

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.00236

不同配比羟基磷灰石/胶原海绵复合物作为组织工程支架材料的比较

龚志云,徐志飞*,秦 雄,赵学维

第二军医大学长征医院胸心外科,上海 200003

[摘要] **目的:**选用不同配比羟基磷灰石和胶原海绵制备成复合材料,研究其结构和生物学特性,为构建组织工程人工胸壁支架材料提供实验依据。**方法:**按质量比1:1和1:2制备不同配比羟基磷灰石/胶原海绵复合材料,纯胶原海绵作为对照,进行扫描电镜检查,观察材料结构特性;进一步进行体内植入试验,通过大体标本检查及组织学检查观察植入材料生物相容性和降解性能。**结果:**纯胶原海绵呈三维网状结构,胶原蛋白呈细纤维丝状,结构疏松,强度差;植入体内2周内多孔海绵结构破坏,4周完全降解吸收。1:2配比羟基磷灰石/胶原海绵复合材料羟基磷灰石粉末与胶原蛋白完全混合均匀,孔径大小100~400 μm;植入体内后生物相容性良好,4周时仍保持多孔结构,8周降解吸收。1:1配比复合材料羟基磷灰石粒子团聚成块,植入体内可见明显钙磷颗粒聚集,组织反应相对较大。**结论:**胶原海绵复合一定比例羟基磷灰石后,结构改善,孔径大小适中,在体内保持结构时间及降解时间延长,生物相容性良好,具备开发应用价值,可作为支架材料应用于组织工程人工胸壁的研究。

[关键词] 羟基磷灰石类;胶原;生物相容性材料;生物降解

[中图分类号] R 655.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2008)03-0236-05

A comparison of 2 kinds of hydroxyapatite/collagen composites as tissue engineering scaffold

GONG Zhi-yun, XU Zhi-fei*, QIN Xiong, ZHAO Xue-wei

Department of Cardiothoracic Surgery, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

[ABSTRACT] **Objective:** To prepare 2 composites using different proportions of hydroxyapatite and collagen and to assess their structural and biological properties, so as to pave a way for preparing tissue engineering chest wall scaffold. **Methods:** Two kinds of hydroxyapatite/collagen composites were prepared according to the weight ratios of 1:1 and 1:2; collagen sponge served as control. Then the structures of the 2 composites and the collagen sponge were observed under SEM. *In vivo* study was conducted to assess the biocompatibility and biodegradation of the composites by gross inspection and histological examination. **Results:** The collagen sponge had a 3-D network structure with fluey collagen fibers and poor mechanical strength, and its structure was damaged within 2 weeks after implantation and was completely absorbed 4 weeks later. The hydroxyapatite and collagen were well mixed in the composite with a hydroxyapatite to collagen ratio of 1:2; the composite had homogeneous 3-D porous structure (size of the pore being 100-400 μm) and showed good biocompatibility; maintained its porous structure 4 weeks after implantation and was absorbed within 8 weeks. In composite with hydroxyapatite to collagen ratio of 1:1, the hydroxyapatite particles were separated from collagen fiber and conglomerated into masses, and the composite resulted in severe tissue reaction after implantation. **Conclusion:** When mixed with a reasonable proportion of hydroxyapatite, the collagen sponge has improved structure, biodegradable performance, and biocompatibility; the composite may be a novel scaffold for tissue engineering chest wall reconstruction.

[KEY WORDS] hydroxyapatites; collagen; biocompatible materials; biodegradation

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(3):236-240]

大面积胸壁缺损往往需要应用假体材料进行重建,传统上采用有机玻璃、钢板及聚丙烯网、聚四氟乙烯等补片材料进行修复,胸壁稳定效果满意,但材料长期存留于体内可能带来远期并发症^[1]。可降解材料重建胸壁早期可以有效恢复胸壁稳定性,后期

逐步降解吸收避免远期并发症的发生,具有一定优越性^[2],但仍难以恢复胸廓的骨性结构。达到胸壁的解剖重建需要进一步应用组织工程技术^[3],但目前尚无理想的解决方法。我们在设计制备可降解网状人工胸壁材料的基础上^[4],进一步选用羟基磷灰

[收稿日期] 2007-10-12 **[接受日期]** 2008-01-07

[基金项目] 国家自然科学基金(30571847). Supported by National Natural Science Foundation of China(30571847).

