

血清 OPN 水平与桂西地区壮族人群上尿路 草酸钙结石的关系*

周威¹ 黄群¹ 孟冬冬¹ 黄敏玉¹

【摘要】 目的:探讨桂西地区壮族人群血清骨桥蛋白(OPN)水平与上尿路草酸钙(CaOx)结石的关系。**方法:**选取住院的 50 例壮族上尿路结石患者作为结石组,术后通过结石红外光谱分析仪进行结石成分分析;收集同期来院的正常壮族体检者 50 例作为对照组。采用酶联免疫试验测定结石组和对照组血清 OPN 浓度,并比较两组之间的差异。**结果:**结石组血清 OPN 浓度显著低于对照组($P<0.001$);同性别的结石组与对照组血清 OPN 浓度比较,差异无统计学意义($P>0.05$);结石组的男性与女性血清 OPN 浓度均低于同性别对照组的血清 OPN 浓度($P<0.01, P<0.05$);纯 CaOx 患者血清 OPN 浓度显著低于对照组($P<0.01$);一水草酸钙(COM)+二水草酸钙(COD)+碳酸磷灰石(CA, AP)患者与对照组血清 OPN 浓度比较,差异无统计学意义($P>0.05$);COM、COD+CA, AP 患者血清 OPN 浓度高于纯 CaOx 患者($P<0.05$)。**结论:**在桂西地区壮族人群中,血清 OPN 可能抑制上尿路 CaOx 结石的形成,这种抑制作用与性别之间无相关性,但在同性别人群中,上调血清 OPN 水平可抑制 CaOx 结石的形成;纯 CaOx 结石内混合 CA, AP 可能使血清 OPN 水平升高。

【关键词】 草酸钙结石;骨桥蛋白;桂西地区;壮族

doi:10.13201/j.issn.1001-1420.2019.10.004

【中图分类号】 R691.4 **【文献标志码】** A

Relationship between serum OPN level and upper urinary calcium oxalate stone in the Zhuang from Western Guangxi

ZHOU Wei HUANG Qun MENG Dongdong HUANG Minyu

(Department of Urology, Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise, Guangxi, 533000, China)

Corresponding author: HUANG Qun, E-mail: huangqundao@163.com

Abstract Objective: To explore the relationship between serum osteopontin (OPN) level and calcium oxalate stone in upper urinary tract of the Zhuang from Western Guangxi. **Method:** We selected 50 cases of upper urinary stones in the Zhuang as the stone group. The stones were analyzed by infrared spectroscopy after operation. Other 50 persons of the Zhuang who came to the hospital during the same period were selected as the control group. Serum OPN concentrations in stone group and control group were measured by enzyme-linked immunoassay, and the difference between the two groups was compared. **Result:** The serum OPN concentration in stone group was significantly lower than that in control group ($P<0.001$). There was no significant difference in serum OPN concentration between the stone group and the control group with the same sex ($P>0.05$). Serum OPN concentration in stone group in male and female patients was lower than that in control group with the same sex. The serum OPN concentration of pure CaOx patients was lower than that of the control group. The serum OPN concentration of patients with COM+COD+CA, AP had no significant difference compared with that of the control group ($P>0.05$). The serum OPN concentration of patients with COM+COD+CA, AP was higher than that of patients with pure CaOx ($P<0.05$). **Conclusion:** Serum OPN may inhibit the formation of CaOx stones in the Zhuang from Western Guangxi, and there is no correlation between the inhibitory effect and sex. But up-regulation of serum OPN level may inhibit the formation of CaOx stones in population with the same sex. Mixed CA, AP in pure CaOx stone may increase serum OPN level.

