

• 综述 •

## 兔 VX2 骨肿瘤模型研究进展

吕家兴, 白磊鹏 综述, 金宇<sup>△</sup> 审校

067000 河北 承德, 承德医学院附属医院 创伤骨科

[摘要] 兔 VX2 骨肿瘤模型是一种非骨源性的同种异体移植性骨肿瘤模型, 具有制备方法简单, 生物学性质稳定, 传代迅速并且容易复制等特点。该模型在对恶性骨肿瘤的诊断及治疗方法的研究中广泛应用。兔 VX2 骨肿瘤模型建立方法包括细胞悬液种植法和组织包块种植法, 种植点也多种多样, 研究人员可以根据其研究目的选用适当的方案。随着医学技术的快速发展, 兔 VX2 骨肿瘤模型的制作和应用日趋多样。本文对兔 VX2 骨肿瘤的来源、生物学特性、模型制作方法及研究应用等方面的研究进展进行综述。

[关键词] 兔; VX2; 骨肿瘤; 模型; 应用

[中图分类号] R738.1; R73-3 [文献标志码] A doi:10.3969/j.issn.1674-0904.2020.02.018

引文格式: Lv JX, Bai LP, Jin Y. Research progress of rabbit VX2 bone tumor model [J]. J Cancer Control Treat, 2020, 33(2): 184-189.

[吕家兴, 白磊鹏, 金宇. 兔 VX2 骨肿瘤模型研究进展[J]. 肿瘤预防与治疗, 2020, 33(2): 184-189.]

### Research Progress of Rabbit VX2 Bone Tumor Model

Lv Jiaying, Bai Leipeng, Jin Yu

Department of Traumatology and Orthopaedics, Affiliated Hospital of Chengde Medical University, Chengde 067000, Hebei, China

Corresponding author: Jin Yu, E-mail: 3194402786@qq.com

[Abstract] Rabbit VX2 bone tumor model is a non-osteogenic allogeneic bone tumor model with simple preparation, stable biological properties, rapid passage and easy replication. This model is widely used in the study of the diagnosis and treatment of malignant bone tumors. The establishment methods of rabbit VX2 bone tumor model include cell suspension culture and tissue mass culture. Culture points also diverse, and researchers can select appropriate schemes according to their research purposes. With the rapid development of medical technology, the production and application of rabbit VX2 bone tumor model are becoming more and more diverse. In this paper, the source, biological characteristics, modeling methods and application of rabbit VX2 bone tumor were reviewed.

[Key words] Rabbit; VX2; Bone tumor; Model; Application

恶性骨肿瘤的特点是起病隐匿, 恶性程度高, 早期诊断率低, 目前的治疗方式主要为手术及放化疗, 由于大多数患者就诊时肿瘤已发生远处转移, 远期生存率仍未有明显提高<sup>[1]</sup>。早期发现、正确诊断及治疗对恶性骨肿瘤的预后起关键作用。合适的动物肿瘤模型对于研究恶性骨肿瘤的生长、生物学特性及治疗效果有极为重要的价值。研究者们已将 VX2 肿瘤种植于兔骨骼中, 制作成兔 VX2 骨肿瘤模型, 发现该模型与人恶性骨肿瘤有相似的生物学特性, 目前应用于人恶性骨肿瘤的检测、治疗及预后等

领域的动物实验研究。本文通过对兔 VX2 骨肿瘤模型相关研究进展进行综述, 总结兔 VX2 骨肿瘤模型的来源、生长特性, 报道其制作方法及应用领域方面研究的新进展。

### 1 兔 VX2 骨肿瘤的来源及生长特性

#### 1.1 兔 VX2 骨肿瘤来源

VX2 肿瘤起源于 Shope 病毒诱发兔外阴乳头状瘤衍生的鳞状细胞癌, 经过 72 次移植传代后正式建立, 由 Rous 等<sup>[2]</sup>在第四次国际癌症会议上报道后得到承认, 并将其定义为一种可移植的恶性肿瘤<sup>[3]</sup>。VX2 肿瘤生物学性质稳定, 种植后增殖迅速, 短期内即可发生远处转移。VX2 肿瘤制备完成后, 可以

