

SD大鼠自发性胰岛细胞癌伴多发性肝转移

柳云恩, 姚宝玉, 杨冬华, 王捷

柳云恩, 姚宝玉, 杨冬华, 王捷, 国家沈阳新药安全评价研究中心 辽宁省沈阳市 110141

作者贡献分布: 本文由姚宝玉负责病理诊断; 杨冬华提供相关材料; 柳云恩完成写作; 王捷进行修改指导。

通讯作者: 姚宝玉, 高级工程师, 110141, 辽宁省沈阳市, 国家沈阳新药安全评价研究中心. yaobaoyu@sinochem.com

收稿日期: 2011-08-12 修回日期: 2011-10-15

接受日期: 2011-10-28 在线出版日期: 2011-11-08

Spontaneous islet cell carcinoma with multiple liver metastases in a Sprague-Dawley rat

Yun-En Liu, Bao-Yu Yao, Dong-Hua Yang, Jie Wang

Yun-En Liu, Bao-Yu Yao, Dong-Hua Yang, Jie Wang, National Research Center For New Drug Safety Evaluation (Shenyang), Shenyang 110141, Liaoning Province, China

Correspondence to: Bao-Yu Yao, Professor, National Research Center For New Drug Safety Evaluation (Shenyang), Shenyang 110141, Liaoning Province, China. yaobaoyu@sinochem.com

Received: 2011-08-12 Revised: 2011-10-15

Accepted: 2011-10-28 Published online: 2011-11-08

Abstract

AIM: To analyze the biochemical and morphological characteristics of spontaneous islet cell carcinoma with multiple liver metastases in a Sprague-Dawley rat to provide a theoretical basis for the study of the disease.

METHODS: The animal was anesthetized with ether at the end of a carcinogenicity study. Blood samples were collected via the abdominal aorta and used for hematology and serum biochemistry. Meanwhile, the animal was subjected to detailed gross observation, and all abnormal tissue samples were taken for histopathology examination.

RESULTS: A pancreatic neoplasm measuring 4.0*5.0 cm was noted in a 104-wk-old male Sprague-Dawley rat which was used as a control in a carcinogenicity study. The tumor cells were similar to normal islet cells, but showed a highly variable pattern. The tumor compressed and invaded into the vessels and adjacent tis-

sues. There were multiple foci of metastasis in portal areas and sinusoid of the liver. Neutrophil count ($3.63 \times 10^9/L$) and neutrophil percentage (42.00%) were significantly higher than the normal reference ranges. Blood glycogen (2.07 mmol/L) was significantly lower than the normal reference range.

CONCLUSION: A spontaneous islet cell carcinoma with multiple liver metastases was diagnosed in a Sprague-Dawley rat.

Key Words: Sprague-Dawley rat; Spontaneous islet cell carcinoma; Metastasis; Liver

Liu YE, Yao BY, Yang DH, Wang J. Spontaneous islet cell carcinoma with multiple liver metastases in a Sprague-Dawley rat. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(31): 3237-3241

摘要

目的: 探讨SD大鼠罕见的自发性胰岛细胞癌伴多发性肝转移病例的生化表现和形态学特征, 为研究该疾病提供理论参考。

方法: 致癌试验结束后, SD大鼠乙醚麻醉, 进行腹主动脉采血, 所采血液用于血常规和血液生化相关指标的检测; 同时, 对SD大鼠进行仔细的大体观察, 并对病变组织进行取材, 制成病理切片, 进行形态学观察。

结果: 在致癌试验的104 wk, 雄性对照组SD大鼠胰腺上发现一个约为4.0*5.0 cm大小的肿物。组织学检测发现, 肿瘤细胞与正常胰岛细胞类似, 但细胞排列方式多样, 肿瘤压迫并侵袭间质血管和周围被膜; 此外, 在肝脏血窦和汇管区也发现多个转移灶。血液学结果表明, 中性粒细胞绝对数(NEUT#: $3.63 \times 10^9/L$)和相对数(NEUT%: 42.00), 均显著高于同周龄雄性SD大鼠正常参考值范围(1.13×10^9 - $2.55 \times 10^9/L$, 16.01-27.77); 血糖(Glu: 2.07 mmol/L), 显著低于其同周龄雄性SD大鼠正常参考值范围(5.82-8.86 mmol/L)。

