

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.201805015

· 论著 ·

# 线粒体基因组单倍型类群与喉鳞状细胞癌的相关性研究

余永川<sup>1</sup>, 罗志强<sup>1</sup>, 艾文彬<sup>1</sup>, 石大志<sup>1</sup>, 敬前程<sup>1</sup>, 罗琴<sup>1</sup>, 谢海龙<sup>2</sup>

(1. 南华大学第二临床学院耳鼻咽喉头颈外科, 湖南衡阳 421000; 2. 南华大学肿瘤研究所, 湖南衡阳 421000)

**摘要:** **目的** 检测常见线粒体基因组(mtDNA)单倍型A、B、C、D、F、G、M在正常人群及喉癌患者中的分布频率,探讨mtDNA单倍型与喉鳞状细胞癌(laryngeal squamous cell carcinoma, LSCC)发病的相关性。**方法** 选取2013年12月~2015年12月80例LSCC患者作为实验组,同期选取健康体检者74例作为对照组(normal control, NC),提取两组病例的全血DNA,经PCR-扩增、基因测序,划分单倍型及其子单倍型,计算mtDNA单倍型及其子单倍型在不同组的分布频率,运用SPSS 20.0统计学软件进行统计分析, $P < 0.05$ 为有统计学意义。**结果** mtDNA单倍型B及D4在LSCC组的分布频率高于NC组( $P < 0.05$ ),且与临床分期无关( $P > 0.05$ )。**结论** mtDNA单倍型B和D4可能是LSCC的风险因素,可以作为LSCC发病的基因筛查参考指标。

**关键词:** 线粒体;单倍型类群;喉鳞状细胞癌;基因测序

中图分类号:R739.65 文献标识码:A [中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2018,24(5):454-458]

## Correlation between mitochondrial DNA haplogroups and laryngeal squamous cell carcinoma

SHE Yong-chuan<sup>1</sup>, LUO Zhi-qiang<sup>1</sup>, AI Wen-bing<sup>1</sup>, SHI Da-zhi<sup>1</sup>, JING Qian-cheng<sup>1</sup>, LUO Qin<sup>1</sup>, XIE Hai-long<sup>2</sup>

(1. Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, the Second Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang 421000, China; 2. Tumor Research Institute of University of South China, Hengyang 421000, China)

**Abstract:** **Objective** To study the correlation between mitochondrial DNA (mtDNA) haplogroups and laryngeal squamous cell carcinoma (LSCC) via detecting the distribution frequencies of mtDNA haplogroups (mtDNA haplotype A, B, C, D, F, G and M) in normal population and LSCC patients. **Methods** 80 LSCC patients were enrolled in the study group and 74 healthy adults were selected as normal control (NC). DNA was extracted from whole blood of both groups, and the mtDNA haplotypes and their sub-haplotypes were demarcated by polymerase chain reaction (PCR) and gene sequencing. Their distribution frequencies in both groups were detected. The frequency differences between the two groups were analyzed by using SPSS software version 20.0. **Results** The frequencies of mtDNA haplotype B and D4 in LSCC group were higher than those in the NC group (both  $P < 0.05$ ), which was not related to clinical stage of tumor ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The haplogroup B and D4 might be risk factors of LSCC, and therefore may be taken as reference marks for genetic screening of this tumor.

**Key words:** Mitochondrial DNA; Haplogroup; Laryngeal squamous cell carcinoma; Gene sequencing

[Chinese Journal of Otorhinolaryngology-Skull Base Surgery, 2018, 24(5):454-458]

喉癌是头颈部常见疾病,也是呼吸道继肺癌之后第二大常见肿瘤<sup>[1]</sup>。喉癌在发展过程中逐渐影响发声、呼吸及摄食功能,严重影响患者生活质量,甚至危及生命。调查数据显示,对常规治疗后的早

期喉癌患者和晚期喉癌患者的进行随访,其5年生存率早期为90%、晚期为50%<sup>[2-3]</sup>。所以对喉癌患者早期诊断和治疗是提高患者生活质量、生存率的关键。近年来国内外越来越多研究表明,线粒体基因组(mitochondrial DNA, mtDNA)单倍型与人体众多肿瘤相关。本研究旨在探讨常见mtDNA单倍型与喉鳞状细胞癌(laryngeal squamous cell carcinoma,

