

论著·临床研究

尿液中蛋白结合毒素水平与上尿路结石的相关性研究

王文姬¹, 钟开义², 李椒纶¹, 周悦玲¹, 黄涛¹, 段丽珠¹, 沈毓琪¹, 李雪竹¹, 丁峰¹, 谢丹庶¹

1. 上海交通大学医学院附属第九人民医院肾脏内科, 上海 200011; 2. 海南西部中心医院肾脏内科, 儋州 571700

[摘要] **目的**·探讨尿液中蛋白结合毒素 (protein-bound uremic toxin, PBUT) 水平与上尿路结石形成的关系。**方法**·以海南省儋州市海头镇社区 18~80 岁居民为研究对象。记录研究对象基本信息 and 近 3 d 饮食情况, 收集空腹血清和 24 h 尿液标本, 所有对象接受肾脏和输尿管 B 超检查。将 B 超检查发现有上尿路结石或有明确上尿路结石病史的对象作为结石组, 其他作为非结石组。检测血、尿中结石形成相关的生化指标, 通过高效液相色谱检测血、尿中的 PBUT (硫酸吲哚酚、3-吲哚乙酸和硫酸对甲酚), 以及尿草酸和尿枸橼酸水平。通过多因素 Logistic 回归分析上尿路结石形成的相关因素。采用 Spearman 相关性检验分析尿 PBUT 与尿尿酸、草酸和枸橼酸的相关性。**结果**·经筛选, 共纳入 117 例研究对象, 其中结石组 54 例, 非结石组 63 例。2 组的性别、年龄、血清指标, 以及高血压、糖尿病、高尿酸血症/痛风等合并症比例方面差异均无统计学意义。结石组的 24 h 尿液 pH 值、钙、尿酸和氯均显著高于非结石组 (均 $P < 0.05$), 而硫酸吲哚酚显著低于非结石组 ($P < 0.05$)。多因素 Logistic 回归分析结果显示, 除尿钙外, 尿硫酸吲哚酚水平 ($OR = 0.929$, 95% CI 0.875~0.986, $P = 0.016$) 也是上尿路结石形成的独立相关因素。Spearman 相关性分析结果显示, 24 h 尿液中 3-吲哚乙酸 ($r = 0.420$, $P = 0.000$) 和硫酸对甲酚 ($r = 0.307$, $P = 0.001$) 水平均与草酸呈正相关, 硫酸对甲酚水平与尿酸呈正相关 ($r = 0.297$, $P = 0.002$), 硫酸吲哚酚水平与枸橼酸呈正相关 ($r = 0.289$, $P = 0.002$)。**结论**·在该研究人群中, 尿硫酸吲哚酚水平降低可能是上尿路结石形成的独立危险因素, 且尿液中 PBUT 水平与尿酸、草酸、枸橼酸的水平相关。

[关键词] 蛋白结合毒素; 上尿路结石; 肾小管分泌; 硫酸吲哚酚; 3-吲哚乙酸; 硫酸对甲酚

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2024.05.007 **[中图分类号]** R692.4 **[文献标志码]** A

Association between urinary excretion of protein-bound uremic toxins and upper urinary tract calculus

WANG Wenji¹, ZHONG Kaiyi², LI Jiaolun¹, ZHOU Yueling¹, HUANG Tao¹, DUAN Lizhu¹, SHEN Yuqi¹, LI Xuezhu¹, DING Feng¹, XIE Danshu¹

1. Department of Nephrology, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200011, China; 2. Department of Nephrology, Hainan West Central Hospital, Danzhou 571700, China

[Abstract] **Objective**·To investigate the relation between urinary excretion of protein-bound uremic toxins (PBUTs) and upper urinary tract calculus. **Methods**·Residents aged 18–80 years in the community of Haitou, Danzhou city in Hainan Province were recruited. Basic information and diet for the last 3 d of the subjects were recorded. Their fasting sera and 24-hour urine samples were collected, and they also underwent ultrasound examination of kidneys and ureters. The subjects with upper urinary calculi detected by ultrasound or a clear history of upper urinary calculi were selected as the calculus group, and the others as the non-calculus group. The biochemical indicators related to the formation of calculus in blood and urine were detected, and the levels of PBUTs, including indoxyl sulfate (IS), indole-3-acetic acid (IAA), and *p*-cresol sulfate (PCS) in blood and urine, as well as oxalic acid and citric acid in urine were detected by high-performance liquid chromatography. The related factors of upper urinary tract calculus formation were analyzed by multivariate Logistic regression. The correlations of urine PBUTs with urine uric acid, oxalic acid, and citric acid were analyzed by Spearman correlation test. **Results**·A total of 117 participants were screened out with 54 people in the calculus group and 63 people in the non-calculus group. There were no significant differences between the two groups in terms of gender, age, serum indicators, and prevalence of complications such as hypertension, diabetes, and hyperuricemia/gout. The 24-hour

[基金项目] 上海市卫生健康委员会科研项目 (202040435, 20194Y0086); 上海交通大学医学院附属第九人民医院临床研究助力计划 (JYLJ202218); 上海交通大学医学院附属第九人民医院生物样本库专项基金 (YBKB202115)。

