

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000679

C6 胶质瘤肝脏转移模型的建立及其磁共振检测

李 环¹, 田 杰¹, 何 玲², 蔡金华², 刘玲娟¹, 冯 川²

(1. 重庆医科大学附属儿童医院儿科研究所、儿童发育疾病研究教育部重点实验室;

2. 重庆医科大学附属儿童医院放射科, 重庆 400014)

【摘要】目的:建立裸鼠胶质瘤肝脏转移模型,探讨 3.0T 磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)对模型肝脏转移灶检测的可行性。**方法:**手术暴露裸鼠肝门静脉,经肝门静脉注射 C6 胶质瘤细胞至 36 只裸鼠肝脏,分别于注射胶质瘤后的 7 d、14 d 和 21 d 随机抽取建模裸鼠 12 只行 3.0T MRI 扫描,之后取建模裸鼠肝脏组织对其进行大体形态学观察、HE 染色,比较 3 种方法对肿瘤转移灶的检出能力以及所测肿瘤结节大小的差异,并使用 S100beta 进行免疫组化染色。**结果:**MRI 影像学对肿瘤转移灶的检出时间要晚于 HE 染色($Wald \chi^2=5.01, P=0.025$),而较大体标本改变出现时间无差异($Wald \chi^2=0.03, P=0.853$);且 14 d 与 21 d 时 MRI 所测肿瘤结节直径与 HE 染色以及大体标本所见肿瘤结节直径之间亦有差异($F_{14,d}=14.28, P=0.000; F_{21,d}=1123.23, P=0.000$)。组织切片 S100beta 免疫组化结果证实肝脏肿瘤结节为 C6 胶质瘤。且肿瘤转移灶在 MRI T2WI 上呈高信号改变,对较大肿瘤结节 3.0T MRI 能显示其内细节及瘤周水肿。**结论:**该方法可成功构建胶质瘤血行肝脏转移模型;且 3.0T MRI 可用于该模型鼠肿瘤转移灶的检测。

【关键词】胶质瘤;动物模型;裸鼠;S100beta;磁共振成像**【中图分类号】**R445.2;R73-37;R332**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2015-01-21

Application of 3.0T magnetic resonance imaging in motoring liver hematogenous metastasis model established by C6 cell injection

Li Huan¹, Tian Jie¹, He Ling², Cai Jinhua², Liu Lingjuan¹, Feng Chuan²

(1. Pediatric Research Institute, the Children's Hospital, Chongqing Medical University,

Key Laboratory of Child Development and Disorders Founded by Ministry of Education;

2. Department of Radiology, the Children's Hospital, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To establish liver hematogenous metastasis model in nude mice through injection of C6 glioma cells to hepatic portal vein and to investigate the feasibility and accuracy of 3.0T magnetic resonance imaging(MRI) in detection of the liver metastasis model. **Methods:** Hepatic portal veins of 36 nude mice were exposed by surgical operation. Then cultured C6 glioma cells were injected into hepatic portal veins of the 36 nude mice. Every time, 12 nude mice were randomly sampled for magnetic resonance scanning on 7th, 14th, 21st d. After scanning, these mice were sacrificed. All livers of these mice were collected for pathological examination, the ability for detection of tumor metastasis and the diameter of metastatic nodules detected by the three methods were compared, and immunohistochemical staining was used to assay the expression of S100beta. **Results:** The time metastatic nodules could be detected by MRI was latter than that by HE staining ($Wald \chi^2=5.01, P=0.025$), with no obvious difference when comparing with the time morphological changes revealed ($Wald \chi^2=0.03, P=0.853$). And there were significant differences among the diameter of metastatic nodules detected by the three methods on 14 th d and on 21st d ($F_{14,d}=14.28, P=0.000; F_{21,d}=1123.23, P=0.000$). Immunohistochemical staining of S100beta confirmed metastatic nodules were C6 glioma. Metastases manifested high signal in MRI T2WI characteristics. 3.0T MRI obtained more details about metastatic nodules and also showed edema around tumors. **Conclusion:** The liver metastasis model can be successfully established by portal vein injection of C6 cells. A clinical 3.0T MRI scanner can be used to detect formation

作者介绍: 李 环, Email: lihuan5545@126.com,

研究方向: 磁热疗治疗转移瘤。

通信作者: 冯 川, Email: fcf2000@sina.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 81201744)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20150708.2305.006.html>

(2015-07-08)

and transform of liver metastases in this animal model.

