

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.16.005

## 尿液中 THP、OPN 与泌尿系结石的相关性研究\*

闫晓煜<sup>1</sup>, 黄志红<sup>2</sup>, 孟胜兰<sup>2</sup>, 肖创清<sup>2△</sup>

(1. 湖南师范大学第一附属医院检验科, 长沙 410000; 2. 中国人民解放军第一六三医院检验科, 长沙 410003)

**摘要:**目的 探讨尿液中塔-霍粘蛋白(THP)及骨桥蛋白(OPN)水平与泌尿系结石的相关性。方法 收集 2017 年 1—6 月于湖南师范大学第一附属医院确诊为泌尿系结石患者和健康无结石者的清晨空腹尿标本各 65 例, 将其分为结石组和对照组。留取清晨空腹尿 10 mL, 采用酶联免疫分析试验测定 THP、OPN 值, 并对结果进行比较分析。结果 结石组患者尿液中 THP 水平为  $(26.01 \pm 4.65) \text{ mg/L}$ , OPN 水平为  $(170.59 \pm 27.32) \mu\text{g/mL}$ , 均显著低于对照组的  $(29.41 \pm 2.42) \text{ mg/L}$ 、 $(192.70 \pm 16.44) \mu\text{g/mL}$ , 两组差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 经 Pearson 相关性分析, THP 与 OPN 在尿液中的表达呈正相关 ( $r = 0.254, P < 0.05$ ); Logistic 回归分析得出, 尿液中 THP、OPN 升高为泌尿系结石发生的危险因素 ( $P < 0.05$ )。结论 泌尿系结石患者尿液中 THP、OPN 与健康人群存在明显差异, 二者代谢水平异常与泌尿结石的形成存在相关性。

**关键词:** 泌尿系结石; 塔-霍粘蛋白; 骨桥蛋白

中图法分类号: R446

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2018)16-2377-03

## Correlation study between THP, OPN and urinary calculi\*

YAN Xiaoyu<sup>1</sup>, HUANG Zhihong<sup>2</sup>, MENG Shenglan<sup>2</sup>, XIAO Chuangqing<sup>2△</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital of Hunan Normal University, Changsha, Hunan 410000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, The 163th Hospital of People's Liberation Army, Changsha, Hunan 410003, China)

**Abstract:** **Objective** To explore the correlation between urinary calculi and two protein makers Tamm-Harsefall protein (THP) and osteopontin (OPN). **Methods** Totally 65 cases of morning fasting urine specimens were collected from January 2017 to June 2017 at the First Affiliated Hospital of Hunan Normal University were divided into stone group and 65 healthy people were selected as control group. Urinary calculi and healthy people were collected 10 mL of fasting urine each in the morning, testing THP and OPN value with the method of enzyme-linked immunoassay (ELISA), then analyzed the results respectively. **Results** The concentration of THP in the urine of urolithiasis patients was  $(26.01 \pm 4.65) \text{ mg/L}$  and the concentration of OPN was  $(170.59 \pm 27.32) \mu\text{g/mL}$ , which were lower than control group  $(29.41 \pm 2.42) \text{ mg/L}$ ,  $(192.70 \pm 16.44) \mu\text{g/mL}$ , the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Through Pearson correlation analysis, there was a positive correlation between THP and OPN expression in urine ( $r = 0.254, P < 0.05$ ). Logistic regression analysis showed that THP and OPN in the urine were risk factors for urinary calculi. **Conclusion** The concentration of THP and OPN in urine of urinary calculi patients are significantly different from those of healthy people, and defective expression of THP and OPN in urine have association with urinary calculi.

**Key words:** urinary calculi; Tamm-Harsefall protein; osteopontin

泌尿系结石是泌尿外科最常见的疾病之一。有研究显示, 我国泌尿系结石的发病率为 1.2% ~ 6.0%, 南方地区甚至更高, 并呈逐年增加趋势<sup>[1]</sup>。随着医疗技术的发展, 临床对泌尿系结石的治疗有了长足的进步, 但复发率较高<sup>[2]</sup>。因此, 深入研究泌尿系结石的发病机制, 对于该疾病的早期诊断及预防具有重要临床意义。塔-霍粘蛋白(THP)由亨利氏襻合成, 可通过糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚附着于细胞膜表

面, 每天分泌到尿液中的量约 50~100 mg, 是尿液中浓度最为丰富的蛋白。国外相关体外试验结果证明, THP 对于晶体的聚集具有较强的抑制作用, 并指出 THP 的缺乏是人类尿石症产生与发展的重要环节<sup>[3]</sup>。骨桥蛋白(OPN)是一种多组织分泌型磷酸化多功能糖蛋白, OPN 能够通过其特殊结构与钙离子结合进而抑制尿路结石的形成, 同时能参与细胞迁移扰乱草酸钙晶体的形成进程。最新研究发现, OPN

