

• 基础与实验研究 •

## Building of transplanted model of rabbits liver VX2 tumor and monitoring with CT and MRI

HAN Zhi-gang, CHENG Hong-yan\*, HU Hai-yang, DUAN Ji-cheng, HUANG Li-song, YE Ping, LU Lun  
(Department of Radiology, the Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital,  
the Second Military Medical University, Shanghai 200438, China)

**ABSTRACT Objective** To establish a stable transplanted model of hypovascular rabbit VX2 liver tumor, and analyze the CT and MRI manifestation of the implanted tumor, then a comparative observation was performed in microscope photographs and CT imaging. **Methods** Thirty white rabbits of New Zealand were included in the study. We extracted the VX2 tumor strain from subcutaneous tumor, then cut it into 1-2 mm<sup>3</sup> microblocks, a piece of tumor tissue were implanted into left or middle lobe of liver, CT and MRI were performed to distinguish the hypovascular liver tumor. And a comparative observation was performed in histopathology and imaging. **Results** The success rate of intrahepatic implantation of VX2 tumor was 73% (22/30), the tumor were not detected in three rabbits, five rabbits have died in 3 days after implantation. There was significant difference of tumor growth ratio in the second week and the third week. The tumor were shown to be hypointense by unenhanced CT and MRI, non-enhancement or peripheral rim enhancement were observe in 14 cases, the main bodies of tumor remained hypointense. **Conclusion** The means of tumor particle implantation to make model of liver cancer is convenient and feasible. The CT and MRI are accurate and non-invasive method to monitor the growth and blood vessels of tumor, we found rabbit VX2 liver tumors are hypovascular tumors.

**KEY WORDS** Liver neoplasms; VX2; Magnetic resonance imaging; Tomography, X-ray computed

## 兔 VX2 肝癌模型的制作及 CT、MRI 表现

韩志刚,程红岩\*,胡海洋,段纪成,黄立嵩,叶萍,陆伦

(第二军医大学东方肝胆外科医院放射科,上海 200438)

[摘要] 目的 建立稳定的兔 VX2 移植性肝癌模型,分析少血供移植性肝恶性肿瘤的 CT 及 MRI 影像特征,与病理学相对照。方法 取荷瘤兔后腿肌肉内 VX2 肿瘤,剪成小块后,经开腹种植于 30 只新西兰大白兔肝左叶或肝中叶,于种植后第 2 周、第 3 周分别进行 CT 及 MRI 增强扫描,统计肿瘤种植成功率,观察肿瘤体积及生长指数,分析肿瘤 CT 及 MRI 平扫和增强表现,区分富血供、少血供肿瘤;分别处死 2 只实验兔进行病理分析,与影像学相对照。结果 VX2 移植瘤种植成功 22 只;成瘤率为 73%。2 周与 3 周时肿瘤生长率有显著差异( $P < 0.01$ )。VX2 移植瘤在 CT 及 MRI 上表现为占位性病变,呈类圆形或分叶状低密度或低信号结节,增强后发现少血供 VX2 移植瘤 14 只,表现为肿瘤无强化或轻微强化,肿瘤主体保持为低密度或低信号;富血供肝移植瘤 8 只,表现为肿瘤中度强化或明显强化,肿瘤主体密度或信号明显高于肝实质。光镜下肿瘤新生毛细血管虽较丰富,但纤细。结论 经开腹种植法制作兔 VX2 肝移植瘤模型是一种简单、成功率高的建模方法,但易发生转移。CT 及 MRI 平扫和增强扫描是检测肿瘤生长和血供的可靠方法,兔 VX2 肝移植瘤模型在 CT 与 MRI 上主要是一种少血供肝癌模型。

[关键词] 肝肿瘤; VX2; 磁共振成像; 体层摄影术, X 线计算机

[中图分类号] R-332;R815 [文献标识码] A [文章编号] 1672-8475(2007)01-0061-05

[基金项目] 上海市自然科学基金资助项目(05ZR1414)。

[作者简介] 韩志刚(1975-),男,山东淄博人,硕士,住院医师。研究方向:肝癌的影像诊断及介入治疗。E-mail: zhigangh@vip.sohu.com

