

双生子研究中二分结局变量的统计分析方法

吕筠 李立明

用来分析双生子样本中二分结局变量(如是否患某病或是否具有某种性状)的方法很多。传统的方法包括同病率(concordance rates)法和配对优势比(matched pair odds ratios)法。前者主要是用来确定遗传因素对疾病发展的影响;后者则是以同卵双生子同胞作为对照,检验环境暴露对疾病的作用。这两种方法计算简单,容易解释,但也有不尽人意之处。同病率法的结果受人群中基础患病率的影响很大,且无法利用两个都未患病的双生子对的信息,也不能利用测量到的环境指标;而配对比值比法无法评价遗传因素对疾病的影响。近年来较常使用的方法包括分层比值比法、广义估计公式法、logistic 回归分析法、公共相关模型法及 H-W 法等。与传统方法相比,这些方法在理论上更加完善,分析的内容更加丰富,结果更易于解释。笔者将对这些方法作简要介绍。

一、分层比值比法^[1,2]

Ramakrishnan 等在 1992 年提出以比值比(OR)作为双生子对间性状关联的测量值,来分析二分结局变量。首先研究者将双生子对中的两成员随机分配为指示(index)双生子及其双生子同胞(cotwin),随机选择是为了避免在分配过程中出现的偏性。然后研究者按照卵性对双生子样本进行分层,构造出一个 2×2×2 表,如表 1。

表1 分层比值比法的双生子样本数据结构

双生子同胞性状	指示双生子性状		
	有	无	合计
同卵(MZ)双生子			
有	a_1	b_1	m_{11}
无	c_1	d_1	m_{01}
合计	n_{11}	n_{01}	N_1
异卵(DZ)双生子			
有	a_2	b_2	m_{12}
无	c_2	d_2	m_{02}
合计	n_{12}	n_{02}	N_2

通过对卵别比值比(分别以 ψ_{MZ} 和 ψ_{DZ} 表示)进行加权平均,可以求出公共比值比(common odds ratio, ψ_F)的 Woolf-Haldane 估计值,可作为评测性状家庭聚集性的一个指标。

$$\ln \hat{\psi}_F = \frac{w_{MZ} \ln \hat{\psi}_{MZ} + w_{DZ} \ln \hat{\psi}_{DZ}}{w_{MZ} + w_{DZ}} \quad (1)$$

其中 w 为各层别比值比的权重

$$w_{MZ} = \left[\frac{1}{a_1} + \frac{1}{b_1} + \frac{1}{c_1} + \frac{1}{d_1} \right]^{-1}$$

作者单位:100083 北京大学公共卫生学院流行病与卫生统计学系(吕筠);中国疾病预防控制中心(李立明)

$$w_{DZ} = \left[\frac{1}{a_2} + \frac{1}{b_2} + \frac{1}{c_2} + \frac{1}{d_2} \right]^{-1} \quad (2)$$

比较 MZ 与 DZ 组内双生子对间疾病关联的大小是否存在差异,可以检验病因机制中的遗传作用。这里,同质性检验($H_0: \psi_{MZ} = \psi_{DZ}$)采用的是 Woolf-Haldane 检验法

$$\chi^2_W = \frac{(\ln \hat{\psi}_{MZ} - \ln \hat{\psi}_{DZ})^2}{w_{MZ}(\ln \hat{\psi}_{MZ}) + w_{DZ}(\ln \hat{\psi}_{DZ})} \quad (3)$$

其中 $\ln \hat{\psi}$ 近似服从正态分布,所以 χ^2_W 近似服从自由度为 1 的 χ^2 分布。分层比值比法适用于大样本量资料的分析。对于小样本来说,最好不用 Woolf-Haldane 估计值(ψ_F)来评价家庭聚集性,而使用 Mantel-Haenszel 或最大似然估计值。同样,我们可以用 Breslow-Day 或最大似然检验替代 χ^2_W 来进行卵别比值比的同质性检验。

Ramakrishnan 等提出的这种分层比值比法统计分析过程简单,手算即可完成。它既可以验证病因机制中的遗传因素、共同环境和特异环境的作用,也可以检验基因-环境间的交互作用(按照双生子卵性以及指示双生子某环境变量的暴露情况进行分层)和暴露-疾病间的关联强度(按照双生子同胞的患病状况及双生子卵性进行分层),既可评价遗传假说,又可检验非遗传假说。另外,其研究结果不受人群中基础患病率(或某性状在人群中所占比例)的影响。

