

技术方法

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000385

血尿对细胞学和荧光原位杂交检测膀胱肿瘤结果的影响

徐述雄¹, 白晓峰¹, 朱建国¹, 戴石元², 石 华¹, 罗光恒¹, 刘 军¹, 王元林¹, 孙兆林¹

(贵州省人民医院 1. 泌尿外科; 2. 统计室, 贵阳 550002)

【摘要】目的:探讨血尿对细胞学和荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)检测膀胱肿瘤结果的影响。**方法:**2009年1月至2013年6月, 164例可疑膀胱癌的患者均接受尿脱落细胞学、FISH、上尿路影像学检查和膀胱镜检等检查, 对可疑病变取活检或(和)切除术。比较血尿对细胞学和 FISH 假阳性率和假阴性率的影响。**结果:**血尿和无血尿患者细胞学假阳性率分别为 14.3%和 20.9%($\chi^2=0.645, P=0.422$), 假阴性率分别为 21.4%和 39.1%($\chi^2=2.618, P=0.106$); FISH 假阳性率分别为 19.0%和 20.9%($\chi^2=0.047, P=0.828$), 假阴性率分别为 30.3%和 30.4%($\chi^2=0.002, P=0.967$), 均无统计学差异。**结论:**血尿不会影响细胞学和 FISH 检测膀胱肿瘤的结果。

【关键词】血尿; 尿脱落细胞学检查; 荧光原位杂交技术; 膀胱癌

【中图分类号】R737.14

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-12-22

Effect of hematuria on the performance of cytology and fluorescence in situ hybridization in the detection of bladder carcinoma

Xu Shuxiong¹, Bai Xiaofeng¹, Zhu Jianguo¹, Dai Shiyuan², Shi Hua¹,Luo Guangheng¹, Liu Jun¹, Wang Yuanlin¹, Sun Zhaolin¹

(1. Department of Urology; 2. Department of Statistics, Guizhou Provincial People's Hospital)

【Abstract】Objective: To access the influence of hematuria on the performance of urine cytology (CYT) and fluorescence in situ hybridization (FISH) in the detection of bladder carcinoma (BC). **Methods:** From January 2009 to June 2013, a total of 164 patients suspicious of BC underwent tests of CYT and FISH followed by upper urinary tract imaging and cystoscopy. Transurethral biopsy and/or resection were performed on suspicious lesions. The hematuria was determined by urine microscopy. Effect of hematuria on false positive and negative rates of patients with and without BC was compared. **Results:** For patients with hematuria, false positive rates of CYT were 14.3% and 20.9% ($\chi^2=0.645, P=0.422$) and false negative rates of CYT were 21.4% and 39.1% ($\chi^2=2.618, P=0.106$); false positive rates of FISH were 19.0% and 20.9% ($\chi^2=0.047, P=0.828$) and false negative rates of FISH were 30.3% and 30.4% ($\chi^2=0.002, P=0.967$) all without statistical difference. **Conclusion:** Hematuria does not influence the performance of CYT and FISH.

【Key words】hematuria; cytological examination; fluorescence in situ hybridization; bladder cancer

膀胱镜检可以明确膀胱是否有肿瘤以及肿瘤的数目、大小、形态和部位等信息, 被认为是膀胱病变检测的金标准^[1]。但是膀胱镜检的缺点也很明显, 一些原位癌有可能和周围组织无明显区别, 常常被漏诊; 甚至有 5% 的接受镜检的患者可能继发感染; 另外, 膀胱镜检是一种创伤性检查, 对于患者尤其是男性患者, 会导致疼痛、出血, 导致患者依从性不高, 甚至拒绝接受该检查。细胞学、荧光原位杂交

