

肾研究动物模型

肾脏，俗称“腰子”，是人体泌尿系统中最重要的器官，对人类健康具有至关重要的作用。它的基本功能是生成尿液，清除体内代谢废物，重吸收葡萄糖、氨基酸、钠离子、水等各类有用物质，此外肾还具有调节血液电解质和酸碱平衡，分泌激素等重要功能。

肾脏，俗称“腰子”，是人体泌尿系统中最重要的器官，对人类健康具有至关重要的作用。它的基本功能是生成尿液，清除体内代谢废物，重吸收葡萄糖、氨基酸、钠离子、水等各类有用物质，此外肾还具有调节血液电解质和酸碱平衡，分泌激素等重要功能。

肾脏简介

肾脏位于脊柱两侧，左右各一，红褐色，形似蚕豆，表面光滑，每个肾的重量大概在100—200克，受肝脏影响，右肾一般比左肾略低1-2厘米。肾脏皮质呈红褐色，分为外缘和内缘两部分，肾外缘为凸面，内缘为凹面，凹面中部为肾门，所有血管、神经及淋巴管均由此进入肾脏，肾盂则由此走出肾外[1]。

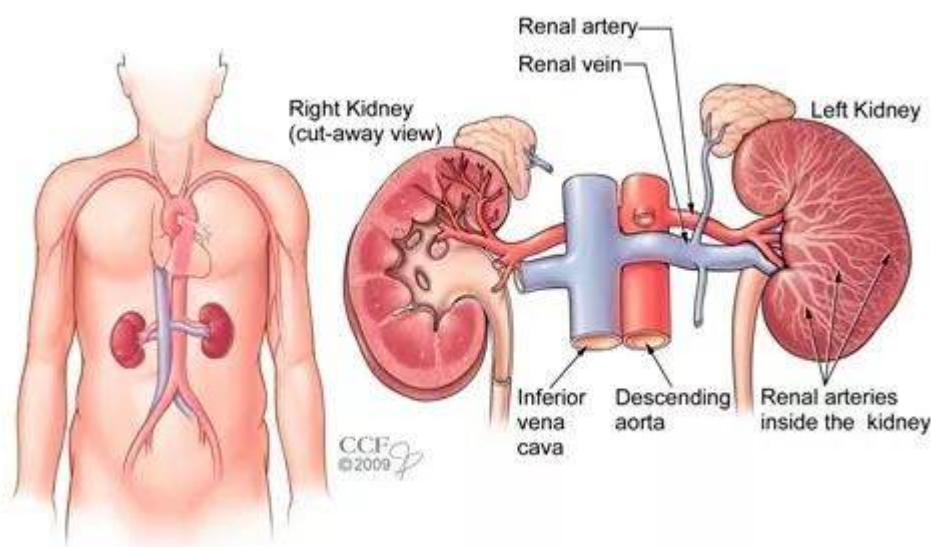


图1.肾脏的位置和结构

肾单位是肾脏结构和功能的基本单位，由肾小体和肾小管组成，肾小体又由肾小球和肾小囊组成。每个肾脏约有一百多万个肾单位，肾不能再生新的肾单位。肾单位是肾脏部位物质交换和能量传输的重要系统，包括肾小球滤过血液形成原尿，肾小管、集合管重吸收营养物质和毛细血管物质交换过程。因此，肾单位是肾脏微循环系统发挥作用的基本单位，对肾脏各功能的正常运转起着决定性作用。

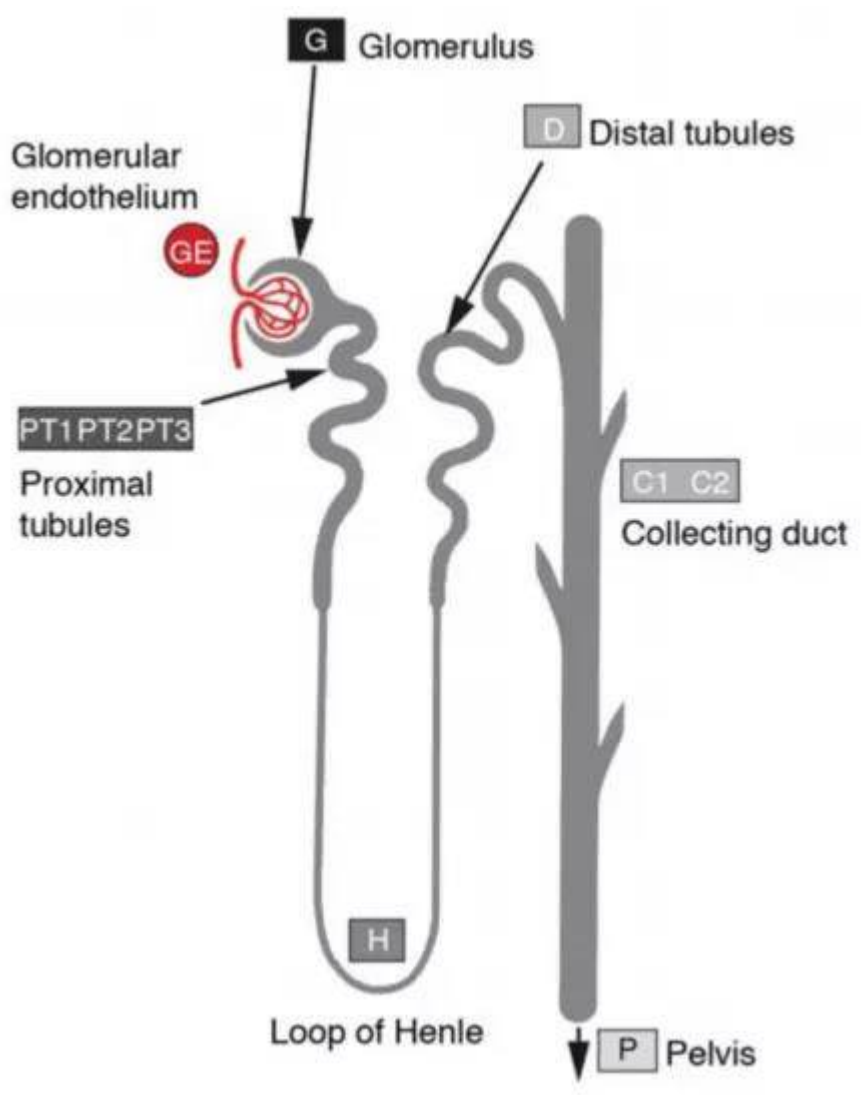


图2.肾单位示意图[2]

