DOI: 10.16016/j.1000-5404.1999.01.009

Establishment of dermal equivalent culture model*

Wu Jinjin, Liu Rongqin, Ye Qinyu, Tang Shuqian, Zhong Baiyu (Department of Dermatology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038)

Abstract Objective: To establish a 3D culture model of fibroblasts. Methods: Fibroblasts were mixed with collagen, serum and medium to form a gel called the dermal equivalent. Results: The dermal equivalent was tissue-like in its component and consistency. Conclusion: The model is useful for basic studies on the epidermal-mesenchymal interaction, cell growth, cell differentiation, wound healing and scar formation.

Key words fibroblast; collagen; dermal equivalent

* This project was supported by the National Natural Science Foundation of China, No. 30500131

原发性胆囊癌转移到双侧卵巢 1例报告

A case report of carcinoma of gallbladder transfer to ovary

王 琳* 史常旭 (第三军医大学附属西南医院妇产科) 重庆, 400038

原发性胆囊癌多转移至肝、胆总管、胰腺[1]。我们遇到 1例原发性胆囊癌患者,其邻近脏器无转移,却在双侧卵巢形成巨大转移性癌,现报告如下。

1 临床资料

患者王某,女,47岁,发现上腹部包块 3月入院。检查:下腹部扪及实质性包块约 6月孕大,无压痛,肝脾未扪及。B超提示双侧卵巢实性肿瘤,子宫正常大小。术前诊断为卵巢癌。于 1998年 7月 20日在全麻下行剖腹探查术,术中发现子宫大小正常,吸出淡黄色腹水 800 ml,左卵巢肿瘤 19 cm× 13 cm× 8 cm,右卵巢肿瘤 17 cm× 9 cm× 7 cm,双侧卵巢表面光滑,包膜完整,与盆腔无粘连。术中送小块卵巢组织作冰冻切片检查,病理报告为卵巢腺癌。探查上腹部时发现胆囊肿大呈实性,请肝胆科医师会诊取右上腹部斜切口行胆囊切除,未发现肝及胆总管转移病灶,下腹部行双侧附件及全子宫切除,并切除阑尾及大网膜。术后 8 d拆线出院。

病理检查提示:胆囊壁内见癌细胞呈乳头状排列,并与周围粘膜有移行过渡。双卵巢见癌组织呈乳头状、腺管状、实团状分布,癌细胞复层柱状,核大泡状,易见分裂像,有大片坏死。双输卵管组织内均见癌组织,大网膜充血水肿,宫内膜呈增生改变,宫颈慢性炎,阑尾慢性炎。免疫组化染色:ER弱阳性,PR弱阳性。病理诊断:胆囊乳头状腺癌伴双侧卵巢输卵管转移。

2 讨论

卵巢的转移性癌中原发部位多为胃肠道、乳房及子宫肿瘤,来自胆囊者罕见[2]。本例符合转移性卵巢癌的特点,即双侧卵巢肿瘤均增大呈长圆形,表面光滑,包膜完整,组织学特点与其原发癌一致,均为乳头状腺癌。卵巢转移癌早期多无临床症状,晚期以腹部包块及腹胀为主诉,原发癌的表现并不明显,术前诊断率低。原发性胆囊癌的转移途径以直接扩散至邻近脏器为主,本例可能为经淋巴转移,癌细胞转移至腹膜后淋巴结,阻塞淋巴导管的上行通道,造成淋巴引流逆向,将癌细胞带到腹主动脉旁和盆腔淋巴结,而卵巢的淋巴管和这些淋巴结的位置非常接近,形成卵巢的转移[2]。当术中怀疑卵巢癌是继发的,就应尽力寻找原发灶,对卵巢癌患者应常规探查上腹部,以免遗漏原发或继发癌灶。转移性卵巢癌预后极差,术中应尽可能切除原发癌及双附件及全子宫,术后辅以化疗以延长患者的生命。

关键词 卵巢肿瘤;肿囊;肿瘤转移

中图法分类号 R737.31

参考文献

1 陈 平,韩本立,蔡景修,等.原发性胆囊癌 30例诊治体会.普外基础与临床,1997,4(3):155

2 连利娟,林巧稚.妇科肿瘤学.第 2版.北京:人民出版社,1993.640~649

(收稿:1998-08-31;修回:1998-11-24)

(编辑 王 红)

