

# Walker<sub>256</sub> 癌肉瘤实验性淋巴道转移的形态学观察

薛玲 董郡 吉重敏

(病理解剖学教研室)

**提 要** 本实验通过在大鼠睾丸淋巴管内注射W<sub>256</sub>瘤细胞的方法建立起肿瘤淋巴道转移模型,用光镜和电镜观察证实:肿瘤局部引流淋巴结对肿瘤细胞的扩散有阻挡作用;淋巴结内的中淋巴细胞能产生溶瘤作用,这些细胞在形态上和免疫反应特点上比较符合NK细胞,淋巴细胞和组织细胞产生溶瘤作用时必须与肿瘤细胞膜紧密接触。

**关键词** 宿主对肿瘤的反应 淋巴道转移 NK细胞 动物实验

淋巴道转移是恶性肿瘤的主要转移方式之一,但由于种种原因使得多年来人们对它的研究开展得甚少。本实验通过建立动物的肿瘤淋巴道转移模型,用光镜和电镜进行观察,对肿瘤局部引流淋巴结在肿瘤细胞的扩散过程中有无针对瘤细胞的屏障作用等问题提出一些形态学方面的证据和我们的看法。

## 材 料 和 方 法

**一、实验动物及肿瘤** 采用SD系♂大鼠,体重300~350克,实验组28只,对照组6只。

瘤细胞为W<sub>256</sub>癌肉瘤。将实体瘤块匀浆稀释制成瘤细胞悬液,每毫升悬液内含瘤细胞数约为 $3 \times 10^7$ 个,台盼兰计数活细胞率,使之保持在80%左右。

**二、模型的建立** 淋巴管内注射瘤细胞按Kurokawa介绍的方法进行<sup>[1]</sup>。注射部位为大鼠左侧睾丸淋巴管。用美兰染液显现淋巴管,OT注射器注射,瘤细胞悬液量约为0.01毫升。注射完毕后结扎精索,切除注射侧睾丸并缝合皮肤。对照组未作处理。

**三、标本处理** 注射瘤细胞后72小时取大鼠左侧腰,肾淋巴结。所有标本均用双醛液和1%饿酸进行前,后固定,系列丙酮脱水,Epon 812 渗透包埋,醋酸双氢铀及枸橼酸铅双重染

色,H-600型透射电镜观察。

其中6例较肿大的淋巴结及对照组淋巴结还将部分组织作石蜡包埋,HE染色,光镜观察。

## 结 果

**一、光镜所见** 实验组各淋巴结均有不同程度的肿大。观察石蜡切片和半薄切片,见淋巴结的结构均保存,包膜下窦和中间窦明显扩张,其内充满瘤细胞。皮、髓质内亦可见瘤细胞,但数量上较淋巴窦内的瘤细胞少得多。皮质内的瘤细胞多呈散在性分布,仅有2例淋巴结的皮质内出现了小癌巢。淋巴窦内的瘤细胞周围均可见数个淋巴细胞与之紧密接触。大多数淋巴结内可见较多的窦组织细胞,部分细胞胞浆内可见吞噬物。6例石蜡切片标本中,有3例可见淋巴滤泡生发中心出现并扩大。对照组标本均未见窦组织细胞增生和生发中心出现(本文插图均见封2)。

**二、透射电镜所见** 在绝大多数超薄切片中我们看到:瘤细胞周围常有数个淋巴细胞与之相邻;淋巴细胞表面可见各种形式的伪足样突起,突起的数目不等。淋巴细胞与肿瘤细胞的关系大致可分为以下几种:

1.淋巴细胞与瘤细胞完全不接触或接触不

密切，二者的细胞膜均保持完好。

2. 单个淋巴细胞以较小的或较大的细胞面与瘤细胞密切接触，二者的接触部位可见胞膜消失，部分胞浆互相融合（图1，见封2）。

3. 数个淋巴细胞围绕一个瘤细胞并致后者变性；且凡与淋巴细胞形成密切接触处的瘤细胞膜均有破坏，严重者胞膜破裂，致使胞浆内容物和细胞器逸出至细胞外。

4. 淋巴细胞被瘤细胞的胞浆突起包绕。

在我们的切片中，可见大、中、小三种淋巴细胞，但能产生溶癌作用的则以中淋巴细胞为多见。这些细胞具有以下超微结构特点：中等体积，外形常呈多种形态，胞浆较丰富，核/浆小，细胞表面常有明显的胞浆突起，细胞核为近似圆形或肾形，核膜常有凹陷，染色质致密，多可见核仁。较突出的特征为：胞浆内有丰富的高尔基氏器、线粒体和圆形小囊泡；部分胞浆内见有膜包绕的致密颗粒；上述细胞器多集中在核凹陷侧的胞浆内（图2，见封2）。

