

DOI:10.13350/j.cjpb.220420

• 临床研究 •

柯萨奇 B3 病毒感染与冠心病患者冠状动脉病变程度及炎症反应的关系

武晓玲^{1*}, 马国梅², 牟丽娜¹

(1. 衡水市哈励逊国际和平医院心内科, 河北衡水 053000; 2. 衡水市哈励逊国际和平医院神经内一科)

【摘要】 目的 探讨柯萨奇 B3 病毒(CV-B3)感染与冠心病患者冠状动脉病变程度及炎症反应的关系。方法 本院 2019 年 9 月-2020 年 9 月收治的 50 例冠心病患者作为观察组, 同期医院体检的健康人员 49 人作为对照组。分别采用实时荧光定量 PCR 法和化学发光法检测两组患者 CV-B3 感染情况和血清炎症因子水平; 采用冠状动脉造影对观察组冠状动脉病变程度进行 Gensini 评分, 分析 CV-B3 感染与冠心病患者冠状动脉病变程度及炎症反应的关系。结果 观察组患者 CV-B3 感染率 24.00%, 对照组为 8.16%, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。观察组中心肌梗死、心绞痛及隐匿性冠心病患者 CV-B3 感染率分别为 50.00%、16.67% 和 8.33%, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。观察组患者感染后 4、12、24 h HL-1 心肌细胞及间充质干细胞的 CV-B3 基因拷贝数与对照组比较差异具有统计学意义(均 $P < 0.05$)。观察组 CV-B3 阳性患者的 Gensini 评分高于阴性患者($P < 0.05$)。观察组患者超敏 C-反应蛋白(HS-CRP)及同型半胱氨酸(HCY)含量均高于对照组(均 $P < 0.05$)。观察组的 TNF- α 和 IL-6 水平均高于对照组(均 $P < 0.05$)。结论 冠心病患者 CV-B3 感染可加重冠状动脉病变程度, 增强炎症反应, 不利于患者康复。

【关键词】 柯萨奇 B3 病毒; 冠心病; 冠状动脉; 炎症反应; 影响

【中图分类号】 R373.2

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2022)04-0467-04

[*Journal of Pathogen Biology*. 2022 Apr;17(4):467-470.]

Relationship between Coxsackie B3 virus infection and the degree of coronary artery disease and inflammatory response in patients with coronary heart disease

WU Xiao-ling¹, MA Guo-mei², MU Li-na¹ (1. Department of Cardiology, Harrison International Peace Hospital, Hengshui, Hebei 053000, China; 2. First Department of Neurology, Harrison International Peace Hospital)

【Abstract】 **Objective** To investigate the relationship between Coxsackie B3 virus (CV-B3) infection and the severity of coronary artery disease and inflammatory response in patients with coronary heart disease. **Methods** Fifty patients with coronary heart disease admitted to our hospital from September 2019 to September 2020 served as the observation group, and 49 healthy people who received physical examination in the hospital during the same period served as the control group. Real-time fluorescence quantitative PCR and chemiluminescence were used to detect CV-B3 infection and serum inflammatory factor levels in the two groups of patients; coronary angiography was used to perform Gensini scores on the degree of coronary artery disease in the observation group, to analyze the relationship between CV-B3 infection and either the degree of coronary artery disease or inflammatory response in patients. **Results** The CV-B3 infection rate was 24.00% in the observation group and 8.16% in the control group. The difference was statistically significant ($P < 0.05$). The CV-B3 infection rates of patients with myocardial infarction, angina pectoris and occult coronary heart disease in the observation group were 50.00%, 16.67% and 8.33%, respectively, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The CV-B3 gene copy number of HL-1 cardiomyocytes and mesenchymal stem cells in the observation group were significantly different from those in the control group at 4, 12, and 24 h after infection (all $P < 0.05$). The Gensini score of CV-B3 positive patients in the observation group was higher than that of negative patients ($P < 0.05$). The contents of hyper-sensitive C-reactive protein (HS-CRP) and homocysteine ?? (HCY) in the observation group were higher than those in the control group (both $P < 0.05$). The levels of TNF- α and IL-6 in the observation group were higher than those in the control group (both $P < 0.05$). **Conclusion** CV-B3 infection in patients with coronary heart disease can aggravate the severity of coronary artery disease and enhance the inflammatory response, which is not conducive to the recovery of patients.

