods** Hepa 1-6 cells were cultured in vitro to an appropriate density, and C57 mice were subjected to anesthesia using a small animal all-in-one anesthesia system. In this study, three techniques, including the cellular method, the hanging method and the implantation method, were used to replicate the orthotopic transplantation hepatocellular carcinoma model. The operative duration, and the recovery time and the survival rate of mice were compared. In addition, the process of tumor formation was dynamically monitored by magnetic resonance imaging (MRI), and the tumor formation rate, the single tumor rate, and the abdominal wall tumor implantation rate were compared among the three methods. The structural and pathological features of the tumor tissues were evaluated by pathological examinations. **Results** The operative duration of the cellular method was shorter than that of the hanging method ($P < 0.05$), and that of the implantation method was shorter than that of the hanging method ($P < 0.05$). There was no difference in the operative duration between the cellular method and the implantation method ($P > 0.05$). The recovery time of mice in the cellular method group was shorter than that in the hanging method group ($P < 0.05$), and that in the implantation method group was shorter than that in the hanging method group ($P < 0.05$). There was no difference in the recovery time of mice between the cellular method group and the implantation method group ($P > 0.05$). The MRI exhibited that the tumors in the hanging method group grew in a nodular pattern, with septa and roundish artifacts, and that parts of the tumors were not well visualized. The tumors in the cellular method group grew irregularly and in a lamellar pattern, with multiple lesions observed. The tumors in the implantation method group grew in a lump-like, uniform manner with relatively clear margins. The mean tumor volume 7 days after modeling in the cellular method group was larger than that in the hanging method group ($P < 0.05$), and that in the implantation method group was smaller than that in the hanging method group ($P < 0.05$). There was no difference in the mean tumor volume 7 days after modeling between the cellular method group and the implantation method group ($P > 0.05$). The mean tumor volume 21 days after modelling was not different among the three groups ($P > 0.05$). The mean tumor weight was also not different across the groups ($P > 0.05$). There were differences in the single tumor rate and the abdominal wall tumor implantation rate among the groups ($P < 0.05$), and the single tumor rate in the implantation method group was higher than that in the cellular method group ($P < 0.05$). There was no difference in the tumor formation rate among the groups ($P > 0.05$). The HE staining demonstrated that tumor cells in all groups were distributed in a nest-like pattern and arranged closely with deeply stained nuclei showing mitotic figures, and that the tumors infiltrated liver tissues, consistent with the pathological characteristics of hepatocellular carcinoma. **Conclusions** The mouse model of hepatocellular carcinoma via orthotopic implantation is easy to operate, and has a short operative duration and high reproducibility. It provides an important experimental tool for basic researches and in vivo dynamic monitoring of hepatocellular carcinoma.

Keywords: hepatocellular carcinoma; orthotopic transplantation tumor; magnetic resonance imaging

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是全球第 6 大常见恶性肿瘤, 病死率位居第 3 位, 对公众健康构成了重大威胁。据最新的流行病学研究, 2020 年中国 HCC 的标准化发病比例为 18.2 例/10 万, 标准化病死比例为 17.2 例/10 万^[1-2]。该数据不仅揭示了 HCC 在中国的高发病率和致死率, 也突显了加强早期诊断和治疗策略研究的迫切性。HCC 的隐匿性导致许多患者在确诊时已错过最佳治疗时机, 增加了治疗的复杂性^[3]。鉴于此, 复制良好的肝癌动物模型深入研究 HCC 的生物学特性, 特别是与肿瘤微环境及免疫系统之间的相互作用, 对于开发有效的治疗策略至关重要^[5-6]。体内原位模型是一个模拟 HCC 生物学行为的重要工具, 能够精确地模拟 HCC

的形态学、组织学和生化特性, 促进肿瘤的临床治疗策略和抗肿瘤药物研发^[4]。此外, 肝脏作为人体的重要代谢器官^[7], 其双重血供的特点及与肠道的密切联系, 使 HCC 的研究相较于其他癌症领域更依赖于原位模型的使用^[8-9]。因此, 开发出能够合理模拟 HCC 与肿瘤微环境及免疫系统之间相互作用的小鼠原位 HCC 模型, 对于深入理解 HCC 的生物学特性至关重要^[10]。尽管目前已有学者采用不同的方法来复制小鼠原位 HCC 模型并取得了一定的效果, 如肿瘤细胞注射法、化学诱导法、转基因动物模型及类器官模型等, 但是现有的复制方法存在操作复杂、耗时长及可能对动物造成一定创伤的问题^[11]。因此, 为克服这些不足, 本研究旨在开发一种改良

