

路永欣, 李佳, 谭文彬. 高尿酸血症相关基因修饰的动物模型研究进展[J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(10): 1361-1368.
LU Y X, LI J, TAN W B. Genetically modified animal models of hyperuricemia [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(10): 1361-1368.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2024.10.014

高尿酸血症相关基因修饰的动物模型研究进展

路永欣^{1,2}, 李佳^{1,2*}, 谭文彬^{1,2}

(1. 解放军南部战区总医院内分泌科, 广州 510010; 2. 南方医科大学第一临床医学院, 广州 510515)

【摘要】 基因敲除技术日益成为建立高尿酸血症(hyperuricemia, HUA)动物模型强有力的工具, HUA 相关基因敲除的动物模型不仅有助于揭示尿酸代谢的分子机制, 而且对于评估潜在治疗策略具有重要价值。通过查阅国内外文献详细探讨了基因敲除技术在构建 HUA 动物模型中的应用, 重点关注了尿酸氧化酶(urate oxidase, UOX)、葡萄糖转运蛋白 9(glucose transporter 9, GLUT9)和 ATP 结合盒转运体 G2(ATP-binding cassette transporter G2, ABCG2)等蛋白的基因在实验动物中的敲除, 以期为进一步利用基因敲除技术建立 HUA 动物模型提供参考和指导。

【关键词】 基因敲除; 高尿酸血症; 动物模型; 尿酸氧化酶; 葡萄糖转运蛋白 9

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2024) 10-1361-08

Genetically modified animal models of hyperuricemia

LU Yongxin^{1,2}, LI Jia^{1,2*}, TAN Wenbin^{1,2}

(1. Department of Endocrinology, General Hospital of Southern Theater Command of the People's Liberation Army, Guangzhou 510010, China; 2. the First School of Clinical Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

Corresponding author: LI Jia. E-mail: gdnflj@126.com

【Abstract】 Gene-knockout technology is increasingly used as a powerful tool for establishing animal models of hyperuricemia (HUA). HUA gene-knockout animal models are not only helpful in revealing the molecular mechanisms of uric acid metabolism but are also of great value for evaluating potential therapeutic strategies. In this paper, the application of gene-knockout technology in HUA animal models is discussed in detail by reviewing the domestic and foreign literature, focusing on the knockout of urate oxidase, glucose transporter 9, and ATP-binding cassette transporter G2. The review provides a reference and guidance for the further establishment of HUA animal models by gene knockout technology.

【Keywords】 knockout of genes; hyperuricemia; animal models; UOX; GLUT9

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

高尿酸血症(hyperuricemia, HUA)不仅会导致尿酸结晶沉积在关节和软组织中, 引发剧烈疼痛和功能障碍, 还与心血管疾病、高血压和肾疾病的发生发展密切相关^[1-3]。尿酸在体内的重吸收及排泄有赖于尿酸转运体。其中, 葡萄糖转运体 9(glucose transporter 9, GLUT9)和尿酸盐阴离子转运体 1

(urate-anion transporter 1, URAT1)主要参与尿酸的重吸收过程; 而三磷酸腺苷结合盒转运蛋白 G2(ATP-binding cassette superfamily G member 2, ABCG2)主要负责尿酸的排泄。GLUT9 由 SLC2A9 基因编码, 主要在人和小鼠肝细胞和肾小管中表达。URAT1 是由 SLC22A12 基因编码的尿酸-阴离

【基金项目】 南部战区总医院科技计划课题(2021NZA001)。

Funded by Science and Technology Project of General Hospital of Southern Theater Command(2021NZA001)。

【作者简介】 路永欣, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 高尿酸血症的诊治。Email: lyxdoct@163.com

【通信作者】 李佳, 女, 研究生导师, 研究方向: 高尿酸血症、糖尿病及相关并发症的诊治。Email: gdnflj@126.com

子转运蛋白,主要表达在肾小管上皮细胞刷状缘膜。ABCG2 由位于 4 号染色体上的 *ABCG2* 基因编码,是嘌呤核苷酸及其衍生物的转运蛋白,在肝、肾和肠中均有表达^[4]。由于啮齿类动物体内存在尿酸酶基因,尿酸可进一步分解为尿囊素而排出体外,因此,啮齿类动物与人类血清尿酸水平差异显著^[5]。近年来,随着基因敲除技术的发展,研究者可以更深入地探索 HUA 的病理生理机制。通过特异性敲除与尿酸代谢相关的基因,研究人员能够开发出模拟人类 HUA 的动物模型。这些模型不仅有助于揭示尿酸代谢紊乱的分子基础,还能够用于评估潜在治疗干预的效果和安全性^[6-8]。本文将探讨 HUA 相关基因敲除动物模型的最新进展以及这些模型的局限性及潜在应用方向,以期推动 HUA 治疗策略的发展。

