

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.02.001

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2017.02.001>

· 论著 ·

特纳综合征患者的染色体核型及临床表现特点

郭玉秀, 崔燕, 曾碧荷, 陶月红

(江苏省苏北人民医院儿内科, 江苏 扬州 225000)

[摘要] 目的: 分析特纳综合征(Turner syndrome, TS)患者的染色体核型及临床特点, 以提高对此病的认识和诊疗水平, 为早期发现特殊核型提供临床依据。方法: 对确诊患者的临床表现、性激素水平、骨龄及染色体核型等进行分析和总结。结果: 24例确诊为TS患者, 首发临床表现均为身材矮小, 有50%骨龄比实际年龄延后; 50%具有TS典型体征, 83.33%有促性腺激素水平明显偏高, 50%未见卵巢组织; 染色体核型分析提示33.33%为45,XO, 50%为45X嵌合体, 其余为其他类型; 16.67%的患者有垂体瘤, 8.33%有心血管结构异常, 部分患者心电图有异常, 8.33%有促甲状腺激素水平增高; PCR检测SRX基因均阴性, 未发现Y染色质。结论: TS患者因细胞核型的不同, 临床表现有所差异, 且各种核型与临床表现有时并不完全相对应; 对于矮小症女童, 应常规行染色体核型分析; 对于出现不能由传统核型分析鉴定的特殊染色体或者核型为45,XO的患者尽早行Y染色体检测, 有利于发现异常的Y染色体, 为是否需要预防性切除性腺提供依据。

[关键词] 特纳综合征; 染色体; 核型分析; 临床表现; Y染色体

Clinical features and chromosomal karyotype of Turner syndrome

GUO Yuxiu, CUI Yan, ZENG Bihe, TAO Yuehong

(Department of Pediatrics, Subei People's Hospital of Jiangsu Province, Yangzhou Jiangsu 225000, China)

Abstract **Objective:** To analyze the chromosomal karyotype and clinical features in patients with Turner syndrome (TS) in order to improve the acknowledge and diagnostic level of this disease and to provide clinical evidence for the early detection of the special karyotype in these patients. **Methods:** We analyzed and summarized the clinical manifestations, sex hormone levels, bone ages and chromosome karyotypes of the patients who had been diagnosed as TS. **Results:** Among 24 cases of patients who were diagnosed as TS, short stature was the first clinical manifestations, 50% of the patients had the bone ages delayed with their chronological ages; 50% of the patients had typical signs of TS, 83.33% of the patients had significantly higher levels of gonadotropin, 50% of the patients had no ovaries. Karyotypes of TS were analyzed, in which 33.33% were 45,XO, 50% were 45X chimera,

收稿日期 (Date of reception): 2016-08-09

通信作者 (Corresponding author): 陶月红, Email: ektyh520@163.com

基金项目 (Foundation item): 扬州市基础研究计划 (自然科学基金) 面上项目 (YZ2015092); 江苏省苏北人民医院院级课题 (Yzucms201415)。

This work was supported by Yangzhou Basic Research Project (Natural Foundation) (YZ2015092); Hospital Level Subject of Subei People's Hospital of Jiangsu Province (Yzucms201415), P. R. China.

the rest were other types; 16.67% in all patients had pituitary adenomas, 8.33% with cardiovascular abnormalities, some patients had abnormal electrocardiogram, 8.33% of the patients had an increased level of thyroid stimulating hormone; PCR detection of SRY gene were negative, we did not find Y chromosome. **Conclusion:** In patients with TS, the clinical manifestations were different due to the different cell karyotypes, and the karyotypes and clinical manifestations were not completely corresponding. The chromosome detection should be done in all girls with short stature. For the patients with specific chromosomes which couldn't identified by traditional karyotype analysis, or which with the karyotype of 45,XO, detection of Y chromosome should be done as soon as possible. It will lead to the discovery of abnormal Y chromosome and provide the basis for deciding whether to need preventive resection gonads.

