

## • 实验研究 Experimental research •

## 兔肝癌模型的改良接种及其 DSA 影像分析

王耀普, 杨康健, 赵思源, 赵斌羽, 曹 玮, 李 超, 杨清峰, 王执民, 张洪新

**【摘要】 目的** 建立可供实验研究稳定的兔 Vx2 移植性肝癌模型,探讨不同植瘤方式的成功率,并分析该肿瘤的 DSA 影像特征。**方法** 60 只新西兰白兔随机分 3 组,每组 20 只。将 Vx2 瘤细胞( $5 \times 10^7$  个)经肝动脉或经肝包膜分别接种于 2 组兔的肝左叶,建立对照肝癌模型。第 3 组经肝包膜植入瘤组织块(约含  $10^6 \sim 10^8$  个瘤细胞)建立改良肝癌模型。观察:①不同组植瘤的成活率。②改良 Vx2 移植性肝癌的 DSA 影像特征。**结果** 3 组植瘤成活率分别为 7/20、10/20、19/20,改良组植瘤成活率最高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。DSA 影像示该移植性肝癌具有丰富的血供。**结论** 成功建立了兔 Vx2 移植性肝癌改良模型,瘤组织块种植方式成功率明显高于动脉途径和细胞液注射方式,为肝癌介入治疗的基础及临床研究提供了成熟的大型实验动物模型。

**【关键词】** 肝癌;兔 Vx2 细胞株;数字减影成像

中图分类号:R735.7 文献标志码:B 文章编号:1008-794X(2010)-03-0214-03

**The modified inoculation method for the preparation of rabbit VX2 hepatic carcinoma model and DSA imaging observation** WANG Yao-pu, YANG Kang-jian, ZHAO Si-yuan, ZHAO Bin-yu, CAO Wei, LI Chao, YANG Qing-feng, WANG Zhi-min, ZHANG Hong-xin. Department of Interventional Radiology, Tangdu Hospital, Fourth Military Medical University of Chinese PLA, Xi'an, Shaanxi Province 710038, China

Corresponding author: ZHANG Hong-xin

**【Abstract】 Objective** To establish a suitable and stable metastatic rabbit VX2 liver tumor model for the use in experimental study, to discuss the successful rate of different tumor transplanting methods, and to analyze the digital subtract angiography (DSA) imaging features of the transplanted liver tumor. **Methods** Sixty male New Zealand white rabbits were randomly and equally divided into 3 groups with 20 rabbits in each group. For the rabbits of two groups, receiving injection methods and used as control groups, VX2 carcinoma particle (containing about  $5 \times 10^7$  carcinoma cells) was inoculated into the left hepatic lobe through injection via hepatic artery or through direct injection with a syringe needle. For the rabbits in the retrofit group tumor tissue particle (containing about  $10^6 \sim 10^8$  carcinoma cells) was directly transplanted into liver through puncturing of the Glisson's capsule. The observation included the following two respects. (1) The tumor's survival rate of the three groups was evaluated. (2) The DSA imaging feature of the transplanted tumor was observed. **Results** The survival rate of the transplanted tumor in three groups was 7/20, 10/20 and 19/20 respectively, with the survival rate of the retrofit group being the highest in 3 groups ( $P < 0.05$ ). On DSA the transplanted tumors were rich in blood supplying. **Conclusion** For the establishment of rabbit VX2 liver carcinoma model, the direct transplantation of the tumor tissue particle is obviously superior to the injection method (direct injection or through hepatic arterial injection) in obtaining higher successful rate. This technique provides clinical and fundamental liver cancer studies with a reliable, stable and mature tumor animal model. (J Intervent Radiol, 2010, 19: 214-216)

**【Key words】** hepatic carcinoma; rabbit VX2 transplanted tumor model; digital subtract angiography

有效的评价新的介入治疗效果的动物模型十

作者单位:044000 山西省运城市中心医院导管室(王耀普);第四军医大学唐都医院介入放射科(杨康健、赵思源、赵斌羽、曹 玮、李 超、杨清峰、王执民、张洪新)  
通信作者:张洪新

分重要。目前建立可供介入性实验观察的肝癌动物模型是需解决的问题之一。本研究建立并改进兔 VX2 肝癌改良模型,有效地解决了介入性基础实验研究的关键环节,为提高临床介入治疗肝癌的效