[作者简介] 王文姬 (1980—), 女, 主治医师, 博士; 电子邮箱: codein2004@126.com。

[通信作者] 谢丹庶, 电子邮箱: melody_hp@163.com。

[Funding Information] Project of Shanghai Municipal Health Commission (202040435, 20194Y0086); Clinical Research Program of Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine (JYLJ202218); Project of Biobank from Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine (YBKB202115)。

[Corresponding Author] XIE Danshu, E-mail: melody_hp@163.com。

urine pH, calcium, uric acid, and chlorine in the calculus group were significantly higher than those in the non-calculus group (all $P < 0.05$), while IS was significantly lower than that in the non-calculus group ($P < 0.05$). Multivariate Logistic regression analysis showed that urinary IS ($OR = 0.929$, 95% CI 0.875–0.986, $P = 0.016$) was related to the calculus formation independently, in addition to urinary calcium. The Spearman correlation analysis results showed that the levels of IAA ($r = 0.420$, $P = 0.000$) and PCS ($r = 0.307$, $P = 0.001$) in 24-hour urine were positively correlated with oxalic acid, PCS was positively correlated with uric acid ($r = 0.297$, $P = 0.002$), and IS was positively correlated with citric acid ($r = 0.289$, $P = 0.002$). **Conclusion** In the population, a decrease in urinary excretion of IS may be an independent risk factor for the formation of upper urinary tract calculus, and PBUTs levels are correlated with levels of uric acid, oxalic acid, and citric acid.

[Key words] protein-bound uremic toxin (PBUT); upper urinary tract calculus; renal tubular secretion; indoxyl sulfate (IS); indole-3-acetic acid (IAA); *p*-cresol sulfate (PCS)

上尿路结石 (upper urinary tract calculus) 严重影响公众身体健康和生活质量, 具有较高的患病率和复发率, 且在世界范围内患病率呈逐年上升趋势, 预计到2050年患病率可达到30%^[1-2]。横断面研究^[3]显示, 我国成人上尿路结石患病率男性约为6.5%, 女性约为5.1%, 其中南方地区是该疾病的高发区域。探索上尿路结石形成机制对于寻找新的治疗策略具有重要意义。

上尿路结石的发生受多种因素的影响, 其形成过程从尿液过饱和、结晶到结石^[4]; 尿液中多种与结石形成相关的因子, 如钙、磷、尿酸、草酸、枸橼酸和镁等^[5], 相互作用决定了结石的形成及组成成分。因此, 尿液的成分在上尿路结石的形成中起着核心作用。肾小管是体内许多药物、毒素及代谢产物分泌排泄的重要部位^[6], 许多影响结石形成的尿液成分也是由肾小管上皮细胞的各种转运体完成。既往研究^[7-8]表明, 肾小管上皮细胞顶端的溶质相关载体26基因家族6号蛋白 (solute carrier family 26 member 6, SLC26A6)、钠-二羧酸共转运体 (Na-dicarboxylate cotransporter 1, NaDC-1) 和有机阴离子转运体1 (organic anion transporter 1, OAT1)、OAT3参与了肾小管分泌草酸、枸橼酸和尿酸的主要过程且与上尿路结石发生密切相关。

蛋白结合毒素 (protein-bound uremic toxin, PBUT) 是除水溶性毒素和中分子毒素外, 肾功能减退后滞留在体内的第3种尿毒症毒素, 包括酚类 (如对甲酚)、吲哚类 [如硫酸吲哚酚 (indoxyl sulfate, IS)]、多胺 (如精胺)、马尿酸盐、糖基化终产物 (如乙二醛) 和肽类 (如瘦素) 等。PBUT大部分以血浆蛋白 (主要是白蛋白) 结合形式存在于血液循环^[9], 经肾小管上皮细胞上的OAT转运分泌入尿液后排出。因此, 肾小管上皮细胞上的溶质转运体功能或数量改变可能同时影响上尿路结石患者某些尿溶质

(如尿酸、草酸等)^[10] 和PBUT的经肾分泌排泄, 提示尿溶质和PBUT在尿液中的水平可能存在相关性。然而, 目前未发现关于尿PBUT水平与上尿路结石患者尿液各成分及结石形成风险的相关性研究。

因此, 本研究拟通过纳入上尿路结石发病率较高的热带地区人群, 观察结石患者肾小管分泌PBUT与尿液中尿酸、草酸、枸橼酸的相关性, 探究PBUT分泌与上尿路结石形成之间可能存在的联系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

本研究招募对象为海南省儋州市海头镇社区常住成年居民。研究对象纳入标准: ① 18~80岁。② 完成肾脏和输尿管B超检查。③ 24 h尿液采集符合标准^[11] (24 h尿肌酐总量: 女性 ≥ 5.3 mmol, 男性 ≥ 7.1 mmol)。排除标准: ① 3个月内曾诊断为急性肾损伤。② 伴有急性腹泻或严重感染性疾病。③ 伴有甲状旁腺功能亢进。④ 伴有未治愈的恶性肿瘤。⑤ 2个月内发生过急性心脑血管疾病。⑥ 伴有肝功能异常 (谷丙转氨酶或谷草转氨酶水平超过正常上限的3倍)。⑦ 处于腹膜透析、血液透析治疗阶段或有肾移植史。⑧ 伴有严重的精神疾病。⑨ 不能配合病史询问或无法完成问卷调查。⑩ 妊娠期或哺乳期妇女。⑪ 正在使用可能改变体内代谢、肾小管分泌功能的药物或保健品, 如排石药物、钙剂、镁剂、枸橼酸制剂、利尿剂、钠-葡萄糖协同转运体2 (sodium-glucose cotransporter 2, SGLT2) 抑制剂、维生素D、维生素C (≥ 4 g/d)、鱼肝油等。

