



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2014.02.004
http://www.zpwz.net/CN/abstract/abstract3778.shtml

·胆道外科专题研究·

术前外周血中性粒细胞 / 淋巴细胞比值对肝内胆管细胞癌术后预后的影响

刘永成, 李书红, 双泽宇, 陈建霖, 李升平

(中山大学肿瘤防治中心肝胆科 / 华南肿瘤学国家重点实验室, 广东 广州 510060)

摘要

目的: 探讨肝内胆管细胞癌 (ICC) 患者术前外周血中性粒细胞 / 淋巴细胞比值 (NLR) 对预后的影响。
方法: 收集 96 例行肝部分切除的 ICC 患者临床病理资料。根据术前外周血 NLR, 将患者分为低 NLR 组 (NLR < 2.5) 和高 NLR (NLR ≥ 2.5) 组, 比较两组总生存率与无复发生存时间; 对影响预后的危险因素行单因素与多因素分析。

结果: 全组术后 1、3、5 年总生存率分别为 48%、35%、30%, 其中高 NLR 组分别为 37%、26%、22%; 低 NLR 组分别为 63%、49%、42%, 两组间差异有统计学意义 ($P=0.016$)。全组术后中位无复发生存时间为 10.2 个月, 其中高 NLR 组为 8.9 个月, 低 NLR 组为 14.6 个月, 两组间差异有统计学意义 ($P=0.045$)。单因素分析显示, 患者总生存率与术前 NLR 以及术前 CA19-9 及 CEA 水平、淋巴结转移、肿瘤数目、肿瘤最大径、邻近器官侵犯、远处转移、TNM 分期、手术类型等因素有关 (均 $P<0.05$); 多因素分析显示, 术前 NLR 以及淋巴结转移、肿瘤数目、肿瘤最大径是影响患者术后总生存率的独立危险因素 (均 $P<0.05$)。单因素分析显示, 患者术后无复发生存时间与术前 NLR 以及术前 CA19-9 及 CEA 水平、淋巴结转移、肿瘤数目、肿瘤最大径、远处转移、TNM 分期、手术类型等因素有关 (均 $P<0.05$); 多因素分析显示, 淋巴结转移、肿瘤数目、远处转移是影响患者术后无复发生存时间的独立危险因素 (均 $P<0.05$)。

结论: 术前外周血 NLR 可作为 ICC 患者术后预后指标, NLR 高者预后差。

[中国普通外科杂志, 2014, 23(2):160-165]

关键词

胆管肿瘤; 胆管, 肝内; 中性粒细胞 / 淋巴细胞比值; 预后

中图分类号: R735.8

Impact of preoperative peripheral blood neutrophil-to-lymphocyte ratio on postoperative prognosis of intrahepatic cholangiocarcinoma

LIU Yongcheng, LI Shuhong, SHUANG Zeyu, CHEN Jianlin, LI Shengping

(Department of Hepatobiliary Oncology, Sun Yat-sen University Cancer Center; State Key Laboratory of Oncology in South China, Guangzhou 510060, China)

Corresponding author: LI Shengping, Email: lishp@sysucc.org.cn

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81171890); 广东省自然科学基金资助项目 (S2011010004047)。

收稿日期: 2013-09-23; 修订日期: 2014-01-07。

作者简介: 刘永成, 中山大学肿瘤防治中心肝胆科 / 华南肿瘤学国家重点实验室硕士研究生, 主要从事肝胆肿瘤临床及免疫方面的研究 (李书红为共同第一作者)。

通信作者: 李升平, Email: lishp@sysucc.org.cn

ABSTRACT

Objective: To investigate the impact of the preoperative peripheral blood neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) on postoperative prognosis of patients with intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC).

Methods: Clinicopathologic data of 96 ICC patients undergoing partial hepatectomy were collected. Based on the preoperative peripheral blood NLR, the patients were divided into low NLR group (NLR<2.5) and high NLR (NLR≥2.5) group. The overall survival rate and relapse-free survival time between the two groups were compared, and risk factors that would influence the prognosis of these patients were determined by univariate and multivariate analyses.

