



## 局灶节段性肾小球硬化动物模型的研究进展

发布时间: 2018-04-23 11:55:21 分享到:

**摘要:** 近十年来,对局灶节段性肾小球硬化(FSGS)遗传基础的研究取得了很大进展。利用特异性基因破坏缝隙膜和足细胞骨架的动物模型观察人类疾病的病因学。已经开发了许多动物模型来理解FSGS的复杂病理生理学。因此,我们需要知道建立动物模型的有效性和精确的方法。我们回顾经典动物模型和新开发的遗传动物模型。FSGS的经典动物模型包括直接足细胞损伤和由于适应性反应的间接足细胞损伤。然而,表型取决于动物背景。肾切除和直接足细胞毒素(PAN,阿霉素)模型是FSGS的主要动物模型,它有一定的局限性,这取决于小鼠的背景。第二组动物模型是利用基因突变和毒素的组合开发的。如NEP25,白喉毒素,和TY1.1模型,特别损伤足细胞。第三组动物模型涉及以足细胞表达分子为基础的基因工程技术,如足细胞素、CD2相关蛋白和TRPC6通道。在未来的十年中,可以预期更多的关于足细胞和FSGS的信息。

**关键词:** 动物模型 局灶节段性肾小球硬化症 足细胞

**局灶节段性肾小球硬化动物模型概述:** FSGS引起无症状性蛋白尿或肾病综合征(NS)伴或不伴肾功能不全。在接受肾活检以评估蛋白尿的成人中,FSGS占有病例的35%。一般来说,FSGS是肾脏疾病的一种累进形式,占终末期肾病(ESRD)患者的2.3%,诊断时的严重蛋白尿与肾预后不良有关。FSGS总结了肾小球疾病的独特的组织学模式,包括光镜下的硬化性/纤维化病变,这只能在一些(局灶)肾小球和单个肾小球(节段)的特殊部分中发现。不同形式的FSGS疾病背后的病理机制似乎是相似的,导致相同的组织学图片。因此,研究FSGS在各种动物模型中的病理生理机制是合理和绝对必要的。尽管人类和动物的疾病特征不同,动物模型已经成为医学研究的一个重要组成部分。最重要的区别之一是许多动物模型反映了继发性FSGS,而原发性FSGS是人类更常见的疾病形式。开发基因工程小鼠,以提高我们对肾脏疾病的认识,包括FSGS。FSGS的主要动物模型的发展包括直接足细胞损伤和由于适应性反应引起的间接足细胞损伤。最近的证据表明足细胞消耗是介导蛋白尿和肾小球硬化的主要因素。足细胞特异性毒素模型支持足细胞的丢失导致剂量依赖性的FSGS。基因敲除和转基因模型提供了证明特定足细胞蛋白的突变介导FSGS遗传形式的概念。在这篇综述中,我们描述了经典的动物模型FSGS,并专注于新的基因工程动物模型。

**FSGS的经典动物模型:肾消融模型:** 作为研究肾小球疾病的动物模型之一是基于大鼠的肾消融。Brenner组显示肾切除引起肾小球血流改变导致结构损害。提示单肾持续性过度滤过可能通过破坏残余肾小球而导致不良适应的后果。5/6肾切除模型是通过切除一个肾和消融2/3的剩余肾而产生的。在该模型中,早在2周时就检测到由于严重的肾肿块减少而导致肾小球结构的改变。在第七周时,超过50%的肾小球显示FSGS病变,所有动物均90天死亡。大多数大鼠易患肾小球硬化,而C57BL/6小鼠对肾小球硬化具有高度的抵抗性。129/SV和瑞士韦伯斯特小鼠是少数易患硬化症的小鼠。4/6的肾质量减少导致FSGS较温和的变异,而无诱导高血压。模仿继发性FSGS模型,由于功能性肾组织的丧失(创伤、肿瘤手术、严重肥胖和出生极低体重儿),尽管与人类疾病相比,动物模型中肾单位质量的损失更为剧烈。

**足细胞毒性药物诱导FSGS的实验研究:** 诱导FSGS的药物,特别对足细胞有毒,可诱导动物FSGS。FSGS的严重程度通常是剂量依赖性的,肾小球疾病的发展是可靠的,并且在这些模型中比较容易处理。这些模型适合于研究保护性和治疗性的效果或用于研究蛋白尿肾病的精确病理机制。

