

## ❖ 实验研究

## Comparison of two methods for CT-guided establishment of small pulmonary transplanted tumor in rabbit models

FENG Kun-peng, LI Shu\*, LI Wei-xiao, CHU Jin-gang, WANG Qiang, XU Ke

(Department of Radiology, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the method for establishment of small pulmonary transplanted tumor in rabbit models. **Methods** Thirty New Zealand rabbits were divided into experiment group ( $n=20$ ) and control group ( $n=10$ ), in which tumor tissue blocks parceled by gelatin sponge or not were implanted into the lungs using CT-guided trochar implantation technique, respectively. CT scanning of the lung was performed to observe the tumor growth every three days since 1 week after operation. The maximum diameter of tumor was measured in CT image. Small transplanted tumor was defined as the one which had a diameter of 5—10 mm and was solitary without metastasis. Pleural effusion still existed 1 week after operation was considered as pleural metastasis. **Results** The unifocal tumor formation rate and pleural metastasis rate of experiment group and control group was 95.00% (19/20), 5.00% (1/20) and 50.00% (5/10), 50.00% (5/10), respectively (both  $P<0.05$ ). The maximum diameter of tumors in experiment and control group measured from CT was  $(7.84\pm 0.67)$  mm and  $(7.94\pm 0.42)$  mm, measured from gross tumor was  $(8.00\pm 0.68)$  and  $(8.02\pm 0.47)$  mm, respectively (both  $P>0.05$ ). **Conclusion** Implantation of VX2 tumor tissue block parceled by gelatin sponge is an ideal method for establishment of small pulmonary cancer model in rabbits, which has high success rate, accurate location and simple operation.

**[Key words]** Lung neoplasms; Models, animal; VX2 tumor; Tomography, X-ray computed

## 比较两种 CT 引导下兔肺微小移植瘤模型建立方法

冯坤鹏, 黎 庶\*, 李卫校, 初金刚, 王 强, 徐 克

(中国医科大学附属第一医院放射科, 辽宁 沈阳 110001)

**[摘要]** **目的** 探讨兔肺微小移植瘤模型的建立方法。**方法** 将 30 只新西兰大耳白兔分为实验组(20 只)和对照组(10 只), 在 CT 引导下分别经皮套管种植经明胶海绵包裹和未经明胶海绵包裹的 VX2 瘤块。术后 1 周起每 3 天行肺部 CT 扫描, 观察移植瘤生长情况, 于 CT 图像上测量移植瘤最大径, 最大径 5~10 mm, 病变单发且不伴转移者定义为微小移植瘤, 术后 1 周仍存在胸腔积液者为有胸膜转移。**结果** 实验组和对照组肺内单发成瘤率和胸膜转移率分别为 95.00%(19/20)、5.00%(1/20)和 50.00%(5/10)、50.00%(5/10), 差异均有统计学意义( $P$  均  $<0.05$ )。CT 测量移植瘤最大径分别为  $(7.84\pm 0.67)$  mm 和  $(7.94\pm 0.42)$  mm, 大体标本测量分别为  $(8.00\pm 0.68)$  mm 和  $(8.02\pm 0.47)$  mm, 差异无统计学意义( $P$  均  $>0.05$ )。**结论** CT 引导下种植明胶海绵包裹 VX2 瘤块是建立微小肺癌模型较为理想的方法, 与传统种植方法相比成功率高、定位准确、操作简便。

