DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.06.007
第24卷第6期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 6
2002年6月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jun. 2002

文章编号:1000-5404(2002)06-0643-03

论著

大鼠肝细胞癌模型的建立及MR成像研究

丁仕义[1],蔡金华[2] ([1]第三军医大学附属西南医院放射科,重庆 400038;[2]重庆医科大学附属儿童医院放射科,重庆 400014)

提 要:目的 探讨诱发性大鼠肝细胞癌(Hepatocellular carcinoma,HCC)模型的MRI特点,为肝癌的MR成像研究提供一种理想的动物模型。方法 Wistar大鼠60只,随机分为实验组(40只)和对照组(20只),实验组以低剂量二乙基亚硝胺(DEN)间断灌喂法诱导HCC。于诱癌第16、18、20、21、22、23、25周分别作MR扫描。观察肝癌的MRI特征,并与病理对照分析。结果 36例(90%)诱癌成功。共发现51个大于4 mm的HCC,平均直径8.6 mm。T_2WI均呈高信号,T_1WI呈高(10/51)、等(9/51)、低(32/51)三种信号。高信号组病理上均为Ⅰ~Ⅱ级,等信号组以Ⅱ~Ⅲ级多见(6/9),低信号组中29个属Ⅲ~Ⅳ级(29/32)。结论 低剂量DEN间断灌喂法诱导的大鼠肝癌模型能较好地模仿人肝癌的MRI表现,是动态研究肝癌MR成像的一种理想手段;MR检查时机以诱癌第18~25周为宜。

关键词:动物模型;肝细胞癌;磁共振成像
中图法分类号:R-332;R445.2;R735.7 文献标识码:A

Establishment of rat model of hepatocellular carcinoma and its MRI study

DING Shi-yi, CAI Jin-hua (Department of Radiology, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To study MRI features of hepatocellular carcinoma (HCC) induced in rats in order to develop a suitable animal model for MRI study of HCC. Methods Sixty male Wistar rats were divided into experimental group (40) and normal group (20). Low-dose diethylnitroamine(DEN) were given to the experimental group. MR examination were performed on the 16 th, 18 th, 20 th, 21 st, 22 nd, 23 rd, and 25 th week after the induction respectively. MRI features of HCCs were analyzed and correlated with pathological characteristics. Results A total of 51 foci, with the diameter ranging from 4 to 19 mm (mean 8.6 mm), were found in 36 rats. Most HCCs were accompanied with hepatic cirrhosis. All 51 foci showed hyperintense on T_2WI images. While on T_1WI images, 10 displayed hyperintense with pathologically graded of Ⅰ~Ⅱ, 9 isointense almost pathologically ranging in Ⅱ~Ⅲ, 32 hypointense in which 29 were Ⅲ~Ⅳ grade pathologically. Conclusion The rat model of HCC induced by DEN, with similar MRI features as in human, is an ideal model for MRI study of HCC. It is better to perform MR examination between the 18th and 25th week after induction.

Key words: animal model; hepatocellular carcinoma; meganetic resonance imaging

原发性肝细胞癌(Hepatocellular carcinoma,HCC,以下简称肝癌)发生、发展过程的动态实验性研究目前多局限于病理学领域,而影像学在这方面的研究相对薄弱,究其原因,主要是缺乏一种理想的动物模型。鉴于此,我们用低剂量二乙基亚硝胺(Diethylnitroamine,DEN)灌喂法诱导Wistar大鼠HCC模型,在HCC的发生、发展过程中动态观察其MRI特点,并作相应的病理对照分析,以期为肝癌的MRI研究提供一种理想的动物模型。

1 方法

1.1 动物模型的建立

雄性Wistar大鼠60只(由第三军医大学实验动物中心提供),3~4月龄,体重110~130 g,平均121 g,随机分为实验组(40只)和对照组(20只)。动物分笼饲养、定量给食、自由饮水。

实验组大鼠经口咽插管灌注2‰DEN(纯度99.0%~99.9%)生理盐水溶液,每只每日1 ml,自实验开始,每周5次,至第14周停药,给药期间如遇大鼠精神萎靡、活动减少、竖毛以及食欲不振等情况应暂缓给药。对照组以同样方法灌喂等量生理盐水。

1.2 MR检查及图像分析方法

1.2.1 MR检查 于诱癌第16、18、20、21、22、23、25周分别随机选取4~6只实验组及2~3只对照组大鼠作MR扫描。扫描前用10%乌拉坦2~4 ml腹腔内注射麻醉。5 min后,将麻醉好的大鼠伸入多功能腕关节小线圈中央,取仰卧位,并以海绵固定。成像野置于磁场中心。

