

Tiermodelle mit Zystennieren

Tiermodelle (■ **Tab. 1, 2, 3**) sind von essenzieller Bedeutung sowohl für die Aufklärung molekularer Pathomechanismen komplexer, genetischer Erkrankungen wie den polyzystischen Nierenerkrankungen (PKD) als auch für die Entwicklung und Testung therapeutischer Maßnahmen. Früher war man ausschließlich auf die morphologische Charakterisierung spontan aufgetretener, erblicher Phänotypen angewiesen, ohne deren genetische Ursache zu kennen. Heute können diese Genmutationen z. B. durch „positional cloning“ und Sequenzierungen identifiziert werden. Der Einsatz transgener Techniken ermöglicht heute zudem die Generierung neuer Tiermodelle zur funktionalen Analyse humaner PKD-assoziiierter Gene.

Modelle mit Spontanmutationen

Spontanmutationen in Genen ohne Orthologie zu humanen PKD-Genen

Das erste beschriebene Mausmodell (1982) für die polyzystische Nierenerkrankung ist die *cpk-Maus* („congenital polycystic kidney“), deren Phänotyp eine starke Ähnlichkeit mit der humanen Nephrophtise zeigt. Der zystische Phänotyp tritt nach einem rezessiven Vererbungsmuster auf und führt innerhalb der ersten 4 Lebenswochen zum Tod [39]. Erst 1991 wurde das *cpk*-Gen *Cyst1* identifiziert. Dieses Genprodukt Cystin enthält ein Acetylierungsmotiv und ein Zilien-targeting-Signal und wird daher vorwiegend im Bereich des ziliären Axonems beobachtet

[49]. Cystin scheint durch Protein-Lipid-Interaktionen in Membranmikrodomänen organisiert zu sein und ist Teil einer Signalkaskade, welche an der Differenzierung des Epithels beteiligt ist.

Diese Zilienassoziation von Zystengen, seien sie human oder murin, ist erst in jüngster Vergangenheit in den Mittelpunkt der Forschung gerückt, als B.K. Yoder et al. mehrere Zystenproteine in dieser zellzyklusabhängigen Organelle lokalisierten [62].

Die *kat*- und *kat^{2J}*-Mutationen („kidney, anemia, testes“) sind in 2 verschiedenen Mäusestämmen im gleichen Gen, „never in mitosis (NIMA)-related kinase“ (*Nek1*), aufgetreten [17]. Beide Mutationen haben einen verfrühten Translationsstopp zur Folge und induzieren einen zystischen Phänotyp, der einem rezessiven Erbgang folgt. Die Pathogenese ähnelt der humanen autosomal-dominanten polyzystischen Nierenerkrankung (ADPKD, ■ **Tab. 3**). Nach 2 Monaten treten erste zystische Veränderungen in den Glomeruli und proximalen Tubuli auf. Das Protein *Nek1* wurde in den Basalkörperchen der Zilien lokalisiert. Über einen nuclear-export-signal-(NES)-abhängigen Signalweg wird das Protein aus dem Nukleus exportiert und kann so Signale zwischen Zilie und Nukleus zur Genregulation weiterleiten [15]. Die beschriebenen Strangabbruchmutationen bewirken eine Inhibition der Ziliogenese [41].

Die *Han:SPRDCy/+*-Mutante ist das erste und am besten erforschte Rattenmodell (■ **Tab. 3**) für erbliche polyzystische Nierenerkrankungen. Es entstand in Hannover durch eine spontane Mutation in

einem männlichen Han:SPRD-Tier [18]. Der Erbgang ist dominant und führt in heterozygoten und homozygoten Tieren zu unterschiedlich stark ausgeprägten zystischen Phänotypen. Homozygote Tiere sterben bereits nach 3–4 Wochen an Urämie. Analog zur humanen ADPKD wurde ein ausgeprägter Geschlechtsdimorphismus beobachtet. Heterozygote Männchen haben aufgrund ihres nur langsam voranschreitenden Phänotyps eine Lebenserwartung von etwa 17 Monaten. Es wurden keine urämiebedingten Todesfälle bei heterozygoten Weibchen beobachtet. Erst kürzlich wurde eine einzelne Missense-Punktmutation im *Anks6*-Gen („ankyrin repeats and sterila alpha motif domain containing 6“; ■ **Tab. 3**) identifiziert, die mit der Inzidenz von Zysten korreliert [5]. Diese *Anks6*^(p.R823W)-Mutation bewirkt den Austausch einer stark konservierten Aminosäure (R→W) in der SAM-Domäne des Proteins. Die intrazelluläre Lokalisation des Proteins zeigte in vitro eine Kollokalisierung mit dem zystenassoziierten Protein Bicaudal C Homolog 1 (*Bicc1*; [47]). *Bicc1* ist zwar nicht direkt in Zilien lokalisiert, dem Protein wird jedoch eine Funktion downstream oder parallel zu einem zilienregulierten Signalweg zugeschrieben [52]. Die Proteine interagieren über die KH-Domäne von *Bicc1* und die SAM-Domäne von *Anks6* unter Beteiligung von RNA-Molekülen. Die *Anks6*^(p.R823W)-Mutation verhindert die Bildung von *Anks6*-Homomeren, jedoch nicht die Bildung von RNA-Proteinkomplexen mit *Bicc1* [47]. Die Funktion von *Anks6* ist bislang unbekannt. Die Proteinstruktur ausschließlich aus Prote-

in- und RNA-Bindungsdomänen („ankyrin repeats“ und SAM) und die In-vitro-Untersuchungen deuten auf eine Funktion im Zellgerüst oder bei der Lokalisation und Regulation der Translation spezifischer mRNA hin [47].

