

厦门地区大肠癌人群某些遗传性易感因子和抗性因子的研究

黄如欣, 游攀, 陈长荣, 张忠英, 倪宏英, 刘广发, 任建林

黄如欣, 游攀, 张忠英, 厦门大学附属中山医院、厦门市临床检验中心 福建省厦门市 361004
 陈长荣, 倪宏英, 厦门市中心血站 福建省厦门市 361004
 刘广发, 厦门大学生命科学院 福建省厦门市 361005
 任建林, 厦门大学附属中山医院消化内科, 厦门市消化病研究所 福建省厦门市 361005
 通讯作者: 张忠英, 361004, 福建省厦门市湖滨南路201号, 厦门大学附属中山医院、厦门市临床检验中心。
 zhangzy@yahoo.com.cn
 电话: 0592-8778328
 收稿日期: 2005-10-25 接受日期: 2005-10-31

Sensitive and resistant genetic factors related to colorectal cancer in patients from Xiamen

Ru-Xin Huang, Pan You, Chang-Rong Chen, Zhong-Ying Zhang, Hong-Ying Ni, Guang-Fa Liu, Jian-Lin Ren

Ru-Xin Huang, Pan You, Zhong-Ying Zhang, Xiamen Clinical Laboratory Center; the Affiliated Zhongshan Hospital of Xiamen University, Xiamen 361004, Fujian Province, China
 Chang-Rong Chen, Hong-Ying Ni, Blood Center of Xiamen, Xiamen 361004, Fujian Province, China
 Guang-Fa Liu, School of Life Science, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian Province, China
 Jian-Lin Ren, Department of Internal Digestology, the Affiliated Zhongshan Hospital of Xiamen University; Xiamen Institute of Digestive Disease, Xiamen 361005, Fujian Province, China
 Correspondence to: Zhong-Ying Zhang, Xiamen Clinical Laboratory, 201 Hubin South Road, Xiamen 361004, Fujian Province, China. zhangzy@yahoo.com.cn
 Received: 2005-10-25 Accepted: 2005-10-31

Abstract

AIM: To compare the gene frequencies of 15 STR loci between patients with colorectal cancer and healthy people from Xiamen in order to search for the genes that related to the colorectal cancer.

METHODS: The genotypes of the sample DNA were analyzed by multiplex polymerase chain reaction (PCR) combined with 4-colored fluorescence-labeled method. All the polymorphic alleles of these 15 STR loci in the unrelated healthy locals and patients with colorectal cancer were investigated. The sensitive or resistant genetic factors were inferred according to the statistical difference in the distribution of allele frequencies.

RESULTS: There were statistical differences

between the healthy controls and patients with colorectal cancer in allele frequencies of the three loci: D5S818 (0.520 0 vs 0.219 5, $\chi^2 = 36.69$, $P < 0.01$; $RR = 3.852 1$, $P < 0.05$), vWA (0.050 0 vs 0.292 7, $\chi^2 = 53.99$, $P < 0.01$; $RR = 0.127 2$, $P < 0.05$), and FAG (0.09 vs 0.243 9, $\chi^2 = 37.58$, $P < 0.01$; $RR = 0.306 6$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: It is very possible that there is a sensitive gene for colorectal cancer near the area of D5S818-11 locus, and there are resistant genes for colorectal cancer near the region of vWA-15 and FAG-23 locus.

Key Words: colorectal cancer; Cancer susceptibility; Gene scanning

Huang RX, You P, Chen CR, Zhang ZY, Ni HY, Liu GF, Ren JL. Sensitive and resistant genetic factors related to colorectal cancer in patients from Xiamen. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(2):225-229

摘要

目的: 比较15个STR基因座基因频率在厦门地区大肠癌患者和正常人群中的分布, 推测与大肠癌相关的基因。

方法: 应用PCR复合扩增结合四色荧光检测方法对血样DNA进行基因型分析, 调查了本地区大肠癌患者人群和无关人群的基因频率分布, 并根据二者的该15个基因座等位基因频率分布的显著性差异, 推测易感连锁和抗性连锁的等位基因。

