·论 著·

BGC-823 胃癌细胞株裸小鼠成瘤模型的建立

文 灿[1],熊加祥[2],侯晓宇[1] (第三军医大学:1. 基础部外科应用解剖与手术学教研室,重庆 400038;2. 基础部生理学教研室,重庆 400038)

[摘 要] **目的** 建立 BGC-823 胃癌细胞株的裸鼠成瘤模型,为胃癌研究提供参考载体。**方法** 体外培养 BGC-823 细胞,常规传代,收集并用生理盐水冲洗细胞,并用生理盐水制成细胞密度为 22×10^{10}/mL 的单细胞悬液,取 0.1 mL 注入裸鼠颈部与前肢交界处皮下。观察并测量裸鼠成瘤情况,切片光镜观察瘤体组织结构。**结果** 裸鼠注射后未发生明显的炎症反应,1 周时虽肉眼观察不到瘤体,但能触及实体豆状颗粒;2 周时即能观察到瘤体形成,触诊能扪及实体包块;4 周时瘤体明显,呈分页状,直径可达 0.9 cm;8 周时瘤体巨大,凹凸不平,直径可达 3.0 cm 以上。光镜下可见瘤体组织癌细胞核大,多呈椭圆形或不规则形,排列杂乱。**结论** 经皮下注射 BGC-823 细胞能有效建立裸鼠胃癌成瘤模型。

[关键词] 胃癌;细胞株;肿瘤生成;裸鼠

[中图分类号] R735.2 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2011)04-0351-03

Building of gastric carcinoma oncogenesis model in nude mice with BGC-823 cell strain

WEN Can, XIONG Jia-xiang, HOU Xiao-yu (Department of Applied Surgical Anatomy and Operative Surgery, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To build gastric carcinoma oncogenesis model in nude mice with BGC-823 cell strain and to provide references to related researches. **Methods** BGC-823 cell strain was cultured in vitro and passaged by conventional methods. The cells were collected and washed by normal saline, which was later made into single-cell suspension with cell density of 22×10^{10}/mL. 0.1 mL single-cell suspension was injected subcutaneously into the cross point of neck and fore limb in nude mouse. The oncogenesis was observed and measured, meanwhile the organization structure was observed through slices under light microscope. **Results** There was no symptom of infection in nude mice after the injection. The tumor can not be seen by naked eyes at 1st week but solid bean-like pallet can be felt. The oncogenesis can be observed at 2nd week and solid mass can be felt by palpation. At 4th week, the tumor became obvious; it was page-like with diameter of 0.9 cm. At 8th week, the surface of the tumor became uneven and the tumor was large in volume with diameter of 3.0 cm above. The cell nucleus was big, oval or irregular in shape, organized in chaos under light microscope. **Conclusion** Subcutaneous injection of BGC-823 cell can effectively build gastric carcinoma oncogenesis model in nude mouse.

Keywords: gastric carcinoma; cell strain; oncogenesis; nude mouse

通过培养胃癌细胞株建立裸鼠荷瘤模型是常用的胃癌研究方法。建立理想的裸小鼠胃癌模型是研究胃癌生长、转移生物学特性及其分子调控机制,以及找寻治疗新药、新方法的重要载体[1]。目前,用于建立模型的胃癌细胞株种类较多,包括人胃癌细胞株 BGC-823、SGC-7901、HS-746T 和人胃腺癌细胞株 MGC-803、AGS 等,并已广泛地应用相关模型进行研究[2-4],但对裸小鼠成瘤模型建立方法和成瘤情况本身的细节研究报道不多。本文对采用 BGC-823 胃癌细胞株悬液皮下注射建立裸小鼠荷瘤模型情况进行了初步研究,旨在为开展相关研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

胎牛血清(FBS)和 DMEM 培养基购自 Invitrogen 公司,胰蛋白酶购自 Amersco 公司,BGC-823 胃癌细胞株为第三军医大学西南医院消化内科赠与。仪器包括美国 FORMA 3111 二氧化碳孵箱、恒温振荡器、超净工作台和日本 OLYMPUS IX-70 倒置相差显微镜等。