但本方法也有不足之处,即研究者将双生子成员随机分配为指示双生子和双生子同胞,这样处理使得不同的研究者对同一批数据进行分析时很有可能会得出不同的结果。另外,分析无法计算出研究性状的遗传度,也不能得到反映遗传作用、共同环境作用及其交互作用大小的指标。如果想计算出方差成分还需要做进一步的统计处理。如遇到有单元格内计数为 0 时,还需要进行必要的调整。

二、广义估计公式法^[2,3]

为了克服对双生子成员进行随机分配所导致的结果的不稳定性,有研究者在分层比值比法的基础上对比值比的估计方法进行了适当的调整。由于这里估计比值比的方法是参考 Lipsitz 等提出的广义估计公式(generalized estimating equations, GEE)法,所以此种方法也以其命名。双生子数据结构可参见表 2。

表2 广义估计公式法的双生子样本数据结构

类别	频数			概率
	MZ	DZ	合计	
两成员都具有研究性状	n_{11}	n_{12}	n_1	$P_{1k}(\rho_k)$
仅一成员具有研究性状	n_{21}	n_{22}	n_2	$P_{2k}(\rho_k)$
两成员都不具有研究性状	n_{31}	n_{32}	n_3	$P_{3k}(\rho_k)$
合计	N_1	N_2	N	1

值得一提的是,表 2 与表 1 中的单元格间存在着一定的关系。即

$$a_k = n_{1k} \quad b_k + c_k = n_{2k} \quad d_k = n_{3k}$$

MZ 和 DZ 样本的比值比及其方差可用下列公式计算

$$\hat{\psi}_k = \frac{n_{1k}n_{3k}}{(n_{2k}/2)^2} \quad (4)$$

$$var(\ln \hat{\psi}_k) = \frac{1}{n_{1k}} + \frac{4}{n_{2k}} + \frac{1}{n_{3k}} \quad (5)$$

k 表示不同卵性组 ($k = 1, 2$)。至于同质性检验 ($H_0: \psi_{MZ} = \psi_{DZ}$) 仍可采用 Woolf-Haldane 检验法。

三、logistic 回归分析法^[1]

以 logistic 回归法来分析双生子样本的二分结局变量,主要是建立在非条件最大似然估计(unconditional maximum likelihood estimation)的基础上。收集到双生子样本后,仍然首先要对双生子对的两个成员进行随机分配,得到指示双生子及其双生子同胞。随后,可以建立以下回归模型

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_1 X_2 \quad (6)$$

其中, Y 表示指示双生子患病概率 P 的 logit 值,即

$$\text{logit} P = \ln \frac{P}{1-P}$$

X_1 表示双生子同胞的患病状况 ($X_1 = 1$, 患病; $X_1 = 0$, 未患病); X_2 表示卵性 ($X_2 = 1$, MZ; $X_2 = 0.5$, DZ); $X_1 X_2$ 是双生子同胞患病状况与卵性的交互项。

通过对 β_1 、 β_2 和 β_3 进行分析,可以检验基因与共同环境对患病概率的作用。双生子同胞患病变量的系数可以分不同卵性组表示:

$$\begin{aligned} \beta_{MZ} &= \beta_1 + 1.0\beta_3 \quad (X_2 = 1.0) \\ \beta_{DZ} &= \beta_1 + 0.5\beta_3 \quad (X_2 = 0.5) \end{aligned} \quad (7)$$

根据对数似然函数之差,就可以检验是否存在遗传的作用 ($H_0: \beta_3 = 0$),以及验证在存在加性遗传作用的情况下是否还存在共同环境的作用 ($H_0: \beta_1 = 0$)。如果卵性与双生子同胞患病状况的交互项没有显著性,则可将其从模型中去掉。如果模型中不包括交互项,则对应于双生子同胞患病变量的系数 β_{MZ} 和 β_{DZ} 实际上就是表示共同环境作用对疾病发展的影响。

