

·实验研究 Experimental research·

肝动脉热灌注对兔肝 VX2 肿瘤及正常肝组织血管渗透性功能的作用

李广琪, 曹 玮, 李 超, 杨青峰, 王执民, 张洪新

【摘要】 目的 探讨介入热疗对肝组织及肿瘤组织血管渗透性的影响及意义,为研究介入热疗的生物学效应机制奠定基础。**方法** 建立可供实验研究的兔 VX2 移植性肝癌模型 30 只,随机等分为 3 组(非灌注组、普通灌注组及热灌注组),在 X 线监视下,经股动脉插管至肝动脉。进行灌注,灌注液为生理盐水(温度为 60℃),液量 30 ml,15 min 缓慢推注。灌注结束前 5 min,经导管推注 1%伊文思蓝(EB),2 ml/kg,非灌注组直接推注 EB,注 EB 后置 10 min,取出肝脏用生理盐水灌注肝动脉冲洗血管中残留的 EB。切取靠近肝门部的小块正常肝组织、瘤组织,称重后,放入 1 ml 甲酰胺液中,置于 50℃ 恒温水浴箱 60 h,提取液用 722 型光栅分光光度计测出 $A_{620\text{nm}}$,从标准曲线上测出相应的 EB 含量,以反映该组织毛细血管的通透性。**结果** 肿瘤组织与肝组织的 EB 含量在 3 组中均有差别,且差异有统计学意义 ($P < 0.05$);正常灌注组与非灌注组肝组织的 EB 含量、肿瘤组织的 EB 含量无明显差别 ($P > 0.05$);热灌注组与非灌注组、正常灌注组肝组织的 EB 含量、肿瘤组织的 EB 含量有明显差别 ($P < 0.05$)。**结论** 介入热疗可以增加肝组织及肿瘤组织的血管通透性。

【关键词】 兔; VX2 细胞株; 肝癌; 血管渗透性; 热疗; 动物模型

中图分类号:R735.7 文献标志码:B 文章编号:1008-794X(2010)-03-0217-03

Influence of hepatic artery thermotherapy on the vascular permeability of hepatic tumor tissue and normal liver tissue in VX2 tumor-bearing rabbits LI Guang-qi, CAO Wei, LI Chao, YANG Qing-feng, WANG Zhi-min, ZHANG Hong-xin. Department of Radiology, General Hospital, Shaanxi Provincial People's Armed Police, Xi'an, Shaanxi Province 710054, China

Corresponding author: ZHANG Hong-xin

【Abstract】 Objective To evaluate the effects of interventional thermotherapy (60℃) via hepatic artery on the vascular permeability of hepatic tumor tissue and normal liver tissue in VX2 tumor-bearing rabbits. **Methods** Thirty white rabbits were used in this experiment. Thirty VX2 tumor-bearing rabbits models were established by direct injection of VX2 tissue particle into the liver parenchyma and were randomly and equally divided into three groups: (1) non-perfusion group ($n = 10$), used as control group; (2) normal thermal perfusion group ($n = 10$), a perfusion of 30ml saline at $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ via hepatic artery in 15 minutes was used; (3) hyper-thermal perfusion group ($n = 10$), a perfusion of 30ml saline at $60 \pm 0.5^\circ\text{C}$ via hepatic artery in 15 minutes was used. The vascular permeability of the tumor tissue and the normal liver tissue was estimated with Evan's blue method. **Results** In all three groups the vascular permeability was significantly increased in tumor tissue than that in normal liver tissue ($P < 0.05$). Normal thermal perfusion resulted in a significant increase in the permeability of vasculature ($P > 0.05$). Hyper-thermal perfusion resulted in a significant increase in vascular permeability of tumor tissue ($P < 0.05$), and vascular permeability was increased in tumor tissue more markedly than that in normal tissue ($P < 0.05$). **Conclusion** Hyperthermia hepatic arterial perfusion can increase vascular permeability for both tumor tissue and normal tissue in VX2 tumor-bearing rabbits. (J Intervent Radiol, 2010, 19: 217-219)

【Key words】 rabbit VX2

transplanted tumor model; hepatic cancer; vascular permeability; interventional thermotherapy; animal model

基金项目:全军“十五”医学青年基金(01Q124),第四军医大学
创新工程基金(CX99A016)及唐都医院科技苗子基金(2000-07)资助
作者单位:710054 西安 陕西武警总队医院放射科(李广琪);
西安第四军医大学唐都医院介入放射科(曹 玮、李 超、杨青峰、王
执民、张洪新)

通信作者:张洪新 E-mail:tdjrfsk@fmmu.edu.cn

近年来,随着技术的成熟,热疗得到发展。体外实验表明,热疗对兔 VX2 肿瘤细胞的杀伤作用肯定,加热与化疗有协同作用,加热不仅可以提高肝-7721 瘤细胞的化疗敏感性,还可以抑制肝-7721 多药耐药模型 7721/Adm 的耐药性^[1-3]。这就使提高疗效、减少药量、降低化疗不良反应成为可能。热疗与介入性化疗相结合,称为介入性热化疗(Interventional Chemothermotherapy)^[1]。本研究在已有兔 VX2 肝移植瘤模型基础上^[4],探讨介入热疗对肝组织及肿瘤组织血管渗透性的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

