

研究简报

# 尼罗罗非鱼肝癌的病理组织学研究\*

## PATHOLOGY ON HEPATIC CANCER OF NILE-TILAPIA, *SAROTHERODON NILOTICUS*

张永嘉      Zhang Yongjia  
(湛江水产学院)      (Zhanjiang Fisheries College)

关键词      尼罗罗非鱼, 肝癌, 病理组织学

KEYWORDS      nile-tilapia, hepatic carcinoma, histopathology

国内有关鱼类肝癌的报道尚未见到。日本学者日比谷京(1982)曾在其著作中描述过虹鳟的肝癌。W. E. 里贝林, G. 三垣(1980)也叙述过一些鲑科鱼类肝癌的病例。Stanton(1965)曾用实验手段诱导鱼类产生肝变性和肿瘤。

我们在1988年12月发现广东省湛江市郊录塘乡某养鱼专业户的池塘内批量死亡的尼罗罗非鱼是因肝细胞异常增生所造成的。其后,为了确诊该病,我们结合池塘情况的调查和病鱼的病理解剖观察,对用组织学方法所固定的标本作了进一步的研究。

### 材料和 方法

1. 发病池塘情况 病鱼采集自湛江市郊录塘乡某养鱼专业户的池塘。池塘面积约6.7公顷;塘水肥沃,有机质丰富,浮游生物繁茂;pH值为6.5;该池塘的水源主要来自附近住宅区的生活污水,在发病前1个月曾施猪、牛粪肥,并投喂霉变的花生麸和以处理价购回的霉变鸡、鸭用颗粒饲料。发病后,我们将尚余的花生麸和饲料作紫外线24小时照射检查,均有荧光出现,证明它们含有黄曲霉菌。

池塘以养殖尼罗罗非鱼为主,也混养少量鲢、鳙鱼。发病时,仅见到尼罗罗非鱼死亡。抽查结果表明,病鱼约占养殖罗非鱼总数的5%。而鲢、鳙鱼不发病。与发病鱼塘仅一堤之隔的另外二口鱼塘因未投喂霉变饵料而不发病。

2. 病鱼 选取濒死的病鱼5尾,其平均体长为22cm、体重为180g,均为当年鱼。解剖病鱼,切取肝、肾、脾及肠小组织块,用Bouin氏液固定,石蜡切片厚6 $\mu$ m, H和E染色法染色,在光学显微镜下观察,并作显微摄影。

### 结 果

#### (一) 病鱼解剖观察

将病鱼剖开腹腔后,取出肝脏进行肉眼观察,病鱼肝脏表面可见局部呈结节状隆起,肝脏表面凹

\*湛江水产学院淡水渔业八九届学生李琦参加本项工作,谨此致以谢忱。

收稿年月:1989年10月;1990年3月修改。

凸不平。隆起趋于圆形,大小不一,多数直径在 1mm 左右,最大的可达 2.1mm;隆起处呈土黄色,可与肝脏其他部分的红褐色明显区别。在肝脏切面,也可见结节状病灶和点状出血斑。活组织压片可见部分肝细胞失去正常结构。肾、脾及小肠外观无异常。

## (二) 病理组织切片观察

1. 肝小叶 大部分区域的肝小叶失去正常的结构,但部分增生的肝小叶则可辨认,这些肝小叶的中央静脉扩张,大部分肝细胞紊乱,毛细血管大量增生,并有血液滞留,近中央静脉处尤甚(图版—1, 2)。

此外,大部分切片可见蜡状物存在,蜡状物内常可见活跃的巨噬细胞,部分蜡状物为巨噬细胞所吞噬,形成空缺或空泡;蜡状物的边缘有类似成纤维细胞的梭形细胞或是因受蜡状物压迫而变形的肝细胞(图版—3)。

大部分区域可见弥散性出血,血细胞在肝索之间出现。在某些部位还可见到大小不一、形状各异的出血斑,这些斑块直径最大可达 1.2mm,斑块由密集的血细胞和血浆构成(图版—4)。