\* 基金项目: 湖南省教育厅科学研究项目(16C0962)。

作者简介: 闫晓煜, 男, 技师, 主要从事医学检验方面的研究。△ 通信作者, E-mail: xcq163jyk@sina.com。

在结石患者肾脏组织中的表达明显增高,提示 OPN 与泌尿系结石密切相关<sup>[4]</sup>。本研究旨在对泌尿系结石患者及健康人群的尿液中 THP 及 OPN 水平进行比较,分析其差异,并探讨二者与泌尿系结石的相关性,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2017 年 1—6 月于湖南师范大学第一附属医院确诊为泌尿系结石患者和健康无结石者的清晨空腹尿标本各 65 例,将其分为两组,结石组男 39 例,女 26 例;平均年龄(45.8±13.9)岁。对照组男 35 例,女 30 例,平均年龄(44.3±16.8)岁,无泌尿系结石既往史及家族史。两组研究对象的年龄、性别构成等一般资料比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。

1.2 方法 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)进行检测,人 OPN ELISA 试剂盒及人 THP 的 ELISA 检测试剂盒均购自上海西唐生物科技有限公司。分别设空白孔(不加样品及酶标试剂)、待测样品孔,按试剂说明书步骤操作;比色时以空白孔调零,依序测量 450 nm 波长各孔的光密度(OD)值(15 min 内完成);以标准品测定结果生成标准曲线及相关函数;根据样品 OD 值计算相应水平,再乘以稀释倍数即可得到原样本中 THP、OPN 水平。比较两组间 THP 和 OPN 差异。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行分析,计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,组间比较采用  $t$  检验;二者关系运用 Pearson 相关性分析,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组尿液 THP、OPN 水平比较 结石组患者测得尿液中 THP 水平为(26.01±4.65)mg/L,OPN 水平为(170.59±27.32)μg/mL,均显著低于对照组的(29.41±2.42)mg/L,(192.70±16.44)μg/mL,两组比较,差异均有统计学意义( $t=5.24,6.18,P<0.05$ )。

2.2 尿液中 THP 与 OPN 相关性分析 Pearson 相关性分析显示,结果显示尿液 THP 水平与 OPN 呈正相关( $r=0.254,P<0.05$ )。

2.3 Logistic 回归分析 运用 Logistic 回归分析构建统计学模型,进一步深入分析尿液中 THP、OPN 对泌尿系结石的影响,结果 THP、OPN 升高是患泌尿系结石的危险因素( $P<0.05$ )。见表 1。

表 1 Logistic 回归分析结果

| 变量  | $\beta$ | S. E. | Wald $\chi^2$ | P      | OR    |
|-----|---------|-------|---------------|--------|-------|
| THP | -0.216  | 0.064 | 11.3          | 0.001  | 0.806 |
| OPN | -0.047  | 0.012 | 16.3          | <0.001 | 0.954 |

3 讨 论

中国泌尿外科疾病诊断治疗指南(2014 版)指出,

我国泌尿系结石的结石成分主要有草酸钙、磷酸钙、磷酸铵镁、尿酸及胱氨酸结石,其中草酸钙类结石占泌尿系结石的比例高达 86.7%,磷酸钙类结石占 5%<sup>[5]</sup>。目前,泌尿系结石的致病分子机制仍不清楚,通过检测人体内结石相关代谢物来对泌尿系结石发病进行评估,是预防泌尿结石发生的重要措施之一。

尿液中含有大量结石形成的抑制物,THP 是一种相对分子质量为 85 kDa 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。THP 本质上与尿调节素相同,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<sup>[6]</sup>。THP 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。研究表明,THP 通常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,THP 会发生聚合,导致黏度大幅增加,而活性下降,转化成促进草酸钙晶体生长聚集的强活性剂<sup>[7]</sup>。国外相关体外试验结果证明,THP 对晶体的聚集具有强的抑制作用,并指出 THP 的缺乏是人类尿石症产生与发展的重要环节<sup>[8]</sup>。另外有关文献报道,钙离子的介导作用与 THP 的抑制活性有一定相关性,当晶体与 THP 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<sup>[9]</sup>。

OPN 是一种富含唾液酸的磷酸化非胶原性骨基质糖蛋白,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向二水草酸钙转化,从而减少草酸钙结晶在肾小管表面的黏附与沉积<sup>[10-11]</sup>。LANGDON 等<sup>[12]</sup>发现,只有磷酸化的 OPN 才能抑制一水草酸钙晶体的生长,而非磷酸化的 OPN 片段随浓度增长反而促进含钙晶体成核。因此,OPN 水平是机体抑制结石形成能力的重要指标,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。本研究通过检测发现,泌尿系结石患者尿液中 THP、OPN 的表达明显低于对照组,表明其表达与结石的形成有关,二者的表达异常可作为泌尿系结石相关的生化指标。经 Pearson 分析发现,THP 与 OPN 具有一定相关性( $r=0.254,P<0.05$ ),尽管有研究表明,THP、OPN 与含钙结石晶体的形成有关<sup>[10]</sup>,但其具体机制尚未完全清楚,且 THP 对结石的形成究竟是抑制还是促进作用,在不同的研究结果中仍存在争议,还需进一步对分子机制进行大量研究。