【Key words】glioma; animal model; nude mice; S100beta; magnetic resonance imaging

神经胶质瘤是常见的中枢神经系统肿瘤,高级别胶质瘤预后差^[1],可发生颅外转移^[2],且发生颅外转移的患者存活时间短^[3]。既往研究中,肿瘤肝转移模型的构建常用肝包膜下注射的方法^[4]。此方法虽能形成局灶性转移结节,但难以形成肝内多灶性转移结节,且不符合一般转移瘤形成病理过程。为了构建符合一般转移瘤形成的病理过程,并构建可在肝内形成血行转移的动物模型,本实验中尝试使用大鼠 C6 胶质瘤细胞株以门脉注射的方式构建裸鼠胶质瘤肝脏转移模型,并利用 3.0T MRI 对建模裸鼠肝脏进行监测,可为研究肿瘤血行肝转移提供可靠的动物模型及无创监测方法。

1 材料和方法

1.1 实验动物和细胞

6 周雌性裸鼠 36 只购自重庆医科大学动物实验中心(本实验获得重庆医科大学实验动物伦理委员会批准),置于空气层流室内,室内温度维持在 26℃~28℃,湿度保持在 45%~55%,每日光照周期为 12 h/12 h,用于饲养的食物和饮用水均经过高温高压灭菌。C6 胶质瘤细胞株由重庆医科大学儿科研究所肿瘤研究室提供。

1.2 主要试剂和仪器

胎牛血清(杭州天杭生物有限公司)、DMEM/F12 培养基(Gibco 公司)、含 EDTA 0.25% 胰酶(Hyclone 公司)、兔抗鼠 S100beta 单克隆抗体(abcam 公司)、兔超敏二步法免疫组化试剂盒(中杉金桥)、DAB 显色液(中杉金桥)、33G 注射针(Hamilton 公司)、台盼蓝染液(重庆博培生物有限公司)、显微镜(Nikon eclipse 55i)、飞利浦 achieve3.0T MR。

1.3 方法

1.3.1 C6 胶质瘤细胞的培养以及细胞悬液的制备 复苏 C6 胶质瘤细胞并置于 37℃、5%CO₂ 细胞培养箱内常规换液、传代,取对数期、生长状态良好的 C6 胶质瘤细胞。倒掉原培养基,用含 EDTA 0.25% 胰酶消化细胞,加入完全培养基终止消化,吹打后将培养基转移至离心管内以 1 000 r/min 离心 5 min。弃去上清液加入 PBS 5 ml 吹打细胞并离心,重复以上操作 1 次以去除残余培养基。加入 PBS 调整细胞数量至 1.0×10^7 个/ml,每次均以部分细胞进行台盼蓝排斥实验证实其活性。

1.3.2 C6 胶质瘤肝转移模型的构建 取裸鼠 36 只,用 4% 水合氯醛以 0.15 ml 将裸鼠麻醉成功后,用 75% 酒精棉球消毒腹部手术区。无菌条件下于右侧肋缘下 0.5 cm 行腹部横切口,以轻柔的动作将腹腔内容物拉出腹外暴露肝门静脉。将含有 C6 细胞悬液的 1 ml 注射器接 33G 注射针后刺入裸鼠肝门静脉内并推注 0.1 ml (1×10^6 个) C6 细胞 PBS 悬液(台盼蓝排斥实验显示 C6 细胞活力大于 95%)至裸鼠体内,留针约 5 s 后缓慢退针并压迫 10 s 以止血。手术缝合各层组织。

将术后裸鼠放回笼中继续饲养,并每日观察术后裸鼠的摄食、活动。

1.3.3 MRI 检测模型裸鼠肝脏组织 分别于 7 d、14 d 以及 21 d 随机抽取建模裸鼠 12 只,用 0.15 ml 4% 水合氯醛麻醉后置于飞利浦 achieve3.0T MRI 膝关节线圈内,行横断面扫描,参数设置:

T1WI-TSE SENSE 序列:TR=600 ms;TE=20 ms;Flip angle=90°;FOV=120 mm;体素=0.45×0.56×1.00 mm;间距=0 mm;NEX=6。

