

·基础研究·

suPAR在原发性局灶节段性肾小球硬化足细胞损伤中的作用

胡浩强¹, 李梦圆², 杨念生², 郭朝欢²

(1. 东莞市人民医院肾内科, 广东 东莞, 523059; 2. 中山大学附属第一医院风湿免疫科, 广东 广州, 510080)

摘要:【目的】探讨 suPAR 在原发性 FSGS 患者足细胞损伤中的作用。【方法】①收集原发性 FSGS 患者(17 例)血清,以健康志愿者(10 例)及其他类型原发性肾病综合征患者(10 例)作为正常及疾病对照,采用 ELISA 检测 suPAR 水平;②采用 suPAR 体外刺激足细胞,收集细胞行流式细胞术分析细胞凋亡情况;收集细胞,提取 RNA,行 RNaseq;③足细胞 RNaseq 数据差异基因筛选,上下调基因行 KEGG 及 GO 通路富集分析,热图展示足细胞局部黏附、滤过膜、细胞骨架及内吞相关基因变化情况,并行 qPCR 验证。【结果】①FSGS 患者 suPAR 水平显著升高,且其他肾病综合征(NS)患者 suPAR 水平显著升高;②suPAR 刺激显著改变人足细胞转录组,共筛选出 272 个上调基因和 288 个下调基因;③上下调基因分别行 KEGG 和 GO 通路富集分析发现 focal adhesion 及 DNA 复制及损伤修复相关通路显著下调;④suPAR 未显著增加足细胞凋亡。【结论】原发性 FSGS 患者 suPAR 水平显著升高;suPAR 可能通过干扰基因组稳态,破坏足细胞局部黏附、滤过膜及细胞骨架相关功能分子促进足细胞损伤。

关键词: suPAR; 局灶节段性肾小球硬化; 足细胞

中图分类号: R59

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2023)02-0254-08

DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2023.0209

Role of suPAR in the Pathogenesis of Podocyte Injury of Primary Focal Segmental Glomerulosclerosis

HU Hao-qiang¹, LI Meng-yuan², YANG Nian-sheng², GUO Chao-huan²

(1. Department of Nephrology, Affiliated Dongguan People's Hospital, Southern Medical University (Dongguan People's Hospital), Dongguan, 523059; 2. Department of Rheumatology, The First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou, 510080)

Correspondence to: GUO Chao-huan; E-mail: guochh9@mail.sysu.edu.cn

Abstract: 【Objective】 This study aims to investigate the role of suPAR in the pathogenesis of podocyte injury in FSGS. 【Methods】 ① The sera of primary FSGS patients (17 cases) were collected. Healthy volunteers (10 cases) and patients with other types of primary nephrotic syndrome (10 cases) were set as normal and disease controls. SuPAR levels were detected by ELISA; ② Podocytes were stimulated by suPAR in vitro, and cells were collected to analyze apoptosis by flow cytometry and for RNaseq analysis; ③ Differentially expressed genes (DEGs) were screened from RNaseq data. Both up-regulated and down-regulated genes were analyzed by KEGG and GO enrichment analysis. Heat map was used to show expression of genes related to podocyte focal adhesion, slit diaphragm and actin dynamics and endocytosis. Differentially expressed genes were verified by qPCR. 【Results】 ① The level of suPAR in FSGS patients was significantly increased, and that in other nephrotic syndrome(NS) patients was also significantly increased; ② suPAR stimulation significantly altered the transcriptome pattern of human podocytes. A total of 272 up-regulated genes and 288 down-regulated genes were screened; ③ KEGG and GO enrichment analysis of up-regulated and down-regulated genes showed that Focal adhesion and DNA replication and DNA repair related pathways were significantly down-regulated; ④ suPAR did not in-

收稿日期: 2022-11-03

基金项目: 东莞市社会科技发展重点项目(201950715001183); 中国博士后科学基金(2019M663308); 柯麟新星人才计划(R08002)

作者简介: 胡浩强, 硕士生, 研究方向: 肾小球疾病, E-mail: sghhqcoco@163.com; 郭朝欢, 通信作者, E-mail: guochh9@mail.sysu.edu.cn

crease podocyte apoptosis.【Conclusion】The level of suPAR is significantly increased in patients with primary FSGS. SuPAR may promote podocyte injury by interfering with genomic homeostasis and disrupting focal adhesion, slit diaphragm, actin dynamics and endocytosis-related functional molecules of podocytes.

