

Cajal 细胞在先天性肾盂输尿管连接部梗阻中的分布及意义



程时刚¹ 陈海涛¹ 耿红琼¹ 胡俊波² 杨星海¹

【摘要】 目的 研究 Cajal 细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)在先天性肾盂输尿管连接部梗阻(congenital ureteropelvic junction obstruction, UPJO)中的分布及意义。**方法** 以 UPJO 患儿术中 UPJ 组织标本为实验组,因非肾积水原因引产或死胎患儿 UPJ 组织标本为对照组,应用 ICC 特异的 C-kit 抗体行免疫组织化学染色,运用 *t* 检验比较两组 C-kit 阳性 ICC 细胞的分布情况。**结果** C-kit 阳性细胞主要存在于组织肌层。与对照组相比,UPJO 组 C-kit 阳性细胞的数量及密度均明显减少,两组 C-kit 阳性细胞数及平均光密度值差异有统计学意义(P 值均 <0.05)。**结论** 与对照组相比,新生儿 UPJO 的 C-kit 阳性细胞数量及密度明显减少,提示 ICC 减少可能与 UPJO 的发生有关。

【关键词】 输尿管梗阻; Cajal 细胞; 病理学,临床

The expression and significance of interstitial cells of Cajal at the obstruction site of congenital ureteropelvic junction obstruction. CHENG Shi-gang¹, CHEN Hai-tao¹, GENG Hong-qiong¹, et al. Department of Urology, 2. Department of Pathology, Hubei Women and Children's Hospital, Wuhan 430070, China

【Abstract】 Objective To study the expression and significance of interstitial cells of Cajal(ICC) at the obstruction site of congenital ureteropelvic junction obstruction(UPJO). **Methods** Specimens of the strictured segment of the UPJ were obtained from patients who were diagnosed to have UPJO intra-operatively. In control group, UPJ specimens were taken from cases that had been induced labor because of non-hydronephrosis. Immunohistochemistry with C-kit antibody was performed to detect the expression of ICC in specimens of the two groups. The distribution of C-kit-positive ICCs in the two groups was compared by *t* test. **Results** Immunoreactivity to ICC was predominantly detected in the muscle layers of UPJ. The mean area of ICC expression in UPJO group was lower than that in control group, ($P < 0.01$). The mean density of ICC expression in UPJO was also lower than that in control group ($P < 0.05$). **Conclusions** The lower area and density of ICC expression in UPJO group may have relation with the development of UPJO.

【Key words】 Uretera Obstruction; Interstitial Cells Of Cajal; Pathology, Clinical

Cajal 细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)是 1893 年西班牙神经解剖学家 Cajal 在豚鼠和家兔小肠描述的一种细胞^[1]。目前初步明确 ICC 是一种特殊间质细胞,在起搏胃肠道慢波、传递电信号、介导肠神经与平滑肌之间调节信号等方面起重要作用。与病理状态下多种胃肠动力紊乱疾病(便秘、假性肠梗阻)密切相关,是胃肠道平滑肌节律性收缩功能调节的重要因素^[2,3]。先天性肾盂输尿管连接部梗阻(UPJO)是小儿上尿路梗阻导致肾积水的

最常见原因,若及时发现和处理可能导致严重肾积水甚至肾功能不全。目前 UPJO 的病因和病理机制尚不十分明确。近年来研究表明,作为胃肠道起搏细胞的 ICC 在多种动物和人类的肾盂、输尿管及膀胱中普遍存在^[4]。由于泌尿道平滑肌具有胃肠道平滑肌相似的生理特性,提示 ICC 可能在 UPJO 发生过程中出现病变并参与肾积水的发生发展过程。C-kit 是 ICC 表面的一种特异性受体, C-kit 免疫细胞化学染色结合细胞具有的特殊形态是目前公认鉴定 ICC 的方法^[5]。本研究应用免疫组化方法对 UPJO 梗阻处组织进行 ICC 标记,以探讨 ICC 在 UPJO 中的表达及其发病机理。

