DOI:10.16016/j.1000-5404.1993.04.002

二甲肼诱发大鼠大肠癌的组织学动态观察

阎晓初 柳凤轩 贺光友 于冬梅 王宗前 (第三军医大学西南医院病理科) 630038

提 要 作者对DMH诱发大鼠大肠癌过程进行了动态研究,结果显示40只大鼠在DMH作用下,大肠粘膜显示不同程度的病变。实验第8周,大肠粘膜呈现早期增生性改变;第10～15周主要表现为粘膜轻、中度不典型增生;第18～32周除粘膜不典型增生外,大肠腺瘤和癌逐渐形成,其中检出腺瘤14个,原位癌10个,浸润性癌35个。20只对照大鼠大肠粘膜无明显病变。提示大肠癌的组织发生系经过粘膜增生→不典型增生或腺瘤→原位癌→浸润性癌的发展过程,证实不典型增生是大肠癌重要的癌前病变。

关键词 二甲肼;大肠肿瘤;粘膜不典型增生;大鼠

多年来,对于大肠癌的组织发生问题一直存在着争议[1,2],其早期诊断亦很困难。实验性大肠癌动物模型的建立为大肠癌的发生、早期诊断和治疗等研究提供了重要手段。本文通过动态观察DMH诱发大鼠大肠癌过程中的病理变化,进一步探讨大肠癌的组织发生及其发展过程,为临床早期诊断提供参考。

1 材料与方法

1.1 动物

Wistar大鼠60只,雌雄各半(本校动物中心提供)。开始实验时体重165～250g,平均约205g,随机分为实验组40只,对照组20只,每组雌雄各半,饲以标准固体饲料,任意饮水,于室温20±3℃,湿度40%±5%环境下分笼饲养。

1.2 致癌剂

1,2-DMH (1,2-dimethylhydrazine, 二甲肼,美国Sigma公司产品),溶解于0.9% NaCl配成0.5%注射液,再以0.1mol/L NaOH调至pH8.5。实验组以20mg/kg/week臀部皮下注射;对照组以0.9% NaCl等量每周注射,两组同时进行持续20周,自实验开始于第8、10、12、15、18、20、22、23、24、25、26、28、29、31周分别处死实验组大鼠2只,对照组1只,其余大鼠于32周全部处死。

1.3 取材

大鼠处死后,即剖开胸腹腔,观察内脏有无肿瘤或病变,取出大肠,将其由肛门口向上剖开至盲肠,观察计数肠腔内肿瘤形态,测量其大小,置入10%福尔马林液固定24～48h,采用"卷席法"对全部大肠及肿瘤取材,石蜡包埋、连续切片,HE染色。参照人体大肠癌诊断标准分类、分级。

2 结果

2.1 大体观察

对照组:20只大鼠大肠粘膜光滑,未见明显病变。

实验组:DMH注射后,大肠粘膜显示不同程度的病变,其中24只大鼠诱发出大肠肿瘤,诱发率为60.00%,共发生肿瘤59个,单发肿瘤7只,多发17只,最多发生6个,肿瘤最小者直径2mm,最大者20mm。根据大肠粘膜皱壁形态区分远、近大肠,近端大肠呈环状皱壁,远端大肠呈纵行皱壁。其中发生于近端大肠肿瘤17个,远端大肠42个。肉眼分型:隆起型46个(其中有蒂型11个,宽基型27个,扁平隆起型8个)、溃疡型13个。

本实验中,DMH注射第8～15周,肉眼观察除部分灶性粘膜增厚外,未见肿瘤发生;第18～24周,10只大鼠中6只发生肿瘤,诱发率为60.00%,共计肿瘤9个,3只呈单发性肿瘤;第25～32周,肿瘤诱发率明显升高,达80.00%以上,共计肿瘤50个,呈多发性为主,肿瘤直径亦增大。此期还观察到1例同时诱发小肠肿瘤;5例出现血性腹水,8例发生肠系膜淋巴结转移,其中1例见肝脏转移灶。

