



## 肾脏风湿病学组

### 血管紧张素 II 对足细胞葡萄糖转运蛋白 1 的表达及膜转位的影响

张瑶 于生友 陆玮 于力

广州市第一人民医院

#### 【摘要】

**目的:**观察血管紧张素 II (AngII) 对体外培养的小鼠足细胞葡萄糖转运蛋白 1 (GLUT1) 的表达及膜转位的影响。

**方法:**AngII 对 GLUT 1mRNA 和 GLUT1 蛋白表达的检测将体外培养的足细胞, 分为 4 组: 对照组 (C)、低剂量组 (AngII 10<sup>-6</sup>mol/L)、中剂量组 (AngII 10<sup>-8</sup>mol/L) 及高剂量组 (AngII 10<sup>-10</sup>mol/L), 用 RT-PCR 和 Western blot 检测 GLUT1 mRNA 和 GLUT1 蛋白的表达; AngII 对 GLUT1 足细胞胞膜分布检测也将足细胞, 分为 4 组: 胰岛素 (Ins) 10<sup>-6</sup>mol/L 组、AngII 10<sup>-10</sup>mol/L + Ins 10<sup>-6</sup>mol/L 组及氯沙坦 (LO) 10<sup>-6</sup>mol/L + AngII 10<sup>-10</sup>mol/L + Ins 10<sup>-6</sup>mol/L 组, Western blot 检测 GLUT1 在胞膜的蛋白表达及间接免疫荧光观察 GLUT1 在胞膜的分布。

**结果:**mRNA 与蛋白表达分组中, 与对照组相比, AngII 低、中、高浓度 3 组 GLUT1 mRNA 水平分别增加了 5.89%、21.46%、30.95% (P 皆 < 0.01), 各组之间差别亦有统计学意义 (P < 0.01); 蛋白表达水平分别增加了 8.40%、11.79%、20.57% (P 皆 < 0.01), 各组之间差别亦有统计学意义 (P < 0.01) Spearman 相关分析显示 AngII 浓度与 GLUT1 蛋白表达呈正相关 (r = 0.934, P < 0.001)。足细胞胞膜分布检测中, 与对照组相比, 足细胞胞膜 GLUT1 蛋白表达 Ins 10<sup>-6</sup>mol/L 组增加了 16.33% (P < 0.01)、AngII 10<sup>-10</sup>mol/L + Ins 10<sup>-6</sup>mol/L 组增加了 3.27% (P > 0.05), LO 10<sup>-6</sup>mol/L + AngII 10<sup>-10</sup>mol/L + Ins 10<sup>-6</sup>mol/L 组增加了 11.33% (P < 0.01); 免疫荧光显示 Ins 组 GLUT1 在胞膜上的分布明显多于对照组及 AngII + Ins 组, 而 LO 干预后, 胞膜的荧光强度增加。

**结论:**AngII 能剂量依赖性地增加足细胞胞内 GLUT1 的表达及合成; AngII 能够阻碍胰岛素诱发的 GLUT1 向足细胞胞膜的膜转位, 氯沙坦可部分阻断 AngII 的作用。



## 利用诱导多能干细胞衍生的足细胞作为评估鳃-耳-肾综合征患 儿肾脏疾病表型机制的模型

李冠雨 卢迪 刘明 高霞

广州市妇女儿童医疗中心

### 【摘要】

**背景及目的：**鳃-耳-肾综合征是为主要特征的罕见病，其发生肾损伤机制不明。近期我们建立了一个来自鳃-耳-肾综合征家系的多能诱导干细胞株（hiPSC），拟通过本研究诱导分化足细胞后进一步探讨可能的细胞活动力，骨架结构改变，进而分析相关信号通路。

**方法：**完善鳃-耳-肾综合征患儿及家系成员的临床资料，并绘制系谱图。利用先证者和健康对照的外周血单个核细胞诱导的 hiPSC，使用多种细胞因子分别体外诱导分化患者和野生型足细胞；使用嘌呤霉素造模，划痕实验观察各组足细胞活动力，免疫荧光染色检测骨架重排情况；RNA-Seq 筛选各组细胞的差异表达基因，功能验证。

