

- human fibroblast growth factor - 10 [J]. J Biol Chem, 1997, 272 (37): 23191 - 23194
- 2 Zhang X, Stappenbeck TS, White AC, *et al.* Reciprocal epithelial - mesenchymal FGF signaling is required for cecal development [J]. Development, 2006, 133(1): 173 - 180
- 3 Nie X, Luukko K, Kettunen P. FGF signaling in craniofacial development and developmental disorders [J]. Oral Dis, 2006, 12(2): 102 - 111
- 4 Lombaert I M A, Brunsting J F, Wierenga P K, *et al.* Keratinocyte Growth Factor Prevents Radiation Damage to Salivary Glands by Expansion of the Stem/Progenitor Pool [J]. Stem Cells, 2008, 26: 2595 - 2601
- 5 Brizel DM, Murphy BA, Rosenthal DI, *et al.* Phase II study of paclitaxel and concurrent chemoradiation in head and neck squamous cell carcinoma [J]. J Clin Oncol, 2008, 26(15): 2489 - 2496
- 6 Hérodin F, Grenier N, Drouet M. Revisiting therapeutic strategies in radiation casualties [J]. Exp Hematol, 2007, 35(4 Suppl 1): 28 - 33
- 7 Wang Jinfeng, Cai Xin, Zou Minji, Xu Tao, Liu Shen, Wang Yuanyuan, Wang Jiaxi, Xu Donggang. Construction and characterization of a high activity mutant of human keratinocyte growth factor - 2. Biotechnol Lett, 2009, 31: 797 - 802
- 8 Sung C, Parry TJ, Riccobene TA, *et al.* Pharmacologic and pharmacokinetic profile of repifermin (KGF - 2) in monkeys and comparative pharmacokinetics in humans. AAPS PharmSci, 2002, 4: E8
- 9 Han DS, Li F, Holt L, *et al.* Keratinocyte growth factor - 2 (FGF - 10) promotes healing of experimental small intestinal ulceration in rats. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2000, 279: G1011 - 1022
- 10 Derson R, Gohari - Fritsch S, Olsen H, *et al.* In vitro and in vivo effects of repifermin (keratinocyte growth factor - 2, KGF - 2) on human carcinoma cells. Cancer Chemother Pharmacol, 2002, 50: 202 - 212

(收稿: 2010 - 06 - 10)

环孢素对耐力运动大鼠骨骼肌 Akt 及其下游信号分子影响

廖八根 张 全

摘 要 **目的** 本研究旨在探讨耐力运动时骨骼肌 Akt/mTOR/S6k1/GSK - 3/FoxO1 信号通路变化及钙调神经磷酸酶 (CaN) 抑制剂环孢素 (CSA) 是否影响这些信号分子。**方法** 雄性 SD 大鼠随机分成对照组、运动组和 CSA + 运动组, 6 周实验结束后取比目鱼肌 (SOL) 和趾长伸肌 (EDL), 用 Western blotting 法测基础 P - Akt (Ser⁴⁷³)、p - mTOR (Ser²⁴⁴⁸)、P - S6K1 (Thr³⁸⁹) 和 GSK - 3、FoxO1 蛋白含量, 并用放射性核素法测 GSK - 3 活性。**结果** CSA 不影响耐力运动大鼠 SOL 和 EDL 基础胞质 P - Akt (Ser⁴⁷³)、p - mTOR (Ser²⁴⁴⁸)、P - S6K1 (Thr³⁸⁹) 含量; 耐力运动增加 EDL 胞质 GSK - 3 蛋白含量, 但降低其活性; CSA 不影响耐力运动诱导的 EDL GSK - 3 蛋白含量和活性变化。耐力运动增加 SOL FoxO1 蛋白含量, CSA 进一步增加其胞质含量, 但 CSA 不影响 SOL、EDL 胞核 FoxO1 含量。**结论** 耐力运动可影响骨骼肌静息 GSK - 3 蛋白含量和活性以及 FoxO1 蛋白含量, CSA 进一步增加耐力运动时大鼠 SOL 胞质 FoxO1 蛋白。