[通讯作者] 程红岩,第二军医大学东方肝胆外科医院放射科,200438。E-mail: chengys9304@yahoo.com.cn

[收稿日期] 2006-09-12 [修回日期] 2006-12-08

### 0 引言

国外早期就对动脉化疗栓塞进行了大量基础研究工作,我国近年来也在肝癌动物模型方面作了很多工作。目前兔 VX2 肝移植瘤模型是较为理想的肝癌实验模型,它便于检测肿瘤生长、治疗情况。本研究采用开腹直视下种植瘤块的方法建立兔 VX2 肝移植瘤模型,并采用 CT 及 MRI 对兔 VX2 肝移植瘤进行检测,为后续介入治疗提供合适实验动物模型。

### 1 材料与方

1.1 实验动物 30 只新西兰大白兔,体重 2.5~3.0 kg/只,雌雄各半,由上海海军医学研究所提供。兔 VX2 瘤株由上海第一人民医院提供,瘤株类型为 VX2 鳞状细胞癌。3%的戊巴比妥钠 1000 ml。静脉注射针头,眼科剪 2 只,血管钳 4 只,5 ml 注射器,手术缝合线等。

### 1.2 方法

1.2.1 瘤块准备 后腿肌肉荷瘤兔 2 只,为新西兰大白兔,荷瘤兔制成 3 周时手术剥离兔后腿外侧肿瘤,剪取瘤块中层鱼肉样组织,用眼科剪对鱼肉样瘤组织切块,瘤块大小约为 1.0~2.0 mm<sup>3</sup>,将瘤块置于生理盐水中备用。

1.2.2 实验兔制作方法 实验兔术前晚开始禁食,但不禁水。兔耳缘静脉麻醉,麻醉剂为戊巴比妥钠,剂量为 30 mg/kg。仰卧方式缚于手术板上,上腹部备皮,常规外科消毒,于剑突下沿腹部正中逐层切口,刀口长约 2.0 cm。进入腹腔暴露肝脏后,用眼科剪或无齿镊在肝左叶打一隧道,深约 0.5 cm,用眼科镊将其瘤块置于肝内,剪一明胶海绵小块塞入隧道内,用血管线缝合隧道口。将肝脏放回腹腔,逐层关腹缝合,术后兔后腿肌肉注射青霉素 10 万 IU/d,连续 3 日。

1.2.3 实验兔肝肿瘤的影像学检测 选用 GE 公司 LightSpeed QX/i 型多层螺旋 CT 扫描仪,Signa 1.5T 超导型磁共振扫描仪,对比剂分别采用优维显和马根维显,由德国先灵公司提供。图像经 GE 公司 AW 4.0 工作站处理。

CT 扫描参数为:120 kV,180 mA,层厚 3 mm,间距 3 mm,对比剂剂量为 1 ml/kg。

MRI 扫描参数为:快速自旋回波序列,加脂肪抑制技术,T1WI(TR 400 ms,TE 12.3 ms,NEX 2,Phase 192,Freq 256,FOV 6,层厚 3 mm,间距 0.5 mm,扫描层数 5~10),T2WI(TR 3000 ms,TE 50 ms,NEX 4,Phase 256,Freq 320,FOV 6,层厚 3 mm,间距 0.5 mm,扫描层数 5~10)。对比剂剂量为 1 ml/

kg。

瘤块种植术后第 14、21 天分别进行 CT 或 MRI 平扫及增强扫描。CT 增强扫描在注射对比剂 15 s 后进行,MR 增强扫描在注射对比剂 20 s 后进行,手动注射对比剂。

测量数据为肿瘤大小径,计算肿瘤体积及肿瘤生长率,肿瘤体积计算公式:V=0.5a×b<sup>2</sup>(a 为最大径,b 为最小径),肿瘤生长率为:TGR=治疗后体积/治疗前体积×100%。

