

• 实验研究 Experiment research •

兔 VX2 肝癌模型的建立及其生长转移特性的观察

李 智, 倪才方, 董凤林, 肖 荣, 刘 航, 刘一之, 金泳海, 沈 健

【摘要】 目的 探讨超声引导下经皮穿刺瘤块推送法建立兔 VX2 肝癌模型的可行性, 评估开展介入治疗实验研究的最佳时期。**方法** 28 只新西兰大白兔接受 VX2 瘤块接种, 接种后 2、3、4 周行超声检查及 PET/CT 检查, 并分别处死 2 只建模成功的动物行病理检查。**结果** 建模成功率为 89.3%(25/28)。接种后 2、3、4 周肿瘤最大径分别为 (4.82 ± 0.80) mm、 (16.05 ± 2.89) mm、 (30.08 ± 5.38) mm, 转移率分别为 0(0/25)、13.0%(3/23)、76.2%(16/21); 接种后 2 周肿瘤生长旺盛, 无明显坏死, 3 周仅有少量点片状凝固性坏死, 4 周见大片坏死。**结论** 超声引导下经皮穿刺瘤块推送法建立兔 VX2 肝癌模型简单易行, 成功率高; 宜在接种后第 3 周开展介入治疗的实验研究。

【关键词】 肝肿瘤, VX2 肿瘤细胞, 动物模型, 生物学特性,

中图分类号: R73-354 文献标志码: B 文章编号: 1008-794X(2009)-09-0691-04

The establishment of VX2 hepatic carcinoma model in rabbits and the observation of its growing and metastatic characteristics LI Zhi, NI Cai-fang, DONG Feng-lin, XIAO Rong, LIU Hang, LIU Yi-zhi, JIN Yong-hai, SHEN Jian. Department of Interventional Radiology, the First Affiliated Hospital, Soochow University, Suzhou 215006, China

【Abstract】 Objective To establish VX2 hepatic carcinoma model in rabbits by implanting the tumor fragment into the liver through percutaneous puncture under ultrasound guidance and to observe its growing and metastatic characteristics, to determine the optimal time for interventional experiment study with the model. **Methods** Inoculation of VX2 carcinoma fragment was performed in 28 New Zealand white rabbits. PET/CT and ultrasonography (US) examinations were carried out in the second, third and forth week after the inoculation, and each time two tumor-bearing rabbits were sacrificed for pathologic study. **Results** The successful rate of model establishment was 89.28% (25/28). On PET or CT scans, single lesion in the liver was demonstrated in 25 rabbits. Two, three and four weeks after the inoculation, the maximum diameter of the tumor was (4.82 ± 0.80) mm, (16.05 ± 2.89) mm and (30.08 ± 5.38) mm respectively, while the metastasis rates was 0% (0/25), 13.04% (3/23), 76.19% (16/21) respectively. No significant necrosis was found in the second week after inoculation, only tiny coagulation necrosis was revealed in the third week, and massive necrosis was seen in the forth week. **Conclusion** Percutaneous inoculation of the tumor fragment into the liver under ultrasonographic guidance is a simple method to establish VX2 hepatic carcinoma in rabbits with a high successful rate. The third week after inoculation is the suitable time for making interventional experiment study. (J Intervent Radiol, 2009, 18: 691-694)

【Key words】 hepatic carcinoma; VX2 tumor cell; animal model; biological characteristics

兔 VX2 肝癌属移植性肝癌模型, 具有建模成功

率高、生物学行为与人类肝癌相似、载瘤动物体型较大等优点, 特别适合于肝动脉化疗栓塞(TACE), 经皮无水乙醇注射(percutaneous ethanol injection, PEI)和射频消融(radiofrequency ablation, RFA)等介入治疗的实验研究。本研究采用超声引导经皮穿刺瘤块推送法建立兔 VX2 肝癌模型, 并对其生长转移特性进行追踪观察。

基金项目: 江苏省“科教兴卫”工程医学重点人才基金(RC2007077)

作者单位: 215006 苏州大学附属第一医院介入科(李智、倪才方、肖荣、刘一之、金泳海、沈健); 超声科(董凤林); 核医学科(刘航)

通信作者: 倪才方

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 30 只新西兰大白兔, 雌雄不限, 体重 2.5 ~ 3 kg, 由苏州大学医学院实验动物中心提供; 荷瘤 VX2 种兔由东南大学影像科惠赠。

1.1.2 实验器材与药品 18 G 血管穿刺针 (Cook 公司); 13 G 骨穿针套装之平头探子 (Cook 公司); 明胶海绵以及速眠新 II、硫酸庆大霉素等。

1.1.3 设备 彩色多普勒超声仪 (Philips HDI 5000), 12 ~ 5 MHz 线阵探头; 生物显微镜 (OLYMPUS CH20)。

1.2 实验方法

1.2.1 模型的建立 将 VX2 瘤细胞接种于兔大腿外侧肌群内, 制成荷瘤种兔并传代。3 周左右荷瘤兔大腿后外侧肿瘤长至 1.0 ~ 2.0 cm³。采用外科方法取出肿瘤, 切开瘤体, 取靠近肿瘤边缘的灰白色鱼肉样瘤组织, 剪成大小约 1.0 mm³ 的瘤块放入生理盐水中。无菌条件下将明胶海绵搓碾为大小约 1 mm × 1 mm × 5 mm 的明胶海绵条。以“三明治”法将明胶海绵条、瘤块、明胶海绵条塞入 18 G 穿刺针内, 用无菌纱布反复擦拭针体, 以保证针体上没有肿瘤细胞黏附。

实验兔术前禁食水 12 h, 以速眠新 II (0.2 ml/kg) 配合地西洋 (1 mg) 麻醉后仰卧固定, 兔腹脱毛消毒。超声检查兔肝, 选取肝左叶实质较厚处为接种部位。再次消毒, 超声实时监视下将上述 18 G 穿刺针刺入兔肝内, 调整针尖部位, 避开血管及胆管, 用 13 G 骨穿针之平头探子将穿刺针内容物推送入肝, 超声检测可看到肝脏内强回声光团, 拔除穿刺针及平头探条, 局部压迫 1 ~ 2 min, 确认无出血后碘伏消毒。术后庆大霉素 4 万 u 肌注, 连续 3 d。