的基于C57BL/6J小鼠的HCC瘤块原位嵌入技术来复制小鼠原位HCC模型。该技术具有手术时间短、成瘤率高、操作简单高效等优点,预期将为复制可靠且可重复的动物模型提供一种实际可行的方法,从而推动HCC的研究进展。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF级C57BL/6J雄鼠30只,4~6周龄,体重18~20g;SPF级BALB/c裸鼠3只,6周龄,体重19~22g。小鼠均购于广东省医学实验动物中心[SCXK(粤)2022-0002],饲养于海南医学院实验动物中心[SYXK(琼)2022-0013]。小鼠在恒温、恒湿,光照遵循昼夜节律,室内温度25~26℃环境下喂养,饲养饲料为SPF级无菌标准饲料,饮用水为灭菌水,每笼饲养5只小鼠。本实验经海南医学院实验动物伦理委员会批准(No.:HYLL-2023-465)。实验过程中严格遵守3R原则给予实验动物人道主义关怀。

1.2 实验材料与试剂

小鼠HCC细胞株Hepa1-6购自中国科学院细胞库。DMEM培养基购自武汉普诺赛公司、胎牛血清和胰酶消化液均购自美国Gibco公司,高浓度基质胶购自美国BD Biocoat公司,细胞培养瓶、15 mL及50 mL离心管均购自美国CORNING公司。5-0不可吸收缝合线购自宁波市成和显微器械厂,7-0可吸收缝合线购自上海浦东金环股份有限公司。

1.3 实验仪器与设备

直镊、弯镊、持针器、手术剪、细胞夹均购自上海普伦科技有限公司,1 mL注射器购自康力医疗器械有限公司,10 μ L微量注射器购自哈美顿实验器材有限公司,一体式麻醉系统购自美国MIDMARK公司,Discovery MR750W 3.0T磁共振购自美国通用公司。

1.4 实验方法

1.4.1 Hepa1-6细胞实验 Hepa1-6细胞从液氮罐中取出后,立即在37℃水浴锅中摇晃至细胞完全解冻。将细胞移入装有5 mL完全培养基的15 mL离心管内,以1 000 r/min离心5 min,弃上清液,重新加入3 mL完全DMEM培养基,吹打均匀后移至细胞培养瓶,培养箱条件为37℃、5%二氧化碳。细胞复苏后,连续培养2代,将处于对数生长周期的细胞消化

离心,并用PBS重悬细胞,根据实验需求调整细胞浓度,置于冰上等待后续实验。

1.4.2 小鼠麻醉 采用气体麻醉小鼠,麻醉剂为异氟烷。将小鼠先放入一个相对密封、透明的有机材料制作的长方形盒子,通入高浓度气体(氧气与异氟烷混合形成的一种麻醉气体)。麻醉后将小鼠从盒内取出,套上小动物专用麻醉头套,持续通入低浓度气体,保持麻醉状态。

1.4.3 HCC皮下移植性肿瘤复制 用无菌注射器吸取0.1 mL细胞浓度为 1×10^7 个/mL的Hepa1-6细胞悬液,接种于裸鼠右侧腋窝皮下,等待成瘤后备用。

1.4.4 原位HCC移植瘤模型小鼠复制及分组 将实验C57小鼠随机分为3组复制原位HCC模型,分别为细胞法组、挂线法组、嵌入法组,每组10只。HCC肿瘤组织块备用:安乐死裸鼠,取下生长良好的皮下移植瘤瘤体放于培养皿内置于冰上,用无菌PBS冲洗2次,随后用眼科剪将组织剪成大小约为1 mm \times 2 mm \times 1 mm的肿瘤组织块后备用。小鼠提前禁食禁水,并剃去腹部毛发,利用麻醉系统麻醉后将小鼠固定于配套硬板上。小鼠取仰卧位,用碘伏对小鼠中下腹部进行消毒,用组织剪沿剑突下方作纵行切口,长度1.0~1.5 cm,随后用细棉签轻轻将肝脏推挤至腹部开口处,暴露肝左叶,挤出部分肝脏。

