

泌尿系结石基质蛋白的研究现状

撒世文¹, 李九智²

¹新疆医科大学研究生院, 新疆 乌鲁木齐

²新疆维吾尔自治区人民医院泌尿中心, 新疆 乌鲁木齐

收稿日期: 2024年1月21日; 录用日期: 2024年2月14日; 发布日期: 2024年2月21日

摘要

泌尿系结石是全球范围内最常见的泌尿系统疾病之一, 虽然是一种良性疾病, 但由诸多因素作用。其发生及进展机制涉及众多生理及生化过程, 然而, 研究者们目前并没有彻底阐明这些机制。本综述旨在对泌尿系结石中基质蛋白(stones matrix protein, SMP)的研究进展做统一论述。希望能够通过汇总早先研究者们对各类泌尿系结石基质蛋白的研究, 从而对泌尿系结石的产生与进展机制形成初步认识, 以此为后续研究提供扎实的理论基础和研究方向。

关键词

泌尿系结石, 基质蛋白, 蛋白组学

Research Status of Matrix Proteins in Urinary Calculi

Shiwen Sa¹, Jiuzhi Li²

¹Graduate School of Xinjiang Medical University, Urumqi Xinjiang

²Urology Center, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi Xinjiang

Received: Jan. 21st, 2024; accepted: Feb. 14th, 2024; published: Feb. 21st, 2024

Abstract

Urinary calculi is one of the most common diseases of urinary system in the world. Although it is a benign disease, it is caused by many factors. The mechanisms of its occurrence and progression involve a number of physiological and biochemical processes, however, these mechanisms are not fully confirmed. The purpose of this review is to unify the research progress of stones matrix protein (SMP) in urinary calculi. By summarizing previous studies on SMP in various urinary calculi,

we hope to have a preliminary understanding of the generation and progression mechanism of urinary calculi, so as to provide a solid theoretical basis and research direction for subsequent studies.

Keywords

Urinary Calculi, Matrix Protein, Proteomics

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

自有历史记载以来, 公元前 400 年就出现了针对膀胱结石和肾结石的治疗方法, 可见泌尿系结石的历史之渊源。人类与它的斗争虽然经历了漫长的过程, 但是泌尿系结石的在全球范围内的患病率与复发率还是一直处于上升趋势, 患病人数常年居高不下, 每年为各个国家的卫生事业带来了相当大的负担。据大数据统计, 泌尿系结石 5 至 10 年内的复发率高达 50% [1], 国内目前成年人的结石患病率高达 6.4% [2], 并且有研究表明, 这一情况仍处于持续上升趋势[3]。究其原因就是泌尿系结石的发病机制尚未完全确定。因此, 为了能够做到对该疾病的有效防治, 首要任务就是围绕其发病机制做更深入的研究。众所周知, 泌尿系结石依其组成成分不同, 可分为: 草酸钙结石、尿酸结石、磷酸钙结石、胱氨酸结石、磷酸镁铵结石、尿酸铵结石等[4]。随着研究技术和手段的进步, 近年来人们在对结石成分进行分析时, 发现这些看似构成简单的结石并不是只是由单一的无机盐成分组成, 其中还含有大量有机物和非晶体成分, 如蛋白质、多糖类物质、脂质等[5], 其中被研究最多的就是结石基质蛋白。

该项研究开展之初, 人们认为 SMP 导致结石的机制主要为: 促使晶体成分聚集、促进晶体成分附着在肾小球基底膜、阻塞集合系统[6] [7] [8]。自 1988 年 Morse RM 等学者[8]通过使用二维聚丙烯酰胺凝胶电泳法成功分离出结石中非晶体成分的大分子蛋白质后, 该方法被学界广泛用于研究 SMP。随着研究的深入, 越来越多蛋白质分子被分离出来, 其在结石形成过程中的作用也得到了解释。目前对泌尿系结石形成机制的研究达成共识, 一致认为结石始于 Randall's 斑块, 该方面的基础研究层出不穷, 现有研究结果大致可分为以下几种假说和理论: 高钙尿和高柠檬酸尿假说、血管钙化机制假说、共病假说、活性氧(ROS)假说、炎症和矿化调节剂假说、巨噬细胞极化理论、晶体成核和基质囊泡理论等[9]。尽管如此, 目前对于 SMP 在结石形成过程中的具体作用还未完全明确。

