

· 综述 ·

泌尿系统结石相关标志物的研究进展^{*}

闫晓煜¹, 黄志红² 综述, 肖创清^{2△} 审校

(1. 湖南师范大学第一附属医院, 长沙 410000 2. 解放军 163 医院检验科, 长沙 410005)

摘要: 尿石症是泌尿系统的常见症之一。本文着重论述了 T-H 蛋白、骨桥蛋白、草酸、枸橼酸以及易感基因等不同标志物与结石的相关性。通过确立有效的标志物, 准确检测各种人群的结石相关的标志物水平, 将有助于对该病的危险性分层和预警, 有利于早期预防, 减少尿石症的发生。

关键词: 标志物; 泌尿系统结石; 研究进展

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.07.030

文章编号: 1673-4130(2018)07-0871-04

中图法分类号: S856.59/R446.1

文献标识码: A

尿石症在我国泌尿系统疾病中的发病率为 5% 左右, 是世界泌尿结石高发区之一, 而在国内南部, 发病率高达 10%, 10 年内复发率为 80%^[1]。代谢异常是结石形成的最常见原因, 它包括高钙血症、高钙尿症、高草酸尿症、高尿酸尿症、胱氨酸尿症、低枸橼酸尿症和低镁血症等^[2]。最近研究表明, 尿液内的一些蛋白质[T-H 蛋白和骨桥蛋白(COPN)]具有抑制结石形成的作用, 某些易感基因的存在也使结石的发病率升高。此外, 临幊上最常见的结石种类均为含钙的草酸结石(约占 86.7%)^[3], 故尿草酸的检测对于结石发生的风险有主要预警价值, 而尿中枸橼酸盐水平的下降也是公认的结石发生的危险因素之一。

1 尿石症的传统相关检测指标

1.1 肌酐 肌酐是蛋白质代谢产物, 正常情况下可被肾脏基本完全清除。但是其灵敏度、特异度较低, 另外还容易受其他比如年龄、种族、血容量、药物、肌肉代谢情况和营养状态等因素的影响^[4]。多方面的局限性使其并不适合作为早期尿石症的诊断指标, 不能在疾病早期为临幊提供线索, 从而延误临床治疗。

1.2 钙 钙离子是结石形成的重要促进因素之一, 甲状旁腺机能亢进、维生素 D 中毒、恶性肿瘤、皮质醇增多、嗜铬细胞瘤、急性肾小管坏死恢复期、多发性骨髓瘤等疾病均会引起血清钙水平的变化, 进一步引起高尿钙, 从而增加了结石钙盐的饱和度^[5-6]。虽然钙离子水平能在一定程度上辅助尿石症的诊断, 但其特异度及灵敏度较低, 并不适于早期预防。

1.3 尿酸 尿酸的化学名为 2,6,8-三氧嘌呤, 是嘌呤代谢的最终产物, 在人体中无生理功能。健康人的尿酸产量一般为 600~800 mg/d, 而尿酸主要由肾脏排泄(约占 2/3), 24 h 内尿排出尿酸量约为 400~1 000 mg^[7]。气温和饮水量是影响尿酸结石最为重要的因素, 尿液浓缩后尿酸浓度增加达到过饱和状态, 同时尿酸溶解度因 pH 下降而降低, 促使尿路结

石形成。

1.4 其他相关指标 血清中其他微量元素如钾、钠、磷, 以及尿 pH 值等也是泌尿系结石形成的影响因素。国内外有研究表明, 高钠饮食人群患泌尿系结石的概率明显高于其他人群。由于钠在肾小管中与钙的协同转运作用, 高尿钠会抑制钙离子在肾小管的重吸收, 增加尿钙水平, 促进尿路结石形成^[8]。此外, 有临床对照研究表明, 结石患者血清中钾离子水平相对较低, 钾离子可能会降低结石形成的风险。有文献报道, 机体内磷水平的变化与尿石症有潜在的相关性, 而也有研究认为, 磷不能作为尿路结石的独立危险因素, 因为钠、钾、钙、氯及磷在代谢过程中存在协同作用^[9]。尿 pH 值可因血清氯离子水平增高而增高, 而尿 pH 上升会促进结晶形成。以上指标尚未有研究证明其能作为结石形成的独立危险因素。