1.2.2 生长及转移的检测 接种后第 2、3、4 周行 PET/CT 检查: 实验动物禁食 12 h, 按体质量 0.5 mCi/kg 自耳缘静脉注射 ¹⁸F-FDG, 30 min 后采集图像。①CT, 电压 120 kV, 电流 80 mA, 螺距 17.5 mm。②球管单圈旋转时间为 1 s。③层厚 2.5 mm。PET 图像采集方式为 2D 模式, 采集完成后利用 CT 数据对 PET 图像进行衰减校正。同时行超声检查, 测量肿瘤的最大径(a)和最小径(b), 按如下公式计算肿瘤体积(V)。

$$V = \frac{1}{2}ab^2$$

1.2.3 病理学检查 分别于接种后第 2、3、4 周完

成 PET/CT 及超声检查后, 随机处死 2 只建模成功的瘤兔(肝内单发病灶并且没有转移), 进行解剖, 肉眼观察肝内病灶特点, 并行石蜡包埋, 4 μm 切片, HE 染色, 光镜观察。其余瘤兔观察至自然死亡。

2 结果

2.1 建模成功率及自然生存期

30 只新西兰大白兔, 2 只因发现胆囊结石未行接种, 其余 28 只接受 VX2 瘤块接种。3 次 PET/CT 检查(接种后第 2、3、4 周)皆未发现病灶 3 只。其余 25 只皆在接种后第 2 周检测到肝内单发病灶。以接种后第 2 周 PET/CT 检测到肝内单发病灶并且无肝外转移为建模成功标准, 建模成功率为 89.3% (25/28)。除处死行病理检查的 6 只瘤兔外, 其余 19 只瘤兔观察至自然死亡, 自然生存时间为 38 ~ 64 d, 平均(51.2 ± 14.8) d。

2.2 肿瘤生长

经超声探查, 接种后第 2、3、4 周肿瘤最长直径、最短直径、体积以及肿瘤生长率见表 1, 其中肿瘤生长率(TGR)按如下公式计算。

$$TGR = \frac{a_2b_2 - a_1b_1}{a_1b_1} \times 100\%$$

表 1 不同接种时间肿瘤直径、体积及生长率

接种时间 (周)	最大直径 (mm)	最小直径 (mm)	体积 (mm ³)	生长率 (%)
2	4.82 ± 0.80	4.29 ± 0.59	46.55 ± 17.31	-
3	16.05 ± 2.89	10.62 ± 2.03	972.44 ± 467.29	133.23
4	30.08 ± 5.38	23.78 ± 4.28	9 091.4 ± 4 376.91	823.73

2.3 肿瘤转移

经 PET/CT 检查, 接种后第 2、3、4 周转移率分别为 0(0/25)、13.0%(3/23)、76.2%(16/21)。最常见的转移部位是淋巴结、肝、肺、骨等。原发灶及转移灶 ¹⁸F-FDG 标准化摄取值 (standardized uptake value, SUV) 为 2.63 ~ 5.17 (图 1)。

2.4 病理表现

2.4.1 肉眼观察 肝实质内灰白色结节, 与正常组织分界清楚, 无包膜, 大小如超声所见; 接种后第 2、3 周瘤体均匀, 质嫩, 未见明确坏死; 接种后第 4 周瘤体见豆渣样坏死及暗红色出血。

2.4.2 光镜观察 癌巢形态不一, 细胞核大, 可见较多核分裂像, 核质比例异常, 异形性明显; 接种后第 2 周末见明显坏死, 第 3 周见点片状凝固性坏死, 第 4 周见大片坏死, 核破裂等 (图 2)。

3 讨论

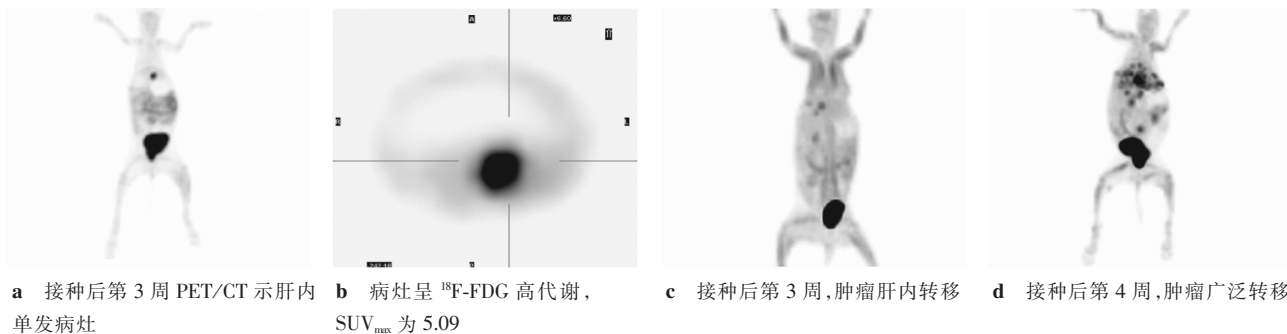


图 1 种植 VX2 后瘤灶 PET/CT 成像

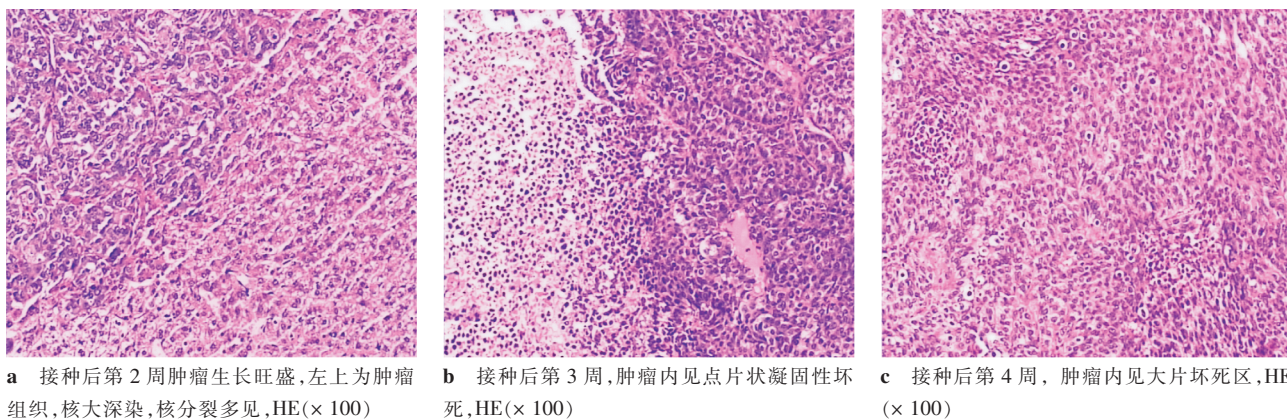


图 2 种植后各期病理

VX2 肿瘤细胞起源于 Shope 病毒诱发的兔乳头状瘤衍生的鳞癌, 经过 72 次移植传代后成功建株, 是稳定的可移植的鳞状细胞癌细胞系^[1,2]。经常被用于制作人类头颈部鳞癌和肝癌的动物模型^[3-8]。虽然 VX2 肝癌模型在病理上属鳞癌, 缺乏肝脏基础病变和肝硬化背景, 但其侵袭方式、淋巴结和血道转移特点与人类肝癌极为相似^[6-8]。与建立在大鼠或小鼠肝实质的肝癌模型相比, 兔 VX2 肝癌模型载瘤动物体型大, 便于开展介入治疗的研究。

