

外阴上皮内非瘤样病变患者 MTHFR C677T 基因多态性研究

范雪婷, 常淑芳, 孙江川

(重庆医科大学附属第二医院妇产科, 重庆 400010)

【摘要】目的:探讨外阴上皮内非瘤样病变(nonneoplastic epithelial disorders of vulva, NNEDV)的发生与 N5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR) C677T 基因多态性的关系及可能机制。**方法:**回顾性分析 2016 年 8 月至 2018 年 6 月于我院就诊最终经活检确诊为 NNEDV 的患者共 60 例(研究组)及同时期健康体检女性 46 例(对照组),比较 2 组中 MTHFR C677T 基因多态性差异及不同病理类型的 NNEDV 患者血清叶酸、血同型半胱氨酸及 MTHFR C677T 基因多态性差异。其中研究组包括外阴慢性单纯性苔藓(lichen simplex chronicus, LSC)患者 21 例,外阴硬化性苔藓(lichen sclerosus, LS)患者 39 例。**结果:**研究组 MTHFR 677TT 基因型所占比例(13.3%)及 T 等位基因比率(38.3%)均较对照组(4.3%, 21.7%)明显升高,差异均有统计学意义($\chi^2=6.851, P=0.033; \chi^2=6.688, P=0.010$); LSC 患者 MTHFR 677TT 基因型比率(23.8%)及 T 等位基因比率(45.2%)较对照组明显升高,差异均有统计学意义($\chi^2=7.572, P=0.023; \chi^2=7.717, P=0.005$); LS 患者 MTHFR 677TT 基因型比率(7.7%)及 T 等位基因比率(34.6%)介于对照组与 LSC 患者间,两两比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。与 CC 基因型相比,CT、TT 基因型可能增加 NNEDV 发生的风险,其 OR 值分别为 2.386(95%CI=1.046~5.443)和 5.091(95%CI=0.981~26.430)。在 MTHFR 677CC 型、CT 型及 TT 型患者中,随着突变基因 T 的增加,其血清叶酸逐渐下降,差异有统计学意义($F=4.386, P=0.018$),血同型半胱氨酸逐渐升高,差异有统计学意义($F=4.978, P=0.012$),不同病理类型的 NNEDV 患者血清叶酸及血同型半胱氨酸水平均无明显统计学差异($P>0.05$)。**结论:**MTHFR C677T 基因突变导致的血清叶酸及血同型半胱氨酸代谢障碍可能与 LSC 的发生有关。

【关键词】N5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶;基因多态性;外阴上皮内非瘤样病变;血清叶酸;血同型半胱氨酸

【中图分类号】R711.72

【文献标志码】A

【收稿日期】2018-11-10

MTHFR C677T gene polymorphism in patients with nonneoplastic epithelial disorders of vulva

Fan Xueting, Chang Shufang, Sun Jiangchuan

(Department of Gynecology and Obstetrics, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To examine the relationship between N5,10-methylenetetrahydrofolate reductase(MTHFR) C677T gene polymorphism and nonneoplastic epithelial disorders of vulva(NNEDV), and its possible mechanism of action. **Methods:** The clinical data of 60 patients NNEDV confirmed by biopsy(study group) and 46 healthy women(control group) in our hospital between August 2016 to June 2018 were reviewed. MTHFR C677T gene polymorphism was compared between the two groups. In addition, MTHFR C677T gene polymorphism and serum folic acid and serum homocysteine levels were also compared between patients with different histopathologic types of NNEDV. The study group included 21 cases of vulvar lichen simplex chronicus(LSC) and 39 cases of vulvar lichen sclerosus(LS). **Results:** The frequencies of the MTHFR 677TT genotype and T allele were significantly increased in the study group(13.3% and 38.3%, respectively) than in the control group(4.3% and 21.7%, respectively) ($\chi^2=6.851, P=0.033; \chi^2=6.688, P=0.010$, respectively). Compared with the control group, LSC patients had significantly increased frequencies of MTHFR 677TT genotype(23.8%) and T allele(45.2%) ($\chi^2=7.572, P=0.023; \chi^2=7.717, P=0.005$, respectively). In contrast, there no significant differences in the frequencies of the MTHFR 677TT genotype(7.7%) and T allele(34.6%) between LS patients and controls(both $P>0.05$). Compared with the CC genotype, the CT($OR=2.386, 95\%CI=1.046$ to 5.443) and TT($OR=5.091, 95\%CI=0.981$ to 26.430) genotypes might increase the risk of NNEDV. In patients with the MTHFR 677CC, CT, and TT genotypes, serum folic acid level significantly decreased ($F=4.386, P=0.018$) and serum homocysteine level significantly increased ($F=4.978, P=0.012$) as the number of T mutations increased. However, there were no sig-

