

## • 实验研究 Experiment research •

## CT 引导建立兔肺 VX2 肿瘤模型的实验研究

李欣, 张宏, 盛林, 任贺, 鲁通, 王阳, 韩治宇, 董宝玮

【摘要】目的 建立适合微波消融的兔肺肿瘤模型。方法 新西兰大白兔 36 只, CT 引导下穿刺, 将载有 VX2 肿瘤组织悬液的亲水凝胶接种于右肺内。结果 接种后 14 ~ 26 d, CT 检查证实 34 只新西兰大白兔肺内有肿瘤生长, 其中 26 只呈单发结节, 直径 0.5 ~ 0.8 cm, 兔肺 VX2 肿瘤模型成功率为 72.2% (26/36); 另有 2 只肺内呈多发结节生长, 并出现胸腔积液; 4 只累及纵隔; 2 只出现胸壁种植转移。接种过程未出现气胸、出血等并发症。结论 本实验建模方法安全、有效, 并可在肺内局部形成较大体积的实体瘤, 能满足微波消融治疗肺癌的研究需要, 因此所建兔肺 VX2 肿瘤模型是成功的。

【关键词】亲水凝胶; 动物模型; 肺肿瘤; CT

中图分类号: R73-36 文献标志码: B 文章编号: 1008-794X(2009)-02-0141-03

CT-guided establishment of rabbit lung VX2 tumor model LI Xin, ZHANG Hong, SHENG Lin, REN He, LU Tong, WANG Yang, HANG Zhi-yu, DONG Bao-wei. Department of Ultrasound, Chinese Armed Police Force General Hospital, Beijing 100039, China

【Abstract】Objective To establish rabbit lung tumor model suitable for microwave ablation. Method Under CT guidance, 36 New Zealand white rabbits were implanted with hydrogel containing VX2 tissue suspension to the right lung. Results Fourteen to twenty-six days after implantation, tumors were found in 34 rabbits by CT scan. Twenty-six of them had single nodule in right lung, with a diameter from 0.5 cm to 0.8 cm. The achievement rate of model establishment was 72.2% (26/36). Multi-nodules occurred in 2 rabbits associated with pleural effusion. Mediastinum was involved in 4 rabbits and thoracic wall implantations were found in 2 rabbits. No complication of pneumothorax and bleeding occurred during the procedure. Conclusion The rabbit lung VX2 tumor models are established successfully with enough tumor volume for the study of the microwave ablation; and furthermore the method is safe and feasible. (J Intervent Radiol, 2009, 18: 141-143)

【Key words】Hydrogel; Animal model; Lung tumor; CT

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一, 在癌症的死亡原因中占第一位, 开展治疗肺癌的研究对改善患者预后具有重要意义。肺肿瘤模型的建立则是实验研究的前提条件。本实验将载有 VX2 肿瘤组织悬液的亲水凝胶接种于肺组织, 建立一种能局部形成一定体积的肺肿瘤动物模型, 为探讨微波消融治疗肺肿瘤的有效性和安全性奠定实验基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 实验动物 新西兰大白兔 36 只, 雌雄不限,

体重 2.5 ~ 3.0 kg, 4 ~ 6 月龄。由解放军总医院实验动物中心提供。

1.1.2 实验试剂 ①VX2 瘤株: 解放军总医院骨科研究中心提供; ②1640 细胞培养液: 500 ml, GIBCO-TMInvitrogen 公司; ③速眠新 II 注射液: 军事医学科学院军事兽医研究所生产; ④亲水凝胶: 卡波姆(carbomer)+明胶+羟丙基甲基纤维素;

### 1.2 实验方法

1.2.1 制备细胞悬液 将冻存的 VX2 瘤株组织按一般细胞培养技术复苏<sup>[1]</sup>, 复苏后离心 5 min (800 g), 弃上清液, 加入适量 PBS 液摇匀, 制成细胞悬液备用。