Keywords Turner syndrome; karyotype analysis; clinical manifestation; Y chromosome

特纳综合征(Turner syndrome, TS) 又称为先天性卵巢发育不全综合征, 是临床上较常见的染色体疾病之一, 为缺少1条(或部分)X染色体(包括其短臂顶端部分)的女性, 具有TS相关的一个或多个临床问题, 如矮身材或性腺功能不足; 其卵巢被条索状纤维组织所取代, 是人类唯一能生存的单体综合征^[1]。在活产女婴中发病率约1/5 000~1/2 500, 是女性常见的性染色体疾病, 确诊依赖染色体核型分析。治疗目的为改善成年身高、促进第二性征发育^[2]。若能早期发现、早期诊断、早期干预, 可改善患者临床表型及提高生活质量。本研究主要对24例TS患者染色体核型及临床表现进行分析总结, 为实现早期诊断与治疗提供帮助。

1 对象与方法

1.1 对象

2011—2015年期间, 江苏省苏北人民医院确诊为TS的患者, 初诊时实际年龄(chronological age of onset, CAO)4~14岁, 均因身材矮小来我院就诊, 身高低于同性别同年龄儿童平均身高减2个标准差(standard deviation, SD)以上。其身高(height, Ht)、骨龄(bone age, BA)等一般情况详见表1。本研究已获得江苏省苏北人民医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 细胞核型分析

细胞核型分析按文献[3]方法进行外周血淋巴细胞培养制备染色体, G显带技术分析核型, 油灯下每例计数30个中期分裂象, 分析10个核型, 对疑似嵌合体者, 计数100个核型。异常核型根据TSCN1995人类细胞遗传学国际命名体制进行命名。

1.2.2 激素水平检测和影像学检查

卵泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH)、黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、雌二醇(estradiol, E2)、促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone, TSH)均采用化学发光免疫法测定, 由本院检验科完成, 测定试剂盒由美国拜耳公司提供, 盆腔B超、骨龄片、垂体磁共振、心电图及超声心动图等由本院超声科、放射科及心功能科室完成。

1.2.3 PCR检测SRY基因

与患者家属签署知情同意后, 使用BioMiga外周血基因提取试剂盒提取外周血全基因组DNA, 引物由上海生工合成, SRY基因PCR引物序列为正向: 5'-CTAAGTATCAGTGTGAAACGGG-3', 反向: 5'-CCTTCCGACGAGGTTCGATAC-3', 内对照为DMD基因第6外显子, 其扩增引物为正向: 5'-AGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGT-3', 反向为: 5'-AAAGAGTCCAGATGCTGAAGAT-3', 扩增体系共20 μ L, 其中包括基因组DNA 30 ng, 10 \times PCR缓冲液2 μ L, MgCl₂ 1.5 mmol/L, dNTPs 200 μ mol/L, 引物0.2 μ mol/L, Taq酶0.2 U。PCR扩增条件为95 $^{\circ}$ C预变性5 min, 变性30 s, 51 $^{\circ}$ C退火40 s, 72 $^{\circ}$ C延伸60 s, 进行35个循环扩增, 再72 $^{\circ}$ C充分延伸5 min, 4 $^{\circ}$ C保存。以正常男性为阳性对照, 以正常女性为阴性对照, 以DMD基因的第6外显子为内对照, PCR产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳分离, 采用凝胶成像系统拍照, 观察结果。

1.3 统计学处理

所有统计分析在SPSS17.0统计软件中进行, 计数资料以百分率表示, 两组间计量资料比较采用Fisher确切概率法检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 24 例特纳综合征患者的临床表现、盆腔 B 超、垂体 MRI 及核型

Table 1 Clinical features, pelvic ultrasonography, pituitary MRI and karyotypes in the 24 patients with Turner syndrome