1 基于基因敲除技术构建的 HUA 啮齿类动物模型

1.1 尿酸氧化酶(urate oxidase, *Uox*)基因敲除的 HUA 大小鼠模型

由于 *UOX* 基因在人类和类人猿进化过程中经历了突变,导致人类的血清尿酸水平是其他哺乳动物的 10 倍^[9-10]。然而,不同于人类的是,啮齿类动物 *Uox* 基因仍然具有功能,能够编码尿酸酶将尿酸降解为尿囊素^[5]。为构造 HUA 动物模型,已有研究通过敲除小鼠 *Uox* 基因以产生类似于人类的模型来研究 HUA。WU 等^[11]于 1994 年首次采用胚胎干细胞同源重组技术构建了 *Uox* 基因敲除(*Uox*-knockout, *Uox*-KO)小鼠模型,研究者将新霉素选择盒插入 *Uox* 基因外显子 3 中,打乱了开放阅读框,以此中断 *Uox* 基因表达。研究人员将该盒插入小鼠胚胎干细胞中,经同源重组和筛选后,将靶向胚胎干细胞注射到 C57BL/6J 小鼠的囊胚中,从而产生嵌合体;杂合的 *Uox*^{+/−}小鼠通过杂交产生纯合的 *Uox*-KO 小鼠品系。*Uox*-KO 小鼠的血清尿酸水平为 $654.5 \pm 101.15 \mu\text{mol/L}$,是野生型($53.6 \pm 17.9 \mu\text{mol/L}$)和杂合子小鼠($83.3 \pm 29.8 \mu\text{mol/L}$)的 10 倍左右。*Uox*-KO 小鼠可存活,但 4 周时纯合子小鼠死亡率高达 65%,且其肾出现了严重病变,肾活检可见多囊、尿酸结晶沉积、肾小管变性、肾小球萎缩。另外,杂合子交配产生的 *Uox*-KO 小鼠占有后代的百分比为 7.1%,远低于孟德尔遗传定律预期的比例,这表明 *Uox* 基因敲除与胚胎致死率升高

有关。由此可见,初代 *Uox*-KO 小鼠出现胚胎致死性且死亡率高,限制了其在研究中的广泛应用。

2018 年 LU 等^[12]采用转录激活因子样核酸酶(transcription activator-like effector nuclease, TALEN)技术,在纯 C57BL/6J 遗传背景上建立了 *Uox*-KO 小鼠。这些 *Uox*-KO 小鼠的尿酸水平升高,展现出与人类 HUA 患者相似的尿酸水平升高模式,即尿酸水平在 $420 \sim 520 \mu\text{mol/L}$ 之间稳定升高,且雄性 *Uox*-KO 小鼠的尿酸水平高于雌性小鼠,约 40% 的 *Uox*-KO 小鼠存活至 62 周。但小鼠出现了肾单位坏死、肾小管间质纤维化等肾功能障碍表现,雄性小鼠表现出糖耐量受损,这可能与胰岛细胞受损胰岛素分泌减少相关;而雌性小鼠出现高血压及脂代谢紊乱。该 HUA 小鼠模型展现出与 HUA 患者相似的血清尿酸水平,且死亡率低于 WU 等^[11]所报道的死亡率。存活下来的 *Uox*-KO 小鼠在长达 62 周的时间里保持稳定的高血清尿酸水平,证明该模型可能适合长期研究。但这种小鼠因自身免疫力较差,需在无菌环境下饲养,因此较难推广使用。

基于以上所构建的基因敲除小鼠均出现存活率较低问题,2020 年 YU 等^[6]用 CRISPR/Cas9 技术敲除大鼠 *Uox* 基因,产生的 *Uox*-KO 大鼠一年存活率可达 95%,其尿酸水平尽管远高于野生型大鼠,但并未达到预期水平^[11-12]。雄性 *Uox*-KO 大鼠血清尿酸水平 $287.4 \pm 113.6 \mu\text{mol/L}$ 显著高于雌性大鼠 $237.4 \pm 123.8 \mu\text{mol/L}$,但所有 *Uox*-KO 大鼠的血清尿酸水平均不足以诊断为 HUA。为了建立“真正的”HUA(血清尿酸 $> 420 \mu\text{mol/L}$)模型,应增加其他措施,如增加嘌呤摄入量或限制尿酸盐排泄。从代谢角度分析,该 *Uox*-KO 大鼠未观察到明显的血脂和血糖的明显紊乱。尽管尿酸酶缺乏可显著影响甘油三酯和低密度脂蛋白水平,但评价血脂的各项指标均接近或在正常范围内。虽然 *Uox*-KO 大鼠的相关肾功能指标血肌酐(serum creatinine, Scr)及尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)也接近或在正常范围内,但这并不意味着敲除大鼠 *Uox* 基因对其肾功能没有负面影响,*Uox*-KO 大鼠 BUN 显著高于野生型大鼠,且 *Uox*-KO 大鼠的肾组织学检查提示肾小球与肾小管有轻微损伤^[6]。CRISPR/Cas9 系统作为一种基因编辑技术,以其精准的靶向能力和高成功率的多 sgRNA 转染而受到广泛应用。该技术能够实现基因的敲入、重排、激活、抑制、重组以及敲除,具备高效性、专一性和成熟性等优势^[13]。这

可能是该模型存活率及肾损伤优于前两种建模小鼠的原因所在。故笔者认为考虑到该模型大鼠 1 年存活率高,且肾损伤小于 *Uox*-KO 小鼠^[11-12],因此基于 CRISPR/Cas9 技术构建的 *Uox*-KO 大鼠在应用上较 *Uox*-KO 小鼠更为广泛。

