# ・论 著・

## 常染色体显性多囊肾病 Han:SPRD 大鼠肾脏病理观察及其意义

李 林1,戴 兵1,孙田美1,颜永碧2,梅长林1\*

(1. 第二军医大学长征医院肾内科,上海 200003; 2. 基础医学部细胞生物学教研室,上海 200433)

[摘要] 目的:观察常染色体显性多囊肾病(autosomal dominant polycystic kidney disease, ADPKD)的 Han;SPRD 大鼠模型 的肾脏病理变化,为揭示 ADPKD 发病机制提供证据与线索。 方法:选取雄性 2 周龄 Han;SPRD 纯合大鼠(cy/cy)和 3 个月 龄杂合大鼠(cy/+),取其肾组织进行 H-E 染色、PAS 染色、Masson 染色以及透射电镜观察。 结果:光镜下发现 Han;SPRD 大鼠肾脏体积增大;囊肿衬里上皮细胞增殖显著;小管基膜增厚,可见灶性小管萎缩和较多蛋白管型;肾小球数目减少、体积 缩小,渐趋废弃,呈明显缺血样改变,血管壁增厚。透射电镜可见肾小球毛细血管腔阻塞,基底膜薄厚不均,部分断裂;小管上 皮细胞胞质脱落,微绒毛紊乱、部分缺如;细胞外间质成分稀少;囊肿衬里上皮细胞内可见大量线粒体,高尔基体、核糖体丰 富。 结论:Han:SPRD 大鼠肾脏组织学和超微结构的改变可解释多囊肾病的部分临床表现;并观察到 Han;SPRD 大鼠肾小 管上皮细胞微绒毛异常,为揭示疾病的发病机制提供了线索。

[关键词] 多囊肾病,常染色体显性;动物模型;Han:SPRD 大鼠

[中图分类号] R 692.1 [文献标识码] A [文章编号] 0258-879X(2005)01-0083-04

#### Morphology of renal tissue in Han: SPRD, a rat model of autosomal dominant polycystic kidney disease

LI Lin<sup>1</sup>, DAI Bing<sup>1</sup>, SUN Tian-mei<sup>1</sup>, YAN Yong-bi<sup>2</sup>, MEI Chang-lin<sup>1</sup><sup>\*</sup> (1. Department of Nephrology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China; 2. Department of Electron Microscope, Department of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433)

[ABSTRACT] Objective: To observe the renal histology and ultrastructural morphology of Han: SPRD rat model of autosomal dominant polycystic kidney disease(ADPKD). Methods: Two-week-old male homozygotes rats and 3-month-old male heterozy-gotes were examined in this study. The renal sections were stained with H-E, PAS and Masson and observed by light micro-scope and electron microscope. Results: Light micrographs of the kidneys showed that the kidney volume enlarged moderately. The cyst-lining epithelia were significantly hyperplastic and the basement of the tubule was thickened; focal tubular atrophy and protein casts could be observed frequently; the number and volume of glomerulus decreased; and the wall of blood vessels were thickened. All the manifestations indicated ischemic state. On transmission electron microscope examination, the capillary lumen was obstructive, and the glomerular basement membrane had various thickness with segmental disruption. The microvilli on the tubule brush borders were in disorder and vanished occasionally. The components of the extracellular matrix were decreased while the mitochondria, Golgi apparatus and ribosome in the cyst-lining epithelia were increased. Conclusion: The changes of renal histology and ultrastructural morphology of the Han.SPRD rat model can interpret the clinical presentations. The microvilli obnormalities of the tubule epithelial cells is observed for the first time, which provides clues to the pathogenetic mechanisms of the polycystic kidney disease.

[KEY WORDS] polycystic kidney disease, autosomal dominant; animal models; Han:SPRD rat

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2005, 26(1):83-86]

常染色体显性多囊肾病(autosomal dominant polycystic kidney disease, ADPKD)是最常见的遗 传性肾病,发病率约为 1/1 000~1/400<sup>[1]</sup>。虽然目 前该病的致病基因 PKD1、PKD2 已经克隆成功,但 该病的发病机制尚未明确,至今仍无有效治疗药物 及措施,由 ADPKD 导致的肾衰竭患者占终末期肾 病人数的 10%<sup>[2]</sup>。因此,ADPKD 是一种威胁人类 健康与生命的严重疾病。动物模型是认识与控制人 类疾病的重要实验工具,Han:SPRD 大鼠是目前公 认研究 ADPKD 的良好动物模型。我科引进了 Han:SPRD 大鼠模型用于多囊肾病研究,本研究通 过详细观察 Han:SPRD 大鼠肾脏的组织学特征和 超微结构改变,为研究多囊肾病的发病机制提供证 据,同时也可为寻找有效的干预措施提供线索。

[基金项目] 上海市科委重大基础项目基金(02JC14029);国家自 然科学基金(30170901);国家科技部重大科技专项基金 (2002AA2Z3130).

