

# 肾小球肾炎动物模型研究概况

张仲林, 彭成\*

(成都中医药大学 610075)

**摘要:**肾小球肾炎(glomerulonephritis, GN)是泌尿系统的常见病、多发病,分为急性肾小球肾炎和慢性肾小球肾炎。本文对内源性肾小球肾炎和外源性肾小球肾炎动物模型的造模机理、造模方法等方面进行了归纳和总结。

**关键词:**肾小球肾炎;动物模型;造模机理;造模方法

**中图分类号:**Q95-33 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7083(2004)01-0066-04

1900 年 Linderman 首先倡导应用动物进行有关肾炎的实验研究。他应用兔免疫豚鼠,然后将其血清注射健康家兔,引起蛋白尿及尿毒症,病理检查呈肾小管上皮细胞坏死。这一工作开创了实验性肾炎研究的新途径<sup>[1]</sup>。下面从动物模型的造模机理、理论依据、造模方法等方面进行归纳综述。

## 1 内源性肾小球肾炎模型的研究

此型肾炎模型的抗原来自肾小球,根据抗原的种属是否相同又可分为同种免疫性抗肾小球基膜肾炎、异种免疫性抗肾小球基膜肾炎;根据致病的产物不同又可分为抗基膜性肾炎和免疫复合物性肾炎;免疫复合物性肾炎又可分为原位和循环复合物性肾炎。

### 1.1 肾源性肾小球肾炎模型的研究

**1.1.1 同种免疫性抗肾小球基膜肾炎的研究** 本型机理:动物由自体抗肾抗体或自体抗原抗体复合物刺激引起肾小球基膜产生免疫反应形成肾炎。

王照明等<sup>[2]</sup>建立主动型 Heymann 肾炎模型:参照 Edgington 的方法提取抗原物质 Fx-IA;取雄性 SpragueDawley(SD)大鼠,模型组每只大鼠首次经后足垫注射经弗氏完全佐剂充分乳化的 Fx-IA 15mg,2 周后经背部皮下加强免疫一次,剂量为首次免疫量的一半。孙永宁<sup>[3]</sup>先用肾皮质匀浆

加弗氏完全佐剂制备乳化液,腹腔注射同种大鼠的肾皮质加弗氏完全佐剂乳液,每次 2ml/只,每 2 周注射 1 次,造模 14 周共注射 7 次,可造成实验大鼠 HN 肾炎模型。

**1.1.2 异种免疫性抗肾小球基膜肾炎的研究** 本型机理:用甲种动物的肾皮质匀浆免疫乙种动物,使后者产生抗甲种动物的抗肾血清(抗肾抗体),然后将这种抗肾血清注射给健康的甲种动物,而使其产生肾炎。

杨念生等<sup>[4]</sup>用 SD 大鼠,实验前 5 天皮下注射 5mg 正常兔免疫球蛋白和弗氏完全佐剂预免疫,5 天后静脉注射 10ml/kg 兔抗大鼠肾小球基底膜(GBM)抗血清(肾毒血清),制造出大鼠抗肾小球基底膜肾炎模型。彭建中等<sup>[5]</sup>复制改进型肾毒血清性肾小球肾炎动物模型:70mg 兔 IgG 溶于 7ml 生理盐水中与 13ml 弗氏不完全佐剂充分混匀,每只大鼠 0.22ml 皮下多点注射。5 天后一次性尾静脉注射兔抗大鼠肾毒血清 3ml/kg。毕柳等<sup>[6]</sup>报道,英国 Kazuhiro N 等用牛肾小球基底膜免疫 Wistar-kyoto 大鼠造成实验性自身免疫抗肾小球基底膜肾小球肾炎。戴春笋等<sup>[7]</sup>先制备大鼠 GBM 抗原,并用大鼠 GBM 抗原制备兔抗鼠 GBM 抗血清及提纯家兔 IgG,最后用兔抗鼠 GBM 抗血清及兔 IgG 建立大鼠抗 GBM 肾炎模型:取 Wistar 雄性大鼠,将正常兔 IgG 与弗氏不完全佐剂充分混匀制成油包水剂,以 1mg/100g 注入

收稿日期:2003-11-19 修回日期:2004-01-14 作者电子邮件:zhongling9231.student@sina.com

\* 通讯作者,成都市十二桥路 37 号,610075, E-mail: pengchengcao@163.com

[12] 陈小野. 实用中医证候动物模型学[M]. 北京:中国协和医科大学、北京医科大学联合出版社,1993:263.

