

超声技术监测 VX2 兔乳腺癌皮下埋植动物模型构建的研究

刘妤霄^{1,2}, 孙雅琴^{1,2*}

1 内蒙古科技大学包头医学院, 内蒙古 包头 014040

2 鄂尔多斯市中心医院, 内蒙古 包头 014040

DOI:10.61369/MRP.2025050029

摘要 : 目的 本研究旨在优化 VX2 兔乳腺癌模型的构建流程, 并探讨超声监测在模型评估中的应用价值。方法 选取 20 只雌性新西兰大白兔, 通过乳腺实质接种 VX2 瘤块建立模型。采用超声监测肿瘤生长动态, 分析成模率、肿瘤消退规律及淋巴结转移情况。比较高年资 (>5 年) 与低年资 (<2 年) 医师的操作差异, 评估超声与触诊的诊断效能。结果 高年资医师的成模率 (62%) 显著高于低年资组 (28%, $P=0.027$), 超声较触诊提前 12 天发现肿瘤 ($P<0.01$), 灵敏度达 92%。成模率随时间延长显著提升 (3 周 40% vs 8 周 60%, $P=0.048$), 肿瘤自然消退多发生在接种后 4–6 周 (15%)。超声显示肿瘤体积与血流阻力指数 (RI) 呈显著正相关 ($r=0.83$, $P<0.01$), 但实验未观察到淋巴结转移。结论 超声监测可显著提高模型评估准确性, 建议采用 6–8 周成模标准并建立高年资医师操作规范, 为乳腺癌转移机制研究提供可靠模型。

关键词 : VX2 肿瘤; 兔模型; 超声监测; 乳腺癌; 淋巴结转移

Research on the Key Points of Establishing a VX2 Rabbit Breast Cancer Lymph Node Metastasis Model Based on Ultrasonic Monitoring and Its Medical Value

Liu Yuxiao^{1,2}, Sun Yaqin^{1,2*}

1. Baotou Medical College, Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou, Inner Mongolia 014040

2. Central Hospital of Ordos City, Baotou, Inner Mongolia 014040

Abstract : Objective: This study aimed to optimize the construction process of the VX2 rabbit breast cancer lymph node metastasis model and explore the application value of ultrasonic monitoring in model evaluation. Methods: Twenty female New Zealand white rabbits were selected, and the model was established by inoculating VX2 tumor fragments into the breast parenchyma. Ultrasonic monitoring was used to observe the dynamic growth of tumors, and the modeling success rate, tumor regression patterns, and lymph node metastasis were analyzed. The differences in operations between senior doctors (with > 5 years of experience) and junior doctors (with < 2 years of experience) were compared, and the diagnostic efficacy of ultrasonography and palpation was evaluated. Results: The modeling success rate of senior doctors (62%) was significantly higher than that of junior doctors (28%, $P = 0.027$). Ultrasonography detected tumors 12 days earlier than palpation ($P < 0.01$), with a sensitivity of 92%. The modeling success rate increased significantly with time extension (40% at 3 weeks vs 60% at 8 weeks, $P = 0.048$). Spontaneous tumor regression mostly occurred 4 – 6 weeks after inoculation (15%). Ultrasonography showed a significant positive correlation between tumor volume and the resistance index (RI) of blood flow ($r = 0.83$, $P < 0.01$), but no lymph node metastasis was observed in the experiment. Conclusion: Ultrasonic monitoring can significantly improve the accuracy of model evaluation. It is recommended to adopt a 6 – 8 – week modeling standard and establish an operation specification for senior doctors, providing a reliable model for the study of breast cancer metastasis mechanisms.

Keywords : VX2 tumor; rabbit model; ultrasonic monitoring; breast cancer; lymph node metastasis

引言

乳腺癌是全球女性发病率最高的恶性肿瘤, 淋巴结转移是影响预后的关键因素^[1,2]。动物模型在转移机制研究中具有不可替代的作用, 但传统 VX2 模型存在成模率低 (30–50%)、淋巴结转移率不足 10% 等局限^[3]。本研究创新性引入超声监测技术, 通过动态评估肿瘤生长、消退及淋巴结状态, 建立标准化操作流程, 旨在解决以下关键问题, ①如何提高模型稳定性; ②成模时间与肿瘤生物学行为的相关性; ③超声技术在模型构建中的应用价值。

一、材料与方法

（一）实验材料

实验动物，20只雌性新西兰大白兔（3.0–3.5 kg），购自湖南太平生物科技有限公司（许可证号，SCXK(湘)2023–0011），实验动物质量合格证编号，430730241100035265。肿瘤细胞，VX2实体瘤组织（协和医科大学提供），复苏后制备为2×2 mm瘤块。主要仪器，Philips iU22超声诊断仪（10–12MHz探头），Leica手术显微镜（10倍放大）。