作者简介: 范雪婷, Email: 438131799@qq.com,

研究方向: 外阴及宫颈病变。

通信作者: 常淑芳, Email: shfch2005@163.com。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20190510.1529.068.html>

(2019-05-13)

nificant differences in serum folic acid and homocysteine levels between LSC and LS patients (both $P>0.05$). **Conclusion**: Serum folic acid and homocysteine dysmetabolism induced by MTHFR677T gene mutation may be associated with the development of LSC.

【Key words】N5,10-methylenetetrahydrofolate reductase; genetic polymorphism; nonneoplastic epithelial disorders of vulva; serum folic acid; serum homocysteine

外阴上皮内非瘤样病变 (nonneoplastic epithelial disorders of vulva, NNEDV) 是一组女性外阴皮肤和黏膜组织发生色素改变的慢性疾病, 亦称外阴白色病变或外阴营养不良。2011 年 ISSVD 基于临床分类为外阴慢性单纯性苔藓 (lichen simplex chronicus, LSC) 及外阴硬化性苔藓 (lichen sclerosus, LS)。临床症状主要表现为外阴瘙痒及外阴烧灼感, 严重时可出现性交及排尿障碍, 外阴皮肤黏膜可出现萎缩、增厚或色素改变等, 严重影响生活质量。该病病因不明, 目前治疗手段主要以对症为主, 但治疗后症状容易反复, 远期复发率达 28.65%^[1], 提示针对该病的病因研究十分必要。

NNEDV 有遗传倾向, 临床发现在 NNEDV 患者中经常出现母女、姐妹或双胞胎姐妹同时或先后发病情况, 同时研究发现人类白细胞抗原可能与 NNEDV 的发生相关^[2], 提示其可能为免疫遗传性疾病, 另外在 NNEDV 患者中存在细胞异常增殖现象^[3], 所以我们推测 NNEDV 的发生可能是多基因调控的结果。前期研究发现, 叶酸的缺乏可能与 NNEDV 发生相关。而叶酸缺乏常见原因有叶酸摄入不足及叶酸代谢障碍, 亚甲基四氢叶酸还原酶 (methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR) 是叶酸代谢通路的关键酶, MTHFR677 是编码 MTHFR 基因最常见的突变位点之一, 该位点突变可能导致 MTHFR 活性及耐热性下降, 从而影响叶酸代谢。鉴于 NNEDV 的发生可能与多基因调控相关, 而 NNEDV 患者体内存在叶酸缺乏现象, 那么影响叶酸代谢的 MTHFR677 位点突变与 NNEDV 的发生是否存在相关性, 目前暂未发现关于 NNEDV 患者 MTHFR677T 基因多态性研究的文献报道。

本研究采用病例对照的方法, 比较 2016 年 8 月至 2018 年 6 月于我院就诊的 NNEDV 患者及同时期健康体检女性中 MTHFR677T 基因分布情况, 探讨 NNEDV 与 MTHFR677T 基因多态性关系及 MTHFR677 位点突变对叶酸及同型半胱氨酸的影响, 由于不同病理类型 NNEDV 病因及发病机制不