作者简介:余永川,男,硕士,主治医师。  
通信作者:罗志强,Email:zhiqiangluo9656@126.com

LSCC)发病的相关性。

## 1 材料与方法

### 1.1 标本

收集2013年12月~2015年12月南华大学附二医院耳鼻咽喉科手术治疗并经病理诊断为LSCC患者80例(实验组),其中男76例,女4例;年龄27~70岁,平均年龄51岁。按TNM<sup>[4]</sup>分期标准,其中I期6例,II期50例,III期8例,IV期16例;选取同期健康体检者74例作为对照组,其中男40例,女34例,平均年龄55.7岁。且均体检正常,排除高血压、糖尿病、肿瘤等急慢性疾病。两组患者一般资料经统计学处理具有可比性。

### 1.2 主要实验材料、试剂及仪器

①GeneJET全血基因组DNA纯化迷你试剂盒(赛默飞世尔科技公司);②PCR试剂盒、DL1000 DNA Marker(宝生物工程大连有限公司);③其他常用试剂:琼脂糖粉、1 X TBE电泳缓冲液、100%乙醇、无菌去离子水等。EAREUS FRESCEO17离心机(赛默飞世尔科技公司);QL-P01旋涡振荡器(海林市其林贝尔公司);H1干式恒温仪(珠海黑马公司);BIO-RAD电泳仪(联想生物技术有限公司);Tanon-2500全自动数码凝胶成像分析系统(上海天能科技公司);ABI9700基因扩增仪(美国ABI公司);EPPendorf移液器(德国艾本德生命科学公司);吸头;离心管(美国爱思进生物技术公司)。

### 1.3 实验方法

1.3.1 外周血采集及DNA提取 ①抽取研究对象外周静脉血3 ml,用一次性真空采血管EDTA-K2抗凝管保存;②用GeneJET全血基因组DNA纯化迷你试剂盒提取全血DNA。

1.3.2 mtDNA D-loop区及ND3 + ND4L区序列扩增及测定 ①PCR扩增:设计引物L15975F(CTC-CACCATTAGCACCCAAAGC)-H794R(AGGCTA-AGCGTTTTGAGCTG)和L99678(TCTCCATCTATT-GATGAGGGTCT)-H1085R(AATTAGGCTGTGGGTG-GTTG)(由北京睿博生物科技有限公司合成)。采用引物分别对D-loop区及ND3 + ND4进行扩增。PCR反应程序:95℃ 5 min 预变性;95℃ 30 s 变性;58℃ 30 s 退火;72℃ 45 s 延伸,此过程32次循环;72℃ 4 min 延伸;②PCR产物电泳检测:分别抽取D-loop区及ND3 + ND4区的扩增产物各5 μl分批次加入电泳槽进行电泳,电泳条件如下:PCR产物5 μl、

DL1000 DNA Marker 5 μl、0.5 × TBE电泳缓冲液、2%的琼脂糖凝胶、电压及电泳时间:恒压100 V 40 min。电泳完成后用全自动数码凝胶成像分析系统进行拍照,根据条带亮度粗略估计PCR产物浓度。

### 1.3.3 mtDNA D-loop及ND3 + ND4L序列测定

将PCR产物送往北京睿博生物科技有限公司进行对mtDNA D-loop及ND3 + ND4L区进行序列测定测序。将所得序列采用DNA分析软件: Codon-codeAligner 6.0、Chromas 2.4进行分析并进行比对。

1.3.4 9-BP基因缺失检测 mtDNA的9-bp缺失是由于在人类线粒体DNA的COII/tRNA<sup>Lys</sup>间隔域的9-bp联重复序列的一个副本的缺失造成的,即8280 - 8290 = A[de1CCCCCTCTA]G多态性位点,该副本通常同控制区的序列基序一起用于确定单倍型类群B状态<sup>[5]</sup>。电泳条件:PCR产物2 μl、DL1000 DNA Marker 2 μl、0.5 × TBE电泳缓冲液、3.5%的琼脂糖凝胶、电压及电泳时间:恒压100 V 35 min,电泳完成后用全自动数码凝胶成像分析系统进行拍照分析。

