

华法林药物基因组学的应用

赵鑫龙^{1,2}, 杨杰孚^{1,2}(1.北京医院心血管内科/国家老年医学中心/中国医学科学院老年医学研究院,
北京 100730;

2.北京协和医学院研究生院,北京 100005)

摘要:华法林具有适应证广、经济且易于拮抗等优点,现已成为临床最常用的口服抗凝药物。但由于不同个体间药物剂量差异,导致其稳态剂量较难预测,造成过度抗凝、出血等不良事件的发生。随着近些年华法林代谢酶的基因组学研究,极大地推动了临床华法林精准治疗、个体化给药等的发展。本文就目前华法林基因组学及其临床应用进展进行阐述,以期对日后基因指导华法林的使用提供理论基础。

关键词:华法林;药物基因组学;基因多态性;抗凝

中图分类号:R972+.2;R969.3

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2021.20.012

文章编号:1006-1959(2021)20-0050-04

Application of Warfarin Pharmacogenomics

ZHAO Xin-long^{1,2}, YANG Jie-fu^{1,2}(1.Department of Cardiology, Beijing Hospital, National Center of Gerontology/Institute of Geriatric Medicine,
Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, P.R. China;

2.Graduate School of Peking Union Medical College, Beijing 100005, China)

Abstract: Warfarin has been the most commonly used oral anticoagulant drug in clinic because of its wide range of indications, economy and easy antagonism. However, due to the difference of drug dose among different individuals, the steady-state dose is difficult to predict, resulting in excessive anticoagulation, bleeding and other adverse events. In recent years, the genomics research of warfarin metabolic enzymes has greatly promoted the development of clinical warfarin precision therapy and individualized drug administration. In this paper, the genomics and clinical application of warfarin are reviewed, in order to provide a theoretical basis for the use of gene guidance warfarin in the future.

Key words: Warfarin; Pharmacogenomics; Genetic polymorphism; Anticoagulation

华法林从20世纪40年代被发现以来,凭借价格低廉,口服后经肠道快速吸收等优点,成为了包括静脉血栓栓塞性疾病的一级和二级预防、心房颤动血栓栓塞的预防、瓣膜病、人工瓣膜置换术和心腔内血栓形成等需长期抗凝治疗患者的常用药物。但使用华法林需长期检测国际标准化比值(international normalized ratio, INR)、药物起效及代谢失效时间长短不一等,目前有达比加群酯、利伐沙班、依度沙班等多种NOACs新型口服抗凝药物(Novel oral anti-coagulants, NOACs)的研发,为疾病的治疗提供更多的选择。虽然华法林剂量选择灵活,但针对不同人个体化差异较大,药物使用的不良事件也屡见不鲜。近年来越来越多的研究证实遗传因素对华法林稳态剂量的潜在影响,但是否利用遗传信息等变量指导华法林的使用仍存在不少质疑。诸多国内外学者致力于华法林基因组学的前瞻性研究,建立了多个给药模型,试图通过基因指导给药。本文就目前华法林基因组学的主要研究成果的基础上,对华法林个体化治疗的应用进展进行综述。

1 华法林药物作用机制和药代动力学

华法林是一类双香豆素衍生物,其可通过抑制

维生素K环氧化物还原酶(VKOR)发挥作用^[1]。VKOR主要由VKORC1基因编码。通过影响氧化型维生素K转变为还原型维生素K,从而影响凝血因子II、VII、IX、X和蛋白质C、S、Z氨基末端谷氨酸残基的羧化反应,造成凝血因子无法激活活化,达到抗凝作用^[2]。华法林经口服后进入胃肠道可被快速吸收,入血后主要与白蛋白结合,通常90 min左右血药浓度达高峰。目前临床上使用的华法林是消旋酸光学异构体的混合物,包括了S型和R型华法林,其中S型的效能是R型的3~5倍, S型占据了华法林效应的60%~70%。两者通过不同的代谢途径在肝脏中代谢清除, S型华法林具有约1.5倍的全身清除率,比R型华法林有效5倍^[3]。S型华法林主要通过CYP2C9代谢,可将S型华法林催化成为无活性形式S-6-羟基或S-7-羟基华法林;而R型华法林主要通过CYP1A2、CYP1A2、CYP3A4和酮还原酶在肝脏中代谢为无活性的R-10-羟基华法林^[4]。

