

· 临床研究 ·

三个 Stargardt 病家系基因型和临床表型分析

容维宁 马润清 房心荷 盛迅伦

750001 宁夏回族自治区人民医院 宁夏眼科医院

通信作者:盛迅伦, Email: shengxunlun@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.07.013

【摘要】 目的 分析 Stargardt 病基因型与临床表型之间的关系。**方法** 于 2017 年 1 月至 2017 年 9 月在宁夏眼科医院纳入 3 个 Stargardt 病家系,采集家系成员相关病史资料,对家系成员进行裸眼视力和最佳矫正视力(BCVA)测定、眼底检查、光相干断层扫描(OCT)、荧光素眼底血管造影(FFA)和视觉电生理检查,评估患者的眼部表型。采集每个家系先证者和 1 名表型正常者外周血各 5 ml,用 Agilent 液相捕获技术、PCR 和直接测序技术对 3 个家系的基因突变位点进行检测和鉴定,结合基因检测结果对患者临床表型与基因型之间的关系进行分析。**结果** 纳入的 3 个 Stargardt 家系中 2 个为常染色体隐性遗传,1 个家系为假性常染色体显性遗传,在 *ABCA4* 基因上共检测到致病性突变位点 5 个,其中 p. F2188S 和 p. Y345C 突变位点为首次发现。3 个家系均携带复合杂合突变,3 个家系的患者中仅 1 例患者发病年龄为 50 岁,其他患者均于青少年期发病。所有患者视力损害严重,OCT 显示黄斑中心凹厚度明显变薄,外核层和椭圆体带消失,RPE 层反射不均匀;FFA 显示黄斑部不规则高荧光。**结论** *ABCA4* 基因突变导致的 Stargardt 病患者多为复合杂合突变,具有发病年龄小、眼底表现各异及视力损害严重的特点。二代测序技术在诊断 Stargardt 病方面具有快速、高效等优点。

【关键词】 Stargardt 病; 基因型; 临床表型; 家系

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81160124, 81260154, 81760180); 宁夏回族自治区自然科学基金项目 (NZ16193)

Analysis of the genotype and phenotype in 3 pedigrees with Stargardt disease Rong Weining, Ma Runqing, Fang Xinhe, Sheng Xunlun

Ningxia Eye Hospital, People's Hospital of Ningxia Hui Autonomous Region, Ningxia 750001, China

Corresponding author: Sheng Xunlun, Email: shengxunlun@163.com

[Abstract] Objective To analyze the relationship between genotype and phenotype in 3 pedigrees with Stargardt disease. **Methods** Three pedigrees with Stargardt disease were included in Ningxia Eye Hospital from January 2017 to September 2017. The clinical features of patients and other family members were evaluated by ophthalmic examinations, including visual acuity, best corrected visual acuity (BCVA), fundus examination, optical coherence tomography (OCT), fundus fluorescein angiography (FFA) and electroretinogram (ERG). The periphery blood sample of 5 ml from patients and 1 family member with normal phenotype in each family were collected. The next generation sequencing, PCR and direct sequencing were used to confirm the disease-causing mutation. The relationship between genotype and phenotype was analyzed. This study was approved by Ethic Committee of Ningxia Eye Hospital and informed consent was obtained from each subject. **Results** In 3 Stargardt pedigrees, 2 pedigrees showed autosomal recessive inheritance, and 1 pedigree was pseudodominant inheritance. Five mutations on *ABCA4* gene were detected and p. F2188S and p. Y345C were novel mutations. All pedigrees carried two heterozygous mutation. The onset age of the patients were adolescence except just one patient who suffered at the age of 50 years old. The visual acuity was severely affected and the OCT indicated different degrees of macular atrophy. The results of the ocular fundus photography and the FFA were variable. **Conclusions** The patients with stargardt disease often carry heterozygous mutation on *ABCA4* gene and available characteristics, including early onset age, varying ocular fundus and severe visual impairment. Next generation sequencing technique shows the advantages of rapid and high efficiency in the diagnosis of Stargardt disease.