关键词 Akt mTOR S6K1 GSK - 3

Effects of Cyclosporin A on Skeletal Muscle Akt and Downstream Signaling Molecules to Exercise. Liao Bagen, Zhang Tong. Department of Sports Medicine, Guangzhou Sports University, Guangdong 510076, China

Abstract Objective To explore the effects of calcineurin inhibitor cyclosporin A (CSA) on skeletal muscle Akt/mTOR/S6k1/GSK - 3/FoxO1 signaling pathway in response to exercise. **Methods** Male SD rats were randomized into 3 groups: control group, exercise group, CSA + exercise group. After experiment, soleus (SOL) and extensor digitorum longus (EDL) muscle were removed for analysis. Basic protein content of P - Akt (Ser⁴⁷³), p - mTOR (Ser²⁴⁴⁸), P - S6K1 (Thr³⁸⁹), GSK - 3, FoxO1 were measured by western blotting and GSK - 3 activity was measured by isotopic method. **Results** CSA did not affect the basic content of P - Akt (Ser⁴⁷³), p - mTOR (Ser²⁴⁴⁸), P - S6K1 (Thr³⁸⁹) in response to exercise in both SOL and EDL. Exercise increased basic GSK - 3 content in EDL, but decreased GSK - 3 activity. CSA did not regulate exercise - induced change of GSK - 3 in EDL. Exercise increased FoxO1 protein content, and CSA furthered to increase it in SOL, but CSA did not affect nuclear FoxO1 protein content in SOL and EDL. **Conclusion** Exercise affects skeletal muscle GSK - 3 protein and activity and FoxO1 protein content, and CSA can further to increase SOL cytosolic FoxO1 protein content.

基金项目: 2008 年广东省自然科学基金资助项目 (R1003251)

作者单位: 510076 广州体育学院运动医学室

Key words Akt; mTOR; S6K1; GSK-3

骨骼肌质量与机体的运动和代谢密切相关,而迄今有关生后骨骼肌大小的调控机制并不明确^[1]。钙调神经磷酸酶(CaN)被认为是参与运动诱导骨骼肌适应的重要信号分子,不仅参与运动诱导的肌纤维转换,而且还可能参与了肌纤维大小的调控。我们前期研究显示,6周CaN抑制剂环孢素(CSA)使耐力运动生长期大鼠比目鱼肌(SOL)I型纤维和趾长伸肌(EDL)各型纤维横断面积缩小,这意味CaN可影响生长期大鼠肌纤维大小^[2]。

一般认为生后骨骼肌大小主要通过两种方式改变,一种是通过肌卫星细胞融入原纤维增加肌核或通过肌核凋亡减少肌核数目进而影响肌纤维大小;另一种是不改变肌核数目,而直接调控肌原纤维蛋白的合成或分解通路进而影响肌纤维大小^[3]。现已知Akt及其下游靶蛋白mTOR(mammalian target of rapamycin)/S6K1(p70 S6 kinase1)、糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β)是调节哺乳动物生后骨骼肌大小、控制肌原纤维蛋白合成的重要信号通路;而Akt/FoxO1是促进蛋白分解的重要信号^[4]。既往研究已表明^[4],Akt/mTOR/S6k1、AKT/GSK-3调控收缩诱导的骨骼肌质量。那么CaN是否可能与Akt/mTOR/S6k1、Akt/GSK-3和Akt/FoxO1信号通路存在联系呢?本研究旨在观察CaN是否影响耐力运动时它们的改变。

材料与方法

1. 实验材料:兔抗磷酸化AKT[P-Akt(Ser⁴⁷³)](sc-7985-R)和羊抗P-S6K1(Thr³⁸⁹)(sc-11759)、兔抗 β -actin(SC-130657)购自Santa Cruz, p-mTOR(Ser2448)(N02971),兔抗FoxO1(#9462)、预染Marker(P7708)购自Cell Signaling;兔抗GSK-3 β 购自Neomarkers;HRP-羊抗兔和HRP-兔抗羊二抗购自Amersham Bioscience;GSK底物肽(Lot#26770)购自UPSTATE;[γ -³²P]ATP购自中国同位素公司。