Key words: suPAR; focal segmental glomerulosclerosis; podocyte

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2023, 44(2): 254-261]

原发性局灶节段性肾小球硬化(primary focal segmental glomerulosclerosis, FSGS)是一种以肾小球局灶、节段性受累为主要病变特征的,易引起肾衰竭的常见的原发性肾小球疾病^[1-2]。原发性FSGS常出现大量蛋白尿,病理研究则发现足细胞足突损伤、融合在FSGS发病过程中发挥了至关重要的作用^[3]。除了循环因素外,各种损伤诸如循环因子^[4]、感染、药物应用等都可能引起FSGS^[5]。在原发性FSGS发病过程中,循环因子发挥了重要作用。国内外的观察性研究显示在肾移植患者中,约30%~40%的FSGS患者在肾移植后出现复发,表现为肾病综合征(nephrotic syndrome, NS)的早期突然发作和足细胞足突消失,数周内进展至明显的小球硬化,早期进行血浆置换有助于挽救FSGS患者移植肾^[5-6]。目前研究显示心营养素样细胞因子1(cardiotrophin like cytokine factor 1, CLCF-1)和可溶性尿激酶纤溶酶原激活物受体(soluble urokinase plasminogen activator receptor, suPAR)可能在FSGS的发病中扮演了重要角色。其中uPAR是一种膜蛋白,可以结合尿激酶型纤溶酶原激活物、玻连蛋白和整合素,uPAR的切割和所得片段的糖基化产生各种循环的suPAR片段。研究表明原发性FSGS患者suPAR水平较正常对照显著升高^[7],且suPAR与肾脏疾病,如急性肾损伤密切相关^[8]。但suPAR在原发性FSGS足细胞损伤中的作用仍有争议。因此,在本研究中,我们着重探讨了原发性FSGS的suPAR水平及suPAR对足细胞转录组的影响。

1 材料与方 法

1.1 主要试剂

胰岛素-转铁蛋白-硒混合物(ITS,美国,ThermoFisher);Annexin V/PI 凋亡试剂盒(中国,Elabscience);Trizol(美国,Invitrogen);RNA提取试剂盒

(美国,Qiagen);磷酸盐缓冲液(中国,Procell)、suPAR ELISA 试剂盒(中国,Elabscience, E-EL-H2584c);重组人suPAR蛋白(美国,R&D)。

1.2 方 法

1.2.1 研究对象纳入及血清标本收集 纳入对象为本院2021年至2022年期间入院并经肾活检确诊为原发性肾病综合征FSGS患者17例。排除标准包括:①继发性FSGS,如肥胖相关FSGS、遗传相关FSGS样病变;②自身免疫性疾病、肿瘤、妊娠等与补体活化相关的疾病;③病毒性肝炎或其他与补体激活相关的感染性疾病。以正常志愿者及其他原发性肾病综合征患者作为正常及疾病对照。研究共纳入了10例正常对照、17例FSGS患者及10例其他类型原发性肾病综合征患者,收集纳入对象的血清标本。该研究得到东莞市人民医院伦理委员会审批同意,且所有纳入患者及正常对照均已签署知情同意书。

1.2.2 临床资料采集 收集患者年龄、性别、起病至确诊时的病程;用药史;血常规、尿常规、24 h尿蛋白量、血清白蛋白(Alb)、血清肌酐、尿酸、自身抗体检查、ANCA抗体指标等。收集患者肾脏病理HE染色、PAS染色、Masson染色等病理染色资料,收集患者肾脏电镜检查结果。

1.2.3 血清 suPAR 浓度检测 收集纳入对象外周血标本,离心机1 000×g离心10 min,收集血清标本,置于-80℃冰箱储存备用。根据ELISA试剂盒操作指引检测suPAR浓度(试剂盒检验灵敏度为0.10 ng/mL,检测范围为0.16~10 ng/mL)。根据标准曲线换算血清样本suPAR浓度。

1.2.4 人足细胞培养 人足细胞培养(human podocyte cell line, HPC)株由山东千佛山医院孔教授惠赠。HPC常规复苏后,加入含10% FBS、1% ITS及青、链霉素双抗的RPMI 1640全培养基中,置于33℃、体积分数5% CO₂培养箱中进行增殖。HPC融合达80%以上时进行传代。转移部分HPC

至含 10% FBS 及青、链霉素双抗、无 ITS 的 RPMI1640 培养基中,置于 37 °C、体积分数 5% CO₂ 培养箱中分化 10 d。

1.2.5 足细胞刺激 既往研究报道,FSGS 患者血清 suPAR 水平波动在 1~15 ng/mL^[8]。而原发性 FSGS 患者尿液中 suPAR 水平较血清更高,波动在 260~80 000 ng/mmol Crea,相当于 1.3~400 ng/mL 水平^[9]。因而在体外采用 100 ng/mL 刺激足细胞进行 RNA-seq 分析。

将已完全分化 HPC 置于不含血清的 RPMI1640 培养基饥饿 24 h。然后按以下分组处理:①分为对照组、suPAR(100 ng/mL)组,刺激 24 h 后收集细胞,提取 RNA 进行 RNA-seq 分析细胞转录组学变化;②分为对照组、suPAR(10 ng/mL)组、suPAR(100 ng/mL)组、suPAR(200 ng/mL)组、suPAR(500 ng/mL)组及 suPAR(1 000 ng/mL)组,刺激 24 h 后收集细胞,采用凋亡试剂盒进行染色,分析细胞凋亡情况。