**结果：**该家系包括 2 代 4 人，其中 3 人具有鳃-耳-肾综合征相关症状，系谱分析符合常染色体显性遗传特征。3 人均有鳃裂瘻、耳前瘻管、听力及肾功能下降，1 人双耳廓畸形，先证者左侧孤立肾。候选致病基因筛查均检测到一个新的突变位点 EYA1 c. 1050+5G>A。足细胞固有分子检测及形态学观察证实本研究由 hiPSC 诱导的细胞具备典型足细胞特征。与对照健康者 hiPSC 来源的足细胞相比较，无论是否给予嘌呤霉素处理，先证者体外诱导的足细胞迁移能力均显著增强，且不能被激素干预后改善。骨架重排的结果与活动力实验的数据趋势一致。RNA-Seq 筛选发现，先证者的 CDH1 基因表达显著下调，该基因是维持细胞粘附和粘附连接的重要信号分子，进一步的 PCR 数据证实了转录组的数据。。

**结论：**足细胞骨架重排导致的细胞活动力升高是鳃-耳-肾综合征患者发生蛋白尿的分子基础，与细胞粘附相关的 CDH1 基因是骨架重排发生的信号分子。





## 潮汕地区儿童继发性肾小球疾病病理类型的变迁

### 对比及临床分析

陈程

汕头大学医学院第二附属医院

#### 【摘要】

**目的:**回顾性分析潮汕地区近 12 年儿童继发性肾小球疾病疾病谱的构成演变特点及其意义。

**方法:**分别收集 2010 年 1 月至 2022 年 5 月于汕头大学第二附属医院儿童医院经临床及肾活检诊断为继发性肾小球疾病 82 例患者的临床及病理资料，并对其进行对比分析，根据年份分为 2010 年至 2014 年、2015 年至 2018 年、2019 年至 2022 年三组，进而分析病理类型疾病谱的变化趋势。

**结果:**82 例病例中，男女比为 1:1.93，女性多于男性；年龄为  $8.9 \pm 2.9$  岁，表明好发于学龄期儿童；以紫癜性肾炎 (HSPN) 最为常见，占比为 60.98%，2010 年至 2018 年，HSPN 发病率由 66.67% 上升至 85.71%，然而发病率近年来呈降低趋势，自 2019 年至 2022 年，由 85.71% 降低至 63.64%，但仍是儿童继发性肾小球疾病中最主要的病理类型；狼疮性肾炎 (LN) 位居第二，占比约 37.80%，发病率近年来呈升高趋势，自 2019 年至 2022 年，由 14.29% 上升至 36.36%。在 HSPN 患儿病理类型中，II 型（包括 IIa 及 IIb）所占比例最高（55.0%），其次为 III 型（包括 IIIa 及 IIIb，占 26.67%），最后为 I 型（占 18.33%），三组时间段的 HSPN 病理类型的对比差异均存在统计学意义（ $P < 0.05$ ），且自 2019 年至 2022 年，III 型发病率呈上升趋势（16.67%-42.86%）。在 LN 患儿病理类型中，II 型所占比例最高（36.36%），其次分别为 IV 型（31.82%）、III 型（22.73%）、V 型（4.55%），且 2019 年后，IV 型及 V 型发病率有增加趋势。

**结论:**潮汕地区儿童继发性肾小球疾病以 HSPN 最常见，其次为 LN，均以 II 型发病率最高；LN 发病率近年来呈升高趋势，且 HSPN 及 LN 两者病理类型存在往严重程度发展趋势。

**关键词:**继发性肾小球疾病；HSPN；LN；病理类型；流行病学



## 单细胞核 RNA 测序剖析 I 型肾单位肾痹肾囊肿细胞分子特征

王乾英 魏晓亚 庞昌苗 邹宝娟 孙良忠  
南方医科大学南方医院

### 【摘要】

**背景:**肾单位肾痹 (Nephronophthisis, NPHP) 是一种常染色体隐性囊性肾病, 是引起儿童和青少年终末期肾病 (End stage renal disease, ESRD) 最重要的遗传性疾病。目前已发现超过 20 个基因的突变, 编码肾囊藻毒素-1 (Nephrocystin-1) 的 NPHP1 基因的缺失是 NPHP 最常见的临床类型。皮髓质交界区肾囊肿形成是 NPHP1 的特征性病理改变之一。研究认为致病基因缺陷导致初级纤毛相关信号途径异常和细胞增殖凋亡异常等与肾囊肿的形成相关, 但 NPHP 肾囊肿形成机制仍未十分清楚。具有克隆增生性状的囊肿上皮细胞是肾囊肿形成的关键, 因此分离鉴定囊肿细胞亚群是阐明 NPHP1 肾囊肿发生机制的首要任务。