[收稿日期] 2019-07-16 [修回日期] 2019-12-23

[通讯作者] <sup>△</sup>金宇, E-mail: 3194402786@qq.com

接种到兔骨骼中,制作成兔 VX2 骨肿瘤动物模型(实质上该肿瘤模型是一种非骨源性的同种异体移植性模型),该模型传代简易、生物学性质稳定,肿瘤呈浸润性生长、血供丰富,通过进行性破坏骨髓结构,破坏骨皮质及出现骨膜新生骨,发生骨膜反应,类似于恶性骨肿瘤,与人类恶性骨肿瘤生物学行为相似,是临床研究恶性骨肿瘤的理想动物模型<sup>[4-6]</sup>。

## 1.2 兔 VX2 骨肿瘤生长特性

研究发现 VX2 肿瘤种植于兔骨骼成活后早期体积增长不明显,2 周后体积开始呈对数关系增长,接种 2 周后肿瘤局限于干骺端生长,出现骨皮质破坏及骨膜反应,易发生病理性骨折,3 周后软组织肿块出现并逐渐增大,肿瘤突出于皮下并粘连,固定不易推动,开始向骨髓腔扩散,干骺端骨皮质破坏加重,5 周时肿瘤常侵犯整个骨髓腔,中心出现明显的坏死,皮质不完整。在镜下可观察到肿瘤细胞呈实体巢状排列密布,胞浆丰富,体积大,核浆比例失调,染色质颗粒较粗,可见病理性核分裂像。在远处转移研究方面,种植 VX2 肿瘤于兔骨骼 3 周后肉眼可观察到肺部出现粟粒性结节,7~8 周可观察到心、肺、肝、肾等多个脏器转移,其中肺转移率为 100%,镜下可观察到转移区域存在大量炎性细胞浸润及纤维结缔组织增生,并且转移区域细胞形态结构与植入肿瘤病灶细胞形态结构完全一致<sup>[7-8]</sup>。因此在进行兔 VX2 骨肿瘤模型制作行相关实验研究时,不宜太晚,一般以种植后第 3~4 周为宜,以免影响实验数据。

## 2 兔 VX2 骨肿瘤模型的制作

### 2.1 种植点的选择

恶性骨肿瘤常发生于人体骨生长活跃处。兔胫骨上端或股骨下端骨皮质相对较厚、血供丰富,易于肿瘤生长,在此建模,与人恶性骨肿瘤好发位置相同,在模型制作成功后,可为模拟观察人恶性骨肿瘤的生物学特性提供理想的动物模型。

在兔 VX2 骨肿瘤模型制作过程中,主要选择股骨下端、胫骨上端或关节部位作为兔 VX2 肿瘤种植点。采用兔胫骨干上端内侧平面处为种植点,将 VX2 肿瘤组织块植入孔道中,此方法较简单易行,造模成功率高,对软组织的剥离较少,术后感染率低,但损坏了骨皮质和骨膜结构及形态,肿瘤可以沿着孔道处骨皮质向外生长,与人恶性骨肿瘤生长方式存在差异,并且孔道处骨膜的破坏不利于对该种植处生物学特性观察<sup>[9]</sup>;选择兔股骨下端作为种植

点,将 VX2 肿瘤植入骨骼形成移植性骨肿瘤,此种种植处肌肉组织丰富,种植点较深,接种难度增加,易发生周围软组织种植转移,并且靠近关节,影响模型兔关节活动,不利于模型兔生理活动的观察<sup>[10]</sup>;将种植点选择在兔胫骨关节面,使穿刺针与胫骨干平行穿入并将穿刺针头置于骨髓腔,之后将 VX2 肿瘤悬液植入骨髓腔中,此方法通过胫骨关节面将肿瘤悬液植入骨髓腔中,因肿瘤种植位置位于胫骨中上端,不易发生周围软组织转移,并且对骨膜的损伤较小,但这种方法操作难度高,如果不与胫骨干垂直穿刺则无法完全穿入骨髓腔,易穿至骨皮质内及穿透周围软组织,而且损伤了关节软骨,对关节结构也造成了一定损坏<sup>[11]</sup>;于兔胫骨上端近平台下 2cm 处纵行切开约 2cm 切口,钻孔至骨髓腔,将 VX2 肿瘤组织块植入骨髓腔,这种方法对正常关节结构未造成破坏,操作简单,但切口较大,对软组织剥离较多,易造成种植点处周围浸润转移并且增加了术后感染率<sup>[12]</sup>。

