

• 实验研究 Experimental research •

兔 VX2 肝癌模型建立与经兔股动脉微导管超选择性肝左动脉插管技术的探讨

江雄鹰, 罗荣光, 黄金华, 苗碧建, 王 琰

【摘要】 目的 探讨开腹肝穿刺法建立兔 VX2 肝癌模型以及经兔股动脉微导管肝左动脉超选择性插管的可行性及技术特点。**方法** 健康新西兰大白兔 40 只, 开腹以 16G 腰椎穿刺针将 VX2 瘤组织块种植到兔肝左内叶。2 周后行螺旋 CT 扫描, 然后在兔一侧腹股沟区行股动脉鞘管置入, 在 DSA 引导下应用微导管行腹腔动脉造影, 分析兔腹腔动脉主要分支走行及肝脏肿瘤的 DSA 表现, 再行肝左动脉插管及肝癌相关实验研究。**结果** 经影像学及组织病理学检查证实 40 只实验兔肝肿瘤种植全部成功; 股动脉鞘管置入的成功率为 97.5%(39/40)。在此基础上腹腔动脉、胃肝动脉、肝总动脉、肝固有动脉、肝左动脉插管成功率分别为 100%(39/39)、100%(39/39)、100%(39/39)、94.9%(37/39)、71.2%(28/39)。每只实验兔的 X 线透视时间为 (6.9±3.0) min。**结论** 开腹直视下经穿刺针瘤组织块注入法是建立兔 VX2 肝癌模型稳定、可靠的方法。经兔股动脉鞘管置入微导管肝动脉插管技术能方便快捷的实现兔肝左动脉超选择性插管, 有效的解决了兔 VX2 肝癌动脉介入治疗时肝左动脉超选择性插管的技术难题。

【关键词】 兔; 肝肿瘤; VX2 肿瘤; 血管介入; 动脉插管

中图分类号: R735.7 文献标志码: B 文章编号: 1008-794X(2011)-03-0214-04

The establishment of implanted VX2 liver tumor model in rabbits and discussion on superselective left hepatic arterial catheterization with micro-catheter technique via femoral artery JIANG Xiong-ying, LUO Rong-guang, HUANG Jin-hua, MIAO Bi-jian, WANG Yan. State Key Laboratory of Oncology in Southern China; Department of Medical Imaging & Interventional Radiology, Cancer Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong Province 510060, China

Corresponding author: Huang Jin-hua, E-mail: hjinh@mail.sysu.edu.cn

【Abstract】 Objective To establish the implanted VX2 liver tumor model in rabbits and to discuss the feasibility and technical features of superselective left hepatic arterial catheterization by using micro-catheter through the femoral artery catheter sheath. **Methods** Forty New Zealand white rabbits were inoculated with fragments of VX2 tumor into the medial left lobe of liver by using a 16G lumbar puncture needle through laparotomic route. Two weeks later, all the rabbits were proved to be successfully inoculated with liver neoplasm on CT scanning. Then, the catheter sheath was inserted into one of the femoral arteries, which was followed by celiac artery angiography and left hepatic artery catheterization with a micro-catheter under DSA guidance in order to evaluate the main branches of celiac artery and the imaging manifestations of VX2 liver tumor. After that, some scheduled interventional experiments were carried out. **Results** Imaging examination and histopathologic study showed that the successful rate of implanted rabbit VX2 liver tumor was 100%(40/40). And the successful rate of the catheter sheath inserted to femoral artery was 97.5%(39/40). The successful rate of celiac artery, gastro-hepatic artery, common hepatic artery, proper hepatic artery and left hepatic artery catheterizations was 100%(39/39), 100%(39/39), 100%(39/39), 94.9%(37/39) and 71.2%(28/39) respectively. **Conclusion** To implant tumor tissue mass through laparotomy is a stable and

reliable method to establish rabbit VX2 liver tumor model. The insertion of micro-catheter through rabbit femoral catheter sheath approach is a convenient and simple technique to be carried out for the left hepatic artery catheterization and it can efficiently solve the

基金项目: 广东省科技计划项目 (2009B060700100)

