

吕晶晶,黄岩杰,郭庆寅,等. 肾毒血清肾炎动物模型的造模方法及其免疫机制评述[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(9): 127-132.

Lyu JJ, Huang YJ, Guo QY, et al. Review of nephrotoxic serum nephritis models and their immune mechanisms [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(9): 127-132.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019.09.020

肾毒血清肾炎动物模型的造模方法及其免疫机制评述

吕晶晶¹,黄岩杰^{1*},郭庆寅¹,吴光华²,杨晓青¹

(1.河南中医药大学第一附属医院儿科,郑州 450000; 2.河南中医药大学,郑州 450046)

【摘要】 肾毒血清肾炎(nephrotoxic serum nephritis,NTSN)模型是将肾毒血清经静脉一次性注射免疫动物制备而成,主要用于研究免疫复合物介导的新月体肾炎。NTSN造模过程包含选择易感的实验动物(WKY大鼠、SD大鼠居多)、提取肾小球基底膜、制备肾毒血清、建立加速或非加速模型,方法繁琐,但病变典型。NTSN模型免疫机制相对复杂,其中体液免疫通过异体反应时相和自体反应时相,形成原位和循环免疫复合物,介导Ⅲ型超敏反应。细胞免疫也通过激活T淋巴细胞产生一系列炎症因子参与肾新月体的形成。本文主要针对NTSN模型的造模方法及其免疫机制进行评述。

【关键词】 肾毒血清肾炎;动物模型;造模方法;免疫机制

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 09-0127-06

Review of nephrotoxic serum nephritis models and their immune mechanisms

LYU Jingjing¹, HUANG Yanjie^{1*}, GUO Qingyin¹, WU Guanghua², YANG Xiaqing¹

(1. Department of Pediatrics, the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China.
2. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046)

【Abstract】 The nephrotoxic serum nephritis (NTSN) model is established by single intravenous injection of nephrotoxic serum in immunized animals and used to study immune complex-mediated crescent nephritis. The NTSN modeling process involves selecting susceptible experimental animals (mostly WKY rats and SD rats), extracting the glomerular basement membrane, preparing the nephrotoxic serum and establishing accelerated or non-accelerated models. The modeling method is complicated, and the renal lesion is representative. The immune mechanisms of the NTSN model are complex. Humoral immunity generates in situ and circulatory immune complexes via allogenic and autologous reaction phase and mediates type III hypersensitivity. Cellular immunity is also involved in the formation of renal crescent lesions by activating a series of inflammatory cytokines produced by T lymphocytes. This article mainly reviews the modeling method and the related immune mechanisms of the NTSN model.

【Keywords】 nephrotoxic serum nephritis; animal model; modeling method; immune mechanism

【基金项目】 河南省高校科技创新团队支持计划(18IRTSTHNO28);河南省自然科学基金资助项目(U170411182)。

【作者简介】 吕晶晶(1986—),女,主治医师,硕士研究生,从事中西医结合防治小儿肾病及风湿免疫性疾病研究。Email: 641895160@qq.com

【通信作者】 黄岩杰,女,博士,主任医师,教授,研究员,博士生导师,从事中西医结合防治小儿肾病及风湿免疫性疾病研究。Email: huangyanjie69@hotmail.com

新月体肾炎是一个病理学诊断,指有新月体形成的肾小球超过全部肾小球的 50%,新月体超过肾小囊面积的 50%,诊断需依靠肾活检^[1]。根据其免疫荧光表现不同分为三型^[2]: I 型为抗肾小球基底膜(glomerular basement membrane, GBM)抗体型,代表性的动物模型为实验性自体免疫肾小球肾炎模型,属于主动诱导模型,多用于研究原发性抗 GBM 抗体型肾小球肾炎(不伴肺出血)和 Goodpasture 综合征(伴肺出血); II 型为免疫复合物型,其代表性的动物模型为肾毒血清肾炎(nephrotoxic serum nephritis, NTSN)模型,主要用于研究免疫复合物介导的新月体肾炎; III 型为寡免疫复合物型,针对这一型尚无理想的动物模型,目前多使用实验性自体免疫脉管炎模型。三种动物模型分别用于研究不同的疾病,其中 NTSN 模型病变典型、应用广泛,造模方法繁琐、免疫机制复杂,下面主要针对 NTSN 模型的造模方法、免疫机制进行评述。

