

泌尿系结石动物模型的最新进展*

许悦贤¹ 郝宗耀^{1Δ}

[摘要] 近年来泌尿系结石发病率逐年上升,影响人们生活质量并加剧经济负担。尽管在治疗泌尿系结石方面取得了重大的技术进步,但其病因仍不清楚,在预防方面几乎没有取得进展。因此,迫切需要建立可靠的动物模型来研究结石形成的机制并评估新的干预措施。要想全面了解泌尿系结石形成的具体过程及防治方法,最好的方法是在建立一个可靠的、标准化的动物模型上进行研究。正是基于这一目标,本文就研究人员诱导泌尿系结石形成的方法进行综述,介绍迄今为现有动物模型的诱导方法和优缺点。

[关键词] 泌尿系结石;动物;模型

DOI:10.13201/j.issn.1001-1420.2022.07.014

[中图分类号] R691.4 **[文献标志码]** A

Recent advances in animal models of urinary calculi

XU Yuexian HAO Zongyao

(Department of Urology, First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Institute of Urology, Anhui Medical University, Anhui Province Key Laboratory of Genitourinary Diseases, Hefei, 230022, China)

Corresponding author: HAO Zongyao, E-mail: haozongyao@163.com

Summary In recent years, the incidence of urinary calculi has increased year by year, and the disease affects people's quality of life and increases economic burden. Despite significant technological advances in the treatment of urinary calculi, the cause is still unclear, and little progress has been made in prevention. Therefore, there is an urgent need to establish reliable animal models to study the mechanism of stone formation and evaluate new interventions. To fully understand the specific process and prevention methods of urinary calculi formation, the best way is to establish a reliable and standardized animal model. Based on this goal, this article reviews the methods for researchers to induce the formation of urinary stones, and introduces the induction methods, advantages and disadvantages of the existing animal models so far.

Key words urolithiasis; animal; model

泌尿系结石是一种常见的疾病,严重影响人们的健康和生活质量,其可以引起明显的临床症状,包括尿路感染、腰痛、肾盂积水、肾功能下降等。在亚洲,不同国家发病率不同,约 1.0%~19.1%^[1]。Wang 等^[2]进行了荟萃分析来评估中国大陆从 1990—2016 年的结石患病率,总患病率为 7.54%,并随年龄增长而增加,男性比女性发病率高,城市和农村地区的患病率没有差异。由于在第 1 次发作后的 5~10 年内复发率高达 50%^[3],所以重复手术干预的比例很高。此外,泌尿系结石所造成的经济负担巨大,预计在 2030 年,美国为此支出 41 亿美元^[4]。由于泌尿系结石的影响因素多元化,缓解方法困难,因此必须有可行的动物模型被用于研究该疾病。本文将介绍不同种类的结石,重点阐述现

有的结石动物模型的具体诱导方式及其优缺点。根据结石成分不同以及学者们研究的需要,本文通过以下几种类型来进行介绍。

1 草酸钙结石模型

在各种不同的结石种类中草酸钙结石比例最高,约占 80%左右,所以建立草酸钙动物模型对研究泌尿系结石的机制有重要意义。

1.1 乙二醇诱导的大鼠草酸钙模型

乙二醇联合 2%氯化铵是经典的草酸钙结石造模的方法。乙二醇作为草酸的前体,是此模型的基础促石剂,其在体内转化为羟乙酸,然后再转化为乙醛酸,最后形成草酸;羟乙酸也可在羟乙酸氧化酶的作用下直接转化为草酸。氯化铵可以使尿液酸化并且降低尿 pH 值,并且氯化铵有一定肾毒

*基金项目:国家自然科学基金面上项目(No:82070724);安徽省自然科学基金面上项目(No:1908085MH246)

¹安徽医科大学第一附属医院泌尿外科 安徽医科大学泌尿外科研究所 泌尿生殖系统疾病安徽省重点实验室(合肥,230022)