T2WI-TSE SENSE 序列:TR=2 000 ms;TE=100 ms;Flip angle=90°;FOV=120 mm;体素=0.45×0.56×1.00 mm;间距=0 mm;NEX=6。

每只裸鼠选择 T2WI 序列,随机选择 3 个层面,以飞利浦 Extended MR WorkSpace2.6.3.5 工作站随机计数 6 个结节大小。

1.3.4 标本的获取以及 HE 染色 将 MR 扫描后的裸鼠用 CO₂ 麻醉的方法处死,剪开腹腔,游离肝脏,剪断下腔静脉和门静脉,收集裸鼠肝脏组织置于 4% 多聚甲醛固定。将甲醛固定后的组织脱水,分别进行石蜡包埋,以 4 μm 连续切片,常规 HE 染色,用中性树胶封片后光镜下观察。每只裸鼠随机选取 3 个切片层面,随机计数 10 个结节大小。

1.3.5 免疫组织化学染色 选取 14 d 组标本,HE 染色发现结节后,取连续切片中临近 3 个层面进行免疫组织化学染色,选取模型裸鼠肝脏组织切片中不含肿瘤层面作为阴性对照,选取同只裸鼠脑组织作为阳性对照进行免疫组织化学染色。60℃ 烘片,脱蜡,梯度酒精复水,用枸橼酸液进行抗原修复,滴加过氧化物酶常温湿盒孵育 20 min,滴加 1:200 S100beta 一抗稀释液 4℃ 湿盒过夜,聚合物辅助剂 37℃ 孵育 20 min,辣根酶标记羊抗兔 IgG 多聚体 37℃ 孵育 30 min,DAB 溶液显色 1 min,苏木素染核后透明封片。

1.4 统计分析

使用 SAS 9.13 统计学软件进行分析,计量资料采用 ($\bar{x} \pm s$) 表示。使用两因素方差分析比较 14 d、21 d 3 种方法所测病灶直径的差异;由于交互作用,采用控制在其中一个因素的水平下进行另一因素各水平间的多重比较。另使用单因素方差分析比较 HE 染色在 7、14、21 d 3 个时间点所测病灶直径的差异,两两比较使用 LSD-*t* 法。采用 Poisson 回归模型分析时间和 3 种检测方法对建模裸鼠肝脏肿瘤转移灶检出的影响。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 肝脏大体形态学改变

肝门静脉注射 C6 胶质瘤细胞 7 d 后,肝脏大体标本可见包膜完整,表面光滑,质地柔软,未见明显病理改变(图 1A)。而注射 C6 胶质瘤 14 d 后,大体标本可以观察到肝脏组织表面和切面散在黄白色米粒尖大小结节以及多处糜烂后形成大小不等的凹陷(图 1B),病灶直径约为 (0.51 ± 0.14) mm。21 d 组病灶直径约为 (3.36 ± 1.11) mm(图 1C),与 14 d 组相比结节有增大($F=241.59, P=0.000$)。



