

· 临床研究 ·

## 多靶点与静脉环磷酰胺冲击诱导治疗狼疮性肾炎的 Meta 分析

谢志娟, 邓 进<sup>△</sup>

(南华大学附属第一医院肾内科, 湖南衡阳 421001)

**摘要:**目的 评价激素联合霉酚酸酯(MMF)、他克莫司(FK506)多靶点治疗和激素联合静脉环磷酰胺冲击(IVC)诱导治疗狼疮性肾炎(LN)的有效性和安全性。方法 电子检索 PubMed、CMB、CNKI、EMbase、Cochrane 图书馆临床对照试验资料库。收集比较多靶点与 IVC 诱导治疗 LN 的随机对照试验(RCT),根据纳入和排除标准筛选文献,质量评价和提取资料后,应用 Revman 5.1 软件对数据进行 Meta 分析。结果 共纳入 44 个国内进行的 RCT 合计 331 例患者,Meta 分析结果显示多靶点组诱导治疗 V+IV 型 LN 的完全缓解率明显高于 IVC 组( $RR=3.94, 95\%CI 2.10\sim 7.38, P<0.01$ ),但其诱导治疗其他病理类型 LN 患者并没有明显优势。多靶点组胃肠道反应、肝功能异常、白细胞减少、月经失调的发生率明显低于 IVC 组,但新发高血压的发生率高于 IVC 组。另外,与 IVC 组相比,多靶点组患者尿蛋白减少更明显、清蛋白升高更明显,抗双链 DNA 转阴率也较高。结论 对于我国患者,多靶点诱导治疗 V+IV 型 LN 的疗效较 IVC 好,且安全性较高,但仍需更多高质量 RCT 进一步验证。

**关键词:**狼疮肾炎;环磷酰胺;霉酚酸酯;他克莫司;Meta 分析

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.31.010

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)31-3750-04

## A meta-analysis of multiple targets with cyclophosphamide in the induction treatment of lupus nephritis

Xie Zhijuan, Deng Jin<sup>△</sup>

(Department of Nephrology, the First Affiliated Hospital of Nanhua University, Hengyang, Hunan 421001, China)

**Abstract: Objective** To evaluate efficacy and safety of hormone combined mycophenolate mofetil (MMF) and tacrolimus (FK506) multiple targets treatment, hormone combined intravenous cyclophosphamide pulse (IVC) in the induction treatment of lupus nephritis. **Methods** The RCTs of MMF plus FK506 versus IVC in LN were searched from PubMed, EMbase, the Cochrane, CBM, and CNKI. The literature were screened according to include and exclude standards, evaluated the quality of the included studies, and performed meta-analyses using Revman 5.1 software. **Results** It was identified 44 domestic RCTs papers including 331 patients. Meta-analysis showed that multiple target therapy group had significantly superiority to IVC group in the induction treatment of V+IV LN ( $RR=3.94, 95\%CI 2.10\sim 7.38, P<0.01$ ), while with no significant advantage for other pathological types of LN patients. Gastrointestinal reaction, abnormal liver function, the incidence of leukopenia, menstrual disorders in multiple target therapy group were significantly lower than that of IVC group for LN, while the incidence of new hypertension group was significantly higher than the IVC group. Moreover, multiple target therapy group could significantly reduce urine protein, increase serum albumin and had a significantly higher anti-dsDNA negative conversion rate compared with IVC group. **Conclusion** Multiple target therapy is more effective than IVC for V+IV LN in Chinese patients and with better security. Further large-scale RCTs are needed to confirm these results.

