

• 实验研究 Experimental research •

经胃左动脉注入 VX2 瘤粒建立兔胃癌模型

冯国栋, 余 辉, 冯建防, 周 斌, 席 玮, 武 贝, 张静渊, 陈环球,
严 枫, 陈 骏

【摘要】 目的 探讨经胃左动脉注入 VX2 瘤粒建立兔胃癌模型的可行性。**方法** DSA 引导下经股动脉将 0.5 mm×0.5 mm VX2 瘤粒注入 18 只新西兰大白兔胃左动脉。术后 2、4 d 分别随机处死 3 只实验兔, 获取胃大体标本并作病理学分析; 术后 7 d 剩余实验兔作胃左动脉 DSA 和食管胃消化道气钡双重造影, 观察肿瘤生长情况, 并即刻处死 3 只兔作病理学分析; 余 9 只实验兔待其自然死亡, 记录生存时间。**结果** 实验兔胃癌建模成功率为 100% (18/18)。术后 2、4 d, 大体标本可见胃底近大弯侧局部黏膜水肿、溃疡形成, 镜下见局部黏膜缺失呈溃疡改变, 黏膜下水肿明显, 局部动脉血管内可见癌栓。术后 7 d 剩余实验兔全部存活, 胃左动脉 DSA 见胃底贲门处富血供病灶, 染色明显; 气钡双重造影见胃底贲门处黏膜紊乱, 病灶区域见压迹及双边征; 大体标本见胃底部病灶呈火山口样溃疡, 周边黏膜明显充血、紊乱; 镜下见肿瘤细胞聚集于肌层并向黏膜及浆膜层侵犯。剩余实验兔术后中位生存时间 12 d, 大体标本见胃病灶穿孔, 周边黏膜紊乱伴明显充血水肿; 镜下见肿瘤侵犯胃壁全层。**结论** DSA 引导下经胃左动脉灌注 VX2 瘤粒可成功建立兔胃癌模型, 可用于介入动脉化疗栓塞、影像诊断及外科手术等相关实验研究。

【关键词】 胃癌; 胃左动脉; 放射学, 介入性; 兔模型

中图分类号: R735.5 文献标志码: A 文章编号: 1008-794X(2018)-06-0544-05

The establishment of rabbit model of gastric cancer by injecting VX2 tumor particles through left gastric artery FENG Guodong, YU Hui, FENG Jianfang, ZHOU Bin, XI Wei, WU Bei, ZHANG Jingyuan, CHEN Huanqiu, YAN Feng, CHEN Jun. Department of Interventional Radiology, Jiangsu Provincial Cancer Hospital, Affiliated Cancer Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu Province 210009, China

Corresponding author: CHEN Jun, E-mail: 13813939190@139.com

【Abstract】 Objective To discuss the feasibility of injecting VX2 tumor particles through left gastric artery to establish the gastric cancer model in rabbits. **Methods** Guided by DSA, certain amount of 0.5×0.5mm sized VX2 tumor particles was injected through left gastric artery via femoral artery access in 18 New Zealand rabbits. Every 3 randomly-selected experimental rabbits were sacrificed each time at 2 and 4 days after the procedure, the stomachs were removed and sent for pathological examination. DSA of left gastric artery and air-barium double-contrast radiography of esophagus and stomach were performed at 7 days after the procedure, and the tumor growth status was evaluated, meanwhile, 3 randomly-selected experimental rabbits were sacrificed for pathological analysis. The remaining 9 experimental rabbits were kept on feeding until they naturally died, and the survival time was recorded. **Results** The gastric cancer modeling success rate in experimental rabbits was 100% (18/18). At 2 and 4 days after the procedure, on gross specimen local mucosal edema and ulceration could be observed at the gastric fundus near the greater curvature of the stomach. Microscopically, damaged local mucosa, presenting as ulceration, obvious submucosal edema, and cancer embolus in local arterial lumen could be seen. At 7 days after the procedure, the remaining