Bicc1 ist sowohl in der *bpk-Maus* („BALB/c polycystic kidney“; [35]) als auch in der *jcpk-Maus* („juvenile congenital polycystic kidney“) mutiert [10]. Beide Mutationen führen ebenso wie die *Anks6*^(p.R823W)-Mutation zur Induktion einer Zystogenese. Der *Bicc1*-Signalweg ist essenziell für die terminale Differenzierung des distalen Tubulus von *Xenopus pronephros* und reguliert die Differenzierung von Epithelzellen. Erst kürzlich konnte eine posttranskriptionale Regulation von Polycystin-2 durch *Bicc1* gezeigt werden. *Bicc1* reguliert hierbei die Stabilität der *Pkd2*-mRNA und deren Translationseffizienz durch das Antagonisieren der repressiven Aktivität der *miR-17*-microRNA-Familie in der 3'-UTR der *Pkd2*-mRNA [53]. In Embryonen eines *Bicc1*-Knock-outs (*Bicc1*^{-/-}) wurde eine gestörte Zilienausrichtung beobachtet. Des Weiteren konnte eine regulatorische Wirkung von *Bicc1* auf die β -Catenin/TCF-Signalkaskade über Dishevelled (*Dvl2*) gezeigt werden. *Bicc1* agiert wahrscheinlich parallel zu Inversin bei der Ausrichtung der Zilien als Reaktion zu PCP-Signalen („planar cell polarity“; [28]).

Spontanmutationen in Orthologen zu humanen Zystengen

Die Mutation in der *pck-Ratte* („polycystic kidneys“) entwickelte sich spontan in einem Crj:CD/CD-Stamm [19]. Als Auslöser für den zystischen Phänotyp, der einem rezessiven Erbgang folgt, wurde eine Mutation im *Pkhd1*-Gen („polycystic kidney and hepatic disease 1“), dem Rattenortholog zum humanen *PKHD1*-Gen, identifiziert [56]. Zystische Veränderungen der Nieren und Leber können bereits in den ersten Lebenstagen beobachtet werden. Die Nierenzysten entwickeln sich fokal im Bereich der Henle-Schleife, dem distalen Tubulus und dem Sammelrohr. Die Zysten nehmen mit dem Alter in Größe und Anzahl zu. Die Zellen in den Zysten reichen von groß und kubisch bis flach und dedifferenziert. Die

medgen 2010 · 22:332–338 DOI 10.1007/s11825-010-0230-3
© Springer-Verlag 2010

S. Neudecker · N. Gretz · S. Hoffmann Tiermodelle mit Zystennieren

Zusammenfassung

Polyzystische Nierenerkrankungen (PKD) sind der häufigste genetische Grund für ein terminales Nierenversagen. Flüssigkeitsgefüllte Zysten bilden sich im Nierenparenchym und beeinträchtigen die Nierenfunktion mit zunehmender Anzahl und Größe, bis diese vollkommen zum Erliegen kommt. Seit mehreren Jahrzehnten werden Tiermodelle mit PKD für die Aufklärung der molekularen Mechanismen der Zystogenese verwendet. War man anfangs auf zufällige, durch Spontanmutationen aufgetretene Zystenmodelle angewiesen, eröffneten transgene und Knock-out-Technologien in den letzten 20 Jahren eine

völlig neue Dimension, die molekularen Pathomechanismen der Zystogenese durch gezielte genetische Veränderungen im Erbgut aufzuklären. Nur mit der Hilfe von Tiermodellen konnte die Lokalisation von „Zystenproteinen“ in den Zilien und die Beteiligung zilieneabhängiger Signalkaskaden in der Zystogenese gezeigt werden. Dieser Artikel gibt einen Überblick über die derzeit vorhandenen murinen Tiermodelle mit PKD.

Schlüsselwörter

Polyzystische Nierenerkrankung · Tiermodelle · Zilien · Zystenproteine · Ziliopathie

Animal models with cystic kidneys

Abstract

Polycystic kidney disease (PKD) is the most common genetic cause for end-stage renal failure. Numerous fluid-filled cysts develop in the parenchyma of the kidney. They compromise kidney function with increasing number and size of the cysts until renal failure is inevitable. The cysts are epithelial in origin but cysts develop in different nephron segments depending on the type of the PKD. Animal models with PKD have been used for several decades to unravel the molecular mechanisms of cystogenesis. Initially, research was dependent on the morphological analysis of spontaneously emerging cystic pheno-

types. Nowadays, in addition to these models transgenic and knock-out models targeting PKD genes are also available. The localization of „cystoproteins“ in the cilia of the tubulus epithelia and the involvement of cilia-dependent pathways in cystogenesis was shown only with the help of these animal models. This article gives an overview on the currently available murine models presenting with PKD.

Keywords

Polycystic kidney diseases · Models, animal · Cilia · Cystoproteins · Ciliopathy

Tab. 1 Mausmodelle für humane polyzystische Nierenerkrankungen					
Erkrankungen	Gen	Protein	Modell	Art der Mutation	
Autosomal-dominante polyzystische Nierenerkrankung (ADPKD)	<i>Pkd1</i>	Polycystin-1	<i>Pkd1</i> ^{null} <i>Pkd1</i> ^{del34} , <i>Pkd1</i> ^{del17-21bgeo} , <i>Pkd1</i> ^{nl} <i>Pkd1</i> ^{flox/-} ; <i>Ksp-Cre</i> <i>Cre</i> ; <i>Pkd1</i> ^{del2-11,lox} <i>Pkd1</i> _{TAG} <i>SBPkd1</i> _{TAG}	Knock-out Knock-out kond. Knock-out kond. Knock-out Transgen Transgen _{nierenspez.}	
	<i>Pkd2</i>	Polycystin-2	<i>Pkd2</i> ^{WS25} , <i>Pkd2</i> ^{-LacZ} <i>Pdx1-Cre-ER</i> TM :: <i>Pkd2</i> ^{f3/-} <i>TGM(hPKD2)</i> <i>TGM(PKD2-2,-4,-Y)</i>	Knock-out kond. Knock-out Transgen Transgen	
Autosomal-rezessive polyzystische Nierenerkrankung (ARPKD)	<i>Pkhd1</i>	Fibrocystin/Polyductin	<i>Pkhd1</i> ^{lacZ/lacZ} <i>Pkhd1</i> ^{del4/del4} <i>Pkhd1</i> ^{e15GFPΔ16} (<i>Pkhd1</i> ⁻)	Knock-out Knock-out Knock-out	
Nephronophthie (NPHP)	NPHP2	<i>Invs</i>	Inversin	<i>inv</i>	Insertionsmutation
	NPHP3	<i>Nphp3</i>	Nephrocystin-3	<i>pcy</i> <i>Nphp3</i> ^{ko}	Spontanmutation Knock-out
	NPHP7	<i>Glis2</i>	„GLIS family zinc finger 2“	<i>Glis2</i> ^{LacZ}	Knock-out
	NPHP8	<i>Rpgrip11</i>	„RPGRIP1 (retinitis pigmentosa GTPase regulator interacting protein 1)-like“	<i>Ftm</i>	Knock-out
	NPHP9	<i>Nek8</i>	„NIMA (never in mitosis gene a)-related expressed kinase 8“	<i>Jck</i>	Spontanmutation
Meckel-Gruber-Syndrom (MKS)	<i>Mks1</i>	„Meckel syndrome type 1“	<i>Krc</i>	chemisch induziert	
	<i>Tmem67</i>	Meckelin	<i>Bpck</i>	Spontanmutation	
Bardet-Biedl-Syndrom (BBS)	<i>Bbs2</i>	„Bardet-Biedl syndrome 2“	<i>Bbs2</i> ^{-/-}	Knock-out	
„Maturity onset diabetes of the young type 5“ (MODY5)	<i>Hnf1β</i>	„Hepatocyte nuclear factor-1 beta“	<i>KspCre</i> ; <i>HNF1β</i> ^{flox/flox}	kond. Knock-out	