本综述旨在对泌尿系结石中基质蛋白的研究进展做统一论述。希望能够通过汇总原先研究者们对各类泌尿系结石中 SMP 的研究, 从而对泌尿系结石的产生与进展机制形成初步认识, 以此为后续研究提供扎实的理论基础和研究方向。

2. 草酸钙结石基质蛋白的研究进展

经长期临床观察发现, 泌尿系结石中钙盐结石在各成分结石中最常见, 约占 79.17%, 其中草酸钙结石(Calcium Oxalate, CaOx)最为常见[10]。Yuanyuan Yang 等人通过对国内外大量文献荟萃分析后得出关于 CaOx 结石 SMP 成分的结论[11]: CaOx 结石基质中有 20 种最常见的蛋白, 如 S100A8、S100A9、尿调素、白蛋白、骨桥蛋白(SPP1)、乳转铁蛋白、维生素 K 依赖铁蛋白、维生素 K 依赖蛋白 Z、凝血酶原、血红

蛋白亚基、髓过氧化物酶(MPO)、结合丝氨酸蛋白酶 2、溶菌酶 C、补体 C3、血清淀粉样蛋白 P 成分、组织蛋白酶 G、玻璃体素、载脂蛋白 A-1、嗜酸性粒细胞阳离子蛋白、纤连蛋白和载脂蛋白 D。经研究,人们发现骨桥蛋白、凝血酶原等对 CaOx 结石聚集过程起抑制作用[12] [13]; MPO [14]与纤连蛋白[15]对结石聚集起促进作用。还有研究结果显示[16],在 CaOx 结石基质中发现了大量的炎症蛋白,如免疫球蛋白、 α -防御素-3、聚簇蛋白、补体 C3a、激肽原、钙颗粒蛋白和纤维蛋白原等。这一结果提示 CaOx 的形成过程与炎症反应密切相关。值得注意的是,2018年,学者叶韬等人对泌尿系草酸钙结石进行分析时发现其中相当一部分蛋白质与大肠杆菌的部分蛋白质相重叠[17]。

此外,在一项同时结合结石蛋白组学与代谢组学的动物实验中,研究人员发现草酸钙结石模型小鼠的促炎性因子 Il-6、Il-1、Tnf- α 及粘附分子 Icam 和 Vcam 水平升高;抗炎因子 Il-10 水平降低,这说明 CaOx 晶体可诱发炎症反应,此外该研究还证明了 CaOx 晶体可诱导肾小管细胞的氧化应激损伤[18]。

3. 尿酸结石基质蛋白的研究进展

尿酸结石(UA)占有泌尿系结石的 10%~15%,且逐年呈上升趋势[19]。尿酸结石形成的三大要素可归结为:尿液高尿酸、尿液低 pH、尿量偏少,其中尿液低 pH 为最主要因素。查阅文献后我们发现,目前在关于 SMP 的研究中, CaOx 结石蛋白质组学分析的研究占大多数,针对尿酸结石的研究较少。

2012年,中国台湾学者 Yeong-Chin Jou 等人对尿酸结石进行蛋白组学分析后发现,在所有尿酸结石标本中共检测到 242 种蛋白质成分,其中有 19 种蛋白在所有标本中都存在,且尿酸结石与草酸钙结石在基质蛋白成分上存在交叉。他们通过 Metacore 软件进行分析后,认为炎症和补体系统最有可能参与肾尿酸结石的形成,其次是白细胞介素(IL)-6 信号系统,细胞骨架与中间丝系统和免疫反应吞噬系统[20]。由此可见,尿酸结石的发生机制与炎症反应同样密不可分。