1.2.4 实验兔肝肿瘤的病理学检测 于 14、21 日 CT 或 MRI 检查各处死 2 只实验兔,观察胸部及腹部转移情况,肿瘤常规 HE 染色,光镜检查。观察肿瘤细胞及周围肝实质。

1.2.5 统计学处理 应用 SPSS 11.0 统计软件,做 t 检验,P<0.05 有显著差异,P<0.01 有非常显著差异。

1.2.6 肿瘤血供评价标准 在 CT 或 MRI 上,以肿瘤密度与周围肝组织密度相比较来判断肿瘤强化程度,分为无强化和轻、中、重度强化,无强化为肿瘤在动脉期仍为低密度;轻度强化为肿瘤密度略升高,可呈等密度或与平扫时的密度比较有轻度的升高但仍呈低密度;重度强化表现为肿瘤密度明显增高,CT 值可达 70~100 Hu 或更高。将肿瘤无强化或轻度强化者视为少血供肿瘤,而中度和重度强化者定为富血供肿瘤。

### 2 结果

2.1 移植成功率 30 只实验兔经 CT 或 MRI 平扫及增强扫描,发现 VX2 移植瘤成活 22 只;3 只未成瘤,自然死亡后解剖证实;5 只种植瘤块术后 2~3 天死亡。成瘤率为 73%。3 周时实验兔未发生肺转移,4 周时后发现肺转移 6 例(图 1、2);腹腔淋巴结转移 3 例。

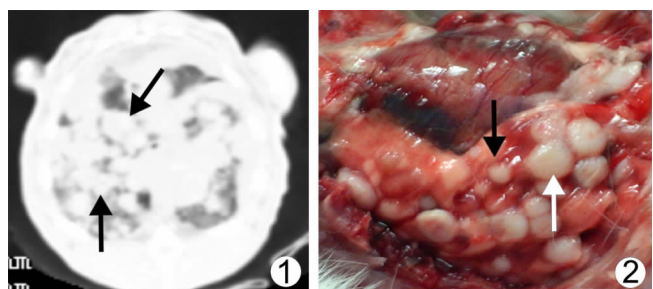


图 1 胸部 CT 肺窗位显示两肺分布高密度结节(黑箭头),大小不等,呈类圆形,可见小毛刺 图 2 两肺转移瘤大体标本:两肺表面散在分布白色小圆形(黑、白箭头)结节,大小不等,表面较光滑

2.2 肿瘤体积及生长指数(表 1)。

表 1 术后第 2、3 周肿瘤体积及生长指数

接种天数	a(cm)	b(cm)	V(cm <sup>3</sup> )	TGR(%)
14	1.22±0.09	0.89±0.11	0.48±0.08	
21	2.24±0.20	1.49±0.26	2.48±0.16	207

$V=0.5a \times b^2$ , a 为最大径, b 为最小径; TGR=治疗后体积/治疗前体积 ×100%

表 1 显示第 2、3 周肿瘤体积有明显差异 ( $t' = -47.4342, P < 0.05$ )。第 3 周肿瘤生长率为 207%。

2.3 肿瘤的 CT 及 MRI 表现 17 只实验兔行 CT(图 3、4)检查: 3 只未发现肿瘤, 14 只发现肿瘤, 肿瘤平扫表现为肝左叶结节样低密度灶, 呈占位性改变, 边缘与周围肝实质分界较清楚, 呈类圆形或轻度分叶状, 2 周时显示肿瘤位于肝内, 3 周时部分肿瘤突出于肝表面。增强后 2 只肿瘤明显强化, 表现为肿瘤的信号部分或完全高于肝实质。12 只肿瘤无强化或轻度强化, 肿瘤的信号完全低于周围肝实质。