采用0.2T MR成像系统,行常规自旋回波(SE)序列横断位T_1加权(T_1WI)及T_2加权(T_2WI)扫描。扫描参数:T_1WI:TR/TE=500/25 ms,T_2WI:TR/TE=2 000/80ms,层厚:4 mm,无间隔,矩阵:256×256,视野:120 mm×120 mm,数据采集次数为2~6次。

1.2.2 MR图像分析方法 MR扫描后,在T_1WI及T_2WI像上观察肝脏的大小、形态、边缘及信号特征。发现病灶后,仔细观察病灶的数目、部位、大小、形态、轮廓、信号特征及周围肝组织和血管等改变,并以正常肝组织作对照,将病灶分为高、等、低三种信号类型。4 mm(相当于层厚)以下及弥漫性病变不作统计,以尽量避免容积效应和保证统计结果的准确性。

1.3 标本处理

每只动物于MR检查后5 min内断颈处死,剖腹观察肝脏

作者简介:丁仕义(1951-),男,山东省招远市人,硕士,主任医师,教授,主要从事影像诊断方面的研究,发表论文50余篇。电话:(023)68754423

收稿日期:2002-03-12;修回日期:2002-05-11

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

的大小、形态、色泽等改变，然后取出肝脏进行病理检查，并与MRI检出的病灶对应观察。肝癌及癌周组织作常规HE染色，按Edmondson-Steiner分级法将HCC分为Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ级。

1.4 统计学处理

应用计算机统计程序，Fisher精确检验。

2 结果

2.1 动物一般情况

于诱癌第8周开始，部分实验组动物出现不同程度的竖毛、毛色灰暗、食欲不振、活动减少等表现，停药1周后，上述现象消失。整个实验组大鼠与对照组相比生长缓慢、消瘦，有些甚至于晚期出现恶病质。除1只死亡外，其余均存活。

2.2 动物诱癌情况

实验组40只中共37只诱癌成功，其中36只为HCC，1只为胆管细胞癌，HCC占98%。16周开始出现病灶，18周以后病灶逐渐增多增大，16~25周共发现51个大于4 mm的HCC，多为圆形或类圆形，其直径4 mm~19 mm不等，平均8.6 mm。第25周以后病灶多呈弥漫分布，有个别病灶与腹壁及胃壁分界不清。大部分实验组肝癌伴有不同程度肝硬化，少数出现腹水。诱癌第16~20周可见癌灶周围有多个细小结节，1~3 mm大小、灰白色、略突出于肝表面，镜下见其内部有不典型增生的肝细胞及汇管区结构，镜下确认为发育不良结节(Displastic nodule，DN)，MRI未能发现。

2.3 MRI表现

正常肝脏表面光整，实质信号高于脾脏，均匀一致，可见T_1WI及T_2WI均呈低信号的肝静脉及其分支，腹壁脂肪呈高信号，背部肌肉呈稍低信号，见图1。

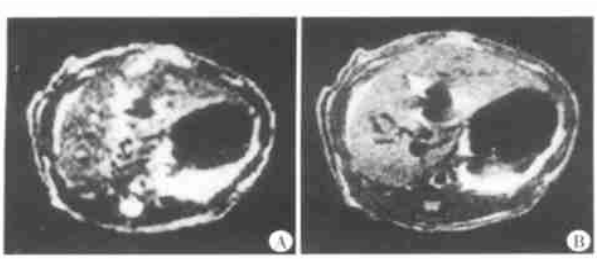


图1 正常大鼠肝脏T_1WI(A)及T_2WI(B)表现

Fig 1 Normal liver on T_1WI image (A) and T_2WI image (B)

51个病灶T_2WI均呈不同程度的高信号，见图2~4B，T_1WI呈高(10/51)，见图2、等(9/51)，见图3B、低(32/51)，见图4A信号，有些病灶在T_1WI呈等信号，与周围正常肝组织不易区分，根据T_2WI表现在T_1WI相应部位仔细寻找可发现病灶。T_1WI高信号HCC多见于诱癌第16~20周，低信号者多见于22~25周，等信号者以20~21周常见，见表1。

表1 T_1WI不同信号病灶在各时相的分布

Tab 1 Distribution of different T_1WI— signal foci at different time interval

Signal pattern	Time(weeks)						
	16	18	20	21	22	23	25
Hyperintense	2	5	2	1	0	0	0
Isointense	0	1	3	3	1	0	1
Hypointense	0	0	2	3	6	10	11

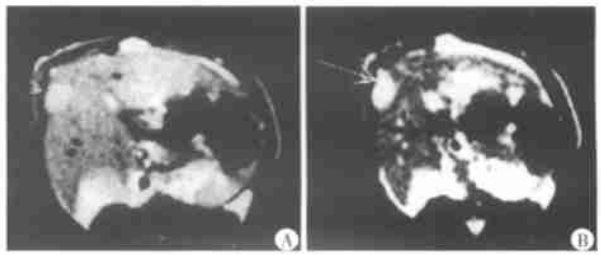


图2 HCC呈T_1WI高信号(A)、T_2WI高信号(B)

