

实验性肺转移瘤瘤灶计数的新方法

中国医学科学院基础医学研究所病理系 钱书森 高 进 王继信

通常采用的Bouin氏液固定后计算肺转移瘤灶数的方法^{〔1〕},只能计算出肺表面的转移灶,而不易计算肺实质内的转移灶。HILDA WEX/ER使用注射墨汁到气管内,然后计数的方法^{〔2〕},能较准确地计算出小的肺转移灶,但也只能计数肺表面的转移瘤灶。如用肺的连续切片在显微镜下计数,则耗费大量的人力、物力和时间。本文介绍两种计数小鼠实验性肺转移瘤灶数目的新方法,能较准确地计算出肺表面及肺实质内的转移瘤灶。现分别介绍如下。

材料和方法

一、铁苏木素大体染色透明计数法

1. 原理:本法主要利用铁苏木素对细胞核的染色作用,能将细胞核染成深黑色,而对细胞浆则不易染色。转移瘤灶的局部细胞数目增多且核大而密集。因此瘤灶经铁苏木素染色后必然染色深。瘤灶周围的肺组织结构疏松,染色也必然浅。这样,肺表面及肺内部的转移瘤灶,便很容易计算出较准确的数目。

2. 染色液的配方及步骤:本法主要从杨简教授的“子宫颈癌局部涂色简易快速诊断法”^{〔3〕}发展而来。

(1) 染色液:本液即Weigert氏铁苏木素液,系由等量的甲液与乙液混合而成。

甲液:①苏木素(hematoxylin) 1克

②纯酒精 100毫升

先将苏木素置入瓶内,然后加入100毫升纯酒精,溶化后成为灰红色半透明液体,置放四周后,液体变成深红色澄清液,此时方可使用。本液单独在室温保存多年有效。

乙液:①29%氯化高铁水溶液(Lig. Terrisquichlorati) 4毫升

②浓盐酸(内含35% HCl) 1毫升

③蒸馏水 95毫升

配好的乙液为澄清的淡黄色液,在室温下可以单独置放半年而不失效。

染色液系由等量的甲液与乙液混合而成。混合后的液体变为深紫黑色,即时应

用。混合后的染色液如置放不用,其染色效果会逐渐变弱,故使用时应以新鲜混合为佳。

②褪色液:为0.5%的盐酸水溶液(即将浓盐酸0.5毫升加入99.5毫升蒸馏水而成)。

3. 操作程序:

①将动物用拉断颈髓方法处死后,仰卧位固定在解剖腊板上,从中线切开颈、胸腹部皮肤,去除胸骨及前胸肋软骨,从喉以上切断并分离气管,用针尖磨钝的 $5\frac{1}{2}$ 号针

头及注射器插入气管内,结扎气管上端,注入10%甲醛液或空气约2毫升,使肺充分膨胀,然后结扎气管下端,抽出针头,小心地将气管及整个肺取下,固定于10%的甲醛液中24小时。操作时注意切勿弄破气管及肺,以防液体漏出。

②将已固定好的肺用水冲洗后,放在新混合的染色液中染色约10分钟左右,取出并水洗后,浸泡于褪色液中,至正常肺组织的染色褪净为止,然后用清水冲净。

③肺组织按常规经50%至纯酒精逐级脱水后,二甲苯透明。当肺组织透明后,即可取出在放大镜或解剖显微镜下分叶计算染成黑色的肺转移瘤灶数目。此时肺表面及肺内部的转移瘤灶均可数出。注意计数应尽快完成,然后将肺放回二甲苯中以防肺组织干燥。也可以用香柏油透明,这样在计数时可保持较长时间不干燥。

④计数完毕的肺组织,如有必要,可继续浸腊、色埋、切片、染色、供组织学检查之用。

二、膨胀压片计数法:

1. 原理:本法主要是利用肺脏本身是一结构疏松,质地柔软的组织以及转移瘤灶肉眼观察呈半透明圆形结节的特点,将肺组织夹于两块玻璃片之间,适当加压,组织变薄,对着光线查视,便能将肺上的转移瘤灶,用肉眼观察计数。

2. 操作程序:

①处死动物及注入固定液方法同上。

②将取下的肺平铺于垫有滤纸的载玻片上,载玻片两端各垫一根2毫米粗的细

棍,上面用另一块带有沪纸的载玻片,轻轻向下压平,然后用橡皮圈在载玻片的两端捆扎固定,最后放入10%甲醛液中固定24小时。

③取出肺,在放大镜下或解剖显微镜下对光观察,计算肺转移病灶。肺转移瘤灶呈圆形半透明点状物。也可以将肺未经固定直接压于玻片间进行肺转移瘤灶的计数,瘤灶亦呈圆形半透明点状物。