**方法:**用本课题组前期成功构建的 NPHP1 (Nphp1del2-20/de12-20) 小鼠和野生型 (Nphp1+/+) 小鼠 (12 周龄) 肾脏提取细胞核进行单核 RNA 测序 (Single nucleus RNA sequencing, snRNA-seq), 构建 NPHP1 肾脏细胞图谱。

**结果:**通过对 Nphp1del2-20/de12-20 小鼠和野生型小鼠肾脏进行 snRNA-seq, 我们成功绘制了 NPHP1 小鼠肾脏细胞图谱, 包括 14 种基本的肾脏细胞类型, 分别是近端小管细胞、内皮细胞、亨氏环升支粗段细胞、远曲小管细胞、间质细胞、集合管主细胞、集合管闰细胞 (A 型和 B 型)、巨噬细胞、足细胞、亨氏环降支细段细胞、亨氏环升支细段细胞、T 淋巴细胞和肾髓质细胞。还发现远曲小管细胞中存在一组特殊的肾囊肿细胞相关亚群 (DCT3), DCT3 在 NPHP1 小鼠肾脏中占有更高比例 (2.517% vs 1.683%, ko%/wt% = 1.49), 通过功能富集分析发现该亚群与肾小管发育和肾脏形态发生相关的基因明显下调。重建该细胞群的分化轨迹, 发现 Nphp1del2-20/de12-20 小鼠有一组特定细胞停留在细胞分化的较初始状态。通过对该组细胞与其余 DCT3 亚群细胞及正常远曲小管细胞的差异基因分析, 初步筛选到基因 Fam129a、Prr51、Hdac9 和 Kcnc2 的 mRNA 水平在囊肿细胞中有明显上调而在其他细胞群中明显低表达或不表达。通过验证, 只有基因 Fam129a 的 mRNA 和蛋白水平均在该细胞群中特异性表达, 我们最终选定 Fam129a 作为该细胞群的分子标志物, 免疫组化和免疫荧光在 NPHP1 小鼠和病人的肾脏样本上证实该细胞群为 NPHP1 肾囊肿细胞, 且在 NPHP1 小鼠上证实囊肿细胞的增殖及凋亡活性均增强。