另外,在上述模型的基础上进行扩展,得到

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 \quad (8)$$

其中,用 X_3 表示指示双生子暴露于特定环境变量的情况 ($X_3 = 1$ 暴露; $X_3 = 0$ 不暴露)。对 $\beta_3 = 0$ 进行似然比检验,可以判断特定环境对疾病是否有作用。而检验扩展模型

$$\begin{aligned} Y &= \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_1 X_2 + \beta_4 X_3 + \\ &\quad \beta_5 X_1 X_3 + \beta_6 X_2 X_3 + \beta_7 X_1 X_2 X_3 \end{aligned} \quad (9)$$

中的 $\beta_7 = 0$ 就可以验证基因-环境交互作用的存在。

logistic 方法既可以分别检验基因、共同环境及特定环境对疾病的作用,也可以验证基因与环境间的交互作用,而且这些检验可以同时在一个模型中完成。经过适当的变换,该法还可以检验多种遗传和非遗传假说,且其研究结果不受人群中基础患病率的影响。logistic 回归法优于分层比值比法

之处就在于,它可以得到反映基因、环境及其交互作用相对大小的指标。

但是,在回归方法中同时分析疾病结局与环境变量时一定要谨慎,如果这两者都受共同遗传作用的影响,那么由此得出的结论就有可能存在偏性。而且,同分层比值比法一样,此方法也要对双生子对进行随机分配。另外,logistic 回归分析对计算机硬件及软件有一定的要求,且需要研究者对回归模型有一定的理解。

四、公共相关模型法^[2,4]

Donner 等于 1995 年提出了公共相关模型(common correlation model)法,其双生子样本的数据结构如表 2。研究者用组内相关系数(intraclass correlation coefficient)表示双生子对两成员间性状的相关性。令 X_{ijk} 表示第 k 卵性组 ($k = 1, 2$) 第 i 对双生子 ($i = 1, 2, \dots, N$) 第 j 个同胞 ($j = 1, 2$) 的二分结局变量,令 $\pi_k = Pr(X_{ijk} = 1)$ 表示个体具有某性状的概率。假定同一卵性组内所有双生子对 (X_{i1}, X_{i2}) 间的相关性都相同,即为 ρ , 则 MZ 和 DZ 双生子组的相关系数分别为 ρ_1 和 ρ_2 。这样,公共相关模型可表示为

$$P_{1k}(\rho_k) = Pr(X_{i1k} = 1, X_{i2k} = 1) = \pi_k^2 + \pi_k(1 - \pi_k)\rho_k$$

$$P_{2k}(\rho_k) = Pr(X_{i1k} = 0, X_{i2k} = 1 \text{ 或 } X_{i1k} = 1, X_{i2k} = 0) = 2\pi_k(1 - \pi_k)(1 - \rho_k)$$

$$P_{3k}(\rho_k) = Pr(X_{i1k} = 0, X_{i2k} = 0) = (1 - \pi_k)^2 + \pi_k(1 - \pi_k)\rho_k$$

当 $\rho = 0$ 时,此模型可以简化为二项模型。以公共相关模型为基础,可以计算出 ρ 的最大似然估计值及其渐进方差。

比较 MZ 和 DZ 双生子样本中的相关性测量值,可以验证研究性状的发生机制中是否具有遗传成分。需要检验的无效假说为 $H_0: \rho_1 = \rho_2$, 统计检验方法可以采用正态理论法、最大似然估计(maximum likelihood estimation, MLE)法或拟和优度(goodness-of fit, GOF)法。

当样本量很大(如 $N_k = 200$),且 π 和 ρ 值又不很极端(如 $0.30 \leq \pi \leq 0.60$, $\rho \leq 0.60$)时,可以使用正态理论法(公式 10)或最大似然法(公式 11)。

$$Z = \frac{(\hat{\rho}_1 - \hat{\rho}_2)}{\sqrt{\hat{V}_1 + \hat{V}_2}} \quad (10)$$

$$\chi_M^2 = \frac{(\hat{\rho}_1 - \hat{\rho}_2)^2}{\hat{V}_1 + \hat{V}_2} \quad (11)$$

