

• 实验研究 Experimental research •

CT 引导下套管针种植法制作兔双灶肝癌模型的评价

邵海波, 徐克, 苏洪英, 戴旭, 杨庆, 周玮, 李卫校, 韩向军

【摘要】 目的 探讨 CT 引导下经皮套管针种植法制作兔双灶肝癌模型的可行性。**方法** 将 30 只健康新西兰大白兔随机分为 2 组, 种植 VX2 瘤细胞株。经皮穿刺种植组采用 CT 引导下经套管针穿刺种植法, 开腹组采用传统的开腹种植法, 于兔肝左、右叶各种植 1 处肿瘤, 制成双灶肝癌模型。2 周后进行 MRI 扫描, 对比两组单、双灶成瘤率、成瘤满意度、肿瘤体积、种植肿瘤的操作时间、动物死亡率及腹腔种植转移率。**结果** 单灶成瘤率穿刺组为 80.0%, 开腹组 83.3%, 两组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 双灶成瘤率和成瘤满意度为穿刺组 73.3%, 开腹组 75.0%, 两组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 肿瘤种植满意度穿刺组 80.0%, 开腹组 33.3%, 两组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 肿瘤体积在经皮穿刺组为 $(1\,695 \pm 970) \text{ mm}^3$, 开腹组为 $(1\,790 \pm 1\,080) \text{ mm}^3$, 两组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 平均操作时间为穿刺组为 $(14.6 \pm 7.3) \text{ min}$, 开腹组 $(37.3 \pm 21.7) \text{ min}$ ($P < 0.05$); 实际动物死亡率在经皮穿刺组为 0, 开腹组为 20.0% ($P > 0.05$); 腹腔种植转移率在穿刺组为 20.0%, 开腹组为 0, 两组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论** CT 引导下经皮套管针种植法制作兔双灶肝癌模型成瘤率高, 模型的满意度高, 操作简便、省时, 尽管腹腔种植转移发生率稍高, 仍是一种较好的、可以替代开腹种植肿瘤的方法。

【关键词】 双灶肝癌模型; VX2; CT 引导; 套管针

中图分类号: R73.354 文献标志码: B 文章编号: 1008-794X(2011)-04-0292-04

Preparation of bifocal hepatic VX2 tumor model in experimental rabbits by using CT-guided trochar implantation technique SHAO Hai-bo, XU Ke, SU Hong-ying, DAI Xu, YANG Qing, ZHOU Wei, LI Wei-xiao, HAN Xiang-jun. Department of Radiology, the First Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110001, China

Corresponding author: XU Ke, E-mail: kexu@vip.sina.com

【Abstract】 Objective To discuss the feasibility of CT-guided tumor cell implantation through trochar to establish bifocal hepatic VX2 tumor model in experimental rabbits. **Methods** Thirty healthy New Zealand rabbits were randomly divided into two groups: percutaneous puncture group and laparotomy group. CT-guided tumor cell implantation through trochar was carried out for the rabbits in percutaneous puncture group, while conventional tumor cell implantation was performed for the rabbits in laparotomy group. Tumor cells were implanted into both right and left hepatic lobes to create bifocal hepatic VX2 tumor model in experimental rabbits. MRI was performed two weeks after the procedure. The unifocal and bifocal tumor formation rate, tumor satisfaction rate, tumor volume, operating time, death rate and abdominal implantation metastasis rate were observed, the results were compared between two groups. **Results** The unifocal tumor formation rate for percutaneous puncture group and laparotomy group was 80.0% and 83.3% respectively ($P > 0.05$). The bifocal tumor formation rate for percutaneous puncture group and laparotomy group was 73.3% and 75% respectively ($P > 0.05$). The tumor satisfaction rate for percutaneous puncture group and laparotomy group was 80.0% and 33.3% respectively ($P < 0.05$). The operation time was shorter in percutaneous puncture group than in laparotomy group [$(14.6 \pm 7.3) \text{ min}$ vs. $(37.3 \pm 21.7) \text{ min}$, $P < 0.05$]. The tumor volume for percutaneous puncture group and laparotomy group was $(1\,695 \pm 970) \text{ mm}^3$ and $(1\,790 \pm 1\,080) \text{ mm}^3$ respectively ($P > 0.05$). No significant difference in death rate existed between two groups (0% vs. 20%, $P > 0.05$). The

