URAT1 基因在尿酸结石患者肾脏的表达及其临床意义

姚基伟,李前伟,付卫华,郑 霁,鄢俊安,李为兵 (第三军医大学西南医院泌尿外科, 重庆 400038)

[摘 要] **目的** 探讨尿酸结石患者尿酸代谢特征以及肾脏 URAT1 表达改变的意义。**方法** 回顾性分析 2012 年 1 月至 2013 年 10 月我院收治的 24 例结石患者的临床资料,按结石成分分为尿酸结石患者 9 例(A 组)、非尿酸性结石患者 15 例(B 组),另选取 7 例因其他疾病操作而取材做 mRNA 测定的患者为 C 组,10 例健康体检者为 D 组(仅用作收集其血尿酸检验结果以及 24 h 尿液标本)。采集各组参与者一般临床资料以及血液、24 h 尿液的尿酸代谢相关指标结果,并应用 Real-time PCR 技术检测其肾脏 URAT1 表达情况,所得数据进行组间统计分析比较。**结果** A 组患者血尿酸水平、体重指数、年龄显著高于 B 组及 C 组($P<0.05$),而尿 PH 值显著降低。24 h 尿量及尿酸定量分析各组间无明显差异($P>0.05$)。Real-time PCR 实验结果提示尿酸结石患者肾脏 URAT1 表达较其他组显著增高($P<0.05$)。**结论** 尿酸结石患者与高尿酸血症密切相关,而肾脏尿酸排泄无明显改变, URAT1 在肾脏高表达可能是这一临床特征的重要分子机制。

[关键词] 尿酸盐阴离子交换器; 尿酸; 肾结石

[中图分类号] R692.4 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2015)05-0484-03

Expression and clinical significance of URAT1 in renal tissue of patients with uric acid nephrolithiasis

YAO Ji-wei, LI Qian-wei, FU Wei-hua, ZHEN Ji, YAN Jun-an, LI Wei-bing (Center of Urology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the metabolic profile of uric acid and the significance of the altered renal expression of urate transporter 1 (URAT1) in patients with uric acid nephrolithiasis. **Methods** The data of 24 patients in our hospital from January 2012 to October 2013 were analyzed retrospectively. Participants in the research were divided into three groups: patients with uric acid nephrolithiasis, other patients with nephrolithiasis and normal participants. The basic clinical data and the related data of uric acid metabolition of participants were collected, URAT1 gene expression in renal tissures of three groups was detected by Real-time PCR technique. All data were statistically analyzed and compared between these groups. **Results** Uric acid levels in plasma, body mass index and age were significantly higher in patients with uric acid nephrolithiasis than other two groups ($P<0.05$), but urine PH value was significantly reduced in patients with uric acid nephrolithiasis. Urine and uric acid output of 24 hours urine were no significant difference among the three groups ($P>0.05$). The result of Real-time PCR suggested that the URAT1 renal expression was significantly higher in patients with uric acid nephrolithiasis than other two groups ($P<0.05$). **Conclusion** Patients with uric acid nephrolithiasis are closely related with hyperuricemia, but unrelated with renal over-excretion of uric acid. The upregulated URAT1 expression in the kidney may be an important molecular mechanism of the clinical features.

Keywords: URAT1; uric acid; nephrolithiasis

尿酸结石发病率因不同国家而异,在美国占泌尿系结石的 8% ~10%[1]。我国尿酸结石发病率仅次于草酸钙结石,占泌尿系结石的 14% ~24%,且随着人民生活水平的提高和饮食结构的改善, 尿酸结石的发病率呈上升趋势[2]。其发病机制目前尚不清楚,普遍认为高尿酸血症与高尿酸尿、尿量不足、持续性酸性尿是促发尿酸结石形成的三大主要因素,其中尿酸代谢异常是尿酸结石形成的重要病理机制之一[3]。

