

嗜中性粒细胞胞质因子 1 基因 C923T 多态性与长沙市汉族人群脑出血的相关性研究

黄晓松¹, 杨期东²

(1. 湖南省脑科医院神经内科, 长沙 410007; 2. 中南大学湘雅医院神经内科, 长沙 410008)

[摘要] 目的:探讨嗜中性粒细胞胞质因子 1(*NCF1*)基因第 10 外显子 C923T(Ala308Val)多态性与湖南省长沙市汉族人群脑出血的关系。方法:采用 PCR-单链构象多态技术和 DNA 直接测序法检测湖南省长沙市汉族人群脑出血患者 110 例、10 个脑出血家系成员 110 例和健康对照者 100 名的 *NCF1* 基因第 10 外显子 C923T 多态性;同时检测各组血脂水平。结果:湖南省长沙市汉族人群 *NCF1* 基因第 10 外显子 C923T 多态存在 CC,CT,TT 3 种基因型,脑出血组及其各亚型组 C923T(Ala308Val)多态基因频率分布与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);脑出血家系组中患病组和未患病组及脑出血组的 C923T 多态分布与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);脑出血组中各基因型血脂水平与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论:湖南省长沙市汉族人群 *NCF1* 基因 C923T 多态性可能与脑出血的易患性无关。

[关键词] 脑出血; 嗜中性粒细胞胞质因子 1; 基因多态性; 血脂

DOI:10.3969/j.issn.1672-7347.2011.04.004

Correlation between neutrophil cytosolic factor 1 gene C923T polymorphism and cerebral hemorrhage in the Han in Changsha

HUANG Xiaosong¹, YANG Qidong²

(1. Department of Neurology, Hunan Brain Hospital, Changsha 410007;

2. Department of Neurology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

Abstract: **Objective** To investigate the relation between C923T(Ala308Val) polymorphism in exon 10 of neutrophil cytosolic factor 1 (*NCF1*) gene and cerebral hemorrhage in the Han in Changsha and to evaluate the effect of C923T(Ala308Val) polymorphism on plasma lipid levels. **Methods** Changsha Han C923T(Ala308Val) polymorphism in *NCF1* gene was determined by PCR single strand conformation polymorphism analysis and DNA sequencing in 100 healthy controls, 110 patients with cerebral hemorrhage, and 10 cerebral hemorrhage pedigrees. The level of plasma lipid was measured by routine methods. **Results** No significant difference was found in frequencies of genotypes and alleles of C923T(Ala308Val) polymorphism among the controls, cerebral hemorrhage patients and cerebral hemorrhage pedigrees. The serum level of TG in the CT genotype of cerebral hemorrhage patients and controls tended toward higher than that in CC genotype, but the trend did not reach significance ($P > 0.05$). **Conclusion** There seems no correlation between C923T(Ala308Val) polymorphism and cerebral hemorrhage in Hans people in Hunan province.

Key words: cerebral hemorrhage; neutrophil cytosolic factor 1; genetic polymorphism; plasma lipid

收稿日期 (Date of reception) 2010-05-31

作者简介 (Biography) 黄晓松, 博士, 副主任医师, 主要从事脑血管病及脑血管介入的基础与临床研究。

通信作者 (Corresponding author) 杨期东, E-mail:xyyqd@hotmail.com

基金项目 (Foundation item) 湖南省卫生厅科研计划项目 (B2008-046)。 This work was supported by the project of Department of Public Health of Hunan Province, P. R. China (B2008-046).