由于建立纯合子基因敲除鼠存活率较低, PANG 等^[14] 近期报道了一种条件性基因敲除小鼠,研究者使用 Cre/loxP 基因打靶系统产生了肝特异性 *Uox* 基因敲除 (conditional knockout *Uox*-deficient, *Uox*^{CKO}) 小鼠。与野生型小鼠对照, *Uox*^{CKO} 小鼠肝 *Uox* 表达显著抑制,但肾及肠道 *Uox* 表达接近对照组。 *Uox*^{CKO} 小鼠 23 周存活率可稳定至 90%, 4 ~ 22 周龄的 *Uox*^{CKO} 小鼠,血清尿酸水平在 394 ~ 521 $\mu\text{mol/L}$,显著高于野生型小鼠 (102 ~ 184 $\mu\text{mol/L}$),与人类 HUA 观察到的水平相当。 *Uox*^{CKO} 小鼠肝嘌呤从头合成路径增加,引起体内肌苷酸 (inosine monophosphate, IMP)、腺苷酸 (adenosine monophosphate, AMP) 和鸟苷酸 (guanosine monophosphate, GMP) 平显著升高。研究发现 *Uox*^{CKO} 小鼠肾中与尿酸重吸收相关的有机阴离子转运蛋白 1 (organic anion transporter, OAT1) 表达减少,同时出现了肾小管内尿酸结晶沉积和肾小管间质疾病。成年 *Uox*^{CKO} 小鼠也表现出尿液浓缩能力的丧失和进行性梗阻性肾疾病。30 周龄 *Uox*^{CKO} 小鼠的 24 h 饮水量显著高于对照组小鼠,24 h 尿量增加约 7 倍。由此可见,与传统的纯合子 *Uox*-KO 小鼠相比, *Uox*^{CKO} 小鼠不仅展现出与人类 HUA 患者相似的高尿酸水平,而且具有更高的存活率。尽管这种模型出现了进行性的肾小管间质损伤,但其肾损伤的特点与未经治疗的长期 HUA 患者的慢性肾损伤相似。因此,这一模型可作为研究 HUA 在慢性肾病中的病理机制的工具。

1.2 *Slc2a9* (*Glut9*) 基因敲除 HUA 小鼠模型

GLUT9 蛋白是葡萄糖转运蛋白家族的一员,也被命名为 SLC2A9,已被明确证明为尿酸转运体,它主要在肾、肝中表达,介导对尿酸的重吸收^[15-16],其序列突变会引起人类低尿酸血症^[17]。 *Glut9* 基因敲除分为全身系统性及器官特异性敲除,全身性 *Glut9*^{-/-} (together yielded *Glut9*, G9KO) 小鼠由 *Glut9*^{+/-} 小鼠杂交产生, G9KO 后代占总出生后代的比例大约是孟德尔频率的一半,提示该基因的缺失会造成部分胚胎死亡。 G9KO 小鼠尿酸重吸收受到严重抑制,血清尿酸浓度比杂合子及野生型小鼠升

高 5 ~ 10 倍。这与人类情况恰恰相反,考虑为在没有 GLUT9 的情况下,肝对尿酸的摄取受限而引起 HUA。同时 G9KO 小鼠摄水量和 24 h 尿量增加,表明肾浓缩功能缺陷。肾病理提示存在肾小管间质肾炎,伴有皮质萎缩和肾积水,类似于人类尿酸盐肾病。而肝特异性 *Glut9* 基因敲除 (liver-specific *Glut9*KO, LG9KO) 小鼠同样表现出血清尿酸水平显著升高及尿量增加,且 LG9KO 小鼠的血清尿酸升高程度高于 G9KO 小鼠,这可用 LG9KO 小鼠肾中的 GLUT9 重吸收尿酸盐导致血清尿酸相对升高解释。 LG9KO 小鼠虽然尿量较野生型小鼠增加,但是小鼠肾组织学仍正常。 G9KO 小鼠的肾损害类似于人类急性 HUA 肾病。因此,对 G9KO 小鼠的研究可能有助于探究相关疾病发生机制^[18]。

GLUT9 蛋白不仅在小鼠肝、肾中表达,同时也在肠细胞膜基底侧表达。肠道细胞特异性 *Glut9* 缺陷小鼠 (enterocyte-specific *Glut9*-deficient mice, G9EKO) 与野生型小鼠相比,表现出 65% 的尿酸摄取缺陷,粪便尿酸浓度也显著降低。由此可见, G9EKO 小鼠的肠道细胞摄取和排出尿酸功能受损。 G9EKO 小鼠的血清尿酸浓度及尿液中尿酸浓度显著高于野生型小鼠,但 G9EKO 小鼠表现出代谢综合征相关特征。 G9EKO 小鼠的总胆固醇、游离脂肪酸和甘油三酯显著升高,且出现早期胰岛素抵抗特征,空腹血浆胰岛素大约增加了 40%,同时心脏出现肥厚重塑表现^[15]。可见, G9EKO 小鼠表现出 HUA 患者的常见并发症,包括非酒精性脂肪性肝病和心血管疾病。因此本模型可以用来探讨 HUA 在代谢综合征及其并发症中发挥的作用。

