

• 技术与方法 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.10.032

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20201229.1745.029.html\(2020-12-30\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20201229.1745.029.html(2020-12-30))

C57BL6 近交系小鼠前列腺癌原位移植瘤模型建立及比较^{*}

张 政¹, 张 欣², 付启航³, 岳 悦⁴, 王雷雷⁴, 陈 辉⁴, 徐阳阳^{4△}

(1. 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院放疗科, 哈尔滨 150000; 2. 哈尔滨理工大学化学与环境工程学院, 哈尔滨 150000; 3. 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院医学影像专业, 哈尔滨 150000; 4. 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院泌尿外科, 哈尔滨 150000)

[摘要] **目的** 探讨瘤丝注射法建立 C57BL6 前列腺癌原位移植瘤模型的应用价值, 并与传统的前列腺原位癌成瘤方法进行比较。**方法** 取 36 只 7 周龄(18~20 g)雄性 C57BL6 近交系小鼠, 将其分成 A、B、C 3 组, 每组 12 只, A 组为瘤丝注射组、B 组为细胞注射组、C 组为肿块移植组。观察每组小鼠的成瘤情况、转移情况、周围组织浸润情况、小鼠生存期、操作难易程度等指标。**结果** A、B、C 3 组小鼠成瘤率分别为 100%、91.67%、91.67%, 3 组小鼠成瘤率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。A、B、C 组小鼠肺转移率分别为 83.33%、25.00%、33.33%, 肝转移率分别为 75.00%、25.00%、25.00%, A 组小鼠的肺、肝转移率明显高于 B、C 组($P<0.05$); B、C 组小鼠的肺、肝转移率比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。3 组小鼠均出现广泛的腹腔浸润。A、B、C 组小鼠的生存时间分别为(17.33±2.19)、(14.7±2.39)、(13.58±2.43)d, A 组小鼠的生存时间明显长于 B、C 组($P<0.05$); B、C 组小鼠的生存时间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。A 组操作难度要求相对较低, B 组成瘤方式易导致细胞液外溢造成人为肿瘤转移, 对术者注射器持握的平稳性要求较高, C 组需对前列腺筋膜进行缝合, 要求术者具有较好的显微手术技术。**结论** 相比于传统的成瘤方法, 瘤丝注射法具有更高的成瘤率、转移率和更长的生存时间。

[关键词] 前列腺肿瘤; 移植瘤模型; C57BL6 近交系小鼠; 病理; 转移

[中图法分类号] R737.25 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)10-1765-04

Establishment and comparison of orthotopic transplantation tumor model of prostate cancer in C57BL6 inbred line mice^{*}

ZHANG Zheng¹, ZHANG Xin², FU Qihang³, YUE Yue⁴, WANG Leilei⁴, CHEN Hui⁴, XU Yangyang^{4△}

(1. Department of Radiotherapy, Affiliated Tumor Hospital, Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang 150000, China; 2. College of Chemistry and Environmental Engineering, Harbin University of Science and Technology, Harbin, Heilongjiang 150000, China; 3. Department of Imaging, Affiliated Tumor Hospital, Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang 150000, China; 4. Department of Urological Surgery, Affiliated Tumor Hospital, Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang 150000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the application value of C57BL6 orthotopic tumor model of prostate cancer established by using the fibroblast injection method and to compare it with the traditional orthotopic tumor formation method of prostate cancer. **Methods** Thirty-six 7-week-old (18—20 g) male C57BL6 inbred mice were randomly divided into the group A, B and C, 12 cases in each group. The group A was the fibroblast injection, the group B was the cell injection and the group C was the tumor transplantation. The tumorigenesis, metastasis, infiltration of surrounding tissues, survival time and operation difficulty were observed in the mice of each group. **Results** The tumorigenicity rates of the group A, B and C were 100%, 91.67% and 91.67% respectively. The lung metastasis rates of the group A, B and C were 83.33%, 25.00% and 33.33%, and the liver metastasis rates were 75.00%, 25.00% and 25.00% respectively. The lung and liver metastasis rates in the group A were significantly higher than those in the group B and C ($P<0.05$); the lung and liver metastasis rates had no statistical difference between the group B and C ($P>0.05$). The three groups appeared the extensive abdominal infiltration. The survival time of the three groups was (17.33±2.19)d,