1.2.2 制作荷瘤种兔 取 VX2 细胞悬液 1 ml 接种于肿瘤传代兔的后腿外侧肌肉内, 2 ~ 3 周后接种部位可扪及直径 1.0 ~ 2.0 cm 的实质性包块, 荷瘤

作者单位: 100039 北京武警总医院超声科(李欣、张宏); 清华大学第二附属医院超声科(盛林); 解放军总医院超声科(任贺、鲁通、王阳、韩治宇、董宝玮)

通信作者: 董宝玮

兔制备成功。

**1.2.3 制备 VX2 肿瘤组织悬液** 无菌条件下取出荷瘤兔后腿外侧肿瘤组织块,剔除坏死组织、肌肉、肌腱及血管,取肿瘤包块边缘生长旺盛的鱼肉样组织,用眼科剪将肿瘤组织剪成小于  $1\text{ mm} \times 1\text{ mm} \times 1\text{ mm}$  的组织块,加胰酶消化后,4 层纱布滤过,离心  $10\text{ min}$  ( $1\ 000\text{ g}$ ),弃上清液,回收沉淀,放入 1640 培养液中保存待用。

**1.2.4 制备载有肿瘤组织的亲水凝胶** 将亲水凝胶水浴加热至  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,使其熔化成液态,置于室温条件下自然冷却至  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  时与肿瘤组织悬液充分混合后,再冷却至胶冻状,装入平头针芯推入 18 G 引导针内备用,约  $2\text{ ml/针}$ 。

**1.2.5 建立兔肺 VX2 肿瘤模型** 所有动物进行称重后,根据实验动物体重,使用速眠新 II 注射液按  $0.3\text{ ml/kg}$  予以肌内注射进行全身麻醉。

麻醉生效后将兔固定于手术台,行 CT 扫描,确定穿刺部位及深度。右前胸壁备皮,常规消毒。将 18 G 引导针刺入兔右肺预定部位,用平头针芯将载有肿瘤组织悬液的亲水凝胶推入到预定部位。确定接种成功后迅速拔针,无菌纱布压迫穿刺区约  $20\text{ s}$ ,接种手术完毕。

**1.2.6 术后处理** 接种后即刻行 CT 扫查。待兔清醒后送回动物房观察。术后常规肌内注射青霉素  $20\text{ 万 u/d} \times 3\text{ d}$ ,以预防肺部感染。

**1.2.7 模型成功的判定标准** CT 扫描肺内见单发结节影,直径  $> 0.5\text{ cm}$ ,同时无肿瘤转移征象时判定肿瘤模型制作成功(图 1a)。

### 1.3 观察指标

**1.3.1 肿瘤生长情况** 于实验动物接种后第 14 天起,每 3 天进行 CT 扫描,以观察肿瘤的生长变化及

转移情况。

**1.3.2 病理检查** 选取 2 只 CT 扫描示肺内形成单发肿瘤的实验动物处死,完整取出右肺组织,测量肿瘤直径。取肺新生肿瘤组织,用 4% 甲醛溶液固定 48 h 以上,石蜡包埋,连续  $5\text{ }\mu\text{m}$  切片,HE 染色,光学显微镜观察。

**1.3.3 并发症** 接种后即刻行 CT 扫查,观察有无气胸、出血等并发症。

## 2 结果

### 2.1 移植成瘤率及模型成功率

接种后  $14 \sim 26\text{ d}$ ,34 只兔肺内有肿瘤生长,移植成功率为  $94.4\%$  ( $34/36$ )。其中 2 只兔肺内呈多发结节生长,并出现胸腔积液;4 只兔种植位置过深,肿瘤生长累及纵隔;2 只兔出现胸壁种植转移;兔肺 VX2 肿瘤模型成功率为  $72.2\%$  ( $26/36$ )。

