

大鼠自发性巨大肿瘤的病理分析

李 婧¹, 许世清², 李 鸿², 娄晋宁², 徐宝华¹

(1. 中日友好医院口腔医学中心, 北京 100029; 2. 中日友好医院临床医学研究所, 北京 100029)

【摘要】 目的 研究 Wistar 及 GK 大鼠巨大自发性肿瘤的病理特征。**方法** 观察发生巨大自发性肿瘤的 Wistar 及 GK 大鼠的生长及生存状况, 手术切除肿瘤, 免疫组织化学染色研究其病理特征。**结果** 两例巨大自发性肿瘤瘤体重分别为 502 g 和 119 g, 分别为大鼠体重的 64% 和 24%, 肿瘤表面具有完整的包膜, 与正常组织边界清晰, 没有发现肿瘤含有血管的蒂状结构。病理检查结果显示: 确定为良性纤维瘤。**结论** 大鼠自发性巨大肿瘤为良性纤维瘤, 除瘤体过大对大鼠的活动产生影响外, 对生存状况无显著影响。

【关键词】 Wistar 大鼠; GK 大鼠; 自发性肿瘤; 纤维瘤

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2016)06-0006-05

doi: 10. 3969. j. issn. 1671 - 7856. 2016. 06. 002

Pathological observation of two huge spontaneous tumors in a Wistar and a GK rats

LI Jing¹, XU Shi-qing², LI Hong², LOU Jin-ning², XU Bao-hua¹

(1. Dental Medical Center, 2. Institute of Clinical Medicine, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China)

【Abstract】 Objective To study the pathological features of two huge spontaneous tumors in Wistar and GK rats. **Methods** Forty Wistar rats and 40 GK rats were included in this study. Among those rats, two huge spontaneous tumors were observed in a Wistar rat at 14 months of age and in a GK rat at 22 months of age. The growth and survival status of the tumor-bearing rats were recorded. The tumors were surgically removed, and their pathological features were examined using HE and immunohistochemical staining (vimentin, CK19, α -SMA, CD31, CD34, S-100, NF 及 Ki-67). **Results** Both the two tumors were completely resected by surgery without much difficulties, and both host rats survived well after the operation. The weight of the two huge tumors was 502 g and 119 g, which corresponding to 64% and 24% of the body weight of their host rats, respectively. The tumors surface had a complete capsule, with a clear boundary separating from the normal surrounding tissues, and no vascular pedicle structure was found. According to the results of immunohistochemical staining, both the two tumors were diagnosed as benign fibroma. **Conclusion** This type of huge spontaneous tumors is benign fibroma. Besides the impact on the activities of the rats, the tumors have no significant impact on the living conditions in the hosts.

