

DOI: 10.13376/j.cblls/2021017

文章编号: 1004-0374(2021)02-0148-06

# 非洲爪蛙: 一种研究肾脏发育和多囊肾的优势动物模型

张 茜<sup>1</sup>, 张 博<sup>2\*</sup>

(1 天津市河西区妇女儿童保健和计划生育服务中心检验科, 天津 300202;

2 天津医科大学基础医学院免疫学系, 天津 300070)

**摘要:** 非洲爪蛙(*Xenopus laevis*)是目前基础研究中广泛使用的重要动物模型, 主要用于研究脊椎动物各组织器官的早期发育。相对于其他动物模型, 非洲爪蛙在肾脏发育和多囊肾相关疾病探索中的优势更为显著。非洲爪蛙肾脏简单, 但进化保守, 实验技术简便, 但结果可靠, 对于肾脏发育和疾病发展中的复杂基因调控网络研究非常重要。虽然小鼠和大鼠的后肾目前是研究肾脏的主要模型, 但非洲爪蛙对于多发性肾脏疾病研究仍然不可或缺。该文就非洲爪蛙的肾脏发育特点和作为模型动物研究多囊肾疾病的优缺点做一综述。

**关键词:** 非洲爪蛙; 肾脏; 多囊肾

中图分类号: Q95-3; Q959.53; R692 文献标志码: A

## *Xenopus laevis*: a dominant animal model for studying kidney development and polycystic kidney disease

ZHANG Qian<sup>1</sup>, ZHANG Bo<sup>2\*</sup>

(1 Department of Laboratory, Women and Children's Health and Family Planning Service Center of Hexi District, Tianjin 300202, China; 2 Department of Immunology, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

**Abstract:** The African clawed frog (*Xenopus laevis*) is an important animal model widely used in basic research. It is mainly developed to study the early development of various vertebrate tissues and organs. Compared with other animal models, it is related to kidney development and polycystic kidney disease. The advantages are very obvious in disease exploration. The *Xenopus laevis* kidney is simple but evolutionarily conservative, and the experimental technology is simple but the results are reliable. It is the key for the study of complex gene regulatory networks in kidney development and disease development. Although the metanephrosis of mice and rats is currently used, the characteristics of the *Xenopus laevis* itself are indispensable for the study of multiple kidney diseases. This article focuses on the characteristics of the kidney development of the *Xenopus laevis* and its advantages as a model animal to study polycystic kidney disease. The shortcomings are also reviewed.

**Key words:** *Xenopus laevis*; kidney; polycystic kidney disease

两栖动物非洲爪蛙(*Xenopus laevis*)是一种广泛用于研究脊椎动物早期发育的模型生物。与斑马鱼类似, 非洲爪蛙由于全年繁殖、单次生殖数目大和成本维护低等优点, 一直以来被认为是一个很好的实验模型。除了经典使用的非洲爪蛙物种外, 热带爪蛙(*Silurana*)最近也成为了一种较为普遍的选择<sup>[1]</sup>。非洲爪蛙与哺乳动物有着相对密切的进化历史, 在

进化上它比斑马鱼更接近哺乳动物<sup>[2]</sup>。此外, 非洲爪蛙和人类的基因组具有长时间的基因共线性, 非洲爪蛙的基因组目前由美国能源部联合基因组研究

收稿日期: 2020-08-27; 修回日期: 2020-09-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(81600515)

\*通信作者: E-mail: zhangbomianyi@163.com

所(DOE-JGI, <http://genome.jgi-psf.org/Xentr4/Xentr4.home.html>)进行测序完成。研究已确定79%的人类疾病基因在非洲爪蛙中有一个经证实的同源基因<sup>[3]</sup>。非洲爪蛙已经被广泛用于包括脑、眼以及肾脏在内的多种组织相关疾病的研究。本文就非洲爪蛙自身肾脏发育特点和在多囊肾(polycystic kidney disease, PKD)研究中的进展做一综述。