基金项目: 辽宁省教育厅创新团队项目(2008T206)、辽宁省教育厅重点实验室项目(2009S110)

作者单位: 110001 沈阳 中国医科大学附属第一医院放射科(邵海波、徐克、苏洪英、戴旭、周玮、李卫校、韩向军); 鞍山市中心医院普外二科(杨庆)

通信作者: 徐克 E-mail: kexu@vip.sina.com

abdominal implantation metastasis rate for percutaneous puncture group and laparotomy group was 20% and 0% respectively ($P > 0.05$). **Conclusion** In preparing bifocal hepatic VX2 tumor model in experimental rabbits, CT-guided tumor cell implantation through trochar can provide higher tumor formation rate as well as tumor satisfaction rate. This technique is time-saving and easily-manipulated. It can be used as an alternative for conventional laparotomy implantation method although it carries higher abdominal implantation metastasis rate. (J Intervent Radiol, 2011, 20: 292-295)

【Key words】 bifocal liver tumor model; VX2; CT-guidance; trochar

兔肝 VX2 移植瘤模型已广泛应用于肝脏肿瘤的影像诊断与介入治疗的实验研究中^[1-3]。模型的制作方法已有较多报道^[4-5]，多为单灶肝癌模型，制作方法简单。为了拓宽该模型的应用范围，增加应用价值，我们应用 CT 引导下套管针种植法制作了兔双灶肝癌模型，报道如下。

1 材料与方法

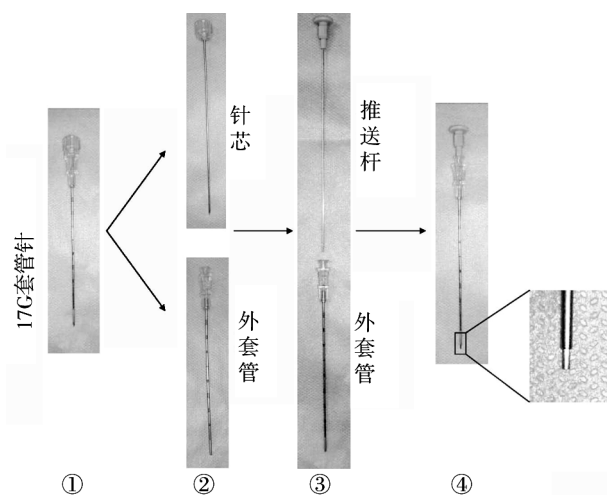
1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 健康新西兰大耳白兔 30 只，体重 2.5 ~ 3.5 kg，雌雄不限，随机分为两组，经皮穿刺组及开腹组，每组 15 只。

1.1.2 VX2 瘤株 辽宁省介入治疗与器材开发重点实验室提供。

1.1.3 器材和试剂

1.1.3.1 17 G × 9.9 cm 套管针为 MD TECH (美国 Angiotech 公司生产)(图 1);明胶海绵;剪刀、镊子等。



①17 G 临床用套管针;②穿刺成功后拔出针芯,留置外套管;③将瘤块放入外套管外口,以推送杆推入外套管内;④推送杆超出外套管 1 cm,因此推送后撤出外套管,瘤块即留置在肝内

图 1 经皮套管针穿刺种植肿瘤示意图

1.1.3.2 麻醉药品:速眠新(中国军事医学科学院长春兽医研究所)0.2 ml/kg 及 3%戊巴比妥钠(Sigma 公司生产)0.5 ml/kg 肌肉注射。如果实验时间超过