[Key words] Stargardt disease; Genotype; Phenotype; Pedigree

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81160124, 81260154, 81760180); National Natural Science Foundation of Ningxia Municipality (NZ16193)

Stargardt病全球发病率约为 1/10 000,多于青少年时期发病,平均发病年龄为 15.2 岁^[1-2]。Stargardt 病主要损害中心视力和视野,导致双侧进行性黄斑区视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 和神经上皮萎缩,其组织病理学改变为 RPE 细胞层脂褐质沉积以及感光细胞的丢失和死亡^[3]。既往研究发现 *ABCA4* 基因是不同种族和人群 Stargardt 病常见的致病基因^[4]。*ABCA4* 基因位于染色体 1p22.1,是 ATP 结合盒转运体基因亚家族 A 中的一员,编码视网膜上光感受器细胞特异的 ATP 结合盒转运蛋白,全长约 8 kb,含 50 个外显子^[5]。ATP 结合盒转运蛋白仅表达于脊椎动物视网膜的视锥细胞和视杆细胞的外节盘膜上,在视网膜内信息的跨膜传递和转换过程中发挥作用。同时, *PRPH2*、*VMD2*、*ELOVL4* 和 *PROM1* 基因突变可引起部分性 Stargardt 病或临床表型的、类似 Stargardt 病的眼病^[6]。本研究对 *ABCA4* 基因所致 Stargardt 病家系的基因型和临床表型进行分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料

于 2017 年 1 月至 2017 年 9 月在宁夏眼科医院纳入 3 个 Stargardt 病家系。所有患者及其家庭成员均行裂隙灯显微镜检查和间接检眼镜检查及视野、光相干断层扫描 (optical coherence tomography, OCT)、荧光素眼底血管造影 (fundus fluorescein angiography, FFA) 和视网膜电图 (electroretinography, ERG) 检查。询问并记录其家族史、婚育史及全身其他疾病史,确定遗传方式,绘制家系图。纳入同期在宁夏眼科医院体检、与上述家系无亲缘关系的健康人 200 名作为对照,年龄均 > 60 岁,除年龄相关性白内障外无任何眼科疾病。本研究方案遵守赫尔辛基宣言,所有研究对象均签署由宁夏眼科医院伦理委员会批准的知情同意书。

1.2 方法

采集受检者外周血 (抗凝) 5 ml,采用 Qiamp Blood 试剂盒 (德国 Qiagen 公司) 提取全基因组 DNA,浓度 ≥ 50 ng/ μ l,纯度 $A_{260/280}$ 为 1.8 ~ 2.0, DNA 总量 ≥ 6 μ g。每个家系选取先证者和 1 名家庭正常成员进行检测。目标序列液相基因芯片覆盖 232 个由 RetNet (<http://www.sph.uth.tmc.edu/Retnet/>) 发布的已知遗传性视网膜疾病的致病基因,针对这些致病基因设计特异性寡核苷酸链探针 (美国 Agilent 公司),覆盖 232 个致病基因所对应的目标序列,包括 2 560 个外显子区域、外显子和内含子交界区域及所有基因的 5' 端和 3' 端非编码区域 (untranslated region, uTR)。采用 Agilent SureSelect 外

显子靶向序列富集系统对目标区域进行液相捕获,用 Illumina HiSequenceTM2000 平台 (美国 Illumina 公司) 进行高通量测序,统计检测数据,包括基本数据分析 (图像的去噪、锐化、定位和偏移校正等) 和生物信息分析 [检验靶区域的测序深度和覆盖度、比对序列、检测盒注释单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNPs) 和短小的插入或缺失]。按照以下条件对检测结果进行筛选: dbSNP 选择频率 ≤ 0.001 以及 no_freq 和 not_in_dbSNP 的位点; Hapmap 选择 ≤ 0.001 以及 not_in_hapmap 的位点; 1000 genome 选择 < 0.01 、优先关注编码区位点,结合遗传方式确定候选致病性突变位点。采用 PCR 和直接测序法在家系其他成员和正常对照组中进行验证,确定致病性突变位点。

2 结果

3 个家系均为 2 代,其中 2 个家系仅有子代患病者,1 个家系 2 代中各有 1 例发病,3 个家系中共有患者 5 例,表型正常者 8 名。二代测序和 PCR 测序验证后在 3 个家系中检测到 *ABCA4* 基因 5 个突变位点,均为复合突变 (图 1)。其中 1 个突变位点为 2 个家系所共有,2 个突变位点为首次发现。3 个家系中的患病者中仅有 1 例发病年龄为 50 岁,其他均于青少年期发病,患病者临床特征见表 1。