病例	CAO	BA	Ht-(X)/SD	心脏异常	发际低	实际盾状胸	肘外翻	其他	盆腔 B 超卵巢	垂体 MRI 异常	FSH/ (IU.L ⁻¹)	LH/ (IU.L ⁻¹)	E2/ (pmol.L ⁻¹)	TSH/ (mIU.L ⁻¹)	染色体核型
1	11	11	-2.44	无	有	有	有		有	无	81.24	13.35	<18.35	2.12	45,XO
2	6	6	-2.81	有室间隔缺损	无	无	无		无	无	93.42	25.24	23.63	2.36	45,XO
3	7	6	-2.50	无	无	无	无	双足 4/5 趾短	无	无	88.26	16.84	24.86	4.85	45,XO/46X,+mar
4	6.5	5	-2.48	心电图示 T 波改变	无	无	无		有	无	0.23	<0.1	184	18.63	45,XO/46X,i(Xq)
5	8.5	8.5	-2.33	无	有	有	有		有	无	96.35	10.41	<18.35	3.89	45XO/46XX
6	10	10	-3.11	不完全性房内传导阻滞	无	无	无		有	无	0.36	<0.1	<18.35	2.13	46X,i(Xq)
7	7.5	6	-2.85	无	无	无	无		无	无	58.12	9.86	<18.35	3.59	45,XO
8	9	9	-2.40	ST 段改变	无	有	有		无	微腺瘤	156.88	13.66	<18.35	4.14	45,XO/46,X,+mar
9	10.5	9	-3.20	无	有	有	有		无	无	98.56	28.65	<18.35	3.05	46,X,+mar(mar 形似 Y)
10	12	10	-2.22	无	无	无	无		无	无	176.45	22.35	22.37	2.65	45,XO
11	13	9	-2.62	无	无	无	无		有	微腺瘤	25.64	15.52	<18.35	2.18	45,XO/46X,+mar (mar 形似 Y)
12	5.5	5.5	-2.56	T 波改变	有	有	有		有	无	34.32	11.37	34.84	3.23	45,XO/46,X,+mar
13	12	12	-2.83	T 波改变	有	有	有		有	无	84.96	21.31	<18.35	3.19	45,XO
14	4	2.5	-2.08	无	无	无	无	双足 4/5 趾短	无	无	34.13	1.53	25.78	3.56	45,XO/46X,+mar
15	8	8	-3.05	无	无	无	无		有	无	0.47	<0.1	<18.35	4.28	46X,i(Xq)
16	7	7	-2.23	不完全性房内传导阻滞	无	无	无		有	无	0.96	<0.1	237	10.67	45,XO/46X,i(Xq)
17	10	10	-2.39	无	有	有	有		有	无	95.61	15.11	<18.35	4.59	45,XO/46XX
18	12	12	-2.67	无	有	有	有	双乳距宽	有	无	22.99	19.48	33.64	2.99	45,XO/46,X,+mar
19	11	9.5	-2.18	无	无	无	无	有胃扭转 手术史	无	无	158.1	26.63	<18.35	2.26	45,XO
20	8	8	-2.50	无	无	有	无		无	微腺瘤	25.26	<0.1	<18.35	3.16	45,XO/46,X,+mar
21	9	8	-2.60	升主动脉略粗, 最大径 20 mm	无	无	无	面容幼稚	无	无	24.57	2.26	24.7	2.7	45,XO
22	14	12.5	-2.74	无	无	无	无	肝血管瘤	有	微腺瘤	99.54	23.73	<18.35	3.42	45,XO/46X,+mar (mar 形似 Y)
23	8	7	-3.43	无	无	无	无		无	无	186.9	17.42	18.35	2.43	45,XO
24	13	12	-2.72	无	有	有	有		无	无	94.39	22.57	<18.35	2.83	46,X,+mar(mar 形似 Y)

Ht-(X)/SD: 实际身高低于同性别同年龄儿童平均身高的标准差; FSH: 促卵泡生成素; LH: 促黄体生成素; TSH: 促甲状腺素; E2: 雌二醇。因不能明确来源而命名为标记染色体 (+mar)。

(Ht-(X)/SD: the standard deviation of the actual height, which is lower than the average height of the same age children of the same age; FST: follicle stimulating hormone; LH: luteinizing hormone; TSH: thyroid Stimulating Hormone; E2: estradiol. Because the source is not clear, so named as the marker chromosome (+mar).

2 结果

2.1 身高及骨龄结果分析

本研究共有24名患者,其首发临床表现均为身材矮小,16.7%的患者低于同性别同年龄儿童平均身高减3个标准差以上,有50%的患者骨龄比实际年龄延后1年以上。

2.2 其他临床表现特点

患者外生殖器均为幼女外阴,50%患者有TS典型体征:肘外翻8例(33.33%),盾状胸10例(41.67%),发际低8例(33.33%),指趾畸形2例(8.33%);83.33%患者有促性腺激素水平明显偏高,提示性腺发育不良,符合TS患者的性激素水平变化;通过盆腔彩超显示有50%的患者未见卵巢组织,符合TS患者性腺发育不全的临床表现,其中8例核型为45XO中有6例(75%)无卵巢组织,表现较为典型,12例嵌合体中仅有4例(33.33%)无正常卵巢组织,通过Fisher确切概率法检验 $P>0.05$,表明本研究中单体型(45XO)和嵌合体型中出现性腺发育不全的可能性无明显差异(表1~2)。