作者单位: 510060 广州中山大学肿瘤医院影像与微创介入中心; 华南肿瘤学国家重点实验室 (江雄鹰、罗荣光、黄金华、苗碧建、王 琰); 南昌大学第一附属医院影像科 (罗荣光)

通信作者: 黄金华 E-mail: hjinh@mail.sysu.edu.cn

technical difficulties when performing the interventional treatment of the rabbit VX2 hepatic tumor via left hepatic artery approach. (J Intervent Radiol, 2011, 20: 214-217)

【Key words】 rabbit; liver neoplasm; VX2 tumor; vascular intervention; arterial catheter

随着肝癌介入治疗技术和器材的不断发展,以及临床实践的深入,以肝动脉灌注栓塞化疗为主的多种介入治疗方法已成为肝癌非手术治疗的首选方法^[1]。然而,介入治疗的许多基础理论、新技术方法的探索、新的治疗药物疗效的评估、相关不良反应的评价等均有必要通过包括动物实验在内的各种实验研究加以证实和解决。因此,建立稳定的肝癌动物模型和成功率高的兔肝动脉插管技术就显得尤为重要。本研究探讨开腹肝穿刺法建立兔 VX2 肝癌模型以及经兔股动脉鞘管置入后应用微导管插管技术实现肝左动脉超选择性插管,现将实验结果总结报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及瘤株 纯种新西兰大白兔 40 只,体重 2.2 ~ 2.8 kg,雌雄不限,由南方医科大学实验动物中心提供。VX2 瘤细胞株由中山大学实验动物中心提供。

1.1.2 影像设备 数字化多功能 X 线机 (Advantx TC+, GE), 双螺旋 CT 扫描机 (Picker CT-Twin Flash)。

1.1.3 器材 4 F 导管鞘 (Terumo, Japan), 4 F RH 导管 (Terumo, Japan), 3 F 微导管 (Terumo, Japan)。其他尚需备有眼科镊、眼科剪、16G 腰椎穿刺针等。

1.2 方法

1.2.1 模型制作 取保存于中山大学动物实验中心冰冻的兔 VX2 肿瘤细胞匀浆复苏后接种于兔右后肢外侧肌肉群内,制作成荷瘤兔。2 周后,手术方法将肿瘤从荷瘤兔肌肉群内取出,剔除坏死及纤维组织后取肿瘤边缘鱼肉样组织切成大小相近约 1 mm³ 的瘤组织块备用,行兔肝移植瘤接种前将 3 ~ 4 块瘤组织塞入 16 G 腰椎穿刺针内。经兔耳缘静脉按 0.1 ml/kg 注射速眠新 (长春军需大学兽医研究所生产) 麻醉,然后将兔取仰卧位固定于自制的小木板上,应用电推剪及微型吸尘器去除兔上腹部毛发。手术区消毒铺巾后于剑突下约 1 cm 处沿腹中线作长约 2 ~ 3 cm 切口,逐层分离组织,切开腹膜,用无菌棉签将肝左内叶轻柔挑出切口外,用湿盐水纱布保护并固定肝左内叶。将带有瘤组织块的腰椎

穿刺针在距肝左内叶下缘上方约 2 cm 处向肝叶最厚处插入约 2 cm,并缓慢推入针心,针心带外套旋转 2 ~ 3 周使瘤组织块与针尖末端分离,然后缓慢拔出穿刺针。针道伤口用干净的湿盐水纱布压迫止血,回纳肝脏,切口依次缝合。上述操作均在无菌条件下进行。术后连续 3 d 肌注青霉素 80 万 u,接种完成后实验兔寄养于中山大学实验动物中心由专业人员饲养。

1.2.2 影像学检查 于兔肝肿瘤接种 2 周后行腹部 CT 扫描,了解肝脏肿瘤形成情况。扫描前经兔耳缘静脉按 0.1 ml/kg 注射速眠新将其麻醉,然后将兔取仰卧位固定于小木板上。扫描条件:管电压 80 kV, 管电流 120 mA。经兔耳缘静脉留置针按 1.5 ml/kg 团注泛影葡胺,注射速率 0.5 ml/s,延迟 10 ~ 15 s、30 ~ 35 s 行肝动脉期、门脉期增强扫描。