结论: 该肿瘤诊断为SD大鼠自发性胰岛细胞

■背景资料

不同种属/品系大鼠自发性胰岛细胞癌发病率非常罕见, 他通常仅表现为局部侵袭, 很少发生远处转移。

■同行评议者

陈钟, 主任医师, 南通大学附属医院普外科; 单云峰, 副主任医师, 温州医学院附属第一医院肝胆外科

■研发前沿

目前SD大鼠自发性胰岛细胞癌发病病因尚不清楚,如何制备该肿瘤转移模型是当前研究的热点之一。

癌伴多发性肝转移。

关键词: SD大鼠; 自发性胰岛细胞癌; 转移; 肝脏

柳云恩, 姚宝玉, 杨冬华, 王捷. SD大鼠自发性胰岛细胞癌伴多发性肝转移. 世界华人消化杂志 2011; 19(31): 3237-3241
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3237.asp>

0 引言

胰岛是胰腺的内分泌腺, 一个胰岛的体积仅约为100-200 μm , 但由于其分泌胰岛素和胰高血糖素等激素, 负责调解机体血糖稳定和细胞代谢, 因此, 胰岛具有不可忽略的作用. 在成年大鼠, 胰岛约占胰腺重量的1%-2%^[1], 正常胰岛细胞呈多角形, 淡染, 胞浆略嗜酸性, 核圆形, 胰岛细胞排列成索状, 胰岛周围无包膜^[2]. 胰岛细胞瘤为人类少见的胰腺肿瘤, 其中90%为良性肿瘤, 10%为恶性肿瘤^[3]. 自发性胰岛细胞瘤在不同品系大鼠中发生率较低, 老龄BN/Bi大鼠自发率约为11%-15%^[4], F344大鼠自发率不超过6%^[5], 蒙古沙鼠的自发率为3.7%^[6]. 自发性胰岛细胞瘤在SD大鼠出现较晚, 一般发生在17 mo后^[7], 24 mo后发生率轻度增加. 然而, BASF大鼠胰岛细胞瘤发生率未发现随时间增加的趋势^[8]. 胰岛细胞一般经过缓慢变化, 逐渐由增生发展为腺瘤, 最终发展成癌. 因此, 从细胞形态和组织结构上讲, 胰岛细胞瘤很大程度上与正常起源的胰岛细胞类似. 然而, 关于不同种属自发性胰岛细胞癌报道更是极为罕见, 狒狒胰岛细胞癌的发生率仅为0.3%^[9]. CD小鼠胰岛细胞癌发生率较低, 且存在性别差异, 雄性发病率为2.4%, 而雌性仅为1%. 与小鼠不同的是, 人类胰岛细胞癌发生率未发现性别差异, 大鼠胰岛细胞癌通常仅表现为局部侵袭, 较少情况下可转移到肝、肺和骨^[10]. 迄今为止, 关于SD大鼠自发性胰岛细胞癌伴多发性肝转移的病例, 国内尚未见报道.

1 材料和方法

1.1 材料 SPF级♂SD大鼠, 104 wk, 体质量689 g, 是2年慢性/联合致癌试验对照组动物(编号: 1029), 购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司. 引入时5 wk, 观察及适应7 d后用于试验. 在GLP试验体系下, 动物饲养于悬挂式不锈钢饲养笼内, 温度20 $^{\circ}\text{C}$ -25 $^{\circ}\text{C}$, 湿度50% \pm 20%, 照明为12 h明暗交替, 噪音60 dB以下. 动物饲料为全营养饲料, 经60 $^{\circ}\text{C}$ 灭菌, 由沈阳市于洪区前民动物饲养场提供. 饮水经HT-R0500型净水系统制备, 动物可自由摄食饮水. 动物使用及试验过程接受本中心动

物管理委员会(IACUC)的监督.