* 王 琳,女,34岁,主治医师,博士研究生

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

小鼠 RAPD-PCR反应体系及扩增程序的筛选*

吴丰春** 魏 泓 (第三军医大学实验动物中心) 重庆, 400038

提 要 目的: 筛选优化小鼠 RAPD-PCR反应体系及扩增程序。方法: 以 40条引物对 9个品系的小鼠基因组 DNA在各种不同条件下进行 RAPD-PCR,分析比较扩增结果。结果: 在下列反应体系及扩增程序下结果较好: 在 25μl的反应体系中含有 10× buffer 2.5μl, dNTP 200μmol/L, Mg^{2+} 2.5 mmol/L,引物 0.2 μmol/L, Taq酶 1.5 U,模板 DNA 20 ng,扩增程序为 94℃变性 1 min, 38℃退火 1 min, 72℃延伸 2 min, 40个循环后接 10 min延伸。结论: 以上述反应体系及扩增程序进行小鼠 RAPD-PCR,扩增结果稳定。

关键词 随机扩增多态性 DNA;筛选
中图法分类号 Q751

RAPD(Random amplified polymorphic, DNA)是近几年发展起来的一项 DNA多态检测技术,由于其快速、简单、方便、经济、规范等优点,在动物、植物、微生物种属鉴定、亲缘关系的划分及多态性分析中得到广泛应用[1]。然而 RAPD技术还不成熟,亦有一定缺点,主要表现在各实验室结果可比性差,重复性差,这是因为 RAPD技术对实验条件要求十分严格, RAPD图谱受诸多因素影响[2]。为此本实验对小鼠 RAPD-PCR的反应体系及扩增程序进行了筛选及分析,以便获得稳定的扩增结果。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 TA1、BALB/c、DBA/2、615、BALB/c-nu/nu、T739、SCID近交系小鼠和昆明鼠、NIH封闭群小鼠各5只,由第三军医大学实验动物中心提供。

1.1.2 试剂 10× buffer、Taq酶、Mg^{2+}、dNTP均为德国 BM公司产品。

1.1.3 PCR仪 美国 PE2400型。

1.1.4 引物 采用美国 Operon Technologies公司的两套试剂盒: Primer kits for RAPDS AB-0320-kitN 及 AB-0320-kit2,每套试剂盒含 20条引物,共 40条引物。

1.2 方法

1.2.1 DNA的提取 取小鼠尾部组织 100 mg剪碎,匀浆,加消化液 (10 mmol/L Tris-HCl, 10 mmol/L EDTA, 10 mmol/L NaCl, 1.0% SDS, 200μg/ml蛋白酶 K, pH8.0)消化,按常规方法提取 DNA,乙醇沉淀, TE(10 mmol/L Tris-HCl, pH8.0, 1 mmol/L EDTA)溶解,各品系内小鼠 DNA样品混匀,构成 DNA样品池[3]。

1.2.2 RAPD-PCR反应体系及扩增程序的筛选 在 RAPD-PCR反应体系及扩增程序基本模式的基础上,分析改变预变性时间、退火温度、循环次数、dNTP的浓度、Mg^{2+} 的浓度、Taq的浓度、引物浓度、分析其对结果的影响。

2 结果

2.1 模板 DNA预变性时间对 RAPD-PCR的影响

实验中我们分别采用对模板 DNA进行预变性 10、8、5、3、2、1 min,以及不进行预变性 94℃直接启动的方法进行 RAPD-PCR,结果显示,模板 DNA预变性时间的长短,以及是否预变性,对扩增结果影响不大, 94℃直接启动变性 1 min后足以扩增出较好的结果,见图 1。

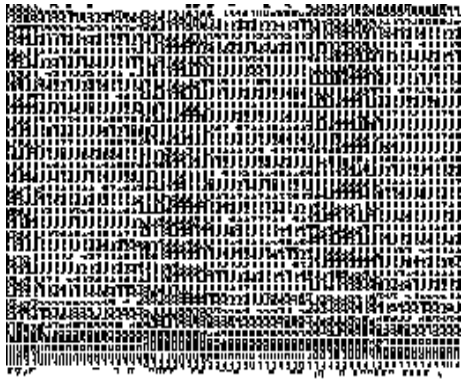


图 1 预变性时间对 RAPD-PCR的影响

Fig 1 Effects of pre-denaturation time on RAPD-PCR

a. 10 min; b. 8 min; c. 5 min; d. 3 min; e. 2 min; f. 1 min; g. 0 min; DNA BALB/c小鼠; 引物: ABN-05; 1. Amplified DNA: DNA of BALB/c mouse genome; 2. Primer used ABN-05

2.2 退火温度对 RAPD-PCR的影响

在 RAPD-PCR体系中不同模板 DNA,不同引物,其最适退火温度不同[4],实验中我们采用 ABN-11引物分别与上述 9品系小鼠的模板 DNA反应和 DBA/2小鼠的模板 DNA分别

* 国家自然科学基金资助项目, No. 3960079 全军"九五"医药卫生科研基金资助项目, No. 96M038 重庆市攻关项目资助
** 吴丰春 男, 29岁,助教 学士
?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net