722 型光栅分光光度计(上海第三分析仪器厂);1 250 mA, Polydoros-100 附带 DSA 的大功率 X 线机(德国西门子公司);2/3 F 微导管(美国 Cook 公司);恒温水浴箱;健康新西兰兔 30 只,体重(2.5 ± 0.5)kg,雌雄不限(本院实验外科提供);VX2 冰冻肿瘤细胞悬液,由日本京都 Funabashi 公司提供;1%伊文思蓝(EB,上海化学试剂厂);二甲酰胺(西安化学试剂厂)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型制备^[4] 按照一般细胞培养技术进行 VX2 细胞培养、传代,将瘤细胞(浓度 5×10^7 个/ mm^3)悬液注射到兔后腿外侧肌肉中(1.0 ml/只),肉眼及触诊观察局部长势,2 周后形成约 1 cm 实质性包块后,切取部分瘤块,取边缘生长旺盛的鱼肉样组织,用眼科剪剪成 $0.2 \sim 0.3 \text{ mm}^3$ 小块,与生理盐水混悬约含 $10^6 \sim 10^8$ 个瘤细胞/ml。开腹直视下,充分暴露兔肝左中央叶,经肝包膜注入生理盐水与瘤块的混悬液约 1.0 ml/只。2 周后可扪及后腿外侧肌肉内有一实质性包块,即制成荷瘤种兔^[4]。

1.2.2 检测方法 先用 722 型光栅分光光度计测出波长为 620 nm 下 EB 含量为 1 ~ 50 mg/L (二甲酰胺稀释)的光吸收度(A),绘出标准曲线;将 30 只模型动物随机等分为 3 组:①非灌注组(插管后只注射 EB,2 ml/kg)。②常温灌注组(灌注液为 25℃生理盐水)。③热灌注组(灌注液为 60℃生理盐水)^[5]。将兔用戊巴比妥钠(30 mg/kg)经静脉麻醉后,仰位固定。在 X 线监视下,经股动脉插管至肝动脉,连接恒温灌注泵(珠海和佳医疗设备公司生产)灌注^[6],液量 30 ml,15 min 缓慢推注。灌注结束前 5 min,由导管推注 EB (2 ml/kg),非灌注组直接推注 EB(2 ml/kg),灌注后置 10 min,取出肝脏用生理盐水灌

注肝动脉冲洗血管中残留的 EB。切取靠近肝门部的小块正常肝组织及瘤体中央瘤组织。称重后,放入 1 ml 甲酰胺液中,置于 50℃ 恒温水浴箱 60 h,提取液用分光光度计测出 $A_{620 \text{ nm}}$ 。所测 $A_{620 \text{ nm}}$ 可以根据标准曲线分别计算出各组每 100 mg 组织中的 EB 含量(μg),作为血管渗透性的指标。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 统计软件处理, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

如表 1 所示:①非灌注组肝肿瘤组织与肝正常组织的 EB 含量差异有统计学意义($P < 0.05$)。②常温灌注组与非灌注组的肝组织 EB 含量、肝肿瘤组织 EB 含量无明显差异($P > 0.05$)。③热灌注组与非灌注组、热灌注组与常温灌注组肝正常组织的 EB 含量、肝肿瘤组织 EB 含量差异均有统计学意义($P < 0.01$)。

表 1 不同温度下血管渗透性的变化

($\mu\text{g}/100\text{g}$)($n = 10, \bar{x} \pm s$)

灌注类型	正常组织	肿瘤组织
非灌注组	2.70 ± 0.73	3.39 ± 0.87
常温灌注组	3.10 ± 0.85^a	3.71 ± 0.94^a
热灌注组	10.81 ± 1.26^b	15.16 ± 1.59^{ab}

^a 与非灌注组比 $P > 0.05$; ^b 与常温灌注组比 $P < 0.01$

3 讨论

研究表明,加热对化疗具有一定影响^[1,5],42 ~ 43℃化疗作用明显强于 37℃化疗。药物浓度、温度、时间之间存在一定关系。一定范围内,随着温度提高,达到相同 IC_{50} 值所需浓度降低,说明高热对化疗具有热增敏作用。温度低于这一范围,药物的杀伤起主要作用,浓度越高作用越强;温度高于这一范围,热变性起主要作用,温度越高作用越强。一定浓度范围内,同一浓度,43℃的 IC_{50} 值是 37℃的 10 倍以上,即杀伤作用增强 10 倍以上。因此加热对化疗具有增敏作用。介入性热化疗是将灌注的药液提前加热再以一定温度灌注到肿瘤局部持续一定时间,属体内局部直接加热,具有将热量和药物直接注入供应肿瘤的靶血管,使局部组织内热量和药物相对集中,降低全身的不良反应,可以解决深部肿瘤如肝癌的加热问题,提高抗癌效果等特点。介入性热疗在技术上是可行的,研究设计介入热疗对肝组织及肿瘤组织血管渗透性的影响的探讨。毛细血管是组织、细胞间进行物质交换的场所,渗透性会

影响其正常功能,特别是在肿瘤组织中,丰富的新生毛细血管网能及时供给肿瘤迅速生长所需的养料和氧气,带走代谢产物,毛细血管的密度与肿瘤的恶性程度还有一定的相关关系,在肿瘤的生长、浸润和转移等生物学行为中均起重要作用^[6]。