结果: 厦门地区大肠癌患者的D5S818(0.520 0 vs 0.219 5, $\chi^2 = 36.69$, $P < 0.01$; $RR = 3.852 1$, $P < 0.05$)、vWA(0.050 0 vs 0.292 7, $\chi^2 = 53.99$, $P < 0.01$; $RR = 0.127 2$, $P < 0.05$)和FAG(0.09 vs 0.243 9, $\chi^2 = 37.58$, $P < 0.01$; $RR = 0.306 6$, $P < 0.05$)基因座的等位基因的分布与该地区健康人群有显著性差异, ($P < 0.01$)。B组超微结构改变明显, 而C组较B组超微结构有不同程度减轻。

结论: D5S818-11附近可能存在大肠癌易感基因; vWA-15、FAG-23附近有可能存在与大肠

■背景资料

随着人类基因组遗传图和物理图的逐步精细化, 以荧光标记、多重PCR、半自动化操作为特点的大规模全基因组扫描技术已成为当今疾病基因定位的主要工具。在肿瘤方面, 采用已知多态性微卫星进行基因扫描, 进而进行遗传连锁分析、连锁不平衡分析, 已初步筛选到一些可能的易感基因位点。

■研究背景

近年来,人们逐渐意识到个体易感性在肿瘤发病机制中的重要性。国内外学者在多个层面研究了基因多态性与胃肠癌发生的相关性,阐明了基因型与表型之间的联系。本研究选择多态性较高的STR基因座,根据其在癌患者组与匹配对照组中出现频率是否存在显著性差异,推测易感基因。

癌相关的抗性基因。

关键词: 大肠肿瘤; 肿瘤易感性; 基因扫描

黄如欣, 游攀, 陈长荣, 张忠英, 倪宏英, 刘广发, 任建林. 厦门地区大肠癌人群某些遗传性易感因子和抗性因子的研究. 世界华人消化杂志 2006;14(2):225-229

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/225.asp>

0 引言

肿瘤已成为一类严重危害人类健康的疾病,其发病的主要原因是遗传和环境因素相互作用的结果。消化道肿瘤是发病率较高的恶性肿瘤,其发生与外界各种不良因素持续作用以及不同个体遗传易感性差异有关。按人类目前的知识水平尚难以攻克晚期恶性肿瘤,因此对肿瘤进行预防和早期诊治至关重要。这就需要从研究肿瘤的遗传易感性和易感基因入手。

我们收集了厦门地区无癌家族史的健康无关个体血液标本123份,厦门地区散发性大肠癌患者血液标本50份作为试验组,选择D3S1358、TH01、D21S11、D18S51、Penta E、D5S818、D13S317、D7S820、D16S539、CSF1PO、Penta D、vWA、D8S1179、TPOX、FGA 15个多态性较高的STR基因座,采用基因扫描技术,应用PCR复合扩增结合四色荧光检测方法对血样DNA进行基因型分析。调查了本地区无癌家族史的健康人群和散发性大肠癌患者人群的基因频率分布,并根据二者的上述15个基因座等位基因频率分布的显著性差异,推测易感连锁和抗性连锁的等位基因。我们首次将该15个STR基因座应用于消化道肿瘤易感因子的研究,对易感基因的筛选作了有益的探索,为大肠癌易感因子的进一步定位克隆提供了一定的线索。

1 材料和方法

1.1 材料 123份血样采自本地区无癌家族史的健康无关个体,50份样本采自本地区散发性大肠癌患者。美国Promega公司PowerPlex 16 System试剂盒,PE公司5700荧光定量PCR仪、美国生物应用系统公司377DNA测序仪。

1.2 方法 用Chelex法提取DNA^[1],四色荧光PCR复合扩增,变性,电泳,片段分析、基因分型软件自动判断等位基因。

1.2.1 PCR扩增 参照PowerPlex 16 System PCR Amplification Kit User` Manual略做改进:在同一反应管中对上述15个基因位点进行复合扩增。

反应体系为25 μL,其中PowerPlex16 10×Primer Pair Mix 2.5 μL, Taq DNA聚合酶0.8 μL, DNA模板2.5 μL(0.5-1.0 ng)。扩增条件如下:96℃预热10 min,接着96℃预变性1 min,94℃ 30 s,经68 s变温到60℃保持30 s,经50 s变温到70℃保持45 s,进行10个循环,再按90℃ 30 s经60 s变温到60℃保持30 s,经50 s变温到70℃保持45 s进行20个循环,最后于60℃延伸30 min。