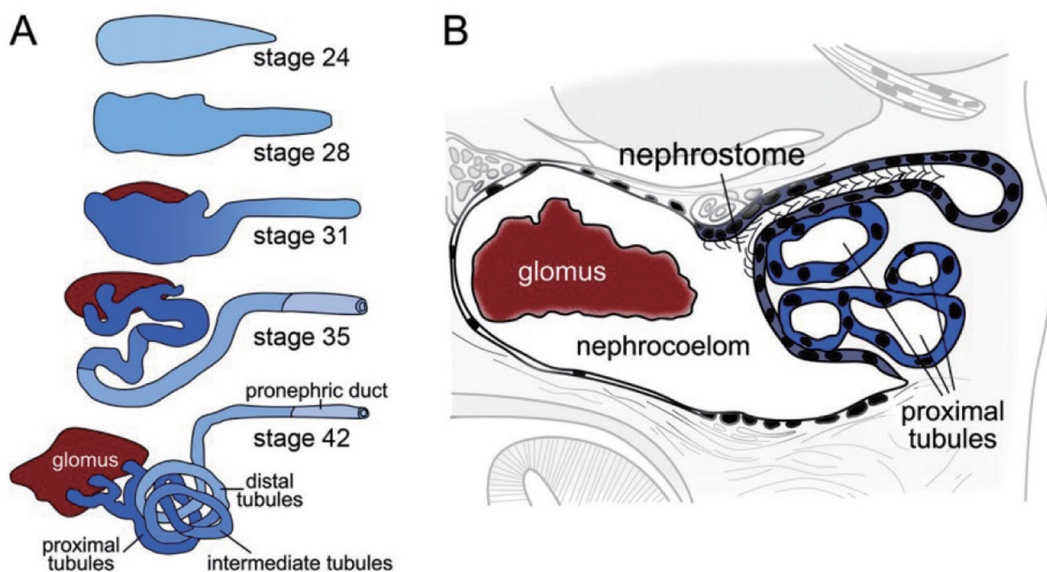
## 1 肾脏发育特点

肾脏在长期的进化过程中逐渐演变为3种主要形式: 前肾(pronephros)、中肾(mesonephros)和后肾(metanephros)<sup>[4]</sup>。后肾仅存在于高等脊椎动物, 并作为成年肾脏行使最终的功能; 中肾在所有脊椎动物中形成, 但在高等脊椎动物中逐步退化, 而在鱼类和两栖动物中充当成年肾脏; 前肾是最原始的肾脏, 它仅存在于胚胎阶段, 通常无功能。但对于在水生环境中度过生命早期阶段的动物(如非洲爪蛙和斑马鱼), 前肾仍然具备生物学功能。前肾对于其保持外部和内部环境之间的渗透差异至关重要, 也是利用非洲爪蛙研究肾脏发育的主要模型<sup>[5]</sup>。尽管3种肾脏类型之间存在解剖学差异, 但基本功能单元肾单位(nephron)在所有肾脏中都存在, 并且结构高度保守<sup>[6]</sup>。

一个成年人的肾脏大约含有一百万个肾单位, 而一个成年老鼠的肾脏有超过一万个肾单位<sup>[7]</sup>。哺乳动物的肾单位异步发展, 使其难以研究。相反,

非洲爪蛙胚胎两侧各包含一个功能性肾单位, 作为胚胎肾脏。因此, 功能齐全的非洲爪蛙前肾单位可作为哺乳动物中后肾单位发展的简化模型, 用于肾脏疾病研究<sup>[8-10]</sup>。

