

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.31.013

组织相容性抗Ⅱ类 HLA-DRB71 等位基因与原发性胆汁性肝硬化患者人群的相关性研究

于强 杨勇 彭伟明 张涵 席启辉

(中国人民解放军第九四医院感染性疾病科 江西 南昌 330000)

摘要 目的:探讨组织相容性抗Ⅱ类 HLA-DRB71 等位基因与原发性胆汁性肝硬化患者人群的相关性。**方法:**资料选自 2011 年 3 月-2013 年 3 月在我院就诊的原发性胆汁性肝硬化患者 95 例,健康人群 203 例,分为原发性胆汁性肝硬化组与健康人群组,皆予以序列特异性引物 PCR 分析,对两组的等位基因进行分析研究。**结果:**原发性胆汁性肝硬化组 DRB71*07 基因频率为 36.84%,高于健康人群组 13.79%,差异具有统计学意义($P<0.05$);原发性胆汁性肝硬化组其他基因低于健康人群组,差异无统计学意义($P>0.05$);DRB71*07 OR 值是 2.67,表明原发性胆汁性肝硬化组 DRB71*07 阳性率与健康人群组相比较,是其 2.67 倍,比值差异具有统计学意义($P<0.05$);原发性胆汁性肝硬化患者易感性与 DRB71*0701 高度相关。**结论:**中国原发性胆汁性肝硬化患者可能同 DRB71*0701 较易感染有密切关系,为其临床的治疗提供线索。

关键词:HLA-DRB71;原发性胆汁性肝硬化;相关性;研究

中图分类号:R575.5 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2014)31-6053-03

Histocompatibility II Resistance Class a DRB71 HL A Alleles and the Correlation of Primary Biliary Cirrhosis Patient Population Ptudies

YU Qiang, YANG Yong, PENG Wei-ming, ZHANG Han, XI Qi-hui

(Department of infectious diseases, No.94 Hospital of PLA, Jiangxi, Nanchang, 330000, China)

ABSTRACT Objective: To study the histocompatibility of II class a DRB71 HLA alleles and the correlation of primary biliary cirrhosis patient popurlation. **Methods:** 95 cases of primaryliver juice cirrhosis patients and 203 cases of healthy people in our hospital from March 2011 to March 2013 were divided into primary liver juice cirrhosis group and healthy group, sequence specific primer PCR analysis was conducted to analyze the alleles of the two groups. **Results:** Primaryliver juice cirrhosis group DRB71*07 gene frequency was 36.84%, 13.79% higher than that of the healthy group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$); Primaryliver juice cirrhosis group of other genes was lower than the healthy group, but there was no statistically significant difference ($P>0.05$); DRB71 *07 OR value was 2.67, which indicates that primary liver juice cirrhosis group DRB71 *07 positive rate compared with healthy group, is the 2.67 times ratio difference statistically significant ($P<0.05$); Suscep tibility to primary liver juice cirrhosis patients with DRB71 *0701 highly correlated. **Conclusion:** Chinese patients with primary biliary cirrhosis may have close relationship with infection more easily DRB71*0701, which may provide a clue for its dinical treatment.

Key words: HLA DRB71; Primary biliary cirrhosis; Correlation; Research

Chinese Library Classification(CLC): R575.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)31-6053-03

原发性胆汁性肝硬化(PBC)是一种自身免疫性疾病,好发于中年以上女性,多数病例明确诊断时并无临床症状^[1]。血清 AMA 阳性率很高,但并非 100%。虽然 PBC 通常是缓慢的,但存活率是性别和年龄组是低的。临床上可以表现出弱点,皮肤瘙痒,门脉高压症,骨质疏松,黄色皮肤疣、脂溶性维生素缺乏,与复发性尿路感染的症状。此外,可能导致非肝自体免疫异常^[2]。近年来,PBC 的检出率越来越高,但其发病机制仍端完全阐明,治疗也缺乏具体的预防和控制措施。最近美国协会发起了 PBC 的诊断和治疗指南,旨在帮助医生了解和评估诊断,疾病严重程度的 PBC 及其相关的与其他异常,可能是一些治疗,对

