

Establishment of portal vein thrombus models in rabbits and ultrasonographic observation

JIANG Lu-ying, ZHANG Gui-xiang, YANG Ya-ru, ZHAO Jing-long, LI Yu-jie, XU Xiao-yun

(Department of Ultrasound, First People's Hospital Affiliated Shanghai JiaoTong University, Shanghai 200080, China)

[Abstract] **Objective** To establish the models of portal vein thrombus (PVT) in rabbits, and to investigate the value of ultrasonography. **Methods** Total 12 New Zealand white rabbits were implanted with VX₂ tumor into portal vein with laparotomy. The size, location, echogenicity, and blood supply of the portal vein thrombus were monitored by sonography daily after implantation. **Results** Ten rabbits were successfully implanted with VX₂ tumor in the portal vein, the success rate of the model was high 83.33%(10/12). Ultrasonography could detect the PVT at 2 weeks, and its blood supply at 3 weeks after implantation. **Conclusion** The model of liver neoplasms with portal vein thrombus in rabbits can be successfully established by intraportal implantation of VX₂ tumor. Ultrasonography is useful in assessing the biological features of PVT. **[Key words]** VX₂; Rabbit; Portal vein thrombus; Ultrasonography

门静脉癌栓兔模型建立及超声监测

姜露莹¹, 张贵祥², 杨亚汝¹, 赵京龙², 李玉洁², 许小云¹

(1. 上海交通大学附属第一人民医院超声科, 2. 放射科, 上海 200080)

[摘要] **目的** 建立肝癌伴门静脉癌栓的动物模型, 探讨超声在监测门静脉癌栓生长中的作用。 **方法** 新西兰大白兔 12 只, 开腹后将 VX₂ 肿瘤块直接注入门静脉主干内, 接种后每日超声观察门静脉内癌栓生长情况, 记录癌栓的大小、位置、回声及血供情况。 **结果** 10 只门静脉癌栓模型成功建立(10/12)。种植后 2 周超声可探及门脉内癌栓, 3 周可发现其血供情况。 **结论** 门静脉内直接种植肿瘤块是建立门静脉癌栓模型的可靠方法, 成功率较高。超声是监测门静脉癌栓生物学特性的方便可行的影像学方法之一。

[关键词] VX₂; 兔; 门静脉癌栓; 超声检查

[中图分类号] R735.7; R445.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-3289(2004)11-1673-03

我国是肝癌的高发区, 肝癌伴门静脉癌栓是临床中较为常见的并发症, 一旦发生 PVT(portal vein thrombus), 加重门脉高压导致食管静脉曲张出血^[1], 并成为肿瘤肝内外转移和治疗后复发的重要原因。如何提高门静脉癌栓的早期超声诊断, 为肝癌治疗提供有价值的信息是影像研究的热点。本实验通过建立肝癌伴门静脉癌栓的动物模型, 为防治门静脉癌栓及进一步的临床研究和治疗打下基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物 新西兰大白兔 12 只, 体重约 2.0~3.0 kg, 4~5 月龄, 雌雄不限。

1.2 VX₂ 种植瘤块的制备 VX₂ 肿瘤细胞由日本东北大学医学院宫藤俊雄教授提供。根据兔体重, 用速眠新 0.2 ml/kg 注入兔后腿肌肉内麻醉。将肿瘤从种兔的后腿部剥离, 用生理盐水冲洗置于平皿中, 取灰白色鱼肉状 VX₂ 肿瘤组织, 将肿瘤块剪碎成约 2 mm×2 mm×3 mm 大小, 用 1 ml 注射

器吸取生理盐水 0.5 ml(内含 2~3 个肿瘤块)以备用。

1.3 肝癌伴门静脉癌栓模型的建立 手术动物前一晚开始禁食。常规麻醉后, 固定动物四肢, 手术区域消毒。在上腹正中剑突下作一长约 5 cm 左右的切口, 打开腹腔暴露肝和胃, 找到门静脉主干, 将备好的肿瘤液注入门静脉主干内。拔针后即用消毒干纱布按压穿刺处约 5 min 左右, 待血止住后用生理盐水少许冲洗暴露的器官, 逐层缝合关闭腹腔。

