DOI: 10.16016/j.1000-5404.1996.05.022

二甲基苯蒽诱导大鼠多发性原发性恶性肿瘤模型的观察

姜 军 陈意生* 詹新恩 马宏敏 柳凤轩** (第三军医大学附属西南医院普通外科) 重庆, 630038

提 要 用皮下注射二甲基苯蒽(DMBA)诱发 Wistar大鼠多发性原发性乳腺癌和纤维肉瘤,并以此建立模型,经24周后致癌组雌性大鼠70%发生乳腺癌。其中45%为多发性原发性乳腺癌;40%发生皮下纤维肉瘤,35%在实验期间同时发生乳腺癌和皮下纤维肉瘤。雄性大鼠33.3%发生皮下纤维肉瘤而未发生乳腺癌。该模型的建立对于多发性原发性恶性肿瘤的深入研究具有重要价值。

关键词 多发性原发性肿瘤;Wistar大鼠;疾病模型,动物
中图法分类号 R363

在人体恶性肿瘤的临床研究中,可见到在同一器官的不同部位。同一系统的不同器官以及不同组织器官中发生组织来源相同或不同的原发性恶性肿瘤,称为多发性原发性恶性肿瘤。实验性动物多原发性恶性肿瘤尚未见报告,本研究的动物模型是用化学致癌剂二甲基苯蒽(DMBA)诱发大鼠实验性乳腺癌和纤维肉瘤建立的,并探讨该模型在肿瘤研究中的意义。

1 材料与方法

1.1 实验动物准备及分组

健康 Wistar大鼠 90只,由本校动物中心提供,出生40 d~60 d,体重80 g~120 g称重后按体重相差10 g分笼,置于室温(23±3)℃,标准饲料喂养一周。随机分为4组:(1)雌性致癌组25只。(2)雄性致癌组25只。(3)雌性对照组20只。(4)雄性对照组20只。将相同体重大鼠随机分入各组,雌、雄动物分笼喂养。用普通标准颗粒饲料喂养,自由饮水。

1.2 致癌剂配制方法

取二甲基苯蒽(美国 Sigma公司产品)1 g加入10 ml吐温80(浙江省龙游县化工试剂产品)中,置于60℃水浴箱使之溶解;加入生理盐水经振荡器振荡12 h,稀释成终浓度为10 mg·ml^{-1}的二甲基苯蒽混悬溶液。

1.3 模型制作方法

(1)、(2)组以每100 g体重10 mg二甲基苯蒽右侧臀部皮下一次性注射;(3)、(4)组在相应部位注射等量生理盐水(每100 ml中加入10 ml吐温80)。

1.4 取材

至第24周大鼠全部去眼球放血处死,用8%硫酸钠脱去胸腹部毛,观察记录乳腺数量、外观、发育情况及有无乳房下结节。将每个乳腺连同周围皮肤、皮下组织一同解剖,自乳头部对半切开乳腺大体观察、计数肿块数量、形态及大小。注射致癌剂部位取材记录肿瘤形态及大小。

1.5 组织学观察方法

所取组织标本分别置于10%福尔马林液中固定,石蜡包埋切片,HE染色、光镜观察。乳腺标本分级、分类参照人体乳腺增生、不典型增生和乳腺癌诊断标准。诱癌剂注射部位肿瘤的分类参照人体肿瘤分类标准。