2. 方法:(1)动物实验方法:实验动物的饲养、跑台训练方法和CSA注射以及取材同我们前面研究^[2]。(2)胞质和胞核蛋白提取:取出冻存的SOL和EDL,用凯基胞质胞核蛋白提取试剂盒提取。用考马斯亮蓝法检测胞质蛋白,并统一调节成5 μ g/ μ l,分装,-80℃保存。(3)Western blotting分析:取出胞质或胞核蛋白样品,加入蛋白质上样缓冲液混匀,样品和预染Marker煮沸5min,各次样品等量上样。用7.5%分离胶进行SDS-PAGE电泳,湿式恒压电转至PVDF膜。转移结束后,PVDF膜用丽春红染色以证实等量上样,剪下相应各带,室温

封闭后加入相应一抗,4℃孵育过夜。洗涤后加入二抗,室温孵育1.5h,Beyo ECL试剂盒放射自显影,数码拍照后Image J重复分析2次。每条带以每个样品的 β -actin校正,并以每快模的正常条带为参照,计算其他各组蛋白相对浓度。(4)胞质GSK-3活性测定:方法参试剂手册,反应总量40 μ l,步骤如下:加入10 μ l反应缓冲液(20mmol/L MOPS,0.2mmol/L EDTA,10mmol/L magnesium acetate,pH 7.0),然后加10 μ l GSK底物肽(终浓度为62.5 μ mol/L),再加入10 μ l胞质样本(用酶稀释液20mmol/L MOPS,1mmol/L EDTA,0.01% Brij-35,5% glycerol,0.1% β -mercaptoethanol,1mg/ml BSA,pH 7.0将样本浓度调至3 μ g/ μ l),最后加入10 μ l [γ -³²P]ATP(浓度1 μ Ci/ μ l)[取1mCi/100 μ l(3000Ci/mmol)加入900 μ l Magnesium/ATP Cocktail(75mmol/L MgCl₂,500 μ mol/L ATP in 20mmol/L MOPS,pH 7.2,25mmol/L β -glycerol phosphate,5mmol/L EGTA,1mmol/L sodium orthovanadate,1mmol/L dithiothreitol)]。反应30℃30min。取出25 μ l置于Whatman P81滤纸上终止反应。用0.75%磷酸溶液洗5次,每次5min。用丙酮洗1次,2min。过夜干燥后,加5ml液闪液,液闪仪计数。GSK活性用样本CPM值除以空白对照CPM值表示。

3. 统计处理:所有数据用SPSS13.0软件进行处理。表数用均数 $\pm$ 标准差表示,图数据用均数 $\pm$ 标准误表示。组间用单因素方差分析,统计有显著意义者($P < 0.05$)进一步用Tukey Post hoc检验两两组间的差异。

结 果

1. 环孢素对耐力运动大鼠骨骼肌p-Akt/p-mTOR/p-S6K1影响:CSA不影响耐力运动时SOL和EDL基础胞质P-Akt(Ser473)、p-mTOR(Ser2448)、P-S6K1(Thr389)含量(图1)。

2. CSA对耐力运动大鼠骨骼肌胞质GSK-3蛋白及其活性的影响:CSA不影响耐力运动时SOL胞质GSK-3蛋白和活性(图1、表1)。CSA不影响耐力运动时EDL胞质增加的GSK-3蛋白和降低的GSK-3活性。

3. CSA对耐力运动大鼠骨骼肌胞质及胞核FoxO1蛋白的影响:耐力运动增加SOL FoxO1蛋白,且CSA进一步增加其胞质含量,但不影响胞核含量(图1)。

讨 论

运动作为刺激骨骼肌表型重塑的重要因素,同时进行耐力和力量训练可干扰单纯耐力或力量训练的效果则表明控制肌纤维转换的信号通路与控制肌纤维大小的信号通路可能存在交互抑制。钙调神经磷