[13] 朱清华,祝庆蕃. 实验动物学[M]. 广东:广东高等教育出版社,1999:1~18.

[14] 彭成. 实验动物学教材[M]. 成都中医药大学研究生教材,2000.

[15] 陈小野. 证候动物模型诊断依据的设想与评价[J]. 中国医药学报,1987,2(1):50.

[16] 郑小伟. 脏腑兼病症动物模型研究[J]. 浙江中医学院学报,2000,24(6):7.

[17] 彭成,曹小玉. 试论中医证候动物模型的研究技术[J]. 成都中医学院学报,1989,12(3):44.

[18] 严进,王春安,叶阿莉,等. 躯体性应激和心理性应激对大鼠血浆皮质酮变化的影响[J]. 心理学报,1991,4:418.

[19] 严进,王春安,陈宜张,等. 心理应激引起大鼠行为、血浆皮质酮及脑区氨基酸水平的变化[J]. 第二军医大学学报,1997,18(4):330.

[20] 李则宜,李凌江. 应激动物模型设计的成败与思考[J]. 中国行为医学科学,2002,11(13):105.)

大鼠腹腔, 第 5 天时经尾静脉注入适量肾毒血清 (12.5mg/100g)。张虎祥等<sup>[8]</sup>选用 C<sub>57</sub>BL/6J 小鼠, 隔日注射 C-BSA 2mg/只, 4 周可复制出较为典型、稳定的 I 期小鼠膜性肾小球肾炎 (MGN) 模型。

### 1.2 非肾源性肾小球肾炎模型的研究

夏志银等<sup>[9]</sup>采用一次性尾静脉注射 Habu 蛇毒素 (0.3mg/100g 体重) 的方法诱导 MsPG 的动物模型, 探讨增殖性肾小球肾炎大鼠动物模型中系膜细胞  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白 ( $\alpha$ -SMA) 表达与细胞表型的关系。刘淑华等<sup>[10]</sup>用右旋糖酐诱发小鼠 IgA 肾病: 昆明种雄性小鼠, 在第 1、7 及 10 天, 腹腔注射交联葡聚糖凝胶混悬液 (2mg/ml PBS) 0.4ml/次。第 3 周开始, 尾静脉注射右旋糖酐抗原溶液 0.4ml/次, 每周 2 次, 至第 8 周。另外, 给家兔注射异种甲状腺球蛋白或化学成分起了变化的同种甲状腺球蛋白, 这种动物血循环中的抗甲状腺球蛋白抗体与循环中的小量甲状腺球蛋白结合, 形成免疫复合物在肾小球内沉积下来, 导致炎症反应<sup>[11]</sup>。