果,提供了可靠的基础实验数据,报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

60 只新西兰白兔,每只体质量为 2.5 ~ 2.7 kg,雌雄各半,由第四军医大学动物实验中心提供。兔 VX2 瘤株由日本京都 Funabashi Farm 公司提供,瘤株种类为 VX2 鳞状细胞癌。1 250 mA、Polydoras-100 附带 DSA 的大功率 X 线机(德国 Siemens 公司生产),2/3 FMag 微导管(Cook 公司,顶端自塑形为“C”)。

### 1.2 方法

**1.2.1 VX2 瘤细胞的复苏与培养** 取冰冻 VX2 瘤细胞悬液,按一般细胞培养技术进行复苏后离心 5 min(800 r/min)<sup>[1]</sup>。除去上清液,加入 PBS 液用玻璃棒搅匀,取悬液置于 RPMI 1640 培养液中,按文献[2]细胞培养传代,锥虫蓝染色,死、活细胞计数,将培养液调制成  $10^7$  个/ml 活细胞浓度。

**1.2.2 实验动物分组** 将新西兰兔随机分为 3 组,每组 20 只。第 1 组:瘤细胞悬液( $5 \times 10^7$  个/ml)经动脉注入 1.0 ml。第 2 组:瘤细胞悬液( $5 \times 10^7$  个/ml)经肝包膜注入 1.0 ml。第 3 组(改良法):生理盐水与瘤块的混悬液约 1.0 ml 经肝包膜注入。瘤块取自兔后腿外侧肌肉接种瘤株 2 周后的实质性包块,切取包块边缘生长旺盛的鱼肉样组织,用眼科剪剪碎,与生理盐水混悬约  $10^6 \sim 10^8$  个瘤细胞/ml。

**1.2.3 操作** 兔经戊巴比妥钠(30 mg/kg)静脉麻醉后,取上腹部正中切开腹腔,将兔肝左中央叶充分暴露。挑开肝包膜,将悬液用 16 号针头注入肝实质内接种。将兔麻醉后,置于仰卧位固定,右侧腹股沟备皮消毒后,经股动脉搏动处沿其纵轴切开皮肤。钝性分离暴露右侧股动脉,暂时夹闭近端,用 4 号丝线提起远端股动脉,用眼科剪剪开一小斜口,将导管鞘插入固定,随后导入 2/3 F 微导管,在 X 线机透视下,间歇注入 600 g/L 复方泛影葡胺以显示导管顶端位置,插管至胃肝动脉接种及行 DSA 观察。

**1.2.4 观察指标** 观察不同接种途径的成功率。利用 B 超监测肿瘤在 7、10、14、17 和 21 d 时的体积变化( $V = 0.5 a \times b^2$ , a 和 b 分别是最大和最小直径),并计算肿瘤生长率(tumor growth rate, TGR)。分析兔 VX2 移植性肝癌的 DSA 影像特征。

### 1.3 统计学处理

Student's *t* 试验, Mann-Whitney *U* 试验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 不同接种途径的成功率

肝实质瘤块移植组成瘤率高,与另 2 组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )(表 1)。

### 2.2 肿瘤 DSA 影像特征

经微导管注入适量对比剂后,胃肝动脉显影良好,胃的轮廓及胃底动脉清晰显示。肝的轮廓显示良好,肝实质造影剂浓密,肝内动脉分支显影欠清晰。箭头所示为两个瘤染色区,对比剂浅淡,其周围可见粗大的供血动脉,染色浓,走行分支清晰,被瘤体推压成“抱球状”,瘤区内部可见网片状瘤染色。

表 1 不同接种途径的成功率 ( $n = 20$ )

组别	接种兔数量	成瘤兔数量	接种成瘤率
1	20	7	30%(7/20)
2	20	10	50%(10/20)
3	20	19	95%(19/20)

<sup>a</sup> 与组 1、2 比较  $P < 0.05$

## 3 讨论

### 3.1 VX2 瘤移植途径的探讨

目前 VX2 瘤株在体成瘤率仍很低,如何提高植瘤成功率,是本实验的重点。我们回顾了国外的文献,对不同移植途径做一比较,证实瘤块移植成瘤率高。瘤细胞在体种植成活依赖 2 个条件:浓度和环境。瘤细胞浓度最好在  $10^6$  个/ml 以上<sup>[2-5]</sup>,接种部位血供充足如肌肉、肝脏等。本实验经动脉种植组,瘤细胞浓度易被血液稀释,达肝实质时浓度进一步降低,故成瘤率较低(7/20)。经皮局部种植组,瘤细胞的生存适应期与机体免疫力成负相关,其浓度与血供营养的需求成正相关,故成瘤率仍低(10/20)。瘤块移植组,保证了瘤细胞正常生长的浓度,组织块成为瘤细胞抵御机体免疫力的屏障,延缓了清除过程,增强了对新环境的适应力,故成瘤率高(19/20)。