**[关键词]** 肺肿瘤; 模型, 动物; VX2 肿瘤; 体层摄影术, X 线计算机

**[中图分类号]** R814.42; R-332 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-3289(2013)09-1409-04

**[基金项目]** 辽宁省自然科学基金(201102262)。

**[作者简介]** 冯坤鹏(1983—), 男, 河南商丘人, 在读硕士, 医师。研究方向: 影像诊断。E-mail: fengkp\_888@163.com

**[通讯作者]** 黎庶, 中国医科大学附属第一医院放射科, 110001。E-mail: ls610597@163.com

**[收稿日期]** 2013-04-25 **[修回日期]** 2013-05-30

肺癌是严重威胁人类健康的恶性肿瘤之一<sup>[1-2]</sup>,以周围型肺癌更为常见,近年在我国发病率呈明显上升趋势。早期肺癌临床表现较隐匿,大部分患者在确诊时往往已失去手术时机,预后较差<sup>[3]</sup>。目前对肺癌、尤其早期肺癌的血供特征及其影像学表现的认识仍然存在分歧<sup>[4-5]</sup>。本研究比较两种建立兔肺癌微小移植瘤模型的方法,以期研究早期肺癌血供特征提供合适的动物模型。

**1 材料与方 法**

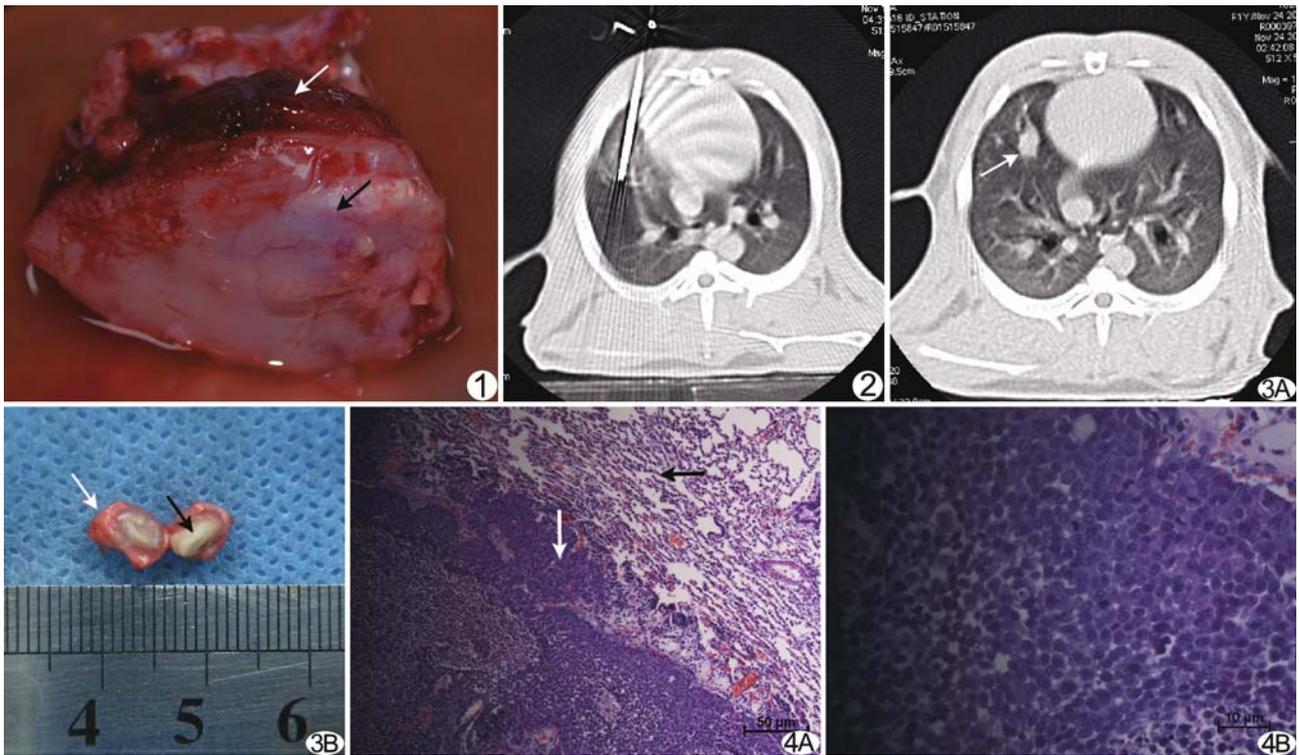
**1.1 动物及分组** 健康新西兰大耳白兔 31 只,4~5 个月龄,体质量(2.5±0.5)kg,雌雄不限,由中国医科大学实验动物中心提供;将其中 1 只用于制作荷瘤兔,余 30 只随机分为实验组 20 只和对照组 10 只,分别植入明胶海绵包裹及未经明胶海绵包裹的瘤块。