1 h,按 0.5 ml·kg⁻¹·h⁻¹ 追加戊巴比妥钠。

1.1.3.3 CT 扫描仪:日本东芝公司 4 排螺旋 CT

1.1.3.4 MR 扫描仪:美国 GE 公司 signa3.0T MR 扫描仪,膝关节正交线圈。

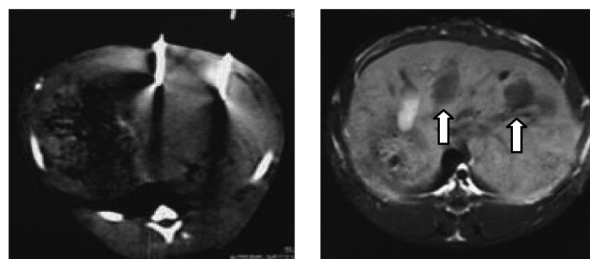
1.2 实验方法

两组肿瘤种植由 2 名有经验的实验技术人员完成,技术人员既往有多年开腹种植肿瘤的经验,实验前进行了 CT 引导下经皮种植法的培训。

1.2.1 CT 引导下经皮套管针穿刺种植法 将动物麻醉后仰卧位固定于扫描架上,腹部剃毛,乙醇消毒,进行肝脏 CT 扫描后,于工作站断层图像在肝脏左右叶各选择一处肿瘤种植点,测量进针深度及角度并记载相应层面对应的床位,在 CT 扫描架激光定位线指引下标出进针点,按测定的角度深度送入套管针,再行 CT 扫描确认进针部位是否满意,满意后抽出针芯,将约 2 mm³ 的 VX2 瘤块用镊子送入套管针尾部,以推送杆将瘤株推入,再以相同方式推入直径约 2 mm 明胶海绵条 1 条,拔针,穿刺点压迫 1 min。

1.2.2 开腹种植法 兔麻醉后仰卧位四肢固定,剑突下腹正中线作 4 cm 的切口,进入腹腔,充分暴露肝脏,于左右叶各选择一处用刀片在肝表面作长约 0.5 cm,深约 1 cm 的切口,用镊子将约 2 mm³ 的 VX2 瘤块小心送入,立即用组织胶封口,确认瘤块未流出以及无出血后关腹。

1.2.3 MR 成像 2 周后全部动物进行肝脏 MRI 扫描 T1WI、T2WI 成像,评价肝脏成瘤情况(图 2)。



2a CT 引导下于兔左右肝各选择一点植入套管针 2b 2 周后在种植部位长出 1 ~ 2 cm VX2 肿瘤(白箭)

图 2 经皮种植肿瘤的示意线图及实物图

1.2.4 观察指标 记录各组种植肿瘤的操作时间、计算动物死亡率,2 周后根据 MR 图像计算各组单灶及双灶成瘤率、肿瘤大小、腹腔种植转移率,评价肿瘤种植的满意度(用于影像诊断和介入治疗)。

1.2.4.1 单灶成瘤率:到 MR 扫描时可用于评价的各肝脏肿瘤种植处肿瘤生长的比率。

1.2.4.2 双灶成瘤率:到 MR 扫描时可用于评价的各动物左右叶瘤灶同时生长的比率。

1.2.4.3 肿瘤种植的满意度评价:从影像学研究和介入放射学研究角度出发,主观评价肿瘤种植位置、形态、大小在进行实验研究中的满意程度,由 1 名有丰富实验研究经验的放射学专家根据 MR 图像盲法评定,分为满意、一般、不满意 3 个等级。

1.2.4.4 肿瘤体积:在 MR T2WI 图像上测得的肿瘤体积,选择所有包含肿瘤的层面,使用 FREE HAND 功能沿肿瘤边缘勾画出每一层面肿瘤覆盖区的感兴趣区(ROI),软件自动计算该 ROI 的面积,再将所有层面 ROI 面积相加,然后乘以层厚和间隔的总和,便得出肿瘤体积。

1.2.4.5 种植肿瘤操作时间:动物麻醉满意后开始种植肿瘤到全部操作结束的时间。

1.2.4.6 死亡率:操作开始到 MR 扫描前两组因各种原因动物死亡的比率。

1.2.4.7 腹腔种植转移率:MR 图像上于肝脏外生长肿瘤的比率。

1.3 统计学分析

应用 Graphpad Prism 5.0 软件进行统计学分析。计量资料采用独立样本 t 检验,计数资料采用 Fisher's 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 单灶成瘤率

经皮穿刺组共种植 30 处,成瘤 24 个,成瘤率为 80%;开腹组种植 30 处,可评价 24 处(3 只动物死亡),成瘤 20 个,成瘤率为 83.3%。两组成瘤率差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 双灶成瘤率

