

实验性大鼠肝癌前期的 超声-病理对比

杨林[△] 黎锦芳 刘晋华 陈镛铎* 区庆嘉** 刘世强

(孙逸仙纪念医院消化病研究室)

提要 3'-甲基-4-二甲基氨基偶氮苯(3'-Me-DAB)诱发 Wistar 雄鼠肝癌的成癌前期, 鼠肝出现中毒性肝炎, 早期肝硬化和中晚期肝硬化等3种不同阶段的病理改变; 与病理相对比的超声检测显示其声象有相应的动态演变规律, 据此将鼠肝成癌前期的声象变化分为4级, 其特点与鼠肝的组织密度、病理类型及纤维间质含量多少有关, 并认为加强对回声分级在Ⅱ-Ⅲ级的肝脏进行超声监测, 可能有利于尽早发现肝癌的发生。

关键词 大鼠; 肝肿瘤, 实验性; 癌前状态; 病理; 超声学

中图分类号 R730.41; R73-354

病毒性肝炎和肝硬化被认为是原发性肝癌癌前高危因素^[1-4]。B型超声波诊断仪在肝癌的影像诊断方面具有独到的优点^[5]。但由于客观条件的限制, 至今缺乏利用超声诊断仪动态观察肝炎、肝硬化与肝癌形成和演变过程的研究报道。本研究利用超声诊断仪动态检测大鼠肝癌模型制备过程中鼠肝的声象变化, 结合病理学方法对比观察, 试图探讨超声检查早期发现肝癌的适用性和应用的实验依据。

材料和方法

大鼠肝癌模型的制备 Wistar 纯系雄性大鼠8周龄, 体重180~220g(中山医科大学动物试验中心提供)。3'-甲基-4-二甲基氨基偶氮苯(3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene, 3'-Me-DAB)为诱癌剂(暨南大学化学系合成)。大鼠全部随机分笼喂养, 早晚各喂1次含0.06% 3'-Me-DAB的大米饲料, 每鼠摄食量为 20.0 ± 5.0 g/日, 饮水不受限制。

大鼠肝脏的超声扫查方法 选用 HITACHI, EUB 25型和 ALOKA, SSD 630型 B型超声诊断仪, 频率5.0 MHz, 水作耦合剂, 以 Polaroid 相机记录扫查结果。按0.2 ml/100 g

(体重)腹腔内注射1.5%戊巴比妥钠麻醉大鼠。剃除胸腹部鼠毛后将其固定于简易手术板上, 超声探头置于大鼠上腹部肋弓下做横、纵、斜3个切面扫查。其后放血法处死大鼠, 剖腹取肝并浸泡于10%中性福尔马林液中24~72小时。再将鼠肝置于生理盐水中, 与活体扫查对比相应做横、纵、斜3个切面的扫查。



图1 成癌前期鼠肝声象变化(Ⅱ级)
鼠肝形态尚正常, 但结构模糊, 回声增强, 呈粗密不均光点

[△]硕士生, 现在第一军医大学附属珠江医院消化内科, 邮政编码510282; *孙逸仙纪念医院病理科;