Fig 2 HCC showing hyperintense on both T_1WI (A) and T_2WI image (B)

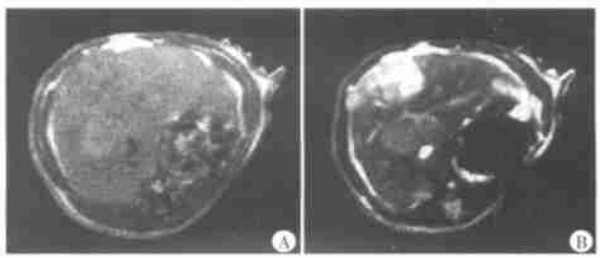


图3 HCC呈T_1WI等信号(A)、T_2WI高信号(B)

Fig 3 HCC demonstrating isointense on T1WI (A) and hyperintense on T2WI image (B)

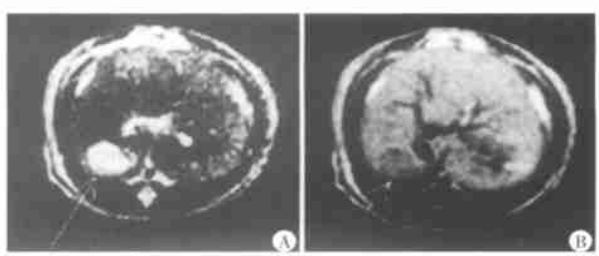


图4 HCC呈T_1WI低信号(A)、T_2WI高信号(B)

Fig 4 HCC showing hypointense on T_1WI (A) and hyperintense on T_2WI image (B)

2.4 病理结果

51个HCC中Ⅰ级9个，Ⅱ级9个，Ⅲ~Ⅳ级33个。Ⅰ级癌细胞轻度异型，排列紊乱，细胞质内见较多空泡。Ⅱ级癌细胞异型性增大，呈实团状排列，细胞质胞浆内见少量空泡。Ⅲ~Ⅳ级癌细胞异型性明显，核大小不一，核仁突出，呈弥漫性排列。

T_1WI高信号组HCC全部为Ⅰ~Ⅱ级，低信号组中29个属Ⅲ~Ⅳ级(90.6%)，等信号组以Ⅱ~Ⅲ级多见。信号类型与病理分级之间有显著相关，在Ⅰ、Ⅱ级中高信号所占的比率高于所有病灶中高信号的比率，Ⅲ、Ⅳ级中低信号所占的概率高于所有病灶中低信号的比率，见表2。

表2 HCC病理分级与T_1WI信号类型的关系

Tab 2 Correlation between T_1WI signal pattern and pathologic grading

	Pathologic grade			
	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ
Hyperintense (n=10)	6	4	0	0
Isointense (n=9)	2	3	3	1
Hypointense (n=32)	1	2	19	10

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3 讨论

目前已经建立并应用的肝癌模型种类较多，根据肿瘤来源，可分为自发性、诱发性和移植性三种，其中诱发性又分为以下几种：①氨基偶氮染料诱发的大鼠肝癌模型：常诱发出混合型肝癌，多用于肝癌发病机理及AFP与肝癌的关系等研究。②芳香胺类化合物诱发的大鼠肝癌模型：诱癌专一性较差，除致肝癌外，还可同时诱发出乳腺癌及肺、肾等脏器的肿瘤。③黄曲霉素诱发的大鼠肝癌模型：诱癌周期较长，常需12～18个月。④亚硝胺类诱发的大鼠肝癌模型：常用DEN作为诱癌剂，该类肝癌模型的特性为诱癌成功率高，对肝脏的致癌性较为专一，肝细胞癌所占比例大，是迄今应用最广泛的一种肝癌模型。

目前用于影像学研究的肝癌模型主要为移植性和DEN诱发性两种，前者多用于介入治疗学的研究[1]。以往多认为DEN诱发肝癌死亡率较高，病灶较小且往往呈弥漫分布[2]，因此用于影像学研究较少。针对以上问题，我们采用低剂量DEN每周5次灌喂法，而不是让其自由饮用，而且在中毒症状较重时，根据具体情况适当停药数日，这样就有效的降低了死亡率，本组实验大鼠40只25周内仅1例死亡。虽然死亡率较低，但诱癌成功率并不随死亡率的降低而降低，相反，本组HCC诱癌成功率高达90%，与文献[3]报道相近。从本实验还可以看出，诱癌第25周以前以单发病灶较多，即使多发，也不会超过5个，且彼此分界较清楚，25周以后病灶多呈弥漫性分布，而16周时有部分动物尚未诱导出肝癌。因此我们认为，MRI检查的时机最好选择在诱癌第18～25周，这样既可避开弥漫性病灶，又保证了诱癌成功率。

