

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.23.007

网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20190809.1049.014.html>(2019-08-09)

EGFR 突变和扩增与 I / II 期非小细胞肺癌根治术预后的相关性研究

丁光贵, 万 军, 任康奇, 王 正

(暨南大学第二临床医学院深圳市人民医院胸外科, 广东深圳 518020)

[摘要] **目的** 探讨 I / II 期非小细胞肺癌(NSCLC)患者表皮生长因子受体(EGFR)基因突变、扩增情况与根治术预后的相关性。**方法** 采用突变扩增系统(ARMS)PCR 方法和荧光原位杂交法(FISH)检测 208 例手术根治的 I / II 期 NSCLC 患者组织标本, 回顾性分析 EGFR 基因突变、扩增与 NSCLC 患者临床特性和手术预后的相关性。**结果** 纳入本研究的患者共 208 例, EGFR 基因突变型患者 87 例, 野生型患者 121 例, 突变率为 41.8%。与 EGFR 基因野生型比较, EGFR 基因突变型患者中女性和不吸烟患者的比例显著升高($P < 0.05$)。EGFR 基因突变型 NSCLC 患者的无进展生存期(PFS)较 EGFR 基因野生型明显延长($P < 0.05$)。98 例患者的组织中存在 EGFR 基因扩增(FISH 阳性), 占比 47.1%。EGFR 基因扩增与年龄、性别、吸烟状况、疾病分期无关($P > 0.05$), EGFR 基因突变与扩增之间有一定关联($P < 0.05$)。EGFR 基因扩增患者的 PFS 期较不扩增患者更短($P < 0.05$)。**结论** EGFR 基因突变或不扩增的 I / II 期 NSCLC 患者在根治术后 PFS 较野生型或扩增的更长。

[关键词] 癌, 非小细胞肺; 受体, 表皮生长因子; 肿瘤分期 I / II 期; 预后

[中图分类号] R734.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2019)23-3986-05

Correlation of mutation and amplification of EGFR gene with prognosis of pathological stage I / II non-small cell lung cancer with radical operation

DING Guanggui, WAN Jun, REN Kangqi, WANG Zheng

(Department of Thoracic Surgery, the Second Clinical Medical College of Jinan University, Shenzhen, Guangdong 518020, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the correlation between the mutation and expansion of epidermal growth factor receptor (EGFR) gene and the prognosis of patients with pathological stage I / II non-small cell lung cancer with radical operation (NSCLC). **Methods** Tissue specimens from 208 patients with stage I / II NSCLC who underwent radical surgery were collected, ARMS was used to detect EGFR gene mutation and the gene copy number status were determined by FISH. Clinical characteristics and surgery prognosis of patients were statistically compared. **Results** Among 208 NSCLC patients, 87 patients with EGFR mutations and 121 patients with wild-type patients, the mutation rate was 41.8%. The proportion of female and non-smokers in patients with EGFR mutations were significantly higher than that of EGFR wild type patients ($P < 0.05$). The progression-free survival (PFS) of patients with EGFR mutation was longer than that of wild-type patients ($P < 0.05$). There were EGFR gene amplification in 98 patients, accounting for 47.1%. EGFR gene amplification was not associated with age, gender, smoking status, disease stage ($P > 0.05$), but associated with EGFR gene mutation ($P < 0.05$). Furthermore, the PFS phase of patients with EGFR gene amplification was shorter than that of patients without amplification ($P < 0.05$). **Conclusion** Pathological stage I / II NSCLC patients with EGFR mutations or without amplification have longer PFS after radical surgery than wild-type or with amplification patients.