在四环素诱导的肾特异性 *Glut9* 敲除 (subsequently called kidney-inducible KO, kiKO) 小鼠中研究人员发现肝 *Glut9* 基因表达也部分下降^[19]。 kiKO 小鼠尿液中尿酸/肌酐值及尿量增加,但比较 kiKO 小鼠与野生型小鼠的血清尿酸水平时,两组并无显著性差异。其原因可能是与人类相比,小鼠体内表达尿酸酶,它已经将血液中尿酸水平降至最低,可能不会进一步降低;其次, kiKO 小鼠肝 *Glut9* 基因被部分敲除,而小鼠肝中 *Glut9* 的缺失会导致血清尿酸水平的强烈增加^[18]。在 kiKO 小鼠中,肝 *Glut9* 的微小缺失可能足以钝化这些小鼠预期的低尿酸血症。最后,肾或其他器官中其他尿酸盐转运体的代偿机制可能会保持尿酸恒定。因此,可以观察到四环素诱导的 *Glut9* 基因敲除方法在精确性方

面未能完全达到预期效果,这表明该技术仍需在未来的研究中得到进一步的改进和优化。

1.3 *Abcg2* 基因敲除 HUA 小鼠模型

ABCG2 是一种高容量尿酸排泄蛋白,在多种器官的顶膜上表达,包括肠、肝和肾^[8]。TAKADA 等^[20]构建了雄性 *Abcg2* 基因敲除小鼠,为使该模型的尿酸代谢与人类相似,对 *Abcg2* 基因敲除小鼠采用氧嗪酸钾干预。与野生型小鼠相比,经氧嗪酸钾处理的 *Abcg2* 基因敲除小鼠的尿酸排泄分数(fractional excretion of urate clearance,尿酸排泄率/肌酐排泄率)和血清尿酸水平增加,而肠道尿酸盐的排泄减少。由于 ABCG2 蛋白被认为是介导肾尿酸盐排泄的媒介,该转运体基因缺失预期结果为增加血清尿酸浓度,减少尿液中尿酸盐的排泄。然而,在本研究中尿酸排泄分数反而增加,显示出相反的结论。这可能是因为 *Abcg2* 基因敲除小鼠中,肠道尿酸盐排泄减少引起血清尿酸值升高,同时有实验表明 *Abcg2* 基因敲除小鼠肾 URAT1 的表达减少^[21],URAT1 蛋白介导尿酸的重新吸收,从而引起尿酸在体内的重吸收减少,这可能是尿液中尿酸水平上升的原因。

1.4 其他基因敲除 HUA 小鼠模型

除了上述基因外,还有更多的基因敲除小鼠被开发。*Slc22a12* 基因编码尿酸转运蛋白 URAT1,介导尿酸在体内的重吸收^[22]。研究者通过与 pMC1neo-PolyA 交换外显子 1-4 来靶向敲除小鼠 *Slc22a12* 基因,*Slc22a12* (*Urat1*) 基因敲除小鼠没有表现出明显的异常,生长和繁殖正常。*Slc22a12* (*Urat1*) 基因敲除小鼠并未出现预期的低尿酸血症,与野生型小鼠相比血清尿酸水平未见明显差异^[7]。同时敲除 *Urat1* 和 *Uox* 基因小鼠与 *Uox* 单基因敲除小鼠之间的血清尿酸水平并无明显差异,使用别嘌醇后,*Urat1* 和 *Uox* 基因敲除小鼠出现低尿酸血症,是合适的肾性低尿酸动物模型。部分 *Urat1* 和 *Uox* 基因敲除小鼠观察到血肌酐值升高,即双基因敲除小鼠可以出现急性肾损伤^[23]。GLUT12 与 GLUT9 属于同一蛋白质家族,GLUT12 也可以作为尿酸转运体调节血清尿酸浓度。*Glut12-Uox* 双敲小鼠血清尿酸水平升高,且小鼠的肝尿酸浓度与血清尿酸浓度相比显著较低,这意味着 *Glut12* 可能参与尿酸盐从血液到肝的转运,敲除 *Glut12* 后,尿酸无法进入肝细胞进一步代谢。*Glut12-Uox* 双敲小鼠和野生型小鼠相比,血液中肌酐浓度和肾尿酸排泄分数并无

显著性差异,这表明 *Glut12* 缺乏不会导致严重的肾功能障碍或减少肾尿酸排泄^[24]。Tamm-Horsfall 蛋白由肾小管上皮细胞分泌,它在急性肾损伤中具有保护作用^[25]。研究人员为了探究 Tamm-Horsfall 蛋白与慢性肾病之间的联系,构建了 Tamm-Horsfall 蛋白基因敲除小鼠。老年 Tamm-Horsfall 蛋白基因敲除小鼠的血清尿酸水平显著高于同龄的野生型小鼠,这可能是因为钠耦合尿酸转运体 *Slc5A8* 和 *Slc22a12* 以及钠氢交换体 3 在基因敲除小鼠近端肾小管中显著上调^[26]。