兔 VX2 肝癌模型的建模方法较多, 从接种途径角度可分为开腹直视接种法和影像引导下经皮穿刺接种法。开腹直视接种法创伤大, 动物死亡率高, 且容易发生移位种植^[9], 接种方法逐渐被影像引导下经皮穿刺法取代。目前影像引导主要有 CT 和超声 2 种手段, 超声具有实时监视功能, 可准确定位接种部位, 并且在穿刺过程中可随时调整针尖位置, 以避免血管和胆管, 这对于防止异位种植是十分重要的^[10]。在接种材料方面主要有细胞悬液和组织块 2 种, 前者可以通过 27 G 的注射器针尖, 因而动物损伤更小, 但由于细胞悬液容易误入血管、胆管或渗漏到腹腔, 移位种植发生率较高。Chen 等^[10]比较这 2 种方法, 发现细胞悬液组渗漏率高达 50%, 而组织块种植组没有渗漏发生。我们的前一项研究提出用

13 G 穿刺针之平头探条经 18 G 血管穿刺针推送瘤块, 前者的外径与后者的内径相当, 可避免瘤块贴于穿刺针内壁而未被推进肝内^[11]。本研究沿袭这一方法, 取得了满意的结果。本组 28 只兔接受瘤块种植, 3 只始终无肿瘤生长, 其余 25 只成瘤, 成功率 89.3%, 稍低于文献报道, 可能与瘤块取材不佳有关。针道转移是经皮穿刺接种法常见的棘手问题。Lin 等^[12]建议用热琼脂糖封闭针道, 他们的研究(细胞悬液法)中, 未处理针道组、单纯按压组、琼脂糖封闭组移位种植的发生率分别为 80%、53.3%、6.6%。本研究采用“三明治”法将“明胶海绵条-瘤块-明胶海绵条”塞入 18 G 血管穿刺针内, 前端的明胶海绵条可避免瘤块进入血管和胆道, 后端的明胶海绵条起到封闭穿刺针道的作用。本组成瘤的 25 只兔, 在接种后第 2 周经 PET/CT 检查证实皆为肝内单发病灶, 说明“三明治”法可有效防止针道转移。在接种部位方面, 文献推荐肝左叶, 这是为了便于肝动脉插管。Lee 等^[13]比较了不同部位兔 VX2 肝癌模型超选择置管的难易, 肝左叶组超选择置管成功率明显高于肝右叶组(66.6%比 33.3%), 肝左叶组肿瘤供血动脉直径粗于肝右叶组[(10.8 \pm 3)mm 比 (4.1 \pm 1.2)mm], 并且供血动脉以锐角发出的比例肝左叶组少于肝右叶组(33.3%比 66.6%)。为了便于肝动脉化疗

栓塞的相关研究,本组 25 只兔皆接种在肝左叶。

文献报道兔 VX2 肝癌模型在接种后第 2 周肿瘤最大直径达 15 mm^[14,15],但本组瘤兔接种后第 2 周肿瘤最大直径仅为(4.82 ± 0.80) mm,第 3 周才至(16.05 ± 2.89) mm。其原因可能是:①我们通过 18 G 血管穿刺针推送瘤块,接种的瘤块体积较小。②瘤块受明胶海绵包裹,可能影响到其在肝内的生长。③我们选用的瘤兔传代次数较多,可能影响到其活性。转移方面,本组瘤兔经 PET/CT 检查证实,接种后第 2 周没有转移,第 3 周转移率较小,仅为 13.0%(3/23),第 4 周转移率明显升高,达 76.2%(16/21),这与王志明等^[16]的报道相符。综合对本组瘤兔的追踪观察,接种后第 2 周肿瘤生长旺盛,但体积较小;接种后 3 周肿瘤大小适宜,转移率较小,仅有少量点片状凝固性坏死;接种后 4 周肿瘤体积明显增大,但坏死和转移也增多。因此,我们认为采用 18 G 血管穿刺针“明胶海绵条-瘤块-明胶海绵条”推送法建立的兔 VX2 肝癌模型,宜在接种后第 3 周开展介入治疗实验研究。

在制作兔 VX2 肝癌模型过程中,我们的体会是:①选取肿瘤边缘生长旺盛的组织作为瘤块。②采用“三明治”法将“明胶海绵条-瘤块-明胶海绵条”塞入 18 G 血管穿刺针内腔。③无菌纱布反复擦拭针体,确保针体未黏附肿瘤细胞。④超声实时监视下调整针尖位置,注意避开血管和胆管。

[参考文献]

