

亚硝胺诱发大鼠膀胱癌动态过程的超微结构观察

张东生

武文森

(南京铁道医学院电镜室 210009)

(上海第一人民医院病理科)

摘要 本文以亚硝胺为致癌剂诱发大鼠膀胱癌,用电镜方法对灌药后不同周次的大鼠膀胱粘膜癌变的动态过程进行超微结构研究。观察表明:移行上皮非对称性单位膜的改变和多形性微绒毛形成,梭形小泡消失、微丝和连接复合体减少所致的壳层丧失、胞浆内溶酶体增多及戒指样细胞形成、核周纤维层不规则或消失等是膀胱粘膜上皮早期癌变的重要形态学指标。

关键词 大鼠 膀胱 肿瘤 显微镜 电子 超微结构 亚硝胺

膀胱癌是哺乳类动物常见的恶性肿瘤之一,各种家畜均可发生,尤以犬、牛、羊为多见。其病因尚不十分清楚,一般认为与某些化学物质有关。30年代 Hueper 首先用乙萘胺(2-naphthylamine)诱发犬膀胱癌并获得成功,从而为动物乃至人类膀胱癌的病因、病理及防治研究开辟了一条极为有效的途径。随后,人们对化学致癌剂进行了广泛地探索。发现 BBN[N-丁基-N-(4-羟丁基)亚硝基胺]、FANFT(N-[4-(5-硝基-2-咪唑)-2-噻唑]甲酰胺)、MNU(N-甲基-N-亚硝基脲)等均可诱发动物膀胱癌,并具有明显的器官特异性。本实验采用国内合成的亚硝胺为致癌剂诱发 Wistar 大鼠膀胱癌,用电镜研究方法对大鼠膀胱癌发生发展的动态过程中超微结构的变化及其意义进行探讨。

1 材料和方法

1.1 致癌剂 N-丁基-N-(4-羟丁基)亚硝基胺,简称亚硝胺[N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine,简称 BBN],南京药物研究所合成。BBN 原液贮于 4℃ 冰箱内,应用时以 20%酒精配制成 10%BBN 溶液。

1.2 实验动物 Wistar 大白鼠 56 只,8 周龄,体重 $142.8 \pm 25.1g$,雌雄各半,按性别配比,随机

分成二组:实验组 48 只,以 10%BBN 按 $60mg/kg$ 行咽管灌胃,每周三次,计 20 周。对照组:8 只,以 20%酒精,0.2ml/次,每周三次,共 20 周。实验动物均在观察室喂养,标准固体食团,自来水喂饲,空调室温 20—25℃,自然光线。

1.3 标本采取和电镜制样 分别在 BBN 灌胃后的 2、4、8、12、20 周各取实验组大鼠 3 只,24 周取 5 只,30 周取 28 只,每次同时取对照组大鼠 1 只。处死后,开腹纵行剖开膀胱,肉眼及解剖显微镜观察,记录膀胱粘膜面病变及肿瘤大小。取肿瘤组织,无肿瘤的膀胱于不同部位随机取材。新鲜标本立即以 2.5%戊二醛、1%锇酸双固定,Epon812 包埋,LKB-V 型机超薄切片,铅铀双染色后 H-600 型透射电镜观察。上述标本另取一块固定于 10%福尔马林液中,常规石蜡包埋,切片后配合电镜作光镜观察。

2 观察结果

大鼠膀胱移行上皮由表层细胞、中间细胞和基底细胞三层所组成,其中尤以表层细胞最具有特征性。对照组大鼠膀胱表层细胞体积较大,可见双核,顶部胞浆浓染(壳层),并向表面呈城垛状突起。腔面细胞膜不规则,有特殊的

凹沟形成,称为凹面斑(plaque),斑内细胞膜不对称,外叶层厚 8nm,内叶层较薄,约 1nm,故称为非对称性单位膜(Asymmetric Unit Membrane, AUM),斑与斑之间为一般细胞膜结构。膜表面有薄层糖衣附着。浅层胞质内有许多梭形小泡(Fusiform Vesicle),梭形小泡与表层细胞膜多呈垂直排列,并有移行,但小泡膜为反向非对称性单位膜。胞浆内微丝丰富,多位于胞质浅层并与连接复合体相附着。胞浆内有少量线粒体、粗面内质网和溶酶体。胞侧面与周围细胞形成指状镶嵌(图 1,见封 3 上半部分、下同)。