Key words calcium oxalate stones; osteopontin; Western Guangxi; the Zhuang

泌尿系结石是一种人群高发、病因复杂且复发率高的常见疾病,是一种全球性泌尿系统疾病,其病因及发病机制尚未完全阐明。据 Liu 等^[1]调查,

泌尿系结石在西亚、东南亚、南亚的患病率为 5%~19.1%,治疗后 3~5 年后复发率为 21%~53%,在所有结石中,草酸钙(calcium oxalate, CaOx)结石是最常见的结石成分。血清骨桥蛋白(osteopontin, OPN)是一种存在全身多器官、组织及体液中的带负电荷的磷酸化糖蛋白,有研究显示,

*基金项目:国家自然科学基金(编号 81600541)

¹右江民族医学院附属医院泌尿外科(广西百色,533000)

通信作者:黄群, E-mail: huangqundao@163.com

OPN 在 CaOx 结石形成中扮演着重要的角色,是 CaOx 结石形成过程中重要的一环^[2,3],有研究表明 OPN 基因多态性与 CaOx 结石形成显著相关^[4]。桂西地区地处广西西部,以壮族人群为主,桂西地区为 CaOx 结石的高发地区,该地区已有研究表明,OPN 基因型在不同地区人群中存在种族差异^[5]。目前国内外关于血清 OPN 水平与 CaOx 结石之间的关系尚未有明确的定论。本实验研究桂西地区壮族人群血清 OPN 水平与 CaOx 结石的关系,探讨 OPN 在 CaOx 结石形成过程中的作用,为今后进一步研究 CaOx 结石形成机制奠定了一定的基础。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取我院泌尿外科 2018 年 5~10 月因泌尿系结石行手术治疗的患者,术后通过红外光谱结石分析仪进行结石成分分析。根据分析结果,选取主要成分为 CaOx 结石者 50 例为结石组,其中男 26 例,女 24 例;年龄 29~66 岁,平均(46.38±9.02)岁。收集同期正常体检者 50 例为对照组,男 29 例,女 21 例;年龄 25~63 岁,平均(42.72±11.63)岁。两组年龄、性别比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 结石组纳入与排除标准

纳入标准:①2018 年 5~10 月在我院泌尿外科住院行手术治疗或者经自然排石成功的患者;②本实验所选的患者依据 2014 版《中国泌尿外科疾病诊断治疗指南》诊断为上尿路结石;③患者有完整的病例资料及影像学资料,术后获得的结石标本用 LIIR-20 进行成分分析,CaOx 成分占比 $>90\%$;④根据患者身份证明所提供的地址和民族信息,筛选原籍为桂西地区(百色市、河池市)并且在本地居住时间 >10 年的患者,患者父母均为壮族。排除标准:①伴有严重的尿路感染患者;②合并心血管系统疾病、血液病、肿瘤及其他重大疾病;③合并严重肝肾功能不全者;④年龄 <18 岁或年龄 >70 岁者;⑤不配合本次研究者。

1.2 实验仪器和试剂

LIIR-20 结石红外光谱分析仪器、酶标仪 Ray-to RT-6000、 -80°C 医用低温保存箱、冷冻离心机 5454R(德国 Eppendorf 股份有限公司)、Research plus 单通道移液器(德国 Eppendorf 股份有限公司)、8 道移液器 P2000、人骨桥蛋白试剂盒(武汉 Elabscience 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 结石成分分析 将住院患者手术获得的结石标本进行洗涤、晾干(必要时在干燥箱进行烘

干)、研磨。使用 LIIR-20 结石红外光谱分析仪器进行结石成分分析。

1.3.2 测定结石组和对照组血清 OPN 浓度 分别抽取结石组和对照组肘静脉血 2~5 ml,离心后获得血清,使用酶联免疫吸附试验测定血清 OPN 浓度,测定方法按照人骨桥蛋白试剂盒说明书进行,测定样品时每个浓度样品并列加 2 孔,取其平均值作为样品浓度。

1.4 统计学方法

使用 SPSS 17.0 进行统计学分析,计量资料符合正态分布,用 $\bar{x}\pm s$ 表示,比较采用 t 检验,计数资料用 % 表示,比较采用 χ^2 检验,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准,双侧检验。