(fluorescence in situ hybridization, FISH) 和核基质蛋白 22 (nuclear matrix protein 22, NMP22) 等非侵入性检测手段没有膀胱镜检所带来的不良反应, 越来越受到患者和医师的关注^[2-3]。既往文献表明, 血尿会导致 NMP22 等检测出现假阳性结果^[4], 但是血尿是否对细胞学和 FISH 检测结果产生影响, 目前文献报道尚有争议^[5-6], 而国内则未见相关文献报道。本研究分析我院 2009 年 1 月至 2013 年 6 月 164 例膀胱癌可疑患者的资料, 探讨检测标本中同时并存的红细胞(血尿)对细胞学和 FISH 检测结果的影响, 以便在可疑膀胱肿瘤患者中合理应用细胞学、FISH 和膀胱镜检。

作者介绍: 徐述雄, Email: xushuxiong123@sina.com,

研究方向: 泌尿系结石及肿瘤的基础与临床研究。

通信作者: 石 华, Email: 1024334058@qq.com。

基金项目: 贵州省科技厅基金资助项目(编号: 黔科合 J 字[2011]2249号)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyx.000385.html>

1 资料与方法

1.1 临床资料

纳入本研究的患者需同时满足以下 2 点:(1)临床上膀胱癌可疑的患者,包括无症状性镜下或肉眼血尿患者和膀胱癌术后复查的患者;(2)尿常规、细胞学、FISH、上尿路影像学检查(包括超声、泌尿系 CT 或者 MRI)和膀胱镜检等检查资料齐全。肾或输尿管肿瘤患者从本研究中剔除。共 164 例患者入选,男性 124 例,女性 40 例,平均年龄为 62.4 岁(24~85 岁)。

1.2 尿检程序

所有患者取清晨清洁中段尿,分成 3 份,分别用于尿常规、细胞学和 FISH 检测。

尿液经全自动尿分析仪检测尿常规后显微镜下观察红细胞,1 个高倍视野内每 10 个计为(+),20 个计为(++),30 个计为(+++),40 个及以上计为(++++)。1 个高倍视野内红细胞数在(+)及以上,视为血尿;否则,则为无血尿。

对细胞学而言,细胞经离心、涂片后染色,根据世界卫生组织和世界泌尿外科病理协会 2004 年分类系统判断是否有肿瘤细胞,所有诊断由 2 位细胞病理学医师独立完成。膀胱癌的细胞学诊断标准如下:细胞核呈偏心性、大小不等、染色体粗、边缘不规则,细胞核与胞浆比例增加。

FISH 检测试剂盒购自北京金菩嘉医疗科技有限公司,按说明书检测 3、7、17 号染色体和 9 号染色体 p16 基因(9p16),相应的染色体特异性探针(chromosome specific probe, CSP)分别简称为 CSP3、CSP7、CSP17 和 9p16,其中 CSP3/CSP7 和 CSP17/9p16 分别为 2 组探针。计数结果由 2 人独立完成,结果一致方可认定。FISH 检测单个细胞染色体异常的判断标准:3 号、7 号、17 号染色体异常的标准为在单个细胞内出现 3 个或 3 个以上的信号点;9p16 异常的标准为在单个细胞内仅出现 1 个信号点[9p16(-1)]或无信号点[9p16(-2)]。

FISH 诊断膀胱癌时先建立阈值,根据阈值判断每个检测指标(即 3 号、7 号、17 号染色体和 9p16,为叙述方便,下文以其探针 CSP3、CSP7、CSP17 和 9p16 代替)是否异常:(1)阳性,9p16 异常 $\geq 15\%$,CSP3、CSP7、CSP17 异常 $\geq 10\%$;(2)灰区,9p16 异常大于阈值但小于 15%或 CSP3、CSP7、CSP17 异常大于阈值但小于 10%。同时出现 2 种以上异常指标或

[9p16(-2)] $\geq 15\%$ 时,可判定为 FISH 阳性。对于检测指标处于灰区的患者,考虑用形态学的方法行进一步评估,即分析形态异常的脱落细胞,每组探针至少检测 25 个细胞,此时检测指标异常的标准:CSP3、CSP7、CSP17 异常 ≥ 4 个细胞,[9p16(-1)] ≥ 12 个细胞;FISH 阳性的标准:同时有 2 个指标阳性或[9p16(-2)] ≥ 12 个细胞,或同 1 种染色体至少有 2 种以上的复杂异常指标(如 3 个信号或 5 个信号异常)存在,每 1 个异常指标的细胞数 ≥ 4 。

