文章编号:1000-5404(2013)15-1587-04

论著

# CSF-DKK1作为标志物在神经母细胞瘤诊断与治疗监测中的临床价值

娄 茜[1],陈维贤[1],史 静[2],李 月[1],王 玎[1],张鹏辉[3],李 朴[1] (400010 重庆,重庆医科大学附属第二医院检验科[1];400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院检验科[2];400014 重庆,重庆医科大学附属儿童医院检验科[3])

[摘要] **目的** 定量检测神经母细胞瘤(neuroblastoma, NB)患者脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)中Dickkopf相关蛋白1(DKK1),探讨其作为诊断NB及疗效评估标志物的临床价值。**方法** 实验组48例:NB患者经CT、骨髓检查确诊,年龄5个月至11岁,包括男性25例,女性23例;Evans分期:Ⅰ期5例,Ⅱ期20例,Ⅲ期15例,Ⅳ期8例。对照组50例:神经系统良性肿瘤25例,年龄5个月至65岁,包括男性13例,女性12例;化脓性脑膜炎10例,年龄5个月至6岁,包括男性4例,女性6例;脑外伤15例,年龄2~45岁,包括男性10例,女性5例。NB患者分别于治疗前、化疗结束后3 d及化疗联合手术治疗后3 d采集CSF样本各1次。ELISA法定量检测CSF中DKK1水平并做ROC曲线分析,对NB患者治疗后(化疗及化疗联合手术治疗)的CSF-DKK1水平进行随访检测。**结果** 与对照组[(57.0±13.7)pg/mL]相比,NB患者CSF-DKK1水平显著增高[(88.7±22.9)pg/mL,$P<0.01$];ROC曲线分析表明,CSF-DKK1诊断NB(Cut-off=65.0 pg/mL)的灵敏度为83%,特异性为76%。与治疗前相比,化疗缓解组[$n=35$,(48.5±9.7) pg/mL]及化疗联合手术组[$n=15$,(46.4±7.8)pg/mL]的CSF-DKK1水平均显著下降($P<0.01$),而化疗无效组的CSF-DKK1水平无明显变化[$n=13$,(89.1±25.7)pg/mL,$P>0.05$]。**结论** NB患者脑脊液中DKK1水平显著升高且与疗效密切相关,可作为NB筛查诊断及疗效评估的标志物。

[关键词] DKK1;神经母细胞瘤;治疗监测;脑脊液
[中图法分类号] R341; R446.14; R739.4 [文献标志码] A

# Clinical significance of CSF-DKK1 as a biomarker for diagnosis and therapeutic monitoring of neuroblastoma

Lou Qian[1], Chen Weixian[1], Shi Jing[2], Li Yue[1], Wang Ding[1], Zhang Penghui[3], Li Pu[1] ([1]Department of Clinical Laboratory, Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, 400010, Chongqing; [2]Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, 400016, Chongqing;[3]Department of Clinical Laboratory, Children's Hospital, Chongqing Medical University, 400014, Chongqing, China)

[**Abstract**] **Objective** To quantitatively detect the cerebrospinal fluid (CSF)-DKK1 (CSF-DKK1) in patients with neuroblastoma (NB), and to assess the clinical significance of CSF-DKK1 as a biomarker for diagnosis/therapeutic monitoring of NB. **Methods** The CSF samples were collected from 48 NB patients (experimental group) and 50 patients with other diseases (control group) before and after treatment. In the experimental group, the NB patients were diagnosed by CT scanning and bone marrow examination, including 25 males and 23 females aged from 5 months to 11 years. Evans staging showed that there were 5 patients of phase Ⅰ, 20 patients of phase Ⅱ, 15 patients of phase Ⅲ and 8 patients of phase Ⅳ. In the control group, there were 25 patients with benign nervous system tumors (13 males and 12 females, aged from 5 months to 65 years), 10 patients with purulent meningitis (4 males and 6 females, aged from 5 months to 6 years) and 15 patients with brain trauma (10 males and 5 females, aged from 2 to 45 years). ELISA was used to quantify the serum level of CSF-DKK1, and ROC analysis was performed. **Results** Compared with the control group (57.0±13.7 pg/mL), the level of CSF-DKK1 in patients with NB was increased significantly (88.7±22.9 pg/mL, $P<0.01$). ROC analysis showed that CSF-DKK1 had a sensitivity of 83% and a specificity of 76% for diagnosis of NB (cut-off=65.0 pg/mL). Compared with those before treatment, the levels of CSF-DKK1 in NB patients (48.5±9.7 pg/mL, $n=35$) with chemotherapy remission and chemotherapy combined with surgery (46.4±7.8 pg/mL, $n=15$) was decreased significantly after treatment ($P<0.01$). However,

