

• 实验研究 Experimental research •

MR 导引经皮穿刺瘤块种植法构建兔 VX2 肝癌模型

金光鑫, 王 军, 仇晓霞, 张学彬

【摘要】 目的 探讨 MR 导引下经皮穿刺瘤块种植法制作兔 VX2 肝癌模型的方法及建模后影像学和组织学评估。**方法** 32 只新西兰大白兔随机分为 A、B 两组, 每组 16 只。A 组在 360°全开放式 0.4T MR 扫描成像系统光学导航仪引导下, 采用剑突左侧肋弓下进针, 经皮经肝穿刺将 VX2 瘤组织块种植于兔肝内; B 组通过开腹法将瘤组织块种植于肝内。观察两组手术时间、成瘤率、感染率及肿瘤生长特点。**结果** A 组模型成瘤率为 93.7%, 手术时间为 (18.24±3.24) min, 无术后感染发生; B 组模型成瘤率为 87.5%, 手术时间为 (25.23±2.16) min, 1 例发生术后感染。两组间手术时间差异有统计学意义 ($P<0.05$)。肿瘤 HE 染色镜下观察显示, 2 周见癌细胞呈巢状分布, 癌细胞核大; 3 周见明显核分裂像, 异型显著; 4 周可见凝固性坏死及炎性细胞浸润。**结论** MR 导引下经皮穿刺瘤块种植法构建兔 VX2 肝癌模型, 具有导引准确、操作简便、成功率高等特点, 可作为兔 VX2 肝癌模型构建方式之一。

【关键词】 MR 导引; 肝脏; VX2 肿瘤; 动物模型; 兔

中图分类号: R735.7 文献标志码: A 文章编号: 1008-794X(2016)-11-0980-04

MR-guided percutaneous puncturing transplantation of tumor lumps for the establishment of liver VX2 carcinoma models in rabbits JIN Guang-xin, WANG Jun, QIU Xiao-xia, ZHANG Xue-bin. Department of Interventional Oncology, Affiliated Renji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200127, China

Corresponding author: ZHANG Xue-bin, E-mail: zhangxuebinwqy@163.com

【Abstract】 Objective To discuss the technical methods of MR-guided percutaneous puncturing transplantation of tumor lumps for the establishment of liver VX2 carcinoma models in experimental rabbits, and to make an evaluation of the post-modeling imaging and histology. **Methods** Thirty-two New Zealand white rabbits were randomly divided into group A and group B with 16 rabbits in each group. Under optical navigation guidance of a 360°-fully opened 0.4T MR scanner, puncturing below the left costal arch near the xiphoid was performed for the rabbits of group A, which was followed by percutaneous transplantation of VX2 tumor lumps into the rabbit's liver; while for the rabbits of group B, laparotomy was adopted to accomplish the transplantation of VX2 tumor lumps. The operation time, tumor formation rate, infection rate and tumor growth characteristics of both groups were recorded. **Results** In group A, the tumor formation rate and the operation time were 93.7% and (18.24±3.24) min respectively, and no infection occurred after the procedure. In group B, the tumor formation rate and the operation time were 87.5% and (25.23±2.16) min respectively, and one rabbit developed infection after the procedure. Statistically significant difference in the operation time existed between the two groups ($P<0.05$). Tumor tissues were stained with HE, and microscopic examination revealed that two weeks after the procedure the cancer cells were distributed in nests, and the cancer cell nucleus became larger; three weeks after the procedure mitotic and irregularity of the nucleus were obviously observed; and four weeks after the procedure coagulation necrosis and inflammatory cell infiltration were seen. **Conclusion** MR-guided percutaneous puncturing transplantation of tumor lumps to establish liver

DOI: 10.3969/j.issn.1008-794X.2016.11.012

基金项目: 国家自然科学基金(81371660)

作者单位: 200127 上海交通大学医学院附属仁济医院肿瘤介入科(金光鑫、王 军、张学彬)、肿瘤科(仇晓霞)

通信作者: 张学彬 E-mail: zhangxuebinwqy@163.com

VX2 carcinoma models in experimental rabbits has certain advantages, such as precise guidance, simple operation, high success rate, etc. Therefore, this technique can be used for the establishment of liver VX2 carcinoma models in experimental rabbits.(J Intervent Radiol, 2016, 25: 980-983)