尿酸是人类嘌呤代谢的终产物。血尿酸水平取决于机体内尿酸的产生与排泄之间的平衡。人体内尿酸主要通过肾脏排泄,后者主要依赖于肾近曲小管转运蛋白构成的离子通道完成。已知肾小管尿酸转运蛋白中,表达于肾皮质近曲小管上皮细胞的人尿酸盐阴离子交换器(urate transporter 1, URAT1)和葡萄糖转运蛋白 9(glucose transporter 9, GLUT9)是介导肾脏尿酸的重吸收,维持血、尿酸稳态的关键转运体[4]。我们前期研究发现尿酸结石患者血尿酸水平明显升高,反之尿液排泄尿酸无明显变化;肾组织学实验证实尿酸结石患者近曲小管上皮细胞 URAT1 蛋白表达增加。实验结果支持尿酸结石形成与肾尿酸代谢异常密切相关,并提示 URAT1 在肾近曲小管高表达可能是尿酸结石患者高尿酸血症形成的重要分子机制,但未探明是否存在肾 URAT1 基因表达的改变[5]。本研究在前期研究基础上,探讨尿酸结石患者的尿酸代谢特征及其

doi:10.11659/jjssx.08E014051

[基金项目] 重庆市自然科学基金(2011BA5011)

[通讯作者] 李为兵, E-mail: liweibing63@yahoo.com.cn

[收稿日期] 2015-02-11 [修回日期] 2015-02-27

肾脏 URAT1 基因表达情况,为进一步研究 URAT1 在尿酸结石发病机制中的作用提供理论基础及重要线索。

1 资料与方法

1.1 标本来源

收集本科 2012 年 1 月至 2013 年 10 月结石患者术前 24 h 尿、经皮肾术中穿刺获取的肾标本以及手术取出的部分结石。经结石成分分析确诊尿酸结石患者 9 例(A 组),非尿酸性结石患者 15 例(B 组)。用于检测 URAT1 表达的正常对照组(C 组)肾脏标本来自 7 例因急性肾脏外伤接受肾修补或肾切手术的患者,且术前检查均证实无泌尿系结石、尿酸代谢异常。此外,用于比较尿酸代谢特征的正常对照组(D 组)血、尿液标本来自 10 例健康体检者。研究方案获得第三军医大学伦理委员会同意,所有研究对象在完全自愿情况下签署样本获取知情同意书。

1.2 尿酸代谢特征检测

采集 A、B、D 组参与者的一般临床资料,收集结石患者术前及正常对照组血、24 h 尿液标本,分别进行尿酸定量检测。

1.3 肾脏 URAT1 基因表达检测

A、B、C 组肾标本留取肾皮质部分用做实验。采用 Tripure 分离试剂一步法提取标本总 RNA。参照逆转录试剂盒说明书将所提取 RNA 样本逆转录成 cDNA。目的基因 URAT1 引物序列:上游 5'-CCCCACACCCGTCCACCTG-3',下游 5'-GGGCTGGGTTTGGGGGTTAAG-3';内参基因 GAPDH 引物序列:上游 5'-AGAAGGCTGGGGCTCATTTG-3',下游 5'-AGGGGCCATCCAGTCTTC-3'。荧光定量 PCR 反应条件:95 ℃ 5 min,95 ℃ 30 s,56 ℃ 30 s;72 ℃ 30 s,72 ℃ 10 min,39 个循环,Bio-Rad 荧光定量 PCR 仪随机附带软件计算 CT 值与拷贝数。以内参基因作为参照,计算 2-ΔΔct 值视为目的基因相对表达量。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 15.0 软件包处理,计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,2 组间变量比较采用 t 检验。$P < 0.05$ 为组间差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 尿酸结石患者尿酸代谢特点

A、B、D 共收集 34 例调查对象的一般资料、血尿酸、24 h 尿液中尿酸定量指标。各变量组间统计结果显示:尿酸结石患者血尿酸水平较非尿酸性结石患者以及正常对照组都显著升高($P < 0.05$),而 24 h 尿量以及尿酸排泄 3 组间无明显差异;此外,尿酸结石患者发病年龄、体重指数明显高于非尿酸性结石患者,而其尿液 PH 值明显低于其他 2 组($P < 0.05$),见表 1。

2.2 尿酸结石患者肾 URAT1 表达情况

A、B、C 组共 31 例肾脏样本用于 Real-time PCR 检测 URAT1 表达情况(图 1),2-ΔΔct 值用于统计各组样本 mRNA 相对表达量。组间比较结果显示尿酸结石患者肾脏 URAT1 mRNA 表达水平明显高于非尿酸结石组以及正常对照组($P < 0.05$),后 2 组肾脏样本间 URAT1 mRNA 表达水平无显著差异($P > 0.05$),见图 2。