脑卒中(stroke)是当今严重威胁人类生命健康的疾病之一,湖南省长沙市脑卒中发病率高居中国第2,脑出血占脑卒中的52.9%^[1]。目前流行病学研究^[2]表明:遗传基因在脑卒中发病中发挥了重要作用。活性氧(reactive oxygen species,ROS)与高血压病、动脉粥样硬化形成和缺血性脑卒中等血管性疾病和糖尿病密切相关,是血管性疾病的危险因素。烟酰胺腺嘌呤二核苷酸[nicotinamide-adenine dinucleotide,NAD(P)H]氧化酶是中性粒细胞和血管系统中ROS的主要来源,在缺血性损害和动脉粥样硬化形成中发挥重要作用。嗜中性粒细胞胞质因子1(neutrophil cytosolic factor 1, NCF1)是Lomax等^[3]于1989年克隆,是NAD(P)H氧化酶系统的一个主要成分,位于7q11.23,含有11个外显子,其功能区有PX区、AIR区、PRR区和2个SH-3区等5个功能域组成。目前研究^[4-8]表明:在ROS的产生过程中,NCF1发挥了始动功能,而ROS与高血压病和动脉粥样硬化形成等血管性疾病密切相关,是血管性疾病的危险因素^[9]。可见,NCF1与高血压病、动脉粥样硬化形成和缺血性脑卒中等血管性疾病和糖尿病密切相关。若编码NAD(P)H氧化酶亚单位的基因多态性或基因突变使ROS生成增加,就可通过直接氧化作用和间接作为第二信使参与信号转导加速动脉粥样硬化形成、高血压病和糖尿病的发生与发展,从而使其对脑卒中的易感性增加。NCF1基因编码区第10外显子的C923T(Ala308Val,丙氨酸166缬氨酸)多态性与ROS的产生密切相关^[2]。目前对该多态位点与脑出血关系的研究国内外尚未见报道。本研究探讨NCF1基因第10外显子C923T(Ala308Val)多态性与长沙市汉族人群脑出血的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

1.1.1 脑出血组

无血缘关系的脑出血患者110例,祖籍均为中国湖南省长沙市,均为汉族,为中南大学湘雅医院和湖南省脑科医院神经内科2006年1月至2008年12月住院和门诊病人。所有病例均符合1995年全国第4次脑血管疾病学术会议修订的诊断标准^[10],经头颅CT或MRI确诊。不包括心源性、动脉炎、外伤、血液病、药物、肿瘤、脑血管畸形或动脉瘤等引起的脑出血;排除患有严重肝肾疾病、甲状腺疾病、血液病和最近3个月服用雌激素患者,近2周均未服

用降血脂药和抗凝药。其中男59例,女51例,年龄28~82(58.13±14.22)岁,散发性脑出血组(NFCH)及有家族史的脑出血组(FCH)患者分别为74例和36例;有高血压的脑出血组(HBP+CH)及无高血压的脑出血组(非HBP+CH)分别为79例和31例;有糖尿病的脑出血组(DM+CH)及无糖尿病的脑出血组(非DM+CH)分别为9例和101例。

1.1.2 脑出血家系组

脑出血家系定义为先证者一级亲属中至少有1人为脑出血患者。共收集以脑出血为主的家族聚集现象的家系10个,家系基本分布在中国湖南省长沙市,先证者为上述医院同期住院和门诊病人,10个以脑出血为主的家系共包括成员110例,祖籍均为中国湖南省长沙市,均为汉族,其中男60例,女50例,年龄16~79(44.13±11.37)岁,脑出血患者74例,未患者36例。

1.1.3 正常对照组

无血缘关系的正常健康人共100例,祖籍均为中国湖南省长沙市,均为汉族,其中男54例,女46例,年龄18~75(57.31±13.33)岁,为上述医院同期健康体检人员,无脑卒中家族史,无肝、肾、血液病、自身免疫性疾病和甲状腺病史。

1.2 试剂

TaqDNA聚合酶(5 U/μL),10 mmol/L dNTPs(dATP, dCTP, dGTP, dTTP),25 mmol/L MgCl₂,Marker购自晶美生物公司;引物购自上海英骏公司;10×PCR缓冲液,琼脂糖丙烯酰胺(N,N'-亚甲双丙烯酰胺),SDS,蛋白酶K购自北京鼎国生物公司;血清脂蛋白a(LPa)测定试剂盒,LPa标准品购自解放军检测中心;载脂蛋白A(apoA),载脂蛋白B(apoB),低密度脂蛋白胆固醇(LDL-ch)及高密度脂蛋白胆固醇(HDL-ch)试剂盒购自英国Randox公司;甘油三酯(TG)试剂盒购自德国Centronic GmbH公司。

