

自身免疫性溶血性贫血的诊疗现状

洪梅

〔关键词〕 自身免疫性溶血性贫血； 诊断； 治疗

自身免疫性溶血性贫血 (AIHA) 从疾病本身来说并不是一种肿瘤性疾病,但其治疗的困难性、复发性给患者和医生带来很大的困扰,特别是致命性贫血的发生常危及患者的生命,因此,对于 AIHA 诊断和治疗的深入认识极为重要。

一、概述

AIHA 是由于机体免疫调节异常,产生自身抗体或 (和) 补体,结合在红细胞膜上,导致外周红细胞破坏加速,超过骨髓造血的代偿能力而发生的一组很难根治的溶血性贫血,为免疫相关性血细胞减少综合征病谱中的一员。AIHA 发生机制相当复杂。患者体内 T、B 淋巴细胞构成比例失调、免疫耐受和免疫调节功能紊乱、细胞表面信号分子表达异常、淋巴细胞分泌因子和抗体综合作用导致免疫系统全面失衡均可促发 AIHA 和其他自身免疫性疾病。

DOI:10.3969/j.issn.1001-9057.2019.10.002

作者单位:430022 武汉,华中科技大学同济医学院附属协和医院血液科

AIHA 根据抗人球蛋白试验 (AGT) 及自身抗体的热范围分为温抗体型、冷抗体型 [包括冷凝集素综合征 (CAS) 和阵发性冷性血红蛋白尿症 (PCH)] 及混合型。依据红细胞自身抗体检测结果,分为自身抗体阳性型和自身抗体阴性型。自身抗体阴性型 AIHA 临床符合溶血性贫血,应排除其他溶血性贫血,同时免疫抑制治疗有效^[1]。

临床上 AIHA 的病因可能是特发性/原发性 (50%) 或继发于淋巴增殖综合征 (20%)、自身免疫性疾病 (20%)、感染及肿瘤。疾病的临床过程具有极大的异质性,包括缓慢进展、爆发型和快速进展的致命性贫血。主要影响疾病异质性的临床因素是溶血类型 [血管内和 (或) 血管外], 包括自身抗体的类型、温度、补体激活速率、致敏红细胞破坏情况^[2]。

国外资料显示 AIHA 的年发病率为 (0.8 ~ 3.0) / 100 000^[3-4],与白血病的发病率相近。温抗体型 AIHA 为最常见类型,成人多见,女性多于男性。原发性免疫缺陷病的儿童也常伴有 AIHA。迄今尚未发现 AIHA 有罹患倾向、遗传易感性和年龄预选。

四、其他常见非血液系统疾病与贫血

除血液系统疾病外,有许多引起贫血的非血液系统疾病,主要包括:(1) 妊娠贫血;(2) 胃肠手术后贫血;(3) 慢性萎缩性胃炎与贫血;(4) 人工心脏瓣膜手术后贫血;(5) 感染或慢性病性贫血;(6) 儿童缺铁性贫血;(7) 老年性贫血;(8) 免疫风湿性疾病贫血;(9) 肿瘤性贫血;(10) 药物性贫血;(11) 慢性肾衰竭与贫血;(12) 内分泌疾病与贫血^[12]。

综上所述,必须明确贫血的病因诊断才能进行精准治疗,使患者受益。因此,需要练就扎实的內科学基本功,通过详细地询问病史、全面的体格检查、仔细分析辅助检查结果,方能做出正确诊断,否则将导致误诊误治。

参 考 文 献

[1] Buttarello M. Laboratory diagnosis of anemia: are the old and new red cell parameters useful in classification and treatment, how? [J]. Int J Lab Hematol, 2016, 38 Suppl 1: 123-132.