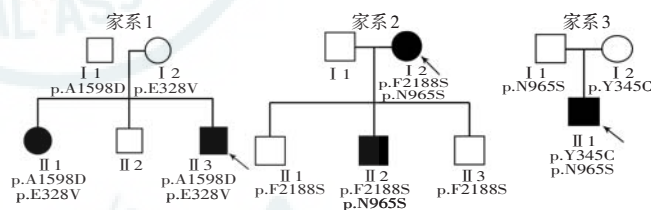


图 1 3 个 Stargardt 病家系系谱图

表 1 3 个 Stargardt 病家系中各患者临床表型

患者	性别	就诊年龄 (岁)	发病年龄 (岁)	病程 (年)	BCVA		黄斑中心凹厚度(μm)	
					右眼	左眼	右眼	左眼
家系 1								
Ⅱ 1	女	44	13	31	20/200	20/200	73	78
Ⅱ 3	男	37	12	25	20/150	20/150	62	54
家系 2								
I 2	女	60	50	10	20/150	20/150	85	74
Ⅱ 2	男	33	18	15	20/150	20/150	75	71
家系 3								
Ⅱ 1	男	18	13	5	20/150	20/150	119	125

注: BCVA: 最佳矫正视力

家系 1 遗传方式为常染色体隐性遗传,先证者

(II1) 父母 (I1、I2) 均为正常表型, 否认近亲结婚史, II1 和其胞姐 (II3) 均为 Stargardt 病患者, 青少年时期发病。2 例患者眼底均表现为黄斑区 RPE 萎缩伴色素沉着, OCT 提示黄斑中心凹厚度明显变薄, FFA 呈典型牛眼样强荧光改变 (图 2)。二代测序和验证测序发现 II1 和 II3 均携带 *ABCA4* 基因的 p. A1598D (c. 4793C>A) 和 p. E328V (c. 983A>T) 2 个复合杂合突变 (图 3)。基因检测分析发现, I1 携带 p. A1598D 杂合突变, I2 携带 p. E328V 杂合突变。

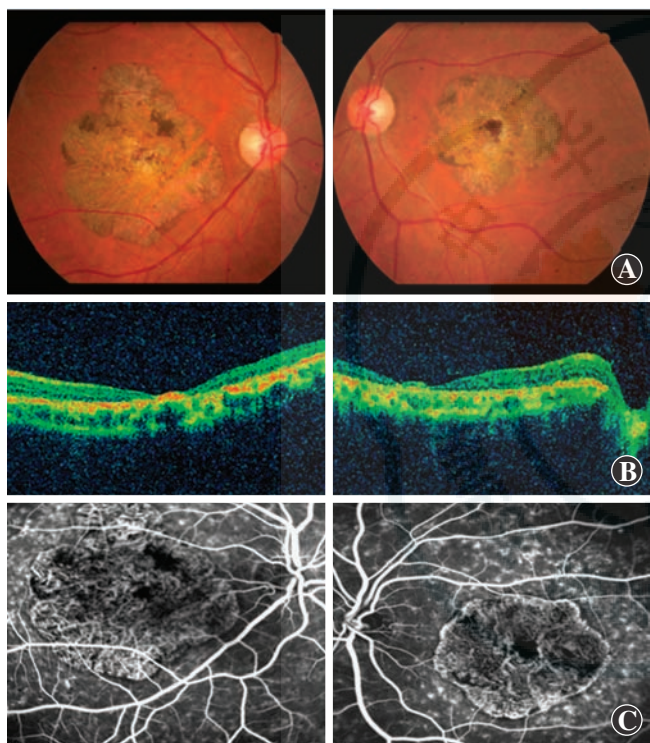


图 2 家系 1 中 II1 患者眼底检查 A: 彩色眼底照相示患者双眼黄斑区呈牛眼样地图样萎缩病灶 B: OCT 示双眼黄斑中心凹厚度明显变薄, 外核层和椭圆体带消失, 神经上皮层变薄, RPE 层反射不均匀 C: FFA 示黄斑部窗样荧光缺损

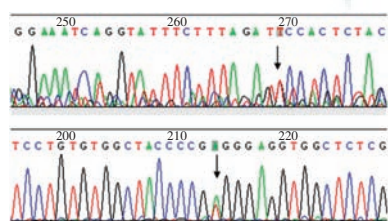


图 3 家系 1 受检者基因测序图 A: *ABCA4* 基因 p. A1598D 突变 -G>T 杂合突变 (箭头) (反向测序) B: *ABCA4* 基因 p. E328V 突变 -A>T 杂合突变 (箭头) (正向测序)