本组大部分病灶伴有不同程度的肝硬化，少数有腹水，并且诱癌早期还可见肝癌周围有多个细小的发育不良结节。这些病理改变与人类肝癌在肝硬化基础上发生有一定的相似之处。

近年来有些研究发现，肝癌在MRI上除表现为典型的长T_1、长T_2信号外，还可有其他信号模式。有人对一组小肝癌的研究结果显示，低、等、高信号的出现率在T_1WI依次为50%、21%、29%[4]。Muramatsu[5]报道20例小肝癌，T_1WI 9例呈高信号，11例呈等信号。多数学者认为[4,6]，T_1WI信号模式与癌组织分化程度有一定相关性，T_1WI高信号者多分化较好，而低信号者常分化较差。本实验中所有HCC在T_2WI均表现为高信号，T_1WI分别表现为高、等、低三种信号。高信号者于肝癌发生的早期多见，而低信号者以晚期出现较多，在整个肝癌的进展过程中T_1WI信号变化呈现出由高到低的趋势。10例T_1WI高信号HCC均为Ⅰ～Ⅱ级，而大部分Ⅲ～Ⅳ级HCC都表现为低信号，提示T_1WI信号模式与病理分级相关。以上分析说明，无论在信号模式还是在信号模式与病理的关系上，大鼠HCC都能较好的模仿人肝癌。因此我们认为低剂量DEN诱导大鼠肝癌模型是动态研究肝细胞癌MR成像的一种理想手段。

DN多伴发于肝癌，被认为是一种癌前病变[7]，其研究价值较高。但本模型中所有DN在MRI上均未发现，这可能与我们所用的MR场强过低或病灶太小有一定关系。高场强MR仪的应用可望有利于DN的检出，从而使HCC发生、发展过程的MR成像研究更具连续性和系统性。

参考文献：

[1] Trubenbach J, Graepler F, Pereira P L, *et al*. Growth characteristics and imaging properties of the morris hepatoma 3924A in ACI rats: a suitable model for transarterial chemoembolization[J]. Cardiovasc Intervent Radiol, 2000, 23(3): 211－217.

[2] 蔡金华，丁仕义. 再生结节、发育不良结节与小肝细胞癌：病理及影像学诊断[J]. 国外医学：临床放射学分册，1999, 4(3): 197－200.

[3] 梁晓俐，钟光汉，左声鹤. 二乙基亚硝胺诱发大鼠肝癌的病理形态学研究[J]. 第三军医大学学报，1991, 13(1): 32－37.

[4] Inoue E, Kuroda C, Fujita M, *et al*. MR features of various histological grades of small hepatocellular carcinoma[J]. J Comput Assist Tomogr, 1993, 17(1): 75－79.

[5] Muramatsu Y, Nawano S, Takayasu K, *et al*. Early hepatocellular carcioma: MR imaging[J]. Radiology, 1991, 181(2): 209－213.

[6] Honda H, Kaneko K, Kanzawa Y, *et al*. MR imaging of hepatocellular carcinoma: effect of Cu and Fe contents on signal intensity[J]. Abdom Imaging, 1997, 22(1): 60－66.

[7] Ishida T, Murakami T, Kato N, *et al*. Superparamagnetic iron oxide enhanced magnetic resonance imaging of rat liver with hepatocellular carcinoma and benign hyperplastic nodule[J]. Invest Radiology, 1997, 32(2): 282－287.

（编辑　郭建秀）

消息

第八届全军(武警)泌尿外科学术会议圆满召开

第八届全军(武警)泌尿外科学术会议于2002年5月15至19日在重庆市第三军医大学西南医院召开。中华医学会泌尿外科学会副主任委员侯树坤教授、新西兰Otago大学泌尿外科Andre教授等出席了大会。会议共收到讲座13篇，论文415篇。全军泌尿外科专委会主任委员宋波教授主持了会议，侯树坤、金锡御、李炎唐、宋波、闵志廉、王晓雄、张绍增、孙颖浩、何恢绪、高江平等教授作了专题讲座。与会代表就肾移植、泌尿系肿瘤、结石、前列腺疾病、腔内泌尿外科、尿动力学及泌尿系护理等专题进行了热烈讨论。随后组委会于5月19至20日举办了尿动力学学习班。本次会议的圆满召开促进了我军泌尿外科的发展。会议确定2005年在上海召开第九届全军(武警)泌尿外科学术会议。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net