2 结果

2.1 结石成分分析

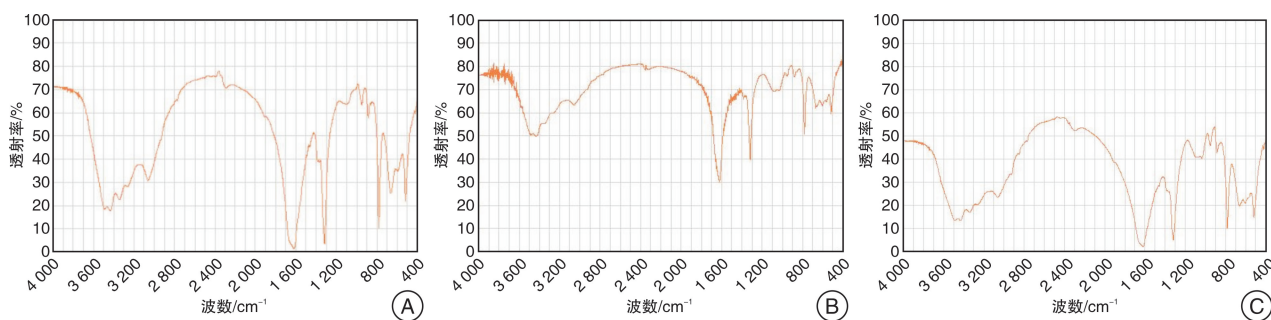
结石组共 50 例,其中一水草酸钙(COM)6 例、COM+二水草酸钙(COD)33 例、COM+COD+碳酸磷灰石(CA. AP)11 例。根据结石成分将结石组分为纯 CaOx(COM、COM+COD)和混合 CaOx(COM+COD+CA. AP)两组,其中纯 CaOx 患者 39 例(78%),混合 CaOx 患者 11 例(22%),纯 CaOx 占比高于混合 CaOx,差异有统计学意义($\chi^2=21.661, P<0.001$)。结石成分分析图谱见图 1A~C。

2.2 血清 OPN 浓度的测定及比较

以标准品的吸光度值为横坐标,浓度为纵坐标,绘制血清 OPN 标准曲线图,根据标准曲线计算样品的 OPN 浓度。结石组血清 OPN 浓度显著低于对照组($P<0.001$);结石组男性与女性血清 OPN 浓度比较,差异无统计学意义($P>0.05$);对照组男性与女性血清 OPN 浓度比较,差异无统计学意义($P>0.05$);结石组男性血清 OPN 浓度显著低于对照组男性血清 OPN 浓度($P<0.001$);结石组女性血清 OPN 浓度低于对照组女性血清 OPN 浓度($P<0.05$);纯 CaOx 患者血清 OPN 浓度显著低于对照组血清 OPN 浓度($P<0.01$);混合 CaOx 患者血清 OPN 浓度与对照组血清 OPN 浓度比较,差异无统计学意义($P>0.05$);混合 CaOx 患者血清 OPN 浓度高于纯 CaOx 患者血清 OPN 浓度($P<0.05$)。见表 1。

3 讨论

OPN 由肾小管细胞和乳头表面细胞分泌到尿液中,在正常人的尿液中正常排泄,对 CaOx 结石的形成具有重要作用。Langdon 等^[6]发现在体外随着环境中 OPN 浓度增大,COM 晶体体积不断减小,从而可以推断 OPN 可以抑制 CaOx 结晶形成。Caballero 等^[7]随后发现小鼠的 OPN 基因表



A:COM 结石;B:COM+COD 结石;C:COM+COD+CA. AP 结石。

图 1 结石成分分析图谱

表 1 结石组与对照组血清 OPN 浓度比较

 $\mu\text{g/ml}, \bar{x} \pm s$

组别	性别		<i>t</i>	<i>P</i> 值	结石类型		<i>t</i>	<i>P</i> 值	平均 OPN 浓度
	男	女			纯 CaOx	混合 CaOx			
结石组	9.226±1.654	9.661±1.972	-0.848	0.401	9.142±1.593	10.473±2.204	-2.242	0.03	9.435±1.808
对照组	11.094±1.571	11.047±2.077	0.092	0.927	—	—	—	—	11.074±1.781
<i>t</i>	-4.294	-2.294	—	—	—	—	—	—	-4.567
<i>P</i> 值	<0.001	0.027	—	—	—	—	—	—	<0.001