[2] 王霄霞. 外周血细胞形态学检查技术 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010. 36-51.
[3] 邹尧, 竺晓凡. 缺铁性贫血 [J]. 中国实用儿科杂志, 2010, 25(2): 158-160.
[4] Camaschella C. Iron-deficiency anemia. [J]. New Engl J Med, 2015, 372(19): 1832-1843.
[5] Wickramasinghe SN. Diagnosis of megaloblastic anaemias [J]. Blood Rev, 2006, 20(6): 299-318.
[6] Lechner K, Jäger U. How I treat autoimmune hemolytic anemias in adult [J]. Blood, 2010, 116(11): 1831-1838.
[7] 中华医学会血液学分会红细胞疾病 (贫血) 学组. 自身免疫性溶血性贫血诊断与治疗中国专家共识 (2017 年版) [J]. 中华血液学杂志, 2017, 38(4): 265-267.
[8] Young NS. Current Concepts in the Pathophysiology and Treatment of Aplastic Anemia [J]. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2006, 108(8): 76-81.
[9] 中华医学会血液学分会红细胞疾病 (贫血) 学组. 再生障碍性贫血诊断与治疗中国专家共识 (2017 年版) [J]. 中华血液学杂志, 2017, 38(1): 1-5.
[10] Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues [S]. 4th edition, IARC: Lyon, 2017.
[11] 中华医学会血液学分会. 骨髓增生异常综合征中国诊断与治疗指南 (2019 年版) [J]. 中华血液学杂志, 2019, 40(2): 89-97.
[12] Chm M, Wuillemin WA. Prevalence and causes of anemia in a city general practice [J]. Praxis, 2008, 97(13): 713.

(收稿日期: 2019-08-25)

(本文编辑: 周三凤)

二、AIHA 的诊断

AIHA 的标准诊断^[1]: (1) 血红蛋白水平达贫血标准; (2) 检测到红细胞自身抗体; (3) 至少符合以下 1 条: 网织红细胞百分比 > 4% 或绝对值 > $120 \times 10^9/L$; 结合珠蛋白 < 100 mg/L; 总胆红素 $\geq 17.1 \mu\text{mol/L}$ (以非结合胆红素升高为主)。AIHA 的诊断和分类依赖于特异性的实验室检查 (红细胞自身抗体的检测), 因此, 有必要结合免疫反应机制进一步理解。

1. 温抗体型 AIHA

温抗体型 AIHA 呈多克隆性质, 最常见的抗体是 IgG, IgA 和 IgM 型均罕见。温抗体 IgG 致敏的红细胞主要由巨噬细胞上的 Fc 受体 (FcR) 识别、结合, 进一步被吞噬; 一部分致敏红细胞被吞噬时发生膜损伤, 部分细胞膜丢失, 红细胞变为球形, 变形能力降低, 最终在脾脏或肝脏中被破坏; 此外, 抗体依赖的细胞毒作用 (ADCC) 也可引起红细胞破坏; 红细胞上还吸附有补体 C3, 而肝脏 Kupffer 细胞上有 C3b 的受体, 因此, 当红细胞上存在 IgG 和 (或) C3 时, 脾脏将摄取吸附有 IgG 的红细胞, 肝脏将“扣押”带有 C3 的红细胞, 故此型溶血程度最重, 单纯吸附 IgG 型次之, 单纯 C3 型溶血程度最轻。AIHA 患者体内 IgG 型红细胞抗体分为 4 个亚型: IgG1、IgG2、IgG3、IgG4。脾脏单核巨噬细胞上的 FcR 也可分为 FcR I、FcR II、FcR III, 这些受体可与 IgG1 和 IgG3 结合而对其余两种亚型的 IgG 无反应。因此, 通常 IgG1 及 IgG3 型溶血程度较 IgG2、IgG4 型更为严重, 尤其 IgG3 型红细胞破坏作用最强, 而 IgG4 型几乎无致病性。此外还有少量的 IgM 和 IgA 型抗体, 脾脏巨噬细胞无 IgM 型而有 IgA 型 FcR, 故吸附有 IgA 型抗体的红细胞可在脾脏破坏, 而吸附有 IgM 型抗体的红细胞均在肝脏破坏^[5-6]。

AIHA 主要表现为温抗体 IgG 型和冷抗体 IgM 型, 而温抗体 IgM 型较少见。早年就有报道高效价、高热幅度 (37 °C) 完全 IgM 抗体介导的 AIHA 病例^[7], 该病预后较差, 尤其在儿童患者中更为突出。温抗体单独以 IgA 型出现者也较罕见, 其引起溶血是通过免疫粘连由 IgA 的特异性 Fc 受体完成的, 这类患者有时可出现严重的血管内溶血表现。

