

## Establishment and imaging observation of VX2 lung cancer model in rabbits

ZHANG Qing<sup>1</sup>, WANG Jian-hua<sup>1</sup>, JIA Rong-fei<sup>2</sup>, ZUO Chang-jing<sup>2\*</sup>,  
PENG Ye<sup>2</sup>, CUI Bin<sup>2</sup>, WANG Shao-yan<sup>2</sup>, KONG Ling-shan<sup>2</sup>

(1. Department of Radiology, 2. Department of Nuclear Medicine, Changhai Hospital,  
the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**[Abstract]** **Objective** To establish VX2 lung transplanted tumor model suitable for imaging observation in rabbits. **Methods** Thirty rabbits were divided into 2 groups. VX2 tumor tissue masses was punctured into pulmonary parenchyma of the rabbits under the guidance of CT in 15 rabbits in the experiment group, meanwhile, VX2 tumor tissue suspensions were ejected under the guidance of CT in 15 control rabbits (control group). **Results** VX2 tumor tissue were implanted successfully in 13 rabbits of experiment group, the lung tumor formation rate was 86.67% (13/15), the rate of the chest seeding was 40.00% (6/15), and the mean survival time was (57.84±6.00)days. VX2 tumor tissue were implanted successfully in all 15 rabbits in control group, the lung tumor formation rate was 100% (15/15), the rate of the chest seeding was 86.67% (13/15), the mean survival time was (29.00±7.01)days. The life span of two groups was analyzed with Kaplan-Meier curve, and significant difference was found ( $P<0.01$ ). Implantation ratio of pleura and chest wall of experiment group was lower than that of control group ( $P<0.05$ ). The achievement ratio of tumor implantation into the lung had no statistical significance ( $P>0.05$ ). **Conclusion** Implantation VX2 tumor tissue masses into pulmonary parenchyma under the guidance of CT will form single nodule in lung, significantly decrease implantation ratio of pleura and chest wall, and therefore increase the mean survival time of animals. This model is suitable for imaging study.

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

## 穿刺法兔 VX2 肺移植瘤模型的建立及其影像学评价

张 庆<sup>1</sup>, 汪建华<sup>1</sup>, 贾荣飞<sup>2</sup>, 左长京<sup>2\*</sup>, 彭 焯<sup>2</sup>, 崔 斌<sup>2</sup>, 王少雁<sup>2</sup>, 孔令山<sup>2</sup>

(1. 第二军医大学附属长海医院放射科, 2. 核医学科, 上海 200433)

**[摘要]** **目的** 尝试建立适于影像学评价的兔 VX2 肺移植瘤模型。 **方法** 新西兰大白兔 30 只, 随机分为两组, 实验组采用 CT 引导下穿刺 VX2 肿瘤组织块注入法建立兔肺移植瘤模型, 以常用的 VX2 肿瘤组织悬液注射法作为对照组, 以病理结果作为金标准。 **结果** 实验组肺内成瘤率 86.67% (13/15), 胸膜种植率 40.00% (6/15), 平均生存时间 (57.84±6.00) 天。对照组成瘤率 100% (15/15), 胸膜种植率 86.67% (13/15), 平均生存时间 (29.00±7.01) 天。生存时间采用 Kaplan-Meier 曲线分析, 两组差异有统计学意义 ( $P<0.01$ ); 实验组胸膜及胸壁种植率低于对照组 ( $P<0.05$ ), 两组肿瘤种植成功率差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。 **结论** CT 引导下穿刺 VX2 肿瘤组织块注入法建立兔肺移植瘤模型在肺内形成孤立结节, 较常用的肿瘤组织悬液注射法明显降低了胸膜及胸壁种植率, 延长了实验动物生存时间, 适合于影像学研究。

**[关键词]** 体层摄影术, X 线计算机; 肺肿瘤; 模型, 动物

**[中图分类号]** R-332; R814.42 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-3289(2010)08-1417-04

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一, 近年来发病率及死亡率

呈上升趋势。影像学检查是诊断肺癌和随访疗效的重要手段, 而肺癌研究需要合适的动物模型。本实验探讨 CT 引导下穿刺 VX2 肿瘤组织块注入法制作兔肺移植瘤模型, 并与常用的 VX2 肿瘤组织悬液注入法对照, 尝试建立一种适合影像学实验研究的肺移植瘤模型, 同时行 CT 扫描观察兔 VX2 肺移植瘤的生长特性, 旨在对肺癌动物模型制作提供指导。