【Key words】 MR guidance; liver; VX2 tumor; animal model; rabbit

兔 VX2 肝癌模型具有与人肝细胞癌相似的病理学及影像学特征,是目前影像学 and 介入治疗实验研究最常用和理想的动物模型。建模方法主要有开腹接种和直接穿刺接种两种方式,影像导引下经皮穿刺接种法因损伤小、并发症少,受到国内外研究者广泛应用。经皮穿刺影像导引方式主要有超声、CT 及 DSA 联合 CT^[1-2]等。本实验采用 MR 导引经皮穿刺瘤块种植法制作兔 VX2 肝癌模型,并对其体内成瘤后各时间点 MR 表现和组织学特点进行初步研究。

1 材料与方法

1.1 实验器材

实验动物取新西兰大白兔 32 只,雌雄不限,体重>2.0 kg,由上海中医药大学动物实验中心提供。VX2 瘤株由我院中心实验室提供。用 3%戊巴比妥静脉麻醉种兔,将 VX2 瘤株接种于其双侧后腿内侧肌肉组织,使之成瘤;2~3 周后将种兔全身麻醉,俯卧固定于手术台,切取瘤块边缘生长旺盛的鱼肉样瘤组织并置于盛有 1:40 青霉素和生理盐水的培养皿,去除坏死瘤组织和结缔组织并置于另一盛有盐水的培养皿,用手术剪刀剪成 2 mm×2 mm×2 mm 大小瘤块备用。

设备与器械包括上海爱立峰医疗科技有限公司 360°全开放式 0.4T MR 扫描成像系统(包括 MR

扫描仪、柔性线圈、成像屏幕及工作站)、光学导航仪系统(包括光学跟踪仪、移动和固定坐标标定装置、光学持针器)(图 1)、16 G 磁兼容套管穿刺针、明胶海绵(南京金陵制药厂)、剪刀、镊子、血管钳(上海金钟医疗器械厂)。



①360°全开放式 0.4T MR 扫描仪(白箭头);②成像屏幕及工作站(黑箭头);③光学导航仪系统(红箭头)

图 1 MR 导引下经皮兔肝穿刺现场

1.2 实验方法

32 只兔实验前禁食 12 h。实验在全身麻醉下进行,常规剑突下备皮,聚维酮碘消毒。

瘤块种植前分别作 MR 水平位和矢状位 Flash 序列扫描,瘤块种植后及成瘤后作 Flash 序列和 FSE-T1WI、FSE-T2WI 序列扫描,见表 1。

肝 VX2 瘤块种植:A 组 16 只实验兔仰卧固定

表 1 实验涉及 MR 扫描序列参数信息

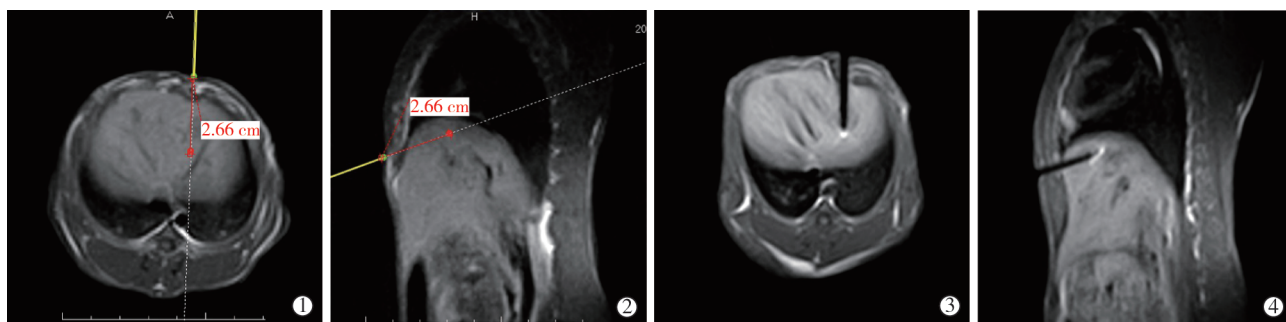
序列	重复时间/ms	回波时间/ms	扫描矩阵	层厚/mm	层间隔/mm	扫描时间/min
FSE-T1WI	350	17	256×256	5/8	1/1.6	2:59
FSE-T2WI	3 000	115	256×256	5/8	1/1.6	2:48
Flash	20	8	256×256	5/8	1/1.6	0:05