1.3 方法

1.3.1 人基因组DNA样品的制备

抽取外周静脉血4 mL,肝素抗凝,用常规酚/氯仿抽提法提取DNA,并在4℃冰箱保存备用。

1.3.2 NCF1基因型检测

扩增NCF1基因第10外显子的引物经Primer Premier 5软件设计,并进行同源分析(BLAST)确定其特异性高,引物序列为:上游5'-CAAGGGTCCT-TGTCGTGA-3';下游5'-TCTACGGCTTGCCCTTCCT-3',扩增片段352 bp。反应在PE4800型PCR仪(美

国 PE 公司)上进行,反应条件为:95 ℃ 预变性 3 min,94 ℃ 变性 45 s,65.8 ℃ 复性 30 s,72 ℃ 延伸 1 min,30 个循环后,72 ℃ 充分延伸 10 min。

单链构象多态(single strand conformation polymorphism,SSCP)分析:取 4 μL PCR 产物经 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测产物,如特异性好,则将 PCR 产物加等量 2 × 变性载样液,混合后 99 ℃ 变性 10 min,然后立即置冰上 5 min,取 8 μL 上样于含 5% 甘油的中性聚丙烯酰胺凝胶中,180 V,4 ℃ 电泳 12 h,电泳结束后采用银染法染色并拍照。选取中性聚丙烯酰胺凝胶电泳中有异常泳带的阳性样本进行正反双向测序。测序结果在 Genbank 和单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms,SNP)数据库中进行比较分析。

1.4 统计学处理

所有资料在 Dbase 软件中建立数据库,采用 SPSS13.0 统计软件进行分析。等位基因频率 = (2 × 纯合子 + 杂合子)/(2 × 受检人数),基因型频率和等位基因频率的比较用 χ^2 检验或校正方法。按 Hardy-Weinberg 平衡法检验样本的群体代表性。组间血脂比较用 *t* 检验,不同基因型亚组间血脂比较采用 ANOVA 方差分析及 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 脑出血组和对照组的临床特点

脑出血组中有高血压病史、糖尿病病史及冠心病史者的比例高于对照组($P < 0.01$),两者在年龄、性别构成、体质量指数、吸烟及饮酒史上差异无统计学意义($P > 0.05$,表 1)。

表 1 脑出血组和对照组临床资料比较($n = 110$)

Tab. 1 Clinical characteristics of the CH group and control group ($n = 110$)

项目	脑出血组	对照组
年龄/岁	58.1 ± 14.2	57.3 ± 13.3
性别(男/女)	59/51	54/46
体质量指数	24.3 ± 2.6	23.8 ± 2.3
吸烟人数/[No. (%)]	10 (9.1)	7 (7.0)
饮酒人数/[No. (%)]	8 (7.3)	6 (6.0)
高血压病史/[No. (%)]	79 (71.8) $\Delta\Delta$	4 (4.0)
糖尿病病史/[No. (%)]	9 (8.2) $\Delta\Delta$	2 (2.0)
冠心病史/[No. (%)]	19 (17.3) $\Delta\Delta$	3 (3.0)

与对照组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

2.2 NCF1 基因第 10 外显子 C923T(Ala308Val)多态性分析

PCR-SSCP 分析显示:NCF1 基因第 10 外显子有 3 种不同的电泳图谱,经测序后证实为 C923T(Ala308Val),分别为 CC(Ala/Ala),CT(Ala/Val),TT(Val/Val)3 种基因型(图 1~3)。

2.3 湖南省长沙市汉族人群的 NCF1 基因 C923T(Ala308Val)多态分布

脑出血组及对照组基因型及等位基因频率分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡检验($P > 0.05$);脑出血组及不同亚型组与对照组 C923T(Ala308Val)多态基因频率分布比较,差异无统计学意义($P > 0.05$,表 2);脑出血家系组中患病组和未患病组及脑出血组的 C923T 多态分布与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$,表 2)。脑出血组和对照组 NCF1 基因 C923T(Ala308Val)多态对血脂、脂蛋白水平的影响,各组间差异无统计学意义($P > 0.05$,表 3)。