家系 2 中先证者 (I2) 及其儿子 (II2) 均为患者, 否认近亲结婚家族史。2 例患者眼底检查均可见黄斑区黄白色点片状病灶; 双眼 OCT 均提示黄斑中心凹厚度明显变薄, 外核层和椭圆体带消失, RPE 层反射不均匀; FFA 显示黄斑部不规则高荧光, 无脉络

膜背景荧光 (图 4)。二代测序和验证测序证实 2 例患者均携带 *ABCA4* 基因 p. F2188S (c. 6563T>C) 和 p. N965S (c. 2894A>G) 杂合突变 (图 5)。II2 胞弟仅携带 p. F2188S 杂合突变, I1 未检测到 *ABCA4* 基因突变位点。Stargardt 病 p. F2188S 位点突变系首次发现, 该位点在人群中突变频率 <1/10 000 (gnomad. broadinstitute. org)。

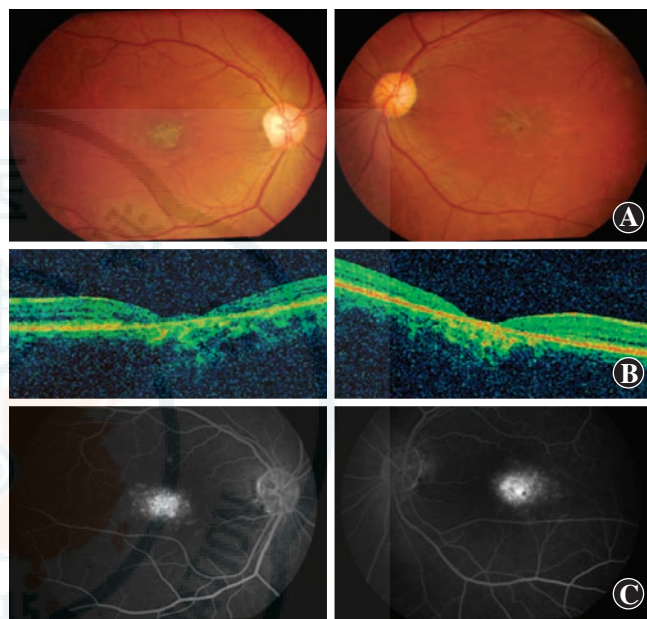


图 4 家系 2 II2 患者眼底表现 A: 彩色眼底照相示双眼黄斑区黄白色点片状病灶 B: OCT 示双眼黄斑中心凹厚度明显变薄, 外核层和椭圆体带消失, RPE 层反射不均匀 C: FFA 示双眼黄斑部不规则高荧光, 无脉络膜背景荧光

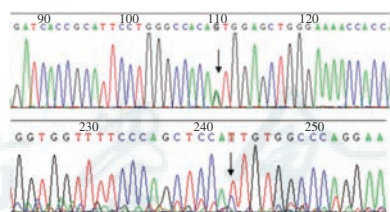


图 5 家系 2 测序图 A: *ABCA4* 基因 p. N965S 突变 -A>G 杂合突变 (箭头) (正向测序) B: *ABCA4* 基因 p. F2188S 突变 -T>C 杂合突变 (箭头) (正向测序)

家系 3 中先证者为 II1, 父母 (I1、I2) 均为正常表型, 否认近亲结婚史。II1 患者眼底检查可见黄斑区少许黄白色斑点沉着; 双眼 OCT 提示黄斑中心凹厚度明显变薄, 外核层和椭圆体带消失, RPE 层反射不均匀; FFA 显示双眼黄斑部不规则高荧光 (图 6)。二代测序和验证测序证实该家系患者携带 *ABCA4* 基因 p. Y345C (c. 1034A>G) 和 p. N965S (c. 2894A>G) 杂合突变 (图 7)。基因检测分析发现, I1 携带 p. N965S 杂合突变, I2 携带 p. Y345C 杂合突变。Stargardt 病 p. Y345C 突变系首次发现并报道, 该位点突变频率在 gnomad. broadinstitute. org 上未检测到。

