

· 论 著 ·

人肾上腺皮质腺癌细胞株裸鼠移植瘤模型的建立及其意义^{*}蒋 莉¹, 罗佐杰^{1△}, 邝晓聪², 梁杏欢¹, 秦映芬¹, 卢德成³

(广西医科大学: 1. 第一附属医院内分泌科; 2. 病理生理学教研室;

3. 第一附属医院老年内分泌科, 南宁 530000)

摘要:目的 建立人肾上腺皮质腺癌移植瘤动物模型, 为研究肾上腺皮质腺癌提供实验平台。方法 选取 4~6 周龄裸鼠 5 只, 将体外培养的人肾上腺皮质腺癌细胞株(SW-13)注射至其双侧腋窝皮下, 建立人肾上腺皮质腺癌移植瘤模型。结果 6 周后 5 只裸鼠双侧腋窝皮下均长出肿瘤, 肿瘤包膜完整, HE 染色可见大量肿瘤细胞。结论 成功建立人肾上腺皮质腺癌移植瘤动物模型, 可以为肾上腺皮质腺癌的研究提供有效的动物模型平台。

关键词:肾上腺皮质腺癌; 人肾上腺皮质腺癌细胞株; 移植瘤; 动物模型

中图分类号: R586.9

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)11-1334-02

Establishment of adrenocortical cancer SW-13 transplanted tumor model in nude mice^{*}JIANG Li¹, LUO Zuo-jie^{1△}, KUANG Xiao-cong², et al.

(1. Department of Endocrinology, First Affiliated Hospital; 2. Department of Pathophysiology;

3. Department of Endocrinology for the Old; Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530000, China)

Abstract: Objective To establish an animal model by subcutaneous injection of human adrenocortical cancer cell line SW-13 for cancer research. **Methods** 1×10^6 /mL SW-13 cells were subcutaneously injected into armpit of 5 BALB/c nude mice. **Results** After 6 weeks the tumor formed, the rate of tumorigenesis was 100%. HE stain showed that a large number of cancer cells was in the tumors. **Conclusion** By subcutaneously injection into armpit of BALB/c nude mice with SW-13 cells can successfully establish the animal model of adrenal cancer, and it can be as a useful research tool for adrenocortical carcinoma.

Key words: adrenocortical cancer; SW-13; subcutaneous transplanted tumor; animal model

肾上腺皮质腺癌(adrenocortical carcinoma, ACC)是发病率较低的癌症之一, 发病率不到百万分之一^[1]。因此, 病例数量少, 标本获取困难, 成为 ACC 研究的难题。在研究癌症的各种实验中, 动物模型成为有效的实验工具。目前, 国内外已有众多学者建立了大量癌症的动物模型, 但对于 ACC 来说, 动物模型的建立比较少见。本实验采用注射人肾上腺皮质腺癌细胞株(SW-13)至裸鼠腋窝皮下的方法建立人 ACC 动物模型, 旨在为 ACC 的研究提供有效的实验工具。

1 材料与方法

1.1 实验动物 雄性 BALB/c 裸鼠 5 只, 鼠龄 4~6 周, 体重 18~20 g, 购于上海斯莱克公司。在无特异性病原体(SPF)、恒温(22~26℃)、恒湿(50%~60%)的空气洁净的饲养架内饲养。笼具、垫料、饲料均经高压蒸汽灭菌, 饮水为高压灭菌的纯净水。

1.2 细胞株 SW-13 购于中科院上海细胞库, 在 5% CO₂、37℃培养箱中常规进行细胞培养, 培养方式为置于含 10% 胎牛血清的 F12/DMEM 培养液中, 以 0.25% 胰蛋白酶和 0.53 mmol/L EDTA 混合液消化传代。

1.3 方法

1.3.1 ACC 皮下模型的建立 参照王亚林等^[2]的建立方法, 取对数生长期 SW-13 细胞, 用 D-Hanks 液去除培养瓶中残余培养基, 以 0.25% 胰蛋白酶消化, 镜下观察当细胞变圆、细胞与培养瓶底脱落时, 用含 10% 胎牛血清的 F12/DMEM 培养基

终止消化。800 r/min 离心 5 min, 弃上清液, 用含 10% 胎牛血清的 F12/DMEM 培养基重悬, 调整密度至 1×10^7 /mL, 用 0.5 mL 注射器注射至裸鼠两侧腋窝皮下, 每侧注射量为 0.2 mL。

1.3.2 成瘤观察及取材 接种 SW-13 细胞后, 每天观察裸鼠进食和精神状态。观察肿瘤形成、生长情况并记录肿瘤直径大小。9 周后, 将裸鼠用乙醚麻醉后处死, 将肿瘤取材, 以电子天平称重并取部分肿瘤组织, 置 10% 甲醛固定液中固定, 石蜡包埋, 做常规病理切片, 行 HE 染色。然后分别将心、肝、脾、肺、肾及股骨取材, 置 10% 甲醛固定液体中固定。

2 结果

2.1 成瘤率及肿瘤生长情况 6 周后 5 只裸鼠均在腋窝皮下肉眼可见肿瘤, 成瘤率为 100%。肿瘤直径随时间推移逐渐增大。第 8~9 周, 瘤块直径可达 2~3 cm, 肿瘤质硬, 活动度较差(图 1)。

2.2 肿瘤及各脏器肉眼所见 肉眼见肿瘤位于皮下, 表面凹凸不平, 呈结节状, 实质性。肿瘤表面有出血灶。肿瘤边界清楚, 与周围组织易剥离, 但底部与腋窝软组织联系较紧密, 较难剥离。外观呈粉红色, 剖面成鱼肉状, 中间部分大量坏死, 呈灰白色(图 2)。各脏器肉眼观察均未发现转移灶。