2 结果

2.1 病理组织学大体观察与光镜观察结果

2.1.1 大体观察 24周实验期间共死亡8只,其中雌性致癌组5只。雄性致癌组3只。雌性大鼠胸腹部共有12~14个乳腺,乳头突出。雄性大鼠未观察到明显乳头及乳腺隆起。雌性致癌组在第13周时可扪及0.3 cm~0.5 cm乳腺内结节,至第24周发现14只大鼠共有26个乳腺肿瘤,其中1个乳腺发生肿瘤5只、2个乳腺发生肿瘤6只、3个乳腺发生肿瘤3只,肿瘤为实质性,最大者约为4 cm×3 cm×2 cm,位于乳腺组织中,呈浸润性生长,与乳腺组织无明显分界,大的肿瘤可占据整个乳腺或超出乳腺范围,可见侵及皮肤形成溃疡,见图1 8例在第17周后发现注射致癌剂处皮下软组织肿瘤,大小为1 cm×1 cm×1 cm~4 cm×3 cm×3 cm,可见侵及皮肤、形成溃疡和向臀及后肢肌肉浸润,肿瘤切面细腻呈鱼肉样,有的肿瘤部分区域有出血、坏死,7例(35%)为同时发生乳腺肿瘤和注射部位皮下软组织肿瘤。雄性致癌组7例在第17周后注射致癌剂处分别发现皮下软组织肿瘤,见图2,大体形态与在雌性致癌组在注射部位所见肿瘤相似。雌性对照组和雄性对照组在24周实验过程中大体检查未发现明显乳腺肿瘤和注射部位肿瘤。

2.1.2 光镜观察

2.1.2.1 雌性对照组 大鼠随生长乳腺逐渐发育,至第24周腺小叶发育良好,未见明显上皮细胞增生及不典型增生,未见乳腺良、恶性肿瘤。

2.1.2.2 雌性致癌组 至第24周共14只大鼠26个乳腺肿瘤均为恶性,参照人体乳腺癌的组织学分类,其中21个乳腺为乳腺浸润性导管癌、3个乳腺为腺癌,见图3,2个乳腺为乳头状腺癌,见图4,分化程度亦有明显差别。部分未发生乳腺癌的乳腺

* 基础部病理学教研室 重庆,630038
** 西南医院病理科 重庆,630038

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

可见上皮增生或不典型增生变化。

雄性致癌组和雄性对照组镜下观察未见明显乳腺组织结构,未见乳腺癌。

雌性致癌组和雄性致癌组所见注射部位肿瘤的镜下结构基本相似,肿瘤细胞呈梭形,核大深染、梭形,异形性明显,排列成编织状,呈浸润性生长,与人体纤维肉瘤的组织结构相似,见图 5,6