1 概述

NTSN 动物模型是将肾毒血清经静脉一次性注射免疫动物制备而成,临床表现多为蛋白尿、肾功能下降等,肾组织病理可见固有细胞增生、炎性细胞浸润、GBM 断裂、包曼氏囊有新月体形成等,免疫荧光可见 GBM 外侧有颗粒团块状免疫复合物(主要为 IgG、C3)沉积,是具有典型的人类新月体肾炎病理变化的动物模型。该模型可用于研究循环免疫复合物介导的有新月体形成的原发性和继发性肾病的发病机制、免疫机制、治疗方案等,如原发性 IgA 肾病,狼疮性肾炎(III、IV)、紫癜性肾炎等。

2 溯源及改良过程

2.1 溯源

1900 年, Lindeman^[3]创建了 NTSN 模型,用兔肾免疫豚鼠,然后将豚鼠的血清注射给健康家兔,家兔出现了蛋白尿和尿毒症,这是该模型的雏形。

2.2 改良后的 Masugi 肾炎和加速型 NTSN 模型

1932 年, Masugi 对该模型进行了改良,他将大鼠的肾皮质匀浆后反复免疫家兔,然后用兔抗大鼠肾皮质的肾毒血清免疫大鼠制备 NTSN,因此该模型又称为 Masugi 肾炎。Masugi 肾炎具有与人类新月体肾炎类似的表现,如肾固有细胞增生、炎性细胞浸润、基底膜断裂、新月体形成等,但制备时间长,免疫反应弱,不利于研究^[2]。

1965 年, Unanue 等^[4]对该模型进一步改进,他们用兔 IgG 对 Sprague Dawley (SD) 大鼠进行预免疫

后再注射肾毒血清来进行造模,结果经预免疫的大鼠提前出现了肾组织学改变,造模过程明显缩短,学者将其称为加速型 NTSN。1994 年,任国辉等^[5]也使用该方法成功建立了 SD 大鼠的加速型 NTSN 模型。脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)作为免疫增强剂,可以替代 IgG 进行预免疫建立加速型 NTSN^[6]。

目前,不论是改良后的加速型 NTSN 模型^[7-8]还是非加速的 NTSN 模型^[9-12]都在沿用,但加速型模型使用最广泛。

3 造模

NTSN 模型的建立,包含选择易感的实验动物、制备纯化的肾毒血清、造模(加速型、非加速型),其关键在于实验动物的选择和血清的制备。

3.1 选择易感动物

建立动物模型,选择易感动物是造模成功关键的第一步。目前大鼠造模方法成熟,在国内外研究中广泛使用。国外使用 Wistar-Kyoto (WKY) 大鼠者居多,其模型具有典型的新月体形成的组织病理表现,如肾固有细胞增生、炎细胞浸润、基底膜断裂、新月体形成等^[13-14]。Takabatake 等^[9]使用 WKY 大鼠建立非加速型的 NTSN 模型,在第 8 天模型组大鼠 60% 的肾小球有新月体产生。WKY 大鼠对肾毒血清敏感,新月体产生所需时间短。有研究表明 WKY 大鼠含有易感基因 *Crgn1* 和 *Crgn2*, 分别位于 13 和 16 号染色体上^[15]。

WKY 大鼠敏感性好、病变典型,但价格昂贵,约为普通 SD 大鼠的 4~5 倍。SD 大鼠也可用于该模型的建立, Unanue 等^[4]在创建加速型 NTSN 模型时使用的就是 SD 大鼠,目前国内外新月体肾炎研究中也均有使用^[16-19]。王坤等^[16]选取体重 190~205 g 的雄性 SD 大鼠,建立加速型 NTSN 模型,2 周后正常对照组未见新月体形成,模型组新月体形成率超过 50%,以细胞性新月体为主,部分为纤维细胞性新月体。Karavana 等^[20]也用 180~200 g 的雄性 SD 大鼠建立了加速型 NTSN 模型,14 d 观察模型组蛋白尿明显高于对照组,且肾组织中发现小球和球旁有巨噬细胞和单核细胞浸润,并可见纤维细胞性新月体。由此可见,SD 大鼠虽可用于 NTSN 的造模,但是较 WKY 大鼠产生新月体的时间长,加速型模型一般大于 2 周,而 WKY 非加速型模型约 1 周左右^[9]。

