

# A Case of Ceruminous Gland Carcinoma in Cat for Pathological Diagnosis

Ziyu Wang, Xinchang Li, Wenjing Zhang, Xueying Hu, Xiaoli Liu, Wanpo Zhang, Guofu Cheng, Changqin Gu\*

College of Veterinary Medicine, Huazhong Agricultural University, Wuhan Hubei  
Email: 519771410@qq.com, \*guchangqin@mail.hzau.edu.cn

Received: Oct. 4<sup>th</sup>, 2018; accepted: Oct. 16<sup>th</sup>, 2018; published: Oct. 23<sup>rd</sup>, 2018

## Abstract

An ear tumor was diagnosed in a 20-year-old domestic cat through clinic observation, histology examination and immunohistochemistry technique. The tumor tissue in the left external auditory canal had multiple lumps with different sizes and colors of brown-red, light-brown and blue-black. Three different histological forms were found under a microscope. The first was the mass proliferation of tumor cells, disordered arrangement, aggregation of lobules, and inflammatory infiltration. The second was similar to the first, but there is severe bleeding in the tissue. And the third was a cystic structure containing a large number of secretory crystals and infiltration of macrophages. The tumor cells were different in size and various in shape, the nuclei are vacuolated, and the mitoses are more frequent. The tumor cells with PCK and  $\alpha$ -SMA protein expression showed that the proliferation happened in ceruminous gland, and Ki-67 expression quantity more than 30% showed that the cells proliferated rapidly. The result indicated that the tumor in external auditory canal was ceruminous gland carcinoma.

## Keywords

Cat, External Auditory Canal, Histology Pathology, Immunochemistry, Ceruminous Gland Carcinoma

## 一例猫耳腺癌的病理学诊断

王子煜, 李新婵, 张文劲, 胡薛英, 刘晓丽, 张万坡, 程国富, 谷长勤\*

华中农业大学动物医学院, 湖北 武汉  
Email: 519771410@qq.com, \*guchangqin@mail.hzau.edu.cn

收稿日期: 2018年10月4日; 录用日期: 2018年10月16日; 发布日期: 2018年10月23日

\*通讯作者。

文章引用: 王子煜, 李新婵, 张文劲, 胡薛英, 刘晓丽, 张万坡, 程国富, 谷长勤. 一例猫耳腺癌的病理学诊断[J]. 亚洲兽医病例研究, 2018, 7(4): 77-82. DOI: 10.12677/acrpvm.2018.74011

## 摘要

通过临床观察、组织学诊断结合免疫组织化学技术对一例猫外耳道肿瘤进行病理学诊断。本病例为一只20岁家猫，肿瘤发生于左侧外耳道，眼观可见多个肿块，大小不一，颜色呈棕红色、浅棕色和蓝黑色。组织学观察可见三种组织特点，第一种以瘤细胞大量增生，排列杂乱，小叶聚集，炎性浸润为主；第二种与第一种相似，但组织内出血严重；第三种为囊状结构，内含有大量分泌物结晶和巨噬细胞浸润。瘤细胞大小不一，形态多样，核空泡化，核分裂相多见。免疫组织化学PCK与 $\alpha$ -SMA染色可知增生的瘤细胞来源于耵聍腺腺上皮，Ki-67表达量  $\geq 30\%$ ，可知瘤细胞增殖速度较快。通过以上方法确诊该猫所患为耵聍腺癌。

