

HBV相关性肾炎与HBV基因变异的相关性

李霜青, 安惠霞, 赵玉先, 姜国涛

李霜青, 安惠霞, 赵玉先, 哈尔滨医科大学附属第二医院肾内科, 黑龙江省哈尔滨市 150086

姜国涛, 天津市第五中心医院肾内科, 天津市 300450

黑龙江省自然科学基金资助项目, No. 080620

作者贡献分布: 李霜青、安惠霞及赵玉先对此文所作贡献均等; 安惠霞是通讯作者, 此课题由安惠霞指导设计; 研究过程由李霜青与赵玉先操作完成; 姜国涛参与部分实验研究包含提供患者等, 所用新试剂与分析工具由安惠霞提供; 数据分析由李霜青完成; 本论文写作由李霜青、安惠霞及赵玉先完成。

通讯作者: 安惠霞, 教授, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学附属第二医院肾内科. an_huixia@sina.com

电话: 0451-86605256

收稿日期: 2009-05-21 修回日期: 2009-07-05

接受日期: 2009-07-20 在线出版日期: 2009-08-18

Correlation of different hepatitis B virus gene mutations with the development of hepatitis B virus-associated glomerulonephritis

Shuang-Qing Li, Hui-Xia An, Yu-Xian Zhao,
Guo-Tao Jiang

Shuang-Qing Li, Hui-Xia An, Yu-Xian Zhao, Department of Nephrology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Guo-Tao Jiang, Department of Nephrology, the 5th Central Hospital, Tianjin 300450, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Heilongjiang Province, No. 080620

Correspondence to: Professor Hui-Xia An, Department of Nephrology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. an_huixia@sina.com

Received: 2009-05-21 Revised: 2009-07-05

Accepted: 2009-07-20 Published online: 2009-08-18

Abstract

AIM: To investigate the correlation of different hepatitis B virus gene mutations with the development of hepatitis B virus-associated glomerulonephritis (HBV-GN).

METHODS: Nineteen HBV-GN patients and 22 chronic hepatitis B (CHB) patients were included in the study. Gene mutations in the core gene coding region and core promoter/precore region of HBV were detected by complete genome sequencing.

RESULTS: In the core promoter/precore region,

the prevalences of the nt 1727 and nt 1773 mutations were significantly higher in HBV-GN patients than in CHB patients (100% vs 50.0% and 47.4% vs 13.6%, respectively; both $P < 0.05$). No significant differences were noted in the prevalences of the nt 1762/1764 mutations between the two groups of patients ($P > 0.05$). In the core gene coding region, the prevalence of the nt 2011 mutation was significantly lower in HBV-GN patients than in CHB patients (10.5% vs 40.9%, $P < 0.05$). No significant differences were noted in the prevalences of the nt 2005, nt 2201, nt 2245 and nt 2290 mutations between the two groups of patients ($P > 0.05$).

CONCLUSION: Some hepatitis B virus gene mutations may be correlated with the development of HBV-GN.

Key Words: Hepatitis B virus; Glomerulonephritis; Gene mutation

Li SQ, An HX, Zhao YX, Jiang GT. Correlation of different hepatitis B virus gene mutations with the development of hepatitis B virus-associated glomerulonephritis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(23): 2421-2425

摘要

目的: 探讨乙型肝炎病毒相关性肾炎(HBV-GN)易感性与HBV基因变异的关系。

方法: 选取HBV-GN患者19例为试验组, 慢性HBV感染者22例为对照组, 应用基因测序技术检测HBV血清C基因区、CP区基因位点的变异。

结果: CP区中nt1727和nt1773位点试验组的变异率显著高于对照组(100% vs 50.0%, 47.4% vs 13.6%, 均 $P < 0.05$)。nt1762/1764联合变异率在2组中的差别无统计学意义($P > 0.05$)。C基因区中nt2011变异率试验组显著低于对照组(10.5% vs 40.9%, $P < 0.05$)。nt2005、nt2201、nt2245和nt2290变异率在2组中的差别无统计学意义($P > 0.05$)。

结论: HBV-GN易感性可能与HBV的基因变异有关。

■背景资料

乙型肝炎病毒(HBV)感染在我国很常见, 据WHO统计, 乙型肝炎患者及携带者约占人群的15%。HBV感染可引起多种肝外病变, 乙型肝炎病毒相关性肾炎(HBV-GN)是常见的肝外病变之一。

