

两例犬恶性黑色素瘤的病理诊断

旷冬梅¹, 李小敏², 冯 强², 杨彩霞², 张光洁²

(1. 衡阳市农业综合行政执法支队, 湖南 衡阳 421001; 2. 衡阳市畜牧水产事务中心)

摘要:本研究为了探讨恶性黑色素瘤的临床诊断及鉴别诊断要点, 通过组织病理学检查和免疫组织化学染色方法对两例犬恶性黑色素瘤进行诊断。组织病理学检查发现瘤细胞排列紊乱, 细胞主要呈梭形和上皮样两种细胞形态, 可见瘤巨细胞、核分裂相, 肿瘤细胞胞质中可见色素颗粒, 细胞异型性明显, 核仁较大, 有丝分裂活跃, 属于恶性黑色素瘤典型的组织学表现。免疫组织化学染色发现六种肿瘤标记物结果显示为 CK(-)、Vimentin(+)、S-100(+)、CD34(-)、SMA- α (-)、KI-67(+)。通过组织病理学检查和免疫组化染色结果可以诊断为恶性黑色素瘤。

关键词:黑色素瘤; 免疫组织化学; 病理诊断

[中图分类号] S852.35 [文献标识码] A [文章编号] 1004-6704(2024)03-0140-03

Two Case of Pathological Diagnosis of Canine Malignant Melanoma

KUANG Dongmei¹, LI Xiaomin², FENG Qiang², YANG Caixia², ZHANG Guangjie²

(1. Hengyang Agricultural Comprehensive Administrative Law Enforcement Detachment, Hengyang Hunan 421001, China;

2. China Hengyang Animal Husbandry and Aquatic Products Affairs Center)

Abstract: In order to evaluate the clinical diagnosis and differential diagnosis of malignant melanoma, two cases of malignant melanoma in dogs were diagnosed by histopathology and immunohistochemical staining. Histopathological examination showed cancer disorder, major fusiform cells and epithelioid two cell morphology, visible tumor giant cells, mitotic figures, tumor cells visible pigment granules in the cytoplasm, cell atypia, nucleoli larger, mitotic activity, belong to malignant melanoma typical histological features. Six kinds of tumor markers by immunohistochemistry showed CK (-), Vimentin (+), S-100 (+), CD34 (-), SMA- α (-), KI-67 (+). In conclusion, observation by histopathology and immunohistochemistry results can be diagnosed as malignant melanoma.

Key words: Melanoma; immunohistochemistry; pathological diagnosis

恶性黑色素瘤是犬常见的肿瘤之一, 是由黑色素细胞增生所致的恶性肿瘤。在犬肿瘤中, 黑色素细胞肿瘤占 4%~7% 左右, 其中黑色素瘤占皮肤肿瘤的 20% 左右。黑色素瘤常发生在皮肤、牙龈或唇齿黏膜面等处, 其中黏膜是最常见的发病部位, 且较易向肺和淋巴结转移。恶性黑色素瘤的组织结构复杂, 形态多样, 一般呈黑色或灰黑色结节状隆起, 常常需要根据其发生部位、形状、组织病理学检查结果和免疫组织化学染色结果进行鉴别诊断。在国内对动物恶性黑色素瘤的报道较少, 笔者对两例犬原发恶性黑色素瘤进行临床病理学和免疫组化检查, 探讨恶性黑色素瘤的病理特点和免疫组化特点, 为以后犬肿瘤的诊断提供依据。

[收稿日期] 2023-10-18

[作者简介] 旷冬梅(1974-), 女, 湖南衡阳人, 本科, 兽医师, 主要从事兽医专业技术工作。E-mail: 1120956656@qq.com

1 黑色素瘤病例诊断材料与方法

1.1 黑色素瘤病料来源

两病例来源于湖南衡阳两宠物医院, 其中一病例为 8 岁雄性犬, 肿瘤位于下嘴唇右侧, 直径约为 2 cm。另一例为 7 岁雄性犬, 肿瘤位于阴囊皮肤, 直径约为 1.5 cm。