1.2 信息采集与生物学标本采集

采用自制调查问卷对研究对象进行一般人口学特征调查、病史采集和膳食调查。人口统计学资料包括

性别、年龄、家庭住址。既往病史包括上尿路结石相关病史、上尿路结石家族史、其他合并症(肾脏疾病、高血压、糖尿病、高尿酸血症/痛风、心脏疾病、肝脏疾病等)。上尿路结石诊断标准为:通过B超检查发现肾脏集合系统、输尿管内有强光点或强光团回声,其后方伴有垂直声影,或其内有多个回声光带、强回声和声影等,直径 ≥ 3 mm。所有肾脏和输尿管B超检查由2名超声专科医师使用同一型号的B超仪器(便携式彩色超声诊断仪M-Turbo,美国索诺声)独立完成。此外,若研究对象能提供明确上尿路结石病史,此次超声检查即使未发现泌尿系统结石,也诊断为上尿路结石。采用膳食回顾调查表记录研究对象过去3 d的饮食和饮水量,计算得到每日饮水量,以及动物来源和非动物来源食物的质量比。

血清标本来源为外周静脉血。采集时间为开始留取24 h尿液当日空腹状态下。采血后离心,取血清,置于 -80°C 保存。血清标本用于检测血肌酐、尿酸、白蛋白、血糖、钾、钠、氯、钙、磷、镁和PBUT[IS、3-吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)、硫酸对甲酚(*p*-cresol sulfate, PCS)]浓度,采用CKD-EPI(Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration)公式计算估算的肾小球滤过率(estimated glomerular filtration rate, eGFR)。尿液标本来源为24 h尿液。记录24 h尿量并即刻检测尿pH值,离心后取上清液于 -80°C 保存。为提高24 h尿液标本留取质量,留尿前均对研究对象进行标本留取说明。24 h尿液标本用于检测尿肌酐、尿酸、尿素氮、钾、钠、氯、钙、磷、镁、草酸、枸橼酸、尿白蛋白肌酐比(urinary albumin creatinine ratio, UACR)和尿PBUT(IS、IAA、PCS)水平。

1.3 生物学样本检测方法

生化检测项目均送至上海交通大学医学院附属第九人民医院中心实验室检测。尿pH值在尿样收集时即刻采用pH计(PHS-3C,上海Leici)直接测定并记录。尿草酸、尿枸橼酸,以及血清、尿液的PBUT浓度采用Alliance e2695液相色谱仪(美国Waters)通过高效液相色谱检测法测定。IS和IAA的检测条件参考既往报道^[12];PCS的发射/吸收波长为265 nm/290 nm,流动相由75%水溶剂A(含有17 mmol/L的 NaH_2PO_4 和15 mmol/L H_3PO_4)和25%溶剂B(甲醇)组成。草酸和枸橼酸的检测波长为210 nm,流动相为0.025 mol/L的 H_2SO_4 水溶液。

1.4 研究方案

本研究共招募了388名自愿参与的研究对象。其中378名接受了泌尿系统B超检查(包括136例结石患者),将B超检查发现有上尿路结石或有明确上尿路结石病史的患者归为结石组,检查未发现上尿路结石且无结石病史者归为非结石组。在378名研究对象中仅有120名的24 h尿液标本符合标准,其中3名肝功能异常予以排除,故最终117名纳入本研究。研究对象筛选流程详见图1。

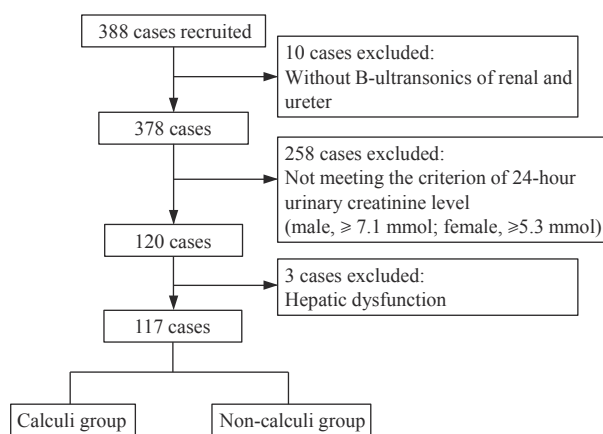


图1 研究对象的筛选流程图

Fig 1 Screen flowchart of subject enrollment

1.5 统计学方法

采用SPSS 26.0软件进行统计分析。定量资料进行正态分布检验:符合正态分布的资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验;非正态分布的资料以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示,组间比较采用Mann-Whitney U 检验。计数资料和等级资料以频数(百分比)表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用单因素和多因素Logistic回归分析尿生化溶质、尿PBUT与上尿路结石形成的关系,采用Spearman相关性检验分析尿尿酸、尿草酸、尿枸橼酸与尿PBUT水平之间的相关性。双侧检验,且 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象一般特征