Tab. 2 Rattenmodelle für humane polyzystische Nierenerkrankungen				
Erkrankungen	Gen	Protein	Modell	Art der Mutation
ADPKD	<i>Pkd2</i>	Polycystin-2	<i>TGR(hCMV-hPKD2)</i> ^{1/703}	Transgen
ARPKD	<i>Pkhd1</i>	Fibrocystin/Polyductin	<i>pck</i>	Spontanmutation
MKS	<i>Tmem67</i>	Meckelin	<i>wpk</i>	Spontanmutation

Tab. 3 Murine polyzystische Nierenerkrankungen				
Gen	Protein	Modell	Art der Mutation	Spezies
<i>Anks6</i>	„Ankyrin repeat and sterile alpha motif domain containing 6“	<i>Han:SPRD</i> <i>cy/+</i> <i>PKD/Mhm</i> <i>cy/+</i>	Spontanmutation	Ratte
<i>Bicc1</i>	„Bicaudal C homolog 1“	<i>Bpk</i> <i>jcpk</i> <i>Bicc1</i> ^{-/-}	Spontanmutation chemisch induziert Knock-out	Maus
<i>Cys1</i>	Cystin	<i>cpk</i>	Spontanmutation	Maus
<i>c-myc</i>	c-Myc	<i>SBM</i>	Transgen	Maus
<i>Ift88</i>	Polaris	<i>orpk</i>	Insertionsmutation	Maus
<i>Kif3a</i>	„Kinesin family member 3A“	<i>cre</i> ; <i>Kif3a</i> ^{fl/-}	kond. Knock-out	Maus
<i>Nek1</i>	„NIMA (never in mitosis gene a)-related kinase 1“	<i>kat</i> <i>kat</i> ^{2J}	Spontanmutation	Maus

Anzahl apoptotischer Zellen ist wie bei Patienten mit autosomal-rezessiver polyzystischer Nierenerkrankung (ARPKD) erhöht, wobei die apoptotischen Zellen vorwiegend in normalen oder fokal erweiterten Tubuli mit kubischem Epithel und weniger in Zysten mit flachem Epithel beobachtet werden. Fibrocystin/Polyductin, das *Pkhd1*-Genprodukt, kolokalisiert und interagiert über Bindungsdomänen mit Polycystin-2 in den primären Zilien. Der Verlust von Fibrocystin/Polyductin reduziert die Polycystin-2-Expression. Polycystin-2 könnte demnach direkt downstream des Fibrocystins/Polyductins agieren [21]. Das mutierte Fibrocystin/Polyductin hat die Fähigkeit zur Zilienlokalisierung verloren.

Zur Untersuchung funktioneller Konsequenzen verschiedener Mutationen des *Pkhd1*-Gens wurden verschiedene Gen-Knock-outs entwickelt. Das hypomorphe Allel *Pkhd1^{del4}* zeigt eine 30%ige Restexpression des Fibrocystin/Polyductin. Diese Reduktion der *Pkhd1*-Expression ermöglicht noch eine normale Nierenentwicklung, induziert aber Leberzysten [12]. Der vollständige Funktionsverlust (*Pkhd1^{lacZ}* und *Pkhd1^{e15GFPΔ16}*) induziert einen starken Nieren- und Leberphänotyp [58]. Analog zur humanen ARPKD bilden sich Nierenzysten vorwiegend im Sammelrohr. Da die *Pkhd1^{lacZ}*-Mäuse im Gegensatz zur humanen ARPKD neonatal normal entwickelte Nieren haben und erst später Zysten entwickeln, bildet der KO-Phänotyp eher die Late-onset-ARPKD ab. Wie bei ARPKD-Patienten beobachtet, zeigen die Tiere in der Leber eine klassische Duktalplatten-Fehlbildung.