**氨基核苷嘌呤霉素:** 氨基核苷嘌呤霉素(PAN)是一种抑制蛋白质合成的抗生素。大鼠可通过多种诱导方案,如多次腹腔注射或单次静脉给药或不伴单侧肾切除诱发大鼠PAN肾病。在单次给药PAN(50 mg/kg体重)的几天内,出现大量蛋白尿。肾脏表现出完全消退。该模型的早期阶段类似于人类微小病变。几乎完全缓解的阶段是稳定的、进展的、较低水平的蛋白尿,在10至13周之间发展,与早期FSGS病变相关。PAN给药后几个月的动物模型随访显示肾小球硬化和进行性肾衰竭。到第18周时,肾小球中约有10~15%显示节段性硬化。采用单次肾切除和多次腹腔注射(第一次剂量为10 mg/kg体重),加速该过程。并在第8周出现明确的肾小球硬化。

**阿霉素模型:** 阿霉素是已知的大鼠肾损伤毒物,反映了原发性FSGS在人慢性肾脏病(CKD)中观察到的组织学改变。Sternberg等人首次公布使用蒽环类药物引起肾损伤。这种肾脏疾病的动物模型有几个好处。它是一种高度重复性和健壮的组织损伤模型,几乎没有死亡(<5%)和病态(体重减轻)。雄性Wistar大鼠,诱导肾脏损伤所需的阿霉素剂量在1.5至7.5毫克/公斤之间。雄性BALB/c小鼠需要9.8~10.4毫克/公斤的药物,而雌性BALB/c SCID小鼠仅需要5.3毫克/公斤。C57BL/6小鼠对阿霉素肾损伤的耐受性强。但肾脏损伤可由比BALB/c小鼠所需的高剂量(13~25 mg/kg)诱导。虽然大多数研究采用单次注射方案,也已报道使用多次注射的方案。16周后,FSGS表型在24周内观察到进展为肾小球硬化和肾小管间质纤维化。由于血清尿素水平升高,一些动物存活不超过28周。与阿霉素相似,PAN模型对足细胞有直接毒性,引起足细胞损伤,提高内皮细胞通透性,从而降低肾小球选择性,继发性肾小管间质损伤。这些药物诱导模型的最大缺点是它们与FSGS的人类发病机制的不确定性。

**自发FSGS模型:**

**Buffalo/MWF模型:** Buffalo/MWF大鼠良性胸腺瘤,蛋白尿和肾硬化自发发生。FSGS样病变发展的原因尚不清楚,除了老化和高血压之外,还考虑了循环肾毒性因子,因为健康Lewis大鼠肾移植后蛋白尿复发。

**Munich-Wistar-Fromter大鼠:** Munich Wistar Fromter(MWF)大鼠是一种比标准Wistar大鼠低肾单位计数的大鼠。数量性状位点和全基因组扫描揭示了6号染色体上与蛋白尿增多相关的位点。在10周龄时,MWF大鼠发生蛋白尿,收缩压(SBP)范围从140毫米汞柱到150毫米汞柱。9个月时,SBP达

**NEP25小鼠模型:** NEP25小鼠模型是专门针对足细胞的模型。在足细胞中选择性表达人CD25的转基因小鼠株 (NEP25) 已经产生。抗Tac (PV) - PE38免疫毒素 (Imb2) 是与CD25特异结合的免疫毒素。在NEP25小鼠中诱导渐进性非选择性蛋白尿、腹水和水肿。足细胞足突消失、空泡变性、脱落、突触素、WT-1、Nefin和Podoalxin下调。肾小球系膜细胞呈基质扩张, 胶原增多, 血管溶解, 后硬化。parietal上皮细胞表现出空泡变性和增殖, 内皮细胞肿胀。肾小球损伤的严重程度与LBB2剂量依赖性有关。使用至少1.25ng/g体重的剂量, NEP25小鼠发生渐进性肾小球损伤, 并在2周内死亡。在剂量为0.625 ng/g体重时, NEP25小鼠存活4周以上, 并发展成局灶节段性肾小球硬化。

**白喉毒素模型:** 建立了人白喉毒素 (DT) 受体在足细胞中特异表达的转基因大鼠系。啮齿动物同源物不起白喉毒素受体作用, 从而使啮齿动物抵抗DT。注射DT (1ml/ 10g) 到转基因大鼠导致肾小球剂量依赖性足细胞耗尽。DT诱导足细胞缺失导致肾小球损伤的三个阶段: 1, 0~20%期, 系膜扩张, 短暂性蛋白尿, 肾功能正常。第2, 21至40%阶段: 系膜扩张、囊粘连 (粘连)、局灶节段性肾小球硬化、轻度持续性蛋白尿、肾功能正常; 第3阶段, > 40%足细胞减少, 节段性肾小球硬化, 持续性高蛋白尿和肾功能减退。该模型由于其可预测性, 也非常适合于研究目的。

