文章编号:1000-5404(2008)09-0787-04

论著

通过生物信息学技术预测铜绿假单胞菌噬菌体内溶素的作用机制

孙卫忠,胡晓梅,饶贤才,谭银玲,陈志谨,丛延广,胡福泉 (第三军医大学基础医学部微生物学教研室,重庆市微生物工程实验室,重庆 400038)

摘 要:目的 对 20 种铜绿假单胞菌噬菌体基因组中可能的内溶素基因进行生物信息学分析,探讨其可能的作用机制。方法 采用开放阅读框预测、同源检索、多重序列比对、蛋白质模型自动匹配等方法预测可能的内溶素及其内溶素相关基因。结果 通过铜绿假单胞菌噬菌体基因组进行分析,新发现 8 种内溶素基因和 2 种穴蛋白基因,对新发现基因的类型做了相关推定。结论 利用生物信息学手段分析已知序列,可以迅速、方便、有效地确定未知基因的功能及作用方式。

关键词:噬菌体;内溶素;穴蛋白;生物信息分析
中图法分类号:Q75;Q939.48;R318.04 文献标识码:A

Bioinformatic prediction of *endolysin* gene 's function in *P. aeruginosa* bacteriophages

SUN Wei-zhong, HU Xiao-mei, RAO Xian-cai, TAN Yin-ling, CHEN Zhi-jin, CONG Yan-guang, HU Fu-quan (Department of Microbiology, College of Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To find and analyze all the *endolysin* genes of 20 *pseudomonas aeruginosa* bacteriophages. Methods Firstly, the entire open reading frame (ORF) of *pseudomonas aeruginosa* bacteriophages was predicted. Secondly, similarity alignments, ClustalW alignments and automated knowledge-based protein modeling were performed and analyzed. Results Eight new *endolysin* and two holin genes were found in our research. The gene function was analyzed subsequently. Conclusion Bioinformatic prediction is an effective method to find and analyze the newly sequenced genes. The new *endolysin* and holin genes we found will be helpful in further studying the related genes.

Key words: bacteriophage; endolysin; holin; bioinformatic analysis

本室在前期工作中分离鉴定了 3 株铜绿假单胞菌噬菌体,分别命名为 PaP1、PaP2 和 PaP3(pseudomonas aeruginosa phage)。目前,溶源性噬菌体 PaP2 和 PaP3 全基因组测序及基因注释工作已经初步完成,并提交到 GenBank。裂解性噬菌体 PaP1 也已经完成了部分基因组测序。根据初步分析,这 3 种噬菌体中大多数预测的基因为功能未知基因。因此,对这些功能未知基因的分析及功能验证成为我们当前所面临的主要任务之一。

在功能基因研究中,我们首先把目标集中在与噬菌体裂解细菌有关的内溶素与穴蛋白基因上。这是因为噬菌体是细菌的一类病毒,噬菌体感染宿主菌时首先需要穿过宿主菌的细胞壁肽聚糖层,或者将其核酸注入到宿主菌内进行复制。在完成复制、组装后,再次破坏宿主肽聚糖层,释放子代噬菌体,进而感染新的细菌。噬菌体之所以能够导致宿主菌的裂解,必然有一类酶参与细胞壁裂解这个过程[1,2]。而细胞壁是细菌赖以生存的基础,能够破坏细胞壁的酶类也就有可能成为潜在的抗感染药物[3,4]。本研究拟通过生物信息学分析已完成测序的 19 种铜绿假单胞菌噬菌体基因组,从中发现可能与裂解细菌有关的内溶素与穴蛋白基因,并对其作用机制进行初步的探讨。

1 材料与方法

1.1 数据来源

所有分析的部分噬菌体基因组序列从 GenBank 下载,其中噬菌体 B3 基因组(登录号:AF232233)由加利福尼亚州立工艺大学提交,噬菌体 D3 基因组(登录号:AF165214)由加拿大皇后大学提交,噬菌体 D3112(登录号:AY394005)及噬菌体 F116(登录号:AY625898)由加拿大多伦多大学提交,噬菌体 phi CTX(登录号:AB008550)由日本信州大学提交,噬菌体 phiEL(登录号:AJ697969)、phiKMV(登录号:AJ505558)及 phiKZ(登录号:AF399011)3 种噬菌体基因组序列均由比利时鲁汶大学(Laboratory of Gene Technology, Katholieke Universiteit Leuven, BELGIUM)提交,噬菌体 119X(登录号:DQ163914)、F10(登录