【Key words】 Coxsackie B3 virus; coronary heart disease; coronary artery; inflammatory response; influence

* 冠状动脉粥样硬化性心脏病简称冠心病, 该病患者的冠状动脉血管会发生动脉粥样硬化病变, 从而

* **【通讯作者(简介)】** 武晓玲(1985-), 女, 河北衡水人, 硕士, 主治医师。主要从事心血管内科疾病诊疗工作。
E-mail: wjh859575@163.com

导致心肌梗死或缺血、缺氧,一旦形成血管粥样斑块病情常不可逆转,患者需终生服药,以改善心肌缺血,避免心肌梗死和心绞痛等的发生^[1]。冠心病多发于老年人群,目前逐渐呈年轻化。吸烟、高血压、高血脂、高血糖、不良生活习惯及遗传因素等是诱发冠心病的危险因素^[2]。有研究表明,细菌和病毒感染均可在冠状动脉粥样硬化的进展中起到一定作用,其中幽门螺杆菌、人巨细胞病毒等感染与冠心病的发生发展密切相关^[3]。临床研究证实,柯萨奇病毒(Coxsackievirus, CV)B1~B6可引起心肌炎、心包炎,严重者会导致患者出现心衰。病毒性心肌炎发病机制研究认为,柯萨奇病毒 B3(Coxsackievirus B3, CV-B3)感染早期即可直接裂解心肌细胞,随后诱导炎症细胞浸润并形成炎症损伤。王颖等^[4]报道, CV-B3 感染形成的病毒性心肌炎由 CV-B3 肠道感染诱导低水平的固有免疫反应,同时导致肠道轻微损伤,并通过在肠道和心脏间表达 TRIM21 诱导心肌炎的形成。然而关于 CV-B3 感染与冠心病间的关系仍不十分清楚。本研究旨在探讨 CV-B3 感染与冠心病冠状动脉病变程度及炎症反应间的相关性,为该病的治疗提供参考依据。

对象与方法

1 受试对象

经医院伦理委员会批准,选取 2019 年 9 月-2020 年 9 月本院收治的 50 例冠心病患者作为观察组,同期在医院体检的 49 名健康人作为对照组。观察组患者年龄 48~70 岁,患者冠心病分型:12 例隐匿性,14 例心肌梗死,24 例心绞痛。对照组年龄 46~67 岁。两组研究对象的性别、年龄构成,以及慢性疾病患病占比等差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)(表 1)。

表 1 两组患者一般资料比较
Table 1 The comparison of general data between two groups

组别 Group	例数 No. of cases	性别 Sex	年龄 (岁) Age (years)	糖尿病 (有/无) Diabetes (Yes/No)	高血压 (有/无) Hypertension (Yes/No)	吸烟 (有/无) Smoke (Yes/No)	血脂紊乱 (有/无) Dyslipidemia (Yes/No)
观察组	50	34/16	58.15±6.43	10/40	27/23	16/34	15/35
对照组	49	32/17	57.92±6.22	8/41	23/26	14/35	13/36
χ^2 值 或 t 值		0.081	0.181	0.224	0.494	0.138	0.147
P 值		0.776	0.857	0.636	0.482	0.711	0.702

纳入标准:①观察组患者入组前确诊为冠心病;②依从性较好;③无严重全身疾病;④临床资料完整,知情并签署同意书。

排除标准:①近期服用过影响本研究的药物者;②意识模糊,交流障碍者;③合并急性感染、肠道疾病者。

2 方法

2.1 CV-B 组病毒感染的血清学检测 抽取受试者

空腹外周静脉血 5 ml,分离血清,采用酶联免疫吸附法测定 CV-B 组病毒(不分 B1~B6)血清特异性 IgM 抗体,初步筛查两组受试者 CV-B 组病毒感染率,以及观察组内不同临床症状患者 CV-B 组病毒感染率。试剂盒购自上海雅吉生物科技有限公司,严格按照说明书方法操作。