细胞法组:调整细胞浓度,与基质胶按3:2混合,随后使用注射器吸取混合细胞悬液,保证浓度为 2×10^6 个/mL细胞,随后沿肝左叶边缘呈45°角进入后平行进针1 cm,注入细胞悬液。注入完毕后停留1 min,再缓慢出针。

挂线法组:先用自带缝合线的7-0可吸收缝合针穿过选取好的肿瘤组织块,再从肝左叶内侧穿过外侧,轻打1个手术结,拉紧后剪断手术缝合线。

嵌入法组:选取大小合适的肿瘤组织块,置于棉签上吸干液体,用10 μ L微量注射器薄涂一层高浓度基质胶于组织块外层。后用细胞夹(见图1)于肝左叶部位轻轻竖向划开小缺口,用无菌棉签按压20 s,少许出血止血后将组织块平行嵌入肝内,并涂入少许基质胶,再用新的无菌棉签按压10 s左右(见图2)。

上述操作完成后,将肝左叶缓缓推回腹腔,依

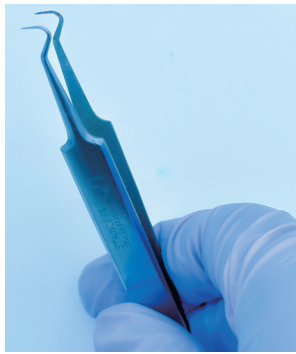


图1 超细手术夹

次使用7-0可吸收缝合线和5-0不可吸收缝合线缝合小鼠腹膜及皮肤。缝合完毕后使用碘伏棉签擦拭小鼠伤口,并将小鼠置于小动物专用加热毛毯保持体温直至苏醒。苏醒后放回饲养笼,正常给水饮食。

1.4.5 原位C57小鼠术后观察及肿瘤生长情况 观察各组小鼠术后一般情况、活跃状态、饮水进食情况、存活时长。在HCC原位移植瘤C57小鼠模型复制后第7天、第21天采用Discovery MR750W 3.0T磁共振扫描,动物仰卧,行上腹部常规MR扫描,成像方向包括横轴面、冠状面、矢状面,成像序列为T2WI序列,层厚1.6 mm、层距2 mm。小鼠肿瘤分别测量长(a)、宽(b)、高(c),肿瘤体积= $a \times b \times c / 2$ 。嵌入组C57小鼠实验流程图见图3。

1.4.6 C57小鼠原位移植肿瘤组织病理学检查 肿瘤小鼠处死后观察肿瘤大体形态,取肿瘤组织标本用4%多聚甲醛固定,常规脱水、石蜡嵌入、切片染色,显微镜下观察。

1.5 统计学方法

数据分析采用GraphPad Prism 8.0统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较用单因素方差分析,两两比较用Tukey的多重比较检验;计数资料以率(%)表示,比较用 χ^2 检验,两两比较用 χ^2 分割法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组手术时间、复苏时间及术后状态比较

挂线法组手术时间为(6.61 ± 0.94)min,细胞法组为(3.32 ± 0.47)min,嵌入法组为(3.61 ± 0.41)min,经单因素方差分析,差异有统计学意义($F = 77.550$, $P = 0.000$),细胞法组手术时间较挂线法组短($P < 0.05$),嵌入法组手术时间较挂线法组短($P < 0.05$),细胞法组与嵌入法组手术时间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。细胞法组复苏时间为(4.16 ± 0.84)min,嵌入法组为(3.98 ± 0.87)min,挂线法组为(12.89 ± 0.97)min,经单因素方差分析,差异有统计学意义($F = 324.600$, $P = 0.000$);细胞法组复苏时间较挂线法组短($P < 0.05$),嵌入法组复苏时间较挂线法组短($P < 0.05$),细胞法与嵌入法复苏时间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

嵌入法组、细胞法组小鼠苏醒后状态佳,活动正常;挂线法组苏醒后状态差,活动弱,体温偏低。术后1 d嵌入法组、细胞法组小鼠正常饮水进食,未见死亡,伤口恢复较迅速。挂线法组小鼠术后1 d存活率为60%,存活小鼠2~3 d后体重、伤口缓慢恢复。