**HIV肾病模型:** HIV相关性肾病 (HIVAN) 是全球ESRD的主要原因之一。因此, 理解FSG的第二种形式和与其恶化和改善相关的机制是很重要的。要做到这一点, 动物模型艾滋病病毒诱导的肾病是绝对必要的。FSGS研究中存在不同的病毒诱导动物模型。他们中的大多数是基于HIV-1的模型。使用复制缺陷型HIV作为整合的转基因 (称为转基因26) 建立HIVAN转基因小鼠模型的, 首次在24天龄观察到蛋白尿。大约20%的小鼠在2个月和6个月之间死亡, 蛋白尿升高, 血尿素氮升高, 水肿, 腹水和低白蛋白血症。病理上, 尿毒症动物的肾脏在一定时间点出现塌陷性病变, 弥漫性节段性和全身性肾小球硬化, 微囊管状扩张。这些变化与HIVAN非常相似。HIVAN可能是由于足细胞的直接感染和炎性细胞因子的局部释放而发展的。

**新型FSGS基因工程小鼠模型:** 基因工程在动物模型中揭示了研究许多新基因和蛋白质功能的可能性。然而, 到目前为止, 突变只能在FSGS患者的少数患者中被识别。这些动物模型在研究单个蛋白质或蛋白质-蛋白质相互作用的功能以及确定潜在疾病的预后方面的作用是必不可少的。

**肌动蛋白细胞骨架**

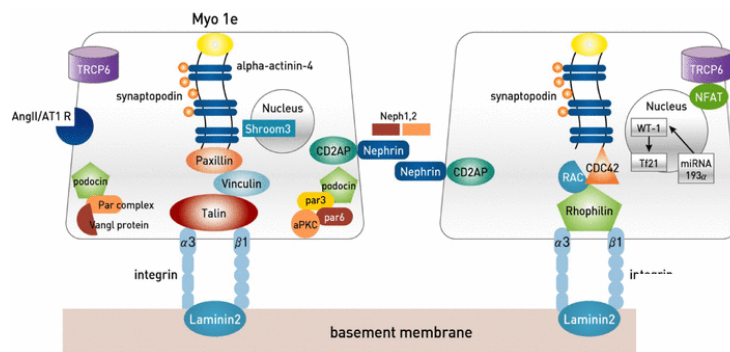
**α-肌动蛋白4模型:** α-肌动蛋白4是一种肌动蛋白相关的交联蛋白。α-肌动蛋白4基因突变患者常染色体显性遗传。突变蛋白导致足细胞肌动蛋白细胞骨架的动态变化和足细胞间隙隔膜的退化, 导致蛋白尿和FSGS的早期发育。已经建立了基因敲除小鼠模型来研究不同的人类的突变的作用。这些研究有助于确定这种交联蛋白的目的和生理作用以及点突变的后果和严重程度。

**顶端细胞表面**

**瞬时受体电位通道6模型:** 家族性FSGS的最新进展是发现了一种突变型瞬时受体电位阳离子通道6 (TrPC6) 的突变形式。这种突变导致细胞功能的增加和细胞内钙浓度的短暂增加。

**激素抵抗型微小病变 (MCD) 与FSGS的关系:** 我们排除了仅显示蛋白尿或MCD特征而没有肾小球硬化的动物模型。已经提出了几个候选循环因子及其对足细胞的影响, 但仍不足以解释MCD的整体机制和临床特征。患者大多是激素抵抗的, 并且往往在移植后复发很快。目前与人类NS相关的45个基因解释了不超过20-30%的遗传。仅有10~20%的散发病例。因此, 我们需要更详细的解释病理机制包括FSGS和类固醇耐药MCD的遗传和免疫学结合研究。

**结论:** 虽然FSGS发展的病理机制非常复杂, 但经典和新的遗传模型在过去几十年中取得了重大进展。FSGS动物模型解释许多继发性慢性肾脏疾病合并蛋白尿的机制。这些模型为进一步阐明足细胞病病理生理学的方法学提供依据。从这些动物模型和人类观察得到的证据, 确定肾脏疾病的特异性足细胞病变。



来源: Clinical and Experimental Nephrology pp 1-12 | Cite as