2.2 CV-B3 核酸检测 用收集的血清感染 HL-1 心肌细胞及间充质干细胞(MSC)(购自中国细胞资源中心),细胞置于 75 cm² 斜口瓶中,血清 500 μ l/瓶,补足培养基至 15 ml。分别于感染 4、12、24 h 后吸取 200 μ l 上清液,以 2 000 r/min(离心半径 10 cm)离心 5 min,取上清,采用 Trizol 法提取 RNA,应用大容量 cDNA 反转录试剂盒合成基因组 DNA。采用实时荧光定量 PCR 法检测 CV-B3 核酸。利用 Primer 5 软件设计引物。鼠核糖体蛋白 L32 的上游引物:5'-TGC-CCACGGAGGACTGACA-3';下游引物:5'-AGGT-GCTGGGAGCTGCTACA-3'。人核糖体蛋白 L32 的上游引物:5'-AGGAGAGACACCGTCTGAACAAG-3';下游引物:5'-GAACCAGGATGGTTCGCTTTC-3'。CV-B3 上游引物:5'-CCCTGAATGCGGCTAATCC-3';下游引物:5'-ATTGTCACCATAAGCAGCCA-3'。实时荧光定量 PCR 反应体系(20 μ l)(Quant one step qRT-PCR Kit,中国天根):2 \times Quant One Step SYBR qRT-PCR Master Mix 10 μ l, HotMasterTaq Polymerase(2.5 U/ μ l) 1 μ l, Quant RTase 0.16 μ l, 引物各 0.4 μ l, 模板 RNA 1 μ l, RNase-Free ddH₂O 7.04 μ l。PCR 反应条件(7300 型荧光定量 PCR 仪,美国 ABI 公司生产):95 $^{\circ}$ C 预变性 10 min;95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 1 min, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 共 40 个循环;75 $^{\circ}$ C 延伸 8 min。反应混合物冷却至 4 $^{\circ}$ C 并加入 10 mmol/L 的 EDTA 终止反应。计算 HL-1 细胞和 MSC 的 CV-B3 病毒载量。

2.3 HS-CRP 及细胞因子检测 采用特定蛋白分析仪(美国 Dade Behring 公司生产)检测血清超敏 C-反应蛋白(hypersensitive C-reactive protein, HS-CRP);采用全自动化学发光仪(型号:IMMULITE 1000,德国西门子公司生产)检测同型半胱氨酸(homocysteine, HCY)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)及肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)。检测试剂均由厂家提供,严格按说明书步骤操作。

2.4 CV-B3 阳性、阴性患者冠状动脉病变程度比较 采用 Gensini 评分对冠状动脉病变程度进行评估,总分 32 分,患者的病变程度越严重,评分越高。入院时对冠心病患者进行冠状动脉造影(In-tegris CV-DSA)。

2.5 统计学分析 采用 SPSS26.0 进行数据分析。计数资料以[例(%)]表示,采用 χ^2 检验,组间两两比较采用 χ^2 分割法。正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表

示,两组间比较采用独立样本 t 检验,等级资料采用秩和检验,重复测量数据比较采用重复测量方差分析。正态分布资料的相关性采用 Person 相关性分析,偏态分布资料及等级资料相关性采用 Spearman 相关性分析。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

1 CV-B 组病毒感染的血清学筛查

血清 IgM 抗体检测显示,观察组患者 CV-B 组病毒感染率为 24.00% (12/50),对照组为 8.16% (4/49),差异有统计学意义 ($\chi^2 = 4.581, P > 0.05$)。

2 不同临床症状患者 CV-B 组病毒感染血清学阳性率比较

观察组中心肌梗死、心绞痛及隐匿性冠心病患者的 CV-B 组病毒血清学阳性率分别为 50% (7/14)、16.67% (4/24) 和 8.33% (1/12)。心肌梗死患者的 CV-B 组病毒血清学阳性率高于心绞痛患者 ($\chi^2 = 4.78, P < 0.05$) 和隐匿性冠心病患者 ($\chi^2 = 5.27, P < 0.05$);心绞痛患者与隐匿性冠心病患者比较 CV-B 组病毒血清学阳性率差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.47, P > 0.05$)。