肾脏的细胞分类

按照细胞类型，肾脏可以划分出5类固有细胞，分别是系膜细胞（mesangium）、内皮细胞（endothelium）、足细胞（podocyte）、肾小管上皮细胞和肾间质成纤维细胞。

系膜细胞

系膜细胞对肾小球毛细血管具有支持和保护作用，它能调节毛细血管的收缩和舒张，通过平衡毛细血管的血流量，控制滤过膜的滤过功能。系膜细胞还具有吞噬功能，可吞噬一些大分子物质，包括残留在基底膜上的沉积物。此外，系膜细胞还能合成分泌多种酶和生物活性物质，参与基底膜的修复、免疫反应、肾小球炎症反应等多种生理过程。

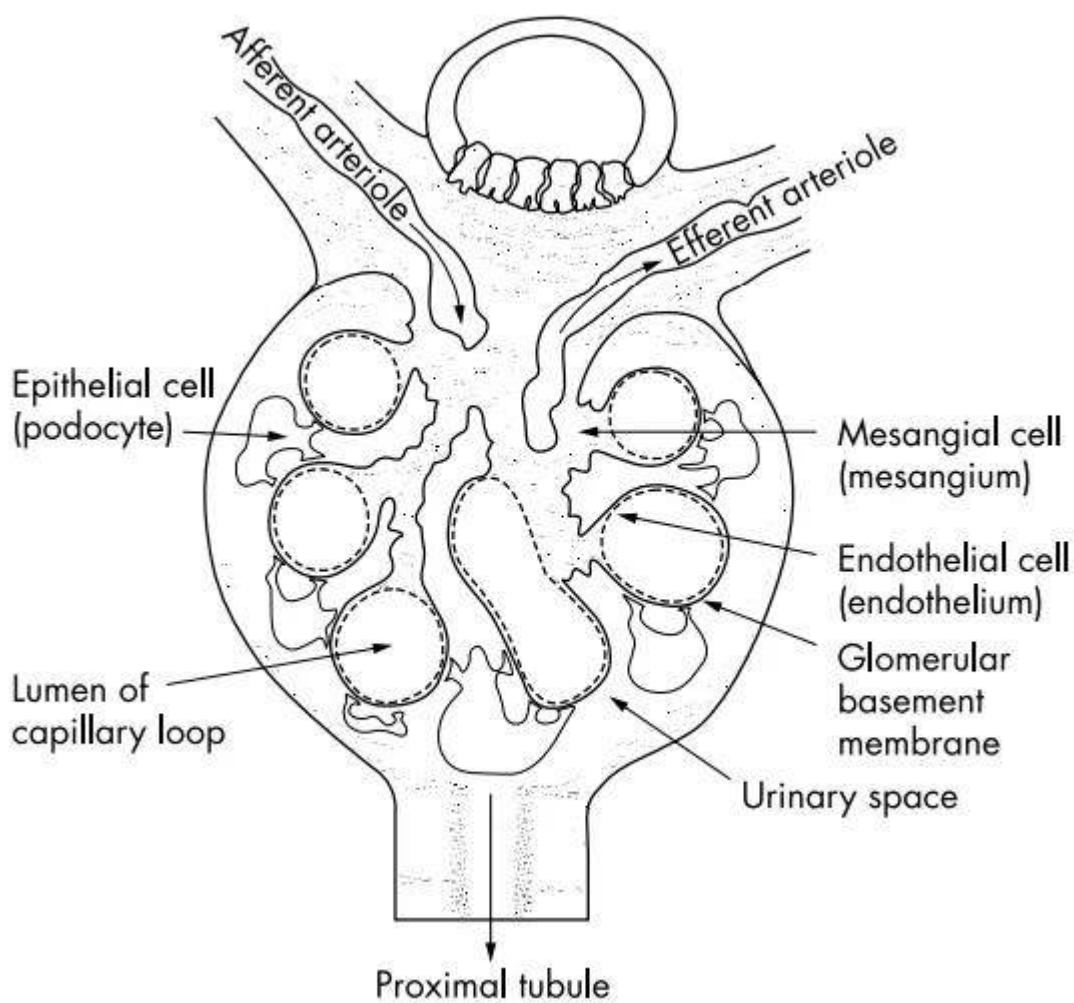


图3. 肾小球切面上不同细胞的位置

系膜细胞受损会影响肾小球的有效滤过面积，影响肾脏的血液过滤功能；系膜细胞异常增生往往是肾小球硬化的前奏；此外系膜细胞上表达有多种免疫受体，其异常还会导致肾脏容易患上各类感染性疾病。

内皮细胞

内皮细胞具有维持肾小球毛细血管结构完整的屏障功能，它是选择性滤过屏障功能的第一道防线（70~100nm），具有抗凝、抗血栓形成和调节肾小球血流动力学的作用，此外内皮细胞与系膜细胞一起参与基底膜的合成和修复。内皮细胞受损后，其抗凝活性下降，导致外凝血微血栓的形成；它的细胞表型也会发生改变，会释放一系列导致肾脏纤维化的细胞因子。