### 3.2 VX2 肝癌的 DSA 影像特征分析

兔血管较细,所容纳对比剂的体积很小<sup>[6]</sup>,在一般 X 线机透视下难以显示肝动脉的次级分支和血管形态或肿瘤实质染色现象。本实验示兔肝实质显影良好,但血管走行及分支显影欠清晰。肿瘤血管密度与接种部位有一定关系<sup>[7]</sup>,一般接种于肌肉、肝脏和肾脏的 VX2 肿瘤血管密度较高。本改良 VX2 肝癌为血供丰富的实体瘤,其外周可见由肝动脉分出的肿瘤滋养血管抵达肿瘤并绕行,滋养血管较粗大且血管密度较高,其分支深入肿瘤内部,通过供

瘤血管可勾画出肿瘤的轮廓。

本实验参考国外文献进行改良<sup>[8-11]</sup>,采用瘤块注射法复制出的 VX2 兔肝癌模型,本改良模型具有接种方法简单、成功率高、重复性好、模型性质稳定等特点,经实验证实其血供主要来自肝动脉,且血供丰富,虽其组织形态、生物学特性与原发肝癌有所不同,但可用作有关肝癌治疗学及肝癌影像学等的临床前期研究<sup>[12-15]</sup>。

#### [参 考 文 献]

- [1] 严惠芳,傅文君,任文龙.可移植性动物肿瘤株的冻存和复苏[J].医药工业,1986,17:28-29.
- [2] Prat F, Centarti M, Sibille A, et al. Extracorporeal high-intensity focused ultrasound for VX2 liver tumors in the rabbit [J]. Hepatology, 1995, 21: 832 - 836.
- [3] Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis[J]. Cell, 1996, 86: 353 - 364.
- [4] Morgon-Parkes JH. Metastases: mechanisms, pathways, and cascades[J]. AJR, 1995, 164: 1075 - 1082.
- [5] Swistel AJ, Bading JR, Raaf JH. Intraarterial versus intravenous Adriamycin in the rabbit VX2 tumor system[J]. Cancer, 1984, 53: 1397 - 1404.
- [6] Girard MS, Baker KG, Steinbach GC, et al. Assessment of liver and kidney enhancement with a perfluorocarbon vapor-stabilized US contrast agent[J]. Acad Radiol, 1999, 6: 273 - 281.
- [7] Leander P, Månsson S, Ege T, et al. CT and MR imaging of the liver using liver-specific contrast media. A comparative study in a tumor model[J]. Acta Radiol, 1996, 37: 242 - 249.
- [8] Eda I, Soga H, Ueoka M, et al. The suppression of postoperative liver metastasis caused by the continuous intraportal infusion of angiogenesis inhibitor FR-118487 in a rabbit colon cancer model [J]. Surg Today, 1998, 28: 273 - 278.
- [9] Okada M, Kudo S, Miyazaki O, et al. Antitumoral efficacy and pharmacokinetic properties of pirarubicin upon hepatic intra-arterial injection on the rabbit VX2 tumor model [J]. Br J Cancer, 1995, 71: 518 - 524.
- [10] Tanaka H, Taniguchi T, Mugitani Y, et al. Intraarterial administration of the angiogenesis inhibitor TNP-470 blocks liver metastasis in a rabbit model[J]. Br J Cancer, 1995, 72: 650 - 653.
- [11] Zhao ZX, Du JH, Wang XH, et al. Pharmacokinetic study of intraarterial hepatic pirarubicin-lipiodol administration in rabbits bearing VX2 tumor[J]. Chin J Exp Surg, 1998, 15: 244 - 245.
- [12] 曹 玮,万 毅,张洪新,等.脉冲式温热灌注对肿瘤血管渗透性的影响[J].介入放射学杂志,2008,17:266-268.
- [13] 李广琪,陈毓秀,康 军,等.兔肝 VX2 移植瘤改良模型建立[J].武警医学院学报,2007,16:369-372.
- [14] 曹 玮,彭建明,王执民,等.60℃碘油栓塞对兔肝 VX2 肿瘤血供的影响[J].实用放射学杂志,2008,24:837-839.
- [15] 曹 玮,吴发伟,刘毅勇,等.高强度聚焦超声对中晚期肝癌患者机体免疫细胞及其活性的影响 [J]. 介入放射学杂志,2009,18:308-310.