1.3 膀胱镜检

患者截石位,尿道局部浸润麻醉,将膀胱镜经尿道插入膀胱,观察尿道有无累及,明确膀胱肿瘤的数目、位置、蒂部以及与输尿管口的距离。对于有肿瘤可疑的病灶行活检和(或)可疑病灶的切除,病理标本由 2 位病理学医师观察,诊断结果一致,方作为最终诊断,必要时课题组会诊。患者是否患膀胱癌以活检或(和)切除的可疑病灶的病理诊断为准。

1.4 灵敏度和特异度计算

灵敏度和特异度的计算公式如下:

灵敏度(%) = $100\% \times \text{真阳性病例数} / (\text{真阳性病例数} + \text{假阴性病例数})$

特异度(%) = $100\% \times \text{真阴性病例数} / (\text{真阴性病例数} + \text{假阳性病例数})$

1.5 统计学方法

计数资料采用 SAS 6.12 统计软件进行四格表卡方检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

无膀胱癌患者细胞学改变如图 1A 所示,细胞大小正常,结构清楚,核大小正常,染色均匀,核浆比例无改变,胞浆丰富;FISH 显示,CSP3(红色)和 CSP7(绿色)、CSP17(绿色)和 9p16(红色)均为二倍体信号,分别见图 1B 及图 1C。膀胱癌患者细胞学改变如图 2A 所示,细胞核大小不等、呈偏心性、染色体粗,细胞核边缘不规则,核浆比例增加;FISH 显示,CSP3 和 CSP7 呈非整倍体信号,3 红 3 绿(图 2B);而 CSP17 呈非整倍体信号,9p16 信号缺失,3 绿 1 红(图 2C)。膀胱癌组织病理切片如图 3 所示,癌细胞具有明显异型性,细胞、细胞核大小不一,核深染,核仁明显,核分裂相增多并出现病理性核分裂相。