Results: The 1,3 and 5-year overall survival rate for the entire group was 48%, 35% and 30%, which for high NLR group was 37%, 26% and 22%, and for low NLR group was 63%, 49% and 42% respectively, and the difference between the two groups had statistical significance ($P=0.016$). The median relapse-free survival time for the entire group was 10.2 months, which for high NLR group and low NLR group was 8.9 and 14.6 respectively, and the difference between the two groups had statistical significance ($P=0.045$). Univariate analysis showed that the overall survival of the patients was associated with the preoperative NLR along with the factors that included the preoperative CA19-9 and CEA level, lymph node metastases, tumor number and maximal size, adjacent organ invasion, distant metastasis, TNM stage and type of surgery (all $P<0.05$); multivariate analysis revealed that the preoperative NLR, lymphatic metastasis, and tumor number and maximal size were the independent risk factors for the overall survival of the patients (all $P<0.05$). Univariate analysis suggested that the relapse-free survival of the patients was related to the preoperative NLR together with the factors that included the preoperative CA19-9 and CEA level, lymph node metastases, tumor number and maximal size, distant metastasis, TNM stage and type of surgery (all $P<0.05$); multivariate analysis demonstrated that the lymphatic metastasis, tumor number and distant metastasis were the independent risk factors for the relapse-free survival of the patients (both $P<0.05$).

Conclusion: Preoperative peripheral blood NLR can be used as a prognostic predictor of ICC patients, and those with high NLR face a poor prognosis. [Chinese Journal of General Surgery, 2014, 23(2):160-165]

KEYWORDS

Bile Duct Neoplasms; Bile Ducts, Intrahepatic; Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio; Prognosis

CLC number: R735.8

外周血中性粒细胞/淋巴细胞比值(NLR)是反映机体炎症和免疫状态的评价指标, NLR可作为胃癌、结肠癌、肝细胞癌预后的独立危险因素^[1-5]。研究^[6-7]发现肝内胆管细胞癌(ICC)的发生发展与胆道慢性炎症、结石和胆汁淤积等导致胆道上皮细胞增殖有关,但目前ICC患者术前外周血NLR水平与预后的关系尚未阐明,本研究对96例行肝部分切除的ICC患者的临床病理资料进行了回顾性分析,探讨术前外周血NLR水平对ICC患者预后的影响。

1 资料与方法

1.1 病例选择及一般资料

收集2002年6月—2011年5月中山大学肿瘤防治中心初治、手术切除并术后病理确诊的96例ICC患者临床、实验室检查及病理资料,所有患者

均有术前1周内血常规资料并且无并发其他感染性疾病。术后常规影像学检查复查,包括CT、MRI及腹部超声。复发以影像学检查发现复发病灶为准,单纯的CA19-9升高不作为复发事件出现的标准。96例患者中男64例,女32例;年龄20~76岁,平均年龄54.8岁。

1.2 NLR截断值的确定

计算NLR值,根据NLR值与术后中位生存时间情况建立受试者工作特征曲线(ROC),曲线下面积为0.544。当NLR=2.5时,Youden指数最大^[8],特异性为68.4%,敏感度48.7%。以2.5为界分为两组,高NLR组55例,低NLR组41例。两组的临床病理资料(表1)。

1.3 随访及生存时间计算

所有患者均采用电话随访或门诊随访,末次随访日期为2013年1月。生存时间为:自手术至病死事件发生或随访截止;无复发生存时间为:自

手术至复发事件发生或随访截止。

表 1 高 NLR 组和低 NLR 组的临床病理因素比较

Table 1 Comparison of the clinicopathologic factors between high NLR group and low NLR group

临床病理因素	NLR \geq 2.5 (n=55)	NLR < 2.5 (n=41)	P
性别			
男	40	24	0.145
女	15	17	
年龄 (岁)	53.5 \pm 10.8	55.7 \pm 12.7	0.375
CA19-9 (U/mL)			
\geq 35	24	14	0.098
< 35	31	27	
CEA (ng/mL)			
\geq 5	19	6	0.022
< 5	36	35	
淋巴结转移			
是	22	10	0.095
否	33	31	
肿瘤数目			
多个	18	12	0.718
单个	37	29	
肿瘤最大直径 (cm)	7.3 \pm 2.8	5.5 \pm 2.5	0.003
远处转移			
是	9	1	0.027
否	46	40	
邻近器官侵犯			
有	12	6	0.372
无	43	35	
TNM 分期 ¹⁾			
I	23	27	0.02
II	32	14	
手术类型			
根治性切除	33	28	0.404
姑息性切除	22	13	

