一例犬口腔纤维肉瘤的病理学诊断

杨禹治[1],任义军[2*],安玉婷[3],王立波[2],解生彬[3],俞晓鹏[1] (1. 盐城市大丰苏华饲料贸易有限公司,江苏盐城 224136;2. 江苏省大丰麋鹿国家级自然保护区管理处,江苏盐城 224136;3. 盐城市麋鹿研究所,江苏盐城 224136)

摘要 通过对一例突然出现吞咽困难、口腔流血的病犬进行临床检查,发现下颌骨的硬颚位置出现一个鸡蛋大小的肉瘤样组织,瘤体组织呈浸润生长,质地坚硬,手术切除后发现切面呈粉红色、鱼肉样。对切除组织进行组织病理学检查,切片显示肿瘤细胞多呈现梭状和三角状,细胞大小和形态不一,主要成分为成纤维细胞,细胞成分丰富,细胞排列紊乱,细胞核染色深浅不一,少量有核分裂相。手术后经化疗药物治疗 14 d,很快又出现复发。综合以上结果,确诊该病犬患恶性口腔纤维肉瘤。

关键词 犬;纤维肉瘤;组织病理学;诊断
中图分类号 S852.3 **文献标识码** A
文章编号 0517-6611(2020)05-0103-03
doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2020.05.028
开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Histopathological Diagnosis of a Case of Canine Oral Fibrosarcoma

YANG Yu-zhi[1], REN Yi-jun[2], AN Yu-ting[3] et al (1. Yancheng Dafeng Suhua Feed Trade Co. Ltd., Yancheng, Jiangsu 224136; 2. Dafeng Milu National Nature Reserve, Yancheng, Jiangsu 224136; 3. Yancheng Milu Research Institute, Yancheng, Jiangsu 224136)

Abstract By clinical examination of a dog that suddenly had the symptom of dysphagia and oral bleeding, a sarcomatoid tissue with the size of an egg was found on the hard palate of mandible, and the tumor tissue was infiltrating and hard after surgical resection. The cut surface was pink and fish-like. There histopathological examination was done for the removal tissues, the section showed the tumor cells are fusiform and triangular, cells size and shape varied. The main ingredient was fibroblast, the cell components were abundant and disorder, nuclear was staining unevenly, there was a small amount of mitosis. Through chemotherapy treatment for two weeks after surgery, the tumor soon recurred. Considering the above results, it was diagnosed as malignant oral Fibrosarcoma.

Key words Canine; Fibrosarcoma; Histopathology; Diagnosis

肿瘤是一种异常的组织团块或细胞群,与正常的组织相比,其生长过速而且不协调,且当引起癌变的刺激停止后仍可继续生长[1]。肿瘤是动物机体在内外因素作用下产生的,肿瘤的种类繁多,形态各异,有的形成肿块,有的在组织中浸润生长,破坏了正常的组织结构,恶性肿瘤常发生转移甚至危及动物生命。宠物肿瘤种类很多,从发生部位来看,犬皮肤肿瘤占首位,其次是乳腺瘤。每年犬患恶性肿瘤的比例为 381.2×10^{-8},猫患恶性肿瘤为 15.58%。某些品种犬恶性肿瘤发生在斗牛犬、圣伯纳犬、大丹犬、拳师犬等[2-3]。在临床上常见的病例发生于犬的口腔部位。笔者发现一犬患有口腔肿瘤病,通过对其发病部位、形态特征和实验室病理切片检查等,综合诊断为犬恶性口腔纤维肉瘤。笔者对犬纤维肉瘤形态结构和组织病理学特性进行了探讨,并开展治疗试验,旨在为犬纤维肉瘤的相关研究和治疗提供依据和积累经验。