2.2 组织学观察

对照组:大肠粘膜腺体规则,呈直管状,富于杯状细胞和吸收细胞,多分布于腺体上1/2段,除个别

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

区域固有层显轻度水肿外，无异常改变。

实验组：DMH 注射过程中，大鼠大肠粘膜均显示不同程度的改变(见表1)。

表1 DMH 诱发大鼠大肠癌过程的组织学动态变化

Tab 1 Histological changes of colorectal carcinogensis induced by DMH in rat

Time (week)	No. of rats	Mucosal changes		Types of tumor		
		Hyperplasia	Dysplasia	Adenoma	CIS	IVC
8th	2	4	…	…	…	…
10～15th	6	9	9	…	…	…
18～24th	10	10	7	4	3	2
25～31th	10	7	7	6	5	10
32th	12	7	5	4	2	23
Total	40	37	28	14	10	35

CIS：carcinoma in situ；IVC：invasive carcinoma

第8周：2只大鼠均显示灶性上皮细胞增生改变，大肠腺体变长，腺腔扩张，杯状细胞常增多，含丰富的粘液，上皮细胞核排列紧密位于基底部。

第10～15周：主要呈现大肠上皮不典型增生，其腺体呈管状、分枝状，杯状细胞减少，吸收细胞胞浆嗜酸，胞核高柱状复层，排列紧密。共检出9个不典型增生灶，多为轻度。于第10周观察到的最小病变为单一腺管的不典型增生，位于粘膜表层(图1)；第12、15周显示不典型增生腺体增多，并压迫原有腺管，部分向粘膜表面增殖，有积聚现象，部分向下增生(图2)。



图1 大肠粘膜单一腺管不典型增生，位于粘膜表层 HE×160

Fig 1 There is a dysplasia of the single gland in the surface mucosa of the large intestine HE×160

图2 大肠粘膜不典型增生腺体增多，亦向下增殖 HE×160

Fig 2 Increasing dysplastic glands in the large intestine and grwing deeply HE×160

第18～24周：有6只大鼠诱发肿瘤，共计9个，腺瘤4个，其中轻度不典型增生2个，中度不典型增生2个(图3)；原位癌灶3个(1个为乳头状腺瘤癌变)，浸润性癌灶2个，均为高分化管状腺癌，浸润深度为粘

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

膜下层。同时，检出粘膜不典型增生灶7个，多呈轻度不典型增生改变。

第25～31周：8只大鼠诱发肿瘤21个，其中腺瘤6个，均伴有中、重度不典型增生；原位癌灶5个（1个为乳头状腺瘤癌变）；浸润性癌灶10个（高分化腺癌5个，低分化腺癌3个，印戒细胞癌1个，粘液腺癌1个），浸润深度多达肌层和浆膜层，3例伴有肠系膜淋巴结转移。并检出粘膜不典型增生灶8个，多为中、重度不典型增生。

第32周：10只大鼠诱发肿瘤29个，腺瘤4个，呈中、重度不典型增生，原位癌灶2个，浸润性癌23个，其中高分化腺癌9个（图4），中分化腺癌3个，低分化腺癌3个，印戒细胞癌5个，粘液腺癌3个。浸润深度达肌层与浆膜层。5例见有肠系膜淋巴结转移，1例发生肝脏转移。此期粘膜不典型增生灶较少，呈中、重度改变。

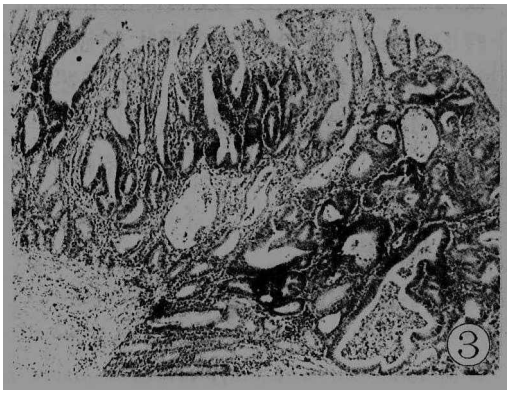




图3　大肠管状腺瘤伴中度不典型增生　　HE×80

Fig 3　The tubular adenoma with moderate dysplasia in the large intestine　　HE×80

图4　大肠高分化管状腺癌　　HE×80

Fig 4　Well-differentiated adenocarcinoma in the large intestine　　HE×80

2.3 诱发肿瘤类型与发生部位的关系（见表2）

本组诱发的59个肿瘤中，腺瘤14个，13个发生于远端大肠，均显示不同程度的不典型增生，并有2例发生癌变，本组高分化腺癌23个，其中19个位于远端大肠。大体类型，隆起型多见于远端结肠，溃疡型多在近端结肠。

表2　诱发肿瘤与发生部位的关系

Tab 2　The relation of tumors and sites

Sites	No. of tumors	Gross types		Histological types					
		Polypoid	Ulceration	Adenoma	WDA	MDA	PDA	MA	SRCC
Proximal	17	9	8	1	4	1	4	2	5
Distal	42	37	5	13	19	2	3	2	3
Total	59	46	13	14	23	3	7	4	8

WDA：well-differentiated adenocarcinoma；MDA：moderated-differentiated adenocarcinoma；PDA：poor-differentiated adenocarcinoma；MA：mucinous adenocarcinoma；SRCC：signet-ring cell carcinoma.