对比 4 种不同种植点,将胫骨关节面作为种植点,与另外 3 种相比,其对软组织及骨组织的破坏和骨膜的机械性损伤最小,种植深度较深,不易发生局部转移,更有利于兔 VX2 骨肿瘤模型生物学行为的观察,操作难度虽高,但可通过多次操作后熟练掌握。4 种不同种植位置的选择虽与人原发性恶性骨肿瘤常见发生位置相同,但对骨与软组织造成了不同程度创伤,与人原发性恶性骨肿瘤发生机制不相符,在某种程度上不利于恶性骨肿瘤生物学行为观察<sup>[13]</sup>。因此在选择肿瘤种植点时,需减少对周围软组织的剥离及骨组织的破坏,减小植入孔直径,必要时可在影像学指导下进行操作,尽量制备成与人原发性恶性骨肿瘤相似的动物模型<sup>[14-15]</sup>。

### 2.2 种植方法的选择

目前关于兔 VX2 骨肿瘤的种植主要采取两种方法:肿瘤细胞悬液种植法、肿瘤组织包块种植法。1) 肿瘤细胞悬液种植法:将制备完成的 VX2 肿瘤细胞悬液用针吸管自钻孔处直接注入髓腔,并用骨蜡封堵钻孔,避免细胞悬液外渗造成周围软组织浸润转移,建造兔 VX2 骨肿瘤模型。悬液种植法依照来源不同分为两种情况。一种为通过从冻存的肿瘤片段体外原代培养 VX2 肿瘤细胞种植于兔骨骼,经研究发现 VX2 肿瘤片段经多次传代后可成功建立致瘤性 VX2 细胞系,并且体外生长的 VX2 细胞能够维持其成瘤性<sup>[16-17]</sup>。但体外培养细胞的周期长,耗费人力物力,随着细胞传代次数的增加,肿瘤的侵袭

性降低,致使造模成功率降低。另外一种也是目前采用较多的悬液制备方法为:将 VX2 荷瘤兔的肿瘤组织去除中心坏死组织及纤维结缔组织后剪成  $1\text{mm}^3$  体积大小的碎块,加用溶液搅匀后离心,进行细胞计数,制备成肿瘤细胞悬液<sup>[18]</sup>;2)肿瘤组织包块种植法:将 VX2 瘤株置入兔大腿外侧肌中,待肿瘤体积增大到一定范围后(一般 2~3 周即可)处死荷瘤兔,将肿瘤从大腿中剥离,选取出肿瘤边缘生长旺盛组织,在生理盐水中浸泡,制备成  $1\text{mm}^3$  大小的组织块,将 VX2 肿瘤组织包块置入骨髓腔中,最后用骨蜡封堵穿刺孔,提高成瘤率,建造兔 VX2 骨肿瘤模型<sup>[19]</sup>。

两种不同的种植方法均可制备兔 VX2 骨肿瘤模型,成瘤率均较高,但两种种植方法的生物学行为差别较大。在肿瘤悬液种植法及肿瘤组织包块种植法的对照研究中,发现细胞悬液组在种植后因骨髓腔压力与外界不同,肿瘤细胞经种植处外渗率高,易向周围组织扩散,并且对骨皮质破坏较轻,而肿瘤组织包块组制作模型,肿瘤体积容易控制,对骨皮质呈进行性破坏,外渗率较低,种植时不易发生异位种植,而且在相同情况下,肿瘤组织包块组更容易成功制备生长形态规则的模型,并能准确反映兔 VX2 骨肿瘤的病理学改变<sup>[20]</sup>。

对比 VX2 肿瘤两种种植方法,种植肿瘤组织包块时需较大直径的种植孔,对种植孔周围组织造成较大的损伤,但肿瘤组织包块制备方法简单,种植深度较容易控制,植入后生长迅速,模型制作时间短,成瘤率高,对骨皮质破坏明显,能更好地模拟人恶性骨肿瘤<sup>[21]</sup>。