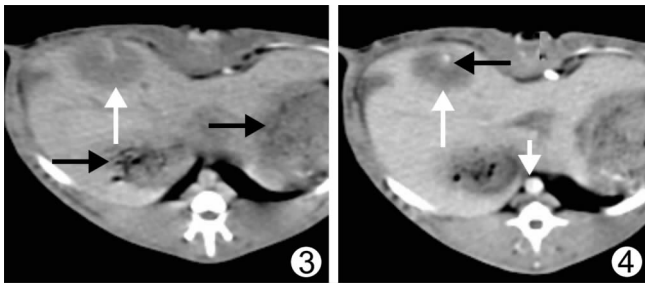


图 3 CT 平扫: 胃体及胃窦部(黑箭头); 肝左内叶(或中间叶)肿瘤呈低密度结节状, 类圆形, 边缘较清楚 图 4 CT 增强: 动脉期肿瘤主体(白箭头)低于肝实质密度, 边界较清楚, 前缘可见一小强化结节(黑箭头)。强化的腹主动脉(白短箭头)

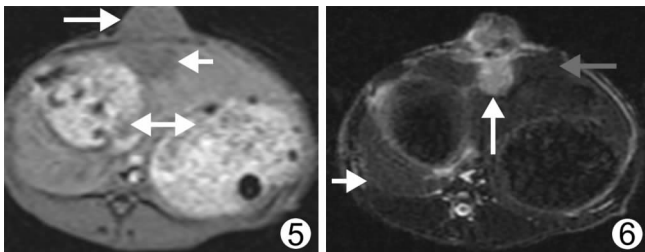


图 5 MRI 增强显示肝左叶低信号结节, 形态不规则, 边缘较清楚, 结节无明显强化, 信号低于周围肝实质(短箭头)。胃内尚见食物残渣(双箭头), 腹中线切口隆起(长箭头) 图 6 MR T2WI 示: 肿瘤位于肝左叶, 呈高信号结节(长箭头), 边界清楚, 信号明显高于肝实质。左肝叶较大(灰箭头), 右肝叶较小(短箭头)

8 只实验兔行 MRI(图 5、6)扫描: 均发现有肿瘤, 平扫 T1WI 见肝内低信号结节, 呈类圆形或分叶状, 边界清楚。肿瘤呈占位性改变。T2WI 呈中等高信号, 信号不均匀, 可见中心区域不均匀更高信号。增强后 1 例明显强化, 表现为肿瘤信号均匀增强, 明显高于周围肝实质。7 例不强化或轻微强化, 肿瘤信号完全低于周围肝实质。

共筛选乏血供肝移植瘤 19 只, 富血供肝移植瘤 3 只。

2.4 肿瘤病理学观察 分别处死少血供及富血供实验兔各 2 只, 发现肿瘤均位于肝左叶, 突出于肝脏表面部分呈灰白色, 有透明样包膜, 质地较硬。剖面中心(图 7)见黄白色坏死组织, 周围见生长旺盛的鱼肉样肿瘤实质部分, 厚度不等。低倍镜下可见癌灶呈巢状浸润性生长, 与肝实质分界不清, 癌巢边缘可见肝索结构。肿瘤细胞排列不规则, 可见纤维组织分隔, 间质中有少量毛细血管(图 8)。高倍镜下可见瘤细胞体积较大, 形态不规则, 呈梭形、圆形或不规则形, 细胞排列紧密, 胞浆丰富, 淡红染色, 核肥大, 形态不规则, 染色不均, 核分裂像多见(图 9)。间质内见淋巴细胞、浆细胞等炎性细胞浸润。一例肿瘤大部为坏死区, 坏死区外见一菲薄实质区, 低倍镜下表现为肿瘤细胞稀少, 细胞分散排列, 毛细血管稀少(图 10)。