[Key words] carcinoma, non-small-cell lung; receptor, epidermal growth factor; neoplasm staging; Pathological stage I / II; prognosis

非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 是世界上最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率、病死率位居世界恶性肿瘤第 1 位^[1-2]。目前, 对于 I / II 期 NSCLC 的临床治疗方式仍是以手术根治为主,

但在进行根治术后仍存在一定比例复发风险。目前临床上缺乏 I / II 期 NSCLC 根治术后预后预测的指标, 现今肿瘤大小、TNM 分期、分化程度等指标虽然可作为 I / II 期 NSCLC 术后预测的指标, 但都存在灵

敏度差、特异度不高等缺点。

NSCLC 的发生、发展与表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)相关信号通路的激活存在密切关系^[3]。EGFR 基因突变已经被作为 EGFR-酪氨酸激酶抑制剂(TKIs)的作用靶点,广泛用于晚期 NSCLC 的检测中^[4],但其对于早期 NSCLC 的临床意义和价值尚缺乏研究支持。同时,EGFR 基因扩增也与 NSCLC 的发生、发展有着重要的关联。II/III 期临床研究中发现,EGFR-TKIs 类药物对于 EGFR 扩增患者治疗效果更好^[5]。但目前对于 EGFR 突变和扩增与 I/II 期 NSCLC 患者根治术后预后的相关性研究报道较少。本研究将无进展生存期(progress free survival, PFS)作为重点研究对象,研究 EGFR 基因突变、扩增与 I/II 期 NSCLC 患者的临床特性及术后预测价值相关性,为制订合理有效的临床治疗方案和预后的评价提供科学依据,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究对象为 2013 年 8 月至 2017 年 5 月在本院接受根治术的 208 例 I/II 期 NSCLC 患者。根据 WHO(2015 年)肺肿瘤组织学分型^[6-7]进行病理分型,根据第 8 版 TNM 肿瘤学分类^[8]标准进行临床分期。纳入标准:(1)男女不限;(2)临床检验判定为 NSCLC;(3)TNM 分期为 I、II 期,并进行手术根治;(4)既往无肿瘤病史;(5)入院前未接受抗肿瘤的相关治疗;(6)记录有详细的治疗信息,且信息可靠。排除标准:(1)临床检验判定为小细胞肺癌;(2)合并其他肿瘤患者;(3)失访患者;(4)TNM 分期非 I、II 期患者;(5)未进行根治术治疗。患者的临床资料记录包括性别、年龄、病理类型、吸烟情况、TNM 分期、EGFR 突变情况、治疗情况等。PFS 定义为治疗第 1 天起至疾病发生进展的时间,以月为单位,进行 24 个月随访。本研究已经过本院医学伦理委员会批准,患者对研究知情并签署知情同意书。

1.2 主要试剂与仪器 DNA 引物、DNA 提取试剂盒(货号 97030196)、探针购自广州英韦创津生物科技有限公司;EGFR 基因突变检测试剂盒(货号 TB002)购自北京雅康博生物科技有限公司;EGFR 抑制剂蛋白酶 K(货号 P6556)购自美国 Sigma-Aldrich 公司;PCR 仪(型号 T100)购自美国 Bio-Rad 公司;Nano-Drop1000 分光光度计(型号 722)购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;荧光原位杂交法(fluorescence in situ hybridization, FISH)检测试剂盒(货号 F01014)购自北京金菩嘉医疗科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 突变扩增系统(amplification refractory mutation system, ARMS)PCR 使用 DNA 提取试剂盒提取患者组织切片中的 DNA,按照说明书进行操作:往组织切片样品加入适量细胞裂解液进行裂解,用酚氯

仿法提取 DNA,再用 75%乙醇对提取的 DNA 进行纯化,测定所提取 DNA 的浓度和纯度后用 ARMS 在荧光定量 PCR 仪中检测 EGFR 基因第 18~21 号外显子的突变情况,根据扩增曲线判断样品的基因突变情况。