尽相同, 本研究同时比较了不同病理类型 NNEDV 患者 MTHFR677T 基因多态性差异及血清叶酸、血同型半胱氨酸水平。

1 资料与方法

1.1 研究对象

研究组: 重庆地区 2016 年 8 月至 2018 年 6 月于重庆医科大学附属第二医院妇科就诊, 根据临床表现及外阴活检最终诊断为 NNEDV 且行 MTHFR677T 基因检测的患者, 共 60 例。其中 LSC 患者 21 例, LS 患者 39 例。研究组中同意接受血清叶酸测定的患者有 51 位, 接受血同型半胱氨酸检测的有 42 位。对照组: 同时期于我院体检的非 NNEDV 女性, 共 46 例。排除标准: 妊娠期及哺乳期; 有高血压、冠心病、糖尿病、高脂血症、复发性流产、甲状腺疾病及不良孕产史; 有其他免疫性疾病及恶性肿瘤病史。比较研究组及对照组中 MTHFR677T 基因多态性差异及不同病理类型 NNEDV 患者血清叶酸、血同型半胱氨酸及 MTHFR677T 基因多态性差异。该研究经重庆医科大学附属第二医院伦理委员会审批同意进行 (2018 年科伦审第 [24] 号)。

1.2 研究方法

1.2.1 MTHFR677T 基因型测定 采用深圳奥萨医疗有限公司生产的基因检测试剂盒, 通过 PCR 荧光探针法测定 MTHFR677T 基因型。基于 PCR 扩增后收集得到的荧光信号分析结果, 并根据结果判读为 CC 型、CT 型和 TT 型。

1.2.2 血清叶酸及血同型半胱氨酸检测方法 取患者空腹静脉血, 血清叶酸水平采用化学发光法测定, 测定仪器为 Beckman Coulter 生化免疫一体化系统及配套试剂盒检测; 血同型半胱氨酸水平采用循环酶法测定, 测定仪器为美康生物科技有限公司的生化分析仪及配套试剂盒检测。所有操作均根据试剂盒及仪器操作说明书进行。

1.3 统计学分析

统计分析采用 SPSS 23.0 软件, 用频数表示计数资料, 根据 Hardy-Weinberg 遗传平衡吻合度结果判断 2 组间基因分布是否具有人群代表性。基因分布情况比较采用卡方检验。分别计算突变基因型与纯合野生型基因型比较的 OR 值及 95% 可信区间 (95% CI)。不同 MTHFR677T 基因型间血清叶酸及血同型半胱氨酸等连续变量比较采用方差分析, 不同病理类型间血清叶酸及血同型半胱氨酸的比较采用 t 检验, 检

验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 2 组间一般资料及 Hardy-Weinberg 平衡分析

研究组年龄 22~70 岁,平均年龄(38.2 ± 10.5)岁,对照组年龄 24~88 岁,平均年龄(53.9 ± 16.1)岁。通过双变量相关分析,结果表明年龄与 MTHFR677T 基因多态性无明显相关 ($r=-0.072, P=0.460$);根据样本人群 MTHFR677T 位点基因突变情况进行检验,结果证明 2 组间符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡,提示 2 组样本具有群体代表性。

2.2 2 组基因型及等位基因频率比较

与对照组相比,研究组 TT 基因型所占比率明显升高 (4.3% vs. 13.3%, $\chi^2=6.851, P=0.033$);T 等位基因频率也明显提高 (21.7% vs. 38.3%, $\chi^2=6.688, P=0.010$)。进一步分析不同病理类型 NNEDV 患者 MTHFR677T 基因多态性差异,LSC

患者 TT 基因型比率(23.8%)及 T 等位基因频率(45.2%)均明显高于对照组,差异有统计学意义 ($\chi^2=7.572, P=0.023; \chi^2=7.717, P=0.005$),LS 患者 TT 基因型比率(7.7%)及 T 等位基因频率(34.6%)介于 LSC 及对照组间,两两比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 1 及表 2。

2.3 各基因型发生 NNEDV 风险的情况比较

MTHFR 677CT 基因型者发生 NNEDV 的风险为 CC 基因型者的 2.386 倍,95%CI 值为 1.046~5.443,TT 基因型者发生 NNEDV 的风险为 CC 基因型的 5.091 倍,95%CI 值为 0.981~26.430。进一步分析各基因型发生不同病理类型 NNEDV 病变风险,CT 基因型者发生 LSC 的风险为 CC 基因型的 2.250 倍,95%CI 值为 0.703~7.200,发生 LS 的风险为 CC 基因型的 2.450 倍,95%CI 值为 0.993~6.047;TT 基因型者发生 LSC 的风险为 CC 基因型的 10.000 倍,95%CI 值为 1.593~62.784,发生 LS 的风险为 CC 基因型的 2.800 倍,95%CI 值为 0.421~18.644。见表 3。