两种方法间的关系是 $\chi_M^2 = (Z)^2$ 。在公共相关模型下, Z 服从标准正态分布, χ_M^2 近似服从自由度为 1 的 χ^2 分布。

而当样本量较小(如 $N_k \leq 100$), π 值极端 (< 0.30 或 > 0.70) 或 ρ 的期望值很大 (≥ 0.60) 时,就不适合用上述方法来估计 ρ 的 95% 可信区间和进行假设检验,这时建议使用拟和优度法

$$\chi_G^2 = \sum_{k=1}^2 \sum_{i=1}^3 \frac{(n_{ik} - N_k \hat{P}_{ik}(\hat{\rho}))^2}{N_k \hat{P}_{ik}(\hat{\rho})} \quad (12)$$

GOF 法的优点在于其可靠的小样本特性,且此方法的应用不依赖于分布假设。但由于其复杂性,所以只当不适合使用 MLE 法或正态理论法时,才建议使用该方法。一般来

说,通过双生子登记系统收集到的样本量均很大,足以保证 MLE 法或正态理论法应用的有效性。拟和优度法通常只是在分析某特定亚组时或在其他一些特殊情况下(如研究对象的参加率很低时)才使用。

在双生子样本量较大时,Donner 等提出的公共相关模型法计算起来较为简单,与分层比值比法相比,本法不必对双生子对的两成员进行随机分配,避免了结果的不稳定性。另外,本法可以在缺乏研究性状遗传背景知识的情况下,估计双生子两成员间的相似性。除此之外,它还可以用来检验不同的遗传假说。例如,假定存在加性遗传作用,则 MZ 双生子对的相关程度就为 DZ 双生子对的 2 倍。这时, $2\hat{\rho}_1 - \hat{\rho}_2$ 的方差估计值可用 $4\hat{V}_1 + \hat{V}_2$ 表示,其中 \hat{V}_1 和 \hat{V}_2 分别表示 MZ 和 DZ 组内相关系数 $\hat{\rho}_1$ 和 $\hat{\rho}_2$ 的大样本方差。可以用这些方差估计值来检验加性或其他遗传模型成立的可能性。

不过,由于 MZ 双生子对间往往要比 DZ 双生子对间具有更相似的环境,所以表现出来的 MZ 双生子对的性状相似性高于 DZ 双生子对的相似性,既有可能是遗传因素作用的结果,也有可能是由 MZ 双生子对间更相似的环境所造成的,或者是两者同时起作用。而公共相关模型法无法将这两者作用区分开来。

五、H-W 法^{5,6,1}

此方法是由 Olson 等在 1996 年提出的。虽然也是用比值比来衡量双生子对间的疾病关联,但与分层比值比法不同,本方法不必对双生子成员进行随机分配,且两者的模型基础也不相同。H-W 法的双生子样本数据结构可参见表 2。双生子样本分为 3 组,假定 P_{1k} 、 P_{2k} 和 P_{3k} 分别表示一对双生子属于其中一组的概率,令 π 表示个体具有研究性状的概率。当双生子成员间的性状不存在关联时

$$P_{1k} = \pi_k^2 \quad P_{2k} = 2\pi_k(1 - \pi_k) \quad P_{3k} = (1 - \pi_k)^2$$

所以有 $4P_{1k}P_{3k} = P_{2k}^2$ 。此模型等同于检验 Hardy-Weinberg 平衡的模型,其使用的标准似然比或拟和优度 χ^2 检验也适用于这里。我们用 θ 表示双生子对间性状的关联,实际上, θ 可以被看作是一个比值比。

$$\hat{\theta}_k = \frac{P_{2k}^2}{4P_{1k}P_{3k}} \quad (13)$$

当 H_{rand} 无效假说成立时, $\theta = 1$ 。如果双生子成员间性状不一致的对数较少,则 $\theta < 1$,即存在家庭聚集性。

根据多项分布的标准化结果,可以用公式(14)来估计 θ

$$\hat{\theta}_k = \frac{n_{2k}^2 - n_{2k}}{4n_{1k}n_{3k}} \quad (14)$$

此估计值近似等于 GEE 法中比值比 ϕ_k 估计值的倒数。

当双生子样本量较大时,可用 T_{rand} 进行 θ 无效假设检验

$$T_{rand\ k} = \frac{\log_e \hat{\theta}_k}{\sqrt{\text{var}(\log_e \hat{\theta}_k)}} \quad (15)$$