A. 建模 7 d 裸鼠肝脏组织

B. 建模 14 d 裸鼠肝脏组织

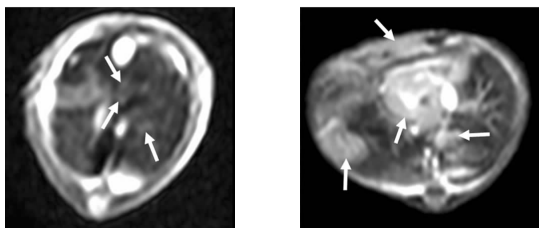
C. 建模 21 d 裸鼠肝脏组织

图 1 建模裸鼠肝脏大体标本

Fig.1 Morphological samples of model mouse liver

2.2 肝脏组织 3.0T MRI 表现

经 MRI T1WI 及 T2WI 平扫,肝门静脉注射 C6 胶质瘤细胞 7 d 后肝脏未发现明显异常信号。14 d 组仅 2 例建模裸鼠于 T2WI 上发现肝脏 T2 高信号多发小结节影,结节形态不规则,与周围组织边界模糊,由于肿瘤组织较小,瘤内细节显示不清,结节直径约为 (1.22 ± 0.19) mm;此时期 T2WI 可检测出转移瘤,而在 T1WI 上转移瘤与正常肝实质信号对比不明显,未能发现节结影。21 d 组 12 例建模裸鼠均发现肝脏 T2WI 上多发高信号结节影,结节影较 14 d 组有增大 ($F=305.01, P=0.000$),且部分结节之间有融合,结节大小明显不均一;此时期可以见到部分较大结节呈 T2 高信号,其内可以见到片状较高信号的坏死区,结节直径约为 (5.00 ± 1.18) mm,部分较大结节边缘可见更高信号的瘤周水肿。此时在 T1WI 上亦能发现相应节结影,但肿瘤与正常肝实质对比度仍不如 T2WI,且瘤内的坏死及瘤周的水肿显示不如 T2WI 清楚(图 2、3)。

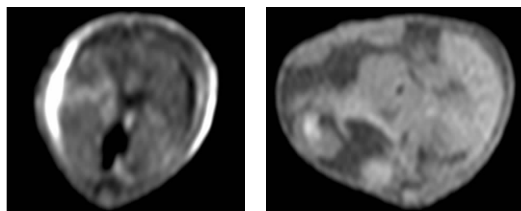


A. 建模 14 d T2WI 图像

B. 建模 21 d T2WI 图像

图 2 建模裸鼠肝脏组织 MRI T2WI 图像
(箭头所示为肿瘤转移灶)

Fig.2 T2-weighted magnetic resonance images of model mouse liver obtained (arrows indicate metastatic nodules)



A. 建模 14 d T1WI 图像

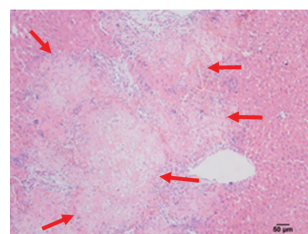
B. 建模 21 d T1WI 图像

图 3 建模裸鼠肝脏组织 MRI T1WI 图像

Fig.3 T1-weighted magnetic resonance images of model mouse liver obtained

2.3 HE 染色及免疫组化

建模裸鼠肝脏组织切片 HE 染色结果显示,7 d 组于肝脏血管周围发现较小的肿瘤转移灶,其内可见胞核深染的肿瘤细胞。肿瘤细胞核大小不一、异型性明显,细胞间轮廓不清,呈浸润式生长。此期部分肿瘤转移灶内可见少许坏死组织。14 d 组可见肿瘤转移灶有增大,其内出现片状的坏死组织,肿瘤细胞主要位于坏死组织边缘,正常肝小叶结构遭到破坏。21 d 组可见肿瘤转移灶进一步增大,其内见大片坏死组织。肿瘤内可见红细胞分布,提示有出血,亦可见新生毛细血管。肿瘤区域未见正常肝小叶结构,多个小的转移灶可有融合(图 4)。



注:箭头所示为融合结节

图 4 HE 染色可见建模 21 d 裸鼠肝脏组织病理学改变 (100 ×)

Fig.4 Pathological changes observed by HE staining at 21 days after C6 cells injection (100 ×)

7 d 组 12 只建模裸鼠中 7 例肝组织切片 HE 染色发现肿瘤转移灶,其直径为 (0.05 ± 0.02) mm;14 d 组 12 只建模裸鼠中 10 例 HE 染色发现肿瘤转移灶,其直径为 (0.13 ± 0.06) mm,较 7 d 时所测结节直径有增大 ($F=50.19, P=0.000$);21 d 组 12 只建模裸鼠中 12 例 HE 染色均能发现肿瘤转移灶,且部分肿瘤转移灶有融合趋势,其直径为 (0.29 ± 0.10) mm(未计融合后结节大小),较 14 d 时所测结节直径亦有增大 ($F=296.38, P=0.000$)。

对建模 14 d 裸鼠肝脏组织切片进行免疫组化染色, S100beta 阳性表达区域染色呈棕黄色,该区域内包含片状无细胞结构坏死区及排列密集的细胞。这些细胞胞核较正常肝细胞小,异形性明显,其周围为浅染、核大而圆的正常肝细胞(图 5A);以裸鼠正常肝脏组织作为阴性对照进行染色未见棕黄色着色(图 5B);而以裸鼠脑组织作为阳性对照可见脑组织均被染为明显的棕黄色(图 5C)。