(收稿日期:2010-02-25)

作者: 王耀普, 杨康健, 赵思源, 赵斌羽, 曹玮, 李超, 杨清峰, 王执民, 张洪新, WANG Yao-pu, YANG Kang-jian, ZHAO Si-yuan, ZHAO Bin-yu, CAO Wei, LI Chao, YANG Qing-feng, WANG Zhi-min, ZHANG Hong-xin

作者单位: 王耀普, WANG Yao-pu(山西省运城市中心医院导管室, 044000), 杨康健, 赵思源, 赵斌羽, 曹玮, 李超, 杨清峰, 王执民, 张洪新, YANG Kang-jian, ZHAO Si-yuan, ZHAO Bin-yu, CAO Wei, LI Chao, YANG Qing-feng, WANG Zhi-min, ZHANG Hong-xin(第四军医大学唐都医院介入放射科)

刊名: 介入放射学杂志 ISTIC PKU

英文刊名: JOURNAL OF INTERVENTIONAL RADIOLOGY

年, 卷(期): 2010, 19(3)

被引用次数: 0次

## 参考文献(15条)

1. 严惠芳, 傅文君, 任文龙 可移植性动物肿瘤株的冻存和复苏 1986
2. Plat F, Centarti M, Sihille A Extracorporeal high-intensity focused ultrasound for VX2 liver tumors in the rabbit 1995
3. Hanahan D, Folkman J Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis 1996
4. Morgon-Parkes JH Metastases: mechanisms, pathways, and cascades 1995
5. Swistel AJ, Bading JR, Raaf JH Intraarterial versus intravenous Adriamycin in the rabbit VX2 tumor system 1984
6. Girard MS, Baker KG, Steinbach GC Assessment of liver and kidney enhancement with a perfluorocarbon vapor-stabilized US contrast agent 1999
7. Leander P, M(aisson S, Ege T CT and MR imaging of the liver using liver-specific contrast media. A comparative study in a tumor model 1996
8. Eda I, Soga H, Ueoka M The suppression of postoperative liver metastasis caused by the continuous intraportal infusion of angiogenesis inhibitor FR-118487 in a rabbit colon cancer model 1998
9. Okada M, Kudo S, Miyazaki O Antitumoral efficacy and pharmacokinetic preperities of pirarubicin upon hepatic intraarterial injection on the rabbit VX2 tumor model 1995
10. Tanaka 14, Taniguchi T, Mugitani Y Intraarterial administration of the angiogenesis inhibitor TNP-470 blocks liver metastasis in a rabbit model 1995
11. Zhao ZX, Du JH, Wang XH Pharmacokinetic study of intraarterial hepatic pirarubicin-lipiodol administration in rabbits bearing VX2 tumor 1998
12. 曹玮, 万毅, 张洪新, 曹晓明, 刘毅勇, 李文献 脉冲式温热灌注对肿瘤血管渗透性的影响[期刊论文]-介入放射学杂志 2008(4)
13. 李广琪, 陈毓秀, 康军, 张洪新 兔肝Vx-2移植癌改良模型的建立[期刊论文]-武警医学院学报 2007(4)
14. 曹玮, 彭建明, 王执民, 张洪新, 杨利, 吕发勤, 刘婧 60℃碘油栓塞对兔肝VX2肿瘤血供的影响[期刊论文]-实用放射学杂志 2008(6)
15. 曹玮, 吴发伟, 刘毅勇, 万毅, 齐连君, 张洪新 高强度聚焦超声对中晚期肝癌患者机体免疫细胞及其活性的影响[期刊论文]-介入放射学杂志 2009(4)

本文链接: [http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_jrfsxzz201003014.aspx](http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_jrfsxzz201003014.aspx)

授权使用: qknfy(qknfy), 授权号: b071010f-78e9-47a5-9de6-9de900bc51fd

下载时间: 2010年9月6日