### 3 兔 VX2 骨肿瘤模型的研究应用

兔 VX2 骨肿瘤模型目前主要应用在对恶性骨肿瘤的影像学检查、外周血检测及治疗等研究领域。

#### 3.1 在影像学中的应用

影像学检查即从计算机断层扫描(computed tomography, CT)、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)和超声等影像中提取并分析高通量的特征,判断肿瘤的生长情况及浸润深度,可为肿瘤精准切除提供依据<sup>[22]</sup>。兔 VX2 骨肿瘤模型作为一种类似于人恶性骨肿瘤的动物模型,可以根据不同的实验目的及研究方法,选用一种或多种影像学技术观察其影像学特点;可以连续动态地观察兔 VX2 骨肿瘤模型,为恶性骨肿瘤影像学的实验研究打下基础。

由于不同物质产生不同的 X 射线,双能计算机断层扫描(dual-energy CT, DECT)可以通过不同物质的成像差异,制成特定的光谱曲线<sup>[23]</sup>。运用 DECT 选择多平面重建图像对兔 VX2 骨肿瘤模型进行点对点比较,构建 DECT 光谱曲线,并计算曲线斜率,证实 DECT 光谱曲线能区分兔 VX2 骨肿瘤过渡区的微浸润与单纯的骨髓水肿;并且通过注射碘和水比较软组织水肿区、正常肌肉区及软组织浸润区的光谱曲线斜率,证实 DECT 可以把兔 VX2 骨肿瘤模型的软组织侵犯、软组织水肿和正常肌肉区别开来<sup>[24-25]</sup>。

恶性骨肿瘤的真正边界是肿瘤的微侵袭部分,功能磁共振成像可有效评价肌肉和骨骼的功能状态,可准确判断恶性骨肿瘤病变范围<sup>[26]</sup>。运用磁共振弥散加权成像(diffusion weighted imaging, DWI)对兔 VX2 骨肿瘤模型进行扫描生成表观弥散系数(apparent diffusion coefficient, ADC)图,通过肿瘤、微浸润区、炎症水肿组织及正常组织 ADC 值的差异勾勒肿瘤边界,得到兔 VX2 骨肿瘤较精确范围,并与兔 VX2 骨肿瘤标本进行比较,发现在 ADC 图上得到的 ADC 值可以准确判断兔 VX2 骨肿瘤的大小及范围<sup>[19]</sup>。运用 Reference-Region 模型和 Tofts 模型的动态对比增强磁共振成像(dynamic contrast enhanced MRI, DCE-MRI)定量参数评价兔 VX2 骨肿瘤微循环灌注和渗透性特征,两种模型均可有效评价兔 VX2 骨肿瘤的微循环灌注和渗透性特征,但在低时间分辨率的情况下,Reference-Region 模型的重复性更佳<sup>[27]</sup>。

彩色多普勒血流显像(color doppler flow imaging, CDFI)通过改变信噪比,可显示病变的位置、形态、界限、声学特性以及病变与周围组织的关系,检测血管变化,更好地显示病变特点<sup>[28]</sup>。Wu 等<sup>[29]</sup>研究兔 VX2 骨肿瘤的超声血流成像中发现,CDFI 不仅能显示兔 VX2 骨肿瘤内部及边缘有多处血流信号,还可显示骨膜增生,骨膜隆起和增厚。并且通过超声随访,发现还可以根据治疗过程中 CDFI 所观察到的血液供应的变化来评估是否需要兔 VX2 骨肿瘤进行灭活。

兔 VX2 骨肿瘤模型已在多种影像学检查中广泛应用,通过对兔 VX2 骨肿瘤进行连续动态影像学监测,可观察到兔 VX2 骨肿瘤的生长、发展及侵犯情况,使我们对恶性骨肿瘤的生物学特性有更深刻的认识。随着影像学技术的发展及对兔 VX2 骨肿瘤模型价值的进一步挖掘,影像学检查在恶性骨肿