Die zystische Erkrankung der *pcy-Maus* trat spontan in einem diabetischen KK-Mäusestamm auf und wurde später in einen DBA/2J-Stamm übertragen [48]. Der zystische Phänotyp folgt einem rezessiven Vererbungsmuster und schreitet nur langsam voran. Homozygote Tiere haben eine Lebenserwartung von 30–36 Wochen. Dem Phänotyp der *pcy-Maus* liegt eine Genmutation im *Nphp3*-Gen zugrunde. Mutationen im humanen Ortholog, *NPHP3*, induzieren eine Nephronophthiose des Typs 3. Die *pcy-Maus* und der humane *NPHP3*-Phänotyp zeigen die gleichen Veränderungen der Basalmembran, tubuläre Dilatationen, Atrophie und eine

sklerotische tubulointerstitielle Nephropathie. Die Nieren der *pcy-Maus* sind hypertroph, wohingegen die Nieren von *NPHP3*-Patienten keine Größenveränderung oder aber eine Hypotrophie zeigen. Das *Nphp3*-Genprodukt Nephrocystin-3 konnte kürzlich in dem neu identifizierten *inv*-Kompartiment des ziliären Schafths lokalisiert werden [42]. Inversin (mutiert in der *inv-Maus*) ist für die *inv*-Lokalisation essenziell und dient dort als Anker für Nephrocystin-3. Bergmann et al. zeigten, dass die *pcy*-Mutation ein hypomorphes *Nphp3*-Allel hervorbringt [3]. Der ganzheitliche Funktionsverlust des Proteins durch einen Knock-out (*Nphp3^{ko/ko}*) bewirkt einen drastisch verstärkten, embryonal letalen Phänotyp [3].

Die Mutation der *jck-Maus* („juvenile cystic kidney“) konnte als eine Missense-Mutation im Ortholog des humanen Nephronophthiose-Gens *NEK8/NPHP9* („never in mitosis gene a-related expressed kinase 8“) identifiziert werden [1]. Die zystische Erkrankung folgt einem rezessiven Muster. Nichtsdestotrotz ähnelt der *jck*-Phänotyp aufgrund seiner langsamen Entwicklung der humanen ADPKD. Homozygote Tiere entwickeln bereits im Alter von 3 Tagen fokale Zysten in den Nieren und haben eine Lebenserwartung von mehr als 4 Monaten. Die Genmutation bewirkt eine Überexpression des *Nek8*-Gens, und das Protein verliert die Fähigkeit zur Lokalisation im *inv*-Kompartiment der Zilien [46].

In der *inv-Maus* („inversion of embryo turning“) wurde durch eine zufällige Transgenintegration das Inversin kodierende Gen, *Invs/Nphp2*, zerstört [31], was eine rezessiv vererbte zystische Erkrankung von Nieren und Pankreas sowie eine gestörte Entwicklung des extrahepatischen Gallensystems zur Folge hat. Homozygote *inv*-Mäuse sind nicht länger als eine Woche lebensfähig. Der renale Phänotyp gleicht dem von *NPHP2*-Patienten. Zudem konnten Situs inversus und Missbildungen des Herzens sowohl in der *inv-Maus* als auch in *NPHP2*-Patienten beobachtet werden. Die Inversin-Expression ist stark an den Zellzyklus gekoppelt und konnte in dem nach dem Protein benannten *inv*-Kompartiment des ziliären Schafths lokalisiert werden [43]. Nephrocystin-3 und *Nek8* interagieren mit Inver-

sin und kolokalisieren im *inv*-Kompartiment. Andere Nephronophthiose-Proteine wie Nephrocystin-1 und -4 interagieren mit Inversin außerhalb der Zilien und könnten dadurch eine wichtige Rolle in einer Nephrocystin-Signalkaskade zur Aufrechterhaltung der Tubulusstruktur spielen. Inversin ist als Inhibitor des kanonischen *Wnt*-Signalwegs für den Wechsel zwischen verschiedenen *Wnt*-Signalkaskaden essenziell [45].

Die klassischen PKDs der *wpk-Ratte* („Wistar polycystic kidneys“; [34]) und der *bpck-Maus* [8] basieren auf unterschiedlichen Spontanmutationen im gleichen Gen, *Tmem67/Mks3*, und folgen einem rezessiven Erbgang. In der *bpck*-Mutante ist das komplette *Tmem67/Mks3*-Gen deletiert [8]. Die genaue Mutation im *Tmem67/Mks3*-Gen der *wpk-Ratte* konnte bislang nicht identifiziert werden, ein Nullallel ist jedoch aufgrund des fast identischen Phänotyps der beiden Mutanten naheliegend. Das betroffene Gen ist auch in Patienten mit Meckel-Gruber-Syndrom mutiert. Die murinen Phänotypen ahmen jedoch nicht alle Merkmale des humanen *MKS3*-Phänotyps nach. *Tmem67* kodiert für das Protein Meckelin, welches in den Zilien und der Plasmamembran lokalisiert ist. In vitro verhindert eine reduzierte Meckelin-Expression die Migration der Zentriole zur apikalen Membran und somit die Ziliogenese. Meckelin interagiert mit dem Protein *Mks1* und übermittelt anscheinend fundamentale Entwicklungsschritte der Ziliogenese [9].

Die chemisch induzierte *krc-Mutation* bewirkt einen Translationsstopp im Protein *Mks1* (Nullallel; [57]), wie er auch in einem Patienten mit Meckel-Gruber-Syndrom (*MKS*) identifiziert wurde [11]. Die *krc-Maus* zeigt alle Hauptsymptome des humanen *MKS*, insbesondere Polydaktylie, zystische Nieren, Enzephalozelle und Missbildungen der Gallenkanäle, sodass die *krc*-Mutante sowohl genetisch als auch phänotypisch ein ausgezeichnetes Modell zur Untersuchung der molekularen Mechanismen des Meckel-Gruber-Syndroms darstellt. Das mutierte Protein *Mks1* ist in den Zilien lokalisiert und interagiert mit Meckelin [9]. Mutationen in *Mks1* resultieren in einer gestörten Signalweiterleitung in der Sonic-hedgehog- (*Shh*-)Signalkaskade [57].