【Key words】 Wistar rats; GK rats; Spontaneous tumor; Fibroma; Pathology

实验动物模型是研究疾病的发病机制、治疗及预防是非常重要的工具。在实验动物的研究中,通

过诱导肿瘤的发生建立肿瘤动物模型已经成为一种较为成熟的实验技术,而对于实验动物的自发性

【基金项目】 国家重点基础研究发展计划(973 计划)(2012CB966402), 中日友好医院院级科研基金(2014-3-QN-23)。

【作者简介】 李婧(1980 -), 女, 主治医师, e-mail: lijingbmu@sina.com。

【通讯作者】 许世清(1964 -), 女, 副主任技师, e-mail: xushiqing@163.com。

肿瘤,特别是巨大肿瘤的发生及其病理特征研究甚少。我们对啮齿类动物的长期实验研究发现,老年动物常出现各种自发性肿瘤,并且在不同动物种属其肿瘤的发生率和病理类型均有差异^[1]。本研究对 1 例 Wistar 大鼠及 1 例 GK 大鼠发生的自发性肿瘤进行了饲养观察,并对动物的肿瘤生长、瘤体特征,以及病理类型进行了研究。结果显示,这种自发性肿瘤为一种缺乏血管蒂结构的良性纤维瘤,虽然体积巨大,除活动不便外,对动物的生存影响不大。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物:SPF 级雄性 Wistar 大鼠,5 周龄,购于北京维通利华实验动物技术有限公司【SCXK(京)2012-0001】。SPF 级雄性 GK 大鼠,8 周龄,购于上海斯莱克实验动物有限责任公司【SCXK(沪)2012-0002】。两只大鼠均饲养于中日友好医院临床研究所 SPF 级动物实验室【SYXK(京)2010-0011】,饲养条件符合国标 GB14925-2001:室温 22~26℃,相对湿度 40%~60%,12 h 明暗交替,动物自由摄食及饮水。食用饲料为大鼠维持饲料,B 级,购于北京华阜生物科技股份有限公司【SCXK(京)2009-0008】。

1.1.2 主要试剂:10% 甲醛溶液购自北京中杉金桥生物技术有限公司;小鼠抗大鼠波形蛋白(vimentin)单克隆抗体;兔抗大鼠 CD31 单克隆抗体、兔抗大鼠 CD34 单克隆抗体、兔抗大鼠 CK19 单克隆抗体和兔抗大鼠 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)单克隆抗体均购自英国 Abcam 公司;羊抗大鼠 Ki-67 多克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司;小鼠抗大鼠 S-100 单克隆抗体和小鼠抗大鼠神经微丝(NF)单克隆抗体均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 肿瘤生长的观察:在本研究所观察的 40 只 Wistar 大鼠中,仅 1 只大鼠 14 月龄时在右后肢内侧出现一个直径约 1.4 cm 的单发性圆形肿物,肿瘤表面光滑,局部皮肤及毛发未见异常,精神状态良好,进食及生长状态未见明显异常。肿物生长迅速,至 17 月龄时,大鼠肿瘤已经扩展到右侧下腹部,行动开始受限。至 18 月龄时,肿物非常巨大,已导致右后肢完全抬起,不能接触地面行走(图 1),但肿瘤表

面毛发无异常,进食状况基本正常。

在本研究观察的 40 只 GK 大鼠中,仅有 1 只在 22 月龄时,右后肢外侧出现一个直径约 1.5 cm 的圆形肿物,肿物边界清晰,不影响行动和进食。肿瘤生长较为迅速,至 23 月龄时肿物表面部分毛发脱落,皮肤出现破损,局部有血痂形成,至 24 月龄时肿物进一步增大,大鼠进食量有所减少,行动稍显缓慢。

1.2.2 肿瘤大体特征及病理学检查:Wistar 大鼠 18 月龄时,采用 2.5% 戊巴比妥钠腹腔麻醉,肿瘤位于右下腹及右后肢内侧,瘤体位于皮下,未进入腹腔,术中发现肿瘤具有完整包膜,与周围组织无粘连,分界明显,分离非常容易,整个肿瘤未发现蒂状结构,肿瘤周围也未见丰富血管,手术采用手工完整剥离肿瘤,瘤体重 502 g。术后大鼠生存状况良好,行动自如。GK 大鼠 24 月龄时,2.5% 戊巴比妥钠腹腔麻醉后,完整剥离整个肿瘤,手术过程所见与 Wistar 大鼠情况类似,整个肿瘤无蒂状结构,肿瘤周围也未见丰富的血管,瘤体重 119 g。

10% 甲醛溶液固定肿瘤组织(图 2:A、B 两部分,A 为中央的实性团块,质硬,B 为周围的软质组织),常规脱水、石蜡包埋,3 μ m 厚连续切片,HE 染色及相关肿瘤标记物免疫组织化学染色鉴定。

1.2.3 免疫组织化学染色:石蜡切片常规脱蜡、脱水,微波热修复,3% 过氧化氢溶液封闭内源性过氧化物酶。一抗分别使用:vimentin、CK19、 α -SMA、CD31、CD34、S-100、NF 及 Ki-67,以 PBS 代替一抗作为阴性对照,4℃ 孵育过夜。二抗分别使用辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 抗体、羊抗小鼠 IgG 抗体和驴抗山羊 IgG 抗体,37℃ 孵育 30 min。二氨基联苯胺(DAB)显色,苏木素溶液复染、封片后镜检拍照。