增生的窦组织细胞体积多明显增大，细胞表面有大量微绒毛状突起；可见组织细胞吞噬细胞碎片及裸核瘤细胞。有少数组织细胞亦与瘤细胞紧密接触，二者相邻处可见部分胞浆发生融合的现象，在这些组织细胞旁可见小淋巴细胞与之接触，但二者的结构均保持完好。

在所有切片中，淋巴细胞之间、组织细胞之间、瘤细胞之间以及淋巴细胞与组织细胞之间即使有互相接触，亦看不到胞膜破坏融合现象。

## 讨 论

关于淋巴细胞对肿瘤细胞的破坏现象文献上已有报导。30多年前Kidd等<sup>[2]</sup>就在动物实验中用光镜观察到淋巴细胞“袭击”瘤细胞，致使后者变形，胞体伸长形如“尾状”或奇异形状。De-The G等<sup>[2]</sup>在用透射电镜观察鼻咽癌组织时，发现与浸润的淋巴细胞相邻的瘤细胞膜偶可见破坏现象。Fisher等<sup>[4]</sup>在研究引流淋巴结在肿瘤发展、转移过程中的作用时亦发现淋巴结内含有能够干扰肿瘤细胞生长的细

胞。这些细胞能将扩散、转移至淋巴结的部分瘤细胞破坏甚至消灭。作者们认为这是机体对肿瘤的免疫反应之表现。

在本实验中可看到较多溶癌现象，我们认为可排除人为因素所造成，因为①瘤细胞膜的破坏仅限于与效应细胞紧密相邻的部分，而其余部位的胞膜完好；②除效-靶细胞之外的其他各种细胞之间未见胞膜破坏现象；③溶癌现象在28例标本中普遍存在，而这些标本非同次、同批固定包埋的。我们还认为上述现象可排除由于非同系基因肿瘤移植而引起的排斥反应而造成的损伤：①取材距大鼠接受瘤细胞刺激的时间很短，在未经预先致敏的动物，排斥反应尚未发生；②实验所用瘤细胞在本教研室传代半年，接种成功率为100%，未出现由于宿主排斥反应而自然消退的情况，且预实验中将该瘤细胞注入SD大鼠后肢脚掌，肿瘤在局部生长良好并能自然转移至膈窝淋巴结；③国外许多作者均用此瘤在SD或Wistar大鼠身上建立肿瘤转移模型，未见排斥反应的报导。因此可以认为，溶癌现象的出现是局部引流淋巴结中效应细胞作用的结果，也是机体抗肿瘤免疫反应的表现。又由于效应细胞多为中淋巴细胞，其形态与文献报导的NK细胞的特点比较符合<sup>[5,6]</sup>，结合一般免疫反应规律，可以推测这种细胞可能是NK细胞。

关于组织细胞的抗肿瘤作用已有较多报导，但对其抗肿瘤作用的机理仍有争论。本实验观察到增生的组织细胞吞噬活跃但溶癌现象偶见，这可能与取材时间有关。我们还观察到在组织细胞旁常有小淋巴细胞与之接触，其机能意义不明，可能与二者间的协作有关。

值得提出的是，效应细胞只有与靶细胞形成密切接触处才出现溶癌作用，这种现象说明效-靶细胞的直接接触是其发挥细胞毒效应所必须的，而这种接触杀伤很可能是机体内杀伤肿瘤细胞的重要环节和主要形式之一<sup>[3,7]</sup>。

对于淋巴结有无屏障作用历来争论很多。本实验以非生理性压力注入大量瘤细胞至大鼠睾丸淋巴管内，72小时后瘤细胞仍主要停留在

淋巴结的边缘窦和中间窦,说明淋巴结的结构对瘤细胞的扩散有一定的机械阻挡作用。受到肿瘤细胞刺激后淋巴结早期即出现生发中心扩大、窦组织细胞增生、浆细胞增多及淋巴细胞、组织细胞破坏和/或吞噬瘤细胞,这些均可认为是淋巴结的生物屏障作用的表现。

### 小 结

本实验运用在大鼠睾丸淋巴管内直接注入瘤细胞建立起动物的肿瘤淋巴道转移模型,72小时后取其左侧腰、肾淋巴结用光镜和透射电镜观察,其结果我们认为:

1. 淋巴结对于肿瘤细胞的扩散至少具有暂时的机械阻挡作用和生物屏障作用;
2. 本实验中能产生溶瘤作用的主要为中淋巴细胞,结合其形态特点和免疫反应规律,我们推测这种细胞可能就是NK细胞。
3. 无论是组织细胞还是淋巴细胞,产生溶瘤作用时,二者间细胞膜的直接接触是必要的。

### 参 考 文 献

[1] Kurokawa Y. Experiments on lymph node me-

tastasis by intralymphatic inoculation of rat ascitis tumor cells with special reference to lodgement and growth of tumor cells in lymph nodes. *Gann* 1970, 61:461.

- [2] Kidl JD, et al. The association of lymphocytes with cancer cells undergoing distinctive necrobiosis in resistant and immune hosts. *Am J Pathol* 1950, 26:672.
- [3] Guy de-Thi and Anton Geser: Nasopharyngeal carcinoma: Recent studies and outlook for a vival etiology. *Cancer Res* 1974, 34:1196.
- [4] Fisher B, et al. Studies concerning the regional lymph nodes in cancer. N Tumor inhibition by regional lymph node cells. *Cancer* 1974, 33:631.
- [5] Boekstegers A and Grundman E. what's new in natural killer cells. *Path Res Pract* 1985, 130:536.
- [6] Trinchieri G and Perussia B. Human natural killer cells: Biologic and pathology aspects. *Lab Inv* 1984, 50:489
- [7] Fujinami N, et al. Interaction of mononuclear leukocytes with malignant melanoma. *Lab Invest* 1981, 45:28.

## Morphologic Observation on Cellular Host Reaction to Experimental Lymphatic Metastatic Tumor

Xue Ling Dong Jun Ji Zhongmin  
(Department of Pathology)

### Abstract

Morphologic study on cellular reaction of the host to local lodgement of tumor cells was performed by means of intralymphatic injection of walker 256 cells into lymphatics in testicular tunica of SD-rats. Paravertebral and renal lymph nodes were examined with light and electron microscopy. Bases on the observation the authors are of the following opinions.

1. Lymph nodes play an important role in the defence mechanism in sense of mechanical barrier against, at least temporary, lymphatic spread of tumor cells. A series of biologic and morphologic reaction occur as a result of irritative action of tumor cell lodgement.
2. Cells provided with cytolytic activity against metastatic tumor cells are basically lymphocytes. Ma phology and immediate appearance of the reaction of the effector cells soon after tumor cell injection are consistent with NK nature of the reacting lymphocytes.
3. Direct contact of the effector cells, both lymphocytes and histiocytes, with tumor cells are necessary in the process of cytotoxicity of tumor cells.

Key words: Host reactions to tumor Lymphatic metastasis NK cells Animal experiment



图1 淋巴细胞(L)与肿瘤细胞(T)密切接触  
触处胞膜消失,胞浆溶合

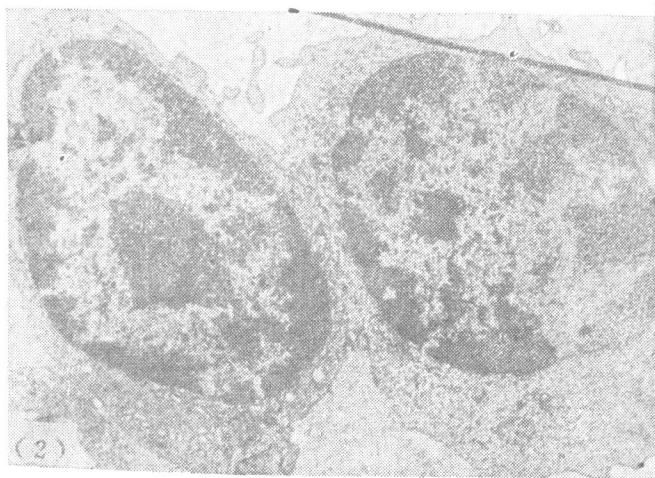


图2 示中淋巴细胞 ×1000

肺硬化性血管瘤的组织发生学研究: 细胞学、组织学、免疫组化及电镜观察 (正文见20页)