**结论:**本研究成功地绘制了 NPHP1 肾脏细胞类型图谱, 同时确定了 NPHP1 肾囊肿细胞亚群及其潜在的转录调控因子, 为进一步探索 NPHP1 肾囊肿形成的分子机制和该疾病的治疗提供了宝贵的资源。





## 单中心儿童 Alport 综合征基因型与临床表型特点分析

贾实磊 高晓洁 马颐姣 叶国常 刘俐兵 倪芬芬  
深圳市儿童医院

### 【摘要】

**目的：**了解儿童 Alport 综合征 (Alport syndrome AS) 基因型与临床表型的特点。

**方法：**收集深圳市儿童医院肾脏科 2017 年 10 月至 2021 年 4 月的 25 例 AS 患儿的临床及实验室资料、肾活检、基因检测结果等资料，回顾性分析其基因型及临床表型的特点。

**结果：**1、本组资料中 XLAS 21 例 (占比 84.0%)，ARAS 4 例 (占比 16.0%)。2、25 例以血尿为首发表现，0 例有听力损害，0 例有眼部病变，5 例有肾功能损害。家族史阳性者 15 例，其中家族史阳性且家系中有肾衰竭患者 7 例 (占比 46.7%)。8 例行肾活检，7 例表现为基底膜广泛变薄、撕裂等 AS 典型病理表现，诊断率 23.5%；肾活检免疫荧光检测，4 例有  $\alpha 3$ 、 $\alpha 5$  链表达缺失，余 4 例  $\alpha 3$ 、 $\alpha 5$  链表达均阳性。3、本文中 25 例患儿分别来自 24 个家系，对其进行遗传性肾炎基因型 COL4A5、COL4A4 及 COL4A3 基因突变检测，COL4A5 基因突变 21 例 (84.0%)，COL4A4 基因突变 4 例 (16.0%)，COL4A3 基因突变 0 例 (0%)。共发现 27 个突变位点，其中错义突变 14 个，剪切突变 6 个，终止突变 3 个，移码突变 2 个，整码突变 2 个，其中 14 个突变为新位点：COL4A5 基因突变有 8 个，COL4A4 基因突变 6 个。其中 23 个家系完成父母验证，COL4A5 基因中有 10 个突变位点遗传自母亲，2 个突变位点遗传自父亲，7 例为新生突变；COL4A4 基因 8 个突变，均分别来自父母。

**结论：**1、Alport 综合征主要以 XLAS 为主，患儿起病年龄小，血尿是最常见临床表型，可伴或不伴蛋白尿，本组病例肾外表现罕见，需长期监测眼底及听力异常改变。Alport 综合征多有阳性家族史，XLAS 致病性突变以甘氨酸错义突变为主 (14/21，占比 66.7%)，若突变影响氨基酸电荷变化，则对蛋白质功能影响较大，临床表型相对较重。Alport 综合征患儿肾脏病理表现多为轻微病变，电镜表现常不典型，漏诊率高，基因检测是 Alport 综合征诊断的重要手段。发现 14 个突变新位点，补充了人类 Alport 综合征基因突变数据库，对遗传咨询及产前诊断意义重大。



## 临床高精度全外显子测序发现 X 染色体 5.4-kb 微缺失导致肾性尿崩症家系 1 例

谢明玉 曾海生 邹贤 陈玉梅 陈婉婷  
东莞市儿童医院

### 【摘要】

**目的:** 介绍一例新发 X 染色体微缺失导致肾性尿崩症 1 例, 增加 X 染色体微缺失疾病谱和临床诊治经验。

**方法:** 从外周血全血中提取该家族的基因组 DNA。用 Q800R Sonicator 对该家族的基因组 DNA 进行片段化, 得到 300-500 bp 的片段。先证者 DNA 样本在 Nexseq500 测序仪上进行索引和测序。根据先证者的测序结果, 对先证者父母和叔叔的 DNA 进行 Sanger 测序验证。

**结果:** 先正者为 13 月大男性患儿, 因“呕吐、体重不增 4 月”入院。患儿 9 月大添加辅食后, 容易出现干呕/呕吐症状, 平素喜饮、多尿, 13 月大体重仅有 8.1kg, 身高 74cm。入院查电解质提示血钠 156mmol/L, 血氯 123mmol/L, 血钾 3.9mmol/L, 24h 尿量约 3.6L/m<sup>2</sup>, 尿 PH5.0, 尿比重 1.005。肾功能提示尿酸 523umol/L, 余血常规、血气、肝肾功能、24 羟维生素 D、甲状腺功能结果在正常范围之内。盖泽儿测试提示小儿适应能力相当于 48 周水平, 大运动及语言功能区发育落后; 智力水平在正常范围之内。垂体 MR 提示神经垂体 T1WI 高信号消失。由于患儿年龄较小, 我们无法进行进水-加压实验, 对患儿进行实验性治疗, 服用加压素后, 尿量、尿比重无明显变化。随后我们对先正者进行全外显子测序, 发现先正者 X 染色体有一段约 5.4kb 微缺失, 其中包含 AVPR2 和部分 ARHGAP4 基因。对其父母及姐姐进行验证, 发现其母亲及姐姐携带同样缺失片段。目前患儿服用氢氯噻嗪+吲哚美辛+螺内酯后, 每日记录出入量, 维持出入平衡, 血钠可维持在 134-140mmol/L, 尿量约 2.1L/m<sup>2</sup>, 尿酸降至正常。随访半年, 未再出现呕吐、干呕表现, 胃纳好转, 患儿体重增长至 10.2kg。