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2018.06.011

基金项目: 江苏省第四期“333 工程”科研项目(BRA2015492)、江苏省卫生计生委保健科研项目(bj14020)、江苏省高层次卫生人才“六个一工程”拔尖人才科技项目(LGY2017087)、江苏省科教强卫工程项目(CXTDA2017017)

作者单位: 210009 南京 江苏省肿瘤医院(南京医科大学附属肿瘤医院)介入科(冯国栋、余 辉、席 玮、武 贝、陈 骏)、普外科(周 斌、陈环球)、检验科(严 枫)、病理科(张静渊); 河南省济源市中医院放射科(冯建防)

通信作者: 陈 骏 E-mail: 13813939190@139.com

experimental rabbits were all alive; DSA of left gastric artery showed that well-supplied lesions with obvious staining were displayed at gastric fundus cardia; air-barium double-contrast radiography of esophagus and stomach revealed that disordered mucosal folds at gastric fundus cardia, impression sign and double contour sign could be observed at the lesion area. Macroscopically, the lesion at the gastric fundus presented as crater-like ulceration with the surrounding mucosa being obviously congested and disordered; microscopic examination showed that the tumor cells assembled in the muscular layer and both the mucosa and serosa were involved. The median survival time of the remaining experimental rabbits was 12 days, macroscopical examination showed perforation of gastric lesion, and the peripheral mucosal folds were disordered with obvious congestion and edema, and microscopical examination revealed that the tumor invaded the entire layer of the gastric wall. **Conclusion** The gastric cancer model in rabbits can be successfully established by injecting VX2 tumor particles through left gastric artery under DSA guidance, which can be used in the related experimental researches such as interventional arterial chemoembolization, imaging diagnosis, surgical operation, etc. (J Intervent Radiol, 2018, 27: 544-548)

[Key words] gastric cancer; left gastric artery; radiology, interventional; rabbit model

胃癌是常见恶性肿瘤之一,多数患者确诊时已至中晚期。部分进展期胃癌术前需行全身或局部化疗、动脉栓塞等,以达到降低肿瘤分期及术后复发率效果^[1-3]。目前适用于外科、介入治疗乃至影像诊断的胃肿瘤动物模型较少。本实验采用 DSA 导引下经胃左动脉输注瘤粒方法建立兔 VX2 胃癌模型,具有成功率高、成瘤时间短、血供丰富及影像学表现典型的特点,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物与器材

取 18 只新西兰大白兔(东南大学实验动物中心,许可证号:SYXK 苏 2010-0004),雌雄不限,体重 2.5~3 kg。VX2 肿瘤细胞株(东南大学分子影像重点实验室)每隔 2 周经兔大腿部肌肉成瘤传代。

主要实验器材包括 BV Pulsera 移动式 C 形臂 X 射线系统、OminiDiagnost Eleve 数字胃肠造影机(荷兰 Philips 公司)、2.5 F 微导管、股动脉穿刺针套件(日本 Terumo 公司)、戊巴比妥钠(北京百奥莱博科技公司)、肝素钠(1.25 U/支,江苏万邦生化医药公司)、金霉素眼膏(2 g/支,上海朝晖药业公司)、硫酸钡干混悬剂(青岛红蝶新材料公司)、苏木精-伊红(HE,上海碧云天生物技术公司)、4%甲醛溶液(江苏省肿瘤医院病理科)。

1.2 VX2 瘤粒制作

VX2 肿瘤细胞经兔大腿外侧部肌内注射 2 周后建立传代荷瘤兔。无菌环境下采用外科方法取出肿瘤,沿肿瘤中线切开并剔除中心少量坏死区域,0.9%NaCl 溶液冲洗中心血凝块,于靠近边缘部位准确剪取灰白色鱼肉样组织并置于 0.9% NaCl 溶液