1.2 方法

1.2.1 解剖及大体观察: 在试验的第104周进行解剖, 解剖前对大鼠进行禁食禁水. 乙醚麻醉后, 进行腹主动脉采血, 所采血液用于血常规和血液生化检测. 解剖时对动物进行仔细的观察, 发现在胰腺胃段和脾段有一个4.0 cm \times 5.0 cm大小的肿物, 质硬, 切面呈现多个出血点; 肝脏表面有多个大小不等的白色斑点, 其他脏器均未见异常. 对胰腺和肝脏病变部位进行常规取材、脱水和包埋后, 制成玻片, 用于组织病理学诊断.

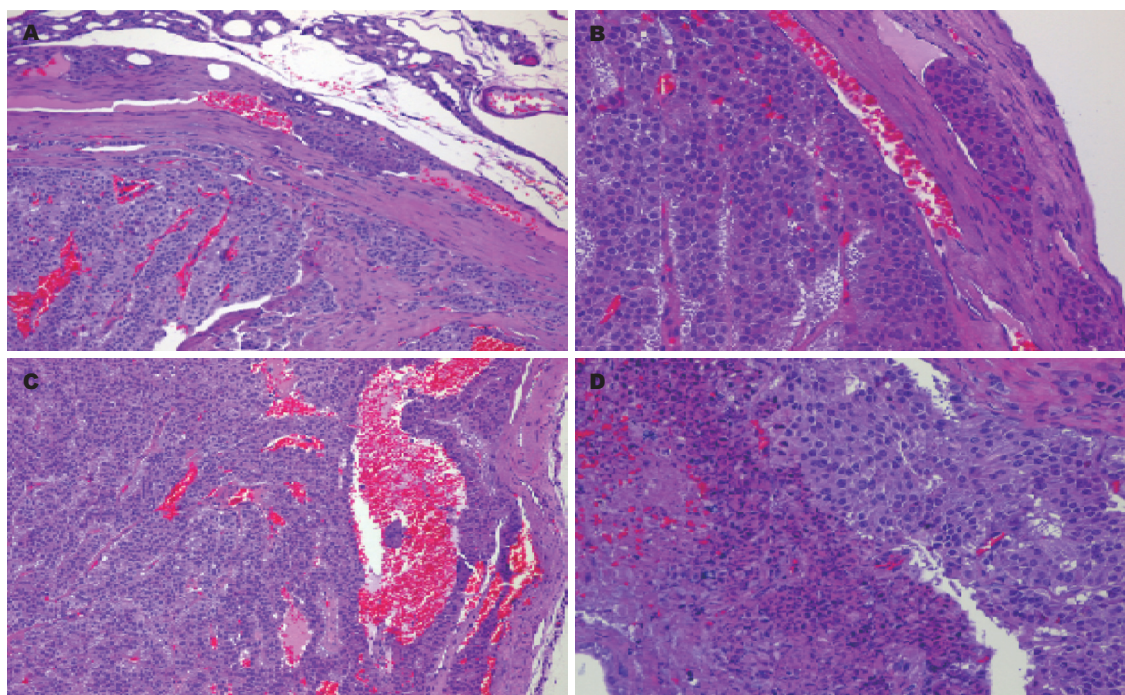
1.2.2 血常规检查: 腹主动脉采血1-2 mL, 全血用EDTA-K₂抗凝, 采集的血液在碎冰中或冰袋上保存, 采用日本sysmex XT-2 000i自动血液分析仪测试. 检测项目包括: 红细胞总数(red blood cell, RBC)、血红蛋白浓度(hemoglobin, HGB)、红细胞压积(hematocrit, HCT)、平均红细胞体积(mean corpuscular volume, MCV)、平均血红蛋白(mean hemoglobin, MCH)、平均血红蛋白浓度(mean concentration of hemoglobin, MCHC)、血小板总数(platelet, PLT)、白细胞总数(white blood cell, WBC)、淋巴细胞数(lymphocyte, LYMPH)、单核细胞数(mononuclear cells, MONO)、中粒细胞数(neutrophil, NEUT)、嗜酸粒细胞数(eosinophilic granulocyte, EO)、嗜碱粒细胞数(basophilic cell, BASO)、淋巴细胞百分率(LYMPH%)、单核细胞百分率(MONO%)、中粒细胞数百分率(NEUT%)、嗜酸粒细胞百分率(EO%)和嗜碱粒细胞百分率(BASO%).