患者有益建议的预防措施^[3-5]。据相关报道显示,原发性胆汁性肝硬化的易感基因集中为 HLA-Ⅱ类 DRB71 上,因此,本研究通过采取序列特异性引物聚合酶链反应,对中国东部汉族人群原发性胆汁性肝硬化患者同易感基因相关性进行研究。

1 资料与方法

1.1 一般资料

资料选自 2011 年 3 月-2013 年 3 月在我院就诊的原发性胆汁性肝硬化患者 95 例,健康人群 203 例,分为原发性胆汁性肝硬化组与健康人群组。其中原发性胆汁性肝硬化组男 12 例,女 83 例,比例为 1:8.55,年龄为 31-66 岁,皆与美国肝病学会发表于 2000 年的原发性胆汁性肝硬化诊断指南相符合。

1.2 诊断与排除标准

M2 抗体或者血清抗线粒体抗体阳性;肝功能异常,具胆

作者简介:于强(1960-),男,本科,副主任医师,主要从事肝病临床研究,电话:13767009755,E-mail:Jxjs01@126.com

(收稿日期:2014-02-17 接受日期:2014-03-15)

汁淤积生化改变,主要为 γ -谷氨酰转肽酶以及碱性磷酸酶升高,且不具其他原因可解释;排除庚、戊、丙、乙、甲型的病毒性肝炎。

1.3 基因分型的方法

1.3.1 提取外周血基因组的 DNA 提取 250 mL 受者枸橼酸钠抗凝血,采取柱分离法以及固相亲法对外周血 DNA 进行提取,测定 DNA 纯度以及浓度采取 Beckman 紫外分光光度仪。/ 比值的范围为 1.6-1.8,浓度是 75-200 mmHg,并且在零下 20℃ 的冰箱保存,等待测量。

1.3.2 序列特异性引物的基因分型 对 HLA-DRB71 等位基因进行分型,采取低分辨 HLA-AB-DR 分型试剂盒。序列特异性引物的反应条件是预变性 63℃ 60 秒、94℃ 10 秒,总共包括 10 个循环;延伸 72℃ 30 秒、退火 59℃ 50 秒、变性 94℃ 10 秒,总共包括 20 个循环。选取具有统计学意义等位的基因标本,鉴定其亚型可继续的使用该公司高分辨 SSP-PCR 的试剂盒。关联的强度用 OR,即比值比表示。OR= 原发性胆汁性肝硬化组等位基因百分比 / 健康人群组等位基因百分比。

1.3.3 进行 PCR-SSP 检测 按照标准的 PCR-SSP 检测的方法,PCR 反应条件是(1)在 94℃ 下预变性 5 min,再保持该温度继续变性 30 s,(2)55-59℃ 退火 50 s,(3)72℃ 延伸 40s,(4) 重复循环 30 次。(5)进行第 30 个循环后需在 72℃ 下延伸 7 min。该 PCR 反应体系所需的原料有:2 μ L DNA 模板,加入 25 mmol 的 $MgCl_2$ 3.5 μ L,10 mmol 的 dNTP 1 μ L,再混入 1 μ 的 Tag 酶,还有必不可少的 10 $\times$ Buffers 5 μ L,所以引物各加入 0.5 μ L 即可,最后加水补足到 50 μ L。

等位基因特异性引物设计:从 CenBank 下载 HLA DRBI 各等位基因序列,其碱基差异多在 2 外显子。参考文献^[5]设计 DRB71* 03、* 07、* 09、* 11、* 13、* 14 等 6 个如下表^[5]。

表 1 等位基因上游引物,扩增片段长度(bp)

等位基因	扩增片段长度 (bp)
DRB71* 03	212
DRB71* 07	206
DRB71* 09	222
DRB71* 11	223
DRB71* 13	171
DRB71* 14	260

将 PCR 产物放在 1.5%的琼脂糖中电泳,经电泳缓冲液(本实验用的电泳缓冲液中放入了溴化乙锭(EB))染色 20 min 后,即可用分析系统得出扫描结果。见表 3。

1.3.4 结果的判断 经过序列特异性引物的扩增后,对琼脂糖凝胶进行电泳。20 分钟之后依据扩增阳性 DNA 条带,且参照格局表,对 DRB71 的等位基因或者亚型结果进行判断。