### 1 材料与方

**[基金项目]** 上海市科委科研项目(08411967800)。

**[作者简介]** 张庆(1979—), 女, 四川乐至人, 硕士, 医师。研究方向: 影像诊断。E-mail: zhangqing\_cyh@sina.com

**[通讯作者]** 左长京, 第二军医大学附属长海医院核医学科, 200433。

E-mail: changjing.zuo@gmail.com

**[收稿日期]** 2010-02-18 **[修回日期]** 2010-05-26

1.1 实验动物及分组 新西兰大白兔 30 只,雌雄不限,体质量 2~3 kg,4~5 月龄,由第二军医大学实验动物中心提供。随机分为实验组和对照组,每组 15 只,实验组采用 CT 引导下穿刺 VX2 肿瘤组织块注入法,对照组采用 CT 引导下穿刺 VX2 肿瘤组织悬液注入法。

1.2 肿瘤组织块的制作 全麻状态下,采用无菌技术取出荷瘤种兔(由本院放射科提供)大腿外侧肿瘤组织,取生长活跃的鱼肉样肿瘤组织,放入生理盐水中反复冲洗,用眼科剪在超镜台内剪成大约 1 mm×1 mm×1 mm 的肿瘤组织块,置于生理盐水中备用。

1.3 兔肺 VX2 移植瘤模型的建立 采用 Cook 18G 穿刺针及平头针芯。以 3%戊巴比妥钠 1 ml/kg 体质量经耳缘静脉注射对实验组动物行全身麻醉,仰卧位保定,右侧前胸壁备皮,行 CT 平扫选择接种部位,精确测量穿刺深度及角度。用眼科镊取 2 块瘤组织块以明胶海绵吸干周围的生理盐水,实验兔筋膜置于瘤组织块两端制成“三明治”状,以平头针芯导入 18G 穿刺针针鞘内,穿刺针表面用无水酒精及生理盐水反复冲洗,消除粘在针鞘表面的活肿瘤细胞,无菌程序常规消毒皮肤,按测量好的角度、深度经皮穿入兔右肺中下叶中带,用平头针芯将瘤组织块推入实验兔肺部,迅速拔出穿刺针具,以无菌纱布压迫穿刺点 20 s 后消毒穿刺点,接种完毕。对照组在 CT 引导下将 18G 穿刺针经皮刺入兔右肺中下叶,注入约 1.0 ml 肿瘤组织块悬液,其中生理盐水约 0.5 ml。实验兔术后均肌内注射头孢拉定 0.5 g/只预防感染。

1.4 CT 扫描及图像后处理 接种后第 10 天开始,每隔 3 天行 CT 扫描(其中每组分别于接种后第 15、20、25、30、35 天随机抽取一只实验兔处死行病理检查),对每组余下的 10 只实验兔行 CT 扫描观察至动物自然死亡。采用 Siemens Sensation Cardiac 64 螺旋 CT 机(Thorax Routine),准直器宽度 1 mm,重建层厚 1 mm,扫描参数:120 kV,100 mA,FOV 90~140 mm,矩阵 512×512。肺窗:窗宽 1200 HU,窗位 400 HU;纵隔窗:窗宽 300 HU,窗位 25 HU。扫描完成后,在 Wizard 工作站利用 LungCARE 软件自动计算瘤结节容积。根据所得的瘤结节体积计算肿瘤倍增时间(double time, DT)及肿瘤生长率(tumor growth rate, TGR),计算公式为:

$$DT = [\lg 2 \times \Delta t] / [\lg(V_{(n+3)} / V_n)]$$

$$TGR = [V_{(n+3)} - V_n] / V_n$$

其中  $\Delta t$  为接种成功的实验兔每 2 次 CT 扫描的间隔天数,本实验中  $\Delta t=3$ ;  $V$  代表瘤结节体积,  $n$  代表天数,本实验  $n=10,13,16,19, \dots$

