

· 基础研究 ·

Cldn14 基因敲除对大鼠草酸钙结石诱导形成的影响及其机制

罗培跃^{1,2}, 郑丽英¹, 陈涛^{1,2}, 邹俊^{1,2}, 李威^{1,2}, 陈琪^{1,2}, 程乐^{1,2}, 甘立峰^{1,2}, 张方涛^{1,2}, 钱彪^{1,2}

(1.赣南医科大学第一附属医院泌尿外科, 江西赣州 341000; 2.赣州市泌尿男科重点实验室, 江西赣州 341000)

Effects of Cldn14 gene knockout on the formation of calcium oxalate stones in rats and its mechanism

LUO Peiyue^{1,2}, ZHENG Liying¹, CHEN Tao^{1,2}, ZOU Jun^{1,2}, LI Wei^{1,2}, CHEN Qi^{1,2}, CHENG Le^{1,2}, GAN Lifeng^{1,2}, ZHANG Fangtao^{1,2}, QIAN Biao^{1,2}

(1.Department of Urology, The First Affiliated Hospital of Gannan Medical University, Ganzhou 341000; 2.Key Laboratory of Urology and Andrology of Ganzhou, Ganzhou 341000, China)

ABSTRACT: **Objective** To explore the effects of Cldn14 gene knockout on renal metabolism and stone formation in rats, so as to provide reference for research in the field of urinary calcium metabolism and stone formation. **Methods** Cldn14 gene knockout homozygous rats and wild-type rats of the same age were randomly divided into 4 groups: wild-type control (WC) group, wild-type ethylene glycol (WE) group, gene knockout control (KC) group and gene knockout ethylene glycol (KE) group, with 10 rats in each group. The WE and KE groups were induced with ethylene glycol + ammonium chloride to form kidney stones, while the WC and KC groups received normal saline gavage. After 4 weeks of standard maintenance feeding, the urine samples were collected to detect the venous blood. The kidneys were collected for HE, Pizzolatto's staining and transmission electron microscopy. The protein in renal tissues was extracted to detect the expressions of Claudin16 and Claudin19. **Results** Crystal deposition was observed in the renal tubular lumen of the WE and the KE groups, and more crystals were detected in the KE group. The WE group had a large number of intracytoplasmic black crystalline inclusions observed in renal tubular epithelial cells under transmission electron microscope, followed by the KE and KC groups. Compared with WC and WE groups, KC and KE groups had significantly decreased serum calcium and magnesium levels but significantly increased urinary calcium level. In addition, the urinary calcium level was higher in the WE group than in the WC group and higher in the KE group than in the KC group. The KE group had lower level of Claudin16, but there was no significant difference in the level of Claudin19 among the 4 groups ($P > 0.05$). **Conclusion** Knockout of Cldn14 gene alone cannot effectively reduce urinary calcium excretion or reduce the risk of stone formation in rats, which may be related to the decrease of Claudin16 level.

KEY WORDS: urinary calcium metabolism; molecular biology; Cldn14 gene; kidney stones; tight junction protein; ethylene glycol

摘要: **目的** 探究紧密连接蛋白 14(Cldn14)基因敲除对大鼠肾脏代谢及结石诱导形成的影响及其机制,为尿钙代谢及结石领域研究提供参考。 **方法** 将野生型大鼠与同周龄 Cldn14 基因敲除的纯合子大鼠分别随机分为野生型对照(WC)组、野生型乙二醇(WE)组、基因敲除对照(KC)组及基因敲除乙二醇(KE)组,每组 10 只。其中 WE、KE 组采用乙二醇+氯化铵方式诱导肾结石形成,WC 和 KC 组采用生理盐水灌胃。标准维持饲料喂养 4 周后收集大鼠尿液,并进行静脉血检测,同时收集大鼠肾脏行 HE、钙盐染色及透射电镜观察并提取肾脏组织蛋白。采用蛋白质印迹法检测紧密连接蛋白 16(Claudin16)及紧密连接蛋白 19(Claudin19)的表达水平。 **结果** WE 组与 KE 组肾小管腔内均可见晶体沉积,且 KE 组晶体多于 WE 组;相比于 KC 组,KE 组在透射电镜下的肾小管上皮细胞中可见大量胞质内黑色结晶性包涵体,而 WE 组包涵体数量显著多于 KE 组。相比于 WC 和 WE 组,KC 和 KE 组大鼠的血钙及血镁水平显著降低而尿钙水平则明显升高。此外,WE 组相对于 WC 组、KE 组相对于 KC 组尿钙水平进一步上升。KE 组大鼠肾脏组织 Claudin16 水平显著降低,然而四组大鼠肾脏组织 Claudin19 水平差异均无统计学意义($P > 0.05$)。 **结论** 单纯敲除 Cldn14 基因并不能有效减少大鼠尿钙排泄及降低结石形成的风险,这可能与 Claudin16 水平降低有

