

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.25.018

晚期鼠脑胶质瘤模型的建立与磁共振灌注成像研究

陈淑玲,郭子义,钟小航
(海南省海口市人民医院放射科 570208)

摘 要:目的 探讨 3.0T 磁共振灌注成像技术在晚期鼠脑胶质瘤模型的应用价值。方法 Wistar 大鼠 32 只,通过立体定向仪将 C6 细胞接种至鼠脑右尾状核区,接种 3 周后行 3.0T 常规 MRI 和磁共振灌注成像检查,记录灌注成像参数局部脑容量(rCBV),并与病理结果进行对照。结果 30 只接种大鼠,在随后病理检查中均有肿瘤形成,成瘤率 100%;磁共振灌注成像显示胶质瘤瘤体和对侧镜像脑组织的 rCBV 分别为 262.61 ± 72.82 和 189.39 ± 57.21 ,两组结果差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 晚期鼠脑胶质瘤模型适合用于脑肿瘤组织血容量的研究。

关键词:磁共振成像;大鼠,Wistar;神经胶质瘤;磁共振灌注成像

中图分类号:R332 文献标识码:A 文章编号:1671-8348(2014)25-3317-02

Establishment of rat late brain glioma model and magnetic resonance perfusion weighted imaging

Chen Shuling, Guo Ziyi, Zhong Xiaohang

(Department of Radiology, Haikou Municipal People's Hospital, Haikou, Hainan 570208, China)

Abstract: Objective To explore the application value of 3.0T magnetic resonance perfusion weighted imaging(PWI) in the rat late brain glioma model. Methods C6 glioma cells were injected stereotactically into the right caudate nucleus of 32 Wistar rats. In 3 weeks after inoculation, the conventional MRI and PWI were performed. The relative cerebral blood volume(rCBV) values were recorded and compared with the pathological results. Results The tumor formation in 30 inoculated rats were confirmed by the subsequent pathological examination, with the tumor formation rate of 100%. PWI showed that rCBV values of the brain glioma region and the contralateral mirror image brain tissue were 262.61 ± 72.82 and 189.39 ± 57.21 , the difference between them was statistically significant($P < 0.05$). Conclusion The rat late brain glioma model is suitable for the study on the blood volume of brain tumor tissues.

Key words: magnetic resonance imaging; rats, Wistar; glioma; perfusion weighted imaging

胶质瘤是神经系统最常见的恶性肿瘤,复发率高,尤其是高级别恶性胶质瘤^[1]。磁共振灌注成像(perfusion weighted imaging, PWI)作为一种用于肿瘤血供评价的功能成像方法,临床已有广泛报道,不过有关晚期胶质瘤模型的 PWI 报道较少。本研究通过磁共振扫描时间窗的选择,建立晚期胶质瘤模型,并获得 PWI 参数局部脑血容量(regional cerebral blood volume, rCBV),为进一步 PWI 的实验研究提供基础。

1 材料与方法

1.1 C6 细胞胶质瘤模型制作 本实验采用的 Wistar 大鼠购自中科院动物实验中心,雌雄不限,体质量 220~300 g, 7~8 周龄,共 32 只。C6 细胞株购自中科院上海细胞库,常规培养在完全培养基中(含 10% 小牛血清、1% 青链霉素的 RPMI-1640),在细胞处于指数生长期配制成细胞浓度 $1 \times 10^6/10 \mu\text{L}$ 备用。

大鼠术前 8~12 h 禁食、禁饮,以 10% 水合氯醛(0.3 mL/100 g)腹腔麻醉大鼠,俯卧位固定在立体定位仪(深圳瑞沃德生命科技有限公司),剃除头顶部毛发,乙醇消毒后铺无菌手术巾,切开头皮,用牙科钻于冠状缝前 1 mm,矢状缝右旁开 3 mm 处钻一骨孔,微量注射器抽取细胞悬液 $10 \mu\text{L}$,经骨孔垂直进入硬脑膜下 5 mm,以 $1 \mu\text{L}/\text{min}$ 的速率注射(10 min 内注射完),之后留针约 10 min,缓慢拔针,骨蜡封闭骨孔,缝合切口,

单笼饲养细胞接种大鼠。

1.2 MRI 检查 MRI 检查采用 GE 3.0T 医用磁共振成像系统,配备上海晨光多通道大鼠线圈,所有存活细胞接种大鼠于 3 周左右行 MRI 检查,常规扫描参数:T1WI 重复时间(TR)/回波时间(TE)=340 ms/20 ms,层厚=2.5 mm,层间距=0.2 mm,矩阵 160×192 ,视野(FOV)=9 cm。T2WI TR/TE=2 800 ms/100 ms,层厚、层间距、矩阵及视野均和 T1WI 相同。