1.2.2 扩增产物的电泳与检测 采用ABI377型基因分析仪自动进行电泳分离和基因检测,扩增DNA片段大小由Genescan分析软件(版本为2.1)确定,再由Genotype(版本为2.5)分析命名“等位基因”。

按 $RR = Pd(1-Pc)/Pc(1-Pd)$ 公式进行相对危险度分析并作统计学比较(RR :相对危险度; Pd :患者组基因频率; Pc :对照组基因频率), $RR > 1$ 为有易感倾向, $RR < 1$ 为有抗性倾向^[3,4]。找出各STR基因座与大肠癌相关基因的易感连锁或抗性连锁的等位基因。

统计学处理 用Microsoft Excel软件计算本地区健康人群和散发性大肠癌患者人群的基因频率。每个个体STR基因座应有2个等位基因检出,只检出1个者视为纯合子。如此计算出各等位基因的基因频率,并对健康人群的等位基因频率分布作Hardy Weinberg吻合度检验^[2]。

用行列皆无序卡方检验(χ^2 检验)分析本地区健康人群和散发性大肠癌患者人群的15个STR基因座等位基因的分布情况。以上分析在SPSS13.0统计软件平台上完成。

2 结果

2.1 厦门地区无关人群等位基因Hardy Weinberg平衡分析 D3S1358、TH01、D21S11、D18S51、Penta E、D5S818、D13S317、D7S820、D16S539、CSF1PO、Penta D、vWA、D8S1179、TPOX和FGA 15个基因位点在厦门地区无关人群中Hardy Weinberg吻合度检验 $P > 0.05$,说明这15个位点的分布符合Hardy Weinberg平衡遗传定律。因此本研究选择的对照组具有群体代表性。

2.2 厦门地区大肠癌与15个STR基因座关联分析 这里只将具有统计学比较意义的基因座的频数分布表列出。表1-3分别表示厦门地区大肠癌患者人群和健康无关人群在D5S818、vWA和FAG STR基因座上的等位基因频数分布。

表1 厦门地区肠癌人群和健康无关人群在D5S818基因座上的等位基因频数分布

人群类型	D5S818基因座的等位基因							合计	χ^2 值	P值
	7	9	10	11	12	13	14			
健康人群	7	22	54	54	60	46	3	246	36.69	<0.01
肠癌人群	0	3	11	52	14	20	0	100		
合计	7	25	65	106	74	66	3	346		

表2 厦门地区肠癌人群和健康无关人群在vWA基因座上的等位基因频数分布

人群类型	vWA基因座的等位基因										合计	χ^2 值	P值
	7	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
健康人群	0	5	6	46	72	53	40	22	2	0	246	53.99	<0.01
肠癌人群	0	0	1	19	5	16	26	24	6	3	100		
合计	0	5	7	65	77	69	66	46	8	3	346		

表3 厦门地区肠癌人群和健康无关人群在FAG基因座上的等位基因频数分布

人群类型	FAG基因座的等位基因																	合计	χ^2 值	P值	
	16	18	19	20	20.2	21	21.2	22	23	23.2	24	24.2	25	25.2	26	26.2	27				28
健康人群	0	4	13	18	0	31	0	58	60	0	25	0	33	0	1	2	0	1	246	53.99	<0.01
肠癌人群	2	2	5	7	1	14	1	23	9	2	15	1	13	2	3	0	0	0	100		
合计	2	6	18	25	1	45	1	81	69	2	40	1	46	2	4	2	0	1	346		

因为 $P<0.01$, 所以可以认为D5S818基因座等位基因的分布与肠癌人群和健康人群之间相关联。肠癌人群与健康人群两组D5S818的等位基因分布有性差异($\chi^2=36.69$, $P<0.01$)。特别是在个别等位基因比较中, 肠癌人群D5S818-11的基因频率为0.520 0, 健康人群该等位基因的基因频率为0.219 5, 两者有统计学显著差异($P<0.01$); $RR=3.852 1$, $P<0.05$, 提示D5S818-11与肠癌相关联, 其附近可能存在肠癌易感基因(表1)。