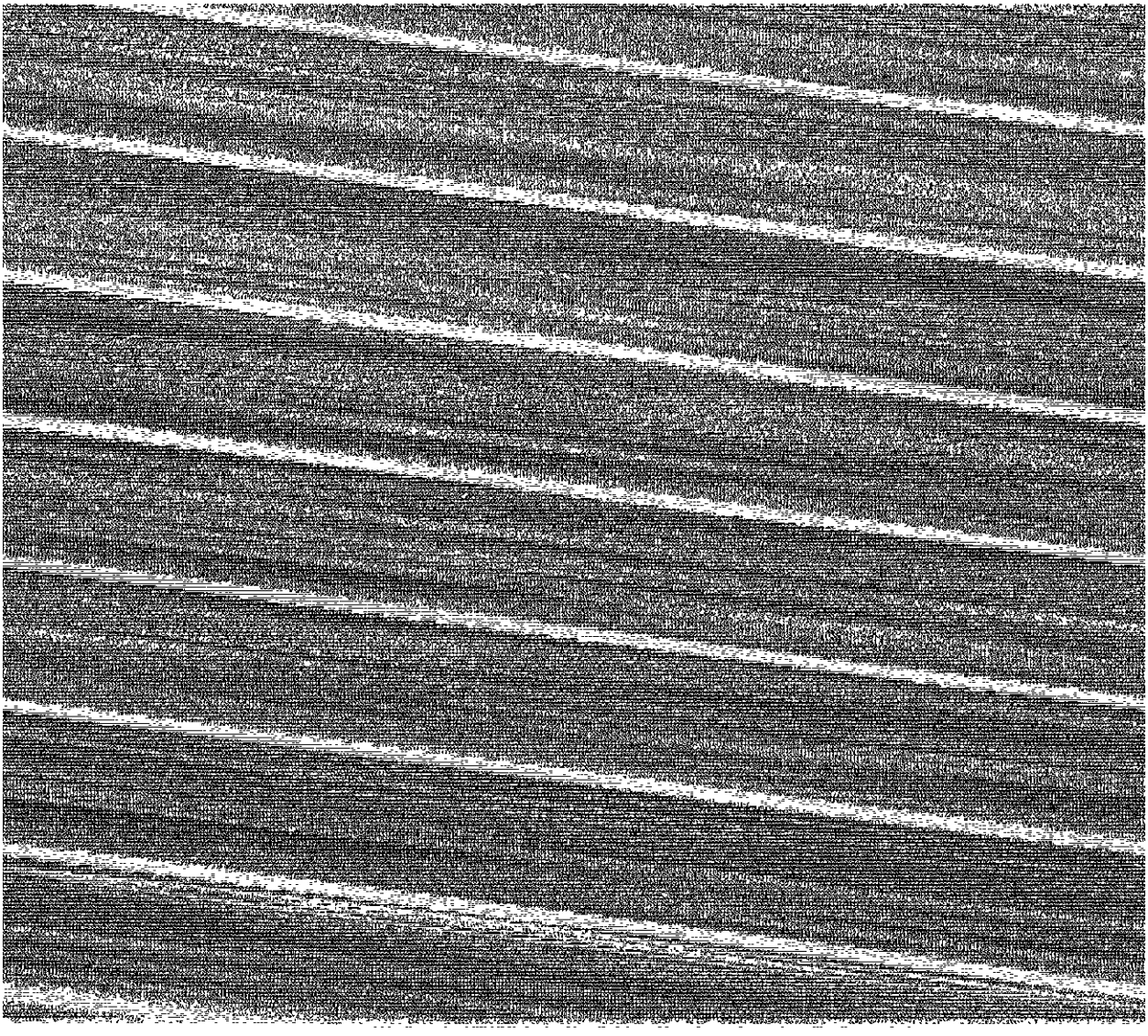


图 1 雌性 Wistar大鼠 DMBA诱导第 24周,可见乳腺及注射部位多发性肿瘤

Fig 1 DMBA-induced female Wistar rat in the 24th weeks, multiple primary tumors were found in mammary gland and the site of carcinogen injected

图 2 雌性 Wistar大鼠 DMAB诱导第 24周,可见注射致癌剂处发生肿瘤(↑)

Fig 2 DMBA-induced female Wistar rat in the 24th weeks, tumor was found in the site of carcinogen injected

图 3 雌性 Wistar大鼠 DMBA诱导第 24周,乳腺腺癌 (HE× 100)

Fig 3 DMBA-induced female Wistar rat in the 24th weeks, adenocarcinoma of mammary gland (HE× 100)

图 4 雌性 Wistar大鼠 DMBA诱导第 24周,乳腺乳头状腺癌 (HE× 200)

Fig 4 DMBA-induced female Wistar rat in the 24th weeks, papillary adenocarcinoma (HE× 200)

图 5 雌性 Wistar大鼠 DMBA诱导第 24周,注射部位纤维肉瘤 (HE× 60)

Fig 5 DMBA-induced female Wistar rat in the 24th weeks, fibrosarcoma in the site of carcinogen injected (HE× 60)

图 6 雄性 Wistar大鼠 BMDA诱导第 24周,注射部位纤维肉瘤 (HE× 400)

Fig 6 DMBA-induced male Wistar rat in the 24th weeks, fibrosarcoma in the site of carcinogen injected (HE× 400)

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

3　讨论

多发性原发性恶性肿瘤是指一个机体同时或先后发生两个以上的原发性恶性肿瘤,而非一个原发性肿瘤的其它组织或器官的转移。随着诊断治疗水平的提高,发现多发性原发性恶性肿瘤明显增多[1],它可发生于任何器官或组织[2,3]。研究同时或不同时发生的多发性肿瘤及其内在联系,可能有助于揭示癌瘤性的某些机理,提高对肿瘤发生的认识。

目前的对多发性原发恶性肿瘤研究多集中在提高临床的诊断和治疗水平,对其发生机理的研究较少[3,4]。而实验性多发性原发性恶性肿瘤少见报告。建立实验性多发性原发性恶性肿瘤动物模型对于探讨相同致癌剂所致同一个体不同组织学来源的肿瘤发生中的差异及其癌基因变化,不同促癌因素对组织学不同的肿瘤发生的影响差异,以及不同肿瘤对某种治疗反应的差别等,在肿瘤的发生、预防和治疗等研究中均有重要的理论和实际意义。