此外, Srinivasan 等人对混合草酸钙的富尿酸结石的基质蛋白进行分析时发现,其中一种蛋白-29 kDa 蛋白与草酸钙有极强的结合活性,因此为尿酸结石常以草酸钙混合形式出现提供了合理解释[21]。

4. 磷酸镁铵结石基质蛋白的研究进展

磷酸镁铵结石(magnesium ammonium phosphate, MAP),也称“鸟粪石”,占泌尿系结石的 10%~15% [22]。2014年,荷兰学者 Boonla [23]等人通过对结石患者的尿液蛋白(UP)与 SMP 进行分析对比,分别从 CaOx、UA 和 MAP 结石患者的尿液中检测出 57、57 和 26 种蛋白,还发现无论结石成分如何,所有患者尿液中普遍存在 22 种蛋白成分;同时,在所有 CaOx、UA 和 MAP 结石标本中分别检测出 54、53 和 32 种蛋白成分,还发现所有结石均含有 7 种基质蛋白,包括: S100A8、凝集素转铁蛋白、血清白蛋白、免疫球蛋白重链、S100A9、髓过氧化物酶和溶菌酶 c,但未发现 MAP 中有与其他类型结石相比具有特异性的蛋白成分。

此外,他们还在 MAP 基质蛋白和尿液中检测到 S100A8 蛋白和纤维连接蛋白,这些蛋白都是炎症反应的参与者,而这些蛋白在健康人群的尿液中未被检测到,因此有理由推断 MAP 的形成与炎症和纤维化过程有关。

5. 胱氨酸结石基质蛋白的研究进展

胱氨酸结石(cystine stones, CYS)在所有泌尿系结石中较为少见,是一种较为罕见的泌尿系结石,由先天性胱氨酸尿引起,属常染色体隐性或部分显性遗传的疾病,约占所有泌尿系结石的 1%~2% [20],其复发率高,生长迅速,最终可导致肾功能衰竭。Larisa 等人[24]使用液相色谱-质谱法对 10 例胱氨酸结石患者的结石样本进行了蛋白组学分析,共检出 2097 种蛋白质成分,发现其中 398 种蛋白质与健康对照组有明显差异,这其中的 191 种为参与转运过程的蛋白质,61 种为参与炎症反应的蛋白质。还发现囊泡转运

类蛋白占比很高(约 78.5%), 这其中有 12 种蛋白参与内体转运, 9 种蛋白参与跨膜转运。因而认为 CYS 的形成过程与内吞作用受损、肌动蛋白和肌凝蛋白细胞骨架失调以及炎症反应有关。

此外, 有研究表明胱氨酸结晶能显著抑制近端小管细胞(HK2)增殖, 增加细胞对乳酸脱氢酶和丙二醛的释放, 并上调细胞中单核细胞趋化蛋白-1mRNA 的表达和其蛋白的分泌。

6. 基质结石基质蛋白的研究进展

基质结石(Matrix stones, MS), 最初在 1908 年[25]被描述, 是一种罕见的结石, 其质地与晶体成分的结石不同, 质较脆而软, 基质成分几乎不含无机盐, 由大量有机物质组成。Benjamin 等人对一例患有基质结石的糖尿病女性的结石标本进行了分析, 共提取出 33 种特异蛋白质成分, 其中有 24 种(73%)蛋白质为炎症、免疫反应相关蛋白, 如免疫球蛋白、钙粒蛋白等。其他蛋白如弹性蛋白酶、髓过氧化物酶和溶菌酶, 纤溶酶原、血红蛋白、蛋白 C、补体 C3 和凝血酶原等, 可见基质结石 SMP 中大部分成分与草酸钙结石无异, 且其形成过程均与炎症反应有关。

Martelli C 等人通过对 5 例基质结石进行蛋白质组学分析后发现, 在这些结石基质中, S100-A8 (钙粒蛋白 A)与 S100-A9 (钙粒蛋白 B)含量显著高于其他蛋白, 而以上两种蛋白与炎症反应密切相关, 因此他们认为此类结石为炎症反应的产物[26]。