1.3.5 编码区特征性变异位点的RFLP分析 根据测序结果初步划分的单倍型,经PCR扩增编码区特征性变异位点DNA片段,选择相应的限制性内切酶进行酶切检测PCR产物,酶切反应及相应的酶切位点,反应体系如下:PCR产物2 μl,相应的限制性内切酶1 μl,限制性内切酶缓冲液2 μl,灭菌超纯水补足至20 μl。反应条件:37℃,酶切60 min,反应后的产物经电泳检测。电泳条件:酶切产物2 μl、未切酶切PCR产物0.5 μl、DL1000 DNA Marker 2 μl、0.5 × TBE电泳缓冲液、3%的琼脂糖凝胶、电压及电泳时间:恒压100 V 35 min。电泳完成后拍照检测。

### 1.4 统计学方法

运用SPSS 20.0软件采用 $\chi^2$ 检验计算出mtDNA单倍型在LSCC组及NC组中的分布频率,计算出P值、相对危险性值(odds ratio, OR)及OR对应的95%置信区间(95% CI),P < 0.05表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

所有样本经RCR(图1、2)、基因测序后(图3),参照人类线粒体数据库(<http://www.Mitomap.org>)、mtDNA剑桥参考序列(rCRS)<sup>[6]</sup>以及参照全球人类mtDNA树(<http://www.phylotree.org>),对所有测序后样本结果进行划分,划分出单倍体及其子单倍体共28个单倍型(表1)。

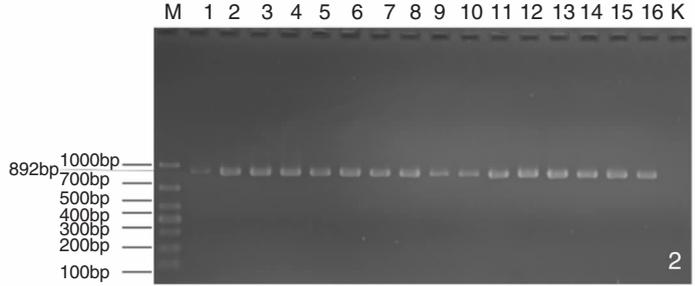
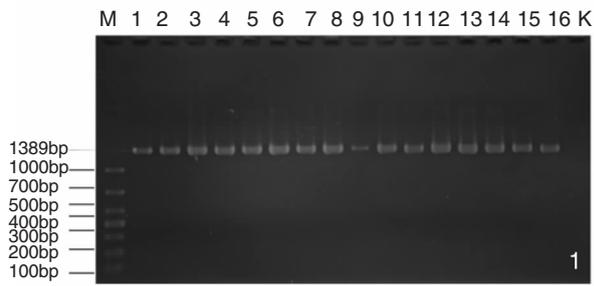


图1 mtDNA D-loop 区及 ND3 + ND4 区 PCR 扩增产物部分电泳结果图 图2 mtDNA D-Loop 区及 mtDNA ND3 + ND4L 区 PCR 产物 2% 琼脂糖凝胶电泳图 M 为 DL1000DNA Maker;1 - 16 号为 PCR 产物;K 为空白对照

