

钙敏感受体与泌尿系结石关系的研究进展

冯德梅¹, 胡琴琴¹, 南晓娟¹, 范菊雅¹, 王朝名¹, 李笑然^{2*}

(1. 兰州大学第二临床医学院 泌尿外科, 甘肃 兰州 730000;

2. 兰州大学第二医院 泌尿外科, 甘肃 兰州 730000)

泌尿系结石作为一种全球性疾病, 其发病由性别、年龄、遗传因素、环境因素、饮食习惯等多种因素共同导致, 其发病率和复发率呈上升趋势, 因此引起全球广泛关注。近年来, 结石患者的内科和外科治疗取得了重大进展, 但主要是以外科治疗为主, 尤其微创取石技术使大部分结石患者获益, 但是成本昂贵, 不适用于所有患者^[1,2]。钙敏感受体(calcium-sensing receptor, CaSR)自发现以来就被广泛关注, 一项系统综述表明CaSR基因不同部位的多态性可能与钙结石的形成有关^[3]。但是尚有部分机制未阐明, 也缺乏系统的阐述。本文就CaSR的结构及其对血清钙浓度的调节和CaSR的信号转导及其基因多态性等方面与钙性泌尿系结石发生的关系做一综述, 旨在为泌尿系结石发现潜在的治疗和预防药物。

1 钙敏感受体

1.1 CaSR的结构 CaSR是一种存在于细胞膜上的重要的G蛋白偶联受体, Ca^{2+} 是其主要的配体^[4,5]。它广泛表达于多种组织, 如肺脏、脑、皮肤、结肠、胃、甲状旁腺、骨骼和肾脏等, 但主要分布于甲状旁腺和肾脏^[6]。CaSR是由1078个氨基酸组成的蛋白, 分子由1个胞内尾部, 7个跨膜结构域, 1个胞外结构域组成^[3,7]。具有多种生理功能, 在维持钙稳态, 调节甲状旁腺激素的合成释放以及肾脏1, 25-(OH)₂-D₃的合成中发挥着重要的作用^[6](见图1)。

1.2 CaSR对Ca²⁺的调节 在甲状旁腺中, CaSR通过调节甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH)的合成与分泌维持钙稳态。血钙减少可刺激PTH分

泌, PTH可促进肾脏中1, 25-(OH)₂-D₃的生成, 从而促进Ca²⁺的重吸收, 而活化的CaSR可间接抑制PTH分泌从而增加尿钙排泄^[3]。

在肾脏中, CaSR于近曲小管, 集合管, 髓袢升支粗段, 远曲小管中高表达。Ca²⁺的重吸收大部分发生于近曲小管(60%~65%)和髓袢升支粗段(20%~25%), 远曲小管重吸收剩余的8%~10%^[3,8]。在近曲小管中, CaSR表达与管腔膜, 受血清Ca²⁺高浓度刺激活化后, 通过减少cAMP的产生, 拮抗PTH的作用, 减少Ca²⁺的重吸收, 促进磷酸钙的沉淀, 同时增加柠檬酸的排泄。在集合管中, 活化的CaSR可导致水和质子排泄。在髓袢升支粗段中和远曲小管中, Ca²⁺靠基底外侧细胞膜上钙泵进行重吸收, 而活化的CaSR可干扰钙泵的功能, 使钙泵活性降低, Ca²⁺重吸收减少, 排泄增加。Ca²⁺稳态与泌尿系结石的形成有关^[3]。