达受损和 OPN 尿液排泄增加后,肾结石发生的风险相应增加。这说明 OPN 可抑制尿结石的形成。但也有学者持不同的观点,Okada 等^[8]在高草酸尿模型中,OPN 基因敲除小鼠肾脏只有少量 COM 晶体沉积,并且晶体细小而均匀,而正常小鼠则显示大量呈玫瑰花形状的巨大晶体沉积,说明尿液中 OPN 可促进 COM 形成。

本研究结果显示结石组患者血清 OPN 浓度明显低于对照组血清 OPN 浓度($P<0.001$),说明血清 OPN 浓度低下容易形成结石,OPN 具有抑制 CaOx 结石形成的作用。目前关于血清 OPN 与 CaOx 结石关系的研究不多,有学者发现尿液 OPN 与结石形成关系密切。Nishio 等^[9]用酶联免疫法测定结石患者及正常人尿液中 OPN 浓度,结果显示,结石组尿平均 OPN 浓度($7.6 \mu\text{g/ml}$)显著低于健康对照组($23.9 \mu\text{g/ml}$),而且尿液 OPN 在 $3 \mu\text{g/ml}$ 的生理浓度下能强烈抑制 CaOx 的晶体生长。Kamalov 等^[10]在研究复发性尿石症患者尿液中的 OPN 时也发现,具有结石高复发率的患者尿液 OPN 浓度低于正常人,提示尿液中的 OPN 可能抑制 CaOx 结石的形成。这与本研究中血清 OPN 抑制 CaOx 结石的形成结果相似,其发生的机制可能与 OPN 在血清和尿液的转化过程相关,具体机制需进一步深入研究。

一项对 336 例尿路结石患者的调查显示,上尿路结石中男性患者数量明显高于女性,而下尿路结石患者均为男性^[11]。我们认为这可能是由于男女的尿路解剖结构、激素水平均不相同,所以男性与

女性结石发病率存在性别差异。但目前关于性别与 OPN 表达的关系方面的研究还存在分歧。顾方乐等^[12]研究发现高浓度孕酮能显著上调人子宫内膜细胞 OPN mRNA 的表达,说明孕激素可以促进 OPN 的表达。而汤天永^[13]用乙二醇喂灌大鼠建立 CaOx 结石模型,继而检测大鼠肾组织中的 OPN 后发现雄性大鼠肾组织中的 OPN 表达水平高于雌性大鼠,说明雄激素可能导致 OPN 表达升高。广西地区既往的研究表明,OPN 基因及等位基因频率男女组间比较差异无统计学意义,说明此位点基因型分布与性别无关^[14]。本研究发现结石组男性与女性的血清 OPN 水平分别为(9.226 ± 1.654) ng/mL 和(9.661 ± 1.972) ng/mL,二者比较差异无统计学意义;对照组的男性与女性的血清 OPN 水平分别为(11.094 ± 1.571) ng/mL 和(11.047 ± 2.077) ng/mL,二者比较差异无统计学意义,提示血清 OPN 水平在桂西地区壮族人群 CaOx 结石患者和正常对照组的男性与女性之间无明显差异,说明该地区人群血清 OPN 水平与性别无关。但是结石组男性血清 OPN 浓度明显低于对照组男性血清 OPN 浓度,结石组女性血清 OPN 浓度低于对照组女性血清 OPN 浓度,提示在该地区男性和女性人群中血清 OPN 均能抑制 CaOx 结石的形成。有研究发现 CaOx 结石可能源于 CA. AP 的异质成核,随后发展为病理性结石^[15]。因此,笔者推测由于 CA. AP 晶体常常混合于 CaOx 结石内,成为 CaOx 结石的核心,然后逐渐形成混合性结石。另外近年来研究发现在 CA. AP 培养

基中培养的人骨髓细胞, OPN 呈高水平表达^[16], 而且高磷水平可以促进 OPN 的表达^[17]。由此可见, 尽管混合结石成分中 CA、AP 含量较少, 其仍然能上调 OPN 表达, 升高血清 OPN 浓度, 从而混合 CaOx 患者与对照组的血清 OPN 浓度差异无统计学意义, 而混合 CaOx 患者血清 OPN 浓度高于纯 CaOx 患者, 因此, 混合结石组中血清 OPN 浓度升高抑制了结石的形成, 使混合结石的发生率低于纯 CaOx, 这与本研究中混合 CaOx 结石(22%) 占比较纯 CaOx 结石(78%) 更低相吻合。