^Δ审校者

通信作者:郝宗耀,E-mail:haozongyao@163.com

性,可以直接损害肾小管上皮,这有利于草酸钙晶体形成,所以控制氯化铵的量就尤为重要,过少会无法达到成石的效果,过多就会造成老鼠的死亡。Lan 等^[5]用 1% 乙二醇自由饮用 4 周,其中前 5 d 联合氯化铵大鼠灌胃造模成功。通过苏木精-伊红(HE)染色发现晶体沉积在皮质和髓质的管腔内,形状和大小不规则且大多数管腔扩张。

1.2 羟脯氨酸诱导的大鼠草酸钙模型

羟脯氨酸为近年来发现的一种草酸前体,并能最终可能诱发草酸钙结石形成。羟脯氨酸在酶催化下生成丙酮酸和乙醛酸,后者又在各种代谢酶的作用下最终形成代谢终产物草酸。Zhou 等^[6]在正常鼠粮中加入 5% (w/w) 的羟脯氨酸,28 d 可造模成功。与乙二醇和氯化铵的模型相比,羟脯氨酸的肾毒性要更低。但它也有其局限性,这包括价格昂贵以及由肾再吸收和羟脯氨酸的皮质代谢所引起的潜在毒性可能与所观察到的一些肾脏损伤效应有关,而这些变化不一定是由高草酸尿或小叶内钙晶体沉积引起^[7]。因此,有必要行进一步研究。

1.3 乙醛酸诱导的小鼠草酸钙模型

小鼠虽然是最常见的实验动物,但通常认为采用诱导大鼠草酸钙结石的方法是无法在小鼠上取得成功。然而,为了研究肾结石形成的遗传基础,建立小鼠肾结石模型是必不可少的。Liu 等^[8]用 6~8 周龄的 C57BL/6J 雄性鼠建立了草酸钙沉积的小鼠模型,每只小鼠连续 2 周每天接受腹腔内给药乙醛酸(75 mg/kg,200 mL)就可成模。尽管小鼠模型具有基因组优势(平均约 85% 的碱基对是相同的),且与大鼠比较,小鼠的研究和饲养成本要更低,但其与人类肾结石疾病相关的整体准确性和一致性在研究人员中仍存在争议。

1.4 基因敲除的小鼠草酸钙模型

基因敲除的小鼠模型较诱导模型相比更加稳定,Slc26a6 在调节肠道分泌草酸的过程中起着至关重要的作用,对维持草酸内环境稳定,预防高草酸尿和草酸钙肾结石具有重要作用^[9]。Slc26a6 缺失小鼠表现出异常的草酸盐稳态。经学者研究发现与野生型小鼠比较,基因敲除小鼠的尿液和血浆中的草酸盐浓度分别高出 2.0~3.5 倍和 1.5~2.0 倍,88% 的雄性小鼠和 25% 的雌性小鼠在 3~6 个月时检测到明显的膀胱结石,大部分草酸钙晶体沉淀在肾小管,少部分则沉淀在集合管中^[10]。此小鼠模型依赖于诱导高草酸尿,但除原发性高草酸尿患者外,人类肾结石患者有高草酸尿的相对较少。Randall 斑块诱发结石的形成已成为目前被认可的结石形成机制之一。学者通过研究发现随着年龄的增长,Abcc6-/-小鼠出现肾间质的磷灰石钙化,这些钙化物出现在肾乳头的顶端,形成兰德尔斑块,这与在人类肾脏中观察到的情况类似,且与对

照组比较,Abcc6-/-小鼠尿焦磷酸盐排泄率较低^[11]。进一步研究发现结合钙和维生素 D 的摄入会加速 Abcc6-/-小鼠 Randall 斑块的形成^[12]。目前 Abcc6-/-小鼠被用来作为 Randall 斑块动物模型来进行研究。

1.5 其他动物的草酸钙模型

到目前为止大鼠是草酸钙结石的主要动物模型,然而,猪可能是一个更合适的模型,因为它在解剖学和生理学上与人类更相似,对人类来说,猪是最符合解剖学和生理学的哺乳动物。猪造成结石模型以后可以让年轻医生练习手术技巧,Trojan 等^[13]用含 0.8% 乙二醇饮用水自由饮用+2 μg/kg 维生素 D,28 d 能造模成功,且这种方式模型指标性最强,无肾毒性。