1.2.3 血液生化检查: 用促凝剂/分离凝胶真空采血管腹主动脉采集血液1-5 mL, 采集的血液在室温下放置5-10 min后置于冰袋上保存, 采集后1 h内离心分离血清, 用日立-7180型自动生化分析仪测定. 检测项目包括: 天门冬氨酸氨基转移酶(aspartateaminotransferase, AST)、丙氨酸氨基转移酶(alanine transaminase, ALT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、总胆固醇(cholesterol, CHO)、总胆红素(total bilirubin, T-BIL)、总胆汁酸(total bile acid, TBA)、总蛋白(total protein, TP)、白蛋白(albumin, ALB)、球蛋白(globulin, GLB)、白/球(A/G)、尿素(creatinine, UREA)、肌酐(creatinine, CREA)、血糖(GLU)和甘油三酯(Triglyceride, TG).

1.2.4 脏器称质量: 使用BS300S-WEI型电子天平对脑、脾脏、心脏、肝脏、肺脏、肾脏、肾

■相关报道

国外关于胰岛细胞瘤的报道很多, 不同种属或品系其发病率存在较大的差别.



■创新盘点

本文首次在国内详细介绍了SD大鼠罕见的自发性胰岛细胞癌伴多发性肝转移病例的血液生化指标变化及组织病理学特征。

图1 胰岛细胞癌. A: 肿瘤组织外包一层较厚的被膜, 肿瘤细胞压迫被膜(HE × 100); B: 肿瘤细胞呈索状排列, 并侵袭到被膜内(HE × 200); C: 肿瘤细胞排列多种多样, 呈岛状、索状、柱状和片状排列, 间质血窦充血明显(HE × 100); D: 可见大片坏死组织, 在坏死组织内可见新生血管(HE × 200).

表1 SD大鼠血常规结果

动物号	检查指标	结果	95%参考值范围 ¹
1029	WBC($10^9/L$)	8.65	5.83–11.94
	RBC($10^{12}/L$)	7.14	7.19–8.60
	HGB(g/L)	137.00	135.68–158.66
	PLT($10^9/L$)	1234.00	963.56–1284.66
	LYMPH(%)	66.90	62.41–75.05
	LYMPH#($10^9/L$)	4.06	3.86–7.98
	MONO(%)	8.20	3.86–9.78
	MONO#($10^9/L$)	0.88	0.30–1.08
	NEUT(%)	42.00*	16.01–27.77
	NEUT#($10^9/L$)	3.63*	1.13–2.55

¹95%参考值范围: 本单位109周龄雄性SD大鼠的血常规背景数据。

上腺和睾丸进行称质量。所有称质量脏器在称质量时即可直接录入到“毒性病理1.0”软件中, 并计算相应脏器的脏体比和脏脑比。

2 结果

2.1 血液学结果 中性粒细胞绝对数(NEUT#)和相对数NEUT(%)均显著高于其同周龄雄性SD大鼠95%参考值范围, 其他参数未见异常变化(表1)。血液生化各参数指标中, 血糖Glu(2.07 mmol/L), 显著低于其同周龄雄性SD大鼠95%参考值范围(5.82–8.86 mmol/L)。

2.2 脏器重量结果 SD大鼠脑、脾脏、心脏、肝脏、肺脏、肾脏、肾上腺和睾丸脏器绝对重量和脏器系数均未见明显变化。

2.3 病理组织学 肿瘤表面被覆一层较厚的、不规则被膜, 肿瘤细胞压迫并浸润被膜, 被膜外可见萎缩的外分泌胰腺组织残留(图1A); 肿瘤细胞呈索状排列, 细胞嗜酸性较强, 异型性不明显, 核分裂象少见, 在被膜内清晰可见侵袭的肿瘤细胞(图1B); 肿瘤细胞呈岛状、索状、柱状和片状排列, 血窦充血明显, 血管内可见散在的肿瘤细胞团(图1C); 肿物组织局部可见大片坏死组织, 坏死组织内可见新生血管, 肿瘤细胞嗜碱性较强(图1D)。