基金项目:国家自然科学基金(30300295)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (30300295)
作者简介:孙卫忠,男,山东省禹城市人,博士研究生,讲师,主要从事功能基因组方面的研究。电话:(023)68752239,E-mail:sun_weizhong05@126.com
通信作者:胡福泉,电话:(023) 68752240,E-mail:hufuquan@yahoo.com.cn
收稿日期:2007-10-17;修回日期:2008-01-23

号：DQ163912）、F8（登录号：DQ163917）、M6（登录号：DQ163916）、Pa11（登录号：DQ163915）、Pa16（登录号：DQ163919）、Pa7（登录号：DQ163918）、Pa73（登录号：DQ163913）及SD1-M（登录号：DQ163920）9种噬菌体基因组序列均由加拿大McGill大学提交。另外噬菌体PaP1、PaP2、PaP3基因组均由我室测序获得并保存，其中噬菌体PaP2（登录号：AY575774）、PaP3（登录号：AY078382）基因组序列已提交到GenBank。

1.2 分析方法

在美国国立卫生研究院网站上采用ORF finder在线软件（http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html）进行开放阅读框（ORF）分析，然后对各ORF进行氨基酸或者核苷酸序列进行同源检索；使用ClustalW在线比对软件将所有预测的铜绿假单胞菌噬菌体内溶素编码的氨基酸序列进行多重序列比对，然后对生成的系统发生树进行分析；采用蛋白质模型自动匹配方法（automated knowledge-based protein modelling）对新预测的内溶素进行三级结构预测；最后对与内溶素相关的穴蛋白基因进行了推定和分析。

2 结果

2.1 铜绿假单胞菌噬菌体中编码内溶素的基因组成及类型

根据铜绿假单胞菌各噬菌体在GenBank登录的序列及基因注释，已有8种噬菌体的12种内溶素基因被命名，其中噬菌体phiEL、phiCTX、phiKZ及噬菌体phiKMV分别含有内2种溶素基因。到目前为止，12种噬菌体内溶素中，有5种内溶素基因已被实验证实具有肽聚糖解聚酶的活性，这5种噬菌体内溶素分别为噬菌体phiEL的2种内溶素、噬菌体phiKMV的1种内溶素和噬菌体phiKZ的2种内溶素，另外7种内溶素还未得到实验验证（表1）。

表1 已知噬菌体内溶素基因概况

噬菌体名	内溶素类型	登录号	基因位点(bp)	试验验证
B3	转糖基酶	AAQ13943	11 918～12 712	
D3	转糖基酶	AAF80791	25 504～25 986	
F116	胞壁酸酶	AAT45887	59 535～60 068	
PaP3	胞壁酸酶	AAL85570	2 370～2 867	
phiCTX	ORF11	BAA36237	8 585～9 388	
	糖苷酶	BAA36238	9 388～9 849	
phiEL	糖苷酶	CAG27277	185 702～193 333	已验证
	ORF188	CAG27282	201 495～202 373	已验证
phiKMV	胞壁酸酶	CAD44236	40 545～41 027	
	胞壁酸酶	CAD44227	28 866～31 562	已验证
phiKZ	转糖基酶	AAL83045	146 288～147 070	已验证
	转糖基酶	AAL83082	189 334～196 047	已验证

由于噬菌体内溶素之间相似性较低，为了避免在分析中发生遗漏，本研究对所有噬菌体基因组序列重新进行开放阅读框预测，然后将得到的各开放阅读框逐个进行同源比较，结果在20种噬菌体基因组中共新发现8种的内溶素基因，这8种内溶素基因分别位于6种噬菌体基因组内，这6种噬菌体分别为噬菌体F8、F10、M6、PA11、PaP1和SD1-M。其中噬菌体F8及噬菌体SD1-M分别含有2种内溶素基因（表2）。

表2 新发现的噬菌体内溶素基因概况

噬菌体名	内溶素类型	基因位点(bp)	分值	E期望值
F10	糖苷酶	37 273～37 887	359	$5e^{-98}$
F8	糖苷酶	34 978～35 640	176	$7e^{-39}$
	转糖基酶	24 127～26 706	166	$9e^{-43}$
M6	转糖基酶	13 111～13 929	54.7	$5e^{-6}$
PA11	胞壁酸酶	22 279～21 767	128	$1e^{-28}$
SD1-M	转糖基酶	147 382～148 161	534	$2e^{-150}$
	转糖基酶	190 416～197 138	4 225	0
PaP1	未知	25 043～25 603	204	$2e^{-51}$