## 2 外源性肾小球肾炎模型的研究

此型肾炎模型的抗原并非来自肾小球, 而是由细菌感染合并异种免疫蛋白联合作用造成模型; 或采用肾小球切除或用肾毒性的药物损伤肾小球结构与功能的方法造模。

### 2.1 感染性肾小球肾炎模型的研究

杨宏等<sup>[11]</sup>制作家兔原位免疫复合物肾小球肾炎模型: 将大肠杆菌毒素和阳离子化牛血清白蛋白溶于 0.15M、pH 值为 7.2 的磷酸缓冲液 (PBS) 溶液中, 最终浓度为每 1ml 溶液中含 1 $\mu$ g 大肠杆菌毒素和 1mg 牛血清白蛋白, 每只兔经耳缘静脉注射 2ml 预免疫, 7 天后开始免疫造型: 每只兔每天经耳缘静脉给予阳离子化牛血清白蛋白 20mg (预先溶于 PBS 溶液中), 共 7 周。朱声永等<sup>[12]</sup>复制采用家兔膜增殖型肾炎模型, 预免疫: 每只家兔背部皮下注射牛血清白蛋白 1mg, 每周 1 次, 连续 3 次。第 4 周时每只家兔耳缘静脉注射大肠杆菌内毒素 1 $\mu$ g, 共 1 次。正式免疫: 第 3 周开始每只家兔耳缘静脉注射牛血清白蛋白 25mg, 每日 1 次, 每周 6 次, 共 6 周, 并于最后 1 周中血清白蛋白剂量加倍注射。刘宏伟等<sup>[13]</sup>IgA 肾病模型的制作方法: 隔日口服含 0.1% BSA (牛血清白蛋白) 的酸化水, 第 6 周起定期尾静脉注射含 1% BSA 2mmol/l 磷酸缓冲液 0.2ml (每日 1 次, 连续 3 次), 第 8 周起定期复加尾静脉注射葡萄球菌肠毒素 B (SEB) (每周 1 次, 连续 3 周, 剂量分别为 0.5mg/kg、0.6mg/kg、0.8mg/kg), 然后观察至第 14 周末。余江涛<sup>[14]</sup>选用日本大耳白兔, 先进行预免疫, 从耳静脉注射 C-BSA (阳离子牛血清白蛋白) 1mg 和大肠杆菌内毒素 1 $\mu$ g, 正式免疫注射从耳静脉注射 C-BSA 每只一次 10mg, 每周 6 次, 共注射 5 周, 第 6~8 周注射剂量加倍。赵玉庸等<sup>[15]</sup>在余氏法预免疫 1 周后, 每日每只兔耳静脉注射 C-BSA 25mg; 至第 8 周末结束。汪军等<sup>[16]</sup>为了深入研

究慢性血清病动物模型病理学, 采用造模方法: (1) 预免疫: 于实验鼠的足垫皮下注射弗氏完全佐剂 0.1mg 加 3mg 牛血清白蛋白 (N-BSA), 在 1、2 周末加强 1 次; 3 周末, 腹腔连续 4 次注射 BSA, 间隔 1h, 注射剂量分别为每只 0.5mg、1.0mg、1.5mg、3.0mg; 次日晨加强 1 次 (2.0mg/只); (2) 正式免疫: 大鼠 N-BSA 尾静脉注射与腹腔多点皮下注射隔天交替进行, 尾静脉注射剂量从每只 0.5mg 开始, 每次增加 0.5mg, 至 2.5mg 为止; 继续每周加量 0.5mg, 至 5.0mg 为止。腹腔注射量是尾静脉注射量的 1 倍。免疫 2 周后尾静脉注射大肠杆菌内毒素 100ng/只, 正式免疫共 7 周。

### 2.2 非感染性肾小球肾炎模型的研究

近年来大量实验研究证明: 一些外源性抗原可以通过化学反应、电荷反应等机制而种植肾小球上。这种种植在肾小球上的抗原与实验动物体内产生的抗体 (主动性动物模型) 或外源注射的抗体 (被动性动物模型) 相结合, 形成原位免疫复合物性肾炎模型。其中最具有代表性的有大鼠同种免疫复合物性肾炎 (Heymann 肾炎) 及家兔阳离子牛血清白蛋白肾炎。另外, 还有肾损伤性肾小球肾炎模型。

**2.2.1 同种免疫复合物性肾炎模型** 王迎伟等<sup>[17]</sup>在一次性静脉注射兔抗 Tab-Ag 抗血清基础上, 再给大鼠多次注射小剂量的抗血清制作大鼠进行性被动性 Heymann 肾炎 (PPHN) 模型: 先经尾静脉注入兔抗 Tub-Ag 抗血清, 剂量 0.5ml/100g $\cdot$ w, 5 周末再经腹腔注入相同抗血清 0.5ml/鼠, 以后每隔 1 周, 经腹腔注入此抗血清 0.5ml/鼠, 至 13 周为止。张静波等<sup>[18]</sup>参照 Booth 等方法提取鉴定致 Heymann 肾炎的大鼠近曲小管刷状缘微绒毛 (BBM), 参照 Loton 等方法免疫新西兰大白兔制备兔抗鼠 BBM 抗血清。经 Wistar 大鼠尾静脉注射兔抗 BBM 抗血清, 按 1.5ml/100g 体重计算, 分 2 次间隔 1 小时注射, 复制大鼠被动型 Heymann 肾炎 (PHN) 模型。