非正常增生的肝细胞普遍变性,细胞核甚至溶解而消失,在局部形成坏死灶。在某些部位还有褐色素聚集。异常增生的肝癌细胞可形成小叶状结构,个别有聚集或团块生长的趋势,但大部分肿瘤细胞均为紊乱的浸润性生长,很难辨认出肝小叶或肝索的构成。异常增生细胞与肝细胞之间无包膜分隔(图版—5~8)。

2. 肿瘤细胞的形态 肝癌细胞的排列一般不如正常肝细胞整齐、紧凑(图版—1),多呈集团生长,细胞之间结合松散,细胞界限往往不清晰(图版—3)。

肝癌细胞的体积一般比正常肝细胞大,甚至大于正常肝细胞 1 倍至数倍。细胞的外形大部分如正常肝细胞一样呈多角形,但也有相当一部分呈楔形、梭形或其他不规则状的异型细胞(图版—8)。

肝癌细胞的核肥大,核质比大于正常肝细胞,个别达 1:2。核的形状有较高的异型性,除部分圆形外,还有三角形、长杆形、香蕉形或其他不规则形(图版—5~8)。由于核内 DNA 增多,核染色质丰富,故细胞核染色均较深,染色质呈粗颗粒状或长条状(图版—7,8)。视野内常有 1/4~1/3 的细胞处于分裂相,个别核呈不对称性、多极性分裂的现象(图版—8)。有些核的染色质聚集在核膜上,使核膜十分明显,核仁肥大,核仁数目异常增多,有多达 5 个者(正常 1~3 个)。

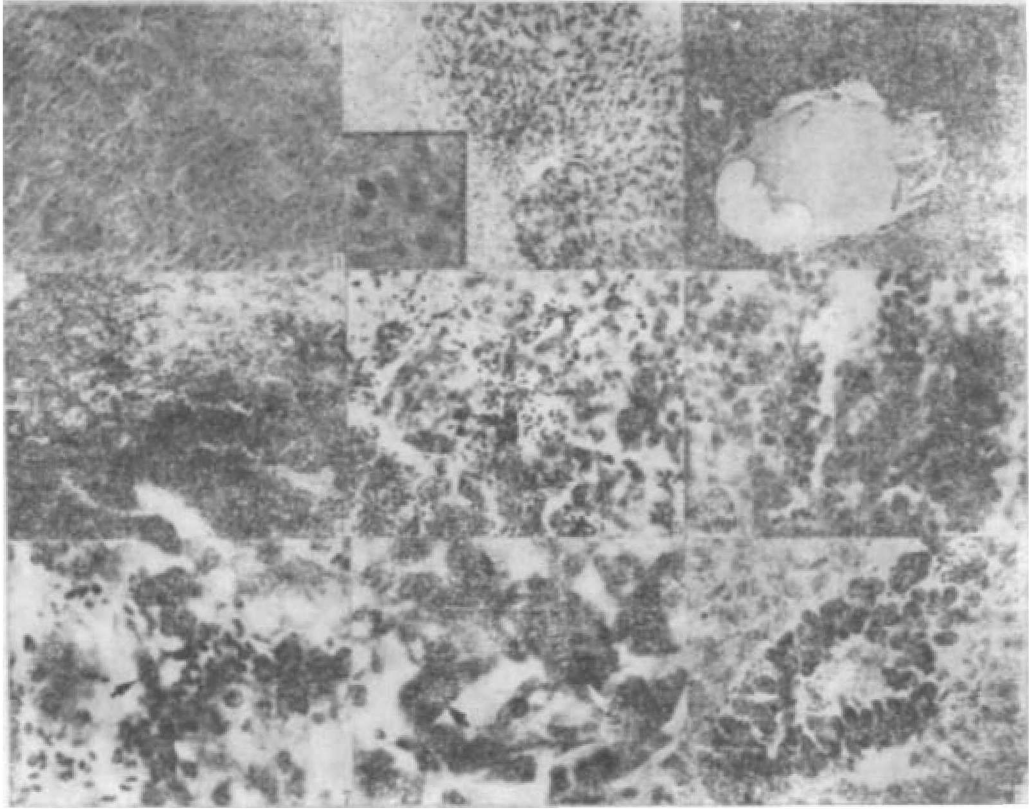
细胞质染色微嗜碱性、空泡化(图版—7),故在 H 和 E 染色的切片中呈红紫色,照片上则显较深色。