■同行评议者

金瑞, 教授, 首都医科大学附属北京佑安医院消化科

■研究前沿

HBV是一种高度变异的病毒,由于病毒变异往往引起抗原性和致病性的改变,所以认为HBV感染在临床上出现的不同疾病与病毒变异有关。

关键词: 乙型肝炎病毒; 肾炎; 基因变异

李霜青, 安惠霞, 赵玉先, 姜国涛. HBV相关性肾炎与HBV基因变异的相关性. 世界华人消化杂志 2009; 17(23): 2421-2425
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/2421.asp>

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染在我国很常见,据WHO统计,乙型肝炎患者及携带者约占人群的15%。HBV感染可引起多种肝外病变,乙型肝炎病毒相关性肾炎(hepatitis B virus-associated glomerulonephritis, HBV-GN)是常见的肝外病变之一。自从1971年 Combes *et al*^[1]首次报道1例乙型肝炎病毒相关性膜性肾病以来,引起各国学者们的重视与研究。HBV是一种高度变异的病毒,由于病毒变异往往引起抗原性和致病性的改变,所以认为HBV感染在临床上出现的不同疾病与病毒变异有关。目前大量的临床资料报道了HBV基因突变对肝脏疾病的临床表现、疾病发生发展及预后起着决定性的影响^[2]。但是对HBV基因变异与HBV-GN易感性的相关性研究国内外报道较少。本实验是应用基因测序技术检测HBV C区、C基因启动子(c gene promoter, CP)区基因变异,旨在探讨HBV-GN易感性与HBV基因突变之间的关系,以期寻找导致HBV-GN的HBV基因突变易感位点。从病毒学方面进一步探讨该病的病因及发病机制。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2006-10/2007-10我院门诊和住院患者41例,HBV-GN患者19例,为实验组,其中男16例,女3例,年龄12-54(平均年龄33.63±5.42)岁。诊断符合1989-10北京HBV-GN专题座谈会上的诊断标准^[3]。慢性乙型肝炎患者22例,为对照组,其中男16例,女6例,年龄18-57(平均年龄30.43±4.78)岁。诊断符合第10次全国病毒性肝炎及肝病学术会议讨论修订的诊断标准,均为无血缘关系的黑龙江地区汉族人,经血清学检测排除甲、丙、丁、戊型肝炎病毒混合感染。

1.2 方法

1.2.1 实验室检查: 乙型肝炎五项、肝功能、肾功能测定、尿常规、肾活检、HBV DNA定量。

1.2.2 HBV DNA基因变异位点的检测: (1)病毒基因组DNA提取: 血清标本100 μL用蛋白酶K和裂解缓冲液消化,酚法提取。(2)PCR引物: 根据GenBank数据库中HBV的全基因组序列,利用Primer Premier 5.0软件设计引物,上游引物

序列及位置nt1652-1671(5'-ACATAAGAGGACTCTTGAC-3', 20 bp), 下游引物序列及位置nt2439-2459(5'-ACTAACATTGAGATTCCCGAG-3', 21 bp), 扩增807 bp产物,引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。(3)PCR: 50 μL反应体积中含10×反应缓冲50 μL, MgCl₂(25 mmol/L) 30 μL, 4 dNTP(2.5 mmol/L) 4 μL, 2种引物(10 μmol/L)各2.5 μL, Taq DNA多聚酶(5 U/mL)0.25 μL, 加水至40 μL。反应条件: 94℃预变性3 min, 继而94℃ 0.5 min、55℃ 0.5 min、72℃ 1 min, 共30个循环,最后72℃延伸5 min。(4)DNA 序列测定: 用PCR产物纯化试剂盒纯化PCR产物; 纯化产物由invitrogen公司测序。

统计学处理 计数资料采用 χ^2 检验, 计量资料采用 t 检验, 所有统计分析均以SPSS13.0软件处理。

2 结果

2.1 HBV-GN与乙型肝炎HBV CP和C基因区的变异率 CP区变异在HBV-GN组的总检出率为100%(19/19), 乙型肝炎组为68.2%(15/22), HBV-GN组变异的检出率高于乙型肝炎组($\chi^2 = 5.216$, $P < 0.05$)。C区变异在HBV-GN组的总检出率为94.7%(18/19), 乙型肝炎组为90.9%(20/22), HBV-GN组C区变异的检出率与乙型肝炎组差别无统计学意义($\chi^2 = 0.000$, $P > 0.05$)。

