

一例 Han-Wistar 大鼠垂体细胞瘤的病理学分析

侯敏博, 崔甜甜, 苏娜瑛, 张苗苗, 焦永敏, 严建燕, 汪溪洁, 大平东子

(上海益诺思生物技术股份有限公司, 上海 201203)

[摘要] 在为期两年的致癌试验中发现空白对照组 Han-Wistar 大鼠出现 1 例垂体细胞瘤。临床观察及大体剖检未见明显异常。HE 染色结果显示, 垂体神经部肿瘤组织呈结节状增生, 边界清晰, 压迫周围正常组织; 肿瘤细胞与神经胶质细胞类似, 细胞核呈圆形或卵圆形, 细胞质丰富呈嗜酸性或空泡状; 肿瘤细胞分化良好, 细胞多形性不明显, 核分裂象可见; 部分肿瘤细胞呈假菊形团状排列。免疫组织化学染色结果显示, 胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein, GFAP) 及 S-100 蛋白呈阳性。结合 HE 染色及免疫组织化学染色结果诊断该肿瘤为自发性良性垂体细胞瘤。

[关键词] 垂体细胞瘤; Han-Wistar 大鼠; 病理学诊断

[中图分类号] R739.4; Q954 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2023)06-0654-05



Pathologic Diagnosis of a Pituicytoma in a Han-Wistar Rat

HOU Minbo, CUI Tiantian, SU Naying, ZHANG Miaomiao, JIAO Yongmin, YAN Jianyan, WANG Xijie, TOKO Ohira

(Shanghai Innostar Bio-tech Co., Ltd., Shanghai 201203, China)

Correspondence to: WANG Xijie (ORCID: 0000-0001-7284-186X), E-mail: xjwang@innostar.cn;

TOKO Ohira (ORCID: 0009-0004-3207-7886), E-mail: tohira@innostar.cn

[ABSTRACT] A case of pituicytoma was observed in a Han-Wistar rat from the control group of a 2-year carcinogenicity study. No obvious abnormality were found in clinical observation and necropsy. Hematoxylin and Eosin (HE) staining results showed that nodular hyperplasia in the pars nervosa of the pituitary, which was well demarcated and compressed the adjacent normal tissue. The tumor cells were similar to the glial cells with round or oval nuclei, cytoplasm rich in eosinophilic or vacuole. The tumor cells differentiated well, with no obvious cell pleomorphism and visible mitotic figures. Some tumor cells were arranged in a pseudorosette formation. Immunohistochemical staining (IHC) analysis confirmed positive expression of Glial fibrillary acidic protein (GFAP) and S-100 protein. The tumor was diagnosed as the spontaneous benign pituicytoma combining the HE and IHC staining results.

[Key words] Pituicytoma; Han-Wistar rat; Pathological diagnosis

Han-Wistar 大鼠是临床前药物安全性评价中常用的实验动物之一, 具有价格低廉、易于饲养、抵抗力较强的特点^[1-2]。目前, 国内关于大鼠的自发性肿瘤病变数据相对缺乏^[3]。因此, 了解 Han-Wistar 大鼠的自发性肿瘤病变, 利于丰富其自发性背景病变数据, 为药物毒性病理学评价研究提供参考。

垂体细胞瘤来源于神经垂体的神经胶质细胞^[4],

在大鼠及小鼠中极为罕见。目前仅国外有两例相关报道, 一例是发生于小鼠的自发良性垂体细胞瘤^[5], 另一例是发生于 SD (Sprague-Dawley) 大鼠的自发恶性垂体细胞瘤^[6]。本研究团队在最近开展的一项为期两年、针对 Han-Wistar 大鼠给予某慢性病药物的致癌试验中发现空白对照组中有一例大鼠自发垂体肿瘤, 经大体剖检、HE 染色、免疫组织化学染色及显微镜检查

[基金项目] 上海市科委研发平台项目“新药安全评价专业技术服务平台”(21DZ2291000)