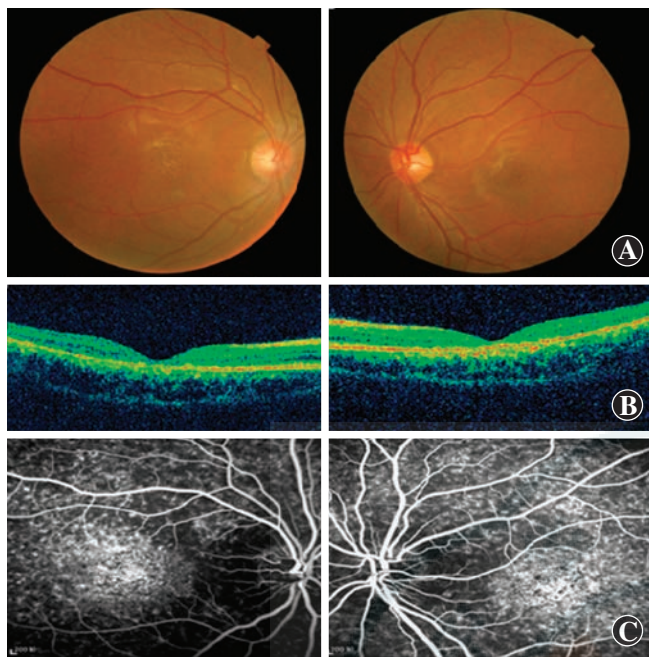


图 6 家系 3 中 II 1 患者眼底表现 A: 彩色眼底照相示双眼黄斑区少许白色斑状病灶 B: OCT 示双眼黄斑中心凹厚度明显变薄, 外核层和椭圆体带消失, RPE 层反射不均匀 C: FFA 示双眼黄斑部不规则高荧光

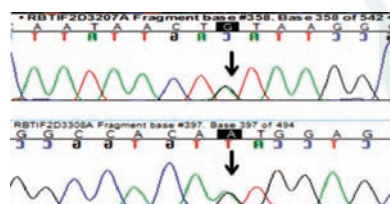


图 7 家系 3 测序图 A: *ABCA4* 基因 p. Y345C 突变-A>G 杂合突变(箭头)(正向测序) B: *ABCA4* 基因 p. N965S 突变-A>G 杂合突变(箭头)(正向测序)。

3 讨论

Stargardt 病严重危害青少年视功能, 导致不可逆盲, 临床上尚不能有效阻止其病变进展。大多数 Stargardt 病为常染色体隐性遗传, 也有常染色体显性遗传者, 但出现频率不及常染色体隐性遗传的 1/50^[7-8]。本研究中家系 1 和家系 3 均为常染色体隐性遗传, 家系 2 从遗传方式上看似乎为常染色体显性遗传, 但遗传学检测结果显示 2 例患者均携带 *ABCA4* 基因突变位点, 与此同时该家系其他成员并未检测到携带有与 Stargardt 病相关的基因突变位点。常染色体隐性遗传 Stargardt 病主要致病基因为 *ABCA4* 基因, 常染色体显性遗传 Stargardt 病致病基因为 *ELOVL4* 基因。我们查阅了相关的文献, 发现部分患者出现假性常染色体显性遗传方式^[9], 部分患者临床表现呈典型 Stargardt 病改变, 但仅携带 1 个致病性的 *ABCA4* 基因突变位点, 上述现象可能由于内含子深部的变异或缺失, 从而逃避了基因检测或者仍然存在未知的

Stargardt 病致病基因^[10]。因此本研究中家系 2 可能为假性常染色体显性遗传, 并将辅以全基因组外显子测序进行更深入的研究。

Maugeri 等^[11]研究发现无义突变会导致视网膜色素变性, 复合杂合无义突变会导致视锥视杆细胞营养不良, 而复合杂合突变可导致 Stargardt 病。本研究纳入的 3 个家系均携带 *ABCA4* 基因的复合杂合突变位点。本研究中首次发现家系 1 携带的 p. A1598D 突变, 该突变位点也曾经在一个常染色体隐性遗传视锥视杆细胞营养不良家系中报道^[12]。Rivera 等^[13]在 1 例德国 Stargardt 病患者检出 p. E328V 突变。p. A1598D 和 p. E328V 突变位点均位于细胞外拓扑结构域 (extracellular topological domains, ECD), 在不同物种中高度保守。ECD 参与分子内二硫键的形成, 对蛋白的正确折叠至关重要。本研究中携带有上述 2 个突变的患者均表现出发病年龄小、临床表型典型、就诊时视力损害严重的特点, 可能与突变改变了蛋白的折叠有关。