收稿日期:2024-04-10

修回日期:2024-06-28

基金项目:国家自然科学基金项目(No.82060135)

通信作者:钱彪,主任医师。E-mail:qb2003_2000@163.com

作者简介:罗培跃,硕士研究生,住院医师。研究方向:泌尿系结石。E-mail:gyluopeiye@163.com

关。

关键词:尿钙代谢;分子生物学;Cldn14 基因;肾结石;紧密连接蛋白;乙二醇

中图分类号:R691.4

文献标志码:A

DOI:10.3969/j.issn.1009-8291.2025.02.015

钙性结石是临床最常见的肾结石类型^[1]。尽管病因复杂,但已有充分的证据表明,高钙尿症是引起肾结石的主要危险因素^[2]。尿钙水平对结石形成有着重要的影响,研究表明,超过 60% 的钙离子通过由紧密连接家族蛋白(Claudins)组成的细胞旁途径通道被重吸收,因此 Claudin 蛋白可能成为结石防治的潜在靶点^[3]。近年来多项基因关联性研究发现,紧密连接蛋白 14(Cldn14)基因突变与人类遗传性高钙尿症及钙性结石形成有着密切的联系^[4-5]。此外,通过动态检测肾脏组织 Claudin 14 水平发现,在乙二醇及纳米细菌诱导大鼠肾结石形成的过程中,Cldn14 水平显著升高^[6-8]。上述结果均表明 Claudin14 在尿钙排泄及结石形成过程中具有重要作用,但 Claudin14 在调节尿钙代谢及结石形成中的具体作用机制暂未阐明。本研究通过构建 Cldn14 基因敲除大鼠并诱导肾结石形成,同时检测血、尿生化及肾脏结晶形成及损伤变化,拟进一步明确 Claudin14 在大鼠肾脏代谢及结石诱导形成中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 野生型雄性 Wistar 大鼠购于长沙天勤生物技术有限公司[许可证号:SCXK(湘)2014-0010;合格证编号:No.202230760],Cldn14 基因敲除杂合子大鼠购自苏州赛业生物科技有限公司[许可证号:SCXK(粤)2020-0055;合格证编号:No.44826100001973],饲养条件为恒温、恒湿,大鼠自由饮食、饮水。本研究经赣南医科大学伦理委员会审核:[2016]院伦审动实字(001)号(NO)A2016-001,所有动物操作均遵守动物实验伦理准则。

1.1.2 主要实验仪器及试剂 标准饲料、垫料(赣南医科大学实验动物中心),DNA 提取试剂盒、琼脂糖(北京全式金),50×TAE 缓冲液(中国百凯美),乙二醇、氯化铵(美国 Sigma),戊巴比妥钠(德国 Merck),HE 染色试剂盒、戊二醛(北京索莱宝),紧密连接蛋白 16(Claudin 16)、紧密连接蛋白 19(Claudin 19)多克隆抗体(美国赛默飞),β-actin 多克隆抗体(中国 Proteintech),超敏 ECL 发光液(武汉 Elabscience),全自动生化分析仪(瑞士罗氏),全自动脱水机、病理

切片机(美国赛默飞),偏光显微镜(中国瞬宇),聚合酶链式反应(polymerase chain reaction,PCR)仪(美国 AB),电泳仪(北京六一),凝胶成像系统(德国耶拿)。