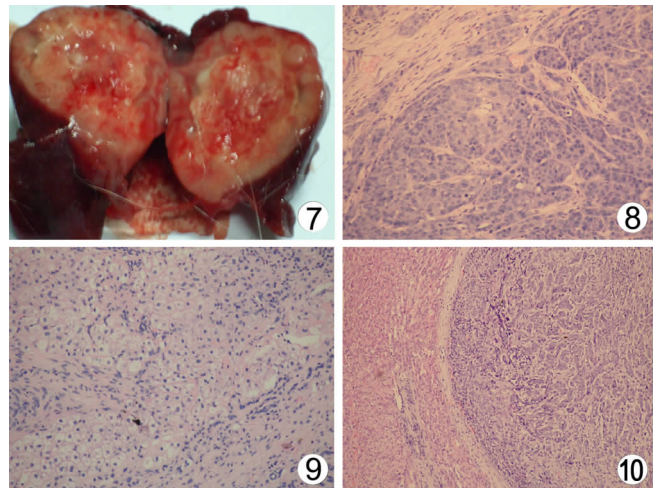


图 7 肿瘤剖面像示肿瘤边缘带为生长旺盛的实质区, 中心部可见黄白色坏死组织 图 8 低倍镜下(×100)肿瘤细胞呈浸润性生长, 与周围实质界限不清, 肿瘤细胞排列不规则, 癌巢边缘可见肝索组织 图 9 高倍镜下(×400)瘤细胞大小不一, 核分裂像多见。形态不规则, 呈梭形、圆形或不规则形, 细胞排列紧密, 胞浆丰富, 淡红染色, 核肥大, 形态不规则, 染色不均, 核分裂像多见 图 10 低倍镜(×100)下细胞排列稀疏, 肿瘤细胞稀少, 未见明显毛细血管

### 3 讨论

兔肝癌模型是一种较大型的动物肝癌模型,在肝癌的研究中常用于影像学与介入治疗学的研究。1933 年 Shope 等使用 shop 病毒在兔身上诱发出诱发型乳头状瘤后,经过恶变成为鳞癌,逐渐发展为可移植的、稳定的瘤株,最早于 1937 年即将兔 VX2 移植瘤应用于肿瘤学的研究。兔 VX2 移植瘤可移植于兔肌肉、骨骼、脑、肺、肝、肾等身体多个组织和器官,国内也进行了各方面的研究。其中,兔 VX2 肝癌模型被广泛应用于肿瘤的发生、治疗、放射生物、抗肿瘤药物等方面研究,在影像医学主要用于肿瘤影像学、放射治疗学及介入放射学。

**3.1 兔 VX2 肝移植瘤的制作** 目前兔 X2 肝移植瘤模型的制作方式有很多种,接种瘤种形态有 2 种,一为瘤细胞悬液接种,一为小瘤块接种。因瘤种不同而有不同的种植方式。瘤细胞悬液接种法多采用超声影像指导经皮穿刺注射法或开腹直视下注射法,开腹直视下注射可适时防止瘤细胞溢出等问题。瘤块种植法多采用开腹后局部肝脏包埋,也有采用开腹注射种植法。以往文献<sup>[1-7]</sup>报道上述方法成瘤率都很高。我们采用开腹直视下瘤块包埋法,成功率也较高,达到 73%。5 只术后 2~3 天死亡,死亡原因可能为饲养不当造成,伤口未见感染,尸检未见大量出血。3 只未成瘤,考虑与种植瘤块过大有关。种植 1 周后部分肿瘤尚不能通过 CT 检测出,可能与此时种植肿瘤尚小,3 mm CT 扫描尚不能检出有关,肿瘤在 2~3 周时直径一般达到 1.5~2.5 cm,此时肿瘤的中心尚无或较少坏死组织,适合进行介入治疗实验。4 周后肿瘤迅速增大,中心多出现缺血坏死。一例肿瘤坏死明显,大体病理可见外周较薄实质层,HE 染色后几乎看不到瘤细胞。