2.3 染色体核型分析

患者染色体核型分析结果提示33.33%为45,XO,8.33%为46X,i(Xq),8.33%为46,X,+mar(mar形似Y),其余50%为45X嵌合体;证明了TS的核型除了经典的单体型(45,XO)外,还有嵌合型及含有异常染色体结构的类型,如环状及Xq等位染色体等(表1)。

2.4 影像学检查及激素水平

垂体MRI提示16.67%有微腺瘤,心脏检查示8.33%有心血管结构异常,部分患者心电图有异常,8.33%促甲状腺激素水平偏高,表明TS患者并发心血管疾病、先天性甲状腺功能低下的风险率也很高(表1)。

2.5 PCR检测SRY基因结果分析

PCR检测SRY基因结构提示除了正常男性对照组出现一条特异性条带外,其余正常女性对照组及患者均未出现,提示所有患者均未发现Y染色质。DMD基因检测提示所有检测者DMD基因第6外显子均有扩增条带,说明DNA抽提质量良好(图1)。

表2 核型为单体型(45,XO)和嵌合体型患者盆腔B超显示卵巢组织结果

Table 2 Results of ovarian tissue in the patients who have the karyotype of single type (45,XO) or the chimeric form with pelvic ultrasonography

核型	无卵巢例数	有卵巢例数	无卵巢的百分率 /%	P
45XO	6	2	75.00	
45X 嵌合体	4	8	33.33	0.1698*

*Fisher 确切概率法。

*Fisher exact probability method.

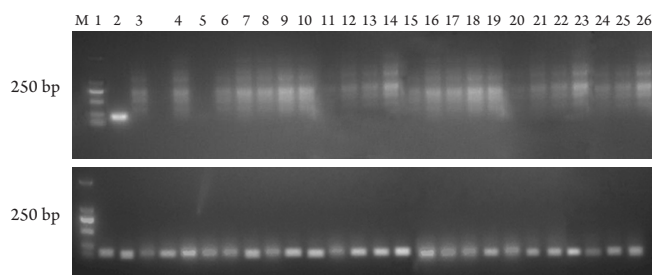


图1 所有患者SRY和DMD基因的PCR检测结果

Figure 1 PCR results of SRY and DMD gene in all patients

(A)所有患者SRY基因的PCR检测结果;(B)所有患者以DMD基因作为内对照的PCR检测结果。M: DL2000 DNA marker; 1: 正常男性阳性对照; 2: 正常女性阴性对照。

(A) PCR results of SRY gene in all patients; (B) PCR results of the DMD gene as an internal control in all patients. M: DL2000 DNA maker; 1: the normal male as positive control; 2: the normal women as negative control.

3 讨论

TS常具备女性的外观及外生殖器,但是子宫很小,解剖学发现其性腺为条索状,TS患者容易并发心血管疾病^[4],而且发生桥本氏甲状腺炎、先天性甲状腺功能低下的风险率也很高^[5]。本研究结果显示:患者社会性别均为女性,初诊年龄在4~14岁之间,虽然年龄跨度较大,但均因矮小来院就诊。另外,我们发现除矮小外,并不是所有TS患者均有典型的发际低、盾状胸、肘外翻等临床表现,仅33.33%出现肘外翻,41.67%有盾状胸,33.33%有发际低,指趾畸形有8.33%,盆腔彩超显示50%无正常卵巢组织。本研究提示有2例合并心血管结构异常,即室间隔缺损、升主动脉略粗,且部分患者有心脏传导功能异常,2例合并甲状腺功能异常,嵌合体中4例合并垂体微腺瘤,这些结果表明了TS患者常伴有心血管畸形、甲状腺功能异常,甚至会合并有垂体本身疾病。值得注意的是在TS患者中有些垂体腺瘤有时并非真正意义上的肿瘤,即假性垂体瘤,其病因主要是甲状腺病变,原发性甲状腺功能减退症是常见原因,该类疾病患者甲状腺激素分泌不足,反馈刺激垂体分泌TSH使垂体代偿性增生,久之,垂体出现瘤样增生。当TS患者发现有垂体瘤时,关注甲状腺功能是否异常。另外,TS患儿进入青春期后由于先天性性腺发育不良,不存在青春期发育,临床上第二性征不出现,而性激素水平低下,反馈性刺激垂体前叶分泌LH和FSH的嗜碱性细胞代偿性增生,从而使LH和FSH分泌增多,垂体一直处于过度分泌状态,导致垂体增生出现假性垂体瘤表现,比如本次研究中第11,22例患者,年龄分别为13,14岁,均有垂体微腺瘤,其LH,FSH均明显增高,但TSH正常,不排除负反馈引起的垂体异常增生可能。