Gentechnisch erzeugte Tiermodelle

Bei den gentechnisch erzeugten Modellen unterscheidet man zwischen transgenen Tieren und Knock-out- bzw. Knock-in-Tieren. Bei der Generierung von Knock-outs/-ins wird in embryonalen Stammzellen ein Gen durch einen Gene-targeting-Vektor mittels homologer Rekombination ersetzt. Das Zielgen wird dabei durch ein Reportergen (Knock-out) oder eine mutierte Sequenz des Zielgens (Knock-in) ersetzt. Bei der Generierung transgener Tiere wird eine transgene Kassetten bestehend aus Promotor, Gen (meist cDNA) und Polyadenylierungssignal an einer zufälligen Position in das Wirtsgenom integriert. Transgene Tiere exprimieren somit neben ihren 2 gesunden, endogenen Allelen eines Gens zusätzlich das Transgen, das in hoher Kopienzahl vorliegen kann. Durch den Einsatz potenter Promotoren übersteigt die Transgenexpression die endogene Expression meist um ein Vielfaches. Komplexe transgene Techniken erlauben es mittlerweile, die Knock-outs/-ins bzw. die Transgenexpressionen durch externe Stimulation gezielt zu einem gewünschten Zeitpunkt zu induzieren (konditionale KOs bzw. TG).

Bei gentechnisch erzeugten Modellen handelt es sich in der Regel um Modelle mit Genmutationen, die in humanen Erkrankungen identifiziert wurden und daher von größtem Interesse sind.

Pkd1 und Pkd2

Mutationen in *PKD1* und *PKD2* sind für die häufigste Form der humanen polyzystischen Nierenerkrankungen, der autosomal-dominant polyzystischen Nierenerkrankung (ADPKD), verantwortlich. Da bislang keine Tiermodelle mit Spontanmutationen in den murinen Orthologen zu diesen Genen beschrieben wurden, wurden die Mausorthologe in Knock-outs targetiert und transgene Tiermodelle erzeugt.

Das *Pkd1*-Gen wurde in vollständigen sowie konditionalen Knock-outs (*Pkd1*^{null}, *Pkd1*^{flox/-}; *Ksp-Cre*, *Cre*; *Pkd1*^{del2-11,lox}; [25, 44]) und durch verkürzte Allele (Knock-in; *Pkd1*^{del34}, *Pkd1*^{del17-21bgeo}, *Pkd1*^{nl}; [4, 26, 27]) vollständig bzw. teilwei-

se inaktiviert. Neben der systemischen wurden auch gewebsspezifische transgene Überexpressionen von mutierten und intakten Allelen beschrieben (*Pkd1*^{TAG}, *SBPkd1*^{TAG}; [24, 50]). All diese Modelle entwickeln einen zystischen Phänotyp. Der somatische Verlust der *Pkd1*-Expression ermöglicht eine normale Nierenentwicklung bis zum Embryonalstadium E15,5, führt aber dann binnen weniger Tage zum Absterben der Föten. Im Vergleich hierzu führt eine Inaktivierung des *Pkd1*-Gens nach abgeschlossener Nierenentwicklung zu einer wesentlich leichteren Form der PKD. Die Überexpression des Gens führt erst in adulten Tieren zum Tod durch Nierenversagen. Ein Ungleichgewicht in der *Pkd1*-Expression reicht somit bereits aus, renal Zysten zu induzieren, wobei der Zeitpunkt der veränderten Expression (vor oder nach abgeschlossener Nierenentwicklung) für die Stärke des Phänotyps ausschlaggebend ist.

Das *Pkd2*-Gen wurde in unvollständigen, vollständigen und konditionalen Knock-outs targetiert (*Pkd2*^{WS25}, *Pkd2*⁻, *Pkd2*^{-LacZ}, *Pdx1-Cre-ER*TM::*Pkd2*^{flox/-}; [20, 38, 59, 60]), transgene Überexpressionen wurden in Maus und Ratte [(*TGM(hPKD2)*, *TGM(PKD2-2,-4,-Y)*, *TGR(hCMV-hPKD2¹⁻⁷⁰³)*] beschrieben [6, 13, 37]. Gallagher et al. (2007) haben die erste transgene Rattenlinie beschrieben, die als PKD-Modell verwendet werden kann. In diesen Tieren wird ein verkürztes, humanes Polycystin-2 überexprimiert, dessen Mutation eine häufig vorkommende Mutation in ADPKD-Patienten imitiert. Alle Modelle mit *Pkd2*-Mutationen entwickeln eine PKD. Analog zu *Pkd1* Modellen ist der vollständige Funktionsverlust embryonal letal, wohingegen eine Überexpression erst in adulten Tieren zum Tode führt.

Polycystin-1 und Polycystin-2 sind unter anderem in den Zilien der Tubulusepithelzellen lokalisiert und bilden dort einen Proteinkomplex, der über die Regulation des Ca²⁺-Einstroms in die Zelle eine mechanosensorische Funktion ausübt [33]. Da Mutationen in einem der beiden Proteine eine Störung der gleichen funktionellen Einheit bewirken, resultieren sie in einem ähnlichen Phänotyp. Die Ausprägung des Phänotyps ist jedoch stark abhängig von der vorliegenden Mutation und der damit einhergehenden Beein-

trächtigung der Interaktion der Proteine. Beide Proteine übernehmen aber auch unabhängig von diesem Proteinkomplex wichtige regulatorische Aufgaben. Polycystin-2 fungiert z. B. im endoplasmatischen Retikulum als intrazellulärer Ca²⁺-Kanal [23] und Polycystin-1 kann über eine proteolytische Abspaltung des C-Terminus, der dann in den Nukleus transloziert, direkt Signale weiterleiten [7].

Weitere gentechnisch erzeugte Tiermodelle

Die beiden Knock-outs *Glis2*^{ko/ko} [2] und *Ftm* (*Fantom*; [55]) der Nephronophthiase-Gene *Glis2/Nphp7* und *Rpgrip1/Nphp8* induzieren eine Nephronophthiase, die mit den humanen Phänotypen (Typ 7 und 8) übereinstimmen. Bei *Glis2*^{ko/ko}-Tieren wird über eine zunehmende Atrophie der Nieren ab der 4. Lebenswoche beobachtet. *Glis2* („GLIS family zinc finger 2“) fungiert als negativer Modulator der β -Catenin/TCF-abhängigen Transkription [22]. Die Identifikation von *Glis2*-Mutationen in Nephronophthiase-Patienten zeigte erstmals eine Verbindung dieser Erkrankung zum Hedgehog-Signalweg. Im *Rpgrip1*-Knock-out (= *Ftm*-Maus) werden mikrozystische Erweiterungen der proximalen Tubuli bereits ab Tag E18,5 beobachtet. Der vollständige Funktionsverlust des *Rpgrip1*-(*Rpgrip1*-like)-Genprodukts induziert im Tiermodell die gleichen charakteristischen MKS-Merkmale (Fehlbildungen des Gehirns, der Leber und der Gliedmaßen) wie in humanen MKS-Föten. *Rpgrip1* agiert im *Shh*-Signalweg und ist für dessen volle Signalantwort essenziell [55].