表 1 各组临床资料比较分析

项目	A 组(n=9)	B 组(n=15)	D 组(n=10)
年龄(岁)	52.13 ± 11.34	43.07 ± 10.91 *	50.61 ± 12.91
体重指数(kg/m^2)	25.84 ± 5.64	22.82 ± 3.95 *	23.13 ± 4.38 *
血尿酸(μmol/L)	451.5 ± 91.30	302.50 ± 78.30 *	287.5 ± 84.10 *
24 h 尿量(L)	1.93 ± 0.37	2.08 ± 0.31	2.03 ± 0.29
24 h 尿液尿酸(mg)	669.20 ± 155.80	684.30 ± 129.30	635.70 ± 122.50
尿 pH 值	5.67 ± 0.53	6.28 ± 0.51 *	6.21 ± 0.46 *

*:与 A 组比较,$P < 0.05$

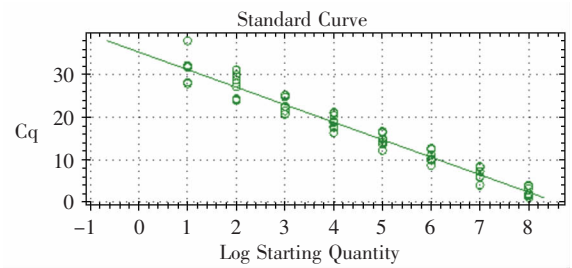
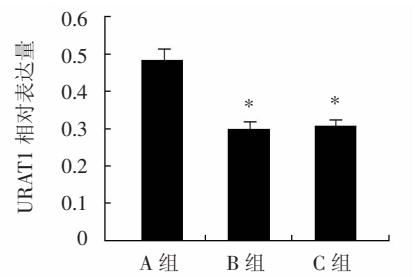


图 1 Real-time PCR 标准曲线



*:与 A 组比较,$P < 0.05$

图 2 URAT1 mRNA 在肾组织相对表达量

3 讨论

URAT1 被 Enomoto 等[6]和 So 等[7]在肾脏首次发现并报道,它由有机阴离子编码家族 SLC22A 的 SLC22A12 基因编码的一种膜转运蛋白,特异表达在肾脏近曲小管上皮细胞的刷状缘侧,经过十余年的研究,大量证据表明 URAT1 作为肾脏尿酸代谢的转运体,是维持人体尿酸代谢生理平衡的关键蛋白,并在尿酸代谢异常的病理机制中发挥重要作用[7]。在正常生理状态下,血液内尿酸在肾小球自由滤过进入原尿,后者途径肾近曲小管时,90% 以上的尿酸通过 URAT1 转运至小管上皮细胞内,并由上皮细胞基底侧膜上 GLUT9 等转运体转运吸收入血[8]。在尿酸代谢异常病理机制研究中发现,URAT1 基因突变及其单核苷酸多态性是先天性肾性低尿酸血症、高尿酸血症以及痛风重要的发病分子机制[9-10]。我们前期研究也显示肾近曲小管上皮细胞 URAT1 蛋白高表达与尿酸结石发病密切相关[5]。

CT 三期动态增强扫描对急性肾梗死的诊断价值

禹智波,张云泉,宋凌恒,乔 清,李福锁,黄 敏,胡文友,李锦青 (解放军第 324 医院医学影像科,重庆 400020)

[摘 要] **目的** 探讨急性肾梗死 CT 三期动态增强扫描影像学特点及临床意义。**方法** 回顾性分析 10 例临床影像确诊急性肾梗死患者 19 侧肾脏 CT 平扫、三期动态增强表现及 6 例 CTA(CT 血管造影术)表现。**结果** 10 例患者 14 侧肾脏发生急性肾梗死。CT 平扫:4 例肾脏影增大,6 例双侧肾脏 CT 平扫未见异常。CT 三期动态增强扫描:单侧肾梗死 6 例、双侧肾梗死 4 例,共累及 14 侧肾脏;肾梗死灶在皮质期呈为高密度皮质环中断,在实质期及肾盂期呈楔形无强化低密度影,或全肾无强化低密度影,以实质期和肾盂期显示肾梗死灶最佳。6 例 CTA 明确肾梗死责任肾血管,以及伴发的其他血管性病变。**结论** CT 三期动态增强扫描对急性肾梗死有重要诊断价值,CTA 能明确肾梗死责任肾血管。