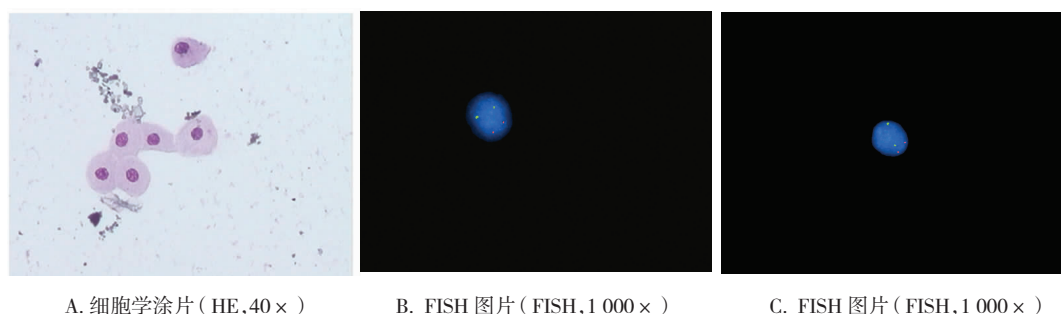


图 1 正常尿路上皮细胞的细胞学和 FISH 改变

Fig.1 Cytology and FISH changes in normal urothelial cells

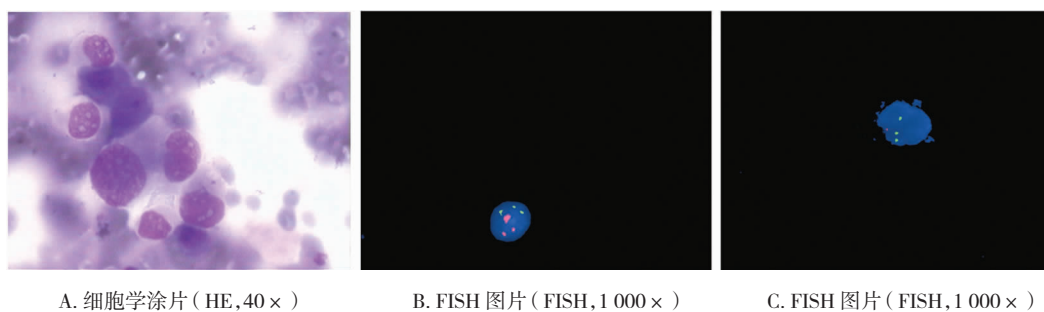


图 2 癌性尿路上皮细胞的细胞学和 FISH 改变

Fig.2 Cytology and FISH changes in abnormal urothelial cells

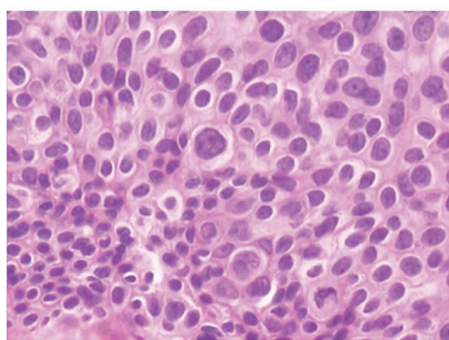


图 3 尿路上皮癌组织病理切片 (HE, 40 ×)

Fig.3 Pathological slice of urothelial carcinoma tissues
(HE, 40 ×)

在 164 例患者中, 79 例(48.2%)确诊为膀胱癌, 余 85 例(51.8%)无膀胱癌。细胞学和 FISH 的阳性和阴性分布情况见表 1。细胞学和 FISH 灵敏度分别为 73.4% 和 69.6%, 特异度分别为 82.4% 和 80.0%(表 2)。

表 1 细胞学和 FISH 的阳性和阴性分布情况

Tab.1 Distribution of positive values and negative values of cytology and FISH

细胞学	FISH 阳性	FISH 阴性
阳性	43	30
阴性	29	62

表 2 细胞学和 FISH 的灵敏度和特异度情况

Tab.2 Distribution of sensitivities and specificities of cytology and FISH

组别	真阳性	真阴性	假阳性	假阴性	灵敏度	特异度
细胞学	58	70	15	21	73.4%	82.4%
FISH	55	68	17	24	69.6%	80.0%

尿常规显示, 总共 98 例(59.8%)有血尿。血尿在膀胱癌患者和非膀胱癌患者中分别为 56 例(70.9%)和 42 例(49.4%) ($\chi^2=7.852, P=0.005$)(表 3)。

血尿对非膀胱癌患者细胞学和 FISH 假阳性率的影响见表 4。在血尿和无血尿患者中, 细胞学假阳性率分别为 14.3% 和

20.9% ($P=0.422$); FISH 假阳性率分别为 19.0% 和 20.9% ($P=0.828$), 均无统计学差异。血尿对膀胱癌患者细胞学和 FISH 假阴性率的影响见表 5。在血尿和无血尿患者中, 细胞学假阴性率分别为 21.4% 和 39.1% ($P=0.106$); FISH 假阴性率分别为 30.3% 和 30.4% ($P=0.967$), 均无统计学差异。

表 3 血尿在膀胱癌和非膀胱癌患者中的分布

Tab.3 Distribution of hematuria in patients with and without bladder cancer

组别	膀胱癌	非膀胱癌	χ^2 值	P 值
血尿	56 (70.9%)	42 (49.4%)	7.852	0.005
无血尿	23 (29.1%)	43 (50.6%)		

表 4 血尿对非膀胱癌患者 (85 例) 假阳性率的影响

Tab.4 Effect of hematuria on false positive rates of patients without bladder cancer (n=85)

组别	血尿 (42 例)	无血尿 (43 例)	χ^2 值	P 值
细胞学假阳性	6 (14.3%)	9 (20.9%)	0.645	0.422
FISH 假阳性	8 (19.0%)	9 (20.9%)	0.047	0.828