Neben den *Bbs1*-, *Bbs4*- und *Bbs6*-Knock-outs ist der *Bbs2*-Knock-out der einzige Knock-out eines mit dem Bardet-Biedl-Syndrom (BBS) assoziierten Gens, der eine zystische Nierenerkrankung induziert [36]. Zysten in den *Bbs2*^{-/-}-Mäusen werden im Tubulus und in den Glomeruli beobachtet. Andere BBS-Symptome, wie Adipositas, kognitive Behinderungen und Retinopathie werden in den *Bbs2*^{-/-}-Tieren ebenfalls wiedergegeben. Andere zentrale Symptome wie eine Polydaktylie werden in keinem der *Bbs*-Knock-outs beobachtet. *Bbs2* kolokalisiert mit anderen *Bbs*-Proteinen im ziliären Zentrosom

und spielt dort eine Rolle bei der Ausbildung von Tubulin-Aktin-Elementen und als Ankerprotein für Mikrotubuli [30].

Hnfiβ hat eine regulatorische Wirkung auf einige bekannte Zystengene (*Pkhd1*, *Pkd2*, *Nphp1*, *Ift88*; [14]). Mutationen dieses Transkriptionsfaktors induzieren die humane Erkrankung „maturity onset diabetes of the young type 5“ (MODY5; [14]). Der *Hnfiβ*-Knock-out induziert in Mäusen eine PKD. Der Transkriptionsfaktor *c-myc* ist ein wichtiger Downstreameffektor in der Polycystin-1-Signalkaskade und reguliert den Zellzyklus über die Steuerung von Zellproliferation und Apoptose [50]. In vielen humanen und murinen polyzystischen Nierenerkrankungen ist *c-myc* stark hochreguliert. Die Überexpression induziert in Mäusen eine PKD [54].

In der *orpk*-Maus („Oak Ridge polycystic kidney“) trat durch die zufällige Integration eines Reportergens eine Mutation im *Ift88*-Gen auf [61]. Der zystische Phänotyp wird als rezessives Merkmal vererbt und dient als ARPKD-Modell. Homozygote Tiere zeigen einen komplexen Phänotyp mit polyzystischen Nieren und ungewöhnlichen Leberläsionen. Vom proximalen Tubulus ausgehende Zysten werden bereits in neonatalen Tieren beobachtet. Das mutierte *Ift88*-Gen kodiert für das Protein Polaris [32], das in der Region des Basalkörperchens, am Axonem sowie in den Zilien lokalisiert und Teil des IFT-Komplex B („intraflagellar transport“) ist. Polaris bleibt auch während der Proliferationsphase mit dem Zentrosom assoziiert und ist essenziell für den Übergang von der G₁- in die S-Phase [40]. Der Knock-out eines weiteren IFT-Gens, *Kif3a*, induziert einen ähnlichen zystischen Phänotyp [29].

Therapeutische Interventionen im Tiermodell

Für Therapiestudien wurden die gut beschriebenen Rattenmodelle *Han:SPRD-cy/+* und *pck*, aber auch die Mausmodelle *orpk*, *bpk*, *cpk*, *pcy* sowie *Pkd1*- und *-2*-Knock-outs verwendet. Die Arten der Interventionen reichen von proteinrestriktiven Diäten über *c-myc*-Antisense The-

rapien bis hin zur Inhibition verschiedener Signalkaskaden. Vielversprechend ist hierbei der Einsatz von Rapamycin, einem Inhibitor der Serine-Threonin-Kinase mTOR („mechanistic target of rapamycin“; [63]), Vasopressin-V₂-Rezeptor-Antagonisten und Roscovitin, einem cdk-(Cyclin-dependent-kinase-)Inhibitor [16]. Torres u. Harris geben einen Überblick über therapeutische Interventionen im Tiermodell [51].

Fazit für die Praxis

- Fast alle Zystenproteine sind in den primären Zilien der Tubulusepithelzellen oder einem zilienassoziierten Signalweg lokalisiert. Dies gilt sowohl für murine als auch für humane Zystenproteine.
- Viele der Zystenproteine interagieren direkt miteinander in Proteinkomplexen oder haben eine regulatorische Wirkung aufeinander. Das erklärt, dass Mutationen in verschiedenen Proteinen dennoch ähnliche Phänotypen zur Folge haben.
- Rapamycin, Roscovitin und Vasopressin-V₂-Rezeptor-Antagonisten bewirkten im Tierversuch eine Verlangsamung der Zystogenese.
- Die genaue Funktion und die funktionellen Konsequenzen der identifizierten Mutationen sind für viele Zystenproteine trotz intensiver Bemühungen weiter unbekannt. Dennoch dienen die beschriebenen Tiermodelle als eine ausgezeichnete Grundlage für die Entwicklung neuer Therapieansätze.