1.2.6 实时荧光定量 PCR 将已完全分化 HPC 置于不含血清的 RPMI1640 培养基饥饿 24 h。然后分为对照组、suPAR(100 ng/mL)组,刺激 24 h 后按照 RNA 提取试剂盒实验步骤提取细胞总 RNA。根据 PrimeScript™ RT Master Mix 逆转录试剂盒实验步骤进行逆转录获得相应的 cDNA,以 ACTIN 为内参照检测相关基因 mRNA 表达水平。利用 QuantStudio 5 实时荧光定量 PCR 并计算相应的 2^{-ΔΔCt} 值。相关的引物如下:CD151 (Forward primer: ATGGGTGAGTTCAACGAGAAGA, Reverse primer: GCAGGCTGATGTAGTCACTCT)、ITGA3 (Forward primer: TCAACCTGGATACCCGATTCC, Reverse primer: GCTCTGTCTGCCGATGGAG)、ANKFY1 (Forward primer: CCATCGTGGCAGACCTCTAC, Reverse primer: AGTGGAAGACAAGTTAGCCAGA)、FAT1 (Forward primer: CATCCTGTCAAGATGGGTGTTT, Reverse primer: TCCGAGAATGTACTCTTCAGCTT)。

1.2.7 流式细胞术 胰酶消化并收集刺激后的 HPC,取 (1~5) × 10⁵ 重悬的细胞,300 × g 离心 5 min,弃上清。用 PBS 洗涤细胞一次,离心后弃上清,加入 100 μL 稀释的 1 × Annexin V Binding Buffer 工作液重悬细胞。加入 2.5 μL Annexin V-FITC 和 2.5 μL 的 PI 染色液。轻柔涡旋混匀后,室温避光孵育 15~20 min。加入 400 μL 稀释的 1 × Annexin

V Binding Buffer,混匀样本。采用 Cytoflex 进行流式细胞学分析。

1.2.8 RNA-seq 及生物信息学分析 RNAseq 由武汉华大基因技术服务有限公司完成。采用 BGISEQ 测序平台进行测序,过滤低质量、接头污染及未知碱基 N 含量过高的 reads 后得到 clean reads。采用 HISAT 将 clean reads 比对到人类参考基因组序列中(hg38)。采用 featureCount 软件进行基因表达水平定量。使用 DESeq2 软件筛选差异表达基因(Differentially expressed genes, DEGs)。筛选出 adjusted *P* value < 0.01 的 DEGs。利用“ggplot2”R 包绘制火山图,并将上调和下调 *P* 值最小的前 50 位的基因利用“ComplexHeatmap”R 包绘制热图。利用“clusterProfiler”R 包对筛选的上调和下调基因分别做 KEGG 和 GO 富集分析。进行 GO 和 KEGG。GO(Gene Ontology)富集分析包括生物学过程(Biology Process, BP)、分子功能(Molecular Function, MF)和细胞成分(Cellular Component, CC)三部分。KEGG(The Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)是另一个生物信息数据库,用作说明分子生物学意义和功能。

1.2.9 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析。临床正态分布计量资料以($\bar{x} \pm s$)形式表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析。临床性别分布资料采用 Fisher 精确检验。*P* < 0.05 视为差异具有统计学意义。采用 Graphpad Prism 8.0 进行分析及绘图。

2 结果

2.1 临床资料

本研究中,我们共纳入 17 例原发性 FSGS 患者及 10 例其他类型原发性 NS 患者。临床资料显示原发性 FSGS 患者病程较其他类型 NS 患者病程更短,但肌酐水平更高。FSGS 患者半数合并有高血压,30% 伴有肾损害,而 MCD、膜性肾病等其他类型 NS 则较少见,故 FSGS 患者肌酐水平较高。其余年龄、性别、尿蛋白、尿红细胞、血清白蛋白、血尿酸指标在两组间无显著差异。各组患者肾脏病理类型及用药情况见表 1。