近几年,有学者通过果蝇来进行肾结石疾病的研究。果蝇的马氏管相当于肾脏,其在解剖结构、生理功能、基因组成与细胞分子水平上与人肾小管是高度相似的^[14]。通过改变环境或遗传因素可以诱导马氏管产生大量的草酸钙结晶^[15]。Chung 等^[16]在标准培养基中添加 0.5% 乙二醇(EG),2 周后可造模成功。果蝇具有繁殖快、解剖简单、饲养成本低、遗传学操作方便快捷等优势,通过果蝇结石模型来进行研究基因是一个绝佳选择,但这个模型的缺点是果蝇的体积过小,血液和淋巴液含量少,尿液是直接进入结肠,所以无法收集可用于生化检测的血、尿标本,这使得观察到马氏管结石的研究均留于表象。

2 三聚氰胺结石模型

三聚氰胺主要被用来生产三聚氰胺-甲醛树脂。2008 年 9 月发生的婴幼儿奶粉污染事件使三聚氰胺的毒性引起广泛关注。三聚氰胺本身在进入人体后大部分可自然排出,但当三聚氰胺在血液中被吸收时,它与尿酸、磷酸盐、草酸或三聚氰酸结合,它们在过滤后的尿液中聚集、相互作用并结晶,进而形成结晶栓塞,在肾小管段堵塞和铸型,或在肾间质弥散结晶,引起肾细胞坏死或炎症^[17]。Wang 等^[18]用 Wistar 大鼠分成 3 组都给予正常饮食,第 1 组接受三聚氰胺 200 mg/kg 每天灌胃,第 2 组三聚氰酸 200 mg/kg 每天灌胃,第 3 组三聚氰胺联合三聚氰酸各 100 mg/kg 每天灌胃,持续 2 周后发现第 3 组造模成功,肾小管上皮结构和细胞器受损出现管腔扩张和炎症反应,镜下发现明显结晶。Cong 等^[19]发现三聚氰胺喂养的大鼠的结石组成与三聚氰胺掺假配方奶粉喂养的婴儿的结石组成不同,2 种结石形成机制不同;三聚氰胺的暴露可能导致大鼠尿液代谢性致石因子异常,可能对人类也有影响。建立其动物模型的意义在于为体外溶石研究提供实验基础,不足之处就在于大鼠和人形成三聚氰胺结石的机制有所差异。

3 磷酸铵镁结石模型

产尿素酶细菌(如:变形杆菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌等)引起的尿路感染形成典型的磷酸铵镁^[20]。磷酸铵镁结石又称为感染性结石,其多见于女性,可以迅速生长,如果不进行干预,它们可以发展成充满整个肾脏集合系统的鹿角形结石并且形成的时间短于含钙结石^[21],与其他类型的结石比较,它们会造成更严重的临床并发症。感染性结石的形成和感染与能够产生氨或分解尿素的以变形杆菌为主的微生物有关。这些微生物会感染尿道,将尿素水解成氨,从而使尿液的pH值升高到碱性,多余的氨与磷酸盐和镁离子发生反应,形成结石。Cherng等^[22]麻醉大鼠之后用0.2 mL的包含 1×10^7 CFU的奇异变形杆菌盐水经腹腔注入膀胱,感染后7 d,在膀胱内发现颗大小不一的晶体。洪扬等^[23]经过各种尝试之后选择膀胱直视下注射菌液,麻醉大鼠之后取耻骨弓上方下腹部正中切口,切开腹腔,提起膀胱,使用无菌注射器于膀胱顶部注射稳定的浓度为 1×10^8 CFU/mL $\sim 2 \times 10^8$ CFU/mL细菌注入,21 d后发现膀胱出现结石样物。由于感染性结石的高复发性和持久性,因此寻找有效、安全的结石形成抑制剂非常重要,这就需要稳定的动物模型供学者研究。目前的实验方法只能构成膀胱结石模型,暂时没有好的方法能造成肾脏结石模型。因为老鼠的输尿管过于细小没有好的方法将细菌通过输尿管置入肾脏之中;而体外肾脏穿刺的方法也很难成功,且存在细菌进入血液导致感染性休克的风险。肾脏感染性结石模型还有待广大学者进一步探索。