[作者简介] 龚志云, 博士. Tel: 13811515282, E-mail: zhiyungong@yahoo.com

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-63610109-73351, E-mail: xu-zhi-fei@yahoo.com.cn

石/胶原海绵(HACS)复合物作为被覆层材料覆盖于可降解网状材料表面,构建既能满足胸壁重建机械力学要求又具生物活性的复合结构组织工程人工胸壁支架材料。

本实验旨在通过对不同配比 HACS 进行微观结构观察和体内植入实验的比较研究,为组织工程人工胸壁支架材料的筛选提供依据。

1 材料和方法

1.1 HACS 的制备 将 50 ml 胶原溶液(牛 I 型胶原蛋白,质量百分数为 2%,无锡贝迪生物工程有限公司提供)分别与 1 g、0.5 g 羟基磷灰石粉末(纳米级,上海交通大学材料科学与工程学院提供)混匀;进行超声波分散(功率 1 000 W,60 s/次×5 次 NP-1000 超声波分散仪,广州新栋力超声电子设备公司),形成均匀分散体系,500×g 离心 10 min 去泡,静置 1 h,浇入预制容器,-20℃预冻 12 h 后,进行真空冷冻干燥(-40℃,真空度 0.13 kPa×48 h),制备成不同质量比(1:1,1:2)的 HACS。同法制备纯胶原海绵作为对照。

1.2 扫描电镜观察 将不同配比 HACS 样品进行真空干燥后,置于离子溅射仪中,真空度为 0.01 Pa;在海绵样品表面喷镀一层金属薄膜后,将试样放入扫描电镜(SEM,JEOL JSM-5600LV)中观察分析。纯胶原海绵由于喷镀会造成形状改变和结构破坏,采用导电胶固定直接电镜(XL-30ESEM)观察。

1.3 体内植入实验 将所制备样品环氧乙烷消毒后备用。选择健康新西兰大白兔 8 只,雌雄不限。采用 3%戊巴比妥钠(35 mg/kg)腹腔注射麻醉,背部剃毛备皮、消毒,沿背部正中中线切开皮肤、皮下组织至肌层,沿背部肌层向脊柱两侧作潜行分离,形成囊状间隙,囊底部距切口部位 10 mm 以上;将不同配比 HACS 及纯胶原海绵裁减成 10 mm×10 mm×5 mm 大小,分别植入组织囊状间隙,关闭皮肤切口。分别于术后 2、4、8、12 周任选 2 只实验动物处死后取出埋藏的实验材料及周围附着组织,进行大体观察及组织学检查,观察材料组织相容性及材料降解情况。

2 结果

2.1 材料大体结构 1:2 配比的羟基磷灰石与胶原蛋白经超声分散后分散均匀,羟基磷灰石/胶原蛋白呈半透明胶冻状,经真空冷冻干燥制备而成的羟基磷灰石/胶原海绵结构均一;1:1 配比羟基磷灰石与胶原蛋白虽经超声分散仍难以完全分散均匀,

局部可见到羟基磷灰石聚集沉淀,制备而成的羟基磷灰石/胶原海绵表面较为粗糙,结构欠均一。

2.2 材料微观结构 采用扫描电镜观察纯胶原蛋白海绵和不同配比 HACS 样品的微观结构。由于纯胶原海绵强度差,喷镀会造成形状改变和结构破坏,实验中对其不进行喷镀,直接固定进行观察,观察效果满意。镜下纯胶原海绵呈现三维网状结构,胶原蛋白呈细纤维丝状结构,结构蓬松,海绵内部网孔孔径大小为 10~100 μm(图 1A、1D)。1:2 配比的 HACS 呈现三维立体网孔状结构,羟基磷灰石粉末分散于胶原蛋白之间,与胶原蛋白完全混合均匀、融为一体,呈粗纤维状或膜片状结构,高倍电镜下亦不能分辨羟基磷灰石与胶原纤维独立结构,材料网孔大小为 100~400 μm,网孔间相互交错沟通(图 1B、1E)。1:1 配比的 HACS 呈网孔结构,羟基磷灰石粉末与胶原蛋白出现分离分布,羟基磷灰石结成不均匀小团块状,胶原蛋白呈粗纤维状交错缠绕于羟基磷灰石团块之间,材料孔径大小为 100~200 μm(图 1C、1F)。