## 关键词

猫，外耳道，组织病理学，免疫组织化学技术，耵聍腺癌

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

肿瘤是动物机体在不同的始动和促进因素长期作用下，器官、组织的细胞在基因水平上失去对其生长的正常调控，导致克隆性异常增生或凋亡不足而形成的病理性新生物，新生物一旦形成，不会因为病因的消除而停止增生[1]。目前，肿瘤疾病是危害人类健康的最重要疾病之一，随着宠物猫数量的增多，肿瘤疾病也是危害猫健康的重要疾病之一[2]。猫肿瘤常用的诊断方法有影像学检查、细胞学检查、组织病理学检查、肿瘤标记物早期检查等，但组织病理学检查仍是肿瘤诊断最为有效和可靠的标准[3]。耵聍腺位于猫外耳道软骨部皮下组织中，主要是分泌淡黄色黏稠液体，有保护外耳道和维持鼓膜区湿润柔软的作用，其分泌物与外耳道皮肤内的另一种皮脂腺所分泌的皮脂一起组成耵聍[4]。耵聍腺由卷曲的分泌部和导管部组成，分泌部内衬立方或低柱状上皮，外围为肌上皮，导管部由柱状上皮组成，绝大部分开口于毛囊，少部分直接开口于皮肤表面，肿瘤主要起源于这两个部分的导管上皮和腺上皮[5]。猫外耳道肿瘤在临床上极为少见，对于猫耵聍腺肿瘤的报道也较少。本试验将一例疑似猫耵聍腺肿瘤组织进行病理组织学观察，并对 SMA、PCK、Ki-67 三个指标进行了免疫组织化学染色，结合临床症状对该肿瘤进行病理学诊断，从而丰富猫外耳道耵聍腺肿瘤的临床资料。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 病例病史

样本于 2018 年 6 月 9 号收集于武汉卓越动物医院。患病的猫为白色家猫，20 岁，雄性，未绝育，体重 3 公斤。曾在 2017 年 10 月 14 日前往医院就诊时于左耳外耳内可见小的肿块，未做手术治疗，经 8 个月后肿块数量增多体积增大，遂再次前往医院就诊。治疗采取手术切除的方法，手术采用左耳全外耳摘除术。切下的肿瘤送往华中农业大学动物医学院病理实验室制作蜡块并保存。

### 2.2. 材料方法

主要试剂：鼠抗 PCK 单克隆抗体(PCK, PAN-cytokeratin)、鼠抗  $\alpha$ -SMA 单克隆抗体( $\alpha$ -Smooth muscle

actin), 购于武汉博士德生物技术有限公司; 鼠抗人 Ki-67 单克隆抗体及配套免疫组化抗原修复缓冲液, 购于基因科技(上海)股份有限公司。HRP 标记的羊抗鼠/兔 IgG 购于北京中杉金桥生物技术有限公司; 封闭液(30%山羊血清)和显色液(DAB)购于武汉博士德生物技术有限公司。

组织经 4%多聚甲醛固定, 切取多个肿块, 乙醇梯梯度脱水, 常规石蜡包埋, 4  $\mu\text{m}$  连续切片, 分别进行 H.E. 染色及免疫组织化学染色。

免疫组化染色步骤: 将切好备用的 4  $\mu\text{m}$  石蜡切片烤片备用, 切片经二甲苯、乙醇梯度脱蜡至水, 滴加内源性过氧化物酶阻断剂, 封闭内源性过氧化氢酶, 0.01M PBS 洗涤两次; 将 PCK、 $\alpha$ -SMA 玻片放入枸橼酸盐缓冲液中, Ki-67 玻片放入稀释的抗原修复缓冲液中, 蒸汽热修复, 在 95 $^{\circ}\text{C}$ ~100 $^{\circ}\text{C}$  之间保持 30 min, 取出自然冷却; 滴加山羊血清白蛋白封闭非特异抗原抗体, 封闭 30 min 后甩掉封闭液, 滴加配好的一抗 (PCK,  $\alpha$ -SMA, Ki-67), 以 PBS 代替一抗作为阴性对照, 4 $^{\circ}\text{C}$  过夜; PBS 洗涤后, 滴加反应增强剂室温作用 20 min; PBS 洗涤后滴加 HRP 标记的二抗室温作用 30 min; PBS 洗涤后 DAB 显色, 苏木素衬染, 中性树胶封片。使用 Nikon 80i 生物光学显微镜与图像采集系统观察并采集图像。

