

## · 实验室研究 ·

恙虫病东方体山东分离株 Sta56 基因全序列  
扩增及酶切分析

刘运喜 张倩 赵仲堂 杨占清 杨丽萍 张洋河 杨红 袁云娥  
魏华 索继江 邢玉斌 贾宁 高岩 曹务春

**【摘要】** 目的 明确山东恙虫病东方体(*Ot*)分离株 Sta56 基因全序列与其他已知的序列之间的遗传变异关系。方法 对从山东省费县恙虫病患者、黑线姬鼠、小盾纤恙螨体内分离的 3 株 *Ot* 分离株 Sta56 基因全序列进行聚合酶链反应(PCR)扩增;选取 4 种内切酶 *Hinf* I、*Hha* I、*Hae* III、*Pst* I 对 PCR 扩增产物进行限制性片段长度多态性分析(RFLP);对代表株 XDM2 株 Sta56 基因全序列测序,运用 Clustal X(5.0)和 PHYLIP 软件对测得的序列与 GenBank 中已知的 *Ot* 序列构建系统发育树,进行比较分析。结果 患者分离株 B-16、黑线姬鼠分离株 FXS2 和小盾纤恙螨分离株 XDM2 均扩增出接近 1.6 kbp 的目的条带。*Ot* 山东分离株 PCR 扩增产物经 *Hha* I、*Hinf* I、*Hae* III、*Pst* I 酶切后图谱一致,但与国际参考株 Gilliam、Karp、Kato 株的 RFLP 图谱均不相同;虽与日本地方株 Kawasaki 株的酶切图谱有相似之处,但存在酶切位点的突变。序列同源性分析结果显示,山东地区代表株 XDM2 株 Sta56 基因全序列与 Kawasaki 型相应的序列同源性最高,为 97%,氨基酸序列同源性为 92%。**结论** 经 Sta56 基因全序列分析,*Ot* 山东分离株基因型虽与日本 Kawasaki 型相似,但也存在差异。

**【关键词】** 恙虫病东方体;基因,Sta56;核苷酸限制性片段长度多态性分析;序列测定

**Amplification and restriction fragment length polymorphism analysis on the complete sequence of Sta56 gene of *Orientia tsutsugamushi* isolated from Shandong area** LIU Yun-xi\*, ZHANG Qian, ZHAO Zhong-tang, YANG Zhan-qing, YANG Li-ping, ZHANG Pan-he, YANG Hong, YUAN Yun-e, WEI Hua, SUO Ji-jiang, XING Yu-bin, JIA Ning, GAO Yan, CAO Wu-chun. \*General Hospital of PLA, Beijing 100853, China

Corresponding author: CAO Wu-chun, Email: caowc@nic.bmi.ac.cn Institute of Microbiology and Epidemiology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China

**【Abstract】 Objective** To analyze the genetic differences of *Orientia tsutsugamushi* (*Ot*) Sta56 gene between Shandong isolates and other strains deposited in GenBank. **Methods** PCR and restriction fragment length polymorphism (RFLP) were used to amplify the complete sequence of *Ot*-Sta56 gene. RFLP profiles of *Ot* were predicted by a computer program according to their complete sequences of *Ot*-Sta56 gene. PCR amplicon from XDM2 strain was sequenced and analyzed by Clustal X (1.8) and PHYLIP software. **Results** The complete sequences (about 1.6 kbp) of *Ot*-Sta56 gene were amplified from B16 strain (isolated from patients), FXS2 strain (isolated from *A. agrarius*) and XDM2 strain. Four species of restriction endonucleases (*Hha* I, *Hinf* I, *Hae* III, *Pst* I) were used to digest the PCR amplicons from the 3 isolates. When comparing with the RFLP profiles of prototype *Ot*, the RFLP profiles of PCR amplicons from the 3 isolates were similar to those of Japan Kawasaki strain, but were quite different from the international reference strains Gilliam, Karp, Kato. Results from DNA sequence analysis showed that the complete sequence of *Ot*-Sta56 gene homology to Japan Kawasaki strain of XDM2 strain was 97%, and deduced amino acid sequence was 92%. **Conclusion** Data from the complete sequence of Sta56 gene indicated that the genotypes of *Ot* isolates in Shandong province were similar, but with distinction from the Kawasaki strain.