经确认大鼠右侧尾状核区出现异常信号后行 PWI 检查,采集序列为单次激发梯度回波-平面回波成像(GRE-EPI),TR=1 200 ms,TE=30 ms,层厚=2.5 mm,层间距=0.2 mm,FOV=9 cm,矩阵= 64×128 ,每选定层面获取 3 幅基本图像后于 2 s 内将浓度为 0.2 mmol/kg 钆喷酸葡胺(Gd-DTPA)经尾静脉注入^[2],每层面共获取 50 幅图像,之后行轴位增强 T1WI 检查。

1.3 组织学检查 所有大鼠接受 MRI 检查后,采用 4% 的多聚甲醛左心室灌注固定全脑,开颅取脑,石蜡包埋连续切片,HE 染色并观察肿瘤级别,GFAP 免疫组化采用 SP 法进行。

1.4 数据处理 灌注原始资料在工作站 ADW4.4 工作站上采用 Function Tool 进行后处理,在经验丰富神经影像专家指导下,选取胶质瘤瘤体及对侧镜像脑组织多个感兴趣区(3~5 个,避开坏死区),计算局部脑血容量值。

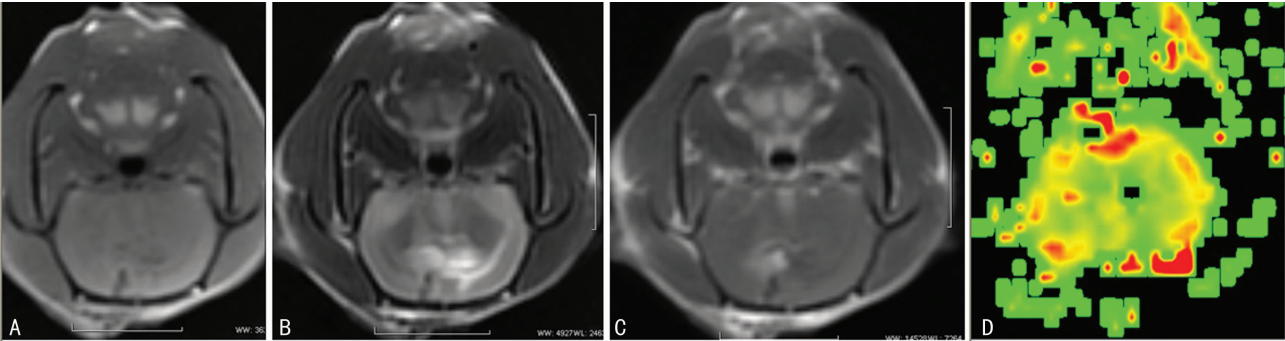
作者简介:陈淑玲(1972—),主管护师,主要从事护理方面的研究。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 对结果进行分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 常规 MRI 和增强检查结果 C6 细胞接种 3 周左右,右侧尾状核区多以不均匀长 T1 长 T2 信号为主,增强扫描肿瘤

多呈不规则、不均一强化,提示肿瘤出现出血或坏死等,少部分呈均匀强化,瘤周水肿呈长 T1 长 T2 信号,不强化。30 只大鼠 C6 脑胶质瘤瘤体和对侧镜像脑组织的 rCBV 分别为 262.61 ± 72.82 和 189.39 ± 57.21 ,两组结果比较差异有统计学意义 ($t = 8.43, P < 0.05$),见图 1。图 2 显示肿瘤细胞密集,胞核不规则,核大深染,异型性明显。



A: T1WI;B:T2WI;C:T1 增强显示右侧大鼠大脑半球 C6 胶质瘤;D:大鼠 C6 脑胶质瘤模型 rCBV 图。

图 1 大鼠脑组织对比增强冠状位图像

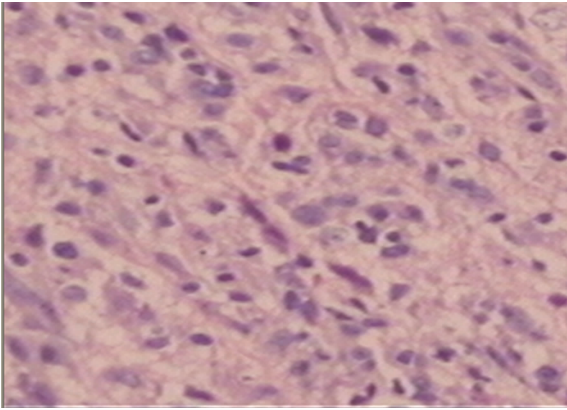


图 2 C6 脑胶质瘤 HE 染色 ($\times 200$)