1.2 实验方法

1.2.1 Cldn14 基因敲除大鼠的基因型鉴定 耳标标记待测大鼠,并使用动物打孔器于大鼠耳缘打孔取样,将取得组织放入无核酶 EP 管内,使用 DNA 提取试剂盒提取组织 DNA,根据 gRNA 的作用位点设计 2 条前导链引物 F1、F2 及 1 条后随链引物 R1,PCR 引物序列见表 1。使用 F1 与 R1 配置扩增体系 1,F2 与 R1 配置扩增体系 2 并对提取的 DNA 进行 PCR 扩增,将扩增产物加入 10 g/L 琼脂糖凝胶,采用直流电 150 V 电泳 50 min 后凝胶成像系统对 DNA 条带进行显像,根据不同分子质量 DNA 条带数量确定待鉴定大鼠的基因型(野生型、杂合子及纯合子分别有 2 条、3 条及 1 条 DNA 带)。

表 1 聚合酶链式反应各引物名称及序列

名称	引物序列
F1	5'-TTGGCTTACACTCTTGTGTCAGATGC-3'
F2	5'-CTAGAAAGTTGTGAGATCCCCAG-3'
R1	5'-CCCTCAGACTGTAACCACAATAAG-3'

F1:扩增体系 1 前导链引物;F2:扩增体系 2 前导链引物;R1:扩增体系 1、2 后随链引物。

1.2.2 动物分组及草酸钙结石模型的建立 选取周龄、体质量相匹配的雄性野生型 Wistar 大鼠及 Cldn14 基因敲除大鼠各 20 只,随机分为野生型对照(WC)组及野生型乙二醇(WE)组、基因敲除对照(KC)组及基因敲除乙二醇(KE)组,每组 10 只。适应性饲养 1 周后,成石组(WE 和 KE 组)自由饮用 10 g/L 的乙二醇蒸馏水,造模的最后 1 周使用 10 g/L 氯化铵溶液 1 mL/(kg·d)灌胃,对照组(WC 和 KC 组)自由饮用蒸馏水并于造模最后 1 周使用生理盐水 1 mL/(kg·d)灌胃,造模共持续 28 d。

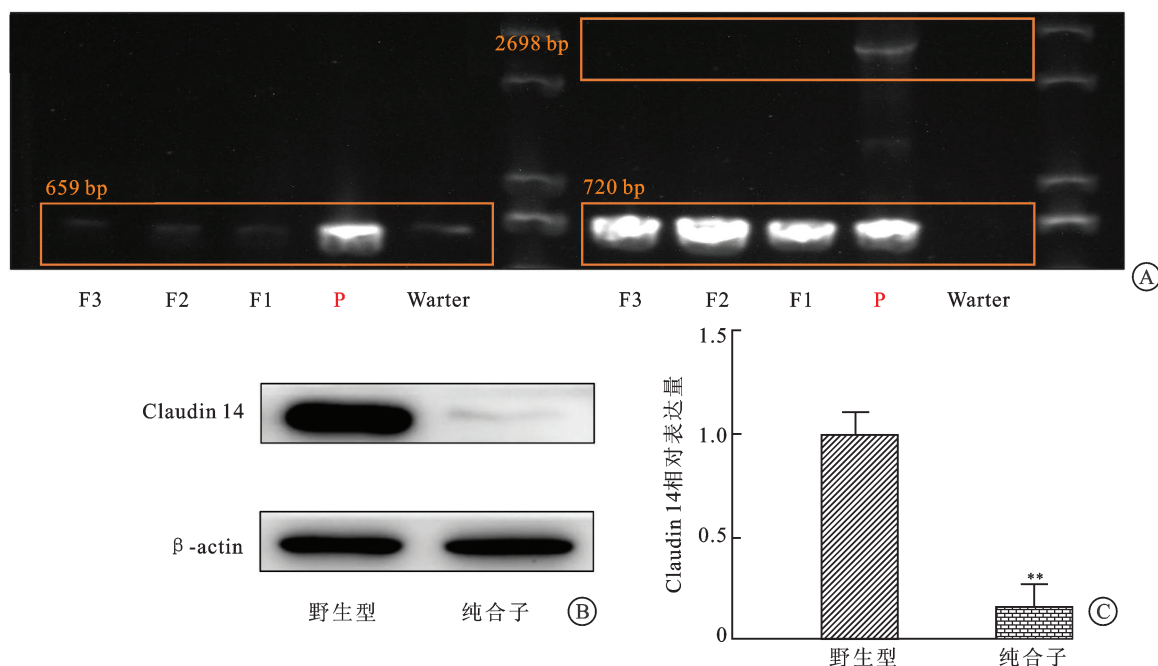
1.2.3 大鼠组织样本收集及检测 标准维持饲料喂养 4 周后,将大鼠置于代谢笼,收集 24 h 尿液后麻醉,切开腹腔,采集静脉血 3~4 mL,将尿液、血液离心后取上清液置于全自动生化分析仪检测。原位肾