### 3. 结果

#### 3.1. 大体病变

眼观可见肿物堵塞外耳道并伴有出血, 增生的肿块约有 5~6 处, 大小从 0.5~1.5 cm 不等, 较大两处肿块呈红棕色, 小的肿块呈浅棕色或蓝黑色(见图 1)。

#### 3.2. 组织病理学观察

对不同肿块进行切片, H.E. 染色, 并对组织进行观察, 镜下可见三种组织特点: 第一种表现在最大的肿块, 在组织内可见大量的瘤细胞增生, 排列杂乱, 不同数量的细胞聚集成多个小叶, 组织内血管丰富, 并伴有大量炎性细胞浸润(图 2A), 高倍镜下可见瘤细胞核大小不一, 并出现空泡核, 核分裂相多见(图 2B); 第二种为浅棕色肿块, 同样可见增生的瘤细胞聚成的小叶, 但组织内严重出血(图 2C); 第三种蓝黑色的肿块为囊状结构, 周围为分化良好的单层矮柱状上皮, 内部充满分泌物结晶, 并有大量的巨噬细胞浸润, 巨噬细胞内有色素(图 2D)。

#### 3.3. 免疫组织化学试验结果观察

对瘤组织免疫组化染色, 大量的瘤细胞 PCK 均呈阳性表达, 着色部位为细胞质(图 3A), 说明该增生的



**Figure 1.** The gross lesion of external auditory canal in the canine (several lumps in the outer ear and blocked with blood clot)

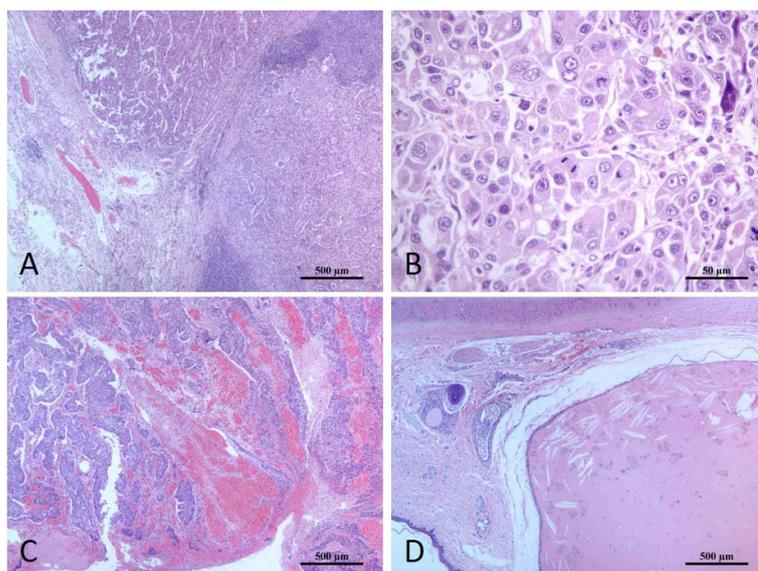
**图 1.** 犬外耳道肿物大体病变(外耳内有数个肿块, 堵塞外耳道并伴有出血)

瘤细胞含有角蛋白抗原； $\alpha$ -SMA 阳性表达见于瘤组织小叶外覆有的单层或多层束状排列的细胞，着色部位为细胞质(图 3B)，说明肿瘤组织内含有平滑肌肌动蛋白抗原。对瘤组织的 Ki-67 染色可见，瘤细胞所在区域表现出明显的阳性信号(图 3C)，阳性率  $\geq 30\%$ ，说明大量瘤细胞处于细胞增殖的活跃期，增殖速度快。

#### 4. 讨论

肿瘤的诊断方法主要有肿瘤的巨检、细胞学检查、生化检查、组织病理学检查、影像学诊断、免疫组织化学检查、分子生物学诊断等[6] [7]。尽管肿瘤的诊断方法日益进步，但组织病理学检查仍是最常用并最可靠的诊断方法，是肿瘤诊断的金标准。