[第一作者] 侯敏博(1987—), 男, 助理研究员, 研究方向为药物非临床安全性评价。E-mail: mbhou@innostar.cn

[通信作者] 汪溪洁(1979—), 女, 研究员, 研究方向为药物非临床安全性评价。E-mail: xjwang@innostar.cn. ORCID: 0000-0001-7284-186X
大平东子(1960—), 女, 研究员, 研究方向为药物非临床安全性评价。E-mail: tohira@innostar.cn. ORCID: 0009-0004-3207-7886

等技术进行病理学诊断, 探讨该肿瘤的主要病理学特征, 最终判断为自发性垂体细胞瘤。本文报告如下, 以期为大鼠药物非临床安全性评价研究中相关肿瘤的诊断提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

一项为期2年(2019年6月—2021年6月)的致癌试验中采用SPF级Han-Wistar大鼠, 分为空白对照组和供试品组, 每组140只, 雌雄各半。实验开始时所有动物约6周龄, 每天经口灌胃一次, 供试品组动物给予某慢性病药物, 空白对照组动物给予羧甲基纤维素钠, 连续给予104周。本文报告的这例自发垂体肿瘤来自空白对照组中1例雄性Han-Wistar大鼠, 发现肿瘤时约110周龄。该例动物购自北京维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(京)2016-0011]。致癌试验在上海益诺思生物技术股份有限公司动物屏障设施[SYXK(沪)2014-0009、SYXK(沪)2019-0009]中开展, 其间动物管理和使用遵照中国科学技术委员会《实验动物管理条例》(2017年修订)和上海市科学技术委员会颁布的《上海市实验动物管理办法》(1997年修订)相关要求。本试验的动物管理和使用申请得到本机构动物管理和使用委员会批准(IACUC-2019-r-068)。所有实验流程均严格遵照本机构相关标准操作规程进行。

1.2 主要试剂及仪器

脱水机(EXCELSIOR AS)和包埋机(HISTO STAR)购自美国ThermoFisher公司, 切片机(RM2235)和全自动染色封片机(ST5020/CV5030)购自德国Leica公司, 光学显微镜(BX43)购自日本Olympus公司。氯胺酮(20200725)购自江苏中牧倍康药业有限公司, 盐酸塞拉嗪注射液(20200912)购自吉林华牧动物保健品有限公司, 过氧化物酶阻断剂(10011218)购自国药集团化学试剂有限公司, 伊红染色液(BA4022)及苏木精染色液(BA4041)购自珠海贝索生物技术有限公司, EDTA碱性修复液(ZLI-9067)、山羊血清封闭液(ZLI-9022)和羊抗兔二抗(DS-0004)购自北京中杉金桥生物技术有限公司, DAB显色液(AR1027-1)购自博士德生物工程有限公司。抗胶质纤维酸性蛋白(glia fibrillary acidic protein, GFAP)抗体(ab7260)和抗S-100抗体(ab52642)购自英国Abcam公司。

1.3 组织切片制作及HE染色

在试验终末期, 采用腹腔注射氯胺酮+塞拉嗪(2 mL/kg)麻醉后放血的方法对该例Han-Wistar大鼠施行安死术。解剖过程中, 摘取垂体及全身其他脏器组织, 使用体积分数为10%的中性甲醛溶液固定, 依次使用脱水机、包埋机、切片机及染色封片机完成组织脱水、包埋、切片及苏木精-伊红(hematoxylin and eosin, HE)染色过程, 制作各组织的石蜡病理切片。制片完成后使用光学显微镜进行镜下观察。