2 结果

2.1 大体观察

Wistar 大鼠肿瘤包膜完整,无蒂,瘤体大小为 14 cm $\times$ 12 cm $\times$ 12 cm,瘤体重量为 502 g,切除瘤体后大鼠重为 780 g。肿瘤呈实性,浅粉色,质软,剖面灰白色,中央有一约 5 cm $\times$ 4 cm $\times$ 4 cm 大小的灰黄色实性团块,质硬,质地不均一。

GK 大鼠肿瘤位于右后肢外侧,瘤体位于皮下,未进入腹腔,包膜完整,无蒂,瘤体大小为 5 cm $\times$ 5 cm $\times$ 5 cm,瘤体重量为 119 g,切除瘤体后大鼠重

为 510 g。肿瘤呈实性,浅粉色,质稍韧,剖面肉粉色,质地尚均一,中央有部分不规则组织,颜色深红,质稍硬。

2.2 病理学观察

2.2.1 HE 染色结果:两例大鼠肿瘤染色结果一致,(图 3)。

中央的实性团块(质硬)HE 染色显示:肿瘤由大量密集的梭形细胞组成,细胞形态较一致,呈编织状、漩涡状或束状交错排列,细胞分界不清,核分裂像罕见,无明显异型性。

周围的软质组织(质软)HE 染色显示:肿瘤由大量梭形细胞组成,细胞分布不均,部分区域细胞密集,部分区域细胞分布稀疏,细胞形态较一致,可见个别巨型细胞,核分裂像罕见,无明显异型性,细胞间隔较大,可见胶原纤维,局部有毛玻璃样改变。

2.2.2 免疫组织化学染色结果:两例大鼠肿瘤染色结果一致(图 4~6)。

两例大鼠肿瘤免疫组织化学染色:Vimentin 均呈阳性, α -SMA 局部阳性,CK19、CD31、CD34、S-100、NF 均呈阴性,Ki-67 阳性指数 $<5\%$ 。

2.3 病理诊断

参考相关文献结合组织学形态及免疫组化染色结果,两例大鼠肿瘤病理诊断为皮下纤维瘤。

3 讨论

在本实验室以往所进行的动物实验中,也发现有大鼠自发性肿瘤的发生,但如此巨大的自发性肿瘤尚属比较少见。

徐艳峰等^[2]通过 104 周的观察得出 Wistar 雄性大鼠自发性肿瘤的发生率为 49.12%,以发生良性肿瘤者多见(38.60%)。雄性大鼠的良性肿瘤以垂体腺瘤最多见(19.30%),其次是睾丸间质细胞瘤(5.26%)和皮下纤维瘤(5.26%)。皮下纤维瘤出现在动物腹部或背部皮下,质地较硬,呈球形,肿瘤断面呈结节样或质地均匀、灰白或浅紫红色。本研究中两例肿瘤均位于大鼠的下腹部皮下,肿瘤可完整剥离,呈球形,浅红色,断面中央为团块样硬质组织,断面呈灰白色或浅粉色,符合纤维瘤的病理表现。后期由于肿瘤过度增长使身体过度消耗,GK 大鼠后期表现为精神状态差,进食减少,动物逐渐消瘦。本研究所观察的两例肿瘤生长如此之快,但肿瘤却没有血管样的蒂状结构,并且肿瘤周围及肿瘤组织内也未见丰富的毛细血管难以解释。肿瘤

具有完整的包膜,未浸润周围的邻近组织,生长并未影响大鼠的生命体征,Ki-67 阳性率较低,表明细胞的增殖活性较低,且组织学结果显示未见细胞核异型性及明显的核分裂像,所以肿瘤尚属良性。