**Key words:** lupus nephritis; cyclophosphamide; mycophenolate mofetil; tacrolimus; meta-analysis

狼疮性肾炎(LN)是系统性红斑狼疮(SLE)常见的并发症,且预后不良<sup>[1]</sup>。LN的主要治疗目标是诱导缓解肾脏病变,从而延缓终末期肾脏病的发生。以往的研究表明:达到完全缓解的患者,比达到部分缓解的患者,尤其是比不缓解的患者拥有更好的临床预后<sup>[2-4]</sup>。所以,为了达到更好的治疗效果,通过诱导治疗达到完全缓解显得至关重要。近几十年,免疫抑制剂的使用已经大大提高了LN患者的缓解率和长期肾存活率。然而,对于并发增殖性病变和膜性病变的LN患者的治疗仍是一个难题<sup>[5]</sup>。有研究表明激素联合静脉环磷酰胺冲击(IVC)诱导治疗V+IV型LN的缓解率只有21%~27%<sup>[6-7]</sup>。即使使用激素联合霉酚酸酯(MMF)或他克莫司(FK506)诱导治疗V+IV型LN的完全缓解率也只有20%和21.1%<sup>[8-9]</sup>。为了探索一种诱导治疗V+IV型LN更有效的方法, Bao等<sup>[10]</sup>提出了多靶点治疗方案,即联合使用激素、MMF和FK506。结果显示:多靶点组6个月和9个月的完全缓解率明显高于IVC组,前者分别为50%和65%,而后者只有5%和15%。

而且,多靶点治疗组的不良反应也少一些。近期,也有前瞻性研究比较了多靶点和IVC诱导治疗单纯增殖性或膜性病变更LN的有效性和安全性<sup>[11-13]</sup>,其样本量少且纳入患者的病理类型也不相同,本文通过对有关比较多靶点和IVC诱导治疗LN的RCT进行Meta分析,以更好的评价其诱导治疗不同病理类型LN的有效性和安全性。

## 1 资料与方法

**1.1 纳入与排除标准** 纳入标准:(1)诊断符合1997年美国风湿病协会SLE的诊断标准,根据2003年ISN/RPS的诊断标准经肾穿刺活检证实病理类型为Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ、Ⅵ或Ⅶ型LN患者;(2)研究比较激素联合使用MMF、FK506和激素联合IVC诱导治疗LN的有效性和安全性。排除标准:回顾性研究和非RCT。

**1.2 文献检索及筛选** 计算机检索PubMed, EMbase, Cochrane 图书馆临床对照试验资料库和CBM, CNKI(检索时间为建库至2012年12月),手工检索相关文献。英文检索词包

括 lupus nephritis、glomerulonephritis、lupus erythematosus nephritis、tacrolimus、prograf、FK506、mycophenolate mofetil；中文检索词包括狼疮(性)肾炎、霉酚酸酯、骁悉、他克莫司、普乐可复,同时查阅纳入文献的参考文献,以补充可能遗漏的研究。由 2 名评价员独立按照文题初筛、摘要筛选、全文筛选等步骤进行文献筛选,如有分歧,通过双方讨论解决。

**1.3 数据提取** 2 名研究者按照本课题设计的方法提取资料,分别进行资料提取,采用讨论解决分歧,遇到资料缺乏时,与作者联系予以补充缺乏的资料。提取的主要资料包括:研究对象的基本情况、干预治疗的措施、结局指标、相关定义等。

**1.4 文献质量评价** 参照 Jadad 5 分评分法对纳入文献进行质量评价<sup>[14-15]</sup>。5 条标准每条 1 分:(1)是否遵循随机原则;(2)是否选择正确的随机方法;(3)是否采用双盲法;(4)是否选择正确的双盲方法;(5)是否记录了失访、退出的患者及理由。2 分以下为低质量的研究,大于或等于 3 分为高质量的研究<sup>[15-16]</sup>。2 名研究者各自评价纳入文献的质量,如有分歧,通过双方讨论解决。

**1.5 数据分析** 采用 RevMan5.1 软件进行统计分析<sup>[16]</sup>,对二分类资料采用相对危险度(RR)及 95%可信区间(CI)表示,对于连续性资料采用标准化均数差(MD)及 95%CI 表示。对纳入研究进行临床异质性评价,如无明显临床异质性,则采用卡方检验( $P < 0.1$  表示有显著异质性)定性和  $I^2$  定量( $I^2 > 50\%$  表示有显著异质性)评价异质性<sup>[17]</sup>。若各研究间无统计学异质性,则采用固定效应模型进行合并分析;若存在异质性,则应用随机效应模型进行合并分析。针对不同病理类型的 LN 患者采用亚组分析。

**2 结 果**

**2.1 检索结果** 根据检索策略,共检索到相关文献 225 篇,其中包括 202 篇英文文献和 23 篇中文文献。通过阅读文题和摘要,作者排除了 219 篇文献,其中包括重复文献、回顾性研究、基础研究、病例报告和非 RCT。剩下的 6 篇文献,作者仔细阅