- [1] Shope RE, Hurst EW. Infection papillomatosis of rabbits; with a note on the histopathology[J]. J Eep Med, 1933, 58: 607 - 624.
- [2] 刘险峰,任乐荣,苏广彦,等.兔 VX2 肿瘤细胞系的建立及其生物学特性的观察[J].中华病理学杂志,2005,34,10: 661 - 663.
- [3] van Es RJ, Dullens HF, van der Bilt A, et al. Evaluation of the VX2 rabbit auricle carcinoma as a model for head and neck cancer in humans[J]. J Craniomaxillofac Surg, 2000, 28: 300 - 307.
- [4] Sapundzhiev N, Dünne AA, Ramaswamy A, et al. The auricular VX2 carcinoma: feasibility of complete tumor resection[J]. Anti-cancer Res, 2005, 25: 4209 - 4214.
- [5] Schulz S, Häussler U, Mandic R, et al. treatment with ozone/oxygen-pneumoperitoneum results in complete remission of rabbit squamous cell carcinomas[J]. Int J Cancer, 2008, 122: 2360 - 2367.
- [6] Gupta T, Virmani S, Neidt TM, et al. MR tracking of iron-labeled glass radioembolization microspheres during transcatheter delivery to rabbit VX2 liver tumors: feasibility study[J]. Radiology, 2008, 249: 845 - 854.
- [7] Mostafa EM, Ganguli S, Faintuch S, et al. Optimal strategies for combining transcatheter arterial chemoembolization and radiofrequency ablation in rabbit VX2 hepatic tumor [J]. J Vasc Interv Radiol, 2008, 19: 1740 - 1748.
- [8] Morimoto K, Sakaguchi H, Tanaka T, et al. Transarterial chemoembolization using cisplatin powder in a rabbit model of liver cancer[J]. Cardiovasc Intervent Radiol, 2008, 31:981 - 985.
- [9] 彭玉萍,戴社教,郭万亮,等.兔 VX2 移植性肝癌模型的制作及影像学评价[J].放射学实践,2008,23: 739 - 742.
- [10] Chen JH, Lin YC, Huang YS, et al. Induction of VX2 carcinoma in rabbit liver: comparison of two inoculation methods[J]. Lab Anim, 2004, 38:79 - 84.
- [11] 陈 珑,倪才方,白 霞,等.不同移植方式建立兔 VX2 肝癌模型[J].苏州大学学报(医学版),2007,27: 718 - 721.
- [12] 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.
- [13] 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.
- [14] 史东宏,曹建民,许 建,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.
- [15] 胡 军,刘志苏,唐胜利,等.兔 VX2 肝癌模型种植方法的改良及其生长特性的研究[J].腹部外科,2007,20: 120 - 122.
- [16] 王志明,任正刚,叶 彤,等.兔肝 VX2 肝肿瘤模型的转移特性[J].肿瘤,2006,26: 1057 - 1058.

(收稿日期:2009-03-11)

兔VX2肝癌模型的建立及其生长转移特性的观察

作者: 李智, 倪才方, 董凤林, 肖荣, 刘航, 刘一之, 金泳海, 沈健, LI Zhi, NI Cai-fang, DONG Feng-lin, XIAO Rong, LIU Hang, LIU Yi-zhi, JIN Yong-hai, SHEN Jian
作者单位: 李智,倪才方,肖荣,刘一之,金泳海,沈健,LI Zhi,NI Cai-fang,XIAO Rong,LIU Yi-zhi,JIN Yong-hai,SHEN Jian(苏州大学附属第一医院介入科,215006), 董凤林,DONG Feng-lin(苏州大学附属第一医院超声科,215006), 刘航,LIU Hang(苏州大学附属第一医院核医学科,215006)
刊名: 介入放射学杂志 ISTIC PKU
英文刊名: JOURNAL OF INTERVENTIONAL RADIOLOGY
年,卷(期): 2009,18(9)
被引用次数: 0次

参考文献(16条)

1. Shope RE, Hurst EW Infection papillomatosis of rabbits: with a note on the histopathology 1933
2. 刘险峰, 任乐荣, 苏广彦 兔VX2肿瘤细胞系的建立及其生物学特性的观察 2005(10)
3. van Es RJ, Dullens H F, van der Bilt A Evaluation of the VX2 rabbit auricle carcinoma as a model for head and neck cancer in humans 2000
4. Sapundzhiev N, Dunne AA, Ramaswamy A The auricular VX2 carcinoma: feasibility of complete tumor resection 2005
5. Schulz S, Haussler U, Mandic R treatment with ozone/ oxygen-pneumoperitoneum results in complete remission of rabbit squamous cell carcinomas 2008
6. Gupta T, Virmani S, Neidt TM MR tracking of ironlabeled glass radioembolization microspheres during transcatheter delivery to rabbit VX2 liver tumors: feasibility study 2008
7. Mostafa EM, Ganguli S, Faintuch S Optimal strategies for combining transcatheter arterial chemoembolization and radiofrequency ablation in rabbit VX2 hepatic tumor 2008
8. Morimoto K, Sakaguchi H, Tanaka T Transarterial chemoembolization using cisplatin powder in a rabbit model of liver cancer 2008
9. 彭玉萍, 戴社教, 郭万亮 兔VX2移植性肝癌模型的制作及影像学评价 2008
10. Chen JH, Lin YC, Huang YS Induction of VX2 carcinoma in rabbit liver: comparison of two inoculation methods 2004
11. 陈珑, 倪才方, 白霞 不同移植方式建立兔VX2肝癌模型 2007
12. Lin WY, Chen J, Lin Y Implantation of VX2 carcinoma into the liver of rabbits: a comparison of three direct-injection methods 2002
13. Lee KH, Liapi E, Buijs M Considerations for implantation site of VX2 carcinoma into rabbit liver 2009
14. 史东宏, 曹建民, 许建 CT引导下兔VX2肝癌模型的制作及综合评估 2008
15. 胡军, 刘志苏, 唐胜利 兔VX2肝癌模型种植方法的改良及其长特性的研究 2007
16. 王志明, 任正刚, 叶彤 兔肝VX2肝肿瘤模型的转移特性 2006

相似文献(10条)