2.2 原发性 FSGS 患者血清 suPAR 水平显著升高

suPAR ELISA 检测结果如图 1 示;经方差分析,3 组间差异具有统计学意义($F=7.39, P=0.002 2$)。

表1 原发性FSGS患者临床特征

Item	HC(<i>n</i> =10)	FSGS(<i>n</i> =17)	Other NS(<i>n</i> =10)	<i>P</i>
Age/ year	31.0 ± 14.3	38.2 ± 13.5	30.5 ± 11.8	0.57 (HC vs FSGS)
Male/Female	8/2	12 / 5	9 / 1	0.68 (HC vs FSGS)
Duration/ year		2 (0.62~12.00)	1 (0.50~5.01)	0.03(FSGS vs Other NS)
Proteinuria/ (g/L)		4.83 ± 5.70	6.43 ± 4.00	0.56(FSGS vs Other NS)
Urinary RBC/ μL		24.5 (6.0~132.5)	28.3(17.75~144.5)	0.07(FSGS vs Other NS)
ALB/ (g/L)		30.4 ± 10.0	20.6 ± 6.5	0.09(FSGS vs Other NS)
Creatine/ (μmol/L)		123.0 ± 53.5	86.4 ± 36.1	0.03(FSGS vs Other NS)
Uric acid/ (μmol/L)		428.3 ± 108.6	472.2 ± 65.2	0.17(FSGS vs Other NS)
ANA positive		0 (0.0)	0(0.0)	/
ANCA positive		0(0.0)	0(0.0)	/
Kidney pathology		/	/	/
FSGS, classic		12 (70.6)	/	/
FSGS, collapsing		1(5.9)	/	/
FSGS, cellular		3(17.6)	/	/
FSGS, tip		1(5.9)	/	/
MN		/	5(50.0)	/
MCD		/	5(50.0)	/
Drugs		/	/	/
Prednisone		3(17.6)	2(20.0)	/
MMF		1 (5.9)	1(10.0)	/

RBC: red blood cell; ALB: albumin; ANA: anti-nuclear antibody; ANCA: antineutrophil cytoplasmic antibodies; MN: membranous nephropathy; MCD: minimal change disease; MMF: Mycophenolate mofetil.

采用 bonferroni 法进行两两比较,结果显示相比于正常对照,原发性 FSGS 患者血清 suPAR 水平显著升高 ($P=0.0006$)。同样地,NS 患者 suPAR 水平较正常对照显著升高 ($P=0.0009$)。但原发性 FSGS 患者和 NS 患者 suPAR 水平无显著差异。

2.3 suPAR 刺激显著改变人足细胞转录组

主成分分析 PCA 图及树状图显示:相比于正常对照组,suPAR 刺激组足细胞转录组学发生显著变化(图 2A, B)。共筛选出 560 个 DEGs,其中 272 个上调基因,288 个下调基因。火山图显示了差异基因变化及分布情况(图 2C)。将上调和下调共前 50 位的基因利用“ComplexHeatmap”R 包绘制相应热图(图 2D)。

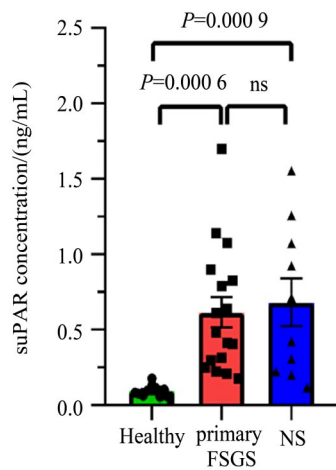
2.4 DEGs 的 GO 和 KEGG 分析

图 3A 显示 KEGG 富集通路,suPAR 刺激后显

著下调的通路包括 focal adhesion, DNA replication 及其他疾病、细胞因子信号通路。图 3B 显示 GO 富集通路,suPAR 刺激后 DNA 相关通路包括 regulation of DNA repair, DNA unwinding involved in DNA replication, DNA integrity checkpoint signaling, regulation of chromosome organization, signal transduction in response to DNA damage, regulation of response to DNA damage stimulus, regulation of DNA replication, DNA replication initiation, regulation of DNA metabolic process, DNA replication 等显著下调。

2.5 suPAR 未显著促进足细胞凋亡

流式细胞术分析结果显示:相比于对照组,不同浓度梯度 suPAR (10 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL、500 ng/mL、1 000 ng/mL)并未显著增加足细胞凋亡水平(图 4)。



Sera were collected. Serum levels of suPAR of healthy ($n = 10$), FSGS ($n = 17$) and other NS ($n = 10$) were detected by ELISA. ns: no significance; NS: nephrotic syndrome