此统计量服从标准正态分布。

本方法中的 θ_k 与前述的公共相关模型法中的 ρ_k 也存在着一定的关系,即

$$\theta_k = \left[1 + \frac{\rho_k}{\pi_k(1 - \pi_k)(1 - \rho_k)} \right]^{-1} \quad (16)$$

当 MZ 和 DZ 两双生子样本中的患病率相等时(即 $\pi_1 = \pi_2$),无效假设 $H_0: \rho_1 = \rho_2$ 就等价于 $H_{homog}: \theta_1 = \theta_2$ 。实际上,这种情况在以人群为基础的研究中是很常见的。

通过对 MZ 和 DZ 双生子样本的 θ 进行比较($H_{homog}: \theta_1 = \theta_2$),可以判断研究性状中是否具有遗传成分。令 $h_k(\theta_k) = n_{k2}^2 - n_{k2} - \theta_k 4n_{k1}n_{k3}$;如果同质性假说成立(即 $\theta_1 = \theta_2$),则 $\theta_k = \theta_0$ 时的 $h_k(\theta_k)$ 的期望值为 0。 $h_k(\theta_0)$ 的大样本方差为

$$\text{var}\{h_k(\theta_0)\} = 4(n_{k2}^3 - 3n_{k2}^2 + 2n_{k2})(1 - \theta_0) + \chi(n_{k2}^2 - n_{k2})(2N_k\theta_0 - 3\theta_0 + 2) \quad (17)$$

这里,用公共比值比

$$\hat{\theta} = \frac{\sum_{k=1}^2 \frac{n_{k2}^2 - n_{k2}}{\chi(2N_k - 1)}}{\sum_{k=1}^2 \frac{4n_{k1}n_{k3}}{\chi(2N_k - 1)}} \quad (18)$$

来估计 θ_0 。

进行同质性检验的统计量如下:

$$T_{homog}^2 = \sum_{k=1}^2 \frac{\{h_k(\hat{\theta})\}^2}{\text{var}\{h_k(\hat{\theta})\}} \quad (19)$$

当 $N_k \rightarrow \infty$ 时, T_{homog}^2 服从自由度为 1 的 χ^2 分布。此同质性检验类似于 Breslow-Day 检验,后者较其他同质性检验有更高的效力和较好的小样本特性。另外值得一提的是,任何 θ_0 的估计值都可以用于 T_{homog}^2 检验中,这里使用的 $\hat{\theta}$ 很像是一组 2×2 表中公共比值比的 Mantel-Haenszel 估计值,选用它是因为其计算简单可靠。不过,在 2×2 表的应用中, Mantel-Haenszel 估计值虽然可靠,但效率不高,进行同质性检验时很少会拒绝假设。这个问题在双生子样本分析时也可能出现。如果用非条件最大似然(ML)估计值来估计 θ_0 ,则会减少这个问题,但计算 ML 估计值的过程较为复杂。

当双生子样本量不是很大时,或者是某些单元格内的计数很小时,由上述大样本检验方法得到的结果就不太可靠。这时,需要使用精确的同质性检验。这种精确检验较为复杂,不过可以用 FORTRAN 软件包完成,这里不再详述。

H-W 法的计算较为简单,对于不同的样本量大小,有不同的方法。在其基础上进行扩展,还可以分析按人群或环境协变量分层后的双生子数据,也可分析三分性状。与公共相关模型法一样,本法也无法区分遗传作用和共同环境的作用。

六、几种同质性检验方法的比较

双生子研究的一个方面就是要通过比较 MZ 样本和 DZ 样本中的双生子对间相关性的差异来检验研究性状中是否存在遗传的作用,或者至少是证明其家庭聚集性。所以,用于比较两样本的同质性检验方法的效率和可靠性等对于整个研究来说都很重要。上面在讲述几种方法的同时也提到了多种同质性检验方法,包括 GOF 法、MLE 法、Woolf-Haldane 法、GEE 法和 Breslow-Day 法等。

