维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号：0253-3626(2002)03-0286-03

VX_2兔恶性骨肿瘤模型的建立及其生物学特性观察

陈文直，王智彪，白 晋，伍 烽，杜永洪，胡 凯
（重庆医科大学医学超声工程研究所 重庆 400010）

【摘 要】目的：为建立恶性骨肿瘤的大型动物模型并观察其生物学特性。方法：采用组织块移植法，将VX_2肿瘤组织块移植于51只兔胫骨干骺端内，通过软组织肿块大小的测定、X线摄片、病理学检查和自然生存时间等指标，观察该模型的生物学特征。结果：肿瘤原位移植成功率100%，荷瘤兔自然存活时间35±11天，肿瘤移植后3周出现肺等部位的转移。放射学特征为骨质破坏、骨膜反应和软组织肿块影。病理学检查见骨质破坏、骨膜增生，原发灶和转移灶的组织学类型一致，均为鳞癌。结论：此模型移植成功率高，生物学特征稳定，其生物学和放射学特征类似人恶性骨肿瘤，为恶性骨肿瘤的研究提供一种大型动物类型。

【关键词】恶性骨肿瘤；动物模型；兔
【中国图书分类法分类号】R-332；R73-35+4 【文献标识码】A 【收稿日期】2001-10-15

Establishment of transplantable malignant bone tumor model and observation of its biological features in rabbit

CHEN Wenzhi, et al
(Institute of Ultrasonic Engineering in Medicine, Chongqing Medical University)

【Abstract】*Objective*: To establish an experimental animal model of malignant bone tumor and observe its biological features. *Methods*: The VX_2 tumor tissue mass was transplanted in tibia metaphysis of 51 New Zealand white rabbits. The biological features of the transplanted tumor tissue were observed by pathological and radiological examination, tumor measurement and natural survival time determination. *Results*: The orthotopic tumor growth rate was 100%. Average survival time was (35 ± 11) days. The tumor metastasized to lung and other organs in 3 weeks after transplantation. The radiological features were bone destruction, periosteal response and image of soft tissue mass. The pathological examination showed bone destruction and periosteal hyperplasia. The histological type of primary foci was coincident with that of metastatic foci. Both belonged to squamous cell carcinoma. *Conclusion*: The model has a very high rate of success and steady biological features. The biological and radiological features of the model are similar to those of malignant bone tumors in human, so it serves as a large animal model for the study of malignant bone tumor.

【Key words】Malignant bone tumor; Animal model; Rabbit

恶性骨肿瘤动物模型常为小型动物模型，而小型动物模型用于局部肿瘤治疗技术的研究常较困难，大型动物模型国内鲜见报道，我们将从国外引进VX_2肿瘤细胞株，种植于兔的胫骨，制成兔恶性骨肿瘤模型，现报告如下。

1 材料与方法

1.1 瘤源

VX_2肿瘤细胞株由日本京都Funabashi Farm公司馈赠。

1.2 实验动物及麻醉方法

纯种新西兰白兔，月龄3～4个月，体重2.5～3.0kg，雌雄不限，51只。2%戊巴比妥钠按20～30mg/kg耳缘静脉麻醉。

1.3 荷瘤兔的制作

将VX_2肿瘤冰冻细胞悬液按一般细胞培养技术复苏，离心5min（800 r/min）后，除去上清液，加入PBS液再离心5min。弃上清液后加入PBS液并用玻璃棒搅匀，取悬液台盼蓝染色，对活细胞和死细胞进行计数，将悬液调制成10^6/ml活细胞浓度。取制好的肿瘤细胞悬液0.5ml接种于兔后肢股外侧肌内，2周后接种部位扪及一直径约15mm大小的实质性包块，即制成荷瘤种兔。

作者介绍：陈文直（1963- ），男，副教授，硕士。
主要研究方向：骨肿瘤和软组织肉瘤的HIFU治疗。
基金项目：国家自然科学基金委员会项目资助（39770841）；
国家“九五”科技重点攻关项目（96-905-02-01）。