除了 WKY 大鼠、SD 大鼠外, Wistar 大鼠也可用

于造模^[21-22]。但并不是所有的大鼠都适于该模型的建立,如从 Wistar 品系繁育而成的 Lewis (LEW) 大鼠被注射肾毒血清后就不会产生新月体,常用于阴性对照。那么把 WKY 的易感基因转染给 LEW 大鼠会不会产生新月体呢? Zelpha 等^[23]将 WKY 大鼠的易感基因 *Crgn1*、*Crgn2* 转染给 LEW 大鼠得到 LEW.W*Crgn1*、LEW.W*Crgn2*、LEW.W*Crgn1*,2 三种转基因大鼠,然后对 8 周龄的雄性 WKY、LEW、LEW.W*Crgn1*、LEW.W*Crgn2*、LEW.W*Crgn1*,2 大鼠均静脉注射等量的肾毒血清,9 d 后检测 24 h 尿蛋白含量发现 LEW.W*Crgn1*,2 组低于 WKY 组,但是明显高于其他三组;同时含有 WKY 大鼠易感基因 *Crgn1* 和 *Crgn2* 的 LEW.W*Crgn1*,2 大鼠有新月体产生,但是少于 WKY 组,而 LEW 大鼠和含单一易感基因的 LEW.W*Crgn1*、LEW.W*Crgn2* 大鼠均无新月体产生。因此 *Crgn1* 和 *Crgn2* 为 WKY 大鼠的易感基因,且需同时存在。LEW.W*Crgn1*,2 大鼠新月体产生较少,易感性较差,且转基因 LEW.W*Crgn1*,2 需要一定的技术支持,因此少用。

除了大鼠外,小鼠转基因种类丰富、技术成熟,也可用于该模型的建立,如 C57BL/6^[24-26]、*pod-EGFP*^[27]、CD1 小鼠^[11,24]等。李向阳等^[6]使用小鼠建立加速型模型,第 14 天模型组光镜下可见肾小球壁层上皮细胞增生,新月体形成,肾小囊囊腔缩小闭塞,尿蛋白达到高峰,但 21 d 尿蛋白开始下降,这可能与小鼠模型的微血栓较多、肾小囊囊腔缩小闭塞有关。小鼠模型与人类新月体肾炎的病情发展、病理变化不太相符,这可能是目前使用大鼠者居多的原因之一。

除了鼠系外,兔子、羊^[28]也可以用来造模,但是耗材相对较贵,较少使用。因此在 NTSN 模型建立过程中,WKY 大鼠可能更适于 NTSN 模型的建立,SD 大鼠次之。不同种属、不同性别的动物所产生的病变是否存在差异呢? Ougaard 等^[24]使用 CD1 和 C57BL/6 小鼠建立 NTSN 模型,发现两种雌性小鼠模型疾病发展过程相似,且较雄性小鼠对肾毒血清更敏感。Kaneko 等^[29]发现不同年龄的 C57BL/6 J 鼠之间存在差异,分别用 12 周龄和 18 月龄的 C57BL/6 J 鼠经羊血清预免疫后建立加速型 NTSN 模型,结果发现二者结合在 GBM 上的羊 IgG、鼠抗羊 IgG 和血清中的鼠抗羊 IgG 滴度相似,但是 18 月龄的 C57BL/6 J 老年鼠肾损伤较轻,这可能与肾小球的单核巨噬细胞浸润减少,细胞表面的 C-C 趋化因子受体 1、C-C 趋化因子受体 2、Fc γ 受体的表达下调有关。

3.2 肾毒血清制备

除了选择合适的易感动物,肾毒血清的制备是建立该模型的另一个关键。经典的 NTSN 模型制备方法是 A 种动物的 GBM 成分多次免疫 B 种动物,B 种动物就会产生抗 A 种动物 GBM 的抗体,等达到一定滴度后留取血清(即肾毒血清),再一次性静脉注射给 A 种动物,建立 NTSN 模型。