读了全文。其中 1 篇比较 FK506 和 MMF 疗效的文献以及 1 篇比较 FK506、MMF、CYC 疗效的文献被排除<sup>[16-17]</sup>。最终,4 篇符合要求的文献被纳入本 Meta 分析中,其中包括 1 篇英文和 3 篇中文文献。

**2.2 纳入研究的基本特征及质量评价** 纳入研究的基本情况 & Jadad 评分见表 1。4 项研究共纳入 331 例患者,其中女 280 例,多靶点诱导治疗的有 187 例,IVC 治疗的有 144 例。平均年龄 25.1~30.6 岁,研究持续时间 9~18 个月。纳入的研究均为随机对照试验,但只有 1 项研究阐明了具体随机方法<sup>[10]</sup>,有 3 项研究报道了退出和失访的情况<sup>[10,12-13]</sup>,4 项研究均未使用盲法。

**2.3 各项指标分析结果**

**2.3.1 多靶点与 IVC 诱导治疗 LN 的有效性** 纳入的 4 项研究间无统计学异质性,使用固定效应模型进行分析,Meta 分析结果显示多靶点组的完全缓解率较 IVC 组高( $RR=1.84,95\%CI 1.41\sim 2.40, P < 0.01$ )。亚组分析显示:对于 V+IV 型 LN,多靶点组的完全缓解率高于 IVC 组( $RR=3.94,95\%CI 2.10\sim 7.38, P < 0.01$ );对于其他病理类型的 LN 患者,多靶点治疗无明显优势,见图 1。多靶点组与 IVC 组相比,尿蛋白明显减少 ( $MD = -1.28, 95\%CI -1.95 \sim -0.61, P = 0.0002$ ),见图 2;血清清蛋白明显升高( $MD=3.24,95\%CI 1.18\sim 5.30, P = 0.002$ ),见图 3。多靶点组抗双链 DNA 转阴率明显高于 IVC 组( $RR=1.51,95\%CI 1.03\sim 2.19, P = 0.03$ ),两组的补体 C3 正常化的比率无明显差异( $RR=1.19,95\%CI 0.84\sim 1.68, P = 0.32$ ),见图 4。

**2.3.2 多靶点与 IVC 诱导治疗 LN 的安全性** 多靶点和 IVC 诱导治疗 LN 的不良反应见表 2。各研究间无统计学异质性( $I^2 = 0\%, 27\%$ )采用固定效应模型进行分析。Meta 分析显示:多靶点组胃肠道反应、肝功能异常、白细胞减少和月经失调的发生率明显低于 IVC 组,新发高血压的发生率高于 IVC 组,两组之间感染、脱发、高血糖的发生率没有差异。

表 1 纳入研究的基本情况

项目	鲍浩等 <sup>[11]</sup>	Bao 等 <sup>[10]</sup>	鲍浩等 <sup>[12]</sup>	胡伟新等 <sup>[13]</sup>
性别(M/F)	M:12/50 C:4/26	M:4/16 C:2/18	M:13/47 C:6/54	M:6/39 C:4/30
年龄(岁)	M:25.2±8.9 C:28.9±8.4	M:27.2±7.1 C:30.6±4.6	M:27.1±10.2 C:29.9±7.7	M:25.1±9.4 C:30.5±8.9
尿蛋白定量	M:80.6% <sup>a</sup> C:70.0% <sup>a</sup>	M:4.41±1.95 C:4.10±1.20	M:3.96±2.29 C:3.63±1.98	M:3.5±2.0 C:3.6±2.0
血肌酐	M:12.9% <sup>b</sup> C:20.0% <sup>b</sup>	M:0.87±0.21 C:0.89±0.30	M:0.86±0.34 C:0.86±0.30	M:0.82±0.26 C:0.86±0.35
血清清蛋白(g/L)	M:24.9±6.0 C:23.7±6.2	M:23.9±5.7 C:24.6±3.9	M:27.4±6.2 C:28.2±5.7	M:30.7±6.5 C:28.8±6.5
抗双链 DNA 阳性率[n(%)]	M:38(61.3) C:23(76.7)	M:12(60) C:12(60)	M:46(76.7) C:38(63.3)	M:17(37.7) C:13(38.2)
补体 C3<0.79 g/L[n(%)]	M:59(95.2) C:28(93.3)	M:20(100) C:19(95)	M:53(88.3) C:52(86.7)	M:0.59±0.26° C:0.53±0.23°
病理类型(Ⅲ/Ⅳ/V/V+Ⅲ/V+Ⅳ)	M:0/16/11/13/22 C:0/18/2/2/8	M:0/0/0/0/20 C:0/0/0/0/20	M:4/25/7/6/18 C:3/27/7/5/18	M:0/18/0/11/16 C:0/13/0/9/12