BBN 作用 2—4 周时,移行上皮层次增多,表层细胞局灶性 AUM 结构紊乱不清,并有少量微绒毛形成(见图 2)。光镜示单纯性增生。8 周时,表层细胞排列参差不齐,有大量微绒毛及小泡状凸起形成,膜表面糖被分布厚薄不均。部分细胞 AUM 结构完全丧失。胞质内梭形小泡减少,排列紊乱、极性丧失呈水平走向;部分梭形小泡扩张呈囊泡状,反向 AUM 结构丧失(见图 3)。微丝走向乱、数量少,连接复合体中无典型桥粒结构。胞间指状突起增多、肿胀及微绒毛化。细胞核周纤维层厚薄不均。部分表层细胞核下方有大量小空泡及溶酶体聚集,并推挤核于细胞一侧呈戒指状。光镜示不典型增生。12 周时,上皮呈乳头瘤样生长,表层细胞有大量微绒毛和小泡形成,小泡常向胞外释放。壳层区结构紊乱,典型梭形小泡已难觅见。胞浆内游离核糖体增多。光镜示移行细胞癌 0 级。20—30 周,表层细胞多行性微绒毛形成,糖被分布极不均匀,即增多和缺失现象共存。壳层区为多量不规则空泡占据,无梭形小泡。线粒体明显肿胀空化(见图 4)。核不规则或伴核袋形成,核周纤维层分辨不清。粘膜上皮分层结构消失。光镜示移行细胞癌。

3 讨论

本文采用致癌剂 BBN 诱发大鼠膀胱癌的实验表明:大鼠膀胱癌的发生经历了三个重要的与人类原型相似的形态改变阶段^[1],即(1)上皮增生期;(2)乳头状瘤形成期;(3)癌变期。致癌剂的量及作用时间和癌变周期成正相关。电镜观察显示上述各期均有相应的超微结构改变,其中以膀胱粘膜表层上皮细胞的变化最具有形态学意义。可认为:移行上皮 AUM 的改变和多形性微绒毛形成、梭形小泡消失、微丝及连接复合体减少所致的壳层丧失、胞浆内溶酶体增多及戒指样细胞形成、核周纤维层不规则或消失是癌变的重要指标。实验结果也支持 Jacobs 等关于移行上皮多形性微绒毛出现、AUM 和梭形小泡的丧失为不可复性的观点^[2-3]。因此上述指标可作为膀胱粘膜上皮早期癌变的超微结构形态学指标。

观察表明:目前有关移行上皮细胞糖被出现是癌变的重要依据的观点有待商榷^[4]。因为无论是在正常移行上皮还是在膀胱癌细胞表面均有糖被覆盖^[5],电镜下形态亦无特殊性。本文在电镜观察中还发现移行上皮癌变过程中细胞表面糖被并不均一,部分区域甚至减少或消失。我们认为如将糖被的存在及变化和有关表层上皮形态变化相联系,进而对其生化组分进行研究可能会更有意义。

参 考 文 献

- 1 Koss LG. Some ultrastructural aspects of experimental and human carcinoma of the bladder. *Cancer Res*, 1977, 37(8): 2824—2835.
- 2 Jacobs JB, Arai M, Cohen SM, et al. Early lesions in experimental bladder cancer: Scanning electron microscopy of cell surface markers. *Cancer Res*, 1976, 36(7): 2512—2517.
- 3 Jacobs JB, Arai M, Cohen SM, et al. A long-term study of reversible and progressive urinary bladder cancer lesions in rats fed N-[4-5-nitro-2-furyl]-2-thiazolyl]formamide. *Cancer Res*, 1977, 37(8): 2817—2821.
- 4 Hicks RM, Wakefield JSJ. Membrane changes during urothelial hyperplasia and neoplasia. *Cancer Res*, 1976, 36(7): 2502—2511.
- 5 George TB, Cohen SM. The Pathology of Bladder Cancer Volume 2, CRC Press Inc Florida, 1983. 55—63.