1.2.3 肝左动脉插管操作 CT 扫描后,应用电推剪及微型吸尘器去除兔腹股沟区毛发,消毒铺巾后沿一侧股动脉鞘区切开皮肤 2 ~ 3 cm。分离皮下组织,暴露并剪开股动脉鞘,分离出长约 1.5 ~ 2 cm 的股动脉。远端用丝线结扎,近端穿丝线并将其稍提紧使股动脉血流暂时阻断。用眼科镊夹起股动脉壁外侧,再用眼科剪在股动脉壁内侧剪一小口。将引导导丝沿破口插入股动脉,顺导丝将 4F 导管鞘缓慢推入股动脉内约 2.0 cm。然后用丝线将导管鞘固定于股动脉,拔出导丝及动脉鞘内套管,将剪短的 4 F 导管 (保留导管长度略长于导管鞘) 引入导管鞘内,然后经 4 F 导管缓慢引入 3 F 微导管。DSA 引导下先行上段腹主动脉造影,然后于 L1/L2 椎间隙平面寻找腹腔动脉,再沿腹腔动脉依次行胃肝动脉、肝总动脉、肝固有动脉、肝左动脉插管。记录每只实验兔肝左动脉插管的 X 线透视时间。实验完毕拔出 3 F 微导管、4 F 导管、导管鞘后结扎股动脉,然后缝合手术切口。术后连续 3 d 肌注青霉素 80 万 u。

2 结果

2.1 兔股动脉置管及肝左动脉超选择插管

40 只实验兔股动脉置管成功率为 97.5 % (39/40), 其中 38 只为单侧股动脉置管成功, 1 只在单侧股动脉置管失败后改行对侧股动脉置管成功, 1 只双侧股动脉置管均失败。3 F 微导管行腹腔动脉、胃

肝动脉、肝总动脉、肝固有动脉、肝左动脉插管,成功率分别为:100% (39/39);100% (39/39);100% (39/39);94.9% (37/39);71.2% (28/39)。上段腹主动脉造影显示 26.6% (10/39)的腹腔动脉开口于 L1 椎体水平腹主动脉前壁或左前壁,74.4% (29/39)开口于 L1/L2 椎间隙水平。腹腔动脉分出后分为肝胃动脉和胃脾动脉。48.7% (19/39)的胃肝动脉呈鱼叉样分为 3 支,从右到左分别为胃十二指肠动脉、肝总动脉、胃左动脉。肝总动脉向左上延伸为肝固有动脉,肝右动脉向右上发出,管径较细小,与肝固有动脉成角较大,肝左动脉是肝固有动脉的直接延伸。48.7% (19/39)实验兔胆囊呈结节状显影,所见胆囊动脉均由肝右动脉分出。其中 3 只 (7.7%)实验兔在超选择肝左动脉过程中出现动脉破裂,对比剂溢入腹腔内。每只实验兔肝左动脉插管的 X 线透视时间为 (6.9 ± 3.0) min。

2.2 兔肝肿瘤影像与组织病理学评价以及种植成功率

肿瘤种植 2 周后,CT 平扫见肝内瘤灶呈单一类圆形,位于肝左内叶,等或低密度,中心坏死区密度

更低;动脉期 57.5% (23/40)病灶表现为边缘完整环形强化,25% (10/40)病灶为不完整环形强化,17.5% (7/40)病灶为较均匀轻度强化;门脉期病灶强化密度较前稍有减低,低于周围肝实质(图 1)。肿瘤最大径 (10.0 ± 1.8) mm,最小径 (8.1 ± 1.6) mm。肝内瘤灶的 DSA 主要表现为肝左动脉分出的肿瘤滋养血管增粗、排列紊乱,部分深入肿瘤内部,肿瘤部位血管网密度较高。当肿瘤体积较大时,粗大的供血动脉被推压呈“抱球状”,其中 59.0% (23/39)病灶动脉造影呈结节样染色。解剖肝脏肿瘤组织大体标本呈灰白色结节,突出肝表面,与周围肝组织分界较清。HE 染色低倍镜下肿瘤细胞在肝内浸润性生长,呈巢状分布,癌巢间质内可见丰富的血管和纤维间隔,细胞呈类圆形、梭形或不规则形,排列紊乱。高倍镜下肿瘤细胞体积较大,胞质丰富,核大而深染,形态不规则,染色不均,核分裂像多见,间质内见少量淋巴细胞、浆细胞等炎性细胞浸润(图 2)。结合影像学及病理组织学检查,肿瘤种植成功率为 100% (40/40)。