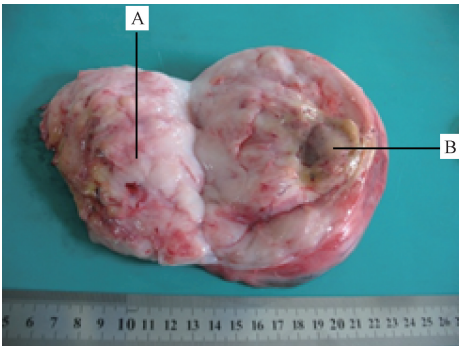
James Poteracki 等^[3]报道了 930 只对照组 Wistar 大鼠所发生的自发性肿瘤,雄性大鼠自发性肿瘤的发生率为 78%,其中良性肿瘤占 71%,平均存活时间为 104 周。本研究中 Wistar 雄性大鼠至术前已存活 70 余周,生命体征良好。James 等总结了 Wistar 大鼠所发生的自发性肿瘤,研究开始前雄性大鼠的平均体重为 214 g(162~253 g),研究结束时平均体重为 599 g(562~657 g)。本研究中 Wistar 雄性大鼠肿瘤重 510 g,切除肿瘤后大鼠重约 780 g,以往文献中尚未见如此巨大肿瘤的报道。肿瘤能生长至如此巨大而对动物的生存影响较小,与肿瘤细胞增殖活性低、未侵犯周围组织、未造成严重的脏器功能受损有关。Long Evans 大鼠自发性肿瘤 83% 发生于皮肤^[4],而 Wistar 大鼠自发性肿瘤绝大多数(68%)发生于内分泌系统(42%)和皮肤(26%)。角化棘皮瘤是雄性皮肤系统中最常见的肿瘤(11%),侵犯皮肤的非上皮源性肿瘤在雄性 Wistar 大鼠的发生率约为 2.4%^[5]。Tomoya Onozato 等^[6]报道了 1 例 50 周龄雄性 Wistar 大鼠自发性皮下肉瘤,该肿瘤诊断为低分化的间叶组织来源的肉瘤,因为缺乏特异性的特征来明确其具体的来源没有特殊分类。

Vimentin 是中间丝的其中一种蛋白质,负责维持细胞骨架的完整性,表达于正常间叶细胞及其来源的肿瘤。Vimentin 单克隆抗体主要用于间叶来源的恶性肿瘤如肌源性肿瘤、软组织肿瘤和骨肿瘤等肿瘤的诊断。细胞角蛋白(cytokeratin,CK)广泛存在于正常上皮细胞和上皮癌细胞中,其中 CK19 在正常上皮细胞和上皮性癌细胞的表达最为特异,本研究中两例肿瘤免疫组织化学染色显示肿瘤细胞表达 vimentin,不表达 CK19,表明肿瘤为间叶组织来源而非上皮来源。 α -SMA 是平滑肌肌动蛋白,广泛分布在平滑肌细胞中,在肌纤维母细胞及含有肌纤维母细胞的软组织肿瘤/病变都有阳性表达,在肌上皮细胞中染色阳性,在部分间叶组织来源的肿瘤呈阳性表达,本研究中免疫组织化学染色 α -SMA 呈局灶阳性,提示肿瘤非肌上皮细胞来源。S-100 蛋白是一种酸性钙结合蛋白,主要存在神经组织、垂体、肾上腺髓质以及少数间叶组织中,NF 是神经