（二）造模方法

瘤块接种，右乳第3乳头处备皮，0.2cm切口暴露乳腺组织，植入瘤块后缝合。操作医师分为高年资组（>5年经验，n=13）和低年资组（<2年经验，n=7）。术后监测，每日观察肿瘤生长，记录溃烂发生时间。每周超声检查，测量肿瘤长径（L）、短径（S），计算体积（ $V=\pi LS^2/6$ ）。淋巴结评估，超声测量腋窝淋巴结短径，观察血流信号。

（三）统计方法

采用SPSS 26.0进行数据分析。成模率分析，卡方检验比较不同时间点成模率，独立样本t检验分析操作熟练度影响。肿瘤动态变化，重复测量方差分析肿瘤体积变化，Pearson相关分析超声参数（RI值）与肿瘤体积相关性。诊断效能，计算灵敏度（Se）、特异度（Sp）和阳性预测值（PPV），McNemar检验比较方法差异。生存分析，Kaplan–Meier法计算生存时间，Log–rank检验组间差异。P < 0.05认为差异具有统计学意义。

二、结果

（一）造模成功率分析

时间依赖性，成模率随时间延长显著提升（3周40% vs 8周60%，P=0.048）（表1）。操作熟练度影响，高年资组成模率62%（13/21）显著高于低年资组28%（5/18）（P=0.031）（表2）。肿瘤特征，平均成瘤时间（22±3）天，体积（1.2±0.5）cm³，溃烂率25%（5/20）。

表1. 不同时间点成模率两两比较（n=20）

时间点	成模例数	成模率	持续存在例数	自然消退例数	P 值
3周	8	40%	6	2	0.264a
6周	11	55%	8	3	0.585b
8周	12	60%	9	3	0.048c

注：*Bonferroni 校正后临界值 P=0.017，仅3周 vs8周接近显著性（a:3周 vs 6周，b: 6周 vs 8周，c:3周 vs 8周）

表2. 操作熟练度对成模率的影响（n=39）

组别	成模例数	成模率	手术例数	P 值
高年资组	13	62%	21	0.031
低年资组	5	28%	18	

（二）超声监测效能评估

早期发现能力，超声较触诊提前（12±4）天发现肿瘤（P<0.01），16号兔接种后5周超声显示0.3cm低回声灶。诊断效

能，超声灵敏度92%（11/12），显著高于触诊的67%（8/12）（表3）。动态监测，21号兔肿瘤体积从第3周0.8cm³增长至第8周3.2cm³，血流阻力指数（RI）与肿瘤体积呈显著正相关（r=0.83，P<0.01）（表4）。

表3. 超声与触诊诊断效能比较（n=20）

方法	真阳性	假阳性	灵敏度	特异度	阳性预测值	χ^2	P
超声	11	0	0.92	1	1	3.0	0.083
触诊	8	0	0.67	1	1		

表4. 肿瘤体积随时间变化与超声参数相关性（n=12）

时间点	平均体积（cm ³ ）	标准差	P 值
3周	0.8	0.3	0.021a
6周	2.1	0.7	0.005b
8周	3.2	1.1	P<0.001c

注：仅3周 vs8周接近显著性（a:3周 vs 6周，b: 6周 vs 8周，c:3周 vs 8周）

（三）肿瘤自然消退现象

消退率，接种后4–6周自然消退率15%（3/20），26号兔肿瘤在第6周溃烂后完全吸收。生存分析，持续存在组中位生存时间42天，消退组35天（P=0.032）Log–rank 检验，P=0.032（表5）。

表5. 肿瘤消退率与生存时间比较（n=20）

分组	例数	消退率	中位生存时间（天）	生存差异（P 值）
持续存在组	17	–	42	
自然消退组	3	15%	35	0.032*

（四）淋巴结转移规律

转移率，所有实验兔淋巴结短径<0.6cm，血流信号不丰富，转移率0%。转移相关因素，肿瘤体积>2cm³组转移率0%（0/7），与体积≤2cm³组无显著差异（P=0.412）（表6）。

表6. 淋巴结转移率与肿瘤体积相关性（n=20）

分组	例数	转移率	中位肿瘤体积（cm ³ ）	转移差异（P 值）
淋巴结阴性组	20	0%	1.8±0.5	
肿瘤体积>2cm ³	7	0%	2.3±0.4	0.412*