灌注清洗肾脏后取出,将一侧肾脏沿长轴切开,福尔马林固定 24 h 后脱水、包埋、切片、脱蜡后行 HE 及钙盐(Pizzolatto's 法)染色。肾组织切成 1 mm³ 小块并置于戊二醛溶液固定 24 h,脱水、渗透包埋、聚合、切片、染色后通过透射电镜观察。另一侧肾脏留取皮髓交界处组织,加入裂解液提取此部分组织蛋白,利用蛋白质印迹(Western blotting, WB)检测 Claudin16 及 Claudin19 蛋白的表达水平。

1.3 统计学方法 所有数据均使用 IBM SPSS 26.0 软件进行统计学分析,所有统计图均使用 GraphPad Prism 软件绘制。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,正态性检验后若数据符合正态分布,对多组间比较采用 One-way ANOVA 方差分析,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,若数据不符合正态分布则采用非参数检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 Cldn14 基因敲除大鼠鉴定 经 CRISPR/Cas9 基因编辑技术构建的 Cldn14 基因敲除亲代雌、雄大鼠均为杂合子,其子代可出现野生型、杂合子及纯合子 3 种表型。因此,需通过基因鉴定筛选出实验造模所需的 Cldn14 基因敲除纯合子大鼠。如图 1A 所示,亲代大鼠 DNA 经 2 种 PCR 体系扩增后产物包含 659 bp、720 bp 及 2698 bp 3 条 DNA 带,鉴定为杂合子。而选取的 3 只子代大鼠的 DNA 扩增产物均仅有 1 条 720 bp 带,为 Cldn14 基因敲除纯合子。进一步通过 WB 检测野生型大鼠及鉴定为纯合子的 Cldn14 基因敲除大鼠肾脏组织 Claudin14 蛋白表达水平,如图 1B 所示,野生型大鼠可检测出清晰的 Claudin14 蛋白条带,而鉴定为纯合子的大鼠肾脏组织几乎无 Claudin14 表达。通过以上鉴定及筛选方式,我们成功繁育并筛选出 20 只 Cldn14 基因敲除纯合子大鼠用于后续实验。

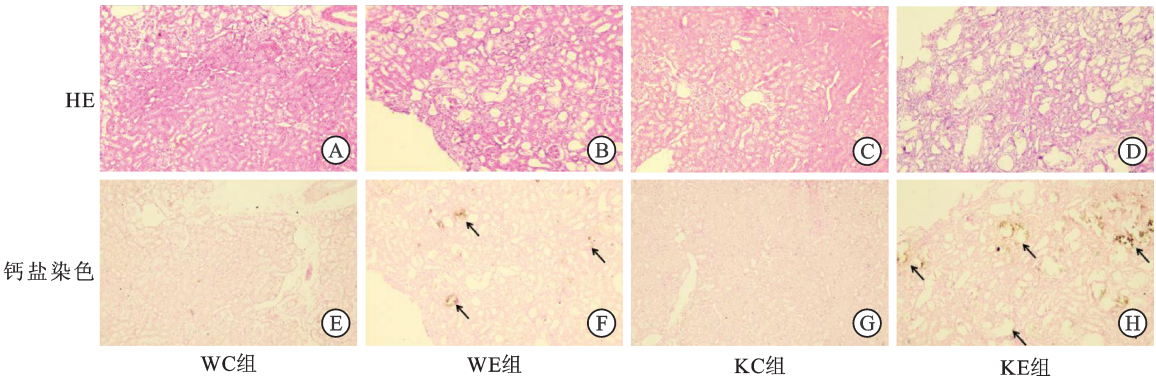


A: 紧密连接蛋白 14(Cldn14)基因敲除亲代及子代大鼠基因型鉴定; B: 野生型及纯合子大鼠肾脏紧密连接蛋白 14(Claudin14)检测; C: Claudin14 蛋白水平量化结果; ** $P < 0.01$ 。