1.4 统计学方法

数据采用 SPSS 17.0 软件包进行处理,组间计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 t 检验,计数资料用 χ^2 检验,如 $P < 0.05$,差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 HLA-DRB71 等位基因的分布情况

原发性胆汁性肝硬化组 DRB71* 07 基因频率为 36.84%,高于健康人群组 13.79%,差异具有统计学意义($P < 0.05$);原发性胆汁性肝硬化组其他基因低于健康人群组,差异无统计学意义($P > 0.05$);DRB71* 07 OR 值是 2.67,表明原发性胆汁性肝硬化组 DRB71* 07 阳性率与健康人群组相比较,是其 2.67 倍,比值差异具有统计学意义($P < 0.05$),如表 2。

表 2 两组 HLA-DRB71 等位基因的分布情况[n(%)]

Table 2 Distribution two sets of HLA-DRB71 alleles[n(%)]

基因 Gene	健康人群组 (n=203) Health group (n=203)	原发性胆汁性 肝硬化组 (n=95) Primary biliary cirrhosis group (n=95)	
			比值比 (OR) ratio (OR)
DRB71* 03	34(16.75)	15(15.79)	0.94
DRB71* 07	28(13.79)	35(36.84)	2.67
DRB71* 09	71(34.98)	32(33.68)	0.96
DRB71* 11	29(14.29)	4(4.21)	0.29
DRB71* 13	31(15.27)	4(4.21)	0.28
DRB71* 14	31(15.27)	3(3.16)	0.21

2.2 原发性胆汁性肝硬化组 HLA-DRB71* 07 亚型分析情况

采用高分辨序列特异性引物试剂盒对具统计学意义的原发性胆汁性肝硬化患者 HLA-DRB71* 07 基因进行亚型的分析,结果显示所有的原发性胆汁性肝硬化患者皆具 HLA-DRB71* 0701,却未见 HLA-DRB71* 0706、HLA-DRB71* 0705、HLA-DRB71* 0704、HLA-DRB71* 0703,表明患者易感性与 DRB71* 0701 高度相关。

2.3 原发性胆汁性肝硬化组及健康人 PCR-SSP 检测结果

表 3 原发性胆汁性肝硬化组及健康人 PCR-SSP 检测结果

基因 Gene	原发性胆汁性肝 硬化组(n=95) Primary biliary cirrhosis group (n=95)		健康人群组 (n=203) Health group (n=203)		χ^2	P 值
	阳性数	阳性率%	阳性数	阳性率%		
DRB71* 03	1	5.26	1	2.1	0.653	>0.05
DRB71* 07	5	26.32	3	7.1	1.802	<0.005
DRB71* 09	0	0	3	7.1	0.96	>0.05
DRB71* 11	0	0	1	2.3	0.748	>0.05
DRB71* 13	2	10.52	4	9.5	0.040	>0.05
DRB71* 14	3	15.79	3	7.1	0.400	>0.05

注:所有 PCR 产物电泳槽内的参照均为阳性。

3 讨论

原发性胆汁性肝硬化属于胆汁淤滞性的一种慢性肝疾病,诊断原发性胆汁性肝硬化特异性的指标为血清抗线粒体抗体,

而唯一经过临床试验证实对该病治疗安全有效的药物为熊去氧胆酸^[6-9]。虽然原发性胆汁性肝硬化发病的机制可能同自身免疫相关,但是免疫抑制剂疗效至今未被证实,并且药物相关的一些不良反应导致其临床的运用受限制。原发性胆汁性肝硬化常同慢性淋巴细胞性甲状腺炎、硬皮病等免疫性疾病并存^[10-13]。中年妇女是其多发群体,该病具有经过缓慢、早期症状轻微、起病隐袭、病人的一般情况较为良好,体重以及食欲无明显的下降,大约 10%患者无任何症状等特点。对伴有脂肪泻且原因不明的慢性进行性梗阻性黄疸病人,应该对其起病诱因以及病情进展的情况进行详细了解。

