

论著·临床研究

长链非编码 RNA Linc00152、H19、ROR 在食管癌患者中的表达及临床意义

杨永

(盐城市第二人民医院,江苏盐城 224000)

摘要:目的 探究长链非编码 RNA(lncRNA) Linc00152、H19、ROR 对食管癌的诊断价值,以及三者与食管癌临床病理特征的关系。**方法** 选取 2016 年 10 月至 2017 年 12 月在该院确诊的食管癌患者 185 例(病例组),以及同期在该院行健康体检的健康人群 200 例(对照组)作为研究对象。采用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)法检测受试者外周血中 lncRNA Linc00152、H19、ROR 水平。分析三者在鉴别诊断食管癌中的临床价值及其与食管癌临床病理特征的关系。**结果** 病例组患者的血浆 lncRNA Linc00152、H19、ROR 表达水平显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。血浆 lncRNA Linc00152 联合 lncRNA H19、lncRNA ROR 在区分食管癌与对照组的曲线下面积(AUC)为 0.977(95%CI: 0.902~0.998, $P < 0.001$),灵敏度为 90.6%,特异度为 83.3%。食管癌患者的血浆 lncRNA Linc00152、H19、ROR 表达水平与肿瘤 TNM 分期、组织学类型、肿瘤分化程度等显著相关($P < 0.05$),而与患者性别、年龄、肿瘤部位等因素无关($P > 0.05$)。多因素分析显示,血浆高 lncRNA H19、lncRNA ROR 水平是食管癌发病的独立危险因素。**结论** lncRNA Linc00152、H19、ROR 对食管癌具有诊断价值,且与食管癌的 TNM 分期、组织学类型、分化程度显著相关。血浆 lncRNA H19、lncRNA ROR 对预测食管癌发病风险具有潜在的应用价值。

关键词:食管癌; 长链非编码 RNA; Linc00152; H19; ROR

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.02.026

中图法分类号:R735.1

文章编号:1673-4130(2019)02-0226-05

文献标识码:A

Expression and clinical significance of long non-coding RNA Linc00152, H19 and ROR in patients with esophageal cancer

YANG Yong

(The Second People's Hospital of Yancheng, Yancheng, Jiangsu 224000, China)

Abstract: Objective To explore the diagnostic values of long non-coding RNA (lncRNA) Linc00152, H19 and ROR in esophageal cancer, and to investigate the relationship between the three and the clinicopathological features of esophageal cancer. **Methods** Totally 185 cases of esophageal cancer diagnosed (case group) in our hospital from October 2016 to December 2017, and 200 healthy controls (control group) were recruited during the same period. The levels of lncRNA Linc00152, H19 and ROR in the peripheral blood of subjects were detected by real-time quantitative PCR (RT-qPCR). The diagnostic values of plasma lncRNA Linc00152, H19 and ROR expression in esophageal cancer and the relationship between them and the clinical and pathological features of esophageal cancer were analyzed. **Results** The levels of plasma lncRNA Linc00152, H19 and ROR in case group were higher than those in control group, and the difference were statistically significant ($P < 0.05$). When combined detection with plasma lncRNA Linc00152, H19, and ROR, the area under the curve (AUC) to distinguish esophageal cancer and healthy subjects was 0.977 (95%CI: 0.902~0.998, $P < 0.001$), and the sensitivity was 90.6%, specificity was 83.3%. In addition, the expressions of lncRNA Linc00152, H19, and ROR in plasma of patients with esophageal cancer were significantly correlated with TNM stage, histology classification and differentiation degree of tumor ($P < 0.05$), but were not related to gender, age, and tumor sites ($P > 0.05$). Multivariate analysis showed that plasma lncRNA H19 and ROR levels were both independent risk factors for esophageal cancer, which is of guiding significances for predicting the risk of esophageal cancer. **Conclusion** LncRNA Linc00152, H19 and ROR have diagnostic values for esophageal cancer, and are significantly correlated with the differentiation degree, histology classification, and TNM stage of esophageal cancer.

作者简介:杨永,男,副主任技师,主要从事临床检验研究。

本文引用格式:杨永.长链非编码 RNA Linc00152、H19、ROR 在食管癌患者中的表达及临床意义[J].国际检验医学杂志,2019,40(2):226-229.

geal carcinoma. Plasma lncRNA H19 and ROR have potential application value in predicting the risk of esophageal cancer.