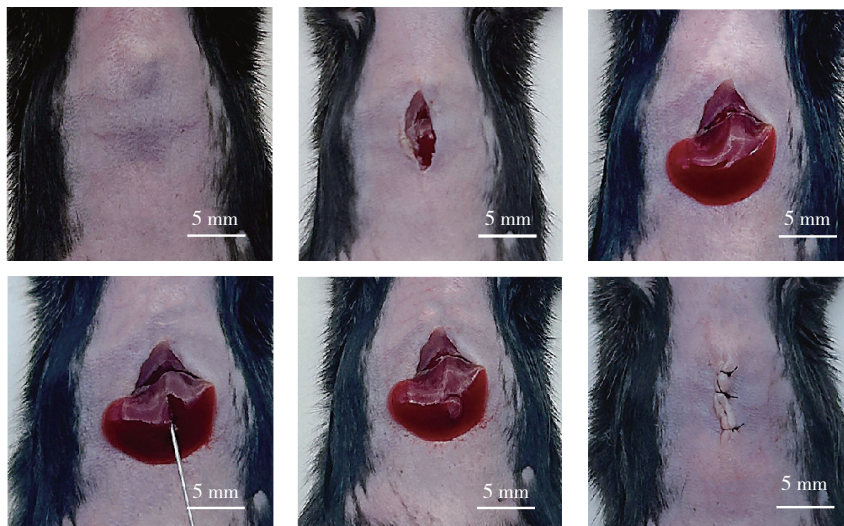


图2 嵌入瘤块操作流程

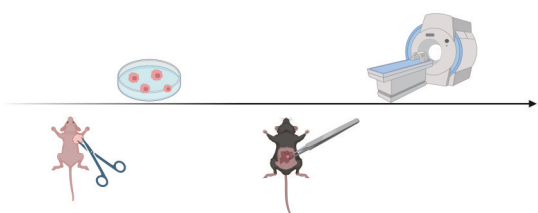
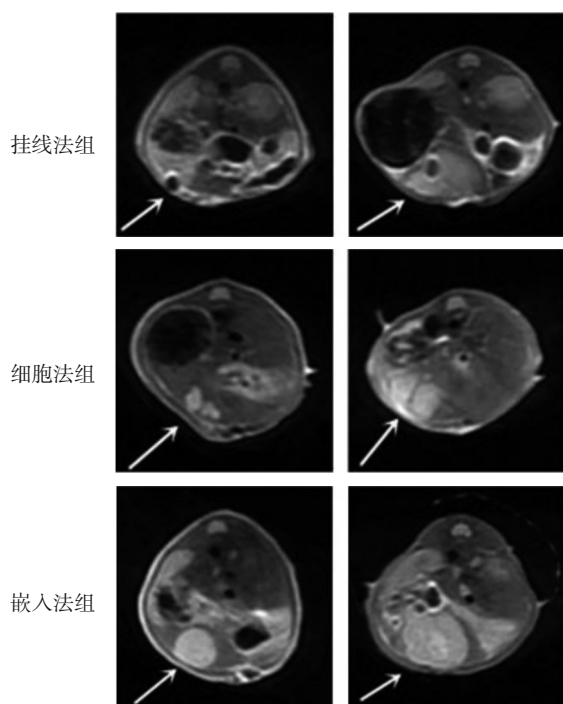


图3 C57小鼠肿瘤植入实验流程图

2.2 各组原位HCC小鼠模型成瘤情况

MRI结果示,挂线法组肿瘤呈块状生长,可见分隔及类圆形伪影,局部观察受限。细胞法组肿瘤呈片状不规则生长,可见多发肿瘤。植入法组肿瘤呈团块状均匀生长,边缘较清。见图4。



箭头示为高信号肿瘤。

图4 小鼠HCC T2WI MRI图像

2.3 各组模型复制后第7天、第21天平均肿瘤体积比较

挂线法组模型复制后第7天平均肿瘤体积为(49.72 ± 10.39) mm³,细胞法组为(53.83 ± 8.95) mm³,植入法组为(46.28 ± 7.03) mm³,经单因素方差分析,差异有统计学意义(F=1.807, P=0.183);细胞法组平均肿瘤体积较挂线法组大(P<0.05),植入法组平均肿瘤体积较挂线法组小(P<0.05),细胞法组与植入法组模型复制后第7天平均肿瘤体积比较,差异无统计学意义(P>0.05)。挂线法组模型复制后第

21天平均肿瘤体积为(148.95 ± 17.20) mm³,细胞法组为(139.11 ± 26.51) mm³,植入法组为(149.94 ± 15.11) mm³,差异无统计学意义(F=0.877, P=0.428)。