^{*} 基金项目: 黑龙江省自然科学基金面上项目(H2017046)。 作者简介: 张政(1994—), 住院医师, 在读硕士研究生, 主要从事肿瘤方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail: dr_xuyangyang@outlook.com。

(14.7 ± 2.39)d and (13.58 ± 2.43)d respectively, and the survival time of the group A was significantly longer than that of the group B and C ($P < 0.05$). The survival time had no statistical difference between the group B and C ($P > 0.05$). The operation difficulty requirement in the group A was relatively low, the tumor formation mode in the group B was easy to lead to the overflow of cell fluid and cause the artificial tumor metastasis, which required the high smoothness for the operator holding the syringe. The group C needed to suture the prostate fascia, which required the operator to have good microsurgical technique. **Conclusion** Compared with the traditional tumor formation method, the fibroblast injection method has the higher tumor formation rate, metastasis rate and longer survival time.

[Key words] prostatic neoplasms; transplanted tumor model; C57BL6 inbred mice; pathology; metastasis

近年来,前列腺癌的发病率在全球呈逐年升高的趋势,已是男性泌尿生殖系统最常见的恶性肿瘤之一^[1]。目前,人们虽然对前列腺癌的治疗研究较多,但大多停留在皮下移植瘤模型的层面上,因其在生理结构和疾病发生、发展的过程上都不符合前列腺癌的一般规律,所以模拟效果并不太理想。RM-1 前列腺癌原位移植瘤方面,目前主要有两种移植方式^[2-3],因其生存期短、操作难度较高且对正常组织损伤较大,所以导致模拟结果多具有局限性。本研究通过长期摸索,发现一种新的更适合于实验研究的成瘤方式。本文旨在对此方法进行介绍,并与其他两种原位成瘤方式进行比对分析,以探讨其实际应用模拟价值。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

选择 C57BL6 雄性近交系 7 周龄(18~20 g)小鼠 38 只,均购自哈尔滨医科大学附属第二医院动物实验中心,饲养环境恒温、恒湿、清洁、无特殊病原体,允许小动物自由摄取食物和饮水。

1.1.2 前列腺癌细胞株

小鼠前列腺癌细胞株系即 RM-1 细胞株购自中国医学科学院上海细胞库,生长于 RPMI1640 完全培养液中,在 5%CO₂, 37 °C 环境中常规培养。

1.2 方法

1.2.1 实验分组

取 2 只小鼠进行皮下成瘤,用于原位的肿瘤移植。将余下的 36 只小鼠随机分成 3 组,每组 12 只。A 组为瘤丝注射组、B 组为细胞注射组、C 组为肿块移植组。

1.2.2 荷瘤小鼠模型的建立

1.2.2.1 皮下荷瘤鼠的建立

取 2 只 C57BL6 近交系小鼠,剪去小鼠背部毛发,用医用乙醇清洁小鼠背部,接种制备细胞浓度为 2×10^7 个/mL 的 RM-1 前列腺癌细胞,并将其接种于小鼠背部皮下。每只接种 100 μ L。定期查看肿瘤生长状况。用于瘤丝注射组和肿块移植组的肿瘤均取自上述鼠背皮下肿瘤。

1.2.2.2 A 组模型的建立

用于移植的瘤丝来源于上述荷瘤鼠。取 1 mL 注射器并抽吸 10 μ L 生理盐水。将取出的瘤块置于低温、无菌的 0.9%生理盐水中,用 1 mL 注射器针头轻

轻划拨肿瘤外周,将划下来的肿瘤丝置于微量注射器尖端,轻轻回抽注射器,以肿瘤丝刚好堵住微量注射器尖端为宜。取出上述 C57BL6 小鼠 12 只,用镊子沾水后,轻轻剔去腹部毛发,用医用乙醇对小鼠腹部进行消毒。用 10%水合氯醛麻醉小鼠,仰卧位,取下腹部正中切口长 1.5~2.0 cm,显露腹腔。轻轻提拉膀胱,暴露前列腺,将顶有肿瘤丝的针头插入前列腺包膜下,此时注射生理盐水,将肿瘤丝推入前列腺内,缓慢拔出针头。恢复器官位置,用 6-0 单针缝合线分别连续缝合腹肌和皮肤,用聚维酮碘再次对伤口进行消毒处理。待小鼠苏醒后放回笼中。

