

## • 实验研究 Experimental research •

两种方法建立兔 VX<sub>2</sub> 肝癌模型的比较及影像学评估

钱 亭, 陈茂振, 高 峰, 尹化斌

**【摘要】 目的** 比较两种方法建立兔 VX<sub>2</sub> 肝癌模型的成瘤情况及 CT、DSA 表现。**方法** 采用新西兰白兔 40 只, 随机分成 A、B 两组, 每组 20 只。A 组采用开腹包埋植入 VX<sub>2</sub> 瘤块, B 组采用 CT 引导下穿刺种植 VX<sub>2</sub> 瘤块, 术后 2 周行 CT 及 DSA 检查。**结果** A 组成瘤率为 50% (10/20), B 组为 85% (17/20), 组间差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与 A 组相比, B 组操作简单、成瘤率高。两组 CT 及 DSA 造影表现一致。**结论** 两种方法建立的兔 VX<sub>2</sub> 肝癌模型的 CT 及 DSA 影像学表现无差别, CT 引导下经皮穿刺种植法的应用优于开腹种植。

**【关键词】** 肝肿瘤; VX<sub>2</sub> 肿瘤; 影像学评估; 动物模型

中图分类号: R735.7 文献标志码: B 文章编号: 1008-794X(2014)-01-0058-04

**Comparison of two methods used in establishing VX-2 liver tumor model in rabbits and their imaging evaluation** QIAN Ting, CHEN Mao-zhen, GAO Feng, YIN Hua-bin. Department of Radiology, Shanghai Municipal Fifth People's Hospital, Shanghai 200240, China

Corresponding author: YIN Hua-bin

**【Abstract】 Objective** To compare the establishment of VX<sub>2</sub> liver tumor model in rabbits by using two different methods, and to discuss their CT and DSA features. **Methods** Forty New Zealand white rabbits were randomly and equally divided into two groups. Rabbits in group A ( $n = 20$ ) received implantation of tumor lump after abdominal laparotomy to establish implanted VX<sub>2</sub> liver tumor model, while rabbits in group B received tumor lump through percutaneous puncture implantation under CT guidance. CT and DSA examinations were performed two weeks after the procedure. **Results** The success rate of tumor implantation in group A and group B was 50% (10/20) and 85% (17/20) respectively. The difference between the two groups was statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with group A, in group B the manipulation was simple and the success rate of tumor implantation was higher. The CT and DSA manifestations of the two groups were quite the same. **Conclusion** The rabbit VX<sub>2</sub> liver tumor models established with two different methods have the same imaging features on both CT and DSA. CT-guided percutaneous puncture implantation method is superior to laparotomy implantation method. (J Intervent Radiol, 2014, 23: 58-61)

**【Key words】** liver tumor; VX<sub>2</sub> tumor; imaging evaluation; animal model

VX<sub>2</sub> 肝癌模型已广泛应用于介入治疗的实验研究, 其造模方法有多种, 常用的有开腹包埋及穿刺种植两种<sup>[1]</sup>。本实验对两种建模方法进行比较, 筛选简单、有效的模型制作方法, 并探讨其影像学表现。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及分组

新西兰白兔 40 只, 雌雄不限, 体重 2.0 ~ 3.0 kg, 购自上海国睿生命科技有限公司。荷瘤兔由上海市第九人民医院提供。将动物随机分成 A、B 两组, 每组 20 只。A 组采用开腹包埋植入 VX<sub>2</sub> 瘤块, B 组采用 CT 引导下穿刺种植 VX<sub>2</sub> 瘤块。

### 1.2 VX<sub>2</sub> 瘤株的制备

采用盐酸氯胺酮(福建古田药业有限公司):陆眠宁Ⅱ(1.5 ml:30 mg,吉林省华牧动物保健品有限公司)1:1 混合液(0.2~0.3 ml/kg)肌肉注射麻醉荷瘤兔,常规备皮、消毒、铺洞巾,于兔后肢外侧逐层分离至肌肉,完整剥离出肿瘤组织,放入盛有少量生理盐水的换药碗中。用生理盐水冲洗瘤块 3~4 次,剪去多余的筋膜、肌肉组织及瘤块内坏死组织,随后放入另一无菌换药碗内,倒入少量生理盐水,将瘤块剪成 1~2 mm<sup>3</sup> 小块备用。