[作者简介] 李 林(1975-),女(汉族),博士生.

E-mail:lilin\_616@163.com

\* Corresponding author, E-mail: chlmei@public1. sta. net. cn

#### 1 材料和方法

1.1 动物 Han:SPRD大鼠由 Torres 博士(Meyo Clinic, USA)惠赠,第二军医大学实验动物中心 SPF级动物房饲养、繁殖。患病纯合大鼠(cy/cy)出 生后不久在腹部就能触及肿大的肾脏,3 周左右死 于尿毒症。杂合大鼠(cy/+)出生后 2 个月可通过 腹部触诊与正常大鼠鉴别。选取雄性的 2 周龄 cy/ cy 大鼠和 3 个月龄 cy/+大鼠各 10 只进行实验,选 性别、年龄匹配的同窝正常纯合大鼠(+/+)10 只 作为对照。

1.2 取材 大鼠腹腔注射戊巴比妥(40 mg/kg)麻 醉,称体质量;取右肾,称量,10%中性甲醛固定。左 心室插管灌注4%多聚甲醛(0.1 mol/L PBS, pH 7.4)固定5 min,取左肾,称量。常规脱水、透明 后石蜡包埋,切片厚度5 μm。

1.3 常规病理研究 (1)H-E染色:切片常规脱蜡 人水,Harris苏木精染色3min,1%盐酸分化数秒, 流水冲洗返蓝,伊红染色30s,脱水、透明、封固。光 学显微镜下观察、摄片。(2)PAS染色:切片常规脱 蜡入水,1%过碘酸15min,流水冲洗后Schiff试剂 染色15min,流水冲洗,苏木精染色1min,1%盐酸 分化数秒,返蓝,脱水、透明、封固;(3)Masson染色: 切片常规脱蜡入水,天青石蓝染色10min,流水冲 洗,1%醋酸水溶液1min,Masson红染色10min, 1%醋酸水溶液1min,0.5%亮绿染色,镜下控制时 间,快速脱水、封固。 1.4 透射电镜观察 多聚甲醛固定标本经充分漂洗,锇酸后固定,梯度乙醇脱水,浸透、Epon 812 包埋,聚合,定位后超薄切片(50~70 nm),铅-铀染色, 日立 H800 电镜观察,摄片。

#### 2 结 果

2.1 常规病理结果 光镜下观察可见杂合大鼠部 分肾小管形态正常,小管上皮细胞明显浊肿、颗粒变 性,部分小管空泡变性,见灶性小管萎缩、基膜增厚, 可见较多蛋白管型;皮质和外髓质部分小管管径增 大,形成大小不等囊肿,囊肿形态不规则,囊肿衬里 细胞呈扁平状上皮细胞,增殖显著。间质见灶性纤 维化及炎细胞浸润,以淋巴、单核细胞为主。肾小球 体积明显缩小,小球细胞数减少,系膜基质明显增 生,大部分血管襻呈闭锁状,肾小球渐趋废弃(图 1A);部分肾小球体积未见明显变化,系膜细胞和系 膜基质轻度增生,包曼囊腔扩张明显,基底膜皱缩, 呈明显缺血样改变,血管壁轻度增厚(图 1B)。

纯合大鼠绝大部分小管高度扩张,成为大小不 等、形态不规则的囊肿,囊肿衬里上皮细胞明显增殖 (图 1C)。其余小管结构受压,上皮细胞明显浊肿、 高度变性,部分小管呈明显空泡变,可见蛋白管型, 未见红细胞管型,间质明显纤维化,未见明显炎细胞 浸润。肾小球数目显著减少(图 1D);部分肾小球包 曼囊腔明显扩张,小球结构受到一定挤压,导致血管 襻开放欠佳,基底膜皱缩;部分肾小球包曼囊腔轻度 扩张,小球结构尚可,小血管壁明显增厚。



图 1 Han:SPRD 大鼠肾脏的光镜表现 Fig 1 Light micrographs of kidneys of Han:SPRD rats(H-E) A,B:Heterozygous Han:SPRD rat(×200); C,D:Homozygous Han:SPRD rat(×400,×200)

