

# 颌下腺鳞状细胞癌动物模型的建立

曹选平 刘学军 郝志芳 马长路 毛祖彝

**摘要** 目的:研究涎腺鳞状细胞癌(鳞癌)的发生和发展规律,建立涎腺鳞癌动物模型。方法:采用化学致癌剂——二甲基苯丙蒽植入颌下腺体内的方法,对50只SD大白鼠颌下腺进行诱癌实验,观察肿瘤诱发情况。结果:共诱发肿瘤21例,均为鳞状细胞癌。结论:用含有二甲基苯丙蒽的明胶海绵植入大鼠颌下腺体内能成功地建立颌下腺鳞癌的动物模型。

**关键词** 二甲基苯丙蒽 大鼠 颌下腺鳞状细胞癌 动物模型

## Establishment of Rat Submandibular Gland Squamous Cell Carcinoma Induced by DMBA

Cao Xuanping, Liu Xuejun

*Faculty of Stomatology, Henan Medical University*

Hao Zhifang, Ma Changlu

*Henan Key Laboratory for Tumor Pathology*

Mao Zuyi

*College of Stomatology, West China University of Medical Sciences*

### Abstract

**Objective:** To study carcinogenesis and development of salivary gland tumor and establish an animal model of submandibular gland (SMG) tumor. **Methods:** Histopathological study during carcinogenesis in rat SMGs using (9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene (DMBA) was evaluated. A total of 50 male and female Sprague-Dawley (SD) rats of 8 weeks old and 180~200 g weight were obtained from the Animal Center of Henan Medical University. Under pentobarbital sodium anesthesia, the left SMGs were exposed by surgical procedure. A sponge pellet (1.0 mm ×1.0 mm ×1.0 mm, made by authors) was used as the carrier of the carcinogen. The sponge containing 2% DMBA (Fluka, Switzerland)/ acetone solution was implanted into the glandular tissue of the left SMGs. Four rats (2 males and 2 females) were killed after every 2 weeks of the DMBA/sponge implantation. The same method of sponge implantation without DMBA was used at the right side of SMG as a control. All rats left were killed after 20 weeks. The SMGs were fixed in 10% formalin buffer solution for 24 hours, and embedded in paraffin, then 4μm-thick sections were made for histopathological study. **Results:** The earliest tumor occurred after 4 weeks of implantation of sponge, a total of 21 lateral tumors were induced (10 females, 11 males). There was no tumor found in the controlled SMG. The peak time of tumor genesis was after 8~12 weeks of implantation, all tumors induced were squamous cell carcinomas(SCCs). The induced tumors grew slowly below the mandibles of rats, which were present as nodular masses without capsules, and the borders were not clear. They were slightly hard when palpated. The process of carcinogenesis can be described as following: squamous metaplasia of cyst like structures occurred, then SCCs were induced and invaded surrounding tissues. No metastasis was observed in regional lymph nodes and other organs. **Conclusion:** SCCs of SMG can be induced by implantation of DMBA. The present study supports the conclusion that all duct segments undergo squamous metaplasia, and therefore may participate in the genesis of neoplasia during experimental carcinogenesis.

**Key words:** 9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene

rat submandibular gland squamous cell carcinoma animal model

作者单位:450052 河南医科大学口腔系(曹选平,刘学军),  
河南省肿瘤病理学重点实验室(郝志芳,马长路),华西医科大学  
口腔医学院(毛祖彝)

肿瘤实验性研究的目的在于建立肿瘤的动物模型,以便探索肿瘤的病因、发病机理,从而寻求诊断、治疗以及预防措施,开发新的抗肿瘤药物等。涎腺肿瘤是口腔颌面部特有的一大类肿瘤,为了研究其发生、发展规律,作者应用二甲基苯丙蒽(9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene,DMBA)诱发大鼠颌下腺鳞状细胞癌,建立颌下腺鳞癌的动物模型,为深入研究涎腺肿瘤提供素材。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