Key words: esophageal cancer; long non-coding RNA; Linc00152; H19; ROR

食管癌是全球发病率较高且预后较差的肿瘤之一。我国是食管癌高发国家,部分地区的发病率高达 29.81/10 万^[1]。近年来随着人们饮食习惯的改变,我国部分省市食管癌的发病率呈上升趋势,对人类健康构成了巨大的威胁^[2]。尽管食管癌的诊断和治疗已有较大进展,但其预后仍不尽如人意,这很大程度上是由于缺少可靠易行的早期筛查手段^[3]。近年研究发现,长链非编码 RNA(lncRNA)与食管癌的发生、发展及转移密切相关^[4]。lncRNA 是一类长约 200 nt 的非编码 RNA,通过表观遗传调控参与各种生理病理过程,已被证实在胃癌、结直肠癌、肝癌等消化系统肿瘤中具有较大诊断价值^[5-7]。本研究通过比较食管癌患者与健康人群的血浆 lncRNA Linc00152、H19、ROR 水平,旨在探究三者对食管癌的诊断价值,并分析三者与食管癌分化程度、TNM 分期的相关性,以期为食管癌的临床诊疗提供新思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 10 月至 2017 年 12 月在本院确诊为食管癌的患者 185 例作为病例组,包括男 128 例,女 57 例,平均年龄(54±4)岁;均为首次住院且经内镜组织学检查确诊为食管癌;根据病理学资料判断食管癌的分化程度,食管癌分期根据临床表现、影像学检查及内镜下表现等划分。其中上段食管癌 35 例,中段食管癌 98 例,下段食管癌 52 例;早期食管癌患者 36 例,中晚期患者 149 例;鳞癌 163 例,腺癌 15 例,腺鳞癌 7 例;高分化癌 57 例,中分化癌 105 例,低分化癌 23 例。对照组为同期在本院行健康体检的健康人群 200 例,包括男 142 例,女 58 例,平均年龄(52±3)岁。由专业研究人员对受试者性别、年龄、吸烟史、饮酒史等基本信息进行记录。所有研究对象均排除其他系统恶性肿瘤、糖尿病、严重的心脑血管疾病及自身免疫性疾病。本研究的开展经医院伦理委员会批准,所有纳入对象均签署项目知情同意书。

1.2 方法 受试者在入院当天由专业医护人员使用

乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝采血管抽取静脉血 10 mL,采用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)法检测血浆 lncRNA Linc00152、H19、ROR 及内参基因 GAPDH 表达水平。引物序列如下:Linc00152 上游引物 5'-AGT GTG TCA TAG AGC TTC CTG TTT CAT CTC CCA GT-3',下游引物 5'-TGG AAC CAG GCC CCA GGG AAT CTT TCA GCT GCA TT-3';H19 上游引物 5'-TAC AAC CAC TGC ACT ACC TG-3',下游引物 5'-TGG AAT GCT TGA AGG CTG CT-3';ROR 上游引物 5'-CGA ACG AGA GGA CCG AAG-3',下游引物 5'-GCC AAG TTC TAG ATA AGC-3';GAPDH 上游引物 5'-GGG AGC CAA AAG GGT CAT-3',下游引物 5'-GAG TCC TTC CAC GAT ACC AA-3';采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 lncRNA Linc00152、H19、ROR 的相对表达量,ΔCt 值=样本 Ct 值-GAPDH Ct 值。

1.3 统计学处理 应用 SPSS20.0 软件进行数据统计分析。对于正态分布和偏态分布的计量资料,分别以 $\bar{x} \pm s$ 和 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示。呈正态分布的计量资料两组间比较采用独立样本 t 检验,呈偏态分布的计量资料两组间比较则应用 Mann-Whitney U 检验。计数资料以率或构成比表示,组间比较采用 χ^2 检验。应用 logistic 回归分析计算 lncRNA Linc00152、H19、ROR 预测食管癌的比值比(OR)和 95%CI。应用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)计算 lncRNA Linc00152、H19、ROR 判别食管癌患者的曲线下面积(AUC)及 95%CI,同时计算灵敏度和特异度。检验水准为 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组基本资料及血浆 lncRNA Linc00152、H19、ROR 表达水平比较 两组在性别组成、年龄、吸烟史、饮酒史等方面比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。与对照组比较,病例组血浆 lncRNA Linc00152、H19、ROR 表达水平显著升高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组基本资料及血浆 lncRNA Linc00152、H19、ROR 表达水平比较