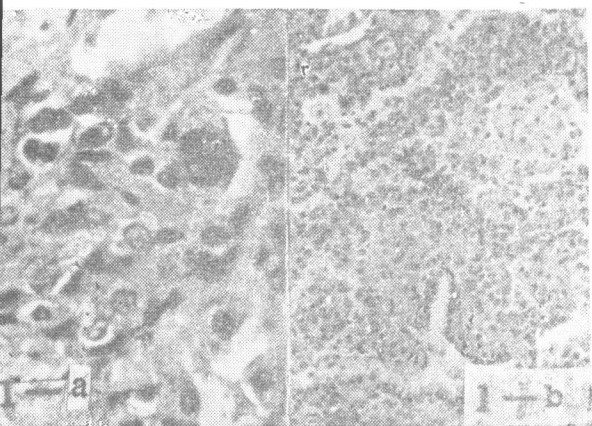


图1-a 实性肿瘤细胞条索,其中见个别双核细胞  
HE染色 ×400

图1-b 肿瘤具乳头形成,乳头由立方形成柱状细胞披复,间腔内见大量泡沫细胞  
HE染色 ×100

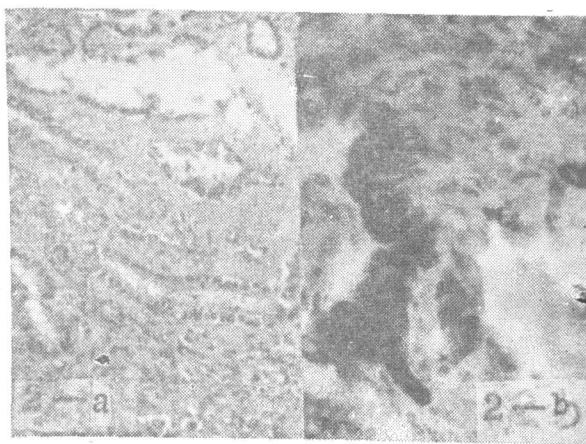


图2-a 硬化区,纤维组织增生,及少数腺样结构  
HE染色 ×100

图2-b 肿瘤组织的上皮性细胞角蛋白免疫组化呈阳性  
角蛋白-ABC-爱新兰染色 ×400

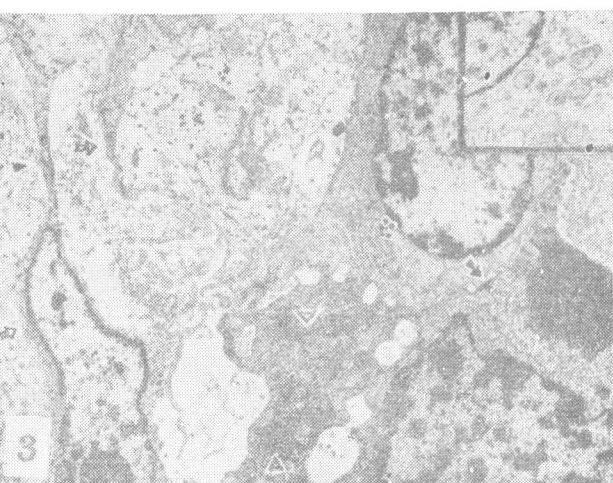


图3 上皮性(右侧)及纤维性(左侧)分化细胞,上皮性细胞内见栅栏状排列的粗面内浆网(⊙),板层体(右上角插图),糖原(▽),腺腔内微毛突起密度不同的分泌物,细胞间复合连接(←);纤维性细胞突起见桥粒样结构(▲),细胞外见基膜包绕(◁)  
铀·铅染色 ×4000

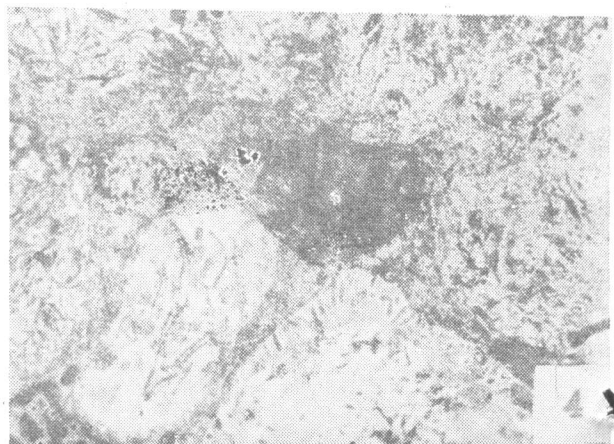


图4 双相分比的细胞,胞膜部分形成腺腔,并有微绒毛突起(中下),另一部分胞膜面有大量胶原纤维  
铀·铅染色 ×4000