

穿刺活检技术在犀牛肿瘤疾病诊断中的应用

王运盛¹, 罗毅¹, 国欣欣¹, 李翔翔¹, 普天春¹, 赵素芬², 卢岩², 张成林^{1,2,*}

(1. 北京动物园, 北京 100044; 2. 圈养野生动物技术北京市重点实验室)

摘要:在野生动物疾病的诊治过程中, 肿瘤疾病是不可忽视的一个问题, 而对于珍惜野生动物来说, 如何在对动物造成损伤最小的情况下进行肿瘤病例诊断是一个不可避免的问题。本文以北京动物园圈养犀牛角基部肿瘤穿刺活检技术应用为例, 通过穿刺活检及病理学诊断技术, 最终确诊为罕见的基底样鳞状细胞癌; 并探讨了在珍惜野生动物肿瘤疾病诊治过程中穿刺活检的重要性。为今后珍惜野生动物肿瘤的微创取样以及病理诊断工作提供了较为可靠的经验和方案。

关键词:犀牛, 基底样鳞状细胞癌, 穿刺活检技术

[中图分类号] S854.4⁺4 [文献标识码] A [文章编号] 1004-6704(2021)06-0050-03

Application of Puncture Biopsy of Aspiration Technique in Diagnosis of Rhinoceros Tumor Disease

WANG Yun-sheng¹, LUO Yi¹, GUO Xin-xin¹, LI Xiang-xiang¹, PU Tian-chun¹,

ZHAO Su-fen², LU Yan², ZHANG Cheng-lin^{1,2,*}

(1. Beijing Zoo, Beijing 100044, China; 2. Beijing Key Laboratory of Captive Wildlife Technologies)

Abstract: In the process of diagnosis and treatment of wildlife diseases, tumor disease is a problem that can not be ignored. For cherishing wildlife, how to diagnose tumor cases with minimal damage to animals is an unavoidable problem. In this paper, a rare basaloid squamous cell carcinoma was finally diagnosed by needle biopsy and pathological diagnosis based on the application of puncture biopsy of aspiration in the basal tumor of captive rhinoceros horns in Beijing Zoo. The importance of puncture biopsy of aspiration in the diagnosis and treatment of wild animal tumor diseases was discussed. It provides a more reliable experience and scheme for cherishing minimally invasive sampling and pathological diagnosis of wildlife tumors in the future.

Key words: rhinoceros; basaloid squamous cell carcinoma; puncture biopsy of aspiration

在野生动物饲养管理工作中, 疾病防治工作是其重要的组成部分, 而众多的致病因素中, 肿瘤较为少见, 但同样不能忽视。近年来, 随着国内圈养野生动物数量的增加以及野生动物诊疗工作的深入, 肿瘤发病率呈现逐年上升的迹象。然而对于珍惜野生动物来说, 如何快速对肿瘤进行确诊的同时, 能够尽可能的降低肿瘤取材对动物的影响, 成为了现阶段需要关注的问题。

本文以北京动物园圈养犀牛皮肤肿瘤的微创穿刺活检技术应用为例, 通过组织病理学诊断, 对该病例进行探讨。以期为今后珍惜野生动物肿瘤取材及病理学诊断提供对应思路和诊疗方案。

[收稿日期] 2021-04-03

[作者简介] 王运盛(1982-), 男, 山西太原人, 博士, 高级兽医师, 主要从事野生动物病理诊断和研究工作。E-mail: wangyunshengabc@163.com

*[通讯作者] 张成林(1964-), 男, 研究员, 主要从事野生动物疫病防治和研究工作。E-mail: zhch6465@263.net

1 材料与方法

1.1 病料(病例概述)

本病例为北京动物园圈养犀牛, 最初发现该犀牛的角质层出现轻微坏死、脱落, 随后经临床兽医治疗, 略有稳定, 但创面出现溃疡趋势, 有形成感染灶的风险。考虑到持续创面刺激对犀牛造成不利影响, 同时为了防止病变进一步加重; 需要对该肿物进行病理学诊断, 并根据病理诊断结果对犀牛健康状态进行评估。随后进行了角基部活检, 穿刺采样后进行病理学观察诊断。

1.2 试验方法

1.2.1 穿刺活组织取材 犀牛手术前1天进行隔离观察, 禁食16h, 手术前对角基部创面进行全面消毒。主治兽医采用穿刺针进行活组织穿刺采样, 采样结束后及时止血, 并外敷止血药。取材全程犀牛状态平稳, 犀牛采样前后未发生不良反应。

1.2.2 病料前期处理 采样后将病料迅速投入10%的福尔马林液,进行病理切片前处理。经固定、修块后可见病料大小为 $5\times 1\text{mm}$,呈灰黄色,质地硬实,偶见出血(图1)。