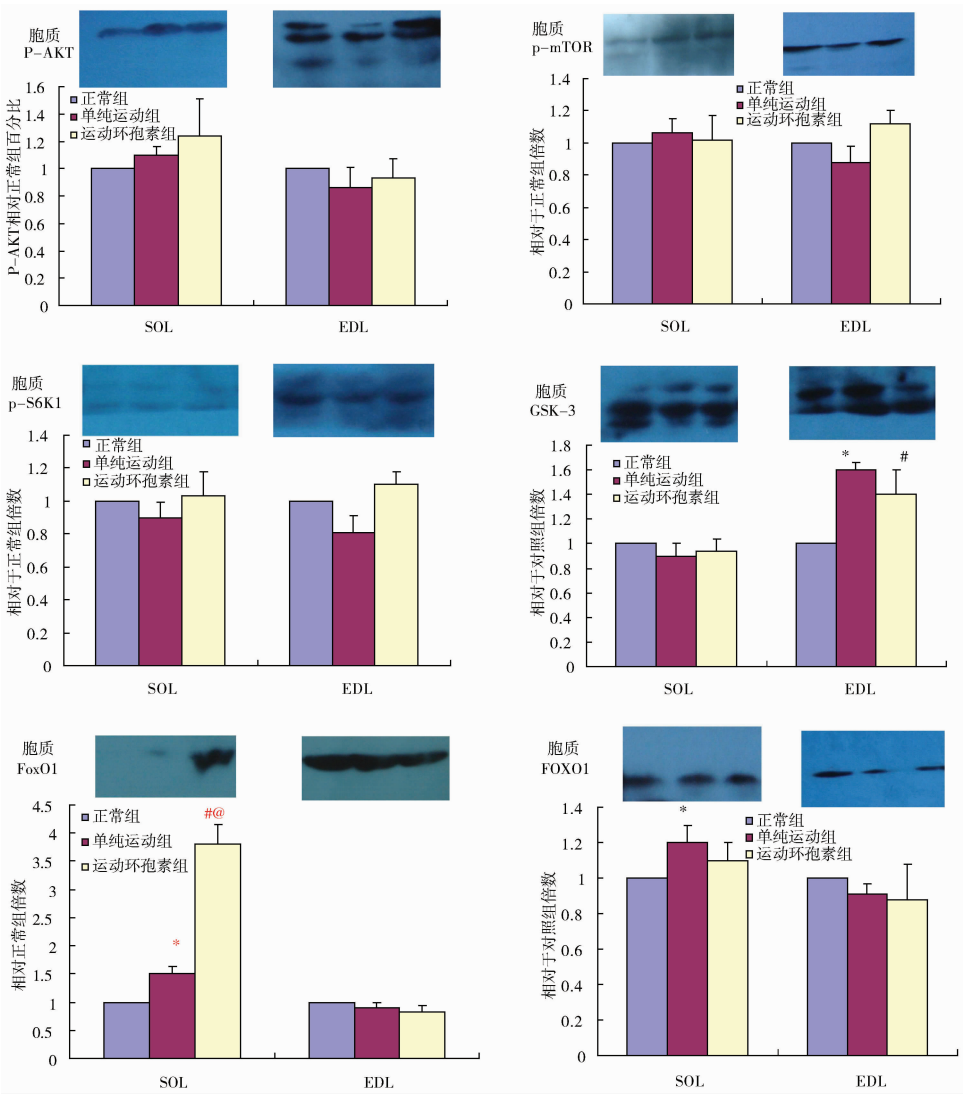


图1 环孢素对耐力运动大鼠骨骼肌 P-Akt(Ser⁴⁷³)/p-mTOR(Ser²⁴⁴⁸)、P-S6K1(Thr³⁸⁹)/GSK3β/FoxO1 蛋白 Western Blotting 分

数据用均数 ± 标准误表示(每组 5~8 个样本)。* 与正常组相比, # 与正常组相比, @ 与单纯运动组相比, $P < 0.05$

表1 环孢素对运动大鼠骨骼肌 GSK-3 蛋白含量及活性的影响

		正常组	单纯运动组	环孢素运动组	F	P
胞质 GSK-3	SOL	19.3 ± 3.0 (n = 5)	20.3 ± 4.5 (n = 4)	21.4 ± 0.3 (n = 4)	0.47	0.64
活性	EDL	37.9 ± 9.8 (n = 5)	26.9 ± 3.8 (n = 5) *	25.7 ± 3.8 (n = 5) *	5.47	0.02