EB 是一种偶氮蓝染料,常作为诊断药用来检测毛细血管的渗透性。本实验结果显示肝肿瘤组织毛细血管的渗透性,不论灌注与否及灌注类型如何,均较正常肝组织毛细血管的渗透性大;常温灌注对正常肝组织、肝肿瘤组织毛细血管的渗透性影响不明显;热灌注对正常肝组织、尤其是肿瘤组织毛细血管的渗透性影响明显。

常温灌注组肝肿瘤组织毛细血管的渗透性较肝正常组织毛细血管的渗透性大可能是因为肿瘤组织中血管内皮细胞生长因子(VEGF)高表达,一氧化氮(NO)生成过量的原因。VEGF 是一种选择性促血管内皮细胞有丝分裂原,能刺激内皮细胞增殖促血管形成,并增加微小血管的渗透性,引起血浆蛋白(主要是纤维蛋白原)的外渗,沉积在血管外的基质中为肿瘤的生长和新生血管网的建立提供了最佳基质,为肿瘤生长提供了充足的养分^[7-8]。

介入热疗后肿瘤毛细血管的渗透性较正常肝组织增大明显,可能是由于肿瘤新生血管的内皮细胞结构与正常血管不同^[9],内皮细胞形成过程及组织来源不同,对热损伤的敏感性不同。本实验采用体外灌注 60℃生理盐液行介入性热疗,可于肝肿瘤部获得(42.5 ± 0.5)℃的局部热疗温度^[10],该温度可抑制并杀死瘤细胞及肿瘤血管内皮细胞^[11],从而使毛细血管通透性病理性增大^[12]。

综上所述,本文从加热对瘤组织毛细血管通透性的影响角度,解释了笔者先前曾报道的加热对化

疗具有增敏作用这一现象^[1,3,4],为介入性热化疗的临床应用提供了进一步的理论依据。

[参 考 文 献]

- [1] 张洪新,王执民,郭卫平,等.阿霉素化疗与热化疗对兔白细胞白血病 VX2 细胞体外作用的比较[J].癌症,1999,18: 276 - 278.
- [2] 张洪新,郭卫平,王执民,等.人肝癌细胞耐药模型-7721/Adm 的建立及其部分生物学特性[J].癌症,2000,19: 748 - 751.
- [3] 张洪新,刘 燕,郭卫平,等.阿霉素对热处理的人肝癌细胞-7721/Adm 耐药株细胞毒性的影响[J].癌症,2000,19: 1092 - 1094.
- [4] 李广琪,陈毓秀,康 军,等.兔肝 VX2 移植瘤改良模型的建立[J].武警医学院学报,2007,16: 369 - 272.
- [5] 曹 玮,张洪新,万 毅,等.温热(60℃)化疗栓塞对肝癌患者红细胞免疫功能的影响[J].临床放射学杂志,2008,27: 1255 - 1257.
- [6] 曹 玮,万 毅,张洪新,等.热化疗栓塞影响中晚期肝癌患者机体免疫功能的研究[J].中国医师杂志,2009,11: 176 - 178.
- [7] Zhang HB, Tian YP. Blood vessel endothelial cell growth factor and neoplasma [J]. Foreign Medical Sciences Section of Pathophysiology and Clinical Medical, 1998, 18: 117 - 120.
- [8] Zhao XM. Nitrogen monoxide and vascular permeability [J]. Foreign Medical Sciences Section of Cerebrovascular. Disease, 1998, 6: 6 - 8.
- [9] Fajardo LF, Schreiber AB, Kelly NI, et al. Thermal sensitivity of endothelial cells[J]. Radiat Res, 1985, 103: 276 - 285.
- [10] 张洪新,刘 燕,王执民,等.犬肝动脉不同温度热灌注对肝肾功能的影响[J].癌症,2001,20: 738 - 742.
- [11] 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.
- [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.

(收稿日期:2010-02-24)

肝动脉热灌注对兔肝VX2肿瘤及正常肝组织血管渗透性功能的作用

作者：[李广琪](#), [曹玮](#), [李超](#), [杨青峰](#), [王执民](#), [张洪新](#), [LI Guang-qi](#), [CHO Wei](#), [LI Chao](#), [YANG Qing-feng](#), [WANG Zhi-min](#), [ZHANG Hong-xin](#)

作者单位：[李广琪, LI Guang-qi \(西安陕西武警总队医院放射科, 710054\)](#), [曹玮, 李超, 杨青峰, 王执民, 张洪新, CHO Wei, LI Chao, YANG Qing-feng, WANG Zhi-min, ZHANG Hong-xin \(西安第四军医大学唐都医院介入放射科\)](#)

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 (12条)