2.3 材料降解特性 纯胶原海绵植入后 2 周,植入材料明显吸收减少,纤维结构包绕并长入材料内部,多孔海绵结构不复存在,4 周时胶原蛋白已完全降解吸收,被纤维组织取代,8 周时植入部位组织趋于致密(图 2A~2C)。1:2 配比 HACS 材料植入后,被纤维缔结组织包裹,4 周时植入材料仍保持其多孔海绵状结构,纤维组织长入海绵材料内部,镜下可见钙磷颗粒均匀散布,植入后 8 周大体检查见植入材料降解吸收,组织学检查见富含新生血管的纤维组织取代植入材料,组织中残留少量钙磷颗粒,12 周时钙磷颗粒基本消失(图 2D~2F)。1:1 配比 HACS 材料植入后可见钙磷颗粒聚集成巢状,8 周时海绵结构消失,组织中残留钙磷颗粒较多,12 周时仍有少量残余颗粒(图 2G~2I)。

2.4 组织相容性 HACS 及纯胶原海绵试样植入体内后动物均正常活动,切口无感染、积液、坏死或窦道形成,植入材料均未见明显排异现象。按期处死动物,完整取出植入材料及周围组织行组织学检查。纯胶原海绵植入后被纤维结构包绕并逐步取代,周围组织炎细胞浸润,2~4 周时炎反应较明显,8 周后炎细胞浸润明显减少。HACS 植入材料周围组织有较多炎细胞浸润,8 周时仍有较明显炎性反应,周围组织中新生血管较多。1:2 配比 HACS 材料植入 12 周后炎细胞浸润明显减少,而 1:1 配比材料植入部位 12 周时仍有较多组织细胞浸润。各组均未观察到成骨细胞及新生骨组织生长。详见图 2。

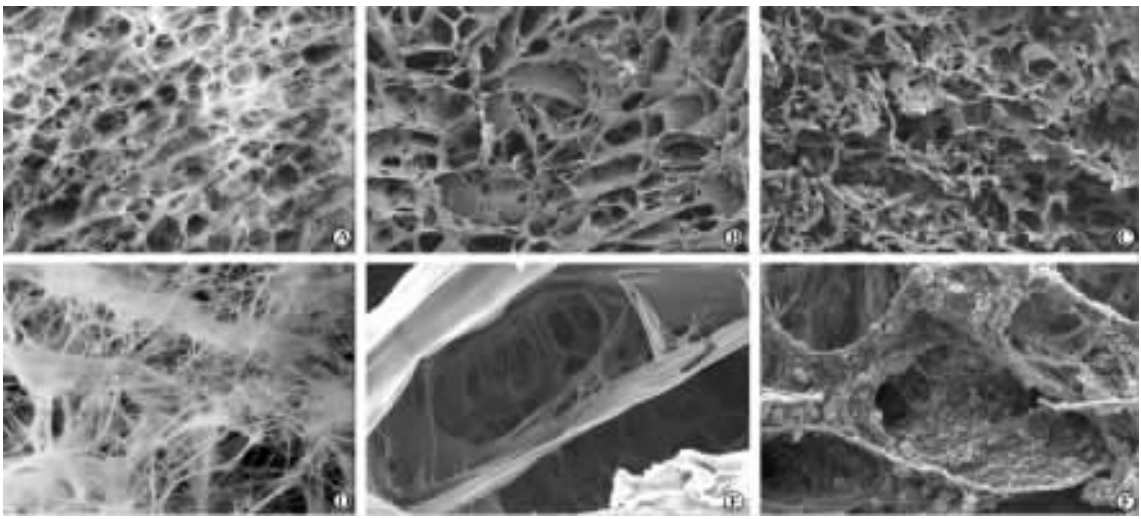


图 1 扫描电镜观察材料的微观结构

Fig 1 SEM observation of the materials

A, D: Collagen sponge had bundles of thin collagen fibers. The pore size was between 10-100 μm (A: Original magnification: $\times 100$; D: Original magnification: $\times 1\ 000$); B, E: 1 : 2 composite had three-dimensional porous structure, with the pore size between 100-400 μm . The composite was homogeneous (B: Original magnification: $\times 35$; E: Original magnification: $\times 500$); C, F: 1 : 1 composite was not homogeneous. The hydroxyapatite particles, separated from collagen fiber, conglomerated into granules (G: Original magnification: $\times 50$; F: Original magnification: $\times 500$)