Korrespondenzadresse

S. Neudecker

Zentrum für Medizinische Forschung
Medizinische Fakultät Mannheim
der Universität Heidelberg
Theodor-Kutzer-Ufer 1–3, 68167 Mannheim
sabine.neudecker@medma.uni-heidelberg.de

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

1. Atala A, Freeman MR, Mandell J, Beier DR (1993) Juvenile cystic kidneys (jck): a new mouse mutation which causes polycystic kidneys. *Kidney Int* 43:1081–1085
2. Attanasio M, Uhlenhaut NH, Sousa VH et al (2007) Loss of GLIS2 causes nephronophthisis in humans and mice by increased apoptosis and fibrosis. *Nat Genet* 39:1018–1024
3. Bergmann C, Fliegau M, Bruchle NO et al (2008) Loss of nephrocystin-3 function can cause embryonic lethality, Meckel-Gruber-like syndrome, situs inversus, and renal-hepatic-pancreatic dysplasia. *Am J Hum Genet* 82:959–970
4. Boulter C, Mulroy S, Webb S et al (2001) Cardiovascular, skeletal, and renal defects in mice with a targeted disruption of the *Pkd1* gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:12174–12179
5. Brown JH, Bihoreau MT, Hoffmann S et al (2005) Missense mutation in sterile (alpha) motif of novel protein SamCystin is associated with polycystic kidney disease in (cy/+) rat. *J Am Soc Nephrol* 16:3517–3526
6. Burtsey S, Riera M, Ribe E et al (2008) Overexpression of PKD2 in the mouse is associated with renal tubulopathy. *Nephrol Dial Transplant* 23:1157–1165
7. Chauvet V, Tian X, Husson H et al (2004) Mechanical stimuli induce cleavage and nuclear translocation of the polycystin-1 C terminus. *J Clin Invest* 114:1433–1443
8. Cook SA, Collin GB, Bronson RT et al (2009) A mouse model for Meckel syndrome type 3. *J Am Soc Nephrol* 20:753–764
9. Dawe HR, Smith UM, Cullinane AR et al (2007) The Meckel-Gruber Syndrome proteins MKS1 and meckelin interact and are required for primary cilium formation. *Hum Mol Genet* 16:173–186
10. Flaherty L, Bryda EC, Collins D et al (1995) New mouse model for polycystic kidney disease with both recessive and dominant gene effects. *Kidney Int* 47:552–558
11. Frank V, Bruchle NO, Mager S et al (2007) Aberrant splicing is a common mutational mechanism in MKS1, a key player in Meckel-Gruber syndrome. *Hum Mutat* 28:638–639
12. Gallagher AR, Esquivel EL, Briere TS et al (2008) Biliary and pancreatic dysgenesis in mice harboring a mutation in *Pkhd1*. *Am J Pathol* 172:417–429
13. Gallagher AR, Hoffmann S, Brown N et al (2006) A truncated polycystin-2 protein causes polycystic kidney disease and retinal degeneration in transgenic rats. *J Am Soc Nephrol* 17:2719–2730
14. Gresh L, Fischer E, Reimann A et al (2004) A transcriptional network in polycystic kidney disease. *Embo J* 23:1657–1668
15. Hilton LK, White MC, Quarby LM (2009) The NIMA-related kinase NEK1 cycles through the nucleus. *Biochem Biophys Res Commun* 389:52–56
16. Ibraghimov-Beskrovnaia O (2007) Targeting dysregulated cell cycle and apoptosis for polycystic kidney disease therapy. *Cell Cycle* 6:776–779
17. Janaswami PM, Birkenmeier EH, Cook SA et al (1997) Identification and genetic mapping of a new polycystic kidney disease on mouse chromosome 8. *Genomics* 40:101–107
18. Kaspareit-Rittinghausen J, Deerberg F, Rapp KG, Wcislo A (1990) A new rat model for polycystic kidney disease in humans. *Transplant Proc* 22:2582–2583