- 张洪新, 王执民, 郭卫平, 王义清, 吴智群, 李文献, 陈江浩, 关燕 阿霉素化疗与热化疗对兔毛细胞白血病VX-2细胞体外作用的比较[期刊论文]-[癌症](#) 1999(3)
- 张洪新, 郭卫平, 王执民, 王义清, 刘燕, 关彦, 李文献, 倪代慧 人肝癌细胞耐药模型-7721/Adm的建立及其部分生物学特性[期刊论文]-[癌症](#) 2000(8)
- 张洪新, 刘燕, 郭卫平, 王执民, 王义清, 曹伟, 倪代慧, 高巍, 李文献, 关彦 阿霉素对热处理的人肝癌细胞-7721/Adm耐药株细胞毒性的影响[期刊论文]-[癌症](#) 2000(12)
- [李广琪, 陈毓秀, 康军 兔肝VX2移植癌改良模型的建立](#) 2007
- 曹玮, 张洪新, 万毅, 倪代会, 齐连君, 梁志会, 王执民 温热(60℃)化疗栓塞对肝癌患者红细胞免疫功能的影响[期刊论文]-[临床放射学杂志](#) 2008(9)
- 曹玮, 万毅, 张洪新, 齐连君, 王执民, 李文献, 倪代会 热化疗栓塞影响中晚期肝癌患者机体免疫功能的研究[期刊论文]-[中国医师杂志](#) 2009(2)
- [Zhang HB, Tian YP Blood vessel endothelial cell growth factor and neoplasma](#) 1998
- [Zhao XM Nitrogen monoxide and vascular permeability. Foreign Medical Sciences Section of Cerebrovascular](#) 1998
- [Fajardo LF, Sehreiber AB, Kelly NI Thermal sensitivity of endothelial cells](#) 1985
- 张洪新, 刘燕, 王执民, 郭卫平, 梁志会, 王义清, 曹伟, 李文献, 倪代会, 高巍, 樊爱琳 犬肝动脉不同温度热灌注对肝肾功能的影响[期刊论文]-[癌症](#) 2001(7)
- 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)
- 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)

相似文献 (10条)

- 期刊论文 [马明平, 胡道予, 周义成, 胡国栋, 武汉 兔VX2肝癌模型制作及介入治疗的实验研究](#) -[放射学实践](#)2000, 15(6)
目的:介绍应用VX2细胞株制作兔移植性肝癌模型, 并对其进行治疗血管造影及化疗栓塞治疗, 探讨兔VX2肝癌在肝癌介入治疗实验研究中的应用价值. 方法:将VX2细胞株接种于日本大白兔的肝脏内, 植入2周后将30只携有肿瘤的实验兔随机分为对照组及TACE治疗组, 植入肿瘤后5周, 所有动物均处死取肝脏标本行病理学检查. 结果:VX2细胞株接种于兔肝成功率高, 血管造影显示该肿瘤血供丰富, 5周末对照组在未经任何治疗下肝移植瘤体积 $26.5 \pm 6.5 \text{ cm}^3$, 平均坏死率 $35.5\% \pm 9.2\%$. TACE治疗后肝移植瘤体积约 $19.9 \pm 7.3 \text{ cm}^3$, 平均坏死率 $52.4\% \pm 17.8\%$. 两组之间对比有显著性差异($P < 0.01$). 结论:移植性兔VX2肝癌血供特点类似人类原发性肝癌, TACE治疗可以抑制其生成, 是介入治疗实验研究十分有用的肝癌模型.
- 期刊论文 [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 兔肝癌模型的改良接种及其DSA影像分析](#) -[介入放射学杂志](#)2010, 19(3)
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(5×10^7 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 $106 \sim 108$ 个瘤细胞)建立改良肝癌模型. 观察:①不同组肝癌的成活率. 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影像显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.
- 期刊论文 [李春海, 冯艳, 刘春喜, 谷涛, 李彩霞, LI Chun-hai, PENG Yan, LIU Chun-xi, GU Tao, LI Cai-xia 介入治疗对兔VX2肝癌MMP-2/PCNA/VEGF表达的影响及其意义](#) -[中国现代普通外科进展](#)2007, 10(3)
目的:模拟不同方法介入治疗对兔VX2肝癌基质金属蛋白酶(MMP-2)、增殖细胞核抗原(PC-NA)、血管内皮生长因子(VEGF)表达的影响. 方法:将VX2瘤细胞接种于40只新西兰大白兔肝左叶, 建立VX2肝癌模型, 随机分为4组, 每组10只. 介入治疗前MRI测量并记录肿瘤直径. 经股动脉途径行肝固有动脉插管, 分别注入生理盐水(对照组)、水化碘油(A组)、Ad-p53(B组)、Ad-p53+水化碘油(C组). 术后1周处死动物, 取肿瘤组织制作石蜡切片(HE)染色, 镜下观察肿瘤组织坏死情况. 免疫组化方法测定MMP-2/PCNA/VEGF的表达. 结果:经肝动脉插管介入治疗1周后, A、B、C组肿瘤生长受到明显抑制, 与对照组比较, $P < 0.05$. 单纯碘油栓塞后, 肿瘤区的MMP-2、PCNA及VEGF的表达略有升高, 与对照组相比 $P > 0.05$; 8组与C组的MMP-2、PCNA及VEGF的表达阳性率降低, 与对照组相比, $P < 0.05$; 有转移的MMP-2、PCNA及VEGF的表达阳性率均高于无转移者($P < 0.05$); MMP-2与VEGF、PCNA之间具有相关性($P < 0.05$). 结论:碘油+Ad-p53可抑制肿瘤的生长, 抑制肿瘤新生血管形成, 减少转移. MMP-2、PCNA、VEGF的增高预示着肿瘤的高转移、高增殖能力, 肿瘤血管的高形成能力.
- 期刊论文 [李均, 杨孝军, 胡丽娜, 孙才新, 姚陈果, LI Jun, YANG Xiao-Jun, HU Li-Na, SUN Cai-Xin, YAO Chen-Guo 陡脉冲电场对兔VX2乳腺移植瘤毛细淋巴管的影响](#) -[癌症](#)2006, 25(2)
背景与目的:以细胞膜电穿孔效应为核心的电化学治疗已开展二十余年, 其主要机理为脉冲电场的膜穿孔促进外源药物、抗体或基因向胞内弥散. 本课题组的前期研究已证实高能陡脉冲电场能使肿瘤细胞膜发生不可逆性电穿孔, 从而导致肿瘤细胞的直接死亡. 本实验主要观察陡脉冲电场对兔VX2乳腺移植瘤毛细淋巴管的影响. 方法:成功建立VX2兔移植性乳腺癌模型, 采用美蓝灌注、酶组织化学5-核苷酸碱性磷酸酶(5'-AMP-ALPase)双重染色法、电镜技术观察陡脉冲处理后瘤体局部毛细淋巴管的形态学变化. 结果:经美蓝灌注显示, 陡脉冲处理后的癌组织边缘模糊, 无线样或环状的淋巴管; 双重染色显示, 靶区内未见任何呈阳性染色的淋巴管, 瘤体边缘仅见毛细淋巴管碎片样结构; 透射电镜下见毛细淋巴管的完整性和连续性均被破坏. 结论:陡脉冲电场破坏了靶区癌组织边缘的毛细淋巴管, 因此可减少治疗后局部癌细胞淋巴转移的可能性.