2.2 HBV-GN与乙型肝炎HBV CP区变异的关系 HBV nt1727处A→G变异在HBV-GN组总检出率高达100%(19/19), 乙型肝炎为50.0%(11/22), HBV-GN组变异的检出率显著高于乙型肝炎组($\chi^2 = 7.714$, $P < 0.01$)。nt1773处C→A变异在HBV-GN组的总检出率为47.4%(9/19), 乙型肝炎为13.6%(3/22), HBV-GN组变异的检出率高于乙型肝炎组($\chi^2 = 5.604$, $P < 0.05$)。HBV nt1762T/1764A联合变异HBV-GN组总检出率26.3%(5/19), 乙型肝炎为36.4%(8/22), HBV-GN组和乙型肝炎组nt1762/nt1764联合变异的检出率相比无显著差异($\chi^2 = 0.475$, $P > 0.05$, 表1)。

2.3 HBV-GN与乙型肝炎HBV C基因区变异的关系 (1)nt2011处变异在HBV-GN组总检出率为10.5%(2/19), 乙型肝炎组为40.9%(9/22), 乙型肝炎组变异的检出率显著高于HBV-GN组($P < 0.05$)。(2)nt2201变异率在HBV-GN组和乙型肝炎组的差别无统计学意义(84.2% vs 68.2%)。其中, 变异位点T→C在HBV-GN组有16例, 乙型肝炎组有11例, 差别有统计学意义(84.2% vs

表1 HBV-GN组及乙型肝炎组患者HBV CP区变异位点的比较 $n(\%)$

| 分组 | n | 1727变异 A→G | 1762/1764联合 变异AG→TA | 1773变异 C→A |
|------------|-----|---------------|------------------------|---------------|
| HBV-GN组 | 19 | 19(100.0) | 5(26.3) | 9(47.4) |
| 乙型肝炎组 | 22 | 11(50.0) | 8(36.4) | 3(13.6) |
| χ^2 值 | | 12.983 | 0.475 | 5.604 |
| P 值 | | <0.01 | >0.05 | <0.05 |

50.0%). (3)nt2290变异率在HBV-GN组和乙型肝炎组的差别无统计学意义(89.5% vs 77.3%). 其中, 变异位点C→T在HBV-GN组有16例, 乙型肝炎组有11例, 差别有统计学意义(84.2% vs 50.0%). (4)nt2005、nt2245变异率在HBV-GN组和乙型肝炎组的差别无统计学意义(68.4% vs 50.0%、78.9% vs 81.8%, 均 $P>0.05$, 表2-3).

2.4 HBV-GN肾组织的免疫组织化学特点 所收集病例中, 肾活检病理结果比较以HBsAg与HBeAg沉积最为多见, 检出率分别为47.4%、52.6%. 其次为HBcAg沉积, 检出率为31.6%.

2.5 HBV-GN与乙型肝炎患者血HBV DNA定量和生化指标的比较 HBV DNA在HBV-GN组高于乙型肝炎组($P<0.05$), 但肝功的改变在2组中的差别无统计学意义(表4).

3 讨论

HBV是一种高变异的病毒, 其突变率高达 10^{10} - 10^{11} 点突变/d, 比其他DNA病毒高出10倍以上. 病毒侵入机体后, 在机体内受自然压力、人体免疫力和药物治疗的影响, 常出现病毒变异. 发生变异的病毒可引起病毒复制水平的改变, 从而导致其抗原性和致病性改变, 所以认为HBV感染在临床上出现的不同疾病谱与病毒变异有关. 随着HBV变异研究的不断深入, 变异所引起的生物学意义也不断被人们所认识. 此外, HBV常见的变异位点: 基本核心启动子(basal core promoter, BCP)、前C区和核心区基因的变异. 故本实验研究HBV-GN与HBV C区、CP区基因突变的相关性.