注: 1) TNM 分期根据 AJCC 2012 年提出的 TNM 分期法, I 为 T₁+T₂, II 为 T_{3a}+T_{3b}+T₄

Note: 1) Tumor was staged according to the AJCC TNM classification (2012), I was T₁+T₂ and II was T_{3a}+T_{3b}+T₄

1.4 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计分析软件进行统计学数据处理; 计量资料两组比较采用独立样本 *t* 检验, 计数资料采用 χ^2 检验; 寿命表法计算生存率和无复发生存率; Kaplan-Meier 法进行生存率的单因素分析, Log-rank 法进行各组间生存率的比较; Cox 回归分析模型分析影响预后的危险因素。

2 结果

2.1 两组患者生存情况

至随访截止日期, 失访 9 例。全组术后 1、

3、5 年总生存率分别为 48%、35%、30%, 中位生存时间 22.6 个月; 其中术前高 NLR 组 1、3、5 年总生存率分别为 37%、26%、22%, 中位生存时间 17.3 个月; 术前低 NLR 组 1、3、5 年总生存率为 63%、49%、42%, 中位生存时间 34.9 个月; 两组 1、3、5 年总生存率差异有统计学意义 ($P=0.016$) (图 1)。

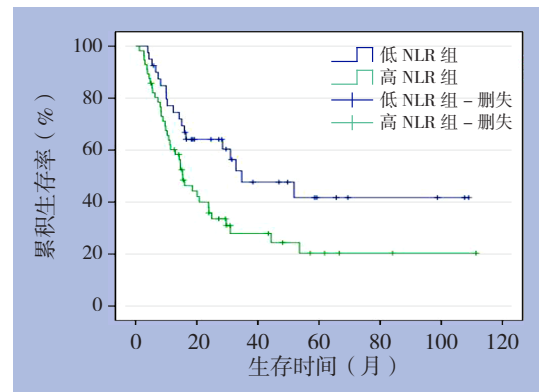


图 1 高 NLR 组及低 NLR 组生存曲线

Figure 1 Survival curves of the high NLR group and low NLR group

全组患者中位无复发生存时间 10.2 个月, 其中高 NLR 组中位无复发生存时间 8.9 个月, 低 NLR 组中位无复发生存时间 14.6 个月, 两组中位无复发生存时间的差别有统计学意义 ($P=0.045$) (图 2)。

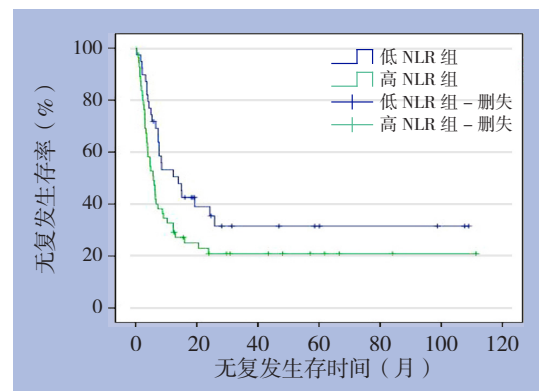


图 2 高 NLR 组及低 NLR 组无复发生存曲线

Figure 2 Relapse-free survival curves of high NLR group and low NLR group

2.2 影响总生存时间和无复发生存时间的危险因素分析

单因素分析显示: 术前 CA19-9 \geq 35U/mL、CEA \geq 5 ng/mL、淋巴结转移、肿瘤数目 \geq 2 个、肿瘤最大直径 \geq 5 cm、邻近器官侵犯、远处转移、