2.4 各组裸鼠肝脏模型不同时间点观察结果比较

注射 C6 胶质瘤 7d 取裸鼠肝脏组织做 HE 染色其中有 7 例观察到微小转移灶,此时未见明显肝脏大体形态学以及 MRI 改变;当注射 C6 胶质瘤 14 d 取裸鼠肝脏组织做 HE 染色有 10 例肝脏组织发现肿瘤转移灶,有 3 例肝脏大体标本可见病变,而其中 2 例 MRI T2WI 上发现肝脏内高信号节结影,但 MRI T1WI 上未能发现结节影;当注射 C6 胶质瘤 21 d 时 12 只裸鼠均有 HE、肝脏大体形态学、MRI 改变。以肿瘤显示较好的 T2WI 结果与 HE 染色及大体标本检测结果相比较。由表 2 可知以 MRI T2WI 为参照,HE 染色对应的 RR 值为 2.07,提示 HE 染色对肿瘤转移灶的检出时间要早于 MRI T2WI 影像学改变出现时间 ($Wald \chi^2=5.01, P=0.025$);以 MRI T2WI 为参照,大体形态学改变所对应的 RR 值为 1.07,统计结果提示大体标本与 MRI T2WI 对肿瘤转移灶的检出无差异 ($Wald \chi^2=0.03, P=0.853$)。以 7 d 作为参照,14 d 对应的 RR 值为 2.14,提示 14d 时模型鼠检出肝脏存在肿瘤转移灶的列数为 7 d 时的 2.14 倍 ($Wald \chi^2=2.7, P=0.096$);而以 7 d 作为参照,21 d 时对应的 RR 值为 5.14,提示 21 d 时模型鼠检出肝脏存在肿瘤转移的列数为 7 d 时的 5.14 倍 ($Wald \chi^2=15.72$

$P=0.000$)。由表 3 可知对于 14 d 组、21 d 组,3 种方法发现的病灶直径大小亦有一定差异。14 d 组大体标本所见病灶直径大于 HE 染色所观察到的病灶直径 ($F=4.560, P=0.033$),MRI T2WI 检测所见病灶直径分别大于 HE 染色 ($F=26.330, P=0.000$)及大体标本所见 ($F=7.500, P=0.006$);21 d 组大体标本所见病灶直径亦大于 HE 染色观察到的病灶直径 ($F=872.520, P=0.000$),MRI T2WI 检测所见病灶直径分别大于 HE 染色 ($F=2\ 064.680, P=0.000$)及大体标本所见病灶直径 ($F=202.260, P=0.000$)。

表 1 3 种方法不同时间点检测建模裸鼠肝脏肿瘤转移灶结果

Tab.1 The observed results of model mice with metastatic tumor in liver at different time points

时间	肝脏存在转移灶的列数		
	HE染色 (n=12)	大体标本改变 (n=12)	MRI T2WI (n=12)
7 d	7	0	0
14 d	10	3	2
21 d	12	12	12
共计	29	15	14

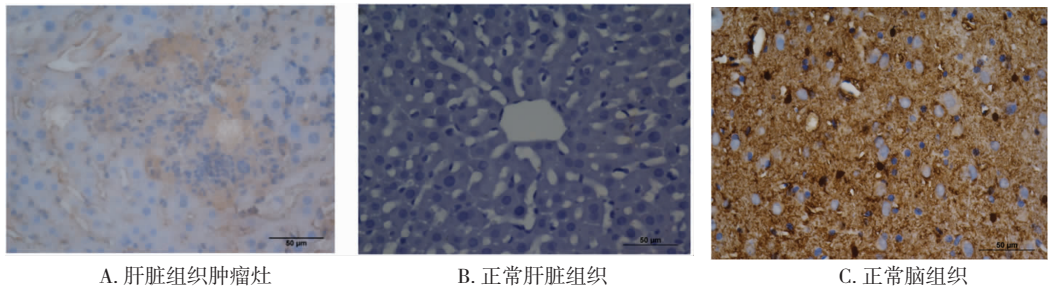


图 5 免疫组织化学检测 S100beta 蛋白的表达(200 ×)