3 HL-1 心肌细胞及间充质干细胞 CV-B3 基因检测情况

HL-1 心肌细胞及间充质干细胞的 CV-B3 基因检测结果见表 2。观察组感染后 4、12、24 h HL-1 细胞 (F 值分别为 2 183.12、2 419.11 和 3 121.45,均 $P < 0.05$) 及 MSC 的 CV-B3 基因拷贝数均显著高于对照组 (F 值分别为 2 802.30、4 009.88 和 3 545.41,均 $P < 0.05$)。

表 2 两组患者 HL-1 细胞及 MSC 的 CV-B3 基因拷贝数比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Comparison of CV-B3 gene copy numbers of HL-1 cardiomyocytes and mesenchymal stem cells between the two groups

分组 Group	HL-1 细胞 HL-1 cells			MSC 细胞 MSC cells		
	感染后 4 h 4h after infection	感染后 12 h 12h after infection	感染后 24 h 24 h after infection	感染后 4 h 4h after infection	感染后 12 h 12h after infection	感染后 24 h 24 h after infection
观察组	9457±982	26519±926	198346±7811	1152±98	1129±89	201±24
对照组	0	0	0	0	0	0
F 值	2183.12	2419.11	3121.45	2802.30	4009.88	3545.41
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

4 CV-B 组病毒阳性与阴性患者的冠状动脉病变程度比较

观察组中,12 例 CV-B 组病毒阳性患者的 Gensini 评分为 30.56±4.51, CV-B 组病毒阴性患者的 Gensini 评分为 20.48±3.69,差异有统计学意义 ($t = 7.819, P < 0.05$)。

5 HS-CRP 及 HCY 检测情况

观察组 HS-CRP (mg/L) 及 HCY ($\mu\text{mol/L}$) 含量均显著高于对照组 (6.8±2.1 vs. 1.5±0.3, $t = 17.491$; 18.2±3.7 vs. 10.1±1.2, $t = 14.590$, 均 $P < 0.01$)。

6 炎症因子检测结果

观察组患者 TNF- α (ng/L) 和 IL-6 (ng/L) 水平均显著高于对照组 (21.7±5.8 vs. 10.2±0.8, $t = 13.750$; 14.2±3.9 vs. 5.8±1.1, $t = 14.520$, 均 $P < 0.01$)。

讨 论

近年来,我国冠心病的发病率呈现逐渐上升趋势,且趋于年轻化。该疾病是由于冠状动脉发生粥样硬化,造成血管腔闭塞或狭窄,引起心肌坏死或缺血缺氧的一类心脏病。部分患者在临床上无明显症状,大多患者具有胸闷、心悸、胸痛、呼吸困难等临床表现,患者需要进行长期药物治疗,严重威胁健康。目前,临床上关于冠心病的致病原因尚不明确,有研究指出,冠心病患者易感染 CV,且两者之间有一定相关性^[5]。

临床调查数据显示, CV 感染易引起心脏疾患,其中由 CV-B3 导致的病毒性心肌炎患者达 20% 以上^[6]。该病毒为小核糖核酸肠道病毒,对心肌细胞具有较强的易感性。已经明确 CV 能够引起病毒性心肌炎,机体常会在感染病毒后迅速造成心脏功能障碍,或引起心肌产生不可逆的损伤,最终发展为心肌病^[7-9]。

既往对 CV-B3 感染常按照中和抗体效价逐渐上升或较高的标准进行诊断^[10]。但临床研究表明,该诊断需要病毒感染恢复期及急性期血清,而恢复期大部分病毒多已经消失,急性期早期血清又不易获取,患者症状一般出现在抗体效价上升时。因中和抗体的持续时间较长,在健康人群中亦可测出。另外,近期存在抗原刺激也可出现病毒特异性 IgM^[11]。石哲玮等^[12]采用酶联免疫吸附法测定 CV-B 组病毒特异性 IgM,进而确定阳性患者。Zhang 等^[13]对 329 例冠心病患者与 178 名健康人进行 CV-B 组病毒血清学检测,结果显示心力衰竭者中 B 组病毒特异性 IgM 反应阳性者占 25%,急性心肌梗塞者占 19.6%,心律失常者占 5.2%,而在对照组中仅占 6.2%。本研究结果显著,观察组 CV-B 组病毒检出率 (24.00%) 高于对照组 (8.16%)。观察组 CV-B 病毒阳性患者中心肌梗死占 50.00%、心绞痛占 16.67%、隐匿性冠心病占 8.33%。由此推断 CV-B 组病毒感染可能在冠心病中起到一定作用。