1.5 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件。计量资料均以  $\bar{x} \pm s$  表示。实验兔平均生存时间采用 Kaplan-Meier 生存期分析;实验组与对照组肿瘤种植成功率及胸膜种植率的比较采用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 肿瘤种植成功率 术后动物全部存活。实验组 2 只实验兔经 CT 检查及解剖均未发现肿瘤结节,肿瘤种植成功率 86.67%(13/15),其中 6 只(40.00%)出现胸膜种植。对照组种植成功率 100%(15/15),13 只(86.67%)出现胸膜种

植且为多发性。实验组与对照组肿瘤种植成功率差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),实验组胸膜种植率明显低于对照组( $P < 0.05$ )。

穿刺过程中未出现血气胸及意外死亡,3 只实验兔接种后 CT 扫描发现气胸,用 5 ml 注射器穿刺抽气,当抽吸阻力大时,表明胸腔内已成负压,实验兔恢复正常呼吸。

2.2 生存期分析 实验组平均生存时间为(57.84±6.00)天,对照组平均生存时间为(29.00±7.01)天,实验组平均生存时间明显大于对照组( $P < 0.01$ ,图 1)。

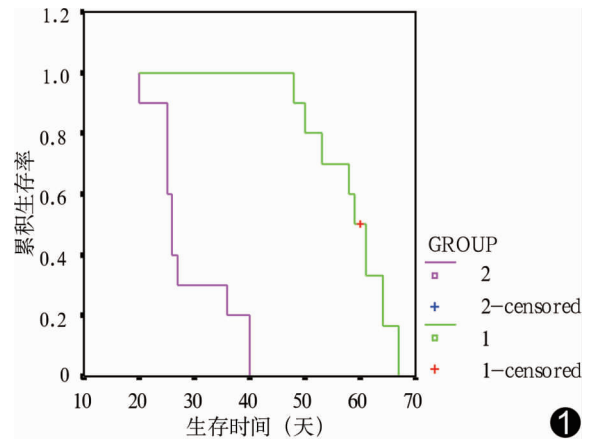


图 1 生存期 Kaplan-Meier 分析 实验组(绿线)生存期明显长于对照组(红线),红色加号代表实验组 2 只兔肺内未形成肿瘤结节未记录生存期

2.3 肺移植瘤 CT 表现 两组共 20 只实验兔纳入 CT 观察研究。实验组接种 10~13 天,8 只实验兔 CT 平扫发现肺内有单发肿瘤结节生长,最大径约 0.3~0.6 cm;接种 16 天,结节膨胀性生长(图 2);接种 19 天,结节继续增大,最大径约为 0.6~1.1 cm,平均体积约(293.22±119.97)mm<sup>3</sup>,4 只实验兔胸壁穿刺点处出现少许胸膜增厚;25~30 天,该 4 只实验兔中 3 只出现胸腔积液,肺内结节增大,胸膜种植处逐渐增厚,胸腔积液增多。对照组接种 10~13 天,实验兔穿刺侧出现少量胸腔积液,9 只实验兔肺内出现 1~3 个结节(图 3),1 只出现双肺多发结节播散生长;接种 16~19 天实验兔均出现穿刺侧胸膜种植灶,右肺瘤结节增大,逐步累及心包、胸膜、膈肌及肺门淋巴结,右侧胸腔迅速被肿瘤组织充盈,6 只实验兔出现大量胸腔积液、心包积液。

2.4 VX2 移植瘤生物学特性 实验组第 10 天肿瘤体积为(70.88±26.46)mm<sup>3</sup>,第 13、16、19 天肿瘤体积分别为(110.54±34.30)mm<sup>3</sup>、(163.75±56.92)mm<sup>3</sup>、(293.22±119.97)mm<sup>3</sup>,对应的 TGR 分别为 55.95%、48.14%、79.07%。兔肺 VX2 移植瘤 DT 为(6.80±2.78)天。

2.5 病理表现 实验兔瘤结节肉眼大体观察及测量与 CT 表现一致;HE 染色见瘤细胞大小和形态不一,高度异形,排列紧密,核膜清楚,染色质颗粒较粗,核仁明显,核分裂象多见,新生毛细血管丰富(图 4)。