2.2 铜绿假单胞菌噬菌体内溶素序列比对及系统进化分析

对预测的铜绿假单胞菌噬菌体内溶素基因编码的氨基酸序列在GenBank进行同源检索和序列间比对，并对其系统进化关系进行了分析。根据序列间比对分析来看，噬菌体phiKZ的2种内溶素和噬菌体SD1-M的2种内溶素序列完全相同；噬菌体F8（34 978～35 640 bp）、F10（37 273～37 887 bp）和phiEL（登录号：CAG27277）编码的内溶素氨基酸序列与铜绿假单胞菌铜绿假单胞菌N-乙酰氨基葡萄糖苷酶（登录号：ZP_00970876）的序列有较高的同源性，保守区部分序列相互之间相似性较高（50%～60%）。

根据进化分析，铜绿假单胞菌噬菌体内溶素大致可分为4类：N-乙酰胞壁酸酶、葡萄糖苷酶、转糖基酶和未知功能酶类。新发现的8种噬菌体内溶素中，噬菌体Pa11的内溶素（基因位点21 764～22 279 bp）编码产物属于N-乙酰胞壁酰酶类；噬菌体F8的内溶素（基因位点34 978～35 637 bp）和F10的内溶素（基因位点37 273～37 890 bp）编码的产物属于葡萄糖苷酶类；噬菌体M6的内溶素（基因位点13 111～13 932 bp）、噬菌体F8的内溶素（基因位点241 27～26 706 bp）和噬菌体SD1-M的内溶素（基因位点147 382～148 161 bp）及（基因位点190 416～197 138 bp）编码的产物均属于转糖基酶类；而噬菌体PaP1的内溶素（基因位点25 043～25 603 bp）、噬菌体phiEL内溶素（登录号：CAG27277）和噬菌体phiCTX内溶素（登录号：BAA36237）编码的产物属于未知功能类。其他噬菌体编码的内溶素序列相互之间相似性较低，在进化树中，相互之间关系较远。

2.3 新发现内溶素蛋白质模型自动匹配分析

采用蛋白质模型自动匹配方法对新预测的内溶素进行三级结构预测。结果显示噬菌体F8内溶素（基因位点34 978～35 637 bp）与噬菌体Pa11内溶素（基因位点21 764～22 279 bp）均可在已知的蛋白质结构库中找到与之相似的蛋白。其中噬菌体F8内溶素主要结构分为3部分，其中与已知的蓝色链霉菌几丁质酶相似的α螺旋区主要位于氨基酸序列的N-端和C-端，而中间的部分为无规则卷曲区（90～130 aa），与已知链霉菌几丁质酶的氨基酸序列三级结构不同的是，噬菌体F8内溶素分别在氨基酸序列的两端缺少了部分α螺旋结构，而连接链霉菌几丁质两部分α酶螺旋区的中间区除含有无规则卷曲结构外，还有较短的α酶螺旋和较短的β折叠结构。同样，噬菌体Pa11内溶素三级结构的α螺旋区主要位于氨基酸序列的N-端和C-端，而中间的部分为无规则卷曲区，该结构与已知的噬菌体P22溶菌酶三级结构模型相似。