近年来,越来越多临床资料显示导致原发性胆汁性肝硬化发生的原因环境因素以及遗传易感性^[14-17]。综合该病患者临床的资料,没有发现疾病的进程、复发、治疗与基因频率的关系。该病是由多种遗传因子所导致的疾病,基因多态性基础上,加上部分附加因子作用,形成多因子性的疾病因素。通过检测遗传因子,其可分为影响疾病进展因子以及决定疾病易感性因子。此两种因子如果可以完全的阐明,对该疾病预防以及治疗具有重要意义。目前,经研究证实染色体 2q 以及 6p21.3 上的一些遗传因子同原发性胆汁性肝硬化相关^[18],包括 CASP-8、IL-1RN-IL-1B、CTLA-4*G、HLA-DRB1*08。

在本次研究中,原发性胆汁性肝硬化组 DRB1*07 基因频率为 36.84%,高于健康人群组 13.79%,差异具有统计学意义;原发性胆汁性肝硬化组其他基因低于健康人群组,差异无统计学意义;DRB1*07 OR 值是 2.67,表明原发性胆汁性肝硬化组 DRB1*07 阳性率与健康人群组相比较,是其 2.67 倍,比值差异具有统计学意义;原发性胆汁性肝硬化患者易感性与 DRB1*0701 高度相关。

虽然到目前为止,PBC 与 MHC 即主要组织相容性抗原复合体的关系尚不十分明了,但笔者查阅到的临床资料均显示 PBC 的发生与环境因素和遗传易感性的共同作用密切相关^[19]。目前,虽未发现 HLA-I 类基因与 PBC 的相关性^[20],但在美国、英国等的报道中,PBC 与 HLA II 类基因中的 DRB1*08 及其与其他等位基因组成的单倍体具有相关性^[4-5],还有研究报道指出位于染色体 6p 的控制抗原表达的 MHC II 类基因可能仅独自作用导致相关疾病的发生。本研究结果表明 DRB1*07 等位基因频率在原发性胆汁性肝硬化患者组明显高于健康人对照组,百分率分别为 26.32%和 7.1%($P<0.005$),RR 7.15。

综合上述实验方法的统一结果,在中国原发性胆汁性肝硬化患者可能同 DRB1*0701,较易感染有密切关系,为其临床的治疗提供线索。

参考文献(References)