1.2.2.3 B 组模型的建立

取对数生长期 RM-1 前列腺癌细胞,配成浓度为 2×10^7 个/mL 溶液。取出上述 C57BL6 小鼠 12 只,用镊子沾水后,轻轻剔去腹部毛发,用医用乙醇对小鼠腹部进行消毒。从小鼠右下腹缓慢注射 10%水合氯醛麻醉小鼠,待小鼠麻醉后,取仰卧位,沿腹部正中距离外生殖器约 0.5 cm 处做 1.5~2.0 cm 手术切口,显露腹腔。找出膀胱所在位置,用镊子轻轻提拉膀胱,推开膀胱底部周围组织,显露前列腺,1.5 mm×2.0 mm×2.0 mm 大小,分为左右两叶,有明显的腺体组织特征,用微量注射器向右侧前列腺包膜下注射 RM-1 细胞悬液 10 μ L,以包膜和腺体分离,肉眼可见轻微鼓起为标准^[2]。恢复器官位置,其余同 1.2.2.2。

1.2.2.4 C 组模型的建立

取出皮下荷瘤鼠的瘤块,切成直径 1 mm 的肿瘤块。用上述建立细胞注射原位瘤模型的方法找出前列腺,用尖刀分离两腹侧叶,将肿瘤块置于两腹侧叶间形成的缝隙中用 8-0 单线缝合针将肿块与前列腺缝合在一起,轻轻关闭并缝合被摸^[3]。恢复器官位置,其余同 1.2.2.2。

1.2.3 实验观察

以小鼠出现严重恶病质,濒死状态为实验结束的终点,此时安乐处死小鼠。观察小鼠成瘤情况,取出肺、肠、肝、脾、肾、胃进行甲醛固定,石蜡包埋,切片,苏木精-伊红(HE)染色后光镜下观察是否有转移灶。

1.3 统计学处理

应用 SPSS17.0 统计软件进行数据处理。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 精确

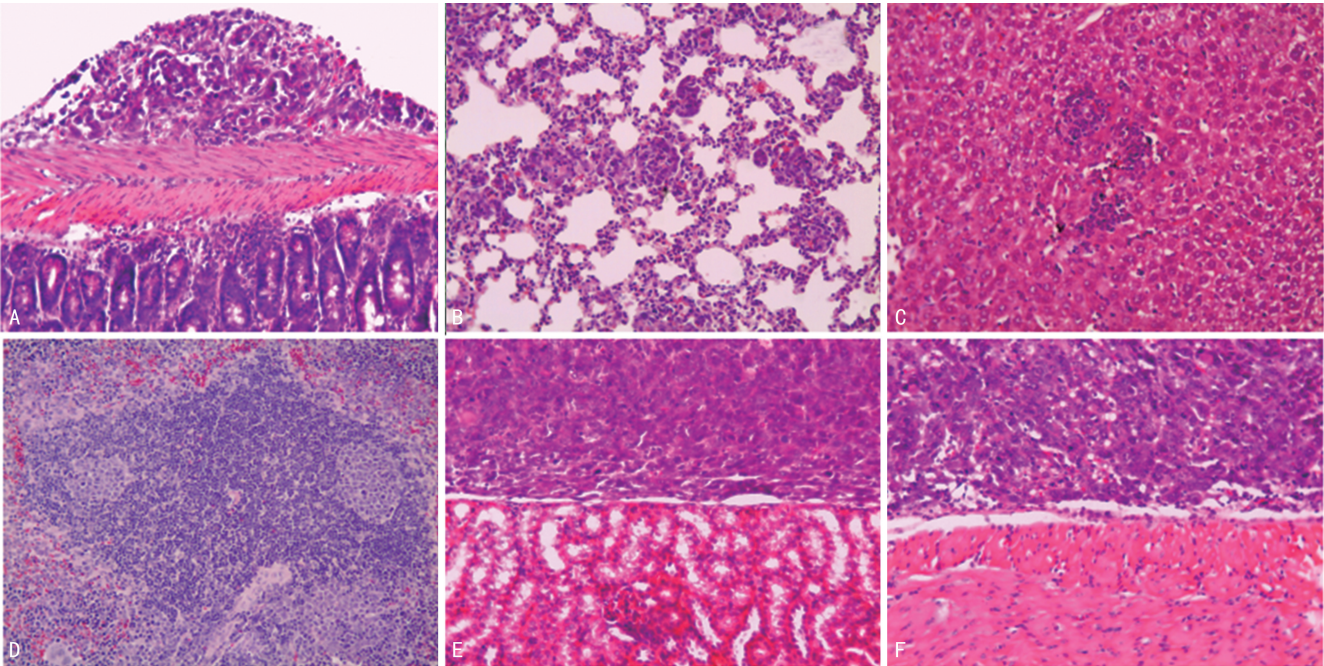
检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组小鼠成瘤及转移情况比较