### 2.2 VX2 肿瘤的 CT 表现

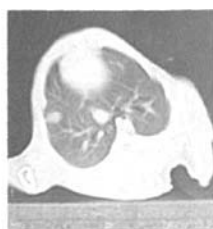
在肺窗和纵隔窗条件下,均可见肺内出现结节影,即可确定有 VX2 肿瘤生长。2~3 周肿瘤呈类球形,边缘出现毛刺,可有分叶。

### 2.3 病理检查

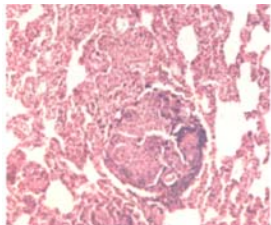
**2.3.1 大体检查** 肿瘤在肺内呈白色结节状,质地较硬,无包膜,直径  $4.7 \sim 7.8\text{ mm}$ 。

**2.3.2 光镜检查** 低倍镜下肿瘤细胞排列紧密呈实体巢状,向周围肺组织浸润性生长,肺泡、肺间质及细小支气管周围可见大量肿瘤细胞浸润。较大的肿瘤结节中心可见不同程度的组织变性坏死。高倍镜下肿瘤细胞异型性明显,大小不等,形态各异;胞质丰富,淡红染色;核仁明显,其大小和形态各异,染色浓淡不均,核分裂相多见(图 1b~d)。

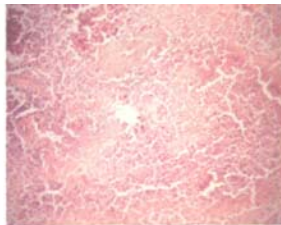
### 2.4 并发症



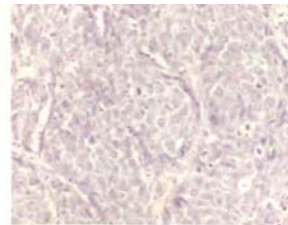
a CT 下所见肿瘤(↑)



b 低倍镜下肿瘤细胞排列紧密呈实体巢状,向周围肺组织内浸润性生长(HE,  $\times 100$ )



c 较大的肿瘤结节中心可见不同程度的组织变性坏死(HE,  $\times 100$ )



d 肿瘤细胞核仁明显,其大小和形态各异,染色浓淡不均,核分裂相多见(HE,  $\times 100$ )

图 1 肺内肿瘤形成(2 周)

术后 CT 扫查未发现气胸、出血等并发症,实验动物全部健康存活。

## 3 讨论

手术切除是治疗早期肺癌的首选方法,为患者提供更好的生存机会<sup>[2]</sup>。然而,由于肺癌起病隐匿,

确诊时多数患者已失去手术机会。影像技术引导下的微波消融治疗,既能直接有效杀灭整个肿瘤,又能尽可能小地损伤机体,具有微创、微痛、高效的特点,并已在肝癌的治疗中取得了显著效果<sup>[3,4]</sup>。欲研究微波消融在肺癌中的有效性及安全性,首先要建立适合微波消融的动物模型<sup>[5]</sup>。

理想的肿瘤动物模型要求在肿瘤的发生部位、组织学类型、病因、发病机制以及生物学活性等方面尽量与所需模型研究的人类肿瘤相接近;同时,动物模型还应具有良好的相似性、重复性、可靠性、适用性和易行性的特点。就微波消融肺癌的动物模型而言,应满足以下条件:①生命力强,可以较好地耐受热消融治疗、死亡率较低的大型动物。②肺内原位生长,更好地模拟原发肺癌的病理生理表现。③可在局部形成一定体积的肿瘤,有利于穿刺定位。

VX2 肿瘤细胞株是起源于 Shope 病毒诱发的兔乳头状瘤衍生而来的鳞状细胞癌,具有良好的可移植性,不同个体的实验兔对该瘤株均无免疫排斥性,是较为理想的大型动物模型,常用于肝肿瘤模型的制作<sup>[1,6-8]</sup>。该模型具有成功率高、周期短、模型生物学性质稳定的特点。国内外学者采用不同方式,成功建立起适用于局部热消融治疗研究的兔肺 VX2 肿瘤模型<sup>[9,10]</sup>。