项目	病例组($n=185$)	对照组($n=200$)	t/χ^2	P
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)	54.0±4.0	52.0±3.0	1.003	0.733
男性[$n(%)$]	128(69.2)	142(71.0)	2.107	0.624
吸烟史[$n(%)$]	87(47.0)	91(45.5)	1.602	0.544
饮酒史[$n(%)$]	113(61.1)	122(61.0)	0.376	0.742
lncRNA Linc00152($\bar{x} \pm s$, $-lg$)	3.96±0.24	2.51±0.21	3.849	0.013
lncRNA H19($\bar{x} \pm s$, $-lg$)	12.77±0.20	5.73±0.19	4.452	<0.001
lncRNA ROR($\bar{x} \pm s$, $-lg$)	1.82±0.33	1.01±0.14	4.886	0.023

2.2 血浆 lncRNA Linc00152、H19、ROR 表达水平与食管癌患者临床特征的关系 血浆 lncRNA Linc00152、H19、ROR 表达水平与食管癌患者的年龄、性别、吸烟史、饮酒史、肿瘤部位等因素均无显著相关性($P>0.05$),而与食管癌的分期、分化程度及组

织学类型显著相关($P<0.05$)。血浆 lncRNA Linc00152、H19、ROR 表达水平在中晚期食管癌、食管腺鳞癌与低分化食管癌患者中的升高最为显著。见表 2。

表 2 血浆 lncRNA Linc00152、H19、ROR 水平与食管癌患者临床特征的关系

指标	n	lncRNA Linc00152(-lg)			lncRNA H19(-lg)			lncRNA ROR(-lg)		
		$\bar{x}\pm s$	t/F	P	$\bar{x}\pm s$	t/F	P	$\bar{x}\pm s$	t/F	P
年龄		$-1.682 \quad 0.301$			$-0.243 \quad 0.225$			$-2.101 \quad 0.266$		
<45岁	81	3.89±0.32			12.08±0.24			1.80±0.42		
≥45岁	104	4.02±0.13			13.16±0.18			1.85±0.24		
性别		2.308	0.243		1.375	0.236		-1.278	0.354	
男	128	4.01±0.12			12.98±0.30			1.78±0.36		
女	57	3.88±0.33			12.65±0.31			1.85±0.38		
吸烟史		-2.827	0.119		-1.468	0.351		1.217	0.564	
有	87	3.73±0.14			12.70±0.23			1.84±0.42		
无	98	4.15±0.16			12.82±0.12			1.79±0.43		
饮酒史		-1.027	0.623		-2.123	0.421		-1.156	0.697	
有	113	3.94±0.22			12.35±0.14			1.72±0.35		
无	72	3.98±0.21			13.08±0.15			1.95±0.41		
肿瘤部位		1.134	0.764		2.356	0.675		2.223	0.621	
食管上段	35	3.96±0.31			12.03±0.19			1.81±0.30		
食管中段	98	3.89±0.19			12.69±0.21			1.78±0.27		
食管下段	52	3.88±0.21			12.88±0.25			1.85±0.39		
TNM 分期		-4.422	0.019		-3.846	<0.001		-3.945	0.017	
早期	36	3.03±0.45			8.02±0.30			1.50±0.37		
中晚期	149	4.45±0.27			13.66±0.25			1.98±0.32		
组织学类型		4.843	<0.001		4.179	0.003		3.519	0.003	
鳞癌	163	3.83±0.22			12.09±0.21			1.90±0.33		
腺癌	17	3.97±0.84			12.87±0.52			1.87±0.33		
腺鳞癌	5	5.03±0.12			20.03±2.45			3.23±0.33		
分化程度		3.798	0.028		4.432	0.002		3.754	0.034	
高分化	57	3.03±0.34			10.51±0.31			1.52±0.53		
中分化	105	3.99±0.27			12.73±0.26			1.89±0.34		
低分化	23	4.57±0.41			19.76±0.77			2.45±0.67		