Gao等^{2]}曾对前四种方法进行了比较。GOF和MLE法是在公共相关模型基础上的方法,它们是最可靠的。Woolf-Haldane法和GEE法都是以OR值作为关联测量值,当患病率 π 和组内相关系数 ρ 较极端时,如 $\pi \leq 0.1$ 或 $\rho \geq 0.9$,它们结果的可靠性就大打折扣。Woolf-Haldane法、GEE法和MLE法都可以被看作是Wald检验,一般来说,在小样本量的情况下,GOF和似然比法明显优于Wald型方法;不过,当无效假设为真时,Wald和似然比法会逐渐趋于一致。从研究效力来看,当I类误差率接近0.05时,这四种方法的效力一般没有太大的差异。

如果进一步比较公共相关模型下的两种方法,则可发现GOF法明显优于MLE法,尤其是当样本量为小到中等大小且 π 较极端时。例如,当样本量为25~50, $\pi = 0.1$ 时,GOF法的I类误差率仍接近0.05,而MLE的I类误差率非常大,至于另两种方法则很少拒绝无效假设,表现得极端保守。由此看来,GOF法以其简单、优越的小样本性质和在不利条件下的稳定可靠的特点,可被视为优先选择方法。在样本量很大且 π 值不很极端时,MLE法也可作为一种候选方法,其结果与GOF法基本等价。Ramakrishnan等^{1]}提出使用Woolf-Haldane检验法,因较方便,且为数学者所熟悉。

至于Breslow-Day法,它也是一种建立在比值比基础上的方法。该法适用于“大型/中型层”的数据结构,即层数少,而每层内的样本数量较大,相反,在“稀少数据”结构下,即层数多,而每层内的病例和对照数量较少时,Breslow-Day法表现出较低的效力。Jones等^{7]}对七种同质性检验进行比较的结果显示,在“大型/中型层”数据结构下,Breslow-Day法比其他六种方法有更高的效力和较好的小样本特性。

综上所述,目前可供研究者用来分析双生子样本中二分类结局变量的统计分析方法较多。这些方法各有利弊,在不同的条件下,方法本身的效率和可靠性也不尽相同。另外,同一份双生子样本使用不同的分析方法时可以得到不同的信息,所以建议多种方法并用,互相补充。

参 考 文 献

- 1 Ramakrishnan V, Goldberg J, Henderson WG, et al. Elementary methods for the analysis of dichotomous outcomes in unselected samples of twins. *Genet Epidemiol*, 1992, 9:273-287.
- 2 Gao XJ, Klar N, Donner A. Comparison of methods for analyzing binary data arising from two-sample twin studies. *Genet Epidemiol*, 1997, 14:349-363.
- 3 Lipsitz SR, Laird NM, Harrington DP. Generalized estimating equations for correlated binary data: using the odds ratio as a measure of association. *Biometrika*, 1991, 78:153-160.
- 4 Donner A, Klar N, Eliasziw M. Statistical methodology for estimating twin similarity with respect to a dichotomous trait. *Genet Epidemiol*, 1995, 12:267-277.
- 5 Olson JM, Witte JS, Elston RC et al. Association within twin pairs for a dichotomous trait. *Genet Epidemiol*, 1996, 13:489-499.
- 6 Olson JM, Foley M. Testing for homogeneity of Hardy-Weinberg disequilibrium using data sampled from several populations. *Biometrics*, 1996, 52:971-979.
- 7 Jones MP, O'Gorman TW, Lemke JH et al. A Monte Carlo investigation of homogeneity tests of the odds ratio under various sample size configurations. *Biometrics*, 1989, 45:171-181.

(收稿日期 2001-10-22)

(本文编辑:张林东)

中华预防医学会流行病学分会第五届委员会委员名单

名誉主任委员	郑锡文									
主任委员	李立明									
副主任委员	王滨有	姜庆五	汪 华	赵仲堂						
常 委	曾 光	胡永华	王 声	曲成毅	刘天锡					
	段广才	何 耀	丛黎明							
委 员	杨维中	李 辉	梁万年	贺 雄	唐耀武	曹务春	王建华	王擷秀		
	刘殿武	吴秉仁	许景田	周宝森	杜占森	张胜年	施 榕	薛广波		
	汤林华	徐耀初	汪 宁	陈 坤	叶冬青	严延生	梅家模	于国防		
	李自钊	张 瑜	李俊华	罗会明	张顺祥	董柏青	潘先海	栾荣生		
	贾庆良	王定明	任丽娟	姜祖刚	徐德忠	孟 蕾	石西安	瞿世和		
秘 书	王 岚									