**1.2 材料与仪器** VX2 瘤株由中国医科大学第一附属医院放射诊断与介入治疗实验室提供;18G 穿刺针及管径匹配平头针芯一套,无菌器械包、明胶海绵;Toshiba Aquilion One 640 层 CT 机。

**1.3 VX2 瘤株的传代及收集** 从液氮罐中取出冻存的 VX2 瘤株,于 37℃ 恒温箱中复苏 5~10 min;在生

理盐水中剪成直径约 1 mm 瘤块,采用 20 ml 注射器抽取约 3~4 个瘤块,注入 1 只兔大腿根部肌肉组织内。2 周后待荷瘤兔大腿内侧长出直径约 2~3 cm 肿瘤时(图 1),肌内注射 3% 戊巴比妥钠溶液(0.5 ml/kg 体质量)及速眠新 II (0.2 ml/kg 体质量)麻醉动物,无菌状态下取出肿瘤;剖开肿瘤,取一小块肿瘤边缘鱼肉样无坏死组织,剪成直径约 1 mm 瘤块,置生理盐水中备用。

**1.4 建立肺癌微小移植瘤模型** 以同样方法麻醉动物后保定,右侧前胸部备皮,贴定位金属丝,行肺部 CT 扫描,参数:FOV 100 mm,矩阵 512×512,重建层厚 1 mm,层间距 1 mm,管电压 100 kV,管电流 80 mA;于右肺中下叶肺野较大层面标记预穿刺点,测量预穿刺点距定位金属丝距离及进针深度,在 CT 引导下进行穿刺。穿刺区消毒,铺无菌洞巾;穿刺过程中有落空感时再继续进针至穿刺深度,CT 扫描观察有无气胸出现及穿刺针尖端是否在计划穿刺范围内(图 2);穿刺位置满意后,拔出针芯,分别将明胶海绵包裹和未经明胶海绵包裹的、直径约 1 mm 的瘤块经套管针植入肺野内;拔出穿刺套管针,无菌纱布压迫穿刺



**图 1** 荷瘤兔传代肿瘤大体标本 剖面见肌肉组织(白箭)及鱼肉样肿瘤组织(黑箭) **图 2** CT 图像 经皮套管针种植明胶海绵包裹的 VX2 瘤块 **图 3** 右肺微小移植瘤 术后第 13 天 CT 平扫见右肺下叶单发高密度影,直径约 7 mm(A,白箭),取出肿瘤剖面见鱼肉样肿瘤组织(B,黑箭),白箭示肺组织(B) **图 4** 病理图片 A. 肿瘤组织细胞核浓染(白箭)与周围肺组织(黑箭)分界明显,癌巢大小形态不一,可见角化珠(HE,×100); B. 癌细胞核较大,异型性明显,核分裂象多见(HE,×400)