图 1 荷瘤的 Wistar 大鼠

Fig. 1 The gross appearance of a tumor-bearing Wistar rat

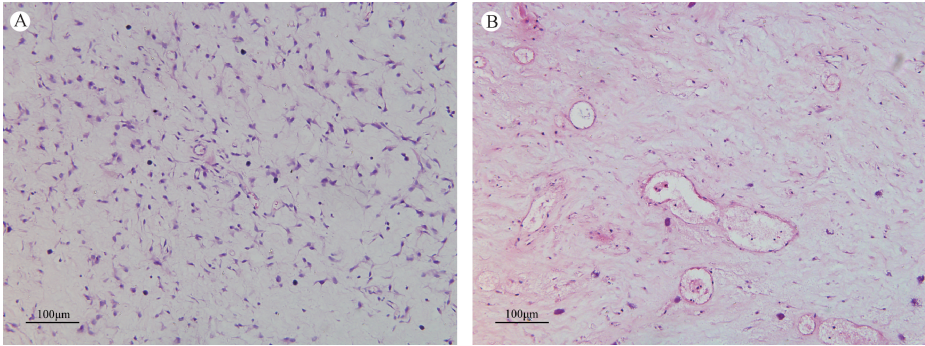


A 为中央的实性团块,质硬;B 为周围的软质组织

图 2 Wistar 大鼠肿瘤组织

A: The central solid mass, hard; B: The surrounding soft tissue

Fig. 2 The gross appearance of tumor of a Wistar rat



A: 实性团块的组织学, HE 染色 B: 软质组织的组织学, HE 染色

图 3 肿瘤 HE 染色(标尺 = 100 μm)

A: Histology of the solid mass. HE staining. B: Histology of the soft tissue. HE staining

Fig. 3 Histology of the tumor tissue. HE staining. (Bar = 100 μm)

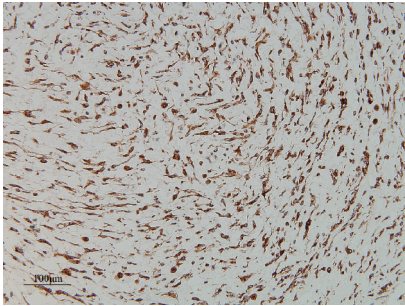


图 4 免疫组织化学染色 vimentin(+)(标尺 = 100 μm)

Fig. 4 Expression of vimentin in the tumor tissue. Immunohistochemical staining. (Bar = 100 μm)

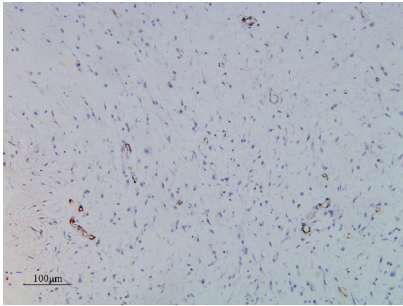


图 5 免疫组织化学染色 α - SMA (局灶阳性)(标尺 = 100 μm)

Fig. 5 Focally positive expression of α-SMA in the tumor tissue. Immunohistochemical staining. (Bar = 100 μm)

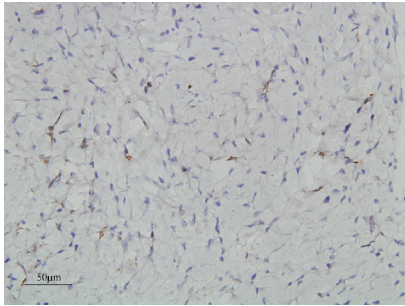


图 6 免疫组织化学染色 Ki-67 (标尺 = 50 μm)

Fig. 6 Expression of Ki-67 in the tumor tissue. Immunohistochemical staining. (Bar = 50 μm)

元特异性中间丝蛋白,正常表达于神经元及神经内分泌细胞中,本研究中 S-100 及 NF 均不表达,提示肿瘤非神经源性。CD31 在血管内皮细胞、单核细胞、部分浆细胞阳性表达,CD34 主要在骨髓基质细胞、血管内皮细胞、胚胎成纤维细胞表达,本研究中两者均呈阴性表达,提示肿瘤非血管来源。根据上述免疫组化染色结果,本实验的两例大鼠肿瘤诊断为皮下良性纤维瘤。

大鼠的自发性肿瘤的发生率比较高,尤其在老年动物比较常见。由于大多数实验室所饲养的动物比较年轻,并且饲养的时间较短,因此导致实际观察到的自发性肿瘤并不常见,特别是如本文所报道的如此巨大的肿瘤非常少见。本文的研究结果对认识大鼠自发性肿瘤的发生和病理特征会有所帮助。

参考文献:

[1] Aoyama H, Kikuta M, Shirasaka N, et al. Historical control data

on reproductive abilities and incidences of spontaneous fetal malformations in Wistar Hannover GALAS rats [J]. Cobqenit Anom (Kyoto), 2002, 42 (3) : 194 - 201.