**2.2.2 阳离子牛血清白蛋白引起的肾炎模型** Border 等每天给兔静脉注射 C-BSA 约 12 周即可产生肾炎。免疫荧光可发现肾小球中有 IgG、C<sub>3</sub> 和纤维蛋白相关抗原 (FRA) 沿 GBM 呈颗粒样沉积, 电镜下可发现上皮下有细小均匀的电子致密物沉积, 病程后期可见 GBM 增厚等, 故病理类型属 MN。杨解人等<sup>[19]</sup>选用新西兰大耳白兔, 耳缘静脉注射 C-BSA 10mg, 1 次/d, 共 5 周, 第 6 周剂量加倍的方法成功制作家兔 C-BSA 肾炎模型。万晨旭等<sup>[20]</sup>将 1.1mg C-BSA 溶于 0.55ml PBS 中, 与等量弗氏不完全佐剂 (IFA) 充分乳化后, 给大鼠多点皮下注射作为预免疫; 致病免疫从第 8d 开始, 隔日 1 次尾静脉注射 C-BSA 3.85mg/kg $\cdot$ d, 共 29d 成功复制出大鼠原位 IC 型肾炎。尹培达等<sup>[21]</sup>阳离子化牛血清白蛋白 (C-BSA) 诱导大鼠原位性肾炎模型, 采用 C-BSA 2.5mg 与等量弗氏不完全佐剂研磨混匀多点皮下注射大鼠预免疫后, 每周静脉注射 C-BSA 2.5mg, 3 次, 共 3 周, 原位性肾炎大鼠模型成功率达 100%。周玖瑶

等<sup>[22]</sup>分别取 C-BSA 1.0mg 与弗氏不完全佐剂 0.1ml 混匀,大鼠皮下多点注射预免疫,预免疫 1 周后,每只注射 C-BSA,先腹腔注射 1 周,第 1 天至第 7 天的剂量依次为 1.0mg、1.0mg、1.0mg、1.5mg、1.5mg、2.0mg、2.0mg。第 2 周起,每次在灭菌条件下尾静脉注射 2.5mg C-BSA,复制成膜性肾小球肾炎大鼠模型。

丁秋兰等<sup>[23]</sup>按 Dixon 方法将牛血清白蛋白(BSA)用无菌生理盐水溶解,以 250mg/kg 剂量 1 次耳缘静脉注射,造成家兔“一过性”急性实验性血清病(AESSR)。彭建中<sup>[24]</sup>用 70mg 兔 IgG 溶于 7ml 生理盐水中,与 13ml 弗氏不完全佐剂充分混匀,每只大鼠 0.22ml 皮下多点注射。5d 后,一次性尾静脉注射兔抗大鼠肾毒血清 3ml/kg,复制大鼠肾毒血清性实验模型。杨玲等<sup>[25]</sup>采用羊抗兔肾血清 1ml,半小时 1 次,连续注射 4 次,成功制作急性大鼠肾毒血清性实验模型。

武宝玉等<sup>[26]</sup>用 C-BSA 1mg 加弗氏完全佐剂 0.5ml 作皮下、肌肉多点注射,10d 后重复免疫 1 次,预免疫 2 周后每日注射 C-BSA。先腹腔注射 1 周,第 1 日至第 7 日的剂量依次为 2mg、4mg、6mg、8mg、10mg、12mg、14mg,之后改为尾静脉注射,共 6 周。尾静脉注射第 1 周第 1 天至第 7 天的剂量依次为 1mg、2mg、3mg、4mg、5mg、6mg、7mg,此后每天 8mg,直至实验结束,复制出慢性血清病模型,并使其产生膜性肾炎病变。关广聚等<sup>[27]</sup>制备大鼠慢性血清病肾炎模型:大鼠皮下多点注射弗氏不完全佐剂与阳离子化牛血清白蛋白(C-BSA) 1mg 的混合剂,1ml/只进行预免疫,1 周后尾静脉注射 C-BSA 3mg/只,1 周 3 次,连续 4 周。