本研究117名受试者中56.4%(66/117)为男性,平均年龄为 (50.2 ± 13.6) 岁。结石组54例(B超检查发现上尿路结石50例,B超检查未发现上尿路结石但既往病史明确诊断4例),非结石组63例。2组的性别、年龄,以及高血压、糖尿病、高尿酸血症/痛

风等合并症方面差异均无统计学意义 (表1)。纳入研究对象均否认心脏疾病、肝脏疾病和肾脏疾病史，上尿路结石家族史的比例在2组间差异亦无统计学意义。

表1 结石组和非结石组的基本特征比较

Tab 1 Comparison of characteristics on baseline between the populations with and without upper tract urinary calculi

Characteristic	All (n=117)	Calculi group (n=54)	Non-calculi group (n=63)	P value
Male/n(%)	66 (56.4)	35 (64.8)	31 (49.2)	0.090
Age/year	50.21±13.63	51.72±10.33	48.90±15.89	0.267
Hypertension/n(%)	34 (29.1)	18 (33.3)	16 (25.4)	0.346
Diabetes/n(%)	8 (6.8)	5 (9.3)	3 (4.8)	0.337
Hyperuricemia/gout/n(%)	9 (7.7)	6 (11.1)	3 (4.8)	0.254
Family history of upper tract urinary calculi/n(%)	11 (9.4)	5 (9.3)	6 (9.5)	0.781
Daily water intake/L	0.70±0.45	0.63±0.43	0.73±0.47	0.382
Meat to vegetable ratio/(g·g ⁻¹)	0.52±0.18	0.52±0.11	0.53±0.21	0.697

2.2 结石组和非结石组血、尿生化及PBUT比较

结石组和非结石组的血清各项指标，包括PBUT，差异均无统计学意义 (表2)。2组间eGFR和24 h尿量差异亦无统计学意义。结石组24 h尿液

pH值、氯、尿酸和钙水平均显著高于非结石组 (均P<0.05)，而IS水平显著低于非结石组 (P<0.05)，但2组的IAA、PCS、枸橼酸、草酸等水平之间差异均无统计学意义 (表3)。

表2 结石组和非结石组的血清学指标比较

Tab 2 Comparison of serum parameters between the populations with and without upper tract urinary calculi

Serum parameter	All (n=117)	Calculi group (n=54)	Non-calculi group (n=63)	P value
Creatinine/(μmol·L ⁻¹)	68.77±15.21	70.15±13.39	67.59±16.63	0.366
eGFR/[mL·(min·1.73 m ²) ⁻¹]	95.67±17.67	94.11±18.40	97.25±16.94	0.361
Uric acid/(μmol·L ⁻¹)	351.27±96.75	366.37±113.93	338.33±77.79	0.130
Glucose/(mmol·L ⁻¹)	5.52±2.32	5.29±1.13	5.71±3.18	0.318
Albumin/(g·L ⁻¹)	43.22±3.61	43.29±4.12	43.15±3.03	0.838
Potassium/(mmol·L ⁻¹)	4.46±0.68	4.36±0.75	4.56±0.60	0.106
Sodium/(mmol·L ⁻¹)	141.40±1.88	141.69±1.83	141.16±1.91	0.133
Chloride/(mmol·L ⁻¹)	103.49±2.49	103.89±2.83	103.14±2.13	0.107
Calcium/(mmol·L ⁻¹)	2.35±0.09	2.33±0.09	2.36±0.09	0.083
Phosphorus/(mmol·L ⁻¹)	1.26±0.58	1.33±0.85	1.20±0.21	0.290
Magnesium/(mmol·L ⁻¹)	0.90±0.06	0.90±0.06	0.90±0.07	0.803
IS/(μmol·L ⁻¹)	1.40 (0.92, 2.25)	1.40 (1.09, 2.70)	1.40 (0.78, 2.09)	0.306
IAA/(μmol·L ⁻¹)	2.50 (1.91, 3.62)	2.35 (1.81, 3.30)	2.62 (1.94, 3.66)	0.567
PCS/(μmol·L ⁻¹)	5.15 (2.06, 12.06)	5.10 (2.15, 10.05)	5.66 (1.95, 12.13)	0.971

2.3 上尿路结石形成风险因素分析

采用Logistic回归模型筛选上尿路结石形成有关的危险因素。将单因素Logistic分析中P<0.2及以往研究提示上尿路结石形成的可能危险因素纳入多因素回归模型，包括性别、年龄、尿量、饮水量、血钾、血钠、血氯、血钙、血磷、血尿酸、血IS、尿pH、尿钾、尿氯、尿钙、尿酸、尿肌酐、尿IS、尿IAA、

尿PCS、尿草酸和尿枸橼酸。结果发现，在多因素回归模型中，24 h尿钙和尿IS与上尿路结石形成风险独立相关 (R²=0.603)。其中24 h尿钙每升高1 mmol，则上尿路结石形成风险增加1.5倍 (OR=2.568, 95%CI 1.262~5.227, P=0.009)；而24 h尿IS每增加1 mmol可以降低7.1%的上尿路结石形成风险 (OR=0.929, 95%CI 0.875~0.986, P=0.016)。

表3 结石组和非结石组的24 h尿液指标比较

Tab 3 Comparison of 24-hour urinary parameters between the populations with and without upper tract urinary calculi