在兔 VX2 移植瘤的制作中,始终存在一个问题,即在腹腔、穿刺点或开腹口形成转移瘤。异位移植的可能性有以下几种:①穿刺法中瘤细胞溢出穿刺道进入腹腔;②穿刺部位不准确导致瘤细胞进入腹腔;③手术器械携带瘤细胞进入腹腔;④血道转移。针对这一问题,我们先以明胶海绵小粒堵塞穿刺点,然后用血管缝线缝合穿刺口,术后开腹口转移率极低,仅 1 例因麻醉过浅,术后即苏醒,导致瘤块溢出,切口生长肿瘤。

兔 VX2 移植瘤的制作中,应注意以下几个方面:①瘤块应尽量取肿瘤周围鱼肉样组织。②麻醉深度适中。采用 30 mg/kg 戊巴比妥麻醉是较通用且安全的麻醉方法,一般可维持 1.5~2.5 h。实验中因麻醉过深导致死亡 1 例。③严格无菌操作。

**3.2 兔 VX2 移植瘤生长特性** VX2 移植瘤由肝动脉供血,与人类肝癌相似,其生长特性已经有了很明确的实验结果,瘤株在肝脏存活后呈指数样生长,并有不同的数学模型可参考。1 周时体积较小,2~3 周时体积开始迅速增大,此阶段中心坏死较少,为供瘤血管形成期,毛细血管纤细但较丰富,4 周后肿瘤中心开始出现缺血性变性坏死组织,并出现肺转移或腹腔淋巴结转移。也有报道<sup>[8]</sup>2 周时即出现淋巴结转移,3 周后全部发生腹腔淋巴结转移。肺转移出现后兔体重开始下降,两肺转移瘤增加迅速,4 周后常为两肺广泛转移,此后实验兔体质下降,可出现消瘦、毛色暗淡等恶病质状态。随着时间的延长,肿瘤的坏死区也逐渐增大,介入实验通常选择在 2~3 周时进行,此时肿瘤直径在 2 cm 左右,不会因肿瘤组织坏死或肝外转移而影响治疗效果。

**3.3 兔 VX2 移植瘤的 CT、MRI 监测** 兔移植瘤的影像学监测方法有多种,但最常用的仍然是 CT 及 MRI 检查。兔 VX2 肝癌模型 CT 平扫均表现为低密度结节;MR T1WI 表现为低信号结节,T2WI 表现为均匀或不均匀高信号结节,有囊变信号,无出血信号改变。增强后 14 例表现为无强化或肿瘤周围轻微强化,8 例表现为肿瘤周围明显环形强化或肿瘤完全强化。有研究<sup>[9]</sup>表明当以 2 ml/kg 对比剂增强时肝实质在增强后 49 s 达到峰值(135±15)Hu,而肿瘤此时为(37±13)Hu,肿瘤在 64 s 时达到峰值(60±27)Hu,所以在动脉期或门静脉早期兔 VX2 肝癌显示为低度强化的少血供小肿瘤,而有别于人类的肝癌“快进快出”强化特点。

VX2 肝癌的病理学特征为鳞状细胞癌,而非肝细胞癌,HE 染色下它的血供也不丰富,但它主要由肝动脉供血,虽然其生物学特性与原发性肝癌有所不同,但是可以作为肝癌的影像学及介入放射学的基础研究。相对于人肝癌,其滋养血管纤细,我们在 CT 及 MRI 造影时发现其不强化或轻度强化,相当于人类的少血供肿瘤。在进行动脉化疗栓塞时,可作为少血供肝癌的模型进行研究。CT 及 MRI 检测肿瘤的生长特性与病理结果具有很高的一致性;增强扫描又可检测肿瘤的血管,是一种很好的检测和筛选方法。

由于 CT 对比剂在兔体内排泄较快,因此应采取团注方式,注射后 15 s 进行动脉期扫描。而 MRI 对比剂代谢较慢,MRI 扫描成像时间也较长,注射速度可适当放缓,以避免实验兔心脏猝死。在一般的 CT、MRI 增强或 DSA 造影时,采用对比剂剂量多为 1 ml/kg,而贾洪顺等<sup>[10]</sup>使用 CT 评价兔 VX2 肝移植瘤血