GSK-3 活性用样本 CPM 比空白 CPM 值表示;与正常组相比, * $P < 0.05$

酸酶(CaN)被认为是参与运动诱导骨骼肌适应的重要信号分子,且已明确它是参与运动诱导的肌纤维转换必要的信号分子。对于骨骼肌大小,人们早就注意到慢肌纤维有较小的横断面积/较少的肌原纤维及CaN 较高的活性而较低的含量,快肌纤维则有较大的横断面积/较多的肌原纤维及CaN 较低的活性而较

高的含量,这意味CaN 与肌纤维大小/肌原纤维含量可能存在某种联系。体外研究显示^[1],CaN 参与了IGF-1 诱导的肌细胞肥大,在体研究显示^[1],CaN 抑制剂环孢素A 或FK-56 可抑制功能性负荷过载时跖肌的纤维转换和肥大,环孢素A 使正常大鼠比目鱼肌尤其是I 型纤维萎缩,然而骨骼肌肥大时CaN

活性并不增加,转基因过度表达 CaN 或过度表达 CaN 内源性抑制剂及 CaN 敲除小鼠结果显示不影响骨骼肌生长、IGF - 1 或功能性负荷过载诱导的骨骼肌肥大。Talmadge 等研究显示^[1], MCK - CaN (45KD) 高活性表达小鼠比目鱼肌质量增加,胫前肌降低。我们前期研究显示^[2], 6 周 CaN 抑制剂环孢素 (CSA) 使耐力运动生长期大鼠比目鱼肌 (SOL) I 型纤维和趾长伸肌 (EDL) 各型纤维缩小,这意味 CaN 可影响生长期大鼠肌纤维大小。已有研究表明^[3], CaN 可影响肌卫星细胞的分化和融合从而影响肌核数目,但研究同时显示肌核不变情况下,CSA 也阻碍快肌损伤后的恢复生长。

Akt 是胰岛素/胰岛素样生长因子的下游信号分子,参与骨骼肌代谢、生长和肥大。AktSer⁴⁷³ 磷酸化位点是 Akt 激活的两个磷酸化位点之一(另一个为 AktThr308)。Akt 通过激活 mTOR/S6K1,参与骨骼肌生长、蛋白合成和纤维大小的调节。mTOR 有众多的磷酸化位点,其中 Thr²⁴⁴⁶ 位点磷酸化被认为是抑制其功能,而 Ser²⁴⁴⁸ 位点磷酸化则与其活性正相关^[5]。对于 S6K1,同样有众多的磷酸化位点,其中 Thr³⁸⁹ 位点的磷酸化被认为可作为 S6K1 活性的指标,同时也被认为是在体 mTOR 活性的可靠指征^[6]。研究表明^[3,7],在体骨骼肌过度表达有活性的 Akt 不影响骨骼肌 I 型肌纤维比例却导致骨骼肌细胞数量和纤维横断面积增加;mTOR/S6K1 被认为对于正常骨骼肌生长、肥大是必需的,不过 S6K1 促进肌肉肥大,并不影响肌纤维数量。既往研究显示^[5,6],功能性过载、抗阻训练可使骨骼肌纤维肥大,肌原纤维蛋白合成增加,且 Akt/mTOR/S6K1 激活,而耐力运动则使慢肌骨骼肌肥大或不变,快肌则缩小或不变,线粒体蛋白合成增加,而肌原纤维蛋白合成不变^[8,9,15]。

急性耐力运动后可使快肌为主的骨骼肌数小时内蛋白合成减少,虽然 Akt 活性可升高,但并不伴 mTOR/S6k1 活性改变,Macher 等^[10] 研究显示人体大腿急性耐力运动后恢复期 P - Akt (Ser⁴⁷³)/P - mTOR (Ser²⁴⁴⁸)/P - S6K1 (Ser⁴⁷³/Thr⁴²¹) 增加,而 P - S6K1 (Thr³⁸⁹) 却不变。最近 Wilkinson 等研究显示^[15],人体 10 周的耐力运动使骨骼肌线粒体蛋白合成增加,但不影响肌原纤维蛋白合成,Akt/mTOR/S6K1 磷酸化也无改变。我们前期的研究显示^[2],耐力运动升高 EDL 基础 CaN 活性,I 型纤维横断面积增加(差异无显著性),而耐力运动时用 CSA 抑制 CaN 活性后 SOL I 型纤维和 EDL 各型纤维缩小。本研究则进一

