

# 金地鼠颊囊癌变模型的动态电镜观察

张水龙 汪 铮 周曾同 翁卿云 曹宏康 许国祺

癌前病变是近年来肿瘤研究领域中的热点之一。由于从癌前病变到癌是一个渐变的动态过程,故本研究应用透射电镜动态观察动物模型由正常上皮细胞到轻度异常增生到中度异常增生到重度异常增生到癌的超微结构变化情况,旨在揭示由癌前病变至癌的变化规律。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

将1g DMBA 在室温下振荡溶解于200ml 丙酮溶液中,配制为0.5%的DMBA(二甲基苯丙蒽)丙酮备用。

取叙利亚种金地鼠55只,4~8周龄,体重60~100g,动物为封闭群,常规条件下分笼分组饲养,喂食金地鼠全价营养颗粒饲料上海西普尔BK公司提供。

### 1.2 实验方法

用乙醚麻醉金地鼠,用大直镊撑开颊囊口,擦干颊囊中央为中心约1cm×1cm区域的涂布范围。用1号油画笔蘸取DMBA液,以双侧颊囊为中心作圆周运动,涂抹10次左右。禁食、禁水2h。

### 1.3 实验分组

空白对照组:金地鼠8只,实验开始时处死2只,正常饲养于实验结束时处死6只。

模型组:金地鼠47只,每周涂抹DMBA3次,不服药,于2~9周,每周处死2~5只,停止涂抹DMBA至12周后,对应处死2~5只。

### 1.4 电镜观察

金地鼠颊囊新鲜组织经2%戊二醛固定2h以上,2%锇酸后固定2h,梯度乙醇溶液脱水,环氧丙烷处理2遍,每遍15min,环氧树脂和环氧丙烷以1:1和1:2的混合液各作用1h,在30℃条件下浸透于环氧树脂618溶液中过夜,环氧树脂包埋48h,60℃固化,超薄切片,片厚0.05μm,醋酸双环氧铀和柠檬酸铅复染各5min, HITACHI I600型透射电镜观察,电压75kV 摄片。

## 2 结 果

金地鼠颊囊粘膜上皮的电镜观察,见随着上皮不典型增生的加重,细胞器以及细胞间的关系发生动态变化,发现以下的变化规律:角质颗粒和张力微丝渐趋减少;细胞间桥和桥粒数目下降;细胞伪足伸长、粗大,基底膜完整

性遭受破坏等现象在癌与非癌间有一质变过程(图1);核仁增大,核分裂可见,常染色质和核切迹(图1)可见,也呈上升趋势;线粒体数量在重度异常增生之前渐趋增加,癌时则减少或剧增。

## 3 讨 论

### 3.1 金地鼠颊囊癌前病变模型的超微结构变化规律

利用透射电镜研究白斑的超微结构,早期对比研究了正常粘膜和白斑角化过程的区别,特别是透明角质颗粒和张力微丝<sup>[1]</sup>。近年的研究已转向角化层以下的各层,尤其是基底膜的改变<sup>[2]</sup>。有关口腔白斑的电镜研究<sup>[3]</sup>报道了静态的变化特征。本研究的重点是动态观察整个癌变过程的典型改变,并将这些改变按病理变化序列加以排列。

### 3.2 金地鼠颊囊癌前病变模型超微结构变化的生物学意义

癌前病变模型早期的超微结构显示角质颗粒和张力微丝基本正常,说明细胞分化较好。随着病变加重,角质颗粒和张力微丝的减少提示细胞功能及分化程度下降。细胞间桥和桥粒数目的减少,使细胞间的信息沟通和传递能力下降,也使细胞间隙增宽,影响上皮结构的紧密性和屏障作用。由于细胞间的联系中断以及断裂出现有一量变到质变的积累过程,所以细胞伪足伸长粗大和突破基底膜在癌与非癌之间有一质变过程。线粒体是细胞内提供能量的部位,在癌变过程中,其数量的变化与细胞增殖有关。实验发现在重度异常增生前线粒体有增加趋势,癌时减少或剧增,可能与癌前细胞异常增殖需要大量能量有关。癌时线粒体减少或剧增是否与细胞坏死有关,有待进一步探讨。电镜观察到核的变化特征与光镜所见基本符合,说明癌变过程中DNA合成活跃。透射电镜观察结果证实从癌前病变到原位癌是一个细胞形态、结构、功能渐变的动态过程。电镜观察虽然具有局限性,但若能与光镜观察结合,则能对伪足伸长、间桥下降、基底膜断裂等形成“微小浸润”的早期浸润行为予以揭示,无疑在癌变的早期诊断中具有重要意义。

(本文图见中心插页8)

(下转第181页)

5年; 缺牙后未修复 15例, 不良修复(垂直距离过低) 9例。  
 2.2.3 牙过度磨耗 35例中有 32例有磨牙病史, 并且其中 27例病程超过 1.5年; 其 ICP 异常表现为 ICP 垂直距离过低(间隙 > 3.0mm); 虽然有 24例 M KG 检查 ICP 正常, 但仍有 11例表现髁突位置后移(表 2), 故共有 19例髁突后位者。从表 1 亦可看出, 该组患者单纯骨质改变者明显多于其它咬合组。