2 华法林药物基因组学

2.1 细胞色素酶P450 2C9(CYP2C9) 主要存在于肝脏、肠道细胞内质网上的细胞色素P450家族(CYP)催化体内多种内、外源物质,其中CYP2C9是编码细胞色素P450家族酶2C9蛋白(与华法林代谢酶活性有关)的基因,编码CYP2C9蛋白的基因主要位于10号染色体长臂(10q24.2),全长约为50 kb,包含9个外显子和8个内含子,可读框长度为1472 bp。

作者简介:赵鑫龙(1993.11-),男,四川达州人,硕士研究生,住院医师,主要从事心律失常的诊治研究

通讯作者:杨杰孚(1957.12-),男,四川内江人,硕士,主任医师,教授,主要从事心律失常、心力衰竭的诊治研究

CYP2C9 基因具有多态性,其主要取决于编码区的 SNPs^[5],目前已命名的 SNPs 有 62 种,分别以 CYP2C9*1-CYP2C9*62 命名^[6]。相关报道中出现最多的 SNPs 为野生型 CYP2C9*1、杂合突变型 CYP2C9*2 和 CYP2C9*3^[7]。野生型的等位基因决定酶的活性,具备了正常酶代谢的高度活性,而突变型所编码的酶活性则相对有所降低。

CYP2C9 基因频率的分布存在明显差异。就种族而言,欧洲人群中最为常见,且研究最为广泛的突变是 CYP2C9*2 和 *3^[8]。对于我国人群,Dai DP 等^[9]根据我国汉族人群 CYP2C9 分布建立的基因库显示,CYP2C9*1、*3 的出现频率为 94.48%、2.94%,而 CYP2C9*2 的出现频率并不高。由此可见,亚洲人群中 CYP2C9*2 型突变较为罕见,90%以上的亚洲黄种人为野生型 CYP2C9 *1。有研究表明^[10],CYP2C9 基因多态性与抗凝治疗期间抗凝过度及出血并发症风险可能相关,因此明确基因型对合理抗凝起到重要作用。

2.2 VKORC1 基因 VKORC1 编码的蛋白质为组成维生素 K 环氧化物还原酶复合体(VKORC)亚单位之一,其是维生素 K 依赖性凝血因子生成的限速酶,同时也是华法林的作用靶点。VKORC1 基因位于位于 16 号染色体短臂 (16p11.2),全长约为 100bp,包含 3 个外显子。在 VKORC1 的编码区和非编码区存在较多的 SNPs,其中对华法林使用剂量有影响的 SNPs 主要位于:启动子区 1639 位置 G>A,第一个内含子 1173 位置 C>T^[11]。VKORC1-1639GG 和 VKORC1-1173CC 称为野生型。与携带野生型个体所需的华法林剂量相比,携带杂合型 1639AG 和 1173CT 的个体所需剂量较少。1639AA 和 1173TT 为纯合子的突变体,其携带者所需华法林剂量相比野生型更少^[12]。在高加索人群中 VKORC1-1173 等位基因 TT、CT、CC 分布频率为 16.3%、46.9%、36.8%,日本人群 84.9%、15.1%、0,而在对我国汉族人群中其分布频率分别为 81.4%、15.1%、2.5%^[13]。高加索人群中 VKORC1-1639 等位基因 AA、GG、AG 分布频率为 14%、47%、39%,而在我国汉族人群中为 80%、18%、2%。由此看来 VKORC1 基因型在不同人种中分布不同。甚至一些研究显示^[14],亚洲不同地区 VKORC1 基因型分布也存在差异,表现为 1173-TT 和 1639-AA 由东向西出现频率的递减。因此,上述研究可以很好的解释不同人种、不同地域的个体对于华法林剂量需求的不同。