1.3.2 FISH 检测 将患者的组织切片进行 FISH 检测。按照说明书进行操作:将组织切片进行脱蜡预处理,加入适量蛋白酶 K 消化后进行变性杂交,洗涤干净后进行复染色,显微镜下判断检测结果,对细胞(100 个以上)的红绿信号进行计数,红色信号与绿色信号比值大于 2:1 时提示 EGFR 基因扩增。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行统计分析。计数资料采用 χ^2 检验, Kaplan-Meier 法计算 PFS,组间比较采用 Log-rank 检验,多变量 Cox 模型计算风险比(HR)及其 95%置信区间(95%CI),用 Graphpad Prism7.05 软件分析并制作生存曲线。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 纳入患者临床信息 本研究共纳入 208 例 I/II 期 NSCLC 患者的相关信息,其中男 126 例(60.6%),女 82 例(39.4%)。患者的中位年龄为 59.4(27.0,89.0)岁,I 期患者 134 例(64.4%),II 期患者 74 例(35.6%);曾经或现在吸烟的患者 73 例(35.1%),不吸烟患者 135 例(64.9%)。

2.2 EGFR 基因突变与 NSCLC 临床特征的关系 共检出 EGFR 基因突变 87 例,突变率为 41.8%(87/208)。87 例 EGFR 基因突变型患者中 36 例(41.3%)为 19 号外显子缺失,43 例(49.4%)为 21 号外显子的 L585 存在突变,此外 20 号外显子 G719X、L861Q 和 20 号外显子短片段插入各 2 例,20 号外显子的 S768I 存在 1 例突变,还有 1 例存在 20 号外显子的 T790M 和 21 号外显子的 L858R 联合突变。EGFR 基因突变型患者与野生型患者在年龄、临床分期(I/II 期)和病理类型方面比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。与 EGFR 基因野生型患者相比,EGFR 基因突变型患者中女性和不吸烟患者比例显著升高($P < 0.05$),见表 1。

表 1 EGFR 基因突变型和野生型患者的临床特征比较分析[n(%)]

项目	n	EGFR 基因		χ^2	P
		突变型(n=87)	野生型(n=121)		
性别				17.883	<0.01
男	126	38(30.2)	88(69.8)		
女	82	49(59.8)	33(40.2)		
年龄				0.314	0.575
<60 岁	97	42(43.3)	55(56.7)		
≥60 岁	111	45(40.5)	66(59.5)		
吸烟				23.712	<0.01
否	135	73(54.1)	62(45.9)		

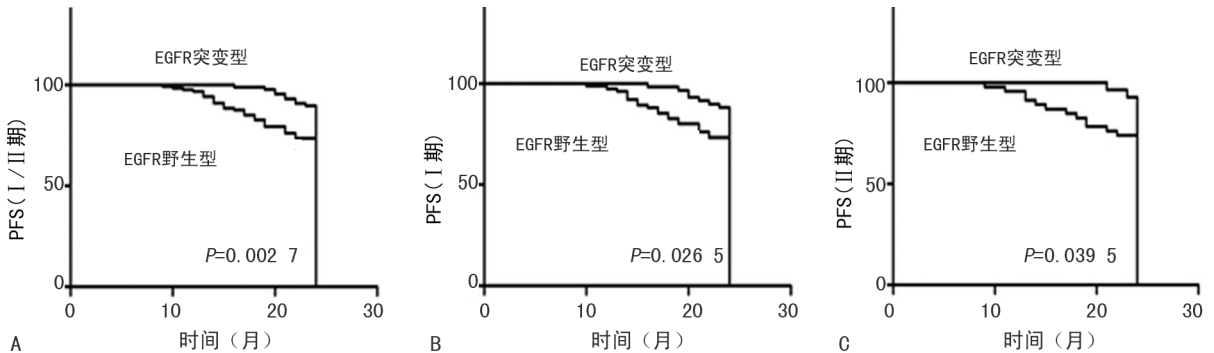
续表 1 EGFR 基因突变型和野生型患者的临床特征比较分析[n(%)]