### 1.3 兔 VX<sub>2</sub> 肝癌模型的建立

VX<sub>2</sub> 肝癌模型制备前,所有实验兔禁食 12 h,盐酸氯胺酮:陆眠宁Ⅱ 1:1 混合液(0.2~0.3 ml/kg)肌肉注射麻醉。

1.3.1 开腹包埋植入 VX<sub>2</sub> 瘤块 A 组兔取仰卧位,四肢固定于手术台上。上腹部常规备皮、消毒、铺巾,于剑突下偏左 2 cm 处沿肋间隙开腹 2~3 cm,暴露肝左叶,在较厚处用穿刺针尖沿肝门方向插入肝实质内做成深约 1 cm 切口,取 2 块组织块植入,压迫止血,确认无活动性出血后逐层缝合。术后腹腔内注射青霉素 40 万 u,连续 3 d。

1.3.2 CT 引导下穿刺种植 VX<sub>2</sub> 瘤块 B 组兔仰卧位固定于 CT 检查床上(自制相关简易工具),根据 CT 平扫确定进针位置及深度,明确接种位置(均选用肝左叶)。接种时,用细针尖(5 ml 注射器针尖折断制成)在皮肤上定位,再用 18 G 穿刺针(NIPRO)经皮肋间穿刺至肝左外叶,深度约 10 mm,拔出针芯,注意有无出血,用眼科剪夹取 2 块瘤组织塞入鞘内,再用穿刺针将瘤块推入肝实质内,需多次重复推注针芯,确定所取瘤块均接种于肝左叶,见图 1。

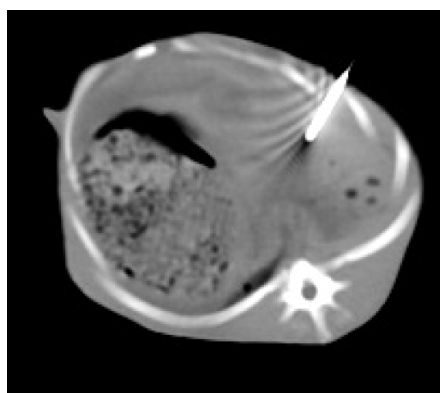


图 1 CT 引导下经皮穿刺瘤块植入

### 1.4 影像学检查

1.4.1 CT 检查 两组实验兔均于术后 2 周行 16 排螺旋 CT 检查(LightSpeed, GE),扫描前禁食 12 h,

全麻后将实验兔固定于自制检查板上。仰卧位,头先进。平扫的扫描参数为:120 kV, 200 mA, FOV 20, Pitch 1.375, 层厚 5 mm, 1.25 薄层重建;增强扫描:采用耳缘静脉高压团注方式,对比剂为碘佛醇注射液(加拿大),剂量为 2 ml/kg,注入速度为 1 ml/s,分别于注入对比剂后 12、25、50 及 150 s 时行动脉早期、动脉晚期、门脉期及延迟期扫描。

1.4.2 DSA 血管造影 实验兔全麻,备皮,仰卧位固定,腹股沟区常规消毒、铺巾,触摸右侧股动脉搏动最强处,经右侧腹股沟下方沿股动脉搏动处做与股动脉走行一致的长约 4 cm 的手术切口,分离和暴露股动脉约 2 cm。在已分离的股动脉远端和近端分别放置 2 条 3.0 丝线,先把动脉远端用丝线结扎,然后提起近端丝线使两丝线间的股动脉充盈,用 20 G 穿刺针穿刺股动脉,利用微导丝引导微导管插管<sup>[2]</sup>,在透视情况下将微导管选择性插入腹腔干,推注碘化油注射液(法国加柏公司)约 1 ml 造影,然后超选择性插入肝左动脉,再次推注对比剂造影,以确定微导管的位置及肿瘤供血情况。术后拔除导管,同时结扎股动脉近端,缝合包扎切口。