24-hour urinary parameter	All (n=117)	Calculi group (n=54)	Non-calculi group (n=63)	P value
Urine volume/mL	1 400.7±600.1	1 495.3±736.4	1 321.3±447.7	0.137
pH	6.16 (5.77, 6.54)	6.35 (6.04, 6.66)	6.01 (5.61, 6.40)	0.010
Potassium/mmol	31.90±19.10	34.81±23.94	29.40±13.37	0.127
Sodium/mmol	107.44±53.00	116.03±51.99	100.08±53.15	0.104
Chloride/mmol	115.08±57.43	129.21±62.71	102.97±49.88	0.013
Calcium/mmol	3.49±1.81	3.89±1.81	3.15±1.74	0.027
Phosphorus/mmol	17.43 (12.87, 21.98)	17.41 (12.80, 19.17)	17.51 (11.70, 20.79)	0.870
Magnesium/mmol	2.78±1.29	2.93±1.20	2.64±1.35	0.239
Urea/mmol	229.90 (171.70, 288.10)	240.60 (191.68, 289.51)	217.14 (153.66, 280.62)	0.241
Uric acid/mmol	2 284.7±1 296.8	2 648.6±1 549.0	1 972.9±938.6	0.006
Creatinine/μmol	9 316.4±3 989.1	9 988.9±4 259.4	8 740.1±3 678.5	0.091
UACR/(mg·g ⁻¹)	7.57 (2.67, 12.46)	8.69 (3.93, 16.78)	7.07 (4.52, 10.41)	0.153
IS/μmol	63.20 (18.67, 107.72)	46.56 (35.95, 74.38)	83.39 (32.91, 97.33)	0.040
IAA/μmol	34.65 (20.67, 48.62)	37.32 (22.18, 55.34)	32.90 (26.63, 46.08)	0.754
PCS/μmol	110.78 (71.88, 222.37)	117.58 (63.71, 265.36)	110.78 (78.83, 178.35)	0.593
Oxalic acid/μmol	0.154 (0.129, 0.295)	0.121 (0.149, 0.254)	0.156 (0.123, 0.298)	0.068
Citric acid/μmol	6.001 (3.098, 8.359)	5.443 (3.118, 7.495)	6.120 (3.081, 8.622)	0.743
Urea creatinine ratio	28.63±10.02	27.67±7.93	29.44±11.52	0.344

2.4 尿 PBUT 与尿尿酸、草酸、枸橼酸水平的相关性分析

采用 Spearman 相关性检验分析 24 h 尿液中尿酸、草酸、枸橼酸水平与 3 种 PBUT 水平的相关性。结果显示, PCS 与尿酸呈正相关 ($r=0.297$, $P=0.002$), IAA、PCS 与草酸也均呈正相关 (IAA, $r=0.420$, $P=0.000$; PCS, $r=0.307$, $P=0.001$)。同时, IS 与枸橼酸也呈正相关 ($r=0.289$, $P=0.002$)。

表4 24 h 尿液中 PBUT 与尿酸、草酸、枸橼酸水平的相关性分析
Tab 4 Correlation analysis between excretion levels of PBUTs and uric acid, oxalic acid, and citric acid in 24-hour urine

Urinary solute	IS		IAA		PCS	
	<i>r</i>	<i>P</i> value	<i>r</i>	<i>P</i> value	<i>r</i>	<i>P</i> value
Uric acid	0.031	0.739	0.142	0.234	0.297	0.002
Oxalic acid	0.143	0.123	0.420	0.000	0.307	0.001
Citric acid	0.289	0.002	0.221	0.062	0.188	0.050

3 讨论

本研究探讨了上尿路结石患者的 PBUT 经肾脏分泌排泄的特点, 并且发现除尿钙外, 尿 IS 水平也与上尿路结石的形成独立相关。同时, 尿 PBUT 与尿酸、草酸、枸橼酸水平均存在一定的相关性, 提示

PBUT 作为肾小管分泌功能的标志物可能与尿路结石的形成有关。

本研究对象人群的上尿路结石患病率为 36.0% (136/378), 高于我国及其他国家报道的上尿路结石患病率。2010 年, 一篇系统综述^[13]报道, 美国、意大利、西班牙、土耳其的肾结石患病率为 1.7%~14.8%, 并且呈上升趋势。近期的横断面研究^[3]和综述^[14]报道我国肾结石的患病率为 5.80%~7.54%, 而我国南方地区 (如广东省) 的肾结石患病率则明显高于我国平均水平, 达 15.86%~17.84%^[11]。PARK 等^[15]的研究表明, 环境温度和相对湿度与泌尿系统结石形成相关。在多因素回归模型中, 当环境温度在 18.4 °C 以上时, 温度每升高 1 °C, 泌尿系统结石发生风险增加 1.71% (95%CI 1.02~2.41)。在另一项美国东南地区“结石带”的研究^[16]中也得到类似结果, 当地环境温度与降水量增加均与接受尿路结石外科手术量增加独立相关。因此, 本研究人群的上尿路结石患病率高于我国现有研究报道, 可能与其选自温度和湿度常年较高的热带地区有关。饮食因素也是上尿路结石形成的重要影响因素^[17]。本研究人群每日饮水量平均为 0.70 L, 远低于预防尿路结石的建议饮水量 (2 L 以上)。并且该地区人群日常将井水作为主要饮