19. Katsuyama M, Masuyama T, Komura I et al (2000) Characterization of a novel polycystic kidney rat model with accompanying polycystic liver. *Exp Anim* 49:51–55
20. Kim I, Ding T, Fu Y et al (2009) Conditional mutation of Pkd2 causes cystogenesis and upregulates beta-catenin. *J Am Soc Nephrol* 20:2556–2569
21. Kim I, Li C, Liang D et al (2008) Polycystin-2 expression is regulated by a PC2-binding domain in the intracellular portion of fibrocystin. *J Biol Chem* 283:31559–31566
22. Kim YS, Kang HS, Jetten AM (2007) The Kruppel-like zinc finger protein Glis2 functions as a negative modulator of the Wnt/beta-catenin signaling pathway. *FEBS Lett* 581:858–864
23. Koulen P, Cai Y, Geng L et al (2002) Polycystin-2 is an intracellular calcium release channel. *Nat Cell Biol* 4:191–197
24. Kurbegovic A, Cote O, Couillard M et al (2010) Pkd1 transgenic mice: adult model of polycystic kidney disease with extrarenal and renal phenotypes. *Hum Mol Genet*
25. Lantinga-van Leeuwen IS, Leonhard WN, Wal A van der et al (2007) Kidney-specific inactivation of the Pkd1 gene induces rapid cyst formation in developing kidneys and a slow onset of disease in adult mice. *Hum Mol Genet* 16:3188–3196
26. Leeuwen ISL-v, Dauwerse JG, Baelde HJ et al (2004) Lowering of Pkd1 expression is sufficient to cause polycystic kidney disease. *Hum Mol Genet* 13:3069–3077
27. Lu W, Peissel B, Babakhanlou H et al (1997) Perinatal lethality with kidney and pancreas defects in mice with a targeted Pkd1 mutation. *Nat Genet* 17:179–181
28. Maisonneuve C, Guilleret I, Vick P et al (2009) Bicaudal C, a novel regulator of Dvl signaling abutting RNA-processing bodies, controls cilia orientation and leftward flow. *Development* 136:3019–3030
29. Marszalek JR, Ruiz-Lozano P, Roberts E et al (1999) Situs inversus and embryonic ciliary morphogenesis defects in mouse mutants lacking the KIF3A subunit of kinesin-II. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:5043–5048
30. May-Simera HL, Ross A, Rix S et al (2009) Patterns of expression of Bardet-Biedl syndrome proteins in the mammalian cochlea suggest noncentrosomal functions. *J Comp Neurol* 514:174–188
31. Morgan D, Turnpenny L, Goodship J et al (1998) Inversin, a novel gene in the vertebrate left-right axis pathway, is partially deleted in the inv mouse. *Nat Genet* 20:149–156
32. Murcia NS, Richards WG, Yoder BK et al (2000) The Oak Ridge Polycystic Kidney (orp) disease gene is required for left-right axis determination. *Development* 127:2347–2355
33. Nauli SM, Alenghat FJ, Luo Y et al (2003) Polycystins 1 and 2 mediate mechanosensation in the primary cilium of kidney cells. *Nat Genet* 33:129–137
34. Nauta J, Goedbloed MA, Herck HV et al (2000) New rat model that phenotypically resembles autosomal recessive polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 11:2272–2284
35. Nauta J, Ozawa Y, Sweeney WE Jr et al (1993) Renal and biliary abnormalities in a new murine model of autosomal recessive polycystic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 7:163–172
36. Nishimura DY, Fath M, Mullins RF et al (2004) Bbs2-null mice have neurosensory deficits, a defect in social dominance, and retinopathy associated with mislocalization of rhodopsin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:16588–16593
37. Park EY, Sung YH, Yang MH et al (2009) Cyst formation in kidney via B-Raf signaling in the PKD2 transgenic mice. *J Biol Chem* 284:7214–7222
38. Pennekamp P, Karcher C, Fischer A et al (2002) The ion channel polycystin-2 is required for left-right axis determination in mice. *Curr Biol* 12:938–943
39. Preminger GM, Koch WE, Fried FA et al (1982) Murine congenital polycystic kidney disease: a model for studying development of cystic disease. *J Urol* 127:556–560
40. Robert A, Margall-Ducos G, Guidotti JE et al (2007) The intraflagellar transport component IFT88/polaris is a centrosomal protein regulating G1-S transition in non-ciliated cells. *J Cell Sci* 120:628–637
41. Shalom O, Shalva N, Altschuler Y, Motro B (2008) The mammalian Nek1 kinase is involved in primary cilium formation. *FEBS Lett* 582:1465–1470
42. Shiba D, Manning DK, Koga H et al (2010) Inv acts as a molecular anchor for Nphp3 and Nek8 in the proximal segment of primary cilia. *Cytoskeleton (Hoboken)* 67:112–119
43. Shiba D, Yamaoka Y, Hagiwara H et al (2009) Localization of Inv in a distinctive intraciliary compartment requires the C-terminal ninein-homolog-containing region. *J Cell Sci* 122:44–54
44. Shibasaki S, Yu Z, Nishio S et al (2008) Cyst formation and activation of the extracellular regulated kinase pathway after kidney specific inactivation of Pkd1. *Hum Mol Genet* 17:1505–1516
45. Simons M, Gloy J, Ganner A et al (2005) Inversin, the gene product mutated in nephronophthisis type II, functions as a molecular switch between Wnt signaling pathways. *Nat Genet* 37:537–543
46. Smith LA, Bukanov NO, Husson H et al (2006) Development of polycystic kidney disease in juvenile cystic kidney mice: Insights into pathogenesis, ciliary abnormalities, and common features with human disease. *J Am Soc Nephrol* 17:2821–2831
47. Stagner EE, Bouvette DJ, Cheng J, Bryda EC (2009) The polycystic kidney disease-related proteins Bicc1 and SamCystin interact. *Biochem Biophys Res Commun* 383:16–21
48. Takahashi H, Ueyama Y, Hibino T et al (1986) A new mouse model of genetically transmitted polycystic kidney disease. *J Urol* 135:1280–1283
49. Tao B, Bu S, Yang Z et al (2009) Cystin localizes to primary cilia via membrane microdomains and a targeting motif. *J Am Soc Nephrol* 20:2570–2580
50. Thivierge C, Kurbegovic A, Couillard M et al (2006) Overexpression of PKD1 causes polycystic kidney disease. *Mol Cell Biol* 26:1538–1548
51. Torres VE, Harris PC (2007) Polycystic kidney disease: genes, proteins, animal models, disease mechanisms and therapeutic opportunities. *J Intern Med* 261:17–31
52. Tran U, Pickney LM, Özpölat BD, Wessely O (2007) Xenopus Bicaudal-C is required for the differentiation of the amphibian pronephros. *Dev Biol* 307:152–164
53. Tran U, Zakin L, Schweickert A et al (2010) The RNA-binding protein bicaudal C regulates polycystin 2 in the kidney by antagonizing miR-17 activity. *Development* 137:1107–1116
54. Trudel M, D'Agati V, Costantini F (1991) C-myc as an inducer of polycystic kidney disease in transgenic mice. *Kidney Int* 39:665–671
55. Vierkotten J, Dildrop R, Peters T et al (2007) Ftm is a novel basal body protein of cilia involved in Shh signalling. *Development* 134:2569–2577
56. Ward CJ, Hogan MC, Rossetti S et al (2002) The gene mutated in autosomal recessive polycystic kidney disease encodes a large, receptor-like protein. *Nat Genet* 30:259–269
57. Weatherbee SD, Niswander LA, Anderson KV (2009) A mouse model for Meckel syndrome reveals Mks1 is required for ciliogenesis and Hedgehog signaling. *Hum Mol Genet* 18:4565–4575
58. Williams SS, Cobo-Stark P, James LR et al (2008) Kidney cysts, pancreatic cysts, and biliary disease in a mouse model of autosomal recessive polycystic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 23:733–741
59. Wu G, D'Agati V, Cai Y et al (1998) Somatic inactivation of Pkd2 results in polycystic kidney disease. *Cell* 93:177–188
60. Wu G, Markowitz GS, Li L et al (2000) Cardiac defects and renal failure in mice with targeted mutations in Pkd2. *Nat Genet* 24:75–78
61. Yoder B, Richards W, Sweeney W et al (1995) Insertional mutagenesis and molecular analysis of a new gene associated with polycystic kidney disease. *Proc Assoc Am Physicians* 107:314–323
62. Yoder BK, Hou X, Guay-Woodford LM (2002) The polycystic kidney disease proteins, polycystin-1, polycystin-2, polaris, and cystin, are co-localized in renal cilia. *J Am Soc Nephrol* 13:2508–2516
63. Zafar I, Belibi FA, He Z, Edelstein CL (2009) Long-term rapamycin therapy in the Han:SPRD rat model of polycystic kidney disease (PKD). *Nephrol Dial Transplant* 24:2349–2353