2.4 穴蛋白分析

目前，已命名的铜绿假单胞菌噬菌体穴蛋白有3种，分别来自于噬菌体B3（登录号：AAQ13942）、F116（登录号：AAT45886）

和 phiCTX（登录号：BAA36236、AAT45886、AAQ13942）。对 20 种铜绿假单胞菌噬菌体预测的基因重新分析，得到 2 种穴蛋白基因。其中，噬菌体 F10 穴蛋白（基因位点 36 944 ~ 37276 bp）与已知的铜绿假单胞菌穴蛋白基因同源。通过对其编码的氨基酸序列跨膜区结构分析结果显示，该基因编码的蛋白含有 2 个跨膜结构区，跨膜区中间含有一段较短的连接序列。根据对噬菌体 M6 预测的 ORF 编码氨基酸序列同源比较，并未发现穴蛋白同源基因。但通过跨膜区结构预测，在噬菌体 M6 内溶素基因的上游发现一基因（基因位点 12 887 ~ 13 219 bp）。该基因与噬菌体 M6 内溶素基因部分编码序列重叠，尽管与已知的穴蛋白基因序列相似性低，但该基因在基因组中的位置、编码的氨基酸序列大小以及跨膜结构等方面均与已知的穴蛋白相似。在其他 4 种噬菌体中没有发现穴蛋白基因同源序列，但在远离内溶素基因上下游的基因组序列中均发现类似的跨膜结构。并且，所有的铜绿假单胞菌噬菌体穴蛋白基因与内溶素基因在基因组上有几个到几十个碱基的重叠现象。

3　讨论

3.1　铜绿假单胞菌噬菌体内溶素基因进化分析

关于噬菌体内溶素的分类、蛋白结构及作用机制已有很多研究[5-8]。根据我们的分析，有 3 种噬菌体（噬菌体 F8、F10 及 phiEL）内溶素与已知的铜绿假单胞菌 N-乙酰氨基葡萄糖苷酶在三级结构及保守区序列之间有很高的相似性[9]。铜绿假单胞菌 N-乙酰氨基葡萄糖苷酶是细菌自溶素（Autolysin）家族的一员，与细菌的繁殖、细胞壁的反转、隔膜的生成及分割、鞭毛的生成、细胞壁的合成等多种细菌生理现象有关[10,11]。而噬菌体是细菌的一种病毒，噬菌体与其宿主菌相互作用的结果不可避免的产生遗传物质的转移与重组。最终的结果是在噬菌体基因组内，或多或少的保留宿主菌的一些遗传信息[12,13]。因而，铜绿假单胞菌噬菌体内溶素与宿主菌某些自溶素酶类高度相似，这个现象揭示了某些铜绿假单胞菌噬菌体内溶素与噬菌体宿主的自溶素在进化上可能存在着同源关系。

当然，并非所有的噬菌体内溶素基因与其正在侵染的宿主菌基因组之间一定存在着相关性。在分析的 20 种铜绿假单胞菌噬菌体内溶素中，除部分基因外，这些内溶素之间在氨基酸或者核苷酸水平上没有同源性，或者同源性极低。这也说明了噬菌体内溶素在进化上存在着多源性。

3.2　几种噬菌体基因组中未发现内溶素的原因分析

在对 20 种铜绿假单胞菌噬菌体基因组所分析的结果中，只有 14 种噬菌体基因组编码内溶素，仍然有 6 种噬菌体未发现内溶素基因或内溶素同源基因。噬菌体在感染宿主及感染后的释放过程中必然要通过宿主细胞壁肽聚糖层。因此，噬菌体必然借助于能够破坏宿主细胞壁肽聚糖结构的物质才能够完成侵染周期。而在上述 6 种噬菌体基因组中没有发现内溶素，可能原因是由于噬菌体内溶素本身具有多样性，序列变异较大，很难用传统的检索方法发现和鉴定。比如在所分析的 20 种铜绿假单胞菌噬菌体内溶素中，除了部分内溶素外，大多数内溶素相互之间在核苷酸水平和氨基酸水平相似性较低或者完全没有相似性。

3.3　噬菌体穴蛋白分析

大多数噬菌体的内溶素没有信号肽，因此在合成后不能够穿透宿主细胞膜，内溶素穿过通常需要噬菌体编码的一种穴蛋白（Holin）。穴蛋白是一种膜蛋白，可以在特定时期程序化破坏宿主细胞膜结构，从而介导内溶素进入到细胞周间质，进而裂解细菌细胞壁后释放子代噬菌体[14]。通过生物信息学分析发现在 20 种噬菌体中，只有 5 种噬菌体含有编码穴蛋白的基因。这 5 种噬菌体穴蛋白有一般噬菌体穴蛋白的基本特征：编码穴蛋白的基因位于内溶素基因的上游；穴蛋白通常含有至少 2 个疏水区和一段较短的连接序列，蛋白质多肽链氨基酸残基个数在 71 ~ 111。此外，本研究分析发现，这些穴蛋白基因在噬菌体基因组内与内溶素基因均有多个碱基的重叠现象（genes overlap）。基因重叠现象在噬菌体基因组中比较常见，重叠基因不仅使噬菌体能经济有效的利用 DNA 遗传信息量，节约碱基，而且更便于对基因表达起调控作用[15]。穴蛋白之所以能够程序化的破坏宿主细胞膜结构，精确的控制噬菌体的释放，推测可能与这种基因重叠现象有关[16]。