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

3 讨论

一个时期以来，对于大肠癌的组织发生一直存在两种学说，互有争论。多数学者认为大肠癌由息肉-癌演变发生[1,3]，他们提出除溃疡性结肠炎并发的大肠癌外，其余大肠癌均系息肉癌变引起。然而，在人体许多手术切除的肠癌中，很难找到息肉存在。为此，又出现另一种学说认为大肠癌是由大肠扁平粘膜直接发生[2,4]。但在人体大肠癌仍缺乏充分的证据，仅在一些动物模型显示扁平粘膜直接发生[4]。嗣后，有人又提出大肠癌的生长破坏了先前存在的息肉结构，仍支持大肠癌系息肉癌变发生[5]。本实验 DMH 注射第18～32周，大肠肿瘤逐渐形成，7例单发性肿瘤中，2例为腺瘤，3例原位癌（其中2例为腺瘤癌变），2例浸润性癌；17例多发性肿瘤，8例呈腺瘤与癌同时存在，9例呈原位癌和（或）浸润性癌，而无腺瘤改变，仅在大肠粘膜观察到不典型增生灶。表明大肠癌可能与腺瘤和粘膜不典型增生有关。因此，我们从 DMH 诱发大鼠大肠癌动物模型中证实大肠癌既可由腺瘤-癌演变发生，也可经扁平粘膜直接发生。此论点与我们先前对人体大肠息肉和移行粘膜的研究结果相符[6,7]。

Shamsuddin[8]对人体大肠癌的研究发现，右半结肠癌常呈外生性生长，左半结肠癌多为扁平浸润性生长，认为右半结肠息肉发生率高于左半结肠，提出右半结肠癌多由息肉癌变发生，而左半结肠癌主要经粘膜直接发生。我们通过对动物实验性大肠癌的观察，结果与其相反，在诱发的14个腺瘤中，13个位于远端大肠，仅1个在近端大肠。且近端大肠癌多为溃疡型，远端大肠癌则隆起型多见。故我们认为近端大肠癌可能主要经粘膜直接发生，而远端结肠癌多由腺瘤癌变引起，对其两者部位不同的原因，尚须进一步探讨。

Filip[9]在实验性大肠癌中，曾观察到 DMH 用药第4周，大肠粘膜呈上皮增生的早期病变，随着实验的进程，第15周，出现不典型增生病变逐渐增多，甚至有的形成原位癌。第19周时，开始发生浸润性癌。本组 DMH 注射后，其大肠粘膜病变与 Filip 的报道基本相符。通过动态的观察，支持大肠癌系经腺瘤和扁平粘膜不典型增生两种方式发生的统一性观点。并提示不典型增生很可能是重要的癌前病变。与此同时，随 DMH 注射次数增加，浸润性癌灶发生增多，浸润深度增加，且出现腹腔转移和血性腹水。表明大肠癌的发生呈一种动态的病理变化过程。综上所述，通过应用 DMH 诱发大鼠大肠癌过程的组织学演变分析，我们认为大肠癌发生系经粘膜上皮增生→不典型增生或腺瘤→原位癌→浸润性癌的发展过程。

参考文献

1. Morson BC. The polyp-cancer sequence in the large bowel. Proc R Soc Med, 1974; 67: 451
2. Filipe MI. Transitional mucosa. Histopathology, 1984; 8: 707
3. Muto T, Bussey HJR, Morson BC. The evolution of cancer of colon and rectum. Cancer, 1975; 36: 2251
4. Maskens AP, Dujardin-Loits RM. Experimental adenomas and carcinomas of the large intestine behave as distinct entities: most carcinomas arise de novo in flat mucosa. Cancer, 1981; 47: 81
5. Sundblad AS, Paz RA. Mucinous carcinomas of the colon and rectum and their relation to polyps. Cancer, 1982; 50: 2504
6. 阎晓初 柳凤轩 陈意生，等。大肠息肉的癌变倾向——附255例的粘液化研究。肿瘤防治研究，1992; 19: 240
7. 郭山春 柳凤轩 陈意生，等。大肠癌癌旁移行粘膜的病理学研究及临床意义。第三军医大学学报，1991; 13(3): 235
8. Shamsuddin AKM. Comparative pathology-human large intestinal cancer and animal models.