2.2 透射电镜结果 杂合大鼠肾小球部分毛细血 管管腔阻塞,系膜细胞及系膜基质增生,上皮细胞胞 质脱落,可见大量脂滴,足突未见融合。与正常大鼠 肾小管上皮细胞(图 2A)比较,杂合大鼠肾小管上皮 细胞微绒毛紊乱,部分缺如(图 2B)。 纯合大鼠肾小球毛细血管管腔完全闭塞(图 3A),系膜细胞及系膜基质轻度增生,基底膜薄厚不 均(图 3B),可见部分断裂。上皮细胞胞质脱落,可 见大量脂滴、空泡,偶见髓样结构,足突未见融合。 肾小管上皮细胞微绒毛紊乱,部分缺如(图 2C)。细 胞外间质成分稀少,可见胞质碎片(图 3C)。囊肿衬 里上皮细胞内可见大量线粒体,线粒体体积增大,嵴 呈板层样。高尔基体、核糖体丰富,部分核糖体围绕 线粒体呈线样排列(图 3D)。



图 2 透射电镜下正常及 Han: SPRD 大鼠肾小管上皮细胞的微绒毛变化 Fig 2 Microvilli of rat tubular epithelial cells

A:Normal rat( $\times$ 5 000);B:Heterozygous Han:SPRD rat( $\times$ 6 000);

C: Homozygous Han: SPRD rat(with disordered microvilli)(×8 000)



#### 图 3 纯合 Han: SPRD 大鼠肾脏组织透射电镜观察

Fig 3 Renal ultrastructural morphology of homozygous Han: SPRD rat under transmission electron microscope A:Obstruction of the capillary lumen( $\times$ 6 000); B:Glomerular basement membrane with various thickness( $\times$ 15 000); C:Decreased components of the extracellular matrix( $\times$ 10 000);

D: Mitochondria, Golgi apparatus and ribosome in the cyst-lining epithelia cells(  $\times$  20 000)

#### 3 讨 论

1989年,Kaspareit-Rittinghausen等<sup>[3]</sup>发现他 们饲养的SD大鼠发生了自发突变,突变大鼠出现 了高血压、肾脏囊肿、肾外器官囊肿,最终死于尿毒 症,而且这种突变以常染色体显性遗传方式传递给 子代。上述这些特征与人类的ADPKD十分相似, 因此他们将这种品系的大鼠称为Han:SPRD大鼠。 时至今日Han:SPRD大鼠已成为研究ADPKD的 良好动物模型之一。

Han:SPRD 大鼠是目前国内惟一的多囊肾病 动物模型,本研究对 Han:SPRD 大鼠肾脏的组织学 特征和超微结构改变进行了详细的观察,结果与目 前公认的多囊肾病特征性病理改变(囊肿上皮细胞 异常增殖、囊液异常积聚以及细胞外基质异常重 构<sup>[2,4]</sup>)相符,证实了 Han:SPRD 大鼠可用于多囊肾 病研究。本研究观察结果表明,多囊肾病发生时肾 小管上皮细胞异常增殖,光镜下可见细胞形态变为 多层扁平上皮,电镜显示细胞内出现大量空泡和脂 滴,最终演化为囊肿衬里上皮细胞。随着细胞不断 增殖,部分肾小管腔向外扩张,形成囊肿;囊肿衬里 上皮细胞内丰富的核糖体和高尔基体提示囊肿纳里 上皮细胞内丰富的核糖体和高尔基体提示囊肿细胞 大量合成蛋白质。线粒体嵴丰富,说明细胞内能量 代谢活跃,为蛋白的合成供能。这与早先研究证实 的囊肿衬里上皮细胞能够合成、分泌细胞因子,并向 囊肿内分泌液体相符。细胞自分泌的细胞因子又与 细胞表面相应受体结合,形成促进囊肿生长的自分 泌环;此外,电镜显示细胞外基质成分减少也符合多 囊肾病胞外基质异常的病理特征<sup>[5,6]</sup>。

通过电镜观察,我们首次发现了 Han:SPRD 大

鼠肾脏囊肿衬里上皮细胞出现了微绒毛紊乱或缺如。有人在Tg737 突变小鼠模型中首次发现初级 纤毛在维持肾脏形态和功能中起着关键作用,初级 纤毛装配的缺陷可导致多囊肾病<sup>[7]</sup>,但在 Han: SPRD 大鼠发现微绒毛异常尚属首次,这为微绒毛 致病假说提供了有力证据。