[通信作者] 李 朴,E-mail:lipu133@126.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130428.0819.006.html(2013-04-28)

the changes of CSF-DKK1 level was not significant in the NB patients with chemotherapy ineffectiveness (89.1 ± 25.7 pg/mL, $n=13$) ($P>0.05$). **Conclusion** The level of CSF-DKK1 increases significantly in patients with NB, and is closely related to the curative effect of the disease. CSF-DKK1 can be used as a biomarker for auxiliary diagnosis and therapeutic monitoring in patients with NB.

[**Key words**] DKK1; neuroblastoma; cerebrospinal fluid; therapeutic monitoring

Corresponding author: Li Pu, E-mail: lipu133@126.com

神经母细胞瘤(neuroblastoma, NB)因缺乏特异性诊断与治疗监测的标志物,导致误诊率高,影响治疗预后[1]。NB患者间存在广泛的肿瘤异质性,在化疗等过程中易产生耐药[2-3],从而延误治疗。目前已有NB诊断及预后判断的报道[4-8],均对切除组织以RT-PCR或免疫组化检测相关蛋白与基因的表达,存在样本难以获取、无法定量分析等问题。分泌性糖蛋白DKK1是Dickkopf(DKK)蛋白家族成员。血清DKK1在多种恶性肿瘤中显著升高[9-12],诊断特异性差;DKK1直接释放到脑脊液中(cerebrospinal fluid, CSF),但CSF-DKK1能否及时、完整地出现在外周血,将受血脑屏障、血浆蛋白酶等因素影响。显然直接检测CSF-DKK1,更能特异、客观地反应患者DKK1的真实水平;此外,CSF-DKK1的水平及其与NB疗效的关系尚不清楚。本研究分别收集并检测治疗前、后NB患者CSF-DKK1水平,探讨其作为NB辅助诊断及疗效评估标志物的临床价值。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象与样本收集

CSF样本于2011-2012年在重庆医科大学附属第二医院、重庆医科大学附属儿童医院收集,入选病例或家属知情同意。试验组与对照组纳入标准:①首次确诊且无其他并发症;②于治疗前采集CSF进行诊断性检查。试验组排除标准:①化疗结束后不适合进一步手术的NB患者;②化疗联合手术治疗后未进行CSF采集的NB患者。试验组:NB患者48例(年龄5个月至11岁,包括男性25例,女性23例),经CT、骨髓检查确诊;Evans分期:Ⅰ期5例,Ⅱ期20例,Ⅲ期15例,Ⅳ期8例。对照组:神经系统良性肿瘤25例(年龄5个月至65岁,包括男性13例,女性12例)、化脓性脑膜炎10例(年龄5个月至6岁,包括男性4例,女性6例)、脑外伤15例(年龄2~45岁,包括男性10例,女性5例)。

NB患者于确诊后、化疗前采集CSF样本1次。化疗主要采用CAV方案(CTX 750 mg/m$^2$静脉滴注,ADR 50 mg/m$^2$静脉滴注,VCR 1.5 mg/m$^2$静脉滴注),化疗后疗效评估参照文献[13]方案进行:完全缓解:骨扫描、骨髓涂片、CT及体检均未发现明确残留肿瘤迹象并维持1个月以上;部分缓解:肿瘤缩小>50%,病情稳定1个月以上;化疗后无效:出现新的病灶或原肿瘤增大。于4个疗程化疗结束3 d后采集CSF样本1次。化疗后符合手术指征患者(15例)于手术结束3 d后采集CSF样本1次。所有样本采集后及时离心取上清(1 000 r/min,4 ℃,5 min),-80 ℃分装保存,3个月内检测完毕。

### 1.2 主要试剂与仪器

Human DKK1 Quantikine ELISA Kit定量检测试剂盒购自美国R&D公司(DKK100),最低检测限:15.6 pg/mL,检测线性范围:31.2~2 000.0 pg/mL;酶标仪为Tecan公司产品。