A、B、C 组小鼠成瘤率分别为 100%、91.67%、91.67%。处死小鼠,解剖打开腹腔,可观察到肿瘤呈块状,3 组小鼠均有大量且广泛的腹腔组织浸润,膀胱、腹膜均肉眼可见肿瘤侵犯,腹膜后及盆腔淋巴结均已和肿瘤融合成块,无法分离,满腹血性液体。且

重要的器官如肺、肠、肝、脾、肾、胃均有转移(图 1),其中,A、B、C 组小鼠肺转移率分别为 83.33%、25.00%、33.33%,肝转移率分别为 75.00%、25.00%、25.00%,A 组小鼠的肺、肝转移率明显高于 B、C 组($P<0.05$),B、C 组小鼠的肺、肝转移率比较差异无统计学意义($P>0.05$);3 组小鼠的建模成功率和肠、脾、肾、胃器官转移率比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 1。



A:肠;B:肺;C:肝;D:脾;E:肾;F:胃。

图 1 光镜下观察各器官转移情况(HE 染色,×400)

表 1 3 组小鼠建模成瘤及转移情况比较[n(%),n=12]			
项目	A 组	B 组	C 组
建模成功	12(100.00)	11(91.67)	11(91.67)
肠转移	8(66.67)	3(25.00)	4(33.33)
肺转移	10(83.33)	3(25.00) ^a	4(33.33) ^a
肝转移	9(75.00)	3(25.00) ^a	3(25.00) ^a
脾转移	7(58.33)	3(25.00)	4(33.33)
肾转移	6(50.00)	4(33.33)	4(33.33)
胃转移	7(58.33)	4(33.33)	3(25.00)

^a: $P<0.05$,与 A 组比较。

2.2 3 组小鼠生存时间比较

A、B、C 组小鼠生存时间分别为(17.33±2.19)、(14.7±2.39)、(13.58±2.43)d,A 组小鼠生存时间明显长于 B、C 组($P<0.05$);B、C 组小鼠生存时间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.3 3 组小鼠成瘤方式操作难度比较

A 组要求相对较低。B 组成瘤方式易导致细胞液外溢造成人为肿瘤转移,对术者注射器持握的平稳性要求较高,C 组需对前列腺筋膜进行缝合,此操作不仅要求术者具有较好的显微手术技术,且对小鼠机