1. 学位论文 张大江 经导管肝动脉热碘油栓塞治疗原发性肝癌机理研究 2003
第一部分常氧和缺氧状态加热和化疗药物作用下细胞损伤观察. 一、常氧状态加热和化疗药物作用下细胞损伤观察. 目的: 观察常氧状态下加热和化疗药物细胞存活率情况, 检测热休克蛋白HSP-70在热应激和化疗药物作用下的表达, 以及热应激下HSP-70表达的持续时间. 人肝癌HCCLM3细胞、兔VX2肿瘤细胞、人脐静脉内皮细胞热损伤随温度的升高而加重. 热应激作用下, Western Blot检测到HCCLM3细胞热休克蛋白HSP-70的表达, 并可持续6小时以上, 推测HSP-70在常氧状态下热应激导致细胞损伤和凋亡过程中可能起重要作用. 二、缺氧状态下加热和化疗药物细胞存活率和热休克蛋白表达. 观察缺氧状态下加热和化疗药物细胞存活率情况, 检测热休克蛋白HSP-70在热应激和化疗药物作用下的表达, 以及热应激下HSP-70表达的持续时间. 缺氧条件下人肝癌HCCLM3细胞热损伤随温度的升高而加重. Western Blot检测热休克蛋白HSP-70, 发现缺氧亦可诱导细胞表达热休克蛋白HSP-70, 加热后序贯缺氧HSP-70蛋白含量增高持续时间较单纯受热更长. 提示在细胞水平加热结合缺氧较单纯加热对细胞热损伤更明显, 推测HSP-70在缺氧状态下热应激导致细胞损伤和凋亡过程中可能起重要作用. 第二部分经导管肝动脉热碘油栓塞治疗VX2肝肿瘤的作用研究. 一、兔VX2肿瘤模型的制作. 原位肝肿瘤种植制作兔VX2肝肿瘤模型, 作为热碘油栓塞肝动脉的动物模型. 螺旋CT扫描无损伤性评价模型制作效果. 原位肝肿瘤种植制作兔VX2肿瘤方法可靠, 制作的VX2肿瘤特点与人肝癌血供特点相似, 适合作为介入治疗的动物模型. 二、经导管肝动脉热碘油栓塞治疗VX2肝肿瘤的作用研究. 目的: 探讨热碘油经导管栓塞肝动脉治疗VX2肝肿瘤的治疗效果, 以及肿瘤热碘油栓塞后的病理变化. 肝动脉热碘油栓塞治疗VX2较常规碘油栓塞更有效, 对肝功能损伤和常规碘油栓塞类似. 第三部分裸鼠人肝癌模型肝内注射热碘油后肝癌组织生物学特性研究. 一、裸鼠人肝癌模型制作(LCI-D20). 目的: 制作裸鼠人肝癌模型(LCI-D20), 评价其作为经皮穿刺肝内注射热碘油的动物模型的可行性. 20只裸鼠肝癌模型制作成功, 术后3周上腹部可扪及直径约0.8cm肿块. 裸鼠体重在肝内肿瘤模型建立后1周和2周时增加, 差别有统计意义, $p < 0.05$, 3周后开始体重减轻, 但和第二周差别无统计意义. 肝内原位种植制作裸鼠人肝癌模型(LCI-D20), 成功率高. 腹部清楚扪及肿块, 可以作为经皮穿刺肝内注射热碘油的动物模型. 二、经皮穿刺注射热碘油后肝癌生物学特性. 目的: 探讨裸鼠人肝癌模型(LCI-D20)经皮穿刺注射热碘油后肝癌生物学特性改变. 在裸鼠人肝癌模型(LCI-D20)中, 经皮肝内注射热碘油和碘油对照发现, 注射热碘油可以诱导肿瘤细胞的凋亡, 抑制肿瘤血管再生, 降低多耐药基因的表达, 和注射碘油有显著性差异. 这些因素可能参与了热碘油治疗肝癌的机制. 第四部分经导管肝动脉热碘油栓塞治疗肝癌的临床试验. 通过肝动脉热碘油栓塞治疗肝癌的临床试验, 和肝动脉碘油栓塞治疗的对照, 观察治疗效果和并发症, 评价疗效和安全性. 肝动脉热碘油栓塞治疗肝癌, 是结合热疗和TACE优点的治疗手段. 推测其机理: 1、肿瘤血管内皮损伤, 抑制肿瘤新生血管形成. 2、热损伤诱导缺氧的肿瘤细胞坏死、凋亡. 3、热损伤增强了抗肿瘤免疫杀伤. 4、加热后碘油和化疗药物理化改变增强了化疗栓塞效果. 5、栓塞治疗和热疗结合, 增强栓塞治疗效果, 减轻化疗药物副作用. 对高龄病人、肝功能差、门脉主干癌栓的病人有独特优势. 6、对瘤周组织的热损伤, 可能减少肿瘤的复发和转移. 初步临床试验疗效等同于常规碘油栓塞的效果, 没有严重的并发症, 具有减轻化疗药物肝损伤的潜在优势.
2. 期刊论文 王兆海, 韩宝三, 宋少莉, 彭采宇, 高长有, 黄钢, 刘建军, 彭承宏, WANG Zhao-hai, HAN Bao-san, SONG Shao-li, PENG Cai-yu, GAO

[Chang-you. HUANG Gang. LIU Jian-jun. PENG Cheng-hong 自组装阿霉素微囊肝动脉灌注对兔VX2肿瘤细胞代谢及凋亡的影响 -外科理论与实践2007, 12 \(5\)](#)

目的:研究自组装阿霉素微囊肝动脉灌注对兔肝VX2肿瘤生长、代谢和凋亡的影响。方法:24只新西兰大白兔接种肝脏VX2肿瘤组织块,建立肝脏肿瘤模型。随机分为4组,每组6只。分别经肝动脉给予生理盐水(A组)、空白微囊(B组)、阿霉素4 mg/kg(C组)和阿霉素微囊等效药物4 mg/kg(D组)。治疗后1、3、5、7、10和14 d分别以PET/CT显像测定肿瘤体积,生长率及标准化摄取值(SUVmax)。处理后14d处死动物。常规病理、HE染色观察、DNA缺口末端标记(TUNEL)法检测肿瘤的凋亡指数,免疫组化测定肿瘤细胞增殖核抗原(PCNA)的表达。结果:治疗7 d后给药组肿瘤体积及生长率明显降低,与空白微囊组及对照组有显著性差异($P<0.05$),10 d后阿霉素微囊组肿瘤呈负增长,生长率 $<100\%$,与其他各组有明显差异($P<0.05$)。给予药物后,C、D组糖代谢水平降低,SUVmax值与A、B两组相比具有显著性差异($P<0.05$),其中阿霉素微囊组SUVmax值呈持续下降趋势,10 d后糖代谢水平明显低于其它组,肿瘤组织活力明显降低($P<0.05$)。治疗14 d后,阿霉素微囊组肿瘤细胞凋亡指数大于其它组,而增殖指数低于其它组(P 均 <0.05)。结论:自组装阿霉素微囊作为一种新型智能化供药体系,肝动脉灌注后可明显抑制兔肝VX2肿瘤生长,诱导肿瘤细胞凋亡,抑制肿瘤糖代谢和细胞增殖而发挥抗肿瘤效应,可有效提高肝脏肿瘤的治疗效果。

[3. 学位论文 冯蕾 瘤内注射化疗药物对微波消融肝肿瘤的增效作用 2006](#)