在肝脏汇管区可见呈“玫瑰花环”状排列的肿瘤细胞转移灶, 花环内部可见扩张的血窦, 肿瘤右下角可见正常胆管(图2A); 肝脏血窦内可见另一处呈索状或柱状排列的转移灶, 间质血管少见(图2B); 肝脏内可见与正常胰岛细胞相似、呈岛状排列的细胞灶, 未见明显细胞异型性和核分裂象, 肿瘤细胞内可见散在的变性/坏死肝细胞, 肿瘤间质血管较少(图2C); 肝脏血窦内可见大片的肿瘤细胞转移灶, 肿瘤细胞排列多样, 呈柱状、岛状、索状, 肿瘤间质血管丰富(图2D)。

3 讨论

自发性胰岛细胞癌在不同种属/品系动物的发

■应用要点

通过本文对SD大鼠自发性胰岛细胞癌伴多发性肝转移病例的详细描述,可以为研究该疾病动物模型的发病机制提供理论参考.

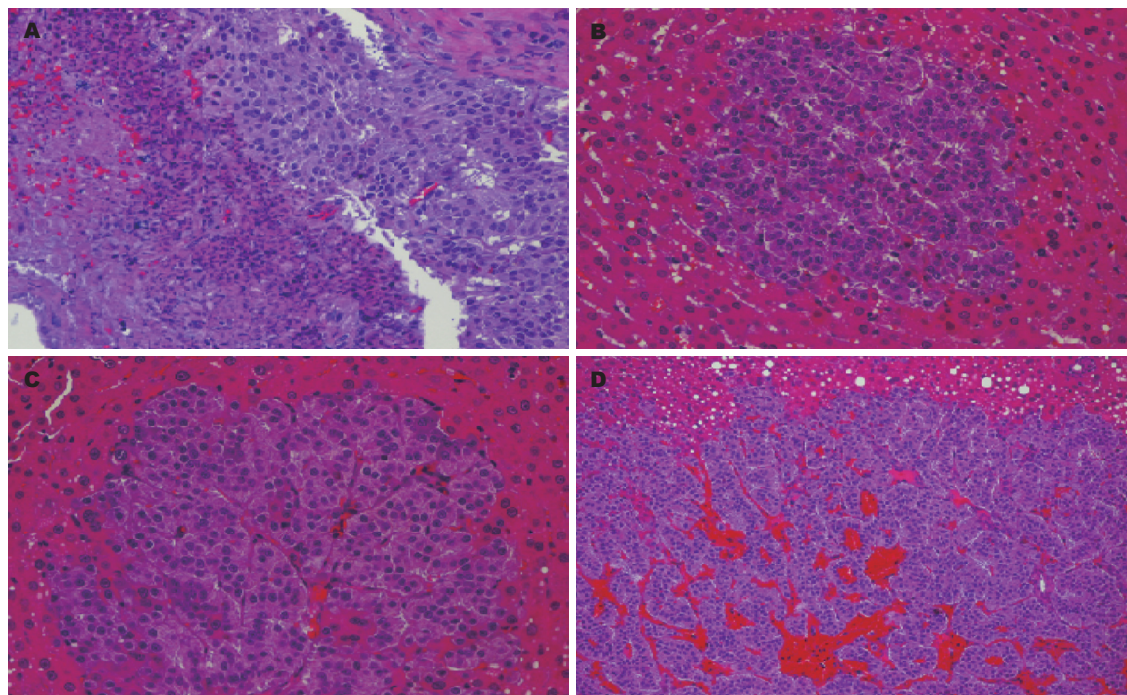


图2 胰岛细胞癌多发性肝转移. A: 在肝脏汇管区可见微小转移灶, 右下角可见正常胆管(HE × 100); B: 另一个肿瘤细胞转移灶, 细胞呈索状或柱状排列(HE × 100); C: 肿瘤细胞呈岛状, 肿瘤细胞与正常胰岛细胞相似(HE × 200); D: 肿瘤细胞排列多样, 呈柱状、岛状、索状、肿瘤间质血管丰富(HE × 200).