到目前为止，内溶素研究多以革兰阳性细菌噬菌体为主。而对铜绿假单胞菌噬菌体内溶素研究尚处于起步阶段。其原因不仅在于铜绿假单胞菌细菌被一层外膜包被，外界物质难以进入，另外一个原因是对铜绿假单胞菌噬菌体内溶素的基因组成、蛋白结构等特点还不十分清楚。目前，本研究分析得到的内溶素基因已经逐步被实验证实，并且部分内溶素具有抑菌活性。这些分析结果将为铜绿假单胞菌噬菌体内溶素及其他细菌噬菌体内溶素的研究提供信息数据，并且在对利用内溶素抗感染研究方面提供了可靠的依据。

参考文献：

[1] Young R, Blasi U. Holins: form and function in bacteriophage lysis [J]. FEMS Microbiol Rev, 1995, 17(1-2): 191-205.

[2] Wang I N, Smith D L, Young R. Holins: the protein clocks of bacteriophage infections [J]. Annu Rev Microbiol, 2000, 54: 799-825.

[3] Borysowski J, Weber-Dabrowska B, Gorski A. Bacteriophage endolysins as a novel class of antibacterial agents [J]. Exp Biol Med (Maywood), 2006, 231(4): 366-377.

[4] Fischetti V A. Bacteriophage lytic enzymes: novel anti-infectives [J]. Trends Microbiol, 2005, 13(10): 491-496.

[5] Briers Y, Lavigne R, Plessers P, *et al*. Stability analysis of the bacteriophage phiKMV lysin gp36C and its putative role during infection [J]. Cell Mol Life Sci, 2006, 63(16): 1899-1905.

[6] Hertveldt K, Lavigne R, Pleteneva E, *et al*. Genome comparison of Pseudomonas aeruginosa large phages [J]. J Mol Biol, 2005, 354

(3):536-545.
[7] Hoell I A, Dalhus B, Heggset E B, *et al*. Crystal structure and enzymatic properties of a bacterial family 19 chitinase reveal differences from plant enzymes[J]. FEBS J, 2006, 273(21):4889-4900.
[8] Mooers B H, Matthews B W. Extension to 2268 atoms of direct methods in the ab initio determination of the unknown structure of bacteriophage P22 lysozyme[J]. Acta Crystallogr D Biol Crystallogr, 2006, 62(Pt 2):165-176.
[9] 孙卫忠, 胡晓梅, 胡福泉. 噬菌体内溶素的酶学特性及其应用前景[J]. 生命的化学, 2007, 27(1):94-97.
[10] Romero P, Lopez R, Garcia E. Characterization of LytA-like N-acetylmuramoyl-L-alanine amidases from two new Streptococcus mitis bacteriophages provides insights into the properties of the major pneumococcal autolysin[J]. J Bacteriol, 2004, 186(24):8229-8239.
[11] Li Z, Clarke A J, Beveridge T J. A major autolysin of Pseudomonas aeruginosa: subcellular distribution, potential role in cell growth and division and secretion in surface membrane vesicles[J]. J Bacteriol, 1996, 178(9):2479-2488.
[12] Brondsted L, Ostergaard S, Pedersen M, *et al*. Analysis of the complete DNA sequence of the temperate bacteriophage TP901-1: evolution, structure, and genome organization of lactococcal bacteriophages [J]. Virology, 2001, 283(1):93-109.
[13] Loessner M J, Inman R B, Lauer P, *et al*. Complete nucleotide sequence, molecular analysis and genome structure of bacteriophage A118 of Listeria monocytogenes: implications for phage evolution [J]. Mol Microbiol, 2000, 35(2):324-340.
[14] Graschopf A, Blasi U. Molecular function of the dual-start motif in the lambda S holin[J]. Mol Microbiol, 1999, 33(3):569-582.
[15] Loessner M J, Gaeng S, Wendlinger G, *et al*. The two-component lysis system of Staphylococcus aureus bacteriophage Twort: a large TTG-start holin and an associated amidase endolysin[J]. FEMS Microbiol Lett, 1998, 162(2):265-274.
[16] Barenboim M, Chang C Y, dib-Hajj F, *et al*. Characterization of the dual start motif of a class Ⅱ holin gene[J]. Mol Microbiol, 1999, 32(4):715-727.