Rosenberg 等^[14]曾对 124 例早发型黄斑营养不良患者行 *ABCA4* 基因突变检测, 结果显示约 16.2% 的患者携带 p. N965S 突变, 同时 p. N965S 突变与 c. 1356+5delG 多态性位点存在连锁不平衡。p. F2188S 突变系首次发现, 该突变位点位于 ECD, 可能导致蛋白的功能域改变, 从而降低 ATP 水解, 而 p. N965S 突变也会降低 ATP 水解^[15]。Stargardt 病好发于青少年, 发病年龄虽是一个量化指标, 但又具有很强的主观性, 因此在家系中发病年龄往往存在一定的差异。本研究中发现, 家系 2 携带突变的 2 例患者主诉的发病年龄从 18 岁到 50 岁, 但就诊时视力损害程度相当, 眼底表现接近。大多数携带 p. N965S 突变的患者发病早, 视力损害严重, 通常在 10~20 年后视力丧失, 眼底表现为黄斑色素上皮萎缩病灶环绕中周部黄白色小斑点沉着。由此可见, 同一突变位点在合并了其他杂合突变后临床表型可能会发生改变, 这也佐证了遗传性视网膜疾病的发病既存在临床异质性又存在遗传异质性的现象。家系 3 患者同时携带 p. N965S 和 p. Y345C 突变位点, p. Y345C 突变也是首次发现与 Stargardt 病发病有关, 该突变位点位于 ECD。家系 3 患者发病年龄小, 病程进展快, 视力损害严重, 可能与 p. Y345C 突变改变了蛋白的折叠, 同时 p. N965S 突变又降低了 ATP 水解有关。

Stargardt 病临床表现复杂多样, 与其他类型的遗传性黄斑变性存在临床表型重叠现象。典型 Stargardt 病眼底改变位于 RPE, 黄斑区呈牛眼状或椭圆形 RPE 萎缩灶, 呈金箔样反光, 86% 的患者出现黄斑区病变, 但部分患者早期眼底病变轻微, 甚至完全正常。临床

上大多数患者在中晚期才确诊,仅通过临床检查很难做到早期诊断。目前 Stargardt 病尚无有效疗法,但早期诊断可给患者提供相应的延缓视力损害的措施,如减少阳光照射、低视力康复咨询、阻止不必要的过量维生素 A 摄入等。在已知的 Stargardt 病的致病基因中,某些基因也会导致同一重叠的临床表型,如 Stargardt 病的主要致病基因 *ABCA4* 基因同时也是视锥细胞营养不良的致病基因,甚至还能引起一种少见的类似视网膜色素变性表型的疾病。致病基因的复杂性和临床表型的多样性使 Stargardt 病容易漏诊和误诊。临床检查和基因检测分析的有效结合是 Stargardt 病诊断的有用工具。

Stargardt 病的致病基因非常庞大,*ABCA4* 基因含 50 个外显子,*PROM1* 基因含 26 个外显子。*ABCA4* 基因的致病突变目前已超过 800 个,同时 *ABCA4* 基因突变会导致其他遗传性视网膜疾病,也是年龄相关性黄斑变性的高危致病因素。因此传统的分子遗传学研究方法已无法满足临床分子遗传学诊断要求。近年出现的目标序列捕获测序能够将目标序列捕获芯片和高通量二代测序技术相结合,针对感兴趣的目标基因组区域进行大规模筛查,具有效率高、成本低、耗时短的优点,仅需少量的样本和很短的时间即能够准确找到致病基因,分析致病的分子机制^[16]。本研究中借助 Agilent 液相捕获技术在 3 个 Stargardt 病家系中检测到 5 个突变位点,其中 2 个为新发现的致病突变,1 个突变为首次在 Stargardt 病中发现,丰富了 Stargardt 病致病基因的突变谱。本研究发现,*ABCA4* 基因突变导致的 Stargardt 病患者多为复合杂合突变,发病年龄小,眼底表现各异,视力损害严重,这也提示在 Stargardt 病中还存在大量未知突变,还需要进行深入研究。