5. 期刊论文 [孙丛](#), [柳澄](#), [刘艳丽](#), [王涛](#), [王道萍](#), [刘元水](#), [林韶华](#), [SUN Cong](#), [LIU Cheng](#), [LIU Yan-li](#), [WANG Tao](#), [WANG Dao-ping](#), [LIU Yuan-shui](#).

[LIN Shao-hua](#) 氩氦刀治疗兔肝脏肿瘤疗效的实验研究 -中国医学影像技术2007, 23 (3)

目的 利用兔VX2肝脏肿瘤模型, 对其进行氩氦刀治疗. 探讨氩氦刀治疗兔VX2肝脏肿瘤的疗效. 方法 将VX2细胞株接种于30只新西兰大白兔的肝脏内, 共42个病灶, 用多层螺旋CT观察兔VX2肝脏肿瘤的生长, 植入2周末和3周末后分别取15只, 共22个病灶(A组)和15只, 共20个病灶(B组)进行氩氦刀治疗, 并分别在治疗后5周进行多层螺旋CT(MSCT)扫描进行观察, 并与病理相对照. 结果 VX2细胞株接种于兔肝成功率高, 多层螺旋CT显示该肿瘤周围血供丰富, A、B两组在治疗后5周, MSCT显示肿瘤完全坏死率分别为68% (15/22)、30% (6/20); 转移率分别为23% (5/22)、65% (13/20), 与病理检查相符, 并且两组之间对比肿瘤完全坏死率及转移率均有显著性差异 ($P<0.05$ 和 $P<0.01$). 结论 移植性兔VX2肝脏肿瘤血供特点类似人类原发性肝癌, 是介入治疗实验研究十分有用的肝癌模型. 氩氦刀治疗可以抑制其生长和转移, 疗效与其治疗的时机密切相关.

6. 期刊论文 [钟灵](#), [俞志坚](#), [全显跃](#), [ZHONG Ling](#), [YU Zhi-jian](#), [QUAN Xian-yue](#) 兔VX2肝癌模型制作及肝动脉插管技术改良 -南方医科大学学报

2008, 28 (9)

目的 应用VX2细胞株制作新西兰兔移植性肝癌模型, 并探讨对肝动脉插管技术的改良. 方法 开腹分别种植VX2瘤块于兔肝左、右叶. 制作40只兔VX2肝癌模型. 瘤株接种2周后, 实验组(26只)采取改良显微外科手术直接行肝动脉插管法行介入治疗, 对照组(10只)采用3F微导管经股动脉. 肝动脉插管法作对比研究. 术及术后用多层螺旋CT和DSA造影方法进行兔VX2肝癌的影像学观察. 结果 CT扫描及开腹手术证实瘤株接种成功36只. 实验组的插管成功率为88% (23/26); 对照组的插管成功率为40% (4/10). 多层螺旋CT平扫兔VX2肝癌表现为低或等密度结节灶; DSA造影示肿瘤呈均一的或结节状染色. 结论 采用改良显微外科手术直接行肝动脉插管法对兔VX2肝癌行介入治疗成功率较高, 实验人员可较大幅度地避免辐射, 是值得推广的实验方法.

7. 学位论文 [全显跃](#) 兔VX2肝癌模型动态量化磁共振灌注成像与病理的对照研究 2006

目的及意义

肝细胞癌(hepatocellularcarcinoma, HCC)为我国原发性肝癌中最常见的一种恶性肿瘤, 死亡率较高, 近年来发病率有上升趋势, 但目前其病因及发病机理尚不十分清楚.

作为磁共振技术的最新成就, 磁共振灌注成像(perfusionweightedimaging, PWI)是近年发展的功能成像技术, 已成功应用于中枢神经系统病变的临床诊断和相关病变的基础研究, 但其在肝脏方面的实验研究, 国内外文献均较少见.