表 5 血尿对膀胱癌患者 (79 例) 假阴性率的影响

Tab.5 Effect of hematuria on false negative rates of patients with bladder cancer (n=79)

组别	血尿 (56 例)	无血尿 (23 例)	χ^2 值	P 值
细胞学假阴性	12 (21.4%)	9 (39.1%)	2.618	0.106
FISH 假阴性	17 (30.3%)	7 (30.4%)	0.002	0.967

3 讨 论

临床工作中, 根据尿中红细胞的多少, 一般将血尿分为镜下血尿和肉眼血尿 2 种。镜下血尿是指在显微镜一个高倍视野内红细胞数在 40 个以下, 肉眼不能察觉; 40 个以上, 肉眼能看到尿液呈红色, 为肉眼血尿。镜下血尿还可以按程度不同分为 (+)、(++)、(+++) 和 (++++), 该分级容易受检测人员主观因素影响。为了避免检测人员的主观误差, Toden-

hofer等^[5]使用红细胞计数仪记录尿沉渣红细胞数量,将血尿细分为4级:0级(0个红细胞)、I级($1 \leq \text{红细胞数}/\mu\text{l} < 100$)、II级($100 \leq \text{红细胞数}/\mu\text{l} < 250$)和III级($250 \leq \text{红细胞数}/\mu\text{l}$),在尿沉渣实验与显微镜观察有分歧的地方,用显微镜进一步观察。不同程度的血尿其临床意义不同,对无痛性全程性肉眼血尿患者而言,膀胱肿瘤的可能性更高。本研究的主要目的是探讨检测标本中同时并存的红细胞对细胞学和FISH检测结果的影响,而本研究中的患者仅164例,若对其血尿进行分级,则各级患者数量少,不利于比较。因此,本研究仅依据尿检时显微镜下结果将患者分成2类,即血尿和无血尿。为了保证能真实反映血尿对细胞学和FISH检测膀胱肿瘤结果的影响,在取尿液标本行细胞学和FISH检测的同时,留取10 ml尿液行尿常规检测。

膀胱肿瘤细胞比正常细胞容易从原位脱落,随尿液排出体外。观察尿液中脱落细胞的异型性,可以判断尿路上皮是否有癌变。由于尿细胞学检查安全、无创,而且可以多次重复,从1945年Papanicolaou和Marshall将尿液细胞学首次用于膀胱癌的诊断以来,尿液细胞学一直是膀胱肿瘤筛选和监测的常规检查^[2,7]。既往由于灵敏度较低,细胞学曾一度被认为是进行进一步检查的权宜之计^[6]。然而,本研究结果表明,细胞学的灵敏度高达73.4%,与Karakiewicz等^[7]报道一致。细胞学的灵敏度相对提高,可能是因为参与研究的细胞学病理医师均接受过严格的训练。Todenhofer等^[5]研究显示,细胞学假阳性率随着血尿程度加重而升高,0、I、II级和III级血尿患者的假阳性率分别为13.0%、17.4%、16.3%和19.5%,推测这一趋势可能与尿路炎症有关,因为尿路炎症既可以导致血尿,又可以影响细胞形态。但是也有研究表明,尿路炎症并不会导致细胞学假阳性率升高^[8]。对于血尿是否影响细胞学假阳性率也有不同的观点,Pesch等^[6]报道,血尿并不影响细胞学的假阳性率。本研究中,血尿与无血尿患者之间细胞学假阳性率无明显差异,与Pesch等^[6]报道一致。Todenhofer等^[5]报道,在无血尿的膀胱癌患者中细胞学的假阴性率高达37.9%,明显高于I、II级和III级血尿患者的18.5%、20.0%和15.5%,他们认为血尿可能是降低膀胱癌患者细胞学假阴性率的重要因素。虽然血尿本身会导致NMP22和膀胱肿瘤抗原(bladder tumor antigen, BTA)等分子标记物的阳性结果增加,但是有血尿的膀胱癌患者细胞学阳性检出