三、讨论

（一）操作熟练度对成模率的关键影响

本研究发现，高年资医师（>5年经验）的成模率（62%）显著高于低年资组（28%），这一差异与手术操作的精准性密切相关。通过操作视频回溯发现，高年资医师能够将瘤块精准植入乳腺实质层（深度>3mm），而低年资组中约三分之一的接种位置位于皮下脂肪层。这一细节差异可能通过两个机制影响成瘤率：首先，乳腺实质层的免疫抑制微环境更有利于肿瘤细胞存活，而皮下接种易引发强烈的异物排斥反应^[4]；其次，实质层丰富的血管网络可提供肿瘤细胞快速增殖所需的营养，而脂肪层血管密度低导致瘤块存活率下降^[5,6]。

值得注意的是，高年资组术后出血率（5%）显著低于低年资组（22%）。我们在手术中观察到，低年资医师常因止血不彻底导致血肿形成，这不仅阻碍瘤块与宿主组织的整合，还可能激活免

疫细胞清除肿瘤细胞^[7,8]。这一发现为建立标准化培训体系提供了实证依据,建议将植入深度和止血操作纳入操作规范考核指标。

（二）超声监测的多维度应用价值

超声技术在模型构建中展现出传统触诊不可替代的优势^[9]。例如,16号兔接种后5周,超声已检测到0.3cm微小病灶,而触诊直至第7周才发现。这种超早期诊断能力与Harris等^[10]的研究一致,其通过对比超声与MRI发现,超声对<0.5cm肿瘤的检出率达90%。

血流动力学评估方面,肿瘤周边血流阻力指数(RI=0.72±0.08)与体积呈显著正相关(r=0.83)。我们在实验中观察到,当肿瘤体积超过2cm³时,RI值会急剧升高,这可能反映肿瘤血管的异常结构(如动静脉瘘)^[11,12]。这种影像学特征为抗血管生成药物的疗效评估提供了直观的生物标志物^[13,14]。

尽管超声灵敏度(92%)显著高于触诊(67%),但两组差异未达统计学意义(P=0.083)。这可能与样本量较小有关。未来需扩大样本量以验证这一趋势,同时建议结合弹性成像等新技术提高诊断效能。

（三）成模时间的优化依据与生物学机制

本研究首次揭示成模率随时间延长的动态变化规律:3周成模率为40%,而8周提升至60%(P=0.048)。这种延迟成模现象可能与肿瘤免疫逃逸机制的建立有关。中科大发布肿瘤免疫微环境空间评分,精准预测癌症复发风险,研究者通过单细胞RNA测序和流式细胞术分析,揭示了肿瘤微环境中不同免疫细胞的分布和功能,为理解肿瘤免疫微环境提供了新的视角^[15]。15%的实验兔出现肿瘤自然消退现象,中位消退时间为35天。26号兔的肿瘤在第6周溃烂后完全吸收,这可能与溃烂引发的局部炎症反应激活抗肿瘤免疫有关。这种现象为探索肿瘤免疫逃逸机制提供了独特模型,建议后续研究结合单细胞测序技术解析消退肿瘤的免疫微环境特征。

（四）淋巴结转移的影像学特征与机制探讨

实验中所有动物均未观察到淋巴结转移(0/20),这与文献报道的皮下接种模型转移率(10–15%)存在差异^[16]。我们推测可能有以下原因:首先,乳腺实质接种可能减少肿瘤细胞进入淋巴循环的机会,因为乳腺实质层的淋巴管密度显著低于皮下组织^[17,18];其次,VX2细胞虽具有高侵袭性,但淋巴结转移潜能较低,可能需要联合基因修饰技术(如过表达CXCR4)增强其转移能力^[2]。

值得注意的是,肿瘤体积>2cm³组淋巴结血流信号更丰富(RI=0.65±0.05 vs 0.55±0.06),提示存在潜在转移风险。这一发现为后续研究提供了方向,我们计划延长观察期至12周,并结合分子超声造影技术提高微转移灶的检出率。

（五）研究局限性与未来方向

本研究存在一定局限性:样本量较小导致部分统计结果接近但未达显著性;未对肿瘤组织进行免疫组化检测;实验未观察到淋巴结转移。针对这些问题,我们计划开展以下工作:扩大样本量至50例,验证超声诊断效能的统计学意义,补充分子生物学检测,分析PD-L1表达与成模时间的关系。探索新型接种方式(如原位注射联合CXCR4过表达),建立淋巴结转移模型延长观察期至12周,结合病理切片评估迟发性转移。本研究建立的标准化模型为乳腺癌研究提供了新工具:超声监测的血流参数可作为抗血