病率均非常罕见, 他通常仅表现为局部侵袭, 很少发生远处转移^[11]. 本研究在2年慢性/致癌试验104 wk雄性对照组胰腺发现一个约4.0 cm×5.0 cm大小的肿物, 镜检发现该肿瘤细胞与正常胰岛细胞相似, 呈多角形, 淡染, 胞浆略嗜酸性, 核近圆形, 核分裂象少见; 但肿瘤细胞排列与正常细胞截然不同, 细胞排列方式多样, 呈柱状、岛状、索状等, 肿瘤间质血管丰富, 且肿瘤组织有一层不规则的被膜, 压迫并侵袭周围组织和间质血管. 由此, 我们推测该肿瘤可能为胰岛细胞癌, 并极有可能发生了远处转移. 转移是恶性肿瘤的主要特征之一, 也是导致动物死亡的主要原因^[12]. 癌以淋巴转移为主, 局部淋巴结是癌转移的主要场所, 晚期癌症以血液转移为主^[13]. 经过对肠系膜淋巴结、颌下淋巴结肝和肺等脏器进行仔细观察发现, 淋巴结中未发现转移的肿瘤细胞, 提示肿瘤可能不是以淋巴转移的方式播散为主. 然而, 在肝脏血窦和汇管区发现了大小不等的转移灶, 这些细胞与胰岛细胞相似, 排列方式多样, 可以确定是胰岛细胞起源. 参照国际公认的大鼠胰岛细胞癌的诊断标准^[14], 该肿瘤基本涵盖了胰岛细胞癌的所有特征.

大鼠免疫组化结果表明, 大多数胰岛细胞癌均产生胰岛素, 而分泌胰高血糖素和生长抑素的细胞较少, 且散在分布在肿瘤周边^[15]. 人

体内胰岛素和胰高血糖素共同调解体内血糖的稳定, 当机体发生胰岛细胞癌, 胰岛素水平升高, 通常伴随着血糖水平降低^[15]. 大鼠绝大多数胰岛细胞癌均以B细胞瘤为主^[16], 然而, 关于大鼠产生的胰岛素是否与人类相似, 是否具有与人类相同的生物活性尚不清楚. 本研究发现大鼠血糖水平(2.07 mmol/L)显著低于其相同周龄SD雄鼠95%参考值范围(5.82-8.86 mmol/L), 结果提示大鼠胰岛素功能可能与人类相似, 具有降低血糖的作用. 本例虽为SD大鼠自发性胰岛细胞癌的动物模型, 似有偶发性, 为不可重复性实验, 但研究发现静脉内给予SD大鼠5 mg/kg浓度的4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide(4HAQO), 4次/wk, 可诱导6/44(26%)的动物发生胰岛细胞癌^[17], 这是建立SD大鼠胰岛细胞癌模型的可靠方法, 可用于该肿瘤相关致病机制的研究.

恶性肿瘤晚期病人常表现为极度消瘦衰竭, 然而, 本研究发现患胰岛细胞癌SD大鼠未见明显消瘦, 其体质量在同周龄雄鼠的正常参考范围内; 此外, 大鼠脑、脾脏、心脏、肝脏、肺脏、肾脏、肾上腺和睾丸等绝对重量均在正常范围内, 血液学指标中仅仅中性粒细胞水平显著增高, 这提示体内可能存在急性炎症反应. 由于肿瘤细胞生长过快, 导致血液供应相对减少,

部分胰岛细胞发生了变性坏死, 在趋化作用下中性粒细胞到达局部组织, 吞噬和消化这些坏死组织; 而血管内中性粒细胞减少, 又极大的刺激了机体的造血机能, 导致中性粒细胞水平升高. 因此, 针对上述结果, 我们推测人类和大鼠对恶性肿瘤的耐受程度可能存在着种群间差异, 其原因有待查明.