### 1.5 观察指标

记录两组实验兔种植所需时间、术后感染及死亡情况,2 周后根据 CT 和 DSA 图像记录两组肝内、外成瘤情况、肿瘤体积(CT 增强分别测得肿瘤的最大层面长径 L,与 L 垂直的最宽径 W,用公式: $V = L \times W^2/2$ )<sup>[3]</sup>,观察有无腹腔种植性转移及腹腔积液,并比较术前、术后实验兔体重变化情况。观察肿瘤在不同影像学检查中的表现。

### 1.6 统计学分析

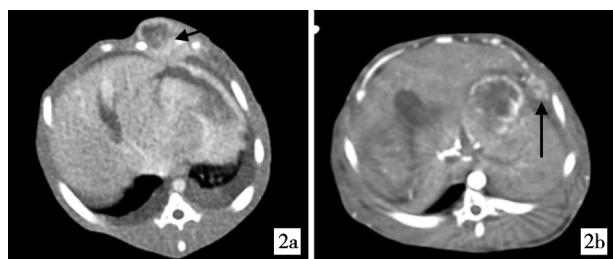
应用 SPSS17.0 软件进行统计学分析。计量资料采用独立样本 *t* 检验,计数资料采用 Fisher 检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 模型制备情况

A 组中 4 只于术后 3 d 死亡,2 只经 CT 检查均未见肝内、肝外成瘤,10 只肝内成瘤,2 只腹壁浸润,2 只腹腔种植性转移并见腹腔积液(图 2a)。B 组 2 周内未见死亡,2 只经 CT 检查均未见肝内、肝外成瘤,17 只肝内成瘤,1 只腹壁浸润(图 2b),未见腹腔种植性转移。

种植操作时间 A 组为(32 ± 5)min, B 组为(8 ± 2)min,组间差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。术后实验兔体重 A 组为(2.37 ± 0.25)kg, B 组为(2.26 ±



2a 增强 CT 发现 A 组腹壁皮下 2b 增强 CT 发现 B 组肝包膜下肿瘤种植,肝包膜下见少量腹水 转移

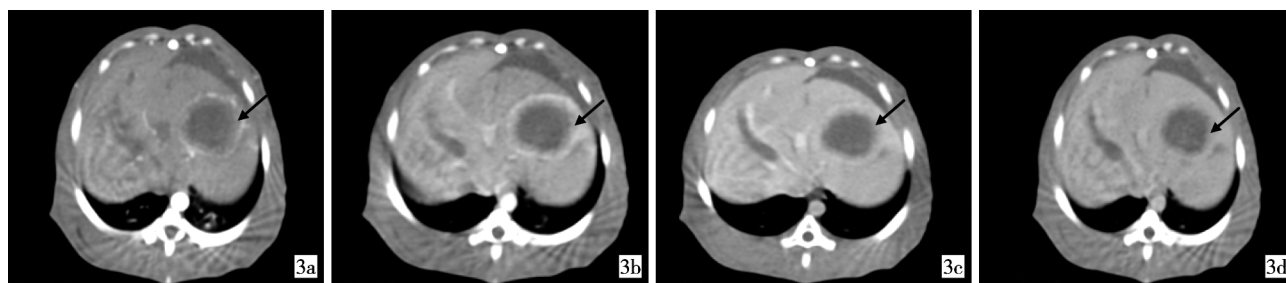
图 2 增强 CT 所见肝外成瘤

0.34)kg, 组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。肝内肿瘤体积 A 组为  $(4\,739.29 \pm 530.2)\text{mm}^3$ , B 组为  $(4\,789 \pm 626.27)\text{mm}^3$ , 组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。死亡率 A 组为 20%(4/20), B 组为 0(0/20), 组间差异有统计学意义( $P = 0.037$ )。肝内成瘤率 A