非洲爪蛙前肾可以细分为3个不同的区域: 球囊(glomus)、小管(tubules)和导管(duct)。球囊具有血液过滤功能, 至少由3种细胞类型组成: 形成毛细血管簇的内皮细胞、系膜样细胞和建立大分子屏障的足细胞<sup>[11]</sup>。过滤物质经过肾小口(nephrostomes)从球囊进入近端肾小管中。肾小口由一组专门的多纤毛细胞排列。纤毛细胞会产生涡旋运动, 从而导致流体流入小管。近端肾小管本身又细分为近端(PT)、中间(IT)和远端(DT)等3个部分, 每个部分都有专门的功能。近端小管细分为3个区域——PT1、PT2和PT3, 负责吸收离子、氨基酸、葡萄糖以及水<sup>[12]</sup>。中间小管IT1和IT2与哺乳动物的Henle环存在同源性。由于两栖动物不需要浓缩尿液, 因此, 非洲爪蛙前肾不会形成Henle的解剖学结构<sup>[13]</sup>。中间小管的功能仅适用于盐和离子的重吸收<sup>[14]</sup>。远端小管DT1和DT2分别相当于哺乳动物Henle环的粗大上升肢(TAL)和远端回旋小管(DCT), 它们是尿液酸化、镁离子重吸收和铵转运所需的<sup>[16]</sup>。非洲爪蛙的前肾连接小管将远端小管连接至泄殖腔以排泄尿液。前肾没有收集管来进一步浓缩尿液或将多个肾单位连接到二级结构。非洲爪蛙肾脏的结构简图见图1。



不同颜色代表了不同肾脏区域的渐进分化。glomerus, 球囊; nephrostome, 肾小口; nephrocoelom, 球囊室; proximal tubules, 近端肾小管; intermediate tubules, 中端肾小管; distal tubules, 远端肾小管; pronephric duct, 前肾导管

图1 非洲爪蛙的肾脏结构简图(修改自[17])

## 2 肾脏发育过程

非洲爪蛙的肾脏大约在胚胎12.5 (embryonic stage 12.5以下同)阶段开始发育<sup>[17]</sup>。肾脏发育的前期特征是中胚层诱发的间充质上皮细胞的转变导致管状器官的形成。管状器官经过一系列高度协调的形态运动后,进一步终末分化。在非洲爪蛙中,前肾的各部分的分化通过转录因子Osr1、Osr2、Pax8、Lhx1和Hnf1B之间的相互作用发生<sup>[18]</sup>。前肾的形态发生始于胚胎21期(<http://www.xenbase.org/anatomy/alldev.do>)。前肾在胚胎38阶段(大约受精后2 d左右)开始发挥功能<sup>[19]</sup>。与斑马鱼、鸡和小鼠的肾脏发育非常类似,BMP、Wnt、FGF和GDNF等多种信号通路参与了非洲爪蛙的肾脏发育<sup>[20-21]</sup>,这表明控制前肾形成的信号分子在进化上是高度保守的,在3种肾型中具有相似的功能。

## 3 肾脏基因调控网络

非洲爪蛙前肾起源于中胚层,最早可在胚胎12.5期通过转录因子Lhx1/Lim1和Pax8的表达来鉴定。这个结果非常类似于斑马鱼和小鼠<sup>[22]</sup>。其他3个转录因子Pax2、Wt1和Hnf1 $\beta$ 目前也被证实在前肾形成中起决定作用<sup>[23]</sup>。基因过表达研究表明,这些转录因子能够诱导异位肾脏结构和调节先前存在的前肾形态。除了早期的诱导事件外,发展中的前肾肾单位也受到不同信号的精密调控。Irx1、Irx2和Irx3在近端肾小管节段PT3和中间小管IT1和IT2前体中表达<sup>[24]</sup>。值得注意的是,正是由于非洲爪蛙Irx基因家族在前肾中的特异性表达,促使Irx基因家族在小鼠近端肾小管的S3段和Henle环的粗大上升肢(TAL)中的重要功能得以证实<sup>[25]</sup>。此外,非洲爪蛙功能缺失和获得研究表明,这些转录因子在相应的肾单位片段的最终分化中具有重要指导作用。与非洲爪蛙一致,缺乏Lhx1或者同时缺乏Pax2和Pax8的小鼠有严重的肾脏缺陷<sup>[26]</sup>。

GDNF/Ret信号在小鼠等哺乳动物后肾形成中至关重要<sup>[27]</sup>。该信号的缺失会导致肾脏发育的中断,但GDNF/Ret信号成分在非洲爪蛙前肾区域表达,其作用尚未被确定。与GDNF相比,其他配体,如Wnt4或Fgf8在前肾和后肾中均具有类似的功能<sup>[28]</sup>。Wnt信号转导途径是由配体蛋白Wnt和膜蛋白受体结合激发的一组多下游通道的信号转导途径。经此途径,Wnt信号蛋白通过细胞表面受体胞内段的活化过程将细胞外的信号传递到细胞内<sup>[29]</sup>。