4 参考文献

- Whittaker P, Hines FA, Robl MG, Dunkel VC. Histopathological evaluation of liver, pancreas, spleen, and heart from iron-overloaded Sprague-Dawley rats. *Toxicol Pathol* 1996; 24: 558-563
- Minakawa K, Oka K, Nihei T, Sando N, Oikawa H, Toda J, Hosokawa Y, Matsumoto T, Yanagisawa A. Pancreatic endocrine tumor with partial acinar cell differentiation. *APMIS* 2006; 114: 720-725
- Service FJ, McMahon MM, O'Brien PC, Ballard DJ. Functioning insulinoma--incidence, recurrence, and long-term survival of patients: a 60-year study. *Mayo Clin Proc* 1991; 66: 711-719
- Burek D. Pathology of Aging Rats: a morphological and experimental study of the age-associated lesions in aging BN/Bi, WAG/Rij, and (WAG × BN)F₁ rats. 1th ed. West Palm Beach: CRC Press Inc, 1978: 1-220
- Coleman GL, Barthold W, Osbaldiston GW, Foster SJ, Jonas AM. Pathological changes during aging in barrier-reared Fischer 344 male rats. *J Gerontol* 1977; 32: 258-278
- Rowe SE, Simmons JL, Ringler DH, Lay DM. Spontaneous neoplasms in aging Gerbillinae. A summary of forty-four neoplasms. *Vet Pathol* 1974; 11: 38-51
- Dillberger JE. Age-related pancreatic islet changes in Sprague-Dawley rats. *Toxicol Pathol* 1994; 22: 48-55
- Tennekes H, Gembardt C, Dammann M, van Ravenzwaay B. The stability of historical control data for common neoplasms in laboratory rats: adrenal gland (medulla), mammary gland, liver, endocrine pancreas, and pituitary gland. *Regul Toxicol Pharmacol* 2004; 40: 18-27
- Guardado-Mendoza R, Dick EJ, Jimenez-Ceja LM, Davalli A, Chavez AO, Folli F, Hubbard GB. Spontaneous pathology of the baboon endocrine system. *J Med Primatol* 2009; 38: 383-389
- Majeed SK. Studies of the incidence of spontaneous pancreatic tumours in ageing CD rats. *Arzneimittelforschung* 1997; 47: 879-884
- Kelley LC, Harmon BG, McCaskey PC. A retrospective study of pancreatic tumors in slaughter cattle. *Vet Pathol* 1996; 33: 398-406
- Gupta GP, Massagué J. Cancer metastasis: building a framework. *Cell* 2006; 127: 679-695
- Nathanson SD. Insights into the mechanisms of lymph node metastasis. *Cancer* 2003; 98: 413-423
- Riley MGI, Boorman GA, McDonald MM, Lognecker D, Solleveld HA, Giles HD. Proliferative and metaplastic lesions of the endocrine pancreas in rats. In: *Guides for Toxicologic Pathology*. Washington DC: STP/ARP/AFIP, 1990: 1-7
- Longnecker DS. Environmental factors and diseases of the pancreas. *Environ Health Perspect* 1977; 20: 105-112
- Stromberg PC, Wilson F, Capen CC. Immunocytochemical demonstration of insulin in spontaneous pancreatic islet cell tumors of Fischer rats. *Vet Pathol* 1983; 20: 291-297
- Imazawa T, Nishikawa A, Shibutani M, Ogasawara H, Furukawa F, Ikeda T, Suda K, Hirose M. Induction of pancreatic islet cell tumors in rats by repeated intravenous administration of 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide. *Toxicol Pathol* 2001; 29: 320-327

■同行评价

本文详细介绍了SD大鼠罕见的自发性胰岛细胞癌伴多发性肝转移的病理特征, 对临床指导该病的诊治提供了很好的参考依据.

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.625

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果11月26日由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布.《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2009年《世界华人消化杂志》总被引频次3 009次, 影响因子0.625, 综合评价总分49.4分, 分别位居内科学类48种期刊的第6位、第9位、第6位, 分别位居1 946种中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)的第87位、第378位、第351位; 其他指标: 即年指标0.112, 他引率0.79, 引用刊数473种, 扩散因子15.72, 权威因子1 170.03, 被引半衰期4.0, 来源文献量752, 文献选出率0.93, 地区分布数30, 机构分布数30, 基金论文比0.39, 海外论文比0.01.

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊). (编辑部主任: 李军亮 2010-11-28)