a CT 平扫肿瘤为类圆形低密度区

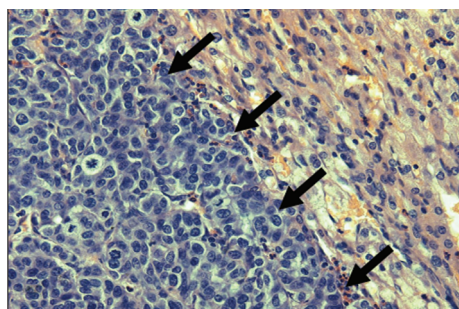


b 动脉期肿瘤为边缘完整环形强化的结节



c 门脉期肿瘤强化密度减退,低于周围肝实质

图 1 肝脏肿瘤 CT 表现



肿瘤细胞呈巢状分布,形态呈圆形、梭形或不规则形,核大深染,异形性明显(箭头)(HE $\times 400$)

图 2 种植瘤组织学表现

3 讨论

肝癌的动物模型中,兔的 VX2 模型是目前最成

熟、最常用的肝癌模型,也是针对人类肝癌动脉介入性研究理想的动物模型^[2]。兔 VX2 肝癌模型的制作方法主要有瘤细胞悬液直接注射法和瘤组织块接种法^[2-3]。瘤细胞悬液接种后由于肿瘤细胞较少,容易扩散,成瘤率低,易于导致腹腔广泛转移,肝内多发结节以及较早的远处转移,个体间差异比较大,目前已逐步被瘤组织块接种法所代替^[4]。瘤组织块接种法包括经皮肝穿刺瘤组织块注入法、开腹直视下瘤组织块注入法、开腹直视下肝组织内包埋法。经皮肝穿刺瘤组织块注入法较少应用。国内学者曾报道开腹直视下瘤组织块注入法和开腹直视下肝组织内包埋法的成瘤率无明显差异^[5]。朱光宇等^[6]采用直视下瘤块注入后用明胶海绵封堵穿刺通

道法及开腹直视下瘤块注入后局部压迫法建立兔肝 VX2 肝癌模型,成功率均为 100%。这 2 种方法稳定而可靠,具有成瘤率高,所成肿瘤多为单一病灶,形态较规则,种植 2 周后肝内及远处转移少见等优点。本研究采用直视下 16G 腰椎穿刺针瘤组织块注入后局部压迫法建立兔 VX2 肝癌模型,均未出现肝内转移及腹腔种植,也同样证实了直视下肝穿刺瘤块注入建立兔肝 VX2 肝癌模型方法的可靠性。

研究认为肿瘤组织于肝脏成活后呈指数性生长^[67],2~3 周生长最旺盛,4 周后肿瘤中心出现大片坏死区,常可出现肝内、双肺和腹腔淋巴结转移,此阶段为供瘤血管稳定期。故我们进行的肝癌经肝左动脉介入实验研究安排在肿瘤种植后 2 周进行,此阶段相关影像学检查容易发现病灶,而且未见明显的远处种植或肝内转移。

文献报道兔 VX2 肝动脉插管的方法主要有 2 种^[8]:①开腹经肝动脉切开顺行插管或胃十二指肠动脉逆行插管法;②经股动脉超选择肝动脉插管法。周承凯等^[9]认为上述第 1 种方法难度较大、操作成功率低、手术切口较大、术后恢复慢,易导致动物死亡和发生严重并发症。因此他们对第 1 种方法加以改进,采用开腹下肝动脉细针直接穿刺楔入法插管和超选插管成功率高、并发症少、术后动物存活率高。但我们对该技术方法并不完全认同。我们采用经股动脉置入 4 F 导管鞘,再经鞘管引入剪断的 4 F 导管及 3 F 微导管进行兔肝左动脉超选择插管,肝左动脉超选择成功率达 71.2%。我们采用的方法和步骤具有以下优点:①与临床肝癌经肝动脉介入治疗插管技术基本相同,实验兔所受创伤少,术后恢复快,成活率高。②微导管不易损坏,利于微导管消毒处理后的重复使用。③兔肝解剖结构与人不同,其左叶体积明显大于右叶,左肝动脉也较粗大。瘤块接种于肝左叶更易成功,同时也有利于建模后的实验研究^[10]。我们的方法为肝癌经肝动脉介入治疗研究提供有效的超选择性插管技术。④由于将导管鞘置入到股动脉的同时引入剪短的 4 F 导管,便于用微导管对兔不同器官经动脉介入插管的实验研究。