### 2.3 肾损伤引起的肾炎模型

Frenk 等于 1995 年介绍应用氨基核苷嘌呤霉素(AMNS)注射大鼠,引起大鼠肾病综合征。此后的研究表明,氨基核苷直接影响肾小球的生化变化:使肾小球细胞的涎酸成分下降,因而肾小球上皮细胞的阳离子层遭到破坏,并使肾小球细胞中碳氧化作用底物的成分发生变化。同时,氨基核苷使大鼠肾小球病理上类似人类微小病变性或局灶性节段性硬化性肾病。Morrison 等于 1962 年报告大鼠 5/6 肾切除后产生慢性肾功能不全。此后的研究工作进一步观察到大鼠肾切除(或注射硬化剂使 5/6 以上肾血管闭塞)后动物逐渐发展肾小球硬化,临床上表现为进行发展的蛋白尿及肾衰。这一动物实验模型为研究人类慢性肾功能损伤的发展机制及防治提供了条件。李锐等<sup>[28]</sup>选取雄性 SD 大鼠,在灭菌条件下尾静脉注射盐酸阿霉素(ADR) 7.5mg/kg。尹培达等<sup>[21]</sup>采用 ADR 复制动物肾炎模型,14 d 后出现典型肾病综合征(大量蛋白尿、低蛋白血症、高脂血症、腹水等),肾病理呈微小病变,无免疫复合物沉积。模型制作成功率达 100%。夏放等<sup>[29]</sup>用金黄仓鼠分别注射氯化汞、灌服碳酸锂可制作肾炎模型:氯化汞注射组,每天每只仓鼠肌肉注射 1% 的氯化汞 0.1ml,连续注射 5 次;碳酸锂灌服组,每天每只仓鼠口服 5% 的碳酸锂 1ml,

连续服用 4 周。

综上所述,肾小球肾炎动物模型的研究已经越来越细致和深入,对肾小球肾炎的病因、病理、治法和用药均有涉及。在科研领域,侧重于抗肾小球抗原引起的肾炎和免疫复合物引起的肾小球肾炎的实验研究,而对非免疫机制引起的肾小球肾病模型相对较少。其中,肾源性肾小球肾炎模型的研究相对成熟和完善;而感染性肾小球肾炎模型的研究相对复杂和不易操作;阳离子牛血清白蛋白引起的肾炎模型的研究以其简便、高效与病理相似性而被广泛应用。

### 3 参考文献

- [1] 王叔咸,吴阶平.肾脏病学[M].北京:人民卫生出版社,1987:244~253.
- [2] 王照明,张建民,张东生. TGF- $\beta$ 1 及细胞外基质在主动型 Heymann 肾炎病变中的定量研究[J].中国体视学与图像分析,1999,4(4):215~218.
- [3] 孙永宁.慢肾康胶囊治疗实验大鼠 HN 肾炎主要药效学研究[J].陕西中医学院学报,2001,24(3):40~43.
- [4] 杨念生,黄越芳,叶任高,等.大鼠新月体肾炎中的细胞增殖与凋亡[J].中华肾脏病杂志,1998,14(3):147~150.
- [5] 彭建中,张家玮,魏民,等.凉血化瘀法和补肾法对肾小球肾炎大鼠血液流变学的影响[J].北京中医药大学学报,1999,22(4):29~31.
- [6] 毕柳,王文余. CTLA-4 镶和蛋白对大鼠自身免疫肾小球肾炎的作用[J].国外医学免疫分册,1995,(3):163.
- [7] 戴春笋,刘志红,陈惠萍,等.大黄素与雷公藤内酯醇联合治疗大鼠抗肾小球基底膜肾炎的实验研究[J].肾脏病与透析肾移植杂志,2000,9(2):117~123.
- [8] 张虎祥,马跃荣.小鼠膜性肾小球肾炎光镜、电镜、免疫荧光定量研究及染色体初步分析[J].泸州医学院学报,2002,(5):469.
- [9] 夏志银,钱桐荪,蒋季杰,等.单克隆抗体 1-22-3 诱导大鼠系膜增殖性肾小球肾炎动物模型研究[J].南通医学院学报,1997,17(4):468~471.
- [10] 刘淑华,王子慧,孟杨,等.实验性 IgA 肾病肾小管的超微病变[J].湖北医科大学学报,1998,19(4):318~320.
- [11] 杨宏,朱明德,黄佩文,等.中药白鹤粉治疗肾小球肾炎的实验研究[J].成都中医药大学学报,2000,23(2):42~45.
- [12] 朱声永,刘玉宁,杜宝荣,等.肾炎育阴片对家兔系膜增殖型肾炎免疫功能影响的实验研究[J].河南中医药学刊,2000,15(5):23~24.
- [13] 刘宏伟,李彩熙,金龙,等.滋肾止血片治疗 IgA 肾