有研究^[6]显示:TS的核型分析结果中,除了约45%为单体型(45,XO)外,20%~30%为嵌合型;其余为染色体结构异常(环状及Xq等位染色体等),本研究中TS嵌合体有50%,比例明显偏高,可能与样本量较小有关。事实上,镶嵌第二条染色体是胎儿存活所必备,因此每一个存活的45,X个体体内肯定存在不止一种染色体核型,常含有镶嵌型细胞系。这种假说建立在两点上:1)存活儿中含有异常染色体嵌合体的比率明显比流产儿中多;2)约99%的纯粹45,X的胎儿流产了,往往在胚胎第一阶段就自然流产,仅1%的胎儿能存活,通常她们具有TS特征性表现^[7]。有研究^[8]报道:在

TS患者和闭经患者中含有Y染色体镶嵌现象的约有18%,其中有14%的患者发生性腺母细胞瘤。尽管Y染色体在人类肿瘤形成中的作用目前仍有争议,但普遍认为在TS患者中存在Y染色体片段是发生性腺母细胞瘤的一个风险因素^[9]。如果能够早期发现TS患者中Y染色体片段的的存在,能更好地预防性腺母细胞瘤的发生,指导TS的治疗,决定是否进行预防性切除性腺^[10]。目前建议寻找TS患者的Y染色体序列的情况有以下两种:1)假如患者染色体核型分析为不含嵌合体的45,X,而临床表现为阴蒂肥大或其他男性化的特征,则体内很可能存在含有Y染色质的细胞系;2)出现不能由传统的核型分析鉴定的特殊染色体。本研究中核型分析中有16.67%核型提示有形似Y染色体的mar,由于Y染色质在TS中的重要性,我们通过PCR方法反复检测,但并未发现真正的Y染色体,分析其原因可能有:1)形似Y染色体的mar本身就不是Y染色体;2)mar仅为Y染色质片段,我们扩展的PCR产物与该片段不同,也许更换引物可能会有不同结果,下一步我们将通过更换引物再次行PCR,并行荧光原位杂交技术明确形似Y染色体的mar是否为真的Y染色体,同时对于核型中含有其他mar的,我们在后面的研究中将也会用PCR,甚至荧光原位杂交技术等进一步来验证其来源。

本次研究中发现TS嵌合体有50%,嵌合体的形成大多是因为受精卵卵裂过程中,姐妹染色单体不分离或丢失而形成。典型核型为45XO单体者由于缺少一条X染色体而出现条索状卵巢、原(继)发闭经等症状,嵌合体的临床表现与异常、正常细胞系所占的比例有关,异常细胞系所占比例越多,表现就越典型。本研究嵌合体中仅有4例性腺发育不全,其余8例有正常性腺组织,这可能与正常细胞系比例所占比例较大有关。另外,我们发现并不是所有TS患者均会出现FSH升高,其中有4例没有明显升高,其中2例核型为TS嵌合体,这可能与这两位患者体内正常细胞系比例占多数有关;另两个核型均为46X,i(Xq),一般等长臂i(Xq)是在细胞分裂期,着丝点区水平方向发生断裂形成^[11],对于i(Xq),X染色体短臂上基因而言是单倍型,长臂上基因是三体型,患者身高一般<140 cm,条索状性腺,伴有盾状胸、肘外翻等特殊体征,表型接近45,X型,这也说明了短臂缺失是造成TS的主要因素^[12],卵巢与子宫发育不全与X染色体长臂单体有关,身材矮小和体格畸形与X染色体短臂单体有关,其症状的轻重与短臂缺失部分的大小有关,所以在实际中我们发现各种核型与临床表现有时