随着对冠心病病情的进展研究发现,病毒感染参与该疾病的发生发展。通常情况下,当机体受到炎症刺激时 Hs-CRP 会经肝细胞大量合成,含量升高,促进单核细胞因子及内皮细胞黏附分子的释放,利于泡沫细胞的产生,激活补体,造成血管免疫受损,最终导致斑块不稳定^[14]。另外,HCY 为含巯基的氨基酸,是机体蛋氨酸的正常代谢产物,病毒感染容易影响叶酸及维生素 B12 的吸收,进而降低甲硫氨酸合成酶活

性,造成 HCY 甲基化障碍,使其含量增加,其形成的内脂物又与低密度脂蛋白结合,被巨噬细胞吞噬,进一步产生泡沫细胞,促使血管平滑肌增生,使动脉粥样硬化斑块加速形成,增大冠心病发生风险^[15]。除此之外,TNF- α 能够直接参与血管内皮的损伤,聚集炎症反应细胞,释放炎症递质,导致血管壁损伤,造成细胞坏死,加速动脉硬化的形成。同时 TNF- α 的上升还能够促进 IL-6 的释放^[16-17]。另有研究指出,机体在炎症刺激下,形成的 IL-6 及 TNF- α 炎症因子可相互协作,激活 Th 细胞,促进大量抗体的产生,并形成免疫复合物,进一步形成血栓沉积于血管内皮^[18]。Zhang 等^[19]报道,病毒感染冠心病患者的 HS-CRP、HCY 含量、TNF- α 及 IL-6 水平均高于健康受检人员。本研究数据亦表明,观察组 HS-CRP、HCY 含量、TNF- α 及 IL-6 水平均高于对照组,进一步证实病毒自身能够进行炎症刺激造成动脉粥样硬化斑块失去稳定性,引起破裂,并能激活 TNF- α 、IL-6 等细胞因子的表达,进一步加强炎症反应,加快粥样硬化斑块发生破裂,导致冠心病。

MSC 属于成体干细胞,能够进行多向分化,可快速扩增及自我复制,并存在低免疫原性,在冠心病临床试验中广泛应用^[20]。彭俊等^[21]的研究指出,因 MSC 中没有 CV 受体的表达,致使 MSC 中 CV-B3 不能进行复制;而 MSC、HL-1 细胞在 CV-B3 感染后 4、12、24 h 与未感染组 CV-B3 基因拷贝数差异均显著。本研究数据结果亦表明,观察组感染后 4、12、24hHL-1 心肌细胞及间充质干细胞的 CV-B3 基因拷贝数与对照组比较差异显著。因此在冠心病治疗措施的研究中,可尝试利用间充质干细胞旁分泌效应及自身的免疫调节作用,采取在 MSC 中 CV-B3 不可以复制的特点,将 CV-B3 感染后的 MSC 及 HL-1 细胞加以共同培养,并观察病毒滴度,为 CV-B3 感染疾病的临床治疗提供依据。

本研究中观察组 CV-B3 阳性者 Gensini 评分高于 CV-B3 阴性者,表明 CV-B3 感染与疾病的严重程度具有一定的正相关性。目前,临床上关于该方面研究报道较少,今后还应扩大样本量,进一步做中心性扩大证实试验。

综上所述, CV-B3 感染可促进冠心病患者的炎症反应,加重患者冠状动脉病变程度,在疾病的发生发展中具有一定作用。通过扩大化样本量进行中心试验证实,可为疾病的临床治疗措施提供依据。

【参考文献】

[1] 郑诗悦,刘文秀,王丹,等. 内质网应激所致细胞死亡与柯萨奇病毒 B3 病毒性心肌炎[J]. 医学综述,2021,27(18):3563-3568.
[2] 杨阳,刘文秀,王丹,等. 柯萨奇病毒 B3 产生的 2B 蛋白影响钙信

号转导并抑制细胞凋亡的研究进展[J]. 医学综述,2021,27(18):3552-3556.