项目	n	EGFR 基因		χ^2	P
		突变型(n=87)	野生型(n=121)		
曾经/现在	73	14(19.2)	59(80.8)		
临床分期				0.751	0.386
I 期	134	59(44.0)	75(56.0)		
II 期	74	28(37.8)	46(62.2)		
病理类型				1.054	0.305
腺癌	160	70(43.8)	90(56.3)		
非腺癌	8	17(35.4)	31(64.6)		

2.3 EGFR 突变情况与预后相关性分析 TNM I / II 期 NSCLC 患者根治术后,对患者随访并进行生存统计。87 例 EGFR 基因突变型患者中有 9 例复发,

其中 I 期患者 7 例,II 期患者 2 例;78 例 EGFR 基因突变型患者在术后 24 个月无疾病进展,其中 I 期患者 52 例,II 期患者 26 例。121 例 EGFR 基因野生型患者中有 32 例复发,其中 I 期患者 20 例,II 期患者 12 例;89 例 EGFR 基因野生型患者在术后 24 个月无疾病进展,其中 I 期患者 55 例,II 期患者 34 例。EGFR 基因突变型患者的 PFS 长于野生型患者($P=0.0027$),见图 1A。I 期、II 期 EGFR 基因突变型患者的 PFS 均长于野生型患者,见图 1B、C。

2.4 影响 PFS 的因素分析 通过 Cox 模型分析了年龄、性别、吸烟情况、EGFR 基因是否突变等多个因素对 PFS 的影响。分析结果显示,上述多个因素均对 PFS 无影响,只有 EGFR 基因突变是影响 PFS 的独立因素($P=0.024$),见表 2。



A: TNM I / II 期 EGFR 基因突变型患者与野生型患者的 PFS 比较($P=0.0027$); B: TNM I 期 EGFR 基因突变型患者与野生型患者的 PFS 比较($P=0.0265$); C: TNM II 期 EGFR 基因突变型患者与野生型患者的 PFS 比较($P=0.0395$)

图 1 EGFR 基因突变型和野生型 NSCLC 患者生存分析

表 2 TNM I / II 期 NSCLC 患者的 PFS 因素影响分析

项目	HR	95%CI	P
性别	1.453	0.456~2.321	0.611
年龄	1.621	0.776~2.433	0.726
吸烟情况	0.785	0.324~1.767	0.124
EGFR 突变(否/是)	0.328	0.114~0.987	0.024
临床分期	0.776	0.376~1.997	0.092

2.5 EGFR 基因 FISH 检测结果与 NSCLC 临床特征的关系 208 例 I / II 期 NSCLC 患者中,EGFR 基因 FISH 检测阳性为 98 例,占比 47.1%。其中,男性 EGFR 基因 FISH 检测阳性率为 46.8%,女性为 47.6%,二者比较差异无统计学意义($P>0.05$);不同年龄组中,<60 岁的患者 EGFR 基因 FISH 检测阳性率为 43.3%, ≥ 60 岁的患者为 50.5%,二者比较差异无统计学意义($P>0.05$);不同吸烟状况比较,无吸烟史患者 EGFR 基因 FISH 检测阳性率为 45.9%,曾经或现在吸烟患者为 49.3%,二者比较差异无统计学意义($P>0.05$);I 期患者 EGFR 基因 FISH 检测阳性率为 44.8%,II 期为 51.4%,二者比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

表 3 EGFR 基因 FISH 检测结果与临床特征比较分析

项目	n	FISH 阳性(n)	阳性率(%)	χ^2	P
性别				0.004	0.949
男	126	59	46.80		
女	82	39	47.60		
年龄				0.383	0.536
<60 岁	97	42	43.30		
≥ 60 岁	111	56	50.50		
吸烟史				0.078	0.78
否	135	62	45.90		
曾经/现在	73	36	49.30		
临床分期				0.294	0.588
I 期	134	60	44.80		
II 期	74	38	51.40		

2.6 EGFR 基因 FISH 检测结果与预后的相关性分析 对采取根治术后 I / II 期 NSCLC 患者进行随访和生存统计。98 例 FISH 检测阳性患者中有 26 例(26.5%)患者发生复发,72 例(73.5%)患者在术后无疾病进展。110 例 FISH 检测阴性患者中有 15 例