### 1.3 ELISA法定量检测CSF-DKK1

CSF样本检测前置冰上溶解,ELISA试剂盒平衡至室温。具体操作参考ELISA试剂盒操作说明进行。主要操作如下:①每孔加入100 μL样本稀释液;②每孔分别加入标准品、对照或CSF样本100 μL,封板,室温温育120 min;③自动洗板机洗板4次;④加入酶结合物200 μL,室温温育120 min后洗板4次;⑤每孔加入底物液200 μL,室温避光显色30 min;⑥加入终止液50 μL,于30 min内测量$D$(450)值。仪器软件根据已知的标准品浓度和$D$(450)值作出标准曲线,求出标准方程,通过样本$D$(450)值计算浓度。

### 1.4 统计学分析

采用SPSS 16.0统计软件,经统计检验,对照组与试验组检测数据近似正态分布。计量资料以$\bar{x}\pm s$表示;单因素方差分析检验多组均数的差异,如有显著性差异再进行组间两两比较$t$检验;不符合正态分布的各组数据用非参数统计方法Kruskall-Wallis $H$进行检验,如有显著性差异,则进一步采用Mann-Whitney $U$进行组间两两比较。

## 2 结果

### 2.1 NB患者治疗前CSF-DKK1水平

与对照组相比,治疗前试验组CSF-DKK1水平显著增高($P<0.01$,表1)。对照组神经系统良性肿瘤、化脓性脑膜炎与脑外伤之间的CSF-DKK1水平差异有统计学意义($P<0.05$);进一步进行两两比较,神经系统良性肿瘤与脑外伤之间的CSF-DKK1水平差异有统计学意义($P<0.05$)。CSF-DKK1水平与NB患者年龄、性别、肿瘤分期差异无统计学意义($P>0.05$)。

**表1 治疗前试验组与对照组的CSF-DKK1水平比较**

| 组别 | 例数 | CSF-DKK1($\bar{x}\pm s$,pg/mL) |
|---|---|---|
| 试验组 | 48 | 88.7±22.9[a] |
| 对照组 | 50 | 57.0±13.7 |
| Bnst | 25 | 63.0±14.1 |
| PM | 10 | 52.9±11.3 |
| TBI | 15 | 49.8±10.3[b] |

Bnst:神经系统良性肿瘤;PM:化脓性脑膜炎;TBI:脑外伤;a:$P<0.01$,$U=270.5$,与对照组相比;b:$P<0.05$,$U=79.0$,与Bnst相比;Bnst、PM、TBI间比较:$P<0.05$,$H=10.4$

### 2.2 CSF-DKK1的ROC分析

CSF-DKK1辅助诊断NB的ROC曲线分析见图1。CSF-

DKK1 曲线下面积为 0.881。取 CSF-DKK1 的 Cut-off 值为 65.0 pg/mL 时,辅助诊断 NB 的灵敏度为 83%,特异性为 76%。

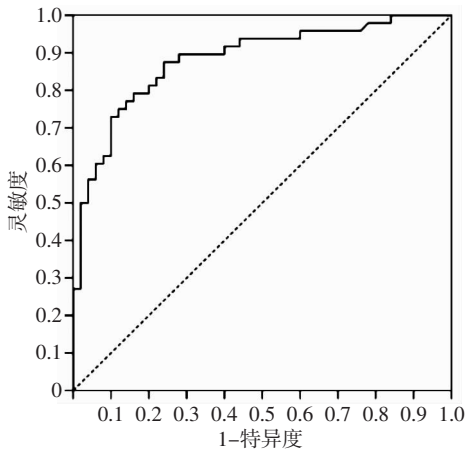



**图 1 CSF-DKK1 辅助诊断 NB 的 ROC 曲线分析**

### 2.3 化疗后 CSF-DKK1 的水平

48 例 NB 患者均进行了 4 个疗程的化疗,化疗结束后经临床评估 35 例获得缓解(完全缓解 2 例,部分缓解 33 例),13 例化疗无效。分别与治疗前以及化疗无效患者[(89.1±25.7)pg/mL]相比,获得缓解的样本 CSF-DKK1 的水平均明显下降[(48.5±9.7)pg/mL,$P<0.01$];而化疗无效患者的 CSF-DKK1 与治疗前水平无显著性差异($P>0.05$)。说明 CSF-DKK1 水平与疗效密切相关,通过定量检测 CSF-DKK1 浓度变化可直接、客观地反映患者对化疗疗效的反应性。