有学者报道经股动脉透视下采用微导管插管肝总动脉过程中,由于微导管头端没有角度,直接采用微导管插管通常十分困难,需先采用 4 F 导管插管腹腔动脉后再导入微导管,其插管至肝左和肝右动脉的合计的成功率为 96.9%^[11]。而我们利用微导丝引导微导管插管,微导丝末端有角度,其方向

选择性强,插管阻力小,对血管的损伤轻。我们的靶血管为肝左动脉,单纯插管肝左动脉成功率达 71.2%。由于肝右动脉管径较肝左动脉细小,且与肝固有动脉成角较大,有时呈直角发出,而肝左动脉常为肝固有动脉的直接延伸,因此肝左动脉插管难度相对较小。孔健等^[12]报道兔经股动脉插管行肝动脉超选择的曝光时间为 (44.3 ± 10.7) min,而本实验组的曝光时间为 (6.9 ± 3.0) min。本实验曝光时间更短的原因可能是我们采用经兔股动脉鞘管置入微导管肝动脉插管技术,使插管过程方便、快捷。

[参考文献]

- [1] Camma C, Schepis F, Orlando A, et al. Transarterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma: meta-analysis of randomized controlled trials [J]. Radiology, 2002, 224: 47 - 54.
- [2] 席占国,孙聚保,陈梅,等.兔 VX2 肝癌模型制作方法改进及影像学评价[J].中国医学影像技术,2008,24: 185 - 188.
- [3] Lin WY, Chen J, Lin Y, et al. Implantation of VX2 carcinoma into the liver of rabbits: a comparison of three direct-injection methods[J]. J Vet Med Sci, 2002, 64: 649 - 652.
- [4] 朱光宇,滕皋军,牛焕章,等.兔 VX2 肝癌模型建立方法的比较及股动脉插管方法的应用[J].中国医学影像技术,2006,22: 1785 - 1788.
- [5] 斯光晏,周石,王学建,等.两种兔肝 VX2 模型建立方法的比较及对介入治疗的意义[J].中国临床医学影像杂志,2008,19: 391 - 394.
- [6] 李智,倪才方,董凤林,等.兔 VX2 肝癌模型的建立及其生长转移特性的观察[J].介入放射学杂志,2009,18: 691 - 694.
- [7] 曹玮,王执民,张洪新,等.兔 VX2 肝癌模型的种植方式及生长特性的研究[J].实用放射学杂志,2003,19: 97 - 99.
- [8] 关键,胡道予,孙振纲,等.兔 VX2 肝癌 TAE 实验方法改良及影像学评价[J].临床放射学杂志,2006,25: 277 - 280.
- [9] 周承凯,梁惠民,李欣,等.实验兔 VX2 肝肿瘤模型制作及动脉插管技术探讨[J].介入放射学杂志,2006,15: 101 - 104.
- [10] Hong K, Kobeiter H, Georgiades CS, et al. Effects of the type of embolization particles on carboplatin concentration in liver tumors after transcatheter arterial chemoembolization in a rabbit model of liver cancer[J]. Vasc Interv Radiol, 2005, 16: 1711 - 1717.
- [11] 许卫国,谭国胜,彭秀斌,等.兔肝动脉插管技术的方法学及 DSA 表现[J].世界华人消化杂志,2009,17: 2612 - 2615.
- [12] 孔健,冯敢生,许林锋,等.兔肝动脉化疗栓塞术实验方法学的对比性研究[J].临床放射学杂志,2003,22: 244 - 247.

(收稿日期:2010-08-27)