(13.6%)患者发生复发,95例(86.4%)患者在术后无疾病进展。结果发现,与 FISH 检测阳性患者比较,FISH 检测阴性患者的 PFS 显著延长($P=0.0112$)。见图 2。

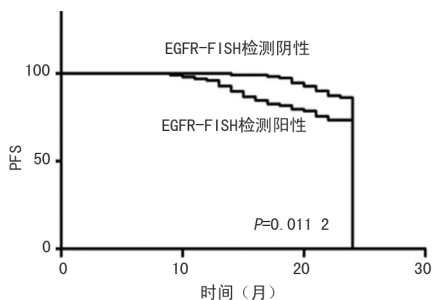


图 2 EGFR 基因 FISH 检测阳性与阴性患者 PFS 比较

2.7 EGFR 基因突变与 FISH 检测结果之间的关系

208 例 I/II 期 NSCLC 患者组织中,EGFR 突变患者 FISH 检测阳性率更高($P<0.05$),见表 4。

表 4 EGFR 基因突变与 FISH 检测结果之间关系(n)

EGFR 基因突变情况	FISH		总计
	阴性	阳性	
突变	23	64	87
未突变	87	34	121
总计	110	98	208

3 讨论

EGFR 基因位于第 7 号染色体,共有 28 个外显子。突变主要发生在 18~21 号外显子,其中 19 和 21 号外显子突变更为重要^[9]。研究表明,亚洲患者的 EGFR 突变率显著高于西方患者^[10],女性患者 EGFR 突变率显著高于男性患者,不吸烟患者的 EGFR 突变率显著高于吸烟患者^[11-12]。本研究发现 EGFR 在 I/II 期 NSCLC 患者中的突变率为 41.8%,男性患者(30.2%)的 EGFR 突变率显著低于女性患者(59.8%),吸烟史患者的 EGFR 突变率(19.2%)显著低于不吸烟患者(54.1%),这与以前研究报道的结果基本一致^[13]。

目前已有部分临床特性被发现与 NSCLC 的预后有关,例如:TNM 分期、淋巴结转移情况、贫血、年龄、吸烟等^[14-15]。但这些预后因素的特异性不高、敏感性差,同组患者个体差异大。除上述临床指标外,一些肿瘤分子标记物也被发现与预后相关。例如白细胞介素-17(interleukin-17, IL-17)^[16]、IL-2^[17]、C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)^[18]和肿瘤标记物癌胚抗原(CEA)^[19]等,但仍存在特异性和敏感性不足的缺点。随着分子生物学的发展,EGFR 基因作为 NSCLC 的主要驱动基因成为研究的热点^[20]。研究表明,NSCLC 患者的总生存期(OS)延长与 EGFR 基因第 19 号外显子缺失突变存在相关性^[21],提示 EGFR 敏感型突变与 NSCLC 患者的预后存在相关性。

目前 EGFR 基因敏感型突变与 NSCLC 预后相关研究主要集中在中晚期 NSCLC 患者,但在 TNM I/II 期 NSCLC 患者预后中研究较少。既往对 I 期 NSCLC 患者研究发现,与 EGFR 基因野生型患者比较,EGFR 突变型患者的复发率更低,5 年无病生存期(DFS)和 OS 更长,这表明 EGFR 突变可作为 I 期 NSCLC 患者的预后预测指标^[22]。还有研究对 TNM I 期根治术后的 NSCLC 患者随访发现,EGFR 基因突变型患者的 OS 和 DFS 要显著高于野生型患者^[23]。本研究通过对 208 例根治术后的 I/II 期 NSCLC 患者 EGFR 突变情况及 PFS 的分析来研究 EGFR 突变在 I/II 期 NSCLC 根治术后预后的预测价值和临床意义。研究发现,EGFR 基因突变型患者的 PFS 高于野生型患者,这与既往研究结果基本一致,不同之处在于本研究的研究对象包含了 74 例 II 期 NSCLC,而在 II 期患者中也发现 EGFR 基因突变的患者具有更长的 PFS。同时,Cox 模型分析显示,EGFR 突变是影响 PFS 的独立因素,这与以往的研究结果也是相一致的^[23]。