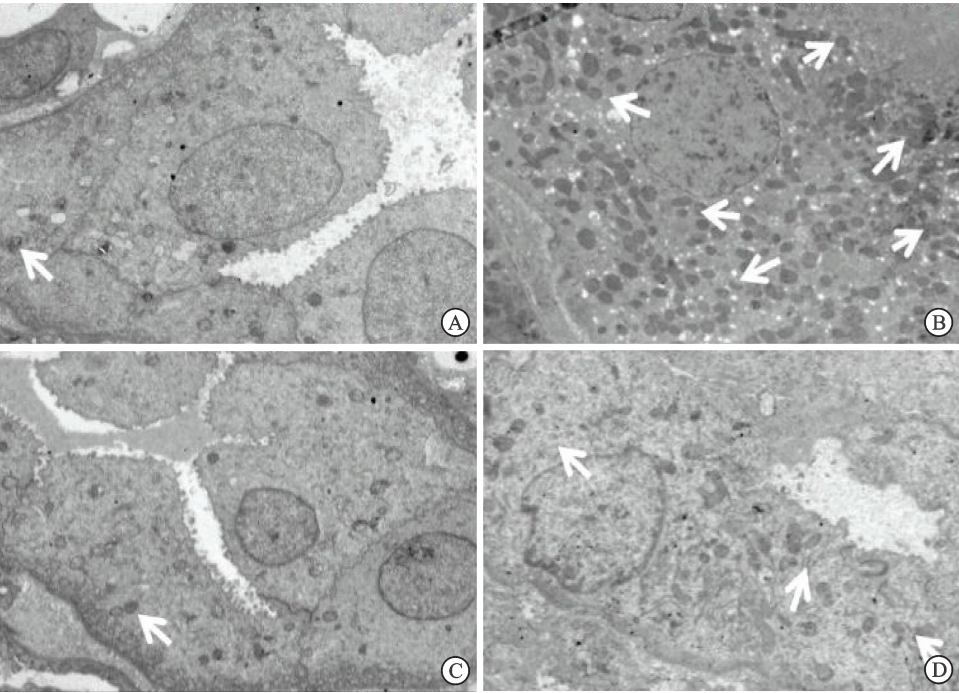
图 1 Cldn14 基因敲除大鼠鉴定

2.2 各组大鼠肾脏组织病理检测结果 HE 染色切片观察, WC 组与 KC 组均未见晶体沉积, 肾单位结构清楚, 皮质、髓质分界清晰, 两组大鼠肾脏病理结构无显著差异。而 WE 组与 KE 组大鼠肾小管腔内均可见晶体沉积, 并伴有不同程度的肾小球萎缩、肾小管上皮细胞坏死脱落以及炎症细胞浸润, 但两组大鼠肾脏晶体含量及肾脏损伤程度有显著差异。相比于 WE 组, KE 组管腔内晶体数量进一步增多, 肾小管

扩张程度以及肾小管上皮细胞水肿坏死程度进一步增加; 钙盐染色 WC 组与 KC 组均未见阳性染色, 而 WE 组与 KE 组管腔内可见黄褐色草酸钙晶体, KE 组较 WE 组更为明显(图 2); 透射电镜观察肾小管上皮细胞, 相比于对照组, 成石组的大鼠除线粒体明显水肿外, 胞质内还可见大量黑色结晶性包涵体, 然而与管腔内晶体不同的是, WE 组包涵体数量显著多于 KE 组(图 3)。



A、E:野生型对照(WC)组;B、F:野生型乙二醇(WE)组;C、G:基因敲除对照(KC)组;D、H:基因敲除乙二醇(KE)组。
图2 各组大鼠肾脏组织 HE 及钙盐染色结果(×100)



A:野生型对照(WC)组;B:野生型乙二醇(WE)组;C:基因敲除对照(KC)组;D:基因敲除乙二醇(KE)组;箭头示包涵体。

图3 透射电镜下各组大鼠肾脏组织超微结构观察(×2000)

2.3 大鼠血、尿生化检测分析 检测 4 组大鼠血液及尿液钙、镁、磷水平。结果发现,在给予正常钙水平饲养 4 周后,相比于 WC 和 WE 组,KC 和 KE 组大鼠的血钙及血镁水平显著降低,尿钙水平明显升高