Fig.5 S100beta protein expression detected by immunohistochemistry(200 ×)

表 2 建模裸鼠肝脏肿瘤转移灶检出的 Poisson 回归模型分析结果

Tab.2 Analysis results of Poisson regression model for detection of tumor metastasis of model

因素		回归系数	标准误	RR值(95%CI)	Wald χ^2 值	P 值
时间	7 d (参照)			1.00		
	14 d	0.7621	0.4577	2.14 (0.87, 5.26)	2.77	0.096
	21 d	1.6376	0.4131	5.14 (2.29, 11.56)	15.72	0.000
组别	MRI T2WI (参照)			1.00		
	大体标本改变	0.069	0.3716	1.07 (0.52, 2.22)	0.03	0.853
	HE 染色	0.7282	0.3254	2.07 (1.09, 3.92)	5.01	0.025

表 3 不同时间点裸鼠肝脏模型病灶直径测量结果 (mm)

Tab.3 Measure results of pathological lesion at different time points (mm)

时间	HE染色	大体标本	MRI T2WI	F 值	P 值
14 d	0.13 ± 0.06	0.51 ± 0.14 ^a	1.22 ± 0.19 ^{ac}	14.28	0.000
21 d	0.29 ± 0.10	3.36 ± 1.11 ^b	5.00 ± 1.18 ^{bc}	1 123.23	0.000
F 值	3.130	241.590	305.010		
P 值	0.072	0.000	0.000		

注:a. 与 14 d HE 染色结果比较 $F=4.560, P=0.033$;b. 与 21 d HE 染色结果比较 $F=872.520, P=0.000$;c. 与 14 d HE 染色结果比较 $F=26.330, P=0.000$;e. 与 14 d 大体标本比较 $F=7.500, P=0.006$;f. 与 21 d HE 染色结果比较 $F=2\ 064.680, P=0.000$;g. 与 21 d 大体标本比较 $F=202.260, P=0.000$

3 讨论

C6 胶质瘤细胞株常用于肿瘤的相关研究^[5],其能稳定表达胶质瘤细胞标记物 S100beta^[6]。在本实验中对建模裸鼠病理切片进行了免疫组化检测,发现组织切片中的细胞存在 S100beta 的表达,证实了所发现结节是由 C6 胶质瘤细胞构成的肝内转移灶。

建模后的裸鼠肝脏组织 HE 染色结果证实通过裸鼠肝门静脉注射的 C6 细胞是可以穿过血管壁在肝脏组织内定植并破坏正常肝小叶结构,显示出侵袭生长的特点。同时肝脏组织多处形成小的转移灶,转移灶内出现坏死,细胞核异形性明显。这些特征于人脑神经胶质瘤在颅外所形成的肿瘤灶病理学特征是相一致的^[7]。

通过 3.0T MRI 对肿瘤转移灶的观测并与 HE 染色做对比,早期 7 d 组通过 3.0T MRI 不能观察到的转移灶结节可能的原因是,MRI 的空间分辨率低于 HE 染色,只能观察到较大的转移灶;而大体标本肉眼观察的分辨率与 3.0T MRI 差别不大,故二者对转移瘤检测的敏感性大致相仿。对较大的转移灶(直径大于 1 mm)3.0T MRI 可以很好的显示。在 21 d 组内,发现 MRI 观察到结节的大小明显不均一,与 HE 检测结节大小有较大差别。这可能是因为 HE 检测时分辨率很高,虽多个结节融合成团,但仍可分辨单个结节的大小,而在 MRI 检测时多个融合的结节不能分辨所致。而 MRI 观察到结节大小与大体标本也有一定差异。这可能是因为 MRI 体素为 0.45 mm × 0.56 mm × 1.00 mm,两节结间距小于 0.45 mm 者在 MRI 上容易显示为一个节结所致。

对转移瘤 MRI 的检测,T2WI 能显示 14 d 组较小节结,并能较好显示较大肿瘤内坏死及瘤周水肿,故其对转移瘤的显示较 T1WI 更清楚。这与王淑楠等^[8]裸鼠颅内转移瘤模型的 1.5T MRI 检测结果类似。与王博等^[9]裸鼠颅内转移瘤模型的 1.0T MRI 检测相比,3.0T MRI 能检测到转移瘤的体积小于 1.0T MRI,即能在较早期检测到转移瘤的发生,另外对较大转移瘤的细节显示也较为清楚。