2.4 各组肿瘤剖检和HE染色结果比较

肿瘤剖检结果显示肿瘤大小、形态及瘤体边界与MRI测量一致。挂线法组平均肿瘤重量为(0.16 ± 0.01)g,细胞法组为(0.15 ± 0.01)g,植入法组为(0.16 ± 0.01)g,经单因素方差分析,差异无统计学意义(F=3.000, P=0.067)。各组单瘤率、腹壁肿瘤种植率比较,经χ²检验,差异有统计学意义(P<0.05),植入法组单瘤率较细胞法组高(P<0.05)。各组成瘤率比较,经χ²检验,差异无统计学意义(P>0.05)。见表1。

表1 各组肿瘤剖检结果比较 (n=10, %)

组别	单瘤率	成瘤率	腹壁肿瘤种植率
挂线法组	60	90	40
细胞法组	40	70	0
植入法组	100	100	0
χ ² 值	8.874	3.391	6.876
P值	0.013	0.290	0.022

HE染色结果示,各组肿瘤细胞呈巢状分布,排列紧密,核深染呈分裂象,肿瘤浸润肝组织,符合HCC病理学特点。见图5。

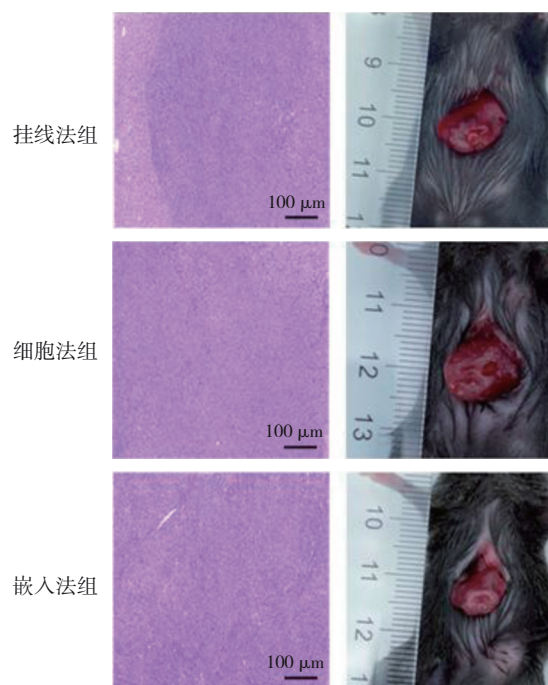


图5 实体瘤组织病理切片和解剖图 (HE染色×100)

3 讨论

本研究成功复制了一种无需缝合的外科嵌入式小鼠 HCC 肿瘤模型,并通过比较细胞法、挂线法和嵌入法 3 种不同技术,深入探讨了嵌入法在构建该模型中的优越性。嵌入法组手术时间及小鼠复苏时间显著缩短,不仅减轻了动物手术创伤,也提高了实验效率。此外,嵌入法组在单瘤率上的显著优势,为肿瘤的一致性和可重复性研究提供了保障。MRI 结果显示,嵌入法构建的肿瘤生长均匀,形态呈团块状,这与病理学检查结果相一致,进一步证实了该方法在模拟人类 HCC 发展中的有效性。这些发现表明,嵌入法不仅操作简便,而且能够提供稳定可靠的肿瘤模型,这对于后续的肿瘤生物学特性研究、药物筛选和治疗策略评估等实验研究具有重要的应用价值。

在生物医学研究中动物实验发挥了核心作用,但目前还没有一种动物模型能够概括人类癌症的所有遗传和生物学的特征^[12-14]。了解现有动物模型的局限性和优势将强调其在人类肿瘤早期检测和治疗方面的潜力^[15-17]。从所有不同的研究目的来说,没有任何理想的 HCC 模型^[18]。原位 HCC 模型拥有不同的复制方式,例如诱导模型^[19]、基因工程小鼠^[20]、人源化模型^[21]和移植模型^[22]。目前在研究中用得最多的就是移植模型,其中皮下肿瘤小鼠模型因为复制方法简单,成瘤迅速已成为常用模型之一。然而,皮下肿瘤模型并没有考虑到肝脏的微环境。同样,HCC 模型可以使用原位注射 HCC 肿瘤细胞或者是移植瘤块,但这通常需要外科手术,可能在技术上存在一定难度。