④计数完毕的肺组织,如有必要可继续制片作组织学观察。

结果与讨论

一铁苏木素染色透明计数法

用可移植小鼠Lewis肺癌⁽⁴⁾瘤细胞悬液接种于C₅₇BL近交系小鼠右腋下,发生肺转移后,用本方法即可容易地将肺内转移瘤灶计数出来。计数完毕之后的肺组织,经常规石蜡包埋切片,苏木素伊红染色,进行组织学检查,除了发现小支气管及肺泡导管扩张之外,对肺内转移病灶的组织形态结构的观察,基本上不受影响(见图1)。

二、膨胀压片计数法:

用可移植小鼠Lewis肺癌瘤细胞悬液接种于C₅₇BL近交系小鼠右腋下,肺转移

出现后,用本法观察肺转移瘤灶,呈圆形半透明区,借助于放大镜对着光亮处观察,便可容易地将肺上转移瘤灶数目计算出来(见图2)。计算完毕的肺组织,经常规酒精逐级脱水,石蜡色埋、切片,苏木素伊红染色后,进行了组织学检查,证实了肉眼检查的结果,除发现支气管及部分肺泡导管有扩张,部份肺泡有气肿外,对于肺转移瘤灶的组织形态结构的观察,基本上不受影响。

这两个方法的缺点是操作上复杂一些,同时由于对肺内加压灌注固定液,造成了一定程度的肺气肿改变。(本文图见封三)

参考文献

1. R. L. Clark, Systemic Cancer and the Metastatic Process. Cancer 43:790—797, 1979.
2. H. Wexler, Accurate Identification of Experimental Pulmonary Metastases. J. Nat. Cancer Inst. 36:641—645, 1966
3. 杨简:子宫颈癌局部涂色简易快速诊断法,中华妇产科杂志11:404—407, 1965.
4. K. Sugiura and C. Stock, Studies in a Tumor Spectrum. III. The Effect of Phosphoramides on the Growth of a variety of Mouse and Rat Tumors. Cancer Research 15(1):38, 1955.

腮腺瘢痕癌一例报告

吉林市第一人民医院

夏文魁 张玉华

患者于××,女性,42岁,病志号6587。四年前,偶而发现右侧耳垂下方长一黄豆大小肿物,实体性,生长缓慢,无特殊不适感。近半年来,肿物生长较快,已增至核桃大小,并有轻微疼痛,经反复消炎治疗无效,于1980年9月18日在我院疑诊腮腺混合瘤收入院。否认结核病史,无烟酒嗜好。

体检,右侧耳垂下方有一椭圆形肿物,体积3.0×2.5×1.5cm,边界清楚,表面尚光滑,实质性,较硬,活动欠佳,压痛(+),皮色正常。腮腺导管开口及口腔粘膜无红肿及分泌物,面神经症(-),颌下及颈下淋巴结不肿大。

白细胞10300,杆状2%、分叶77%、淋巴21%;血小板12万,出凝时间正常。心肺膈等无异常。

9月22日在全麻下行右腮腺肿物切除术,术后肿块送病理检查。

病理检查:(S、25912)椭圆形肿块,体积2.7×2.5×1.5cm,灰白色,质硬,无包膜,表面略粗糙,并有少量脂肪组织附着,切面仅见边缘少许腮腺组织,大部分为灰白色病变,质致密,硬韧。镜下,显示肿瘤组织生长在大块瘢痕组织中,瘤细胞构成多数大小形态不一的癌巢。有的呈实体状,有的呈腺泡样。瘤细胞分化较低,细胞大小形状不一,核浓染,圆形状或椭圆形,大小不等,核分裂相易见,核仁清楚。瘤组织所在之瘢痕组织中,可见胆固醇针状裂隙及钙化小区,边缘残余的腮腺组织间质内有少量淋巴细胞浸润。经多处多量制片均未见结核及梗死。

病理诊断:腮腺瘢痕癌一腺泡细胞型。

软骨样脊索瘤—附一例报告

(见正文163页)

