

## ·专题·肾盂输尿管连接部梗阻·

## 先天性肾盂输尿管连接部梗阻的临床病理学分析

孙劲松<sup>1</sup> 刘丹丹<sup>2</sup> 张刚<sup>1</sup> 田俊严<sup>1</sup> 胡传兵<sup>1</sup> 林涛<sup>3</sup>

**【摘要】 目的** 采用病例对照研究的方法来探讨肾盂输尿管连接部Cajal间质细胞(interstitial cell of cajal, ICC)以及代表信息传递的神经组织的改变与先天性肾积水发病机制的关系及其临床意义。

**方法** 收集2013年01月至2014年12月由本院确诊的30例非管腔压迫或新生物所致先天性肾盂输尿管连接部梗阻(Ureteropelvic junction obstruction, UPJO)患儿为病例组;选择同期11例无肿瘤细胞浸润肾盂输尿管连接部的肾肿瘤患儿作为对照组。所有标本观察组织学改变、神经纤维和ICC标记物的变化。**结果** 病例组肌层肥厚,排列紊乱、稀疏,其间可见大量增粗胶原纤维。与对照组相比,管腔明显狭窄;与对照组比较,病例组平滑肌神经纤维丝蛋白大部分标本呈阴性表达,仅少部分标本呈弱阳性表达,且神经纤维异常增粗。病例组神经纤维分布密度为 $(1.51 \pm 0.39)$ ,对照组为 $(3.79 \pm 0.48)$ ,差异有统计学意义( $t = 15.36, P < 0.01$ );病例组UPJ肌层仅见少量ICC呈C-kit阳性表达,甚至部分标本C-kit免疫反应呈阴性表达。病例组ICC标记物分布密度为 $(1.70 \pm 1.24)$ ,对照组为 $(9.09 \pm 1.76)$ ,差异有统计学意义( $t = 15.099, P < 0.01$ )。**结论** 神经纤维与Cajal间质细胞减少在先天性肾盂输尿管连接部梗阻的病因和发病机制中起重要作用,术中应彻底切除肾盂输尿管连接部病变段,以减少术后复发。

**【关键词】** 肾盂/畸形;输尿管梗阻;神经纤维;免疫组织化学

**Clinicopathological study of congenital ureteropelvic junction obstruction.** Sun Jinsong<sup>1</sup>, Liu Dandan<sup>2</sup>, Zhang Gang<sup>1</sup>, Tian Junyan<sup>1</sup>, Hu Chuanbing<sup>1</sup>, Lin Tao<sup>3</sup>. 1. Department of Pediatric Surgery; 2. Department of Ultrasonography, Affiliated Hospital, Jining Medical College, Jining 272129, China; 3. Department of Pediatric Urology, Children's Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China. Corresponding author: Liu Dandan, Email: utopia13cn@126.com

**【Abstract】 Objective** To explore the pathogenesis of congenital ureteropelvic junction obstruction (UPJO) in the etiology of congenital hydronephrosis. **Methods** Thirty specimens of UPJO (without lumen oppression or neoplasm) were collected. And 11 homochronous specimens of UPJ (from cases of renal tumors without an infiltration of tumor cells in UPJ) were selected as controls. The histological changes and distribution density of markers of nerve fibers and ICC were surveyed. **Results** In case group, there were fibrous hyperplasia, muscular hypertrophy and collagen hyperplasia. Microfilaments proteins were negative in most lesion segments and only few samples showed weak positive expression with abnormal morphology. Few ICCs expressed C-kit in muscular lesion segment of UPJ. Compared with control group, the difference was significant in distribution density of markers ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** A reduction of nerve fibers and ICC may play an important role in the etiology of UPJO. Clinically, ureteropelvic junction stenosis should be totally removed for preventing recurrence.

**【Key words】** Kidney Pelvis/AB; Ureteral Obstruction; Nerve Fibers; Immunohistochemistry

先天性肾盂输尿管连接部梗阻(ureteropelvic

junction obstruction, UPJO)与连接部蠕动功能异常有关<sup>[1]</sup>。作为起搏细胞的Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)及其信息传递过程是该病的研究热点之一<sup>[2-4]</sup>。本研究对30例肾盂输尿管连接部狭窄患儿的病理标本进行分析,探讨肾盂输尿管连接部ICC以及代表信息传递的神经组织的改变,与肾积水发病机制的关系及其临床意义。

DOI:10.3969/j.issn.1671-6353.2018.06.007

基金项目:山东省济宁市科技局项目(编号:2013jnw125)