(编辑 邓强庭)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2008)09-0790-01

以严重骨病为主要表现的原发性干燥综合征1例

王惠明,何娅妮,耿雪峰,任姜汶,李展旭,左洪炜,景 宇 (第三军医大学大坪医院野战外科研究所肾内科,重庆 400042)

干燥综合征(Sjogren's syndrome, SS),是一种主要累及外分泌腺体的慢性炎症性自身免疫病,分为原发性和继发性两类。原发性SS(pSS)是指非继发于另一诊断明确的结缔组织病的SS[1]。pSS临床表现多样,病情轻重亦不同,对于不典型的SS,临床常易漏诊或误诊。本科曾诊治1例以严重骨病、肾小管性酸中毒、顽固性腹泻为主要表现的pSS,现报告如下。

1 临床资料

患者,男性,45岁,因"全身骨痛5年余,四肢肌肉萎缩3年,病情加重1个月"入院。患者自2002年开始出现腰骶部、膝关节、踝关节、肩背部等多部位骨关节进行性疼痛。2004年出现四肢肌肉对称性萎缩,不能站立,活动受限,并伴有顽固性腹泻,体质量下降10 kg以上。患者患病期间曾在外院行骨关节CT、MRI及骨髓穿刺、血尿常规、类风湿因子等多项检查,并诊断为"多发性神经炎、代谢性骨病、肾小管酸中毒、椎管狭窄",行"T_8~T_{10}椎管减压术",术后双下肢疼痛获短暂缓解。患者因尿检发现蛋白尿及顽固酸中毒入本科诊治。入科查体:BP 106/60 mmHg,消瘦,强迫体位,多处肌肉萎缩,双侧第9、10肋骨、T_4~T_5椎体有压痛。血红蛋白102 g/L,血沉5 mm/h,血清钙2.0 mmol/L,血清磷0.45 mmol/L,血肌酐、尿素氮、血糖均正常,AST 50.1 U/L,ALT 62 U/L,自身抗体、肿瘤标志物均为阴性,CRP 12.4 mg/L,甲状旁腺素108.1 pg/ml,动脉血气pH 7.33,碱剩余-9.6 mmol/L,缓冲碱-8.6 mmol/L,尿蛋白(+),尿pH 7,24 h尿蛋白定量0.19 g,尿本周氏蛋白阴性。骨髓穿刺检查提示增生性骨髓象,胸片示右侧第7、8、9肋陈旧性骨折,T_{10}椎体变窄,骶髂关节CT示右侧股骨头囊状低密度区,全身核素骨显像异常增强,示代谢性骨病。泪腺滤纸试验:6 mm/5 min;唇黏膜黏液腺活检示腺体局灶萎缩,间质纤维化伴大量淋巴细胞浸润。肾组织活检示21个肾小球中有10个全球硬化,3个细胞纤维性新月体,球内见单个核细胞浸润,肾小管上皮细胞颗粒及空泡变性,基底膜增厚,可见小管炎,片状肾小管萎缩,间质纤维化,淋巴细胞及浆细胞浸润。入院后详细追问病史,患者在起病之初有间断口干、眼干症状。综合患者病情特点,诊断考虑为:①pSS;②肾小管性酸中毒;③代谢性骨病;④慢性结肠炎。给予口服醋酸泼尼松30 mg/d,强化补钙、磷,口服枸橼酸合剂纠正酸中毒,降钙素10 U肌注,每周3次,营养支持及止泻对症处理。2周后,患者自觉症状明显缓解,骨痛减轻,肌力增强,腹泻缓解,能下床活动,复查尿蛋白为阴性,动脉血气正常,血清钙浓度正常,血清磷升至0.65 mmol/L,血红蛋白112 g/L。继续将醋酸泼尼松渐减量至停服,并加用硫唑嘌呤50 mg/d。患者病情进一步缓解出院。随访3个月病情稳定。

(下转798页)

作者简介:王惠明,男,湖北省仙桃市人,博士,讲师,主要从事细胞免疫耐受维持及逆转方面的研究。电话:(023)66556991, E-mail:hm_wang72@163.com
通信作者:何娅妮,电话:(023)68757821
收稿日期:2008-01-10;修回日期:2008-02-27