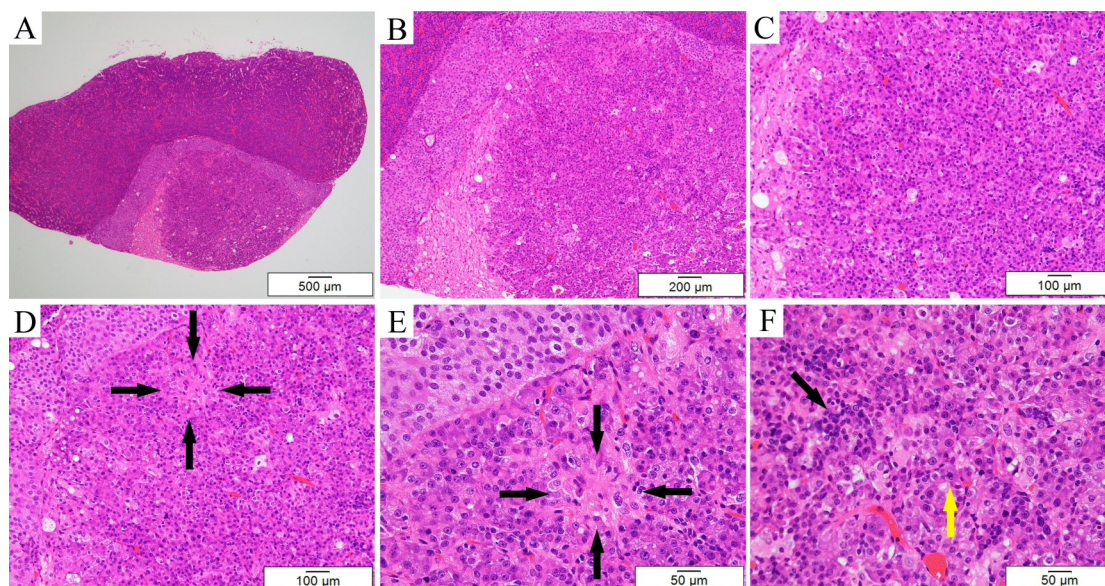
1.4 免疫组织化学染色

取垂体组织的石蜡切片经烘干后, 使用二甲苯及梯度乙醇溶液脱蜡; 流水冲洗后, 滴加EDTA碱性修复液热修复20 min; 自然冷却至室温; PBS洗涤后, 加入过氧化氢酶阻断剂于室温避光反应15 min; PBS洗涤后, 加入山羊血清封闭液于室温孵育30 min; 加入一抗(抗GFAP抗体和抗S-100抗体的工作液稀释比例分别为1:1 000和1:500), 4℃过夜孵育; PBS洗涤后, 加入羊抗兔二抗于37℃孵育30 min; PBS洗涤后, 加入DAB显色液, 避光反应至出现阳性信号, 用去离子水终止显色。苏木精对比染色细胞核7 min, 流水冲洗后用1%盐酸乙醇溶液分化10 s, 流水冲洗10 min; 依次浸入梯度乙醇及二甲苯溶液中进行脱水。中性树胶封固, 自然晾干。

2 结果

致癌试验过程中, 未观察到该例Han-Wistar大鼠有明显的临床症状。试验终末期解剖时, 该大鼠未见明显的大体剖检异常。对HE染色后垂体组织的病理切片进行显微镜检查时, 低倍镜下可见垂体神经部肿瘤组织呈结节状增生, 与周围组织界限清晰, 压迫周围正常的神经部组织及垂体中间部(图1A、B), 未见浸润周围组织或远处转移。镜检可见肿瘤细胞与神经胶质细胞类似(图1C), 细胞核呈圆形或卵圆形, 细胞质丰富呈嗜酸性或空泡状(图1F); 肿瘤细胞分化良好, 细胞多形性不明显, 核分裂象可见; 部分肿瘤细胞呈假菊形团状排列(图1D、E)。此外, 镜检还可见小胶质细胞样肿瘤细胞(图1F)。

对垂体组织切片进行免疫组织化学染色, 可见肿瘤组织中GFAP呈强阳性(图2A、B), S-100蛋白呈强阳性(图2C、D), 确认该肿瘤组织来源于神经胶质细胞。全身其他脏器的免疫组织化学染色结果均未见肿瘤性病变。结合HE染色及免疫组织化学染色后的