本研究使用 C57BL/6J 野生型小鼠和来源 C57 小鼠的 Hepa1-6 HCC 细胞系构建改良一种瘤块原位移植方法优化原位 HCC 小鼠实验模型。由于 C57 小鼠自身有较强的免疫力,已成为肿瘤治疗、微环境等研究的常用小鼠^[23]。本实验采用嵌入法复制小鼠原位 HCC 模型,并与其他现有常规方法进行比较。结果显示与细胞法组对比,嵌入法组虽然在手术时间、术后复苏时间及术后小鼠状态上无明显差异,但在肿瘤的成瘤率及单瘤率上具有明显优势,极大地提高了模型复制的成功率并且不会造成肝内及肝外的非特异性种植。分析其原因在于细胞法组在注射细胞过程由于肝脏质地脆弱,很容易扎穿,

或者由于细胞与基质胶浓度配比不对而造成漏液,成瘤情况不可控,易造成多瘤形成。与挂线法组相比,嵌入法组在操作手术时间、术后小鼠状态,以及模型的单瘤率、成瘤率、腹壁肿瘤种植率等方面均具有明显优势。虽然挂线法组只是轻微穿破肝脏打结,但需将穿好肿瘤碎片的缝合线再次缝合到肝脏上,对操作人员要求高。模型复制过程中易造成缝合线上粘连癌细胞,造成癌细胞种植。挂线法组小鼠复苏后不仅状态差,恢复也较为缓慢,病死率较高,解剖发现其肝内打结部位易出现局部损伤及肠道肿胀。

因此,相对于挂线法组损伤大、死亡率高以及细胞法组瘤体生长不集中易造成肿瘤分散、种植等缺陷,嵌入法组很好地避免了此类弊端且在技术上简便易行,利于推广。但在实际操作过程中仍需注意一些细节:①Hepa1-6 HCC 细胞株是一种上皮样单层生长铁壁细胞,为提高实验目的可以体外多轮筛选细胞及体内种植来增强细胞恶性程度^[24]。②在种植裸鼠皮下肿瘤时,需要保持 HCC 细胞的活性,注射的部位为裸鼠的腋窝下为佳,且肿瘤于皮下生长时建议采用 2 周左右的肿瘤进行移植瘤块接种,否则过大的肿瘤组织内容易形成坏死影响活性。③当使用手术操作夹在小鼠肝脏划出一小口时,使用无菌棉签轻按压后基本可以止血,谨防用力。④选取提前备好的肿瘤组织碎块,放置于无菌棉签上吸干液体防止嵌入时较滑容易脱出。⑤在嵌入组织块之前,在肝内嵌入口及组织块上薄涂高浓度基质胶时要质地薄且均匀,并用无菌棉签擦拭多余嵌入口表面基质胶。⑥在缝合时,腹膜采取 7-0 可吸收缝合线,皮肤采取 5-0 不可吸收缝合线,原因是内部使用较细的针头和缝合线可以减少瘢痕形成。

综上所述,本研究在肝脏原位移植性肿瘤的种植上进行改良与创新,摸索了一套适合推广的小鼠原位 HCC 模型复制方法。该方法具有稳定高、操作简单、节约经济成本等优势,为后续的相关实验研究和在体动态监测提供了可靠的模型基础。

参 考 文 献 :

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.