由河南医科大学动物实验中心提供8周龄SD(Sprague-Dawley,SD)大鼠50只,体重180~200g,雌雄各25只,按性别分为两组。

### 1.2 肿瘤诱发剂

二甲基苯丙蒽(DMBA),由瑞士Fluka公司生产,溶剂为分析纯丙酮。

### 1.3 实验方法

用1%戊巴比妥钠溶液,按45mg/kg腹腔给药,麻醉大鼠,剪毛备皮。在大鼠颈部作横切口,切开皮肤2.0cm,暴露双侧颌下腺体。在左颌下腺内埋入浸有2%DMBA的明胶海绵块(1mm×1mm×1mm,约含DMBA 1.0mg),右颌下腺内埋入浸有分析纯的丙酮明胶海绵块(1mm×1mm×1mm)作为对照,分层缝合腺体包膜和皮肤。术后按雌雄分笼饲养,给予标准实验动物饲料;每过2周随机处死雌雄大鼠各2只,取其颌下腺,用10%缓冲福尔马林液固定标记,满5个月时全部处死,将所有标本(包括淋巴结、肺)常规病理切片,HE染色进行系统观察分类。

## 2 结 果

### 2.1 肿瘤诱发情况

除4只大鼠因麻醉原因死亡外,其余46只大鼠顺利完成实验。实验结束时,共诱发肿瘤21侧,其中雄性11侧,雌性10侧,对照侧无一例肿瘤出现。肿瘤出现时间较早的是实验开始后第4周,而有的大鼠直到实验结束时也未见肿瘤生长。肿瘤出现的高峰期在实验开始后的8~12周,12周后出现的仅有1例。

### 2.2 肉眼观察

观察时间为5个月。术后5周时,有的大鼠即有颌下肿物出现,类圆形,质地较硬;生长缓慢,逐渐与皮肤粘连,但无皮肤破溃。肿瘤直径从0.5~4.0cm不等,无包膜,类圆形,不规则结节状,质硬韧,边界不清,与周围组织有粘连;剖面呈大小不等

的囊肿,灰白色,可见有灰白色的坏死物(图1)。

### 2.3 光镜观察

肿瘤组织常出现囊肿,腔内被覆鳞状上皮,并有大量角化物质,癌细胞向囊壁周围浸润生长;癌细胞排列成大小不等、不规则的片块或条索状,癌巢之间有结缔组织间质,常见淋巴细胞和浆细胞浸润,以及腺体纤维化。角化珠多少不一,分布不均(图2)。以上肿瘤均未见到淋巴结或肺转移。

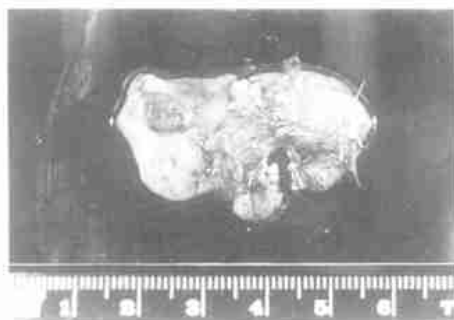


图1 用药后12周,离体肿瘤标本,图中可见囊肿及坏死物



图2 癌细胞向囊壁周围浸润生长

## 3 讨 论

在口腔颌面领域关于实验性肿瘤的诱发实验多以DMBA为诱发剂,靶器官以颊囊为最多,其次为舌部<sup>1</sup>。关于涎腺肿瘤的动物模型研究,早在1942年,Steiner<sup>2</sup>首先用化学致癌的方法诱发了鳞癌和腺癌,随后一些学者相继对涎腺肿瘤动物模型进行研究<sup>3,4</sup>。由于所选动物、用药种类及给药方式的不同,诱发的肿瘤组织学类型也不相同,其中主要是纤维肉瘤和鳞癌,其它肿瘤十分少见或在动物实验中不可能发生。1994年葛淑芬等<sup>5</sup>用20-三甲基胆蒽诱发了小鼠颌下腺纤维肉瘤;1997年,马长路、曹选平等<sup>6,7</sup>用三甲基胆蒽成功地诱发了大鼠颌下腺平滑肌肉瘤和鳞癌,但以肉瘤多见。

人类涎腺肿瘤中,上皮性肿瘤多于间叶性肿瘤。为此,作者采用DMBA明胶海绵块植入的方

法,成功地诱发了大鼠颌下腺鳞癌;方法简单,准确而可靠,而且肿瘤出现时间较早,最早为实验开始后第4周;发瘤率较高,约45%(21/46);与其他作者相比较,葛淑芬用20-三甲胆蒽诱发肿瘤,发瘤率为25%(5/20),发瘤时间为实验开始后第8周,Sumitomo等<sup>4</sup>用DMBA明胶海绵块植入法,最早出现肿瘤时间为实验开始后第6周,结果全是鳞癌,与本实验结果基本相同。