图1 原发性FSGS及肾病综合征患者suPAR水平

Fig. 1 Levels of suPAR of primary FSGS and other NS patients

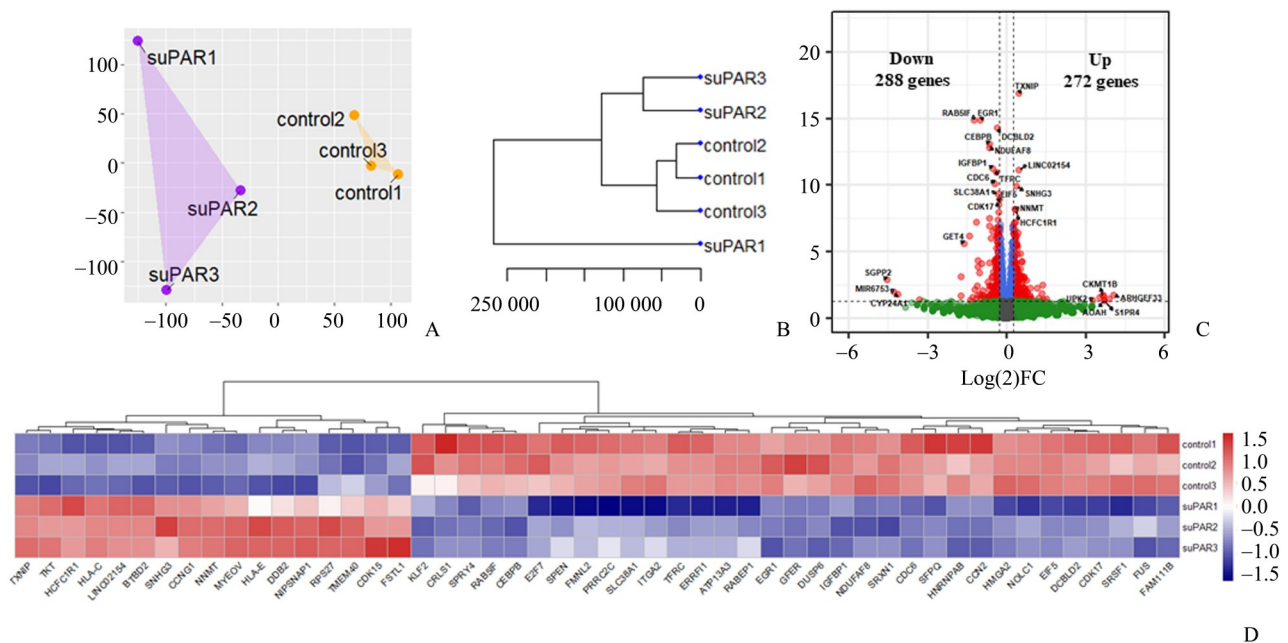
2.6 suPAR对足细胞功能分子及骨架分子表达的影响

suPAR刺激后的足细胞局部黏附分子表达发生显著变化:ITGA3($P= 0.0204$)表达水平显著下

降,但CD151($P= 0.0001$)表达水平则显著升高(图5A);对足细胞滤过膜基因分析发现suPAR显著降低足细胞ANKFY1($P= 0.0020$)表达水平(图5A)。此外调控足细胞骨架及内吞功能的FAT1($P=0.0001$)基因也显著下降(图5A)。我们进一步进行体外qPCR验证,采用t检验分析发现,经suPAR刺激后,CD151($P=0.0456$)显著上调,而ITGA3($P=0.0297$)、ANKFY1($P=0.0027$)及FAT1($P=0.0317$)均显著下调(图5B~E)。

3 讨论

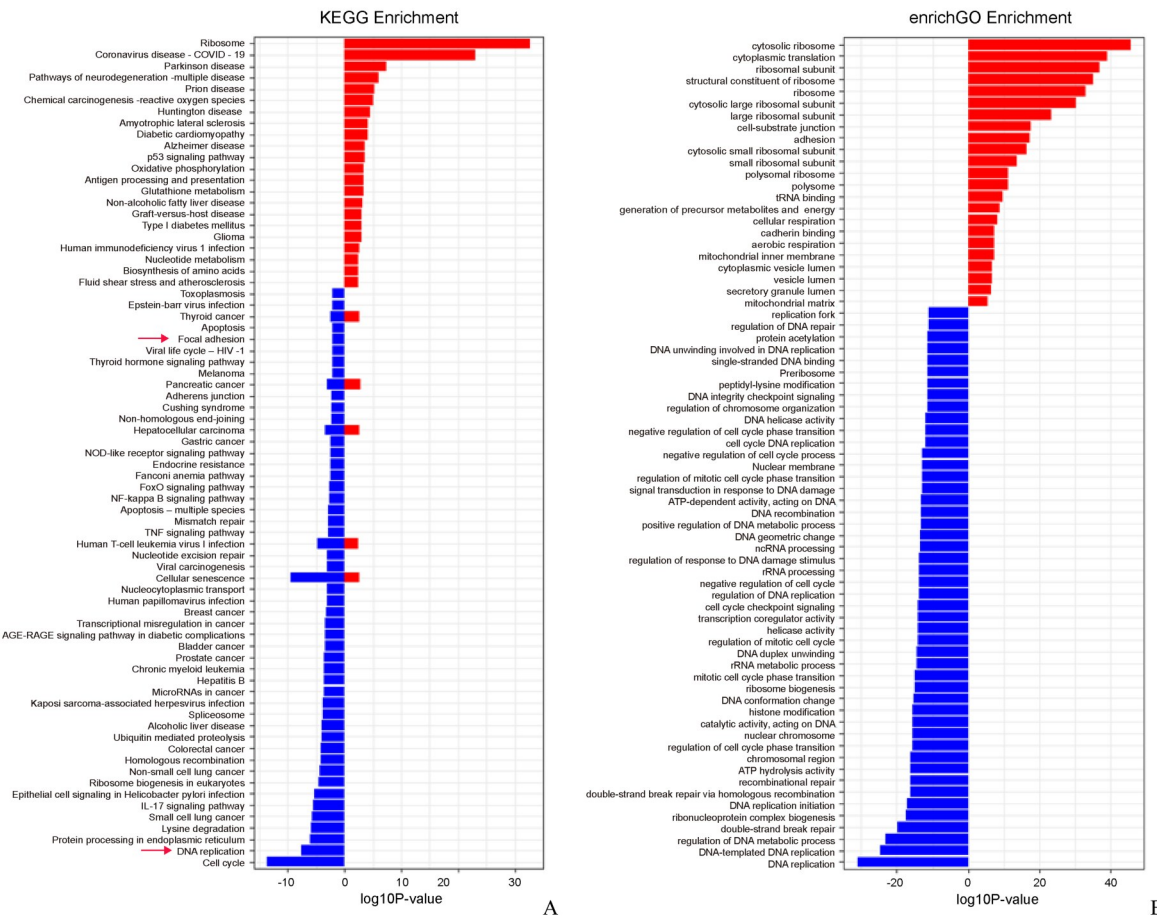
国外队列研究显示,原发性FSGS患者循环suPAR水平显著升高^[7,9]。国内一项横断面研究则发现,原发性FSGS患者尿液suPAR水平更高,且suPAR水平与疾病活动度显著正相关^[10]。同样地,我们的研究进一步证实相比于正常对照,FSGS患者suPAR水平显著升高。这些证据提示suPAR在FSGS发病过程中可能发挥了重要作用。而与既往报道不同,我们的研究显示其他类型NS患者suPAR水平同样显著升高,但与FSGS患者水平无显著差异。但本研究其他类型NS患者纳入数目少,