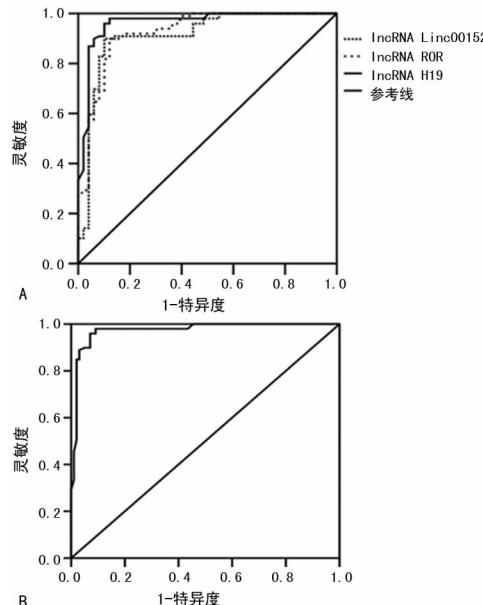
2.3 ROC 曲线分析 ROC 曲线分析显示,血浆 lncRNA Linc00152、H19、ROR 在区分食管癌与对照组的 AUC 分别为:0.892(95%CI:0.767~0.931, $P<0.001$)、0.943(95%CI:0.870~0.982, $P<0.001$)、0.911(95%CI:0.899~0.955, $P<0.001$),灵敏度/特异度分别为 76.2%/98.9%、85.2%/93.4%、79.1%/87.4%,见图 1A。当血浆 lncRNA Linc00152、H19、ROR 联合检测时,区分食管癌与对

照组的 AUC 为 0.977(95%CI:0.902~0.998, $P<0.001$),灵敏度为 90.6%,特异度为 83.3%,见图 1B。

2.4 风险评估 多元 logistic 回归分析结果中,单因素分析显示,血浆高 lncRNA H19、ROR 水平是食管癌发病的危险因素($P<0.05$);多因素分析显示,在校正年龄、性别、肿瘤部位、吸烟史、饮酒史等因素影响后,血浆高 lncRNA H19、ROR 水平仍是食管癌发病的独立危险因素($P<0.05$)。见表 3。

表 3 血浆 lncRNA Linc00152、H19、ROR 对食管癌的预测价值

项目	单因素分析		多因素分析	
	OR(95%CI)	P	OR(95%CI)	P
lncRNA Linc00152	1.32(0.79~2.31)	0.072	1.02(0.53~1.34)	0.213
lncRNA H19	4.61(2.18~7.33)	<0.001	4.77(1.47~6.08)	<0.001
lncRNA ROR	5.38(1.39~8.91)	<0.001	3.51(1.53~5.72)	<0.001



注: A 为 lncRNA Linc00152、H19、ROR 单项诊断食管癌的 ROC 曲线; B 为 lncRNA Linc00152、H19、ROR 联合检测诊断食管癌 ROC 曲线

图 1 ROC 曲线分析

3 讨 论

食管癌是世界上最常见的恶性肿瘤之一,对人类健康构成了巨大的威胁^[8]。虽然近年来食管癌的治疗技术有所提高,但其 5 年生存率仍维持在较低水平^[9]。早期食管癌症状不典型甚至无症状,患者不易察觉,当出现进行性吞咽困难等典型症状时,病情多已进展到中晚期^[10-11]。目前,食管癌的主要筛查手段是食管脱落细胞学检查(食管拉网),但由于其技术含量相对较高,且灵敏度和特异度均较低,无法在人群中推广使用^[12]。因而,筛选出更多可靠的生物学标志物已成为当下食管癌的研究热点,对食管癌的早期干预具有重要意义。

近年来研究发现,多种 lncRNA 在肿瘤的发生、发展过程中扮演着重要角色,且在肿瘤发生早期其表达量即发生改变,这些 lncRNA 包括 Linc00152、H19、ROR、XLOC005009、MEG3、HOTAIR 等。周建平^[13]的研究发现,lncRNA Linc00152 可能通过表皮生长因子受体依耐性信号通路促进胃癌细胞生长以及侵袭-转移级联反应,且在胃癌组织中的表达显著高于正常组织。谭德立^[14]的研究表明,lncRNA H19 可通过介导上皮细胞-间充质转化的发生,从而促进食