2 尿液中主要相关标志物

2.1 T-H 蛋白 T-H 蛋白是一种相对分子质量为 85×10^3 的免疫抑制性糖蛋白, 其最初是在体外通过特异性抗人 T 淋巴细胞增殖试验抑制其活性的基础上, 从孕妇尿液中提取并纯化而来。尽管在男性尿液内也可提取出 T-H 蛋白, 但其免疫抑制活性远低于前者。IANGDON 等^[10]发现, T-H 蛋白本质上与尿调节素是完全一致的, 它是肾脏所含有的一种特异性阴离子蛋白, 主要存在于尿液中, 血清中水平甚微, 可对上皮细胞起到一定的保护作用。T-H 蛋白在血清中水平甚微, 而在尿液中水平较高, 且对草酸钙晶体生长和聚集具有双重作用, 主要受到 pH 值及离子强度的影响, 当缓冲环境为高 pH、低离子强度时, T-H 蛋白抑制草酸钙晶体的聚集; 反之, 当缓冲环境为低 pH、高离子强度时, T-H 蛋白促进晶体的聚集。研究表明, T-H 蛋白一般情况下会附着于晶体表面而抑制其聚集, 但当尿液 pH 降低或浓缩时, T-H 蛋白本身会发生聚合, 导致黏度大幅增加, 而活性下降, 转化成

* 基金项目: 湖南省教育厅基金项目(16C0962)。

△ 通信作者, E-mail: xcq163jyk@sina.com。

本文引用格式: 闫晓煜, 黄志红, 肖创清. 泌尿系统结石相关标志物的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(7): 871-873.

促进草酸钙晶体生长聚集的强活性剂。国外相关体外实验结果证明:T-H 蛋白在对晶体的聚集具有强的抑制作用,并指出 T-H 蛋白的缺乏是人类尿石症产生与发展的重要环节^[11]。另外有关文献报道:钙离子的介导作用与 T-H 蛋白的抑制活性有一定相关性,当晶体与 T-H 蛋白在特定位点上结合后,晶体之间的负性静电斥力增加,从而抑制其聚集^[12]。

2.2 OPN OPN 是一种富含唾液酸的磷酸化非胶原性骨基质糖蛋白,广泛存在于骨、肾、膀胱及 NK 细胞中,OPN 具有特殊的氨基酸序列(RGD 序列),由谷氨酸、甘氨酸及天冬氨酸组成,可促进其细胞黏附。OPN 在泌尿系统中还能够通过对晶体网阵结构的破坏来抑制草酸钙结晶的生长与聚集,且对钙离子的调节有一定的影响,OPN 也可促进一水草酸钙(COM)向二水草酸钙(COD)转化,从而减少草酸钙结晶在肾小管表面的黏附与沉积。因此,OPN 也可称为尿桥蛋白^[13]。肾集合管及髓袢是 OPN 的重要表达部位之一,可能与尿草酸的重吸收及尿液高度浓缩有关。LANGDON 等^[14]发现,只有磷酸化的 OPN 才能抑制 COM 晶体的生长,而非磷酸化的 OPN 片段非但不能抑制晶体的成核和生长,且随浓度增长反而促进含钙晶体成核。因此,OPN 浓度是机体抑制结石形成能力的重要指标之一,健康人尿中 OPN 足以抑制草酸钙结晶的成核、生长和聚集,一旦其尿中代谢水平发生异常减低,可能预示着尿结石的形成。