瘤临床诊断及治疗中的应用价值会进一步提高。

### 3.2 在外周血检测及治疗中的应用

恶性骨肿瘤作为一种人骨骼系统的肿瘤,具有极强的增殖和转移能力,运用兔 VX2 骨肿瘤模型模拟人恶性骨肿瘤,对该模型进行外周血检测,有助于人们进一步了解恶性骨肿瘤增殖及转移的特征,更好地指导临床治疗,而且可以将新的治疗方式应用于该模型中,证实治疗方式的可行性,逐步地应用于临床之中。

通过外周血检测,观察恶性骨肿瘤相关基因的变化,选择合适的治疗靶点,关系到恶性骨肿瘤的治疗效果。Qian 等<sup>[30]</sup>在建立兔 VX2 骨肿瘤模型后,运用 RT-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction) 技术检测了凋亡基因 *mdm2*、*Bcl2*、*P15* 和 *NF- $\kappa$ B* 在肿瘤周围组织中的表达,免疫组织化学染色观察兔肺、肾及膀胱等器官变化,发现 *mdm2*、*Bcl2*、*P15* 和 *NF- $\kappa$ B* 参与了兔 VX2 骨肿瘤的增殖或转移。其中 *P15* 基因只与兔 VX2 骨肿瘤增殖有关,而与转移并无直接关系。*mdm2*、*Bcl2* 和 *NF- $\kappa$ B* 与肺转移有关,*Bcl2* 与肾转移有关,*mdm2* 和 *Bcl2* 与膀胱转移有关。VX2 肿瘤是由 Shope 病毒诱发兔外阴乳头状瘤衍生的鳞状细胞癌,循环血肿瘤 DNA (circulating tumor DNA, ctDNA) 是来自于血液中游离的肿瘤 DNA,运用实时定量 PCR 技术检测兔 VX2 肿瘤放疗前后外周血循环 Shope 病毒特征性 DNA 片段含量变化,发现血浆中 ctDNA 含量较放疗前明显降低,说明 ctDNA 变化可以监测兔 VX2 肿瘤放疗的疗效,有望成为兔 VX2 肿瘤特征性肿瘤标记物<sup>[31]</sup>。

微创热消融是当前治疗恶性骨肿瘤的一种方式,已被证明在一些恶性骨肿瘤患者的治疗中是安全和有效的<sup>[32]</sup>。Yu 等<sup>[33]</sup>采用了一种新颖的微创治疗方法,以分布在聚甲基丙烯酸甲酯 (polymethylmethacrylate, PMMA) 骨水泥中的 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米粒子为基体,制作了一种具有磁性热功能的材料,在交变磁场 (alternating magnetic field, AMF) 作用下,将其植入兔 VX2 骨肿瘤处,术后经过 CT 及病理检测,认为 PMMA-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 不仅能使兔 VX2 骨肿瘤消退,而且可以达到机械支撑作用。 $\mu$ -氧代-N,N-双(水杨醛基)乙二胺铁 [Fe(Salen)] 是一种具有固有磁性的抗肿瘤有机化合物,其抗肿瘤作用与顺铂相似,具有极强的细胞毒性,在兔的舌癌和人胶质母细胞瘤中已验证该化合物的抗肿瘤作用<sup>[34-35]</sup>,而在兔 VX2 骨肿瘤中,通过动脉造影使导管到达肿瘤部位,在 AMF 作用下注射 Fe(Salen) 至肿瘤血管内,术后 2 周经影像

学及病理检测证明该化合物对抑制兔 VX2 骨肿瘤增殖有明显效果<sup>[36]</sup>。

在对兔 VX2 骨肿瘤模型进行外周血检测及治疗的实验中,发现一些基因与兔 VX2 骨肿瘤的增殖及转移有关,微创热消融治疗兔 VX2 骨肿瘤又可明显抑制肿瘤增殖,杀灭肿瘤细胞,促进肿瘤消退,证实了靶向治疗及微创热消融治疗在恶性骨肿瘤的治疗中具有可行性<sup>[37-38]</sup>。目前对恶性骨肿瘤的治疗方式仍以手术切除与放疗相结合为主,生存率仍然较低<sup>[39-40]</sup>,运用兔 VX2 骨肿瘤模型进行关于恶性骨肿瘤治疗的相关探索,将有利于推动临床上恶性骨肿瘤治疗方式的更新。