AGT 分为直接 AGT (DAT, 检测红细胞上的不完全抗体) 和间接 AGT (IAT, 检测血清中的游离抗体), 温抗体型 DAT 呈阳性, 部分患者 IAT 也呈阳性。自身抗体与红细胞反应最佳温度为 37 °C, 先用含有广谱抗人球蛋白 (IgG、IgM、IgA 和 C3) 的试剂进行筛选, 若试验结果为阳性, 再进一步分型。结果分为单纯性和复合型, 后者的溶血程度重于前者, 并以 IgG + IgM + C3

型最重, C3 型最轻。可进一步用单克隆 AGT 鉴定 IgG 型抗体的亚型, 作为 AGT 的补充。IAT 阳性表示患者血清中存在游离抗体, 此类患者溶血常较严重。

值得注意的是, DAT 的强度与溶血的严重程度无关, 有时试验结果虽呈弱阳性, 但患者发生了严重溶血; 反之, 有时试验结果呈强阳性, 而患者无明显溶血的表现。IAT 阳性也并不能反映是自身免疫所致, 还需结合 DAT 来明确诊断。在输血前检查 IAT 对判断是否会出现溶血较为重要。DAT 阴性而 IAT 阳性可能系同种免疫抗体所致, 与输血或妊娠有关, 而不是自身免疫所致。IgG 和补体可出现在温抗体型 AIHA, 而仅有补体出现则可能为药物引起的 AIHA 或冷抗体型 AIHA。

2. 冷抗体型 AIHA

所致溶血的大部分冷抗体是 IgM, 自身抗体与红细胞反应最佳温度为 0 ~ 5 °C。多数情况下 IgM 活化补体停留在 C3b 阶段, 其通过肝脏时被其中 Kupffer 细胞上的 C3b 受体识别并清除, 发生的溶血仍属于血管外溶血; 通常红细胞上有高浓度的 C3b 时才能使红细胞被破坏, 而许多 C3b 被降解为 C3d 而失活, 因此, 冷凝集素综合征患者的溶血通常不严重, 只有 IgM 抗体滴度很高时才可能出现严重的溶血, 但这种情况较罕见。小部分结合较多 C3b 的红细胞可在中心循环继续形成 C5-9 膜相关复合物 (MAC) 并发生血管内溶血^[5-6]。

冷抗体型 AIHA 中 CAS 是指继发于感染、肿瘤等疾病的冷凝集素介导的临床和实验室异常的综合征, 需要与被认为是一种克隆性淋巴细胞增殖性疾病的冷凝集素病 (CAD) 进一步明确区分。CAS 常继发于恶性疾病、感染等, 感染导致继发性 CAS 中的自身红细胞抗体是多克隆性的, 临床多呈一过性急性疾病病程。

虽然大部分冷抗体是 IgM 类, 但冷抗体型 AIHA 中 PCH 的 Donath-Landsteiner (DL) 抗体属 IgG 类。在温时相, DL 抗体和补体吸附到红细胞表面, 冷时相 (30 °C 以下), DL 抗体离开而补体结合在红细胞表面并形成攻膜复合物, 发生溶血。此型 AIHA 患者暴露于冷的空气或食物即可引起 AIHA 危象。

冷凝集素 (CA) 和冷热溶血素 (DL 抗体) 是区分 CAS 和 PCH 的金标准。冷凝集素效价 > 1: 32 时即可诊断 CAS, CAS 的 DAT 为补体 C3 阳性。DL 抗体在 0 ~ 4 °C 时与红细胞结合, 并吸附补体, 但并不发生溶血; 在 30 ~ 37 °C 发生溶血。PCH 的冷热溶血试验阳性, DAT 为补体 C3 阳性, DL 抗体阳性即可诊断 PCH^[1]。CA 有酸溶血并可结合补体, 故 CAS 患者可出现阵发性睡眠性血红蛋白尿 (PNH) 相关试验 Ham