维普资讯 http://www.cqvip.com

1.4 兔移植性恶性骨肿瘤模型的制作

手术剥离荷瘤兔肿瘤，用双面刀片切取肿块边缘生长旺盛的粉红色鱼肉样组织，制成1mm³大小的肿瘤组织块，置于RPMI1640培养液中备用。

切开实验动物胫骨内侧上段的皮肤，在胫骨的干骺端用12号针头钻洞直至干骺端松质骨内，洞深常为0.4～0.5mm，将肿瘤组织置入洞的底部，用骨蜡封闭洞口，缝合皮肤切口。1周后在移植部位能扪及直径0.5～10mm大小的肿块，即制成动物模型。

1.5 观察方法

实验动物分为两组，第1组21只，分别移植后1～7周，每周各处理3只动物，观察肿瘤的组织病理特征。第2组30只，移植后每周用游标卡尺测量其软组织肿块的最大径，拍摄胫骨上段和胸部X片，观察动物的自然存活时间，动物死亡后常规尸体解剖观察肿瘤转移情况。

1.6 传代接种和瘤细胞的体外保存

肿瘤传代接种可在兔的后肢股外侧肌内进行，方法是手术剥离荷瘤种兔股外侧肌内的瘤块，取瘤块边缘生长旺盛的组织块，制成1mm³大小，通过包块埋植法，接种于股外侧肌内。保种传代一般在接种3周左右进行一次。

肿瘤细胞悬液也可保存在液氮中，冷冻保存可能减少频繁传代中肿瘤污染和肿瘤细胞株变异，并可节省人力和物力。

2 结 果

2.1 移植成瘤率和自然存活时间

实验动物51只，移植成瘤率100%，无自发消退现象。30只兔自然存活时间平均为(35 ± 11)天。死亡原因为全身广泛转移。

2.2 肿瘤组织生长特征

肿瘤移植后1、2、3周，瘤组织包块的最大径分别为(4.8 ± 0.5)mm、(12.1 ± 5.5)mm和(18.6 ± 6.2)mm，3周以后软组织肿块生长变化很大，无一定规律性，常表现为穿破皮肤，形成局部溃疡。也可向小腿后侧肌群广泛浸润，形成边界不清的大肿块。

2.3 病理组织学观察

肉眼观察发现，2周时软组织肿块最大径约为12mm，骨内主要局限在干骺端生长，伴有胫骨皮质破坏和骨膜反应；2周后肿瘤进一步长大，表现为软组织肿块增大和肿瘤向胫骨远端的骨髓腔扩散，干骺端处的骨皮质破坏加重，部份标本可见到病理性骨折（图1）；5周时肿瘤常侵占整个胫骨骨髓腔，软组织肿块内有液化坏死。镜下见癌细胞紧密排列呈实体巢状，与周围组织界线不清，相邻癌细胞间可见细胞间桥，未见角化珠。间质结缔组织较少，新生毛细血管丰实。肿瘤浸润骨皮质引起骨质破坏和骨膜增生变厚，哈佛氏管内可见癌细胞，并破坏哈佛氏管，造成管腔增大。



图1 移植后4周，鱼肉样肿瘤组织侵占整个干骺端和部份骨髓腔，干骺端骨质破坏和新骨形成（箭头所示），伴病理性骨折和软组织肿块。

2.4 肿瘤转移

胸片检查发现，肿瘤移植后3周肺部可见散在的粟粒样结节，随时间推移，肺部结节增多、增大。尸体解剖发现肺转移率为100%，肝转移为40%，肾转移为30%，肠道10%，心脏转移5%。转移灶的细胞形态结构与原发灶的细胞形态结构完全一致。