2.3 CYP4F2 基因 CYP4F2 是编码细胞色素 P450 家族酶之一,基因位于 19 号染色体短臂 (19p13.11),作为一种维生素 K₁ 的单氧酶,可将维生素 K₁ 氧化为羟化的维生素 K₁,从而导致所需华

法林剂量增多。目前部分研究发现 CYP4F2*3 (rs2108622) 与华法林剂量显著相关,CYP4F2*3 主要位于 11 号外显子,单核苷酸 C 突变为 T,造成蛋白水平的改变^[15]。检索目前相关基因与华法林剂量相关的文献中发现^[16,17],黄色人种基因型为 CC,CT 和 TT 所对应的基因型频率分别为 52.68%、39.47% 和 7.85%;其他人种(黑色人种和白色人种)基因型为 CC,CT 和 TT 所对应的基因型频率分别为 27.75%、36.30% 和 35.94%。有研究显示^[18],CYP4F2 基因的多态性可以影响我国汉族人群开始口服华法林抗凝治疗初始 7 天的剂量,其研究中显示基因型 TT 的患者所需的华法林剂量 (3.67 ± 0.75)mg/d,而表现为 CC 型的患者则需要 (3.20 ± 0.75)mg/d ($P < 0.05$)。CC 型患者使用华法林后 INR 首次进入治疗窗时间为 (3.41 ± 1.6)d,而基因型为 TT 的患者则需要 (4.22 ± 1.6)d ($P < 0.05$)。Li J 等^[19]认为 CYP4F2 基因多态性虽然对华法林的使用剂量有影响作用,但其作用低于 CYP2C9、VKORC1 等遗传变量的影响。因此,对于 CYP4F2 基因型是否对个体华法林剂量的影响仍需更进一步的研究和论证。

2.4 其他华法林药物代谢相关基因

2.4.1 载脂蛋白 E (APOE) APOE 可参与富含维生素 K 的载脂蛋白向肝脏转运,主要由 APOE 基因负责编码,存在三种突变类型。Yu WY 等^[20]在 2016 年对 186 例机械瓣置换术后口服华法林的患者进行基因测序时发现,APOE E2、E3、E4 等位基因频率分别为 11.6%、82.5%、5.9%,人群中未检测到 E2/E2 或 E4/E4 的基因型。之后经分析发现 APOE E2/E3、E3/E3 和 E3/E4 基因型携带者华法林的使用剂量存在显著差异 ($P < 0.05$)。进一步对比发现 E2/E3 杂合子携带者的华法林每日维持剂量显著高于 E3/E3 纯合子携带者 ($P < 0.05$),而携带 E3/E4 与 E3/E3、E2/E3 与 E3/E4 的患者华法林剂量需求之间却无显著差异 ($P > 0.05$)。

2.4.2 EPHX1 EPHX1 基因主要编码微粒体环氧化物水解酶(mEH),位于 1q42.12 有 9 个外显子和 8 个内含子。EPHX1 主要分布于肝脏内质网上,其基因多态性可使 mEH 的活性下降,从而通过影响维生素 K 还原,来影响维生素 K 依赖性凝血因子的活化过程^[21]。国内外学者针对 EPHX1 基因多态性也做出了不少研究,韩国学者^[22]在 2018 年对 201 例口服华法林的患者 16 个单核苷酸多态性进行检测,经多因素分析后发现 EPHX1 rs1877724 基因位点对华法林稳定剂量有影响,剂量变异率占 1.5%;国内学者研究发现^[23],EPHX1 rs2260863 的非变异 CC 纯合子与 GC 杂合子相比,携带者华法林每日剂量需要显著降低。就目前的相关研究看来,部分研究成果

可以解释小部分 EPHX1 基因多态性与华法林剂量有相关性,但相较来说还是缺乏大规模的临床试验研究进一步证明。

2.4.3 GGCX γ -谷氨酰胺羧化酶主要由 GGCX 基因所编码,其位于 2 号染色的短臂,由 15 个外显子组成。GGCX 直接参与翻译羧化,可使维生素 K 依赖性的凝血因子以及蛋白 C、S、Z 上的 γ -谷氨酸残基发生羧化,使其成为有活性的凝血因子参与凝血过程^[24]。GGCX 基因突变时, γ -谷氨酰胺羧化酶活性下降,GGCX 活性也同时下降,从而引起凝血因子活化异常,导致华法林使用剂量增加^[25]。一项针对^[26]我国新疆地区汉族房颤患者 GGCX 基因 rs11676382 位点多态性与华法林稳定剂量关系的研究中发现,基因型为 CC、CG 和 GG 的患者华法林稳定剂量各不相同,CC 型所需剂量明显多余 GG 型。另一项针对云南汉族人群 GGCXrs699664 位点多态性的研究显示^[27],包括纯合子 AA、GG 型、杂合子 AG 型在内,3 种不同基因型在心脏瓣膜置换术后所需华法林稳定剂量不同,分别是 AA 型 (3.507±1.44)mg/d;AG 型 (3.46±1.236)mg/d;GG 型为 (3.092±1.044)mg/d。目前国内外对于 GGCX 基因多态性与华法林稳定剂量的研究结果较少,因此如需判断二者相关性,仍需进行大规模的研究以进行证实。