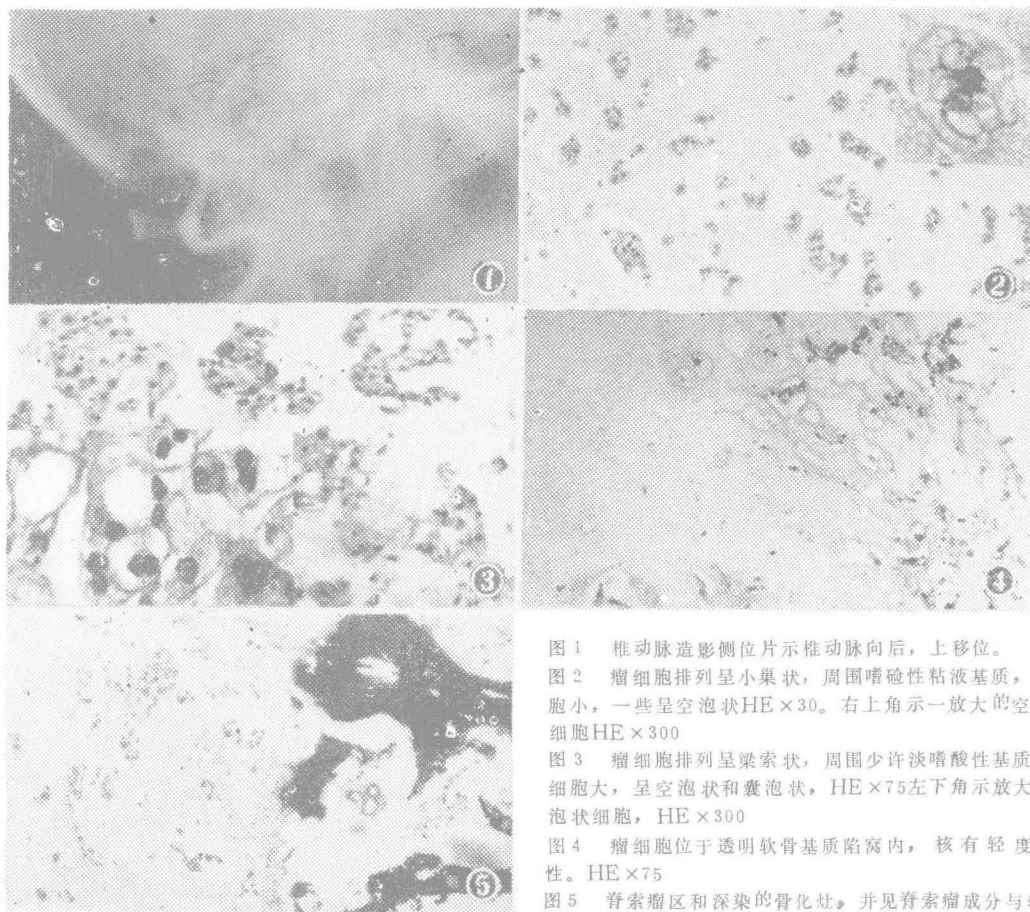


图1 椎动脉造影侧位片示椎动脉向后，上移位。

图2 瘤细胞排列呈小巢状，周围嗜硷性粘液基质，瘤细胞小，一些呈空泡状HE×30。右上角示一放大的空泡状细胞HE×300

图3 瘤细胞排列呈梁索状，周围少许淡嗜酸性基质。瘤细胞大，呈空泡状和囊泡状，HE×75左下角示放大的囊泡状细胞，HE×300

图4 瘤细胞位于透明软骨基质陷窝内，核有轻度异性性。HE×75

图5 脊索瘤区和深染的骨化灶，并见脊索瘤成分与软骨性成分逐步过渡。HE×75

实验性肺转移瘤瘤灶计数的新方法

(见正文146页)

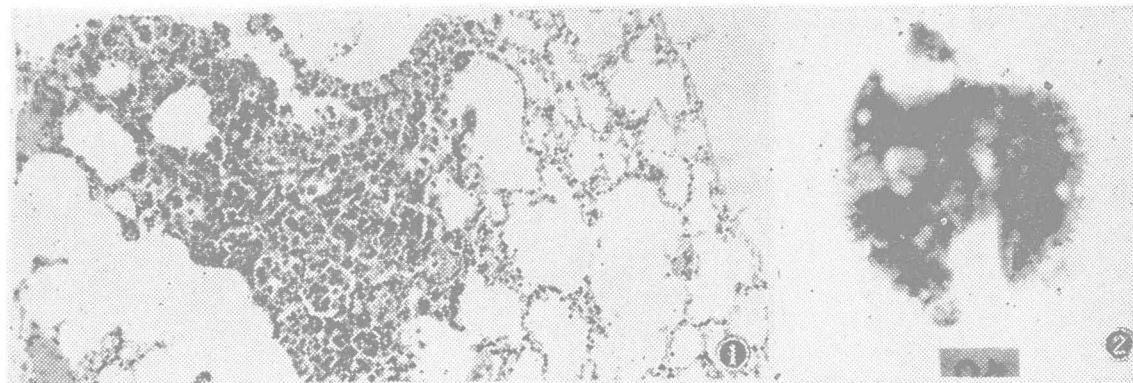


图1 C57 BL小鼠皮下接种Lewis肺癌后的肺，经铁苏木素染色透明计数法计数肺转移瘤灶后的组织学切片显微照相。图中央为一个肺转移瘤灶。HE×80

图2 C57 BL小鼠皮下接种Lewis肺癌后的肺，经膨胀压片法处理的肺大体照相。图中发亮区为转移瘤灶。×2