## 4 总 结

兔 VX2 骨肿瘤模型与人原发性恶性骨肿瘤的生物学特性及治疗敏感性存在一定差异,但并不是本质的差别<sup>[41]</sup>。兔 VX2 骨肿瘤模型作为非骨源性的同种异体移植性骨肿瘤模型,其生长形式、浸润程度、转移机制及病理演变过程都与人恶性骨肿瘤近似,而且其生物学性质稳定,传代简易,成模率高且成型周期短,是研究恶性骨肿瘤的理想动物模型。

目前国内外对于兔 VX2 骨肿瘤模型制作方法多种多样,可通过选择不同种植点及种植方法模拟人恶性骨肿瘤,但如何解决肿瘤种植处的完全封堵,避免影响实验数据,相关报道较少;该模型虽在外周血检测及治疗中得到应用,但关于肿瘤靶向治疗及免疫治疗的研究较少,仍需进一步挖掘兔 VX2 骨肿瘤模型的实验价值。

**作者声明:**本文全部作者对于研究和撰写的论文出现的不端行为承担相应责任;并承诺论文中涉及的原始图片、数据资料等已按照有关规定保存,可接受核查。

**学术不端:**本文在初审、返修及出版前均通过中国知网(CNKI)科技期刊学术不端文献检测系统的学术不端检测。

**同行评议:**经同行专家双盲外审,达到刊发要求。

**利益冲突:**所有作者均声明不存在利益冲突。

**文章版权:**本文出版前已与全体作者签署了论文授权书等协议。

### [参考文献]

[1] Li W, Zhang S. Survival of patients with primary osteosarcoma and

- lung metastases[J]. J BUON, 2018,23(5):1500-1504.
- [2] Rous P, Kidd JG, Smith WE. Experiments on the cause of the rabbit carcinomas derived from virus-induced papillomas. II. Loss by the Vx2 carcinoma of the power to immunize hosts against the papilloma virus[J]. J Exp Med, 1952,96(2):159-174.
- [3] Shope RE, Hurst EW. Infectious papillomatosis of rabbits: With a note on the histopathology[J]. J Exp Med, 1933,58(5):607-624.
- [4] Melancon MP, Appleton Figueira T, Fuentes DT, et al. Development of an electroporation and nanoparticle-based therapeutic platform for bone metastases[J]. Radiology, 2018,286(1):149-157.
- [5] Wang CW, Zhou Y, Bai JP, et al. Application of volumetric modulated arc therapy and simultaneous integrated boost techniques to prepare "safe margin" in the rabbit VX2 limb tumor model[J]. Med Sci Monit, 2015,21:2397-2405.
- [6] Pezeshki PS, Akens MK, Gofeld M, et al. Bone targeted bipolar cooled radiofrequency ablation in a VX-2 rabbit femoral carcinoma model[J]. Clin Exp Metastasis, 2015,32(3):279-288.
- [7] Ibrahim M, Terai H, Yamada K, et al. The role of internal fixation for long bone metastasis prior to impending fracture: An experimental model[J]. J Orthop Sci, 2013,18(4):659-666.
- [8] 米金霞, 方肇勤. 兔 VX2 肿瘤模型的研究进展[J]. 实验动物与比较医学, 2019,39(2):163-168.
- [9] Choi JA, Kang EY, Kim HK, et al. Evolution of VX2 carcinoma in rabbit tibia: magnetic resonance imaging with pathologic correlation[J]. Clin Imaging, 2008,32(2):128-135.
- [10] Proschek D, Tonak M, Kafchitsas K, et al. Direct implantation of VX-2 carcinoma: A new rabbit bone model using a three-dimensional matrix as a carrier for the tumor cells[J]. Eur Surg Res, 2011,47(3):154-158.
- [11] Cao H, Jin Y, Zhao J, et al. An improved biopsy technique for rabbits with VX2 bone tumors[J]. Oncol Lett, 2018,16(2):2299-2304.
- [12] 李晓莉, 董诚, 李玉军, 等. 兔 VX2 恶性骨肿瘤骨髓内浸润范围 MRI 与病理对照研究[J]. 中华解剖与临床杂志, 2016,21(5):474-479.
- [13] Zhang Y, Rosenberg AE. Bone-forming tumors[J]. Surg Pathol Clin, 2017,10(3):513-535.
- [14] Yi HM, Cai BH, Ai X, et al. Establishment of rabbit liver VX2 tumor model using percutaneous puncture inoculation of tumor fragment guided and evaluated by ultrasonography[J]. Curr Med Sci, 2019,39(5):820-824.
- [15] Wang L, Che K, Liu Z, et al. Establishment and evaluation of the VX2 orthotopic lung cancer rabbit model: A ultra-minimal invasive percutaneous puncture inoculation method[J]. Korean J Physiol Pharmacol, 2018,22(3):291-300.