2 基于基因敲除技术构建的 HUA 斑马鱼及禽类模型

除了小鼠作为基因敲除的动物载体外,斑马鱼和人类的基因组高度相似,便于将疾病模型转化为人类疾病的背景,因此也有研究构建了 HUA 的斑马鱼动物模型。研究者使用 CRISPR/Cas9 将终止密码子编辑进斑马鱼 *uox* 基因的外显子 2,从而介导了斑马鱼幼虫 *uox* 基因突变。*uox*-KO 斑马鱼胚胎出生时可以达到预期的孟德尔比例,没有明显的发育缺陷,且其寿命与野生型斑马鱼相似。综上,尽管 *uox*-KO 斑马鱼模型中尿酸水平升高,但并未影响其生存力,且健康状况良好,并具备繁殖后代的能力。该模型被用于研究尿酸水平升高对炎症细胞的影响,研究发现在 *uox*-KO 斑马鱼中中性粒细胞招募显著受到抑制,即尿酸水平增高可以抑制 *uox*-KO 斑马鱼对晶体的急性炎症反应^[27]。斑马鱼因其与人类基因组的高度同源性等优势,值得在未来的 HUA 动物模型研究中进一步探索。

研究者可以推动使用其他动物,如禽类在 HUA 基因修饰动物模型相关领域的应用,因为禽类诸如鸡、鹌鹑等不表达尿酸酶^[28-29],可更好模拟人类体内尿酸的代谢情况。但我国 SPF 级鸡和鹌鹑的应用与研究较晚,技术尚不完善,尚不能满足研究者的需要。此外,禽类不属于哺乳类动物,与人类的生理生化方面的差异较大,故仍然具有一定的局限性^[30]。

3 基于基因敲除技术构建 HUA 动物模型的局限性

不同基因的敲除对于动物模型的生存率及血清尿酸水平提高具有较大差异。*Uox* 基因敲除可以使尿酸水平较大幅度提高,但胚胎致死率较高,尿

酸结晶常常沉积在肾组织造成肾损伤。且 *Uox*-KO 小鼠会出现胰岛细胞的损伤,造成糖耐量受损^[11-12,14]。*Glut9* 基因敲除在全身系统地敲除及特定器官中敲除表现有所不同,肝特异性 *Glut9* 敲除小鼠 HUA 患病程度高于全身系统敲除小鼠,且全身系统 *Glut9* 敲除小鼠出现肾浓缩功能下降及胚胎致死性^[18]。肠道特异性 *Glut9* 敲除小鼠出现脂代谢紊乱、胰岛素抵抗以及心脏重构的现象^[15]。*Urat1* 敲除小鼠血清尿酸水平与野生型小鼠相比未见明显差异,因此不适用于建立 HUA 模型^[7]。*Urat1* 和 *Uox* 基因敲除小鼠血清尿酸水平升高且与 *Uox* 单基

因敲除小鼠之间的血清尿酸水平无明显差异,但部分双基因敲除小鼠出现急性肾损伤,血肌酐值升高^[23]。而 *Glut12-Uox* 双敲小鼠血清尿酸水平升高,且未导致严重的肾功能障碍^[24]。笔者认为,基因敲除是构建 HUA 动物模型的强有力工具,随着技术的进步,实验动物在存活率和血清尿酸水平升高程度上都有良好的表现,但常见的基因敲除鼠模型存在胚胎致死性、肾损害及代谢综合征相关问题,且基因敲除技术的准确性仍待提高。本文汇总了针对不同基因的造模方法、物种、所测血清尿酸水平,并对其局限性进行了评价,参见表 1。

表 1 高尿酸血症基因敲除动物模型一览表
Table 1 Summary of gene knockout animal models for hyperuricemia

基因 Gene	方法 Method	物种 Species	血清尿酸水平/($\mu\text{mol/L}$) Blood uric acid level/($\mu\text{mol/L}$)	局限性 Limitations	说明 Explanation
尿酸氧化酶基因 ^[12] <i>Uox</i> ^[12]	胚胎干细胞同源重组技术 Homologous recombination technology of embryonic stem cells		654.5 $\pm$ 101.2	肾严重病变 Severe renal lesions	4 周时死亡率高;胚胎致死性 Mortality rate was high at 4 weeks. Lethality of embryos
	转录激活因子样效应物核酸酶 TALEN	C57BL/6J 小鼠 C57BL/6J mice	420 ~ 520	肾功能障碍;糖耐量受损;高血压;脂代谢紊乱 Renal dysfunction, impaired glucose tolerance, high blood pressure, disorders of lipid metabolism	无菌饲养;62 周存活率为 40% Sterile feeding; The 62-week survival rate was 40%
	成簇规律间隔短回文重复/成簇规律间隔短回文重复相关蛋白 9 CRISPR/Cas9	大鼠 Rats	287.4 $\pm$ 113.6 (雄性); 237.4 $\pm$ 123.8 (雌性) 287.4 $\pm$ 113.6 (male); 237.4 $\pm$ 123.8 (female)	尿素氮升高;肾小球与肾小管有轻微损伤 Blood urea nitrogen increased, Slight damage to the glomeruli and tubules	-
肝特异性尿酸氧化酶基因 Liver-specific <i>Uox</i> gene ^[14]	Cre/loxP 基因打靶系统 Cre/loxP mediated recombination system	C57BL/6J 小鼠 C57BL/6J mice	394 ~ 521 (4 ~ 22 周龄) 394 ~ 521 (4 ~ 22 weeks of age)	丧失尿液浓缩能力;进行性的肾小管间质损伤 Loss of urine concentration; Progressive tubulointerstitial injury	可作为研究尿酸性肾病的工具 It can be used as a tool to study uric acid nephropathy
尿酸氧化酶基因 ^[27] <i>uox</i> ^[27]	成簇规律间隔短回文重复/成簇规律间隔短回文重复相关蛋白 9 CRISPR/Cas9	斑马鱼 Zebrafish	受精后第 4 天,血清尿酸浓度是野生型的 2.4 倍 By 4 days post fertilization, the serum uric acid concentration was 2.4-fold higher than that of the wild type	-	没有明显发育缺陷 No obvious developmental defect
葡萄糖转运蛋白 9 ^[19] <i>Glut9</i> ^[19]	胚胎干细胞同源重组技术 Homologous recombination technology of embryonic stem cells	C57BL/6N 小鼠; C57BL/6J 小鼠 C57BL6/N mice; C57BL6/J mice	80 ~ 100 (雄性); 100 ~ 120 (雌性) 80 ~ 100 (male); 100 ~ 120 (female)	肾小管间质肾炎 Tubulointerstitial nephritis	胚胎致死性 Lethality of embryos