3. 肾、脾、肠及胰的观察 检查肾、脾、肠的组织切片未发现与肿瘤有关的病变和转移的癌细胞。

罗非鱼的胰埋在肝脏内。在组织切片中,可见胰细胞周围的肝细胞有萎缩、变性、坏死现象。累及胰腺。胰细胞异常空泡化。此外,在其中一尾鱼的某些切片中,可看到肝肿瘤细胞浸润胰管的现象(图版—9)。

## 讨 论

1. 鱼类肝脏恶性肿瘤即肝癌的病因尚未十分清楚<sup>[1,2]</sup>,诸如地理位置、遗传因素、环境因素、种系发点因素、致癌病毒、创伤等均在考虑的范围。目前所知,某些化学物质(如亚硝胺)和黄曲霉素 B<sub>1</sub> 对鱼类确有致癌作用,据 Stanton<sup>[3]</sup> 实验表明,亿分之几的极低剂量的黄曲霉素 B<sub>1</sub> 就可导致某些鲑科鱼类肝癌。我们对发病鱼塘所用的饵料用紫外线照射荧光的结果,证实这些饵料含有相当数量的黄曲霉菌。因此,在不排除其他因素的情况下,黄曲霉素乃是导致本病例致病的最可能因素(一堤之隔、条件相似的另一口塘因不投喂该饵料而不发病,见上述)。值得注意的是,5% 的发病率已不是一个小的数字,将使养殖生产受到很大的影响。同时,鱼作为人类的食物来源之一,5% 的肝癌病鱼与人的健康关系如何,虽说还是一个未知的问题,但由此看来,人类早就知道的、诱发人类肝癌的含有黄曲霉素的食物是同



图版 Plate

1. 正常罗非鱼肝切片。H 和 E,  $\times 200$ 。
2. 肝肿瘤边缘照片, 右侧为异常增生的癌变细胞; 左侧为坏死的肝细胞; 插入小图为油镜下示癌变细胞的核异型、分裂相。H 和 E,  $\times 100$ 。
3. 肝组织中的大块蜡状物, 箭头示活跃的巨噬细胞。H 和 E,  $\times 100$ 。
4. 图下方为大出血斑块, 上方为弥漫性出血; 肝细胞严重坏死。H 和 E,  $\times 100$ 。
5. 癌变细胞成团生长, 核内有丰富的染色质(↑)。H 和 E,  $\times 400$ 。
6. 癌变细胞界限不清, 核异型, 周围有弥漫性出血。H 和 E,  $\times 100$ 。
7. 癌变细胞有丰富的核染色质颗粒, 白箭头示杆状核; 黑箭头示巨型核; 胞质空泡化。H 和 E,  $\times 1000$ 。
8. 癌变细胞的巨型核(白箭头)和多极分裂(黑箭头)。H 和 E,  $\times 1000$ 。
9. 癌细胞异常空泡化, 注意癌细胞的转移(白箭头)。H 和 E,  $\times 400$ 。

样不能作为鱼的饲料的。至于含有多少剂量黄曲霉素的饲料就可诱发罗非鱼致肝癌, 尚有待探讨。

2. 切片中, 肝癌细胞周围的其他肝细胞大量变性、坏死及形成纤维网架(间质增生), 据 Stanton (1965) 的实验推断, 正是鱼类长时间地摄食含黄曲霉素的霉变饵料而造成了肝脏大面积炎症, 这种炎症长期反复发作即发展成慢性炎症, 间质增生是这一过程发生的佐证。由于慢性炎症和/或黄曲霉素的持续作用, 使病鱼肝脏最终发展为恶性肿瘤。而同一池塘的鲢、鳙鱼不发病, 除因其摄食习性不同于罗非鱼外, 还可能与其遗传因素、种系发生等因素有关。Mawdesley-Thomas 和 Barry 等人<sup>[2]</sup>曾解释说, 黄曲霉素作用于不同鱼的肝癌发生率的差异为其种族酶系或同功酶系的差异所致, 即为基因所决定的。