- [16] Handal JA, Schulz JF, Florez GB, et al. Creation of rabbit bone and soft tissue tumor using cultured VX2 cells[J]. J Surg Res, 2013,179(1):e127-e132.
- [17] Zhang J, Sun D, Fu Q, et al. Bone mesenchymal stem cells differentiate into myofibroblasts in the tumor microenvironment[J]. Oncol Lett, 2016,12(1):644-650.
- [18] Tsuda N, Tsuji T, Kato N, et al. Potential of superparamagnetic iron oxide in the differential diagnosis of metastasis and inflammation in bone marrow: Experimental study[J]. Invest Radiol, 2005,40(10):676-681.
- [19] Chen H, Wu Z, Xu W, et al. Evaluating the scope of malignant bone tumor using ADC measurement on ADC map[J]. Technol Cancer Res Treat, 2018,18:1533033819853267.
- [20] 赵景新, 曹海营, 马雅昌, 等. 细胞悬液法和组织块植入法制作兔 VX2 骨肿瘤模型研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2018,25(7):481-484.
- [21] 庞婧, 郝大鹏, 徐文坚, 等. 骨肿瘤髓外浸润实验模型的建立及影像学及病理学评价[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2013,7(8):3460-3466.
- [22] 闫梦梦. 影像组学技术及其在肿瘤精准放疗中的应用[J]. 肿瘤预防与治疗, 2018,31(5):364-368.
- [23] Je E, Lee HH, Duan X, et al. Optimal energy selection for proton stopping-power-ratio estimation using dual-energy CT-based monoenergetic imaging[J]. Phys Med Biol, 2019,64(19):195015.
- [24] Chen H, Jia M, Xu W. Malignant bone tumor intramedullary invasion: evaluation with dual-energy computed tomography in a rabbit model[J]. J Comput Assist Tomogr, 2015,39(1):70-74.
- [25] Chen H, Zhang Y, Pang J, et al. The differentiation of soft tissue infiltration and surrounding edema in an animal model of malignant bone tumor: Evaluation by Dual-Energy CT[J]. Technol Cancer Res Treat, 2019,18:1533033819846842.
- [26] Subhawong TK, Jacobs MA, Fayad LM. Diffusion-weighted MR imaging for characterizing musculoskeletal lesions[J]. Radiographics, 2014,34(5):1163-1177.
- [27] 龚威, 查云飞, 王莉, 等. 兔 VX2 骨肿瘤 DCE-MRI 的区域参考模型和 Tofts 模型重复性和有效性比较[J]. 武汉大学学报(医学版), 2019,40(4):563-568.
- [28] Madej T, Flak-Nurzyńska J, Dutkiewicz E, et al. Ultrasound image of malignant bone tumors in children. An analysis of nine patients diagnosed in 2011-2016[J]. J Ultrason, 2018,18(73):103-111.
- [29] Wu R, Hu B, Kuang SL, et al. A rabbit bone tumor model for high-intensity focused ultrasound therapy[J]. Minim Invasive Ther Allied Technol, 2011,20(4):206-211.
- [30] Qian G, Hao S, Yang D, et al. P15, MDM2, NF-kappaB, and Bcl-2 expression in primary bone tumor and correlation with tumor formation and metastasis[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015,8(11):14885-14892.
- [31] 车莉萍, 夏士安, 孙高峰, 等. 循环血肿瘤 DNA 含量变化对评价兔 VX2 肿瘤放疗早期反应的动物实验研究[J]. 标记免疫分析与临床, 2018,25(10):1512-1516, 1524.
- [32] Tomasian A, Jennings JW. Percutaneous minimally invasive thermal ablation for management of osseous metastases: Recent advances[J]. Int J Hyperthermia, 2019,36(2):3-12.
- [33] Yu K, Liang B, Zheng Y, et al. PMMA-Fe3O4 for internal mechanical support and magnetic thermal ablation of bone tumors[J]. Theranostics, 2019,9(14):4192-4207.
- [34] Sato I, Umemura M, Mitsudo K, et al. Simultaneous hyperthermia-chemotherapy with controlled drug delivery using single-drug