**【Key words】** *Orientia tsutsugamushi*; Gene, Sta56; Restriction fragment length polymorphism; Complete sequence

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30371237);中国博士后科学基金课题资助项目(2005038330)

作者单位:100853 北京,解放军总医院(刘运喜、袁云娥、魏华、索继江、邢玉斌、贾宁、高岩);军事医学科学院微生物流行病研究所(张倩、张洋河、杨红、曹务春);山东大学公共卫生学院(赵仲堂、杨丽萍);济南军区联勤部疾病预防控制中心(杨占清)

刘运喜、张倩同为第一作者

通讯作者:曹务春, Email: caowc@nic.bmi.ac.cn

恙虫病是由恙虫病东方体 (*Orientia tsutsugamushi*, *Ot*) 感染人所致的自然疫源性疾病, 其病原体是一类以恙螨为传播媒介、专性细胞内寄生的微生物。*Ot* 的鉴定分型过去多采用血清学方法。近年来随着分子生物学技术的发展, 主要采用聚合酶链反应 (PCR)、PCR/核苷酸限制性片段长度多态性分析 (RFLP) 和目的基因序列测定来确定 *Ot* 基因型别<sup>[1-3]</sup>。为了从基因水平对山东地区 *Ot* 分离株进行进一步鉴定和分型, 阐明该地区 *Ot* 分离株 Sta56 基因全序列与其他已知的序列之间的遗传变异关系, 本文应用 PCR 结合 RFLP 及基因序列测定等方法, 对 1995-2003 年间从山东省费县分离到的 3 株 *Ot* 分离株 Sta56 基因全序列进行了分析, 并与已知序列的参考株进行了比较, 结果报告如下。

## 材料与方 法

### 一、材料

1. 国际参考株: Gilliam、Karp、Kato 3 株国际参考株由军事医学科学院微生物流行病学研究所提供。

2. 分离株: 患者分离株 B-16、黑线姬鼠分离株 FXS2 和小盾纤恙螨分离株 XDM2 均来自山东省费县方城镇。

3. 主要试剂与仪器: Taq 聚合酶及相应的 PCR 试剂为大连宝生物工程有限公司产品; RNaseA 购自美国 aMReSCO。蛋白酶 K、溶菌酶购自上海生工生物公司。核苷酸内切酶 *Hha* I、*Hinf* I、*Hae* III、*Pst* I 为美国 Promega 公司产品; 100 bp DNA Ladder Plus、1 kb DNA Ladder 为 MBI Fermentas 公司产品; PCR 扩增仪为 ABI 2700。

### 二、方法:

#### 1. PCR 扩增与酶切分析:

(1) 引物设计与合成: 参考文献[4,5]发表的 *Ot*-Sta56 基因全序列 (GenBank 中的序列号 M33267) 合成一对引物: 引物 A: 5'-AAA TTA TGT TAA TTG CTA GTG CAA TGT CTG-3' (9~38); 引物 B: 5'-CTA GAA GTT ATA GCG TAC ACC TGC ACT TGC-3' (1538~1567)。产物: 约 1.6 kbp。

(2) DNA 的提取: 参考文献[6]: ①取分离株传代小鼠脾 0.1~0.5 g, 研磨, 加 1× TE 缓冲液, 3000 g 离心 5 min, 取沉淀; ②加入 400 μl 裂解缓冲液 [10 mmol/L Tris (pH 值 8.0), 0.1 mol/L EDTA, 0.5% SDS], 加 10 μl 蛋白酶 K (20 mg/ml) 至终浓度 0.5 mg/ml, 混匀, 加 2 μl 溶菌酶 (4 mg/ml), 50℃ 水

浴 6 h; ③加入等体积酚/氯仿/异戊醇 (25:24:1), 混匀 3~5 min, 5000 g 离心 5 min, 取水相, 重复 ③ 2~3 次; ④取水相, 加 1/10 体积 3 mol/L NaAc, RNaseA (10 mg/ml) 至终浓度 0.25~0.3 μg/μl, 37℃ 孵育 30 min; ⑤加 2.5 倍体积预冷的无水乙醇, 置 -20℃ 过夜; ⑥ 10 000 g 离心 15 min, 沉淀用 75% 乙醇洗涤 2 次 (每次 10 000 g, 离心 10 min), 待乙醇挥发干净后, 加 20 μl 无菌三蒸水溶解, -20℃ 备用。