制备肾毒血清的第一步是提取纯化的 GBM 成分,Lindeman^[3]创建 NTSN 模型时直接用兔肾,成分复杂,特异性差;目前使用的主要有三种方法:①皮质匀浆:将肾皮质用组织匀浆机进行匀浆获得,该方法操作简便,但是皮质匀浆得到的 GBM 成分复杂,特异性较差;②相对纯化的 GBM 成分:将肾皮质研磨、过筛后得到肾小球,减少肾小管成分污染,纯度越高越好,一般需大于 95%;离心、洗涤将肾小球破碎,得到相对纯化的 GBM 成分,目前多用此法;③单克隆抗体:GBM 的主要成分为 IV 型胶原,因此也可以用抗 $\alpha 3$ (IV) NCI 单克隆抗体或抗 $\alpha 3$ (IV) NCI 肾毒血清来制备 NTSN,但是单克隆抗体价格昂贵。因此,有人在第二种方法的前提下,加入胶原酶,提取相对较纯的可溶性的 GBM 成分。

将上述方法提取的 GBM 成分用生理盐水稀释后与等量弗氏佐剂乳化后皮下注射或腹腔注射免疫 B 种动物,用间接免疫荧光、琼脂双向扩散法检测抗体的效价,抗体的滴度直接决定血清的使用剂量及造模成功与否。免疫成功后留取血清,加热(56℃)灭活补体,与 A 动物红细胞混匀后吸附过夜,离心收集上清,-20℃保存备用。

3.3 造模

3.3.1 造模方法

得到一定滴度的抗体血清后,经一次性静脉注射给 A 种动物开始造模。目前造模的方法主要有两种:①非加速型:直接将肾毒血清经静脉注射给 A 种动物;②加速型:在注射肾毒血清前的 5~7 d,使用 LPS 或 B 种动物的 IgG 进行预免疫。

除 WKY 大鼠外,由于非加速型模型造模所需时间较长,因此目前多使用加速型模型。加速的方法是用 IgG 或 LPS 进行预免疫,那么两种加速型的方法有什么区别呢?李向阳等^[30]使用兔 IgG 和 LPS 对两组昆明小鼠进行预免疫,在注射肾毒血清后的第 7 天,两组尿蛋白、血肌酐和血尿素氮含量均明显升高,高于正常对照组,且兔 IgG 预免疫组升高更明显;兔 IgG 预免疫组在第 14 天可见新月体开始形成,21 d 有大量新月体形成,而 LPS 预免疫组在第 21 天才少量新月体形成。由此可见,IgG 预免

疫加速型模型反应更为剧烈,形成新月体较早,而 LPS 容易诱发小鼠产生 Schwartzman-Sanarelli 现象,造成组织损伤坏死,因此目前较少使用。IgG 预免疫可以加速造模的时间,但是改变了体液免疫时相,缩短了异体反应时相,不利于免疫机制的精细研究。因此,临床上应根据实验目的选择合适的造模方法。

3.3.2 最佳血清剂量

不同种属的实验动物,对肾毒血清的敏感性不同,因此最佳血清剂量也不尽相同。早在 1965 年,Unanue 等^[4]就提出该模型的建立,取决于两个因素:(1)结合到受体肾小球中异源性抗 GBM 的抗体量;(2)受体对异源性 IgG 的免疫反应。经预免疫的动物,亚致肾炎剂量(若无预免疫,不产生蛋白尿)的血清即可诱发典型的新月体形成^[5,20],预免疫除了可以加速造模的时间,还可以减少肾毒血清的用量,且不同窝别、年龄、性别的动物对肾毒血清的敏感性可能也存在差异,因此实验中最佳血清剂量须经预实验确定。

4 NTSN 造模过程的免疫机制

NTSN 的造模过程繁琐,免疫机制相对复杂。

该模型的病理改变主要是体液免疫、细胞免疫、多种细胞因子共同作用的结果。

4.1 体液免疫

B 种动物的肾毒血清经静脉注射给 A 种动物后,会经历两个体液免疫时相,即早期的异体反应时相和晚期的自体反应时相^[1]。下面以兔代替 B 种动物,大鼠代表 A 种动物为例,阐述如下(见图 1)。