续表 1

基因 Gene	方法 Method	物种 Species	血清尿酸水平/($\mu\text{mol/L}$) Blood uric acid level/($\mu\text{mol/L}$)	局限性 Limitations	说明 Explanation
肝特异性葡萄糖转运蛋白 9 基因 ^[19] Liver-specific <i>Glut9</i> gene ^[19]	他莫昔芬诱导的 Cre 重组酶技术 Tamoxifen-induced Cre recombinase technology	C57BL/6J 小鼠; C57BL/6N 小鼠 C57BL6/J mice; C57BL6/N mice	100 ~ 150(雄性); 150 ~ 200(雌性); 100 ~ 150(male); 150 ~ 200(female)	-	小鼠肾组织学正常 Renal histology of the mice was normal
肠道细胞特异性葡萄糖转运蛋白 9 基因 ^[15] Intestinal cell-specific <i>Glut9</i> gene ^[15]	同源重组技术 Homologous recombination technique	C57BL/6 小鼠 C57BL/6 mice	150 ~ 200	代谢综合征相关特征; 心脏肥厚重塑 Characteristics associated with metabolic syndrome; cardiac hypertrophy	可用于探究 HUA 在代谢综合征及其并发症中发挥的作用 It can be used to explore the role of hyperuricemia in metabolic syndrome and its complications
肾特异性葡萄糖转运蛋白 9 基因 ^[18] Kidney specific <i>Glut9</i> gene ^[18]	四环素诱导的 Cre 重组酶技术 Tetracycline-induced Cre recombinase technology	C57BL6/N 小鼠 C57BL6/N mice	150 ~ 200(雄性); 100 ~ 150(雌性); 与对照组无显著差异 150 ~ 200(male); 100 ~ 150(female); no significant difference from the control group	-	-
ATP 结合盒转运体 G2 基因 ^[20] <i>Abcg2</i> ^[20]	-	FVB 小鼠 FVB mice	221 ~ 353	-	对 ABCG2 基因敲除小鼠饲喂了氧噻酸钾 ABCG2- knockout mice were fed with potassium oxonate
尿酸盐阴离子转运体 1 基因 ^[7] <i>Urat1</i> ^[7]	与 pMC1neo-PolyA 交换外显子 1-4 来靶向敲除基因 Exchange exon 1-4 with pMC1neo PolyA to target gene knockout	C57BL/6J 小鼠 C57BL6/N mice	与野生型小鼠相比无明显差异 No significant difference compared with wild type mice	-	-
尿酸盐阴离子转运体 1 基因和尿酸氧化酶基因 ^[23] <i>Urat1</i> and <i>Uox</i> ^[23]	由 <i>Urat1</i> -KO 小鼠与 <i>Uox</i> -KO 小鼠交配而成 Matched from <i>Urat1</i> KO mice and <i>UOX</i> KO mice	C57BL/6 小鼠 C57BL/6 mice	200 ~ 300 与 <i>UOX</i> 基因敲除小鼠相似 200 ~ 300 similar to <i>UOX</i> knockout mice	急性肾损伤 Acute kidney injur	-
葡萄糖转运蛋白 12 和尿酸氧化酶基因 ^[24] <i>Glut12</i> and <i>Uox</i> ^[24]	成簇规律间隔短回文重复/成簇规律间隔短回文重复相关蛋白 9 CRISPR/Cas9	C57BL/6J 小鼠 C57BL/6J mice	450 ~ 550 血清尿酸水平升高 Serum uric acid level was elevated	-	未出现严重的肾功能障碍 No severe renal dysfunction occurred
Tamm-Horsfall 蛋白基因 ^[26] Tamm-Horsfall protein gene ^[26]	-	129/SvEv 小鼠 129/SvEv mice	250 ~ 300(12 月龄); 老年 Tamm-Horsfall 蛋白 KO 小鼠的血清尿酸水平显著高于同龄的野生型小鼠 250 ~ 300 (12-month old); Aged Tamm-Horsfall protein KO mice had significantly higher serum uric acid levels than age-matched wild-type mice	少尿 Oliguria	-

4 总结与展望

HUA 作为一种与多种并发症相关的代谢性疾病,其患病率的上升引起了广泛关注^[31-33]。为了深入探究 HUA 的病理机制并开发新的治疗策略,基因敲除技术为构建 HUA 动物模型提供了新的途径。本文集中讨论了 *Uox*、*Slc2a9* (*Glut9*) 和 *Abcg2* 等关键基因的敲除所构建的 HUA 动物模型,并对其优势与局限性进行了分析。通过这些模型,研究人员能够观察到血清尿酸水平的显著变化,并分析其对代谢、肾功能和心血管健康的影响。