候并不完全相对应, 在本研究中核型为46X,i(Xq)的患者主要表现为矮小, 但有正常卵巢组织, FSH及LH未见升高, 且无盾状胸、肘外翻等特殊体征。

综上所述, 对于身材矮小的女性患者, 不管其是否具有盾胸、肘部外翻、发际低、方肩等TS的典型表现, 应常规行染色体核型分析, 有利于本病的早期诊断与早期治疗; 对于出现不能由传统的核型分析鉴定的特殊染色体或者染色体核型为不含嵌合体的45,XO, 但有男性化特征的患者尽早行Y染色体检测, 有利于发现异常的Y染色体, 为决定是否需要预防性切除性腺提供帮助。

参考文献

- Davenport ML. Approach to the patient with Turner syndrome[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2010, 95(4): 1487-1495.
- Lleo A, Moroni L, Caliaro L, et al. Autoimmunity and Turner's syndrome[J]. Autoimmun Rev, 2012, 11(6-7): A538-A543.
- 茅江峰, 张红, 徐洪丽, 等. 染色体核型45,XO/46,XY患者的临床特点和Y染色体异常[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2014, 30(7): 582-586.
MAO Jiangfeng, ZHANG Hong, XU Hongli, et al. Clinical features and Y chromosomal abnormalities in patients with karyotype chimerism of 45, XO/46, XY[J]. Chinese Journal of Endocrinology and Metabolism, 2014, 30(7): 582-586.
- Gutmark-Little I, Backeljauw PF. Cardiac magnetic resonance imaging in Turner syndrome[J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2013, 78(5): 646-658.
- Sybert VP, McCauley E. Turner's syndrome[J]. N Engl J Med, 2004, 351(12): 1227-1238.
- Wolff DJ, Van Dyke DL, Powell CM, et al. Laboratory guideline for Turner syndrome[J]. Genet Med, 2010, 12(1): S2-S5.
- Hook EB, Warburton D. The distribution of chromosomal genotypes associated with Turner's syndrome: livebirth prevalence rates and evidence for diminished fetal mortality and severity in genotypes associated with structural X abnormalities or mosaicism[J]. Hum Genet, 1983, 64(1): 24-27.
- Freriks K, Timmers HJ, Netea-Maier RT, et al. Buccal cell FISH and blood PCR-Y detect high rates of X chromosomal mosaicism and Y chromosomal derivatives in patients with Turner syndrome[J]. Eur J Med Genet, 2013, 56(9): 497-501.
- Zhong Q, Layman LC. Genetic considerations in the patient with Turner syndrome--45,X with or without mosaicism[J]. Fertil Steril, 2012, 98(4): 775-779.
- Hersmus R, Stoop H, Turbitt E, et al. SRY mutation analysis by next generation (deep) sequencing in a cohort of chromosomal Disorders of Sex Development (DSD) patients with a mosaic karyotype[J]. BMC Med Genet, 2012, 13: 108.
- 邵文嘉, 王武亮, 邓克红, 等. X染色体结构异常与闭经及身材矮小的临床相关性分析[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(6): 926-929.
SHAO Wenjia, WANG Wuliang, DENG Kehong, et al. The clinical correlation analysis of X chromosome structural abnormalities and amenorrhea and short stature[J]. Chinese Maternal and Child Health Care, 2015, 30(6): 926-929.
- 刘芳, 史彩虹, 王厚照, 等. X染色体异常的临床与遗传学分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2011, 19(11): 54-55.
LIU Fang, SHI Caihong, WANG Houzhao, et al. Clinical and genetic analysis of abnormal X chromosome[J]. Chinese Journal of Birth Health and Heredity, 2011, 19(11): 54-55.

本文引用: 郭玉秀, 崔燕, 曾碧荷, 陶月红. 特纳综合征患者的染色体核型及临床表现特点[J]. 临床与病理杂志, 2017, 37(2): 221-226. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.02.001

Cite this article as: GUO Yuxiu, CUI Yan, ZENG Bihe, TAO Yuehong. Clinical features and chromosomal karyotype of Turner syndrome[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2017, 37(2): 221-226. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.02.001