(P 均 <0.01)。此外,WE 组相对于 WC 组尿钙水平进一步升高,KE 组相对于 KC 组尿钙水平也显著上升($P<0.01$),而血钙水平 WC 与 WE、KC 与 KE 相比差异均无统计学意义($P>0.05$,表 2)。

表 2 各组大鼠血液、尿液生化分析

($\bar{x} \pm s$, mmol/L)						
组别	尿钙	尿镁	尿磷	血钙	血镁	血磷
WC 组	1.00 ± 0.24	1.44 ± 1.29	1.78 ± 1.89	1.55 ± 1.14	0.67 ± 0.51	2.35 ± 0.71
WE 组	$1.81 \pm 0.51^*$	1.79 ± 1.99	7.70 ± 8.38	$1.42 \pm 1.20^\Delta$	$0.57 \pm 0.48^\Delta$	2.29 ± 0.29
KC 组	$1.56 \pm 0.53^*$	3.11 ± 2.39	6.70 ± 7.57	$0.03 \pm 0.01^*$	$0.04 \pm 0.02^*$	2.40 ± 0.20
KE 组	$1.99 \pm 0.89^*$	3.42 ± 2.22	6.70 ± 7.57	$0.03 \pm 0.02^*$	$0.04 \pm 0.02^*$	2.88 ± 0.52

* 与 WC 组比较, $P<0.01$; $^\Delta$ 与 KE 组比较, $P<0.01$;WC:野生型对照;WE:野生型乙二醇;KC:基因敲除对照;KE:基因敲除乙二醇。