表 2 各组 NCF1 基因 10 号外显子 C923T(Ala308Val)多态分布

Tab. 2 Genotype and allele frequencies of C923T(Ala308Val) NCF1 gene polymorphisms in different groups

组别	例数	基因型[No. (%)]		等位基因频率	
		CC	CT + TT	C	T
脑出血组	110	100(90.9)	8 + 2(9.1)	0.946	0.054
HBP + CH 组	79	72(91.1)	7(8.9)	0.949	0.051
非 HBP + CH 组	31	28(90.3)	3(9.7)	0.952	0.048
DM + CH 组	9	8(88.9)	1(11.1)	0.944	0.056
非 DM + CH 组	101	91(91.1)	10(8.9)	0.950	0.050
脑出血家系组	110	102(90.9)	4 + 4(9.1)	0.945	0.055
患病组	74	69(93.2)	2 + 3(6.8)	0.946	0.054
未患病组	36	33(91.7)	2 + 1(13.9)	0.944	0.056
对照组	100	91(91.0)	7 + 2(9.0)	0.945	0.055

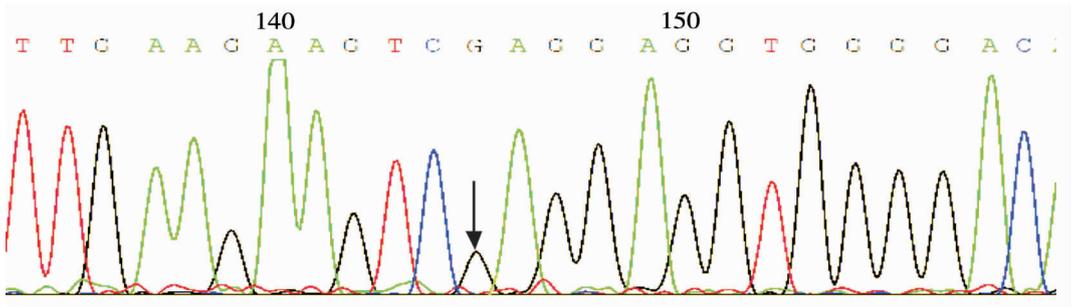


图1 C923T(Ala308Val) CC 基因型反向测序图(箭头所指)。

Fig. 1 Map of the reverse sequence of C923T(Ala308Val) CC genotype (Arrow shows).

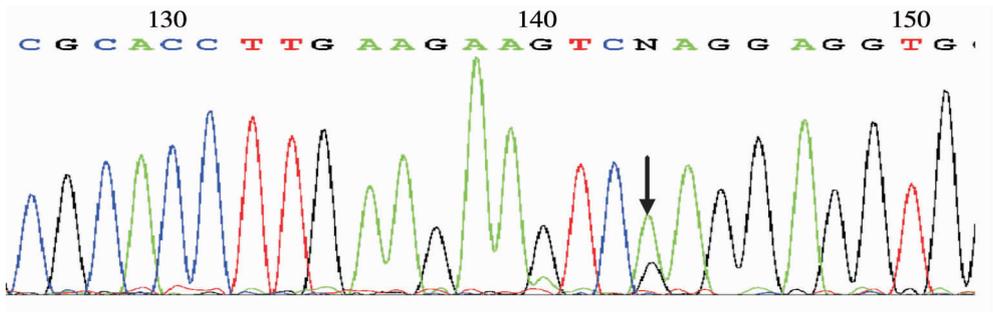


图2 C923T(Ala308Val) CT 基因型反向测序图(箭头所指)。

Fig. 2 Map of the reverse sequence of C923T(Ala308Val) CT genotype (Arrow shows).