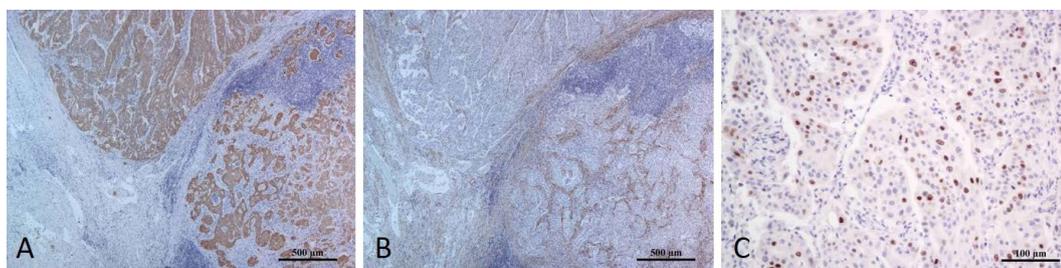
猫外耳道表面衬有皮肤，是体表皮肤的延生，其内含有毛、皮脂腺和管状的耵聍腺。其外侧部分由软骨支撑，其他部分由骨支撑。耵聍腺为顶浆分泌性腺，是一种变异的大汗腺，所以具有顶浆分泌性腺的特点[8]。对于耵聍腺癌的确诊，主要依靠组织学观察结合免疫组织化学技术的方法[9]。在临床上，良性的耵聍腺肿瘤在 4~13 岁的猫中比较常见，最常发生在 7~10 岁之间，猫的耵聍腺癌比耵聍腺瘤更为多见，其发病高峰在 7 到 13 岁之间，家养的短毛猫患病风险较高。耵聍腺癌通常浸润性生长，但很少侵犯



A: 大量瘤细胞增生伴有炎性细胞浸润，结缔组织包膜完整；B: 瘤细胞大小不一，核多呈空泡状，常见核分裂相；C: 大量瘤细胞增生，出血严重；D: 大的囊腔内聚集分泌物结晶，可见大量巨噬细胞浸润。H.E

**Figure 2.** The histological lesion of a mass in the outer ear canal of a cat

**图 2.** 猫外耳道肿块组织学病变



A: 肿瘤细胞 PCK 阳性表达。B: 部分肿瘤组织  $\alpha$ -SMA 阳性表达。C: 肿瘤细胞 Ki-67 表达增强。SABC

**Figure 3.** Specific antigen expression in tumor tissue

**图 3.** 肿瘤组织特殊抗原表达

或破坏耳道软骨,可能会向腮腺淋巴结转移[10][11][12]。耵聍腺瘤在耳道内呈肿块状,包括垂直耳道。常见溃疡和继发感染。有些肿瘤是深褐色的,可能是在肿瘤腺体的腔内保留了浓缩的耵聍。本病例为一只年龄 20 岁的家养短毛猫,肿瘤呈多灶性生长,为典型的肿块状,颜色为蓝黑色或褐色,外观上与耵聍腺瘤(癌)非常相似。在组织学上,耵聍腺瘤与顶浆分泌腺瘤相似,通常有着腺上皮被覆肌上皮的双层结构,腺腔内经常可见棕色球状物质,耵聍腺瘤通常伴有慢性的外耳炎,在镜下往往可以看见炎性细胞浸润。耵聍腺癌在组织学上与耵聍腺瘤相似,但耵聍腺癌通常是浸润性生长,并且瘤细胞的细胞核更大,更多形,核分裂相常见,细胞排列更为杂乱[10]。本病例瘤组织周围结缔组织包膜完整,还未表现出明显的强侵袭性,但组织内大量的炎性细胞浸润,大量出血,瘤细胞大量增生,排列紊乱,丧失了耵聍腺的正常结构。细胞核形态多样,核大且多为空泡状,核分裂相多见。免疫组织化学 PCK 染色可知瘤细胞来源于上皮组织, $\alpha$ -SMA 染色可观察到腺上皮外覆有肌上皮,但腺上皮与肌上皮均丧失了原有的单层结构,以腺上皮增生为主。Ki-67 染色结果为阳性,阳性率超过 30%,说明瘤细胞增殖速度较快。通过临床观察及组织学结合免疫组织化学技术结果,可确诊本猫所患为耵聍腺癌。