足细胞

足细胞是肾小球滤过屏障的一部分，相邻足细胞突起之间形成栅栏状的交叉，交叉之间的空隙称为裂孔，裂

孔直径较小（40nm），能阻隔大分子通过，起到机械屏障的作用；此外足细胞还能分泌带负电荷的唾液酸糖蛋白等物质，起到电荷屏障的作用。足细胞是肾脏最容易出现病变的细胞，足细胞受损会导致裂孔闭塞，电荷屏障功能障碍，导致膜性肾病；严重的还会出现足细胞纤维化，进而导致肾小球硬化。

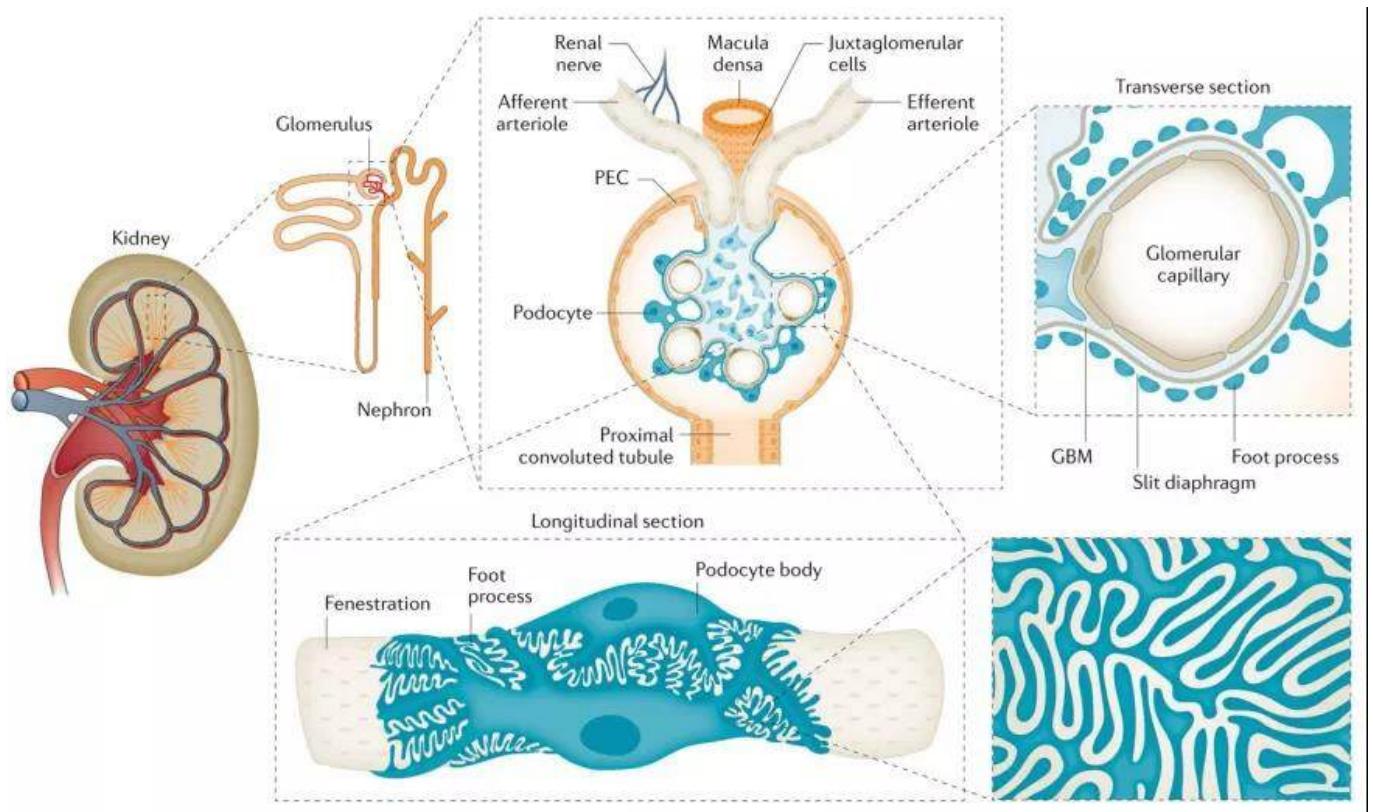


图4.足细胞位置及形态[3]

肾小管上皮细胞

肾小管上皮细胞的主要生理功能有对原尿进行重吸收和稀释，保持血液的电解质平衡和酸碱平衡等。肾小管上皮细胞受损后会导致夜尿增多，电解质紊乱，酸中毒等症状。

间质成纤维细胞

间质成纤维细胞具有维持肾脏正常结构的功能，它参与构成滤过屏障、同时还具有修复功能。间质成纤维细胞是促使肾脏发生纤维化的关键细胞，病理情况下间质成纤维细胞的异常增殖会产生大量细胞外基质，进而导致整个肾脏的纤维化。

其它细胞类型

过去对肾细胞的分类主要是根据其功能、解剖位置或少量标记基因，现在随着单细胞测序技术的成熟和广泛应用，肾脏单细胞测序的文章越来越多，鉴定出的细胞类型也越来越多。目前发现除了5类固有细胞外，肾脏中还有间充质细胞、单核细胞、肥大细胞等多种不同细胞。