资料与方法

1、实验资料:

1.1实验动物分组:

新西兰大白兔20只, 体重2-3kg, 雌雄不限, 由广东省医学实验动物中心提供. 随机将实验动物分为实验组和对照组, 实验组共四组, 每组4只, 对照组共四组, 每组1只.

1.2接种用VX2细胞株及改良型兔VX2肝癌模型的制备:

荷瘤VX2新西兰种兔1只(中山大学附属孙逸仙纪念医院惠赠), 将瘤细胞接种于兔大腿部下成瘤并传代, 选取2周左右种兔切除肿瘤, 在平皿上制成1-2mm3大小碎块, 用18G针头针筒抽吸作为瘤种备用.

将实验组新西兰大白兔采用3%戊巴比妥钠(1ml/kg)静脉麻醉, 仰卧固定于CT检查床并CT定位, 在CT引导下, 用穿刺针在兔的肝脏注入已准备好的瘤株, 量为含2-3个左右的组织块, 针尖刺入深度1.5-2.0cm左右, 为保证种植的成功率, 在兔肝左、右叶各种植一个瘤灶, 随后用兔自身静脉血所致血凝块封堵针道, CT扫描确定无活动性出血后, 待种植兔复苏, 送回动物房继续饲养.

1.3实验动物的处理:

在实验组新西兰大白兔植入肿瘤后14d、18d、22d、26d, 分别将一组实验组兔及一组对照组兔用3%的戊巴比妥钠注射麻醉, 使兔俯卧、固定于磁共振扫描仪8通道膝关节扫描线圈中, 行磁共振平扫、增强扫描及磁共振灌注成像; 扫描完毕后, 立即采用空气栓塞法处死实验动物, 进行大体病理结果及免疫组化的量化结果与磁共振成像的量化结果综合对照分析.

2、磁共振扫描方法: 所用仪器为美国GE公司新型1.5T TwinSpeed双梯度磁共振扫描仪, 平扫采用SE序列T1WI: TR/TE=400ms/15ms, 层厚为5.0mm, 间隔1.0mm, 层数为10-12, 视野为16cm×16cm, 矩阵为256×192, NEX为4, 成像时间为3min18s; T2WI采用FSE序列: TR/TE=3500ms/75ms, 层厚为5.0mm, 间隔1.0mm, 层数为10-12, 视野为16cm×16cm, 矩阵320×192, NEX为4, 成像时间为3min40s.

3、磁共振扫描结果的测量及方法

把所有扫描图像传至工作站, 采用GE公司图像处理软件, 版本为AdvantageWorkatationAW4.005, 数据测量及分析采用Functool软件进行, 分别分析平均强化时间(Meantimetoenhance, MTE)、最大增强斜率(Maximumslopeofincrease, MSI)的变化规律; 绘制时间-信号强度曲线(signalintensitytimecurve, SI-T曲线)、生成MTE图及MSI图, MTE图及MSI图的伪彩颜色均表示每个体素的参数测量值, 由大到小分别显示为红色、黄色、绿色、蓝色、黑色.

正常对照组测量方法: 尽量避开血管、胆管结构和图像伪影, 每次测量选用2个以上圆形感兴趣区(ROI), 每个感兴趣区面积应大于20±5mm², 并覆盖多于50个像素; 进行量化研究的数据为多个感兴趣区所测值数据的平均值.

病灶测量方法: 尽量避开血管、胆管及伪影, 在病灶直径最大的层面上测量; 每次测量选用2个圆形感兴趣区(ROI), 每个感兴趣区面积应大于20±5mm², 并覆盖多于50个像素; 进行量化研究的数据为2个感兴趣区所测数据的平均值.

4、大体病理标本的制作及结果分析

实验完毕后, 立即处死实验动物, 整体摘取肝脏, 肉眼观察每层标本有无肿瘤组织、肿瘤切面形态、色泽等, 有无癌旁子灶及其大小、形态和数目; 然后将解剖标本用10%福尔马林浸泡、固定, 常规石蜡包埋, 切成厚4um切片, 制成常规HE染色切片及各种免疫组化切片.

5、VEGF检查的标本的制作及结果分析标准:

血管内皮生长因子检测采用链霉素-生物素-过氧化物连接法(streptavidin-biotin-peroxidase, SP法)进行免疫组化染色, (diaminobenzidinetetrahydrochloride, DAB, 二甲基联苯胺)显色试剂盒, 进行VEGF的检测和量化分析, 所用试剂盒均购自Roche公司. DAB显色, 苏木素复染, 常规脱水、透明、封片, 用已知阳性标本做阳性对照, 对照组有磷酸缓冲液(PBS)代替一抗.

6、统计分析:

量化结果的统计学分析在SPSSWindow13.0统计软件上进行, 其结果以平均数±标准差来表示. 各组参数均经过方差分析及基于方差分析的多重比较的方法, $P<0.05$ 认为组间有显著性差异.

结果

1、大体病理及HE染色病理结果:

所有对照组实验动物肝脏均未见肿瘤及其它异常病理改变.

四组实验组共16只新西兰大白兔均成功长出肿瘤; 在第14d、18d、22d、26d动态测量共计26个瘤灶, 分别为4个、11个、6个、5个瘤灶; 大小范围为0.3cm-3.9cm, 所测瘤灶位于肝左叶16个, 肝右叶10个, 实验组兔肝脏的瘤灶表现为单发10只, 多发6只.