1 材料与方法

1.1 病犬来源 患犬年龄 2 岁,体重 30 kg,品种为德国牧羊犬,性别为雄性,主要表现为口腔内有一肿瘤样组织,后经常规手术切除。

1.2 试剂与器械 福尔马林(购自江苏丹阳市埤城化工厂,型号 XK13-201-0481-020);正丁醇(购自上海化学试剂有限公司,型号 XK13-2010279-081);组织切片机(购自华纳-兰伯特技术公司,型号 A0820);苏木精染色液及伊红染色液(由扬州大学兽医学院病理教研组自行配制并提供)。

作者简介 杨禹治(1991—),男,江苏大丰人,助理兽医师,从事野生动物保护方面的研究。*通信作者,高级兽医师,从事野生动物保护方面的研究。

收稿日期 2019-09-03;**修回日期** 2019-09-15

1.3 病理切片的制作方法

1.3.1 取材。取 0.5 cm×0.5 cm×0.2 cm 的病料,浸泡在 10%福尔马林中固定。

1.3.2 固定。放置组织块体积 10 倍的甲醛水溶液(10%福尔马林)固定 26~36 h。

1.3.3 水洗。取出组织放入烧杯中,以单层纱布封闭烧杯口,置慢速水流下浸泡 10~24 h。

1.3.4 脱水。先放入 70%的乙醇脱水 2~4 h 后,放入 80%乙醇中脱水 2~4 h,再在 90%乙醇中脱水 2~4 h 后,放入无水乙醇中脱水 2 h,最后放入另一无水乙醇中脱水 2 h。

1.3.5 透明。将组织放入二甲苯溶液中 10 min,取出放入另一二甲苯溶液中 10 min。

1.3.6 浸蜡与包埋。组织透明后,放入熔化的石蜡(60 ℃)内浸渍,使石蜡渗入组织同时取代组织的二甲苯,浸蜡时间 2~4 h,在此期间换 1 次石蜡将熔化好的石蜡倒入包埋框,将组织的切面朝下放置,将准备好的标签放在未凝固的石蜡上面,冷却,完全凝固后修整蜡块,温室放置过夜后进行冷冻[4]。

1.3.7 切片。将从冷冻冰箱中取出的蜡块固定于切片机上,进行切片,厚度 4~6 μm。

1.3.8 展片、捞片。将切好的切片放入 30 ℃左右的温水中进行展平,展平后用洗干净的玻片捞起切片,放入 40 ℃水中 5 min 后捞起。

1.3.9 烤片。将切片至于干燥箱中 24 h,调整温度为 60 ℃继续烤片 1 h。

1.3.10 染色。采用 HE 染色法进行染色:二甲苯Ⅰ(10 min),二甲苯Ⅱ(10 min),无水乙醇(1 min),95%乙醇

(1 min),85%乙醇(1 min),75%乙醇(1 min),自来水冲洗(3 min),苏木精(5 min),流水冲洗(3 min),1%的盐酸乙醇(1 s),5%氨水返蓝 1 min,自来水冲洗 10 min,伊红(1 min),自来水冲洗若干次。

1.3.11 封片。切片给染色透明后,取出切片,拭去多余的二甲苯,滴 1 滴中性树胶,将玻片盖于切片上。

1.4 读片 制作后的切片在光学显微镜下进行观察,读片。

2 结果与分析

2.1 临床症状及手术后瘤体照片 2 岁体重 30 kg 的德国牧羊犬,检查体温和呼吸均正常。主诉消瘦,食欲不振,15 d 前发现左侧嘴外肿胀,逐渐变大流血 3~4 d。

检查口腔下颌骨的硬颚位置出现一个鸡蛋大小的肉瘤样组织(图 1),并呈现浸润生长,考虑可能为肿瘤,进行了手术切除,切除后发现肿瘤呈球形(图 2),质地坚硬,基底与硬颚相连,出血多。