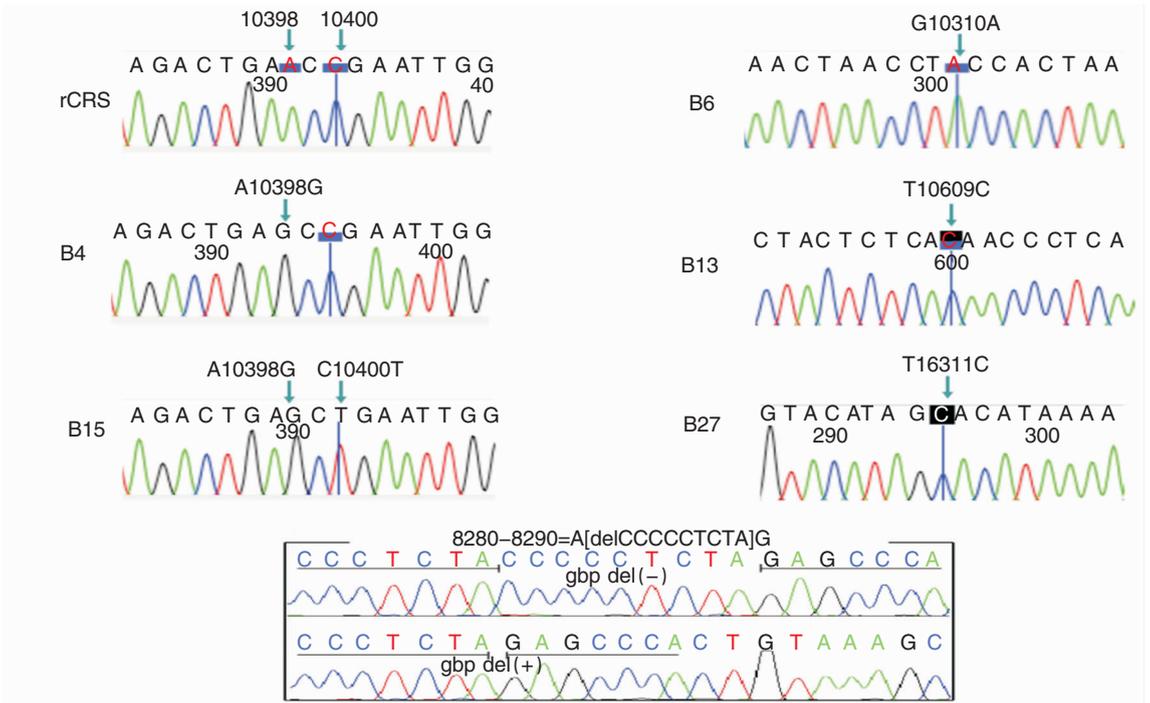


图3 mtDNA G10310A、A10398G、T10609C、C10400T、T16311C、8280 - 8290 = A[ del1CCCCCTCTA]G 多态性位点直接测序结果图,rCRS 为 mtDNA 剑桥参考序列

表1 mtDNA 单倍型在 LSCC 组及 NC 组的分布频率比较 [例(%) ]

单倍型	实验组	对照组	P	OR(95% CI)	单倍型	实验组	对照组	P	OR(95% CI)
A	8(10)	6(8.1)	0.68	1.25(0.42 - 3.82)	B	14(17.5)	5(6.8)	0.04	2.93(0.99 - 8.58)
B4	10(12.5)	3(4.1)	0.06	3.38(0.89 - 12.81)	B5	4(5.0)	2(2.7)	0.46	1.89(0.38 - 10.66)
C	2(2.5)	2(2.7)	0.94	0.92(0.13 - 6.73)	D	17(21.2)	13(17.6)	0.56	1.27(0.57 - 2.83)
D4	8(10)	0(0)	0.02	1.11(1.03 - 1.62)	D4a	1(1.2)	4(5.2)	0.16	0.23(0.03 - 2.12)
D4b	0(0)	2(2.7)	0.14	0.97(0.94 - 1.01)	D5	3(3.8)	1(1.4)	0.35	2.84(0.29 - 27.97)
F	9(11.2)	12(16.2)	0.37	0.66(0.26 - 1.67)	F1	6(7.5)	5(6.8)	0.86	1.12(0.33 - 3.83)
F2	2(2.5)	4(5.3)	0.37	0.46(0.08 - 2.59)	G	3(3.8)	3(4.1)	0.92	0.92(0.18 - 4.72)
M	2(2.5)	0(0)	0.17	1.03(0.99 - 1.06)	M	20(25)	19(25.7)	0.92	0.96(0.47 - 1.99)
M10	3(3.8)	7(9.5)	0.15	0.37(0.09 - 1.5)	M11	1(1.2)	0(0)	0.34	1.01(0.98 - 1.04)
M20	2(2.5)	0(0)	0.17	1.02(0.99 - 1.06)	M24	1(1.2)	0(0)	0.34	1.01(0.98 - 1.04)
M71	1(1.2)	0(0)	0.34	1.01(0.98 - 1.04)	M7	7(8.8)	8(10.8)	0.67	0.79(0.27 - 2.3)
M8	2(2.5)	2(2.7)	0.94	0.92(0.13 - 6.73)	M9	3(3.8)	2(2.7)	0.71	1.4(0.23 - 8.64)
N9	2(2.5)	5(6.8)	0.21	0.35(0.07 - 1.88)	R	1(1.2)	1(1.4)	0.96	0.92(0.57 - 15.05)
Y	0(0)	3(4.1)	0.07	0.96(0.92 - 1.0)	Z	2(2.5)	2(2.7)	0.94	0.92(0.13 - 6.73)