和糖水溶血试验阳性,存在血红蛋白尿时极易误诊为 PNH,因此,DAT 与 CA 最好同步检测。

3. 混合型 AIHA

温冷抗体混合型自身抗体为 IgG 温抗体和冷凝集素并存。

4. DAT 阴性的 AIHA

目前文献报道 3% ~ 11% 温抗体型 AIHA 的 DAT 呈假阴性。其原因主要包括:(1)红细胞表面自身抗体数量低于检测阈值;(2)红细胞表面自身抗体亲和力低,易于洗脱;(3)真阴性 AIHA:即由“武装”巨噬细胞引起的 AIHA,巨噬细胞可通过其 FcRI 受体结合自身 IgG 抗体,从而使巨噬细胞致敏(即“武装”巨噬细胞),此类巨噬细胞可识别并结合表达相应抗原的非致敏红细胞,导致自身红细胞破坏。应用微柱凝胶法、流式细胞术、丝裂原刺激法、红细胞表面免疫球蛋白定量分析等方法可明显提高 DAT 的敏感性。采用高敏感检测方法大大减少了 DAT 假阴性 AIHA 诊断,而 DAT 真阴性 AIHA 非常罕见。若患者临床表现与实验室检查明确提示溶血性贫血,而高敏感 DAT 呈阴性结果,DAT 阴性 AIHA 诊断应格外谨慎,须警惕其他溶血疾病可能性^[5,8]。

三、AIHA 的治疗

要保证 AIHA 治疗的效果,必须迅速脱离接触病因(如药物),控制原发疾病(如感染、肿瘤)。治疗手段主要包括支持治疗、糖皮质激素、二线治疗等^[1]。

1. 糖皮质激素

绝大多数温抗体型 AIHA 一线治疗的首选药物仍是糖皮质激素。推荐在无糖皮质激素使用禁忌情况下应用。按泼尼松计算,剂量为 $0.5 \sim 1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,可根据具体情况换算为地塞米松、甲泼尼龙等静脉输注。糖皮质激素用至红细胞比容 $> 30\%$ 或 Hb 水平稳定于 100 g/L 以上才考虑减量。若使用推荐剂量治疗 4 周后仍未达到上述疗效,建议考虑二线用药。急性重型 AIHA 可能需要使用 $100 \sim 200 \text{ mg/d}$ 甲泼尼龙 $10 \sim 14 \text{ d}$ 才能控制病情。有效者泼尼松剂量在 4 周内可逐渐减至 $20 \sim 30 \text{ mg/d}$,以后每月递减(减少 $2.5 \sim 10.0 \text{ mg}$),在此过程中应严密检测 Hb 水平和网织红细胞绝对值变化。泼尼松剂量减至 5 mg/d 并持续缓解 2 ~ 3 个月后考虑停用糖皮质激素。治疗期间应注意监测血糖、血压等,若出现并发症,应该积极应用二磷酸盐、钙片、维生素 D 和质子泵抑制剂等预防处理,而不是过早停药。

冷抗体型 AIHA 多为继发性,治疗与温抗体型 AIHA 不同。继发性 AIHA 需要积极治疗其原发疾病,

其余治疗同原发性 AIHA。

2. 利妥昔单抗

利妥昔单抗是冷抗体型 AIHA 的一线治疗方案,有效率为 $45\% \sim 60\%$,而糖皮质激素和脾脏切除术疗效均较差。目前众多病例报道、前瞻性临床试验和荟萃分析结果均显示利妥昔单抗治疗温抗型 AIHA 也具有较好的疗效和安全性,目前已作为继糖皮质激素后首选的二线治疗方案。同样,难治/复发温抗体型 AIHA 二线治疗脾脏切除方法也因此受到挑战,倾向于利妥昔单抗或可替代脾脏切除作为首选,对老年人、有手术禁忌或评估手术风险过高、意愿非手术治疗及糖皮质激素治疗依赖性温抗体型 AIHA 患者更是如此^[9-10]。

利妥昔单抗剂量为 $375 \text{ mg} \cdot (\text{m}^2)^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,第 1、8、15、22 天给药,共 4 次。也有报道显示小剂量利妥昔单抗(100 mg/d)在降低患者经济负担和减少不良反应的同时,并未降低疗效^[11]。监测 B 淋巴细胞水平可以指导控制利妥昔单抗的并发症,包括感染、进行性多灶性白质脑病等。HBV 感染患者应在抗病毒药物有效控制并持续给药的情况下使用利妥昔单抗。