实验组兔在肿瘤植入后第14d、18d、22d、26d的病理HE染色结果总结为: 种植时间较短的癌细胞呈巢状、梁索状排列, 结构尚清楚; 随着肿瘤种植时间的延长, 癌细胞增生更加活跃, 表现为细胞数目增多, 排列紧密, 杂乱, 核分裂增加; 肿瘤组织出现大小不一的灶性或片状坏死; 癌组织间出现血管和纤维结缔组织增生, 形成粗细不一、大小不等的条索状、束状, 分布于巢状、条索状等癌细胞结构之间, 部分切片可见癌细胞浸润纤维包膜, 并向肝组织播散, 形成肝内转移.

2、VEGF切片的光镜观察结果(高倍镜, ×200倍)

VEGF阳性染色多位于细胞质内, 细胞核的周围, 明显呈棕褐色; 癌旁肝组织及对照组正常肝组织呈阴性, 未见阳性表达, 均无阳性染色. 随着种植时间的延长, 癌细胞的VEGF数量有逐渐增多、丰富的趋势.

3、VEGF的量化分析结果:

实验组兔肝脏肿瘤病变及对照组兔肝脏的VEGF, 在第14d、18d、22d、26d分别为: 实验组0.967±0.058, 1.233±0.367, 1.383±0.117, 1.500±0.208; 对照组为0.

统计分析表明, 在第14d、18d、22d、26d, 实验组兔肝脏瘤灶与对照组兔肝脏组织的VEGF的F值为50.857, P值为0.000, 差异有非常的显著性. 总体比较四组间的实验组兔肝脏瘤灶VEGF差异不显著, 但实验组组间VEGF测定14d组与22d组、26d组间存在显著的差异, $P<0.05$, 18天组与26d组间存在显著的差异, $P<0.05$.

4、磁共振平扫及增强图像:

所有实验动物均成功进行磁共振扫描. 所有对照组实验动物在T1WI、T2WI及增强扫描动态各时期的扫描中均未见异常; 磁共振成像在不同时期共实际动态测量实验组兔共计16个瘤灶, 分别为4个、5个、3个、4个瘤灶; 大小范围为0.3cm-3.9cm.

主要结论

兔VX2肝癌模型选择14d、18d、22d、26d作为观测点进行动态量化研究的实验研究表明:

1、大体和免疫病理分析:

病理组织学分型多为梁索型、Edmonson-Steiner细胞分化程度多为Ⅲ级; 随着肿瘤生长时间的不断延长, 瘤内凝固性坏死和纤维增生、包膜浸润和肝内转移呈明显递增趋势, 其中凝固性坏死较纤维增生为早出现.

随着种植时间的延长, VEGF的阳性细胞染色逐渐增强; 实验组兔肝脏瘤灶与对照组兔肝脏组织的VEGF差异有显著性; 实验组兔肝脏瘤灶VEGF数量呈递增趋势.

2、磁共振平扫及增强扫描成像与病理对照:

实验组兔随着种植时间的延长, 肿瘤的坏死、纤维化越明显, 磁共振平扫信号不均匀, 强化越不均匀, 与病理组织学的改变基本一致, 因此肿瘤的磁共振平扫信号改变、增强形式的变化一定程度上可反映病理组织学的变化.

3、磁共振灌注成像量化分析:

随着种植时间的延长, 实验组兔肝脏瘤灶内的凝固性坏死和纤维增生的时序改变导致了灌注成像的MTE值呈递增趋势; MSI值呈递减趋势. PWI的MTE、MSI与VEGF有相同的变化趋势, MTE、MSI其变化在一定程度上反映VEGF的变化, 从而间接反映肿瘤血管生成的变化. 磁共振PWI的量化指标能够从血流动力学功能成像的角度较磁共振平扫及增强扫描成像, 提供更丰富的信息.

本研究表明,通过兔VX2肝癌模型动态PWI的MTE、MSI的量化分析,证明PWI对肝脏病变是一种非常敏感的功能性成像技术,能够在兔VX2肝癌模型病变的部分生长特性(包括血流动力学的信息)的动态监测等方面做出普通MRI平扫及增强成像无法做出的贡献;可为PWI进一步在临床应用,对肝脏疾病的诊断及鉴别诊断作出更为准确的结论,提供一定的理论指导。

8. 期刊论文 [范林军. 何振平. 马宽生. 黄晓兰. 李锐. 冯晓彬. 董家鸿. 兔肝VX2肿瘤移植模型的复制及其意义](#) -中国普外基础与临床杂志

2004, 11 (1)

目的探讨建立兔肝VX2肿瘤模型,为该模型的应用提供实验依据.方法采用VX2细胞株复制兔肝肿瘤模型,并改进其制作方法,观察其肿瘤的生长过程,并检测肝功能谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)及总胆红素(TB)在模型制作前、后不同时相的变化,同时观察脏器转移、组织病理学改变、影像学表现及实验动物的自然生存时间.结果接种后3周均可见到肿瘤生长,肿瘤直径为1.5~2.0cm左右,肿瘤接种成功率为100%;彩超检查显示肝脏有结节样增强回声,CT示肿瘤为低密度病灶,增强扫描见病灶不均匀强化.移植肿瘤外观呈灰白色,扣之质地较硬,无明显的包膜,剖开肿瘤中心可见灶性坏死;光镜下见肿瘤细胞核浆比例大,细胞排列紊乱,呈浸润性生长;动物接种后的自然生存时间为40~53d,死亡原因主要为肿瘤生长及转移引起的多脏器功能衰竭.结论兔肝VX2肿瘤从病理表现、病理过程及转移均与人肝癌相似,该模型具有容易复制、生长周期短、成功率高及模型稳定等特点,是一种较理想的肝肿瘤实验动物模型.