7. 碳酸钙和磷酸钙结石基质蛋白的研究进展

碳酸钙结石(Calcium carbonate stones, CaCO_3)和磷酸钙结石(Calcium phosphate stones, CaP), 在临床上很少见到其单一成分的结石, 常以混合状态出现, 因此纯的 CaCO_3 或 CaP 较为少见。Canales 等人专门针对钙盐结石进行了一项研究[27], 结果显示在 CaP SMP 与 CaOx SMP 无明显差异, 其中含量排名前 30 位的蛋白质中有 12 种蛋白质与细胞炎症反应有关。

Kiyoko 等人对 1 例草酸钙混合 CaCO_3 结石 SMP 进行分析时检测出共 53 种蛋白质, 其中有 24 种在 CaOx 和 CPS 基质中均未出现过[28]。可见, 同为钙盐结石, CaP 结石 SMP 与 CaOx 几乎一致, 而 CaCO_3 结石 SMP 则与 CaOx 有所不同, 说明其形成过程也许存在差异, 具体机制还有待进一步研究。

8. 尿酸铵结石基质蛋白的研究进展

尿酸铵结石(Ammonium Urate Calculus), 该类结石相关的文献屈指可数, 纯的尿酸铵结石在临床上及其少见, 常常以与草酸钙或尿酸混合的形式出现。美国学者 Jonathan A Khusid 等人 2023 年进行了一项针对 3 例纯尿酸铵结石 SMP 的研究[29], 共鉴定了 1317 种蛋白, 通过对这些蛋白的 KEGG 通路分析统计, 认为其形成与营养物质代谢、泻药滥用[30]密切相关, 同时也与许多寄生感染相关, 如阿米巴病、非洲锥虫病、疟疾等。同在 2023 年, 我国学者贾宏亮等人[31], 通过对新疆南部地区 61 例儿童尿酸铵结石分析后发现, 其中相当一部分儿童存在泌尿系感染(14 例), 其中有 11 例为非解脲酶细菌感染, 因此认为非解脲酶细菌为其主要致病菌。还发现此类患儿的年龄、结石直径较一般结石患儿更小。

尽管其与尿酸结石同属尿酸基结石, 但 Khusid 等人通过分析对比尿酸铵结石、尿酸结石及纯钙质结石基质蛋白后发现, 尿酸铵结石的基质蛋白构成与钙质结石更加接近。但是考虑该研究的尿酸铵结石样本量较小, 故其结论具有一定的局限性, 还有待进一步研究。

9. 结语

综上所述, 对于泌尿系结石的蛋白组学研究目前已广泛开展, 在查阅文献的过程中我们发现, 目前对于草酸钙结石 SMP 的研究最多, 其次是尿酸结石和胱氨酸结石。虽然各种结石 SMP 组成和含量有显

著的差异, 但是多项研究也表明不同结石 SMP 中也存在相同成分, 如钙粒蛋白(A、B)、骨桥蛋白、纤连蛋白、凝血酶原等。从结石所含 SMP 的丰富度来看, 草酸钙结石和尿酸结石的 SMP 明显高于磷酸镁铵结石。有趣的是, 通过上述各项研究我们不难发现, 各类型结石 SMP 中均含有与炎症及免疫反应相关的蛋白成分, 因此可以认为结石的形成与机体的炎症反应等存在一定的相关性。然而, 可以肯定的是目前人类对于泌尿系结石的发生与进展机制仍未明确, 现阶段的研究也存在一些不合理的地方。在研读以上研究文献的过程中, 我们发现目前在该领域的研究还有很大空白, 如针对儿童泌尿系结石的蛋白组学研究和尿酸铵结石成分分析的研究文献就很少见。因此, 这也给我们未来的研究提供了方向。我们相信总有一天, 人类能够彻底看清这座“庐山”的真面目。