2.4 各组大鼠肾脏组织 Claudin16 及 Claudin19 表达水平 采用 WB 检测 Claudin16 及 Claudin19 的表

达水平,结果显示相比于 WC 组,KC 组大鼠肾脏组织 Claudin16 水平显著降低而 Claudin19 水平差异无

统计学意义。WE 组较 WC 组、KE 组较 KC 组的 Claudin16 水平均有所降低 ($P < 0.01$), 然而 Clau-

din19 表达水平在对照组与成石组间的差异均无统计学意义 ($P > 0.05$, 图 4)。

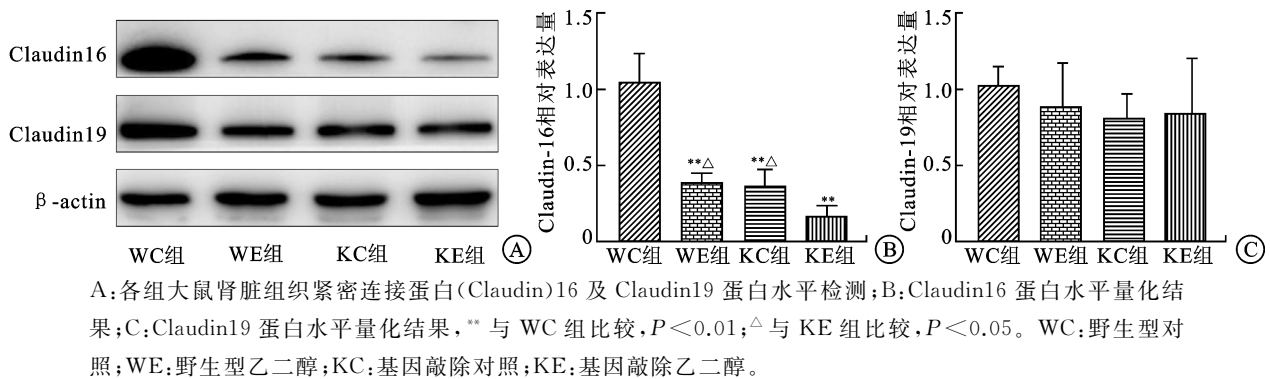


图4 各组大鼠肾脏组织 Claudin16 及 Claudin19 表达水平

3 讨论

Claudin 家族作为紧密连接过程重要的参与者在调节离子细胞旁途径通透性中起到关键作用^[9]。特定种类及数量的 Claudins 赋予了肾小管不同节段对离子的通透效果^[10]。研究不同 Claudins 的功能作用的一个有效的方法是构建一个相应的 Cldn 基因敲除动物模型, ELKOUBY-NAOR 等^[11]构建了 Cldn11/14 双基因敲除小鼠, 检测结果发现, 两组大鼠血浆钙离子、镁离子及肌酐水平差异均无统计学意义, 尽管基因敲除小鼠的尿镁与尿钙的排泄量较高, 但与野生型相比, 这些变化并无统计学意义。但 GONG 等^[12]的研究得出相反的结果, 野生型及单纯 Cldn14 基因敲除小鼠在给予高钙饮食 10 周后, 尿钙、尿镁排泄及血浆镁相对于野生型显著降低, 而血浆钙离子浓度则无显著变化。与上述基因敲除小鼠模型一样, 本研究构建的 Cldn14 基因敲除大鼠可以正常稳定繁育, 未发现严重的生理变化。通过检测发现相对于野生型大鼠, Cldn14 基因敲除大鼠在正常钙饮食 4 周后血钙、血镁水平显著降低而尿钙、尿镁水平显著增高, 提示尿液钙离子、镁离子出现过度排泄, 而通过使用乙二醇诱导后, 与野生型一样, 基因敲除大鼠的尿钙水平也进一步升高, 表明尿钙排泄水平在 Claudin14 缺失的情况下还可被进一步诱导。多项类似的研究却出现不同的实验结果, 除了受如降钙素水平、饮食钙水平等外在因素影响外, 这一结果也提示尿钙、尿镁代谢可能涉及更为复杂的调控机制, 即 Claudin14 可能与其他分子相互作用共同参与尿钙、尿镁代谢。

近年来, Claudin14 因其在钙离子代谢中的关键作用不断在泌尿系结石领域被广泛研究。早在 2009 年, 一项全基因组关联性研究证实了 Cldn14 基因突变与肾结石形成有着密切的联系^[4], 印度的一项基因调查研究中也证实了同样的结果^[13]。此外, 多项研

究表明在乙二醇及纳米细菌诱导的肾结石形成过程中, Claudin14 的水平显著升高^[6-8]。进一步研究发现, Claudin14 水平的升高会导致肾小管对钙离子的重吸收受到抑制, 从而导致尿液中钙离子的排泄增加, 增加了肾结石形成的风险^[14-15]。为进一步验证 Claudin14 在结石形成中的作用, 我们构建了 Cldn14 基因敲除大鼠并使用乙二醇诱导结石形成。然而结果与预期并不一致, 乙二醇仍可诱导 Cldn14 基因敲除大鼠肾结石形成, 结石形成程度及肾脏损伤程度甚至比野生型更严重。我们认为这一结果并不能否认 Cldn14 基因在诱导结石形成中的作用, 因已经有研究证实, Claudin 家族蛋白之间存在功能冗余, 即尿钙调节并不是由单一分子实现的^[11]。Claudin14 作为肾钙代谢调节中的一员, 其缺失并不一定能造成肾钙代谢的功能紊乱, 本研究的尿钙检测结果也证实了这一点, 即 Claudin14 蛋白缺失后, 尿钙水平并没有像预测的那样显著降低而是进一步升高, 导致血清钙浓度显著下降。因此我们进一步检测了与 Claudin14 关联密切的 Claudin16 及 Claudin19 的水平。

研究表明 Claudin16 及 Claudin19 主要在肾脏的髓袢升支粗段 (ascending thick limb of Henle's loop, TAL) 表达, 二者以异二聚体的形式形成阳离子通道, 以便在此处通过细胞旁途径重吸收钙离子和镁离子^[5]。GONG 等^[12]的研究证实, Claudin 14 同样定位于 TAL 段, 并通过与 Claudin16 直接作用从而抑制阳离子通道的活性进而降低钙、镁的重吸收。正常情况下由于 miRNA 的存在 Claudin14 低表达, 在受到胞质外高钙离子浓度激活后人源钙离子敏感受体诱导 TAL 段 Claudin14 表达升高, 并通过抑制 Claudin16/19 离子通道从而促进尿钙、镁的排泄^[16-17]。我们通过 WB 检测了各组大鼠肾脏组织 Claudin16 及 Claudin19 的表达, 结果发现 Claudin14 蛋白缺失后 Claudin16 的水平也显著降低, 而