- [1] 段继惠,刘晔华,穆红,等.原发性胆汁性肝硬化患者协同刺激分子程序性细胞死亡分子原原的检测及意义[J]. 现代医药卫生, 2013, 29 (3): 354-355
- [2] Duan Ji-hui, Liu Ye-hua, Mu Hong, et al. In patients with primary biliary cirrhosis and costimulatory molecules in programmed cell death, original member of the molecular detection and significance of [J]. In modern medicine, 2013, 29 (3): 354-355
- [3] 钱铮,陈孙孝,任传路,等.原发性胆汁性肝硬化患者 miR-let-7b 的异常表达及其意义[J]. 中华肝脏病, 2013, 21(7): 533-534
- [4] Qian Zheng, Chen Sun-xiao, Ren Chuan-lu, et al. And the significance of abnormal expression [J]. of liver disease in patients with primary biliary cirrhosis and miR-let-7b, 2013, 21 (7): 533-534
- [5] 贺鹏,张万江. HLA 基因多态性及其与结核病相关性的研究进展[J]. 中国防痨杂志, 2009, 31(12): 719-720
- [6] He Peng, Zhang Wan-jiang. Progress in research on HLA gene polymorphism and tuberculosis related [J]. Chinese Journal of chromatography, 2009, 31 (12): 719-720
- [7] Donaldson P, Agatwal K, Ctaggs A, et al. HLA and inter-leukin 1 gene polymorphisms in primary biliary cirrhosis: as-sociations with disease progression and disease susceptibility[J]. Gut, 2001, 48(3): 397
- [8] Begovich A B, Klitz W, Moonsemy P V, et al. Genes within the HLA class II region confer both predisposition and resistance to primary biliary cirrhosis[J]. Tissue Antigens, 1994, 43(2): 71
- [9] Shelbourne KD, Brueckmann RR. Rush-pin fixation of supracondylar and intercondylar fractures of the femur[J]. J Bone Joint Surg Am, 1982, 64(2): 161-169
- [10] Stammberger HR, Kenney DW. Paranasal sinuses: Anatomic terminology and nomenclature[J]. Ann Oto Rhinol Laryngol, 1995, 104 (suppl 1): 7-16
- [11] Wormald PJ. The aggere nasi cell: the key to understanding the anatomy of the frontal recess[J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 2003, 129: 497-507
- [12] Choi BI, Lee HJ, Han JK, et al. Detection of hypervascular nodular hepatocellular carcinomas: value of triphasic helical CT compared with iodized oil CT[J]. AJR, 2008, 157(2): 219-224
- [13] Khan MA, Combs CS, Brunt EM, et al. Positron emission tomography scanning in the evaluation of hepatocellular carcinoma [J]. Ann Nucl Med, 2009, 14(2): 121-126
- [14] Tabit CE, Chung WB, Hamburg NM, et al. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus: molecular mechanisms and clinical implications[J]. Rev Endocr Metab Disord, 2010, 11(1): 61-74
- [15] Izzard AS, Rizzoni D, Agabiti-Rosei E, et al. Small artery structure and hypertension: adaptive changes and target organ damage [J]. J Hypertens, 2005, 23(2): 247-250
- [16] Izzard AS, Rizzoni D, Agabiti-Rosei E, et al. Small artery structure and hypertension: adaptive changes and target organ damage [J]. J Hypertens, 2005, 23(2): 247-250
- [17] Tabit CE, Chung W B, Hamburg NM, et al. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus: molecular mechanisms and clinical implications [J]. Rev Endocr Metab Disord, 2010, 11(1): 61-74
- [18] Nicolls MR, Haskins K, Flores S C. Oxidant stress, immune dysregulation, and vascular function in type I diabetes[J]. Antioxid Redox Signal, 2007, 9(7): 879-889
- [19] Gokce N, VitaJA, McDonnell M, et al. Effect of medical and surgical weight loss on endothelial vasomotor function in obese patients[J]. Am J Cardiol, 2005, 95(2): 266-268
- [20] Lteif A A, Han K, Mather KJ. Obesity, insulin resistance, and the metabolic syndrome: determinants of endothelial dysfunction in whites and blacks[J]. Circulation, 2005, 112(1): 32-38
- [21] Harred JF, Knight AR, McIntyre JS. Inventors. Dow chemical company, assignee eXpoXidation process[J]. USPatent 3.654,317.1927-1904