于 MR 扫描床上,将柔性线圈置于剑突下穿刺部位,扫描定位像初步判定肝脏位置及范围,Flash 序列作水平位扫描,进一步明确肝叶位置,根据进针方向扫描斜矢状位图像;将水平位和斜矢状位图像发送到导航界面,选取目标层图像,设定进针点、靶点和穿刺路径,注意整个穿刺路径和靶点避开胆管和血管系统;作移动标定,通过导航仪将固定标定装置(固定于扫描仪)与图像空间位置关系转换成移动

标定装置(固定于手术床)与图像空间位置关系,此步骤通过导航软件一键完成;移动穿刺,完成移动标定后将固定有实验兔的手术床从磁体中移出,采用光学持针器夹持 16 G 磁兼容穿刺针在光学导航仪导引下穿刺(图 2①②);针尖到达靶点后重复扫描显示穿刺针全长,确定针尖到达目标位置(图 2③④);拔出针芯,将准备好的瘤块放入针鞘内,用平头针芯将瘤块推入肝内,拔针前将明胶海绵块用同

样方法送入肝内封堵穿刺针道, 拔针后局部按压

3 min。记录操作时间(麻醉开始至拔出穿刺针)。



①导引穿刺的 Flash 序列水平位扫描图像, 肝内红点为设定靶点, 体表绿点为设定进针点, 黄色实线为穿刺针虚拟投影, 虚线为穿刺针延长线, 起指引作用; ②用于导引穿刺的 Flash 序列矢状位扫描图像; ③④穿刺完成后 FSE-T1WI 序列水平位、矢状位扫描图像示穿刺针全长

图 2 MR 导引穿刺及确认穿刺针图像

B 组(对照组)16 只实验兔仰卧于手术台, 剑突下沿腹正中线作一 4 cm 纵行切口, 逐层进入腹腔, 自动拉钩辅助下显露肝左叶, 直视下用 16 G 穿刺针穿刺肝脏, 瘤块种植操作步骤与 A 组相同, 拔针后用纱布压迫止血, 再次用聚维酮碘消毒切口后全层关腹。记录操作时间(麻醉开始计时至关腹结束)。

术后 2、3、4 周作 MR FSE-T₁WI 和 FSE-T₂WI 序列扫描, 观察肿瘤是否种植成功, 记录肿瘤大小及是否存在腹壁或腹腔转移; 观察肿瘤 MR 图像特点。A 组实验兔扫描确定成瘤后, 分别于 2、3、4 周随机处死 1 只实验兔, 切取部分肿瘤固定于 4% 甲醛, 送苏木精-伊红(HE)染色, 观察组织病理学特点。

观察两组手术时间、成瘤率、感染率及肿瘤生长特点。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。计量资料用独立样本 *t* 检验, 计数资料用 Fisher 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 建模成瘤情况

A 组 16 只实验兔中 15 只种植成瘤(成瘤率 93.7%), 2 只腹壁转移, 3 只腹腔转移, 其中 1 只因多发转移不能进食, 于术后第 23 天死亡; B 组 16 只实验兔中 2 例未成瘤(成瘤率 87.5%), 1 只术后发生切口感染, 3 只腹壁转移, 3 只腹腔转移。两组间成瘤率、转移率差异无统计学意义(*P* > 0.05); A 组手术时间为(18.24 ± 3.24) min, B 组为(25.23 ± 2.16) min, 差异有统计学意义(*P* < 0.05), 见表 2。

表 2 实验兔建模成瘤情况

分组	手术时间/min	瘤块大小/cm			并发症/例		
		2 周	3 周	4 周	腹壁转移	腹腔转移	感染
A 组(<i>n</i> = 16)	18.24 ± 3.24*	1.51 ± 0.28	2.32 ± 0.38	2.94 ± 0.42	2	3	0*
B 组(<i>n</i> = 16)	25.23 ± 2.16	1.42 ± 0.25	2.46 ± 0.31	3.07 ± 0.48	3	3	1

