

二甲胂诱发结肠手术后大鼠 大肠癌的实验研究

汪建平* 王吉甫 王成恩

(第一附属医院普外科)

大肠癌是我国常见癌肿之一。占恶性肿瘤的第四位。目前对大肠癌的治疗仍以手术切除为主。但是大肠癌根治性切除术后的五年生存率约45%^[1]。由于局部复发及远处转移,大肠癌术后仍有半数得不到永久性治愈,所以大肠癌切除术后局部复发机制的研究和术后复发监测引起人们的广泛注意。本文拟通过动物模型的方式探讨大肠癌术后局部复发的病源学。

材料与方 法

一、动物 Wistar 雄性大白鼠65只,体重80~150克,随机分为两组。(1)结肠部分切除端端吻合组48只;(2)对照组17只。分笼饲养,饮水进食不限制。

二、致癌剂 二甲胂(1,2-Dimethylhydrazine, DMH)溶解在含有0.1N EDTA的0.9%盐水中,配成1%的浓度,然后用10%碳酸氢钠溶液调pH至6.5~7.0。注射液当天配制。

三、方法 大鼠在戊巴比妥麻醉下剖腹,在距肛门3cm向近端切除结肠2cm,端端吻合。术后喂养14天开始投药。

左下肢皮下注射DMH 20mg/kg体重,每周一次,连续20周。停药后继续喂养9周。分别于注药后第4,8,12,15,17周各组处死一只大鼠。19周手术组处死14只,对照组处死7只。其余大鼠在29周全部处死。将大鼠大肠置10%福尔马林液中固定。

组织学检查 每份标本取肿瘤,肿瘤边缘组织,吻合口(上,下0.5cm;对照组在距肛门4cm取组织块),盲肠,结肠中段,直肠等6个部位组织块,常规脱水,石蜡包埋,切片

厚4cm,苏木素-伊红染色,光镜阅片。

四、统计处理 致癌率的计算以第一例大肠癌出现的时间开始计数(本实验为第17周)。在此之前定期处死及自然死亡均不计入。

致癌率的比较用卡方检验。

结肠远端肿瘤发生率的比较用 χ^2 检验。

结 果

65只大鼠中有52只鼠发生大肠癌,总致癌率80%。手术组大鼠的致癌率明显高于对照组。两者相差有显著性意义, $P<0.05$ 。

表1 致癌率的比较

	例数	致癌数	致癌率(%)
手术组	48	42	87.5
对照组	17	10	58.8

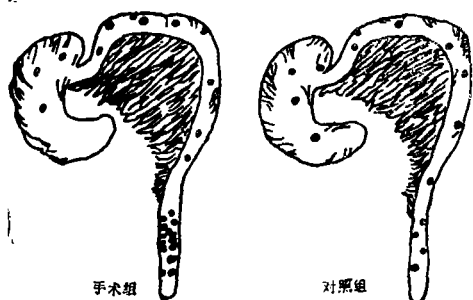
52只患癌大鼠中,共发现肿瘤85个(腺癌79个,粘液癌6个)。手术组大鼠的肿瘤59.2%(41/71)集中在吻合口周围;而对照组仅78.6%(4/14)分布于相应部位。两者相差有显著意义, $P<0.05$ 。

表2 吻合口肿瘤和吻合口相应部位肿瘤发生率的比较

	肿瘤数	吻合口或相应部位肿瘤数	其它部位肿瘤数	百分率(%)
手术组	71	41	29	59.2
对照组	14	4	10	28.6

* 研究

如以同样数量的大鼠（每组17只）分别按各组的肿瘤发生率计算出肿瘤的个数，然后用图标出，更易了解肿瘤发生率和分布情况。



肿瘤分布示意图

随用药时间的延长，致癌率逐渐增高。诱癌19周时，手术组的致癌率达71.4%（10/14），对照组28.6%（2/7），两者相差有显著意义， $P < 0.05$ 。而诱癌29周处死的大鼠，两组的致癌率相近，分别为94.9%（18/19）和88.9%（8/9），两者相差无显著意义， $P > 0.05$ 。