尽管这些模型在模拟人类 HUA 方面取得了一定的成功,但它们仍存在一些限制。例如,*Uox* 基因敲除小鼠的高死亡率和肾损伤问题,以及 *Glut9* 基因敲除模型中的代谢综合征特征。此外,人类 HUA 的定义是血清尿酸浓度高于 420 μmol/L^[34],然而定义啮齿类动物 HUA 的尿酸浓度阈值尚不明确。其次,在不同的基因敲除鼠模型中,报道的血清尿酸浓度不同,意味着无法进行多种模型间的比较。值得注意的是,与 HUA 相关的基因在人类和鼠组织中的表达存在差异。例如,编码尿酸酶的基因 *UOX* 在人类中是沉默的^[9],而其在鼠的同源基因在多个组织中表达;*SLC2A9* 在人类的肾中主要表达,但小鼠的同源基因 *Slc2a9* 主要在肝中表达;*ABCG2* 在人类的小肠中主要表达,但小鼠的同源基因 *Abcg2* 主要在肾中表达^[35-36]。这些问题提示在未来的研究中需要进一步优化模型,以更精确地模拟人类疾病状态。

随着 CRISPR/Cas9 等基因编辑技术的发展及选择与人体尿酸代谢更相似的建模动物,未来有望创建出更精确和更具代表性的 HUA 动物模型。这些模型将有助于深入理解尿酸代谢的复杂调控网络,揭示 HUA 与肾疾病和代谢综合征等其他疾病之间的关联,进而促进更安全、更有效的治疗策略的开发。

参 考 文 献(References)

[1] CHOI H K, MCCORMICK N. Beyond joint pain, could each gout flare lead to heart attack? [J]. Nat Rev Rheumatol, 2022, 18(11): 619-620.

[2] DALBETH N, MERRIMAN T R, STAMP L K. Gout [J]. Lancet, 2016, 388(10055): 2039-2052.

[3] SIVERA F, ANDRES M, DALBETH N. A glance into the future of gout [J]. Ther Adv Musculoskelet Dis, 2022, 14: 1759720x221114098.

[4] 丁雪东, 彭成璐, 李曼曼, 等. 尿酸转运蛋白与血清尿酸平衡 [J]. 国际药学研究杂志, 2018, 45(9): 665-669.

DING X D, PENG C L, LI M M, et al. Uric acid transporter and the balance of serum uric acid [J]. J Int Pharm Res, 2018, 45(9): 665-669.

[5] 谭文彬, 李佳. 不同造模方法建立高尿酸血症动物模型的述评 [J]. 解放军医学院学报, 2024, 45(1): 12-17.

TAN W B, LI J. Evaluation of different modeling methods to establish hyperuricemia animal models [J]. Acad J Chin PLA Med Sch, 2024, 45(1): 12-17.

[6] YU Y, ZHANG N, DONG X, et al. Uricase-deficient rat is generated with CRISPR/Cas9 technique [J]. PeerJ, 2020, 8: e8971.

[7] HOSOYAMADA M, TAKIUE Y, MORISAKI H, et al. Establishment and analysis of SLC22A12 (URAT1) knockout mouse [J]. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids, 2010, 29(4/5/6): 314-320.

[8] FUJITA K, ICHIDA K. ABCG2 as a therapeutic target candidate for gout [J]. Expert Opin Ther Targets, 2018, 22(2): 123-129.

[9] ODA M, SATTA Y, TAKENAKA O, et al. Loss of urate oxidase activity in hominoids and its evolutionary implications [J]. Mol Biol Evol, 2002, 19(5): 640-653.

[10] SUSIC D, FROHLICH E D. Hyperuricemia: a biomarker of renal hemodynamic impairment [J]. Cardiorenal Med, 2015, 5(3): 175-182.

[11] WU X, WAKAMIYA M, VAISHNAV S, et al. Hyperuricemia and urate nephropathy in urate oxidase-deficient mice [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1994, 91(2): 742-746.

[12] LU J, HOU X, YUAN X, et al. Knockout of the urate oxidase gene provides a stable mouse model of hyperuricemia associated with metabolic disorders [J]. Kidney Int, 2018, 93(1): 69-80.

[13] 张茹君, 夏海林, 朱赞, 等. 基于 CRISPR/Cas9 构建小鼠 UOX 基因敲除模型 [J]. 中外医疗, 2020, 39(7): 32-35.

ZHANG R J, XIA H L, ZHU Y, et al. Construction of mouse UOX gene knockout model based on CRISPR/Cas9 [J]. Chin Foreign Med Treat, 2020, 39(7): 32-35.

[14] PANG L, LIANG N, LI C, et al. A stable liver-specific urate oxidase gene knockout hyperuricemia mouse model finds activated hepatic de novo purine biosynthesis and urate nephropathy [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2024, 1870(3): 167009.

[15] DEBOSCH B J, KLUTH O, FUJIWARA H, et al. Early-onset metabolic syndrome in mice lacking the intestinal uric acid transporter SLC2A9 [J]. Nat Commun, 2014, 5: 4642.