9. 期刊论文 [林根来. 王小林. 张大江. 杨振强. 魏瑞雪. 颜志平. 程洁敏. 姜莺. 兔VX2肝肿瘤模型制作及影像学随访方法](#) -中国中西医结合影像学杂志2003, 1 (1)

目的:介绍应用VX2细胞株制作兔移植性肝肿瘤模型,探讨兔VX2肝肿瘤模型在肝肿瘤实验研究中的应用价值.方法:VX2肿瘤细胞株接种于18只新西兰大白兔肝脏内,2周后将18只兔随机分为三组,分别用螺旋CT、B型超声、DSA检查肝脏,观察肿瘤生长情况.然后将其处死,进行病理学对照.结果:18只兔VX2肿瘤肝脏接种成功率100%,三种方法随访观察准确率为100%,没有出现假阳性和假阴性.结论:三种方法均可观察VX2肿瘤模型之肝脏病灶,均可应用于VX2肿瘤模型制作后的实验.

10. 学位论文 [杨坡 <'32>P碘化油乳剂治疗兔VX2肝癌模型的实验研究](#) 2008

目的:探讨VX2细胞株制作兔移植性肝癌模型的种植方式,建立兔VX2移植性肝癌模型,并分析该肿瘤的生长特性.评价经肝动脉内注射32P与碘化油乳剂对兔VX2肝癌动物模型的治疗效果,并与单纯注射碘化油组及单纯注射32P胶体组对比,观察各组血细胞术前后计数及肝功指标变化。

方法:1.模型建立:实验对象为新西兰大白兔30只,第一步将VX2种植瘤模型种兔(荷VX2瘤新西兰种兔)传代,将惠赠的VX2肿瘤株种植于种兔下肢腿部外侧,两周后待种兔种植包块达1cm后可获取肿瘤组织块。第二步将获取的VX2瘤块组织用眼科剪将其剪至1mm3的小块,采取开腹方式接种于肝脏。第三步影像学监测肿瘤生长:接种后10~14天行CT及MRI扫描,并行切开暴露股动脉插管,作DSA造影,观察肿瘤生长情况及生物学特征;2.把30只荷肿瘤兔随机分为三组进行肝动脉插管介入治疗,第1组单纯注射32P胶体,第2组注入碘化油与造影剂混合乳剂,第3组注入放射性核素32P与碘化油乳剂。药物的配制:第1组,抽取放射性核素32P胶体1ml与3ml生理盐水混合。未曾稀释的32P胶体放射性浓度为2mci/ml,混合后浓度为0.5mci/ml。第2组,抽取碘化油1~2ml经微导管缓慢注入,注入碘化油量可根据术中情况适当增减。第3组,抽取放射性核素32P胶体1ml与碘化油3ml混合震荡成均匀乳剂,放射性为0.5mci/ml。药物注射量:第1组和第3组根据肿瘤大小,按0.5mci/cm3注射药物;3.采血化验:各组均在治疗前、治疗后3天、7天作血细胞计数及肝功指标检查;4.CT监测:各组试验兔均在治疗前行CT平扫检查,并于治疗后7及14天再作CT检查,观察肿瘤缩小情况;5.治疗两周后对各组试验兔处死,取肿瘤组织制作病理切片,观察其治疗效果。

结果:1.肿瘤种植成功率为100%,接种后10~14天行CT及MRI扫描,可明显观察到肿瘤生长,14天左右,种植瘤直径可达到2cm大小。DSA造影可显示肿瘤有供血动脉,多数血供丰富;2.第3组动脉注入放射性核素32P与碘化油乳剂组肿瘤缩小明显,病理切片上组织学表现为肿瘤细胞弥漫性坏死,肿瘤坏死范围大,坏死率高;3.血细胞计数治疗前后三组无显著差别,三组治疗方式对外周血红细胞和白细胞计数无明显抑制作用;4.肝功指标:三组转氨酶及胆红素指标治疗前后变化以单纯注射32P胶体指标升高明显,与其他两组比较有显著意义,32P与碘化油乳剂组比单纯碘化油组略高,统计学无显著意义。

结论:移植性兔VX2肝癌是介入治疗实验研究较为理想的动物模型,综合影像评价有利于实验动物的筛选。采用开腹VX2瘤块组织直接植入种植于肝脏成功率高,影像学追踪监测显示肿瘤生长类似于原发性肝癌,是一种值得推广的介入治疗实验研究动物模型建立方法。32P碘化油乳剂提高了肿瘤局部放射性核素的浓度,使肿瘤局部照射剂量提高,同时减低了正常组织的照射剂量,实验证明经肝动脉超选择注射放射性核素32P与碘化油乳剂治疗兔VX2肝癌安全、有效。

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_jrfsxzz201003015.aspx

授权使用: qknfy(qknfy), 授权号: fbce6a92-497c-42ff-b0ab-9de900bc57a4

下载时间: 2010年9月6日