用水;通常井水(即地下水)的钙、镁离子含量明显高于城市普通饮用水(自来水),这可能增加该地区人群上尿路结石的发生风险。

值得注意的是,本研究结果显示,IS的肾脏分泌减少与上尿路结石风险增加独立相关,上尿路结石患者表现出较低的尿IS水平。IS与结石形成的相关性可能与肾小管分泌功能有关。许多研究^[18-22]已经证实PBUT是通过肾小管上OAT分泌的。当肾功能减退,肾小管分泌功能受到影响,经尿排泄的PBUT量减少,因而有研究者建议将PBUT的肾脏清除水平作为反映肾小管分泌功能的标志^[23]。本研究结果显示结石患者肾脏分泌IS的能力低于非结石人群,提示肾小管的分泌功能可能与结石的形成有关。另一方面,与非结石组相比,上尿路结石组的24 h尿液中IS浓度显著较低,但IAA和PCS的水平在2组间无明显差异,提示同一种疾病中不同PBUT的分泌水平所受的影响是不同的。尽管大多数类型的PBUT主要通过肾小管上皮细胞转运蛋白分泌,但不同毒素的转运蛋白类型和比例可能不同。

研究^[24-25]表明,草酸钙是常见的结石成分之一,尿草酸排泄量在结石的形成中发挥主要作用。本研究结果显示,尿草酸排泄量与尿IAA和PCS排泄量均存在正相关性,这进一步提示了肾小管分泌功能在尿草酸排泄过程中发挥作用。虽然目前对于草酸排泄机制尚不完全清楚,但既往已有的研究提示血液循环中的草酸主要经肾小管分泌。HOLMES等^[26]发现肾小管分泌功能在口服草酸负荷中起重要作用。在含钙结石形成机制中,肾小管分泌草酸根是介导高草酸尿的主要原因^[27]。进一步研究^[28]发现肾小管上皮细胞顶端表达的SLC26A6对草酸盐的转运至关重要。SLC26家族(SLC26A1、SLC26A6和SLC26A7)也是阴离子转运体家族,具有转运不同阴离子的能力,包括草酸根、氯离子和硫酸根^[29]。泌尿系统结石患者肾组织中SLC26A6表达水平较非结石者更高;转染*Slc26a6*基因的大鼠尿液中草酸水平显著升高,结石发生率也相应升高,用针对*Slc26a6*的小干扰RNA(siRNA)降低其表达后,大鼠尿液中的结晶数量明显减少^[30]。PCS包含硫酸根离子,可能通过与草酸根相似的转运体和草酸根的分泌相互影响^[31]。

尿酸钙也是上尿路结石的主要成分之一,占有上尿路结石的8%~10%^[32]。尿液中尿酸分泌过多导

致尿酸钙结石形成风险增加。引起尿酸钙结石的常见原因包括嘌呤代谢增加以及使用影响肾小管重吸收尿酸的药物^[33-34]。我们的研究表明,上尿路结石组24 h尿酸排泄水平增加,且与尿PCS水平呈正相关,这可能与肾小管上皮细胞中PCS的转运蛋白OAT1和OAT3有关。体外实验和基因敲除大鼠模型实验结果都显示,OAT1和OAT3也是肾小管上皮细胞分泌尿酸根的主要转运体^[35]。由于不同物质经OAT转运存在协同或竞争性结合的特点,尿酸分泌与PCS分泌可能存在相互影响。

此外,既往研究证实尿液中高水平的枸橼酸是减少泌尿道结石形成的保护因素^[36-37]。一项体外研究^[37]结果显示,尿液中的枸橼酸可与尿钙形成可溶性复合物,防止钙磷沉淀,从而减少结石形成。在随机安慰剂对照试验^[38-39]中,口服补充枸橼酸盐可以通过增加尿枸橼酸水平和减少钙化的双重机制,减少混合型结石形成患者的结石复发。本研究队列虽未提示尿枸橼酸与结石发生的相关性,但发现尿IS排泄量和尿枸橼酸排泄量呈较弱的正相关,并且尿液中高水平的IS也是上尿路结石的保护因素。

本研究存在一定的局限性。首先,本研究未获得研究对象的结石标本,不能分析上尿路结石的组成成分,进而无法探讨肾小管分泌PBUT与结石组成成分的关联。其次,本研究样本量有限,且局限在某个结石高发地区,这可能也是在本研究人群中未发现尿酸和草酸水平与结石形成相关性的原因,两者受饮食影响比较明显,而当地人群饮食结构相对稳定、饮食习惯相似,因此需要更大范围及样本量的前瞻性研究来进一步证实结论。

综上所述,本研究发现在本对象人群中,尿液IS排泄增加与上尿路结石发生风险降低独立相关,24 h尿液中IS每增加1 mmol可以降低7.1%的上尿路结石形成风险;尿IAA与尿草酸,尿PCS与尿草酸、尿酸,尿IS与尿枸橼酸的排泄量均呈正相关。我们的研究为进一步探索以尿液中PBUT水平反映肾小管分泌功能,及其与上尿路结石之间的关系提供了依据。

利益冲突声明/Conflict of Interests

所有作者均声明不存在利益冲突。

All authors disclose no relevant conflict of interests.