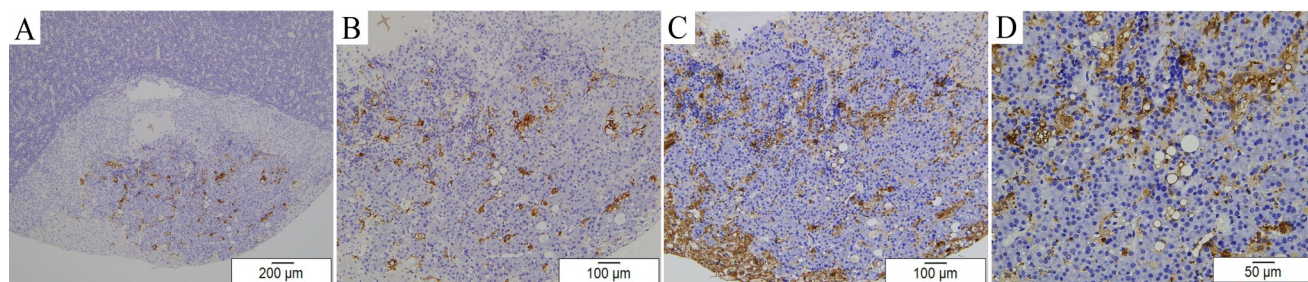


注：A，肿瘤位于垂体神经部，边界清晰（比例尺大小为500 μm）；B，肿瘤组织压迫周围神经部组织及垂体中间部（比例尺大小为200 μm）；C，肿瘤细胞与神经胶质细胞类似（比例尺大小为100 μm）；D，可见肿瘤细胞呈菊形团状排列（黑色箭头）（比例尺大小为100 μm）；E，图D的局部放大（黑色箭头）（比例尺大小为50 μm）；F，肿瘤细胞细胞质丰富，呈嗜酸性或空泡状，可见小胶质细胞样肿瘤细胞（黑色箭头）及核分裂象（黄色箭头）（比例尺大小为50 μm）。

Note: A, The well demarcated mass in the pars nervosa of the pituitary (scale bar: 500 μm); B, The mass compressed the adjacent neurohypophysis and the pars intermedia (scale bar: 200 μm); C, The tumor cells were similar to the glial cells (scale bar: 100 μm); D, Some tumor cells were arranged in a pseudorosette formation (scale bar: 100 μm); E, The magnification of figure D (scale bar: 50 μm); F, The cytoplasm of tumor cells were rich in eosinophilic or vacuolate. Microglial cells-like tumor cells (black arrow) and mitotic figures (yellow arrow) were present (scale bar: 50 μm).

图1 Han-Wistar大鼠自发肿瘤的组织病理学结果(HE染色)

Figure 1 Histopathological results of a the tumor from a Han-Wistar rat (HE staining)



注：A和B，抗胶质纤维酸性蛋白（GFAP）免疫组织化学染色结果呈阳性（比例尺大小分别为200 μm和100 μm）；C和D，S-100免疫组织化学染色结果呈阳性（比例尺大小分别为100 μm和50 μm）。

Note: A-B, Positive immunohistochemical reaction with glial fibrillary acidic protein (GFAP) (scale bar: 200 μm or 100 μm); C, Positive immunohistochemical reaction with S-100 protein (scale bar: 100 μm or 50 μm).

图2 Han-Wistar大鼠自发肿瘤的免疫组织化学染色结果(DAB染色)

Figure 2 Immunohistochemistry staining of tumor from a Han-Wistar rat (DAB staining)

光学显微镜检查结果，根据肿瘤组织病理形态学特征诊断该肿瘤为良性垂体细胞瘤。

3 讨论

内分泌系统是生物体重要的稳态控制系统，主要

通过细胞间的信息传递维持机体的生命活动与功能^[7-8]。垂体是重要的内分泌器官，位于颅骨蝶鞍内，与下丘脑一同调控其他内分泌腺的代谢与功能^[9-10]。垂体细胞瘤是一种罕见的鞍区肿瘤，根据世界卫生组织（WHO）分型，垂体细胞瘤属于I级胶质瘤^[11]。