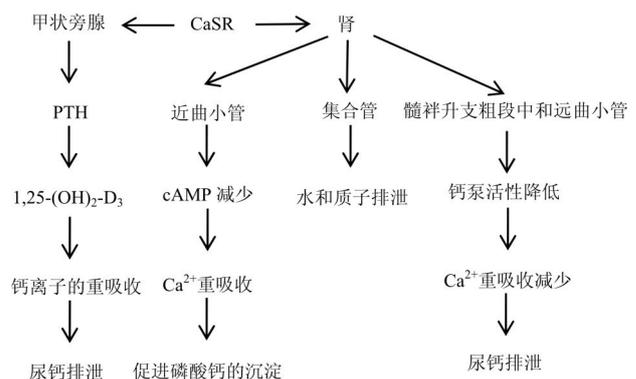


图1 CaSR对Ca²⁺的调节示意图

2 CaSR信号转导与泌尿系结石

2.1 CaSR信号转导与柠檬酸转运 Ryan等^[9]通过建立鼠肾细胞模型的研究发现, 远曲小管和近曲小管上均分布有CaSR, 并且其可以降低结石的发生率。研究表明, 位于近曲小管上皮细胞的顶端膜上的CaSR, 可以通过调节顶端膜二羧酸和柠檬酸的转运减少泌尿系结石形成; CaSR是G蛋白偶联受体C家族的成员, 根据不同的G蛋白与CaSR的相互

基金项目: 国家自然科学基金资助(81700614); 兰州大学第二医院“萃英学子科研培育”计划(Cuiying Scientific Training Program for Undergraduates of Lanzhou University Second Hospital)

*通信作者: 李笑然, E-mail: lixiaoran05@163.com

作用，CaSR可以激活不同的细胞信号通路；其与Gq蛋白的相互作用激活磷脂酶C (phospholipase C, PKC)，生成三磷酸肌醇 (inositol triphosphate, IP₃) 和二酰甘油 (diacylglycerol, DAG)，二酰甘油进一步激活蛋白激酶C，因此，形成CaSR→Gq→PKC途径来实现柠檬酸的转运，而柠檬酸通过络合钙抑制结石的形成^[10]。

2.2 CaSR调节近端小管细胞的H⁺-ATP酶活性
CaSR活化刺激诱导近端小管上皮细胞的H⁺-ATP酶使其活性增加，在一项关于近端小管上皮细胞亚型的研究中发现，CaSR活化刺激诱导H⁺-ATP酶使其活性增加，导致肾小管内液体的pH值降低，钙离子的电离增加，从而使钙离子浓度增加，增加了其在远端小管的重吸收，因此，在某种程度上减少了结石的形成^[11]。同时，Casare等^[12]利用Gd³⁺或新霉素刺激CaSR发现，小鼠皮层和外髓质区H⁺-ATP酶活性也随之增加。

2.3 CaSR调控水通道蛋白AQP2减少结石形成
尿液酸化和尿量是与泌尿系结石形成相关的两个重要因素；研究人员发现，CaSR可以促进H⁺的排泄、下调水通道蛋白2 (aquaporin 2, AQP2)，导致尿液酸化和尿量增多，促进了大量可溶性钙的排泄，从而防止泌尿系结石的形成^[13]。CaSR调控水通道蛋白AQP2具体机制可能是CaSR信号转导通过靶向调控AQP2的miRNA-137实现AQP2的下调^[14] (见图2)。

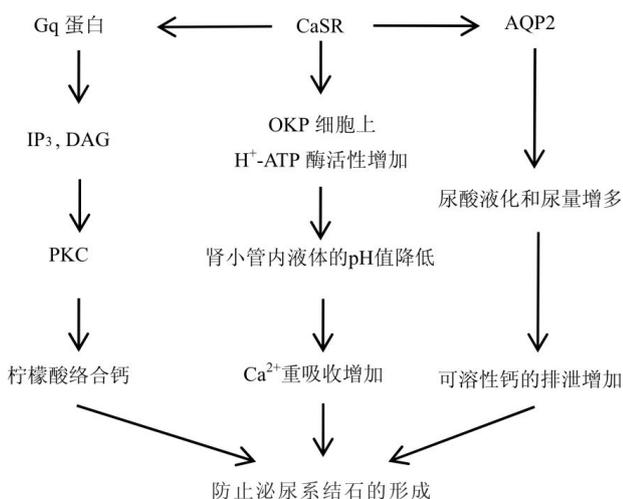


图2 CaSR信号转导示意图

2.4 Claudin-14在CaSR减少Ca²⁺的重吸收中的作用及信号通路
Claudin-14是位于髓袢升支粗段的紧密连接蛋白 (claudin) 家族的一员，通过上皮紧密连接调节离子和小溶质的细胞旁通道，可以抑制钙、镁的重吸收，与泌尿系结石的生成密切相