续表 1 纳入研究的基本情况

项目	鲍浩等 <sup>[11]</sup>	Bao 等 <sup>[10]</sup>	鲍浩等 <sup>[12]</sup>	胡伟新等 <sup>[13]</sup>
狼疮活动指数	M:14.0±6.6 C:16.4±6.2	M:14.9±4.0 C:14.0±2.4	M:16.5±5.3 C:15.6±5.8	—
治疗方法	M:诱导治疗剂量 FK506(3~4 mg/d),MMF(0.75~1 g/d),维持剂量 FK506(1.5~2 mg/d),MMF(0.5~0.75 mg/d) C:IVC 0.5~1 g/m <sup>2</sup> ,每月冲击 1 次,连续 6~9 个月,然后硫唑嘌呤(AZA)1~2 mg·kg <sup>-1</sup> ·D <sup>-1</sup> 维持所有患者均接受甲泼尼龙冲击后口服泼尼松治疗维持	M:FK506 3~4 mg/d 维持血药浓度 5~7 ng/mL,MMF 0.75~1 g/d,维持 AUC 0~12 h.MPA 浓度 20~45 mg·h/L C:IVC 0.5~1 g/m <sup>2</sup> ,每个月冲击 1 次,连续 6~9 个月。所有患者均接受甲泼尼龙冲击后口服泼尼松治疗维持	M:FK506 3~4 mg/d,维持血药浓度 5~7 ng/mL,MMF 0.75~1 g/d,维持 AUC 0~12 h.MPA 浓度 20~45 mg·h/L C:IVC 0.5~1 g/m <sup>2</sup> ,每个月冲击 1 次,连续 6~9 个月。所有患者均接受甲泼尼龙冲击后口服泼尼松治疗维持	M:FK506 4 mg/d,维持血药浓度 4~7 ng/mL,MMF 1 g/d,维持 AUC 0~12 h,MPA 浓度 20~30 mg·h/L C:IVC 0.5~1 g/m <sup>2</sup> ,每个月冲击 1 次,连续 6~9 个月。所有患者均接受甲泼尼龙冲击后口服泼尼松治疗维持
治疗持续时间(月)	18	9	9	9
完全缓解的赋值	尿蛋白小于 0.4 g/24 h,血清清蛋白大于或等于 35 g/L,血肌酐水平不超过基线值的 15%	尿蛋白小于 0.4 g/24 h,血清清蛋白大于或等于 35 g/L,血肌酐水平不超过基线值的 15%	尿蛋白小于 0.4 g/24 h,血清清蛋白大于或等于 35 g/L,血肌酐水平不超过基线值的 15%	尿蛋白小于 0.4 g/24 h,血清清蛋白大于或等于 35 g/L,血肌酐水平正常
Jadad 评分(分)	1	3	2	2

M:多靶点组;C:IVC 组;MP:甲基强的松龙;AUC:时间浓度曲线面积;SLE-DAI:狼疮活动指数;a:尿蛋白定量大于或等于 3.0 g/24 h 的患者比率;b:血肌酐大于或等于 1.24 mg/dL 的患者比率;c:均数±标准差(M±SD);—:此项无数据。

