

细菌影响泌尿系结石形成的作用机制及其化学基础*

袁欢欣 柳一鸣 欧阳健明**

(暨南大学生物矿化与结石病防治研究所 广州 510632)

摘要: 人体内影响泌尿系结石形成的细菌有 2 类: 一类诱发尿石形成, 主要是通过分解尿素使尿液 pH 升高、加重尿路感染、降低尿石抑制剂浓度、破坏尿路粘膜酸性粘多糖保护层从而促进晶体滞留; 另一类抑制尿石的形成, 这些细菌 (主要为食草酸杆菌、乳酸杆菌和粪肠球菌等草酸分解菌) 参与外源性草酸代谢, 降低尿草酸浓度。探讨了该领域所面临的问题和将来的发展方向。

关键词: 细菌, 微生物, 泌尿系结石, 生物矿化

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2006) 03-0157-04

Mechanism and Chemical Basis of the Effect of Bacteria on Urinary Stone Formation*

YUAN Huan-Xin LIU Yi-Ming OUYANG Jian-Ming**

(Institute of Biomineralization and Lithiasis Research, Jinan University, Guangzhou 510632)

Abstract: There are two populations of bacteria to affect the formation of urinary stones in humanity. The first one can promote the formation of urinary stone by increasing urinary pH, decreasing concentration of urinary inhibitors, and damaging the protective urothelial glycosaminoglycan layer. The second inhibit the formation of urinary stones. These bacteria (mainly the intestinal oxalate degrading bacteria such as *Oxalobacter formigenes*, lactic acid bacteria, *Enterococcus faecalis* etc) can decrease urinary oxalate concentration by regulating exogenous oxalate. The problems faced and the developing direction were also indicated.

Key words: Bacteria, Microorganism, Urinary stones, Biomineralization

泌尿系结石 (简称尿石) 是严重影响人民健康的一种常见病和多发病, 其中约 70% ~ 80% 的晶体成分为草酸钙 (CaOxa), 约 10% ~ 15% 为鸟粪石 (磷酸铵镁)。

目前研究表明, 尿石形成的发生机制涉及尿流动力学改变、尿路上皮损伤、尿液过饱和或尿中结晶抑制因子降低等, 细菌可通过多种方式影响上述过程而表现出促进或抑制作用, 特别是食草酸杆菌、乳酸杆菌及粪肠球菌等草酸分解菌, 由于能抑制 CaOxa 结石形成而被众多学者所关注, 但其具体作用机制还不完全清楚^[1-3]。因此, 系统探讨细菌对尿石形成的影响, 对防治尿石具有特别重要的意义。

本文综述了人体内促进和抑制尿石形成的 2 类细菌, 讨论了这些细菌影响尿石形成的作用机制及其化学基础。

1 细菌诱发尿石形成的机制

1.1 细菌具有促成核作用 细菌在成石过程中可充当始动因子。细菌代谢产物如聚多

* 国家自然科学基金资助项目 (No. 20471024)

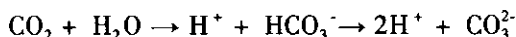
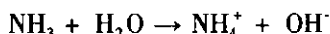
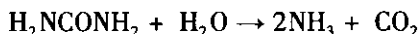
广东省科技攻关项目 (No. 2005B30701003)

** 通讯作者 Tel: 020-85223353, E-mail: toyjm@jnu.edu.cn

收稿日期: 2005-08-26, 修回日期: 2005-10-27

糖及粘蛋白可形成菌膜,对尿石起凝聚和支架作用,并可成为尿石核心。直径约为 80 nm ~ 500 nm 的纳米细菌,具有独特的矿化能力,通过合成碳酸磷灰石而作为病灶核心诱发尿石(特别是 CaOxa 结石)形成。因此,纳米细菌很有可能是尿石的病源^[3]。

1.2 细菌分解尿素,加重尿路感染 1901 年 Brown 首次提出尿碱中毒和尿石形成是细菌分解尿的结果,1925 年 Magath 和 Hagar 提出细菌蛋白和尿素酶影响尿素的分解。尿素酶一般通过细菌溶菌而释放到尿液中,催化尿素以其自发性水解速率的 10^4 倍速率水解。临床上许多细菌均能分解尿素,其中,变形杆菌和葡萄球菌是最常见,其次为克雷伯杆菌属和假单胞菌属。尿素酶分解尿素的反应式如下^[4]:



尿素水解增加了氨的局部浓度, NH_3 与 H_2O 作用使尿 pH 显著升高至 $\text{pH} > 7.2$ 。碱性尿液环境促进了三价磷酸盐 (PO_4^{3-}) 的生成,在 $\text{pH} > 7.2$ 时, PO_4^{3-} 与尿中的 NH_4^+ 、 Mg^{2+} 等形成不溶性磷酸铵镁 ($\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 晶体;尿素分解产生的大量 CO_2 ,在与 H_2O 合成碳酸后,再解离出 CO_3^{2-} ,在碱性尿液中, Ca^{2+} 与 PO_4^{3-} 化合成磷灰石 [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$],再与 CO_3^{2-} 结合成碳酸磷灰石 [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4\text{CO}_3\text{OH})_6(\text{OH})_2$]^[4]。

尿路中产尿素酶细菌的存在是感染石形成的先决条件,但非产尿素酶细菌(如大肠埃希菌、大肠杆菌、粪链球菌及白色念珠菌等)可能作为外延结晶的晶核,并使尿液中晶体和胶体的正常平衡失调,造成尿石晶体大量析出。此外,非产尿素酶细菌在感染石中的寄生,导致肾盏、肾盂粘膜上的炎症病变,增加成石物质的附着点;导致尿流动力学改变,造成尿道梗阻,加重尿路感染,如此形成恶性循环加快尿石形成^[5]。

1.3 细菌增加尿液 pH,增大感染石形成的几率 产尿素酶细菌通过增加尿素的水解能显著增加尿 pH;一些非产尿素酶细菌亦能碱化尿液。在 37℃ 将大肠杆菌植入尿液中发现:在细菌数目少的 5 个样品中,植入该菌 48 h 后尿 pH 基本保持稳定;但在细菌数目多的 12 个样品中,尿 pH 升高^[6]。可溶性磷酸盐是一种主要的尿缓冲剂,但细菌使尿液碱化后,尿磷酸铵镁和碳酸磷灰石处于相对过饱和状态,前者当尿 $\text{pH} > 7.1$,后者当尿 $\text{pH} > 6.6$,就容易析出不溶性磷酸盐结晶,从而增加感染石的危险^[5]。

1.4 细菌降低柠檬酸盐的浓度 临床上患者长时间留置的导尿管或膀胱造瘘管易沉积鸟粪石及磷酸钙壳垢,以前一般认为这归因于各种产尿素酶细菌(如奇异变形杆菌);但对大量的留置导管壳垢进行细菌培养,发现只有不产尿素酶的大肠杆菌。Hedelin 等^[6]第一次阐述了大肠杆菌通过减少尿石抑制剂(柠檬酸盐)而参与尿石的形成。植人大肠杆菌 48 h 后,由于杆菌把柠檬酸盐作为额外的碳源,菌株数目较多的样品中尿柠檬酸盐浓度从 2.2 mmol/L 显著降低到 1.0 mmol/L,而未植入杆菌的样品中的尿柠檬酸浓度稳定在 2.2 ~ 2.3 mmol/L,从而极大增加尿石聚集和生长的危险。

1.5 破坏尿路粘膜酸性粘多糖保护层,促进晶体滞留 产尿素酶细菌分解尿素后产生的高浓度尿氨与保护尿路上皮的聚阴离子硫酸粘多糖(GAGs)具有较强的亲和力, NH_4^+ 离子吸附到 GAGs 的 SO_4^{2-} 上,使 GAGs 的亲水性发生改变,削弱尿路粘膜抗附着能力,使细菌易于附着,随之促进磷酸铵镁微晶粘附和滞留。依赖这种成石晶体的粘

附机制和相关离子的过饱和状态，尿石得以迅速形成和生长，并逐渐向肾盏延伸，形成特征性的鹿角形结石^[7]。动物实验表明，通过化学手段或感染使大白鼠膀胱的 GAGs 保护层破坏后，可导致鸟粪石微晶粘附增加 5~6 倍^[5]。酸果蔓果汁是几十年来治疗泌尿道感染的民间药方，其作用机理之一是可以有效抑制细菌在尿路粘膜的粘附^[8]。