2.3 柚橼酸盐 柚橼酸盐是一种强碱性盐类物质,又名柠檬酸盐,是一种结石形成抑制物,尤其是含钙类结石^[15]。当枸橼酸盐在尿中解离时,可增加尿枸橼酸根,使钙离子减少,因其特殊的空间结构,能同 COM、COD 和三水草酸钙(COP)发生螯合作用,形成可溶性高而难以解离得枸橼酸钙,使之易于随尿液排出。其次,当尿中枸橼酸根浓度增加时,COM 体的密度、尺寸随之减小,表明枸橼酸盐对 COM 晶体的成核及生长均能起到抑制作用。枸橼酸盐因其弱酸强碱盐的本质,在尿中电离后可使 pH 值升高,进而增加尿酸结石和胱氨酸结石等酸类结石的溶解度,从而进一步抑制结石形成。此外,枸橼酸盐可提升 T-H 蛋白、OPN 和肾钙素等大分子尿结石抑制物的水平及其活性^[16]。近年来有研究表明,枸橼酸钾口服后能被人体吸收氧化约 80%,其在尿中解离后一方面能产生碱负荷,提高尿 pH 值,另一方面由于钾离子与钙离子的相互作用可促进尿钙排出。未在人体中氧化的枸橼酸钾可直接代谢进入尿液,抑制草酸钙结晶和磷酸钙结晶的形成^[17]。因此,尿枸橼酸盐对含钙结石的防治具有重要的临床意义。

2.4 尿草酸 当尿草酸排泄量大于 40 mg/24 h 时,可判断为高草酸尿。据调查发现,草酸钙结石患者伴有高草酸尿的比例达 28%,因此尿草酸升高是结石患者常见的代谢异常^[18]。目前我国高草酸尿患者的比例呈不断增长趋势,其导致尿路结石形成的具体机制仍未明确。有研究认为,一方面尿液中草酸浓度增高

达到过饱和状态,结合尿钙形成草酸钙结晶,促进结石的生长与聚集;另一方面,过高的尿草酸浓度会造成肾小管上皮细胞自身氧化损伤,随之与结石晶体生成核作用,随后在尿草酸作用下不断生长^[19]。草酸钙类结石占泌尿系结石种类的 70% 左右,因此,纠正尿草酸代谢,对临床泌尿系结石防治及预防复发意义重大。

3 其他结石形成相关指标

3.1 肾钙素 肾钙素(NC)是一种酸性糖蛋白,由肾近曲小管和髓襻升支粗段细胞分泌。NC 是尿中天然存在的蛋白,对 COM 结晶的成核、生长、聚集等三个过程均有抑制作用,且在维生素 K 的协同作用下,其抑制作用会增强。NC 是具有双极性结构的蛋白,其性质稳定,可通过羧基和磷酸基结合并包裹晶体,防止晶体进一步生长和聚集^[20]。NC 是结石形成的天然抑制物,其大量提纯及临床治疗的应用仍是目前的难题所在。

3.2 尿凝血酶原片断 1(UPTF1) UPTF1 于 1991 年被发现,是一种大分子蛋白质,大量存在于草酸钙结石基质中。UPTF1 在体外能显著地抑制草酸钙结晶的生长和聚集,有研究也证明肾脏远曲小管细胞可合成并分泌 UPTF1,从而抑制结石的形成。作为草酸钙结石是含量最高的基质蛋白,尿 UPTF1 是健康人体内主要内源性结石抑制因子之一,其主要机制是通过 γ-羧基谷氨酸(Gla)结构域发挥作用^[21-22]。

3.3 间 α 胰蛋白酶抑制物(IaI) IaI 是一种血清中广泛存在的蛋白酶,健康人尿液中也可分离出。有体外实验证明,IaI 可抑制草酸钙晶体的生长。在肾草酸钙结石大鼠模型研究中发现,肾组织中 IaI 表达上调与高草酸尿和草酸钙晶体沉积相关,机体通过分泌 IaI 来对抗结石的形成^[23]。KHAN 等^[24]发现,IaI 在体外对草酸钙晶体聚集的抑制作用比 UPTF1 更强,而抑制晶体生长能力较弱,可能与 IaI 结合到晶体表面后,阻止晶体之间相互作用有关。

3.4 S100A8 蛋白 S100A8 蛋白又名为钙粒蛋白 A,是人体炎性反应中较为重要的功能性蛋白,由 93 个氨基酸残基组成,相对分子质量为 $10\ 835 \times 10^3$,通常以 S100A8/S100A9 异源二聚体形式存在^[25],S100A8 是其中行使生物学功能的主要活性成分^[26]。BOONLA 等^[27]通过实验发现,在结石患者的结石标本、肾脏组织和尿液中,S100A8 的表达是上调的。此外,还有文献也报道了在患者尿液中发现了 S100A8 蛋白,并推测其可能通过参与炎性反应中的氧化应激通路,影响结石的形成与发展^[27]。