(3) PCR: 反应总体积为 100 μl, 其中 74 μl 无菌三蒸水; 10 μl 10× PCR buffer; 8 μl 15 mmol/L MgCl<sub>2</sub>; 2 μl 10 mmol/L dNTP; 2 μl Taq 酶 (5 U/μl); 1 μl 10 μmol/L 引物 A, 1 μl 10 μmol/L 引物 B; 2 μl DNA 模板。反应条件: 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 1 min, 56℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 2 min, 共 35 个循环, 最后 72℃ 再延伸 10 min。取 PCR 产物 10 μl 进行 1.6% 琼脂糖电泳, EB 染色, 紫外灯下见有约 1.6 kbp 带者为阳性。实验同时设阳性和阴性对照。阳性对照为 Gilliam、Karp、Kato 3 株国际参考株, 阴性对照为无菌三蒸水。

(4) RFLP 分析: 选取 4 种内切酶 *Hinf* I、*Hha* I、*Hae* III、*Pst* I, 取上述扩增产物 10 μl 与 2 μl TE 10× 缓冲液、5 U 限制性内切酶, 置于无菌的 0.5 ml 离心管, 补充三蒸水至 20 μl, 混匀后 37℃ 水浴 3 h。取 PCR 产物 10 μl 进行 3% 琼脂糖电泳, EB 染色, 紫外灯下观察拍照。

#### 2. *Ot*-Sta56 基因全序列测定:

(1) 测序策略: 由于 3 个分离株酶切图谱一致, 随机选出 1 个代表株 XDM2 株 (分离自小盾纤恙螨) 进行测序。参考已发表的文献[1], 根据 Kawasaki 基因序列设计 3 对引物 (表 1), 将其 *Ot*-Sta56 基因全序列分前、中、后三段扩增, 然后加以拼接。

表 1 *Ot*-Sta56 基因全序列扩增产物 (1.6 kbp)

测序所用引物		
引物名称	序 列	位 置
A	5'-AAA TTA TGT TAA TTG CTA GTG CAA TGT CTG-3' (forward)	567~596
F	5'-AGC GCT AGG TTT ATT AGC AT-3' (reverse)	1298~1279
2S	5'-TTT GGG AGT TGA TAC TGA CAT TCT T-3' (forward)	998~1022
2A	5'-TCC ATA GCT TTC CTA ATT CCT GC-3' (reverse)	1699~1677
3S	5'-AGA TTC AGC AAG CGC AGC AA-3' (forward)	1528~1547
3A	5'-CTA GGG ATC CCG ACA GAT GCA CTA TTA GGC-3' (reverse)	2127~2104

(2) PCR 扩增与纯化: 反应总体积为 25 μl, 反应条件: 94℃ 5 min → 94℃ 30 s, 57℃ 2 min, 70℃

2 min→72℃ 10 min, 扩增 30 个循环。取 PCR 产物 10 μl 进行 1.6% 琼脂糖电泳, EB 染色, 紫外灯下分别见有 729 bp、701 bp、599 bp 带者为阳性。实验同时设阳性和阴性对照。阳性对照为 Karp 株, 阴性对照为无菌三蒸水。

采用美国 Millipore 公司生产的 Ultrafree-DA, 一步离心法从琼脂糖中回收 DNA 片段。具体做法: 在紫外灯下切下包含目的片段的琼脂糖胶条, 放入碎胶器中, 然后盖上盖子, 放入离心机, 5000 g 离心 15 min, 将碎胶器及 Ultrafree-MC 取出丢弃。加 2.5 倍体积的无水乙醇 -20℃ 过夜, 10 000 g 离心 15 min, 去上清, 沉淀用 70% 乙醇洗 2 次, 蒸干后, 加 20 μl 无菌三蒸水重溶, -20℃ 冻存备用。

(3) 序列同源性和系统发育树分析: 将 XDM2 株 Sta56 基因前、中、后三段 PCR 扩增产物纯化后作为序列测定模板, 分别以引物 F、引物 2S、引物 3S 作为序列测序引物, 送北京三博远志生物公司, 采用双向测序法测得碱基序列。对测得的序列进行拼接, 获得 Sta56 基因全序列。采用 BLAST 软件对测得的 XDM2 株 Sta56 基因全序列与 GenBank 中已有的参考序列进行同源性分析, 并运用 Clustal X 1.8 和 PHYLIP 软件建立系统发育树。

