

鸡咽食管癌的电子显微镜研究

I. 林县鸡咽食管癌中发现的类 B 型病毒颗粒和特殊包涵体

洪 涛 周 静 仪

(中国医学科学院病毒研究所, 北京)

我们对新近发现的鸡咽食管癌进行了电镜研究。在瘤细胞浆内发现了非常独特的病毒包涵体, 在瘤细胞浆和细胞间隙里发现了大小在 70—90 毫微米具有偏心核样物特征性成熟病毒颗粒。因为它们的结构与小鼠乳腺癌的 B 型病毒非常相似, 我们给它定名为类 B 型病毒颗粒。

此外在包涵体内发现了十分独特的多形性病毒颗粒, 分别描述了这些颗粒的结构特点, 并以 I、II、III 型颗粒定名。这些颗粒之间似有发育上的联系, 都有一个或多或少的偏心核样物结构, 其中 I 型颗粒的圆锯齿状核样物结构最具特征性, 这是我们所知至今国内外所有病毒发育中从未见到的特殊形态。我们认为在鸡咽食管癌里发现的这种类 B 型病毒颗粒, 很可能是一种新的病毒。

由于病毒在瘤细胞(鳞状上皮癌)内发育, 以及病毒的发现率很高(12 例全部都有), 看来不像是过客病毒, 很可能与鸡咽食管癌的病因有关, 此点有待生物学研究加以证实。

由于此病在人食管癌高发区(河南林县), 与人食管癌的发病率有平行的关系^[1-3], 使这一发现更加值得注意。

几年前, 在人食管癌高发区河南省林县的鸡里发现了咽食管癌的流行, 流行病学调查认为, 鸡肿瘤的发病率与人食管癌的发病率似有平行的关系^[1-3]。由于此病多见于人食管癌高发区, 以及目前肿瘤病因学尚未解决, 因而颇受人们的重视。

有关该瘤的超微结构将另文发表。本文着重报道我们在鸡咽食管癌里发现的类 B 型病毒颗粒及特殊的包涵体。希望能为进一步研究提供必要的参考。

材料和方法

我们先后接受来自河南林县的病鸡 12 只, 所有病鸡咽部和食管上端均有明显的肿瘤, 多数鸡因肿瘤堵塞, 口腔不能闭合, 呼吸困难, 十分消瘦

呈恶病状态, 肿瘤常呈菜花状从咽部凸出。用断头术处死病鸡, 用剪刀从嘴角处纵行切开口腔至食管上 1/3 处。此时瘤组织即得到充分暴露, 避开呈黄色溃烂的部份, 将显然新鲜的瘤组织用刀片剖开, 立即滴上预先冷却的 5% 戊二醛(二甲酸钠缓冲液配制, pH 调整到 7.4)。从固定液浸过的不同部位迅速切取小片瘤组织, 放到冰浴冷却的双玻碟上, 一面切割一面滴上冷却戊二醛, 组织块的大小不超过 1 立方毫米。然后将初经修整的组织块放入盛有新鲜戊二醛的小瓶内, 置 4℃ 下固定 1—2 天。用缓冲液浸洗 5 小时, 除去多余的醛固定剂, 然后用 1% 四氧化钨固定一小时后再次浸洗半小时, 再用 50%、70%、90% 的纯丙酮脱

本文于 1978 年 7 月 25 日收到。

病鸡由中国医学科学院日坛医院病理科刘复生同志提供。

水各半小时,用国产 618 树脂浸透,包埋于 60℃,聚合 48 小时。用 LKB 超薄切片机切成超薄切片,经铅、铀双染色后进行电镜观察。

电镜观察结果

(一) 类 B 型病毒颗粒的发现及其结构特点

在我们观察的 12 例癌组织中,全部都发现了形态学上相同的类 B 型病毒颗粒,这种病毒颗粒具有以下特点:

1. 呈圆形,平均直径 70—95 毫微米。
2. 具有明显的电子致密的核样物,其直径约 40—65 毫微米,大部分病毒颗粒的核样物呈偏心状,与小鼠乳腺癌的 B 型颗粒很相似(图版 III-5)。

3. 具有外膜。此外,在靠偏心核样物之外,有时还可见到一层包膜。

4. 病毒颗粒见于鳞状上皮癌细胞中,细胞间隙的胶原纤维中(图版 I-2)以及特殊的包涵体内。

(二) 特殊的包涵体及三种主要的大型(未成熟)病毒颗粒

在癌细胞的胞浆内发现了非常特殊的病毒包涵体(12 例中见到 4 例),有时在一个细胞内见到许多大的包涵体,把癌细胞核挤压变形(图版 I-1),在包涵体内发现了大小和形态差别较大的颗粒。分别描述如下:

1. I 型颗粒,具有非常独特的圆锯齿状的核样物结构,其外包以不甚规则的包膜。在核样物的内外,见到许多细小电子致密颗粒(图版 II-3I)。

2. II 型颗粒,具有明显的偏心核样物,整个颗粒电子密度较大,由粗大的颗粒所组成,但缺乏外包膜(图版 II-3II 和 II-4)。

3. III 型颗粒,体积变化较大,最大者约为 II 型的 2—3 倍不等,结构比较疏松,小者与 II 型近似,变化较多,往往能见到偏

心核样物,有时可分辨出三层膜结构,它们可能是发育中的一种过渡形态(图版 II-3III 和图版 II-4III)。

4. 此外,各型颗粒之间尤其在包涵体的边缘部位还可见到无数小泡状或颗粒状结构,它们可能是组成病毒的基质成份。在这种基质中,有时可见到个别的 A 型颗粒和近似成熟的类 B 型颗粒(图版 III-3)。

值得指出的是,在具有包涵体的癌细胞的内质网小池里,还可同时发现成熟的类 B 型颗粒。在某些瘤组织中还见到了典型的 C 型颗粒。

讨 论

肿瘤的病因学是一个最受重视的问题,而病毒与癌瘤的关系又是肿瘤病因学中的重要课题。近十多年来,由于发现了许多能引起体外细胞恶性转化和引起动物肿瘤的人类病毒,就把肿瘤病毒的研究推向新的高度。

我们在人食管癌高发区林县的鸡咽食管癌里发现了类 B 型病毒颗粒和独特的病毒包涵体。根据其独有的形态学特点看来很可能是一种新的病毒。由于家禽里病毒病较多,尤其是鸡白血病病毒在我国鸡群里十分流行,必须对此进行认真地分辨。现仅就以下几个问题进行讨论:

(一) 类 B 型病毒可能是一种新型病毒

1. 据我们所知,小鼠乳腺癌病毒和近来在豚鼠里发现的 GPV 病毒是仅有的偏心核样物肿瘤病毒^[12],即所谓 B 型颗粒。在家禽中,尽管有大量的肉瘤——白血病病毒(C 型颗粒)的报道,却从未有 B 型病毒颗粒的发现。

2. 我们在鸡咽食管癌细胞中发现的具有明显的偏心核病毒颗粒与小鼠乳腺癌的 B 型颗粒近似,但病毒颗粒的大小差别较

大,外包膜上不见明显的纤突结构,未见出芽的发育方式等,似与 B 型颗粒不同。因此,我们把这种病毒颗粒暂定名为类 B 型病毒颗粒。

3. 最为显著的是该病毒具有独特的胞浆内包涵体,这种包涵体及其包含的不同形态的各种颗粒,不仅不同于鸡禽里肉瘤——白血病毒,不同于小鼠乳腺癌 B 型病毒,也不同于任何痘类病毒。其中呈圆锯齿状偏心核样物的 I 型颗粒最具有独特的形态,是至今任何已知病毒发育中所未曾见者。

(二) 包涵体内各型颗粒与类 B 型病毒颗粒的关系

各种病毒在细胞内发育成熟的过程中都有其形态发生的过程 (morphogenesis), 由于电镜技术的应用, 现在对许多已知病毒的形态发生学都有了比较准确的认识。

根据已有的知识, 不难判断我们在包涵体内所见的各种颗粒是病毒颗粒发育的不同阶段, 虽然我们把它人为地划分成 I、II、III 等各种形态, 但从它们的基本形态结构上 (例如都有比较明显的偏心核样物) 可以看出它们之间的密切联系, 而在包涵体内同时发现了成熟的类 B 型颗粒, 以及呈双环状的 A 型颗粒 (图版 III-6), 则更有

力地说明了这种关系。

示意图表示各型病毒颗粒可能的相互关系。当然在病毒分离成功之前, 很难对病毒颗粒间的关系作出肯定的判断。我们的初步看法是: 胞浆基质可能是装配病毒颗粒的原材料, 第 III 型大颗粒可能是第 I 型颗粒的前身, 第 I 型颗粒再进而发育成熟的类 B 型颗粒, A 型颗粒可能参与 III 型大颗粒的组成, 还有一种可能由第 II 型颗粒发育成类 B 型颗粒。

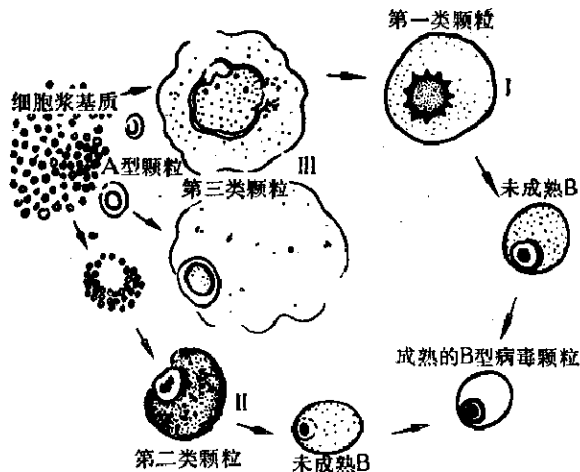
(三) 是过客病毒还是癌症的病因

在动物和人的组织里, 暂时停留的所谓“过客病毒”(passenger virus) 是屡见不鲜的, 要确定该病毒与鸡咽食管癌的病因学关系需要做许多生物学 (病毒分离和免疫学等) 工作。但以下两点可供病因学参考:

1. 病毒颗粒和包涵体发现在鳞状上皮癌细胞中, 病理学研究已经确定该癌确实为鳞状上皮癌。

2. 在癌细胞中病毒的发现率很高, 在我们观察 12 例病鸡中全部发现了类 B 型病毒颗粒, 此点似能说明病毒颗粒与该癌瘤的密切关系。

电镜观察所见, 为病毒分离和病因学研究提供了一定依据。



类 B 型病毒在癌细胞内发育的示意图

参 考 文 献

- [1] 中国医学科学院林县食管癌研究队: 动物学报, 19(4): 309—312, 1973。
- [2] 中国医学科学院肿瘤研究所病理科、湖北省肿瘤医院病理科: 动物学报, 22(4): 314—318, 1976。
- [3] 中国医学科学院肿瘤研究所病理科: 动物学报, 22(4): 319—326, 1976。
- [4] Bernhard, W.: *Compt. Rend. Acad. Sci.*, 240: 1380, 1955.
- [5] Bernhard, W.: *A Review, Cancer Res.*, 18: 491, 1958.
- [6] Bernhard, W.: *Cancer Res.*, 20: 712, 1960.

- [7] Calafat, J. et al.: *J. Natl. Cancer Inst.*, 52: 1251—1257, 1974.
- [8] Dalton, A. J. et al.: *J. Natl. Cancer Inst.*, 55: 941—943, 1975.
- [9] Feller, U. et al.: *J. Natl. Cancer Inst.*, 47: 1289—1298, 1971.
- [10] Sarkar, N. H. et al.: *J. De Microscopit.*, 7: 539, 1968.
- [11] John Tooze: *The Molecular Biology of Tumour Viruses*. Cold Spring Harbor Laboratory N. Y., 22—23, 31—32, 505—511, 1973.
- [12] Fong, C. Ky and G. D. Hsiung: *Virology*, 70: 385—398, 1976.

PRESENCE OF VIRUS-LIKE PARTICLES SUGGESTIVE OF B TYPE IN SPECIMENS OF PHARYNGO-ESOPHAGEAL CARCINOMA OF CHICKEN

I. AN ELECTRON MICROSCOPIC STUDY OF 12 DISEASED CHICKENS

Hung Tao Chou Ching-yi

(Institute of Virology, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing)

Some years ago, an unusual finding attracted our attention regarding the prevalence of pharyngo-esophageal carcinoma in the domestic fowl in Linhsien county, Honan, where a high incidence of esophageal cancer among humans was found.

Recently, electron microscopic examinations have been carried out on further study of this problem and the results especially on the virus-like particles associated with the tumors are here presented.

Histologically, the majority of the tumors were classified as squamous cell carcinoma (96.6%), and only a few were of adenomas or adenoma-acanthomas. The ultrastructural study confirmed the predominance of squamous epithelial cells, but in most tumors some fibroblast-like

cells were also found intermingled with them.

The most prominent ultrastructural findings are the peculiar cytoplasmic inclusions and the B type virus-like particles, which possess the following characteristics:

1. The inclusions which we consider as site of virus multiplication are composed of many large particles of different size and morphology. They are arbitrarily designated as the loose form with round saw-toothed nucleoid and envelope (type I), the dense form devoid of envelope (type II), and the intermediate form less organized (type III). Besides the simultaneous presence of relatively mature B type virus-like particles in the inclusions which resemble the extracellular mature virus particles especially in respect to the

eccentric nucleoid, the large particles with pleomorphic appearance are presumed to be the precursors of those extracellular mature B type-like particles.

2. The mature B type virus-like particles are roughly spherical or oval in shape and their size varies from 70 to 95 nm. The most significant feature is their eccentrically located nucleoid which is always heavily stained and often shows an asteroid appearance. Sometimes an inner envelope and a space between the nucleoid and the inner envelope could be clearly seen.

3. Beside of the various particles described, there are numerous tiny vesicular granules inside the inclusions which look like the granules forming the large particles and thus are considered as original components or matrix of the agent. At the same time a few A type

particles could also be observed among the matrix.

Owing to the fact that the virus leukemia is very prevalent in chicken, a lot of C type (leukemia virus) particles were anticipatively found in some of our specimens, but from their characteristic ultrastructures one could easily differentiate them from those of B type virus-like particles described.

From the above findings, (the B type virus-like particles are present in all 12 tumor specimens of the chickens examined and the peculiar inclusion with the virus-like particles) we have good reasons to assume that a new agent thus far recognized in the pharyngo-esophageal carcimoma of domestic chickens are not related either to leukemia virus or to other viruses.