此外,本研究为多囊肾病一些临床表现提供了 组织学解释。多囊肾病早期主要表现为高血压,随 着疾病进展出现血尿、蛋白尿,最终导致半数以上患 者终末期肾衰竭。我们对 Han: SPRD 大鼠肾组织 的观察发现多囊肾病早期就存在肾小球血管受压, 出现了明显的缺血表现,部分血管襻闭锁。肾血流 灌注不足导致肾素-血管紧张素-醛固酮系统激活, 引起血压升高;电镜观察发现肾小球基底膜薄厚不 均,屏障功能受损,导致红细胞和蛋白质从原尿中漏 出,病理切片可见蛋白管型,解释了血尿和蛋白尿的 出现;随着多囊肾病进展,肾小球受压缺血、功能减 退、废弃,小球数目减少,最终导致肾功能受损。

对 Han:SPRD 大鼠模型的观察,也为研究疾病 的干预措施提供了线索。例如,针对异常增生的囊 肿上皮细胞,可以选用抑制细胞分裂增殖的药物,目 前研究较多的表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂 就是通过该环节发挥疗效;囊肿衬里上皮细胞大量 合成蛋白、分泌囊液,提示阻断囊液分泌可能对疾病 起到一定的治疗作用;而胞外基质的异常提示可以 从调控胞外基质分泌、沉积和降解的环节入手,选用 如基质金属蛋白酶等进行治疗研究;囊肿细胞微绒 毛的病变提示了稳定微丝、微管结构的药物可能对 疾病具有一定治疗作用,紫杉醇延缓多囊肾病进展 的研究证实了该假设。

通过对 Han:SPRD 大鼠的观察,我们较全面地 观察了多囊肾病大鼠肾脏组织学和超微结构的改 变,研究结果为揭示疾病的发病机制提供了佐证,也 为寻找有效的干预措施提供了线索。

#### [参考文献]

- Peter I, Stefan S. Genetics and pathogenesis of polycystic kidney disease[J]. J Am Soc Nephrol, 2002, 13(6): 2384-2398.
- [2] Calvet CP, Grantharn JJ. The genetics and physiology of polycystic kidney disease [J]. Semin Nephrol, 2001, 21 (2): 107-111.
- [3] Kaspareit-Rittinghausen J, Deerberg F, Rapp K, et al. A new rat model for polycystic kidney disease of humans[J]. Transplant Proc, 1990, 22(11): 2252-2253.
- [4] Qian Q, Harris PC, Torres VE. Treatment prospects for autosomal-dominant polycystic kidney disease [J]. Kidney Int, 2001,59(8):2005-2022.
- [5] Richarda WG, Sweeney WE, Yoder BK, et al. Epidermal growth factor receptor activity mediates renal cyst formation in polycystic kidney disease[J]. J Clin Invest, 1998, 101(3): 935-940.
- [6] Obermuller N, Moreten N, Kranzlin B, et al. A possible role for metalloproteinases in renal cyst development [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 1997, 280(7): F357-F371.
- [7] Yoder BK, Hou X. The polycystic kidney disease proteins, polycystin-1, polycystin-2, polaris, and cystin, are co-localized in renal cilia[J]. J Am Soc Nephrol, 2002, 13(6):2508-2516.

[收稿日期] 2004-05-27 [修回日期] 2004-09-11 [本文编辑] 邓晓群

### 《感染、炎症、修复》杂志征稿及征订启事

经国家新闻出版总署批准,由解放军总医院 304 临床部主办的《感染、炎症、修复》杂志(CN11-5225/R),已于 2004 年第 2 季度正式公开出版发行。

本刊为综合性高级医学学术刊物,内容涉及各有关学科疾病所致的全身/局限性感染、炎症反应与组织修复再生的发病机制、诊断技术和临床防治经验。主要读者对象为各学科、各专业从事感染、炎症、修复与再生方面的临床、教学和科研人员, 欢迎来稿。

本刊现为季刊,大16开本,64页,每季末月20日出版。

现征订 2005 年度《感染、炎症、修复》杂志,征订者可直接汇款至杂志编辑部,10.00 元/期,全年 40.00 元。

联系地址:北京市阜成路 51 号《感染、炎症、修复》编辑部; 邮编:100037

电 话:010-66867399; 传真:010-68480755

E-mail:gryzxf@vip. sina. com