[16] BIBERT S, HESS S K, FIRSOV D, et al. Mouse GLUT9: evidences for a urate uniporter [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2009, 297(3): F612-F619.

[17] MATSUO H, CHIBA T, NAGAMORI S, et al. Mutations in glucose transporter 9 gene SLC2A9 cause renal hypouricemia [J]. Am J Hum Genet, 2008, 83(6): 744-751.

[18] PREITNER F, BONNY O, LAVERRIÈRE A, et al. Glut9 is a

- major regulator of urate homeostasis and its genetic inactivation induces hyperuricosuria and urate nephropathy [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(36): 15501–15506.
- [19] AUBERSON M, STADELMANN S, STAUDMANN C, et al. SLC2A9 (GLUT9) mediates urate reabsorption in the mouse kidney [J]. *Pflügers Arch*, 2018, 470(12): 1739–1751.
- [20] TAKADA T, ICHIDA K, MATSUO H, et al. ABCG2 dysfunction increases serum uric acid by decreased intestinal urate excretion [J]. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 2014, 33(4/5/6): 275–281.
- [21] ICHIDA K, MATSUO H, TAKADA T, et al. Decreased extra-renal urate excretion is a common cause of hyperuricemia [J]. *Nat Commun*, 2012, 3: 764.
- [22] ENOMOTO A, KIMURA H, CHAIROUNGDU A, et al. Molecular identification of a renal urate anion exchanger that regulates blood urate levels [J]. *Nature*, 2002, 417(6887): 447–452.
- [23] HOSOYAMADA M, TSURUMI Y, HIRANO H, et al. Urat1-Uox double knockout mice are experimental animal models of renal hypouricemia and exercise-induced acute kidney injury [J]. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 2016, 35(10/11/12): 543–549.
- [24] TOYODA Y, TAKADA T, MIYATA H, et al. Identification of GLUT12/SLC2A12 as a urate transporter that regulates the blood urate level in hyperuricemia model mice [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117(31): 18175–18177.
- [25] EL-ACHKAR T M, WU X R. Uromodulin in kidney injury: an instigator, bystander, or protector? [J]. *Am J Kidney Dis*, 2012, 59(3): 452–461.
- [26] LIU Y, GOLDFARB D S, EL-ACHKAR T M, et al. Tamm-Horsfall protein/uromodulin deficiency elicits tubular compensatory responses leading to hypertension and hyperuricemia [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2018, 314(6): F1062–f76.
- [27] LINNERZ T, SUNG Y J, ROLLAND L, et al. Uricase-deficient larval zebrafish with elevated urate levels demonstrate suppressed acute inflammatory response to monosodium urate crystals and prolonged crystal persistence [J]. *Genes*, 2022, 13(12): 2179.
- [28] WU H, WANG Y, REN Z, et al. Overnutrition-induced gout: an immune response to NLRP3 inflammasome dysregulation by XOD activity increased in quail [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1074867.
- [29] LI D, ZHANG M, TENG ZHU LA A, et al. Quercetin-enriched *Lactobacillus aviarius* alleviates hyperuricemia by hydrolase-mediated degradation of purine nucleosides [J]. *Pharmacol Res*, 2023, 196: 106928.
- [30] 王琳, 沈嘉艳, 谢招虎, 等. 高尿酸血症动物模型研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2023, 31(1): 112–119.
- WANG L, SHEN J Y, XIE Z H, et al. Progress of hyperuricemia animal model research [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2023, 31(1): 112–119.
- [31] 方宁远, 吕力为, 吕晓希, 等. 中国高尿酸血症相关疾病诊疗多学科专家共识 (2023 年版) [J]. *中国实用内科杂志*, 2023, 43(6): 461–480.
- FANG N Y, LV L W, LYU X X, et al. China multi-disciplinary expert consensus on diagnosis and treatment of hyperuricemia and related diseases (2023 edition) [J]. *Chin J Pract Intern Med*, 2023, 43(6): 461–480.
- [32] ZHU B, HUANG X, ZHANG J, et al. A new perspective on the prediction and treatment of stroke: The Role of Uric Acid [EB/OL]. [2024-09-23]. <https://link.springer.com/article/10.1007/s12264-024-01301-3>
- [33] MALOBERTI A, TOGNOLA C, GAROFANI I, et al. Uric acid and metabolic syndrome: Importance of hyperuricemia cut-off [J]. *Int J Cardiol*, 2024, 417: 132527.
- [34] 中华医学会内分泌学分会. 中国高尿酸血症与痛风诊疗指南 (2019) [J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2020, 36(1): 1–13.
- Chinese Society of Endocrinology, Chinese Medical Association. Guideline for the diagnosis and management of hyperuricemia and gout in China (2019) [J]. *Chin J Endocrinol Metab*, 2020, 36(1): 1–13.
- [35] 吴芃, 王亮, 李海涛, 等. 高尿酸血症模型的建立及降尿酸药物的研究进展 [J]. *中国病理生理杂志*, 2021, 37(7): 1283–1294.
- WU P, WANG L, LI H T, et al. Progress in hyperuricemia model establishment and uric acid-lowering drugs [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2021, 37(7): 1283–1294.
- [36] YIN H, LIU N, CHEN J. The role of the intestine in the development of hyperuricemia [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 845684.

[收稿日期] 2024-05-05