组为 50%(10/20), B 组为 85%(17/20), 组间差异有统计学意义( $P = 0.02$ )。

## 2.2 CT 表现

两组建模成功, 实验兔在 CT 上均表现为局灶孤立结节, CT 平扫为低密度结节影, A 组平扫 CT 值约为  $(42.3 \pm 5.4)\text{Hu}$ , B 组为  $(45.6 \pm 3.7)\text{Hu}$ 。增强扫描肿瘤周边环形强化, 动脉早期、动脉晚期、门脉期及延迟期扫描 A 组 CT 值分别为  $(89.6 \pm 7.2)$ 、 $(111.3 \pm 6.4)$ 、 $(108 \pm 6.7)$  和  $(92.5 \pm 9.3)\text{Hu}$ , B 组分别为  $(83.5 \pm 4.7)$ 、 $(120.7 \pm 6.3)$ 、 $(113.2 \pm 3.7)$  和  $(93.2 \pm 5.8)\text{Hu}$ , 肿瘤于增强动脉早期即出现强化, 动脉晚期进一步强化, 门脉期与肝实质强化水平一致, 到延迟期对比剂部分退出, 见图 3。两组平扫及增强各期比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。



3a 注入对比剂后 12 s 可见肿瘤 3b 注入对比剂后 25 s 可见肿瘤 3c 注入对比剂后 50 s 可见肿瘤 3d 注入对比剂后 150 s 可见肿瘤  
组织呈环形强化, 中央无强化 组织进一步强化 组织强化减低, 中央液化坏死区不 组织内对比剂退出  
强化, 肝实质均匀强化

图 3 B 组各期 CT 增强扫描所见

## 2.3 血管造影表现

两组模型兔肝动脉造影均可见肿瘤供血动脉增粗, 分支被肿瘤推压形成“抱球征”, 肿瘤呈环形染色(图 4)。两组模型兔腹腔干动脉均自 T12 ~ L1 水平由腹主动脉前壁稍偏右侧发出。腹腔干造影寻找肝总动脉, 可见肝总动脉向右水平发出胃十二指肠动脉, 向上发出肝固有动脉。肝固有动脉发出肝左、右叶动脉。供血的肝动脉增粗, 显影较浓, 向肿瘤中心发出肿瘤血管, 形成抱球状肿瘤染色。其中 2 只实验兔插管造影未成功。

## 3 讨论

### 3.1 兔 VX<sub>2</sub> 肝癌模型制备

VX<sub>2</sub> 瘤株是由 Shope 病毒诱发的兔乳头状瘤衍生的鳞状细胞癌经 70 次传代而建立的肿瘤细胞株, 具有很强的侵袭转移性<sup>[4]</sup>。接种 2 周后行相关检查, 原因为此阶段肿瘤生长最旺盛, 体积迅速增大, 切面多呈实质性, 转移及坏死较少。此阶段为肿瘤血管形成期, 毛细血管大量形成, 易实施介入手术。



图 4 兔肝固有动脉动脉造影, 可见肿瘤供血丰富, 瘤区呈环形染色

本实验中, B 组操作过程简单, 操作时间明显短于 A 组, 成瘤率高于 A 组, 部分原因为缩短了瘤块离体的时间, 减少了瘤块缺血再灌注损伤, 同时降低了瘤块感染性。A 组术后 4 只死亡, 由于手术对实验动物创伤大, 术中麻醉要求高, 肿瘤可沿手术切口向腹腔蔓延, 且实验兔术后免疫力下降, 易发

生腹腔种植性转移。本实验 A 组中有 2 只发生腹腔转移,而 B 组未见转移。实验中共有 4 只接种 2 周后未见肝内及肝外肿瘤生长,考虑与瘤块取材有关,因此取材时应尽可能选取肿瘤边缘生长旺盛的鱼肉样组织,尽量去除坏死及结缔组织,以提高接种成功率。另一方面原因可能与实验兔免疫防御机制有关。