表 1 2 组 MTHFR677T 位点基因型分布 (n,%)

组别	基因型			χ^2 值	P 值
	CC	CT	TT		
对照组 (n=46)	28 (60.9)	16 (34.8)	2 (4.3)		
研究组 (n=60)	22 (36.7)	30 (50.0)	8 (13.3)	6.851 ^a	0.033 ^a
LSC 组 (n=21)	7 (33.3)	9 (42.9)	5 (23.8)	7.572 ^b	0.023 ^b
LS 组 (n=39)	15 (38.5)	21 (53.8)	3 (7.7)	4.258 ^c	0.119 ^c

注:a:研究组与对照组比较,b:LSC 组与对照组比较,c:LS 组与对照组比较

表 2 2 组 MTHFR677T 等位基因分布 (n,%)

组别	基因频率		χ^2 值	P 值
	C	T		
对照组 (n=46)	72 (78.3%)	20 (21.7%)		
研究组 (n=60)	74 (61.7%)	46 (38.3%)	6.688 ^a	0.010 ^a
LSC 组 (n=21)	23 (54.8%)	19 (45.2%)	7.717 ^b	0.005 ^b
LS 组 (n=39)	51 (65.4%)	27 (34.6%)	3.499 ^c	0.061 ^c

注:a:研究组与对照组比较,b:LSC 组与对照组比较,c:LS 组与对照组比较

表 3 各基因型发生 NNEDV 风险的情况比较

基因型	研究对象 (n,%)	对照组 (n,%)	OR 值 (95%CI)	P 值
研究组				
CC	22 (36.7)	28 (60.9)	1.000	
CT	30 (50.0)	16 (34.8)	2.386 (1.046~5.443)	0.037
TT	8 (13.3)	2 (4.3)	5.091 (0.981~26.430)	0.038
LSC				
CC	7 (33.3)	28 (60.9)	1.000	
CT	9 (42.9)	16 (34.8)	2.250 (0.703~7.200)	0.167
TT	5 (23.8)	2 (4.3)	10.000 (1.593~62.784)	0.006
LS				
CC	15 (38.5)	28 (60.9)	1.000	
CT	21 (53.8)	16 (34.8)	2.450 (0.993~6.047)	0.050
TT	3 (7.7)	2 (4.3)	2.800 (0.421~18.644)	0.272

表 4 不同 MTHFR677T 基因型血清叶酸及血同型半胱氨酸水平比较

基因型	血清叶酸(ng/mL)	例数 (n)	血同型半胱氨酸($\mu\text{mol/L}$)	例数 (n)
CC	14.47 \pm 4.73	20	10.30 \pm 2.43	13
CT	11.81 \pm 4.92	24	11.90 \pm 3.02	22
TT	8.64 \pm 3.48	7	15.27 \pm 5.46	7
总体	12.42 \pm 4.99	51	11.97 \pm 3.67	42
F 值	4.386		4.978	
P 值	0.018		0.012	

表 5 不同病理类型 NNEDV 血清叶酸及血同型半胱氨酸水平比较

病理类型	血清叶酸(ng/mL)	例数 (n)	血同型半胱氨酸($\mu\text{mol/L}$)	例数 (n)
LSC	13.93 \pm 6.12	17	10.90 \pm 2.79	14
LS	11.66 \pm 4.23	34	12.50 \pm 3.98	28
总体	12.42 \pm 4.99	51	11.97 \pm 3.67	42
t 值	-1.548		1.342	
P 值	0.128		0.187	

2.4 不同基因型 NNEDV 患者血清叶酸及血同型半胱氨酸水平比较

研究组中,随着突变基因 T 的增加,MTHFR677CC 型、CT 型及 TT 型患者其血清叶酸水平呈逐步下降,差异有统计学意义($F=4.386, P=0.018$),血同型半胱氨酸水平呈逐步上升,差异有统计学意义($F=4.978, P=0.012$)。两两比较 MTHFR677CC 型与 TT 型血清叶酸及血同型半胱氨酸有统计学差异($P=0.007, P=0.003$),而 CT 型与 CC 型及 TT 型相比,血清叶酸及血同型半胱氨酸均无统计学差异($P>0.05$)。不同病理类型 NNEDV 患者间血清叶酸及血同型半胱氨酸水平无统计学差异($P>0.05$)。见表 4 及表 5。