CP位于HBV基因组nt1643-1849, 即位于X开放读码框的3'末端和前C/C开放读码框的5'末端重叠区, CP调控HBV的复制, 控制前CmRNA和CmRNA(前基因组RNA)的转录, 前者为合成HBeAg的模板, 后者为合成HBcAg、多聚酶及逆转录的模板. CP的变异使CmRNA转录明显减少, 前基因组mRNA转录增加, 导致HBeAg

合成减少, 肝细胞内HBcAg、DNA聚合酶及HBV DNA的复制增加^[4-5]. 不少学者进行了体外实验, 发现CP区变异后, HBV前基因组RNA转录效率提高2-3倍, 病毒包装效率提高10倍之多. 已有研究表明: HBV基因变异与HBV感染的结局有密切关系. Kaneko *et al*^[6]分析7例重肝患者HBV基因序列, 结果有5例HBV CP区发生突变, 说明CP区基因突变可导致HBV DNA的复制增加. 本实验的结果显示, 在CP区中, HBV-GN组的总变异检出率为100%(19/19), 乙型肝炎组为68.2%(15/22), HBV-GN组总变异的检出率高于乙型肝炎组($P<0.05$). nt1727 A→G($P<0.01$)和nt1773 C→A变异率HBV-GN组高于乙型肝炎组($P<0.05$). 其中, nt1727在HBV-GN组全部发生突变, 由AAG→AGG, 显著高于乙型肝炎组($P<0.01$). 提示了具有nt1727、nt1773基因突变者患HBV-GN的危险性大. 结果提示HBV-GN的发病与nt1727、nt1773基因突变相关. HBV-GN与突变后的CP致HBV DNA复制增加关系需进一步进行研究.

C区位于HBV基因组nt1814-2456, 长约638 bp, C基因区可转录形成315 kb mRNA, 和前基因组mRNA. 后者大部分翻译、合成HBcAg(含183个氨基酸残基), 小部分被包装成核心颗粒, 充作反转录的模板. 其编码的产物HBcAg带有T、B细胞识别的表位. C基因产物的中、前段发生聚积变异多见. 这种聚积变异, 反映了B细胞、T细胞及其亚群识别和结合的表位可能有差异, 同时也反映了C蛋白所受免疫攻击的程度. 在对乙型肝炎的临床研究中发现, C基因区多位点突变, 可使转录, 合成的HBcAg发生变异, 影响细胞毒T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)的识别, 助长了HBV免疫逃避, 不利于病毒的清除, 导致HBV持续感染^[7]. Ehata *et al*^[8]报告对30例HBV慢性感染者进行血清学HBV DNA检测, 20例慢性肝炎患者中有15例HBV C基因序列在84-101位的编码区发生变异(该区为TCL识别位点序列区), 这15例均为慢活肝和肝硬化. 说明C区的基因突变可导致HBV持续感染. 本实验中, C基因区中, HBV-GN组C区总变异的检出率与乙型肝炎组差别无统计学意义. nt2201 T→C和nt2290 C→T变异率HBV-GN组高于乙型肝炎组(84.2% vs 50.0%), 差别有统计学意义, 而变异位点nt2011在HBV-GN组则显著低于乙型肝炎组($P<0.05$), 这提示具有nt2201 T→C和nt2290 C→T的患者患HBV-GN的危险性大, HBV变异位点

■创新盘点

本实验应用基因测序技术检测HBV C区、C基因启动子(CP)区基因变异, 旨在探讨HBV-GN易感性与HBV基因突变之间的关系, 以期寻找导致HBV-GN的HBV基因突变易感位点. 从病毒学方面进一步探讨该病的病因及发病机制.

■同行评价

本研究新颖性尚可,对临床医师有一定的参考价值。

表 2 HBV-GN组及乙型肝炎组患者HBV C区变异比较 $n(\%)$

| 分组 | <i>n</i> | 2005变异 | 2011变异 | 2201变异 | 2245变异 | 2290变异 |
|------------|----------|----------|---------|----------|----------|----------|
| HBV-GN组 | 19 | 13(68.4) | 2(10.5) | 16(84.2) | 15(78.9) | 17(89.5) |
| 乙型肝炎组 | 22 | 11(50.0) | 9(40.9) | 15(68.2) | 18(81.8) | 17(77.3) |
| χ^2 值 | | 1.425 | 4.794 | 0.684 | 0.000 | 0.383 |
| <i>P</i> 值 | | >0.05 | <0.05 | >0.05 | >0.05 | >0.05 |