本文研究了瘤内注射化疗药物对微波消融肝肿瘤的增效作用。结果表明:开腹直视下接种方法适用于无需开腹治疗方法的实验研究,而且肿瘤生长速度快、研究周期短。超声引导下接种方法适用于需开腹治疗方法的实验研究,该方法可以选择接种部位,尤其适用于评价微波、射频等局部热疗效的实验研究。超声可以监测兔肝VX2肿瘤的成瘤过程,必要时可应用超声造影技术;肿瘤内注射蒸馏水后行微波消融与单独微波消融相比,消融区范围有增加的趋势,但无统计学差异;微波、碘油及化疗药均有不同程度的灭瘤作用;碘油不能使微波作用增效;碘油可使顺铂作用增效;以蒸馏水或碘油溶解的顺铂均可使微波作用增效;微波、碘油及顺铂可诱导兔肝VX2肿瘤细胞凋亡。

[4. 期刊论文 劳向明. 郑云. 陈易明. 张海燕. 张亚奇. 王莉. 李锦清. LAO Xiang-ming. ZHENG Yun. CHEN Yi-ming. ZHANG Hai-yan. ZHANG Ya-qi.](#)

[WANG Li. LI Jin-qing 碳包铁纳米晶的制备及其结合表阿霉素的相关实验研究 -中国病理生理杂志2007, 23 \(5\)](#)

目的:制备碳包铁纳米晶(CCCIN),并检测其物理、化学性质,考察其在兔肝移植肿瘤内的分布,同时研究其吸附EADM的性能及载药CCCIN对肝癌细胞株(HepG-2)的抑制作用。方法:采用碳弧法制备CCCIN,通过透射及扫描电镜和X射线衍射了解其形貌、结构及成分性质;经皮下超引导以及经肝动脉插管分别将CCCIN注入兔VX2肝肿瘤模型,取注药肝肿瘤组织做组织病理并做细胞电镜观察CCCIN的分布;观察CCCIN对EADM的吸附;并用MTF法检测载EADM的CCCIN对HepG-2细胞的毒性。结果:CCCIN平均粒径达到20~100 nm,石墨碳层中完全包裹入铁纳米颗粒、粒子不含铁的碳化物和氧化物;CCCIN可被VX2肿瘤细胞以及肿瘤间质细胞吞噬;CCCIN吸附EADM符合langmuir等温吸附曲线,饱和度为160 mg/g;MTT示CCCIN与EADM混悬液对HepG-2细胞的抑制作用于72 h内比相应单纯的EADM抑制作用低,且随CCCIN的比例升高抑制作用相应下降。结论:CCCIN物理、化学性质稳定,可吸附大量的EADM,能被肿瘤细胞及间质网状内皮系统吞噬,CCCIN潜在的对EADM的缓释作用可能有利于EADM长期持续作用于肿瘤细胞,并减低可能引起的全身毒性。

[5. 学位论文 谭红明 磁场对K562人红白血病细胞和IVX<,2>肝肿瘤细胞的生物学效应 2008](#)

目的:通过研究强度不同而频率一致的磁场对K562细胞生长、增殖和分化的影响,探讨磁场的强度因素对离体K562人红白血病细胞增长和分化的影响;研究磁场对在体VX2肝肿瘤细胞增殖的影响;同时结合高强度聚焦超声(HIFU)作为试验手段,观察磁场结合HIFU治疗在体肿瘤的效果。

方法:经过传代培养的K562在频率一致(30Hz)而强度不同(0.5mT、1.0mT和1.5mT)的磁场中进行辐照后,利用四甲基偶唑盐法(MTT)研究不同强度磁场对K562细胞增殖及其分化的影响;采用流式细胞术(FCM)研究不同强度的磁场与细胞周期的调控关系;通过光镜、电镜观察和图像分析法研究经磁场辐照后K562的形态学变化;将VX2肝癌模型兔随机分成治疗组和对照组。选取强度为1.0mT,频率为30Hz的磁场作为辐照源。在辐照完成之后,治疗组和对照组采用相同的HIFU进行治疗。治疗靶区的声强为15800W/cm²,扫描方式为直线线扫,速度2mm/s。层面间隔为5mm。HIFU治疗后48h取材,进行病理学检查和电镜检查,比较治疗组与对照组的形态、结构等差异。

结果:(1)仅有一组(1.0mT)的细胞数量与辐照前比较具有明显的统计学意义($P<0.05$)。离体的K562对特定的磁场强度(1.0mT,30Hz)具有“易感性”;(2)1.0mT磁场组的K562在6h后即可见到细胞毒性现象的显现,细胞体积开始变大;在24h时可见到细胞核固缩,胞浆中大量空泡,胞浆量减少,核膜不完整等现象。1.5mT磁场组的细胞在72h后可见核固缩,胞浆量减小。(3)FCM检测结果表明,随着磁场剂量的增加,G0/G1期细胞也增加,其中1.0mT组的增加最明显,凋亡率最高。(4)治疗组(1.0mT)的肿瘤细胞在10d和20d后与对照组相比,其细胞平均直径和体积较小,但是没有表现出统计学差异。(5)光镜下治疗组胞浆嗜伊红染色浅,细胞肿胀,胞浆疏松,胞浆内大量空泡,少量细胞核固缩、染色质边集,对照组中可见胞浆内大量大小不等空泡,染色质边集和细胞核固缩;电镜下治疗组胞浆内大量线粒体肿胀和内质网扩张,细胞核固缩和染色质边集,两组肿瘤组织均可见到细胞胞浆内大小不等空泡。(6)治疗组灰度级达到或超过32所用的时间平均为12s;而对照组中,有8只兔子的皮肤出现了明显的红肿或溃烂;治疗组中仅有1只兔子的皮肤出现红肿现象。

结论:(1)1.0mT,30Hz的磁场能显著地抑制离体K562的生长、增殖;并且该抑制效应与辐照时间呈正相关关系;(2)1.0mT,30Hz的磁场能显著地阻止离体K562进入细胞分裂周期,主要抑制G2到M分裂期,并诱导细胞凋亡机制的启动;(3)1.0mT的低强度磁场对在体肝VX2肿瘤细胞的生长和增殖没表现出抑制效应,镜检中未发现凋亡小体的形成;(4)与对照组相比,磁场结合HIFU能够明显地缩短HIFU治疗VX2肝肿瘤细胞的时间,而且对组织皮肤的伤害更小。

[6. 期刊论文 张挽时. 吴冰. 王东. 孟利民. 时惠平. 宋云龙. ZHANG Wan-shi. WU Bing. WANG Dong. MENG Li-min. SHI Hui-ping. SONG Yun-long 全](#)

[肝MR灌注成像早期监测肝VX2肿瘤经皮酒精注射疗效的实验研究 -中华放射学杂志2007, 41 \(7\)](#)