腺癌多为中度分化以上，腺体显著增生，密集，排列不规则，细胞体积大，胞核形态及大小不规则，核分裂相多见。未见肝肺等其它远处器官的转移。

讨 论

一、结肠手术对大肠粘膜癌变的影响 大肠癌根治性切除术后，其局部复发率为14~29%^[1,2]。局部复发是影响治愈率的主要因素之一。关于术后局部复发的机制仍有争议。Posenbery等人认为^[8]，吻合口肿瘤复发是肿瘤未完全切除，而不是肿瘤细胞的种植。Floyd等人^[4]则更强调局部的复发是由缝线种植所引起。近几年来人们开始注意到吻合口本身，也就是粘膜的手术损伤对局部复发的影响。Rubio^[2,5]，Tornqvist等人^[6]进行了多次动物实验后提出，大肠癌术后的局部复发，创伤是一重要因素。我们的实验结果表明，手术组吻合口的肿瘤发生率为59.2%，非手术组相应部位的肿瘤发生率为28.6%，两者相差有显著性意义， $P < 0.05$ 。这说明在致癌因素存在

的情况下，手术创伤是局部复发的重要因素。因为在有致癌因素持续存在的情况下，创伤后的粘膜在修复过程中就可能触发细胞的畸变（aberration），导致癌肿的发生或复发。

吻合口肿瘤伴有慢性炎症的占40%以上，而非吻合口部位的肿瘤伴有慢性炎症的仅5.8%，两者相差有显著意义。这也说明手术损伤后的慢性炎症反应是长期存在的。手术创伤引起的炎症，在致癌因子的作用下，使得粘膜上皮在不断的代谢更新中更易癌变。而在正常情况下，由于没有致癌因素的存在，创伤的粘膜可以完全修复。大肠癌虽经根治性切除，然其残存大肠粘膜不同于正常人之粘膜，而仍有一定的癌变倾向。给予DMH也是使大肠粘膜具有癌变的倾向，在DMH这一致癌因子存在的齐同条件下，手术与非手术之间诱癌率的差别，表明了手术创伤对癌的发生的影响，所以可以用这种方法探讨大肠癌根治性手术后局部复发的病源学。大肠癌切除术后局部复发若仅仅是肿瘤未切除干净和手术时的种植所引起，经过几十年手术方式的不断改进，采用隔离式手术操作，并经病理切片证实两断端无残留肿瘤组织后才确定手术切除范围。通过这些措施，局部复发率应该相应下降。其实不然，近年报道的局部复发率并未下降^[7]，所以我们认为，大肠癌术后局部复发除了肿瘤未切除干净和手术时肿瘤细胞的种植这两个原因外，还有其它的因素存在。实验结果表明，手术创伤是大肠癌发生或复发的影响因素之一。在临床上，由于考虑到手术创伤是局部复发的影响因素，所以在大肠癌术后用纤维结肠镜进行定期随访观察时，尤其注意吻合口部位组织改变，对早期发现吻合口复发将有一定帮助。吻合口复发的再手术五年生存率仍可达27~40%。

二、DMH诱发的大鼠大肠癌作为人类大肠癌模型的意义及诱癌周期的选择 DMH为间接致癌剂，对大肠粘膜有选择性的致癌作用。其优点是给药方法简便，诱癌周期短，诱癌率高，效果可靠。自1967年Druckrey首次用DMH诱发动物大肠癌以后，国外绝大多数