利妥昔单抗是否可作为温抗体型 AIHA 的一线治疗,目前尚无共识。Birgens 等^[12]报道一项 III 期随机临床试验结果显示,采用利妥昔单抗 + 糖皮质激素方案一线治疗的温抗体型 AIHA 患者,其治疗反应率及反应持续时间均明显优于糖皮质激素单药治疗组,而两组间不良反应无明显差异。利妥昔单抗治疗温抗体型 AIHA 安全、有效,虽部分患者治疗后 2 年内复发,但再治疗仍有效^[9]。因此,研究支持利妥昔单抗联合泼尼松作为温抗体 AIHA 的一线治疗方案,采用利妥昔单抗间歇或维持治疗策略可能有更长时间的获益。

3. 其他靶向治疗药物

(1) Eculizumab

Eculizumab 是人源化单克隆抗体,能特异性抑制补体 C5 活化,从而抑制攻膜复合体的形成,阻断补体活化导致的细胞溶解破坏和炎性效应^[13]。美国食品药品监督管理局(FDA)已经批准的适应证包括 PNH 和不典型溶血性尿毒综合征。近年来,应用 Eculizumab 治疗难治性 AIHA 取得了一定疗效。如在糖皮质激素、利妥昔单抗治疗无效的 CAD 患者,连续 4 周每周应用 1 次 Eculizumab 600 mg ,之后每 2 周 1 次 900 mg 维持治疗,患者病情得到良好控制^[13]。但 Eculizumab 治疗 AIHA 均为个案报道,对 CAD 有一定疗效,对温抗体 AIHA 的疗效有待进一步证实。

(2) 硼替佐米

硼替佐米为可逆性 26S 蛋白酶体抑制剂,通过抑

制该蛋白酶体功能,引起细胞内多聚泛素化蛋白的积累,激活末端未折叠蛋白反应,从而诱导浆细胞凋亡。硼替佐米已被 FDA 批准用于治疗多发性骨髓瘤和套细胞淋巴瘤。目前不断有应用硼替佐米成功治疗难治性(糖皮质激素及利妥昔单抗治疗无效)CAD、异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)后继发 AIHA 的病例报道^[14-15]。有学者推测,相较于利妥昔单抗靶向作用于 CD20⁺ 淋巴细胞治疗 CAD,硼替佐米可作用于 CD20⁻ 浆细胞,从而对可能是异常浆细胞主要介导单克隆抗体分泌所致 CAD 溶血的患者发挥治疗作用^[16]。对于硼替佐米治疗 AIHA 的作用机制(尤其是对 allo-HSCT 后继发 AIHA 的作用机制)及其疗效仍需进一步研究与探讨。

(3) Ibrutinib

Ibrutinib 是第一代布鲁顿酪氨酸激酶抑制剂,研究显示其在 B 淋巴细胞肿瘤中具有良好疗效,FDA 已经批准的适应证包括复发和难治性套细胞淋巴瘤及华氏巨球蛋白血症。近期有报道显示应用 Ibrutinib 治疗难治性 B 淋巴细胞肿瘤相关 AIHA 具有疗效^[17-18]。Ibrutinib 治疗 AIHA 的具体机制尚未明确,自身免疫病小鼠模型显示,Ibrutinib 能通过抑制 B 淋巴细胞布鲁顿酪氨酸激酶(BTK)通路从而抑制自身抗体的产生,治疗自身免疫病。其相关机制及临床应用还有待深入探讨。

综上所述,目前温抗体型 AIHA 的一线治疗仍为糖皮质激素,二线治疗包括利妥昔单抗和脾脏切除术,其他方法包括靶向药物,可作为三线治疗。冷抗体型 AIHA 的一线治疗是以利妥昔单抗为主的方案。

四、小结

近年来对疾病病理特点及发病机制的深入认识,使靶向药物治疗 AIHA 有了良好的理论基础,并在临床观察中获得肯定的疗效,为 AIHA 提供了新的治疗手段。同时红细胞抗体的检测向着单细胞分析、细胞蛋白及分子水平发展,为 AIHA 精确诊断及分型提供了依据,有助于合理指导临床治疗选择。这些探索将不断提高 AIHA 患者的疗效,明显改善 AIHA 患者的预后及生存质量。