**孙逸仙纪念医院外科

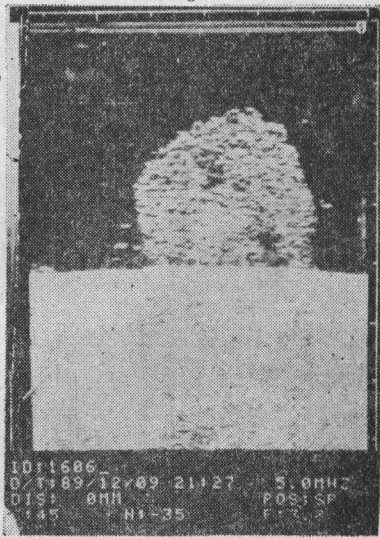


图2 成癌前期鼠肝声象变化(Ⅲ级)
鼠肝形态失常, 表面呈虫蚀状, 内部呈增强光斑、光带, 混杂低回声灶

根据本实验观察所见, 作者尝试将鼠肝成癌前的声象变化分为4级。0级: 肝脏上下径 $1.81 \pm 0.42\text{cm}$, 前后径 $2.76 \pm 0.43\text{cm}$, 形态正常, 肝前后缘线平滑, 界面和肝内结构清晰, 内部回声密度、强度和光点分布均匀一致, 呈细密光点。I级: 肝脏径线增大, 形态仍正常, 肝前后缘线尚平滑, 内部回声增粗、增强, 呈细密较强光点分布尚均匀。II级: 肝脏径线仍增大, 形态欠规整, 前后缘线细颗粒状, 内部结构模糊, 回声粗密、增强, 有细小光斑、光带出现(图1)。III级: 部分肝叶萎缩变薄、部分肝叶代偿肥厚。肝缘线呈粗颗粒或锯齿状。内部回声明显不均, 可见粗光斑、不规则光带, 并有细小的点状低回声灶混杂(图2)。

大鼠肝脏的病理观察 剖取大鼠肝脏后称肝重, 观察鼠肝色泽、形态, 用微米游标卡尺测量肝脏径线。严格参照超声观察所见进行病理标本的取材。进行HE染色, 胶原纤维(van Gieson法)和网状纤维(Gomori法)染色。根据肝内主要病变的性质, 参考有关研究结果^[6,7], 将大鼠肝脏癌前各阶段的病理变化分为3种类型: ①中毒性肝炎; ②早期肝硬化;

③中晚期肝硬化。

作者以网状纤维含量作为衡量间质增生程度的指标。正常肝组织显微镜下网状纤维束少于1/4视野分布范围, 故以<1/4视野为增生“0”级, 1/4~1/2视野为“+”, 1/2~3/4视野为“++”, >3/4视野为“+++”。

鼠肝密度测量 选择经病理证实为正常肝, 中毒性肝炎, 早期肝硬化及中晚期肝硬化的鼠肝各10例, 用分析天秤称重(精确至0.001g), 然后放入盛有蒸馏水的100ml量筒内, 用5ml和0.1ml的玻璃吸管吸除鼠肝排开的蒸馏水使筒内水平面恢复至原刻度线, 记录排出水的体积(精确到0.01ml), 即为肝脏的体积。依 $P = \frac{M}{V}$ 公式计算出鼠肝密度。

统计学处理 属计数资料用行×列表资料卡方分析进行显著性检验。

结 果

各阶段鼠肝病变情况 实验组大鼠120只喂养28周, 其中24只中途死亡, 25只出现肝癌。对照组30只大鼠全部成活。实验组和对照组未成癌鼠共101只, 病理证实属于正常肝脏的32只, 其余属各类型癌前期病变(表1)。

表1 诱癌各阶段鼠肝病变的病理分类

	正常	肝炎	早期肝硬化	中晚期肝硬化	合计
对照组	30				30
8周组	2	14	4		20
12周组		5	11	3	19
16周组		1	4	6	11
20周组		2	3	5	10
24周组		1	3	3	7
28周组				4	4
合计	32	23	25	21	101

注: 表内数字单位为只数

不同病变类型鼠肝的密度测定 根据病理分类4种非癌的鼠肝组织密度测定值见图3。结果显示3种不同癌前期病变肝组织的密度均

较正常肝组织为高。且中毒性肝炎、早期肝硬化到中晚期肝硬化3种类型组织密度逐步增高。

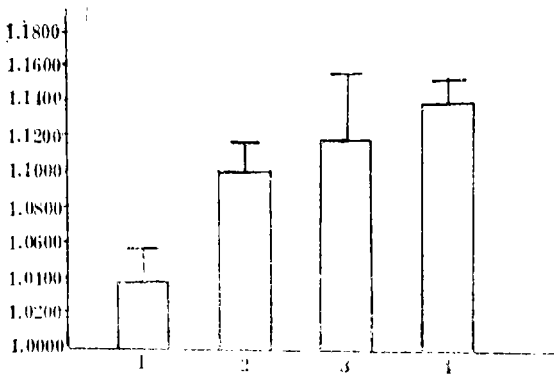


图3 4种类型病变组织的组织密度 ($\bar{x} \pm s, g/cm^3$)