Stimulated podocytes were subjected to RNA-seq. PCA (A) and hierarchy map (B) were shown. (C) Volcano plot showed up/down-regulated genes. (D) Top 50 differentially expressed genes were shown in heatmap.

图2 suPAR刺激足细胞的转录组学变化

Fig. 2 Transcriptomic change of podocyte stimulated with suPAR



Up and down regulated differentially expressed genes were subjected to KEGG (A) and GO (B) analysis. Representative pathways were shown in bar plot.

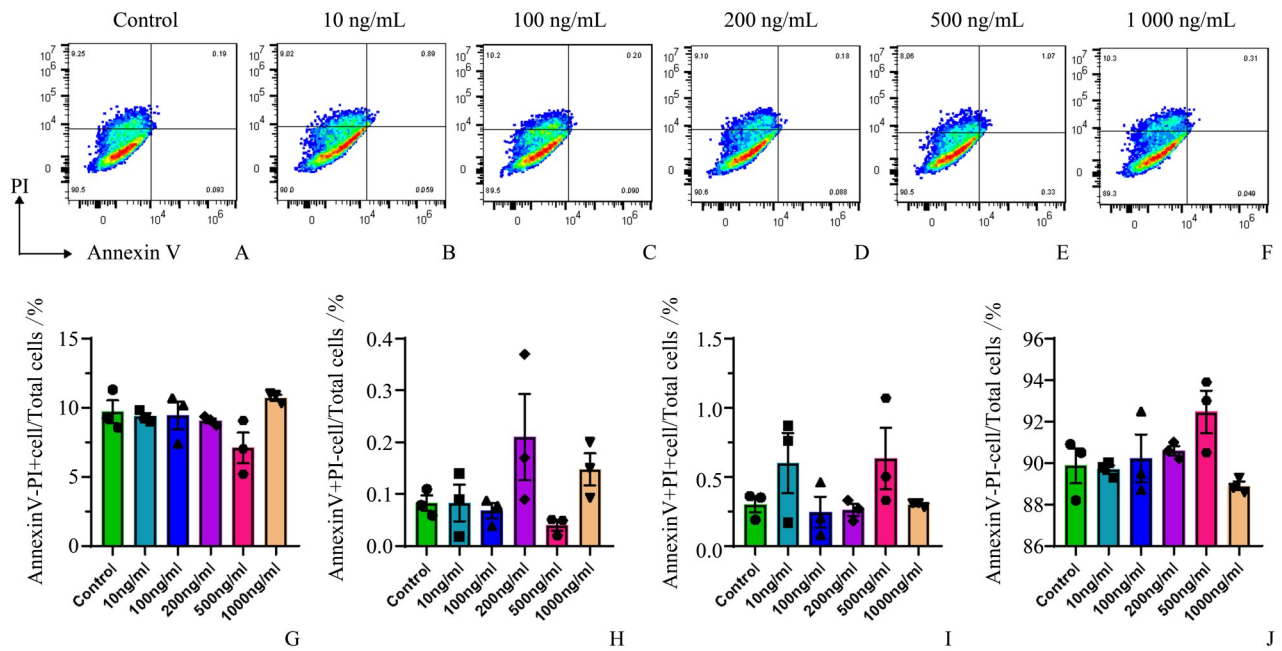
图3 KEGG及GO富集分析结果
Fig. 3 Enrichment analysis of KEGG and GO