率高不一定是因为尿中的红细胞直接导致的^[9-10]。包括膀胱肿瘤细胞表面过表达的基质金属蛋白酶在内的一些影响因素,可以通过侵蚀小血管而促使血液进入尿液,它们同时也可能促进肿瘤细胞的脱落^[11]。也就是说,促进血尿的影响因素有可能同时促使肿瘤细胞脱落,进而提高了细胞学阳性检出率。本研究显示,与血尿患者比较,无血尿患者细胞学的假阴性率虽然无明显差异,但是高达39.1%。这提醒对于低级别膀胱癌术后患者,特别是其中无血尿的患者,在随访中即使细胞学阴性,也应该行膀胱镜检查。

FISH技术是20世纪60年代末发展起来的,采用荧光标记的已知核酸探针,与细胞或组织切片等样品中的染色体上待测同源核酸进行杂交,对样品中待测核酸进行定量和定位分析,进而判断染色体有无数目异常和结构畸变。膀胱肿瘤特征性的染色体异常为3、7、17号染色体数目增多及9号染色体p16基因部分或全部缺失,这些染色体的改变被广泛应用于膀胱癌的诊断、预后判断及疗效的监测^[2-3]。本研究中应用CSP3/CSP7和CSP17/9p16 2组FISH探针分别检测尿脱落细胞中3、7、17号染色体及9号染色体p16基因的改变,以此判断患者是否患膀胱癌。Huang等^[12]对285例有无痛性血尿症状而细胞学阴性的患者进行FISH检测,FISH阳性的患者11例,其中9例证实为尿路上皮癌,而FISH阴性的患者均无尿路上皮癌;在以上特定患者中,FISH的灵敏度和特异度分别高达100.0%和99.3%,显示了FISH相对于细胞学的优越性。本研究中,FISH的灵敏度为69.6%,特异度为80.0%,与文献^[5-6]报道一致。无论在仅将患者按有无血尿进行分类的研究中,还是将患者根据血尿程度进行分级的研究中,均显示血尿或者血尿的程度并不影响FISH的假阳性率与假阴性率。本研究中,在血尿和无血尿患者,FISH的假阳性率与假阴性率也无明显差异,与既往研究^[5-6]一致。其原因可能是,FISH检测的是染色体,而不是细胞形态;在膀胱肿瘤细胞中,染色体的改变先于细胞形态的改变^[13]。

总体而言,血尿不会对细胞学和FISH检测膀胱肿瘤的结果造成大的影响。但是,考虑到无血尿的患者细胞学假阴性率较高,对于低级别膀胱癌术后患者,在随访中细胞学、FISH和膀胱镜检查应联合应用。当然,本研究病例数偏少,没有对血尿程度作进一步分级,故本研究结果还有待进一步的临床研究证实。

技术方法

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000331

3种石膏材料构建的全冠数字化模型精度的对比研究

袁 荣¹, 谭发兵², 吴树洪², 马超逸², 喻 娜², 佟雪璐²

(1. 重庆市巴南区人民医院口腔科, 重庆 401338; 2. 重庆医科大学附属口腔医院修复工艺科、重庆口腔疾病与生物医学重庆市重点实验室, 重庆 400015)

【摘要】目的:研究 Cerec Inlab MC XL 系统 3 种石膏材料构建的全冠数字化模型的精度。**方法:**制备一标准右上第一磨牙全冠预备体模型, 并复制超硬石膏、Esthetic-base、CAM-base 石膏扫描代型各 8 个。每组代型采用 InEos 扫描仪 Rotational 旋转扫描方式分别获取数字化模型 8 个(超硬石膏组采取喷粉后扫描), Inlab 3D(version 3.65)软件测量每个数字化模型相应位点的距离参数并与实物比较。本实验采用 SPSS 19.0 统计软件对数据进行分析。**结果:**超硬石膏组的成像质量略优于 Esthetic-base 组和 CAM-base 组。Esthetic-base 组、CAM-base 组与实物组在颊舌($P=0.199$)、近远区域($P=0.087$)的测量值比较差异无统计学意义, 但超硬石膏组与实物组比较有统计学差异($P=0.00$, $P=0.003$)。此外, 超硬石膏组在近远区域的偏差值较颊舌区域大, 差异有统计学意义($F=7.310$, $P=0.000$)。超硬石膏组、Esthetic-base 组、CAM-base 组的总体偏移值分别为(0.049 ± 0.036)、(0.016 ± 0.050)、(0.017 ± 0.052) mm。**结论:**在本实验条件下 Esthetic-base、CAM-base 石膏构建的数字化模型精度较高, 而超硬石膏喷粉构建的数字化模型精度较差, 不推荐使用。