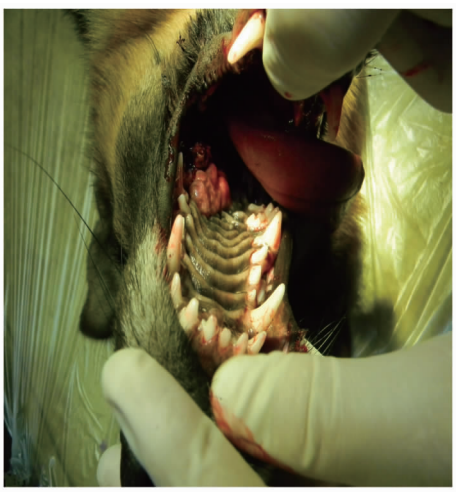


图 1 德国牧羊犬口腔检查结果

Fig. 1 The oral examination results of German Shepherd

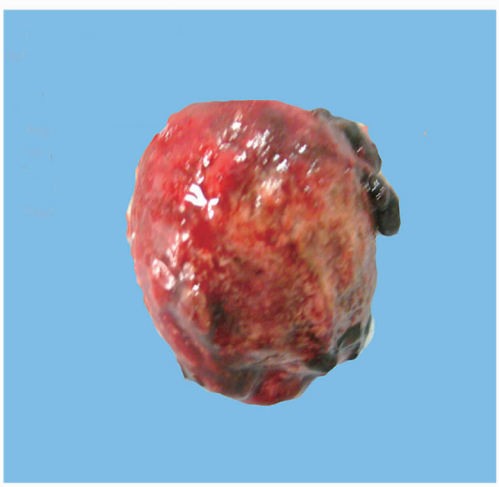


图 2 手术切除的部分肿瘤组织

Fig. 2 Part of tumor tissues removed by surgery

2.2 组织病理学检查结果 犬口腔肿块的切片,低倍镜下可见肿瘤组织血管丰富,有出血(图 3A)。某些出血部位出血深入到内部(图 3B),犬的口腔肿瘤由于口腔运动,造成表面和内部出血以及炎症(图 3C)。高倍镜下,肿瘤组织的特征如下:有些部位肿瘤细胞处于幼稚阶段,细胞核和细胞圆形,核淡染,空泡状,细胞排列密集,尚未形成条索状排列(图 3D);有些部位肿瘤细胞呈现梭状、三角状或条索状细胞,细胞核染色深浅不一,胞浆为粉红色胶原蛋白,细胞之间交织成网状。细胞核大小不一(图 3E)。但是,除了细胞多形态外,核分裂相对少见。肿瘤虽然是独立存在的,其细胞成分主要是成纤维细胞,细胞成分丰富,细胞大小不一、形态不一,染色深浅不一,细胞排列紊乱,具备纤维肉瘤的形态学特征。