[2] 徐艳峰, 侯粉霞, 杨慧芳, 等. Wistar 大鼠的自发肿瘤病变及其发生率 [J]. 中国实验动物学报, 2014, 22 (2) : 75 - 79.

[3] Poteracki J, Walsh KM. Spontaneous neoplasms in control Wistar rats: a comparison of reviews [J]. Toxicol Sci, 1998, 45 (1) : 1 - 8.

[4] Esfandiari A, Loya T, Lee JL. Skin tumors in aging Long Evans rats [J]. J Natl Med Assoc, 2002, 94 (6) : 506 - 510.

[5] Walsh KM, Poteracki J. Spontaneous neoplasms in control Wistar rats [J]. Fundam Appl Toxicol, 1994, 22 (1) : 65 - 72.

[6] Onozato T, Tamura T, Nagasawa T, et al. Spontaneous subcutaneous sarcoma in a 50-week-old male Wistar Hannover GALAS rat [J]. J Toxicol Pathol, 2011, 24 : 239 - 244.

[修回日期] 2016 - 03 - 30

(上接第 5 页)

[8] 金光, 王卫, 丛喆, 等. HIV-1 P24 和 SIV P27 两种 ELISA 试剂盒检测 SIV P27 抗原的比较 [J]. 中国比较医学杂志, 2011, 21 (2) : 26 - 30.

[9] Levy JA 著, 邵一鸣译. 艾滋病病毒与艾滋病的发病机制 [M]. 北京: 科学出版社, 2010: 183 - 196.

[10] Brack Werner R, Kleinschmidt A, Ludvigsen A. Infection of human brain cells by HIV-1: restricted virus production in chronically infected human glial cell lines [J]. AIDS, 1992, 6 (3) : 273 - 285.

[11] Mellert W, Kleinschmidt A, Schmidt J. Infection of human fibroblasts and osteoblast-like cells with HIV-1 [J]. AIDS, 1990, 4 (6) : 527 - 535.

[12] Sato H, Orenstein J, Dimitrov D, et al. Cell-to-cell spread of HIV-1 occurs within minutes and may not involve the participation of virus particles [J]. Virology, 1992, 186 (2) : 712 - 724.

[13] Weidenheim KM, Epshteyn I, Lyman WD. Immunocytochemical identification of T-cells in HIV-1 encephalitis: implications for pathogenesis of CNS disease [J]. Mod Pathogens, 1993, 6 (2) : 167 - 174.

[14] 刘克剑, 丛喆, 金光, 等. 表现神经症状的 SIVmac251 感染猴大脑基底节病毒 gp120 序列变异分析 [J]. 中国实验动物学报, 2006, 14 (4) : 271 - 275.

[15] Hübner W, McNerney GP, Chen P, et al. Quantitative 3D video microscopy of HIV transfer across T cell virological synapses [J]. Science, 2009, 323 (5922) : 1743 - 1747.

[16] Alvarez RA, Barría MI, Chen BK. Unique features of HIV-1 spread through T cell virological synapses [J]. PLoS Pathogens, 2014, 10 (12) : e1004513. .

[17] Dale BM, McNerney GP, Thompson DL, et al. Cell-to-cell transfer of HIV-1 via virological synapses leads to endosomal virion maturation that activates viral membrane fusion [J]. Cell Host Microbe, 2011, 10 (6) : 551 - 562.

[18] Durham ND, Yewdall AW, Chen P, et al. Neutralization resistance of virological synapse-mediated HIV-1 infection is regulated by the gp41 cytoplasmic tail [J]. Virology, 2012, 86 (14) : 7484 - 7495.

[修回日期] 2016 - 03 - 28