伦理批准和知情同意/Ethics Approval and Participant Consent

本研究通过上海交通大学医学院附属第九人民医院伦理委员会批准 (No. SH9H-2019-T274-2), 所有研究过程均遵照《赫尔辛基宣言》的条例进行。研究获得所有对象的知情同意。

The study was approved by the Ethics Committee of Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine (No. SH9H-2019-T274-2), and all experimental protocols were carried out by following the guidelines of *Declaration of Helsinki*. Consent letters have been signed by the research participants.

作者贡献/Authors' Contributions

王文姬负责试验方案设计、数据统计和论文撰写, 李椒纶负责高效液相色谱检测, 钟开义、周悦玲、黄涛、段丽珠、沈毓琪参与标本收集、问卷调查和数据登记, 丁峰、谢丹旌指导方案设计, 李雪竹、谢丹旌参与论文修改。所有作者均阅读并同意了最终稿

件的提交。

WANG Wenji designed protocols, analyzed data and drafted manuscript. LI Jiaolun carried out high performance liquid chromatography. ZHONG Kaiyi, ZHOU Yueling, HUANG Tao, DUAN Lizhu and SHEN Yuqi collected samples and questionnaires, and recorded data. DING Feng and XIE Danshu directed project development. LI Xuezhu and XIE Danshu revised manuscript. All the authors have read the last version of paper and consented for submission.

临床试验注册/Trial Registration

本研究已在 clinicaltrials.gov 网站注册 (No. NCT05102279)。

This study was registered on clinicaltrials.gov (No. NCT05102279).

- Received: 2023-10-26
- Accepted: 2024-02-23
- Published online: 2024-05-28

参 · 考 · 文 · 献

- [1] RAMELLO A, VITALE C, MARANGELLA M. Epidemiology of nephrolithiasis[J]. J Nephrol, 2000, 13(Suppl 3): S45-S50.
- [2] KHAN A. Prevalence, pathophysiological mechanisms and factors affecting urolithiasis[J]. Int Urol Nephrol, 2018, 50(5): 799-806.
- [3] ZENG G H, MAI Z L, XIA S J, et al. Prevalence of kidney stones in China: an ultrasonography based cross-sectional study[J]. BJU Int, 2017, 120(1): 109-116.
- [4] RODGERS A L. Physicochemical mechanisms of stone formation[J]. Urolithiasis, 2017, 45(1): 27-32.
- [5] ALPAY H, OZEN A, GOKCE I, et al. Clinical and metabolic features of urolithiasis and microlithiasis in children[J]. Pediatr Nephrol, 2009, 24(11): 2203-2209.
- [6] SIRICH T L, ARONOV P A, PLUMMER N S, et al. Numerous protein-bound solutes are cleared by the kidney with high efficiency[J]. Kidney Int, 2013, 84(3): 585-590.
- [7] ARONSON P S. Role of SLC26A6-mediated Cl⁻-oxalate exchange in renal physiology and pathophysiology[J]. J Nephrol, 2010, 23(Suppl 16): S158-S164.
- [8] PAJOR A M. Molecular properties of the SLC13 family of dicarboxylate and sulfate transporters[J]. Pflugers Arch, 2006, 451(5): 597-605.
- [9] DURANTON F, COHEN G, DE SMET R, et al. Normal and pathologic concentrations of uremic toxins[J]. J Am Soc Nephrol, 2012, 23(7): 1258-1270.
- [10] GANESAN C, PAO A C. Urine oxalate and citrate excretion in patients with kidney stone disease: an *ab initio* clinical prediction[J]. Physiol Rep, 2021, 9(15): e14966.
- [11] MAI Z L, LI X X, CUI Z L, et al. Reference intervals for stone risk factors in 24-h urine among healthy adults of the Han population in China[J]. Clin Chem Lab Med, 2018, 56(4): 642-648.
- [12] SHEN Y, WANG Y F, SHI Y Y, et al. Improving the clearance of protein-bound uremic toxins using cationic liposomes as an adsorbent in dialysate[J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2020, 186: 110725.
- [13] ROMERO V, AKPINAR H, ASSIMOS D G. Kidney stones: a global picture of prevalence, incidence, and associated risk factors[J]. Rev Urol, 2010, 12(2/3): e86-e96.
- [14] WANG W Y, FAN J Y, HUANG G F, et al. Prevalence of kidney stones in mainland China: a systematic review[J]. Sci Rep, 2017, 7: 41630.
- [15] PARK H K, BAE S R, KIM S E, et al. The effect of climate variability on urinary stone attacks: increased incidence associated with temperature over 18 °C: a population-based study[J]. Urolithiasis, 2015, 43(1): 89-94.
- [16] DALLAS K B, CONTI S, LIAO J C, et al. Redefining the stone belt: precipitation is associated with increased risk of urinary stone disease[J]. J Endourol, 2017, 31(11): 1203-1210.
- [17] PREZIOSO D, STRAZZULLO P, LOTTI T, et al. Dietary treatment of urinary risk factors for renal stone formation. A review of CLU Working Group[J]. Arch Ital Urol Androl, 2015, 87(2): 105-120.
- [18] NIGAM S K, BUSH K T, MARTOVETSKY G, et al. The organic anion transporter (OAT) family: a systems biology perspective[J]. Physiol Rev, 2015, 95(1): 83-123.
- [19] DEGUCHI T, KUSUHARA H, TAKADATE A, et al. Characterization of uremic toxin transport by organic anion transporters in the kidney[J]. Kidney Int, 2004, 65(1): 162-174.
- [20] HSUEH C H, YOSHIDA K, ZHAO P, et al. Identification and quantitative assessment of uremic solutes as inhibitors of renal organic anion transporters, OAT1 and OAT3[J]. Mol Pharm, 2016, 13(9): 3130-3140.
- [21] WU W, BUSH K T, NIGAM S K. Key role for the organic anion transporters, OAT1 and OAT3, in the *in vivo* handling of uremic toxins and solutes[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 4939.
- [22] LOWENSTEIN J, GRANTHAM J J. Residual renal function: a paradigm shift[J]. Kidney Int, 2017, 91(3): 561-565.
- [23] WANG K, KESTENBAUM B. Proximal tubular secretory clearance: a neglected partner of kidney function[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2018, 13(8): 1291-1296.
- [24] OGAWA Y, MIYAZATO T, HATANO T. Oxalate and urinary stones[J]. World J Surg, 2000, 24(10): 1154-1159.
- [25] YE Z Q, ZENG G H, YANG H, et al. The status and characteristics of urinary stone composition in China[J]. BJU Int, 2020, 125(6): 801-809.
- [26] HOLMES R P, AMBROSIUS W T, ASSIMOS D G. Dietary oxalate loads and renal oxalate handling[J]. J Urol, 2005, 174(3): 943-947.
- [27] BERGSLAND K J, ZISMAN A L, ASPLIN J R, et al. Evidence for net renal tubule oxalate secretion in patients with calcium kidney stones[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2011, 300(2): F311-F318.
- [28] JIANG Z R, ASPLIN J R, EVAN A P, et al. Calcium oxalate urolithiasis in mice lacking anion transporter Slc26a6[J]. Nat Genet, 2006, 38(4): 474-478.
- [29] OHANA E, SHCHEYNIKOV N, MOE O W, et al. SLC26A6 and