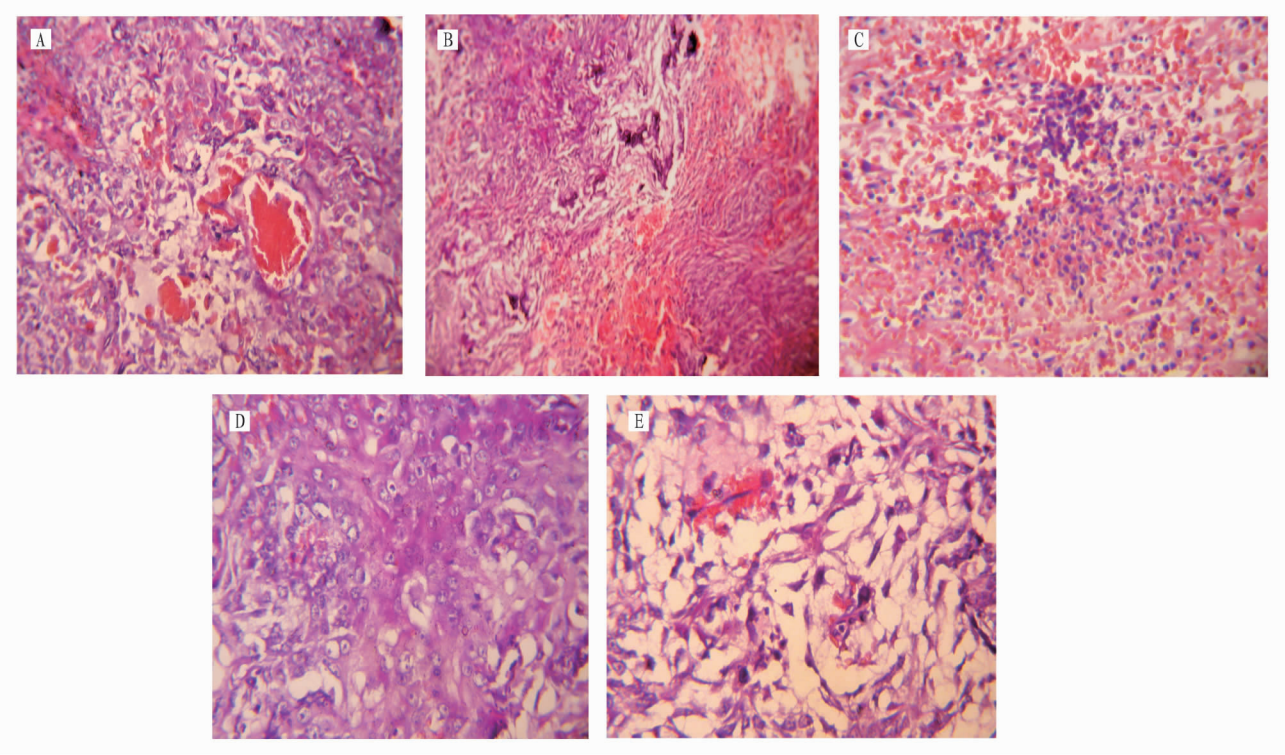
3 结论与讨论

纤维肉瘤是一种纤维细胞的恶性肿瘤,是由恶性成纤维细胞和产生胶原的混合间质细胞构成,占皮肤肿瘤的 9%~14%[5-6]。犬口腔纤维肉瘤是继黑色素细胞瘤和鳞状细胞癌之后,排名第三位常见的恶性肿瘤。常发生在 1~12 岁的犬上,平均发病年龄为 8 岁,多见于金毛寻猎犬、多伯曼平犬和德国牧羊犬等大型犬,尤其是雄性犬有多发倾向。该病病因不明,或与病毒有关。

犬口腔纤维肉瘤常见部位是犬齿和肉齿之间的硬腭和上颌骨齿龈[7],表现为一种坚实、新鲜的肿瘤,瘤体呈节状、分叶状或不规则形,与周围组织界限清楚,有时还见有包膜;质地比正常的组织稍硬;大小数量不一;切面呈粉红色或灰白色,均质似鱼肉样。出现的症状决定于肿瘤位置和大小伴有吞咽困难、流涎、厌食或食欲不振,口臭,夸张的咀嚼动作或咀嚼困难,或用爪子抓嘴等症状。纤维肉瘤与很多的肿瘤癌症有相似之处(鳞状细胞癌、恶性黑色素细胞瘤、血管肉瘤、其他口腔肿瘤),所以鉴别它们是非常重要的。该病诊断时要依据犬的年龄、品种、性别和位置特点也可结合 X 光片和 CT 进行诊断。但是,最后确诊还需要依靠切除的组织进行组织病理学检查确诊[8]。

纤维肉瘤之间的差异较大。分化程度高、恶性程度低的纤维肉瘤与纤维瘤相近;分化程度低、恶性程度高的纤维肉瘤与纤维瘤有明显差异。表现为瘤细胞大小不等,瘤巨细胞多见;瘤细胞形态不一,多形性显著;瘤细胞核染色深,常有核分裂相;瘤细胞多,而胶原纤维很少。异型性最大的纤维肉瘤,瘤细胞呈梭形或比较短胖,此时很难同间变癌区别。大多数纤维肉瘤的基质很细致,血管较多。猫纤维肉瘤较犬多发。