**结论:** 我们在一个家系中发现了一个新的 5.4 kb 的缺失导致 x-连锁肾性尿崩症, 这将增加目前对 AVPR2 及 ARHGAP4 突变的认识。





## 女童无间隙滴尿临床特征 —— 附阴道排尿 1 例报道

刘玉玲 孙智才 钟陈 潘晓芬 李小琳 张家德  
中山市博爱医院

### 【摘要】

**目的：**通过对 1 例无间隙滴尿女性患儿临床资料总结分析并进行相关文献复习，以提高对该病的认识和重视。

**方法：**回顾 1 例无间隙滴尿患者的临床特征、影像学检查和膀胱镜结果，对以上资料进行分析并复习文献，归纳总结该病临床特征。

**结果：**患者是 6 岁 3 个月女童，自婴儿期出现反复外阴皮肤潮湿红疹，多次就诊按湿疹治疗无好转，直至 2 岁左右家长发现患儿有持续漏尿渗尿情况，多次各级医院就诊按尿道炎处理无好转，4 岁泌尿系超声和 CTU 提示：双肾盂分离、双输尿管扩张、右上尿路引流欠畅、右肾灌注欠佳，肝门囊性包块，未予特殊治疗。本次就诊本院体格检查：外阴大小阴唇发育正常，前庭部仅见一个腔道开口，外观稍粗，可见尿液自此持续渗出，按压下腹部尿流量增加，会阴部皮肤及左侧大腿内侧皮肤潮湿发红；超声：左右肾盂分离并双输尿管下段扩张，膀胱容量 49ml，胆囊发育异常；排泄性尿路造影正常；CTU 检查：左肾长径较右肾长，呈双肾盂单输尿管征像，左输尿管下段扩张增粗，远端分别开口于膀胱左后壁和阴道，右输尿管下段扩张增粗，未见与膀胱相通（图）；膀胱镜：前庭见粗大尿生殖窦开口，由此入镜膀胱三角区未见输尿管嵴，粗大膀胱颈口右下方见一输尿管异位开口，左下方凹陷隔膜与阴道相通。诊断：①无间隙漏尿；②泌尿生殖窦畸形（左肾不完全型重复肾，异位输尿管开口，先天性肾积水，输尿管远端狭窄，女性生殖器先天性畸形，尿道与阴道共一个泄殖腔）③胆囊囊肿。拟择期手术治疗。根据以上临床资料，复习总结相关文献。

**结论：**①婴儿期反复尿布疹者一定要甄别排除排尿异常所致；②对儿童尿失禁需要仔细问诊和会阴部体检，初步区分经正常尿道抑或异常通道的尿淋漓。对于起病时间早、尿淋漓同时又正常分次排尿的女童要仔细查看外阴尿道口，按压腹部尿液流出应怀疑输尿管异位开口；③对于输尿管异位开口者需要多项影像学检查尤其 CTU 成像，并结合膀胱镜检查理清泌尿生殖道发育解剖结构，同时对于泄殖腔畸形者尚需注意消化道的畸形情况。通过关注以上特征尽早确诊、避免误诊漏诊，正确干预。

**关键词：**无间隙滴尿；临床特征；女童



## Smad3 在叶酸诱导急性肾损伤小鼠模型中的作用及机制研究

庄宏杰 林知朗 曾舒涵 李锦华 蒋小云

中山大学附属第一医院

### 【摘要】

**目的：**观察 Smad3 和 MAPK 信号通路（JNK、ERK、p38 MAPK）在叶酸诱导急性肾损伤（FA-AKI）小鼠模型中的作用，探讨相关 MAPK 抑制剂在 Smad3 基因敲除（Smad3<sup>-/-</sup>）小鼠 FA-AKI 中的作用。