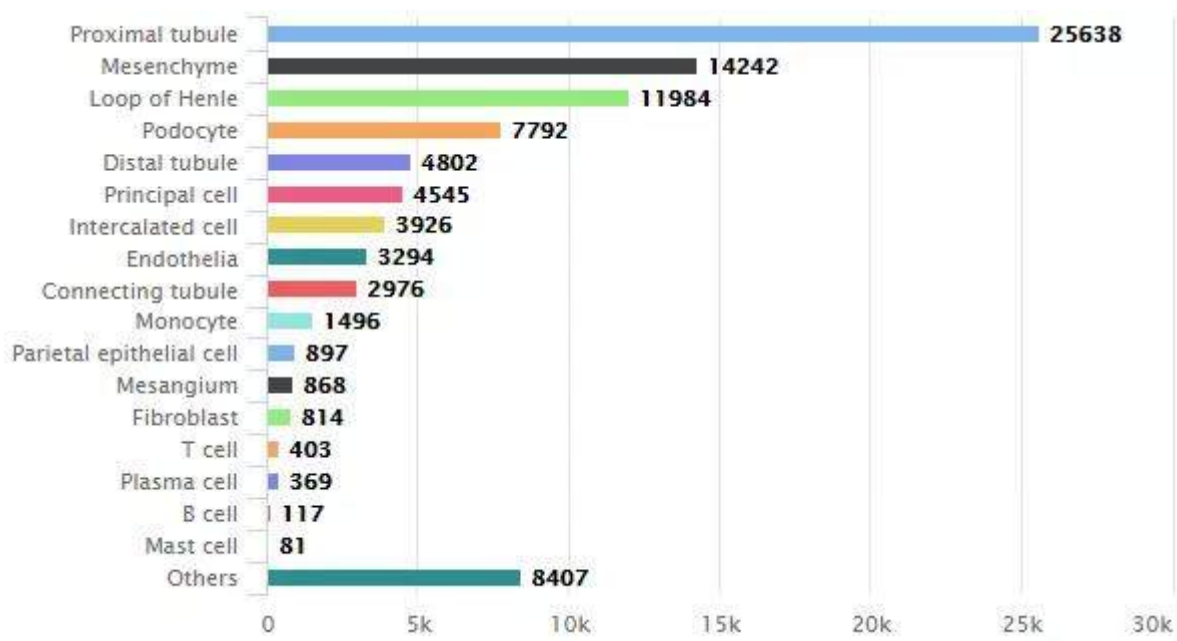


图5.肾脏细胞分型[4]

南模生物在小鼠泌尿系统（包含肾脏）特定细胞类群marker基因中敲入Cre重组酶元件或报告基因，研究者可以对每类细胞进行标记，还可以在特定细胞群里进行基因及细胞功能的研究。具体模型信息见下表：

南模编号	品系简称	表达细胞类型	状态
NM-KI-210003	Upk3a-2A-EGFP-Cre	膀胱上皮细胞、输尿管细胞	研发中
NM-KI-190037	Myh11-2A-DreERT2	平滑肌细胞	胚胎冻存
NM-KI-200127	Wt1-CreERT2	泌尿生殖系统和覆盖大多数内脏器官的间皮表达	活体
NM-KI-200128	Wt1-GFP-Cre	泌尿生殖系统和覆盖大多数内脏器官的间皮表达	活体
NM-KI-200171	Nkx3-1-IRES-iCre	前列腺细胞	活体
NM-KI-200071	Nkx3-1-IRES-CreERT2	前列腺细胞	活体
NM-KI-200024	S100a4-2A-CreERT2	前列腺、前胃、乳腺等组织间质成纤维细胞	活体
NM-KI-00128	Nphs2-CreERT2	肾小球足细胞	胚胎冻存
NM-KI-200151	Pax8-Cre	肾和甲状腺滤泡细胞	活体
NM-KI-200174	Meox1-Dre	肾 Six2 阳性间充质细胞	胚胎冻存
NM-KI-200212	Foxd1-EGFP-Cre	肾间质细胞	研发中
NM-KI-210103	Slc34a1-EGFP-IRES-CreERT2	近端肾小管上皮干细胞	研发中
NM-KI-210110	Slc34a1-CreERT2	近端肾小管上皮干细胞	研发中

肾脏疾病及常用研究模型

对于肾脏疾病，我们往往有2个认识上的误区。第一，虽然保健品厂家铺天盖地的宣传肾好性功能好，但实际上两者并无关联；第二，肾脏疾病的发病率其实很高，全球平均每十个人中就有一个慢性肾病患者，仅我国就有1亿多人。肾病已成为继心脑血管疾病、肿瘤、糖尿病之后，人类生命健康面临的主要威胁之一。下面小编为大家介绍几种常见的肾脏疾病和相应的研究模型。

IgA肾小球肾炎

免疫球蛋白A (IgA) 肾病是世界范围内最常见的原发性肾小球疾病，也是我国最常见的肾小球疾病，占原发性肾小球肾炎的30%-40%。IgA肾病可表现为各种临床综合征，包括无症状性血尿或蛋白尿、慢性肾小球肾炎、急进性肾炎或肾病综合征。IgA肾病的病理机制还未完全明确，目前被广泛接受的理论认为，IgA肾病是多种机制共同导致的，而非单一机制，被称为“多重打击假说”，此假说有4个环节：①异常糖基化IgA1，进而生成Gd-IgA1；②被循环系统中抗聚糖的自身抗体识别；③导致肾炎的免疫复合物沉积在系膜区；④激活系膜细胞。