2 草酸分解菌参与外源性草酸代谢，降低尿草酸浓度，抑制尿石形成

研究表明，导致尿石发生的多个因素的相对重要性依次为：尿量 > 尿草酸浓度 > 粘多糖浓度 > 尿 pH > 尿钙浓度^[9]。在尿液中，尿草酸浓度对 CaOxa 结石形成的影响是相同浓度尿钙的 10 倍^[10]。尿草酸浓度及其排泄量与 CaOxa 尿石体积、尿石中大晶体比例及尿石复发率成正比^[11]。

草酸分解菌可分解肠道吸收的外源性草酸，从而降低尿草酸排泄量，但 CaOxa 结石患者经常缺乏草酸分解菌。如对 34 例健康志愿者的粪便样品检测表明有 82% 的样品含草酸分解菌，而 22 例 CaOxa 尿石症患者被检出率只有 45%。寄生有草酸分解菌的患者尿草酸排泄量显著偏低，只有 15% 呈现高草酸尿 (>40 mg/d)，而无草酸分解菌的患者则高达 44%^[11]。因此，缺乏草酸分解菌将增加高草酸尿及尿石症的危险。

2.1 食草酸杆菌分解草酸的机制 食草酸杆菌属于革兰氏阴性厌氧菌，以草酸作为其产生 ATP 的唯一能量来源和细胞碳源，在有氧及碳源贫乏时都不能生存，因此增加了它有效寄生在肠道中的难度。食草酸杆菌在人体结肠内多达 10⁷ CFU，分解草酸的速率可达 0.5~1.0 g/d^[9]，是维持动物及人体内草酸稳定的主要细菌，其通过调节肠道的草酸吸收量和血浆中的草酸含量与宿主保持重要的共生关系^[1,12]。聚合酶链反应 (PCR) 检测发现：健康志愿者 (40 例) 中阳性检出率为 65%，而 CaOxa 尿石病 (63 例) 首次及复发 2 次患者检出率为 35%，复发 3 次以上者只有 5.6%。CaOxa 结石的复发率与食草酸杆菌的阳性检出率呈反比^[9]。

食草酸杆菌分解草酸的机理如图 1 所示：由 568 个氨基酸性蛋白编码的分子质量约为 60,000 的草酰辅酶 A 脱羧酶 (oxc) 催化硫酸焦磷酸依赖性脱羧反应，使草酰辅酶 A 通过还原反应生成甲酸和 CO₂，同时生成甲酰辅酶 A；由 428 个氨基酸性蛋白编码的分子质量约为 47,000 的甲酰辅酶 A 转移酶 (frc) 将甲酰辅酶 A 上的辅酶 A 转移回草酸，重新生成草酰辅酶 A，为 oxc 提供底物。在被利用的草酸中，99% 经脱羧基生成比例约为 1:1 的甲酸和 CO₂，只有 1% 的碳吸收为生物当量，经过系列生物合成途径合成 3-磷酸甘油酸酯^[1,12]。

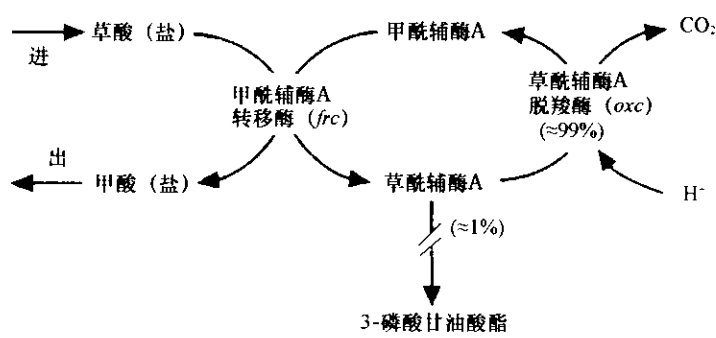


图 1 食草酸杆菌草酸代谢成甲酸、CO₂ 和 3-磷酸甘油酸酯的主要步骤^[12]