综合国内外文献,关于涎腺肿瘤的动物模型研究,其应用最多的致癌剂为DMBA和MCA,靶器官以颌下腺为最多(因其形态规则,易于显露),诱发的肿瘤组织学类型以肉瘤和鳞癌为主。结合本研究结果,作者认为诱发肿瘤的组织学类型与实验动物的组织特异性,诱癌剂的种类、投药的浓度、剂量、方式等均有关,通常认为,局部涂布所诱发的肿瘤以上皮性肿瘤为多,注射方式则以间叶性肿瘤为主。DMBA诱发的肿瘤以鳞癌多见,MCA则主要诱发肉瘤。本实验采用DMBA局部植入,结果全部为鳞癌。由于在用药2周时所采集的标本中,观察到了导管上皮的鳞状化生,因此,作者认为鳞癌的组织来源可能起源于导管上皮。

织来源可能起源于导管上皮。

### 参考文献

- 1 饶小浪. DMBA 诱发大鼠口腔癌的初步研究. 口腔医学纵横, 1990, 6(3): 159 ~ 160
- 2 Steiner PE. Comparative pathology of induced tumors of the salivary glands. Arch Path, 1942, 34(4): 613 ~ 624
- 3 Takeuchi J, Miura K, Usizima H, et al. Histological changes in the submandibular glands of rats after intraductal injection of chemical carcinogens. Acta Path Jpn, 1975, 25(1): 1 ~ 3
- 4 Sumitomo S, Hashimura K, Mori M. Growth pattern of experimental squamous cell carcinoma in rat submandibular glands - an immunohistochemical evaluation. Eur J Cancer B Oral Oncol, 1996, 32B(2): 97 ~ 105
- 5 葛淑芬, 盐田觉. 20-三甲胆蒽诱发小鼠颌下腺纤维肉瘤及其超微结构的研究. 中国医科大学学报, 1994, 23(4): 319 ~ 321
- 6 马长路, 刘学军, 曹选平, 等. 颌下腺肿瘤动物模型的建立. 河南医科大学学报, 1997, 32(3): 60 ~ 61
- 7 曹选平, 刘学军, 何巍, 等. 3-甲基胆蒽诱发大鼠颌下腺肿瘤的实验研究. 华西口腔医学杂志, 1999, 17(2): 128 ~ 130

(1999-04-20 收稿, 2000-01-25 修回)

## 中华口腔医学会第二次全国口腔种植学术会议 暨第一届北京国际口腔种植研讨会征文通知

由中华口腔医学会、中华口腔医学会口腔种植协作组、北京医科大学口腔医学院、国际精萃牙科出版集团联合举办的第二次全国口腔种植学术会议暨第一届北京国际口腔种植研讨会, 将于2000年10月12~14日在北京举行。会议将邀请现代口腔种植学的奠基人 Branemark 教授以及 Spiekermann 教授等六名国际知名的口腔种植学专家以及国内的两名专家进行为期两天的专题学术报告, 并进行为期一天的国内学术交流, 现在开始征文。

凡欲参加大会并进行大会学术交流者, 请将800字的中文摘要, 400词的英文摘要各一份寄到北京医科大学口腔医学院口腔种植中心邱立新(邮编100081)处, 中英文摘要书写格式为目的、材料方法、讨论、结论四段式。征文截稿日期为2000年7月30日, 收到来稿后将于8月底前发出第二轮通知。

大会筹备组

## 第七届口腔种植学新技术学习班通知

华西医科大学卫生部口腔种植科技中心将于2000年10月4~9日在成都举办国家级继续教育项目——口腔种植学新技术学习班。该班主要讲授口腔种植学基础理论知识, 人工种植牙种植体植入术及种植义齿修复设计与制作, 并安排有讨论、手术示教等。学习结束时, 授予相应的学分。本班学员必须具有中级及中级以上口腔医学专业技术职称, 或临床已从事口腔专业工作8年以上的中级及中级以上专业技术职称等。

联系单位: 华西医科大学卫生部口腔种植科技中心培训部。联系人: 王昆, 地址: 610041 成都市小天竺街75号, 电话: (028) 5502353, 5559219 转 8202。