横座标数字顺次为: 1. 正常肝 1.0380 ± 0.0192; 2. 肝炎肝 1.0951 ± 0.0225; 3. 早期肝硬化 1.1162 ± 0.0385; 4. 中晚期肝硬化 1.1370 ± 0.0144

成癌前病变类型对回声分级的影响 表2显示了大鼠成癌前病理变化类型与声象改变之间的关系。结果表明,随着肝脏病变的坏死,纤维间质增生和肝内细胞增生结节、假小叶形成所占比例不同,鼠肝组织结构的紊乱不均导致肝脏回声强度和密度不均的趋势增加,这在统计学上有极显著意义 ($P < 0.01$)。

表2 病变类型与回声分级的关系

回声级别	0	I	II	III	合计
正常肝	25	4	3	0	32
中毒性肝炎	2	18	3	0	23
早期肝硬化	1	2	19	3	25
中晚期肝硬化	0	2	2	17	21
	28	26	27	20	101

($\chi^2 = 156.81 P < 0.01$)

鼠肝网状纤维增生程度对回声分级的影响

表3显示了鼠肝组织网状纤维增生程度不同与超声回声分级的关系。可以看出,随着鼠肝组织中网状纤维增生程度增加,肝内回声强度和回声不均的程度增加,这种关系有极显著的

统计学意义 ($P < 0.01$)。

讨 论

在B型超声诊断仪应用于临床之初,有许多学者对人类的弥漫性肝病包括肝炎、肝硬化等的声象特点进行了研究和描述^[8~10]。近年这方面的研究罕见报道,且缺乏更深入细致的超声与病理相关研究的报告。作者尝试将大鼠诱癌前阶段的声象回声密度分为4级,并与病理组织学分类对比,以探讨它对预测癌前期病变发展成癌的参考价值。

表3 网状纤维增生程度与回声分级关系

	0	I	II	III	合计
0	26	22	1	0	49
+	2	4	16	1	23
++	0	0	9	3	12
+++	0	0	1	16	17
	28	26	27	20	101

($\chi^2 = 137.48 P < 0.01$)

实验结果显示,诱癌后鼠肝出现中毒性肝炎、早期肝硬化和中晚期肝硬化的病理改变,使鼠肝密度增加并大于正常组织,从正常肝组织密度到中晚期肝硬化的肝组织密度,其间呈梯次增加。本组资料还显示,中毒性肝炎23例中呈I级回声者占20例,而早、中晚期肝硬化46例中呈II、III级回声的分别为21例与20例, I级回声仅占4例。说明以肝细胞变性坏死,纤维间质增生和假小叶形成为依据的病理分类与回声密度、强度逐渐升高,回声不均渐次加重的超声回声分级密切相关,病变愈复杂和严重,回声水平分级愈高 ($P < 0.01$)。相应的,肝组织密度愈高其回声分级亦愈高。在观察病变肝组织以网状纤维增生程度为代表的纤维增生水平与回声密度分级的关系中,网状纤维增生0级而呈0~I级回声的占48例,增生程度为++~+++级的29例中呈II~III级回声的占100%,显示两者关系意义极为显著 ($P < 0.01$)。反映了纤维间质广泛增生在增加病灶

的回声强度和密度上起重要作用。病变肝组织内假小叶和增生性细胞结节形成在引起回声密度不均方面也起一定作用,但因缺乏理想的定量测量方法,尚无法从统计学角度说明它们之间的关系。

利用超声回声分级能从一定程度上估计鼠肝病变的不均质性和多种细胞及细胞外成份的增生程度。但超声显像仪的分辨力有限,尚难以全面反映诱癌过程中鼠肝复杂、细致的病理变化。对正处于癌变过程中的增生结节,则一般的超声显像仪难以观察到也无法完全得到证实。所以,超声检查对预测肝癌是否可能或正在发生的意义是有限的。但是,国外资料表明50%~80%的肝细胞癌不同程度伴有肝硬化,提示肝癌与肝硬化密切相关^[1]。而超声对肝硬化和已能分辨识别的肝癌判断较为可靠,因此对中老年肝硬化,特别是对超声检查中发现其肝脏回声分级在Ⅱ~Ⅲ级的患者应强调定期检查,对比监视以期及早发现癌变征象,对提高原发性肝癌的早期诊断率有积极意义。