- [3] Guo N, Qin HW. Research progress of inflammatory response of long chain noncoding RNA to atherosclerosis [J]. J Mol Diagn Treat,2021,13 (8):1372-1376
[4] 王颖,姚玉淑. 动脉粥样硬化相关血清生物标记物学及分子生物学检测指标的研究进展[J]. 实用医技杂志,2021,28(8):1028-1030.
[5] 李卫东,颜源均,赵世桥,等. NLRP3 对病毒感染心肌细胞凋亡及炎症反应的作用[J]. 西部医学,2021,33(7):963-969.
[6] 郭丽敏,张东华,史宁. 柯萨奇病毒 B3 感染大鼠心室肌钙通道基因表达及其功能变化[J]. 中华医院感染学杂志,2021,31(2):161-165.
[7] 姜艳娇,孙增先,胡盼盼. Caspase-1 及其在心血管疾病中的作用研究进展[J]. 重庆医学,2021,50(16):2844-2847.
[8] 伍慧妍,沈昱民. 冠心病患者 CRP、SAA、PCT、IL-6 水平与冠状动脉粥样硬化的相关性研究[J]. 检验医学与临床,2021,18(9):1250-1253.
[9] 唐百壹,文娟,唐晓鸿. ADAM17 在动脉粥样硬化发病机制中作用的研究进展[J]. 基础医学与临床,2021,41(5):744-748.
[10] 朱立军,黄进宇. 冠心病非传统危险因素治疗干预措施的研究进展[J]. 浙江医学,2021,43(07):789-793,800.
[11] 张思思,谢达奇,胡文奕,等. 基于 PI3K/PKB 通路研究 EGCG 对 CV-B3 感染致病毒性心肌炎小鼠细胞凋亡的影响[J]. 病毒学报,2021,37(3):575-582.
[12] 石哲玮,秦毓璠,钱彩珍,等. NF- κ B 蛋白在柯萨奇病毒 B3 诱导的病毒性心肌炎小鼠心肌细胞焦亡过程中的调控作用[J]. 中国病理生理杂志,2021,37(2):240-245.
[13] 张文涛,陈云宪,唐良秋. NF- κ B 信号通路在冠状动脉粥样硬化性心脏病中的作用[J]. 国际心血管病杂志,2021,48(1):28-31.
[14] 周飞,滕林,邹文博,等. RIP3/CaMK II 信号通路对重症病毒性心肌炎小鼠心脏功能及生存曲线的影响[J]. 中国病理生理杂志,2021,37(1):146-150.
[15] 温继梨,陈凤英,崔晓迎,等. 柯萨奇病毒 B3 对心肌微血管内皮细胞的凋亡作用及 miR-1 表达的影响[J]. 南昌大学学报(医学版),2020,60(2):49-52.
[16] 姚海兰,宋娟,王欣玲,等. 柯萨奇病毒 B3 型感染引起 HeLa 细胞内源性小干扰 RNA 的变化[J]. 微生物与感染,2020,15(2):98-103.
[17] 田红彪,郑晓拓,王燕. 冠心病患者人巨细胞病毒感染情况及其与炎症介质的关系[J]. 岭南心血管病杂志,2020,26(5):520-524.
[18] 王洁,周鹏. CD40-肿瘤坏死因子受体相关因子抑制剂在动脉粥样硬化治疗中的研究进展[J]. 国际心血管病杂志,2020,47(01):1-4.
[19] 张记收,王梦龙,刘剑芳,等. 白细胞介素 33 及其受体在心血管疾病中的作用[J]. 中华老年心脑血管病杂志,2019,21(07):771-773.
[20] 付建平,张俊岭,扈晓霞,等. 血清缺血修饰白蛋白和同型半胱氨酸水平与冠心病患者心肌缺血程度的关系研究[J]. 实用心脑血管病杂志,2019,27(4):13-16.
[21] 彭俊,魏文娟,钱正明,等. 柯萨奇 B3 病毒感染对 HL-1 心肌细胞及间充质干细胞的影响研究[J]. 中国全科医学,2019,22(3):301-305.

【收稿日期】 2021-12-23 【修回日期】 2022-02-25