有研究发现,EGFR 扩增情况能够用于预测 EGFR-TKIs 药物吉非替尼的疗效,II/III 期患者应用 EGFR-TKIs 类药物可显著延长生存期^[5]。由此可见,EGFR 基因扩增也是影响 NSCLC 患者预后的重要指标,但目前缺乏 EGFR 扩增与 I/II 期 NSCLC 患者预后的相关性研究。在本研究中,EGFR 基因 FISH 检测结果与患者的年龄、性别、吸烟情况、临床分期不相关($P>0.05$)。在 EGFR 突变患者中 73.6%(64/87)FISH 检测阳性,在 FISH 检测阳性患者中 65.3%(64/98)EGFR 突变,二者存在相关性。本研究还发现 EGFR 基因 FISH 检测阴性患者比 EGFR 基因 FISH 检测阳性患者 PFS 更长。

本研究属于回顾性分析,存在纳入研究的病例数较少,随访时间较短等局限,需更多研究关注到 EGFR 基因突变、扩增与 NSCLC 根治术预后方面,为 NSCLC 中 EGFR 基因突变、基因扩增应用于临床指导提供更多可靠的依据。

参考文献

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2016[J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(1): 7-30.
- [2] SHER T, DY G K, ADJEI A A. Small cell lung cancer [J]. Mayo Clin Proc, 2008, 83(3): 355-367.
- [3] SHI Y, LI J, ZHANG S, et al. Molecular epidemiology of EGFR mutations in Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer of adenocarcinoma histology-mainland China subset analysis of the PIONEER study[J]. PLoS one, 2015, 10(11): e0143515
- [4] 杨长绍, 潘鑫艳, 冯强, 等. 云南宣威地区非小细胞肺癌表皮生长因子受体及 KRAS 基因突变检测分析[J]. 中华病理学杂志, 2016, 45(4): 226-230.

