

(二) ERK 抑制剂 PD98059 对 ACC-M 裸鼠实验性肺转移作用的研究

1. 裸鼠实验性肺转移模型的建立

取对数生长期的ACC-M细胞,用0.25%胰蛋白酶充分消化后加入含10%新生牛血清的RPMI1640培养液吹打制备单细胞悬液,用无血清RPMI1640培养液离心洗涤2次(1000转5min),计数活细胞数,调整细胞密度为 $1 \times 10^7/\text{ml}$,用无菌PBS重悬,装入1ml无菌eppendorf管中,备用。

每只裸鼠尾静脉注射 $1 \times 10^7/\text{ml}$ 的 ACC-M单细胞悬液0.1ml。裸鼠均同期接种肿瘤细胞,饲养于SPF条件下。

PD98059是用纯DMSO溶解,再用无菌PBS稀释100倍配制而成。为排除PBS和DMSO的影响,接种后第6周将裸鼠按随机数字表随机分为3组,每组8只。分别进行以下处理:PBS组,1%DMSO组,0.1mg/kg PD98059组(DMSO=1%),经腹腔注射0.2ml,每周2次,连续注射4周。

密切观察裸小鼠的生长状况,用电子天平称量裸鼠体重。治疗结束后颈椎脱臼法处死,完整取出肺脏标本(见图2.4),标本保留部分肺门旁组织和气管以保持标本的完整性;标本及时用10%的中性福尔马林固定。肉眼观察肺转移结节数目、形态和大小,照相并记录,按文献对转移灶进行分级。经肺门的最大截面作为标准切面,常规制作石蜡切片,HE染色进行组织学观察。

2. 裸鼠背部移植瘤模型的建立

- 1) 取对数生长期的ACC-M细胞,用0.25%胰蛋白酶充分消化后加入含10%新生牛血清的RPMI1640培养液吹打制备单细胞悬液,离心后,无血清RPMI1640培养液离心洗涤3次(1000转5min),吹打均匀,调整细胞密度为 $1 \times 10^7/\text{ml}$,装入1ml无菌eppendorf管中,备用。
- 2) 2只裸鼠右侧背部分别注射 $1 \times 10^7/\text{ml}$ 的 ACC-M单细胞悬液0.1ml。
- 3) 密切观察裸小鼠的生长状况和每周两次用游标卡尺测背部移植瘤的长径和与之垂直的短径,计算体积变化,接种5周后颈椎脱臼法处死,仔细分离出肿瘤组织,10%的中性福尔马林固定,常规石蜡切片,HE染色进行组织学观察。移植瘤体积计算^[67]: $V=1/2(a \times b^2)$, a 为移植瘤的长径, b 为与 a 垂直的短径。

四. 研究结果:

1. ERK1/2在ACC-M胞浆中阳性表达,提示在ERK通路腺样囊性癌的发生发展