4 胱氨酸结石模型

胱氨酸尿症是一种遗传性疾病,与近端小管上皮细胞的再吸收障碍有关,其特征是尿中胱氨酸的过度排泄和肾脏中胱氨酸结石的复发,男性通常比女性受影响更严重,并且可能导致许多患者的慢性肾病^[24]。与草酸钙结石比较,胱氨酸结石更易导致肾功能损伤^[25]。目前有4种小鼠模型,分别是Slc3a1敲除^[26]、诱导突变(D140G)^[27]、自发突变(E383K)^[28]、Slc7a9敲除^[29]。Espino等^[30]用第1种和第4种杂交以后也产生了胱氨酸尿症模型。近些年胱氨酸尿症发病分子机制基本明确,但仍没有治愈性治疗措施。因此,制造动物模型对胱氨酸结石的长期防治是一个非常重要的手段。

5 尿酸结石模型

尿酸结石在世界范围发病率正逐渐升高,中国的发病率约3.6%^[31]。尿酸是人类嘌呤代谢的终点,但与人类不同的是,在老鼠体内有一种叫作尿酸酶的酶,它可以催化尿酸转化为尿囊素,所以尿液中的尿酸并不会增高。有学者发现^[32],AhR基因敲除小鼠尿液中的尿酸水平显著升高,所有8月

龄的小鼠的膀胱结石直径为3~4 mm,其组成几乎为100%尿酸,在10周龄时检测了小鼠膀胱组织,与杂合子的小鼠相比黏膜下层纤维化增加,在6个月时会更严重。因为达尔马提亚犬尿酸代谢的遗传缺陷,所以被认为是一种独特的有患尿酸结石倾向的动物^[33],只需要挑选出患有尿酸结石的狗就可以用来作为研究对象,但是价格于啮齿动物比较就十分昂贵。如果全球人民继续维持目前的营养趋势,尿酸结石的患病率将会增加,其治疗可从改变生活方式、减少尿酸排泄和尿碱化等方面入手,稳定的动物模型显得格外重要。

6 遗传性高钙尿结石大鼠模型

含钙结石包括草酸钙和磷酸钙结石,占结石总数的80%以上^[34]。特发性高钙尿一种发病机制未明的疾病,其患者血清钙含量正常,1,25-二羟基维生素D3[1,25(OH)2D3]正常或升高,甲状旁腺激素正常或升高,血清磷酸盐正常或降低。目前已培育出有着相似代谢特点的动物模型,这一大鼠模型是通过SD大鼠选择性近亲繁殖来增加尿钙排泄,最终得到遗传性高钙尿结石大鼠被称为GHS大鼠。当喂以标准的、充足的钙饮食时,每个GHS大鼠都会出现肾结石,每个的钙排泄量大约是SD对照组的10倍。经过研究,GHS大鼠胃肠道钙吸收增加,骨钙的吸收也更多,肾小管钙吸收减少^[35]。通过研究这种模型的大鼠,可以直接研究饮食改变和药物治疗对高钙尿、尿过饱和度、结石形成和骨骼质量的影响,而这些影响在人类身上是不可能的。

7 纳米细菌大鼠肾结石模型

纳米细菌(nanobacteria, NB)感染被认为是结石形成的主要原因之一,又被称为钙化纳米颗粒,最早由芬兰科学家Kajander于1988年发现,并于1990年命名。NB是一种具有超微结构的人体病原菌,具有较强的感染能力,NB可诱导HK-2细胞脂质过氧化,使HK-2细胞与COM呈时间依赖性黏附,对HK-2细胞造成损伤^[36],NB作为钙化的核心能在菌体外周形成羟磷灰石结晶外壳,黏附并损害集合管上皮细胞及肾乳头细胞,从而形成结石^[37]。其在结石患者和终末期慢性肾病(CKD)患者的肾脏中可以检测到,而在健康群体的肾脏中则无法检测到^[38]。造模之前首先需要培养NB细菌,Zhang等^[39]收集肾结石患者手术中取出的结石,在分析中使用的结石均为草酸钙和磷酸钙结石,这些结石被洗净并碾碎成小块,然后用盐酸脱矿。通过中和、过滤(0.45 μm)、离心之后放入含10%热灭活γ-FBS的RPMI-1640培养液中,然后放入一个孵化器在37.5%的二氧化碳。每2周更换1次,持续8周。培养完成之后SD大鼠经尾静脉注射NB(OD=2.0,0.4 mL)。连续8周后发现肾皮质和髓质有明显的病理病变,表现为刷状边界消失、空