## 2.1 mtDNA 单倍型在两组的分布比较

mtDNA 单倍型 B 在 LSCC 组与 NC 组中的检出率分别是 17.5% 和 6.8%, LSCC 组中单倍型 B 的检出率明显高于 NC 组,经比较两者具有统计学意义( $P = 0.04$ ,  $OR = 2.93$ ,  $95\% CI = 0.99 - 8.58$ ); mtDNA 单倍型 D 的子单倍型 D4 在 LSCC 组与 NC 组中的检出率分别是 10% 和 0%,经检验差异具有统计学意义( $P = 0.02$ ,  $OR = 1.11$ ,  $95\% CI = 1.03 - 1.62$ ),见表 1。

## 2.2 mtDNA 单倍型在 LSCC 各临床分期中的分布

80 例 LSCC 标本按 TNM 分期标准<sup>[4]</sup>,单倍型 B 出现在 II 期 11 例、III 期 3 例;mtDNA 单倍型 D4 亦出现在 II 期 7 例、III 期 1 例。计算其相关性,得出 mtDNA 单倍型 B ( $P = 0.34$ ,  $OR = 0.47$ ,  $95\% CI = 0.09 - 2.28$ )和 mtDNA 单倍型 D4 ( $P = 0.91$ ,  $OR = 1.14$ ,  $95\% CI = 0.12 - 10.7$ ),即 mtDNA 单倍型分布频率与 TNM 分期无相关性。见表 2。

表 2 mtDNA 单倍型 B 及 D4 在 LSCC 组临床分期中的分布频率 [例(%)]

单倍型	II 期	III 期	<i>P</i>	<i>OR</i> (95% <i>CI</i> )
D4	7(14)	1(12.5)	0.91	1.14(0.12 - 10.7)
B	11(22)	3(37.5)	0.34	0.47(0.09 - 2.28)

## 3 讨论

mtDNA 单倍型沿袭母系遗传的特点,在对 mtDNA 单倍型的研究中发现 mtDNA 单倍型分布存在地区、性别、年龄及种族差别<sup>[7-8]</sup>。根据东亚人群 mtDNA 系统发展史<sup>[9]</sup>及 Yao 等<sup>[10]</sup>的报道,中国人常见的 mtDNA 单倍型为 A、B、C、D、F、G、M。鉴于 mtDNA 单倍型的分布特点,其特定的单倍型分布与疾病存在一定相关性。如 mtDNA 单倍型 R9 特别是它的子单倍型 F1 是广东潮汕人鼻咽癌的一个高危因素<sup>[11]</sup>;Guo 等<sup>[12]</sup>研究中发现,mtDNA 单倍型 M 是迟发性肝癌发病的危险因素;Fang 等<sup>[13]</sup>研究发现 mtDNA 单倍型 F 和 G 是中国南方人患肺癌的易感基因。在本次针对湖南地区 LSCC 患者 mtDNA 单倍型检测结果来看,mtDNA 单倍型 B 和 D4 与 LSCC 存在风险相关性;mtDNA 单倍型 B 和 D4 是亚洲人群常见的单倍型之一,与其他肿瘤的相关性也有报道,Li 等<sup>[14]</sup>发现,单倍型 D 是两地食管癌发病的危险因素,其子单倍型 D4 与太行山地区食管癌发病

有显著相关性,而其子单倍型 D5 是潮汕地区食管癌发病的高危因素。Wang 等<sup>[15]</sup>对韩国人非小细胞肺癌患者的研究中发现,含有 mtDNA 单倍型 D4 非小细胞肺癌患者预示着更差的生存率;Fang 等<sup>[16]</sup>研究 mtDNA 单倍型与甲状腺癌的相关性中发现,mtDNA 单倍型是增加甲状腺癌的危险因素,可见单倍型 D4 与人体肿瘤发病的密切相关;总结以上研究不难发现,特定单倍型的分布频率与地区及特定肿瘤存在相关性。mtDNA 单倍型在年龄分布上存在差异,如单倍型 D4a 和 D5 在日本百岁老人中常见<sup>[17]</sup>。