目的 研究全肝MR灌注成像(MRP1)早期监测兔肝VX2肿瘤经皮酒精注射(PEI)疗效的价值。方法 新西兰大白兔10只,经开腹手术于肝内注射VX2肿瘤细胞悬液0.1 ml,分别在种瘤后第2、3周进行MR T1WI、T2WI检查监测肿瘤生长情况。在种瘤后第3周时,于CT引导下,于肿瘤一侧的早期强化最明显处注射无水乙醇1.0 ml,治疗1周后应用MRPI观察治疗效果。灌注参数包括:对比剂到达时间(TTO)和最大上升斜率(SS),应用t检验比较治疗区与肿瘤未治疗区的灌注参数。结果 10只兔肿瘤均种植成功,第3周时肿瘤直径(2.6±0.6)cm。治疗过程中3只兔死亡;PEI治疗1周后的治疗区呈无或低度强化,肿瘤未治区与治疗区的T0分别为(16.0±1.2)、(50.8±5.9)s,SS分别为38.9±2.2、6.0±1.2,差异均有统计学意义(t值分别为15.8、-39.6,P值均 <0.05)。常规T1WI、T2WI无法清晰显示治疗区与未治疗区的差异。结论 全肝MRP1可以较敏感的早期监测PEI疗效,早期强化的消失可作为PEI治疗有效的标志。

[7. 学位论文 邓巍 肝动脉栓塞术与血管生成相关性研究 2006](#)

第一部分兔VX2肝癌肝动脉栓塞改良模型的建立

目的探讨兔肝血管的解剖、栓塞插管技术的改良及VX2肝癌的超声、CT的成像的特点,并观察病理学改变。

方法选用VX2肿瘤细胞株,10只新西兰兔采用开腹法将瘤块埋入兔肝左中叶法建立兔VX2肝癌模型,于接种后第14天行肝动脉改良栓塞,均术后7天行超声、CT扫描,并对肿瘤标本行HE染色。

结果10只兔肝癌栓塞改良模型均成功建立,VX2肝癌在超声上表现为低回声的肿块,彩色多普勒可见肿瘤组织周边血供减少,肿瘤区碘油沉积所形成的环状斑片、点状强回声反射;CT扫描显示栓塞后肿瘤周边区碘油充填。

结论兔肝癌血管解剖与人类相似,兔VX2肝癌的超声表现类似于人原发性肝癌,用改良的穿刺方法成功建立了兔VX2肝癌肝动脉栓塞模型,为研究肝癌介入治疗提供了可靠的实验基础。

第二部分兔VX2肝癌栓塞后肿瘤血管生成的变化

目的在兔VX2肝癌栓塞改良模型上观察栓塞后肿瘤血管生成的变化。

方法20只新西兰大白兔,随机分栓塞组(n=10)和对照组(n=10)。于接种后14天用改良的穿刺技术经固有动脉注入超液化碘油(栓塞组)或等量生理盐水(对照组)。术后7天行CT扫描检查,观察肿瘤栓塞后CT的表现和病理特征并取肿瘤,免疫组织化学方法检测肿瘤组织微血管密度(MVD)血管内皮生长因子(VEGF)蛋白的表达。

结果10只肝癌模型和10只栓塞模型均成功建立,栓塞后肿瘤周边区碘油呈环形填充。栓塞组MVD(28.5±8.2)与对照组(21.7±6.5)比较差异有非常显著(t=3.083, $P<0.01$);VEGF蛋白栓塞组(0.162±0.018)与对照组(0.142±0.01)对比较差异有非常显著(F3.075, $P<0.01$)表达水平显著增高;在栓塞组和对照组,VEGF蛋白的表达与MVD呈正相关(r分别为0.69和0.72, $P<0.05$)。

结论经肝动脉栓塞后可能使肿瘤组织的缺血缺氧而导致VEGF的表达增加,促进肿瘤血管的生成,如果将介入栓塞与抗血管生成治疗相结合,可望提高栓塞治疗效果。

第三部分血管生成抑制剂TNP-470碘油栓塞对兔VX2肝移植瘤生长及新生血管的作用

目的研究血管生成抑制剂TNP-470碘油栓塞对兔VX2肝移植瘤生长,微血管密度(MVD)及血管内皮生长因子(VEGF)表达的影响。

方法40只新西兰大白兔肝内种植14天后,随机分为5组,经改良的固有动脉插管分别给予不同的处理,(A组)3%酒精溶剂灌注组,(B组)单纯TNP-470灌注组,(C组)单纯的碘油栓塞组(D组)3%酒精溶剂+碘油栓塞组,(E组)TNP-470+碘油栓塞组。TNP-470的用量为3mg/kg。治疗7天后,采用二维超声检测肿瘤的大小,计算肿瘤的生长率,病理观察肿瘤的坏死率,用免疫组化的方法检测肿瘤的MVD和VEGF蛋白的表达,并用RT-PCR检测VEGFmRNA的表达。

结果治疗7天后,各组肿瘤体积分别为(1.441±0.26)cm³、(1.372±0.28)cm³、(0.578±0.16)cm³和(0.523±0.12)cm³,各栓塞治疗组,肿瘤生长受到了明显抑制;单纯的碘油栓塞组及酒精+碘油栓塞后残余区的MVD有明显的升高,两者分别为:28.6±10.6、28.2±9.3,高于阴性对照A组MVD为21.8±6.9相比统计学有显著意义($P<0.05$);两组的VEGF表达强度分别为0.162±0.018和0.164±0.020高于阳性对照A组VEGF表达强度为0.141±0.01($P<0.05$);TNP-470+碘油栓塞组残余瘤区的MVD减低,VEGF的表达没有明显变化,两者分别为15.1±3.2和0.165±0.019,MVD与VEGF表达强度之间不存在相关。TNP-470+碘油栓塞组肿瘤坏死率大于单纯碘油栓塞及酒精+碘油栓塞组($P<0.05$),分别为85.5%±4.0%,75%±7.8%和75.9%±11.4%。栓塞后VEGFmRNA表达水平显著增高,且TNP-470不影响VEGFmRNA的表达。

结论TNP-470+碘油栓塞可以抑制肿瘤的生长,增加肿瘤的坏死率,抑制肿瘤的新生血管,并不明显影响栓塞后残瘤的VEGF的表达。

[8. 期刊论文 吴冰. 张挽时. 王东. 王霄英. 蒋学祥 CT灌注成像监测兔肝VX2肿瘤生长 -放射学实践2008, 23 \(6\)](#)