2.4.4 NR1H2 孕烷 X 受体(PXR)可由 NR1H2 基因编码,其主要作用为调控 CYP 酶,参与药物转运等^[28,29]。在一项纳入 201 例接受华法林抗凝治疗患者的研究中发现^[30],PXR rs2472682(A>C)与华法林稳定剂量显著相关,该变种纯合子携带者所需的华法林日剂量明显低于携带野生等位基因携带者。同时该研究通过建立多元回归预测模型,最终可以解释 43.7% 的华法林剂量个体差异。

2.4.5 细胞色素 P450 氧化还原酶 (cytochrome P450 oxidoreductase, POR) POR 是人肝微粒体细胞色素 P450 酶的唯一电子供体,其遗传多态性可能对一些药物代谢有部分影响^[31]。有研究认为^[32],在 CYP2C9*1 患者中,POR rs17685 基因型中含 T 等位基因携带者 (CT、TT)华法林维持剂量 (3.50±1.07)mg/d 要高于 C 等位基因携带者(CC)所需剂量 (3.14±0.94)mg/d ($P=0.03$)。但由于缺少大规模的临床研究,因此 POR 及其多种 SNPs 与华法林稳态剂量的关系仍有待进一步研究。

3 根据华法林基因多态性建立的药物剂量预测模型

华法林作为经典的口服抗凝药物,优点与缺点并存。个体间剂量差异大,传统的给药模式需要长期检测 INR 进行剂量调整,导致使用华法林达到治疗窗时间及出血事件风险都变得难以掌控。因此国内外不少学者根据上述对华法林剂量有影响的因

素,运用统计学方法推断出个体使用华法林稳定剂量预测模型。这些模型大部分都是基于年龄、体重、性别、种族以及华法林相关基因等因素所构建的多元性线性方程,其中有效应用药物基因组学信息指导华法林给药的预测模型,可以解释 40%~60% 的华法林剂量个体差异。众多的预测模型中绝大部分是将 CYP2C9 和 VKORC1 基因作为遗传预测因素。其中 CYP2C9 主要测序分析 *2 和 *3 的等位基因,而 VKORC1 基因主要考虑 -1639G>A 或 -1173C>T 两种 SNPs^[33]。

国际华法林组织所指导的一项多中心研究的结果,建立了目前最为经典及使用广泛的 IWPC 预测给药模型^[34]。其纳入包括了来自 9 个国家不同种族的 4043 例服用华法林并达到稳定治疗剂量 (INR2-3) 的患者,在进行验证队列中,该研究计算了华法林预测剂量在实际稳定治疗剂量 20% 范围内的患者百分比。研究发现与临床算法和固定剂量方法相比,遗传算法能够更准确地预测高剂量和低剂量组华法林患者的治疗剂量。因此,IWPC 研究证明了基因型指导给药算法的优势。目前国内外研究推算出的预测模型多是基于大量回顾性研究,与传统固定的用量给药相比,这些基于基因型多态性的预测模型可实现个体化给药,从而减少出血及栓塞事件,提高用药的安全性。

4 总结

尽管 NOAC 的应用不断增加,但华法林仍有着易于获取、价格低廉、适应症广泛等优势,尤其是在全球医疗负担不断加重以及部分医疗资源有限地区患者仍无法接受及时抗凝治疗的背景下。与此同时,利用基因检测识别出不同程度华法林敏感度的个体,再考虑应用 NOAC 或华法林抗凝治疗,能有效降低患者出血事件的风险。近年来针对我国汉族人群华法林基因多态性的研究取得了一系列重要的进展。因此,探索这些新的基因突变对华法林维持剂量的影响,对建立我国汉族人群特异的华法林药物遗传学算法,指导我国汉族患者精准化、个体化地华法林给药有着重要的意义。