步显示耐力运动并不影响大鼠骨骼肌基础磷酸化 Akt/mTOR/S6K1 含量,而运动时用 CSA 也不影响 SOL 和 EDL 这些信号分子的磷酸化改变。这与既往研究显示^[11], CSA 并不影响骨骼肌牵伸等刺激时 AKT/mTOR/S6k1 活性一致。这意味耐力运动用 CSA 后肌纤维大小改变并不是通过该信号通路。GSK - 3 作为 Akt 下游信号分子,可被其磷酸化而失活。它不仅参与调节糖原合成、损害胰岛素信号,而且调节凋亡,负性调节蛋白合成。既往研究大鼠急性跑台运动后骨骼肌 GSK - 3 β (Ser9) 磷酸化显著增加,活性显著下降^[12]。本研究结果显示慢性耐力运动后 EDL 基础胞质 GSK - 3 蛋白含量增加,但活性下降,这意味此时 GSK - 3 磷酸化明显增加,而 GSK - 3 活性下降显然有助于趾长伸肌糖原的增加、线粒体等蛋白质合成,改善其有氧能力。本研究进一步研究显示 CSA 也不影响耐力运动诱导的 GSK - 3 蛋白含量和活性改变,这说明 CaN 不调节 GSK - 3。FoxO 是 Akt 另一下游信号分子,可被磷酸化而降低胞核含量。在核内它作为一核转录因子调控细胞代谢、增生和分化,同时它通过调控 MAFbx 和 MURF 两个肌肉特异性泛素酶参与肌原纤维降解。本研究发现慢性耐力运动增加 SOL FoxO1 胞质和胞核含量,且 CSA 增加慢性耐力运动时 SOL 基础胞质 FoxO1 蛋白含量,但却不影响其胞核含量;另外无坡度耐力运动时 EDL 静息 CaN 活性增加,其 FoxO1 胞质和胞核含量并无改变,这些提示 CaN 不调节耐力运动时 FoxO1 活性,因而用 CSA 后耐力运动肌纤维缩小与 FoxO1 信号可能也不相关^[2]。至于 CSA 增加运动时 SOL 基础胞质 FoxO1 蛋白含量原因可能与 CSA 直接抑制泛素蛋白酶体活性有关,而 FoxOs 蛋白可通过泛素化后被泛素蛋白酶体降解,因此 CSA 增加耐力运动时 SOL FoxO1 蛋白含量很可能是由于其降解减少所致,而并不是通过抑制钙调神经磷酸酶所致。

总之本研究表明耐力运动可影响骨骼肌静息 GSK - 3 蛋白含量和活性,但 CSA 并不影响耐力运动时骨骼肌 Akt 及其下游信号,这提示生长期大鼠耐力运动时用 CSA 后肌纤维缩小与 Akt 及其下游信号无关。另外本研究发现慢性耐力运动增加而不是减低 SOL FoxO1 胞核含量,似乎是矛盾的,其作用有待进一步澄清。

参考文献

- 1 Tidball JG. Mechanical signal transduction in skeletal muscle growth and adaptation. J Appl Physiol, 2005, 98(5): 1900 - 1908