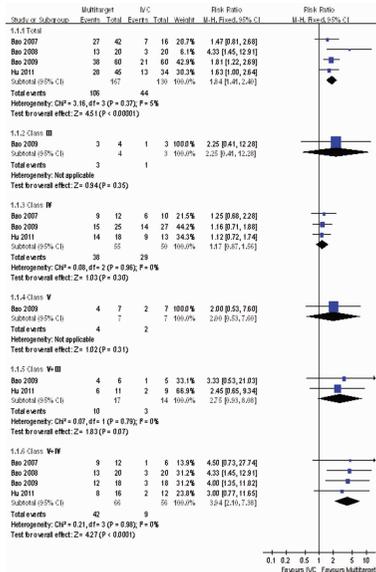


图 1 多靶点和 IVC 诱导治疗不同病理类型 LN 完全缓解率的比较

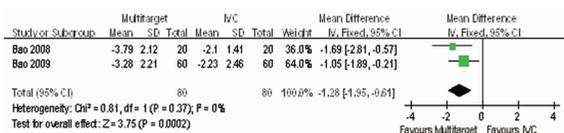


图 2 多靶点与 IVC 诱导治疗 LN 尿蛋白的比较

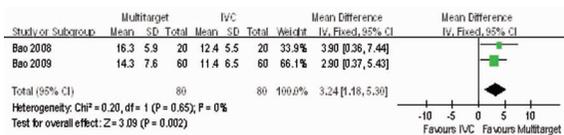


图 3 多靶点与 IVC 诱导治疗 LN 血清清蛋白的比较

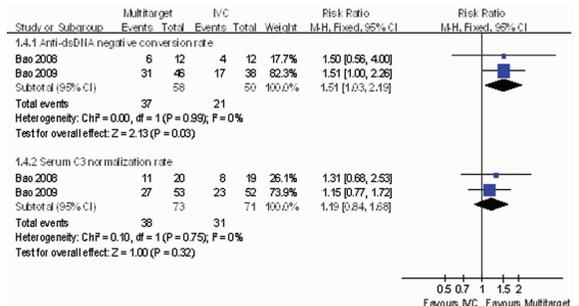


图 4 多靶点与 IVC 诱导治疗 LN 抗双链 DNA 转阴率和补体 C3 正常化比率的比较

表 2 Meta 分析显示的不良反应

不良反应	研究	多靶点治疗组	IVC 治疗组	异质性 (P, I <sup>2</sup> )	RR	95%CI	P
胃肠道反应	4	11/187	40/144	0.25, 27%	0.23	0.13~0.42	0.01
肝功能异常	4	7/187	14/144	0.93, 0%	0.37	0.15~0.92	0.03
白细胞减少	4	9/187	22/144	0.67, 0%	0.30	0.14~0.61	0.001
感染	4	34/187	40/144	0.54, 0%	0.67	0.45~1.00	0.05
月经失调	4	2/152	17/128	0.94, 0%	0.16	0.05~0.55	0.003
脱发	4	11/187	17/144	0.57, 0%	0.49	0.23~1.04	0.06
高血糖	4	7/187	2/144	0.45, 0%	1.90	0.57~6.38	0.30
新发高血压	4	25/187	0/144	0.99, 0%	9.98	2.37~41.97	0.002

### 3 讨论

LN 的肾脏损害由早期的轻微损害,逐渐进展到肾小球硬化,最后导致终末期肾病的发生。Najafi 等<sup>[6]</sup>研究发现 LN 的缓解率与病理类型密切相关,Vc(V+Ⅲ型)和 Vd(V+IV

型) LN 患者的缓解率只有 27%, 随访时间为 (120±65) 个月。Sloan 等<sup>[7]</sup>报道的 Vc (≥50%) 和 Vd LN 患者的缓解率也只有 21%, 随访时间为 (2.7±5.4) 年。显然, 对这一病理类型 LN 的治疗仍面临着艰难的挑战。MMF 可以选择性抑制淋巴细胞增殖, 目前已有多项研究和 Meta 分析证实了该药在 LN 的诱导缓解和维持缓解阶段均有效<sup>[18-23]</sup>, 且不良反应较少。FK506 是一种新型的钙调磷酸酶抑制剂, 能同时抑制细胞免疫和体液免疫。国内有多项研究证实了该药诱导治疗 LN 的疗效<sup>[17,24-25]</sup>。MMF 和 FK506 联合用于器官移植患者的治疗已有多年<sup>[26]</sup>, 并且已证实了它们对肾脏移植早期的细胞和体液免疫排斥反应有效<sup>[27]</sup>。