参考文献:

- [1] Li X, Li D, Wu JC. Precision dosing of warfarin: open questions and strategies[J]. Pharmacogenomics J, 2019, 19(3): 219-229.
- [2] Tavares LC, Marcatto LR, Santos PCJL. Genotype-guided warfarin therapy: current status [J]. Pharmacogenomics, 2018, 19(7): 667-685.
- [3] Flora DR, Rettie AE, Brundage RC, et al. CYP2C9 Genotype-Dependent Warfarin Pharmacokinetics: Impact of CYP2C9 Genotype on R- and S-Warfarin and Their Oxidative Metabolites[J]. J Clin Pharmacol, 2017, 57(3): 382-393.
- [4] Duconge J, Ramos AS, Claudio-Campos K, et al. A Novel

Admixture-Based Pharmacogenetic Approach to Refine Warfarin Dosing in Caribbean Hispanics [J]. *PLoS One*, 2016; 11(1): e0145480.

[5] Maekawa K, Adachi M, Matsuzawa Y, et al. Structural Basis of Single-Nucleotide Polymorphisms in Cytochrome P450 2C9 [J]. *Biochemistry*, 2017, 56(41): 5476–5480.

[6] Dai DP, Li CB, Wang SH, et al. Identification and characterization of a novel CYP2C9 allelic variant in a warfarin-sensitive patient [J]. *Pharmacogenomics*, 2015, 16(13): 1475–1486.

[7] 李志强, 胡春燕. CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性对华法林抗凝治疗的影响 [J]. *中国心血管病研究*, 2017(10): 869–872.

[8] De T, Park CS, Perera MA. Cardiovascular Pharmacogenomics: Does It Matter If You're Black or White? [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2019(59): 577–603.

[9] Dai DP, Xu RA, Hu LM, et al. CYP2C9 polymorphism analysis in Han Chinese populations: building the largest allele frequency database [J]. *Pharmacogenomics J*, 2014, 14(1): 85–92.

[10] Shukla A, Jain A, Kahalekar V, et al. Mutations in CYP2C9 and/or VKORC1 haplotype are associated with higher bleeding complications in patients with Budd-Chiari syndrome on warfarin [J]. *Hepatol Int*, 2019, 13(2): 214–221.

[11] Jiang HH, Liu J, Wang YC, et al. The Impact of Gene Polymorphisms on Anticoagulation Control With Warfarin [J]. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2018, 24(4): 640–646.

[12] Liu J, Jiang HH, Wu DK, et al. Effect of gene polymorphisms on the warfarin treatment at initial stage [J]. *Pharmacogenomics J*, 2017, 17(1): 47–52.

[13] Rad F, Hamidpour M, Dorgalaleh A, et al. The Effect of Demographic Factors and VKORC1 1639 G>A Genotypes on Estimated Warfarin Maintenance Dose in Iranian Patients Under Warfarin Therapy [J]. *Indian J Hematol Blood Transfus*, 2019, 35(1): 167–171.

[14] Dorji PW, Tshering G, Na -Bangchang K. CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A5 polymorphisms in South-East and East Asian populations: A systematic review [J]. *J Clin Pharm Ther*, 2019, 44(4): 508–524.

[15] Kocael A, Eronat AP, Tüzün MB, et al. Interpretation of the effect of CYP2C9, VKORC1 and CYP4F2 variants on warfarin dosing adjustment in Turkey [J]. *Mol Biol Rep*, 2019, 46(2): 1825–1833.

[16] Takeuchi M, Kobayashi T, Biss T, et al. CYP2C9, VKORC1, and CYP4F2 polymorphisms and pediatric warfarin maintenance dose: a systematic review and meta-analysis [J]. *Pharmacogenomics J*, 2020, 20(2): 306–319.

[17] Zhang J, Chen Z, Chen C. Impact of CYP2C9, VKORC1 and CYP4F2 genetic polymorphisms on maintenance warfarin dosage in Han-Chinese patients: A systematic review and meta-analysis [J]. *Meta Gene*, 2016(9): 197–209.