关^[15,16]。研究发现Claudin-14可能作为CaSR的下游效应分子参与泌尿系结石的形成^[17]。

Guha等^[18]通过评估CaSR基因与Claudin-14的联合多态性对泌尿系结石的影响，发现与携带2个或更少有效风险等位基因的个体相比，携带4个或更多等位基因的个体的患泌尿系结石风险增加了27.5倍。Dimke等^[19]通过对小鼠使用拟钙剂，过度激活CaSR后，发现肾脏中Claudin-14 mRNA的表达升高了40倍。结果表明髓袢升支粗段中的CaSR激活会增加Claudin-14表达，能抑制Ca²⁺的细胞旁路的重吸收。这可以解释了人体在血清Ca²⁺升高时，尿Ca²⁺升高的分子机制。

Kompatscher等^[20]通过敲除MKTAL细胞的肝细胞核因子1β (HNF1β)，发现细胞中CaSR mRNA和Claudin-14 mRNA的表达下降。其中HNF1β是CaSR的转录激活因子，并且HNF1β突变会出现低镁血症，低钾血症和钙尿不足的症状。表明CaSR表达的降低可能是Cldn14 mRNA表达降低的原因，同时CaSR mRNA和Claudin-14 mRNA表达下降能增加Ca²⁺的重吸收，减少尿钙的排泄，从而表现为尿钙不足。

以上结论表明当血清Ca²⁺浓度上升时，CaSR能促进Claudin-14 mRNA的表达，减少Ca²⁺的重吸收，增加尿钙的排泄，从而使结石的患病风险升高。

Gong等^[21]发现细胞外Ca²⁺在激活CaSR后，两种微小RNA的表达水平上升:miR-9和miR-374，进而通过微小RNA介导的基因沉默将细胞外信号转导到Claudin-14。Claudin-14又将胞外Ca²⁺信号传递给Claudin-16和Claudin-19。Claudin-16和Claudin-19是肾内Ca²⁺转运的最终效应器，能直接阻断阳离子的通透性。Gong等^[22]发现T细胞核因子c1 (NFATc1) 与启动子miR-9-1和miR-374的结合后，诱导局部组蛋白H3乙酰化，从而刺激microRNA转录。microRNA可以快速提高其靶基因Claudin-14的转录稳定性和翻译效率。同时通过转基因敲除和过表达方法表明，Claudin-14是CaSR调控的肾脏Ca²⁺代谢所必需的。从而定义了肾脏中的CaSR-NFATc1-microRNA-claudin-14信号通路。

所以CaSR在降低Ca²⁺的重吸收的信号通路可能有CaSR-NFATc1-microRNA-claudin-14，同时Claudin-14作用于Claudin-16和Claudin-19，可以降低钙的重吸收，而升高尿钙，升高患泌尿系结石的风险 (见图3)。

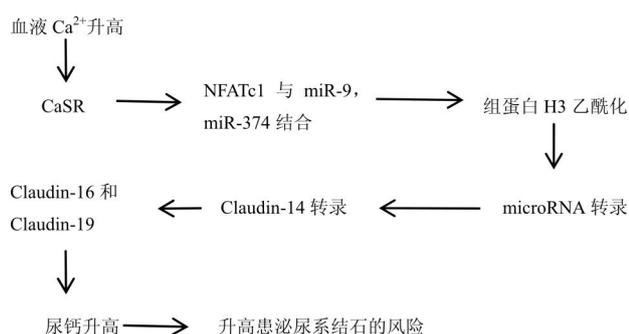


图3 Claudin-14信号通路示意图

3 CaSR基因多态性与泌尿系结石

CaSR在调节体内血钙中发挥重要作用,保护肾脏免受高钙浓度和尿钙沉淀的不利影响,因此猜测CaSR基因是解释钙结石形成的候选基因^[7]。人的CaSR基因位于3号染色体(3q21~24, chr3q13.3~21),由1078个氨基酸残基组成,有7个外显子,2个启动子^[1]。外显子1位于包括启动子在内的50个非翻译区,外显子2为转录起始位点密码子,外显子7编码跨膜结构域和细胞内尾部^[23]。流行病学研究发现,CaSR基因第7外显子rs1042636(A>G, Arg990Gly)和调控区单核苷酸多态性与泌尿系结石相关^[24,25]。Arg990Gly是一种非保守多态性,映射到编码CaSR羧基末端尾部的第7外显子,其等位基因导致CaSR功能的增加,可能通过增加钙的排泄和尿液中草酸钙和磷酸盐的饱和度而使患者易患钙结石^[7]。Arg990Gly等位基因也与意大利特发性钙结石患者和原发性甲状旁腺功能亢进患者的高钙尿有关,说明Arg990Gly可以用来解释肾钙结石的形成,可以作为泌尿系结石易感标志物,并可能为预防原发性泌尿系结石提供切实可行的方法^[26]。