中,外科剪修剪为大小约为 0.5 mm×0.5 mm 瘤粒备用。

1.3 兔胃左动脉 DSA 及瘤粒输注

实验兔术前禁食、禁水 24 h,耳缘静脉注射 3%戊巴比妥钠麻醉(1 mL/kg)后仰卧位固定于木质手术台上,右侧大腿内侧备皮消毒铺单,外科无菌方式暴露腿部股动脉主干;直视下采用股动脉穿刺针成功穿刺股动脉并置入 2.5 F 微导管,微导管选入腹腔干作 DSA 造影,分辨胃左动脉,将微导管超选至目标动脉,再次造影证实(图 1①);用 1 mL 注射器抽取混有瘤粒的 0.9%NaCl 溶液 1 mL(含瘤粒约 20 粒),通过微导管缓慢输注后继续输注 0.9%NaCl 溶液 3 mL 冲洗导管内剩余肿瘤组织块,再次手推对比剂造影确认靶血管被栓塞(图 1②);术毕结扎股动脉,缝合肌层及皮肤,切口处涂抹金霉素眼膏预防切口感染。

1.4 DSA、消化道钡餐造影及病理学检查

术后 2、4 d,分别随机抽取 3 只实验兔,处死后获取大体标本作病理学检查。12 只实验兔于术后 6 d 禁食禁水 24 h,术后 7 d 经左侧股动脉同样方式,微导管超选至胃左动脉作 DSA 造影。术毕于 DSA 手术台,透视下插入自制胃管至食管中上段,再将实验兔置于胃肠造影机检查床;经胃管注射约 15 mL 高浓度钡餐后,再注入约 40 mL 空气,不同体位翻转实验兔,使钡剂涂抹均匀后多方位摄影点片;随机处死 3 只模型兔,获取胃大体标本观察,并对造影结果选取病变区域,于 4%甲醛溶液固定 24 h 后石蜡包埋,制作切片作 HE 染色。余 9 只模型兔术后 24 h 予以正常饮食,观察记录生存时间,并于兔自然死亡后获取标本,观察标本大体情况并作

HE 染色光镜检查。

2 结果

2.1 建模成功率及术后大体情况

18 只模型兔胃左动脉 DSA 及瘤粒输注均成功,成功率 100%。术后 18 只模型兔均出现明显进食进水减少、体重减轻等。术后 2、4、7 d 剩余模型兔

均成活,9 只剩余模型兔于术后 10 d(3 只)、11 d(1 只)、12 d(2 只)、14 d(1 只)、15 d(2 只)死亡。

2.2 DSA 血管造影及消化道钡餐造影

12 只模型兔术后 7 d 胃左动脉 DSA 可见胃底近贲门处肿瘤染色,呈富血供状态(图 1③);气钡双重造影可见胃底部局部黏膜正常结构消失,病灶部位可见压迹及双边征,与 DSA 造影相符合(图 1④)。



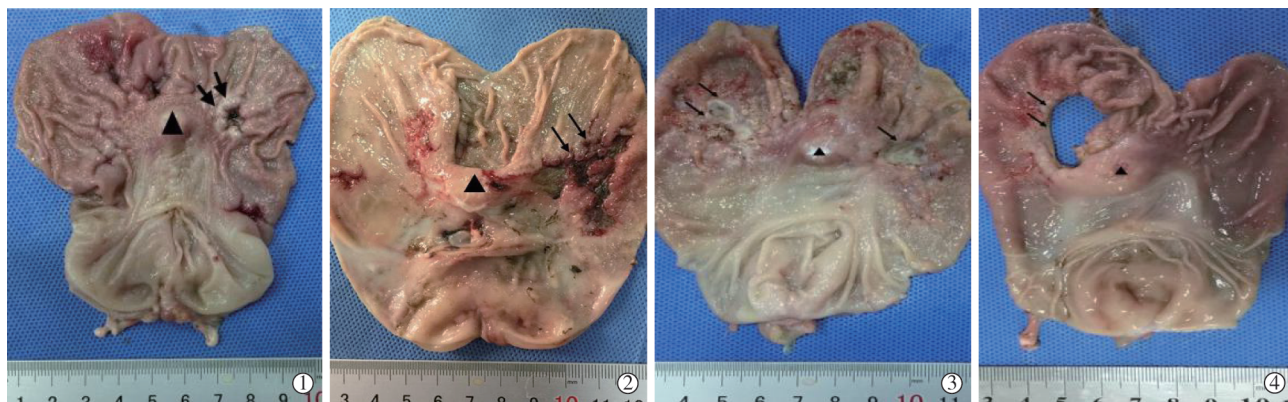
①动脉 DSA 造影可见胃左动脉及其分支主要走行于胃贲门及胃底位置(箭头);②经微导管输注 VX2 瘤粒后,再次造影可见胃左动脉末端分支截断(箭头);③术后 7 d 再次动脉造影可见胃底近贲门位置对比剂浓聚,为肿瘤染色(箭头);④术后 7 d 模型兔胃气钡双重造影显示胃底大弯侧近贲门部位局限性黏膜增厚、僵硬,可见压迹及双边征,提示病变主要位于胃底部位(箭头)