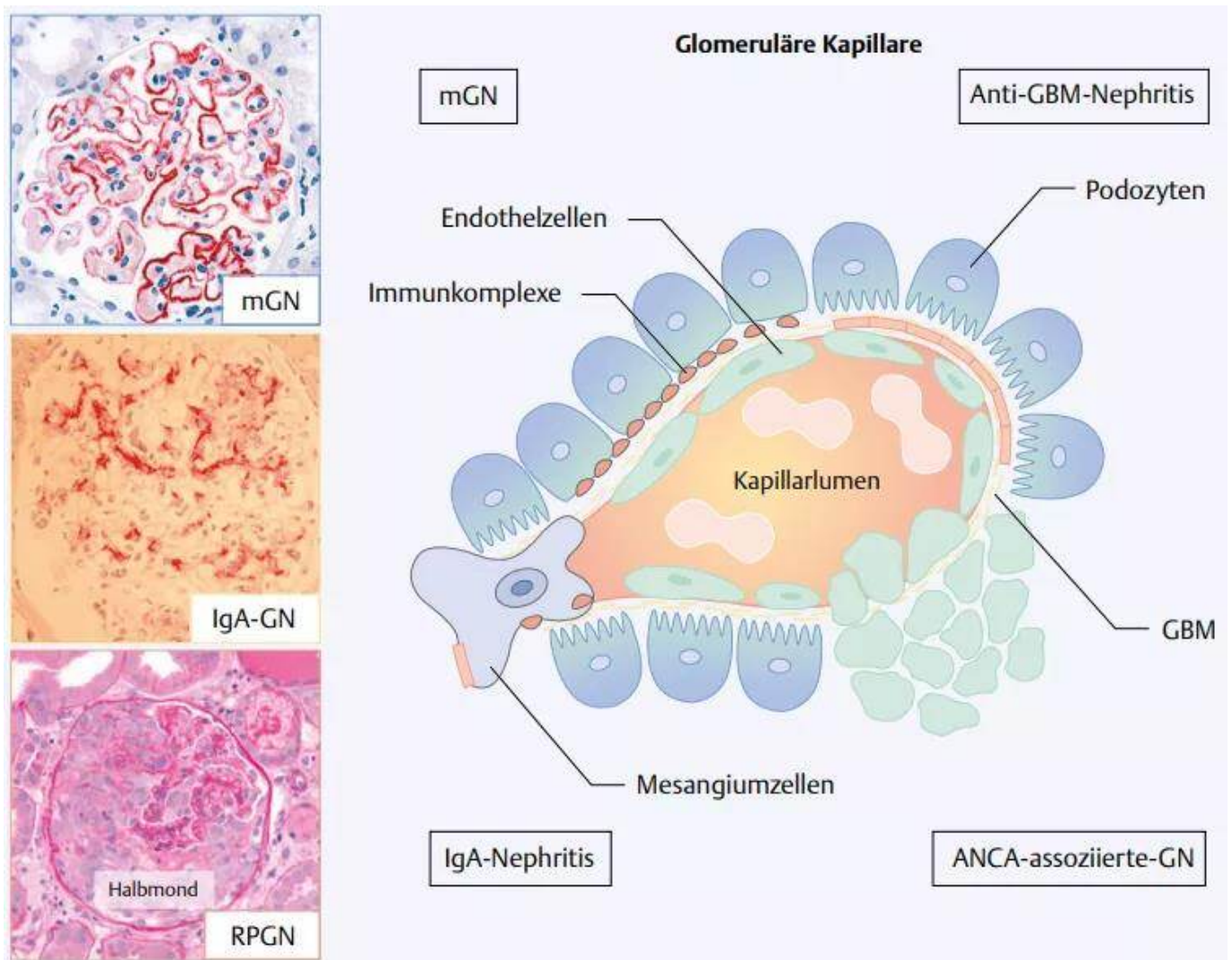


图6.肾小球肾炎发生示意图[5]

最近的研究表明，粘膜和补体免疫系统在IgA肾病中也发挥重要作用。例如，血尿的出现和粘膜免疫相关，而循环免疫复合物中常常可以发现补体，例如C3补体和补体因子H。

肾癌

肾癌，又称肾细胞癌（RCC），是泌尿系统最常见的肿瘤之一，在我国肾癌发病率仅次于膀胱癌，位居泌尿系统肿瘤第2位。肾癌有多种不同的类型，如肾透明细胞癌、乳头状肾细胞癌、肾嫌色细胞癌、多房囊性肾细胞癌等，其中肾透明细胞癌最常见，约占所有肾癌的90%。肾癌可分为四期，发现的越早预后越好，I期、II期肾癌的5年生存率分别可达95%和88%，而IV期肾癌的5年生存率仅有20%。