1.2 黑色素瘤诊断试剂

鼠抗 Vimentin 抗体(1:200), 兔抗 S-100 抗体(1:200), 鼠抗 CK 抗体(1:200), 兔抗 CD34 抗体(1:200), 兔抗 Ki-67 抗体(1:200), 鼠抗 SMA- α 抗体(1:200), AEC 显色液; 5% BSA 封闭液, 免疫组织化学染色试剂盒, 均购自武汉博士德生物有限公司。

1.3 黑色素瘤诊断试验方法

1.3.1 组织病理学检查 固定肿瘤组织, 石蜡包埋, 石蜡切片。常规 H. E 染色, 通过 NIS-Elements

高清晰度彩色图文分析系统配合 Nikon80i 生物光学显微镜观察其病理变化并做记录。

1.3.2 免疫组织化学 SABC 法检查 免疫组化步骤参考武汉博士德生物有限公司的即用型 SABC 免疫组化试剂盒内说明书。在每组染色的切片中,均设置对照 1(不加一抗)和对照 2(不加二抗)作为阴性对照,以排除试剂原因对实验结果的影响。显示剂为 AEC,显色时间 30 min。

2 黑色素瘤病例诊断结果

2.1 黑色素瘤病理学检查结果

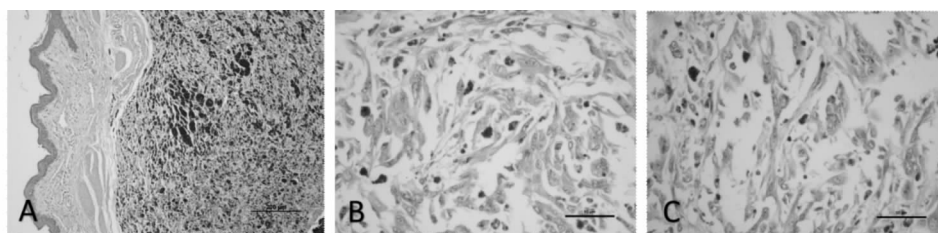


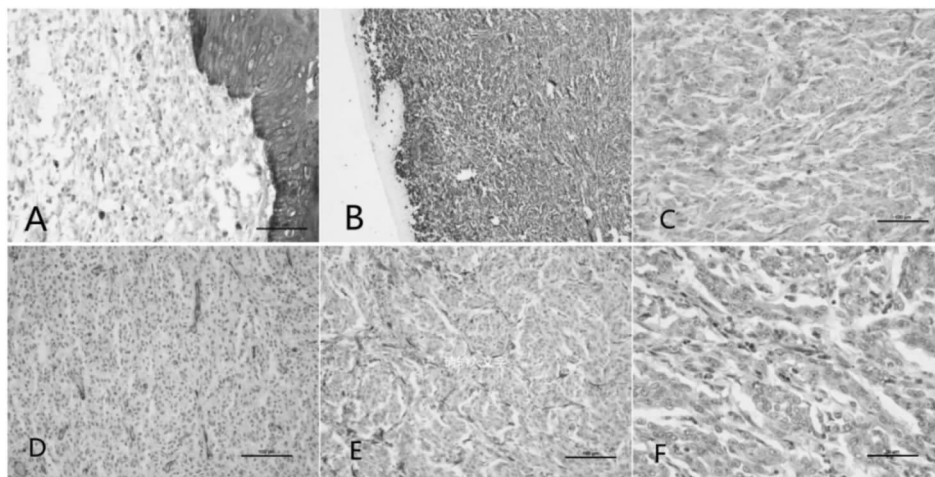
图 1 肿瘤形态与组织病理结果

2.2 黑色素瘤免疫组织化学染色结果

肿瘤细胞的免疫组织化学染色结果显示,CK 的阳性信号主要在鳞状上皮细胞内表达,而在肿瘤细胞中没有阳性信号,故 CK 呈阴性表达(图 2A)。Vimentin 在肿瘤细胞呈强阳性表达,在上皮细胞没有阳性表达(图 2B)。肿瘤细胞中阳性信号主要是