## 3 讨论



图 2 兔 VX2 肺移植瘤接种后第 16 天 A. CT 图像纵隔窗, 实箭示瘤结节呈哑铃状, 虚箭示肺血管; B. CT 图像肺窗, 实箭示瘤结节呈哑铃状; C. 瘤结节后前位 VR 图像, 黄色区域显示结节容积 170.54 mm<sup>3</sup>, x、y、z 三轴直径分别为 7.70、8.40、5.95 mm, 最大及最小直径分别为 9.96、4.93 mm

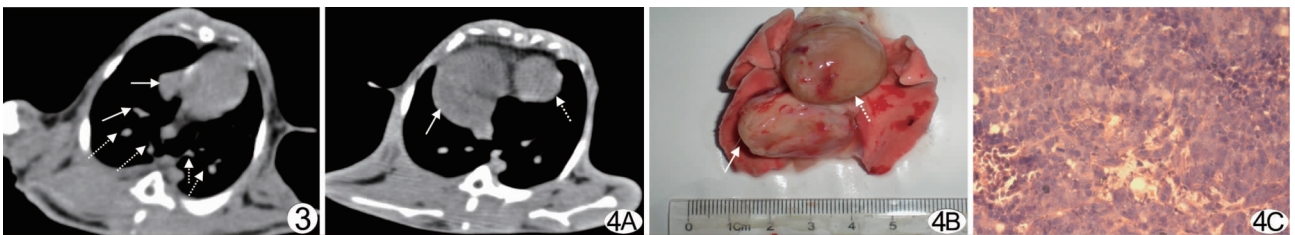


图 3 对照组实验兔接种后第 16 天 CT 图像 右肺见大小不等的两个结节(实箭), 一个位于右肺野, 一个与右心缘相连, 右前胸壁略增厚, 右侧出现少量胸水, 虚箭示肺血管 图 4 CT 及病理学检查 A. 瘤结节 CT 扫描图像; B. 实验兔肺部大体标本, 正面足侧观与 CT 图像显示一致, 瘤结节直径约 3.0 cm, 实箭示瘤结节, 虚箭示心脏; C. 肿瘤区病理图(HE, ×400)

VX2 肿瘤细胞株是起源于 Shope 病毒诱发的兔乳头状瘤衍生而来的鳞状细胞癌, 具有良好的可移植性, 不同个体对该瘤株均无免疫排斥性, 可制作较理想的大型动物模型<sup>[1]</sup>, 常用于制作肝肿瘤模型<sup>[2-4]</sup>。VX2 瘤株具有易于移植、生长迅速、侵袭性强和种植成功率高的特点, 制作的模型可用于影像诊断及介入放射学研究。

建立 VX2 肺癌模型的方法包括细胞悬液注射法、穿刺法及手术法等<sup>[5-6]</sup>。比较常用的细胞悬液注射法成瘤率较高, 可达 100%, 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, 考虑与肺组织疏松, 细胞悬液外溢有关, 较早出现淋巴结转移及胸腔积液, 明显缩短了动物的生存期, 不是影像学研究的理想模型。手术开胸植入法可使肺内出现 1 个瘤结节, 可用于影像学研究, 但成瘤率较低, 文献报道约为 64.3%<sup>[6]</sup>, 该方法涉及实验动物开胸手术, 术中有一定的创伤和死亡率, 方法相对复杂。

本实验在文献报道的基础上对建模方法进行了改进, 在 CT 引导下穿刺, 保证肿瘤接种并生长在实验兔右肺最佳部位, 避免了盲法穿刺进针深浅难以控制引起的瘤细胞异位种植或穿刺针进入支气管、血管引起的远处播散; 以实验兔筋膜封闭瘤组织块两端, 制成“三明治”状, 在穿刺时瘤块不分散、拔针时瘤块不易顺针道往后移位, 减少了胸壁种植转移的机会。虽然该制模方法仍存在不足, 如并未完全解决进针部位胸膜种植问题, 仍有约 40% 的模型于接种后出现穿刺针进针位置少许胸膜增厚, 但对肺内结节的影像学观察及介入治疗研究无较大影响。实验组相对于对照组的接种方法明显降低