体有一定的损伤,破坏了原有前列腺生理结构。

3 讨 论

长期以来人们对前列腺癌模型的建立多停留在皮下水平,皮下成瘤具有便于观察、实验简便的特点,但不能真实模拟前列腺癌转移情况^[4]。有文献表明,在超声低回声反射阳性时,即临床检测怀疑为前列腺癌的时候,41.5%的患者已有转移^[5]。盆腔淋巴结和肺部转移是晚期前列腺癌患者常见症状,也是晚期前列腺癌治疗的重点和难点。临床中前列腺癌患者的主要治疗方法为雄激素剥夺治疗(ADT),但效果不甚理想,绝大多数患者都会从激素敏感性前列腺癌(HSPC)发展成为转移性激素抵抗性前列腺癌(mCRPC)^[6-7]。有效地建立晚期转移性前列腺癌小鼠模型,具有非常高的临床价值和社会意义^[8]。目前临床中常用 CT 作为判断前列腺癌腹腔淋巴结转移的方式,CT 可通过观察淋巴结大小判断有无淋巴结转移。但 CT 的分辨率较低,小于 1 cm 的淋巴结难以观察^[9]。有研究表明,前列腺癌在发生周围组织粘连和侵犯外周器官之前,已有 41%的患者发生淋巴结转移^[10]。因小鼠的淋巴结较小,且晚期前列腺癌小鼠腹腔肿瘤浸润性的转移粘连,加之满腹血性腹水使得晚期腹腔淋巴结转移情况难以观察。对于此本研究认

为,淋巴结转移观察的时间窗应控制在腹腔广泛转移之前,以减少晚期广泛粘连对观察带来的干扰。

传统的前列腺原位移植瘤模型建立通常以细胞注射或瘤块移植的方式进行。通过传统方式建立小鼠前列腺原位癌模型,虽有很好的成瘤率,但器官转移率相对较低。不能很好地模拟临床中晚期前列腺癌多发转移的情况。而在动物实验中,药物实验往往需要一定的观察时间窗^[11-12]。传统成瘤方式生存时间短,在药物疗效实验观察中有一定的劣势,有可能药物尚未发挥作用小鼠便已经死亡,其短暂的生存期限制了药物方面的观察研究^[13-14]。为此,如何在保持良好成瘤率的前提下,提高肿瘤的转移率和增加小鼠的存活时间,是当下动物模型构建领域需要解决的问题。本实验通过瘤丝注射的方式进行原位瘤移植,观察发现通过瘤丝注射方式进行前列腺癌原位移植可提供较好的成瘤率和器官转移效果。在生存时间上,瘤丝注射也较传统成瘤方式明显延长。

在模型制作难度方面,因小鼠的前列腺癌非常小,只有约 1.5 mm×2.0 mm×2.0 mm 大小,传统制作方法对术者精准度要求均较高。使用细胞注射法成瘤,在细胞注射时,稍有不慎,极易使注射液外溢,而注射液为无色肿瘤细胞液,少量溢出时肉眼难以观察。有文献表明,注入肿瘤细胞后 3 周内,有 70% 的移植瘤模型会出现针道转移,从而造成人为播散^[15],所以,此方法增加了人为腹腔转移的风险。手术时需要术者小心谨慎,认真观察,对注射器持握的平稳性要求较高,是一项难度较高的精准细致的操作。肿块移植成瘤时,因肿块肉眼可见,所以一定程度上可以降低肿瘤人为转移的风险。但因前列腺较小,此操作亦需要全神贯注,小心谨慎,当肿块放入两腹侧叶间的缝隙后,应小心将筋膜复位,筋膜为一薄层结缔组织,缝合需格外小心以确保瘤块被筋膜严密包裹,这需要术者有较好的外科操作技术,且因需对筋膜进行切开再缝合,一定程度上破坏了前列腺原有的组织结构,对小鼠产生了较大的伤害。因此,如何在不改变小鼠解剖结构的前提下,降低模型制作难度,提升成瘤方法的实用性,是当下需要解决的问题。而本实验所采用的瘤丝注射法,只需将 1 mL 注射器针头插入筋膜下,然后注射 10 μL 生理盐水,此番操作既不会造成细胞液渗漏导致人为种植转移,也无需对筋膜进行切开再缝合,不仅降低了操作难度而且减少了人为种植转移和对小鼠的伤害。