4 结石相关易感基因

尿石症是在多基因与环境、饮食、种族等多种因素共同作用的情况下形成的疾病。临床基因技术的日新月异,使近年来越来越多的学者开始研究 CLDN14、CaSR、OPN 等基因的多态性与泌尿系结石的相关性^[28]。claudin-14 蛋白主要在髓襻升支粗段表达,由 CLDN14 基因编码,其主要生物学功能是抑

制钙离子和镁离子的重吸收,从而升高尿钙浓度。然而,其抑制作用受钙的摄入量和钙敏感受体(CaSR)的影响,CaSR 是由 CaSR 基因编码的一种 G 蛋白偶联受体,能抑制钙离子的重吸收^[29]。有研究表明,OPN 基因(rs1126616)位点 T 等位基因多态性可导致中亚与东南亚人群中的泌尿系结石易感性增高^[30]。基因组学研究已逐渐成为生物医学领域的热点,所以未来将会有更多与泌尿系结石相关的易感基因被发现。

5 小 结

综上所述,尿路结石形成的影响因素复杂,其发病机制仍未明确,尿液中多种结石抑制物及结石促进物的代谢水平失衡是其可能机制之一。尿路结石形成的过程主要包括成核、生长和聚集,只要成石的任一过程受到抑制,就有可能避免尿结石。随着尿石症研究的深入,通过检测人体内结石相关代谢物来对泌尿系结石进行预警,辅助临床及时进行干预及预防,可减少因泌尿系结石医治不及时,易造成感染,严重者可导致肾衰竭,给患者带来经济及心理负担等情况,同时降低尿石症发病率及复发率。然而,目前尚未见对相关预警模型的详细报道。此外,尿中标志物的检测对使用抑制物防治尿石症有一定的临床意义,且能够为剂量的调节提供参考。关于泌尿系结石的有效防治,以及结石抑制物的检测与临床应用仍是国内外研究探讨的热点问题。