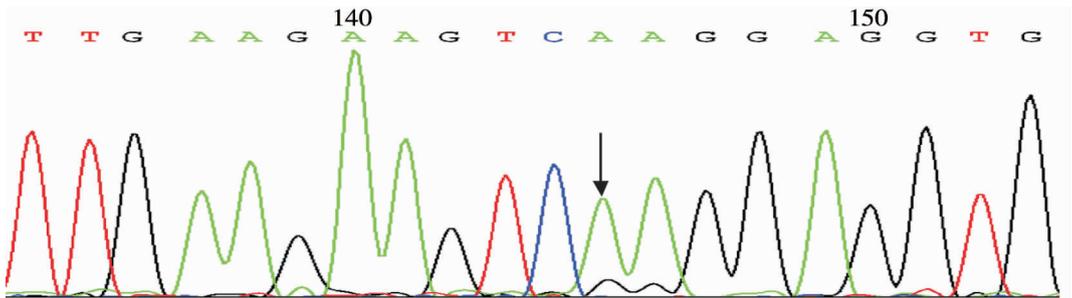


图3 C923T(Ala308Val) TT 基因型反向测序图(箭头所指)。

Fig. 3 Map of the reverse sequence of C923T(Ala308Val) TT genotype (Arrow shows).

表3 脑出血组和对照组 *NCF1* 基因 10 号外显子 C923T (Ala308Val) 多态不同等位基因对血脂和脂蛋白水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Effect of the different genotypes of C923T(Ala308Val) polymorphism on plasma lipid levels in the CH group and the control group ($\bar{x} \pm s$)

组别	基因型 (例数)	TC/ (mmol/L)	TG/ (mmol/L)	HDL-ch/ (mmol/L)	LDL-ch/ (mmol/L)	ApoA/ (g/L)	ApoB100/ (g/L)	LPa/ (g/L)
脑出血组	CC(100)	4.45 ± 0.75	1.45 ± 0.63	1.16 ± 0.38	2.48 ± 0.92	1.03 ± 0.46	0.95 ± 0.30	0.23 ± 0.16
	CT 或 TT(10)	4.53 ± 1.21	1.66 ± 0.87	1.08 ± 0.40	2.59 ± 0.57	1.13 ± 0.51	1.09 ± 0.41	0.31 ± 0.18
	合计(110)	4.48 ± 1.03	1.58 ± 0.76	1.14 ± 0.35	2.53 ± 0.92	1.07 ± 0.21	0.99 ± 0.35	0.26 ± 0.27
对照组	CC(91)	4.28 ± 0.91	1.05 ± 0.63	1.26 ± 0.47	2.24 ± 0.59	0.97 ± 0.43	0.94 ± 0.36	0.18 ± 0.11
	CT 或 TT(9)	4.28 ± 0.92	1.42 ± 0.61	1.21 ± 0.44	2.33 ± 0.73	1.06 ± 0.30	1.03 ± 0.49	0.25 ± 0.14
	合计(100)	4.30 ± 0.85	1.26 ± 0.54	1.23 ± 0.32	2.26 ± 0.73	0.99 ± 0.28	0.97 ± 0.21	0.21 ± 0.13

3 讨 论

Cai 等^[11]用敲除了血管平滑肌细胞(vascular smoothmuscle cell, VSMC)和血管内皮细胞(endothelial cell, EC)的 *NCF1* 基因缺失(*NCF1*^{-/-})大鼠,分别用压力、血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)和血管紧张素 II 诱导 ROS 的产生,发现 ROS 的产生明显减小,同样用抗-NCF1 抗体能抑制 VSMC 的超氧阴离子的产生,说明 NCF1 是 NAD(P)H 氧化酶产生 ROS 的主要功能成分^[12]。NCF1 在 ROS 产生过程中的功能与 PX 区和 2 个 SH-3 区密切相关,而第 10 号外显子是编码 PX 区和 2 个 SH-3 区的外显子之一,C923T(Ala308Val)多态是第 10 号外显子的一个多态位点^[13]。本研究发现:在中国湖南省长沙市汉族正常人群 *NCF1* 基因 C923T(Ala308Val)多态位点有 CC, CT, TT 3 种基因型, C 等位基因频率为 0.945, T 等位基因频率为 0.055。目前,此多态位点在不同人种的分布情况国内外尚未见报道。脑出血组与正常对照人群 C923T 多态的基因型和等位基因频率分布差异无统计学意义($P > 0.05$)。将脑出血组根据脑出血亚型和合并的危险因素进行分类后再比较,未发现某种类型的脑出血组与对照组差异有统计学意义($P > 0.05$)。在脑出血家系组中,患病组和未患病组的 C923T 多态分布与脑出血组、正常对照人群相比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),以上结果提示 *NCF1* 基因 C923T 多态可能与脑出血易患性无相关性。