本试验使用免疫组化辅助诊断,对广谱细胞角蛋白抗体 PAN-cytokeratin(P-CK)与平滑肌肌动蛋白抗体  $\alpha$ -smooth muscle actin( $\alpha$ -SMA)进行免疫组织化学染色,以此证明瘤细胞来源于腺上皮,并具有肌上皮覆盖腺上皮的特征。角蛋白(CK)是上皮细胞的主要细胞骨架成分,对上皮细胞有重要的保护作用,它为上皮细胞和组织提供支架从而维持了细胞或组织结构完整性确保了机械耐受性建立了细胞极性,在各种流体静力学压力变化下保护细胞和组织[13]。Moll 等将细胞角蛋白分成 20 种,即 CK1~CK20 细胞分化的不同阶段及不同类型上皮细胞表达不同的细胞角蛋白,上皮组织恶变后,其表达的细胞角蛋白与正常组织基本相同,因此,细胞角蛋白的表达被广泛应用于肿瘤的诊断[2]。肌上皮细胞(Myoepithelium, Myoepithelial Cell)位于腺泡和小导管的腺上皮与基膜之间。通常每个腺泡有一个肌上皮细胞,也可以有二三个。免疫荧光、免疫组织化学研究证实肌上皮细胞内含肌动蛋白和肌球蛋白,刺激肌上皮细胞胞可使导管内压力发生变化等,均提示肌上皮细胞有收缩功能,协助腺泡或导管排出分泌物[14]。肌动蛋白是细胞中一种重要的蛋白质,是细胞骨架的成分。氨基酸序列分析资料表明,肌动蛋白异型包含两大类主要肌动蛋白:细胞质来源的和肌肉来源的肌动蛋白[15]。

本试验对 Ki-67 进行染色,用于观察细胞增殖速度,以此加强对肿瘤良恶性的判断的准确性。Ki-67 作为一个重要的细胞增殖标记物,对很多常见的肿瘤疾病的诊断及预测有重要的帮助,目前广泛的应用于预测各种肿瘤疾病的病情进展[16],Ki-67 表达于所有活跃的细胞周期阶段,在细胞核内的定位复杂又有特异性,并随细胞周期改变[17]。在细胞周期的 G1 期及 S 期早期,Ki-67 的表达水平较低,在 S 期及 G2 期其表达急剧增加,在 M 期表达水平达到峰值,随后在细胞分裂后期和末期其表达量迅速下降。Ki-67 单克隆抗体标记 G1 后期 S 期和 G2 期 M 期细胞核抗原,而 G0 期 G1 早期的细胞核不被标记,且 Ki-67 抗原半衰期短,细胞脱离增殖周期后迅速降解这些特点使 Ki-67 成为优质的细胞增殖标记物[18]。

外耳道耵聍腺肿瘤是临床上比较少见的肿瘤,早期确诊尽早治疗至关重要,基本治疗方法为手术及放疗,亦可辅以化疗,根据其严重程度可施行外耳道外侧壁切除术垂直外耳道切除术或全外耳道切除术进行治疗[5][19]。本患猫的肿瘤已阻塞整个外耳道,故医院采用外耳道全切除的方法。将整个外耳道全部切除,不仅切除了肿瘤,也防止了外耳道后期的炎症感染,虽然切除了患侧的耳道可能影响一侧的听力,但另一侧耳道仍能正常发挥作用,并能最大限度的避免肿瘤的复发及转移。