点,再行 CT 扫描观察有无气胸,若气胸较明显,以 20 ml 注射器抽吸。

1.5 观察指标 兔 VX2 肺种植瘤模型建立后 1 周麻醉动物,仰卧保定于固定架上,定位后行肺部 CT 扫描,参数同上。此后每 3 天扫描 1 次,观察肿瘤生长状态、是否单发及转移情况,由 2 名高年资医师分别在薄层 CT 图像上测量移植瘤最大径,将最大径 5~10 mm、单发且不伴转移者定义为微小移植瘤,以术后 1 周仍存在胸腔积液者为存在胸膜转移。对符合微小移植瘤标准及有胸腔积液的动物立即给予安乐死,取出移植瘤,测量大小,观察胸膜及淋巴结转移情况,以 4% 甲醛溶液固定移植瘤,行病理学检查。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示。以两样本独立  $t$  检验比较 CT 及大体标本上所测微小移植瘤最大径的差异;以  $\chi^2$  检验比较两组单发成瘤率及胸膜转移率差异。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 CT 实验组 3 只动物于第 10 天、9 只于第 13 天、7 只于第 16 天右肺下叶出现单发瘤结节,均未出现气胸;余 1 只未成瘤,出现胸腔积液、右侧少量气胸;5 只兔胸膜增厚,第 10 天均消失。对照组 1 只于第 10 天、4 只于第 13 天右肺下叶出现单发瘤结节,余 5 只未成瘤,出现胸腔积液;4 只出现气胸,其中 2 只为大量气胸;4 只兔胸膜增厚,第 10 天均消失。微小移植瘤种植成功率实验组为 95.00% (19/20),对照组为 50.00% (5/10),二者差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ );胸膜转移率实验组为 5.00% (1/20),对照组为 50.00% (5/10),二者差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。CT 测量移植瘤最大径实验组和对照组分别为  $(7.84 \pm 0.67)$  mm 和  $(7.94 \pm 0.42)$  mm。

2.2 大体标本 两组微小移植瘤最大径实验组和对照组分别为  $(8.00 \pm 0.68)$  mm 和  $(8.02 \pm 0.47)$  mm,与 CT 测量值差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ , 图 3)。两组 24 只微小移植瘤种植成功兔,经开胸证实均无肺门及纵膈淋巴结转移,肺叶多个切面均未见转移灶;两组 6 只有胸腔积液兔胸膜均可见多个小结节,其中对照组 4 只见肺门及纵膈淋巴结肿大,均行病理学检查。

2.3 病理结果 所有微小移植瘤均为鳞癌(图 4),送检胸膜小结节及淋巴结为转移癌。镜下见癌巢大小形态不一,有角化珠,细胞核较大,异型性明显,核分裂象多见,新生毛细血管丰富。

## 3 讨论

VX2 肿瘤细胞株来自于 Shope 病毒诱发兔乳头状瘤衍生的鳞状细胞癌<sup>[6]</sup>,易于移植,生长迅速,侵袭性强,种植成功率高,兔对其无免疫排斥反应,是制作兔微小肺癌模型较理想的瘤株<sup>[7-8]</sup>,目前广泛应用于肺癌生物学特性及介入治疗的研究<sup>[9-10]</sup>。

近年来研究者<sup>[11-13]</sup>尝试了多种肺癌模型建立方法。①细胞悬液注射法:成瘤率较高、方法简单、创伤小,但肿瘤呈播散性生长,肺内常出现多个肿瘤结节,且淋巴结转移及胸腔积液出现较早,不符合早期肺癌的特点,与肺组织海绵状结构造成细胞悬液外溢有关;②手术开胸植入法:肺内可出现单个瘤结节,但方法复杂、成瘤率较低、手术创伤大、死亡率较高;③穿刺种植肿瘤法:吸取了前两种方法的优点,创伤小、成瘤率高,减少了早期淋巴结转移和播散生长的机会,降低了动物死亡率,为目前较常用的方法<sup>[14-15]</sup>,但气胸发生率较高,且种植过程中瘤块被碾碎及异位种植的风险较高。本研究对穿刺种植肿瘤法进行改进,在 CT 引导下穿刺,保证肿瘤接种并生长在肺的最佳部位,有效解决了盲法进针难以控制穿刺深度,瘤细胞异位生长以及穿刺针进入支气管、血管引起气胸、远处播散和出血等问题;采用明胶海绵包裹瘤株,明胶海绵可被组织吸收、价格低廉、接触水后很快软化、易成形,能有效防止瘤株分散、被碾碎及气胸的发生,降低了针道转移及拔针时瘤块顺针道向后移位造成胸壁种植的发生率,且不影响微小移植瘤的成瘤时间。建模时需注意以下事项:①操作须快,出现气胸后立即以无菌注射器抽吸,直至胸腔内无气体或仅有少量气体;②穿刺时必须垂直胸壁进针,以保证穿刺针末端到达肺最佳种植位置;③避免多次穿刺,尽量避开较粗血管及支气管层面,以降低气胸及肺内大量出血的发生率。采用本方法建模,部分实验兔穿刺部位胸膜增厚,但种植术后 10 天已基本消失,对肺内微小移植瘤生物学特性研究无明显影响。