泡化、管状上皮细胞透明样铸型;MCP-1、IL-6、Bax 和 Bcl-2 在肾组织中表达增多。纳米细菌对大鼠肾脏形成损伤,最终导致肾结石的发生。NB 的发现对泌尿系结石研究产生了较大的影响,动物模型的建立有助于学者们进行进一步研究。

8 总结与展望

随着社会进步和科学发展,泌尿系结石的流行病学、基础研究、诊疗手段均出现了许多新进展和新突破。但是目前泌尿系结石形成的机制和防治方法仍然研究不足。想要能够进行更深层次更精准的研究,可靠的动物模型是必不可少的,这就意味需要一种被认可的标准化模型。最终,学科内最好能就泌尿系结石动物模型达成一致,这样可以使各个学者的研究能够进行一个合理的比较。到目前为止,每一个动物模型的终点是在尿液或肾脏的组织学检查中发现晶体的存在。虽然晶体可能是最终聚集的早期形式,但在临床实践中结晶尿并不一定等于未来的结石形成。因此,需要进一步的研究来确定结晶过程是否独立于结石的形成。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Liu Y, Chen Y, Liao B, et al. Epidemiology of urolithiasis in Asia[J]. *Asian J Urol*, 2018, 5(4): 205-214.
- [2] Wang W, Fan J, Huang G, et al. Prevalence of kidney stones in mainland China: A systematic review[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 41630.
- [3] Khan SR, Pearle MS, Robertson WG, et al. Kidney stones[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2016, 2: 16008.
- [4] Antonelli JA, Maalouf NM, Pearle MS, et al. Use of the National Health and Nutrition Examination Survey to calculate the impact of obesity and diabetes on cost and prevalence of urolithiasis in 2030 [J]. *Eur Urol*, 2014, 66(4): 724-729.
- [5] Lan C, Chen D, Liang X, et al. Integrative Analysis of miRNA and mRNA Expression Profiles in Calcium Oxalate Nephrolithiasis Rat Model[J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 8306736.
- [6] Zhou J, Jin J, Li X, et al. Total flavonoids of *Desmodium styracifolium* attenuates the formation of hydroxy-L-proline-induced calcium oxalate urolithiasis in rats [J]. *Urolithiasis*, 2018, 46(3): 231-241.
- [7] Sivalingam S, Nakada SY, Sehgal PD, et al. Dietary hydroxyproline induced calcium oxalate lithiasis and associated renal injury in the porcine model[J]. *J Endourol*, 2013, 27(12): 1493-1498.
- [8] Liu H, Ye T, Yang X, et al. H19 promote calcium oxalate nephrocalcinosis-induced renal tubular epithelial cell injury via a ceRNA pathway[J]. *EBioMedicine*, 2019, 50: 366-378.
- [9] Assimos DG. Re: N-Glycosylation Critically Regulates Function of Oxalate Transporter SLC26A6 [J]. *J Urol*, 2017, 197(2): 411-412.
- [10] Jiang Z, Asplin JR, Evan AP, et al. Calcium oxalate urolithiasis in mice lacking anion transporter Slc26a6 [J]. *Nat Genet*, 2006, 38(4): 474-478.
- [11] Letavernier E, Kauffenstein G, Huguet L, et al. AB-CC6 Deficiency Promotes Development of Randall Plaque [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2018, 29 (9): 2337-2347.
- [12] Boudierlique E, Tang E, Perez J, et al. Vitamin D and Calcium Supplementation Accelerates Randall's Plaque Formation in a Murine Model[J]. *Am J Pathol*, 2019, 189(11): 2171-2180.
- [13] Trojan BP, Trojan SJ, Navetta A, et al. Novel porcine model for calcium oxalate stone formation [J]. *Int Urol Nephrol*, 2017, 49(10): 1751-1761.
- [14] Miller J, Chi T, Kapahi P, et al. *Drosophila melanogaster* as an emerging translational model of human nephrolithiasis[J]. *J Urol*, 2013, 190(5): 1648-1656.
- [15] Chen YH, Liu HP, Chen HY, et al. Ethylene glycol induces calcium oxalate crystal deposition in malpighian tubules: a *Drosophila* model for nephrolithiasis/urolithiasis[J]. *Kidney Int*, 2011, 80(4): 369-377.
- [16] Chung VY, Turney BW. A *Drosophila* genetic model of nephrolithiasis: transcriptional changes in response to diet induced stone formation[J]. *BMC Urol*, 2017, 17(1): 109.
- [17] Lee IC, Ko JW, Park SH, et al. Melamine and cyanuric acid co-exposure causes renal dysfunction and structural damage via MAPKs and mitochondrial signaling [J]. *Food Chem Toxicol*, 2016, 96: 254-262.
- [18] Wang F, Liu Q, Jin L, et al. Combination exposure of melamine and cyanuric acid is associated with polyuria and activation of NLRP3 inflammasome in rats [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2018, 315 (2): F199-F210.
- [19] Cong X, Gu X, Xu Y, et al. The true stone composition and abnormality of urinary metabolic lithogenic factors of rats fed diets containing melamine[J]. *Urolithiasis*, 2014, 42(3): 227-232.
- [20] 苏晓伟, 王大明, 丁德茂, 等. 感染性结石的相关临床易感因素研究[J]. *临床泌尿外科杂志*, 2021, 36(4): 284-287.
- [21] Torzewska A, Rozalski A. Inhibition of crystallization caused by *Proteus mirabilis* during the development of infectious urolithiasis by various phenolic substances [J]. *Microbiol Res*, 2014, 169(7-8): 579-584.
- [22] Cherng JH, Hsu YJ, Liu CC, et al. Activities of Ca²⁺-related ion channels during the formation of kidney stones in an infection-induced urolithiasis rat model [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2019, 317 (5): F1342-F1349.
- [23] 洪扬, 叶海云, 黄晓波, 等. 大鼠感染性结石模型的探索研究 [J]. *临床泌尿外科杂志*, 2019, 34 (10): 813-815.
- [24] Sahota A, Tischfield JA, Goldfarb DS, et al. Cystinuria: genetic aspects, mouse models, and a new ap-