TNM 分期、手术类型(根治性切除/姑息性切除)、NLR ≥ 2.5 是影响肝部分切除 ICC 患者总生存时间的危险因素(表2)。

表2 影响总生存时间的单因素分析

Table 2 Univariate analysis for factors affecting the overall survival time

临床病理因素	n (%)	中位生存时间(月)	P
性别			
男	64 (66.7)	20.8	0.776
女	32 (33.3)	28.4	
年龄(岁)			
≥ 55	51 (52.1)	16.0	0.393
< 55	45 (47.9)	29.7	
CA19-9 (U/mL)			
≥ 35	38 (39.6)	10.8	0.001
< 35	58 (60.4)	32.8	
CEA (ng/mL)			
≥ 5	25 (26.0)	12.3	0.017
< 5	71 (74.0)	28.4	
淋巴结转移			
是	32 (33.3)	9.8	<0.001
否	64 (66.7)	32.8	
肿瘤数目			
多个	30 (31.3)	13.0	0.01
单个	66 (68.8)	31.0	
肿瘤最大直径(cm)			
≥ 5	61 (63.5)	14.3	<0.001
< 5	35 (36.5)	51.8	
血管侵犯			
是	12 (12.5)	14.6	0.266
否	84 (87.5)	24.9	
邻近器官侵犯			
有	18 (12.5)	8.3	0.01
无	78 (87.5)	28.4	
远处转移			
有	10 (10.4)	9.0	0.002
无	86 (89.6)	34.1	
TNM 分期			
I	50 (52.1)	>50	<0.001
II	46 (47.9)	10.8	
手术类型			
根治性切除	61 (63.5)	31.0	<0.001
姑息性切除	35 (36.5)	11.4	
NLR			
≥ 2.5	55 (57.3)	17.3	0.016
< 2.5	41 (42.7)	34.9	

单因素分析显示:术前 CA19-9 ≥ 35 U/mL、CEA ≥ 5 ng/mL、淋巴结转移、肿瘤数目 ≥ 2 个、肿瘤最大直径 ≥ 5 cm、远处转移、TNM 分期、手术类型(根治性切除/姑息性切除)、NLR ≥ 2.5 是影响肝部分切除 ICC 患者无复发生存时间的危险因素(表3)。

表3 影响无复发生存时间的单因素分析

Table 3 Univariate analysis for factors affecting the relapse-free survival time

临床病理因素	n (%)	中位生存时间(月)	P
性别			
男	64 (66.7)	9.7	0.415
女	32 (33.3)	11.2	
年龄(岁)			
≥ 55	51 (52.1)	9.9	0.944
< 55	45 (47.9)	10.4	
CA19-9 (U/mL)			
≥ 35	38 (39.6)	5.8	0.045
< 35	58 (60.4)	12.3	
CEA (ng/mL)			
≥ 5	25 (26.0)	7.3	0.011
< 5	71 (74.0)	11.8	
淋巴结转移			
是	32 (33.3)	5.4	0.003
否	64 (66.7)	12.3	
肿瘤数目			
多个	30 (31.3)	3.7	<0.001
单个	66 (68.8)	12.3	
肿瘤最大直径(cm)			
≥ 5	61 (63.5)	5.8	0.009
< 5	35 (36.5)	19.3	
血管侵犯			
是	12 (12.5)	9.0	0.538
否	84 (87.5)	10.4	
邻近器官侵犯			
有	18 (12.5)	8.3	0.357
无	78 (87.5)	10.8	
远处转移			
有	10 (10.4)	7.7	0.007
无	86 (89.6)	10.6	
TNM 分期			
I	50 (52.1)	15.1	<0.001
II	46 (47.9)	4.9	
手术类型			
根治性切除	61 (63.5)	10.4	0.026
姑息性切除	35 (36.5)	6.4	
NLR			
≥ 2.5	55 (57.3)	8.9	0.045
< 2.5	41 (42.7)	14.6	

2.3 多因素 Cox 回归分析

将影响肝部分切除后 ICC 患者生存的危险因素纳入 Cox 回归模型,结果显示:淋巴结转移、NLR ≥ 2.5 肿瘤最大直径、肿瘤数目是影响 ICC 患者术后生存的独立预后因素(表4)。

将影响肝部分切除后 ICC 患者无复发生存时间的危险因素纳入 Cox 回归模型,结果显示:肿瘤数目、淋巴结转移以及远处转移是影响 ICC 患者术后无复发生存的独立预后因素(表5)。

表 4 影响总生存时间的危险因素 Cox 回归分析

Table 4 Cox regression analysis for the risk factors affecting the overall survival time

临床病理因素	P	HR	95% CI
淋巴结转移	0.004	2.606	1.51~4.498
肿瘤最大直径	0.011	2.152	1.16~3.990
肿瘤数目	0.020	1.920	1.12~3.292
NLR \geq 2.5	0.040	1.769	1.013~3.09

表 5 影响无复发生存时间的危险因素 Cox 回归分析

Table 5 Cox regression analysis for the risk factors affecting the relapse-free survival time

临床病理因素	P	HR	95% CI
淋巴结转移	0.018	1.840	1.108~3.055
肿瘤数目	0.003	2.198	1.318~3.664
远处转移	0.027	2.448	1.106~5.421