Wnt信号通路在动物间存在遗传学上的高度保守性,不同的动物物种间极为相似。Wnt信号转导途径在肾脏发育中亦是高度保守的,无论是经典的Wnt信号转导(canonical Wnt signaling pathway)途径或者非经典的Wnt信号转导途径(non-canonical Wnt signaling pathway),均被证实非洲爪蛙前肾发育的各个阶段起到重要作用<sup>[30]</sup>。在非洲爪蛙早期发育过程中表达的多个Wnt分子中,有4个(Wnt11、Wnt11r、Wnt4和Wnt6)被证实与前肾形成相关联。Wnt11和Wnt11r在发育中的子节中表达,Wnt11r在第37阶段的前肾导管中被发现。在非洲爪蛙发育过程中,源于躯体的Wnt11/11r配体转导信号至下面的中胚层,并促进肾小管和导管的形成。Wnt4最早可在19期时在前肾中检测到,并且是近端肾小管发育所必需的<sup>[31]</sup>。Wnt6在第23阶段出现在前肾中,但其确切作用尚未确定。在所有的Wnt受体中,只有Frizzled-8在前肾的发育中得到了研究,并证实它具有调节上皮分化的作用。此外,这些Wnt分子中至少有一部分通过经典的Wnt信号转导途径发挥作用。目前,关于Wnt信号家族的各个分子在非洲爪蛙肾脏中表达已经得到了验证<sup>[31]</sup>。除了Wnt信号,其他调节组织发育的关键信号也起着至关重要的作用。Fgf8在阶段22至30之间的前肾原基中表达,是前肾小管和导管发育所必需的<sup>[32]</sup>。该过程也需要BMP信号转导,但是具体的BMP配体目前尚未明确。Notch信号转导涉及前肾中的多种细胞亚群发育。Notch1细胞配体可以决定足细胞、近端小管和远端小管发育<sup>[33]</sup>。此外,另一种Notch配体Jagged2决定了非洲爪蛙肾小口的多纤毛细胞成熟。类似的功能也在斑马鱼中报道发现<sup>[13]</sup>。

对于非洲爪蛙前肾发育中基因网络的协同作用,研究最好的例子是球囊足细胞的发展(图2)。足细胞是参与前肾球囊形成的高度专门化的细胞。在几种模式生物中的研究表明,足细胞发育涉及多种转录因子。但直到最近,若干转录因子的确切作用和关系仍不明了。在非洲爪蛙中,至少6种转录因子(Wt1、Foxc2、Lmx1b、Mafb、Tcf21、Hey1)在前肾足细胞中表达<sup>[34]</sup>。转录因子的系统性敲除,无论是单独还是结合性敲除,都揭示了一个与果蝇发育中描述的基因调控网络极为相似的结果:即同时降低Wt1和Foxc2表达能阻断所有足细胞的发育,而单一敲除Wt1无法得到相同的结果<sup>[34]</sup>。在未来,将这类研究扩展到肾脏中的其他类型细胞非常重要。足细胞基因调控网络可以作为理解肾脏转录调控的复杂

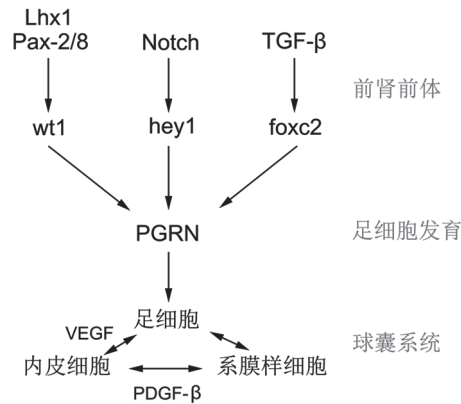


图2 非洲爪蛙的肾脏足细胞的基因网络图(修改自[34])