近年来的研究表明:血管壁的 ROS 能引起低密度脂蛋白(LDL)的氧化修饰,产生氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL), ox-LDL 能导致泡沫细胞的形成和发展,并能促进胆固醇在细胞内的聚集^[14];过量的 ROS 在脂质过氧化过程中产生的 H₂O₂ 可直接损伤内皮细胞,增加中性粒细胞的黏附性,增加血小板聚集的敏感性,引起动脉粥样硬化或促进损伤过程。可见,ROS 是高脂血症和动脉粥样硬化发生发展的主要诱因之一^[15]。血管壁的 ROS 的主要来源是 NAD(P)H 氧化酶系统,因此, NAD(P)H 氧化酶 NCF1 与高脂血症和动脉粥样硬化发生发展密切相关。Oliveira 等^[16]研究证实 NAD(P)H 氧化酶与血脂代谢密切相关。笔者分析长沙市汉族人群 *NCF1* 基因 C923T(Ala308Val)多态位点不同基因型对血脂、脂蛋白水平的影响,发现脑出血组和对照组差异无统计学意义($P < 0.05$),提示长沙市汉族人群 *NCF1* 基因 C923T(Ala308Val)多态可能与血脂代谢

无关。产生上述结果的可能机制是:*NCF1* 基因 10 号外显子 923 位点密码子突变(C→T),发生非同义突变,导致相应的 308 位氨基酸由丙氨酸置换为缬氨酸,引起长沙市汉族人群脑出血患者 NCF1 分子结构发生改变,但对 NAD(P)H 氧化酶的功能及 ROS 产生无影响。因此长沙市汉族人群 *NCF1* 基因 C923T 多态可能与脑出血及血脂代谢易患性无关。这也许与研究的长沙市汉族人群种群有关,但也不排除与本研究的样本量不够大有关,尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] 杨期东,周艳宏,刘云海,等.长沙社区人群脑卒中患者发病的监测研究[J].中华医学杂志,2003,83(4):302-305.
YANG Qidong, ZHOU Yanhong, LIU Yunhai, et al. Surveillance of incidence of cerebral hemorrhage in community population in Changsha [J]. National Medical Journal of China, 2003, 83(4):302-305.
- [2] Catto A J. Genetic aspect of the hemostatic system in Cerebrovascular disease [J]. Neurology, 2001, 57(6):24-30.
- [3] Ogura K, Yuzawa S, Inagaki F, et al. Super-molecular interaction of p47(phox): a regulatory protein of superoxide-producing system in phagocytes [J]. Tanpakushitsu Kakusan Koso, 2005, 50(10 Suppl):1233-1240.
- [4] Ralf P, Francis J, Stefani B, et al. The vascular NADPH oxidase subunit NCF1 is involved in redox-mediated gene expression [J]. Free Radical Bio Med, 2002, 32(11):1116-1122.
- [5] Hagenow K, Gelderman K A, Hultqvist M, et al. Ncf1-associated reduced oxidative burst promotes IL-33R + T cell-mediated adjuvant-free arthritis in mice [J]. J Immunol, 2009, 183(2):874-881.
- [6] Reddy M K, Labhasetwar V. Nanoparticle-mediated delivery of superoxide dismutase to the brain: an effective strategy to reduce ischemia [J]. FASEB J, 2009, 23(5):1384-1395.
- [7] Castier Y, Brandes R P, Leseche G, et al. p47phox-dependent NADPH oxidase regulates flow-induced vascular remodeling [J]. Circ Res, 2005, 97(6):533-540.
- [8] Van Hemelrijck A, Hachimi-Idrissi S, Sarre S, et al. Post-ischaemic mild hypothermia inhibits apoptosis in the penumbral region by reducing neuronal nitric oxide synthase activity and thereby preventing endothelin-1-induced hydroxyl radical formation [J]. Eur J Neurosci, 2005, 22(6):1327-1337.
- [9] 黄晓松,杨期东,郭田生,等. p47phox 基因第 10 外显子多态性与脑卒中的关联及其对血脂的影响 [J]. 中华医学遗传学杂志, 2007, 24(5):524-528.
HUANG Xiaosong, YANG Qidong, GUO Tiansheng, et al. The relation of between the exon 10 of the p47phox polymorphism and stroke and the effect of the polymorphism on plasma lipid [J]. Chinese Journal of Medical Genetics, 2007, 24(5):524-