## 致 谢

武汉芭比堂动物医院卓越分院为本试验提供病例。

## 参考文献

- [1] 王洪斌. 兽医外科学. 第5版[M]. 中国农业出版社, 2011.
- [2] 田召君, 邓干臻, 谷长勤, 等. 犬眼睑鳞状上皮细胞癌的组织病理学诊断[J]. 中国兽医科学, 2014(6): 656-660.
- [3] 常宏建, 任晓丽, 张佩, 等. 犬常见肿瘤流行病学调查及组织病理学诊断[J]. 中国畜牧兽医, 2018, 45(5): 1417-1425.
- [4] Etienne, C. (2007) *Clinical Veterinary Advisor: Dogs and Cats*. Elsevier.
- [5] 张信军, 陈静, 秦卫红, 等. 犬眶腺瘤的手术治疗与病理学诊断[J]. 中国兽医杂志, 2012, 48(11): 55-56.
- [6] Gruntzig, K., Graf, R., Boo, G., *et al.* (2016) Swiss Canine Cancer Registry 1955-2008: Occurrence of the Most Common Tumour Diagnoses and Influence of Age, Breed, Body Size, Sex and Neutering Status on Tumour Development. *Journal of Comparative Pathology*, **155**, 156-170. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2016.05.011>
- [7] 黄建强, 洪育明, 林泼水. 外耳道眶腺瘤6例临床分析[J]. 福建医药杂志, 2005, 27(3): 52-53.
- [8] 巴查, Jr., 著, 兽医组织学彩色图谱[M]. 第2版. 陈耀星, 译. 中国农业大学出版社, 2007.
- [9] 付祖权, 黄绍宋, 姚娇, 等. 犬外耳道眶腺瘤的病理学诊断[J]. 中国兽医杂志, 2016, 52(9): 75-76.
- [10] Goldschmid, M.H. and Goldschmid, K.H. (2016) Epithelial and Melanocytic Tumors of the Skin. *Tumors in Domestic Animals*. John Wiley & Sons, Inc., 119-120. <https://doi.org/10.1002/9781119181200.ch4>
- [11] Stephen, J.W. and David, M.V. (2007) *Small Animal Clinical Oncology*. 4th Edition, Elsevier Health Sciences, United States, 393-394.
- [12] Crain, N., Nelson, B.L., Barnes, E.L., *et al.* (2009) Ceruminous Gland Carcinomas: A Clinicopathologic and Immunophenotypic Study of 17 Cases. *Head & Neck Pathology*, **3**, 1-17. <https://doi.org/10.1007/s12105-008-0095-9>
- [13] Gu, L.H. and Coulombe, P.A. (2007) Keratin Function in Skin Epithelia: A Broadening Palette with Surprising Shades. *Current Opinion in Cell Biology*, **19**, 13-23. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2006.12.007>
- [14] Bánkfalvi, A., Ludwig, A., Dehesselle, B., *et al.* (2004) Different Proliferative Activity of the Glandular and Myoepithelial Lineages in Benign Proliferative and Early Malignant Breast Diseases. *Modern Pathology*, **17**, 1051. <https://doi.org/10.1038/modpathol.3800082>
- [15] 贺淹才. 肌动蛋白和肌动蛋白基因的研究进展[J]. 生命的化学, 2002, 22(3): 248-250.
- [16] 陈梦云, 张翠翠, 轩菡, 等. Ki67 在肿瘤中的表达及其临床指导意义[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(16): 3193-3196.
- [17] Romero, Q., Bendahl, P.O., Klintman, M., *et al.* (2011) Ki67 Proliferation in Core Biopsies versus Surgical Samples—A Model for Neo-Adjuvant Breast Cancer Studies. *BMC Cancer*, **11**, 341-341. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-11-341>
- [18] Yerushalmi, R. and Woods, R.P. (2010) Ki67 in Breast Cancer: Prognostic and Predictive Potential. *Lancet Oncology*, **11**, 174-183. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(09\)70262-1](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(09)70262-1)
- [19] Théon, A.P., Barthez, P.Y., Madewell, B.R., *et al.* (1994) Radiation Therapy of Ceruminous Gland Carcinomas in Dogs and Cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **205**, 566-569.

### 知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>  
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2169-8880, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>  
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: [acrpvvm@hanspub.org](mailto:acrpvvm@hanspub.org)