[18] 熊筱伟, 刘红, 韩璐璐, 等. 细胞色素 P450 酶 4F2 基因多态性对中国人服用华法林起始七天内剂量的影响 [J]. *中国循环杂志*, 2014(11): 910–912.

[19] Li J, Yang W, Xie Z, et al. Impact of VKORC1, CYP4F2 and NQO1 gene variants on warfarin dose requirement in Han Chi-

nese patients with catheter ablation for atrial fibrillation [J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2018, 18(1): 96.

[20] Yu WY, Sun X, Wadelius M, et al. Influence of APOE Gene Polymorphism on Interindividual and Interethnic Warfarin Dosage Requirement: A Systematic Review and Meta-Analysis [J]. *Cardiovasc Ther*, 2016, 34(5): 297–307.

[21] Edin ML, Hamedani BG, Gruzdev A, et al. Epoxide hydrolase 1 (EPHX1) hydrolyzes epoxyeicosanoids and impairs cardiac recovery after ischemia [J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(9): 3281–3292.

[22] Chung JE, Lee KE, Chang BC, et al. Polymorphisms of vitamin K-related genes (EPHX1 and VKORC1L1) and stable warfarin doses [J]. *Gene*, 2018(641): 68–73.

[23] Lin X, Chen H, Ni L, et al. Effects of EPHX1 rs2260863 polymorphisms on warfarin maintenance dose in very elderly, frail Han-Chinese population [J]. *Pharmacogenomics*, 2020, 21(12): 863–870.

[24] De Vilder EY, Debacker J, Vanakker OM. GGCX-Associated Phenotypes: An Overview in Search of Genotype-Phenotype Correlations [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(2): 240.

[25] Jiang NX, Xu YH, Xia JW, et al. Impact of GGCX polymorphisms on warfarin dose requirements in atrial fibrillation patients [J]. *Turk J Med Sci*, 2017, 47(4): 1239–1246.

[26] 米力克扎提·吾甫尔, 罗莉, 木胡牙提·乌拉斯汉, 等. 新疆汉族房颤患者 GGCX 基因 rs11676382 多态性及其与华法林稳定剂量相关性研究 [J]. *医学分子生物学杂志*, 2015(4): 202–206.

[27] 李文慧, 许冰莹, 邓建强, 等. 云南汉族人群 GGCX(rs699664) 基因多态性与华法林抗凝治疗剂量的相关性研究 [J]. *现代诊断与治疗*, 2014(14): 3121–3123.

[28] Yu Z, Seya K, Chiyoya M, et al. Warfarin calcifies human aortic valve interstitial cells at high-phosphate conditions via pregnane X receptor [J]. *J Bone Miner Metab*, 2019, 37(6): 944–956.

[29] Zhou L, Chen L, Wang Y, et al. Impact of NR1I2, adenosine triphosphate-binding cassette transporters genetic polymorphisms on the pharmacokinetics of ginsenoside compound K in healthy Chinese volunteers [J]. *J Ginseng Res*, 2019, 43(3): 460–474.

[30] Moon JY, Chang BC, Lee KE, et al. Effects of Pregnane X Receptor Genetic Polymorphisms on Stable Warfarin Doses [J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2015, 20(6): 532–538.

[31] Zeng WT, Xu Q, Li CH, et al. Influence of genetic polymorphisms in cytochrome P450 oxidoreductase on the variability in stable warfarin maintenance dose in Han Chinese [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2016, 72(11): 1327–1334.

[32] 胡蓉, 许哲, 赵立子, 等. POR 基因多态性与华法林维持剂量关系的研究 [J]. *中国药理学通报*, 2014, 30(5): 706–710.

[33] Baranova EV, Verhoef TI, Ragia G, et al. Dosing algorithms for vitamin K antagonists across VKORC1 and CYP2C9 genotypes [J]. *J Thromb Haemost*, 2017, 15(3): 465–472.

[34] International Warfarin Pharmacogenetics Consortium, Klein TE, Altman RB, et al. Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data [J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(8): 753–764.

收稿日期: 2021-04-17; 修回日期: 2021-04-28

编辑/肖婷婷