因为 $P<0.01$, 所以可以认为vWA基因座等位基因的分布与肠癌人群和健康人群之间相关联。肠癌人群与健康人群两组vWA的等位基因分布有显著性差异($\chi^2=53.99$, $P<0.01$)。特别是在个别等位基因比较中, 肠癌人群vWA-15基因频率0.050 0, 明显低于健康人群vWA-15的基因频率0.292 7, 两者有统计学差异($P<0.01$)。 $RR=0.127 2$, $P<0.05$, 提示vWA-15与肠癌相关联, 其附近可能存在肠癌抗性基因(表2)。

因为 $P<0.01$, 所以可以认为FAG基因座等位基因的分布与肠癌人群和健康人群之间相关联。肠癌人群与健康人群两组FAG的等位基因分布有显著性差异($\chi^2=37.58$, $P<0.01$)。特别是在个别等位基因比较中, 肠癌人群FAG-23的基

因频率为0.09, 健康人群该等位基因的基因频率为0.243 9, 两者有统计学差异($P<0.01$)。 $RR=0.306 6$, $P<0.05$, 提示FAG-23与肠癌相关联, 其附近可能存在肠癌抗性基因(表3)。

3 讨论

自1990年代以来, 随着人类基因组遗传图和物理图的逐步精细化, 以荧光标记、多重PCR、半自动化操作为特点的大规模全基因组扫描技术已成为当今疾病基因定位的主要工具。在肿瘤方面, 采用已知多态性微卫星进行基因扫描, 进而进行遗传连锁分析、连锁不平衡分析, 已初步筛选到一些可能的易感基因位点, 例如von Brevern *et al*^[5]对35位散发性食道鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)患者通过分析胍脒症食管癌基因(tylosis oesophageal cancer gene, TOC gene)附近的6个多态微卫星标记的杂合性缺失(LOH), 推测TOC基因是引起散发性食管癌发病的易感基因。

由于STR蕴含丰富多态性, 所以可用于基因作图、定向克隆、亲子鉴定、疾病机理的连锁分析以及肿瘤生物学、群体遗传学和进化生物学的研究^[6]。采用PCR技术, 基因扫描分型技术及自动分析系统, 选择多态性较高的STR基

■ 创新盘点

本研究首次将D3S1358, TH01, D21S11, D18S51, Penta E, D5S818, D13S317, D7S820, D16S539, CSF1PO, Penta D, vWA, D8S1179, TPOX和FGA等15个多态性较高的STR基因座应用于消化道肿瘤易感因子的研究, 发现了D5S818-11附近可能存在肠癌易感基因; vWA-15附近有可能存在与大肠癌相关的抗性基因; FAG-23附近可能存在肠癌抗性基因。

■应用要点

本研究对易感基因的筛选作了有益的探索,为消化道肿瘤易感因子的进一步定位克隆提供了一定的线索,今后可对可疑基因的附近选择多个STR位点,进行全基因组扫描,做进一步深入分析。

因座对肿瘤患者进行研究已经得到科学家的认同。Yue *et al*^[7]利用PCR技术和高效液相色谱法(DHPLC)技术分析位于ECRG2基因外显子非编码区的多态性较高STR基因座后指出, ECRG2 STR可能是食道鳞状细胞癌(ESCC)的基因易感因子; Tseng *et al*^[8]利用STR、SNP等遗传标记推测表达N-氨基乙酸转甲基酶(Glycine N-methyltransferase, GNMT)的基因可能是肝癌的一个新的肿瘤易感基因; Zhang *et al*^[9]采用3色荧光标记的15个微卫星引物扩增相应的STR位点, PCR产物用PRISM377测序仪进行电泳及Genescan和Genotype软件分析, 得出APC, MCC, CTNNA1和IL家族基因与结肠直肠癌发生密切相关的结论。Peng *et al*^[10]分析正常人和83例结肠直肠癌肿瘤患者的多态性微卫星基因座, 发现正常人LOH频率和患者有显著差异。他们得出结论, 散发性结肠直肠癌患者20号染色体有着显著的基因不稳定性, 其变异与结肠直肠癌的发生密切相关。分析的微卫星标志愈多, 与疾病相关的易感基因座的定位愈准确。在寻找肿瘤相关的易感基因座时, 多采用间隔定位(interval mapping)法, 即沿基因组逐一检验微卫星标志的位点与疾病某表型的位点呈连锁和不连锁机率的比值。该比值的对数称为优势对数分数"LOD"(log odd score)。连锁信息以LOD值表示, 一般以LOD值>2提示连锁, LOD值>3肯定连锁, LOD值<-2否定连锁^[11-13]。