- [5] CAPPUZZO F, HIRSCH F R, ROSSI E, et al. Epidermal growth factor receptor gene and protein and gefitinib sensitivity in non-small-cell lung cancer[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2005, 97(7):643-655.
- [6] TRAVIS W D. The 2015 WHO classification of lung tumors[J]. *Der Pathologe*, 2014, 35(2):188.
- [7] 方三高, 许春伟, 肖华亮, 等. 解读 2015 年 WHO 肺、胸膜、胸腺及心脏肿瘤分类(肺)[J]. *重庆医学*, 2017, 46(1):4-23.
- [8] OSAROGIAGBON R U, SMELTZER M P, FARIS N, et al. Comment on the proposals for the revision of the N descriptors in the forthcoming eighth edition of the TNM classification for lung cancer[J]. *J Thorac Oncol*, 2016, 11(10):1612-1614.
- [9] 杨长绍, 潘鑫艳, 冯强, 等. 云南宣威地区非小细胞肺癌表皮生长因子受体及 KRAS 基因突变检测分析[J]. *中华病理学杂志*, 2016, 45(4):226-230.
- [10] MÄKI-NEVALA S, RÖTY M, MOREL M, et al. Epidermal growth factor receptor mutations in 510 Finnish non-small-cell lung cancer patients[J]. *J Thorac Oncol*, 2014, 9(6):886-891.
- [11] GAO N, XI Y, WANG Y, et al. Epidermal growth factor receptor KRAS and BRAF gene mutations and their correlation with clinicopathological characteristics in non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Res Clin*, 2015, 27(8):551-554.
- [12] LI Y, YANG T, WEI S, et al. Clinical significance of EML4-ALK fusion gene and association with EGFR and KRAS gene mutations in 208 Chinese patients with non-small cell lung cancer[J]. *PLoS One*, 2013, 8(1):e52093.
- [13] SHI Y, LI J, ZHANG S, et al. Molecular epidemiology of EGFR mutations in Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer of adenocarcinoma histology-mainland China subset analysis of the PIONEER study[J]. *PLoS One*, 2015, 10(11):e0143515.
- [14] SCHNEIDER B J. Non-small cell lung cancer staging: proposed revisions to the TNM system. *Cancer imaging: the official publication of the international*[J]. *Cancer Imaging*, 2008, 8(1):181-185.
- [15] 许崇安, 高艳, 李琳, 等. 贫血对晚期非小细胞肺癌患者化疗疗效及预后的影响[J]. *中国肺癌杂志*, 2010, 13(10):968-974.
- [16] PAN B, CHE D, CAO J, et al. Interleukin-17 levels correlate with poor prognosis and vascular endothelial growth factor concentration in the serum of patients with non-small cell lung cancer[J]. *Biomarkers*, 2015, 20(4):232-239.
- [17] BERSANELLI M, BUTI S, CAMISA R, et al. Gefitinib plus interleukin-2 in advanced non-small cell lung cancer patients previously treated with chemotherapy[J]. *Cancers*, 2014, 6(4):2035-2048.
- [18] JING X, HUANG C, ZHOU H, et al. Association between serum C-reactive protein value and prognosis of patients with non-small cell lung cancer: a meta-analysis[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(7):10633-10639.
- [19] CAI Z. Relationship between serum carcinoembryonic antigen level and epidermal growth factor receptor mutations with the influence on the prognosis of non-small-cell lung cancer patients[J]. *Oncotargets Ther*, 2016, 9:3873-3878.
- [20] 潘兆军, 易基群, 王林, 等. EGFR 和 K-ras 基因表达突变与非小细胞肺癌预后的关联分析[J]. *临床肺科杂志*, 2016, 21(4):635-639.
- [21] SEQUIST L V, YANG J C, YAMAMOTO N, et al. Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations[J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(27):3327-3334.
- [22] IZAR B, SEQUIST L, LEE M, et al. The impact of EGFR mutation status on outcomes in patients with resected stage I non-small cell lung cancers[J]. *Ann Thorac Surg*, 2013, 96(3):962-968.
- [23] NISHII T, YOKOSE T, MIYAGI Y, et al. Prognostic value of EGFR mutations in surgically resected pathological stage I lung adenocarcinoma[J]. *Asia Pac J Clin Oncol*, 2017, 13(5):e204-211.

(收稿日期:2019-01-14 修回日期:2019-04-06)

(上接第 3985 页)

- primary care setting; results based on a controlled trial[J]. *BMJ Open*, 2018, 8(6):e019716.
- [15] 彭伟, 任民. 脑外伤患者血清中 Tau、8-iso-PGF2 α 含量与神经损伤及氧化应激程度的相关性[J]. *海南医学院学报*, 2017, 23(16):2285-2288.
- [16] 杨文进, 郭义君, 郑平, 等. 急性创伤性脑损伤患者血清 Tau 蛋白动态变化及其与认知功能障碍的相关性研究[J]. *中华创伤杂志*, 2018, 34(1):35-39.
- [17] HOWE C G, LI Z, ZENS M S, et al. Dietary B vitamin intake is associated with lower urinary monomethyl arsenic and oxidative stress marker 15-F2t-Isoprostane among new hampshire adults[J]. *J Nutr*, 2017, 147(12):2289-2296.
- [18] 施辉, 吴惠毅, 周辉, 等. 重型颅脑损伤患者血浆 8-表氧前列腺素 F₂(2α) 水平及抗氧化剂疗效评价[J]. *中华神经医学杂志*, 2006, 5(12):1240-1242.

(收稿日期:2019-01-18 修回日期:2019-04-10)