兔肺 VX2 肿瘤模型的移植接种方式主要有以下 4 种:癌细胞静脉(或支气管)注射法;细胞(或组织)悬液注射法;包块埋植并闭式引流法和单纯肿瘤埋植法。然而,各种方法都存在一些缺陷。虽然癌细胞静脉(或支气管)注射法和悬液注射法操作简单、用时短,但接种后肿瘤易呈弥散性生长,这与局部肿瘤模型要求有一定的差异。前者造成这一现象的主要原因是肿瘤细胞经血道或支气管播散的不可控性;后者则与悬液外溢有关。而包块埋植并闭式引流法和单纯肿瘤埋植法则是在开胸条件下进行的,这需要较高的外科手术技巧,同时还需要解决开胸后肺组织塌陷引起呼吸衰竭、纵隔移位、术后感染等问题。

随着影像技术的发展,CT 引导下将悬液直接注入动物肺内成为可能。该方法不仅可以避免手术对实验动物造成的损伤,而且具有定位准确、操作简便的优势。然而悬液外溢成为限制使用该方法的瓶颈。为解决这一问题,本实验选用亲水凝胶为载体。作为缓控释药物载体之一的亲水凝胶,最常用于口服药物控制释放系统的研制。它具有吸水溶胀的特点,即遇到液性介质(如消化液)时,吸收液体

使自身体积增大,通过机械嵌合、静电吸引力、范德华力、氢键等作用,与胃肠道上皮细胞产生生物黏附现象,并可维持相当长时间,从而达到缓释效果;同时,亲水凝胶自身不断熔蚀,直至完全溶解,从而确保药物可全部释放<sup>[11]</sup>。本实验正是利用凝胶的理化特性,对种植方式加以改进。首先,利用凝胶为胶冻状而非液态的性状,将载有肿瘤组织悬液的亲水凝胶植入实验动物体内,可有效地避免悬液外溢导致的弥散性生长。其次,利用亲水凝胶吸水溶胀的特点,确保了植入的肿瘤组织与肺泡上皮充分接触,有利于局部肿瘤模型的形成。

本实验证实,CT 引导建立兔肺 VX2 肿瘤模型具有微创、并发症少、操作简便、用时短、模型成功率(72.2%, 26/36)高等优点,肿瘤成瘤时间的一致性和成瘤大小的均一性也较好,从而为微波消融治疗肺肿瘤奠定了实验基础。

#### [参考文献]

- [1] 陈 晟, 邓 钢, 牛焕章, 等. 兔 VX2 肝种植瘤模型制作的完善及综合影像学评价[J]. 介入放射学杂志, 2007, 16: 48 - 51.
- [2] Bilfinger TV. Surgical aspect in the treatment of lung cancer [J]. Curr Opin Pulm Med, 2004, 10: 261 - 265.
- [3] Liang P, Wang Y. Microwave ablation of hepatocellular carcinoma [J]. Oncology, 2007, 72 Suppl 1: 124 - 131.
- [4] Liang P, Dong BW, Yu X, et al. Prognostic factors for survival in patients with hepatocellular carcinoma after percutaneous microwave ablation [J]. Radiology, 2005, 235: 299 - 307.
- [5] 邱存平, 吴 红. 恶性肿瘤动物模型的建立[J]. 医学与哲学, 1999, 20: 16 - 18.
- [6] Swistel AJ, Bading JR, Raff JH. Intraarterial versus intravenous adriamycin in the rabbit VX-2 tumor system [J]. Cancer, 1984, 53: 1397 - 1404.
- [7] 吴安乐, 颜志平, 周康荣, 等. 兔 VX2 瘤转移性肺癌动物模型的建立和生物学特性研究[J]. 中华放射学杂志, 2003, 37: 166 - 170.
- [8] Virmani S, Harris KR, Szolc-Kowalska B, et al. Comparison of Two Different Methods for Inoculating VX2 Tumors in Rabbit Livers and Hind Limbs [J]. J Vasc Interv Radiol, 2008, 19: 931 - 936.
- [9] 薛 强, 屈 谦, 曹友德, 等. 高强度超声治疗兔肺部早期肿瘤[J]. 临床超声医学杂志, 2002, 4: 196 - 199.
- [10] Lee JM, Jin GY, Li CA, et al. Percutaneous radiofrequency thermal ablation of lung VX2 tumors in a rabbit model using a cooled tip-electrode: Feasibility, safety, and effectiveness [J]. Invest Radiol, 2003, 38: 129 - 139.
- [11] 徐冬羽, 屠锡德. 口服水凝胶骨架片的研究进展[J]. 药学进展, 2002, 26: 10 - 15.