3. 肝癌的诊断, 仅凭肉眼解剖观察是不可靠的。有些其他疾病, 如寄生虫性胞囊, 表面上也可有相似的隆肿。即使进行组织切片观察鉴别, 一般组织修复增生<sup>[3]</sup>与肿瘤增生的区分也远非易事。故必须将池塘环境、管理措施与解剖观察特征和大量病理组织细胞学检查相结合, 综合分析才能作出可靠的诊断。人类肝癌诊断技术当然也可用于鱼类肝癌的诊断, 但实际上因鱼本身的价值低且同塘鱼可抽查解剖, 致使这些诊断技术大部分又变得不太实用。

4. 本文所见的癌变细胞与人类肝癌的癌变细胞特征<sup>[4]</sup>大体相似。同样是细胞的大量浸润性生长、

无包膜。细胞核异型性大,分裂相多甚至多极分裂,细胞质空泡化(参见图版—1),细胞肥大,核仁多数等特征。

肝癌细胞的异常增生是进行性压迫周围正常(或病变)肝细胞的,使这些肝细胞发生其他病变以及毛细血管增生(肝癌变细胞大量增生需要的营养靠毛细血管提供),并造成血液滞留和组织内出血,组织间常常发现絮状物,但其性质及意义尚不清楚。这些异常增生的癌细胞并无正常肝细胞的功能,同时还影响周围肝细胞的正常功能,使组织之间极不协调,因此造成了整个肝功能衰竭,导致鱼的死亡。

由于切片检查的病鱼数量有限,亦非各器官均切片检查,故尚不能确定罗非鱼肝癌发生的全过程,以及是否转移到除肾、脾、肠外的其他器官。就上述(图版—9)的结果看,胰管内有癌细胞出现,说明罗非鱼肝癌有转移到其他器官去的可能,日比谷京等人<sup>[3]</sup>也指出有转移的可能性。

5. 有人曾指出<sup>[7]</sup>,硬骨鱼类有6个科,即鲑科、鲤科、鲶科、鲟科、鲮科及花鲮科,似较多地发生肿瘤。尼罗罗非鱼隶属鲈形目、丽鱼科,是我国广泛养殖的鱼类之一,也是联合国粮农组织向世界推荐养殖的鱼类之一。故对其肝癌的研究应引起水产养殖和研究工作者的重视。同时,鱼类肝癌在形态上、生物学上都与哺乳类和人类肝癌有相似之处。因此,它们之间的关系如何,也是比较肿瘤研究的学者们应重视的问题之一。

### 参 考 文 献

- [1] 王德延,1987。肿瘤病理诊断,388~404。天津科学技术出版社。
- [2] 里贝林 W. E.,三垣 G. (华鼎可、李耀祖译),1980。419~494。农业出版社(京)。
- [3] 日比谷京,1982。鱼类组织图说——正常组织と病理组织,82—90 讲谈社(东京)。
- [4] 江草周三ほか<sup>3</sup>,1979。魚の病理組織学,3-60。东京大学出版社(东京)。
- [5] Haller, R. D and R. J. Roberts, 1980. Dual neoplasia in a specimen of *Sarotherodon spilurus spiluru* (Günther) (= *Tilapia spilurus*). *J. Fish. Dis.*, 3: 63-67.
- [6] Heinz-Hermann, Reichenbach-Klinke (translated), 1981 *Fish pathology*, 326-349. T. F. H., USA
- [7] Schlumberger, H. G. & B. Lucke, 1948. Tumors of fish, amphibian, and reptile. *Cancer Res.*, 8: 657-659.
- [8] Stanton, M. F., 1965. Diethylnitrosamine-induced hepatic degeneration and neoplasia in the aquarium fish, *J. Nat. Cancer Inst.*, 34: 117.