本研究通过新的 C57BL6 小鼠原位前列腺癌成瘤方法——瘤丝注射法,并于传统的两种 C57BL6 小鼠 RM-1 前列腺癌原位移植瘤模型进行比对,主要从成瘤率、血道转移、生存期及操作难度方面进行剖析,客观的比较了三种成瘤方式的实验应用价值。总之,瘤丝注射法不仅均具有很好的成瘤率,且对组织损伤小,血道转移率高,易于操作及普及。其成瘤方式更适合于模拟晚期前列腺癌患者多发转移的研究,且其生存时间窗相对较长,可以对药物的治疗效果进行更

好的评价,具有更高的临床模拟价值。

参考文献

- [1] MECHAHOUGUI H, ACHARD V, FRIEDLAENDER A, et al. Metastatic hormone-sensitive prostate cancer; more than just androgen-deprivation therapy[J]. *Rev Med Suisse*, 2020, 16(695): 1098-1101.
- [2] CHULPANNOVA D S, KITAEVA K V, RUTLAND C S, et al. Mouse Tumor Models for Advanced Cancer Immunotherapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(11): 4188-4203.
- [3] 郭宝锋, 张灵, 赵丽娟, 等. C57BL6 近交系小鼠前列腺癌原位移植瘤模型的建立[J]. *中国男科学杂志*, 2007, 21(5): 5-8.
- [4] GARAI I, NAGY G, BÁTNYI F, et al. Theranostics in prostate cancer[J]. *Magy Onkol*, 2020, 64(2): 133-137.
- [5] HE L, FANG H, CHEN C, et al. Metastatic castration-resistant prostate cancer; academic insights and perspectives through bibliometric analysis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(15): e19760.
- [6] KAIKKONEN E, ETTALA O, NIKULAINEN I, et al. ANO7 rs77559646 is associated with first-line docetaxel treatment response in metastatic castration-resistant prostate cancer[J]. *Anticancer Res*, 2019, 39(10): 5353-5359.
- [7] CAROLINA D E, MIAN C, HANSPETER E, et al. Efficacy and safety of two fosfomycin regimens as antimicrobial prophylaxis for transrectal prostate biopsy: a randomised study[J]. *Urol Int*, 2019, 103(4): 433-438.
- [8] ADASHEK J J, JAIN R K, ZHANG J, et al. Clinical development of PARP inhibitors in treating metastatic castration-resistant prostate cancer[J]. *Cells*, 2019, 8(8): 860-872.
- [9] OYELOWO O, OKAFOR C, AJIBARE A, et al. Fatty acids in some cooking oils as agents of hormonal manipulation in a rat model of benign prostate cancer[J]. *Niger J Physiol Sci*, 2019, 34(1): 69-75.
- [10] HARISINGHANI M G, BARENTSZ J, HAHN P F, et al. Noninvasive detection of clinically occult lymph-node metastases in prostate cancer[J]. *N Engl J Med*, 2003, 348(25): 2491-2499.
- [11] 曹海营, 金宇, 冯震, 等. 改良穿刺法改善针道肿瘤细胞转移情况的研究[J]. *中国临床研究*, 2016, 29(1): 40-42.
- [12] THACKRAY L B, HANDLEY(下转第 1772 页)

血压、糖尿病、血脂异常,控制血压的健康管理,降低个体发病的风险。同时,应进一步完善胸痛中心及其网络建设,提升以县域为中心的 AMI 救治水平,完善转诊机制,以降低 AMI 的病死率。