了胸膜种植的发生率, 延迟了胸膜肿块及胸腔积液出现的时间, 影像学观察显示, 实验组发生种植的数量及出现胸腔积液的量均明显少于同期对照组。

倍增时间(doubleing time, DT)是指肿瘤体积或细胞数增加一倍的时间, 是鉴别良、恶性结节的重要指标。目前普遍认为人类恶性孤立性肺结节的 DT 约为 118 天, DT 越长的恶性结节预后越好<sup>[7]</sup>。观察 DT 是基于对孤立结节的准确测量<sup>[8]</sup>。以往的实验研究多局限于在二维空间对兔 VX2 肺结节进行最大径的测量及体积的计算。但肺内结节往往在三维空间里增长, 并被证实多为不规则性生长, 在横断面测量的最大径并不一定是结节真正的最大径<sup>[9]</sup>。本实验通过 64 层螺旋 CT 的 LungCARE 软件自动计算瘤结节的容积值, 获得瘤结节三维容积重建图像、多平面重建图像及 CT 值, 可更好地了解兔肺 VX2 移植瘤的生物学特点。本研究对兔 VX2 肺移植瘤的 DT 进行了初步分析, 得出其 DT 为 (6.80 ± 2.78) 天, 符合恶性肿瘤的特点。鉴于本实验样本量偏小, 今后将增加实验样本量进一步研究。本实验还发现 VX2 肺移植瘤早期 TGR 相对较小, 肿瘤生长相对于后期略显缓慢, 肺移植瘤后期 TGR 升高的原因考虑为瘤结节体积增大, 受实验兔肺部容积的限制, 部分结节累及周围胸膜, 导致肿瘤结节血供较前丰富而致后期 TGR 升高。有文献报道<sup>[10]</sup> VX2 肿瘤随着接种时间的延长, <sup>18</sup>F-FDG PET 的标准摄取值(standard uptake value, SUV)有逐渐增加的趋势, 糖代谢的增加可能与 TGR 升高有关。

[参考文献]

[1] 吴安乐, 颜志平, 周康荣, 等. 兔 VX2 瘤转移性肺癌动物模型的建立和生物学特性研究. 中华放射学杂志, 2003, 37(2):166-170.

[2] 杨亚汝, 许小云, 张贵祥, 等. 兔 VX2 肝癌模型的建立及超声评价. 中国医学影像技术, 2003, 19(12):1603-1605.

[3] 席占国, 孙聚保, 陈梅, 等. 兔 VX2 肝癌模型制作方法改进及影像学评价. 中国医学影像技术, 2008, 24(2):185-188.

[4] 韩志刚, 程红岩, 胡海洋, 等. 兔 VX2 肝癌模型的制作及 CT、MRI 表现. 中国介入影像与治疗学, 2007, 4(1):61-65.

[5] 马连君, 张向华, 祁彦君. 兔 VX2 肺癌模型的建立及评价. 解放军医学杂志, 2007, 32(9):916-918.

[6] 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.

[7] Piyavisepat N, Aquino SL, Hahn PE, et al. Small incidental pulmonary nodules: how useful is short-term interval CT follow-up? Thoracic Imaging, 2005, 20(1):5-9.

[8] 周科峰, 朱斌, 杨留发, 等. ALA 软件测定倍增时间在肺结节随访中的应用. 医学影像学杂志, 2008, 18(10):1124-1127.

[9] Revel MP, Bissery A, Bienvenu M, et al. Are two-dimensional CT measurements of small noncalcified pulmonary nodules reliable? Radiology, 2004, 231(2):453-458.

[10] 宋少莉, 王兆海, 刘建军, 等. 兔接种 VX2 肿瘤的<sup>18</sup>F-FDG PET/CT 观察. 肿瘤, 2008, 28(9):758-762.