文献报道多用灌胃或乳腺局部涂用 DMBA诱发大鼠乳腺癌[5,6],本研究将致癌剂 DMBA制成混悬液经皮下注射诱导 Wistar大鼠肿瘤发生,雌性大鼠致癌组 70% 发生乳腺癌。其中 9只(45%)为多发性原发性乳腺癌;40%发生皮下纤维肉瘤,7只(35%)在实验期间同时发生组织学类型完全不同的乳腺癌和皮下纤维肉瘤。在一个动物同时建立癌和肉瘤的多发性原发性恶性肿瘤模型尚未见报告。组织形态学观察显示,诱发的乳腺癌组织学类型与人体乳腺癌相似,皮下肿瘤与人体纤维肉瘤的组织结构相似。该模型的建立对于多发性原发性恶性肿瘤的深入研究具有积极意义。

本实验用注射的方法给予致癌剂,致癌剂在注射部位局部浓度较高,结果发现致癌组除发生乳腺癌外,部分动物在注射部位发生了纤维肉瘤,说明 DMBA具有局部致癌作用[6]。有意义的是在不同分组中肿瘤发生情况有明显不同,在雌性和雄性致癌组均有部分大鼠发生注射部位纤维肉瘤,且组织学类型相同,说明 DMBA的局部致癌作用没有性别差异[7];但 70% 的雌性大鼠发生了乳腺癌而雄性大鼠未见乳腺癌发生,提示在雌性大鼠中雌激素作为重要的促进因子在化学诱导乳腺癌发生过程中起着不可忽视的作用[6],对这些现象的进一步深入研究有助于提高对不同肿瘤的发生机理的了解。

参考文献

1 吴凯南.多原发性恶性肿瘤的远期治疗和预后因素.中国肿瘤临床,1994;21(2):125

2 姜　军,王代科.肠道多发性原发性恶性肿瘤 5例报告.实用外科杂志,1983;3(3):167

3 潘　浩,卢国文,朱永红.多原发性恶性肿瘤 168例临床分析.肿瘤防治研究,1994;21(5):308

4 O′Riordain D S, O′Brien T, Crotty T B *et al*. Multiple endocrine neoplasia type 2B, more than an endocrine disorder. Surgery, 1995; 118(6): 936

5 Li S, Martel C, Dauvois S *et al*. Effect of estrone on the growth of 7, 12-dimethylbenz[a]anthrecene-induced mammary carcinoma in the rat: a model of postmenopausal breast cancer. Endocrinology, 1994; 134(3): 1352

6 Tsubura A, Shikata N, Inui T *et al*. Morphological and biological characteristics of mammary tumors induced by the direct application of DMBA powder to rat mammary glands. Virchows Arch [A], 1988; 414(1): 1

7 Tsubura A, Izuuo Y, Shoji T *et al*. Influence of strain and sex on the local development of mammary tumors induced by direst application of DMBA powder to rat mammary glands. Acta Pathol Jpn, 1990; 40(1): 9

(收稿:1996-07-09;修回:1996-09-27)

(编辑　王　红、沈锡庚)

An observation on 7, 12-dimethylbenz[a] anthrecene-induced model of multiple primary malignant tumors in rats

Jiang Jun, Chen Yisheng, Zhan Xinen, Ma Hongmin, Liu Fenxuan (Department of General Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

Abstract　The models of multiple primary mammary gland carcinoma and fibrous sarcoma induced by hypodermal injection of 7, 12-dimethylbenz[a] anthrecene (DMBA) were established in Wistar rats. Twenty-four weeks after the injection, it was observed that 70% of the female rats exhibited mammary gland carcinoma. Among them, 45% were with multiple primary mammary gland carcinoma and 40% with subcutaneous fibrous sarcoma. During the experiment, 35% of the female rats exhibited both kinds of malignant tumors while 33.3% of the male ones exhibited only subcutaneous fibrous sarcoma. The establishment of the model is important for further studies of multiple primary malignant tumors.

Key words　multiple primary malignant tumor; Wistar rat

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