注: * 与 B 组比较, *P* < 0.05

2.2 MR 影像表现

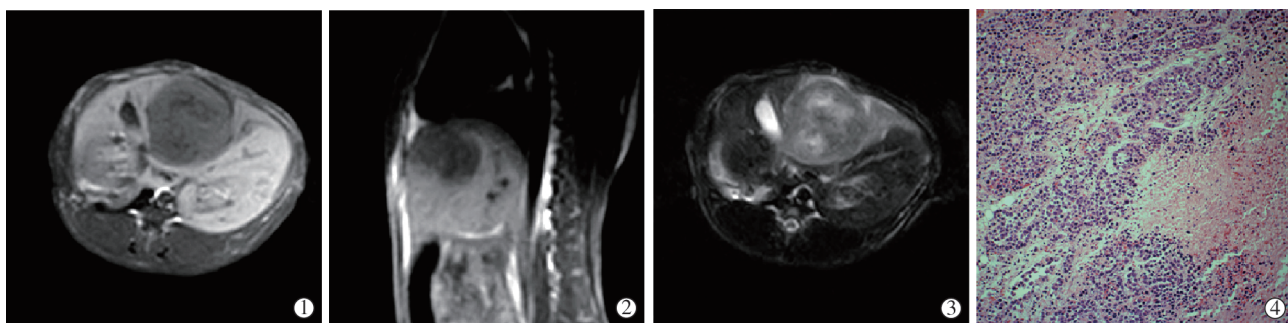
术后 2 周 MR 扫描显示 A、B 组瘤块大小分别为(1.51 ± 0.28) cm、(1.42 ± 0.25) cm, T₁WI 呈均匀低信号, T₂WI 呈等信号或稍高信号; 3 周时 A、B 组瘤块大小分别为(2.32 ± 0.38) cm、(2.46 ± 0.31) cm, T₁WI、T₂WI 呈现不均匀信号; 4 周时 A、B 组原发瘤块明显增大, 分别为(2.94 ± 0.42) cm、(3.07 ± 0.48) cm, 原发灶内可见 T₂WI 高或混杂高信号, 提示明显坏死灶形成(图 3①~③)。两组间瘤块大小差异无统计学意义(*P* > 0.05)。

2.3 组织病理学观察

建模 2 周肿瘤 HE 染色切片见癌细胞呈巢状分布, 癌细胞核大; 3 周见明显核分裂像, 异型显著; 4 周可见癌巢间点状凝固性坏死及大量炎性细胞浸润(图 3④)。

3 讨论

目前 VX2 肝癌模型构建主要有开腹种植和经皮穿刺种植两种方式^[3]。本实验对比开腹种植与经皮穿刺种植两种建模方式, 结果提示开腹瘤块种植



①FSE-T1WI 序列水平位扫描影像示瘤块直径 3.4 cm, 呈不均匀低信号; ②FSE-T1WI 序列矢状位扫描影像; ③FSE-T2WI 序列水平位扫描影像 (与①同层), 呈不均匀高信号; ④光镜下见 HE 染色 (100x) 癌细胞排列不规则, 核大浓染, 核分裂相增多, 大量炎性细胞浸润

图 3 建模 4 周兔 VX2 肝癌 MR 影像及组织病理学观察

需要一定的外科操作基础, 对无菌要求相对严格, 且对实验动物创伤大, 术后感染发生率相对较高, 手术时间明显长于经皮穿刺组。MR 引导下经皮穿刺瘤块种植建模方式具有创伤小、感染发生率低、操作步骤简单等优势。

经皮穿刺瘤块种植导引方式主要有超声、CT 和 MR 3 种。超声导引的优势在于设备轻便, 操作简单, 穿刺导引实时性好, 但图像易受胸腹腔气体和骨骼的影响, 整体观不及 CT 和 MR^[4]。CT 导引的图像整体观虽优于超声, 但对血管和胆道结构显示不清^[5]。MR 与其它导引方式相比, 图像整体观好, 软组织分辨率高, 不用对比剂即可显示血管结构, 可多方位、多角度扫描成像, 无论用于导引穿刺还是对建模后肝内肿瘤进行诊断和观察, 均具有明显优势。