为了评价多靶点和 IVC 诱导治疗 LN 不同病理类型的有效性和安全性, 作者采用了亚组分析。Meta 结果显示多靶点诱导治疗 V+IV 型 LN 的完全缓解率明显优于 IVC, 但是对于其他病理类型 LN 的诱导治疗并没有优势。多靶点组胃肠道反应、肝功能异常、白细胞减少、月经失调的发生率明显低于 IVC 组, 但新发高血压的发生率高于 IVC 组, 两组之间感染、脱发和高血糖的发生率无明显差异。另外, 与 IVC 组比较, 多靶点组尿蛋白降低、血清清蛋白升高更明显, 抗双链 DNA 转阴率也明显高于后者。

本 Meta 分析有以下几点不足: (1) 纳入的研究数量以及样本量均较小。因此还需要大规模的 RCT 来证实这些结论; (2) 纳入研究的质量偏低, 只有 1 篇高质量文章, 并且都没有采用盲法; (3) 纳入研究的研究对象都是中国人, 对于其他国家、地区患者, 多靶点诱导治疗 LN 的有效性和安全性有待进一步验证; (4) 纳入研究的随访时间均较短, 多靶点诱导治疗 LN 的长期疗效和安全性有待进一步研究。

总之, 对于我国患者, 多靶点诱导治疗 LN 比 IVC 更有效, 且安全性较高, 但仍需更多高质量、大样本研究进一步证实。

#### 参考文献:

- [1] Waldman M, Appel G. Update on the treatment of lupus nephritis[J]. *Kidney Int*, 2006, 70(8): 1403-1412.
- [2] Drenkard C, Villa A, Alarcon-Segovia D, et al. Influence of the antiphospholipid syndrome in the survival of patients with systemic lupus erythematosus [J]. *J Rheumatol*, 1994, 21(6): 1067-1070.
- [3] Korbet SM, Lewis EJ, Schwartz MM, et al. Factors predictive of outcome in severe lupus nephritis [J]. *Am J Kidney Dis*, 2000, 35(5): 904-914.
- [4] Chen YE, Korbet SM, Katz RS, et al. Value of a complete or partial remission in severe lupus nephritis [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2008, 3(1): 46-53.
- [5] Weening JJ, Dagtiv V, Schwartz MM, et al. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited [J]. *Kidney Int*, 2004, 65(2): 521-530.
- [6] Najafi CC, Korbet SM, Lewis EJ, et al. Significance of histologic patterns of glomerular injury upon long-term prognosis in severe lupus glomerulonephritis [J]. *Kidney Int*, 2001, 59(6): 2156-2163.
- [7] Sloan R, Schwartz M, Korbet S, et al. Long-term outcome in systemic lupus erythematosus membranous glomerulonephritis. lupus nephritis collaborative study Group [J]. *J Am Soc Nephrol*, 1996, 7(2): 299-305.
- [8] 刘春蓓, 胡伟新, 谢红浪, 等. 霉酚酸酯与环磷酰胺治疗 IV 型伴 V 型狼疮性肾炎的疗效比较 [J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 2006, 15(1): 1-6.
- [9] 章海涛, 胡伟新, 谢红浪, 等. 前瞻性比较普乐可复与环磷酰胺诱导治疗 V 型伴 IV 型狼疮性肾炎的疗效 [J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 2006, 15(6): 508-514.
- [10] Bao H, Liu ZH, Xie HL, et al. Successful treatment of class V + IV lupus nephritis with multitarget therapy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2008, 19(10): 2001-2010.
- [11] 鲍浩, 章海涛, 张馨, 等. 难治性狼疮性肾炎多靶点治疗前瞻性临床研究 [J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 2007, 16(1): 5-13.
- [12] 鲍浩, 刘志红, 胡伟新, 等. 多靶点诱导治疗增殖性和膜性狼疮性肾炎前瞻对照性临床研究 [J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 2009, 18(3): 201-206.
- [13] 胡伟新, 陈樱花, 刘正钊, 等. 激素联合赛可平和他克莫司治疗狼疮性肾炎的前瞻性临床研究 [J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 2011, 20(4): 301-306.
- [14] Jadad AR, Moore RA, Carroll D, et al. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary [J]. *Control Clin Trials*, 1996, 17(1): 1-12.
- [15] Kjaergard LL, Villumsen J, Gluud C. Reported methodologic quality and discrepancies between large and small randomized trials in meta-analyses [J]. *Ann Intern Med*, 2001, 135(11): 982-989.
- [16] Mok CC, Ying S, Yim CW, et al. Tacrolimus (Tac) versus mycophenolate mofetil (MMF) for the treatment of membranous lupus nephritis: A randomized controlled trial (Conference Abstract) [J]. *Lupus*, 2010, 19(1): 16-20.
- [17] Li X, Ren H, Zhang Q, et al. Mycophenolate mofetil or tacrolimus compared with intravenous cyclophosphamide in the induction treatment for active lupus nephritis [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2011, 30(1): 1-6.
- [18] Zhu B, Chen N, Lin Y, et al. Mycophenolate mofetil in induction and maintenance therapy of severe lupus nephritis: a meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2007, 22(7): 1933-1935.
- [19] Lee Y, Woo J, Choi S, et al. Induction and maintenance therapy for lupus nephritis: a systematic review and meta-analysis [J]. *Lupus*, 2010, 19(6): 703-710.
- [20] Dooley MA, Jayne D, Ginzler EM, et al. Mycophenolate versus azathioprine as maintenance therapy for lupus nephritis [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(20): 1886-1895.
- [21] Chan TM, Li FK, Tang CSO, et al. Efficacy of mycophenolate mofetil in patients with diffuse proliferative lupus nephritis [J]. *N Engl J Med*, 2000, 343(16): 1156-1162.
- [22] Chan TM, Tse KC, Tang CSO, et al. Long-term study of mycophenolate mofetil as continuous induction and maintenance treatment for diffuse proliferative lupus nephritis [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2005, 16(4): 1076-1084.
- [23] Appel GB, Contreras G, Dooley MA, et al. Mycophenolate mofetil versus cyclophosphamide for induction treatment of lupus nephritis [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20(5): 1103-1112.