1.2 BGC-823 胃癌细胞的培养及传代

BGC-823 胃癌细胞在 T25 瓶培养瓶中培养,以 DMEM 培养基为基础培养基,加入 10% 胎牛血清,内含 50 U/mL 青霉素和 50 U/mL 链霉素,置 5% CO_2,37 ℃恒温饱和湿度培养。细胞贴壁生长,当 2 ~ 4 d 后细胞完全融合时,轻轻倒掉培养液,加入

[基金项目] 重庆市自然科学基金(2008BB5131)

[作者简介] 文 灿(1971 -),男,重庆市人,副教授,博士,主要从事血管外科方面的研究。电话:(023)68752250,E-mail:wencan@mail.tmmu.com.cn

[收稿日期] 2011-04-15 [修回日期] 2011-05-06

0.25% 胰蛋白酶(含 0.03% EDTA)进行消化,不时振荡摇晃,使细胞脱离瓶壁。当倒置相差显微镜下观察到呈簇状细胞团或完全分离成单个细胞时,加入 FBS 终止消化,离心收集细胞后加入培养基混匀后分瓶培养。待 2 ~ 4 d 再次融合后又传代分瓶。如果实验需要中断培养保存细胞,只需在 DMEM 培养基中加入 20% FBS 和 10% 二甲基亚砜(DMSO)即可进行液氮冻存。

1.3 制备 BGC-823 胃癌细胞悬液

在超净工作台内按照无菌操作规则进行,当培养的 BGC-823细胞生长到刚要融合时,用含 0.25% 胰蛋白酶和 0.02% EDTA 的消化液进行消化,振荡摇晃,脱落后终止消化,收集细胞,加入无血清 DMEM 混匀;若有细胞成团,可用吸管轻轻吹打,使细胞完全分离。离心后用 0.9% 生理盐水洗涤,再用 0.9% 生理盐水配成接种细胞悬液,细胞浓度为 2×10^{10}/mL,密封后置于冰水中备用。

1.4 裸鼠建模

取裸小鼠 10 只(购自第三军医大学实验动物中心),雌雄不拘,4 ~ 5 周龄,体重 18 ~ 22 g。取上述 BGC-823 胃癌细胞悬液 0.1 mL 注入裸小鼠颈部侧面与前肢交界处皮下,分笼饲养,观察并测量瘤体形成情况(测量直径取最大径),注射及观察的整个过程均在 SPF 屏障环境内进行。

1.5 光镜观察

所有荷瘤裸小鼠都在注射 8 周后处死,取瘤体组织置于 10% 福尔马林中,同时观察肝、肺及颈部邻近的淋巴结有无转移灶。瘤体组织常规切片,HE 染色,光镜观察瘤体组织结构。

2 结果

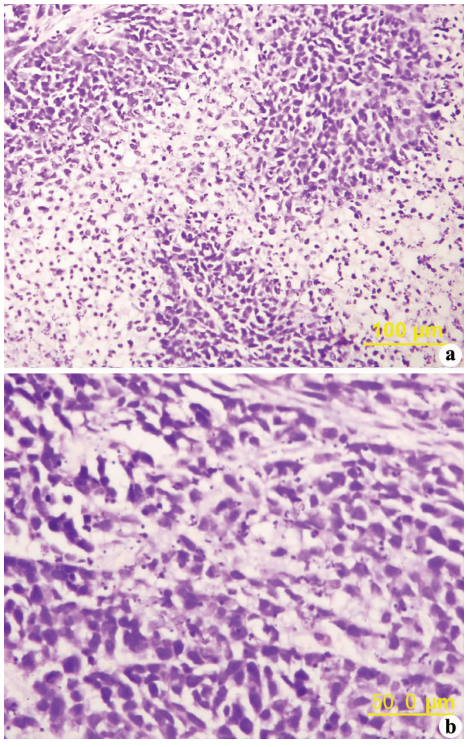
皮下注射 BGC-823 胃癌细胞后裸小鼠生存状态好,无明显炎症及不良反应发生。1 周时虽肉眼观察不到瘤体,但能触及实体豆状颗粒、质较硬(图 1a);2 周时即能观察到瘤体形成,触诊能扪及实质包块,有蒂相连,平均直径 0.4 cm(图 1b);4 周时瘤体明显,呈结节状、质硬,贴于体壁,移动度不大,平均直径 0.9 cm(图 1c);8 周时动物消瘦明显,瘤体巨大,活动欠佳,凹凸不平,平均直径 2.8 cm,最大直径达 3.5 cm(图 1d)。