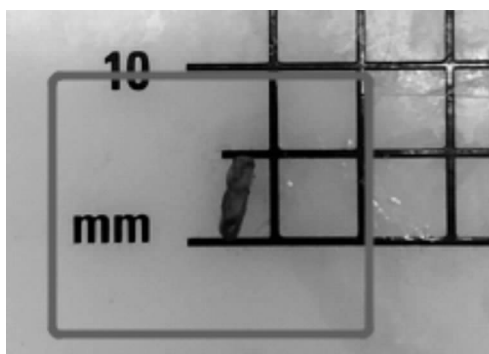


图1 犀牛角基部活检病料

1.2.3 H. E. 染色 石蜡切片分别经二甲苯脱蜡,无水乙醇、95%乙醇、85%乙醇、75%乙醇、50%乙醇梯度复水,下行至双蒸水中,苏木精染色10 min,

1%盐酸酒精分色数秒,水洗返蓝15 min;再依次通过50%乙醇、75%乙醇、85%乙醇、95%乙醇梯度脱水后,伊红染色1 min,95%乙醇洗涤,再经无水乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。切片放置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温箱内过夜烘干后镜检。光学显微镜下观察组织病理学变化情况。

2 结果与分析

低倍镜下瘤组织被纤维结缔组织分割成岛屿状(图2A),并伴随坏死、炎性细胞浸润、小血管生成(图2B)。高倍镜下观察,岛屿内既有基底样细胞团块又有鳞状细胞的分化。小岛的边缘为排列致密的基底样细胞,而中央为鳞状细胞,增生的鳞状上皮表现出从基底细胞到角质细胞的良好分化,可见角化珠的形成,同时角化珠坏死,内有中性粒细胞浸润(图2C,图2D)。同时高倍镜下可见基底细胞出现大量细胞核异型性,如X型、II型(图2E、图2F)。

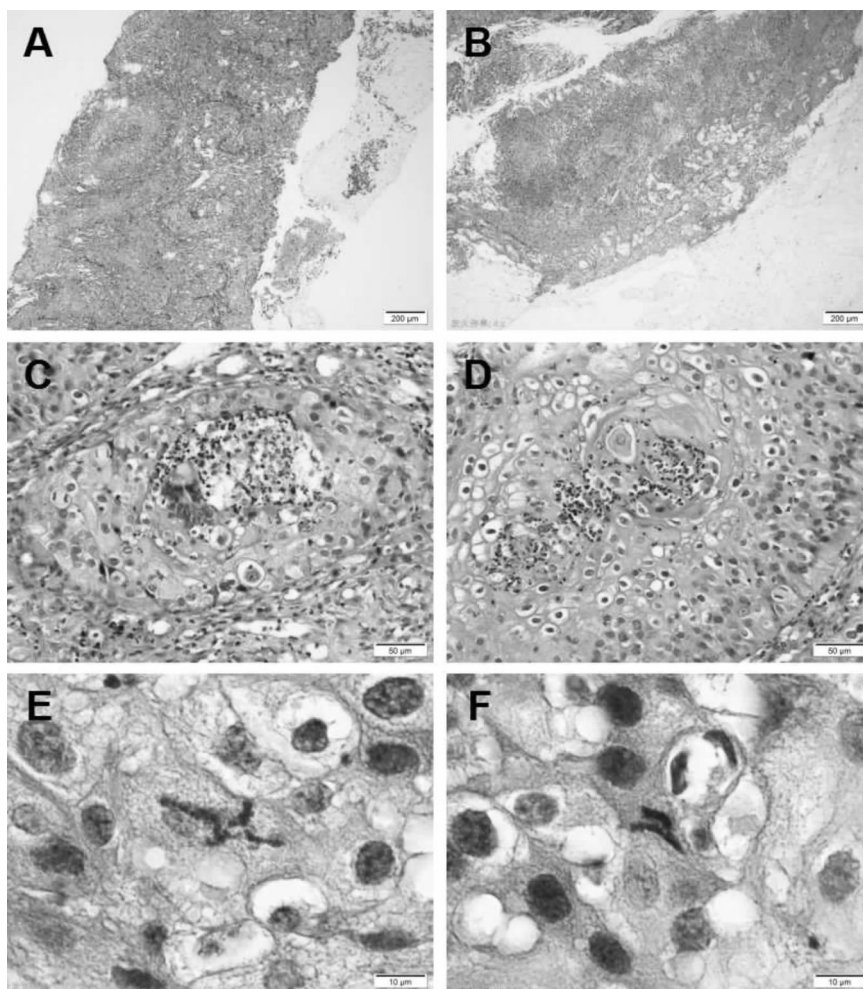


图2 犀牛角基部病理学观察

A: 岛屿状瘤组织; B: 坏死、炎性细胞浸润,小血管生成; C: 角化珠坏死;
D: 鳞状细胞增生,角化珠初步形成; E、F: 大量细胞核异型性;