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

In: Autrup H and Williams GM. Experimental colon carcinogenesis. Boca Raton, Florida: CPC Press, 1983: 125～138

9. Filipe MI. Mucous secretion in rat colonic mucosa during carcinogenesis induced by dimethlhydrazine. A morphological and histochemical study. Br J Cancer, 1975; 32: 60

(收稿: 1993-02-02; 修回: 1993-06-10)

Dynamical histological observation on 1, 2-DMH induced coloectal carcinoma in rats

Yan Xiaochu, Liu Fengxuan, He Guangyou, Yu Dongmei, Wang Zongqian (Department of Clinical Pathology, Southwest Hospital, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract The carcinoma of the large intestine induced by 1,2-DMH was studied in rats. It was found that hyperplasia of the colorectal mucosa was found in the 8th week after 1,2-DMH administration, mild or moderate dysplasia of the colorectal mucosa in the period from 10th to 15th week, and colorectal adenomas or carcinomas besides mocosal dysplasia in the period from 18th to 32nd week. Altogether, 14 adenomas, 10 carcinomas in situ and 35 invasive carcinomas were seen. These findings suggest that the histogenesis of colorectal carcinoma is a developmental process from mucosal hyperplasia, through dysplasiaor adenoma and carcinoma in situ, to invasive carcinoma, and mucosal dysplasia is an important precancerous lesion.

Key words 1,2-DMH; colorectal neoplasms; mucosal dysplasia; rat

论文摘要

定量张力对家兔正中神经急性损伤的实验研究

殷玉芹 何光篪 刘正津 (第三军医大学基础部解剖学教研室) 630038

本文通过建立在体神经瞬时应力和应变定量的单纯性牵拉伤动物模型，采用弦式加载法和直线式加载法，分别对游离神经、非游离神经受到急性牵拉后的力学表现，定量张力与神经的形态结构、内部微循环、传导功能变化的相互关系和各级损伤的临界点进行了研究。

实验结果表明：①牵拉伤是机械性牵拉、持续性压迫和缺血三种主要致伤因素共同作用形成的；②以束中心病变为主，Ranvier's 结为薄弱部位，髓鞘为敏感结构成份的纵行广泛分布的特征性损伤，是急性牵拉伤的主要标记；③游离的家兔正中神经延长的生理极限是2.85%±1.44%，应力为12.63±4.78g·(mm²)⁻¹；损伤的临界点为：延长8.57%±1.14%，应力为22.56±3.28g·(mm²)⁻¹；神经纤维的断裂点为延长32.85%±5.11%，应力为182.08±26.11g(mm²)⁻¹；神经干断裂点为延长72.5%±9.4%，应力为361.04±85.6g·(mm²)⁻¹。非游离神经生理极限的延长是1.51±0.28cm，载荷为18.28±3.09g；损伤临界点为延长4.49±1.63mm，载荷为58.07±2.26g；神经干断裂点为延长15.65±3.10mm，载荷为266.74±84.27g。④神经承受急性牵拉时，最先影响的是神经内静脉回流，以后髓鞘发生肿胀、变性，轴突拉长、受压，轴浆内细胞器聚集。随着牵拉的持续，髓鞘发生节段性脱失，轴突呈串珠样改变，并在 Ranvier's 结区锥状变细，此时动作电位开始下降，毛细血管内皮细胞间连接破坏，血管通透性增加，蛋白质外渗，有效循环血量明显减少。进一步牵拉，则发生神经内血栓形成，供血中断，动作电位持续下降，轴突极其细小，离开正常位置，与 Schwann's 鞘脱离，被挤向一侧。在神经干断裂前，内部微循环已完全停止，组织结构损伤严重，但动作电位大部分仍存在。文中还讨论了神经的力学表现及其生物学意义，并对急性牵拉伤可能的损伤机制和本研究的临床意义进行了综合评价。

关键词 定量张力；神经损伤；力学表现；正中神经；活体

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