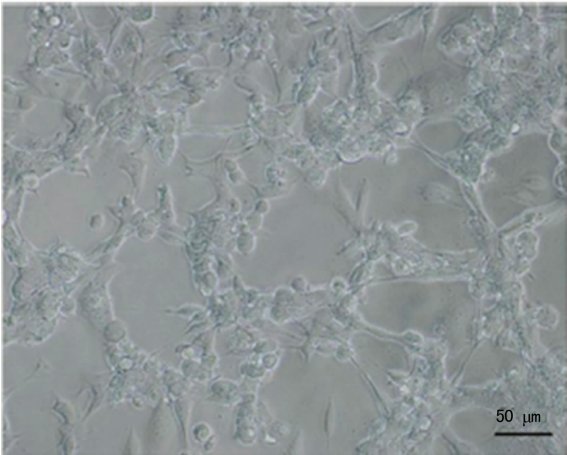


图 3 Ad-GDF-5 感染 HEK293 细胞 48 h ($\times 200$)

2.2 病理结果 部分鼠脑大体标本右侧尾状核区见肿瘤突出,多呈椭圆形或不规则形。HE 染色光镜下显示 3 周左右尾状核区胶质瘤瘤体肿瘤细胞聚集,大小不均,形态各异,核深染,异型性明显,其间散在不规则栅栏状坏死或者出血灶(图 3)。免疫组化显示瘤体内神经胶质酸性蛋白(glia fibrillary a-

cidic protein,GFAP)呈阳性表达,GFAP 主要存在于星形细胞内,其阳性表达证明鼠脑肿瘤标本符合胶质瘤特性。按照 WHO 分级,本实验 30 只荷瘤大鼠级别为Ⅲ~Ⅳ级。

3 讨 论

胶质瘤是神经系统最常见的恶性肿瘤,尤其是高级别胶质瘤多呈浸润性生长,成为术后复发的主要原因。多项研究显示,通过细胞接种大鼠扫描时间的选择,可以建立晚期阶段的大鼠 C6 脑胶质瘤模型,且肿瘤级别多在Ⅲ级以上,满足高级别胶质瘤的实验要求^[3-4]。

磁共振灌注成像是目前发展迅速的无创性功能成像技术,通过分析对比剂首次通过肿瘤组织的微血管灌注^[5-6],获得感兴趣区的血流动力学参数 rCBV。rCBV 值代表组织血容量,且与微血管密度呈正相关,可以间接反映组织的微血管分布和新生血管的程度^[7]。

本实验所有存活细胞接种大鼠经病理证实均有肿瘤形成,接种成功率为 100%,和国内多数学者研究结果一致^[8-9]。同时 MRI 扫描时间选择细胞接种后 3 周左右,发现大鼠脑胶质瘤级别均在Ⅲ级以上,这和文献报道的扫描时间窗选择和肿瘤级别相似^[4],说明通过扫描时间窗的选择,可以实现高级别胶质瘤的建立,从而为研究胶质瘤浸润提供了参考模型^[10-12]。本研究测得 3 周左右的胶质瘤瘤体平均 rCBV 值(262.61 ± 72.82)较对侧镜像脑组织平均 rCBV 值(189.39 ± 57.21)升高,且两组结果比较差异有统计学意义($P < 0.05$),因此可以通过 rCBV 值将 C6 脑胶质瘤瘤体和正常脑组织区分开。

总之,通过选择 Wistar 大鼠,建立晚期胶质瘤模型成功率高,扫描时间窗选择简单,并可对胶质瘤进行磁共振灌注成像研究,了解其血流灌注情况,测得的瘤体及对侧镜像脑组织的脑血容量,也为以后的 PWI 研究提供了实验基础。

参考文献:

[1] Zhu Y,Zhuang JX,Wang Q,et al. Inhibitory(下转第 3321 页)

研实践中证明:该组血小板抗原谱细胞可应用于血小板同种免疫异常性疾病的检测和诊断,为同种免疫血小板减少症等疾病的诊断和研究提供了依据,为后续治疗奠定基础。

参考文献:

[1] Curtis BR,McFarland JG. Human platelet antigens-2013 [J]. Vox Sang,2014,106(2):93-102.

[2] Wu GG,Kaplan C,Curtis BR,et al. Report on the 14th international society of blood transfusion platelet immunology workshop[J]. Vox Sang,2010,99(4):375-381.

[3] Boehlen F,Bulla O,Michel M,et al. HPA-genotyping and antiplatelet antibodies in female blood donors[J]. Hematol J,2003,4(6):441-444.

[4] Nguyen XD,Goebel M,Schober M,et al. The detection of platelet antibodies by simultaneous analysis of specific platelet antibodies and the monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens; an interlaboratory comparison[J]. Transfusion,2010,50(7):1429-1434.