性的第一步。

近期的研究表明,在早期肾脏发育过程中非洲爪蛙具有与人类相似的基因表达特征。2017年,研究者在人类胚胎肾脏中鉴定出29种特征性表达的基因,其中18种在非洲爪蛙肾脏中存在高度相似性(包括*Mafb*、*Slc3a1*、*Pou3f3*等)<sup>[35]</sup>。此外,重叠转录因子(例如*Pax8*)和其他转录因子(例如*Foxc1*和*Sal11*)在小鼠和非洲爪蛙之间存在高度的表达相似性。

#### 4 研究肾脏疾病的优势

通过简单的促性腺激素注射,非洲爪蛙可以生产出数目巨大的卵。数目优势非常有利于在肾脏疾病以及相关药物基础研究中进行深入探讨。与此同时,非洲爪蛙胚胎在受精后约56 h内即可以发育出功能全面的肾脏。相对于小鼠的13 d左右刚刚开始肾脏发育,这大大缩短了研究周期<sup>[4,13]</sup>。另外,非洲爪蛙的肾脏很容易通过透明的表皮进行可视化和成像<sup>[9]</sup>。与此同时,非洲爪蛙胚胎的器官组织在卵裂早期已经决定。如果想单一研究某个器官的发育情况,研究者可以有针对性地对于特定的细胞在早期进行干预<sup>[36]</sup>。通过在非洲爪蛙卵母细胞和早期胚胎中注射吗啉基(morpholino, MO)可实现特定的基因敲除<sup>[13]</sup>。同时,相比于小鼠中的基因敲除和过表达,研究者可以简单地完成非洲爪蛙多个基因的组性过量和低量表达,以研究基因之间的调控关系<sup>[37]</sup>。利用这个优势,Zhang等<sup>[38]</sup>发现,敲除G蛋白基因家族的某个单一基因会使非洲爪蛙无法呈现多囊肾的表型,然而敲除多个家族基因的组合可以实现这个结果。这证明了G蛋白家族中多个基因的功能互补特性和多囊肾形成之间密不可分的关系。

非洲爪蛙发育过程中命运映射的特点(即非洲爪蛙各个器官组织的细胞定位在发育早期已经决定),允许研究者在四细胞胚胎期的两个腹侧细胞中注射吗啉基(近期研究也逐步代入了CRISPR sgRNA和Cas9蛋白),从而特异性地破坏两个肾脏的基因/蛋白质,而不损伤其他组织细胞。另外,根据非洲爪蛙发育的特点,研究者还可以针对肾脏进行单侧组织靶向注射,并将未注射的另一侧用作内部对照。这种自身双侧对照可以完美地消除研究者对于基因敲除所引发的个体差异的顾虑。相对于以小鼠为模型的肾脏疾病研究,非洲爪蛙的肾脏损伤可以从外部轻易观察到,而不需要复杂的解剖流程。非洲爪蛙特定基因的损伤可以引发肾脏功能损失,最终导致体液在体内堆积引发胸腔肿胀、水肿(edema)<sup>[39]</sup>。水肿形成的原因除了肾脏,还要注意可能由心脏和肝脏异常引发。研究人员可以使用排泄测定法,即利用荧光分子通过肾脏和泄殖腔时易于被荧光显微镜观测到这一特点,确定非洲爪蛙肾脏是否存在异常。尽管不能直接与小鼠研究中使用的Cre-loxP系统相提并论,但这种水肿测定法(非洲爪蛙属独有)可用于评估肾脏组织特异性。例如,在非洲爪蛙胚胎肾脏中敲除参与常染色体显性多囊肾疾病的蛋白Pkd2会导致水肿<sup>[40]</sup>。

#### 5 研究肾脏疾病的劣势

非洲爪蛙自身存在的诸多优势,使其成为肾脏发育和疾病研究的优势模型,但与所有其他模型一样,它也存在若干局限性。最明显的局限性可能是非洲爪蛙胚胎时期存在前肾和成年时期存在中肾,而不是哺乳动物的后肾<sup>[13]</sup>。许多肾脏病,如膀胱输尿管返流之类的结构发育缺陷,在非洲爪蛙中无法观察到,因为它们没有形成真正收集管系统的输尿管芽<sup>[5]</sup>。因此,对于此类畸形,研究人员应与另一种模型系统(例如小鼠)同时使用。此外,非洲爪蛙没有鲍曼氏空间,血液滤液直接进入腔内,这与人类肾脏结构存在明显区别<sup>[22]</sup>。在鼠中,肾小球形成于S形体的最近端,并将其与其余肾单位的发育联系在一起。然而,非洲爪蛙可以独立于小管而形成球囊。最后,非洲爪蛙是一种水生生物,不需要吸收陆生动物必需的水,这必然会导致肾脏功能进化方面的若干未知的差异<sup>[27]</sup>。