参 考 文 献

- [1] 中华医学会血液学分会红细胞疾病(贫血)学组. 自身免疫性溶血性贫血诊断与治疗中国专家共识(2017 年版)[J]. 中华血液学杂志,2017,38(4):265-267.
- [2] Go RS, Winters JL, Kay NE. How I treat autoimmune hemolytic anemia [J]. Blood, 2017, 129(22): 2971-2979.
- [3] Aladjidi N, Leverger G, Leblanc T, et al. New insights into childhood autoimmune hemolytic anemia: French national observational study of 265 children [J]. Haematologica, 2011, 96(5): 655-663.
- [4] Lechner K, Jäger U. How I treat autoimmune hemolytic anemias in adults [J]. Blood, 2010, 116(11): 1831-1838.
- [5] 高清妍, 张凤奎. 自身免疫性溶血性贫血研究进展 [J]. 中华血液学杂志, 2016, 37(11): 1012-1016.
- [6] Gehrs BC, Friedberg RC. Autoimmune Hemolytic Anemia [J]. Am J Hematol, 2002, 69(4): 258-271.
- [7] Alison M, Friedmann MD, Karen EK, et al. Fatal autoimmune hemolytic anemia in a child due to warm-reactive immunoglobulin M antibody [J]. J Pediatr Hematology Oncol, 1998, 20(5): 502-505.
- [8] 李建平. Coombs 试验呈阴性自身免疫性溶血性贫血 [J]. 国际输血及血液学杂志, 2014, 37(3): 289-292.
- [9] Maung SW, Leahy M, O'Leary HM, et al. A multi-centre retrospective study of rituximab use in the treatment of relapsed or resistant warm autoimmune haemolytic anaemia [J]. Br J Haematol, 2013, 163(1): 118-122.
- [10] Reynaud Q, Durieu I, Dutertre M, et al. Efficacy and safety of rituximab in auto-immune hemolytic anemia: A meta-analysis of 21 studies [J]. Autoimmun Rev, 2015, 14(4): 304-313.
- [11] Barcellini W, Zaja F, Zaninoni A, et al. Low-dose rituximab in adult patients with idiopathic autoimmune hemolytic anemia: clinical efficacy and biologic studies [J]. Blood, 2012, 119(16): 3691-3697.
- [12] Birgens H, Frederiksen H, Hasselbalch HC, et al. A phase III randomized trial comparing glucocorticoid monotherapy versus glucocorticoid and rituximab in patients with autoimmune haemolytic anaemia [J]. Br J Haematol, 2013, 163(3): 393-399.
- [13] Röth A, Hüttmann A, Rother RP, et al. Long-term efficacy of the complement inhibitor eculizumab in cold agglutinin disease [J]. Blood, 2009, 113(16): 3885-3886.
- [14] Hosoba S, Jaye DL, Cohen C, et al. Successful treatment of severe immune hemolytic anemia after allogeneic stem cell transplantation with bortezomib: report of a case and review of literature [J]. Transfusion, 2015, 55(2): 259-264.
- [15] Mehta B, Mahadeo K, Zaw R, et al. Bortezomib for effective treatment of a child with refractory autoimmune hemolytic anemia post allogeneic hematopoietic stem cell transplant [J]. Pediatr Blood Cancer, 2014, 61(12): 2324-2325.
- [16] Wouters D, Stephan F, Strengers P, et al. C1-esterase inhibitor concentrate rescues erythrocytes from complement-mediated destruction in autoimmune hemolytic anemia [J]. Blood, 2013, 121(7): 1242-1244.
- [17] Manda S, Dunbar N, Marx-Wood CR, et al. Ibrutinib is an effective treatment of autoimmune haemolytic anaemia in chronic lymphocytic leukaemia [J]. Br J Haematol, 2015, 170(5): 734-736.
- [18] Molica S, Levato L, Mirabelli R. Chronic lymphocytic leukemia, autoimmune hemolytic anemia and ibrutinib: a case report and review of the literature [J]. Leuk Lymphoma, 2016, 57(3): 735-737.

(收稿日期:2019-07-16)

(本文编辑:周三凤)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊关于参考文献著录和核对的要求

请作者在投稿和修稿时,按《临床内科杂志》稿约参考文献著录格式要求著录参考文献。同时,参考文献必须由作者本人亲自阅读,并经书刊、光盘或网上查对核实过,以免出现差错。谢谢合作!