供特点时采用 2 ml/kg 剂量,对比剂为优维显,注射速度为 0.5 ml/s;结果发现 70% 病灶有供血血管和肿瘤血管显示,动脉期增强表现为肿瘤边缘环行强化特点,但肿瘤主体一直保持为低密度,进入门脉期后边缘环行强化也随只消失。作者认为这是兔 VX2 肝癌血供并不丰富。我们通过病理切片分析可知大部分兔 VX2 肝肿瘤为毛细血管较为丰富,具有恶性肿瘤浸润性生长特性,少部分肿瘤为少血供型肿瘤,其 CT 或 MRI 表现肿瘤不明显强化显示是由于兔肝动脉细小,可容纳对比剂数量极少。

实验中当对比剂超过 2 ml/kg 时,易造成试验动物猝死,较快速推注也可造成血管破裂,对比剂外溢等问题;而剂量为 0.5 ml/kg 时,主动脉显影不佳,剂量明显偏小,因此我们将对比剂剂量定为 1 ml/kg。注射速度为 0.5 ml/s。增强后动脉期可见腹主动脉强化明显,达到动脉期增强效果。在影像学研究中我们也发现其增强后 CT 表现强化不明显,与 Kuszyk 等<sup>[9]</sup>研究结果一致;DSA 造影时肿瘤染色也较淡。只有少量肿瘤也表现为富血供肿瘤的明显强化特点。

总之,兔 VX2 肝癌模型从生长特征、转移及死亡、病理过程均与人肝癌相似,而模型稳定,具有复制性强,种植成功率高、成型周期短等特点,又适于被 CT 及 MRI 检测,是研究肝癌的影像及治疗的理想动物模型。

#### [参考文献]

[1] Zhang HX, Wang ZM, Cao W, et al. Building of transplanted

model of VX2 carcinoma in rabbit liver and its DSA features. J Interventional Radiology (Chinese), 2002, 11(3):193-196.

- [2] Zeng XH, Feng GS, Wang SZ, et al. Improvement of VX2 transplanted hepatic carcinoma model in rabbit. J Interventional Radiology (Chinese), 2004, 13(6):551-553.
- [3] Zhang HX, Wang ZM, Wang LJ, et al. The pathologic basis and image features of transplanted model of VX2 carcinoma in rabbit liver. J Pract Radiol (Chinese), 2002, 18(7):543-548.
- [4] Guo WL, Liu ZT, Dai SJ, et al. Establishment and spiral CT evaluation of rabbit model with VX2 implanted liver tumor. J Pract Radiol (Chinese), 2005, 21(3):225-227.
- [5] ShaoGL, Zhou KR, Wang JH, et al. Improvement in making rabbit model bearing VX2 liver tumor for interventional experimental study and CT evaluation of the tumor. J Clinical Radiology (Chinese), 2001, 9(30):653-655.
- [6] Miao Y, Ni Y, Mulier S, et al. Treatment of VX2 liver tumor in rabbit with "wet" electrode mediated radio-frequency ablation. Eur Radiol, 2000, 10(1):188.
- [7] Guo WP, Liu Y, Wang ZM, et al. The builder of retrofit model of VX2 carcinoma in rabbit liver and the DSA imaging features of the tumor. Chin J Med Imaging Technol (Chinese), 2002, 18(5):397-399.
- [8] Wang M, Wang Y, Wang SC, et al. Research on establishing of rabbit VX2 carcinoma model and monitoring with color Doppler energy ultrasound technique. J Chongqing Medical University (Chinese), 2003, 28(5):585-587.
- [9] Kruszyk BS, Bluemke DA, Choti K, et al. Contrast-enhanced CT of small hypovascular hepatic tumors: effect of lesion enhancement on conspicuity in rabbits. AJR, 2000, 174(2):471-475.
- [10] Jia HS, Quan XY, Zeng S, et al. Dynamic evaluation of rabbit VX2 hepatic carcinoma with CT and MRI. J First Mil Med Univ (Chinese), 2002, 22(2):141-144.