2.4 中性粒细胞及淋巴细胞构成情况

高 NLR 组：中性粒细胞升高且淋巴细胞降低的患者为 24 例，占高 NLR 患者总数的 43.6%；中性粒细胞数正常，淋巴细胞数降低 6 例（10.9%）；淋巴细胞数正常，中性粒细胞数升高 4 例（7.3%）；二者均正常 21 例（38.2%）。

低 NLR 组：中性粒细胞数降低，淋巴细胞数正常 6 例，占低 NLR 患者总数（14.6%）；二者均正常 35 例（85.4%）。

3 讨论

肝内胆管细胞癌（ICC）是仅次于肝细胞肝癌（HCC）的第二大肝脏恶性肿瘤，约占原发性肝脏恶性肿瘤的 5%~10%，且其发病率近年来有上升趋势^[9-11]。ICC 缺乏典型临床表现、早期难以发现，手术切除是根治治疗的唯一途径，目前尚无其它有效的治疗手段，但是接受手术切除的患者 5 年生存率也只有 11.8%~31%^[12-17]，预后极差。因此确定对 ICC 患者预后影响的临床病理因素，尤其是寻找相对准确、检查方法便捷又经济的判断预后的方法对于为患者选择合适的治疗以达到延长患者生存有重要意义，也是目前研究热点所在。

炎症在肿瘤的进展中起到重要作用^[18-19]。NLR 作为反映机体的炎症反应和免疫状态的指标，一定程度上也反映了促肿瘤的炎症反应与抗肿瘤的免疫状态之间的平衡，NLR 值升高是影响多种恶性肿瘤（如胃癌、结肠癌及肝细胞癌等）预后的独立危险因素^[1-5]。NLR 升高导致肿瘤预后较差

的原因可能是：(1) 中性粒细胞升高导致一系列促肿瘤血管生成的物质增加，如血管生成趋化因子、生长因子和血管内皮生长因子（VEGF）及蛋白酶水平升高，为肿瘤生长和增殖提供了合适的环境^[20-21]。(2) 人体对肿瘤的免疫反应是依赖淋巴细胞的，尤其 T 淋巴细胞是肿瘤特异性免疫反应的重要组成部分，淋巴细胞在细胞毒性死亡和细胞因子抑制肿瘤细胞增殖及转移活性的过程中起重要作用。一方面当患者外周血淋巴细胞减少，T₄/T₈ 淋巴细胞比例降低，会降低机体对肿瘤的免疫应答^[22]，另一方面瘤内及瘤旁组织淋巴细胞浸润减少，形成了适合癌细胞增殖和转移的低淋巴细胞浸润环境。总之 NLR 升高的患者处于相对高中性粒细胞和低淋巴细胞的环境中，导致机体对肿瘤的炎症反应和免疫应答之间的不平衡，形成适合肿瘤发生发展的微环境。

本研究显示术前低 NLR 组 1、3、5 年生存率优于高 NLR 组，与文献报道相似^[21]。由中性粒细胞升高且淋巴细胞降低所致的 NLR 升高的患者数量为 24 例，占全部 NLR 升高患者的 43.6%，远高于单纯由中性粒细胞升高（4 例，占全部 NLR 升高患者的 7.3%）引起的 NLR 升高或单纯由淋巴细胞降低（6 例，占全部 NLR 升高患者的 10.9%）所致的 NLR 升高的患者比例，提示 NLR 升高对肿瘤预后的影响可能主要是中性粒细胞升高及淋巴细胞降低共同作用所致，促肿瘤的炎症反应与抗肿瘤的免疫状态之间的平衡被打破，向着促肿瘤方向发展，导致预后较差。

总之，NLR 水平对 ICC 患者术后预后有良好的预测价值，且检测 NLR 只需术前血常规检查，方法简单，相对便捷又经济，不会为患者带来额外的身体及经济负担，适合作为较好的 ICC 预后预测指标。

参考文献

- [1] Roxburgh CS, McMillan DC. Role of systemic inflammatory response in predicting survival in patients with primary operable cancer[J]. *Future Oncol*, 2010, 6(1):149-163.
- [2] Yamanaka T, Matsumoto S, Teramukai S, et al. The baseline ratio of neutrophils to lymphocytes is associated with patient prognosis in advanced gastric cancer[J]. *Oncology*, 2007, 73(3/4):215-220.
- [3] Jung MR, Park YK, Jeong O, et al. Elevated preoperative neutrophil