作者单位:1. 济宁医学院附属医院小儿外科(山东省济宁市, 272029); 2. 济宁医学院附属医院超声科(山东省济宁市, 272029); 3. 重庆医科大学附属儿童医院泌尿外科(重庆市, 400014)

通讯作者:刘丹丹, Email: utopia13cn@126.com

## 材料与方法

### 一、研究对象

收集2013年01月至2014年12月本院经术前检查、手术以及术后病理检查均证实为非管腔压迫或新生物UPJO所致肾积水的30例患儿作为病例组。年龄7个月至11岁,平均4.7岁;男童18例,女童12例。收集同期在本院确诊的11例无肿瘤细胞浸润的肾肿瘤患儿作为对照组。年龄9个月至8岁,平均3.2岁;男童7例,女童4例。两组患儿肾功能均正常。收集两组患儿肾盂输尿管连接部组织进行病理学分析<sup>[5]</sup>。

### 二、试剂及方法

试剂如下:小鼠抗人神经丝蛋白单克隆抗体(ab9272 美国 Abcam 公司),兔抗人 C-Kit 多克隆抗体(SC-5535 美国 Santa Cruz 公司),SP-9002 免疫组化试剂盒(465909A 北京中杉生物工程有限公司),PV-6003 山羊二步法免疫组化试剂盒(k85605A 北京中杉生物工程有限公司),ZLI-9033 浓缩型 DAB 染色试剂盒(290573 北京中杉生物工程有限公司),多聚赖氨酸(美国 Sigma 公司)等。

全部标本经10%多聚甲醛液固定,常规石蜡包埋组织切片备用,每一蜡块作连续切片,片厚4  $\mu\text{m}$ ,自然贴于多聚赖氨酸处理好的载玻片上。每例标本进行HE染色及Masson染色,观察组织学变化。采用石蜡切片SP免疫组化方法检测标本中的神经丝蛋白及C-Kit的表达。

### 三、标记物计数方法

1. 神经纤维标记物:按改良Weidner方法<sup>[2]</sup>,由两名诊断经验丰富的病理科医生按双盲法先在低倍镜( $\times 100$ )下全面观察切片,确定3个高神经纤维密度区,即“热点”。再在高倍镜( $\times 400$ )下计数被染成棕褐色神经纤维数目,结果用3个高倍镜视野下神经纤维数目的平均数表示。

2. ICC标记物:由病理科医师在高倍镜( $\times 400$ )下随机选取肌间10个视野计算ICC数目,结果用10个高倍镜视野下ICC细胞数目的平均数表示。

### 四、统计学处理

本研究数据采用SPSS 17.0统计软件进行分析,对于神经纤维标记物和ICC标记物等计量资料用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两样本间比较采用独立样本 $t$ 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 结果

### 一、组织学变化

对照组HE染色及Masson染色见平滑肌内纵外横排列规则(图1),无纤维组织增生。病例组UPJ肌层纤维组织明显增生,肌层肥厚,排列紊乱、稀疏,其间可见大量增粗的胶原纤维(图2)。与对照组相比,管腔明显狭窄。

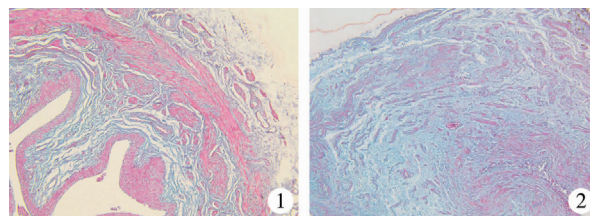


图1 对照组肌层内纵外横,排列规则( $\times 100$ ) 图2 病例组肌纤维明显减少,肌层紊乱、排列稀疏,胶原纤维大量增生( $\times 100$ )

**Fig. 1** Masson staining of control group: collagen fibers were evenly arrayed. ( $\times 100$ ) **Fig. 2** Masson staining of case group: muscle fibers decreased significantly. Muscular layers were disorderly and sparsely arrayed. And collagen fibers were hyperplastic ( $\times 100$ )

### 二、神经纤维标记物变化

对照组的平滑肌层可见较密集的神经纤维丝蛋白免疫阳性表达,神经纤维呈横向或纵向排列(图3)。病例组平滑肌神经纤维丝蛋白大部分标本呈阴性表达,仅少部分标本呈弱阳性表达,且神经纤维异常增粗、弯曲(图4)。病例组神经纤维分布密度为( $1.51 \pm 0.39$ ),对照组为( $3.79 \pm 0.48$ ),差异有统计学意义( $t = 15.36, P < 0.01$ )。