两组实验兔术后体重及肿瘤体积未见明显差别,表明两种种植方式对实验兔的体重及肿瘤体积无显著影响。

CT 引导下经皮穿刺较开腹种植简单、实用,但对操作者要求高,进针要快且不易太浅(1.0 ~ 1.5 cm),否则组织块易沿窦道流出或由于供血不足而生长缓慢。肿瘤组织块注入针芯后,需多次重复推注,确定瘤块接种于肝左叶。拔出针芯后按压穿刺点 30 s,防止瘤块溢出。

### 3.2 CT 表现

两组兔 VX<sub>2</sub> 肝癌模型 CT 表现一致,平扫上均表现为低密度。增强检查扫描 4 期,可使动脉血管清晰显示,利于指导血管造影检查。增强检查发现不同于人类肝细胞性肝癌“快进快出”的强化特点<sup>[5]</sup>,表现为动脉早期环形强化,动脉晚期进一步强化,到延迟期部分退出。

### 3.3 血管造影表现及技术要点

两组实验兔血管造影均显示肿瘤供血动脉增粗,分支被肿瘤推压形成“抱球征”,肿瘤环形染色。其中,腹腔干动脉多开口于 T12 ~ L1 水平,应先行腹主动脉造影明确腹腔干动脉开口,之后直接用导管头端指向腹侧稍偏右于 T12 ~ L1 水平反复探寻腹腔干动脉,可缩短手术时间及减少对比剂的用量,进而减轻对实验兔肾功能的影响。行腹腔干动脉造影时,可将球管向右侧倾斜 10° ~ 15°,能较好的辨认肝固有动脉,肝固有动脉迂曲纤细,微导管在微导丝配合下可进入肝固有动脉,但如果进一步

超选择肝左右动脉则较困难。如进行血管内介入治疗,导管头位于肝固有动脉,由于肿瘤供血动脉较正常肝动脉增粗且血流较快,缓慢注药可优先进入肿瘤供血动脉。因此,介入治疗时,如超选肝左动脉困难,不可强行进入,否则易引起血管痉挛、损伤,导致实验失败。实验中 2 只血管造影未成功,原因可能为肝固有动脉起源异常。其中 1 只实验兔肿瘤较小,直径约 1.2 mm,供血血管少而细小也是实验失败的原因之一。

本实验通过比较开腹及穿刺植入瘤块法,证实开腹包埋法制作动物模型创伤大,动物死亡率高,易发生腹腔种植性转移,对手术者手术技巧要求高,同时手术切口不利于后续观察与研究。CT 引导下经皮穿刺 VX<sub>2</sub> 瘤块植入操作简单,创伤小,成瘤率高,可重复性强,优于开腹包埋法。VX<sub>2</sub> 肝癌模型血供丰富,类似人类肝转移癌模型,在肝癌介入治疗研究中将得到越来越广泛的应用。

### [参考文献]

- [1] Lee KH, Liapi E, Buijs M, et al. Percutaneous US - guided implantation of VX-2 carcinoma into rabbit liver: a comparison with open surgical method[J]. J Surg Res, 2009, 155: 94 - 99.
- [2] 江雄鹰, 罗荣光, 黄金华, 等. 兔 VX<sub>2</sub> 肝癌模型建立与经股动脉微导管超选择性肝左动脉插管技术的探讨[J]. 介入放射学杂志, 2011, 20: 214 - 217.
- [3] Watanabe D, Ueo H, Inoue H, et al. Antitumor effects of intraarterial infusion of tumor necrosis factor/lipiodol emulsion on hepatic tumor in rabbits[J]. Oncology, 1995, 52: 76 - 81.
- [4] Swistel AJ, Bading JR, Raaf JH. Intraarterial versus intravenous adriamycin in the rabbit VX - 2 tumor system [J]. Cancer, 1984, 53: 1397 - 1404.
- [5] 史东宏, 曹建民, 许 健, 等. CT 引导下兔 VX<sub>2</sub> 肝癌模型的制作及综合评估[J]. 介入放射学杂志, 2008, 17: 725 - 728.

(收稿日期:2013-05-15)

(本文编辑:侯虹鲁)