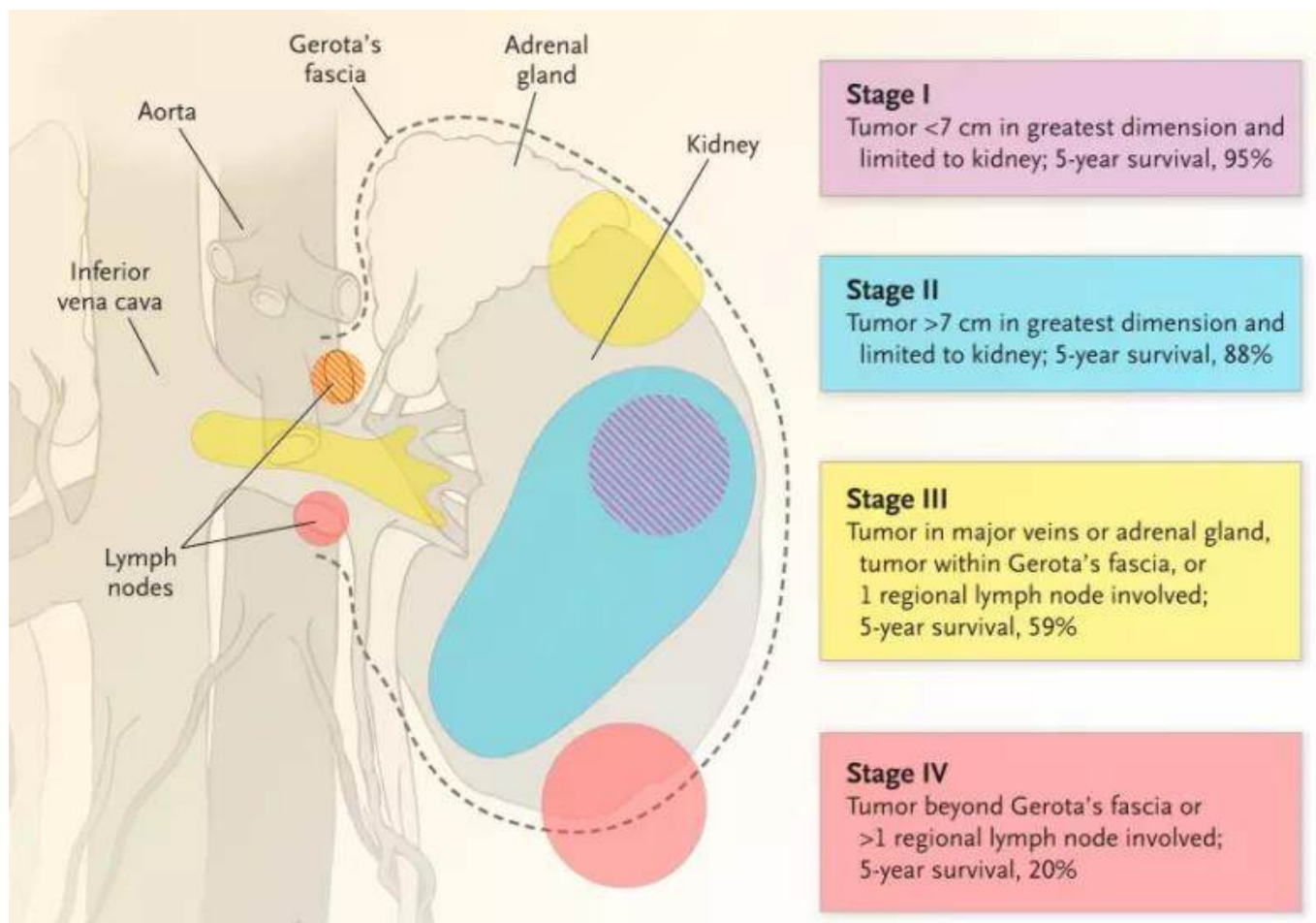


图7.肾肿瘤大小与生存率[6]

肾癌的发病与多个基因密切相关，如：

- VHL基因：其突变不仅与家族性的透明肾细胞癌（CCRCC）有关，而且70%以上的散发性CCRCC也带有VHL突变，是目前肾癌中突变率最高的肾肿瘤抑制基因。
- PBRM1基因：主要与CCRCC有关，在CCRCC中的突变率达40%，仅次于VHL基因。
- FLCN基因：该基因突变可引起Birt Hogg Dube综合征，该病患者全身多处会出现纤维毛囊肿，约有34%的BHD病人会发展成肾癌。

除上述主要突变基因外，还有FH、TSC1/TSC2、MET、SETD2、BAP1、JARID1c/KDM5C、UTX/KDM6A、NF2、MLL2、CUL7和BRTC等基因与肾癌发病存在一定的关联。

Zachary利用NF2-flox小鼠与Villin-Cre交配，获得了可以自发肾癌的小鼠模型[10]，其在15日龄时就可以观察到肾小管上皮的损伤，到3个月大时，会出现肾小管管内瘤变，到6个月时，肿瘤的大小和数量增加，可以穿透小管基底膜，进展为浸润性癌。

受到该研究启示，南模生物构建了NF2-flox小鼠，方便全球科学家进行自发肾癌模型构建，除此之外，还构建了肾癌发生相关基因VHL、PBRM1的敲除和条件性敲除小鼠模型，方便肾癌发生机理研究。详细的模型信息见文末表格表格。

囊性肾病

囊性肾病是指在肾脏出现单个或多个内含液体的良性囊肿性肾脏疾病，以单纯性肾囊肿最常见，其次为多囊肾。肾脏超声检查已成为基础的体检项目，而越来越多的人也被超声报告单上的左肾囊肿或右肾囊肿、甚至双肾囊肿这样的报告所困扰。实际上，单纯性肾囊肿是成年人肾脏最常见的一种结构异常，占有囊肿性肾脏疾病的70%左右，发病率随年龄增长而增多。如果没有症状，对肾脏功能和周围组织影响不大，单纯性肾囊肿一般是不需要治疗的，只要每半年到一年随诊就可以。