作者希望通过动物试验的观察结果能进一步在临床观察中起借鉴作用,总结和摸索出适合人类肝癌演化过程的B超观察评价方法。

(本课题承蒙暨南大学化学系吴仲儿教授、曾向潮讲师,本院病理科余肇芳主管技师指导和协助,在此一并致谢)

参 考 文 献

1. Lutwick LI. Relationship between aflatoxin, hepatitis B virus, and hepatocellular carcinoma. *Lancet* 1979;1:755
2. Song E, et al. Hepatitis B viral replication in Southern African blacks with HBsAg-positive hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1983;3:817
3. London WT. Primary hepatocellular carcinoma—etiology, pathogenesis and prevention. *Hum Pathol* 1981;12:1085
4. Sung JC, et al. Maternal transmission of hepatitis B surface antigen in patients with hepatocellular carcinoma in Taiwan. *Scand J Gastroenterol* 1980;15:321
5. Jame NC. Imaging and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterol Clin North Am* 1987;16:591
6. Anderson WAD and Scotti T M. Liver, gallbladder and pancreas. In: *Synopsis of Pathology*. St. Louis: The C U Mosby Co, 1980:269
7. 朱科伦,等.大白鼠实验性肝细胞肝癌的研究. *广东医学* 1981;2(4):38
8. Taylor KJ, et al. Gray-scale echography in the diagnosis of intrahepatic disease. *J Clin Ultrasound* 1973;1:284
9. Taylor KJ, et al. Gray scale ultrasound imaging: the anatomy and pathology of the liver. *Radiology* 1976;119:415.
10. Sheu JC, et al. A prospective study, Early detection of hepatocellular carcinoma by real-time ultrasonography. *Cancer* 1985;56:660
11. 武忠弼主编. *病理学*. 第2版.北京:人民卫生出版社,1984:275
(1991-04-04收稿 1992-04-06修回)

ULTRASONOGRAPHIC-PATHOLOGIC COMPARATIVE STUDY IN PRECARCINOMATOUS PERIOD OF INDUCING EXPERIMENTAL HEPATIC CARCINOMA IN RATS

Yang Lin Li Jinfang Liu Jinhua Chen Moye
Ou Qingjia Liu Shiqiang

(Gastroenterology Research Section Sun Yat-Sen Memorial Hospital)

3'-Me-DAB was used to induce hepatic carcinoma in male wistar rats. In the precarcinoma period, the rat livers go through the pathological changes of toxic hepatitis, early stage cirrhosis and late stage cirrhosis. According to their dynamic developing regularity, the liver echograms of rats are classified into four scales. The research also comes to state that the characteristic of these four scales are related to the density, the pathologic type and the fibrous content of rat livers. This article holds that intensified ultrasonic observation of the livers of the second and the third scales can help to discover hepatic carcinoma as early as possible.

Key words rats; hepatoma, experimental; precancerous conditions; pathology; ultrasonics

低视力康复的研究

课题负责 吴德正(眼科中心)

中山眼科中心吴德正等人从眼科生理、生物物理学角度对低视力进行了系列研究,主要特色:①用客观视觉电生理的方法来评价低视力者的残剩视功能。对低视力者作闪烁视网膜电图的测定,通过自行设计的软件,经计算机数据处理,确定各种病因产生的低视力者的视功能,以作康复的主要依据之一。②通过对比敏感度的检查,来评价低视力患者的形觉功能。③研究视野及照光强度对低视力康复的关系,提出对使用阅距较近和阅距较远的屈光度基本相等的助视器,发现约20%的低视力者可通过提高照明亮度来改善低视力。④研究眩光对低视力的影响。提出失能眩光是妨碍低视力康复的一个重要因素。该研究已通过鉴定,成果具有临床应用价值,达国内先进水平。

(升 学)