临床上, 垂体细胞瘤由于缺乏明显的影像学特征, 常被误诊为垂体腺瘤或脑膜瘤等, 目前手术切除是针对垂体细胞瘤的主要有效治疗手段^[12]。

Han-Wistar 大鼠是致癌试验中一种常用的实验动物, 了解其垂体相关的自发性背景病变十分重要。自发性的垂体腺瘤在 Sprague-Dawley 和 Han-Wistar 大鼠中较为常见, 如远侧部腺瘤及中间部腺瘤^[13-14], 而自发性垂体细胞瘤极为罕见。通过对本案例中的垂体肿瘤组织进行 HE 染色、免疫组织化学染色及光学显微镜检查, 可见该例肿瘤诊断特点鲜明, 可与垂体腺瘤进行鉴别诊断。远侧部腺瘤来源于垂体远侧部的内分泌细胞, 肿瘤组织呈小梁状或是实体性增生, 直径可超远侧部宽度的 50%, 可伴有血管扩张和(或)出血等现象^[14-15]。中间部腺瘤来源于垂体中间部的内分泌细胞, 肿瘤组织排列呈小叶状、巢状或是实体性, 细胞质淡染且不含细小颗粒^[15]。而本案例中的垂体肿瘤组织位于神经垂体内, GFAP 及 S-100 蛋白的免疫组织化学染色结果呈阳性, 表明其来源于神经胶质细胞。肿瘤组织呈结节状增生, 与周围组织界限清晰。肿瘤细胞与神经胶质细胞类似, 细胞核呈圆形或卵圆形, 细胞质丰富呈嗜酸性或空泡状。部分肿瘤细胞呈假菊形团状排列, 镜检还可见小胶质细胞样肿瘤细胞。该肿瘤组织的病理形态学诊断特征明显, 且发生于空白对照组雄性 Han-Wistar 大鼠, 因此诊断为自发性良性垂体细胞瘤。

本文为国内首例 Han-Wistar 大鼠自发性良性垂体细胞瘤的案例报告, 描述了垂体细胞瘤的组织病理学特征, 可为实验动物中该肿瘤的诊断提供参考, 也进一步丰富了国内 Han-Wistar 大鼠自发性肿瘤病变数据, 能够为药物毒性病理学评价中该肿瘤的诊断提供理论依据。

[医学伦理声明 Medical Ethics Statement]

本研究涉及的动物实验均经上海益诺思生物技术股份有限公司动物管理和使用委员会批准(IACUC-2019-r-068), 所有实验过程均遵照中国实验动物相关法律法规条例要求和本机构相关标准操作规程进行。

All animal experiments involved in this study have been reviewed and approved by Institutional Animal Care and Use Committee of Shanghai InnoStar Bio-tech Co., Ltd (IACUC-2019-r-068). All experimental procedures were carried out in accordance with the regulations of Chinese laws and regulations on laboratory animals and standard operating procedure of this institution.

[作者贡献 Author Contribution]

侯敏博负责资料整理、文章撰写及后期修改;
崔甜甜负责组织病理学检查;
苏娜瑛负责英文翻译及文献整理;
焦永敏负责切片制作及 HE 染色;
张苗苗负责免疫组织化学染色;
严建燕负责图片整理及技术支持;
汪溪洁和大平东子负责指导实验设计、论文修改及审核。

[利益声明 Declaration of Interest]

所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献 References]