实验证明, 采用基因扫描技术, 结合遗传分析方法, 有可能从癌症患者基因组中找出与肿瘤发病有关的等位基因。本研究选择D3S1358、THO1、D21S11、D18S51、Penta E、D5S818、D13S317、D7S820、D16S539、CSF1PO、Penta D、vWA、D8S1179、TPOX及FGA 15个基因座, 对消化道肿瘤患者进行基因型频率调查, 进而根据癌症患者组与对照组中上述基因座的基因频率的显著性差异, 从中筛查易感等位基因。有助于对相关基因的进一步定位克隆和深入研究, 为探询消化道肿瘤病因及其防治研究提供有益的帮助。

STR基因型频率与人种(民族)的遗传背景关系明显, 因此需先建立本地区健康人群的STR基因型频率的分布, 进而根据当地癌症患者组与当地健康人群出现的STR基因型频率是否存在显著性差异, 从而筛出易感基因。否则, 结果有可能偏差, 甚至相反。Arnett *et al*^[14]研究了20例具有抗心磷脂抗体(Auto-antibodies to phosphor lipids,

APA)类型的美国SLE患者, 发现DQB1*0301可能是易感基因; 而在江浙沪一带SLE患者中, DQB1*0301却可能是保护基因, 结论正好相反。这证明, 疾病与基因的遗传关联与人种(民族)的遗传背景关系明显。我们在对本地区消化道肿瘤患者进行基因扫描之前, 先采集123例健康无关人群血样, 对其进行DNA分型, 建立了本地区必备的人群遗传背景, 这是必不可少的基本环节。

D5S818位于染色体5q23.3-32, 其核心序列为AGAT; vWA位于染色体12p12-pter, 在人类假血友病因子基因(Human von Willebrand factor gene, HUMVWFA31)内, 其核心序列为TCTA; FAG位于染色体4q28, 在纤维蛋白原 α 链基因(Human fibrinogen alpha chain gene, HUMFIBRA)内, 其核心序列为TTTC。所以在5、12、4号染色体上可能存在大肠癌的易感基因, 今后可对可疑基因的附近选择多个STR位点, 进行全基因组扫描, 做进一步深入分析。SNP作为第三代图谱, 与STR比较, 它具有高密度、高稳定性和易于分型检测的优势, 因而在疾病, 特别是多基因疾病研究领域显示了巨大的优势。它在人类基因组中出现的频率非常高, 平均每500-1 000个碱基对中就有一个SNP, 估计其总数在300万个以上^[15]。因此也可以根据肿瘤的一个或几个易感基因内或附近的SNP对患病人群与正常对照人群进行相关分析, 确定某SNP的某种基因型、单倍型频率在患病人群与正常对照人群中的差异分布, 从而确定某基因型或单倍型所反映的个体对某种肿瘤的易感性。

将基因多态性作为消化道肿瘤易感性的检测指标, 可用于消化道肿瘤易感个体的一级预防以及进一步探索消化道肿瘤的发病机制。如果在某消化道肿瘤, 例如胃癌高发地区和高危人群中广泛开展胃癌较特异的基因多态位点检测, 然后进一步采取相关的预防措施, 这样可有效降低人群中胃癌的患病率。同时, 如何针对基因多态位点进行有效的基因治疗也是一个值得进一步研究的问题。

本课题对大肠癌易感基因和抗性基因进行了初步的探索。但是仅从这几个等位基因的有或无来推断是否会患大肠癌是较武断的。携带这些基因的人不一定会患大肠癌, 而不携带这些基因的人也不一定就不会患大肠癌。其原因在于消化道细胞的癌变是多因素、多阶段及多基因联合作用的结果。不过我们发现