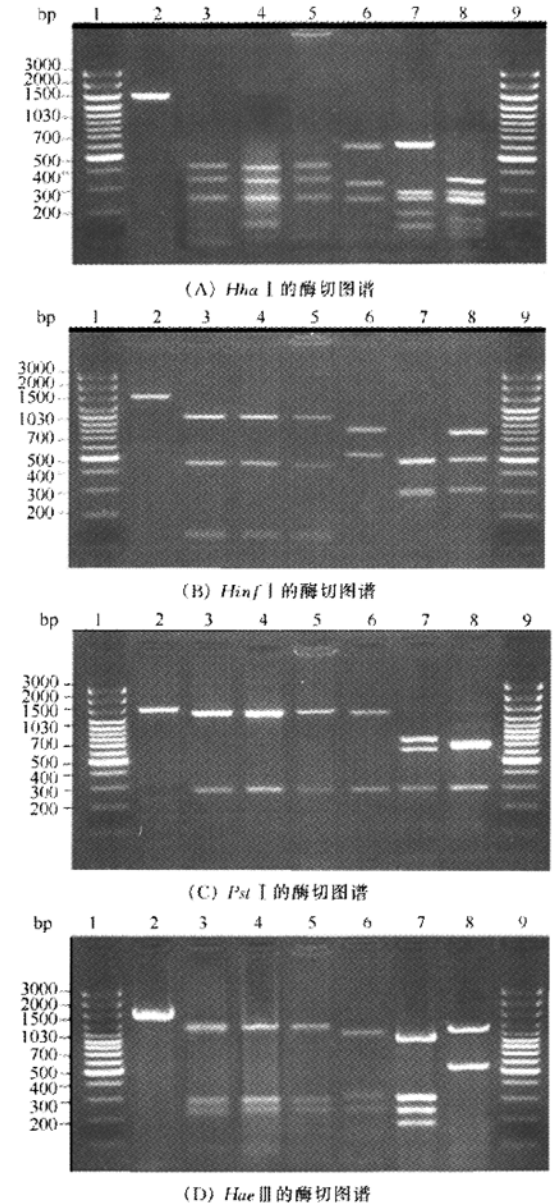
### 结 果

#### 一、PCR 扩增与酶切分析

1. PCR 扩增: Gilliam、Karp、Kato 3 株 *Ot* 国际参考株提取的 DNA 经引物 A 和引物 B 扩增后均见有接近 1.6 kbp 的扩增带。山东省费县地区的 3 个分离株: B-16 株、FXS2 株、XDM2 株亦扩增出接近 1.6 kbp 的条带。

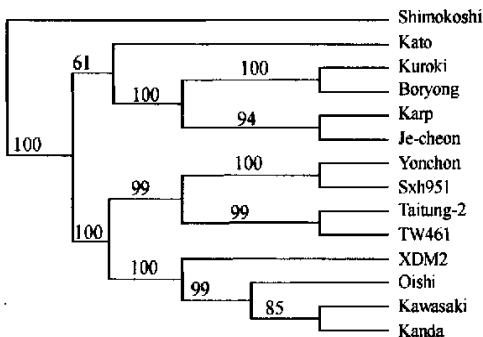
2. RFLP: 3 株国际参考株 *Ot*-DNA Sta56 基因 1.6 kbp 扩增产物, 用 4 种内切酶 (*Hha*I、*Hinf*I、*Hae*III、*Pst*I) 切割后的片段大小与预期的酶切结果相同。3 株 *Ot* 山东分离株 B-16、FXS2、XDM2 株 1.6 kbp 产物经 *Hha*I、*Hinf*I、*Hae*III、*Pst*I 酶切后图谱一致, 但与 3 株国际参考株呈现出不同的 RFLP 图谱, 虽与日本地方株 Kawasaki 株预期的酶切图谱有相似之处, 但有很大差异。从 *Hinf*I 的酶切图谱中可见, B-16、FXS2、XDM2 株存在 420 bp、376 bp、250 bp 3 条带, 与 Kawasaki 株的预期酶切图谱一致; 在 *Hha*I 的酶切图谱中, B-16、FXS2、XDM2 株有 465 bp 和 1030 bp 2 条带, 而通过 Vector NTI 软件分析, Kawasaki 株预期应被切割为 131 bp、152 bp、367 bp、