表 3 乙型肝炎肾炎组及乙型肝炎组患者HBV C区变异位点的比较 $n(\%)$

| 分组 | <i>n</i> | 2005变异T→A | 2011变异G→C | 2201变异T→C | 2245变异C→T | 2290变异C→T |
|------------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| HBV-GN组 | 19 | 12(63.2) | 2(10.5) | 16(84.2) | 15(78.9) | 16(84.2) |
| 乙型肝炎组 | 22 | 9(40.9) | 4(18.2) | 11(50.0) | 14(63.6) | 11(50.0) |
| χ^2 值 | | 2.020 | 0.062 | 5.306 | 1.154 | 5.306 |
| <i>P</i> 值 | | >0.05 | >0.05 | <0.05 | >0.05 | <0.05 |

表 4 HBV-GN组及乙型肝炎组患者血生化指标的比较 (mean \pm SD)

| 分组 | ALT(U/L) | AST(U/L) | HBV DNA定量(copies/mL) |
|------------|---------------|---------------|-------------------------------|
| HBV-GN组 | 78 \pm 19.2 | 49 \pm 14.0 | 4.28 \pm 0.98 $\times 10^4$ |
| 乙型肝炎组 | 80 \pm 18.4 | 50 \pm 12.3 | 2.97 \pm 0.68 $\times 10^4$ |
| <i>t</i> 值 | 0.340 | 0.244 | 4.62 $\times 10^2$ |
| <i>P</i> 值 | >0.05 | >0.05 | <0.05 |

nt2201 T→C和 nt2290 C→T与HBV-GN的发病可能有相关性。

王朝晖 *et al*^[9]对338例经肾穿刺证实的肾炎患者病毒血清学特点进行分析,在血HBsAg(+)的肾炎患者中,HBV相关肾炎发病与体内HBV DNA复制程度密切相关。而本实验结果中可见HBV DNA在HBV-GN组高于乙型肝炎组($P<0.05$),但肝功的改变在两组中无显著差别,这与上述报道相符合。

本实验结果证实,HBV CP区、C区基因多位点变异与HBV-GN的发病具有相关性,但是否HBV-GN与HBV基因突变导致HBV持续感染、病毒复制增加尚需大量的临床研究以进一步证实。在HBV-GN的病例中,以HBsAg与HBcAg沉积最为多见^[10],其次为HBcAg沉积。

总之,HBV-GN易感性与HBV基因变异可能有相关性,这有助于深入了解HBV变异株在HBV-GN发病机理中的作用以及临床上通过对乙型肝炎患者进行HBV常见变异位点进行检测,来判断是否增加了发生HBV-GN的危险性。此外,可寻找药物作用的新靶点,开发新的抗乙型

肝炎药,为HBV-GN的治疗提供新的方向。但鉴于样本量及地区性的限制,本研究结果还需要大规模多中心的流行病学研究进一步证实。此外,由于肝炎的发生取决病毒与宿主两方面,任何引起宿主免疫反应的改变都可能引起病情的变化,有的变异株可在某一宿主引起HBV-GN,而在另一宿主却引起慢性肝炎或重肝,故HBV-GN的发生除病毒变异外,还可能与病毒亚型、宿主免疫状态、细胞因子和组织相容性白细胞抗原有关。

4 参考文献

- Combes B, Shorey J, Barrera A, Stastny P, Eigenbrodt EH, Hull AR, Carter NW. Glomerulonephritis with deposition of Australia antigen-antibody complexes in glomerular basement membrane. *Lancet* 1971; 2: 234-237
- 闫伯英. 乙型肝炎病毒变异的临床研究进展. 国际病毒学杂志 2006; 13: 29-32
- 中华医学会儿科学分会肾脏病学组. 乙型肝炎病毒相关肾炎的诊断和治疗(草案). 中国实用儿科杂志 2003; 18: 189
- 雷春亮, 彭晓谋, 顾琳, 陈雪娟, 杨湛, 唐小平. HBeAg阴性慢性乙型肝炎患者出现前C和基本核启动子联合突变的意义. 中华传染病杂志 2005; 23: 10-13
- Jammeh S, Tavner F, Watson R, Thomas HC, Karayiannis P. Effect of basal core promoter and pre-core mutations on hepatitis B virus replication. *J Gen Virol* 2008; 89: 901-909
- Kaneko M, Uchida T, Moriyama M, Arakawa Y, Shikata T, Gotoh K, Mima S. Probable implication of mutations of the X open reading frame in the onset of fulminant hepatitis B. *J Med Virol* 1995; 47: 204-208
- Papatheodoridis GV, Hadziyannis SJ. Diagnosis and management of pre-core mutant chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 2001; 8: 311-321
- Ehata T, Omata M, Yokosuka O, Hosoda K, Ohto M.