下倍增,而在哺乳细胞培养条件下却能繁殖<sup>[11-12]</sup>。作者采用 Ciftcioglu 等<sup>[7]</sup>介绍的方法和培养条件分别对上尿路结石患者的血清、尿液、结石和健康者的血清、尿液进行培养,在 4~6 周后,部分培养管里陆续出现白色(黄色)的絮状物,其中部分管底附有白色(黄色)沉淀,而生理盐水、 $\gamma$ -FBS 和 PMBI 1640 对照组则未出现。所有出现白色(黄色)的絮状物或附有白色(黄色)沉淀的样本,随后的 PCR 检测均为阳性,证实了特殊环境的培养,是鉴定纳米细菌的重要方式之一。但其所需时间较长,临床使用不便,故需进一步改进方法或结合其他方式来缩短鉴定周期。

在纳米细菌的进一步鉴定方面,作者根据 NCBI 基因库里纳米细菌的基因序列(X98419)设计了相应引物,对培养液进行 PCR 检测,将 PCR 产物进行测序比对的结果显示,与基因库里纳米细菌的序列吻合率达 98.72%,证实了 PCR 产物即是纳米细菌,说明 PCR 检测纳米细菌是可行的,这与国内外的一些学者研究结果相似<sup>[13-14]</sup>。但也有学者未能扩增出目标序列,这可能与引物设计缺乏特异性或标本处理不当等有关。PCR 检测发现健康者血清的纳米细菌的阳性率为 6.7%,这与国内王学军等<sup>[15]</sup>采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测的结果相近,但明显低于上尿路结石患者的血清、尿液和结石纳米细菌 90.4%、92.8%、95.2%的阳性率。结石患者血清、尿液和结石中的高阳性率提示纳米细菌在上尿路结石形成中具有重要的作用,以至于 Kajander 等<sup>[6]</sup>推论肾结石的形成是由纳米细菌感染造成的,就像幽门螺旋杆菌导致消化性溃疡一样,起始因素为细菌感染,内源性的因素和饮食环境因素影响它们的进展。但其具体的机制和更多的证据尚需要进一步研究发现,下一步作者准备构建纳米细菌致上尿路结石的动物模型,深入研究纳米细菌在结石形成中的具体作用。