465 bp 及 588 bp 5 条带, 表明 *Ot* 山东分离株 Sta56 基因上的 2 个 *Hha*I 酶切位点发生了变异; 在 *Hae*III 的酶切图谱中, B-16、FXS2、XDM2 株可见 274 bp 和 1316 bp 2 条带, 而 Kawasaki 株无 *Hae*III 酶切位点, 应不存在酶切条带; 同时在 *Pst*I 酶切图谱中 B-16、FXS2、XDM2 株有 237 bp、279 bp 和 1186 bp 3 条带, Kawasaki 株预期酶切条带仅为 237 bp、1466 bp 2 条带。具体结果见图 1 A~D。



注: 1、9: Marker (100 bp); 2: 未切割的 PCR 产物 (1.6 kbp); 3: B-16; 4: FXS2; 5: XDM2; 6: Kato; 7: Karp; 8: Gilliam  
 图 1 4 种核酸内切酶切割 *Ot*-Sta56 基因全序列扩增产物 (1.6 kbp) 3% 琼脂糖电泳图谱

3. *Ot*-Sta56 基因同源性分析: XDM2 株 *Ot*-Sta56 基因全序列与 Karp、Kato、Kawasaki、Sxh951、Shimokoshi、Kuroki、Je-cheon 株等参考株的同源性比较结果见图 2。可见 XDM2 株碱基序列与 Kawasaki 型相应 DNA 片段的碱基序列同源性最高,为 97%,推定的氨基酸序列同源性为 92%,应属于 Kawasaki 型。在系统发育树中, XDM2 株与 Kawasaki 株属同一分支。运用 Vector NTI 及 DNASTar 软件比较分析 XDM2 株与 Kawasaki 株全基因序列,发现 XDM2 株酶切位点及对应氨基酸发生如下变异:① *Hha* I 酶切位点:第 366 位点由碱基 C 变为 T,未引起氨基酸变化,第 830 位点由碱基 G 变为 A,对应氨基酸由甘氨酸变为天冬氨酸;② *Pst* I 酶切位点:第 515 位点由碱基 A 变为 C,对应氨基酸由谷氨酸变为丙氨酸;③ *Hae* III 酶切位点:第 1292 位点由碱基 C 变为 G,对应氨基酸由丙氨酸变为甘氨酸。



注: GenBank 中的序列号: Karp (M33004), Kato (M63382), Kawasaki (M63383), Kuroki (M63380), Je-cheon (AF430143), Shimokoshi (M63381), Yonchon (U19903), Sxh951 (AF050669), Oishi (AF173037), Kanda (AF173039), TW461 (AY222631), Boryong (L04956), Taitung-2 (AY335819), XDM2 (DQ514320)

图2 基于 *Ot*-Sta56 基因全序列构建 *Ot* 山东分离株 (XDM2 株)与其他已知序列 *Ot* 的系统发育树

### 讨 论

本研究首次从山东省费县地区恙虫病患者、黑线姬鼠、小盾纤恙螨体内分离的 B-16、FXS2 及 XDM2 株扩增出 *Ot*-Sta56 基因全序列 (1.6 kbp 左右),并对扩增产物进行 RFLP 和序列分析,研究结果不仅进一步证实山东地区恙虫病流行株为 Kawasaki 型,而且为了解恙虫病东方体菌株之间的演变关系奠定了基础。

近十几年来已研发出多种基因分型方法,主要包括质粒分析、核酸分子杂交、RFLP、rRNA 分型、

PCR 技术及核苷酸序列分析等。PCR/RFLP 技术仅用 10 pg 的 DNA 模板就能扩增出  $10^9$  个拷贝的 DNA<sup>[7]</sup>,并能确定不同菌株的基因型。本文应用 PCR/RFLP 分析了 3 株 *Ot* 山东分离株 Sta56 基因全序列,发现 3 株分离株酶切图谱与 3 株国际参考株 (Gilliam、Karp、Kato 株)均不同,虽与日本地方株 Kawasaki 株预期酶切图谱有相似之处,但存在酶切位点突变。3 株 *Ot* 分离株经 *Hha* I、*Hinf* I、*Hae* III、*Pst* I 酶切后图谱一致,即表明从恙虫病流行季节患者、黑线姬鼠、小盾纤恙螨体内获得的 *Ot* 基因型一致,因而从分子生物学水平确定三者之间的宿主、媒介的关系。