1.4 超声观察 采用 ATL-5000 彩色多普勒超声仪, 探头频率为 8 MHz, 于手术当天起每日监测实验兔的肝脏、门脉内有无异常回声及其大小、数目, 血供及肝内转移灶等情况。接种 5 周后, 处死实验动物, 取出肝脏, 沿门脉管腔解剖, 获取癌栓的大体标本并进行病理学检查。

2 结果

2.1 12 只实验兔的成瘤时间 第 13 天 1 只, 第 14 天 3 只, 第 15 天 4 只, 第 16 天 1 只, 第 20 天 1 只, 平均成瘤时间为 15.1 天。12 只动物中一只在实验中死亡; 一只在四周未尚未见肿瘤生长。

2.2 超声监测门脉癌栓的生长特性 接种后 2 周左右(13~16 天), 超声在门脉内探查到低回声团块(与兔正常肝组织回

[作者简介] 姜露莹(1975-), 女, 上海人, 在读硕士研究生, 主治医师。

[收稿日期] 2004-07-02

声相比较),数目为2~3个(不超过原种植数),皆为附壁团块(未充满型),最大径<5 mm,CDFI显示为门脉管腔内的血流充盈缺损。3周后,门脉内团块数量增多,为4~7个,最大径>10 mm,CDFI显示为门脉管腔内血流束变细、充盈缺损(未充满型)和血流消失(充满型),其中有10个团块二维超声显示为完全阻塞门脉管腔,但CDFI显示团块与门脉管壁间有纤细的线状彩色血流通过,脉冲多普勒显示血流为门静脉样血流,提示该处有极少量的门脉血流通过;在病灶周围均发现有多个肝内转移灶(3~10个)。4周后门脉内肿块增大,最大径>20 mm,门脉内团块以充满型居多,不能测到彩色血流和血流频谱,其中有5个团块内可及点状或短线状搏动血流,脉冲多普勒显示为动脉血流;肝内广泛转移(表1,图1)。

表1 超声监测门脉癌栓的生长特性

编号	时间 (周)	数目 (个)	大小 (mm)	未充满型 (个)	充满型 (个)	肝实质内 转移灶
1	2	3	2.2~4.0	3	—	—
2	2	2	2.8~4.8	2	—	—
3	2	2	2.3~4.7	2	—	—
4	3	6	2.1~13.1	5	1	+
5	3	4	2.8~10.2	2	2	+
6	3	7	2.5~14.3	4	3	+
7	4	10	3.9~21.8	2	8	+
8	4	10	2.7~22.0	0	10	+
9	4	7	2.8~24.9	0	7	+
10	4	9	3.3~23.7	2	7	+

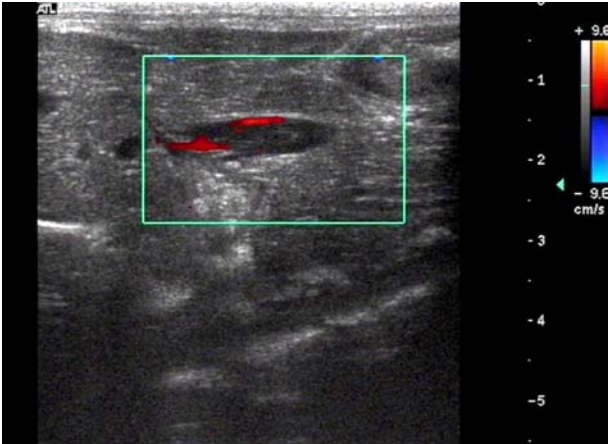


图1 门脉癌栓超声声像图

2.3 病理检查 接种后第5周,行最后一次超声检查后处死动物,按超声显示PVT的部位解剖门静脉,观察癌栓大体标本,摄像后浸入10%福尔马林溶液中,2周后HE染色显微镜下观察:癌细胞核大异型、染色质粗,核仁大、分裂相多(图2~4)。