外源性的抗 GBM 抗体(兔抗鼠 GBM 抗体,兔 IgG^{*})与大鼠的 GBM 存在相同的抗原决定簇,因此流经肾时可以迅速结合到 GBM 处,免疫荧光可见 IgG 呈线性沉积,这就是早期的异体反应时相,该时期出现内皮细胞与 GBM 部分分离、足突融合等轻微的病理变化^[6]。

外源性的抗 GBM 抗体(兔 IgG^{*})对于大鼠来说是一种抗原,约 7~10 d 后,进入自体反应时相,大鼠会产生相应的抗体(鼠抗兔 IgG^{*}抗体),这一抗体与 GBM 上和循环中的抗原(兔 IgG^{*})结合,导致原位和循环免疫复合物形成,GBM 的免疫荧光呈不连续的颗粒状,原位和循环免疫复合物介导Ⅲ型超敏反应的发生,激活补体系统、激肽系统和炎症细胞等,GBM 明显增厚、皱缩,部分断裂,球囊黏连,最终

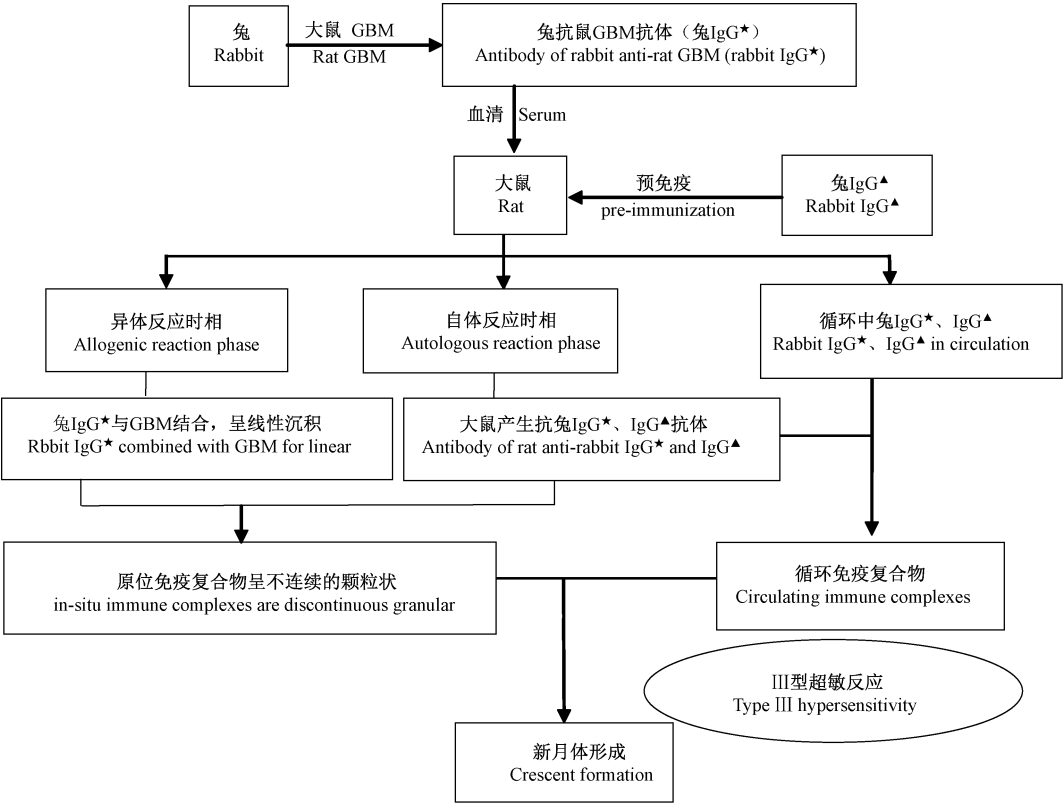


图 1 NTSN 模型的体液免疫机制

Figure 1 The humoral immune mechanisms of NTSN model

导致新月体形成^[6, 31]。

而加速型 NTSN 实际上是缩短了异体反应时相,提前使大鼠产生抗兔 IgG 的抗体(鼠抗兔 IgG[▲]抗体),当肾毒血清(兔 IgG[★])注射给大鼠时,大鼠早已产生的抗兔 IgG 的抗体立即与其结合,产生强烈的免疫反应。