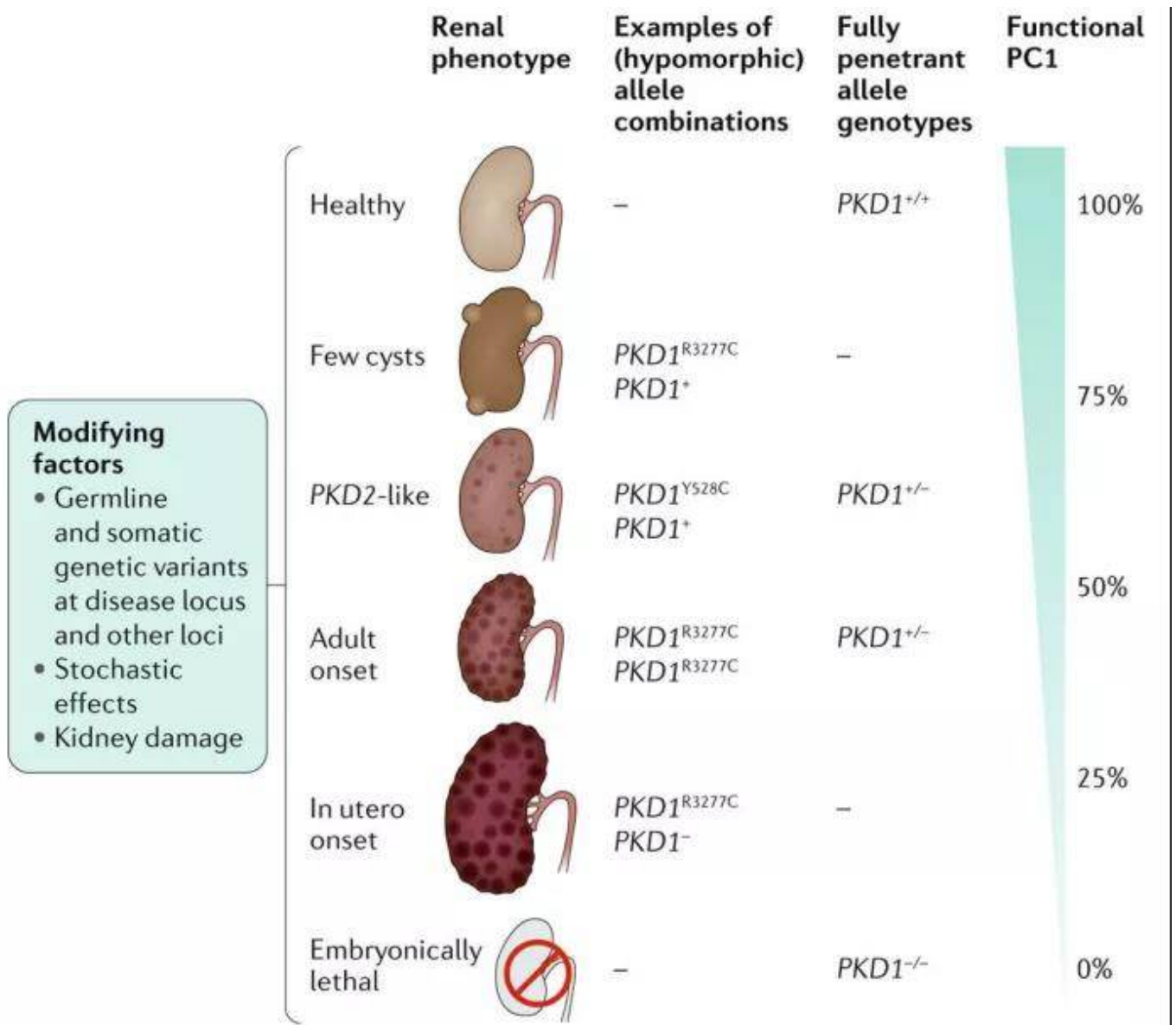


图8.PKD1突变与多囊肾的相关性[7]

多囊肾病 (PKD) 的危害则大得多，PKD是最常见的遗传性肾脏疾病，包括常染色体显性遗传性肾病 (ADPKD) 和常染色体隐性遗传性肾病 (ARPKD)。ADPKD具有遗传异质性，位于16号染色体上的PKD1基因 (见于85%的病例) 或位于4号染色体上的PKD2基因 (见于15%的病例) 突变与发病密切相关。PKD1和PKD2基因分别编码完整的膜蛋白多囊蛋白-1和多囊蛋白-2，两者结构相似，可发生相互作用。PKD1或PKD2的突变可导致信号失调，环磷酸腺苷水平升高，最终导致囊肿生成。

上世纪90年代末，Zhou J等通过同源重组将 Pkd1 截断突变引入小鼠，模拟 ADPKD 中发现的突变。Pkd1 敲除杂合子小鼠没有明显的表型，而纯合子在围产期死亡，伴有大量增大的肾囊肿、胰管囊肿和肺发育不良。肾囊肿的形成始于胚胎第 15.5 天 (E15.5) 在近端小管中，并迅速进展以取代整个肾实质。到出生后第8天，存活的纯合子小鼠肾实质几乎完全被囊肿取代[11]。受该研究启示，南模生物自主构建了PKD1敲除和条件性敲除的小鼠，可用于多囊肾病的研究，详细模型信息见文末表格。

局灶性肾小球硬化症

局灶节段性肾小球硬化 (FSGS) 并不是特定的疾病，而是一种病理改变。它既可以描述以原发性足细胞损伤为特征的疾病，也可以描述其它类型慢性肾脏疾病 (CKD) 中的继发病变。FSGS 主要分为原发性、继发性和遗传性三类。其中原发性是由肾脏本身的病变导致；继发性则是指有明确的病因，包括病毒 (HIV)、药物和毒素 (锂中毒)、肾组织减少 (孤立肾)、肾缺血缺氧 (高血压肾损害、肾动脉狭窄)、重度肥胖等。

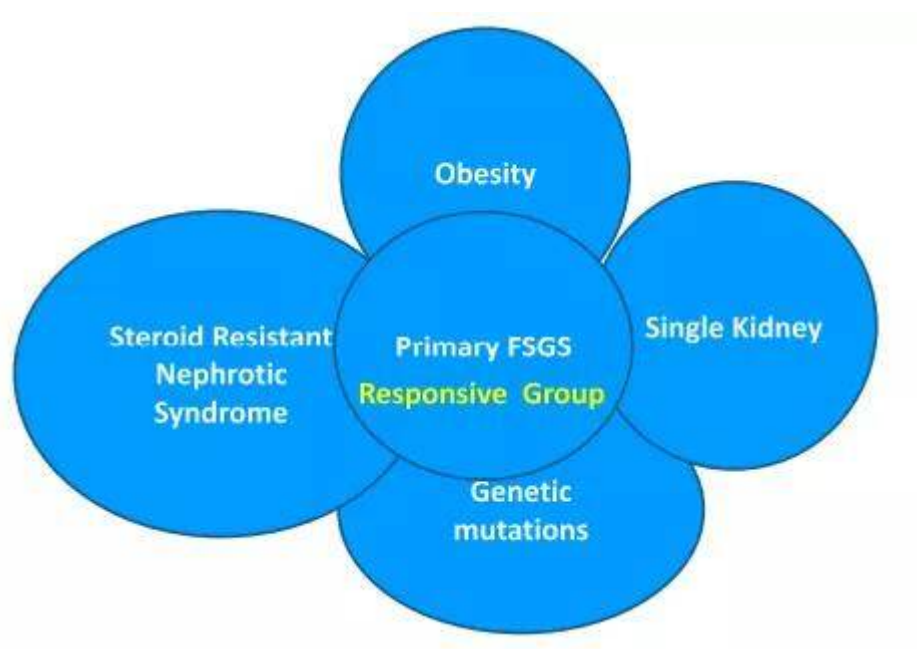


图9.FSGS的常见诱因[8]