综上所述,尿液中 THP 与 OPN 的表达水平与结石存在相关性,但还需进行大样本的收集,结合精准测序分析等方法,对 THP 及 OPN 与泌尿系结石的相关性进一步量化,可为二者作为泌尿系结石的标志物提供更科学可靠的依据。(下转第 2382 页)

3:7 染色 10 min 在时间上更有优势,最佳染色条件受其所在实验室条件所制约,因为染色效果会受染液、缓冲液质量和染色用水等因素的影响,而该研究中只需冲片时才用到水,为本实验室制备的普通去离子水即可,此方法与唐琼华等<sup>[13]</sup>的改良方法相似,均将溶血与染色合为一步完成相同,不同之处为本研究方法采用的染液是姬姆萨染液,易于购买,适合于类似本实验室中的常规条件的其他血液寄生虫的检查,易于标准化,重复性与稳定性的高,可操作性强。

综上所述,不同直径和用量对厚血膜的制作效果有一定的影响,研究结果显示,用量为 4.6 μL、直径为 1.0 cm 制作的血膜效果为最佳;染液和缓冲液按 1:9 稀释染色 30 min、染液和稀释液按 3:7 稀释染色 10 min 均能达到理想的染色效果,试验中染液和缓冲液配制后避光 2 h 内用完。

参考文献

[1] 卢愈新,覃丕恩,潘茂华.等.疟疾快速诊断试剂卡与镜检及乳酸脱氢酶检验结果比较观察[J].中国医药科学,2017,7(16):7-9.

[2] 张娟胜,张弟强,王璋,等.疟原虫薄血膜图像自动检测技术研究进展[J].中国血吸虫病防治杂志,2017,29(3):388-392.

[3] 吴忠道.临床寄生虫学检验[M].北京:中国医药科技出

版社,2004:158.

[4] 沈继龙,张进顺.临床寄生虫学检验[M].4 版.北京:人民卫生出版社,2015:129.

[5] 郑挺,李进,周思.两种染色方法疟原虫镜检效果比较[J].安徽预防医学杂志,2012,18(6):479-480.

[6] 陆炜高,韦登球,张宇.疟原虫厚血膜改良染色法的诊断效果[J].检验医学与临床,2017,14(1):128-129.

[7] 徐华么.改良厚血膜疟原虫染色法[J].中国寄生虫学与寄生虫病杂志,1999,17(4):31.

[8] 许文荣,王建中.临床血液学检验[M].5 版.北京:人民卫生出版社,2012:39-45.

[9] 安兴贵,马元芹,张林林.泰安市岱岳区 2008—2016 年输入性疟疾流行病学分析[J].中国寄生虫学与寄生虫病杂志,2017,35(4):415-416.

[10] 刘成玉,罗春丽.临床检验基础[M].5 版.北京:人民卫生出版社,2014:15-16.

[11] 赖专华,杨海峰,武永平,等.吉氏染色法对疟原虫染色效果影响因素分析[J].海峡预防医学杂志,2014,20(6):49-50.

[12] 严彩娟.桂林市 2008—2013 年输入性疟疾流行病学分析[J].中国热带医学,2014,14(7):871-872.

[13] 唐琼华,何伟业.疟原虫厚血膜染色方法的改良[J].医学信息,2014,15(34):251.

(收稿日期:2017-12-20 修回日期:2018-02-14)

(上接第 2378 页)

参考文献

[1] 曾国华,麦赞林,夏术阶,等.中国成年人群尿石症患病率横断面调查[J].中华泌尿外科杂志,2015,36(7):528-532.

[2] 王辉,张力,郝宗耀,等.尿石病相关风险因素的研究现状[J].现代泌尿外科杂志,2016,21(10):814-816.

[3] BAUMANN J M, AFFOLTER B. From crystalluria to kidney stones, some physicochemical aspects of Calcium nephrolithiasis[J]. World J Nephrol, 2014, 3(4): 256-267.

[4] 吴敬彰,赵津津,张占五,等. TRPV5 和 OPN 在泌尿系结石患者肾组织中的表达及意义[J].广东医学,2016,37(20):3101-3104.

[5] 那彦群,叶章群,孙颖浩,等.中国泌尿外科疾病诊断治疗指南[M].北京:人民卫生出版社,2014:130-135.

[6] LEIHERER A, MUENDLEIN A, SAELY C H, et al. The value of uromodulin as a new serum marker to predict decline in renal function[J]. J Hypertens, 2018, 36(1): 110-118.

[7] LIU Y, MO L, GOLDFARB D S, et al. Progressive renal papillary calcification and ureteral stone formation in mice deficient for Tamm-Horsfall protein[J]. Am J Physiol Re-

nal Physiol, 2010, 299(3): F469-F478.

[8] 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.

[9] 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 Physiol, 2014, 306(11): F1285-F1295.

[10] 张杰,湛卫,袁继行,等.草酸钠结晶肾损伤肾小管上皮细胞中骨桥蛋白相关长链非编码 RNA 的差异表达[J].第二军医大学学报,2017,38(5):616-620.

[11] 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: 315043.

[12] 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 microcopy[J]. Calcif Tissue Int, 2009, 84(3): 240-248.

(收稿日期:2017-11-30 修回日期:2018-02-24)