## MRI diagnosis of lumbar intraspinal synovial cysts: Two cases report

### 腰椎椎小关节滑膜囊肿 MRI 诊断 2 例

赵文<sup>1</sup>, 靳天涛<sup>2</sup>

(1. 大丰市中医院影像科, 江苏 盐城 224100; 2. 大丰市人民医院磁共振室, 江苏 盐城 224100)

[Key words] Lumbar vertebra; Synovial cyst; Magnetic resonance imaging [关键词] 腰椎; 滑膜囊肿; 磁共振成像  
 [中图分类号] R686.7; R816.8 [文献标识码] B [文章编号] 1003-3289(2010)08-1420-01

例 1, 女, 72 岁。左下肢痛 2 月余, 进行性加重。腰椎平片示退行性变, CT 扫描示腰 5 骶 1 椎管左侧肿物, 临床疑为神经源性肿瘤。MR 平扫示腰 5 骶 1 椎管左侧椎小关节内前方囊性肿物, 硬膜囊及左侧神经根受压, 并椎小关节明显退行性改变。增强扫描见肿物壁不规则强化, 肿物直径为 1.5 cm (图 1)。MRI 诊断: 椎小关节滑膜囊肿。经手术及病理证实。

病例 2, 男, 70 岁。左下肢痛进行性加剧 1 月余, 经当地 CT 检查提示腰椎管内神经瘤。MR 平扫见腰 5 骶 1 椎管左侧椎小关节内前方囊性肿物, 硬膜囊及左侧神经根受压, 并椎小关节明显退行性改变。增强扫描见肿物壁不规则强化, 肿物直径为 1.0 cm。MRI 诊断: 椎小关节滑膜囊肿。手术及病理证实。

讨论 椎小关节滑膜囊肿病因尚不明确, 多认为与退行性关节病或创伤有关。病理示囊肿内含草黄的液体并与关节相通, 可有含铁血黄素或气体, 其囊壁由含血管的多层绒毛结节状增生的结缔组织或胶原纤维及弹力纤维构成, 还可见炎性细胞、多核巨细胞或斑点状钙化。本病好发于腰椎, L4、5 最多 (70%), L5、S1 (20%) 次之。临床多表现为神经根受压症状。影像学检查: X 线平片可见椎小关节退行性改变, 无特异性。CT 多提示椎管内软组织肿物, 本文 2 例 CT 均误诊为肿瘤, CT 增强扫描有助于本病的诊断。MRI 是术前诊断本病的可靠方法,

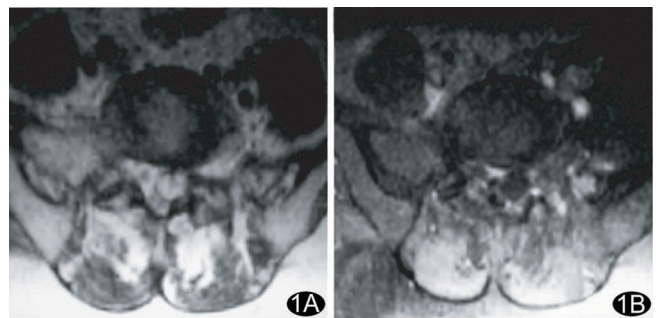


图 1 病例 1 MR 图像 A. 轴位 T2 加权像示左侧椎小关节内前方圆形高信号区; B. 增强扫描见囊性肿物壁轻度强化

主要表现为: ①椎小关节退变, 表现为椎小关节增生肥大, 关节间隙不规则或破坏。②椎小关节内前方囊性水信号, 其壁可表现不光滑, 边界不锐利, 提示病理上的慢性炎性改变。③增强扫描可见囊壁的不规则强化。④硬膜囊及神经根受压。如见囊肿内的水信号与关节腔内液性信号相连可视为本病的特征性表现。本文 2 例均为老年患者, 伴明显的神经根受压症状。

本病应与以下疾病相鉴别: 椎间盘脱出游离块、椎管内的肿瘤如神经瘤、椎管内脓肿、神经根鞘囊肿(囊壁光滑锐利, 多无临床症状)及椎管内腱鞘囊肿等。腱鞘囊肿不与关节相通并囊壁内缺乏滑膜上皮被覆, 可资鉴别。

[作者简介] 赵文(1952—), 男, 江苏大丰人, 本科, 副主任医师。

E-mail: zhaowendf@126.com

[收稿日期] 2010-06-17 [修回日期] 2010-07-07