2.3 病理学检查 HE 染色后光镜下(×400)观察, 肿瘤由大量癌细胞组成, 癌细胞排列紧密, 不规则, 间质少。癌细胞呈大小不均的圆形, 异形性明显, 核呈圆形、椭圆形, 大小不等, 核分裂相多见。可见病理核分裂相, 染色质较粗, 深染, 核仁多见

^{*} 基金项目: 留学回国人员科学基金资助项目(桂科回 0731019); 广西研究生教育创新年科研项目(2008105981002M224); 中华医学会内分泌学会边远地区基金资助项目(CSE2009009)。△ 通讯作者, 电话: 0771-5356517; E-mail: zuo888@yahoo.com.cn。

(图 3)。



图 1 裸鼠双侧腋窝皮下 SW-13 移植瘤(箭头所示)

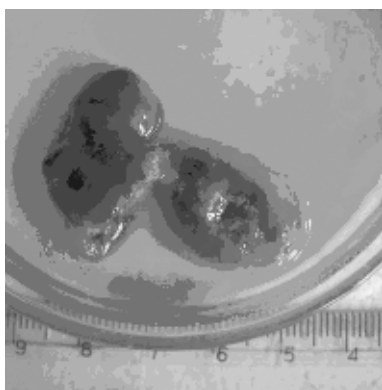


图 2 皮下移植瘤肉眼所见

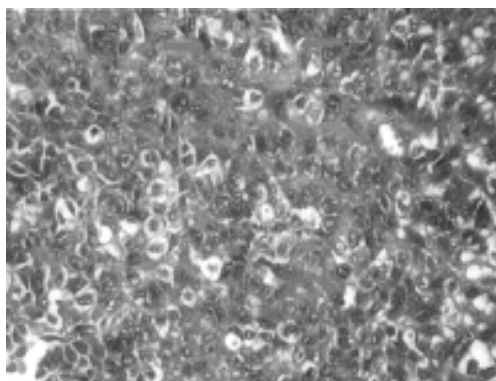


图 3 皮下移植瘤 HE 染色结果($\times 400$)

3 讨 论

难以获取临床标本给 ACC 的研究带来了一定的困难,但是借助动物模型可以有效解决部分难题。对于理想的 ACC 动物模型,是能够在宿主体内模拟人 ACC 的发生、发展等各种生物学特性,并且重复性好,具备标准化。因此,原位移植成为备受推崇的动物模型建立方法^[3]。但是 ACC 很难实现的原因:

(1)肾上腺是重要的内分泌器官,微小的影响即可对整个机体造成严重的影响;(2)裸鼠的肾上腺体积过小,模型建立很难实现。这两者决定了将癌细胞注射至肾上腺构建移植瘤动物模型的方法不可行。因此,只有采用其他的方法,使构建的动物模型尽可能接近理想模型。与其他的移植瘤模型相比,皮下移植瘤模型接种更为方便,容易在实验过程中观察肿瘤生长情况^[4]。因此,选择皮下移植不失为一种可行的办法。

本实验采用 SW-13 细胞株,此细胞系由 Leibovitz 等^[5]建立,是一株非常稳定的细胞系。将此细胞系注射于裸鼠双侧腋窝皮下后,肿瘤形成时间较一致,经过 6 周左右的潜伏期成瘤,成瘤率达 100%,提示 SW-13 细胞侵袭能力相当高。因此,此方法可以为 ACC 的研究提供有效的实验工具^[6-7]。然而,在临床上 ACC 常见的转移部位是腹膜、肺、肝、骨,但是,本次建模后均未在各脏器发现转移灶,提示裸鼠皮下注射的方法较难建立转移模型,而在国内外文献中均未见到建立 ACC 转移模型的相关报道。ACC 转移模型的建立仍然是一个难题,尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] Kebebew E, Reiff E, Duh QY, et al. Extent of disease at presentation and outcome for adrenocortical carcinoma: have we made progress? [J]. World J Surg, 2006, 30(5): 872.
- [2] 王亚林, 靳风烁, 李彦锋, 等. Apoptin 对人膀胱癌裸鼠皮下移植瘤的抑瘤作用研究[J]. 重庆医学, 2008, 37(9): 940.
- [3] 周琪, 梁后杰, 阎晓初, 等. 人结肠癌裸鼠原位移植瘤模型的建立[J]. 重庆医学, 2007, 36(19): 1929.
- [4] 盛书娟, 花亚伟, 张占东, 等. 人胃肠间质瘤裸鼠移植瘤模型的建立[J]. 医药论坛杂志, 2009, 30(10): 16.
- [5] Leibovitz A, Mc Combs WM, Johnston D, et al. New human cancer cell culture lines SW-13, small-cell carcinoma of the adrenal cortex[J]. J Natl Cancer Inst, 1973, 51(2): 691.
- [6] Tritos NA, Cushing GW, Heatley G, et al. Clinical features and prognostic factors associated with adrenocortical carcinoma: Lahey clinic medical center experience[J]. Am Surg, 2000, 66(1): 73.
- [7] Xiao XR, Ye LY, Shi LX, et al. Diagnosis and treatment of adrenal tumours: a review of 35 years' experience[J]. Br J Urol, 1998, 82(2): 199.

(收稿日期: 2009-11-10 修回日期: 2010-01-14)

《重庆医学》——中国科技论文核心期刊, 欢迎投稿, 欢迎订阅!