参考文献

- [1] WU W, YANG D, TISELIUS H G, et al. The characteristics of the stone and urine composition in Chinese stone formers: primary report of a single-center results[J]. Urology, 2014, 83(4): 732-737.
- [2] CATHERINE H, JEAM M. Uromodulin (tamm-horsfall glycoprotein): a renal ligand for lymphokines [J]. Science, 1987, 9(17): 1479-1482.
- [3] 汪茜,周建甫,李静,等.不同钙、镁比例饮用水对相对高草酸尿症大鼠肾结石形成及代谢的影响[J].第二军医大学学报,2015,36(6):691-695.
- [4] VISWANATHAN P, RIMER J D, KOLBACH A M, et al. Calcium oxalate monohydrate aggregation induced by aggregation of desialylated Tamm-Horsfall protein [J]. Urol Res, 2011, 39(4): 269-282.
- [5] LIU Y, MO L, GOLDFARB D, et al. Progressive renal papillary calcification and ureteral stone formation in mice deficient for Tamm-Horsfall protein[J]. Renal Physiology, 2010, 299(3): 469-478.
- [6] HAYATDAVOUDI P, KHAJAVI RAD A, RAJAEI Z, et al. Renal injury, nephrolithiasis and Nigella sativa: a mini review[J]. Avicenna J Phytomed, 2016, 6(1): 1-8.
- [7] XIAO L, KANG L, YONG-SHENG P, et al. Roles of osteopontin gene polymorphism (rs1126616), osteopontin levels in urine and serum, and the risk of urolithiasis: a meta-analysis[J]. Bio Med Res Int, 2015, 10(11): 1-9.
- [8] LIU C C, HUANG S P, LIYU T, et al. The impact of osteopontin promoter polymorphisms on the risk of calcium urolithiasis[J]. Clin Chim Acta, 2010, 411(9-10): 739.
- [9] KOHRI K, YASUI T, OKADA A, et al. Biomolecular mechanism of urinary stone formation involving osteopontin[J]. Urol Res, 2012, 40(6): 623-637.
- [10] LANGDON A, WIGNALL G R, ROGERS K, et al. Kinetics of calcium oxalate crystal growth in the presence of osteopontin isoforms: an analysis by scanning confocal interference microscopy[J]. Calcif Tissue Int, 2009, 84(3): 240-248.
- [11] 张圣平,蒲小勇,洪良庆,等.无肾功能损伤大鼠肾草酸钙结石模型的筛选[J].中华实验外科杂志,2013,30(10): 2139-2141.
- [12] KHAN S R, JOSHI S, WANG W, et al. Regulation of macromolecular modulators of urinary stone formation by reactive oxygen species: transcriptional study in an animal model of hyperoxaluria[J]. Am J Physiol-Renal, 2014, 306(11): 1285-1295.
- [13] HOLMES P, KNIGHT J, ASSIMOS M, et al. Lowering urinary oxalate excretion to decrease calcium oxalate stone disease[J]. Urolithiasis, 2016, 44(1): 27-32.
- [14] ANDREW P, ELAINE M, FREDERIC L. Mechanisms of human kidney stone formation[J]. Urolithiasis, 2015, 43(1): 19-32.
- [15] MITTAL A, TANDON S, SINGLA S K, et al. In vitro inhibition of calcium oxalate crystallization and crystal adherence to renal tubularepithelial cells by Terminalia arjuna[J]. Urolithiasis, 2016, 44(2): 117-125.
- [16] CHUNG H J. The role of Randall plaques on kidney stone formation[J]. Transl Androl Urol, 2014, 3(3): 251-254.
- [17] FISHMAN A I, GREEN D, LYNCH A, et al. Preventive effect of specific antioxidant on oxidative renal cell injury associated with renal crystal formation [J]. Urology, 2013, 82(2): 481-487.
- [18] RIMER J, JEFFREY D, KOLBACH M, et al. The role of macromolecules in the formation of kidney stones [J]. Urolithiasis, 2016, 11(2): 162-172.
- [19] ORTIZ O, MIYAOKA R, KRIEDBERG C, et al. Pyridoxine and dietary counseling for the management of idiopathic hyperoxaluria in stone-forming patients[J]. Urology, 2011, 77(5): 1054-1058.
- [20] LULICH J P, OSBORNE C A, CARVALHO M, et al. Effects of a urolith prevention diet on urine compositions of glycosaminoglycans, Tamm-Horsfall glycoprotein, and nephro-calcin in cats with calcium oxalate urolithiasis [J]. Am J Vet Res, 2012, 73(3): 447-451.
- [21] 吴浩然,胡波,施国伟.草酸钙结晶-肾小管细胞损伤机制研究进展[J].临床泌尿外科杂志,2014,29(4):365-367.
- [22] RUNGROJ N, SUDETACHAT N, NETTUWAKUL C, et al. Association between human prothrombin variant (T165M) and kidney stone disease. [J]. PLoS One, 2012, 7(9): e45533.
- [23] KHAN S R. Reactive oxygen species, inflammation and calcium oxalate nephrolithiasis[J]. Transl Androl Urol, 2014, 3(3): 256-276.

(下转第 896 页)

和被提问者,同学们构成了实验每一环节的主体,增强了学生的沟通能力和团队协作精神。另外,传统的实验教学强调对检验项目的原理及操作技能的掌握能力,考核评价多局限于实验基本操作技能及理论考试成绩^[8],不利于学生临床工作能力、创新思维能力的培养。而设计性实验通过真实的临床案例,关注临床现实中的实际问题,临床标本的应用能增强学生的生物安全意识,最大限度地还原临床情景,学生在前期基础实验的基础上,学会以临床实际问题为线索,围绕案例自主进行实验探究和路线设计,通过选择实验仪器、实验方法,完成实验过程,获得数据,总结实验结果并讨论,从而达到解决临床实际问题的目的。整个实验课的学习过程紧贴临床,学生的才智、个性、独立思维能力得到充分尊重,不同的学生可以通过不同的途径和方法达到相同的实验目的,改变了千人一面的传统教学模式,大大提高了学生的临床思维和解决问题的能力。当然,这种教学方式需要学生具备一定的理论知识和实验技能,最好安排在实验教学的后阶段,在前期的知识进行综合应用的基础上,对一些重要的知识点进行整合与创新^[9]。