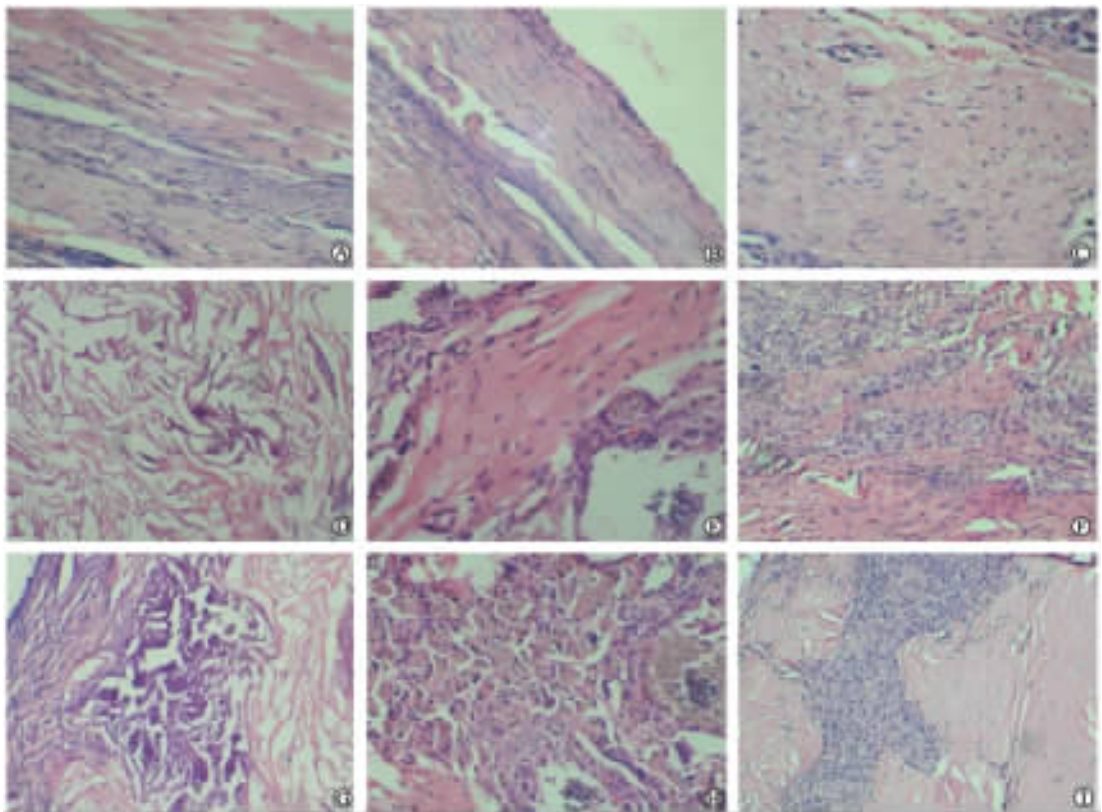


图 2 材料的组织相容性检查

Fig 2 Histochemical examination of the materials (H-E staining)

A-C: Collagen sponge was mostly absorbed and the structure no longer existed about 2 weeks after implantation. The implanted material was replaced by progressive connective tissue, with decreased inflammation cells infiltration (A: 2 weeks, original magnification: $\times 100$; B: 4 weeks, original magnification: $\times 40$; C: 8 weeks, original magnification: $\times 100$); D-F: 1 : 2 composite had good biocompatibility and kept its sponge structure 4 weeks after implantation, then it was gradually replaced by fiber tissue within 8 weeks. The hydroxyapatite particles were evenly scattered and dissolved 12 weeks later (D: 4 weeks, original magnification: $\times 100$; E: 8 weeks, original magnification: $\times 100$; F: 12 weeks, original magnification: $\times 40$); G-I: The hydroxyapatite particles congregated and dissolved more slowly; implantation resulted in more severe tissue reaction (G: 4 weeks, original magnification: $\times 100$; H: 8 weeks, original magnification: $\times 100$; I: 12 weeks, original magnification: $\times 40$)