肿瘤的病理组织学检查显示皮肤表面可见鳞状上皮,皮下存在大量梭形的成纤维细胞样肿瘤团块,瘤细胞大小不均,瘤细胞主要呈梭形或长索形,排列呈束状和漩涡状,主要由纤维血管基质支持(图 1A)。可见瘤巨细胞,大量瘤细胞呈空泡状,核异型性大,核仁明显(图 1B)、肿瘤细胞边界模糊,细胞核形态多样,以椭圆形居多,可见核仁红染。可见核分裂相,瘤细胞排列紊乱,夹杂多量黑色素细胞。可见细胞核偏于一侧,且肿瘤细胞胞质中散在分布棕黄色色素颗粒(图 1C)。

在梭形的肿瘤细胞和上皮样细胞,S-100 阳性表达(图 2C)。CD34 阳性信号主要表达在血管的内皮细胞,而肿瘤细胞不表达,故为阴性(图 2D)。SMA- α 在肿瘤细胞中呈阴性表达,在血管壁呈阳性表达(图 2E),Ki-67 阳性表达(图 2F)。



注:A. CK 在肿瘤中呈阴性表达(IHC);B. Vimentin 在肿瘤中呈强阳性表达(IHC);C. S-100 在肿瘤中呈阳性表达(IHC);D. CD34 在肿瘤中呈阴性表达(IHC);E. SMA- α 在肿瘤中呈阴性表达(IHC);F. Ki-67 在肿瘤中呈阳性表达。

图 2 黑色素瘤的免疫组化染色结果

3 黑色素瘤病例诊断分析与讨论

恶性黑色素瘤是来源于黑色素细胞的恶性肿瘤,多发生于 6~15 岁的犬,对周围组织有很强的侵

袭性,生长较快,很容易转移至肺、淋巴结和脑等组织。恶性黑色素瘤的诊断主要依靠光镜下组织学特点,肿瘤中的黑色素对其诊断意义重大。该肿瘤细胞形态异型性大,可见瘤巨细胞、核分裂相、核仁明

显,大量肿瘤细胞核呈空泡化和一些染色质凝集,且含有多量的黑色素,可以直接诊断为恶性黑色素瘤。

免疫组织化学已被用作诊断恶性黑色素瘤的辅助工具。而黑色素在光镜下呈棕黄色颗粒,易于免疫组化阳性信号相似,难以区分。为此,本试验采用AEC显色剂,阳性信号为红色,与黑色素颗粒明显区别,从而为准确的诊断提供依据。

细胞角蛋白(CK)是上皮细胞的主要细胞骨架成分,可表达正常上皮细胞和来源于上皮细胞的肿瘤细胞。免疫组化中CK阳性说明肿瘤来源于上皮细胞,但是有报道表明,有部分恶性黑色素瘤CK阳性,其机理目前还不清楚。波形蛋白(Vimentin)特异性的存在于间充质起源的细胞中,一般联合CK来确定肿瘤细胞的来源。S-100蛋白是神经组织标志,广泛存在于间叶源性肿瘤,几乎所有的恶性黑色素瘤表达S-100蛋白。CD34是血管内皮细胞标记物,在正常小血管内皮细胞和肿瘤小血管内皮细胞中均可表达。从CD34染色结果可以看出该肿瘤有非常多的血管,在一定程度上反映肿瘤的恶性程度。Ki-67是核增殖标志物,是检测肿瘤细胞增殖活性最为可靠的指标,Ki-67的表达可以反应恶性肿瘤的增殖率,与肿瘤的发展和转移有密切关系。

因临床上恶性黑色素瘤易误诊,需要与多种肿瘤进行鉴别。恶性黑色素瘤细胞形态多样,异型性大。S-100已经被证实表达于恶性黑色素瘤和各种色素痣,但在与恶性黑色素瘤鉴别的多种肿瘤中阴性。S-100和Vimentin对恶性黑色素瘤具有高度的敏感性,但其特异性较差。因此需要与其它抗体联合使用。Ki-67是鉴别良性黑色素细胞痣与恶性黑色素瘤重要的辅助方法,在恶性黑色素中几乎均有表达。