**方法：**构建 Smad3<sup>-/-</sup>小鼠及野生型（Smad3<sup>+/+</sup>）小鼠，注射大剂量叶酸（FA）构建叶酸诱导急性肾损伤（FA-AKI）小鼠模型。8~12 周龄雄性 Smad3<sup>+/+</sup>小鼠、Smad3<sup>-/-</sup>小鼠各 28 只，分别随机等分为 4 组，对照组注射不含 FA 的 NaHCO<sub>3</sub>，48h 处死小鼠；实验组注射 250mg/kg FA，分别于 0.5h、2h、48h 处死小鼠，观察 Smad3 及 MAPK 的作用；进一步使用 JNK 抑制剂 SP600125 或等量 DMSO 在注射 FA 前 0.5h 处理 Smad3<sup>-/-</sup>小鼠，48h 后处死，观察 JNK 抑制剂的作用。处死小鼠后收集血清及肾组织标本，全自动生化分析仪检测血肌酐水平，ELISA 检测血清胱抑素 C 水平，PAS 染色观察肾组织病理并行小管损伤评分，RT-qPCR 检测肾组织 Kim-1 mRNA 水平，ELISA 检测肾组织 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  水平，免疫印迹及免疫荧光检测肾组织 p-JNK1/2、p-ERK1/2 及 p-p38 MAPK 水平。

### 结果：1. 成功构建 FA-AKI 小鼠模型

野生型小鼠注射大剂量 FA 后逐渐出现食欲减退、活动减少，48h 后血清胱抑素 C 水平、血肌酐水平均比对照组高（均  $P < 0.0001$ ）。PAS 染色光镜下可见小鼠肾小管出现广泛破坏，表现为小管扩张，刷状缘脱落，上皮坏死，部分管腔内可见细胞碎片或管型，伴间质水肿，未见明显肾小球病变，提示模型构建成功。

### 2. 敲除 Smad3 基因加重小鼠 FA-AKI

造模 48h 后各组血肌酐、胱抑素 C 水平及肾组织 Kim-1 mRNA 水平均升高，且 Smad3<sup>-/-</sup>小鼠水平更高（ $P < 0.0001$ ）。肾组织病理结果示 Smad3<sup>-/-</sup>小鼠肾小管破坏程度更重，小管扩张、上皮细胞坏死、管型形成和间质水肿范围更广，肾小管损伤评分更高（ $P < 0.01$ ）。





### 3. Smad3<sup>-/-</sup>小鼠肾组织 TNF- $\alpha$ 和 IL-1 $\beta$ 表达上调早于 Smad3<sup>+/+</sup>小鼠

Smad3<sup>-/-</sup>小鼠未注射 FA 时肾组织 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  水平更高，注射 0.5h 后表达迅速增加，而 Smad3<sup>+/+</sup>小鼠注射 2h 后表达才增加，提示 Smad3<sup>-/-</sup>小鼠炎症因子 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  水平更高，并在注射 FA 后迅速上调。

### 4. Smad3<sup>-/-</sup>小鼠肾组织 JNK 信号通路的激活早于 ERK 和 p38 MAPK

Smad3<sup>+/+</sup>小鼠肾组织 p-JNK1/2、p-ERK1/2 及 p-p38 MAPK 水平在注射 FA 2h 时上调，而 Smad3<sup>-/-</sup>小鼠肾组织基线 p-JNK1/2 水平比 Smad3<sup>+/+</sup>小鼠高，注射 0.5h 时进一步升高 ( $P < 0.001$ )，p-ERK1/2 及 p-p38 MAPK 水平在注射 FA 2h 时才升高，提示 Smad3<sup>-/-</sup>小鼠 JNK 磷酸化时间早于 Smad3<sup>+/+</sup>小鼠，且早于 ERK 和 p38 MAPK，在造模 48h 时 Smad3<sup>-/-</sup>小鼠 JNK 磷酸化水平仍高于 Smad3<sup>+/+</sup>小鼠。

### 5. JNK 抑制剂减轻 Smad3<sup>-/-</sup>小鼠 FA-AKI 程度

SP600125 预处理后，Smad3<sup>-/-</sup>小鼠肾组织 JNK 磷酸化水平降低，血肌酐、胱抑素 C 水平、肾组织 Kim-1 mRNA 和 TNF- $\alpha$  水平均降低 (均  $P < 0.001$ )，PAS 染色光镜下可见肾小管破坏程度减轻，小管扩张、上皮细胞坏死、管型和间质水肿范围减少，小管损伤评分降低。

**结论：**敲除 Smad3 基因加重小鼠 FA-AKI 损伤，JNK 抑制剂可能是潜在的治疗手段。