由于形成的原位免疫复合物颗粒较大,加之又有循环免疫复合物及补体的沉积,原位和循环免疫复合物不能及时被清除,则诱发细胞 IV 型超敏反应,在一系列酶和细胞因子的作用下,基底膜受损,肾小球壁层上皮细胞增生,最终导致新月体形成,见图 1。

4.2 细胞免疫

免疫细胞介导的肾损伤是新月体肾炎的发病基础^[32-33],其中 T 淋巴细胞产生多种炎症因子,在新月体肾炎的发生发展过程中起着重要作用。T 淋巴细胞包括多种细胞亚群,如 Th1 细胞、Th2 细胞、Th17 细胞、调节性 T 细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞和 NKT 细胞等。Summers 等^[34-35]建立 NTSN 模型,发现模型组 Th1 细胞、Th17 细胞中的转录因子 T 盒(T-box expressed in T cell, T-bet)、维甲酸相关核受体 γ t 表达升高,提示 Th1 细胞、Th17 细胞参与新月体肾炎肾小球损伤的病理过程。Guo 等^[36]也发现 IL-17 参与肾损伤。Paust 等^[37]发现 Th17 细胞、Th1 细胞分别作用于新月体肾炎的不同时期,Th17 细胞在新月体肾炎早期(第 5~10 天)发挥主要作用,而 Th1 细胞则在新月体肾炎后期(第 20 天后)作用逐渐增强。但是 Sally 等^[38]发现肾肥大细胞产生的 IL-17 具有保护作用。

Th1 细胞介导的免疫应答促进新月体的形成,而调节性 T 细胞(Regulatory T cells, Treg)具有免疫抑制作用,通过分泌 IL-10 等方式抑制其他 T 细胞的功能和 B 细胞的抗体合成,发挥负向调节作用,在新月体肾炎形成过程中具有重要的意义。Diefenhardt 等^[39]通过敲除 IL-10 受体的小鼠建立 NTSN 模型,发现与正常对照组相比,模型组 Th17 介导的免疫应答增强,肾损伤加重。Takabatake 等^[9]运用 NTSN 模型发现 CD28 的单克隆抗体 JJ316 减少了模型组大鼠的蛋白尿、新月体的形成、巨噬细胞和 CD8⁺细胞聚集,同时伴随 Treg 增多,且在发病第 3 天单次注射 JJ316 可以阻止 WKY 大鼠在 2 月内死亡,因此, JJ316 可能通过扩增和激活 Treg 细胞对新月体肾炎起显著的治疗作用。NKT 细胞也对新月体的发展起抑制作用^[40]。细胞免疫是新月体形成的关键,吲哚胺 2,3-双加氧酶

(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)是催化色氨酸代谢通路中的裂解吡咯环关键步骤的限速酶,可明显抑制 T 细胞介导的细胞免疫。Hou 等^[12]建立加速型 NTSN 模型,发现 IDO 活性在 NTSN 小鼠血清和肾组织中明显升高,免疫组化显示 IDO 在小球和肾小管上皮细胞表达明显上调;用 1-甲基色氨酸(1-methyl-tryptophan, 1-MT)抑制 IDO 活性,肾病变恶化,新月体形成增加,CD4⁺ T 细胞和巨噬细胞在肾组织聚集,肾损伤加剧,这些研究结果表明新月体肾炎的发生发展受 IDO 活性的负向调节。

5 结语

综上所述,NTSN 造模方法虽繁琐,但易于掌握、制作容易、造模成功率高、病变典型、重复性好、免疫机制复杂,临床广泛应用于研究原发或继发的免疫复合物介导的新月体肾炎。

参考文献:

- [1] 王海燕. 肾脏病学. 第 3 版 [M]. 北京: 人民卫生出版社; 2008: 604-606.
- [2] 韦凤美, 金玉. 急性肾小球肾炎动物模型研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2010, 18(5): 441-445.
- [3] Lindemann W. Sur le mode d'action de certains poisons renaux [J]. Ann Inst Pasteur, 1900, 14: 49.
- [4] Unanue ER, Dixon FJ. Experimental glomerulonephritis. VI. The autologous phase of nephrotoxic serum nephritis [J]. J Exp Med, 1965, 121: 715-725.
- [5] 任国辉, 叶任高, 李幼姬, 等. 大鼠加速型抗肾小球基底膜 (GBM) 肾炎的研制 [J]. 中国实验动物学报, 1994, 2(2): 102-106.
- [6] 李向阳, 孔凡运, 张海清, 等. 小鼠抗 GBM 肾炎模型的复制与鉴定 [J]. 徐州医学院学报, 2011, 31(8): 527-530.
- [7] Han Y, Ma FY, Tesch GH, et al. c-fms blockade reverses glomerular macrophage infiltration and halts development of crescentic anti-GBM glomerulonephritis in the rat [J]. Lab Invest, 2011, 91(7): 978-991.
- [8] Katharina A, Kirsch AH, Ida A, et al. The spleen plays no role in nephrotoxic serum nephritis, but constitutes a place of compensatory haematopoiesis [J]. PLoS One, 2015, 10(8): e0135087.
- [9] Takabatake Y, Li XK, Mizui M, et al. A superagonistic monoclonal antibody for CD28 ameliorates crescentic glomerulonephritis in Wistar-Kyoto rats [J]. Mol Med, 2011, 17(7-8): 686-696.
- [10] Rangan G, Succar L, Laikwon J, et al. Induction monotherapy with sirolimus has selected beneficial effects on glomerular and tubulointerstitial injury in nephrotoxic serum nephritis [J]. Int J Nephrol Renovasc Dis, 2014, 7(7): 303-313.
- [11] Ougaard ME, Jensen HE, Thuen ID, et al. Inhibitors of the renin-angiotensin system ameliorates clinical and pathological