- nanoparticles[J]. Sci Rep, 2016,6 :24629.
- [35] Ohtake M, Umemura M, Sato I, et al. Hyperthermia and chemotherapy using Fe(Salen) nanoparticles might impact glioblastoma treatment[J]. Sci Rep, 2017,7 :42783.
- [36] Umemura M, Islam MR, Fukumura H, et al. Simultaneous hyperthermia-chemotherapy effect by arterial injection of Fe(Salen) for femur tumor[J]. Cancer Sci, 2019,110(1) :356-365.
- [37] Nakano K, Takahashi S. Current molecular targeted therapies for bone and soft tissue sarcomas[J]. Int J Mol Sci, 2018,19(3) :739.
- [38] Moynagh MR, Kurup AN, Callstrom MR. Thermal ablation of bone metastases[J]. Semin Intervent Radiol, 2018,35(4) :299-308.
- [39] Friebele JC, Peck J, Pan X, et al. Osteosarcoma : A meta-analysis and review of the literature [J]. Am J Orthop ( Belle Mead NJ), 2015,44(12) :547-553.
- [40] Faisham WI, Mat SA, Alsaigh LN, et al. Prognostic factors and survival rate of osteosarcoma : A single-institution study[J]. Asia Pac J Clin Oncol, 2017,13(2) :e104-e110.
- [41] Proschek D, Tonak M, Kafchitsas K, et al. Direct implantation of VX-2 carcinoma : A new rabbit bone model using a three-dimensional matrix as a carrier for the tumor cells[J]. Eur Surg Res, 2011,47(3) :154-158.

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 本刊对统计学处理的有关要求

1. 科研设计:应交代科研方法的名称和主要做法。如调查设计(分为前瞻性、回顾性或横断面调查研究);实验设计(应交代具体的设计类型,如自身配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等);临床试验设计(应交代属于第几期临床试验,采用了何种盲法措施等)。主要做法应围绕4个基本原则(随机、对照、重复、均衡)概要说明,尤其要交代如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

2. 资料的表达与描述:用  $\bar{x} \pm s$  表达近似服从正态分布的定量资料,用  $M(P_{25} \sim P_{75})$  表达呈偏态分布的定量资料;用统计表时,要合理安排纵横表目(三线表),并将数据的含义表达清楚;用统计图时,所用统计图的类型应与资料性质相匹配,并使数轴上刻度值的标法符合数学原则;用相对数时,分母不宜小于20,要注意区分百分率与百分比。

3. 统计分析方法的选择:对于定量资料,应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的,选用合适的统计分析方法,不应盲目套用  $t$  检验和单因素方差分析;对于定性资料,应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件以及分析目的,选用合适的统计分析方法,不应盲目套用  $\chi^2$  检验。对于回归分析,应结合专业知识和散点图,选用合适的回归类型,不应盲目套用简单线性回归分析,对具有重复实验数据的回归分析资料,不应简单化处理;对于多因素、多指标资料,要在一元分析的基础上,尽可能运用多元统计分析方法,以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系进行全面、合理的解释和评价。

4. 统计结果的解释和表达:当  $P < 0.05$  (或  $P < 0.01$ ) 时,应说明对比组之间的差异有统计学意义,而不应说对比组之间具有显著性(或非显著性)的差别;应写明所用统计分析方法的具体名称(如:成组设计资料的  $t$  检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的  $q$  检验等),应尽可能给出统计量的具体值(如  $t = 3.454$ ,  $\chi^2 = 4.682$ ,  $F = 6.791$  等)和具体的  $P$  值(如  $P = 0.023$ );当涉及到总体参数(如总体均数、总体率等)时,在给出显著性检验结果的同时,再给出95%置信区间。

本刊编辑部