Claudin19的表达水平则无显著变化,这一结果与GONG等^[12]研究的结论一致,Claudin14是与Claudin16直接作用而并不与Claudin19直接结合。同时也对这一结果进行了侧面补充,即Claudin14不仅能与Claudin16直接作用影响其异二聚体阳离子通道的通透性,同时还可以直接影响Claudin16的表达水平从而通过减少阳离子通道的形成抑制尿钙、镁的重吸收。因此,尿钙排泄的进一步升高以及结石形成的进一步加重也可能与Claudin16水平的显著降低密切相关。

总而言之,本研究证实了单纯敲除Cldn14基因并不能有效减少尿钙排泄并降低结石形成的风险,这可能与Claudin16的水平降低相关,也可能涉及更为复杂的调控机制。进一步探索与Claudin14协同参与尿钙代谢及结石形成的相关分子可成为后续研究的新方向。

参考文献:

- [1] KNOLL T, SCHUBERT AB, FAHLENKAMP D, et al. Urolithiasis through the ages: data on more than 200 000 urinary stone analyses[J]. J Urol, 2011, 185(4): 1304-1311.
- [2] LEVY FL, ADAMS-HUET B, PAK CY. Ambulatory evaluation of nephrolithiasis: an update of a 1980 protocol[J]. Am J Med, 1995, 98(1): 50-59.
- [3] EDWARDS A, BONNY O. A model of calcium transport and regulation in the proximal tubule [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2018, 315(4): F942-F953.
- [4] THORLEIFSSON G, HOLM H, EDVARDSSON V, et al. Sequence variants in the CLDN14 gene associate with kidney stones and bone mineral density[J]. Nat Genet, 2009, 41(8): 926-930.
- [5] ARCIDIACONO T, SIMONINI M, LANZANI C, et al. Claudin-14 gene polymorphisms and urine calcium excretion[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2018, 13(10): 1542-1549.
- [6] 申茂磊, 王勤章, 钱成, 等. CaSR 和 Claudin-14 在纳米细菌肾结石形成中表达的动态研究[J]. 医学研究生学报, 2018, 31(5): 466-469.
- [7] 申茂磊, 王勤章, 钱成, 等. Claudin-14 在纳米细菌肾结石形成中表达的动态研究[J]. 现代泌尿外科杂志, 2019, 24(1): 64-67.
- [8] 杨恒, 钱彪, 王勤章, 等. Claudin-14 在两种肾结石模型肾组织中表达的对比研究[J]. 医学信息, 2022, 35(9): 87-89.
- [9] 王钰, 王梦婧, 陈靖. Claudin 家族在肾脏疾病中的研究进展[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2023, 32(6): 575-579.
- [10] HOU J, RAJAGOPAL M, YU ASL. Claudins and the kidney [J]. J Am Soc Nephrol, 2013, 75: 479-501.
- [11] ELKOUBY-NAOR L, ABASSI Z, LAGZIEL A, et al. Double gene deletion reveals lack of cooperation between Claudin 11 and Claudin 14 tight junction proteins[J]. Cell Tissue Res, 2008, 333(3): 427-438.
- [12] GONG Y, RENIGUNTA V, HIMMERKUS N, et al. Claudin-14 regulates renal Ca^{2+} transport in response to CaSR signalling via a novel microRNA pathway[J]. EMBO J, 2012, 31(8): 1999-2012.
- [13] GUHA M, BANKURA B, GHOSH S, et al. Polymorphisms in CaSR and CLDN14 genes associated with increased risk of kidney stone disease in patients from the eastern part of India[J]. PLoS One, 2015, 10(6): e130790.
- [14] 孙稳, 丁国富, 王勤章. 肾草酸钙结石大鼠肾组织中 Claudin-14 的表达变化及意义[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2014, 32(3): 340-344.
- [15] 王敬坤. 选择性调控 CaSR-Claudin-14 在大鼠草酸钙肾结石形成中的作用的初步研究[D]. 石河子大学, 2021.
- [16] LEE JJ, ALZAMIL J, REHMAN S, et al. Activation of the calcium sensing receptor increases claudin-14 expression via a PLC - p38-Spl pathway[J]. FASEB J, 2021, 35(11): e21982.
- [17] OH IH, JO CH, KIM S, et al. Thick ascending limb claudins are altered to increase calciuria and magnesiuria in metabolic acidosis [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2021, 320(3): F418-F428.

(编辑 郭楚君)