2.2 乳酸杆菌和粪肠球菌分解草酸的机制 乳酸杆菌属于人体的正常寄生菌群, 容易在肠道中寄生, 对降低 CaOxa 结石患者的尿草酸排泄具有显著效果。6 例 CaOxa 结石并伴有特发性高草酸尿症的患者, 每日口服 2×10^{11} CFU/g 新鲜干燥的包含有嗜酸乳杆菌、植物乳杆菌、嗜热链球菌、婴儿双歧杆菌及短乳杆菌的混合乳酸杆菌 (美国现已将其注册为“Oxadrop”商标), 连续 30d 后, 其尿草酸排泄量从 55.5 ± 19.6 mg/d 显著降低到 33.5 ± 13.9 mg/d, 由于体内寄生了乳酸杆菌, 60d 后尿草酸能持续降低到 28.3 ± 14.6 mg/d, 其中 2 例患者粪便中的草酸排泄量减少了 40.3%^[2]。与食草酸杆菌不同, 乳酸杆菌没有 *frc* 和 *oxc* 基因, 其分解草酸的机理至今不明, 但用乳酸杆菌防治高草酸尿症有比较好的研究前景。

粪肠球菌是一种有着较强草酸分解能力的厌氧菌, 但并非所有的菌株都能分解草酸, 只有 4/11 的菌株具有此能力。在具有分解能力的菌株中提取到的 3 种蛋白质 (其分子量分别为 40、48 和 65 kD) 与食草酸杆菌极为相似, 所以这两种细菌分解草酸的机理可能很相似。但粪肠球菌是致病菌, 不适合用于临床^[13]。

3 结语与展望

利用分子生物学研究细菌, 特别是研究肠道微生物菌落为尿石的防治开辟了崭新的途径。但细菌对尿石形成的影响及其作用机制至今仍存在争议, 很多问题等待进一步去认识, 如极富研究前景的乳酸杆菌分解草酸的机理究竟如何? 产尿素酶细菌在体外不能使成石晶体转化成结石, 但一旦把接种了产尿素酶细菌的晶体植入尿道即可形成尿石, 为什么这样的矿化过程只发生在尿道内? 在临床上, 常规用量的抗生素难以杀灭受菌膜保护和尿石包埋的细菌, 如何更好的清除尿石内的细菌? 体外震波碎石 (ESWL) 使尿石内的细菌得以释放, 但又如何结合 ESWL 用药控制尿石内细菌毒素的扩散亦显得尤为重要。

参考文献

- [1] Kodama T, Akakura K, Mikami K, *et al.* Int J Urol, 2002, 9: 392 ~ 397.
- [2] Campieri C, Campieri M, Bertuzzi V, *et al.* Kidney Int, 2001, 60: 1097 ~ 1105.
- [3] Goldfarb D S. Nephron Physiol, 2004, 98: 48 ~ 54.
- [4] Rahman N U, Meng M V, Stoller M L. Curr Pharma Des, 2003, 9 (12): 975 ~ 981.
- [5] Hedelin H. Int J Antimicro Agents, 2002, 19: 484 ~ 487.
- [6] Edin-Liljegren A, Rodin L, Grenabo L, *et al.* Scand J Urol Nephrol, 2001, 35: 106 ~ 111.
- [7] Kaya S, Poyraz, Gokce G, *et al.* Scand J Infect Dis, 2003, 35: 315 ~ 317.
- [8] Mcharg T, Rodgers A, Charlton K. BJU Int, 2003, 92: 765 ~ 768.
- [9] Kumar R, Mukerjee M, Bhandari M, *et al.* Eur Urol, 2002, 41: 318 ~ 322.
- [10] 郑辉, 李祥平, 欧阳健明. 无机化学学报, 2005, 21 (9): 1375 ~ 1378.
- [11] Mikami K, Akakura K, Takei K, *et al.* Int J Urol, 2003, 10: 293 ~ 296.
- [12] Stewart C S, Duncan S H, Cave D R. FEMS Microbiol Lett, 2004, 230 (1): 1 ~ 7.
- [13] Hokama S, Honma Y, Toma C, *et al.* Microbiol Immunol, 2000, 44: 235 ~ 240.