[关键词] 急性肾梗死;血管造影术;体层摄影术;X 线计算机

[中图分类号] R814.42 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2015)05-0486-04

doi:10.11659/jjssx.01E015041

[通讯作者] 李锦青,E-mail:ljq200255@163.com

[收稿日期] 2015-04-28 [修回日期] 2015-06-15

尿酸结石形成的分子机制研究目前尚处于初步阶段。流行病学研究显示其发病可能与肥胖、Ⅱ型糖尿病、高尿酸血症以及痛风等代谢性疾病相关[1];尿酸结石患者代谢特征分析发现,此类患者比较其他类型的泌尿系结石患者血尿酸水平显著增高、而尿 PH 值明显降低;但 24 h 尿液分析发现尿酸、钙、草酸和柠檬酸盐的排泄无明显差异[11-12]。我们的临床数据分析结果也支持此前研究发现。值得关注的是,此前普遍认为尿量减少以及高尿酸尿症是尿酸结石形成的重要因素,但鲜有临床报道支持这一结论。尽管处于高血尿酸水平的状态下,尿酸结石患者 24 h 尿量以及尿酸排泄量与其他泌尿系结石患者及正常对照人群比较并无明显差异,其分子机制目前尚未见报道。本研究发现尿酸结石患者肾近曲小管尿酸重吸收关键转运蛋白 URAT1 显著增加,这可能是其尿酸代谢特征的重要机制。

综上所述,我们通过临床数据分析及组织学实验发现尿酸结石患者与高尿酸血症密切相关,而肾脏尿酸排泄无明显改变, URAT1 在肾脏高表达可能是这一临床特征的重要分子机制。本研究为进一步研究尿酸结石形成机制提供了重要的线索及理论基础。

[参考文献]

[1] Sakhaee K. Epidemiology and clinical pathophysiology of uric acid kidney stones [J]. J Nephrol, 2014, 27(3): 241 – 245.

[2] 叶章群,邓耀良,董 诚. 泌尿系结石 [M]. 北京:北京人民卫生出版社, 2003:268.

[3] 樊玲静. 红外光谱自动分析仪对尿路结石成分的分析与预防对策的探讨[J]. 局解手术学杂志, 2012, 21(4): 434.

[4] Anzai N, Endou H. Urate transporters: an evolving field [J]. Semin Nephrol, 2011, 31(5): 400 – 409.

[5] Fu W, Li Q, Yao J, et al. Protein expression of urate transporters in renal tissue of patients with uric acid nephrolithiasis [J]. Cell Biochem Biophys, 2014, 70(1): 449 – 454.

[6] Enomoto A, Kimura H, Chairoungdua A, et al. Molecular identification of a renal urate anion exchanger that regulates blood urate levels [J]. Nature, 2002, 417(6887): 447 – 452.

[7] So A, Thorens B. Uric acid transport and disease [J]. J Clin Invest, 2010, 120(6): 1791 – 1799.

[8] Lipkowitz MS. Regulation of uric acid excretion by the kidney [J]. Curr Rheumatol Rep, 2012, 14(2): 179 – 188.

[9] Wakida N, Tuyen DG, Adachi M, et al. Mutations in human urate transporter 1 gene in presecretory reabsorption defect type of familial renal hypouricemia [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2005, 90(4): 2169 – 2174.

[10] Tin A, Woodward OM, Kao WH, et al. Genome-wide association study for serum urate concentrations and gout among African Americans identifies genomic risk loci and a novel URAT1 loss-of-function allele [J]. Hum Mol Genet, 2011, 20(20): 4056 – 4068.

[11] Friedlander JI, Moreira DM, Hartman C, et al. Comparison of the metabolic profile of mixed calcium oxalate/uric acid stone formers to that of pure calcium oxalate and pure uric acid stone formers [J]. Urology, 2014, 84(2): 289 – 294.

[12] Moreira DM, Friedlander JI, Hartman C, et al. Using 24-hour urinalysis to predict stone type [J]. J Urol, 2013, 190(6): 2106 – 2111.

(编辑:杨 颖)