3 讨论

为适应胸壁重建的要求,理想的人工胸壁修复材料应该具备^[1,5]:(1)良好的生物相容性,降解产物对细胞、人体无毒害作用;(2)具有一定生物活性,有利于细胞黏附、增殖和分化,促进机体恢复解剖结构及生理功能;(3)适宜的机械强度,能满足维持胸壁稳定的要求;(4)合适的降解时间,支架材料为新生组织提供支撑,并能保持一定时间直至新生组织具有自身生物力学特性,在完成支架作用后能降解,降解率应与组织修复速度相适应。为达到胸壁的解剖重建和良好的远期效果,组织工程化人工胸壁成为必要,但是目前仍没有理想的胸壁修复材料。我们采用可降解高分子材料聚对二氧环己酮,利用其良好的力学强度、合适的降解特性和加工性能,制备成网状支架材料作为人工胸壁主体部分,以获得满意的胸壁稳定^[4],同时,选用 HACS 采用真空冷冻干燥方式覆于支架材料之上,以期获得具有一定生物活性并具有成为组织工程支架材料潜力的人工胸壁。

胶原蛋白属于天然生物活性材料,具有良好的生物相容性、极低的免疫原性和极强的组织亲和力,并可促进组织生长^[6]。但胶原海绵强度差,在体内降解速度快,一般 10~14 d 左右就被完全降解吸收,难以保持其支架形态,无法满足胸壁组织再生和修复的要求。复合羟基磷灰石后,胶原海绵理化性能和生物学特性发生明显变化。我们观察到 HACS 较纯胶原海绵降解吸收时间明显延长,植入 4 周后仍然保持多孔结构,羟基磷灰石在体内也会通过溶解等方式缓慢降解。作为支架材料,降解时间的适当延长有利于其满足机体组织再生和修复的需要。

研究表明^[7-8],复合材料中分布的羟基磷灰石颗粒,与胶原纤维形成复合结构,可大大增强胶原材料的机械性能,同时还起到物理屏障作用,可减慢水分子等降解介质的进入和降解产物的释放速度,同时由于处于微碱性环境中的羟基磷灰石可与酸性降解产物发生反应,降低了材料内部酸性降解产物的自催化效应及其产生速度,因而降低了复合材料的降解吸收速度,同时也对材料周围 pH 值下降有一定的缓冲作用,有利于植入材料周围微环境的改善。

羟基磷灰石-胶原复合材料的理化性能和生物学特性受羟基磷灰石和胶原含量、羟基磷灰石粒子和胶原纤维的大小及其分散度、相界面的结合程度等因素的影响^[9]。由于纳米羟基磷灰石粒子易于团聚,高浓度悬浮液粒子很难均匀分散,尤其是与有一定黏度的胶原溶液混合时,团聚的粒子很难分散均

匀并与胶原溶液形成均匀的复合凝胶。在混合过程中进行超声波分散处理,可促进羟基磷灰石均匀分散于胶原分子中,形成稳定的分散体系^[10],这种均匀的分散状态得以保持到固态,从而制得结构稳定的 HACS 复合材料。本实验中 1:2 配比的 HACS 材料形成完全均匀的分散体系,羟基磷灰石粒子均匀分布于胶原蛋白之间,与胶原蛋白有机结合,形成稳定、均一的多孔海绵结构,其网孔结构孔径大小 100~400 μm ,适于组织细胞长入^[11]。

研究表明,羟基磷灰石-胶原复合材料具有诱导成骨作用^[12]。实验中,HACS 表现出良好的生物相容性,但相对于纯胶原海绵,复合材料炎症反应较明显,周围组织中新生血管较多。Andrade 等^[8]认为羟基磷灰石促进再血管化的作用在其诱导骨形成过程中具有重要意义。适度的炎症反应所带来的趋化因子可能是其促进再血管化的一个重要机制。

本实验表明,合适比例的羟基磷灰石与胶原蛋白制备而成的 HACS 复合材料结构均一稳定、生物相容性良好、降解时间合适,具备作为组织工程支架的潜力,通过真空冷冻干燥方法被覆于可降解网状人工胸壁支架之上,可能为组织工程人工胸壁研究提供一个新的解决方案,值得深入研究。

[参考文献]