- Variations in codons 84-101 in the core nucleotide sequence correlate with hepatocellular injury in chronic hepatitis B virus infection. *J Clin Invest* 1992; 89: 332-338
- 9 王朝晖, 陈楠, 徐正义, 任红, 傅秀兰, 张文, 陆志檬. 乙型肝炎病毒相关肾炎临床与病毒血清学特点关联研究. 上海医学 2001; 24: 674-676
- 10 Iida H, Izumino K, Asaka M, Kameyama T, Takata M, Mizumura Y, Sasayama S. Membranoproliferative glomerulonephritis associated with chronic hepatitis B in adults: pathogenetic role of HBsAg. *Am J Nephrol* 1987; 7: 319-324

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

第九届全国消化系恶性病变介入诊疗研讨会暨内镜 / 介入新技术论坛征文通知

本刊讯 为满足临床一线医师对消化系病变介入新技术研究、探讨和交流的欲望, 进一步提升国内消化系疾病尤其是消化系恶性病变介入诊治的技术水平, 上海同仁医院联合河南省人民医院以及河南省新乡医学院第一附属医院, 定于2009-11-06/11在河南省新乡市主办第九届全国消化系恶性病变介入诊疗研讨会暨内镜/介入新技术论坛。本次会议由河南省抗癌协会、河南省消化内镜学会、河南省医学会介入治疗专业分会具体承办, 《中华放射学杂志》、《中华消化内镜学杂志》、《世界胃肠病学杂志》、《介入放射学杂志》、《微创医学杂志》以及《医学信息内外科学杂志》共同参与协办。会议将着重介绍消化系病变内镜治疗、介入放射学治疗、肿瘤内外科治疗的新理论、新技术和新方法, 为各相关交叉学科之间的相互交流和研讨搭建一个平台。本次会议拟安排相关学科的著名专家围绕食管、胆管、胃肠道等消化系管腔内支架治疗应用技术和发生的问题以及消化系病变、门静脉高压、胆道结石等疾病的消化内镜、介入放射、内外科治疗新进展等热点课题进行精彩演讲及深入研讨。会议还将邀请美国、德国和韩国专家介绍相关领域的技术进展并安排内容丰富的手术演示。参会者将授予国家级一类继续医学教育学分10分。

1 征文内容

(1)消化系恶性病变内镜治疗、介入放射治疗、外科治疗、肿瘤化学治疗、生物治疗及免疫治疗等; (2)消化系良性病变, 如: 门静脉高压、胆管结石、消化系出血等的内镜及介入新技术应用; (3)消化系疾病诊治前沿交叉学科与消化介入诊治新技术相关的论著、文献综述、临床经验、个案报告等各类稿件。

2 投稿要求

(1)专题讲座由组委会约稿, 也可自荐, 需全文; (2)论著需1000字以内的标准论文摘要, 包括目的、方法、结果与结论四要素。经验交流、短篇报道等全文限1000字以内; (3)所有稿件内容应科学、创新、实用、数据准确, 书写规范, 稿件应是未发表过的论文。优秀论文将安排在国家级杂志上发表。 (4)所有稿件一律要求电脑打印(Word格式), 邮寄者需附软盘, 特别鼓励用E-mail投稿(以附件Word格式); (5)截稿日期: 2009-09-31。

3 联系方式

杨瑞民, 453100, 河南省卫辉市健康路88号, 新乡医学院第一附属医院介入科. y-rmin@163.com, 电传: 0373-4402942, 手机: 13903805978

梁宝松, 450003, 河南省郑州市纬五路7号, 河南省人民医院内镜科. lbaosong@hotmail.com, 电话: 0371-65063502