研究者均采用此法诱发动物大肠癌。Druckrey, Sunter^[8] 等人报道, DMH 诱发的大鼠大肠癌的组织学特征, 生物学行为与人类大肠癌相似。Filipe^[9] 等人报道 DMH 诱发大鼠大肠癌变时粘液分泌类型的变化相同于人类大肠癌变时粘液分泌的变化。本实验通过动态的组织学切片观察了大鼠大肠粘膜癌变的过程。发现 DMH 诱发的大鼠大肠癌大多经过上皮的增生, 不典型增生, 少数经腺瘤恶变。本组仅观察到 13 例大肠癌有残留的腺瘤样结构, 占 16%。这与人类大肠癌的病理转化过程也相似。DMH 诱发的大鼠大肠癌是人类大肠癌有价值的实验模型。可用其进行病理学, 生化学及诊断学的研究。

DMH 诱发大鼠大肠癌, 随着用药时间的延长, 致癌率逐渐增高。本实验表明, 结肠手术组与非手术组在诱癌 19 周时, 两者的致癌率即有明显的差别。手术组致癌率 71.4%, 非手术组 28.5%, 两组之间有显著性差异, $P < 0.05$ 。而在诱癌 29 周时处死的大鼠, 手术组 19 只大鼠中 18 只发生大肠癌, 致癌率 93.9%; 非手术组 9 只大鼠中 8 只发生大肠癌, 致癌率 88.9%。此时两组的致癌率即无显著性差异了。故诱癌周期应根据实验要求进行选择。否则随着用药时间的延长, 致癌率可以不断增高。在某些鼠种可达 100%。本结果提示: 诱癌 17 周即可发生大肠癌; 21 周 50% 左右发生大肠癌 (本实验 17~21 周处死的大鼠 24 只, 13 只发生大肠癌, 占 54.2%); 29 周的致癌率高达 90% 以上 (本组 92.8% (26/28))。

(本文病理解剖学部分由本校病理解剖学教研室董郡教授, 黄小茹老师阅片, 鉴定, 谨此致谢)

参考文献

- [1] Falterman K W, et al. Cancer of the colon, rectum and anus: A review of 2313 cases. *Cancer* 1974; 34 (supply): 951.
- [2] Rubio C A, et al. Surgical resection of the rat colon: Mffect on carcinogenesis by 1,2-DMH. *J Nat Cancer Inst* 1982; 68 (5): 813.
- [3] Rosenbery I L. The etiology of recurrence of the colon cancer in the suture site. *Ann K Coll Surg Engl* 1979; 61:251.
- [4] Flogd C E, et al. Local recurrence of carcinoma of the colon and rectum. *Am J Surg* 1965; 109: 153.
- [5] Rubio C A. Carcinogenesis at colonic anastomotic sites. *Dis Colon Rect* 1984; 27 (7): 468,
- [6] Tornqvist A C. Colostomy closure promotes cell prediferation and DMH-induced carcinogenesis in the distal colon. *Gaste- ienterology* 1981; 81(3): 475.
- [7] Malcolm A M, et al. Analysis of recurrence patterns following curative resection for carcinoma of the colon and rectum. *S G O* 1981; 152 (2): 131.
- [8] Sunter J P, et al. Pathological features of ahe colonic tumours induced in rats by administration of DMH. *Virchows Archiv. (cell pathol)* 1974; 29: 211.
- [9] Filipe M I. Mucous secretion rat colonic mucosa during carcinogenesis induced by DMH. A morphological and histochemical study. *Br J Cancer* 1975; 32: 60.

The Experimental Study in Large Bowel Cancer Induced by 1,2-DMH in the Rat after Partial Colectomy

Wang Jianping Wang Jipu Wang Chengen

(Department of Surgery, First Affiliated Hospital)

Abstract

Large bowel cancer of rat induced by 1,2-DMH was used as our experiment model in this paper. The difference of carcinogenic rate between the rats operated colectomy and the rats non-operated that were the control group was found. The study represented an attempt to explore the etiology of local recurrence of large bowel cancer after radical resection by observed that operated injury influenced carcinogenesis. The results showed that the carcinogenic rate of operated group was significant higher than that of non-operated group and the number of tumours in anastomosis site were much more than that of control group. It suggested that operated injury was itself one of promoting cancer recurrence factors beside operative planted, residua after operation, and so on.