[5] 周燕,钟周琳,李丽兰,等. 抗 HPA-3a 抗体所致新生儿同种免疫性血小板减少性紫癜 1 例并文献复习[J]. 中华血液学杂志,2013,34(1):45-48.

[6] 马印图,李振奇,王全立. 血小板抗体检验技术进展[J]. 中华检验医学杂志,2006,29(11):1041-1044.

[7] 廖燕,申卫东,李丽兰,等. 南宁地区人群血小板抗原

HPA1-16bw 基因分布频率的研究[J]. 中国输血杂志,2010,23(6):424-429.

[8] 周燕,钟周琳,李丽兰,等. 国内首例抗 HPA-5b 引发的新生儿同种免疫性血小板减少性紫癜的检测、诊断及分析[J]. 中国实验血液学杂志,2014,22(2):399-402.

[9] 吴国光,周燕,钟周琳,等. 抗 CD36 介导血小板输注无效的实验研究——附 4 例病例报告[J]. 中国输血杂志,2014,27(1):18-21.

[10] Bessos H,Wilson DW, Metcalfe P, et al. Report on the 12th international society of blood transfusion platelet immunology workshop[J]. Vox Sang,2005,89(2):105-113.

[11] Kiefel V,Konig C,Kroll H,et al. Platelet alloantibodies in transfused patients [J]. Transfusion,2001,41(6):766-770.

[12] 钟周琳,申卫东,周燕,等. 广西地区汉、壮、和瑶族人群 CD36 缺失结构实验分析和特征研究[J]. 中国输血杂志,2014,27(1):14-17.

[13] Sachs UJ,Kiefel V,Kroll H,et al. Report on the 15th international society of blood transfusion platelet immunology workshop[J]. Vox Sang,2012,103(4):343-351.

(收稿日期:2014-04-11 修回日期:2014-07-01)

(上接第 3318 页)

effect of benzyl isothiocyanate on proliferation in vitro of human glioma cells[J]. Asian Pac J Cancer Prev,2013,14(4):2607-2610.

[2] 陈骏,余永强,钱银锋,等. 大鼠 C6 脑胶质瘤生长的动态观察和 MR 灌注成像可行性研究[J]. 中华神经医学杂志,2004,3(1):18-21.

[3] 范国光,臧培卓,景奉东,等. 大鼠 C6 脑胶质瘤 MR 扩散加权成像及灌注成像与组织学对照研究[J]. 中华放射学杂志,2005,39(6):613-618.

[4] 李香营,魏晓,刘辉,等. Wistar 大鼠 C6 脑胶质瘤晚期阶段模型的建立及 MR 成像[J]. 实用放射学杂志,2012,28(3):461-464.

[5] Yoon JH,Kim JH,Kang WJ,et al. Grading of cerebral glioma with multiparametric Mr imaging and 18F-FDG-PET:concordance and accuracy[J]. Eur Radiol,2014,24(2):380-389.

[6] Toh CH,Wei KC,Chang CN,et al. Assessment of angiographic vascularity of meningiomas with dynamic susceptibility contrast-enhanced perfusion-weighted imaging and diffusion tensor imaging[J]. AJNR Am J Neuroradiol,2014,35(2):263-269.

[7] Provenzale JM,Wang GR,Brenner T,et al. Comparison of permeability in high-grade and low-grade brain tumors using dynamic susceptibility contrast Mr imaging[J]. AJR Am J Roentgenol,2002,178(3):711-716.

[8] 黄丙仓,耿道颖,刘培,等. 大鼠 C6 胶质瘤模型建立及 7T 动物磁共振表现实验研究[J]. 中国医学计算机成像杂志,2011,17(6):545-548.

[9] 叶成坤,李少武,高之宪,等. 大鼠 C6 脑胶质瘤高场强动物磁共振的影像学特征[J]. 中华神经外科杂志,2013,29(8):849-853.

[10] Wang W,Steward CE,Desmond PM. Diffusion tensor imaging in glioblastoma multiforme and brain metastases: the role of p, q, L, and fractional anisotropy[J]. AJNR Am J Neuroradiol,2009,30(1):203-208.

[11] 李香营,魏晓,陈晶,等. 大鼠 C6 脑胶质瘤磁共振扩散张量成像及感兴趣区选择研究[J]. 实用放射学杂志,2012,28(12):1953-1957.

[12] Nie J,Shen D. Automated segmentation of mouse brain images using multi-atlas multi-ROI deformation and label fusion[J]. Neuroinformatics,2013,11(1):35-45.

(收稿日期:2014-04-17 修回日期:2014-06-23)