图 1 实验兔胃左动脉 DSA 及消化道钡餐造影显像

2.3 大体标本及光镜检查

术后 2、4 d,大体标本可见胃底部近大弯侧局部黏膜明显水肿、溃疡形成(图 2①②);镜下可见胃黏膜局部缺失呈溃疡改变、黏膜下明显肿胀,未见明显黏膜及肌层组织肿瘤侵犯,局部动脉血管内可见鳞状细胞癌栓(图 3①~③)。术后 7 d,大体标本

可见胃底靠近贲门部位病灶,表面有火山口样溃疡,周边黏膜紊乱、水肿明显,未见明显穿孔征象(图 2③);术后自然死亡模型兔均可见病变部位局部穿孔,穿孔处周边黏膜紊乱并向病灶聚集伴明显充血水肿(图 2④)。镜下可见大量肿瘤细胞呈巢状分布,聚集于肌层并向黏膜及浆膜层侵犯(图 3④~⑥)。



①术后 2 d 兔胃底部局部黏膜肿胀、溃疡形成(箭头);②术后 4 d 兔胃底部靠近大弯侧局部巨大溃疡形成,程度较术后 2 d 模型兔更为广泛(箭头);③术后 7 d 兔胃底部局部可见火山口样溃疡,周边黏膜排列紊乱,水肿明显(箭头);④术后自然死亡兔胃底部巨大穿孔,周边黏膜排列紊乱,水肿明显(箭头),亦可见贲门(箭头)周边水肿明显

图 2 模型兔标本大体观(沿胃大弯侧切开)

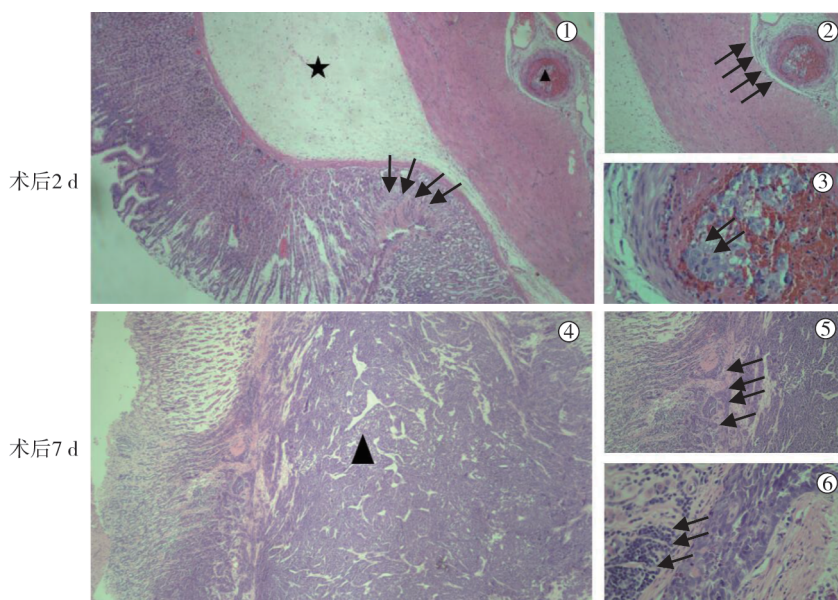
2.4 远处转移

远处转移情况见表 1。

3 讨论

目前用于实验研究的胃癌动物模型常见于鼠

等啮齿类动物,采用原位移植法、移植瘤法等方式构建,此种模型可采用人类来源的肿瘤细胞株,能更好地模拟人类胃癌的生物学行为等^[4-5],但缺点是体积小,不太适合于介入治疗、外科手术,乃至影像诊断等相关研究。VX2 肿瘤细胞具有较高的恶性程