- 2 廖八根,徐勇,薛耀明. 钙调神经磷酸酶在耐力运动大鼠骨骼肌纤维类型和大小转变中的作用. 中国运动医学杂志,2008,27(5): 551-555
- 3 Mitchell PO, Mills ST, Pavlath GK. Calcineurin differentially regulates maintenance and growth of phenotypically distinct muscles. . Am J Physiol Cell Physiol, 2002,282:C984-992
- 4 Rasmussen BB and Richter EA. The balancing act between the cellular processes of protein synthesis and breakdown: exercise as a model to understand the molecular mechanisms regulating muscle mass. J Appl Physiol, 2009,106(4): 1365-1366
- 5 Kimball SR. Interaction between the AMP-activated protein kinase and mTOR signaling pathways. Medicine & Science in Sports & Exercise, 2006, 38(11): 1958-1964
- 6 Leger B, Cartoni R, Praz M, Lamon S, Deriaz O. Akt signaling through GSK-3 β , mTOR and Foxo1 is involved in human skeletal muscle hypertrophy and atrophy. J Physiol, 2006,576: 923-933
- 7 Cho H, Mu J, Kim JK, *et al.* Insulin resistance and a diabetes mellitus-like syndrome in mice lacking the protein kinase Akt2 (PKB β). Science,2001, 292(5522): 1728-1731
- 8 Konhilas JP, Widegren U, Allen DL, *et al.* Loaded wheel running and muscle adaptation in the mouse. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005,289(2): H455-H465
- 9 Fuller PM, Baldwin KM, and Fuller CA. Parallel and divergent adaptations of rat soleus and plantaris to chronic exercise and hypergravity. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol,2006, 290(2): R442-R448
- 10 Mascher H, Andersson H, Nilsson PA, *et al.* Changes in signaling pathways regulating protein synthesis in human muscle in the recovery period after endurance exercise. Acta Physiologica, 2007,191(1):67-75
- 11 Aoki MS, Miyabara EH, Soares AG, Saito ET, Moriscot AS. mTOR pathway inhibition attenuates skeletal muscle growth induced by stretching. Cell Tissue Res,2006,324(1):149-156
- 12 Aschenbach WG, Ho RC, Sakamoto K, *et al.* Regulation of dishevelled and β -catenin in rat skeletal muscle: an alternative exercise-induced GSK-3 β signaling pathway. Am J Physiol Endocrinol Metab,2006,291(1):E152-158
- 13 Rose AJ, Alsted TJ, Jensen TE, *et al.* A Ca^{2+} -calmodulin-eEF2K-eEF2 signaling cascade, but not AMPK, contributes to the suppression of skeletal muscle protein synthesis during contractions. J Physiol,2009, 587(7): 1547-1563
- 14 Goll DE, Neti G, Mares SW, *et al.* Myofibrillar protein turnover: the proteasome and the calpains. J Anim Sci, 2008,86(14Suppl):E19-35
- 15 Wilkinson SB, Phillips SM. Atherton, PJ, *et al.* Differential effects of resistance and endurance exercise in the fed state on signaling molecule phosphorylation and protein synthesis in human muscle. J Physiol, 2008, 586(15): 3701-3717

(收稿:2010-06-29)

肺癌患者血清 DKK1、CYFRA21-1、SCC、NSE 水平及临床意义

孙红岗 董学君 李志国 杨超 卢韬

摘要 **目的** 探讨肺癌患者血清 DKK1、CYFRA21-1、SCC、NSE 水平及其临床应用价值。**方法** 病理确诊的肺部肿瘤患者 80 例(肺癌 70 例,肺部良性肿块病例 10 例),健康体检人员 10 例。用 ELISA 试剂盒检测血清标本中 DKK1 浓度,免疫化学发光法测血清 CYFRA21-1、SCC、NSE 浓度。计数资料采用 χ^2 检验,组间均数比较采用 *t* 检验,ROC 曲线评价各指标联合应用的效果。**结果** 与正常对照组比较,非小细胞肺癌、小细胞癌中 DKK1 浓度升高,具有统计学意义($P < 0.05$),而肺部良性肿块组与正常对照组间无意义($P > 0.05$)。肺癌转移组血清 DKK1 浓度明显高于未转移组,二者有显著意义($P < 0.05$)。肺癌患者术后血清 DKK1 浓度比术前下降明显($P < 0.05$)。血清 DKK1 与 CYFRA21-1、SCC、NSE 联合诊断,可明显提高非小细胞肺癌诊断的敏感性与特异性。**结论** DKK1、CYFRA21-1、SCC、NSE 联合诊断对肺癌诊断的价值更高;血清 DKK1 是肺癌诊断、转移及治疗效果评价的有效指标。

关键词 肺癌 DKK1 联合诊断 预后

基金项目:浙江省医药卫生科学研究基金资助项目(2009A208);绍兴市科技计划项目(2009A23005)

作者单位:325035 温州医学院(孙红岗、李志国、杨超、卢韬);312000 浙江省绍兴市人民医院分子医学中心(孙红岗、董学君)

通讯作者:董学君,电子信箱:dxj9666@163.com