对于该病的治疗,大多采用手术切除、辅助化学治疗的方法。但是纤维肉瘤对放化疗不敏感,且复发率高[9-10]。手术后,也采用注射环磷酰氨及阿糖胞苷的方法进行治疗,但 14 d 后又出现复发现象,因此目前尚没有一个有效的治愈肿瘤的方法。人类医学上目前大多采用联合治疗的方法,即生物治疗与放化疗法相结合。其中,生物治疗的前沿技术有生物细胞免疫治疗、基因治疗、癌症干细胞靶向治疗等,目前临床上比较成熟的生物治疗方法是生物细胞免疫治疗。生物细胞免疫治疗是一种新兴的、具有显著疗效的肿瘤治疗模式,是一种自身免疫抗癌的新型治疗方法。生物治疗是继手术、放疗和化疗之后的第四大肿瘤治疗技术[11]。据报道,通



注：A. 200×；B. 200×；C. 400×；D. 400×；E. 400×

图 3　病犬组织病理学检查结果

Fig. 3　Histopathological examination results of sick dogs

过此方法在哈尔滨成功治愈了 1 例结肠癌病例，但今后病例治疗中具体还需根据病畜的病情而定。

参考文献

[1] 赵德明. 兽医病理学[M]. 北京：中国农业大学出版社，1998：136-151.
[2] 张健. 几例犬肿瘤病病例的诊治与体会[C]//全国畜医外科学第 13 次学术研讨会、小动物医学第 1 次学术研讨会暨奶牛疫病第 3 次学术讨论会论文集. 北京：中国畜牧兽医学会，2006.
[3] 马卫明，王春璈. 狗病临床手册[M]. 北京：金盾出版社，2006：121-122，502-503.
[4] 胡玉龙. 成黄过程中胆汁 ConABP、胆红素、钙含量和胆囊壁组织结构的变化[D]. 扬州：扬州大学，2009.
[5] 何英，叶俊华. 宠物医师手册[M]. 2 版. 沈阳：辽宁科学技术出版社，2009：449.
[6] 齐新永. 犬肿瘤病的病理学诊断[J]. 上海畜牧兽医通讯，2009(5)：112-113.
[7] 叶俊华. 犬病诊疗技术[M]. 北京：中国农业出版社，2004：577-579.
[8] MORGAN R V. 小动物临床手册[M]. 4 版. 北京：中国农业出版社，2004：297-301.
[9] 马庆华. 中国兽药[M]. 北京：中国兽药杂志出版社，2002：36-38.
[10] 王振勇，李玉冰. 宠物病理[M]. 北京：中国农业科学技术出版社，2008：194-200.
[11] 安徽生物细胞中心[EB/OL]. [2019-04-05]. https://baike.sogou.com/v55150283.htm.

（上接第 102 页）

[14] 牟维豪，耿毅，欧阳萍，等. 1 株黑斑蛙源蛙病毒的分离鉴定及系统进化分析[J]. 华南农业大学学报，2019，40(2)：40-46.
[15] 李莉娟，罗杨志，顾泽茂，等. 蛙病毒 3 介导棘胸蛙的暴发性死亡[C]//中国水产学会鱼病专业委员会 2013 年学术研讨会论文摘要汇编. 海口：海南大学海洋学院，2013.
[16] BRENES R，GRAY M J，WALTZEK T B，et al. Transmission of ranavirus between ectothermic vertebrate hosts[J]. PLoS One，2014，9(3)：924-931.
[17] 胡金春，胡霭臻，金米雪，等. 棘胸蛙虹彩病毒免疫方法研究[J]. 安徽农业科学，2018，46(7)：86-87，154.