### 2.4 化疗联合手术切除后 CSF-DKK1 的水平

化疗结束后获得部分缓解且符合手术指征患者共 15 例(1~9 岁,包括男性 9 例,女性 6 例),于手术结束 3 d 后采集 CSF 样本 1 次。这 15 例患者获得手术切除,对术后的 CSF-DKK1 水平进一步随访检测发现,与化疗后、手术前相比[(46.9±9.8)pg/mL],术后 CSF-DKK1 水平[(46.4±7.8)pg/mL]维持在稳定的范围,差异无统计学意义($P>0.05$)。提示患者对化疗及术后反应性良好时,其 CSF-DKK1 浓度显著下降并维持在稳定的水平。

### 2.5 CSF-DKK1 对诊断 NB 与评估疗效的效能

CSF-DKK1 检测辅助诊断 NB 的诊断效能达 93%(表 2)。在 13 例化疗无效的 NB 患者中,10 例 NB 患者的 CSF-DKK1 浓度显著超过正常水平($P<0.01$),其疗效评估效能为 77%;而化疗后缓解患者($n=35$)以及化疗联合手术切除患者($n=15$)的 CSF-DKK1 浓度均降至正常水平,疗效评估效能达 100%。

**表 2 CSF-DKK1 诊断 NB 及其评估疗效的效能**

| 组别 | CSF-DKK1 Cut-off 值 | NB 患者 | | 灵敏度 | 特异性 | 效能 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 例数 | 阳性数 | | | |
| 治疗前 | 65.0 pg/mL | 48 | 41 | 83% | 76% | 93% |
| 化疗后缓解 | 65.0 pg/mL | 35 | 0 | 100% | 100% | 100% |
| 化疗后无效 | 65.0 pg/mL | 13 | 10 | 77% | 81% | 88% |
| 化疗联合手术 | 65.0 pg/mL | 15 | 0 | 100% | 100% | 100% |

## 3 讨论

DKK1 为分泌性蛋白,最早发现于胚胎发育过程。众多研究证实 DKK1 在肿瘤的发生发展中起重要作用,并可以作为诊断及预后评估的指标,血清中 DKK1 也在部分肿瘤中被证实有较理想的诊断价值。NB 细胞所分泌的 DKK1 将直接释放到 CSF 中,是血清 DKK1 的主要来源,显然直接检测 CSF-DKK1 更为理想。

本研究定量检测了 NB 患者血清 CSF-DKK1 水平并探讨其作为疗效评估标志物的临床应用价值。结果显示,NB 患者的 CSF-DKK1 水平显著增高($P<0.01$),ROC 曲线表明,取 Cut-off 值为 65.0 pg/mL 时,诊断灵敏度为 83%,特异性为 76%。与血清 DKK1 相比,CSF-DKK1 水平明显高于血清 DKK1,且升高的幅度较大(约血清水平的 10 倍);其诊断灵敏度(83%)显著高于血清 DKK1(62%,Cut-off = 5.2 pg/mL)[9]。此外,CSF-DKK1 水平具有较宽的波动范围(是对照组水平的 2~5 倍),显著区别于良性 NB 患者与非肿瘤患者。为验证 CSF-DKK1 作为疗效监测标志物的临床价值,我们检测了化疗结束及手术后的 CSF-DKK1 水平。与治疗前相比,35 例化疗缓解患者 CSF-DKK1 水平明显下降($P<0.01$),而化疗无效组的水平无显著性差异($P>0.05$)。进一步对化疗联合手术治疗的患者术后的 CSF-DKK1 水平进行随访检测发现,术后 CSF-DKK1 水平相对稳定:当患者对化疗及术后反应性良好时,CSF-DKK1 浓度显著下降并维持在较低水平($P>0.05$)。CSF-DKK1 水平变化可直接、客观地反映 NB 患者对化疗的反应性,提示病情的动态变化。此外,手术后 NB 患者 CSF-DKK1 浓度迅速下降,也提示可作为 NB 患者预后判断的指标,有待进一步验证。因样本量较少,本研究未发现 CSF-DKK1 水平与 NB 患者年龄、性别、肿瘤分期有显著性差异($P>0.05$),后续工作将扩大样本量进一步探讨其作为 NB 预后评估标志物的临床意义。