管生成药物的疗效评估指标;自然消退现象为免疫治疗研究提供了独特模型;影像学评估流程可直接转化为临床前药物试验的影像学标准^[19,20]。在实际应用中,我们建议研究者注意以下几点:严格控制手术操作规范,确保瘤块植入深度>3mm;统一成模时间为6–8周,降低自然消退对实验结果的干扰;结合超声造影技术,提高微转移灶的检出率。

四、结论

本研究通过超声监测技术优化了VX2兔乳腺癌模型构建流程,证实操作熟练度、成模时间与模型稳定性密切相关。未来需结合分子生物学技术进一步阐明肿瘤–宿主相互作用机制,为乳腺癌转移研究提供更完善的工具。

参考文献

- [1]孙婧,杨瑞敏,王聪,等.基于术前超声、炎症指标及超声影像组学联合模型预测乳腺癌腋窝淋巴结转移[J].山东大学学报(医学版),2025,63(1):73–80.
- [2]Liu Y M, Ge J Y, Chen Y F, et al. Combined Single-Cell and Spatial Transcriptomics Reveal the Metabolic Evolution of Breast Cancer during Early Dissemination[J]. Adv Sci (Weinh), 2023,10(6):e2205395.
- [3]周钦,郭金铭,李星毅,等.乳腺癌淋巴结转移动物模型的建立及评价[J].陆军军医大学学报,2024,46(16):1849–1856.
- [4]于海明,杨俊兰,焦顺昌.乳腺癌肿瘤免疫微环境研究进展[J].解放军医学院学报,2013,34(06):664–666.
- [5]Sun R, Lei C, Xu Z, et al. Neutral ceramidase regulates breast cancer progression by metabolic programming of TREM2-associated macrophages[J]. Nat Commun, 2024,15(1):966.
- [6]Otterlei F M, Huse K, Rye I H. The Tumor Immune Microenvironment in Breast Cancer Progression[J]. Acta Oncol, 2024,63:359–367.
- [7]Huang R, Wang Z, Hong J, et al. Targeting cancer-associated adipocyte-derived CXCL8 inhibits triple-negative breast cancer progression and enhances the efficacy of anti-PD-1 immunotherapy[J]. Cell Death Dis, 2023,14(10):703.
- [8]Bernardo G, Le Noci V, Di Modica M, et al. The Emerging Role of the Microbiota in Breast Cancer Progression[J]. Cells, 2023,12(15).
- [9]杨丹萍,陈庆,赖云燕.超声剪切波弹性成像联合血管形成–血流指数鉴别诊断乳腺肿瘤良恶性的评估价值[J].影像研究与医学应用,2025,9(04):10–12.
- [10]Harris M A, Savas P, Virassamy B, et al. Towards targeting the breast cancer immune microenvironment[J]. Nat Rev Cancer, 2024,24(8):554–577.
- [11]彭秀丽.彩色多普勒超声对乳腺癌新辅助化疗后病理完全缓解的预测价值[J].影像研究与医学应用,2025,9(04):19–21.
- [12]李梦琴.妊娠期乳腺癌的超声诊断研究进展[J].影像研究与医学应用,2025,9(04):7–9.
- [13]索海霞.彩色多普勒超声鉴别诊断乳腺癌与非哺乳期乳腺炎性肿块的应用价值:临床医学健康与传播学术研讨会[C].中国重庆,2025.
- [14]徐静.超声血流定量参数诊断乳腺癌的价值及其与病理特征的关系研究[J].影像研究与医学应用,2025,9(03):29–31.
- [15]Jia G, He P, Dai T, et al. Spatial immune scoring system predicts hepatocellular carcinoma recurrence[J]. Nature, 2025.
- [16]孙丽华,崔海峰,彭博,等.4种方法制备小鼠乳腺癌移植瘤模型的比较研究[J].中国新药杂志,2020,29(4):449–455.
- [17]Xu C, Yang K, Xuan Z, et al. BCKDK regulates breast cancer cell adhesion and tumor metastasis by inhibiting TRIM21 ubiquitinate talin1[J]. Cell Death Dis, 2023,14(7):445.
- [18]唐超莉.CXCR4表达与三阴性乳腺癌的相关性研究[J].中国当代医药,2020,27(19):118–121.
- [19]王井,李敏,姜建军.联合应用彩色多普勒高频超声和超声弹性成像技术诊断乳腺癌的效果[J].影像研究与医学应用,2024,8(24):126–128.
- [20]肖爱美.彩色多普勒血流成像在乳腺结节病变中的诊断价值分析[J].影像研究与医学应用,2025,9(02):30–32.