术后 2 d:①胃局部黏膜缺失成溃疡改变(箭头),黏膜下可见明显肿胀(星形),黏膜及肌层均未见明显肿瘤组织,肌层浆膜下动脉血管内可见鳞癌细胞(箭头)(HE 染色,×100);②浆膜下动脉血管内可见鳞癌细胞癌栓,动脉血管完整尚未被肿瘤侵犯(箭头)(×200);③鳞癌细胞(箭头)(×400)。术后 7 d:④肿瘤组织主要存在胃壁肌层(箭头),呈巢状分布并向黏膜及浆膜层侵犯(HE 染色,×100);⑤被癌组织侵犯后残余的肌组织(箭头)(×200);⑥癌巢与正常组织交界边缘大量炎性细胞(箭头)(×400)

图 3 模型兔术后病理学表现

表 1 实验兔胃肿瘤及转移

参数	术后标本获得时间						n
	2、4、7 d(n=3)	10 d(n=3)	11 d(n=1)	12 d(n=2)	14 d(n=1)	15 d(n=2)	
肿瘤部位	胃底、胃大弯	胃底、胃大弯 累及贲门	胃底、胃大弯 累及贲门	胃底、胃大弯 累及贲门	胃底、胃大弯 累及贲门	胃底、胃大弯 累及贲门	
穿孔	0	3	1	2	1	2	
网膜转移	0	0	0	0	1	2	
肺转移	0	0	0	0	0	1	
肝转移	0	0	0	0	1	2	
腹腔淋巴结转移	0	0	0	0	1	2	

度,生长速度快,几乎可种植至新西兰大白兔各个器官组织中成瘤^[6-7]。兔胃解剖及血供系统与人类较为相似,体形相对较大,比较适合于介入、外科治疗和影像诊断等相关实验研究。目前关于兔 VX2 胃癌模型的文献报道较少,且局限于采用外科切开暴露胃壁直视下注射瘤粒方法,该方法创伤大,有较高的腹膜种植转移率^[8-9]。本实验采用经胃左动脉输注瘤粒,成功建立了兔 VX2 胃癌模型。该方法创伤小、成功率高;实验表明兔 VX2 胃癌生长速度快、血供丰富、成瘤部位均一、影像学表现典型。该方法建立的兔 VX2 胃癌模型,DSA、消化道造影与大体病理表现一致,有望应用于介入化疗药物和栓塞剂、影像诊断新技术、外科手术方式等的实验研究与探索。

本实验肿瘤种植后 2、4 d 可见兔胃底局部黏膜肿胀明显及溃疡形成,镜下见局部黏膜层缺损,肌

层完整呈浅溃疡改变,黏膜及肌层均未见明显肿瘤组织侵犯,局部动脉血管内可见鳞状细胞癌栓。这些表现与本研究设计相符合:从胃左动脉输注瘤粒,进而向相关邻近区域侵犯生长。从移植肿瘤进展看,实验 7 d 见病灶呈火山口样溃疡,周边黏膜明显充血水肿并向病灶聚集,未见明显穿孔征象,肿瘤细胞主要分布于胃壁肌层并向黏膜及浆膜层侵犯;10 d 即出现 3 只肿瘤模型兔自然死亡;10、11、12、14、15 d 可见肿瘤局部穿孔征象;14 d 可见网膜、肝、肺等转移,组织学检查可见大量肿瘤细胞呈巢状分布于胃壁全层。这些表现与临床胃癌发展过程较为相似,胃肿瘤穿孔可能是动物死亡的主要原因。文献报道 VX2 肿瘤种植 2 周后开始于皮下、肌肉及肝脏内出现明显坏死,因此对 VX2 肝脏、肌肉等原位肿瘤动物模型,术后 2 周是进行相关实验研