- NaDC-1 transporters interact to regulate oxalate and citrate homeostasis[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2013, 24(10): 1617-1626.
- [30] JIANG H Y, POKHREL G, CHEN Y W, et al. High expression of SLC26A6 in the kidney may contribute to renal calcification via an SLC26A6-dependent mechanism[J]. *PeerJ*, 2018, 6: e5192.
- [31] SAYER J A. Progress in understanding the genetics of calcium-containing nephrolithiasis[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2017, 28(3): 748-759.
- [32] KHAN S R, PEARLE M S, ROBERTSON W G, et al. Kidney stones[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2016, 2: 16008.
- [33] FELLSTRÖM B, DANIELSON B G, KARLSTRÖM B, et al. The influence of a high dietary intake of purine-rich animal protein on urinary urate excretion and supersaturation in renal stone disease[J]. *Clin Sci*, 1983, 64(4): 399-405.
- [34] GRASES F, VILLACAMPA A I, COSTA-BAUZÁ A, et al. Uric acid calculi: types, etiology and mechanisms of formation[J]. *Clin Chim Acta*, 2000, 302(1/2): 89-104.
- [35] ERALY S A, VALLON V, RIEG T, et al. Multiple organic anion transporters contribute to net renal excretion of uric acid[J]. *Physiol Genomics*, 2008, 33(2): 180-192.
- [36] PEERAPEN P, THONGBOONKARD V. Kidney stone prevention[J]. *Adv Nutr*, 2023, 14(3): 555-569.
- [37] PAK C Y C, RODGERS K, POINDEXTER J R, et al. New methods of assessing crystal growth and saturation of brushite in whole urine: effect of pH, calcium and citrate[J]. *J Urol*, 2008, 180(4): 1532-1537.
- [38] BARCELO P, WUHL O, SERVITGE E, et al. Randomized double-blind study of potassium citrate in idiopathic hypocitraturic calcium nephrolithiasis[J]. *J Urol*, 1993, 150(6): 1761-1764.
- [39] DOIZI S, POINDEXTER J R, PEARLE M S, et al. Impact of potassium citrate vs citric acid on urinary stone risk in calcium phosphate stone formers[J]. *J Urol*, 2018, 200(6): 1278-1284.

[本文编辑] 瞿麟平

学术快讯

上海交通大学公共卫生学院钟文泽课题组揭示心血管代谢性疾病可能与食物胆固醇吸收能力的遗传变异有关

上海交通大学公共卫生学院钟文泽课题组于2024年4月9日在内分泌领域顶级期刊 *Diabetes Care* 上发表了一篇题为 *Associations of dietary cholesterol consumption with incident diabetes and cardiovascular disease: the role of genetic variability in cholesterol absorption and disease predisposition* 的论文。该研究利用英国生物银行 (UK Biobank) 数据库, 探索了食物胆固醇摄入和糖尿病、心血管疾病的关系, 重点关注疾病的基因风险以及与胆固醇吸收能力相关的基因风险对于胆固醇摄入和糖尿病、心血管疾病关系的修饰作用。该研究首次从两个角度探索基因风险是否会修饰食物胆固醇摄入与糖尿病、心血管疾病的关系; 结果提示, 疾病相关的基因风险并不会影响食物胆固醇摄入与糖尿病、心血管疾病的关系, 而在高胆固醇吸收者中摄入过多的食物胆固醇可能存在一定风险。但考虑到整体上食物胆固醇的摄入并不会增加心血管疾病的风险, 该结果还需进一步的研究确认。