仍需增加样本量进一步证明其他类型NS患者 suPAR 水平。

足细胞损伤是原发性 FSGS 的重要病理学特征。对 FSGS 肾移植患者研究发现足突融合是 FSGS 肾移植后出现的第一个关键病理学变化,而 suPAR 的水平则与足突融合的水平呈显著正相关;对血浆置换、利妥昔单抗治疗反应良好的患者 suPAR 水平显著下降,且足细胞足突融合得到显著甚至完全改善^[11],提示 suPAR 可能参与 FSGS 足细胞损伤。在缺乏 uPAR 的小鼠中,suPAR 治疗或过表达可激活足细胞中 $\alpha v\beta 3$ 整合素信号转导,从而导致足突融合、消失,产生蛋白尿;而采用 uPAR 特异性抗体治疗可阻断 uPAR 引起的足细胞损伤蛋白尿进展^[6, 9]。但 Cathelin 等^[12]研究发现无论通过静脉注射、腹腔注射或皮下泵注进行短期或长期重组 suPAR 给药均无法诱导足细胞超微结构变化及蛋

白尿产生。这表明 suPAR 在 FSGS 发病中的作用机制非常复杂,目前仍未完全明确。

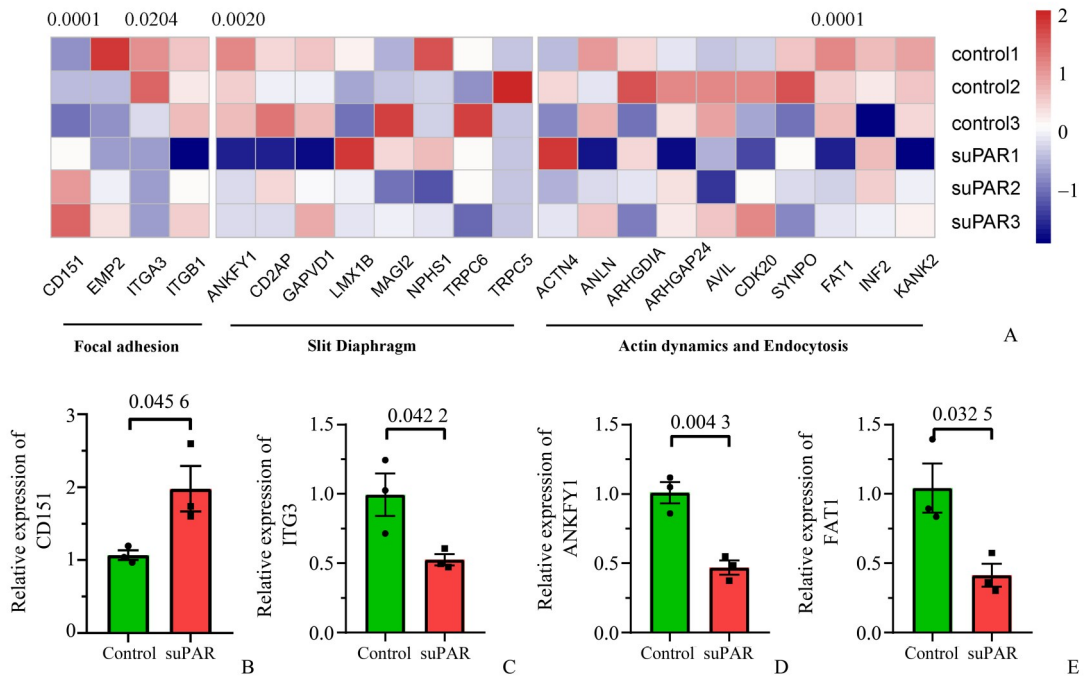
在本研究中,我们采用高通量测序探讨 suPAR 对足细胞损伤的潜在作用机制及靶点。结果显示 suPAR 刺激后足细胞转录组学发生显著变化,提示 suPAR 对足细胞生物学行为有重要调控作用。将上下调基因分别进行 KEGG 通路富集分析发现,suPAR 刺激显著下调足细胞 Focal adhesion 通路,提示 suPAR 可能通过破坏足细胞骨架及黏附功能促进足细胞损伤。我们进一步分析了 suPAR 对足细胞局部黏附、滤过膜及细胞骨架和内吞功能关键基因的调控作用。与既往报道一致,我们的研究发现 suPAR 显著下调局部黏附相关分子 ITGA3 基因表达水平。有趣的是另一局部黏附相关分子 CD151 表达水平则显著升高。此外,我们的研究还发现 suPAR 显著下调足细胞滤过膜基因 ANKFY1 及足



Well differentiated podocytes were stimulated with increasing concentrations of suPAR (A-F) for 24 h. Cells were collected and stained with apoptosis kit followed by flow cytometry analysis (A-F). Frequencies of Annexin V-PI+, Annexin V+PI-, Annexin V+PI+ and Annexin V-PI- were calculated and compared. Every experiment repeats 3 times. ns: no significance, Annexin V-PI+ ($F=2.75, P=0.0696$), Annexin V+PI- ($F=2.408, P=0.0986$), Annexin V+PI+ ($F=1.639, P=0.2236$), Annexin V-PI- ($F=2.719, P=0.0723$).