管癌侵袭和转移,提示 lncRNA H19 的高表达与肿瘤的不良预后相关。EADES 等^[15]的研究结果显示,lncRNA ROR 在乳腺癌组织中的表达显著升高,且可通过抑制 ADP 核糖基化因子 6 促进癌细胞的侵袭和转移。以上研究结果表明,lncRNA 可通过多种途径参与肿瘤的发生、发展过程,具有成为早期肿瘤诊断标志物的潜力。

关于 lncRNA 与食管癌的关系国内外已有多项研究报告。CHEN 等^[16]发现,lncRNA SBF2-AS1 在食管鳞状癌细胞中的表达显著上调,且在 SBF2-AS1 被沉默抑制后食管鳞状癌细胞的增殖和侵袭能力明显降低,而 SBF2-AS1 因此被认为是一种新的食管鳞状癌生物标志物,有望成为食管鳞癌的潜在治疗靶点。HUANG 等^[17]通过对 28 例食管鳞状癌患者癌和癌旁组织中 lncRNA MEG3 表达水平的检测发现,MEG3 基因的表达在癌组织中显著降低,进一步的机制研究发现 MEG3 能够诱导癌细胞的凋亡。上述研究提示,lncRNA 的差异表达参与了食管癌的发生发展过程。本研究结果发现,血浆 lncRNA Linc00152、H19、ROR 对食管癌的诊断具有重要价值,且血浆高 lncRNA H19、lncRNA ROR 水平是食管癌发病的独立危险因素,该部分结果与前期研究基本相符^[13-15]。此外,本研究还发现,血浆 lncRNA Linc00152、H19、ROR 水平在中晚期食管癌、食管腺鳞癌与低分化食管癌患者中的升高较为显著,提示三者与食管癌的不良预后密切相关。

4 结 论

本次研究结果发现血浆 lncRNA Linc00152、H19、ROR 对食管癌的潜在诊断价值,并证实血浆 lncRNA H19、ROR 对食管癌发病风险的评估具有重要意义,这些发现有望为食管癌的早期诊断提供新的途径。

参考文献

- [1] 曹彬,何晓峰.食管癌患者围术期不同营养支持方式的临床观察研究[J].东南大学学报(医学版),2017,36(4):571-573.
- [2] 黄琴.食管癌相关基因 4(ECRG4)在肝细胞肝癌组织中表达及临床意义[J].实用癌症杂志,2017,32(1):34-36.
- [3] 郑玮薇,韩敏.单纯放疗与同步放化疗治疗(下转第 233 页)

- [5] MIYATANI K, SAITO H, KONO Y, et al. Combined analysis of the pre- and postoperative neutrophil-lymphocyte ratio predicts the outcomes of patients with gastric cancer[J]. Surg Today, 2018, 48(3): 300-307.
- [6] American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes [J]. Diabetes Care, 2016, 39 (Suppl 1): S13-22.
- [7] HANEDA M, UTSUNOMIYA K, KOYA D, et al. A new classification of diabetic nephropathy 2014: a report from joint committee on diabetic nephropathy[J]. J Diabetes Investig, 2015, 6(2): 242-246.
- [8] 赵锐, 孟祥东, 靳蕊霞. 中性粒细胞/淋巴细胞比值与 2 型糖尿病肾病的相关性探讨[J]. 中国现代医学杂志, 2017, 27(19): 101-105.
- [9] HU J, YANG S, WANG Y, et al. Serum bisphenol A and progression of type 2 diabetic nephropathy: a 6-year prospective study[J]. Acta Diabetol, 2015, 52(6): 1135-1141.
- [10] 殷俏, 郭淑芹, 张云良, 等. 视黄醇结合蛋白 4、中性粒细胞淋巴细胞比值与 2 型糖尿病视网膜病变的关系[J]. 中国现代医学杂志, 2016, 26(6): 54-58.
- [11] KHANDARE S A, CHITTAWAR S, NAHAR N, et al. Study of neutrophil-lymphocyte ratio as novel marker for diabetic nephropathy in type 2 diabetes[J]. Indian J Endocrinol Metab, 2017, 21(3): 387-392.
- [12] 刘清杏, 黄金华, 李荣东, 等. 中性粒细胞与淋巴细胞的比值、胰岛素抵抗对早期糖尿病肾病的预测价值[J]. 广东医学, 2016, 37(9): 1325-1327.
- [13] 高美华, 乔田莉, 谢亚争, 等. 中性粒细胞与淋巴细胞的比值与糖尿病肾病的关系[J]. 中国实用医刊, 2016, 43(15): 18-20.
- [14] PRECIADO-PUGA M C, MALACARA J M, FAJARDO-ARAUJO M E, et al. Markers of the progression of complications in patients with type 2 diabetes: a one-year longitudinal study[J]. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2014, 122(8): 484-490.
- [15] 王波, 董金颖, 常波. 自身抗体联合检测对糖尿病肾病诊断的应用价值[J]. 中国实验诊断学, 2016, 20(2): 262-265.
- [16] 曹俊娟, 许香梅, 卢彩平, 等. 血清 CysC、HCY 联合 BNP、hs-CRP 检测对早期糖尿病肾损害的诊断价值[J]. 河北医药, 2015, 17(22): 3385-3388.
- [17] 黄婉静, 刘清杏, 廖永康, 等. 中性粒细胞与淋巴细胞的比值在早期糖尿病肾病患者中的变化及意义[J]. 天津医药, 2015, 43(2): 214-216.
- [18] 严开斌, 石巍. 中性粒细胞与淋巴细胞的比值在 2 型糖尿病肾病诊断中的初步应用[J]. 临床检验杂志, 2017, 35(11): 879-880.