引起FSGS的致病基因包括 NPHS1/2、CD2AP、MYO1E、MYO9A等，这些基因突变引起的 FSGS 具有常染色体隐性遗传的特点，患者常于儿童时期发病。a-actinin-4、TRPC6 和 INF2 的突变则表现为常染色体显性遗传，患者多于成人期发病，一般无明显的肾病综合征表现。

Indra R Gupta 和Alda Tufro分别构建了Cd2ap和Myo9a敲除的小鼠，发现这些小鼠会出现肾脏发育异常、蛋白尿、肾小管萎缩等FSGS疾病的症状[12,13]。受此启发，南模生物自主构建了Cd2ap和Myo9a的敲除小鼠模型，可用于FSGS的研究，详细模型信息见文末表格。

南模生物肾病研究相关动物模型

南模生物自主构建了多种基因修饰小鼠，可用于IgA肾小球肾炎、肾癌、囊性肾等多种肾脏疾病的研究和药物筛选。详细模型信息见下表：

基因	货号	简称	用途	状态
Pkd1	NM-CKO-200058	Pkd1-Flox	多囊肾病研究	胚胎冻存
Pkd1	NM-KO-200652	Pkd1-KO	多囊肾病造模	胚胎冻存
Nf2	NM-CKO-200017	Nf2-Flox	肾癌造模	活体
Pbrm1	NM-CKO-200124	Pbrm1-Flox	肾癌等肿瘤研究	活体
Vhl	NM-CKO-200016	Vhl-Flox	肾癌等肿瘤研究	活体
Vhl	NM-KO-200625	Vhl-KO	VHL综合征研究	胚胎冻存
Nphs2	NM-KI-200277	Nphs2-R231Q	蛋白尿研究研究、遗传性肾小球疾病研究	活体
Nphs2	NM-KI-200278	Nphs2-A286V	蛋白尿研究研究、遗传性肾小球疾病研究	活体
Agtr1a	NM-KO-190909	Agtr1a-KO	高肾素血症研究	活体
Clic5	NM-KO-190939	Clic5-KO	肾小球缺陷研究	胚胎冻存
Parp1	NM-KO-190848	Parp1-KO	肾缺血性损伤研究	胚胎冻存
Cth	NM-KI-00004	Cth-Luc	胱硫醚尿症研究	胚胎冻存
Cd2ap	NM-KO-202027	Cd2ap-KO	局灶性肾小球硬化症造模	研发中
Myo9a	NM-KO-201017	Myo9a-KO	局灶性肾小球硬化症造模	研发中

南模生物深耕基因编辑领域，提供全方位模式生物服务，包括基因修饰成品模型供应、个性化模型定制、饲养繁育、表型分析、药效评价等，满足不同实验室需求。

Reference:

[1]系统解剖学第八版. 柏树令 应大君

[2]Science. 2018 August 10; 361(6402): 594-599.

[3]Nat Rev Dis Primers. ; 6(1): 68. doi:10.1038/s41572-020-0196-7.

[4]<http://humphreyslab.com/SingleCell/>

[5]Stahl, Rolf; Hoxha, Elion (2016). Glomerulonephritis. DMW - Deutsche Medizinische

Wochenschrift, 141(13), 960–968. doi:10.1055/s-0042-107410

[6]Cohen, Herbert T.; McGovern, Francis J. (2005). Renal-Cell Carcinoma. *New England Journal of Medicine*, 353(23), 2477–2490. doi:10.1056/NEJMra043172

[7]Nat Rev Dis Primers . 2018 Dec 6;4(1):50. doi: 10.1038/s41572-018-0047-y. Polycystic kidney disease

[8]Bose, B.; Cattran, D. (2014). Glomerular Diseases: FSGS. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 9(3), 626–632. doi:10.2215/CJN.05810513

[9]Launay P , Grossetete B , Arcos-Fajardo M , et al. Fcα Receptor (Cd89) Mediates the Development of Immunoglobulin a (Iga) Nephropathy (Berger's Disease)[J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2000, 191(11):1999-2010.

[10]Morris Z S , Mcclatchey A I . Aberrant epithelial morphology and persistent epidermal growth factor receptor signaling in a mouse model of renal carcinoma[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(24):9767-9772.

[11]Nat Genet. 1997 Oct;17(2):179-81.doi: 10.1038/ng1097-179.Perinatal lethality with kidney and pancreas defects in mice with a targeted Pkd1 mutation

[12] Case Reports *Kidney Int* . 2019 Jan;95(1):57-61. doi: 10.1016/j.kint.2018.08.014. Epub 2018 Oct 26. Recessive mutation in CD2AP causes focal segmental glomerulosclerosis in humans and mice

[13] *Kidney Int* . 2021 May;99(5):1102-1117. doi: 10.1016/j.kint.2020.12.022. Epub 2021 Jan 4. Rho-GTPase Activating Protein myosin MYO9A identified as a novel candidate gene for monogenic focal segmental glomerulosclerosis