喉癌男性高发,男:女发病率为(7~10):1,但在实际临床工作中女性喉癌患者极少见,在本次实验收集的 80 例 LSCC 样本中男性为 76 例,女性仅为 4 例。

为了进一步了解 mtDNA 单倍型与喉癌发生发展的关系,我们还检测了喉癌不同临床分期患者 mtDNA 单倍型的分布频率,并进行对比分析。本组患者 mtDNA 单倍型 B 在 I 期未见分布、II 期 11 例,III 期 3 例,IV 期未见分布;mtDNA 单倍型 D4 I 期未见分布,II 期 7 例,III 期 1 例,IV 期未见分布。计算 mtDNA 单倍型 B 及 D4 在 II 期、III 期病例的分布频率,得出 mtDNA 单倍型 B 和 D4 与 TNM 分期无相关性( $P > 0.05$ )。

综上所述,LSCC 组中单倍型 B 及 D4 检出率明显高于 NC 组,经检验差异具有统计学意义,说明 mtDNA 单倍型 B 和 D4 可能是 LSCC 的风险因素,可作为 LSCC 患者的基因筛查标志物。

## 参考文献:

- [1] van Dijk BA, Karim-Kos HE, Coebergh JW, et al. Progress against laryngeal cancer in The Netherlands between 1989 and 2010 [J]. *Int J Cancer*, 2014, 134(3): 674 - 681.
- [2] Khaja SF, Hoffman HT, Pagedar NA. Incidence and survival trends in laryngeal cancer from 1973 to 2010 [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2014, 88(2): 497.
- [3] Miśkiewicz-Orczyk K, Namysłowski G, Misiótek M. Results of radical surgery in group of 355 patients with advanced laryngeal cancer [J]. *Otolaryngol Pol*, 2013, 67(2): 72 - 76.
- [4] 田勇泉. 耳鼻咽喉头颈外科学[M]. 第 6 版. 北京:人民卫生出版社, 2004: 118 - 220.
- [5] Tian YQ. *Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery* [M]. 6th edition, Beijing: People's Medical Publishing House, 2004: 118 - 220.
- [6] Kong QP, Sun C, Wang HW, et al. Large-scale mtDNA screening

- reveals a surprising matrilineal complexity in east Asia and its implications to the peopling of the region[J]. *Mol Biol Evol*, 2011, 28(1): 513–522.
- [6] Andrews RM, Kubacka I, Chinnery PF, et al. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA[J]. *Nat Genet*, 1999, 23(2): 147.
- [7] 陈文杰. 山西省12家三级甲等医院1234例喉癌流行病学特征分析[D], 太原:山西大学, 2015.  
Chen WJ. Analysis of Epidemiologic Features of 1234 Cases of Laryngeal carcinoma in Twelve III-A-grade Hospitals in Shanxi Province[D]. Taiyuan: Shanxi University, 2015.
- [8] Chen YF, Chen WJ, Lin XZ, et al. Mitochondrial DNA haplogroups and the risk of sporadic Parkinson's disease in Han Chinese [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2015, 128(13): 1748–1754.
- [9] Kong QP, Bandelt HJ, Sun C, et al. Updating the East Asian mtDNA phylogeny: a prerequisite for the identification of pathogenic mutations[J]. *Hum Mol Genet*, 2006, 15(13): 2076–2086.
- [10] Yao YG, Kong QP, Bandelt HJ, et al. Phylogeographic differentiation of mitochondrial DNA in Han Chinese[J]. *Am J Hum Genet*, 2002, 70(3): 635–651.
- [11] Hu SP, Du JP, Li DR, et al. Mitochondrial DNA haplogroup confers genetic susceptibility to nasopharyngeal carcinoma in Chinese from Guangdong, China[J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e87795.
- [12] Guo Z, Yang H, Wang C, et al. Mitochondrial DNA haplogroup M is associated with late onset of hepatocellular carcinoma[J]. *Exp Ther Med*, 2012, 3(3): 499–502.
- [13] Fang Y, Yang HY, Shi YH, et al. Mitochondrial DNA haplogroups and somatic mutations are associated with lung cancer in patients from Southwest China [J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(2): 5031–5043.
- [14] Li XY, Guo YB, Su M, et al. Association of mitochondrial haplogroup D and risk of esophageal cancer in Taihang Mountain and Chaoshan areas in China[J]. *Mitochondrion*, 2011, 11(1): 27–32.
- [15] Wang Z, Choi S, Lee J, et al. Mitochondrial variations in non-small cell lung cancer (NSCLC) survival [J]. *Cancer Inform*, 2015, 14(Suppl 1): 1–9.
- [16] Fang H, Shen L, Chen T, et al. Cancer type-specific modulation of mitochondrial haplogroups in breast, colorectal and thyroid cancer[J]. *BMC Cancer*, 2010, 10(12): 421.
- [17] Bilal E, Rabadan R, Alexe G, et al. Mitochondrial DNA haplogroup D4a is a marker for extreme longevity in Japan[J]. *PLoS One*, 2008, 3(6): e2421.