综上所述,NB 患者误诊率较高且不同 NB 患者的治疗效果有显著差别,及时早期筛查诊断以及采用合理有效的治疗方案,是提高 NB 患者生存率的关键之一。目前缺乏临床早期筛查诊断 NB 及其疗效判断的可靠指标。本研究初步表明,CSF-DKK1 具有较好的特异性与灵敏度,有望成为 NB 诊断及疗效判断的理想标志物;此外,定量检测 CSF-DKK1 具有所需样本量少(100 μL),无需对样本进行特殊前处理,检测方法简单易推广,可自动化快速批量检测以及费用较低等优点,具备较好的临床应用前景。

**参考文献:**

[1] Maris J M. Recent advances in neuroblastoma[J]. N Engl J Med, 2010, 362(23): 2202-2211.

[2] Couzin-Frankel J. Personalized medicine. Pushing the envelope in neuroblastoma therapy[J]. Science, 2011, 333(6049): 1569-1571.

[3] Matthay K K. Chemotherapy for neuroblastoma: does it hit the target? [J]. Lancet Oncol, 2008, 9(3): 195-196.
[4] Nozato M, Kaneko S, Nakagawara A, *et al*. Epithelial-mesenchymal transition-related gene expression as a new prognostic marker for neuroblastoma[J]. Int J Oncol, 2013, 42(1): 134-140.
[5] Garcia I, Mayol G, Rios J, *et al*. A three-gene expression signature model for risk stratification of patients with neuroblastoma[J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(7): 2012-2023.
[6] Fletcher J I, Gherardi S, Murray J, *et al*. N-Myc regulates expression of the detoxifying enzyme glutathione transferase GSTP1, a marker of poor outcome in neuroblastoma[J]. Cancer Res, 2012, 72(4): 845-853.
[7] Berois N, Gattolliat C H, Barrios E, *et al*. GALNT9 gene expression is a prognostic marker in neuroblastoma patients[J]. Clin Chem, 2013, 59(1): 225-233.
[8] Mao L, Ding J, Perdue A, *et al*. Cyclin E1 is a common target of BMI1 and MYCN and a prognostic marker for neuroblastoma progression [J]. Oncogene, 2012, 31(33): 3785-3795.
[9] Granchi D, Corrias M V, Garaventa A, *et al*. Neuroblastoma and bone metastases: clinical significance and prognostic value of Dickkopf 1 plasma levels[J]. Bone, 2011, 48(1): 152-159.
[10] Shen Q, Fan J, Yang X R, *et al*. Serum DKK1 as a protein biomarker for the diagnosis of hepatocellular carcinoma: a large-scale, multicentre study[J]. Lancet Oncol, 2012, 13(8): 817-826.
[11] Sheng S L, Huang G, Yu B, *et al*. Clinical significance and prognostic value of serum Dickkopf-1 concentrations in patients with lung cancer[J]. Clin Chem, 2009, 55(9): 1656-1664.
[12] Yamabuki T, Takano A, Hayama S, *et al*. Dikkopf-1 as a novel serologic and prognostic biomarker for lung and esophageal carcinomas [J]. Cancer Res, 2007, 67(6): 2517-2525.
[13] Therasse P, Arbuck S G, Eisenhauer E A, *et al*. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada[J]. J Natl Cancer Inst, 2000, 92(3): 205-216.

(**收稿**:2013-02-19;**修回**:2013-04-14)
(编辑 邓强庭)

(上接1586页)

石(直径≤0.4 cm)行体位排石等保守治疗。8例因穿刺引流液为脓性行Ⅰ期肾造瘘,Ⅱ期清石后治愈。18例双侧上尿路结石中,Ⅰ期手术10例,分期手术8例。术后大出血行高选择性肾动脉栓塞术治愈1例;术后发现气胸行胸腔闭式引流后治愈2例。术后发热45例,5例高热,根据中段尿培养或肾盂尿培养+药敏结果,予敏感抗生素控制感染后治愈。1例患者重度肾积水伴感染,术后出现反复肾盂感染行肾切除术后治愈。