参考文献

- [1] Walia S, Fishman GA. Natural history of phenotypic changes in Stargardt macular dystrophy [J]. *Ophthalmic Genet*, 2009, 30 (2) : 63-68. DOI:10.1080/13816810802695550.
- [2] Lewis RA, Shroyer NF, Singh N, et al. Genotype/Phenotype analysis of a photoreceptor-specific ATP-binding cassette transporter gene, ABCR, in Stargardt disease [J]. *Am J Hum Genet*, 1999, 64 (2) : 422-434. DOI:10.1086/302251.
- [3] Molday RS, Zhang K. Defective lipid transport and biosynthesis in recessive and dominant Stargardt macular degeneration [J]. *Prog Lipid Res*, 2010, 49 (4) : 476-492. DOI:10.1016/j.plipres.2010.07.002.
- [4] Schulz HL, Grassmann F, Kellner U, et al. Mutation spectrum of the ABCA4 gene in 335 Stargardt disease patients from a multicenter German cohort-impact of selected deep intronic variants and common SNPs [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017, 58 (1) : 394-403. DOI:10.1167/iov.16-19936.
- [5] Sun H, Nathans J. Stargardt's ABCR is localized to the disc membrane of retinal rod outer segments [J]. *Nat Genet*, 1997, 17 (1) : 15-16. DOI:10.1038/ng0997-15.
- [6] Strom SP, Gao YQ, Martinez A, et al. Molecular diagnosis of putative Stargardt disease probands by exome sequencing [J/OL]. *BMC Med Genet*, 2012, 13 : 67 [2017-12-03]. <https://bmcmmedgenet.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2350-13-67>. DOI:10.1186/1471-2350-13-67.
- [7] Yi J, Li S, Jia X, et al. Evaluation of the ELOVL4, PRPH2 and ABCA4 genes in patients with Stargardt macular degeneration [J]. *Mol Med Rep*, 2012, 6 (5) : 1045-1049. DOI:10.3892/mmr.2012.1063.
- [8] Edwards AO, Miedziak A, Vrabec T, et al. Autosomal dominant Stargardt-like macular dystrophy: I. Clinical characterization, longitudinal follow-up, and evidence for a common ancestry in families linked to chromosome 6q14 [J]. *Am J Ophthalmol*, 1999, 127 (4) : 426-435.
- [9] Zernant J, Schubert C, Im KM, et al. Analysis of the ABCA4 gene by next-generation sequencing [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52 (11) : 8479-8487. DOI:10.1167/iov.11-8182.
- [10] Al-Saikhani FI. The gene therapy revolution in ophthalmology [J]. *Saudi J Ophthalmol*, 2013, 27 (2) : 107-111. DOI:10.1016/j.sjopt.2013.02.001.
- [11] Maugeri A, van Driel MA, van de Pol DJ, et al. The 2588G->C mutation in the ABCR gene is a mild frequent founder mutation in the Western European population and allows the classification of ABCR mutations in patients with Stargardt disease [J]. *Am J Hum Genet*, 1999, 64 (4) : 1024-1035.
- [12] Maugeri A, Klevering BJ, Rohrschneider K, et al. Mutations in the ABCA4 (ABCR) gene are the major cause of autosomal recessive cone-rod dystrophy [J]. *Am J Hum Genet*, 2000, 67 (4) : 960-966. DOI:10.1086/303079.
- [13] Rivera A, White K, Stöhr H, et al. A comprehensive survey of sequence variation in the ABCA4 (ABCR) gene in Stargardt disease and age-related macular degeneration [J]. *Am J Hum Genet*, 2000, 67 (4) : 800-813. DOI:10.1086/303090.
- [14] Rosenberg T, Klie F, Garred P, et al. N965S is a common ABCA4 variant in Stargardt-related retinopathies in the Danish population [J]. *Mol Vis*, 2007, 13 : 1962-1969.
- [15] Sun H, Smallwood PM, Nathans J. Biochemical defects in ABCR protein variants associated with human retinopathies [J]. *Nat Genet*, 2000, 26 (2) : 242-246. DOI:10.1038/79994.
- [16] Battu R, Verma A, Hariharan R, et al. Identification of novel mutations in ABCA4 gene: clinical and genetic analysis of Indian patients with Stargardt disease [J/OL]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015 : 940864 [2017-12-21]. <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/940864/>. DOI:10.1155/2015/940864.

(收稿日期:2018-01-21 修回日期:2018-06-04)

(本文编辑:杜娟)

读者·作者·编者

本刊对实验研究中动物使用方面的要求

为了提高实验研究论文中实验动物这个基础环节在国际上的认可度,本刊要求作者投稿时提供以下相应信息:(1)实验动物的种属、来源、一般信息及饲养条件;(2)实验动物的等级;(3)实验所遵循的相关实验动物保护条例或法规的具体名称以及颁布的机构名称。

(本刊编辑部)