(收稿日期:2017-12-19)

(上接第450页)

- 者介入术后早期认知功能的影响[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2016, 37(1): 70–73.
- Liu Fan, Li YW, Ma YH, et al. Effects of two methods of general anesthesia on early postoperative cognitive dysfunction in patients with ischemic[J]. *Journal of Jinan University (Natural Science & Medicine Edition)*, 2016, 37(1): 70–73.
- [15] 张昕, 周煜, 郭芳, 等. 丙泊酚麻醉对创伤性脑损伤大鼠神经元再生和神经功能的影响[J]. *中华实验外科杂志*, 2017, 34(6): 991–993.  
Zhang X, Zhou Y, Guo F, et al. Effects of propofol anesthesia on neuronal regeneration and neurological function in rats with traumatic brain injury [J]. *Chinese Journal of Experimental Surgery*, 2017, 34(6): 991–993.
- [16] 杨普春, 洪潮为, 陈燕奎, 等. 不同赋形剂丙泊酚复合瑞芬太尼在颅脑术中唤醒麻醉的比较研究[J]. *中国医师杂志*, 2016, 18(4): 583–585.  
Yang PC, Hong CW, Chen YL, et al. Comparative study on the evocable anesthesia effect of propofol with different excipients combining remifentanyl for craniocerebral operations [J]. *Journal of Chinese Physician*, 2016, 18(4): 583–585.
- [17] 李繁, 黎仕焕, 黄奕弟, 等. 亚麻醉、镇静及麻醉剂量丙泊酚对高脂血症大鼠空间记忆及海马组织的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2017, 27(13): 28–32.  
Li F, Li SH, Huang YD, et al. Influence of subanesthesia, sedation and anesthesia doses of Propofol on spatial memory and hippocampal tissues in rats with hyperlipidemia [J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2017, 27(13): 28–32.
- [18] Kennedy MJ, Smith LJ. A comparison of cardiopulmonary function, recovery quality, and total dosages required for induction and total intravenous anesthesia with propofol versus a propofol-ketamine combination in healthy Beagle dogs [J]. *Vet Anaesth Analg*, 2015, 42(4): 350–359.
- [19] 姚琳. 丙泊酚对急性重型颅脑损伤患者的脑保护作用[J]. *新乡医学院学报*, 2016, 33(9): 804–806.  
Yao L. Protective effect of propofol on brain tissue of patients with acute severe craniocerebral injury [J]. *Journal of Xinxiang Medical University*, 2016, 33(9): 804–806.
- [20] Chandar, Rumes, Jagadisan, et al. Propofol-ketamine and propofol-fentanyl combinations for nonanesthetist-administered sedation [J]. *J Pediatric Gastroenterol Nutr*, 2015, 60(6): 762–768.
- [21] 肖维萍, 李铁. 舒芬太尼复合丙泊酚对高血压脑出血手术患者麻醉效果分析[J]. *神经损伤与功能重建*, 2015, 10(4): 307–308, 311.  
Xiao WP, Li T. The anesthesia efficacy of sufentanil combined with propofol on the patients with hypertension cerebral hemorrhage operation [J]. *Neural Injury and Functional Reconstruction*, 2015, 10(4): 307–308, 311.

(收稿日期:2018-02-03)