3 讨论

基因多态性亦称遗传多态性,是指 2 种或多种不连续的变异型、基因型或等位基因同时和经常存在一个生物群体中。人体对疾病的表现、对有害物质的易感性与耐受性,以及对药物治疗的反应性均受基因多态性影响。MTHFR677T 在世界范围内变异频率较高,存在地域、民族及性别差异,文献结果表明在中国地区,由南向北 T 等位基因频率呈逐渐上升趋势^[4]。本研究通过比较重庆地区汉族女性 NNEDV 患者与正常人群 MTHFR677T 基因多态性差异,发现 NNEDV 患者 MTHFR677 位点纯合突变率较高,不同病理类型 NNEDV 患者其 MTHFR677T 基因多态性存在差异,说明 NNEDV 的发生与 MTHFR677T 基因多态性存在一定的相

关性,MTHFR677 位点纯合突变是发生 LSC 的危险因素,而 LS 的发生与该位点突变无明显相关。同时通过比较不同 MTHFR677 基因型血清叶酸及血同型半胱氨酸水平,发现 MTHFR677 位点纯合突变对 MTHFR 活性影响较大,导致叶酸代谢障碍,进而导致叶酸水平下降及同型半胱氨酸蓄积。提示 LSC 的发生可能与 MTHFR677 位点突变导致的叶酸及同型半胱氨酸代谢障碍相关。本研究同时比较了不同病理类型 NNEDV 患者血清叶酸及血同型半胱氨酸水平,发现 2 组间无明显统计学差异,提示在 LS 患者中也存在叶酸缺乏现象,但此现象与 MTHFR677 位点突变无明显相关,说明 LS 患者可能存在其他导致叶酸及血同型半胱氨酸代谢障碍相关因素,后期仍需进一步探讨。

NNEDV 现病因不明,目前考虑可能与遗传、免疫、感染及局部神经血管营养失调等相关。魏成琰等^[5]研究发现 NNEDV 病变组织 SOD 水平较正常皮肤明显降低,提示 NNEDV 患者体内抗氧化能力降低,自由基清除受阻。廖晓岗等^[6]研究发现 NNEDV 的主要超微结构改变以真皮内毛细血管腔狭窄、数量减少为主要特征,王春燕等^[7]研究发现 LS 组织中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达较正常皮肤减少,血管密度降低,推测 LS 的发生可能与局部过氧化损伤及循环障碍相关。研究发现 MTHFR677T 位点 TT 型突变可使 MTHFR 的活性降低 50%~60%,阻碍甲硫氨酸的再生成从而

导致血同型半胱氨酸在体内的蓄积,引起高同型半胱氨酸血症^[8]。而同型半胱氨酸可减少一氧化氮生成、促进活性氧分泌及内皮细胞凋亡等,从而引起内皮细胞功能障碍,同时同型半胱氨酸还可下调血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)及促血管新生蛋白因子的表达,从而抑制 VEGFR 诱导的内皮细胞分化、迁移及血管再生。此外, MTHFR677T 位点 TT 型突变还可导致血清叶酸水平下降,而叶酸可以增加血管内皮细胞合成一氧化氮,增加机体抗氧化的能力,从而降低由高同型半胱氨酸血症引起的内皮细胞损害^[9-15]。本研究发现 LSC 的发生可能与 MTHFR677 位点纯合突变导致的叶酸及同型半胱氨酸代谢障碍相关,而 LS 患者中也存在叶酸缺乏现象,本研究推测由低水平叶酸及高同型半胱氨酸引起的局部内皮血管损伤、微循环障碍及抗氧化能力减弱可能在 NNEDV 发展的过程中起促进作用。