目的:研究使用CT灌注成像(CTPI)参数监测兔肝VX2肿瘤生长的价值。方法:10只新西兰大白兔,开腹手术于肝右叶内注射VX2肿瘤细胞悬液0.1 ml。分别在种瘤前、种瘤后第1周、第3周行CT灌注扫描。应用反卷积法计算肝脏的灌注参数:血流速(BF)、平均通过时间(MTT)、血容量(BV)、表面通透性(PS)、肝动脉分数(HAF)和到达时间(IRF TO)等。比较在肿瘤生长过程中灌注参数的变化。使用单因素方差分析进行统计学处理。结果:10只兔中共9只成功建立VX2种植模型。9只种植成功的兔肝中CT发现病灶9个,种植后第1周时扫描9只兔均可见肿瘤,直径约为(0.5±0.1)cm,第三周时肿瘤直径(2.6±0.6)cm。种瘤前肝实质、种瘤后第1周和第3周时肿瘤区域CTPI灌注参数BF、BV、PS、HAF、MTT、TO分别为(172.11±10.87)ml/(100g·min)、(31.02±3.02)ml/100g、(16.82±4.34)ml/100g·min、0.1224±0.0068、(11.24±1.20)s、(5.15±0.26)s;(128±5.04)ml/(100g·min)、(25.15±0.86)ml/100g、

(14.79±5.18)ml/100g·min、0.7780±0.0514、(9.82±0.47)s、(3.43±0.12)s与(237.00±8.83)ml/(100g·min)、(33.11±1.89)ml/100g、(18.78±6.25)ml/100g·min、0.9440±0.0124、(10.12±0.21)s、(1.86±0.05)s。HAF、TO、BF值比较差异有显著性意义(P<0.05),BV、MTT、PS值差异无显著性意义。结论:CTPI参数HAF、TO、BF值可监测肝脏VX2肿瘤生长过程,较好反映了VX2肿瘤的动脉供血为主的本质,有望在肝癌的检出及监测中发挥作用。

9. 学位论文 [李绍钦 射频消融联合肝动脉栓塞治疗肝癌的疗效和安全性的动物实验研究](#) 2007

目的:研究VX2兔肝移植瘤进行RFA与TAE联合治疗的疗效和安全性。

材料与方法:

1. 液氮冻存的VX2肿瘤细胞经复苏后,种植在实验兔双侧后大腿外侧肌肉组织内。2周后将长大的瘤块制成直径1mm³左右的小块,在CT引导下通过经皮、经肝穿刺的方法植入实验兔的肝脏内。2周后CT扫描筛选出肝内直径达2cm左右的荷瘤兔作为实验对象。

2. 36只肝移植瘤兔随机分为A、B、C、D4组,每组9只。A组行单纯RFA治疗,B、C、D组分别在TAE治疗后1、4、7天后行RFA治疗。

3. 各组在治疗后1天、4天、7天取大体标本,测量毁损范围、了解坏死情况。

4. 所有动物在术前、术后1天、4天、7天抽血检查ALT、UREA值的变化。

结果:

1. 治疗后一般情况:所有动物术后均出现精神萎靡、纳差、嗜睡,特别是栓塞后1天射频组(B组)及栓塞后4天射频组(C组)最明显。单纯射频组(A组)一般3天内恢复术前状态,其他组5~7天恢复术前状态。

2. 实验动物死亡情况:单纯射频组(A组)及联合治疗组(D组)没有动物死亡,B、C组分别有3只、2只动物死亡,均在联合治疗后24小时内死亡。动物死亡后及时补充。

3. 毁损范围:A、B、C、D组毁损范围分别为2.99±0.18cm²、3.67±0.32 cm²、3.65±0.29cm²、3.53±0.16cm²。B、C、D组与A组比较均有统计学意义(p<0.05),B、C、D组之间比较均无统计学意义(p>0.05)。

4. ALT和UREA值的改变:A、B、C、D组ALT值均在治疗后第一天最高。A、B、C、D组治疗后第一天ALT值分别为178.4±49.2 IU/L、385.0±213.1IU/L、289.2±192.6IU/L、208.2±65.5 IU/L,在第四天时ALT值明显下降。联合治疗后第一天ALT值比较:B组与D组及A组ALT值比较差异有统计学意义(p<0.05),但是B组与C组比较差异无统计学意义(p>0.05);C组与D组及A组ALT值比较差异亦有统计学意义(p<0.05);D组与A组比较无统计学意义(p>0.05)。各组治疗后4天、7天ALT值比较:B组术后第4、7天ALT值仍较其他组第四天高(B组>C组>D组>A组),但各组比较均无统计学意义(p>0.05)。各组UREA值组间比较差异均无统计学意义(p>0.05)。

结论:

1. TAE与RFA联合治疗是一种有效的微创治疗手段,可以明显增加肿瘤的坏死范围。

2. 单纯射频治疗(RFA)无法使毁损区内(特别是大血管旁)及其周缘的肿瘤完全坏死;联合治疗(TAE+RFA)可以使毁损区内肿瘤完全坏死,并使少数实验兔肝肿瘤毁损区外缘无残存肿瘤。

3. 栓塞后第1天、4天行射频治疗对肝脏功能会产生严重的影响,栓塞后第7天进行射频治疗相对比较安全。

4. 单纯射频及联合治疗对肾功能无明显影响。化油。

10. 期刊论文 [谭红明, 甘平, TAN Hong-ming, GAN Ping 超声波联合电场治疗肿瘤的研究 -中国医学物理学杂志](#)2007, 24 (4)

目的:研究低强度、频率可调的电场对兔肝VX2肿瘤细胞增殖的效应及低电场辐照对HIFU疗效的影响。方法:新西兰大白兔100只随机分为5组,一组为对照,其余四组为治疗组;兔肝VX2肿瘤细胞株活化、培养、传代后接种于兔肝脏。结果:治疗组的肝肿瘤生长速度明显地低于对照组,治疗组的肝肿瘤经超声治疗的时间缩短,其存活时间均长于对照组。结论:一定强度的低频电场能够有效地抑制肿瘤细胞的生长,并能提高肿瘤细胞对超声的敏感性

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_jrfsxzz200909014.aspx

授权使用: qknfy(qknfy), 授权号: fbe27200-a0c7-4139-a860-9df7016bfa6

下载时间: 2010年9月20日