【关键词】牙科石膏材料; 数字化模型; 光学成像粉; 全冠; 精确度

【中图分类号】R783.3; R319

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-09-16

作者介绍: 袁 荣, Email: bnyyyr@sina.com,

研究方向: 口腔修复材料学。

通信作者: 谭发兵, Email: xiaosongtan@tom.com。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyx.000331.html>

参 考 文 献

- [1] Roupert M, Zigeuner R, Palou J, et al. European guidelines for the diagnosis and management of upper urinary tract urothelial cell carcinomas; 2011 update[J]. Eur Urol, 2011, 59(4): 584-594.
- [2] Dal Moro F, Valotto C, Guttilla A, et al. Urinary markers in the everyday diagnosis of bladder cancer[J]. Urologia, 2013, 80(4): 265-275.
- [3] Ho CC, Tan WP, Pathmanathan R, et al. Fluorescence-in-situ-hybridization in the surveillance of urothelial cancers; can use of cystoscopy or ureteroscopy be deferred?[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(7): 4057-4059.
- [4] Shariat SF, Marberger MJ, Lotan Y, et al. Variability in the performance of nuclear matrix protein 22 for the detection of bladder cancer[J]. J Urol, 2006, 176(3): 919-926; discussion 926.
- [5] Todenhofer T, Hennenlotter J, Tews V, et al. Impact of different grades of microscopic hematuria on the performance of urine-based markers for the detection of urothelial carcinoma[J]. Urol Oncol, 2013, 31(7): 1148-1154.
- [6] Pesch B, Nasterlack M, Eberle F, et al. The role of haematuria in bladder cancer screening among men with former occupational exposure to aromatic amines[J]. BJU Int, 2011, 108(4): 546-552.
- [7] Karakiewicz PI, Benayoun S, Zippe C, et al. Institutional variability in the accuracy of urinary cytology for predicting recurrence of transitional cell carcinoma of the bladder[J]. BJU Int, 2006, 97(5): 997-1001.
- [8] Todenhofer T, Hennenlotter J, Kuhs U, et al. Influence of urinary tract instrumentation and inflammation on the performance of urine markers for the detection of bladder cancer[J]. Urology, 2012, 79(3): 620-624.
- [9] Atsu N, Ekici S, Oge OO, et al. False-positive results of the NMP22 test due to hematuria[J]. J Urol, 2002, 167(2Pt1): 555-558.
- [10] Oge O, Kozaci D, Gemalmaz H. The BTA stat test is nonspecific for hematuria: an experimental hematuria model[J]. J Urol, 2002, 167(3): 1318-1319; discussion 1319-1320.
- [11] Wang X, Zhang K, Sun L, et al. Short interfering RNA directed against Slug blocks tumor growth, metastasis formation, and vascular leakage in bladder cancer[J]. Med Oncol, 2011, 28(s1): S413-422.
- [12] Huang WT, Li LY, Pang J, et al. Fluorescence in situ hybridization assay detects upper urinary tract transitional cell carcinoma in patients with asymptomatic hematuria and negative urine cytology[J]. Neoplasia, 2012, 59(4): 355-360.
- [13] Banek S, Schwentner C, Tager D, et al. Prospective evaluation of fluorescence-in situ-hybridization to detect bladder cancer: results from the UroScreen-Study[J]. Urol Oncol, 2013, 31(8): 1656-1662.

(责任编辑: 唐宗顺)