- management of toxic multinodular goiter (Plummer's Disease)[J]. World J Surg, 2008, 32(7): 1278-1284
- [5] Bonnema SJ, Bertelsen H, Mortensen J, et al. The feasibility of high dose iodine 131 treatment as an alternative to surgery in patients with a very large goiter: effect on thyroid function and size and pulmonary function[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1999, 84(10): 3636-3641
- [6] 洪理伟, 许瑞元, 汤燕娟, 等. 131I 治疗甲状腺功能亢进症的疗效观察[J]. 中国药房, 2010, 24: 2246-2247
- Hong Li-wei, Xu Rui-yuan, Tang Yan-juan, et al. Efficacy observation of 131I in the treatment of hyperthyroidism [J]. China Pharmacy, 2010, 24: 2246-2247
- [7] 胡丹丹, 赵文川. 甲状腺全切除术 93 例临床分析[J]. 中华普通外科杂志, 2010, 25(4): 330-331
- Hu Dan-dan, Zhao Wen-chuan. Clinical analysis on 93 cases of total thyroidectomy[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2010, 25(4): 330-331
- [8] 武林枫, 赵福龙, 孟庆辉, 等. 甲状腺全切除术治疗结节性甲状腺肿的临床价值 [J]. 中华普通外科杂志, 2008, 23(9): 720-721
- Wu Lin-feng, Zhao Fu-long, Meng Qing-hui, et al. Clinical research about the value of total thyroidectomy for benign thyroid disease[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2008, 23(9): 720-721
- [9] 罗天平, 秦锡虎, 朱峰, 等. 甲状腺全切除术治疗双侧结节性甲状腺肿 [J]. 医学研究杂志, 2009, 38(4): 77-80
- Luo Tian-ping, Qin Xi-hu, Zhu Feng, et al. Total Thyroidectomy for Bilateral benign Multinodular Goiter[J]. Journal of Medical Research, 2009, 38(4): 77-80
- [10] Müller PE, Kabus S, Robens E, et al. Indications, risks, and acceptance of total thyroidectomy for multinodular benign goiter [J]. Surg Today, 2001, 31(11): 958-962
- [11] 邓如岗, 王志明, 吕新生, 等. 结节性甲状腺肿的外科治疗 [J]. 中国普通外科杂志, 2004, 13(5): 343-345
- Deng Ru-gang, Wang Zhi-ming, Lu Xin-sheng, et al. Surgical treatment of nodular goiter [J]. Chinese Journal of General Surgery, 2004, 13(5): 343-345
- [12] Karger S, Fühner D. Thyroid storm-thyrotoxic crisis: an update[J]. Dtsch Med Wochenschr, 2008, 133(10): 479-484
- [13] Silva JE, Bianco SD. Thyroid-adrenergic interactions: physiological and clinical implications[J]. Thyroid, 2008, 18(2): 157-165
- [14] 张鸽文, 朱斯维, 王志明. 结节性甲状腺肿合并甲状腺癌的诊治与治疗[J]. 中国普通外科杂志, 2010, 19(5): 467-470
- Zhang Ge-wen, Zhu Si-wei, Wang Zhi-ming. Diagnosis and treatment of nodular goiter with thyroid carcinoma [J]. Chinese Journal of General Surgery, 2010, 19(5): 467-470
- [15] 项鹤彬, 赵志军, 陈剑峰, 等. 结节性甲状腺肿合并甲状腺癌诊治分析[J]. 中国肿瘤, 2006, 15(3): 197-198
- Xiang He-bin, Zhao Zhi-jun, Chen Jian-feng, et al. An analysis on the diagnosis of nodular goiter associated with thyroid cancer[J]. Bulletin of Chinese Cancer, 2006, 15(3): 197-198
- [16] 孟繁杰, 李燕书, 马顺茂, 等. 结节性甲状腺肿术后促甲状腺激素抑制治疗效果的探讨[J]. 中日友好医院学报, 2013, 27(4): 216-218
- Meng Fan-jie, Li Yan-shu, Ma Shun-mao, et al. The therapeutical effect of suppressive therapy after thyroidectomy in multinodular goiter patients [J]. Journal of China-Japan Friendship Hospital, 2013, 27(4): 216-218
- [17] 唐小文. 原发性甲状腺功能亢进合并甲状腺癌的诊治 [J]. 中国现代手术学杂志, 2009, 13(1): 37-38
- Tang Xiao-wen. Diagnostic and therapeutic strategy for primary hyperthyroidism combined with thyroid carcinoma[J]. Chinese Journal of Modern Operative Surgery, 2009, 13(1): 37-38
- [18] Cerci C, Cerci SS, Eroglu E, et al. Thyroid cancer in toxic and non-toxic multinodular goiter[J]. J Postgrad Med, 2007, 53(3): 157-160
- [19] Thompson NW, Olsen WR, Hoffman GL. The continuing development of the technique of thyroidectomy[J]. Surgery, 1973, 73(6): 913-927
- [20] 黄仲杰, 彭伟炜, 谭介恒, 等. 甲状腺手术后甲状腺机能低下的临床分析及治疗[J]. 吉林医学, 2013, 34(28): 5863-5864
- Huang Zhong-jie, Peng Wei-wei, Tan Jie-heng, et al. Clinical analysis and treatment of postoperative hypothyroidism [J]. Jilin Medical Journal, 2013, 34(28): 5863-5864

(上接第 6055 页)

- [19] Zhang Y, Li W, Yan T, et al. Early detection of lesions of dorsal artery of foot in patients with type 2 diabetes mellitus by high-frequency ultrasonography [J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2009, 29(3): 387-390
- [20] Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease[J]. J Am Soc Nephrol, 1998, 9(12 Suppl 1): S16-23
- [21] Malyszko J. Mechanism of endothelial dysfunction in chronic kidney disease[J]. Clin Chim Acta, 2010, 411(19/20): 1412-1420
- [22] Izumi S, Muano T, Mori A, et al. Common carotid artery stiffness, cardiovascular function and lipid metabolism after menopause[J]. Life Sci, 2006, 78(15): 1696-1701