- [1] Mansour K A, Thourani V H, Losken A, Reeves J G, Miller J I, Carlson G W, et al. Chest wall resections and reconstruction: a 25-year experience[J]. *Ann Thorac Surg*, 2002, 73: 1720-1726.
- [2] Puma F, Ragusa M, Santoprete S, Ricci F, Casadei S, Urbani M, et al. As originally published in 1992: chest wall stabilization with synthetic reabsorbable material. Updated in 1999[J]. *Ann Thorac Surg*, 1999, 67: 1823-1824.
- [3] 谭强,赵珩,潘银根,施建新,沙慧芳,周允中. 组织工程化骨修复胸壁缺损的实验研究[J]. *中华胸心血管外科杂志*, 2004, 170-172.
- [4] 龚志云,徐志飞,秦雄,王文祖,赵学维. 可降解聚对二氧环己酮网的制备、优化及体内降解研究[J]. *第二军医大学学报*, 2007, 28: 237-241.
- [5] Hollister S J. Porous scaffold design for tissue engineering[J]. *Nat Mater*, 2005, 4: 518-524.
- [6] Lee C H, Singla A, Lee Y. Biomedical applications of collagen[J]. *Int J Pharm*, 2001, 221: 1-22.
- [7] Itoh S, Kikuchi M, Koyama Y, Takakuda K, Shinomiya K, Tanaka J. Development of a hydroxyapatite/collagen nanocomposite as a medical device[J]. *Cell Transplant*, 2004, 13: 451-461.
- [8] Andrade A L, Andrade S P, Domingues R Z. *In vivo* performance of a sol-gel glass-coated collagen[J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2006, 79: 122-128.
- [9] 陈际达,王远亮,蔡绍哲,曹颖. 纳米羟基磷灰石/胶原复合材料制备方法研究[J]. *生物物理学报*, 2001, 17: 778-784.
- [10] 吴佩珠,毛莹,汤顺清,赵涛,蔡继业. 原子力显微镜研究酸性溶液中羟基磷灰石/胶原体系的微观形态[J]. *材料科学与工程学报*, 2003, 21: 671-673.

[11] Yang X B, Bhatnagar R S, Li S, Oreffo R O. Biomimetic collagen scaffolds for human bone cell growth and differentiation [J]. *Tissue Eng*, 2004, 10: 1148-1159.

[12] 林晓艳, 范红松, 李旭东, 唐敏, 张伶俐, 谭言飞, 等. 纳米羟基

磷灰石/胶原复合材料的制备及生物学评价[J]. *中国生物医学工程学报*, 2006, 25: 63-68.

[本文编辑] 孙岩

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.00240

• 病例报告 •

泼尼松联合来氟米特治疗 HBV 抗体阳性肾病综合征的安全性观察 1 例报告

Safety of leflunomide combined with Prednisone in treatment of HBV Ab positive nephritic syndrome: a case report