经皮穿刺组 15 只动物中肝左右叶双侧成瘤 11 只,单侧成瘤 2 只,未长肿瘤 2 只,双侧成瘤率 73.3%。开腹组 12 只动物中双侧成瘤 9 只,单侧成瘤 2 只,未长肿瘤 1 只,双侧成瘤率 75.0%,双侧成瘤率两组间差异也无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 肿瘤种植的满意度

经皮穿刺组 15 例中满意 12 例(80.0%),一般 2

只(13.3%),不满意 1 只(6.7%)。开腹组 12 只中满意 4 只(33.3%),一般 6 只(50.0%),不满意 2 只(16.7%)。经皮穿刺组的肿瘤种植满意度明显高于开腹组,两组差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.4 肿瘤体积

经皮穿刺组肿瘤平均体积($1\,695 \pm 970$) mm^3 ,开腹组肿瘤平均体积为($1\,790 \pm 1\,080$) mm^3 ,两组间差异无统计学意义($t = 0.91, P > 0.05$)。

2.5 肿瘤种植操作时间

经皮穿刺组平均操作时间为(14.6 ± 7.3) min,开腹组平均操作时间为(37.3 ± 21.7) min,两组间差异有统计学意义($t = 2.53, P < 0.05$)。

2.6 死亡率

种植肿瘤后 14 d 行 MR 扫描时,经皮穿刺组动物无死亡,死亡率为 0。开腹组于肿瘤种植术中死亡 2 只,1 只死于麻醉,1 只死于腹腔出血。术后 2 d 死亡 1 只,死因不明,可疑为术后感染,死亡率为 20.0%(3/15)。两组动物死亡率差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.7 腹腔种植转移率

经皮穿刺组共发现有 3 只腹腔种植转移,腹腔种植转移率为 20.0%(3/15),开腹组存活的 12 只中未发现腹腔种植转移,腹腔种植转移率为 0,两组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

VX2 肿瘤细胞是一种可接种到兔的肌肉、内脏等部位的中分化鳞癌瘤细胞株,通过种植的方法制成兔肝 VX2 肿瘤模型,其生物学行为类似人类肝癌,是模拟人类肝癌较为理想的肿瘤细胞株之一。

近年来,出现了多种兔 VX2 肝癌模型制作方法^[3-5],如开腹直接种植法、经皮穿刺瘤细胞悬液种植法,经皮穿刺瘤块种植法等,模型多为肝内单灶肿瘤,制作方法相对简单。我们在进行影像学和介入放射学实验的过程中,有些实验设计应用到了兔双灶肝癌模型,该模型是在兔肝的左右叶各种植 1 处肿瘤,对 2 处肿瘤分别采取不同的干预措施,如左叶病灶进行射频消融治疗,右叶病灶作为对照,又如在 TACE 治疗中分别应用不同栓塞剂栓塞左右叶病灶比较两种栓塞剂的效果等,因此如果对于对生存期无要求的实验设计,双灶肝癌模型是一种非常理想的模型。该模型的优点在于:①节省动物;②在同一只动物体内进行实验与对照处理,增加了结果的可信度;③可在同一影像学图像上观察不同

干预措施的病灶变化,对比鲜明。但是,该模型的制作相对复杂,兔肝相对较小,要在左右叶精确地选择种植点较难,2 个肿瘤种植点不能靠得太近,否则容易融合生长,又不宜离得太远,这样不利于影像学观察与对比。我们曾用开腹的方法种植,成功率特别是成瘤的满意度较低。其原因在于开腹后需将肝脏拉出,解剖位置发生变化,种植的位置无法直观判断,另外肝脏被拉出后肝叶变薄,种植时因担心肝叶被戳穿,种植位置往往较浅,这样在肿瘤长大时会贴近腹壁,这在进行某些实验如经皮介入治疗时存在一定困难。