- 病实验研究[J]. 山东中医杂志, 1999, 18 (1): 20~22.
- [14] 余江涛, 彭杰青. 阳离子化牛血清白蛋白原位免疫复合物肾炎的建立及雷公藤疗效观察[J]. 中华病理学杂志, 1994, 23 (1): 49.
- [15] 赵玉庸, 陈志强, 白云静, 等. 慢肾消对家兔实验性膜性肾炎的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2001, 7 (7): 36~38.
- [16] 汪军, 郑佳新, 孙瑞涛, 等. 肾原胶囊对系膜增生性肾炎大鼠模型的病理影响[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2002, 3 (6): 346~347.
- [17] 王迎伟, 郝光芝, 王玉龙, 等. 大鼠进行性被动性 Heymann 肾炎的实验研究[J]. 中华肾脏病杂志, 1994, 10, (1): 33.
- [18] 张静波, 廖立生. 大鼠被动型 Heymann 肾炎的实验研究[J]. 中华肾脏病杂志, 1999, 15 (3): 158.
- [19] 杨解人, 丁伯平, 陈国祥, 等. 肾康宁对家兔 C-BSA 肾炎模型治疗作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2000, 6 (6): 29.
- [20] 万晨旭, 马毅强, 王钢. 肾炎合剂对大鼠原位 IC 型肾炎的作用及其机理研究[J]. 中国中医药科技, 2002, (2): 88.
- [21] 尹培达, 甘华, 欧阳玉林. 氧自由基与肾小球疾病发病关系及抗氧化剂的防治作用[J]. 中山医科大学学报, 1995, 16 (4): 1~4.
- [22] 周玖瑶, 廖雪珍, 李锐. 肾复康对大鼠 C-BSA 肾炎的药理作用[J]. 广州中医药大学学报, 2000, 17 (4): 342~347.
- [23] 丁秋兰, 王文余, 赵玉莹, 等. 细胞因子在免疫复合物型肾小球肾炎发病机制中的作用[J]. 中国免疫学杂志, 1997, 13 (4): 200~203.
- [24] 彭建中, 张家玮, 魏民, 王谦. 凉血化瘀法和补肾法对肾小球肾炎大鼠血液流变学的影响[J]. 北京中医药大学学报, 1999, 7 (4): 29~30.
- [25] 杨玲, 陈清, 陈宝平, 等. 实验性肾小球肾炎血小板活化因子的变化[J]. 中华血液学杂志, 1999, 20 (9): 483~484.
- [26] 武宝玉, 魏民, 李伯光, 等. 复制大鼠膜性肾小球肾炎伴新月体形成和肾小球硬化模型的研究[J]. 北京中医药大学学报, 1999, 22 (1): 46~48.
- [27] 关广聚, 文蓉珠, 管益君, 等. 虫草肾康对大鼠慢性血清病肾炎疗效的实验研究[J]. 山东医科大学学报, 1999, 37 (4): 292~294.
- [28] 李锐, 曹建宏, 周玖瑶. 肾复康对大鼠实验性慢性肾炎的作用[J]. 广州中医药大学学报, 1999, 16 (3): 205~208.
- [29] 夏放, 朱丹, 黄纯才, 等. 用近交系白化金黄仓鼠复制肾炎动物模型[J]. 四川动物, 2002, 21 (2): 107~108.
- [30] Border WA. Induction of membranous nephropathy in rabbits by administration of an exogenous cationic antigen [J]. J Clin Invest, 1982; 69 (2): 451.