2.2.4 反 和开 共有 8例反 , 其中 6例 ICP 前移。开 3例, ICP 时仅前磨牙和磨牙接触, ICP 不稳定。该组患者主要表现为髁突前位(8例)。该组病程有 8例超过 1年。

2.2.5 ICP 中线偏斜 19例 ICP 中线偏斜患者中, 偏向侧有症状 9例, 对侧有症状 10例。症状侧髁突位置异常 17例(表 2), 其中 12例髁突位置变化与中线偏斜方向一致。另外, 双侧髁突后位 3例, 居中 2例, 前位 1例, 偏向侧髁突居中而对侧后位 1例。

2.2.6 咬合正常 虽然该组患者临床及 M KG 检查咬合正常, 但 26例患者中 15例髁突位置异常(表 2), 其病程亦有 18例超过 1年。

### 3 讨 论

本研究重症 CMD 患者中 83.65% 存在咬合异常, 且其髁突位置异常, 提示咬合异常与重症 CMD 的发生有关, 并且咬合异常主要通过改变颌位及髁突位置而导致 TMJ 病变。

本研究深覆 患者多数存在 ICP 后移, 且其髁突位置后移。由于 ICP 的后移, 造成 ICP 与肌位不一致, 髁突在两个位置之间的滑动可产生摩擦, 造成关节内微小创伤, 长期的微小创伤便可造成关节的结构紊乱及器质性病变<sup>4</sup>, 发生重症 CMD。已有研究表明, 肌位时髁突位置多居中, 戴肌位咬合板可调整 ICP 及髁突位置, 缓解深覆 对关节造成的创伤, 使关节症状迅速缓解; 而当取下咬合板后, 深覆 患者仍表现 ICP 后移, 部分患者症状复发, 这也证明深覆 可能是 TMJ 病症的原因之一<sup>5</sup>。

游离端后牙缺失与 TMJ 病症的关系, 至今仍有不同认识<sup>6,7</sup>。本研究结果, 后牙缺失患者临床症状较重, 并且除 2

例外都存在关节器质性病变(BC 和 DP), 故后牙缺失可能与重症 CMD 有关。27例中有 21例 ICP 异常(其中 12例垂直距离过低), 并多数髁突后上移位。本研究中 75.00% 的患者缺牙时间超过 5年, 未修复或不良修复者占 81.25% 亦可提示后牙缺失数目多和缺牙后长时间未修复以及不良修复都与重症 CMD 有关。

本研究牙过度磨耗患者中 85.71% 存在关节骨质改变, 表明牙过度磨耗对关节骨质的影响尤为明显。由于全口牙过度磨耗, M KG 检查 ICP 向后移位不明显, 但从髁位观察, 仍然以髁突后位者较多, 说明牙过度磨耗同样通过使髁突后移位而致病。研究中 7例髁突前移位, 则可能与其前牙过度磨耗有关。本研究结果也说明 ICP 偏斜可能主要通过使髁突的不对称性移位而导致关节病变, 中线偏斜可作为诊断 ICP 异常的标志之一。

### 4 参考文献

- 1 黄朝隼, 顾应福, 区洁瑜 成人深覆 、深覆盖的临床分类及修复矫治的研究 中华口腔科杂志, 1964, 10: 420
- 2 易新竹, 罗 丽, 罗宗贵 夜磨牙患者 磨耗的临床分析 华西口腔医学杂志, 1992, 10: 45
- 3 Mongini F. The stomatognathic system. Function, Dysfunction and Rehabilitation. Quintessence Publishing Co Inc Chicago: Berlin, London R ide Janetro Tokyo, 1984: 145~ 148
- 4 Bell WE. Clinical mangagement of temporomandibular disorders Chicago: Year Book Medical Publishers Inc 1985: 37~ 54
- 5 陈永进, 王惠芸 深覆 与颌颌功能紊乱 实用口腔医学杂志, 1992, 8: 251
- 6 Barghi N, Aguilar T, Martinez C, et al Prevalence of types of temporomandibular jointclickings in subjects with missing posterior teeth J Prosthet Dent, 1987, 57: 617
- 7 Roberts CA, Tallents RH, Katzberg RW, et al Comparison of internal derangements of the TMJ with occlusal findings Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1987, 63: 645 (1996- 08- 19 收稿)

(上接第 179 页)

### 4 参考文献

- 1 许国祺, 李秉琦, 李辉 . 口腔癌前病变白斑与扁平苔藓 北京: 中国医药科技出版社, 1992
- 2 Banoczy J, Csiba A. Comparative study of the clinical

picture and histopathologic structure of oral leukoplakia Cancer, 1972, 29: 1230

- 3 Banoczy J. Oral Leukoplakia Dev Oncol 8 Martinus Nighoff Pubs, Hingham Mass , 1982: 29

(1997—01—08 收稿)