#### 6 多囊肾疾病模型

截至目前,利用非洲爪蛙肾脏发育的优势,研

研究者主要集中在多囊肾领域进行疾病相关研究。多囊肾是发病率较高的一种肾脏疾病,在世界范围内,多囊肾随着年龄的增加发病率逐步增大。对50岁以上人群的统计发现,约有50%的人有一个或多个单纯囊肿<sup>[41]</sup>。在我国,此类疾病发病率更是居高不下。目前研究的成果表明多囊肾存在两种形态:常染色体隐性遗传型多囊肾(autosomal recessive PKD, ARPKD),主要发病于婴儿期<sup>[42]</sup>;常染色体显性遗传型多囊肾(autosomal dominant PKD, ADPKD),常于青中年时期被发现,也可在任何年龄发病。其中,ADPKD占据了绝大多数(临床超过95%)<sup>[43]</sup>。目前已经证实ADPKD是最常见的人类单基因遗传性系统性疾病,全世界每400~1 000人中有1人发病<sup>[44]</sup>。ADPKD是由PKD1或PKD2的突变引起,其中PKD2突变引起的ADPKD临床症状较轻,其发病时间比PKD1突变晚。小鼠模型PKD1或PKD2的纯合突变或缺失是胚胎致死的,很难深入研究<sup>[45]</sup>。如前所述,这种限制可以通过在非洲爪蛙中的简易基因敲除技术来解决。PKD1和PKD2基因均在非洲爪蛙胚胎肾脏中特异性表达。Tran等<sup>[46]</sup>在非洲爪蛙肾脏中成功建立PKD的独特鉴定方式:水肿、肾脏增大和NBC1 (Na<sup>+</sup>/bicarbonate cotransporter 1)基因表达缺失(三者缺一不可)。以此方式,研究者已经成功筛选了若干PKD相关的基因组合,并在其他动物模型和临床中进行了深入的探索<sup>[4]</sup>。尽管此后研究者已经开发了多种小鼠模型来绕过完整基因敲除小鼠的胚胎致死性,但是目前临床和基础研究仍然需要非洲爪蛙这一独特动物模型进行PKD研究<sup>[13,17]</sup>。同时,如前文所述,非洲爪蛙中可以实现多个基因的敲除和过表达,这也增加了对于多囊肾相关的多基因组合研究的可能性<sup>[22,27,31]</sup>。

## 7 小结

本文的回顾性研究表明,非洲爪蛙肾脏发育简单,实验技术简便有效,基因网络保守有序,非常适合研究多种先天性肾脏疾病。非洲爪蛙与哺乳动物肾脏共享许多相似的表达模式和功能性基因。简便易于操作的基因调控、迅速发育的肾脏,都是非洲爪蛙所拥有的优势。目前利用这一模型,研究者已经了解肾脏发育中存在的基因信号网络调控的诸多特点(即各信号之间存在一定的重合和互补,单一的切断往往无法完全阻断肾脏的最终功能,这或许是动物进化上一个重要的优势)。目前,非洲爪蛙主要用于多囊肾等多发性肾脏疾病,将来,这一