于建平, 于光, 许静, 吴灏, 袁伟杰, 崔若兰

第二军医大学长海医院肾内科, 上海 200433

[关键词] 泼尼松; 来氟米特; 肾病综合征; 乙型肝炎病毒

[中图分类号] R 692 [文献标志码] B [文章编号] 0258-879X(2008)03-0240-01

1 临床资料 患者男性, 46 岁。因双下肢出现“紫癜”、水肿、蛋白尿 26 d 于 2003 年 2 月 21 日入院。9 年前曾有“乙肝”史, 未治“自愈”。入院时皮疹已完全消退。查体除双下肢水肿外无明显异常发现。尿常规: 蛋白 5.00 g/L, 红细胞(RBC) 150/ μ L(15~20/HP), 白细胞(WBC) 25/ μ L(5~8/HP), 24 h 尿蛋白定量 7.92 g。肝功能: 白蛋白(Alb) 25 g/L, 球蛋白(Glob) 27 g/L, ALT 20 IU/L, AST 14 IU/L。血脂: 总胆固醇(T-ch) 7.78 mmol/L, 三酰甘油(TG) 1.60 mmol/L。HBsAg(-), HBsAb(+), HBeAg(-), HBeAb(+), HbAb(+), HBV DNA(-)。肾功能: 尿素氮(BUN) 2.7 mmol/L, 血肌酐(Scr) 77 μ mol/L, 尿糖(Glu) 4.9 mmol/L。血常规: WBC 5.1×10^9 /L, RBC 4.9×10^9 /L, 血红蛋白(Hb) 158 g/L, 血小板(Plt) 93×10^9 /L, IgG 5.86 g/L, IgA 2.63 g/L, IgM 1.56 g/L, C₃ 1.31, C₄ 0.43。X 线胸片、心电图均未见异常。B 超: 右肾 10.7 cm \times 4.9 cm, 左肾 11.7 cm \times 5.5 cm。未见明显异常。肾穿刺活检: 光镜下见肾小球毛细血管襻不规则增厚。系膜区呈局灶节段性分布的轻至重度增宽伴系膜细胞轻度至中度增生; 数个节段可见单个核、多形核细胞浸润伴明显球囊粘连及小新月体形成; 血管襻系膜区可见团块状嗜复红蛋白。肾小管上皮细胞颗粒变性, 刷状缘脱落, 管腔轻度扩张, 小片萎缩。间质散在及 1 处小片状炎细胞浸润。小动脉未见明显异常。免疫荧光: IgA(++) 在系膜区沉积。IgG、IgM、C₃、C_{1q} 均阴性。免疫酶标: HBsAg、HBeAg、CoIV 均阴性。电镜下肾小球基底膜未见增厚, 毛细血管襻腔内可见多形核细胞浸润。上皮细胞胞质空泡变性。系膜区节段性轻度至中度增宽, 细胞增生不明显。间质可见少量炎细胞浸润。病理诊断为: 继发性 IgA 肾病, 紫癜肾炎。于 2003 年 3 月 1 日始给予泼尼松 70 mg/(kg \cdot d), 治疗 2 个月后加用来氟米特 50 mg/d \times 3 d; 30 mg/d \times 3 d; 20 mg/d, 维持半年。泼尼松按疗程逐步减量, 维持 1 年。治疗期间密切随访蛋白尿、血清蛋白及肾功能变化, 并着重

监测肝功能及 HBV 标志物变化。在泼尼松治疗 6 个月、来氟米特治疗 4 个月时, 尿蛋白下降一半(3.68 g/d), Alb 升至 41 g/L。肾功能正常, 肝功能正常, HBV 相关血清学及病毒学指标无变化。至来氟米特治疗半年时, 尿蛋白转阴, 临床完全缓解。

2 讨论 HBV 肾小球肾炎(HBV-GN)的发病率虽无精确统计, 但临床所见甚多。HBV-GN 诊断标准中必须具备的一项是肾组织中 HBV 抗原阳性。但组织中 HBV 抗原是呈局灶节段性分布的, 因此, 血清 HBV 抗原阳性的患者肾组织中不一定能检测到 HBV 抗原。无论肾组织中 HBV 抗原是否阳性, HBV-GN 尤其是肾病综合征(NS)应该得到积极的治疗。血清 HBV 抗原阳性时, 糖皮质激素及免疫抑制剂可能会延缓宿主对 HBV 的清除, 甚至糖皮质激素可能诱使 HBV 复制, 使慢性肝脏病变活动, 甚至转化为重症肝炎而丧失生命, 此类例子临床已非少见。以至于临床遇到血清学示 HBV 相关抗原阳性的 NS 患者, 是否可单独应用免疫抑制剂治疗需进一步探讨。该患者临床表现为 NS; 病理诊断为紫癜肾炎。因其血清 HBsAb、HBeAb 及 HbAb 阳性, 应该考虑有 HBV-GN 的可能。虽然肾组织中未检出 HBV, 不能确诊 HBV-GN。根据其血清学表现, 可以认为伴发。但是, HBV 相关抗体阳性的 NS 患者的治疗尚无统一标准。结合该患者治疗结果分析, 在密切监测肝功能、HBV 抗原、抗体变化的基础上, 应用激素加来氟米特治疗, 肾病获得临床完全缓解, 肝功能及 HBV 血清学指标稳定。来氟米特通过抑制嘧啶的从头合成途径而影响激活状态下的淋巴细胞增殖, 从而发挥其免疫抑制作用, 并且可通过抑制酪氨酸激酶活性影响细胞内信号转导而干扰淋巴细胞活化。近年来, 有较多文章报道来氟米特除了免疫抑制作用外, 还具有抗病毒作用。来氟米特主要的不良反应为骨髓、肝脏及毒性。该患者在治疗过程中未观察到上述问题, 提示该药物在临床使用是安全的。

[本文编辑] 曹静

[收稿日期] 2007-11-12 [接受日期] 2008-01-09

[作者简介] 于建平, 副教授、副主任医师. E-mail: yujianping@medmail.com.cn