参考文献

- [1] Wells, K.A. (2000) Nephrolithiasis with Unusual Initial Symptoms. *Journal of Manipulative & Physiological Therapeutics*, **23**, 196-201. [https://doi.org/10.1016/S0161-4754\(00\)90249-5](https://doi.org/10.1016/S0161-4754(00)90249-5)
- [2] Zeng, G., Mai, Z., et al. (2017) Prevalence of Kidney Stones in China: An Ultrasonography Based Cross-Sectional Study. *BJU International*, **120**, 109-116. <https://doi.org/10.1111/bju.13828>
- [3] Wang, Q., Wang, Y., et al. (2023) Trends of Urolithiasis in China: A National Study Based on Hospitalized Patients from 2013 to 2018. *Kidney Diseases*, **9**, 49-57. <https://doi.org/10.1159/000527967>
- [4] Roger, C., Abid, N., et al. (2020) Composition of Urinary Calculi: Lessons from a French Epidemiologic Retrospective Study. *Progrès en Urologie*, **30**, 339-345. <https://doi.org/10.1016/j.purol.2020.03.003>
- [5] Monga, J.N., Kanhere, S. and Goyal, K.N. (1981) Occurrence of Immunoglobulins in Organic Matrices of Some Urinary Calculi. *Indian Journal of Medical Research*, **74**, 729-732.
- [6] Kimura, Y. and Kasaki, N. (1977) Role of Urinary α 1-Globulin Fraction in Formation of Urinary Calculi. With Special Reference to Aggregating Effect of Serum α 1-Globulin on Calcium Carbonate Suspension. *Urologia Internationalis*, **32**, 428-436. <https://doi.org/10.1159/000280159>
- [7] Lu, X., Gao, B., et al. (2013) Matrix Gla Protein Is Involved in Crystal Formation in Kidney of Hyperoxaluric Rats. *Kidney and Blood Pressure Research*, **37**, 15-23. <https://doi.org/10.1159/000343396>
- [8] Resnick, M.I., Gammon, C.W., Sorrell, M.B. and Boyce, W.H. (1980) Calcium-Binding Proteins and Renal Lithiasis. *Surgery*, **88**, 239-243.
- [9] Khan, S.R., Canales, B.K. and Dominguez-Gutierrez, P.R. (2021) Randall's Plaque and Calcium Oxalate Stone Formation: Role for Immunity and Inflammation. *Nature Reviews Nephrology*, **17**, 417-433. <https://doi.org/10.1038/s41581-020-00392-1>
- [10] 袁晓亮, 魏汉平, 刘晓武, 等. 泌尿系结石成分构成及其临床特征与肾功能分析[J]. 中外医学研究, 2022, 20(22): 68-72.
- [11] Yang, Y., Hong, S., et al. (2021) Proteomic Analysis Reveals Some Common Proteins in the Kidney Stone Matrix. *PeerJ*, **9**, e11872. <https://doi.org/10.7717/peerj.11872>
- [12] Rungroj, N., Sudtachat, N., et al. (2012) Association between Human Prothrombin Variant (T165M) and Kidney Stone Disease. *PLOS ONE*, **7**, e45533. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045533>
- [13] Negri, A.L. and Spivacow, F.R. (2023) Kidney Stone Matrix Proteins: Role in Stone Formation. *World Journal of Nephrology*, **12**, 21-28. <https://doi.org/10.5527/wjn.v12.i2.21>
- [14] Mushtaq, S., Siddiqui, A.A., et al. (2007) Identification of Myeloperoxidase, α -Defensin and Calgranulin in Calcium Oxalate Renal Stones. *Clinica Chimica Acta*, **384**, 41-47. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2007.05.015>
- [15] Khamchun, S., Sueksakit, K., Chaiyarit, S. and Thongboonkerd, V. (2019) Modulatory Effects of Fibronectin on Calcium Oxalate Crystallization, Growth, Aggregation, Adhesion on Renal Tubular Cells, and Invasion through Extracellular Matrix. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, **24**, 235-246. <https://doi.org/10.1007/s00775-019-01641-w>
- [16] Canales, B.K., Anderson, L., et al. (2008) Second Prize: Comprehensive Proteomic Analysis of Human Calcium Oxalate Monohydrate Kidney Stone Matrix. *Journal of Endourology*, **22**, 1161-1167. <https://doi.org/10.1089/end.2007.0440>
- [17] 叶韬. 泌尿系草酸钙结石蛋白分析[D]: [硕士学位论文]. 南昌: 南昌大学, 2018.
- [18] Gao, S., Chao, Y.F., et al. (2022) An Integrated Proteomics and Metabolomics Strategy for the Mechanism of Calcium Oxalate Crystal-Induced Kidney Injury. *Frontiers in Medicine*, **9**, Article 805356.