- [2] YANG J D, HAINAUT P, GORES G J, et al. A global view of hepatocellular carcinoma: trends, risk, prevention and management[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16(10): 589-604.
- [3] QIU Y J, WU Z H, CHEN Y L, et al. Nano ultrasound contrast agent for synergistic chemo-photothermal therapy and enhanced immunotherapy against liver cancer and metastasis[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2023, 10(21): e2300878.
- [4] CHUPRIN J, BUETTNER H, SEEDHOM M O, et al. Humanized mouse models for immuno-oncology research[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2023, 20(3): 192-206.
- [5] GOU H, LU S, LIU L, et al. Obeticholic acid and 5 β -cholanic acid 3 exhibit anti-tumor effects on liver cancer through CXCL16/CXCR6 pathway[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1095915.
- [6] KIM D, LEE J H, MOON H, et al. Development and evaluation of an ultrasound-triggered microbubble combined transarterial chemoembolization (TACE) formulation on rabbit VX2 liver cancer model[J]. *Theranostics*, 2021, 11(1): 79-92.
- [7] LI X, RAMADORI P, PFISTER D, et al. The immunological and metabolic landscape in primary and metastatic liver cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(9): 541-557.
- [8] LI X G, YAO W B, YUAN Y, et al. Targeting of tumour-infiltrating macrophages via CCL2/CCR2 signalling as a therapeutic strategy against hepatocellular carcinoma[J]. *Gut*, 2017, 66(1): 157-167.
- [9] CHEN Y K, LIU Y J, CHEN S M, et al. Liver organoids: a promising three-dimensional model for insights and innovations in tumor progression and precision medicine of liver cancer[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1180184.
- [10] GU C Y, LEE T K W. Preclinical mouse models of hepatocellular carcinoma: an overview and update[J]. *Exp Cell Res*, 2022, 412(2): 113042.
- [11] RAO Q, YOU A B, GUO Z L, et al. Intrahepatic tissue implantation represents a favorable approach for establishing orthotopic transplantation hepatocellular carcinoma mouse models[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0148263.
- [12] POTTER R A, GRIFFIN D A, HELLER K N, et al. Dose-Escalation study of systemically delivered rAAVrh74. MHCK7. micro-dystrophin in the mdx mouse model of Duchenne muscular dystrophy[J]. *Hum Gene Ther*, 2021, 32(7/8): 375-389.
- [13] WINKLER A, SUN W Y, DE S, et al. The interleukin-1 receptor-associated kinase 4 inhibitor PF-06650833 blocks inflammation in preclinical models of rheumatic disease and in humans enrolled in a randomized clinical trial[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2021, 73(12): 2206-2218.
- [14] AYALON G, LEE S H, ADOLFSSON O, et al. Antibody semorinemab reduces tau pathology in a transgenic mouse model and engages tau in patients with Alzheimer's disease[J]. *Sci Transl Med*, 2021, 13(593): eabb2639.
- [15] ROBINSON N B, KRIEGER K, KHAN F M, et al. The current state of animal models in research: a review[J]. *Int J Surg*, 2019, 72: 9-13.
- [16] STRIBBLING S M, RYAN A J. The cell-line-derived subcutaneous tumor model in preclinical cancer research[J]. *Nat Protoc*, 2022, 17(9): 2108-2128.
- [17] ABDOLAH S, GHAZVINIAN Z, MUHAMMADNEJAD S, et al. Patient-derived xenograft (PDX) models, applications and challenges in cancer research[J]. *J Transl Med*, 2022, 20(1): 206.
- [18] KIM H Y, MIN H K, SONG H W, et al. Delivery of human natural killer cell-derived exosomes for liver cancer therapy: an in vivo study in subcutaneous and orthotopic animal models[J]. *Drug Deliv*, 2022, 29(1): 2897-2911.
- [19] JI Y X, LIU S, ZHANG J, et al. Construction of HPQ-based activatable fluorescent probe for peroxynitrite and its application in ferroptosis and mice model of LPS-induced inflammation[J]. *Bioorg Chem*, 2023, 138: 106650.
- [20] WU L, YAN J Y, BAI Y Q, et al. An invasive zone in human liver cancer identified by stereo-seq promotes hepatocyte-tumor cell crosstalk, local immunosuppression and tumor progression[J]. *Cell Res*, 2023, 33(8): 585-603.
- [21] LUO W, HOANG H, LIAO Y L, et al. A humanized orthotopic mouse model for preclinical evaluation of immunotherapy in Ewing sarcoma[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1277987.
- [22] HUANG P J, CHIU C C, HSIAO M H, et al. Potential of antiviral drug oseltamivir for the treatment of liver cancer[J]. *Int J Oncol*, 2021, 59(6): 109.
- [23] ZANDBERG D P, MENK A V, VELEZ M, et al. Tumor hypoxia is associated with resistance to PD-1 blockade in squamous cell carcinoma of the head and neck[J]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(5): e002088.
- [24] 徐夕冶, 柳迪, 唐丽. 同一起来源不同恶性程度的Hepa1-6肿瘤细胞恶性相关基因表达、增殖能力及肿瘤微环境免疫细胞表型变化比较[J]. *精准医学杂志*, 2022, 37(3): 228-233.

(李科 编辑)

本文引用格式: 应卓鹏, 方贾翔, 杨小红, 等. 无需缝合外科嵌入式小鼠原位肝癌肿瘤模型的复制及应用价值[J]. *中国现代医学杂志*, 2024, 34(16): 26-32.

Cite this article as: YING Z P, FANG J X, YANG X H, et al. Establishment and application value of mouse model of hepatocellular carcinoma via sutureless surgical orthotopic implantation[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2024, 34(16): 26-32.