材料与方法

一、临床资料

2013 年 1 月至 2015 年 1 月,作者采取手术治疗 UPJO 所致新生儿重度肾积水 32 例,其中男性 22 例,女性 10 例,左侧 19 例,右侧 13 例,年龄 20 ~ 31 天。收集以上病例手术中 UPJ 组织为实验组。术前 B 超检查显示严重肾盂肾盏扩张(4 ~ 10 cm),肾实质变薄,未见输尿管扩张。双肾、输尿管及膀胱 CT 扫描均提示 UPJ 梗阻,6 例双肾核素显像检查(ECT)显示患侧排泄相为梗阻型,肾小球滤过率不同程度下降。取 18 例因非肾积水原因引产或死胎患儿(孕 35 ~ 40 周)UPJ 组织标本为对照组,其中左侧 10 例,右侧 8 例。该研究通过医院伦理委员会批准,并得到患儿家长的知情同意。

二、试剂与方法

C-kit(CD117)兔抗人多克隆抗体,购自 Santa Cruz 公司,即用型 SABC 试剂盒以及 DAB 显色试剂盒,购自武汉博士德工程有限公司。将标本用 10% 福尔马林固定,常规石蜡片热修复抗原,包埋、切片。具体操作步骤为:将石蜡包埋标本,制成 5 μm 厚切片。脱蜡至水,3% 双氧水室温孵育 10 min 灭活内源性酶,蒸馏水冲洗。微波修复抗原。正常山羊血清封闭背景。滴加 1 : 50 稀释的 C-kit 一抗,4 $^{\circ}$ 孵育过夜。漂洗后加入 1 : 100 生物素标记的二抗,孵育

2 h 后使用 DAB 显色,按 1 mL 蒸馏水加 A 液、B 液和 C 液各 50 μL ,混匀后 30 min 内使用,显微镜下控制显色时间。PBS 液代替一抗作阴性对照。

图像分析采用 Image-Pro Plus 专业图像分析系统(美国 Media Cybernetics 公司)测定标本阳性表达产物的面积和平均光密度,Image-Pro Plus 是一种图像自动分析软件,具有图像采集、图像标注、病理图片的面积计算及光密度分析,标注表达阳性细胞后,软件计算其面积(每张片随机取 10 个视野,取其平均数),分析视野的表达面积和光密度。面积代表 ICC 的表达数量,平均光密度代表 ICC 的表达强度。

三、统计学处理

应用 SPSS11.5 统计学软件,实验数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验。

结 果

实验组和对照组肌层组织中均可见棕黄色染色的 C-kit 阳性 Cajal 细胞,有突起自胞体伸出。其中对照组 UPJ 肌层中可见较多 C-kit 阳性细胞。这些细胞胞体较大,呈纺锤状或星形,有突起,胞质内可见棕色颗粒样物质,细胞核大呈卵圆形,核周胞浆少,多与环形平滑肌平行排列。而 UPJO 组 UPJ 肌层中仅见少量有同样染色反应的阳性细胞(图 1 ~ 4)。两组肌层中 ICC 的平均表达面积及平均光密度比较,差异均有统计学意义,见表 1。