虽然 3.0T MRI 在早期检测裸鼠转移瘤的敏感性方面不如 HE 染色,但却是一种非损伤性检测。经过 MRI 检测后的裸鼠模型尚能进行下一步实验,而且能反复检测。故在需要多步骤完成的实验中有较高的利用价值。目前小动物荧光亦能检测转移瘤的发生及进展情况^[10],但其对较小的肿瘤转移灶敏感性也不高,并且难以显示转移瘤周围组织结构,故在需要了解转移瘤与周围组织关系方面利用价值

亦不如 MRI。

但由于检测的是裸鼠这种较小动物,本课题选择的是小体素,磁共振 SAR 值尚在可承受范围内,如用于大动物或临床,体素或矩阵方面尚需一定修改,以避免 SAR 超标的问题。

实验中虽然用台盼蓝排斥实验来排除细胞活力对实验造成的影响,但由于裸鼠间的个体差异以及 C6 细胞在 PBS 中的时间长短都会对肿瘤细胞进入裸鼠体内能否存活以及定植后的生长造成影响。因此注射 C6 细胞 7 d 时 HE 染色组并不是每只都可以找到病灶,而注射 C6 细胞 14 d 组也可能因此原因有裸鼠肝脏组织病变是不能被大体标本以及 3.0T MRI 所观察到。

综上所述,通过门脉注射 C6 胶质瘤细胞构建裸鼠肝转移瘤的方法,能较好地模拟胶质瘤血行肝转移的病理过程。对于较小病灶,MRI 难以清楚显示,而对于较大的转移灶,3.0T MRI 则是一种较好的无创性检测手段。

参 考 文 献

- [1] 张伟国.脑胶质瘤 MRI 诊断进展——基于脑胶质瘤生理代谢特征的 MRI 成像[J].第三军医大学学报,2010,32(20):2153-2156.
- [2] Fonkem E, Lun M, Wong ET. Rare phenomenon of extracranial metastasis of glioblastoma[J]. J Clin Oncol, 2011, 29(34):4594-4595.
- [3] Lun M, Lok E, Gautam S, et al. The natural history of extracranial metastasis from glioblastoma multiforme[J]. J Neurooncol, 2011, 105(2): 261-273.
- [4] Zhao W, Zhang L, Xu Y, et al. Hepatic stellate cells promote tumor progression by enhancement of immunosuppressive cells in an orthotopic liver tumor mouse model[J]. Lab Invest, 2014, 94(2): 182-191.
- [5] 张春敏,朱 静,燕 莎,等.骨髓间充质干细胞在 C6 脑胶质瘤细胞微环境中瘤性转化的生物学分析[J].重庆医科大学学报,2014,39(5):591-596.
- [6] Jacobs VL, Valdes PA, Hickey WF, et al. Current review of in vivo GBM rodent models: emphasis on the CNS-1 tumour model[J]. ASN Neuro, 2011, 3(3): 171-181.
- [7] Blume C, von Lehe M, van Landeghem F, et al. Extracranial glioblastoma with synchronous metastases in the lung, pulmonary lymph nodes, vertebrae, cervical muscles and epidural space in a young patient—case report and review of literature[J]. BMC Res Notes, 2013, 25(6): 290-296.
- [8] 王舒楠,王 斌,张伟国,等.1.5T 磁共振成像在检测裸小鼠胶质瘤原位成瘤模型中的应用[J].第三军医大学,2010,32(2):131-134.
- [9] 王 博,王 毅,陈金华,等.大鼠 C6 胶质瘤生长规律的影像学与病理学观察[J].第三军医大学,2008,30(20):1940-1943.
- [10] Yanagihara K, Takigahira M, Kubo T, et al. Marked antitumor effect of NK012, a SN-38-incorporating micelle formulation, in a newly developed mouse model of liver metastasis resulting from gastric cancer[J]. Ther Deliv, 2014, 5(2): 129-138.

(责任编辑:冉明会)