结合组织病理学检查和免疫组化结果可以诊断为恶性黑色素瘤。由于恶性黑色素瘤有很强的侵袭性,很容易通过血管或淋巴管转移至其他组织,切除手术后,一般死于转移肿瘤。

参考文献:

- [1] 吴俊伟,郑俊发,林铭,等. 口腔黏膜恶性黑色素瘤临床病理和免疫组化诊断与综合治疗[J]. 广东医学, 2009, 30(1): 74-76.
- [2] 李传真,郭传斌. 口腔黏膜恶性黑色素瘤与鳞癌之间淋巴结转移差异性比较[J]. 临床口腔医学杂志, 2014, 30(2): 73-75.
- [3] 裴素丽,马杰,潘虎,等. 恶性黑色素瘤中细胞角蛋白的表达[J]. 中华病理学杂志, 1999(3): 51-52.
- [4] 周茜,黄绮,姚晓虹,等. 29例皮肤恶性黑色素瘤临床病理分析[J]. 中国医药指南, 2008(9): 20-22.
- [5] BERGMAN P J. Canine oral melanoma [J]. Clin Tech Small Anim Pract, 2007, 22(2): 55-60.
- [6] MODIANO J F, RITT M G, WOJCIESZYN J. The molecular basis of canine melanoma: pathogenesis and trends in diagnosis and therapy [J]. J Vet Intern Med, 1999, 13(3): 163-174.
- [7] ESPLIN D G. Survival of dogs following surgical excision of histologically well-differentiated melanocytic neoplasms of the mucous membranes of the lips and oral cavity [J]. Vet Pathol, 2008, 45(6): 889-896.
- [8] DANK G, RASSNICK K M, SOKOLOVSKY Y, *et al.* Use of adjuvant carboplatin for treatment of dogs with oral malignant melanoma following surgical excision [J]. Vet Comp Oncol, 2014, 12(1): 78-84.
- [9] ANTONY F C, SANCLEMENTE G, SHAIKH H, *et al.* Pigment synthesizing melanoma (so-called animal type melanoma): a clinicopathological study of 14 cases of a poorly known distinctive variant of melanoma [J]. Histopathology, 2006, 48(6): 754-762.
- [10] SMITH S H, GOLDSCHMIDT M H, MCMANUS P M. A comparative review of melanocytic neoplasms [J]. Vet Pathol, 2002, 39(6): 651-678.
- [11] SULAIMON S, KITCHELL B, EHRHART E. Immunohistochemical detection of melanoma-specific antigens in spontaneous canine melanoma [J]. J Comp Pathol, 2002, 127(2-3): 162-168.
- [12] HALL P A, LEVISON D A, WOODS A L, *et al.* Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunolocalization in paraffin sections: an index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms [J]. J Pathol, 1990, 162(4): 285-294.
- [13] TUT V M, BRAITHWAITE K L, ANGUS B, *et al.* Cyclin D1 expression in transitional cell carcinoma of the bladder: correlation with p53, waf1, pRb and Ki67 [J]. Br J Cancer, 2001, 84(2): 270-275.
- [14] GOLDSCHMIDT M H, GOLDSCHMIDT K H. Epithelial and Melanocytic Tumors of the Skin [M]// Donald J. Meuten. Tumors in Domestic Animals. New York: John Wiley & Sons, Inc 2016: 88-141.
- [15] NAKAJIMA T, WATANABE S, SATO Y, *et al.* Immunohistochemical demonstration of S100 protein in malignant melanoma and pigmented nevus, and its diagnostic application [J]. Cancer, 1982, 50(5): 912-918.
- [16] LAPRIE C, ABADIE J, AMARDEILH M F, *et al.* MIB-1 immunoreactivity correlates with biologic behaviour in canine cutaneous melanoma [J]. Vet Dermatol, 2001, 12(3): 139-147.