- proach to therapy [J]. *Urolithiasis*, 2019, 47 (1): 57-66.
- [25] Shen L, Sun X, Zhu H, et al. Comparison of renal function and metabolic abnormalities of cystine stone patients and calcium oxalate stone patients in China [J]. *World J Urol*, 2013, 31(5): 1219-1223.
- [26] Zee T, Bose N, Zee J, et al. α -Lipoic acid treatment prevents cystine urolithiasis in a mouse model of cystinuria [J]. *Nat Med*, 2017, 23(3): 288-290.
- [27] Feliubadaló L, Arbonés ML, Mañas S, et al. Slc7a9-deficient mice develop cystinuria non-I and cystine urolithiasis [J]. *Hum Mol Genet*, 2003, 12(17): 2097-2108.
- [28] Ercolani M, Sahota A, Schuler C, et al. Bladder outlet obstruction in male cystinuria mice [J]. *Int Urol Nephrol*, 2010, 42(1): 57-63.
- [29] Peters T, Thaete C, Wolf S, et al. A mouse model for cystinuria type I [J]. *Hum Mol Genet*, 2003, 12(17): 2109-2120.
- [30] Espino M, Font-Llitjós M, Vilches C, et al. Digenic Inheritance in Cystinuria Mouse Model [J]. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0137277.
- [31] Trinchieri A, Montanari E. Prevalence of renal uric acid stones in the adult [J]. *Urolithiasis*, 2017, 45(6): 553-562.
- [32] Butler R, Inzunza J, Suzuki H, et al. Uric acid stones in the urinary bladder of aryl hydrocarbon receptor (AhR) knockout mice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(4): 1122-1126.
- [33] Carvalho M, Lulich JP, Osborne CA, et al. Role of urinary inhibitors of crystallization in uric acid nephrolithiasis: Dalmatian dog model [J]. *Urology*, 2003, 62(3): 566-570.
- [34] Assimos DG. Re: Stone Composition among First-Time Symptomatic Kidney Stone Formers in the Community [J]. *J Urol*, 2016, 195(2): 383-384.
- [35] Frick KK, Krieger NS, Bushinsky DA. Modeling hypercalciuria in the genetic hypercalciuric stone-forming rat [J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2015, 24(4): 336-344.
- [36] Hong X, Wang X, Wang T, et al. Role of nanobacteria in the pathogenesis of kidney stone formation [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(7): 3227-3234.
- [37] 栗宏伟, 王杰, 朱永生, 等. 钙化性纳米微粒致大鼠肾结石模型的构建 [J]. *重庆医学*, 45(3): 310-312.
- [38] Wong TY, Wu CY, Martel J, et al. Detection and characterization of mineralo-organic nanoparticles in human kidneys [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 15272.
- [39] Zhang Y, Zhu R, Liu D, et al. Tetracycline attenuates calcifying nanoparticles-induced renal epithelial injury through suppression of inflammation, oxidative stress, and apoptosis in rat models [J]. *Transl Androl Urol*, 2019, 8(6): 619-630.