同时,Vezzoli等^[9]通过比较157例患有结石的PHPT患者和175名未患结石的PHPT患者,发现CaSR调控区rs7652589基因和rs1501899多态性也与结石的存在相关,推测可能影响CaSR的基因的翻译和表达。他们进一步将肾癌患者肾切除的肾髓质样本中检测了CaSR mRNA发现其低于等位基因其他任何基因型患者,间接表明调控区减少CaSR表达,促进肾钙结石的形成。rs1501899位于内含子-1,rs7652589位于5'-非翻译区^[7]。此外,在携带rs7652589和rs1501899小等位基因的神经母细胞瘤中发现CaSR表达降低,这些说明多态性降低了启动子-1的转录活性,可能在正常钙血症和高钙血症结石患者中发挥作用,但其机制未阐明。

但是,关于CaSR基因多态性与泌尿系结石的关系,目前的研究结果仍存在争议。谢坤等^[27]表明

CaSR基因第7外显子第986、990多态性位点与泌尿系结石的形成无直接相关性,但第7外显子第990位A/G单核苷酸多态性可能与泌尿系结石的形成密切相关。Ding等^[26]研究表明,与AA基因型相比,CaSR Arg990Gly GG基因型患者的风险显著增加(OR1.64, 95%CI1.08-2.50)。Guha等^[18]认为印度东部地区患者CaSR和Claudin-14基因多态性与泌尿系结石患病风险增加相关。

因此,目前关于CaSR的表达在泌尿系结石的形成中起促进作用或者是抑制作用还未有明确的结论。在不同的条件下,CaSR可能通过不同的途径发挥作用,具有不同的相关性。我们可以在基因水平对CaSR进行调节减少结石的形成,也可以通过CaSR的抑制剂和激动剂来治疗泌尿系结石,进一步的研究对阐明结石的病因及预防治疗可能有重要作用。

参考文献:

- Li X, Chen S, Feng D, et al. Calcium-sensing receptor promotes calcium oxalate crystal adhesion and renal injury in Wistar rats by promoting ROS production and subsequent regulation of PS ectopion, OPN, KIM-1, and ERK expression [J]. *Ren Fail*, 2021,43(1):465-476.
- Li X, Ma J, Shi W, et al. Calcium Oxalate Induces Renal Injury through Calcium-Sensing Receptor [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016,2016:5203801.
- Besiroglu H, Sahin S, Otunctemur A, et al. Calcium-sensing receptor gene polymorphisms in patients with calcium urolithiasis: a systematic review [J]. *Ren Fail*, 2014,36(8):1187-1192.
- Conigrave A D, Quinn S J, Brown E M. L-amino acid sensing by the extracellular Ca²⁺-sensing receptor [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000,97(9):4814-4819.
- Kosiba A A, Wang Y, Chen D, et al. The roles of calcium-sensing receptor (CaSR) in heavy metals-induced nephrotoxicity [J]. *Life Sci*, 2020,242:117183.
- Howles S A, Wiberg A, Goldsworthy M, et al. Genetic variants of calcium and vitamin D metabolism in kidney stone disease [J]. *Nat Commun*, 2019,10(1):5175.
- Vezzoli G, Macrina L, Magni G, et al. Calcium-sensing receptor: evidence and hypothesis for its role in nephrolithiasis [J]. *Urolithiasis*, 2019,47(1):23-33.
- Jacobson H R, Seldin D W. On the generation, maintenance, and correction of metabolic alkalosis [J]. *Am J Physiol*, 1983,245(4):425-432.
- Vezzoli G, Terranegra A, Rainone F, et al. Calcium-sensing receptor and calcium kidney stones [J]. *J Transl Med*, 2011,9:201.