动物模型的优势或将帮助研究者在更多领域取得突破。

## [参 考 文 献]

- [1] Wittbrodt J, Shima A, Schartl M. Medaka -- a model organism from the far East. *Nat Rev Genetics*, 2002, 3: 53-64
- [2] Luo F, Tao YH. Nephronophthisis: a review of genotype-phenotype correlation. *Nephrology (Carlton)*, 2018, 23: 904-11
- [3] Hellsten U, Harland RM, Gilchrist MJ, et al. The genome of the Western clawed frog *Xenopus tropicalis*. *Science*, 2010, 328: 633-6
- [4] Fox H. The amphibian pronephros. *Q Rev Biol*, 1963, 38: 1-25
- [5] Wessely O, Cerqueira DM, Tran U, et al. The bigger the better: determining nephron size in kidney. *Pediatr Nephrol*, 2014, 29: 525-30
- [6] Osafune K, Nishinakamura R, Komazaki S, et al. *In vitro* induction of the pronephric duct in *Xenopus* explants. *Dev Growth Differ*, 2002, 44: 161-7
- [7] Short KM, Combes AN, Lefevre J, et al. Global quantification of tissue dynamics in the developing mouse kidney. *Dev Cell*, 2014, 29: 188-202
- [8] Blum M, Ott T. *Xenopus*: an undervalued model organism to study and model human genetic disease. *Cells Tissues Organs*, 2018, 205: 303-13
- [9] Bracken CM, Mizeracka K, McLaughlin KA. Patterning the embryonic kidney: BMP signaling mediates the differentiation of the pronephric tubules and duct in *Xenopus laevis*. *Dev Dyn*, 2008, 237: 132-44
- [10] DeLay BD, Corkins ME, Hanania HL, et al. Tissue-specific gene inactivation in *Xenopus laevis*: knockout of *lhx1* in the kidney with CRISPR/Cas9. *Genetics*, 2018, 208: 673-86
- [11] Tandon P, Conlon F, Furlow JD, et al. Expanding the genetic toolkit in *Xenopus*: approaches and opportunities for human disease modeling. *Dev Biol*, 2017, 426: 325-35
- [12] Oxburgh L, Carroll TJ, Cleaver O, et al. (Re)Building a kidney. *J Am Soc Nephrol*, 2017, 28: 1370-8
- [13] Wessely O, Obara T. Fish and frogs: models for vertebrate cilia signaling. *Front Biosci*, 2008, 13: 1866-80
- [14] Harland RM, Gilchrist MJ. Editorial: the *Xenopus laevis* genome. *Dev Biol*, 2017, 426: 139-42
- [15] Raciti D, Reggiani L, Geffers L, et al. Organization of the pronephric kidney revealed by large-scale gene expression mapping. *Genome Biol*, 2008, 9: 84-9
- [16] Vize PD, Zorn AM. *Xenopus* genomic data and browser resources. *Dev Biol*, 2017, 426: 194-9
- [17] Wessely O, Tran U. *Xenopus* pronephros development -- past, present, and future. *Pediatr Nephrol*, 2011, 26: 1545-51
- [18] Gerth VE, Zhou X, Vize PD. Nephron expression and three-dimensional morphogenesis of the *Xenopus* pronephric glomus. *Dev Dyn*, 2005, 233: 1131-9
- [19] Vize PD, Seufert DW, Carroll TJ, et al. Model systems for