我国恙虫病东方体的基因型别多样,南方恙虫病老疫源地中 *Ot* 血清型/基因型主要为 Gilliam 和 Karp 型,如福建、广东地区为 Karp 型,浙江、广西地区主要为 Gilliam 型,湖南西部为 Karp、Gilliam 和 TA763 型。而在北方新疫源地中情况有所不同,如江苏省北部、山东省南部 *Ot* 基因型为 Kawasaki 型,山西省 *Ot* 基因型为 Yonchon 型,辽宁、吉林省鼠中 *Ot* 分离株至少存在 Gilliam 和 Karp 型两种型别<sup>[1,2,8]</sup>。但这些结论主要是基于对 *Ot*-Sta56 或 Sta58 基因部分序列扩增与分型的结果,未对 Sta56 基因全序列进行分析。本研究在酶切分析的基础上,进一步采用核苷酸序列分析技术,对从山东地区分离到的 XDM2 株 Sta56 基因全序列进行测定,并与其他已知序列比较。结果显示与 Kawasaki 株碱基序列同源性最高,为 97%,氨基酸序列同源性为 92%,应属于 Kawasaki 型。从系统发育树中可见, XDM2 株与 Kawasaki 株属同一分支,该结果与我们对山东地区 *Ot* 分离株 Sta56 基因部分序列扩增与分型研究的结果相吻合<sup>[8]</sup>,表明该方法分型准确,具有较好的重复性和稳定性。运用 Vector NTI 软件比较 XDM2 株与 Kawasaki 株基因全序列,发现 XDM2 株部分酶切位点及对应氨基酸发生了变异,正是这些改变造成山东地区分离株与日本 Kawasaki 株酶切图谱的差异。另外,部分酶切位点的改变引起了对应氨基酸的改变,提示其蛋白功能及生物学特性可能会发生相应改变,值得进一步扩大样本量进行深入研究。

### 参 考 文 献

[1] Ohashi N, Nashimoto H, Ikeda H, et al. Diversity of immunodominant 56-kDa type specific antigen (TSA) of *Rickettsia tsutsugamushi*. J Biol Chem, 1992, 267(18):12728-12735.  
[2] 郭恒彬,吴光华,唐家琪,等. 应用 nPCR 发现我国 Kawasaki 型

恙虫病立克次体. 中国人兽共患病杂志, 1995, 11(2): 22-24.

[3] 郭恒彬, 唐家琪, 李先富, 等. 我国新型恙虫病立克次体目标基因的 PCR/RFLP 和序列分析研究. 中国公共卫生学报, 1997, 6(4): 193-196.

[4] Tamura A, Ohashi N, Koyama Y, et al. Characterization of *Orientia tsutsugamushi* isolated in Taiwan by immunofluorescence and restriction fragment length polymorphism analyses. FEMS Microbiol Lett, 1997, 150: 225-231.

[5] Enatsu T, Urakami H, Tamura A, et al. Phylogenetic analysis of *Orientia tsutsugamushi* strains based on the sequence homologies

of 56-kDa type-specific antigen genes. FEMS Microbiol Lett, 1999, 180: 163-169.

[6] 陈香蕊. 恙虫病和恙虫病东方体. 北京: 军事医学科学出版社, 2001: 176-179.

[7] 林万明. 核酸探针杂交实验技术. 北京: 中国科学技术出版社, 1991: 126-128.