## 3 讨论

目前经皮肾镜取石术采用F16-24的通道,利用现代的碎石及清石设备已彻底改变了传统的外科手术的方式,成为泌尿外科微创手术重要组成部分[3]。建立适当、正确的工作通道,是经皮肾镜取石术成功的关键,而经皮肾穿刺又是重中之重。术前利用彩超探查肾脏的结构与周围组织的毗邻关系及结石的位置,选定穿刺的目标肾盏。彩超定位具有准确、安全、简便等多项优势[4]。通常穿刺肾上盏或中盏后组,手术成功率较高,可明显提高清石率[5],肾镜易于进入输尿管上段,引起大出血的可能性较小。对于孤立结石或鹿角状结石也可将结石定为穿刺目标。穿刺成功后,扩张一定要遵行"宁浅勿深"的原则,扩张时筋膜扩张器在突破深筋膜层、肾筋膜层及肾盂时有3个突破感,如果扩张过深存在肾蒂损伤的可能。

出血和感染是经皮肾镜取石术最为常见的两大并发症。穿刺扩张中损伤肋间血管、肾叶间血管或肾门血管,操作过程中工作通道摆动角度过大,出现肾实质或盏颈口的撕裂均是术中术后大出血的原因。术中出血往往会导致手术视野不清,盲目操作会增加手术风险和残石的风险,出血量大还会威胁患者的生命,切忌术中出血影响手术操作时,开大灌注泵压力,高压冲洗,导致患者血流动力学改变。术中出血、视野不清时,应及时终止手术,置肾造瘘管,并夹闭6 h,待患者尿色转清1周后,再行Ⅱ期清石。Ⅱ期清石的手术视野往往优于Ⅰ期清石,会带来事半功倍的效果。感染是经皮肾镜取石术风险最大的并发症。重视围手术期的处理,术前详细询问病史,了解基础疾病,全面评估患者手术和麻醉的耐受性,常规作清洁中段尿培养+药敏,根据药敏试验,预防使用抗生素。提高碎石、清石技巧,尽量缩短手术时间,术中尽量保持低压灌注,防止细菌入血。术前判断患肾积脓时应及时行经皮肾造瘘术,待充分引流控制感染1~2周后再行Ⅱ期经皮肾镜取石术清石[6]。合并有感染的结石,建议尽量用F24标准通道,应用EMS 4代负压清石系统清除。优点在于超声负压清石系统工作效率高、清石快,同时可以保持肾盂低压,防止肾盂高压细菌毒素入血。术毕,应置肾造瘘管及双"J"管充分引流。手术时间尽量控制在2 h以内,术中严格无菌操作,出现寒战时应用地塞米松10~20 mg静推,保持肾内低压。术后继续或调整使用敏感抗生素,严密观察患者体温变化[7-8]。本组患者中有1例即是术后引流不畅导致反复发热,最终导致患肾切除。

## 参考文献:

[1] Sandhu C, Anson K M, Patel U. Urinary tract stones--Part Ⅱ: current status of treatment[J]. Clin Radiol, 2003, 58(6): 422-433.
[2] 王少刚, 席启林, 叶章群, 等. 经皮肾镜与微创经皮肾取石术治疗肾结石的效果比较[J]. 中华泌尿外科杂志, 2007, 28(6): 393-396.
[3] 孙洵, 撒应龙, 杨杰声, 等. 经皮肾镜碎石术治疗上尿路结石750例临床分析[J]. 中华腔镜泌尿外科杂志: 电子版, 2011, 5(3): 199-202.
[4] 万银绪, 张永富, 赵阳, 等. 彩超定位微造瘘在经皮肾镜取石术中的临床价值[J]. 临床泌尿外科杂志, 2011, 26(2): 113-115.
[5] Librenjak D, Situm M, Gugic D, *et al*. Ureterorenoscopic treatment of ureteral stones--influence of operator's experience and skill on the procedure outcome[J]. Croat Med J, 2011, 52(1): 55-60.
[6] 李逊, 李天, 何永忠, 等. 微创经皮肾镜取石术治疗肾脏鹿角型感染性结石的临床评价与风险防范[J]. 临床泌尿外科杂志, 2010, 25(1): 11-13.
[7] 刘忠泽, 李世俊, 张福庆, 等, 微创经皮肾镜取石术手术并发症分析[J]. 中华泌尿外科杂志, 2006, 27(7): 447-449.
[8] 曹友汉, 曾国华, 蔡晓健, 等. 微创经皮肾穿刺取石术严重并发症及处理[J]. 临床泌尿外科杂志, 2011, 26(2): 84-86.

(**收稿**:2013-03-09;**修回**:2013-04-12)
(编辑 龙 亮)