3 讨论

3.1 探讨PVT模型的制作方法 制作移植性肝癌的动物模型,多采用开腹后将VX₂肿瘤块^[2-4]或VX₂悬浮液^[5]直接种于肝实质内。这种模型较符合转移性肝癌的生长特性,门静

脉癌栓的成瘤率很低。即使发生门静脉癌栓,肝内外往往多发肿瘤转移,动物的死亡率高,不利于进一步监测门静脉癌栓的生长情况。而本实验通过门静脉直接注入肿瘤块的方法,成功建立了移植性肝癌伴门静脉癌栓模型,其肿瘤生长方式与原发性肝癌伴门脉癌栓较相似。

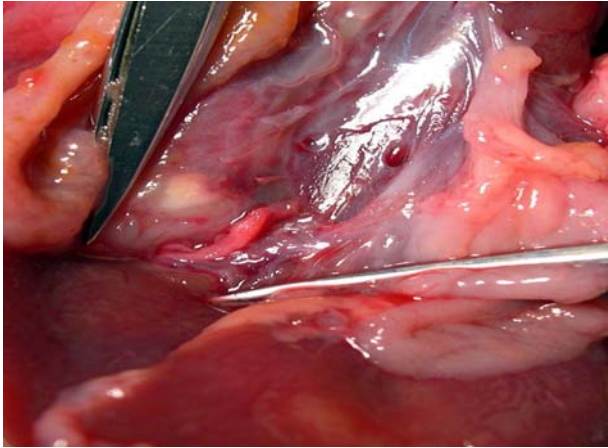


图2 门脉癌栓大体标本1



图3 门脉癌栓大体标本2

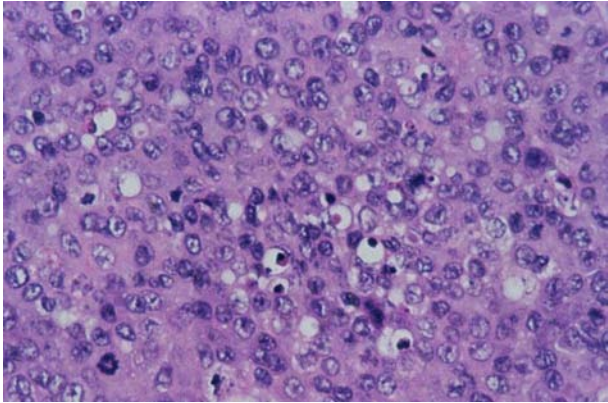


图4 门脉癌栓病理标本(HE染色)

3.2 超声在肝癌伴门静脉癌栓模型监测中的作用 ①提高小癌栓的检出率:与CT、DSA等检查相比,超声无创、价廉,并可随时对病灶作连续追踪观察,是可及时发现癌栓的影像

学检查手段之一。二维超声对于 5 mm 以下的小癌栓分辨率不高,但结合彩色多普勒血流成像(CDFI)技术,可显示较小癌栓所致的门脉内血流束变细及充盈缺损,提高小癌栓的检出率。本组在实验中对可疑的充盈缺损区作连续追踪观察,证明这些充盈缺损为注入的 VX₂ 肿瘤生长所致,可见 CDFI 对于早期肿瘤的检出敏感性高。②鉴别 PVT 充满型和未充满型的类型,及早判断预后;随着癌栓的增大,PVT 可完全阻塞门脉管腔。本实验中有 10 个癌栓二维显示为充满型,但 CDFI 显示癌栓和管壁间有少量血流通过,纠正了二维超声的假充满型诊断,此结果与大体标本一致。③CDFI 可探测癌栓内的血供情况,并能监测癌栓所致的肝内外转移:本实验第四周有 5 个癌栓内探及动脉血供,证实了实验兔门脉癌栓晚期动脉供血的理论,与 Ricci 指出的诊断人类门脉恶性栓子的依据是在栓子内发现搏动的动脉血流的理论一致^[6]。二维和彩色及脉冲多普勒超声的结合可以作为监测兔门静脉癌栓的一种简便实时准确的影像学手段。