■名词解释

短串连重复序列(STR): STR又称为微卫星, 他们的多态性又称为简单序列长度多态性。STR是第二代遗传标记, 广泛分布于原核、真核生物基因组中。它存在于基因组的非编码区和染色体的近端粒区。由于核心序列重复数目的不同, 因此在群体中呈现出遗传多态性。

D5S818-11, vWA-15和FAG-23位点, 作为消化道肿瘤易感性的检测指标, 将为消化道肿瘤易感个体的一级预防以及进一步深入探索消化道肿瘤的发病机制提供重要的线索。

4 参考文献

- Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques* 1991; 10: 506-513
- Wang W, Jia H, Wang Q, Cai Z, Wei L, Wang D, Bittles AH. STR polymorphisms of "forensic loci" in the northern Han Chinese population. *J Hum Genet* 2003; 48: 337-341
- 何清波, 苏炳华, 钱允主编. 医学统计学及其软件包. 第1版. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2002: 315-317
- Maki P, Veijola J, Joukamaa M, Laara E, Hakko H, Jones PB, Isohanni M. Maternal separation at birth and schizophrenia-a long-term follow-up of the Finnish Christmas Seal Home Children. *Schizophr Res* 2003; 60: 13-19
- von Brevern M, Hollstein MC, Risk JM, Garde J, Bennett WP, Harris CC, Muehlbauer KR, Field JK. Loss of heterozygosity in sporadic oesophageal tumors in the tylosis oesophageal cancer (TOC) gene region of chromosome 17q. *Oncogene* 1998; 17: 2101-2105
- Koreth J, O'Leary JJ, O'D McGee J. Microsatellites and PCR genomic analysis. *J Pathol* 1996; 178: 239-248
- Yue CM, Bi MX, Tan W, Deng DJ, Zhang XY, Guo LP, Lin DX, Lu SH. Short tandem repeat polymorphism in a novel esophageal cancer-related gene (ECRG2) implicates susceptibility to esophageal cancer in Chinese population. *Int J Cancer* 2004; 108: 232-236
- Tseng TL, Shih YP, Huang YC, Wang CK, Chen PH, Chang JG, Yeh KT, Chen YM, Buetow KH. Genotypic and phenotypic characterization of a putative tumor susceptibility gene, GNMT, in liver cancer. *Cancer Res* 2003; 63: 647-654
- Zhang F, Zhou C, Ling Y, Qiu G, Bai S, Liu W, He L, Peng Z. Allelic analysis on chromosome 5 in sporadic colorectal cancer patients *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2002; 24: 458-460
- Peng Z, Zhou C, Zhang F, Ling Y, Tang H, Bai S, Liu W, Qiu G, He L. Loss of heterozygosity of chromosome 20 in sporadic colorectal cancer. *Chin Med J* 2002; 115: 1529-1532
- 项坤三. 糖尿病易感基因定位策略. *中华医学遗传学杂志* 1997; 14: 303-306
- 顾鸣敏, 陈仁彪. 多基因遗传的遗传分析的研究进展. *国外原子遗传学分册* 1998; 21: 60-65
- Comuzzie AG, Allison DB. The search for human obesity genes. *Science* 1998; 280: 1374-1377
- Arnett FC, Olsen ML, Anderson KL, Reveille JD. Molecular analysis of major histocompatibility complex alleles associated with the lupus anticoagulant. *J Clin Invest* 1991; 87: 1490-1495
- Sherry ST, Ward MH, Kholodov M, Baker J, Phan L, Smigielski EM, Sirotkin K. dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Res* 2001; 29: 308-311

■同行评价

本研究将为消化道肿瘤易感个体的一级预防以及进一步深入探索消化道肿瘤的发病机制提供一定的线索。

电编 李琪 编辑 管鑫妍 审读 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

专家门诊

本刊讯 《世界华人消化杂志》特设“专家门诊”固定专栏为广大消化病患者搭建一个信息平台, 邀请本刊编委为专栏撰稿, 每期1-3个专家门诊。写作格式如下:

胃溃疡诊断和治疗

个人简介(附3.5 cm × 5 cm照片一张)

通信作者(包括邮政编码、工作单位、部门、科室、机构全称、地址、所在省市、E-mail)

0 引言

1 诊断

2 治疗

3 特色

4 门诊时间

www.wjgnet.com