- aspects of experimentally induced nephrotoxic serum nephritis [J]. *Ren Fail*, 2018, 40(1): 640-648.
- [12] Kavvas P, Abed A, Poulain C, et al. Decreased expression of connexin 43 blunts the progression of experimental GN [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2017, 28(10): 2915-2930.
- [13] Han Y, Tian L, Ma F, et al. Pharmacological inhibition of protease-activated receptor-2 reduces crescent formation in rat nephrotoxic serum nephritis [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2019, 46(5): 456-464.
- [14] Succar L, Boadle RA, Harris DC, et al. Formation of tight junctions between neighboring podocytes is an early ultrastructural feature in experimental crescentic glomerulonephritis [J]. *Int J Nephrol Renovasc Dis*, 2016, 9: 297-312.
- [15] Aitman TJ, Dong R, Vyse TJ, et al. Copy number polymorphism in *Fcgr3* predisposes to glomerulonephritis in rats and humans [J]. *Nature (London)*, 2006, 439(7078): 851-855.
- [16] 王坤, 王强, 赵珉, 等. FK506 对肾毒血清肾炎大鼠上皮细胞转分化的影响 [J]. *安徽医科大学学报*, 2006, 41(2): 131-134.
- [17] 于海涛, 梁暖, 赵辉. 大黄酒对肾毒血清肾炎大鼠免疫因子影响的研究 [J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2016, 50(1): 36-38.
- [18] Amos LA, Ma FY, Tesch GH, et al. ASK1 inhibitor treatment suppresses p38/JNK signalling with reduced kidney inflammation and fibrosis in rat crescentic glomerulonephritis [J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22: 4522-4533.
- [19] Han YJ, Ma FY, Julie DP, et al. An inhibitor of spleen tyrosine kinase suppresses experimental crescentic glomerulonephritis [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2018, 32: 1-17.
- [20] Karavana VN, Gakiopoulou H, Lianos EA. Expression of ser⁷²⁹ phosphorylated PKC epsilon in experimental crescentic glomerulonephritis; an immunohistochemical study [J]. *Eur J Histochem*, 2014, 58(2): 88-94.
- [21] 连希艳, 杨玲, 陈清, 等. 银杏叶提取物对肾毒血清性肾炎血小板活化因子水平的影响 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2003, 10(3): 146-148.
- [22] 王秋, 柴瑞华, 刘守义. 肾复康对大鼠 masugi 肾小球肾炎治疗作用的实验研究 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2008, 10(5): 173-174.
- [23] Zelpha DS, Stephen PM, Jennifer S, et al. Experimental crescentic glomerulonephritis: a new bicongenic rat model [J]. *Dis Model Mech*, 2013, 6: 1477-1486.
- [24] Ougaard MKE, Kvist PH, Jensen HE, et al. Murine nephrotoxic nephritis as a model of chronic kidney disease [J]. *Int J Nephrol*, 2018, 2018(11): 1-12.
- [25] Hill NR, Cook HT, Pusey CD, et al. RIPK3-deficient mice were not protected from nephrotoxic nephritis [J]. *BMC Nephrol*, 2018, 19(1): 61.
- [26] Dai Y, Chen A, Liu R, et al. Retinoic acid improves nephrotoxic serum-induced glomerulonephritis through activation of podocyte retinoic acid receptor α [J]. *Kidney Int*, 2017, 92(6): 1444-1457.
- [27] Chen AQ, Kyung L, Vivette DD, et al. Bowman's capsule provides a protective niche for podocytes from cytotoxic CD8⁺ T cells [J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(8): 3413-3424.
- [28] 黎七雄, 彭仁琇, 汪晖, 等. Masugi 肾炎血清抗体、补体含量的变化及意义 [J]. *湖北医科大学学报*, 2000, 21(3): 193-195.
- [29] Kaneko Y, Cho T, Sato Y, et al. Attenuated macrophage infiltration in glomeruli of aged mice resulting in ameliorated kidney injury in nephrotoxic serum nephritis [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2018, 73(9): 1178-1186.
- [30] 李向阳, 秦苏萍, 颜超, 等. 两种方法建立小鼠抗 GBM 肾炎模型的比较 [J]. *徐州医学院学报*, 2013, 33(9): 606-609.
- [31] Hir LM. Histopathology of humorally mediated anti-glomerular basement membrane (GBM) glomerulonephritis in mice [J]. *Nephrol Dialysis Transpl*, 2004, 19(7): 1875-1880.
- [32] Moroni G, Ponticelli C. Rapidly progressive crescentic glomerulonephritis; Early treatment is a must [J]. *Autoimmun Rev*, 2014, 13(7): 723-729.
- [33] Ryba M, Hruby Z, Witkiewicz W. ANCA associated vasculitis [J]. *Rheum Dis Clin North Am*, 2013, 70(3): 149-156.
- [34] Summers SA, Phoon RK, Odobasic D, et al. Signal transducer and activation of transcription 6 (STAT6) regulates T helper type 1 (Th1) and Th17 nephritogenic immunity in experimental crescentic glomerulonephritis [J]. *Clin Exp Immunol*, 2011, 166(2): 227-234.
- [35] Summers SA, Steinmetz OM, Li M, et al. Th1 and Th17 cells induce proliferative glomerulonephritis [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20(12): 2518-2524.
- [36] Guo L, Huang J, Chen M, et al. T-lymphocyte-specific knockout of IKK-2 or NEMO induces Th17 cells in an experimental nephrotoxic nephritis mouse model [J]. *FASEB J*, 2019, 33(2): 2359-2371.
- [37] Paust HJ, Turner JE, Riedel JH, et al. Chemokines play a critical role in the cross-regulation of Th1 and Th17 immune responses in murine crescentic glomerulonephritis [J]. *Kidney Int*, 2012, 82(1): 72-83.
- [38] Sally H, Poh-Yi G, Ruth P, et al. Local IL-17 production exerts a protective role in murine experimental glomerulonephritis [J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0136238.
- [39] Diefenhardt P, Nosko A, Kluger MA, et al. IL-10 receptor signaling empowers regulatory T cells to control Th17 responses and protect from GN [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2018, 29(7): 1825-1837.
- [40] Seung HY, Su JK, Nakkyung K, et al. NKT cells inhibit the development of experimental crescentic glomerulonephritis [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2008, 19(9): 1663-1671.