综上所述,本研究提出 MTHFR677 位点突变导致的叶酸代谢障碍可能与 LSC 发生相关,LS 的发生与 MTHFR677T 基因多态性关系不大,但在 LS 患者体内可能存在其他导致叶酸缺乏的因素。鉴于 MTHFR677 位点纯合突变对叶酸代谢影响较大,对于 MTHFR677 位点纯合突变患者予以补充叶酸能否降低其患 LSC 的风险及能否延缓疾病进展仍需进一步研究。由于 MTHFR677T 基因分布存在地域、民族及性别差异,本研究对象仅为重庆地区汉族女性人群,对其他地域及不同种族人群 MTHFR677T 基因多态性与 NNEDV 关系尚需多中心研究。此外,由于本研究的样本量相对较少,尤其是 MTHFR677T 基因纯合突变患者,可能导致研究结果偏倚,仍需进一步扩大样本量验证。

参 考 文 献

[1] 裴娇娇,常淑芳,孙江川,等. 聚焦超声治疗 583 例外阴上皮内非瘤样病变的临床疗效分析[J]. 解放军医学杂志,2015,40(6):463-466.

[2] 李 辉,牛铭钢,金 纬,等. 外阴硬化性苔藓患者 HLA-DR 抗

原的表达及 T 细胞亚群变化的研究[J]. 哈尔滨医药,2010,30(1):1-2,4.

[3] Gambichler T, Kammann S, Tigges C, et al. Cell cycle regulation and proliferation in lichen sclerosus[J]. Regulatory Peptides, 2011, 167(2011):209-214.

[4] Binia A, Contreras AV, Canizales-Quinteros S, et al. Geographical and ethnic distribution of single nucleotide polymorphisms within genes of the folate/homocysteine pathway metabolism[J]. Genes Nutr, 2014, 9(5):421.

[5] 魏成琰,李 慧,武 昕. 谷胱甘肽 S 转移酶 1 和超氧化物歧化酶在外阴鳞状细胞癌和外阴硬化性苔藓中的表达及临床意义[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2016,32(2):168-171.

[6] 廖晓岗,李成志,汪克建,等. 超声治疗前后外阴白色病变的超微形态比较研究[J]. 电子显微学报,2004,23(6):653-656.

[7] 王春燕,张利群,蔡知天,等. VEGF 及 CD34 在外阴白色病变组织中的表达[J]. 中国妇幼保健,2013,28(30):5036-5038.

[8] Frosst P, Blom HJ, Milos R, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease; a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase[J]. Nat Genet, 1995, 10(1):111-113.

[9] Moustafa AA, Hewedi DH, Eissa AM, et al. Homocysteine levels in schizophrenia and affective disorders—focus on cognition[J]. Front Behav Neurosci, 2014, 8:343.

[10] Sharma S, Singh M, Sharma PL. Mechanism of hyperhomocysteinemia-induced vascular endothelium dysfunction possible dysregulation of phosphatidylinositol-3-kinase and its downstream phosphoinositide dependent kinase and protein kinase B[J]. Eur J Pharmacol, 2013, 721(1/3):365-372.

[11] Xi H, Zhang YL, Xu YJ, et al. Caspase-1 inflammasome activation mediates homocysteine-induced pyroptosis in endothelial cells[J]. Circ Res, 2016, 118(10):1525-1539.

[12] 徐支芳,于海娇,马琳娜,等. TLR4/NF- κ B 信号通路在同型半胱氨酸致内皮细胞损伤中的作用研究[J]. 重庆医科大学学报,2011,36(12):1409-1412.

[13] 杨绍兵,梁思敏,曾祥飞,等. 激活 TRPV1 在高同型半胱氨酸促内皮细胞凋亡中的作用[J]. 临床心血管病杂志,2017,33(6):587-591.

[14] Lan TH, Xu DP, Huang MT, et al. Ginsenoside Rb1 prevents homocysteine-induced EPC dysfunction via VEGF/p38MAPK and SDF-1/CXCR4 activation[J]. Sci Rep, 2017, 7(1):13061.

[15] 席 锐,邹 琛,陈楨玥,等. 同型半胱氨酸促进血管平滑肌细胞增殖的机制及辛伐他汀的干预作用[J]. 国际心血管病杂志,2015,42(1):44-47.

(责任编辑:张辉洁)