综上所述, 在桂西地区壮族人群中, 血清 OPN 可能抑制上尿路 CaOx 结石的形成, 这种抑制作用与性别之间无相关性, 但在同性别人群中, 上调血清 OPN 水平可抑制 CaOx 结石的形成; 纯 CaOx 结石内混合 CA、AP 可能使血清 OPN 水平升高。

[参考文献]

- 1 Liu Y, Chen Y, Liao B, et al. Epidemiology of urolithiasis in Asia[J]. *Asian J Urol*, 2018, 5(4): 205-214.
- 2 赵明, 易虎. 骨桥蛋白对大鼠发生草酸钙肾脏结石的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38(4): 926-927.
- 3 闫晓煜, 黄志红, 孟胜兰, 等. 尿液中 THP、OPN 与泌尿系结石的相关性研究[J]. *检验医学与临床*, 2018, 15(16): 2377-2378, 2382.
- 4 肖观称. 骨桥蛋白基因多态性与特发性草酸钙结石的相关性研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2014.
- 5 陈善萍, 韦宝斌, 郭钊, 等. 广西壮族人群骨桥蛋白基因位点 rs4754 多态性研究[J]. *右江民族医学院学报*, 2017, 39(1): 6-9.
- 6 Langdon A, Grohe B. Osteopontin-controlled switching of calcium oxalate monohydrate morphologies in artificial urine provides insights into the formation of papillary kidney stones[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2016, 146: 296-306.
- 7 Caballero D, Li Y, Ponsetto J, et al. Impaired urinary osteopontin excretion in Npt2a^{-/-} mice[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2017, 312(1): F77-F83.
- 8 Okada A, Nomura S, Saeki Y, et al. Morphological conversion of calcium oxalate crystals into stones is regulated by osteopontin in mouse kidney[J]. *J Bone Miner Res*, 2008, 23(10): 1629-1637.
- 9 Nishio S, Hatanaka M, Takeda H, et al. Calcium phosphate crystal-associated proteins: alpha-2-HS-glycoprotein, prothrombin fragment 1 and osteopontin[J]. *Int J Urol*, 2001, 8(8): S58-S62.
- 10 Kamalov A A, Okhobotov D A, Nizov A N. Changes in the concentration of urolithiasis markers depending on stone-forming activity in patients with recurrent urolithiasis[J]. *Urologiia*, 2018, (1): 15-19.
- 11 邓华, 杨义, 陆丽兰, 等. 结石类型与年龄、性别的相关性研究[J]. *临床泌尿外科杂志*, 2018, 33(12): 968-971.
- 12 顾方乐, 卢丹, 汪萍, 等. 孕激素对子宫内膜腺癌细胞 RL95-2 中骨桥蛋白表达的影响[J]. *生殖医学杂志*, 2016, 25(3): 253-257.
- 13 汤天永. 大鼠草酸钙结石的性别差异及其与骨桥蛋白的相关性研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2016.
- 14 韦贵将, 梁丽娜, 罗桂飞, 等. 广西壮族人群骨桥蛋白基因的单核苷酸多态性研究[J]. *重庆医学*, 2015, 44(33): 4677-4679.
- 15 He Z, Jing Z, Jing-Cun Z, et al. Compositional analysis of various layers of upper urinary tract stones by infrared spectroscopy[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(4): 3165-3169.
- 16 Nagai H, Kobayashi-Fujioka M, Fujisawa K, et al. Effects of low crystalline carbonate apatite on proliferation and osteoblastic differentiation of human bone marrow cells[J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2015, 26(2): 99.
- 17 廖云鹏, 何芳, 江芬, 等. 环氧化酶-2 与骨形态发生蛋白 9 诱导血管平滑肌钙化的关系研究[J]. *中国药理学通报*, 2018, 34(8): 1066-1072.

(收稿日期: 2019-06-05)