图4 suPAR未显著增加足细胞凋亡

Fig. 4 suPAR did not promote apoptosis of podocytes



RNA-seq data was analyzed. Focal adhesion, slit diaphragm and actin dynamics and endocytosis related genes were shown in heatmap (A). QPCR was performed to verify the expression of CD151 (B), ITC3 (C), ANKFY1 (D) and FAT1 (E). Every experiment was repeated 3 times.

图5 suPAR对足细胞骨架及功能分子影响

Fig. 5 Influence of suPAR on podocyte cytoskeletal and functional genes

细胞骨架及内吞功能相关基因 FAT1。GO 通路富集分析则发现 suPAR 显著下调 DNA 复制、损伤修复相关通路,提示 suPAR 可能通过影响足细胞基因组稳态促进足细胞损伤。DNA 损伤与细胞凋亡密切相关,但 suPAR 刺激后足细胞凋亡并未见显著增加。

本研究进一步证实原发性 FSGS 患者 suPAR 水平显著高于正常对照,且以大量蛋白尿为主要临床特征的其他类型 NS 患者 suPAR 水平也显著升高,

提示 suPAR 可能参与原发性 FSGS 发病。suPAR 刺激未显著增加足细胞凋亡,但显著下调 DNA 复制及损伤修复、足细胞局部黏附信号通路。此外,足细胞滤过膜基因 ANKFY1 及足细胞骨架及内吞功能相关基因 FAT1 也显著下降。综上,本研究发现原发性 FSGS 患者 suPAR 水平显著升高;suPAR 可能通过干扰基因组稳态,破坏足细胞局部黏附、滤过膜及细胞骨架相关功能分子促进足细胞损伤。

参考文献

- [1] de Cos M, Meliambro K, Campbell KN. Novel Treatment Paradigms; Focal Segmental Glomerulosclerosis [J]. *Kidney Int Rep*, 2023, 8(1):30-35.
- [2] Campbell RE, Thurman JM. The immune system and idiopathic nephrotic syndrome [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2022, 17(12):1823-1834.
- [3] Wiggins RC. The spectrum of podocytopathies: a unifying view of glomerular diseases [J]. *Kidney Int*, 2007, 71(12):1205-1214.
- [4] 陈婧,黄泽宇,周学东,等. CD47 分子相关信号通路及 CD47 在病原感染中的研究进展 [J]. *四川大学学报(医学版)*, 2022, 53(3): 523-527.
Chen J, Huang ZY, Zhou XD, et al. Research progress of CD47-related signaling pathway and the role of CD47 in pathogenic infection [J]. *J Sichuan Univ (Med Sci)*, 2022, 53(3): 523-527.
- [5] Fogo AB. Causes and pathogenesis of focal segmental glomerulosclerosis [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2015, 11(2):76-87.
- [6] Uffing A, Perez-Saez MJ, Mazzali M, et al. Recurrence of FSGS after kidney transplantation in adults [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2020, 15(2):247-256.
- [7] Wei C, El Hindi S, Li J, et al. Circulating urokinase receptor as a cause of focal segmental glomerulosclerosis [J]. *Nat Med*, 2011, 17(8):952-960.
- [8] Hayek SS, Leaf DE, Samman Tahhan A, et al. Soluble urokinase receptor and acute kidney injury [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(5):416-426.
- [9] Wei C, Trachtman H, Li J, et al. Circulating suPAR in two cohorts of primary FSGS [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2012, 23(12):2051-2059.
- [10] Huang J, Liu G, Zhang YM, et al. Urinary soluble urokinase receptor levels are elevated and pathogenic in patients with primary focal segmental glomerulosclerosis [J]. *BMC Med*, 2014, 12:81.
- [11] Alachkar N, Wei C, Arend LJ, et al. Podocyte effacement closely links to suPAR levels at time of posttransplantation focal segmental glomerulosclerosis occurrence and improves with therapy [J]. *Transplantation*, 2013, 96(7):649-656.
- [12] Cathelin D, Placier S, Ploug M, et al. Administration of recombinant soluble urokinase receptor per se is not sufficient to induce podocyte alterations and proteinuria in mice [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2014, 25(8): 1662-1668.

(编辑 孙慧兰)