(收稿日期: 2018-07-08 修回日期: 2018-10-24)

(上接第 229 页)

- 疗无法手术的食管癌患者的疗效比较[J]. 实用癌症杂志, 2017, 32(5): 844-846.
- [4] 黄立宁, 冷开明, 徐艺, 等. 长链非编码 RNA ROR 在肿瘤中的表达和作用[J]. 现代医学, 2017, 45(12): 1865-1870.
- [5] 赵娟娟, 韦四喜, 严芝强, 等. 胃癌长链非编码 RNA SNHG16 异常表达及其临床病理意义[J]. 东南大学学报(医学版), 2017, 36(4): 551-554.
- [6] 潘文标, 项杨威, 谷志涛, 等. pT1b-4aN0M0 胸段食管鳞癌术后生存相关因素研究[J]. 现代医学, 2017, 45(8): 1088-1094.
- [7] 王会丽, 王栋. 长链非编码 RNA 调控肿瘤转移的研究进展[J]. 生命科学, 2016, 28(6): 663-670.
- [8] 王琳, 陈梅, 明智, 等. 食管癌根治术后辅助放化疗不良反应与临床因素的关系[J]. 实用癌症杂志, 2017, 32(9): 1482-1485.
- [9] 黄智昊, 钟陆行. 食管癌放疗技术及放疗方式研究进展[J]. 中国肿瘤临床, 2016, 43(12): 527-530.
- [10] 赵迪, 聂铮. 磷脂酶 Cε1 基因在不同时期食管癌患者中的表达及对预后的影响[J]. 解剖学研究, 2017, 39(6): 452-456.
- [11] 聂昌君, 覃晓慧, 钟青燕, 等. 人 YPEL5 基因真核表达载体的构建及在食管癌细胞中的表达[J]. 国际检验医学杂

志, 2018, 39(2): 129-132.

- [12] 马丹, 杨帆, 廖专, 等. 中国早期食管癌筛查及内镜诊治专家共识意见(2014 年, 北京)[J]. 胃肠病学, 2015, 20(4): 220-240.
- [13] 周建平. 长链非编码 RNA 00152 在胃癌发生、发展中的机制研究[D]. 南京: 南京医科大学, 2016.
- [14] 谭德立. 长链非编码 RNA H19 在食管癌发生发展中的功能及机制研究[D]. 重庆: 第三军医大学, 2016.
- [15] EADES G, WOLFSON B, ZHANG Y S, et al. lincRNA-RoR and miR-145 regulate invasion in triple-negative breast cancer via targeting ARF6[J]. Mol Cancer Res, 2015, 13(2): 330-338.
- [16] CHEN R, XIA W, WANG X, et al. Upregulated long non-coding RNA SBF2-AS1 promotes proliferation in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Oncol Lett, 2018, 15(4): 5071-5080.
- [17] HUANG Z L, CHEN R P, ZHOU X T, et al. Long non-coding RNA MEG3 induces cell apoptosis in esophageal cancer through endoplasmic reticulum stress[J]. Oncol Rep, 2017, 37(5): 3093-3099.

(收稿日期: 2018-07-06 修回日期: 2018-10-22)