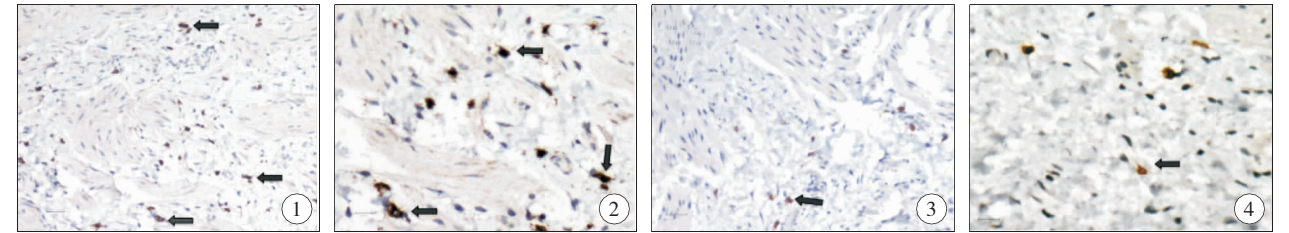


图 1,图 2:对照组 UPJ 肌层中可见较多 C-kit 阳性细胞,胞体较大,呈纺锤状或星形,有突起,胞质内可见棕色颗粒样物质,细胞核大(图 1, $\times 200$;图 2, $\times 400$); 图 3,图 4:UPJO 组 UPJ 肌层中仅可见少量 C-kit 阳性细胞(图 3, $\times 200$;图 4, $\times 400$)。

表 1 两组 ICC 的平均表达面积($\bar{x} \pm s$)		
组别	ICC 表达平均面积($\times 10^4 \mu\text{m}^2$)	ICC 表达平均光密度
UPJO 组	14.125 \pm 1.303	0.217 \pm 0.021
对照组	15.963 \pm 1.592	0.275 \pm 0.027
t 值	3.163	2.351
P 值	<0.01	<0.05

讨 论

UPJO 的主要危害是导致肾积水,严重者影响肾功能,目前以手术治疗为主^[6]。目前对新生儿 UPJO 所致肾积水的手术时机尚有不同观点, Kim^[7]、张殷^[8]等认为单侧 UPJO 患儿,早期手术有助于肾实质的功能恢复。作者认为手术解除梗阻可保护肾实质,避免肾功能损害进行性加重,因此对于巨大重度

肾积水可于 1 个月左右考虑手术;中重度积水应早期复查超声,对肾积水进行性加重、肾实质变薄者可在 3~6 个月内手术;轻度肾积水以定期超声随访为主。有关 UPJO 引起肾积水的观点主要有机械性梗阻和动力性梗阻两类。形态学异常主要表现为输尿管肌层发育障碍,平滑肌细胞相互分离,神经节细胞发育异常或缺乏,多种类型的神经纤维增生或缺乏。目前这些研究不能完全解释病因^[9]。

ICC 主要有以下几方面功能:胃肠道平滑肌慢波活动的起搏;推进电活动的传播;调节神经递质的功能;免疫调节作用等^[10,11]。原癌基因 C-kit 编码的Ⅲ型酪氨酸激酶受体(称为 C-kit 受体或 C-kit 蛋白)对于 ICC 的发生、分化及其功能起重要作用,是 ICC 的特异性标记物,应用 C-kit 抗体可对 ICC 进行特异性检测。另外,C-kit 抗体也能标记肥大细胞,但肥大细胞呈圆形,在泌尿道多位于黏膜层、黏膜下层组织,无突起。由于两者形态和分布不同,易与 ICC 相鉴别^[12]。

目前,国内外已有较多研究证实 ICC 在泌尿系中的重要作用。Pezzone^[13]使用免疫组化在小鼠输尿管壁中发现 C-kit 阳性的星形 ICC 组成细胞网络,他们位于输尿管盆部的固有层和肌间层。这些 ICC 产生慢波,沿着输尿管壁内 ICC 网络传播,使输尿管产生蠕动性收缩,从而保证将尿液自肾脏排入膀胱。任何原因引起的输尿管 ICC 密度减少或者 ICC 网络破坏,都会导致排尿不畅,引起泌尿系统疾病。Piaseczna^[14]研究发现在小儿膀胱的平滑肌层存在 ICC 细胞的表达,ICC 在膀胱三角区的平均数目明显多于膀胱体前壁区的数目,这种细胞分布的差异可能与膀胱不同部位的功能相关。过去十余年来,许多研究显示 UPJO 患者 UPJ 部位 C-kit 阳性 ICC 细胞的表达分布情况,然而分析的结论各不相同^[15]。对新生儿的研究则更少。本实验验证在胎儿的 UPJ 肌层中存在 C-kit 阳性 ICC,形态上与胃肠道 ICC 一样。同时发现新生儿 UPJO 中 ICC 的表达面积减少,表示 ICC 的数量减少;平均光密度降低,表示 ICC 的表达强度减弱。UPJO 肌层中 ICC 表达减少将使 UPJ 难以有效传导来自起搏细胞的电冲动,导致输尿管蠕动障碍,引起梗阻,进而推测,ICC 的表达减少可能与 UPJO 的发生相关。