#### 参考文献:

- [1] Kajander EO, Ciftcioglu N. Nanobacteria: an alternative mechanism for pathogenic intra- and extracellular calcification and stone formation[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998, 95(14): 8274-8279.
- [2] Cisar JO, Xu DQ, Thompson J, et al. An alternative interpretation of Nanobacteria induced biomineralization[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000, 97(2): 1511-1515.
- [3] Guo Y, Zhang D, Lu H, et al. Association between calcifying anoparticles and placental calcification [J]. Int J Nanomedicine, 2012, 13(7): 1679-1686.
- [4] 那彦群. 中国泌尿外科疾病诊断治疗指南[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 166-167.
- [5] Jelic TM, Chang HH, Roque R, et al. Nanobacteria-associated calcific aortic valve stenosis[J]. Heart Valve Dis, 2007, 16(1): 101-105.
- [6] Kajander EO, Ciftcioglu N, Aho K, et al. Characteristics of nanobacteria and their possible role in stone formation [J]. Urol Res, 2003, 31(2): 47-54.
- [7] Ciftcioglu N, Bjorklund M, Kuorikoski K, et al. Nanobacteria; an infectious cause for kidney stone formation[J]. Kidney Int, 1999, 56(5): 1893-1898.
- [8] Shiekh FA, Khullar M, Singh SK. Lithogenesis: induction of renal calcifications by nanobacteria[J]. Urol Res, 2006, 34(1): 53-57.
- [9] Hadley MW, Daniel AS. The role of nanobacteria in urologic disease[J]. World J Urol, 2006, 24(2): 51-54.
- [10] 于澄钊, 黄晓波, 陈亮, 等. 纳米细菌对肾小管上皮细胞的损伤及晶体滞留的影响[J]. 北京大学学报: 医学版, 2010, 42(4): 436-442.
- [11] Khullar M, Sharma SK, Singh SK, et al. Morphological and immunological characteristics of nanobacteria from human renal stones of a north Indian population [J]. Urol Res, 2004, 32(3): 190-195.
- [12] Barr SC, Linke RA, Janssen D, et al. Detection of biofilm formation and nanobacteria under long-term cell culture conditions in serum samples of cattle, goats, cats, and dogs[J]. Am J Vet Res, 2003, 64(2): 176-182.
- [13] 唐金元, 周占松, 沈学成, 等. III型前列腺炎纳米细菌快速检测方法研究及临床评价[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(6): 608-610.
- [14] Kim TH, Kim HR, Myung SC. Detection of nanobacteria in patients with chronic prostatitis and vaginitis by reverse transcriptase polymerase chain reaction[J]. Korean J Urol, 2011, 52(3): 194-199.
- [15] 王学军, 刘威, 杨竹林, 等. 部分健康成年人群血清中纳米细菌感染的调查[J]. 中华流行病学杂志, 2004, 25(6): 492-494.

(收稿日期: 2013-06-25 修回日期: 2013-07-20)

(上接第 3753 页)

- [24] Chen W, Tang X, Liu Q, et al. Short-term outcomes of induction therapy with tacrolimus versus cyclophosphamide for active lupus nephritis: A multicenter randomized clinical trial[J]. Am J Kidney Dis, 2011, 57(2): 235-244.
- [25] 章海涛, 胡伟新, 谢红浪, 等. 普乐可复与环磷酰胺诱导治疗 IV 型狼疮性肾炎的疗效比较[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2006, 15(6): 501-507.
- [26] Ahsan N, Johnson C, Gonwa T, et al. Randomized trial of tacrolimus plus mycophenolate mofetil or azathioprine

versus cyclosporine oral solution (modified) plus mycophenolate mofetil after cadaveric kidney transplantation: results at 2 years[J]. Transplant, 2001, 72(2): 245-247.

- [27] Sun Q, Liu Z, Cheng Z, et al. Treatment of early mixed cellular and humoral renal allograft rejection with tacrolimus and mycophenolate mofetil[J]. Kidney Int, 2006, 71(1): 24-30.

(收稿日期: 2013-06-10 修回日期: 2013-07-15)