- [1] CLOUP E, ROMAO P, TAYLOR I, et al. Incidences and range of spontaneous microscopic lesions in the eye of sprague-dawley rats and Han wistar rats used in toxicity studies[J]. *Toxicol Pathol*, 2021, 49(3): 581-589. DOI: 10.1177/0192623320951474.
- [2] 毕振宇. Wistar 大鼠咬合创伤模型牙周与颞下颌关节毛细血管铸型研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2014.
BI Z Y. Capillaries casting research of periodontal tissue and temporomandibular joint with traumatic occlusion model of Wistar rats [D]. Guangzhou: Southern Medicine University, 2014.
- [3] 英永, 夏玉洁, 汤连升, 等. SD 大鼠自发性回肠黏液性腺癌 1 例的病理学观察[J]. *实验动物与比较医学*, 2020, 40(3): 223-226. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2020.03.008.
YING Y, XIA Y J, TANG L S, et al. Pathologic change of spontaneous mucinous adenocarcinoma of the ileum in a sprague-dawley rat[J]. *Lab Anim Comp Med*, 2020, 40(3): 223-226. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2020.03.008.
- [4] BRÄNDLI-BAIOCCO A, BALME E, BRUDER M, et al. Nonproliferative and proliferative lesions of the rat and mouse endocrine system[J]. *J Toxicol Pathol*, 2018, 31(3 Suppl):1S-9S. DOI: 10.1293/tox.31.1S.
- [5] TEKELI S, MORTON D, CUSICK P K. Pituicytoma in a mouse [J]. *Toxicol Pathol*, 1997, 25(5): 516-517. DOI: 10.1177/019262339702500515.
- [6] MOROKI T, SASAKI T, YOSHIZAWA K, et al. A spontaneously occurring malignant pituitary tumor in a male sprague dawley rat[J]. *J Toxicol Pathol*, 2015, 28(3): 171-176. DOI: 10.1293/tox.2015-0012.
- [7] 李宪堂, K. Nasir Khan, John E. Burkhardt. 实验动物功能性组织学图谱[M]. 北京: 科学出版社, 2019: 51.
LI X T, KHAN K N, BURKHARDT J E. Functional Histology of Laboratory Animals – A Color Atlas and Text [M]. Beijing: Science Press, 2019: 15.
- [8] Sahota P S, Popp J A, Hardisty J F, et al. 毒理病理学: 非临床安全性评价[M]. 吕建军, 王和枚, 刘克剑, 等译. 北京: 北京科学技术出版社, 2018: 194, 593.
SAHOTA P S, POPP J A, HARDISTY J F, et al. Toxicologic pathology: Nonclinical safety assessment [M]. Translated by LV J J, WANG H M, LIU K J. Beijing: Beijing Science & Technology Press, 2018: 194, 593.

- [9] 日本毒性病理学会. 新毒性病理组织学[M]. 东京:西村书店, 2017: 477.
Japanese Society of Toxicology Pathology. New toxicologic histopathology [M]. Tokyo: Nishimura Bookstore, 2017: 477.
- [10] 斯蒂芬-W. 巴托尔德, 斯蒂芬-M. 格里菲, 迪安-H. 珀西. 实验动物病理学: 啮齿类动物和兔(第4版)[M]. 杨利峰, 赵德明, 周向梅, 译. 北京: 北京科学技术出版社, 2021: 196.
Barthold S W, Griffey S M, Percy D H. Pathology of laboratory rodents and rabbits (Fourth edition) [M]. Translated by YANG L F, ZHAO D M, ZHOU X M. Beijing: Beijing Science & Technology Press, 2021: 196.
- [11] PENG Q, WANG Z Y. Pituitaryoma: a case report[J]. Asian J Surg, 2023, 46(3):1465-1466. DOI: 10.1016/j.asjsur.2022.08.116.
- [12] WEI L D, LI C, LI D, et al. Treatment and prognostic factors of pituitaryoma: a single-center experience and comprehensive literature review[J]. Pituitary, 2021, 24(5):754-767. DOI: 10.1007/s11102-021-01152-5.
- [13] 周晓丽, 张倩, 高峰, 等. 老年SD大鼠自发性肿瘤的病理学观察[J]. 实验动物与比较医学, 2020, 40(5): 420-425. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2020.05.010.
ZHOU X L, ZHANG Q, GAO Z, et al. Pathological observation of spontaneous tumor in aged SD rats[J]. Lab Anim Comp Med, 2020, 40(5): 420-425. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2020.05.010.
- [14] DOI T, KANNO T, SATO J. Histopathological and immunohistochemical features of proliferative lesions in the pituitary pars distalis of rats[J]. J Toxicol Pathol, 2021, 34(1):1-9. DOI: 10.1293/tox.2020-0050.
- [15] BRÄNDLI-BAIOCCO A, BALME E, BRUDER M, et al. Nonproliferative and proliferative lesions of the rat and mouse endocrine system[J]. J Toxicol Pathol, 2018, 31(3 Suppl):1S-95S. DOI: 10.1293/tox.31.1S.
- (收稿日期: 2023-05-18 修回日期: 2023-08-06)
(本文编辑: 张俊彦, 富群华, 丁宇菁, 周烁)