528.

- [10] 王新德. 各类脑血管病诊断要点[J]. 中华神经科杂志, 1996,29(6):379-380.
WANG Xinde. The highlight diagnosis of cerebrovascular disease[J]. Chin J Neurol,1996,29(6):379-380.
- [11] Cai H, Li Z, Dikalov S, et al. NAD(P)H oxidase-derived hydrogen peroxide mediates endothelial nitric oxide production in response to angiotensin II[J]. J Biol Chem,2002,277(50):48311-48317.
- [12] Shin H K, Kim Y K, Kim K Y, et al. Remnant lipoprotein particles induce apoptosis in endothelial cells by NAD(P)H oxidase-mediated production of superoxide and cytokines via lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 activation: prevention by cilostazol[J]. Circulation,2004,109(8):1022-1028.
- [13] van de Vosse E, van Wengen A, van Geelen J A, et al. A novel mutation in NCF1 in an adult CGD patient with a liver abscess as first presentation[J]. J Hum Genet, 2009,54(6):313-316.
- [14] Myeung J K, Kyung-Sue S H, Young-Bae C H, et al. Immunohistochemical study of p47phox and gp91phox distributions in rat brain[J]. Brain Res,2005,1040:178-186.
- [15] Nakano T, Matsunaga S, Nagata A, et al. NAD(P)H oxidase p22phox gene C242T polymorphism and lipoprotein oxidation[J]. Clin Chim Acta,2003,335(1):101-107.
- [16] Oliveira H C, Cosso R G, Alberici L C, et al. Oxidative stress in atherosclerosis prone mouse is due to low antioxidant capacity of mitochondria[J]. FASEB J,2005,19(2):278-280.

(本文编辑 彭敏宁)

《国际病理科学与临床杂志》

征 稿 启 事

《国际病理科学与临床杂志》是由教育部、中南大学主办的国家级医学学术期刊。原刊名《国外医学·生理、病理科学与临床分册》，更名后，本刊在保持特色，致力于介绍国外医学研究领域的新动态、新技术、新经验的基础上，加强了对国内研究成果和现状的报道。主要栏目有：研究论著、专家论坛、综述、重点实验室、成果报道等。本刊为“中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)”、“中国学术期刊综合评价数据库来源期刊”、“第2届中国高校特色科技期刊”、“第3届中国高校优秀科技期刊”，2009年获“全国高校科技期刊优秀编辑质量奖”。已被美国《化学文摘》(CA)等国内外多家重要数据库和检索系统收录。欢迎投稿，特别欢迎并优先刊发高水平的研究论著。

本刊具有学术水平高、指导性强、信息时效快等特点，已实现“投稿-审稿-编辑”全程网上处理，敬请登陆本刊网站投稿、查询。

网址：<http://www.gjbl.net>

通信地址：湖南省长沙市湘雅路110号湘雅医学院50号信箱

邮政编码：410078

编辑部电话：0731-84805495, 84805496；传真：0731-84804351

E-mail: gwyxxy@vip.163.com, gwyxxy@126.com