- to lymphocyte ratio predicts poor survival following resection in late stage gastric cancer[J]. *J Surg Oncol*, 2011, 104(5):504-510.
- [4] Halazun KJ, Aldoori A, Malik HZ, et al. Elevated preoperative neutrophil to lymphocyte ratio predicts survival following hepatic resection for colorectal liver metastases[J]. *Eur J Surg Oncol*, 2008, 34(1):55-60.
- [5] Gomez D, Farid S, Malik HZ, et al. Preoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio as a prognostic predictor after curative resection for hepatocellular carcinoma[J]. *World J Surg*, 2008, 32(8):1757-1762.
- [6] Palmer WC, Patel T. Are common factors involved in the pathogenesis of primary liver cancers? A meta-analysis of risk factors for intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *J Hepatol*, 2012, 57(1):69-76.
- [7] Blechacz BR, Gores GJ. Cholangiocarcinoma[J]. *Clin Liver Dis*, 2008, 12(1):131-150.
- [8] Rücker G, Schumacher M. Summary ROC curve based on a weighted Youden index for selecting an optimal cutpoint in meta-analysis of diagnostic accuracy[J]. *Stat Med*, 2010, 29(30):3069-3078.
- [9] Shaib YH, Davila JA, McGlynn K, et al. Rising incidence of intrahepatic cholangiocarcinoma in the United States: a true increase?[J]. *J Hepatol*, 2004, 40(3):472-477.
- [10] Bertuccio P, Bosetti C, Levi F, et al. A comparison of trends in mortality from primary liver cancer and intrahepatic cholangiocarcinoma in Europe[J]. *Ann Oncol*, 2013, 24(6):1667-1674.
- [11] Shaib Y, El-Serag HB. The epidemiology of cholangiocarcinoma[J]. *Semin Liver Dis*, 2004, 24(2):115-125.
- [12] de Jong MC, Nathan H, Sotiropoulos GC, et al. Intrahepatic cholangiocarcinoma: an international multi-institutional analysis of prognostic factors and lymph node assessment[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(23):3140-3145.
- [13] 张磊, 蔡建强, 毕新宇, 等. 肝内胆管细胞癌患者的预后影响因素分析[J]. *中华肿瘤杂志*, 2009, 31(11):845-848.
- [14] Cho SY, Park SJ, Kim SH, et al. Survival analysis of intrahepatic cholangiocarcinoma after resection[J]. *Ann Surg Oncol*, 2010, 17(7):1823-1830.
- [15] 陈中, 晏建军, 黄亮, 等. 肝内胆管细胞癌预后因素分析[J]. *中华肝胆外科杂志*, 2006, 12(10):654-656.
- [16] 李书红, 王俊, 张金野, 等. 手术切除肝内胆管细胞癌预后相关因素分析[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2011, 18(24):1956-1959.
- [17] Dhanasekaran R, Hemming AW, Zendejas I, et al. Treatment outcomes and prognostic factors of intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(4):1259-1267.
- [18] Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer[J]. *Nature*, 2002, 420(6917):860-867.
- [19] Mantovani A, Allavena P, Sica A, et al. Cancer-related inflammation[J]. *Nature*, 2008, 454(7203):436-444.
- [20] Dan J, Zhang Y, Peng Z, et al. Postoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio change predicts survival of patients with small hepatocellular carcinoma undergoing radiofrequency ablation[J]. *PLoS One*, 2013, 8(3):e58184.
- [21] Gomez D, Morris-Stiff G, Toogood GJ, et al. Impact of systemic inflammation on outcome following resection for intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *J Surg Oncol*, 2008, 97(6):513-518.
- [22] Ding PR, An X, Zhang RX, et al. Elevated preoperative neutrophil to lymphocyte ratio predicts risk of recurrence following curative resection for stage IIA colon cancer[J]. *Int J Colorectal Dis*, 2010, 25(12):1427-1433.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 刘永成, 李书红, 双泽宇, 等. 术前外周血中性粒细胞/淋巴细胞比值对肝内胆管细胞癌术后预后的影响[J]. *中国普通外科杂志*, 2014, 23(2):160-165. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.02.004

Cite this article as: LIU YC, LI SH, SHUANG ZY, et al. Impact of preoperative peripheral blood neutrophil-to-lymphocyte ratio on postoperative prognosis of intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *Chin J Gen Surg*, 2014, 23(2):160-165. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.02.004