[引用本文]

侯敏博, 崔甜甜, 苏娜瑛, 等. 一例 Han-Wistar 大鼠垂体细胞瘤的病理学分析[J]. 实验动物与比较医学, 2023, 43(6): 654-658. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2023.064.
HOU M B, CUI T T, SU N Y, et al. Pathologic diagnosis of a pituitaryoma in a Han-Wistar rat[J]. Lab Anim Comp Med, 2023, 43(6): 654-658. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2023.064.

《实验动物与比较医学》出版伦理声明

为加强科研诚信与学术道德建设, 树立良好学风和期刊形象, 建立和维护公平、公正的学术交流生态环境, 《实验动物与比较医学》承诺严格遵守并执行国家有关科研诚信和学术道德的政策与法规。同时, 为促进我国实验动物科学与比较医学科研成果的国际交流与认可, 本刊参照并遵循国际出版伦理委员会 (Committee on Publication Ethics, COPE) 和国际医学期刊编辑委员会 (International Committee of Medical Journal Editors, ICMJE) 等国际通行的出版伦理规范。因此, 本刊根据目前实际情况, 特做以下声明, 借此规范作者、同行评议专家、期刊编辑等在投稿、审稿、编辑出版全流程中的行为, 并接受学术界和全社会的监督。

1. 所有来稿必须是作者的原创作品, 如文中使用先前发表的观点和数据等应准确引用, 如使用图片和表格则需要提供相关的版权及许可证明。

2. 本刊坚决抵制第三方代写或代投、抄袭 (即剽窃)、造假 (包括伪造及篡改) 等学术不端行为。一经发现, 编辑部立即撤稿, 该文所有作者均会被列入黑名单。

3. 本刊不接受重复发表文章 (包括不同语种), 也不允许作者一稿多投 (包括同时或错时)。稿件一旦受理, 编辑部将第一时间处理。若作者有加急需求, 可第一时间联系编辑部寻求帮助。

4. 作者投稿前须确认署名及顺序, 所有作者均须对该文的科研诚信负责。投稿时应登记所有署名作者的基本信息, 并在文末附作者贡献说明及利益冲突声明。

5. 涉及人体及实验动物的研究性论文需在研究开展前通过医学伦理或动物实验伦理审查, 投稿时需提交审查批件的电子扫描件。正文中应注明伦理审批机构名称及批号, 并在文末附中英文的医学伦理声明。

6. 若来稿有过投稿他刊的经历, 本刊鼓励作者第一时间如实说明, 并提供以往的审稿意见及修改情况 (包括补充论据或解释说明)。这样的诚信行为有利于该稿在本刊的审稿速度和录用概率。

7. 本刊实行严格的三审制度, 所有来稿均需通过编辑部初审、同行评议专家外审和主编定稿会终审共 3 个审稿环节, 才决定录用与否。

8. 本刊审稿专家和编辑均需公正、尽责对待所有来稿, 对学术不端行为不姑息、不偏袒, 努力维护期刊学术声誉, 并在文章未发表前不随意公开研究内容, 以保障作者的首发权。

9. 所有来稿若涉及学术不端行为 (《CY/T 174—2019: 学术出版规范期刊学术不端行为界定》), 均须由作者本人负责。本刊对已发现的学术不端作者, 保留通报其所在单位及同领域期刊社的权利。

《实验动物与比较医学》编辑部