参考文献

- [1] 国家卫生健康委员会规划发展与信息化司. 健康中国行动(2019—2030 年)[DB/OL]. (2019-07-15) [2020-03-09]. <http://www.nhc.gov.cn/guihuaxxs/s3585u/201907/e9275fb95d5b4295be8308415d4cd1b2.shtml>.
- [2] 陈伟伟,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2017》概要[J]. 中国循环杂志,2018,33(1):1-8.
- [3] 王德征,沈成凤,张颖,等.天津市 15 年急性心肌梗死发病率变化趋势分析[J]. 中华心血管病杂志,2017,45(2):154-159.
- [4] 刘晓婷,李镒冲,姜勇,等.2010 年我国急性心肌梗死疾病负担分析[J]. 中国慢性病预防与控制,2013,21(3):271-273.
- [5] 丁贤彬,焦艳,毛德强,等.2016 年重庆市心肌梗死早死概率及疾病负担分析[J]. 中华预防医学杂志,2018,52(10):1059-1061.
- [6] 丁贤彬,曾永胜,毛德强,等.2017 年重庆市心肌梗死发病死亡特征分析[J]. 现代预防医学,2019,46(17):3256-3259.
- [7] 张干深,宇传华,罗丽莎,等.1990—2015 年中国缺血性心脏病疾病负担趋势分析[J]. 中华预防医学杂志,2017,51(10):915-921.
- [8] 丁贤彬,毛德强,焦艳,等.2011—2016 年重庆市居民跌倒死亡疾病负担分析[J]. 重庆医学,2019,48(14):2447-2450.
- [9] 王越,赵丹,徐珊,等.2013—2016 年深圳市南山区急性心肌梗死发生的流行特征[J]. 现代预防医学,2018,45(7):1319-1322.
- [10] 胡盛寿,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2018》概要[J]. 中国循环杂志,2019,34(3):209-220.
- [11] QI L,DING X B,TANG W G,et al. Prevalence and risk factors associated with dyslipidemia in Chongqing,China[J]. Int J Environ Res Public Health,2015,12(10):13455-13465.
- [12] 丁贤彬. 重庆市居民身体活动水平与慢性病的相关关系研究[J]. 现代预防医学,2016,43(16):2992-2996.
- [13] 代佳男,陈小丹,何苗,等.2017 年重庆市 15 岁及以上成人烟草流行现状调查研究[J]. 中国健康教育,2019,35(5):387-391.
- [14] 丁贤彬,毛德强,沈卓之,等.重庆市城市与农村居民慢性病相关行为与生活方式比较[J]. 中国慢性病预防与控制,2015,23(7):512-515.
- [15] 向新志,丁贤彬. 重庆市慢性病监测居民糖尿病患病率、知晓率、管理率与治疗率分析[J]. 公共卫生与预防医学,2016,27(3):56-60.
- [16] 丁贤彬,毛德强,沈卓之,等.重庆市高血压患病率、知晓率、管理率与治疗率现状分析[J]. 现代预防医学,2016,43(6):1068-1071.
- [17] CHOBANIAN A V,BAKRIS G L,BLACK H R,et al. The seventh report of the joint national committee on prevention,detection,evaluation, and treatment of high blood pressure:the JNC 7 report[J]. JAMA,2003,289(19):2560-2572.
- [18] 俞奇,王斌,王焱,等.我国 2002-2016 年间急性心肌梗死死亡趋势分析[J]. 中华疾病控制杂志,2019,23(1):5-9,28.
- [19] 张琼花,陈敏,林艺兰. 厦门市城乡居民急性心肌梗死死亡的比较研究[J]. 社区医学杂志,2016,14(12):1-3.
- [20] 王德征,张辉,徐忠良,等.天津市 1999 至 2015 年急性心肌梗死死亡率变化趋势分析[J]. 中华心血管病杂志,2017,45(11):985-991.
- [21] 罗素新,袁霄,夏勇. 从胸痛中心建设看非 PCI 医院在构建 ACS 区域协同救治体系中的作用[J]. 西部医学,2017,29(3):297-300.

(收稿日期:2020-05-26 修回日期:2021-01-15)

(上接第 1768 页)

- S A,GORMAN M J,et al. Oral antibiotic treatment of mice exacerbates the disease severity of multiple flavivirus infections[J]. Cell Reports,2018,22(13):3440-3453.
- [13] MATTEI A,DANUSER H. Contemporary imaging analyses of pelvic lymph nodes in the prostate cancer patient[J]. Curr Opin Urol,2011,21(3):211-218.
- [14] 毛晶磊,熊鑫,宫浩. 姜黄素对前列腺癌荷瘤小鼠肿瘤生长及免疫功能的影响[J]. 中华男科学杂志,2019,25(7):590-594.
- [15] 计国义,张灵,赵薇,等. 超声引导下前列腺 6 点活检诊断早期前列腺癌[J]. 中国男科学杂志,2005,19(4):22-24.

(收稿日期:2020-06-02 修回日期:2020-12-27)