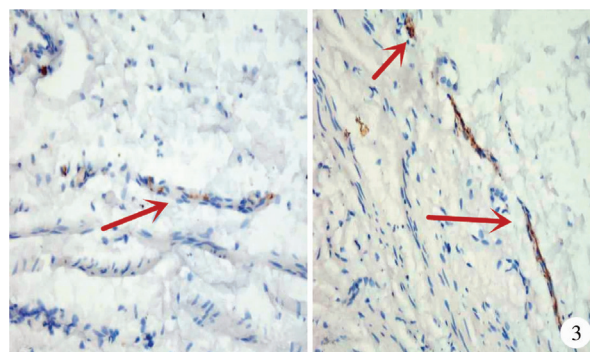


图3 对照组UPJ神经纤维丝蛋白阳性表达,神经纤维横向或纵向排列( $\times 400$ )

**Fig. 3** UPJ neurofilament protein expression of control group showed horizontal or vertical arrangements of nerve fibers. ( $\times 400$ )



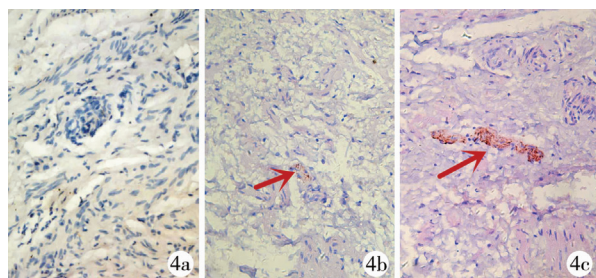


图4 病例组神经纤维丝蛋白表达情况。注:a:阴性;b:弱阳性;c:弯曲增粗( $\times 400$ )

Fig.4 UPJ smooth muscle layer of neurofilament protein.

### 三、ICC 标记物的变化

对照组 UPJ 肌层可见大量 C-kit 表达阳性的 ICC,细胞胞体较大,呈纺锤状或星形,有 2 个或 2 个以上的细长突起,胞质内可见棕色颗粒样物质,细胞核大,核周胞质少(图 5)。应用甲苯胺蓝染色后不呈现异染性。病例组 UPJ 肌层仅见少量 ICC 呈 C-kit 阳性表达,甚至部分标本 C-kit 免疫反应呈阴性表达(图 6)。病例组 ICC 标记物分布密度为  $(1.70 \pm 1.24)$ ,对照组为  $(9.09 \pm 1.76)$ ,差异有统计学意义( $t = 15.099, P < 0.01$ )。

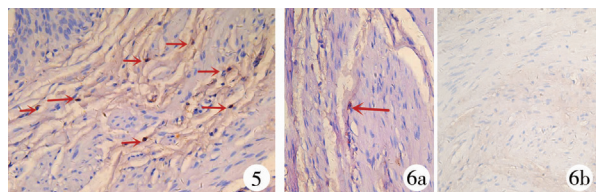


图5 对照组 UPJ 见大量 C-kit 阳性的 ICC( $\times 400$ ) 图6 病例组(a)肌间偶见散在、单个的淡染的 ICC,且形态不典型,甚至(b)ICC 缺如( $\times 400$ )

Fig.5 A large number of C-kit-positive ICCs in control group ( $\times 400$ ) Fig.6 ICC was scattered around and individually lightly-stained in muscle and shape was non-typical (a) or an absence of C-kit immunoreactive cells in UPJ stenosis (b) ( $\times 400$ ).

### 讨论

先天性肾盂输尿管连接处狭窄导致肾积水的发病机制尚不明确。从组织学来看,正常输尿管结构为排列有序的黏膜层和固有层、内横外纵的平滑肌层及其周围脂肪层。本研究发现肾积水肾盂输尿管连接部狭窄段纤维组织增生、肌层肥厚,平滑肌层紊乱、排列稀疏,其间可见大量增粗胶原纤维,与对照组相比胶原纤维明显增生,管腔狭窄。该结果与以往报道基本一致<sup>[3,4]</sup>。UPJO 管壁的纤维组织增生和平滑肌变性,可导致 UPJ 管壁增厚、僵硬,管腔狭窄,影响了输尿管蠕动,尿液的流动受阻,造