受到临床 CT 引导下经皮穿刺活检的启发,在 CT 引导下种植肿瘤,取得了比较满意的效果。在 CT 定位后,即可在图像上选择成瘤的位置,这与随后进行的影像学或介入放射学实验的位置相同,穿刺种植也不改变肝脏的解剖位置,因此肿瘤种植的精确度比较高。另外,本实验成瘤满意度高也得益于动物固定扫描架的应用,该扫描架可将兔的体位固定于标准的仰卧位姿态,聚乙烯的材质适合 MR 扫描。实验应用的套管针其外径为 17 G,壁薄,内径宽,易于输送瘤块,长度为 9.9 cm。配合使用 14 G 骨钻针中的推送杆,其长度与直径刚好与套管针外套管相吻合,长度超出外套管约 1 cm,可将瘤块轻松推出套管,种植在拟定的位置。穿刺组成瘤率和开腹种植相当,而成瘤的满意度显著高于开腹组,两组肿瘤体积也无显著差异,而在操作时间上,经皮种植明显快于开腹种植。

开腹直接种植是 VX2 细胞株种植最为常用的方法^[4],这种方法是开腹暴露肝脏后直接将瘤块或瘤细胞悬液种植在肝脏内,其优点是种植过程直观、确切,可确保肿瘤种植在肝内。但是,由于该方法操作过程比较烦琐,需要一定的外科基础。本实验中尽管实验操作者有多年开腹种植 VX2 肿瘤的经验,仍有 1 只动物腹腔出血而死亡。另外操作时间比较长,因此需要比较长的麻醉时间和较大量的麻醉药物,这在一定程度上增加了麻醉意外的可能性,本实验开腹组有 1 只动物死于术中麻醉意外,该例操作时间相对较长,我们观察到动物在追加麻醉药物后呼吸逐渐停止。另 1 只动物术后死亡也怀

疑与麻醉有关。

因为经皮穿刺种植肿瘤限制了器材与肝脏的直接接触,因而较多的使用了经细针穿刺注射瘤细胞悬液的方法,尽管定位准确但瘤细胞悬液有时难以保证注射到种植部位的细胞足够使肿瘤生长,且液体易流向其他部位造成肿瘤易位和种植。有些文献也报道了使用套管针穿刺后种植瘤块的方法,但 these 方法或因为套管针太细或太软、或因为推送装置不匹配(如使用导丝推送,过于柔软)等原因造成瘤块难以进入、种植的成功率偏低或操作困难^[6]。

实验中,经皮种植的缺点是有 3 例出现了腹腔种植转移(20.0%),分析原因是尽管我们应用明胶海绵封堵了穿刺道,仍可能会有瘤细胞沿窦道流入腹腔,另外拔出套管时也有腹腔种植的危险。相比之下,开腹组因肿瘤种植后以组织胶封口,确保无肿瘤组织流出后再行关腹,因此无肿瘤种植转移发生。

总之,对于制作兔 VX2 肿瘤模型,尽管有稍高的腹腔种植转移发生率,经皮种植肿瘤法成功率、成瘤率高,操作简便、省时、安全,模型的满意度高,是一种可以替代开腹种植肿瘤的方法。

[参 考 文 献]

- [1] Nitta N, Sonoda A, Seko A, et al. A combination of cisplatin-eluting gelatin microspheres and flavopiridol enhances anti-tumour effects in a rabbit VX2 liver tumour model [J]. Br J Radiol, 2010, 83: 428 - 432.
- [2] Deng J, Virmani S, Yang GY, et al. Ntraprocedural diffusion-weighted PROPELLER MRI to guide percutaneous biopsy needle placement within rabbit VX2 liver tumors [J]. J Magn Reson Imaging, 2009, 30: 366 - 373.
- [3] 蹇兆成,孙业全,王 滨,等. 内皮抑素在兔 VX2 肝移植瘤介入治疗中的应用价值[J]. 介入放射学杂志, 2009, 18: 285 - 289.
- [4] 韩志刚,程红岩,胡海洋,等. 兔 VX2 肝癌模型的制作及 CT、MRI 表现[J]. 中国介入影像与治疗学, 2007, 4: 61 - 65.
- [5] 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.
- [6] 何东风,徐 克,蒋宝国,等. 兔 VX2 肝癌改良模型的建立及螺旋 CT 评价[J]. 中国医学影像技术, 2005, 21: 1873 - 1876.

(收稿日期:2010-08-24)