参考文献

- 1 Blair PJ, Rhee PL, Sanders KM, et al. The significance of interstitial cells in euogastroenterology [J]. J Neurogastroen-

- terol Motil, 2014, 20(3):294-317.
- 2 Gfroerer S, Rolle U. Interstitial cells of Cajal in the normal human gut and in Hirschsprung disease [J]. Pediatr Surg Int, 2013, 29(9):889-897.
- 3 Wu B, Liu L, Gao HY, et al. Distribution of interstitial cells of Cajal in meriones unguiculatus and alterations in the development of incomplete intestinal obstruction [J]. Histol Histopathol, 2013, 28(12):1567-1575.
- 4 Lang RJ, Klemm MF. Interstitial cell of Cajal-like cells in the upper urinary tract [J]. J Cell Mol Med, 2005, 9(3):543-556.
- 5 Sanders KM, Ward SM. Interstitial cells of Cajal: a new perspective on smooth muscle function [J]. J Physiol, 2006, 576:721-726.
- 6 周建军, 李学明, 曹国灿. 经腹入路腹腔镜肾盂成形术治疗儿童肾盂输尿管连接部梗阻 [J]. 临床小儿外科杂志, 2014, 13(06):506-509.
- 7 Kim SO, Yu HS, Hwang IS, et al. Early pyeloplasty for recovery of parenchymal thickness in children with unilateral ureteropelvic junction obstruction [J]. J Urol, 2014, 92(4):473-476.
- 8 张股, 潮敏, 蔡盈, 等. 环脐单部位三通道腹腔镜肾盂输尿管成形术治疗儿童肾盂输尿管连接部梗阻 76 例 [J]. 临床小儿外科杂志, 2015, 14(5):361-365.
- 9 Huizinga JD, Robinson TL, Thomsen L. The search for the origin of rhythmicity in intestinal contraction from tissue to single cells [J]. Neurogastroenterol Motil, 2000, 12:3-9.
- 10 Alberti C. Congenital ureteropelvic junction obstruction; physiopathology, decoupling of tout court pelvic dilatation-obstruction semantic connection, biomarkers to predict renal damage evolution [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2012, 16(2):213-219.
- 11 Al-Sajee D, Huizinga JD. Interstitial cells of Cajal: pathology, injury and repair [J]. Sultan Qaboos Univ Med, 2012, 12(4):411-421.
- 12 Torihashi S, Ward SM, Nishikawa SI, et al. C-kit dependent development of interstitial cells and electrical activity in the murine gastrointestinal tract [J]. Cell Tissue Res, 1995, 280:97-111.
- 13 Pezzone MA, Watkins SC, Alber SM, et al. Identification of c-kit-positive cells in the mouse ureter: the interstitial cells of Cajal of the urinary tract [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2003, 284:925-929.
- 14 Piaseczna-Piotrowska AM, Dzieńiecka M, Kulig A, et al. Different distribution of c-kit positive interstitial cells of Cajal-like in children's urinary bladders [J]. Folia Histochem Cytobiol, 2011, 49(3):431-435.
- 15 Wojciech Apoznanski, Piotr Koleda, Zdzisław Wozniak, et al. The distribution of interstitial cells of Cajal in congenital ureteropelvic junction obstruction [J]. Int Urol Nephrol, 2013, 45:607-612.

(收稿日期: 2015-09-15)