虽然本教研室对设计性实验教学进行了初步的尝试,但是,开展这种实验教学还有些问题亟待解决,比如实验条件和实验设施的限制,临床标本的获取,学生们理论基础知识良莠不齐,实验带教教师的知识储备和技术更新等等,这些都有待于下一阶段通过改善教学设备,半开放临床实验室,实现教学资源共享等方法加以解决。总之,相比于传统的验证性实验教学,基于临床案例的设计性实验紧贴临床,涵盖理论内容丰富,考察涉及知识面宽,给予学生自主思考的空间大,更能调动学生学习的主动积极性,培养学生的临床思维能力和团队协作能力,是临床检验基础实

验教学改革的新模式,需要在实际运用中不断进行完善和提高。

参考文献

- [1] 刘小柳,马丽,王涌泉,等.《临床检验基础》实验课教学改革与创新实践[J].国际检验医学杂志,2014,35(2):247-248.
- [2] 黄辉,郑峻松,蒋莉丽,等.病例导入式自主设计性实验在临床检验基础实验教学中的应用[J].国际检验医学杂志,2015,36(7):1002-1003.
- [3] 黎安玲,裴惠临,夏琳. PBL 结合案例教学法在临床检验基础综合性实验教学中的尝试[J]. 临床血液学杂志(输血与检验),2015,28(10):910-912.
- [4] 马丽,李莉萍,陈小芳,等.研究性实验教学方法在临床检验基础课程教学中的应用[J].中华医学教育杂志,2012,32(6):884-886.
- [5] 佟广辉,佟威威,卢丽萍,等.多途径提高临床检验基础实验课教学效果的研究[J].中国高等医学教育,2015,15(2):10-11.
- [6] 姜海艳,关伟军.临床检验基础教学中设计性实验的意义[J].中国实用医药,2014,9(3):268-268.
- [7] 朱琳琳,赵庆伟,丁肖华,等.设计性实验在临床检验基础实验教学中的应用[J].新乡医学院学报,2010,27(4):431-432.
- [8] 赵莉平,石小玲,权志博,等.临床检验基础实验 3+4 综合性考核方式的应用与探讨[J].山西医药杂志,2016,45(3):351-353.
- [9] 夏国华,芦慧霞,薛萌,等.基于案例分析的综合性实验在《临床基础检验》实验教学中的应用[J].中华医学教育探索杂志,2011,10(10):1254-1256.

(收稿日期:2017-09-27 修回日期:2017-11-06)

(上接第 873 页)

- [24] CHUNG T H, OH J S, LEE Y S, et al. Elevated serum levels of S100 calcium binding protein A8(S100A8) reflect disease severity in canine atopic dermatitis[J]. J Vet Med Sci, 2010, 72(6):693-700.
- [25] SCHIOPU A, COTOI O S. S100A8 and S100A9; DAMPs at the crossroads between innate immunity, traditional risk factors, and cardiovascular disease[J]. Mediators Inflamm, 2013, 2013(3):828354.
- [26] BOONLA C, TOSUKHOWONG P, SPITTAU B, et al. Inflammatory and fibrotic proteins proteomically identified as key protein constituents in urine and stone matrix of patients with kidney calculi[J]. Clin Chim Acta, 2014, 429(81-89).
- [27] JOU Y C, FANG C Y, CHEN S Y, et al. Proteomic study of renal uric acid stone[J]. Urology, 2012, 80(2):260-

266.

- [28] TERESA A, ALESSANDRA M, LORENZA M, et al. Idiopathic calcium nephrolithiasis: a review of pathogenic mechanisms in the light of genetic studies [J]. Am J Nephrol, 2014, 40(6):499-506.
- [29] 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):e0130790.
- [30] LI X, LIU K, PAN Y, et al. Roles of osteopontin gene polymorphism(rs1126616), osteopontin levels in urine and serum, and the risk of urolithiasis: a meta-analysis [J]. Biomed Res Int, 2015, 2015(17):1-9.

(收稿日期:2017-09-21 修回日期:2017-12-02)