(收稿日期: 2008-04-24)

# CT引导建立兔肺VX2肿瘤模型的实验研究

作者: [李欣](#), [张宏](#), [盛林](#), [任贺](#), [鲁通](#), [王旻](#), [韩治宇](#), [董宝玮](#), [LI Xin](#), [ZHANG Hong](#),  
[SHENG Lin](#), [REN He](#), [LU Tong](#), [WANG Yang](#), [HANG Zhi-yu](#), [DONG Bao-wei](#)

作者单位: [李欣, 张宏, LI Xin, ZHANG Hong \(武警总医院超声科, 北京, 100039\)](#), [盛林, SHENG Lin \(清华大学第二附属医院超声科\)](#), [任贺, 鲁通, 王旻, 韩治宇, 董宝玮, REN He, LU Tong, WANG Yang, HANG Zhi-yu, DONG Bao-wei \(解放军总医院超声科\)](#)

刊名: [介入放射学杂志](#) **ISTIC PKU**

英文刊名: [JOURNAL OF INTERVENTIONAL RADIOLOGY](#)

年, 卷(期): 2009, 18(2)

被引用次数: 0次

## 参考文献(11条)

1. 陈晟, 邓钢, 牛焕章 [兔VX2肝种植瘤模型制作的完善及综合影像学评价](#) [期刊论文] - [介入放射学杂志](#) 2007
2. Bilfinger TV [Surgical aspect in the treatment of lung cancer](#) 2004
3. Liang P, Wang Y [Microwave ablation of hepatocellular carcinoma](#) 2007 (Suppl 1)
4. Liang P, Dong BW, Yu X [Prognostic factors for survival in patients with hepatocellular carcinoma after percutaneous microwave ablation](#) 2005
5. 邱存平, 吴红 [恶性肿瘤动物模型的建立](#) 1999(20)
6. Swistel AJ, Bading JR, Raff JH [Intraarterial versus intravenous adriamycin in the rabbit VX-2 tumor system](#) 1984
7. 吴安乐, 颜志平, 周康荣 [兔VX2瘤转移性肺癌动物模型的建立和生物学特性研究](#) [期刊论文] - [中华放射学杂志](#) 2003
8. Virmani S, Harris KR, Szolc-Kowalska B [Comparison of Two Different Methods for Inoculating VX2 Tumors in Rabbit Livers and Hind Limbs](#) 2008
9. 薛强, 屈谦, 曹友德 [高强度超声治疗兔肺部早期肿瘤](#) [期刊论文] - [临床超声医学杂志](#) 2002(04)
10. Lee JM, Jin GY, Li CA [Percutaneous radiofrequency thermal ablation of lung VX2 tumors in a rabbit model using a cooled tip-electrode: Feasibility, safety, and effectiveness](#) 2003
11. 徐冬羽, 屠锡德 [口服亲水凝胶骨架片的研究进展](#) [期刊论文] - [药学进展](#) 2002

本文链接: [http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_jrfsxzz200902017.aspx](http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_jrfsxzz200902017.aspx)

授权使用: qknfy(qknfy), 授权号: 9eb298ce-802c-4c95-911c-9df200eb1d45

下载时间: 2010年9月15日