综上所述,CT 引导下种植明胶海绵包裹 VX2 瘤块是获得微小肺癌模型较为理想的方法,与传统方法相比成功率高、定位准确、操作简便,且不影响成瘤时间,值得推广应用。

## [参考文献]

- [1] Zhang XL, Wu JC. Establishing of the transplanted animal models for human lung cancer. Nanj J Med Univ (Engl), 2009, 23 (1):1-5.

- [2] Sera T, Uesugi K, Yagi N, et al. High-resolution visualization of tumours in rabbit lung using refraction contrast X-ray imaging. *Eur J Radiol*, 2008, 68(3 Suppl):54-57.
- [3] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*, 2005, 62(1):10-29.
- [4] 罗香国, 唐肇普, 严景恩. CTA 与 DSA 对支气管肺癌的血供研究及其临床意义. *中国医学影像学杂志*, 2002, 10(2):110-111, 114.
- [5] 初金刚, 黎庶, 王强. 感兴趣区的划分对周围型肺癌 CT 灌注成像影响的研究. *中国临床医学影像杂志*, 2010, 21(12):878-880.
- [6] Pascale F, Ghegediban SH, Bonneau M, et al. Modified model of VX2 tumor overexpressing vascular endothelial growth factor. *J Vasc Interv Radiol*, 2012, 23(6):809-817. e2.
- [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. *介入放射学杂志*, 2011, 20(4):292-295.
- [8] Lin LM, Chen YK, Chen CH, et al. VX2-induced rabbit buccal carcinoma: A potential cancer model for human buccal mucosa squamous cell carcinoma. *Oral Oncol*, 2009, 45(11):e196-e203.
- [9] Eivazi B, Sapundhziev N, Folz BJ, et al. Bipolar radiofrequency induced thermotherapeutic volumetric reduction of VX2 metastases in an animal model. *In Vivo*, 2005, 19(6):1023-1028.
- [10] Maruyama H, Matsutani S, Saisho H, et al. Sonographic shift of hypervascular liver tumor on blood pool harmonic images with definity: Time-related changes of contrast-enhanced appearance in rabbit VX2 tumor under extra-low acoustic power. *Eur J Radiol*, 2005, 56(1):60-65.
- [11] 庄永志, 李云, 徐克. 兔 VX2 肺种植瘤模型的建立. *实用肿瘤杂志*, 2007, 22(5):427-430.
- [12] 刘德森, 倪才方, 秦涌, 等. 兔 VX2 肺癌模型的建立和螺旋 CT 评价. *介入放射学杂志*, 2007, 16(4):266-268.
- [13] Tu M, Xu L, Wei X, et al. How to establish a solitary and localized VX2 lung cancer rabbit model? A simple and effective intrapulmonary tumor implantation technique. *J Surg Res*, 2009, 154(2):284-292.
- [14] 张庆, 汪建华, 贾荣飞, 等. 穿刺法兔 VX2 肺移植瘤模型的建立及其影像学评价. *中国医学影像技术*, 2010, 26(8):1417-1420.
- [15] 李欣, 张宏, 盛林, 等. CT 引导建立兔肺 VX2 肿瘤模型的实验研究. *介入放射学杂志*, 2009, 18(2):141-143.

## 《中国医学影像技术》被数据库收录情况

《中国医学影像技术》杂志是由中国科学院主管, 中国科学院声学研究所主办的国家级学术期刊, 被以下数据库收录:

百种中国杰出学术期刊

中国精品科技期刊

《中文核心期刊要目总览》收录期刊

中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)

中国科学引文数据库核心期刊

荷兰《医学文摘》收录源期刊

英国《科学文摘》收录源期刊

俄罗斯《文摘杂志》收录源期刊

波兰《哥白尼索引》收录源期刊

《日本科学技术振兴机构中国文献数据库》(JSTChina)收录期刊