2.5 X线摄片

肿瘤移植后2周可见软组织阴影和骨膜反应，3周可见到干骺端骨质破坏，4～5周可见病理性骨折（见图2）。



图2 移植后3周，干骺端骨质破坏，骨膜反应。

3 讨 论

恶性骨肿瘤动物模型制作多采用化学诱导、放

维普资讯 http://www.cqvip.com

射性核素诱导、病毒诱导、动物自发的肿瘤、同种异体移植和异种移植等。化学诱导和放射性核素诱导费时多，病毒诱导费时相对少得多，常用作同种异体移植的第1代原发骨肿瘤模型的制作。动物自发性肿瘤非常稀少，同种异体移植有时会受到受体动物的免疫力的影响，移植到免疫发育不完善的新生鼠成功率更高。而异种移植常需抑制受体动物的免疫力或移植到无胸腺小鼠体内，由于动物免疫力极差，难以抵抗病原微生物的侵袭，存活时间短，实用性受到影响[1]。近20年来，随着化疗的进展，保肢治疗已成为肢体恶性骨肿瘤的主要治疗手段之一。对保肢局部治疗手段的研究要求愈来愈多，常用的恶性骨肿瘤模型是以鼠模型为主的小型动物模型，不能满足保肢局部治疗手段的研究。

VX_2肿瘤细胞株起源于shope病毒诱发的兔乳突状瘤衍生的鳞癌，经过72次移植传代后正式建立株，命名为VX_2。是一种可移植的肿瘤细胞株，可接种到兔的肾脏、肝脏等部位，制成原位肿瘤动物模型[2,3]，其生物学性质稳定。本实验建立的兔胫骨恶性骨肿瘤模型，其原发灶和转移灶的组织学特征以及转移规律与移植于兔其他部位的VX_2肿瘤基本一致[2,3]，说明本模型具有稳定的生物学特征。尽管VX_2肿瘤移植于成年兔，其移植成功率为100%，且无肿瘤自发消退，说明VX_2肿瘤的同种异体移植受受体兔免疫功能的影响很小，模型制作更加方便。本模型的放射学特征为骨质破坏、骨膜反应和软组织肿块，生物学表现除原发灶局部侵润外，还主要向肺转移，这些表现类似于人原发恶性骨肿瘤的表现，可作为一种原发性恶性骨肿瘤模型，用于保肢局部治疗手段的研究，如保肢手术，射频、微波、冷冻和高强度聚焦超声等物理方法的局部灭活肿瘤保肢技术的研究。由于骨骼原发性肿瘤来源于中胚层，以肉瘤为主，而该模型的组织类型仍为鳞癌，因此骨内的移植肿瘤可看成原发于其它部位鳞癌的转移病灶，也可作为转移性骨肿瘤的模型。

参 考 文 献

[1] Berlin O, Samind D, Donthineni-Rao R, et al. Development of a novel spontaneous metastasis model of human osteosarcoma transplanted orthotopically into bone of athymic mice[J]. Cancer Res, 1993;53:4890-4895.

[2] Kigure T, Harada T, Yuri Y, et al. Ultrasound-guided microwave thermotherapy on a VX_2 carcinoma implanted in rabbit kidney[J]. Ultrasound Med Biol, 1995;21:649-655.

[3] Prat F, Cantari M, Sibille A, et al. Extracorporeal high-intensity ultrasound for VX_2 liver tumor in the rabbit[J]. Hepatology, 1995;21:832-836.

（上接第285页）

RBC膜脂质成分作初浅的分析，探讨了RBC膜脂质成分变化与WBC计数假性增高之间的关系。但溶血剂溶解血细胞是一个非常复杂的过程，其作用机制尚待我们进一步研究。

参 考 文 献

[1] 周洪华，颜 萧，高航云，等. 溶血剂对白细胞形态的影响[J]. 中华医学检验杂志，1997;20(2):87-89.

[2] 谢卫民，樊 云. 应用全自动血细胞分析仪对重症黄疸性肝炎病人血细胞的检测[J]. 湖南医科大学学报，1999;24(4):390-391.

[3] 张朝霞，李 巍，杨春荣. 肝硬化时红细胞中磷脂和胆固醇的变化[J]. 新疆医学，1997;27(2):75-76.

[4] 沈国钧，胡 景，万伯珍，等. 肝硬化患者载脂蛋白A的变化及其意义[J]. 中华内科杂志，1990;29(11):676-678.

[5] 张之南，李容生. 红细胞疾病基础与临床[M]. 北京：科学出版社，2000;5-6.

[6] 康格非. 临床生物化学[M]. 北京：人民卫生出版社，1989;59-64,198-200.