a:1 周;b:2 周;c:4 周;d:8 周

图 1 皮下注射 BGC-823 胃癌细胞后裸小鼠成瘤、荷瘤情况

瘤体切面均质,呈鱼肉状,中央存在细胞坏死区;仔细解剖、观察荷瘤裸小鼠肝、肺及颈部邻近淋巴结,没有发现肿瘤转移灶。光镜下可见瘤体组织癌细胞核大、多呈椭圆形或不规则形、深染,排列杂乱(图 2)。经光镜观察证实,全部裸小鼠注射造模成功;其中 1 只裸小鼠在注射 5 周后不明原因死亡,仍经切片 HE 染色证实已经有瘤体形成。



a: ×200,标尺为 100 μm;b: ×400,标尺为 50 μm

图 2 瘤体组织切片染色

3 讨论

胃癌是最常见的消化道肿瘤,迄今缺乏特异性的治疗手段,严重危害人类健康。临床工作中所发现的胃癌患者,多数处于中晚期,对其癌灶的生长、转移及生物学特性研究受到诸多因素的限制;而通过胃癌细胞株建立裸小鼠荷瘤模型,能为研究胃癌的生物学特性及寻求诊治新药、新方法提供基础载体。因此,对胃癌裸小鼠成瘤模型的建立方法、技术的研究具有重要意义。

人胃癌细胞株 BGC-823 是胃癌研究中经常使用的细胞株之一,类上皮细胞样细胞形态。本研究通过皮下接种培养的 BGC-823 细胞建立裸小鼠成瘤模型,注射 2 周后即能肉眼直接观察到包块形成,此后直到 8 周包块逐渐长大,且荷瘤裸小鼠存活状态良好;其间仅有 1 只裸小鼠死亡。全部建模裸小鼠经处死取材行常规病理学染色,光镜观察证实所形成的包块皆为肿瘤组织,亦即说明全部裸小鼠建模成功。这种皮下注

射 BGC-823 的胃癌裸小鼠建模方法操作简单,方便易行,成瘤率高;且因形成的肿瘤包块位置表浅,能够直接观察到肿瘤的生长情况,也能在一定程度上近似地模拟胃癌的形态学、生物学、生物化学及生物效应特性等,可作为胃癌研究的有力载体。

实验处死取材时进行仔细解剖、观察,所有荷瘤裸小鼠的肝、肺及颈部邻近淋巴结都没有发现有肿瘤转移灶形成。这可能是因为瘤体周围被结缔组织所包裹,限制了瘤体组织的浸润生长及转移,与之前的相关报道相一致[5]。有研究表明,种植形成的肿瘤是否能够发生转移不仅与肿瘤细胞本身的转移能力有关,还与宿主部位、器官对应的微环境因素有关[6]。

从理论上讲,理想的胃癌动物模型应该在具有相似生长微环境的同时具有很好的可重复性,而在裸小鼠皮下接种胃癌细胞株属于异位种植成瘤,与实际的胃癌起源、生长微环境存在较大差异,其生物学特性和效应行为只能部分反映、呈现人胃癌的客观实际。因此,在胃癌研究中选用这种模型时要充分考虑到差异性因素,必要时可根据实验需要将瘤体组织移植到裸小鼠胃壁建立裸小鼠胃原位移植瘤模型。

[参考文献]

[1] Illert B, Otto C, Braendlein S, et al. Optimization of a metastasizing human gastric cancer model in nude mice[J]. Microsurgery, 2003, 23(5):508 - 512.

