

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。

2.6 肺内肿瘤转移程度分级

大体观察分级：I级，单个小的转移灶1-5个(直径均在1mm以下)；II级，小的转移灶在肺内弥散分布，6-10个或单个中等转移灶(直径在1-2mm之间)；III级，小的转移灶呈广泛分布(几乎所有肺叶)，或存在几个大的转移灶(直径在2mm 以上)。

2.7 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。
- 4) 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。