- [10] Walker R W, Zhang S, Coleman-Barnett J A, et al. Calcium receptor signaling and citrate transport [J]. *Urolithiasis*, 2018,46(5):409-418.
- [11] Dos Santos P M C, Amaral D, Tararhuch A L, et al. Calcium-sensing receptor (CaSR) modulates vacuolar H(+)-ATPase activity in a cell model of proximal tubule [J]. *Clin Exp Nephrol*, 2018,22(6):1258-1265.
- [12] Casare F, Milan D, Fernandez R. Stimulation of calcium-sensing receptor increases biochemical H⁺-ATPase activity in mouse cortex and outer medullary regions [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2014,92(3):181-188.
- [13] Chen W C, Chou W H, Chu H W, et al. The rs1256328 (ALPL) and rs12654812 (RGS14) Polymorphisms are Associated with Susceptibility to Calcium Nephrolithiasis in a Taiwanese population [J]. *Sci Rep*, 2019,9(1):17296.
- [14] Ranieri M. Renal Ca(2+) and Water Handling in Response to Calcium Sensing Receptor Signaling: Physiopathological Aspects and Role of CaSR-Regulated microRNAs [J]. *Int J Mol Sci*, 2019,20(21):5341.
- [15] Robinson-Cohen C, Lutsey P L, Kleber M E, et al. Genetic Variants Associated with Circulating Parathyroid Hormone [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2017,28(5):1553-1565.
- [16] Taguchi K, Yasui T, Milliner D S, et al. Genetic Risk Factors for Idiopathic Urolithiasis: A Systematic Review of the Literature and Causal Network Analysis [J]. *Eur Urol Focus*, 2017,3(1):72-81.
- [17] Yasui T, Okada A, Hamamoto S, et al. Pathophysiology-based treatment of urolithiasis [J]. *Int J Urol*, 2017,24(1):32-38.
- [18] Guha M, Bankura B, Ghosh S, et al. Polymorphisms in CaSR and CLDN14 Genes Associated with Increased Risk of Kidney Stone Disease in Patients from the Eastern Part of India [J]. *PLoS One*, 2015,10(6):e0130790.
- [19] Dimke H, Desai P, Borovac J, et al. Activation of the Ca(2+)-sensing receptor increases renal claudin-14 expression and urinary Ca(2+) excretion [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2013,304(6):761-769.
- [20] Kompatscher A, De Baaij J H F, Aboudehen K, et al. Transcription factor HNF1 β regulates expression of the calcium-sensing receptor in the thick ascending limb of the kidney [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2018,315(1):27-35.
- [21] Gong Y, Renigunta V, Himmerkus N, et al. Claudin-14 regulates renal Ca⁺⁺ transport in response to CaSR signaling via a novel microRNA pathway [J]. *Embo j*, 2012,31(8):1999-2012.
- [22] Gong Y, Hou J. Claudin-14 underlies Ca⁺⁺-sensing receptor-mediated Ca⁺⁺ metabolism via NFAT-microRNA-based mechanisms [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2014,25(4):745-760.
- [23] Yasri S, Wiwanitkit V. Having rs1042636C677T calcium-sensing receptor polymorphism: Increased or decreased risk for nephrolithiasis? [J]. *Saudi J Kidney Dis Transpl*, 2018,29(3):743-744.
- [24] Vezzoli G, Terranegra A, Soldati L. Calcium-sensing receptor gene polymorphisms in patients with calcium nephrolithiasis [J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2012,21(4):355-361.
- [25] 李勤祥,潘爱珍,徐志锋,等. CaSR986基因多态性与能谱CT泌尿系结石成分分析及临床特征的相关性[J]. *中国临床医学影像杂志*, 2020,31(02):119-122+127.
- [26] Ding Q, Fan B, Shi Y, et al. Calcium-Sensing Receptor Genetic Polymorphisms and Risk of Developing Nephrolithiasis in a Chinese Population [J]. *Urol Int*, 2017,99(3):331-337.
- [27] 谢坤,夏成兴,耿波,等. 钙敏感受体(CaSR)基986,990多态性与尿石症的相关性研究[J]. *现代生物医学进展*, 2017,17(10):1953-1956.