成肾积水<sup>[4-6]</sup>。

随着免疫组织化学、现代分子生物学技术的广泛应用,已证明输尿管内包含多种类型的神经组织,这些神经组织分布的异常和神经传递减少与尿路梗阻的发病有关<sup>[5,6]</sup>。神经纤维丝密度在研究神经组织结构和功能中是一个很重要的参数,可作为神经纤维的特异性标记物<sup>[6,7]</sup>。本研究应用神经纤维丝对 UPJO 患儿及正常对照组患儿进行标记,结果显示:对照组的神经纤维丝蛋白的免疫反应广泛存在,在平滑肌层发现了较密集的神经纤维丝蛋白免疫反应,神经纤维呈横向或纵向排列。病例组中神经纤维丝蛋白的免疫反应呈阴性表达,少部分标本呈弱阳性表达,且神经纤维增粗、弯曲,神经纤维的数目明显减少,这种改变可能是由轴突内神经纤维丝数量减少或结构异常增生引起。病变段神经纤维计数少于正常对照组,说明病变段较正常段神经纤维分布密度明显减少。由于肾盂输尿管连接部平滑肌层神经纤维缺失、减少或结构异常,引起神经冲动传递障碍,影响输尿管平滑肌蠕动功能,造成尿液流动受阻,进而导致肾积水<sup>[6]</sup>。因此,可以认为先天性肾积水患儿肾盂输尿管连接部狭窄段神经纤维数目减少与肾积水发病过程关系密切<sup>[7]</sup>。

同样,有研究显示 UPJO 致肾积水的发病机制可能与 Cajal 间质细胞密切相关<sup>[3,7]</sup>。ICC 主要存在于纵行与环形平滑肌层之间,是一种非神经但与神经有关的特殊类型的间质细胞,有平滑肌细胞和成纤维细胞两者的特征,典型的特征是大量的线粒体、丰富的中间丝和与平滑肌形成缝隙连接<sup>[8,9]</sup>。ICC 不仅是平滑肌基本电节律(或称慢波)的起搏者,也是基本电节律的主要传播者,因为 ICC 与平滑肌细胞是电耦联关系,神经冲动可通过 ICC 传向平滑肌<sup>[5,6,8]</sup>。泌尿系统 ICC 表达酪氨酸激酶受体(C-Kit)、波形蛋白(Vimentin)和缝隙连接蛋白 43<sup>[9-11]</sup>,它们都可以被作为泌尿系统 ICC 标记物,其中 C-Kit 被广泛用于标记泌尿系统 ICC,且该指标无年龄、性别的差异<sup>[12,13]</sup>。本实验应用免疫组织化学技术发现在正常的 UPJ 肌层中存在 C-kit 阳性 ICC,形态上呈纺锤状或星形,有 2 个或 2 个以上的细长的突起,细胞核大,核周胞质少。同时发现肾积水的 UPJ 狭窄段中 C-kit 阳性 ICC 的数量明显减少,肌间偶见散在、单个的淡染的 Cajal 间质细胞,形态不典型,且 ICC 标记物在两组间存在差异。作为平滑肌慢波活动的起搏者和传导者,ICC 直接参与

UPJ 蠕动波的传导。由此推测,肾积水肾盂输尿管连接部狭窄段肌层中 ICC 表达减少将使 UPJ 难以有效地传导来自起搏细胞的电冲动,蠕动波不能顺利通过 UPJ,导致输尿管蠕动障碍,尿液输送受阻,引起梗阻,所以我们认为 ICC 减少在 UPJO 的病因和发病机制中起重要作用。

UPJO 致肾积水是多因素作用的结果,我们可以将其病理生理模式解释为:由于肾盂输尿管连接部平滑肌层神经纤维及 ICC 缺失或减少,引起平滑肌潜在起搏及神经冲动传递障碍,相应部位自主神经运动的缺陷,使输尿管平滑肌蠕动功能障碍,形成功能性梗阻;进而引起或加重肌肉纤维变形,造成胶原纤维结缔组织增生,管腔狭窄,形成机械性梗阻,最终导致肾积水。因此,临床手术治疗该部位梗阻时,不仅要考虑解除肉眼所见的狭窄所致的器质性梗阻,同时也要考虑到 UPJ 本身存在的功能性障碍,应彻底切除肾盂输尿管连接部病变段,以确保手术疗效,减少术后的复发<sup>[14]</sup>。