[2] Liu Y, Wang R, Qiu GQ, et al. Inhibitory effect of fuzheng yiliuyin in combination with chemotherapeutics on human gastric carcinoma cell strain[J]. World J Gastroenterol, 2006, 12(25):4071 - 4073.

[3] Kanamori N, Fujii M, Kochi M, et al. Evaluation of combination chemotherapy with 5-FU, CDDP and CPT-11 for human gastric carcinoma transplanted into nude mice comparative study of in vivo chemosensitivity test[J]. Gan To Kagaku Ryoho, 2007, 34(6):881 - 884.

[4] Kuroda T, Kitadai Y, Tanaka S, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 transfection induces angiogenesis and tumorigenesis of gastric carcinoma in nude mice via macrophage recruitment[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(21): 7629 - 7636.

[5] Fidler IJ. Critical factors in the biology of human cancer metastasis: twenty-eight GHA Clowes memorial award lecture[J]. Cancer Res, 1990, 50(19): 6130 - 6138.

[6] Killion JJ, Radinsky R, Fidler IJ. Orthotop icmodels are necessary to p redict therapy of transp lantable tumors in mice[J]. Cancer Metastasis Rev, 1999, 17(3): 279 - 284.

(编辑:周小林)

· 个案与短篇 ·

卫生棉条在下肢瘫痪患者腹泻中的应用

邹家群[1],**韩 磊**[2],**蒋小娟**[1] (第三军医大学:1. 大坪医院野战外科研究所乳腺甲状腺血管外科,重庆 400042;2. 基础部生理学教研室,重庆 400038)

[关键词] 卫生棉条;下肢瘫痪;腹泻
[中图分类号] R442.2;R472 [文献标识码] B [文章编号] 1672-5042(2011)04-0353-01

下肢瘫痪患者由于下床不便甚至部分患者对腹泻没有感觉,采用传统的护理方法易引起患者肛周皮肤渗出液增多、红肿,严重者肛周皮肤发生溃烂[1]。我科对瘫痪合并其他病变的 10 例患者在腹泻期间采用卫生棉条纳肛的方法,效果较好,无臀部红疹及其他不适症状的发生,现将治疗方法报告如下。

1 材料与方法

患者取侧卧位,护理人员洗净双手后将卫生棉条上的封条撕开,去除尾端的玻璃纸后将棉线松开;一只手捏着卫生棉条的尾端,另一只手去除尖端的玻璃纸,接着把卫生棉条置入肛门中,推入深度约两个指节,最后将棉线露出体外;待 2 ~ 3 h 或发现棉线被污染时更换。

[收稿日期] 2011-03-20 [修回日期] 2011-04-11

2 讨论

在临床工作中对下肢瘫痪患者腹泻的护理难度比普通腹泻患者高,如果用传统的成人尿不湿容易造成会阴及肛门部位潮湿,增加褥疮及感染机会,降低患者的舒适度[1]。本文采用的方法增加了患者的舒适度,减少了护理人员的工作量以及褥疮、臀部红疹的发生率。该方法操作简单、效果较好,值得临床推广应用。需要注意的是护理人员需根据患者腹泻的程度适当调整更换卫生棉条的时间[2]。

[参考文献]

[1] 高 萌,王 岩,卢丽华. 卫生棉条在老年长期卧床患者大便失禁护理中的应用[J]. 中国实用护理杂志,2006,22(10):14 - 15.

[2] 王爱英,杨金娟. 用 o. b 内置式卫生棉条治疗老年术后腹泻致肛周红肿[J]. 护理学杂志,2009,24(18):47.

(编辑:何泓睿)