3.3 肝癌伴门静脉癌栓模型制作的注意事项 本方法制作模型成功率为 83.3%(10/12),1 例为动物失血过多而死,原因是操作技术不熟练,注入门静脉的针头移动引起门脉主干管壁撕裂;另 1 例四周末未见肿瘤生长,原因可能如下:①瘤兔肿块过大,发生坏死导致非癌细胞接种于门脉内;②瘤细胞置于平皿中时间过长导致瘤细胞坏死。种兔后腿的肿瘤在大小为 1.5 cm 左右(2 周以内)即可取瘤,此时瘤细胞内坏死少,接种成功率高;取瘤至接种的时间尽量控制在 1 小时内,瘤细胞在体外的时间不宜过长。剔除以上这些易操作的因素外,本实验方法制作门脉癌栓的成功率可达 100%。

3.4 兔 VX₂ 肝癌伴门静脉癌栓模型模拟人类原发性肝癌伴门静脉癌栓的不足之处 人类原发性肝癌伴门静脉癌栓多发生于乙型肝炎病毒感染或肝硬化的基础上^[1],本模型尚不能实现这一很重要的病理基础。本组仅是兔 PVT 的动物模型的初步实验结果,有关详细材料有待进一步研究。

[参考文献]

[1] Martinez-Noguera A, Montserrat E, Torrubia S, et al. Doppler in hepatic cirrhosis and chronic hepatitis[J]. Semin Ultrasound CT MR,2002,23(1):19-36.

[2] Ko YH, Pedersen PL, Geschwind JF. Glucose catabolism in the rabbit VX2 tumor model for liver cancer: characterizataion and targeting hexokinase[J]. Cancer Lett,2001,173(1):83-91.

[3] Du WH, Yang WX, Wang X, et al. Vascularity of hepatic VX2 tumors of rabbits: assessment with conventional power Doppler US and contrast enhanced harmonic power Doppler US[J]. World J Gastroenterol,2003,9(2):258-261.

[4] Du WH, Yang WX, Wang X, et al. Assessment of hepatic VX2 tumors of rabbits with second harmonic imaging under high and low acoustic pressures[J]. World J Gastroenterol, 2003, 9(8): 1679-1682.

[5] Lin WY, Chen J, Lin YC, 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(7):649-652.

[6] Ricci P, Cantisani V, Biancari F, et al. Contrast-enhanced color Doppler US in maglinant portal vein thrombosis[J]. Acta Radiol, 2000,41(5):470-473.



《医疗卫生装备》杂志征订启事

《医疗卫生装备》杂志是以介绍医疗器械、仪器、设备等方面为主要内容、面向国内外公开发行的、中央级全国专业核心期刊。创刊于 1980 年,主要栏目:本刊特稿、研究论著、综述、科学管理、论坛、医院数字化、技术革新、使用维修、医学计量、医械临床、临床医学工程、人才培养、学科建设、仪器原理、装备标准、海外链接、业界要闻等。

《医疗卫生装备》杂志:月刊(每月 15 日出版),国际标准大 16 开本,内文 76 页胶版、157g 铜板彩色四封;刊号:CN12—1053/R,ISSN 1003—8868。每册定价 10 元,全年定价:120 元。

订刊方式:

1、全国各地邮局均可订阅,国内邮发代号:6—32。

2、国外邮发代号:1053M,年价:78 美元。

3、向杂志社发行部直接订阅(免收邮资):将订费从邮局或银行汇款至杂志社发行部(请在汇款用途栏注明订刊份数、期数)。地址:天津市河东区万东路 106 号 邮编:300161

电话:(022)84656825 84659063 传真:(022)84656750

电子信箱:ynws@chinajournal.net.cn

银行汇款(请在汇款用途栏注明“杂志社款”字样):

开户银行:农行天津市东丽支行程林庄分理处

帐号:010501040004850

户名:军事医学科学院卫生装备研究所