### 参考文献

- 孙劲松,林涛.先天性肾盂输尿管连接部梗阻致肾积水的研究进展[J].临床小儿外科杂志,2010,9(2):138-141. DOI:10.3969/j.issn.1671-6353.2010.02.023.  
Sun JT, Lin T. Progress in congenital hydronephrosis caused by ureteropelvic junction obstruction [J]. J Clin Ped Sur, 2010,9(2):138-141. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2010.02.023.
- Tokushige N, Markham R, Russell P, et al. Nerve fibres in peritoneal endometriosis [J]. Hum Reprod, 2006, 21(11): 3001-3007. DOI: 10.1093/humrep/del260.
- Tourchi A, Kajbafzadeh AM, Ebadi M, et al. The association between impaired autophagy and the development of congenital ureteropelvic junction obstruction [J]. Urology, 2014, 84(6):1467-1474. DOI: 10.1016/j.urology.2014.08.021.
- Senol C, Onaran M, Gurocak S, et al. Changes in Cajal cell density in ureteropelvic junction obstruction in children [J]. J Pediatr Urol, 2016, 12: 89. e1-89. e5. DOI: 10.1016/j.jpuro.2015.08.010.
- Mehdi Shirazi, Ali Eslahi, Vahidreza Sharifi, et al. Evaluation of Caspase 3 Enzyme and TNF-alpha as Biomarkers in Ureteropelvic Junction Obstruction in Children-a preliminary report [J]. Pak J Med Sci, 2017, 33(2): 315-319. DOI: 10.12669/pjms.332.11934.
- 葛午平,洪淳,俞钢,等.先天性肾盂输尿管连接处梗阻性肾积水的神经性因素研究[J].临床小儿外科杂志,2009,8(2):29-31. DOI:10.3969/j.issn.1671-6353.2009.02.010.
- Ge WP, Hong C, Yu G, et al. Study of Neural Factors in Pathogenesis of the Congenital Ureteropelvic Junction Obstruction [J]. J Clin Ped Sur, 2009, 8(2): 29-31. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2009.02.010.
- Balikci O, Turunc T, Bal N, et al. Comparison of Cajal-like cells in pelvis and proximal ureter of kidney with and without hydronephrosis [J]. Int Braz J Urol, 2015, 41(6): 1178-1184. DOI: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2014.0427.
- Ek-Vitorin JF, Burt JM. Structural basis for the selective permeability of channels made of communicating junction proteins [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1828(1): 51-68. DOI: 10.1016/j.bbame.2012.02.003.
- Issi O, Deliktas H, Gedik A, et al. Does the histopathologic pattern of the ureteropelvic junction affect the outcome of pyeloplasty [J]. Urol J, 2015, 12(1): 2028-2031. DOI: 10.22037/uj.v12i1.2659.
- Kuijpers KA, Heesakkers JP, Hafmans TG, et al. An update of the interstitial cell compartment in the normal human bladder [J]. Biomed Res Int, 2014, 6(27): 464-217. DOI: 10.1155/2014/464217.
- Sui GP, Rothery S, Dupont E, et al. Gap junctions and connexin expression in human suburothelial interstitial cells [J]. BJU Int, 2002, 90(1): 118-129. DOI: 10.1046/j.1464-410X.2002.02834.x.
- Mikkelsen HB. Interstitial cells of Cajal, macrophages and mast cells in the gut musculature: morphology, distribution, spatial and possible functional interactions [J]. J Cell Mol Med, 2010, 14(4): 818-832. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2010.01025.x.
- Apoznanski W, Koleda P, Wozniak Z, et al. The distribution of interstitial cells of Cajal in congenital ureteropelvic junction obstruction [J]. Int Urol Nephrol, 2013, 45(3): 607-612. DOI: 10.1007/s11255-013-0454-7.
- Ekin RG, Celik O, Ilbey YO. An up-to-date overview of minimally invasive treatment methods in ureteropelvic junction obstruction [J]. Cent European J Urol, 2015, 68(2): 245-251. DOI: 10.5173/cej.2015.543.

(收稿日期:2015-10-09)

**本文引用格式:**孙劲松,刘丹丹,张刚,等.先天性肾盂输尿管连接部梗阻的临床病理学分析[J].临床小儿外科杂志,2018,17(6):429-432. DOI:10.3969/j.issn.1671-6353.2018.06.007.

**Citing this article as:** Sun JS, Liu DD, Zhang G, et al. Clinicopathological study of congenital ureteropelvic junction obstruction [J]. J Clin Ped Sur, 2018, 17(6): 429-432. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2018.06.007.