3 诊断

经组织病理学诊断,犀牛角基部肿物为:基底样鳞状细胞癌(Basosquamous Carcinoma)。同时由于基底样鳞状细胞癌的持续存在,造成患部长期炎症反应。

4 讨论

基底样鳞状细胞癌是形态组织学特性介于基底细胞癌和鳞状细胞癌之间的一种恶性程度较低的肿瘤,主要由含有鳞状细胞分化灶的基底样细胞群构成。现有资料显示该肿瘤不转移,手术切除是最有效的治疗方案。但如果切除不充分,肿瘤可能在手术部位复发。从发病率来说,基底样鳞状细胞癌很罕见,多发于中老年动物,目前没有发现有性别差异。多发于头部、颈部还有后肢。该肿瘤发生于皮内,多数伴随溃疡灶出现。

活检组织病理诊断,是指应诊断、治疗的需要,从患病动物体内或体外切取、钳取或穿刺等取出病变组织,进行病理学检查的技术。针对动物肿瘤诊断工作,过去的关注点多集中于使役生产动物,如奶牛白血病,鸡马立克氏病等;而在圈养野生动物,关于肿瘤疾病的研究、报道则极为少见。而由于珍惜

野生动物的特殊性,在保证动物存活的前提下通过手术方式进行肿瘤摘除、病理诊断以及术后护理则更加困难。因此,将穿刺活检技术在珍惜野生动物病理诊断工作进行应用就显得尤为重要,在本文中,在保证犀牛安全的前提下,采用穿刺活检技术,将取材损伤降到了最低的同时,保证了病理诊断工作的完成,采样过程平稳,穿刺前后犀牛状态一致。

5 结论

本研究采用穿刺活检技术,结合病理学观察,对犀牛角基部进行病理学诊断,最终确诊为基底样鳞状细胞癌,并根据病理学诊断结果制定相应后续治疗方案,取得了不错的效果。此病例的完成,为今后珍惜野生动物肿瘤的微创取样以及病理诊断和治疗工作提供了较为可靠的经验和方案。

参考文献:

- [1] 张成林,夏茂华,等. 圈养野生动物疾病及发病原因分析[J]. 野生动物,2013,34(5):267-269.
- [2] 赵德明,周向梅,杨利峰. 动物组织病理学彩色图谱[M]. 北京:中国农业大学出版社,2005:235-247.
- [3] 陈颖,朱明华. 液态活检技术的发展及肿瘤领域的应用[J]. 分子诊断与治疗杂志,2015,7(6):361-366.

(上接第 49 页)

明显升高的趋势,说明弱碱性环境可促进细胞聚集接触、引起磷脂双分子层疏松重排,提高细胞的融合率。可能原因一可能是 pH 对 PEG 活性产生了影响,原因二可能是 pH 对融合细胞自身产生了影响。当 pH=8.5~9.0 时细胞的融合率又出现下降趋势,表明强碱性条件不利于细胞融合。

5 结论

在本科实验教学时,选择适宜观察的有核红细胞、便于操作的 50%浓度的 PEG 为实验材料;利用肝素类抗凝管采集血液,且 4℃保存细胞稳定性好;全血与洗涤液和缓冲试剂按 1:10 比例、pH 为 8.0 时进行融合的细胞融合率最高。

参考文献:

- [1] 鲁云凤,杨柯金,杨建伟,等. 蟾蜍红细胞融合条件的正

交设计优化[J]. 生物技术,2009,19(6):44-45.

- [2] 仇燕,李朝炜,苗芳,等. 聚乙二醇诱导鸡红细胞融合条件的优化[J]. 生物技术,2011,21(3):50-53.
- [3] 马云,何昆,王晓玉,等. PEG 诱导鸡红细胞融合影响因素探讨[J]. 德州学院学报,2011,27(2):54-58.
- [4] 李乐,张城硕,张佳林. 细胞融合技术及其应用研究进展[J]. 辽宁医学杂志,2013,27(4):195-198.
- [5] 马嘉碧,古海渝,黄月揖,等. 家鸡血细胞诱导融合中细胞与聚乙二醇混匀方法的改进[J]. 湛江师范学院学报,2012,33(6):98-101.
- [6] 严镇钧,张小兵. 聚乙二醇介导细胞融合的优化条件探究[J]. 湖北师范学院学报(自然科学版),2014,34(1):14-19.
- [7] 潘干华,李哲刚,申莞子,等. 不同抗凝剂和温度对红细胞渗透脆性试验结果的影响[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(4):433-434.