- the study of kidney development: use of the pronephros in the analysis of organ induction and patterning. *Dev Biol*, 1997, 188: 189-204
- [20] Stark K, Vainio S, Vassileva G, et al. Epithelial transformation of metanephric mesenchyme in the developing kidney regulated by Wnt-4. *Nature*, 1994, 372: 679-83
- [21] Kim S, Nie H, Nesin V, et al. The polycystin complex mediates Wnt/Ca<sup>2+</sup> signalling. *Nat Cell Biol*, 2016, 18: 752-64
- [22] Slater PG, Hayrapetian L, Lowery LA. *Xenopus laevis* as a model system to study cytoskeletal dynamics during axon pathfinding. *Genesis*, 2017, 55: 10.1002/dvg.22994
- [23] Dressler GR. The cellular basis of kidney development. *Ann Rev Cell Dev Biol* 2006, 22: 509-29
- [24] Somashekar PH, Upadhyai P, Shukla A, et al. Novel splice site and nonsense variants in INVS cause infantile nephronophthisis. *Gene*, 2020, 729: 144-229
- [25] Christensen EI, Raciti D, Reggiani L, et al. Gene expression analysis defines the proximal tubule as the compartment for endocytic receptor-mediated uptake in the *Xenopus* pronephric kidney. *Pflugers Archiv*, 2008, 456: 1163-76
- [26] Bouchard M, Souabni A, Mandler M, et al. Nephric lineage specification by Pax2 and Pax8. *Genes Dev*, 2002, 16: 2958-70
- [27] Tattersall GJ, Burggren WW. *Xenopus* and the art of oxygen maintenance. *J Exp Biol*, 2017, 220: 4084-7
- [28] Lavery DL, Davenport IR, Turnbull YD, et al. Wnt6 expression in epidermis and epithelial tissues during *Xenopus* organogenesis. *Dev Dyn*, 2008, 237: 768-79
- [29] Lyons JP, Miller RK, Zhou X, et al. Requirement of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling in pronephric kidney development. *Mech Dev*, 2009, 126: 142-59
- [30] Neitzel LR, Spencer ZT, Nayak A, et al. Developmental regulation of Wnt signaling by Nagk and the UDP-GlcNAc salvage pathway. *Mech Dev*, 2019, 156: 20-31
- [31] Zhang B, Tran U, Wessely O. Expression of Wnt signaling components during *Xenopus* pronephros development. *PLoS One*, 2011, 6: e26533
- [32] Kjolby RAS, Truchado-Garcia M, Iruvanti S, et al. Integration of Wnt and FGF signaling in the *Xenopus* gastrula at TCF and Ets binding sites shows the importance of short-range repression by TCF in patterning the marginal zone. *Development*, 2019, 146: dev179580
- [33] Katada T, Sakurai H. Proper Notch activity is necessary for the establishment of proximal cells and differentiation of intermediate, distal, and connecting tubule in *Xenopus* pronephros development. *Dev Dyn*, 2016, 245: 472-82
- [34] White JT, Zhang B, Cerqueira DM, et al. Notch signaling, wt1 and foxc2 are key regulators of the podocyte gene regulatory network in *Xenopus*. *Development*, 2010, 137: 1863-73
- [35] Michiue T, Yamamoto T, Yasuoka Y, et al. High variability of expression profiles of homeologous genes for Wnt, Hh, Notch, and Hippo signaling pathways in *Xenopus laevis*. *Dev Biol*, 2017, 426: 270-90
- [36] Moody SA. Fates of the blastomeres of the 32-cell-stage *Xenopus* embryo. *Dev Biol*, 1987, 122: 300-19
- [37] DeLay BD, Krneta-Stankic V, Miller RK. Technique to target microinjection to the developing *Xenopus* kidney. *J Vis Exp*, 2016, 11: 126-8
- [38] Zhang B, Tran U, Wessely O. Polycystin 1 loss of function is directly linked to an imbalance in G-protein signaling in the kidney. *Development*, 2018, 145: dev158931
- [39] Agrawal R, Tran U, Wessely O. The miR-30 miRNA family regulates *Xenopus* pronephros development and targets the transcription factor Xlim1/Lhx1. *Development*, 2009, 136: 3927-36
- [40] Zhang B, Romaker D, Ferrell N, et al. Regulation of G-protein signaling via Gnas is required to regulate proximal tubular growth in the *Xenopus* pronephros. *Dev Biol*, 2013, 376: 31-42
- [41] Colbert GB, Elrggal ME, Gaur L, et al. Update and review of adult polycystic kidney disease. *Dis Mon*, 2020, 66: 100-17
- [42] Allison JS. Polycystic kidney disease: FPC in ARPKD. *Nat Rev Nephrol*, 2017, 13: 597
- [43] Cornec-Le Gall E, Alam A, Perrone RD. Autosomal dominant polycystic kidney disease. *Lancet*, 2019, 393: 919-35
- [44] Ghata J, Cowley BD Jr. Polycystic kidney disease. *Comp Physiol*, 2017, 7: 945-75
- [45] Zhou C, Gu Y, Mei C, et al. Dialysis modality and mortality in polycystic kidney disease. *Hemodial Int*, 2018, 22: 515-23
- [46] Tran U, Pickney LM, Ozpolat BD, et al. *Xenopus* Bicaudal-C is required for the differentiation of the amphibian pronephros. *Dev Biol*, 2007, 307: 152-64