- <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.805356>
- [19] Ma, Q., Fang, L., *et al.* (2018) Uric Acid Stones, Clinical Manifestations and Therapeutic Considerations. *Postgraduate Medical Journal*, **94**, 458-462. <https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2017-135332>
- [20] Jou, Y.C., Fang, C.Y., *et al.* (2012) Proteomic Study of Renal Uric Acid Stone. *Urology*, **80**, 260-266. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2012.02.019>
- [21] Rinivasan, S., Kalaiselvi, P. and Varalakshmi, P. (2006) Epitaxial Deposition of Calcium Oxalate on Uric Acid Rich Stone Matrix Is Induced by a 29 kDa Protein. *Postgraduate Medical Journal*, **364**, 267-274. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2005.07.010>
- [22] Alelign, T. and Petros, B. (2018) Kidney Stone Disease: An Update on Current Concepts. *Advances in Urology*, **2018**, Article ID: 3068365. <https://doi.org/10.1155/2018/3068365>
- [23] Boonla, C., Tosukhowong, P., *et al.* (2014) Inflammatory and Fibrotic Proteins Proteomically Identified as Key Protein Constituents in Urine and Stone Matrix of Patients with Kidney Calculi. *Clinica Chimica Acta*, **429**, 81-89. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2013.11.036>
- [24] Kovacevic, L., Caruso, J.A., *et al.* (2019) Urine Proteomic Profiling in Patients with Nephrolithiasis and Cystinuria. *International Urology and Nephrology*, **51**, 593-599. <https://doi.org/10.1007/s11255-018-2044-1>
- [25] Gage, H. and Beal, H.W. (1908) Fibrinous Calculi in the Kidney. *Annals of Surgery*, **48**, 378-387. <https://doi.org/10.1097/00000658-190809000-00005>
- [26] Martelli, C., Marzano, V., *et al.* (2016) Characterization of the Protein Components of Matrix Stones Sheds Light on S100-A8 and S100-A9 Relevance in the Inflammatory Pathogenesis of These Rare Renal Calculi. *Journal of Urology*, **196**, 911-918. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2016.04.064>
- [27] Canales, B.K., Anderson, L., *et al.* (2010) Proteome of Human Calcium Kidney Stones. *Urology*, **76**, 1017.E13-1017.E20. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2010.05.005>
- [28] Kaneko, K., Matsuta, Y., *et al.* (2014) Proteomic Analysis of a Rare Urinary Stone Composed of Calcium Carbonate and Calcium Oxalate Dihydrate: A Case Report. *International Journal of Urology*, **21**, 341-346. <https://doi.org/10.1111/iju.12282>
- [29] Khusid, J.A., Vasquez, A., *et al.* (2023) Comparative Proteomic Profiling of Uric Acid, Ammonium Acid Urate, and Calcium-Based Kidney Stones. *American Journal of Clinical and Experimental Urology*, **11**, 265-274.
- [30] Soble, J.J., Hamilton, B.D. and Strem, S.B. (1999) Ammonium Acid Urate Calculi: A Reevaluation of Risk Factors. *Journal of Urology*, **161**, 869-873. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(01\)61794-4](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(01)61794-4)
- [31] 贾宏亮, 南玉奎, 艾尼瓦尔·玉素甫, 等. 新疆地区 61 例儿童尿酸铵结石单中心临床研究[J]. 现代泌尿外科杂志, 2023, 28(4): 302-306.