[8] 刘运喜, 高媛, 赵仲堂, 等. 山东地区恙虫病东方体 Sta56 基因片段扩增与分型研究. 中华流行病学杂志, 2004, 25(8): 698-701. (收稿日期: 2007-05-10) (本文编辑: 张林东)

• 疾病控制 •

广州地区大学生慢性前列腺炎患病率调查

刘步平

慢性前列腺炎(CP)严重危害中青年男性身心健康, 患病率呈上升趋势<sup>[1]</sup>, 但国内迄今未见大学生 CP 的报道, 故笔者在 2006 年 4 月调查了广州地区部分学校大学生 CP 的患病率。

1. 对象与方法: 随机抽取广州中医药大学、星海音乐学院、华南师范大学、中山大学的在校男生 1682 人, 告知调研意义及隐私保护措施。其中 1203 人愿意消毒外生殖器, 接受前列腺直肠指诊, 并全部取得前列腺液(EPS)镜检。采用卫生部《中药新药治疗慢性前列腺炎的临床研究指导原则》的诊断标准<sup>[2]</sup>, 按专业、年龄、居住区、生源地、经济状况、与同学关系、学业成绩分组, 比较患病率的组间差异。数据录入计算机, 用 SPSS 10.0 软件进行  $\chi^2$  检验。

2. 结果: 广州地区大学生的 CP 患病率为 46.63%, 且患病率与学生的经济状况、学业成绩呈负相关, 不同专业、年龄、同学关系融洽度男生 CP 患病率的差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 不同居住区、生源地、经济状况、学业成绩男生 CP 患病率的差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。见表 1。

3. 讨论: 心理异常、吸烟、喝酒、久坐、骑跨位、不当性行为和长期性压抑等, 均可增加 CP 患病率<sup>[3]</sup>。广州大学生一方面关注家庭经济状况和学业成绩, 家境贫寒和学业成绩差者承受更大压力, 更易出现心理异常<sup>[4]</sup>; 另一方面对性问题敏感, 频繁接受性刺激后, 通过手淫不足以释放性压力, 容易出现性压抑和错误性行为, 有多个性伴侣、不洁性交、肛交者分别占 6.01%、7.20% 和 2.10%; 同时 68.27% 的调查对象经常或总是骑自行车, 身处气候潮湿的南方地区容易发生感染, 故本研究的 CP 患病率高于文献报道的 2.5%~40.0%<sup>[5]</sup>, 且患病率与所学专业无关, 接受性刺激多的市区大学生的 CP 患病率明显高于县城和乡镇大学生, 南方学生明显高于北方学生。大学生间无根本性的利益冲突, 关系不会太僵化, 且年龄集中在 16~24 岁, 故本研究显示广州地区大学生的 CP 患病率与同学关系融洽度及年龄无明显相关性。

表1 广州地区部分在校大学生按不同个人基本情况分组的 CP 患病率比较

基本情况	检查例数	病例数	患病率(%)	$\chi^2$ 值	P 值
专业				0.510	0.475
医学	889	420	47.24		
非医学	314	141	44.90		
年龄(岁)				0.906	0.636
16~	154	68	44.16		
19~	661	316	47.81		
22~	388	177	45.62		
居住区				24.148	0.000 <sup>a</sup>
南方	975	488	50.05		
北方	228	73	32.02		
生源地				12.858	0.002 <sup>a</sup>
市区	437	226	51.72		
县城	344	134	38.95		
乡镇	422	201	47.63		
经济状况				52.258	0.000 <sup>a</sup>
较差	422	249	59.00		
一般	407	187	45.95		
较好	374	125	33.42		
与同学关系				5.754	0.056
较差	298	145	48.66		
一般	592	256	43.24		
较好	313	160	51.12		
学业成绩				54.498	0.000 <sup>a</sup>
较差	549	298	54.28		
一般	416	204	49.04		
较好	238	59	24.79		
合计	1203	561	46.63		

注: <sup>a</sup> $P < 0.01$

参 考 文 献

[1] 郭应禄, 李宏军. 前列腺炎. 北京: 人民军医出版社, 2002: 88-97.

[2] 中华人民共和国卫生部. 中药新药临床研究指导原则(第三辑). 1997: 52.

[3] 李卫真. 慢性细菌性前列腺炎的辨治体会. 中国中医药信息杂志, 2003, 10(6): 78-79.

[4] 范瑞泉, 陈维清. 广州地区某大学在校大学生心理压力来源与特征. 中国高等医学教育, 2007, 21(1): 67-68.

[5] 袁涛, 姜启全, 于崔冬, 等. 慢性前列腺炎心理相关因素调查及分析. 中国男科学杂志, 2005, 19(2): 45-46.

(收稿日期: 2006-12-28)

(本文编辑: 张林东)