万仁均等^[6]报道在 MR 导引下构建兔 VX2 肝脏血管旁肿瘤模型, 即在 MR 扫描流空效应下精准地将瘤块种植于血管旁, 该研究所使用 MR 扫描仪无光学导引设备辅助, 需在磁体内操作, 且需根据进针方向和进针深度边扫描边穿刺。本实验所用介入 MR 扫描系统的优势是 MR 扫描仪与光学导航仪相结合, 穿刺前通过软件在图像上预先设定进针点、靶点及穿刺路径, 穿刺时可将诊疗床移出扫描磁体, 根据图像上虚拟针指引在磁体外对兔肝脏作穿刺; 虚拟针是光学持针器通过导航系统计算处理后在导航图像上的投影, 可实时反映穿刺针走行。因此, 大大增加了穿刺操作的简便性和舒适性。本实验将穿刺靶点设在左叶中部位置, 避开胆管和血管系统, 术后 MR 扫描验证成模兔成瘤位置精准, 无大血管损伤及异位种植发生; 采用快速扫描序列 (Flash 序列, 5 s/层), 缩短了扫描时间, 使建模手术时间与 CT 导引下建模时间相近^[2,7]。

本研究结果显示, MR 导引下兔 VX2 肝癌模型成瘤率为 93.7%, 腹壁转移率为 12.5%, 腹腔转移

率为 18.75%, 2、3、4 周时瘤块大小分别为 (1.51 ± 0.28) cm、 (2.32 ± 0.38) cm、 (2.94 ± 0.42) cm, 与以往研究结果相近^[2,8]; 1 例成瘤失败, 考虑与瘤块取材不当有关; 1 例于术后 23 d 死亡, 经解剖证实为腹腔多发转移引发肠梗阻无法进食; 在未予抗生素处理下, 所有实验兔无术后感染发生。因此, 采用 MR 引导下经皮穿刺瘤块种植法构建兔 VX2 肝癌模型具有导引准确、成功率高, 创伤小、感染率低, 种植部位精确等特点, 可作为兔 VX2 肝癌模型构建的有效方式之一。

[参考文献]

- [1] 王承恩, 王彦华, 解玲玲. DSA 联合 CT 引导下经皮肝穿刺兔 VX2 肝癌模型制作[J]. 实验动物科学, 2014, 31: 26-28, 35.
- [2] 史东宏, 曹建民, 许健, 等. CT 引导下兔 VX2 肝癌模型的制作及综合评估[J]. 介入放射学杂志, 2008, 17: 725-728.
- [3] 钱亭, 陈茂振, 高峰, 等. 两种方法建立兔 VX2 肝癌模型的比较及影像学评估[J]. 介入放射学杂志, 2014, 23: 58-61.
- [4] Lee KH, Liapi E, Buijs M, et al. Considerations for implantation site of VX2 carcinoma into rabbit liver[J]. J Vasc Interv Radiol, 2009, 20: 113-117.
- [5] 王艳, 林礼务, 陈志奎, 等. 超声在兔 VX2 原位肝癌模型制作中的应用价值[J]. 中华医学超声杂志·电子版, 2009, 6: 192-197.
- [6] 万仁均, 林征宇, 李跃明, 等. 磁共振引导下兔肝脏血管旁 VX2 肿瘤模型制作[J]. 医学影像学杂志, 2014, 24: 865-867.
- [7] 邵海波, 徐克, 苏洪英, 等. CT 引导下套管针种植法制作兔双灶肝癌模型的评价[J]. 介入放射学杂志, 2011, 20: 292-295.
- [8] Deng J, Virmani S, Yang GY, et al. Intraprocedural diffusion-weighted PROPELLER MRI to guide percutaneous biopsy needle placement within rabbit VX2 liver tumors[J]. J Magn Reson Imaging, 2009, 30: 366-373.

(收稿日期: 2016-03-13)

(本文编辑: 边 佑)