究较为合适的时间点^[7,10]。本实验术后 10 d 获取的标本即出现穿孔征象,提示该胃癌模型适合于 1 周左右进行相关实验研究。

消化道钡餐造影能够观察胃内病灶大小、形态、部位,显示胃腔形态,动态观测胃肠道蠕动情况等^[11-12]。本实验消化道钡餐造影结果显示胃底部病灶显示清晰,可见局部黏膜走行紊乱并可见压迹及双边征,与临床胃癌影像学表现相似;动脉 DSA 造影显示肿瘤病灶血供丰富,肿瘤部位与胃肠造影相符合,为该模型后续应用于胃癌的介入栓塞剂开发和治疗提供了实验依据。

本实验未观察兔成瘤发展速度和时间是否与注入的 VX2 瘤粒数量和大小有关,以满足不同实验目的和需求,当属不足之处,值得进一步探索;另一不足是未对实验兔行 CT、MR 检查,一则局限于兔呼吸和肠道运动,再则兔消化道准备不太方便。总之,本研究建立的兔胃癌模型操作简便、创伤小、成瘤率高、成瘤部位和影像学表现均一,可用于介入动脉化疗栓塞、影像诊断及外科手术等相关实验研究。

[参 考 文 献]

- [1] Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, et al. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer[J]. *N Engl J Med*, 2006, 355: 11-20.
- [2] 朱明德, 张子敬, 季洪胜, 等. 进展期胃癌介入治疗疗效分析[J]. *介入放射学杂志*, 2008, 17: 136-139.
- [3] Wu ZF, Cao QH, Wu XY, et al. Regional arterial infusion chemotherapy improves the pathological response rate for advanced gastric cancer with short-term neoadjuvant chemotherapy [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 17516.
- [4] Ding L, El ZM, Merchant JL. Recapitulating human gastric cancer pathogenesis: experimental models of gastric cancer[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2016, 908: 441-478.
- [5] Li K, Du H, Lian X, et al. Establishment and characterization of a metastasis model of human gastric cancer in nude mice[J]. *BMC Cancer*, 2016, 16: 54.
- [6] 武 贝, 高 杨, 席 玮, 等. 兔 VX2 门静脉癌栓模型构建[J]. *介入放射学杂志*, 2016, 25: 239-242.
- [7] Parvian A, Casadaban LC, Gaba RC. Development, growth, propagation, and angiographic utilization of the rabbit VX2 model of liver cancer: a pictorial primer and "how to" guide[J]. *Diagn Interv Radiol*, 2014, 20: 335-340.
- [8] Lee JY, Choi BI, Son KR, et al. Lymph node metastases from gastric cancer: gadofluorine M and gadopentetate dimeglumine MR imaging in a rabbit model[J]. *Radiology*, 2012, 263: 391-400.
- [9] Mei LJ, Yang XJ, Tang L, et al. Establishment and identification of a rabbit model of peritoneal carcinomatosis from gastric cancer [J]. *BMC Cancer*, 2010, 10: 124.
- [10] 苏 静, 陈文直, 王 嫣, 等. 兔 VX2 肌肉肿瘤模型的建立及生物学特性[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12: 2129-2132.
- [11] 李德秀, 付汉东. 气钡双重造影和 256 排 CT 对胃癌的诊断价值对比分析[J]. *临床和实验医学杂志*, 2016, 15: 477-480.
- [12] 张 蕾, 强永乾, 孔延亮, 等. 气钡双重造影和多排螺旋 CT 对胃癌的诊断价值评价[J]. *中华消化病与影像杂志·电子版*, 2013, 6: 130-134.

(收稿日期:2017-06-11)

(本文编辑:边 佶)