(收稿日期: 2020-12-03 修回日期: 2022-05-13)

(上接第 558 页)

- [50] Luchini C, Bibeau F, Ligtenberg M, et al. ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1/PD-L1 expression and tumour mutational burden: a systematic review-based approach [J]. *Ann Oncol*, 2019, 30(8): 1232-1243.
- [51] Huang R, Haberberger J, Severson E, et al. A pan-cancer analysis of PD-L1 immunohistochemistry and gene amplification, tumor mutation burden and microsatellite instability in 48,782 cases [J]. *Mod Pathol*, 2021, 34(2): 252-263.
- [52] Marcus L, Lemery SJ, Keegan P, et al. FDA Approval Summary: Pembrolizumab for the Treatment of Microsatellite Instability-High Solid Tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(13): 3753-3758.
- [53] Abida W, Cheng ML, Armenia J, et al. Analysis of the Prevalence of Microsatellite Instability in Prostate Cancer and Response to Immune Checkpoint Blockade [J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5(4): 471-478.
- [54] Tucker MD, Zhu J, Marin D, et al. Pembrolizumab in men with heavily treated metastatic castrate-resistant prostate cancer [J]. *Cancer Med*, 2019, 8(10): 4644-4655.
- [55] Subudhi SK, Vence L, Zhao H, et al. Neoantigen responses, immune correlates, and favorable outcomes after ipilimumab treatment of patients with prostate cancer [J]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(537): 3577-3588.
- [56] Sun J, Li S, Wang F, et al. Identification of key pathways and genes in PTEN mutation prostate cancer by bioinformatics analysis [J]. *BMC Med Genet*, 2019, 20(1): 191.
- [57] Peng W, Chen JQ, Liu C, et al. Loss of PTEN Promotes Resistance to T Cell-Mediated Immunotherapy [J]. *Cancer Discov*, 2016, 6(2): 202-216.
- [58] Rescigno P, Gurel B, Pereira R, et al. Characterizing CDK12-Mutated Prostate Cancers [J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(2): 566-574.
- [59] Kast F, Klein C, Umaña P, et al. Advances in identification and selection of personalized neoantigen/T-cell pairs for autologous adoptive T cell therapies [J]. *Oncoimmunology*, 2021, 10(1): 1869389.
- [60] Orlando D, Miele E, De Angelis B, et al. Adoptive Immunotherapy Using PRAME-Specific T Cells in Medulloblastoma [J]. *Cancer Res*, 2018, 78(12): 3337-3349.
- [61] 成丁财, 王睿昊, 昂小杰, 等. 基于单细胞测序筛选转移性前列腺癌靶基因 [J]. *临床泌尿外科杂志*, 2021, 36(8): 643-652.

(收稿日期: 2021-09-14 修回日期: 2022-06-08)