

· 临床论著 ·

AT₁R 基因多态性与原发性高血压中医证型
及降压中药疗效的关系卢全生[△] 雷 燕 陈可冀

摘要 目的 观察国人原发性高血压(essential hypertension, EH)患者血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)一型受体(AT₁R)基因 A1166C 多态性的分布,及其与高血压中医辨证分型和降压药物疗效的关系。**方法** 测定 206 例汉族 EH 患者和 86 名汉族健康人的血压、体重指数、空腹血糖、胆固醇、甘油三酯浓度以及血浆 AngⅡ、内皮素(ET)、降钙素基因相关肽(CGRP)水平。用盐析法提取外周血白细胞 DNA,PCR 加限制性酶切方法检测 AT₁R 的 1166 位基因突变。根据高血压中医辨证标准对 206 例高血压病患者进行辨证分型,比较各中医证型的基因分布;分别用清心胶囊和卡托普利治疗阴虚阳亢型高血压患者 34 例与 32 例,观察其降压效果与基因型分布的关系。**结果** (1)高血压组除收缩压、舒张压显著高于正常对照组外,体重指数、空腹血糖及血脂、血浆相关激素水平两组比较差异无显著性;(2)EH 患者 AT₁R 基因 AC 加 CC 基因型的比例为 0.126,较正常对照组 0.047 显著增高($P<0.01$),C 等位基因分布频率也明显高于正常对照组,分别为 0.068、0.023 ($P<0.05$);而男性与女性之间,AT₁R 基因型和等位基因分布频率,差异均无显著性;(3)基因分型与临床表型:AA 基因型与 AC 加 CC 基因型间收缩压、舒张压、血糖、血脂、血浆 AngⅡ、ET、CGRP 水平经 t 检验,差异无显著性($P>0.05$);(4)基因分型与中医分型:高血压病各证型中 AA 基因型与 AC 加 CC 基因型分布,差异亦无显著性($P>0.05$);(5)基因分型与降压疗效:卡托普利和清心胶囊对不同基因型高血压患者均有效,各治疗组中 AA 与 AC 加 CC 基因型高血压患者降压效果相近。**结论** 在中国汉族人群中,AC 基因型与原发性高血压有关,C 等位基因可能是高血压的一个易感基因;而高血压病中医辨证分型可能与是否携带 C 等位基因无关,清心胶囊和卡托普利的降压效应与是否携带 C1166 等位基因无关。在不同基因型的 EH 患者中,其血压、血糖、血脂、血浆 AngⅡ、ET、CGRP 未见明显差异,提示基因型对高血压的影响可能未通过糖脂代谢、血浆 ET、CGRP、AngⅡ系统。

关键词 原发性高血压;血管紧张素Ⅱ一型受体;基因多态性;中医证型;清心胶囊

Relationship of the A1166C Polymorphism of AT₁R Gene with TCM Syndrome and Efficacy of Chinese Hypotensor in Patients with Essential Hypertension LU Quan-sheng, LEI Yan, and CHEN Ke-ji *Xiyuan Hospital, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing (100091)*

Abstract Objective To investigate the polymorphic distribution of the A1166C, the angiotensin II type I receptor (AT₁R) gene, in the Chinese people with essential hypertension (EH), and to study the relationship of A1166C with the TCM syndrome types and the efficacy of hypotensor. **Methods** Blood pressure (BP), body weight index (BWI), fasting blood glucose (FBG), cholesterol (Ch), concentration of triglyceride, levels of serum plasma AngⅡ, endothelin (ET) and calcitonin-gene related peptide (CGRP) in 206 patients with EH and 86 health subjects of Chinese nationality were determined. DNA of peripheral white blood cells were extracted by salting out method and the polymorphism of AT₁R gene A1166C was assessed by PCR and limited enzymatic segmentation. The 206 EH patients were differentiated into different types according to TCM syndrome differentiation, and the gene distribution appeared in each TCM syndromes was compared. Qingxin Capsule (QC) or

基金项目:中国中医研究院科技创新基金项目(No. CX-00-11)

作者单位:中国中医研究院西苑医院(北京 100091)

[△]现在 Georgetown University Medical Center, Washington DC 20007

通讯作者:雷 燕, Tel:010-64013948, E-mail: leiyan@public. bta. net. cn

captopril was used respectively to treat 34 and 32 patients with hypertension of Yin-deficiency and excessive Yang type to observe the relationship between the hypotensive effect of treatment and the distribution of gene types. **Results** (1) No significant difference was found in BWI, FBG, blood lipid or serum related hormones, only the difference in systolic and diastolic pressure was shown between the hypertension group and the control group. (2) The rate of AT₁R AC plus CC gene type in EH patients was 0.126, which was significantly higher than that in the normal control group (0.047, $P < 0.01$). The frequency of C allele distribution was obviously higher than that in the normal control group (0.068 vs 0.023, $P < 0.05$). No significant difference was found in AT₁R gene types or frequency of allele distribution between different sexes (male and female). (3) Analysis on relationship between gene types and clinical phenotype showed that no significant difference was found in systolic pressure, diastolic pressure, blood glucose, blood lipid, plasma Ang II, ET, or CGRP between patients with AA gene type and with AA plus CC gene type by t test ($P > 0.05$). (4) Analysis on relationship between gene type and TCM syndrome type showed that the distribution of AA gene type and AA plus CC type was insignificantly different in patients with various TCM syndrome types. (5) Analysis on relationship between gene type and hypotensive effect of treatments showed that both QC and captopril were effective to patients with hypertension of different gene types. The hypotensive effect of either was similar in spite of what gene types the patients with. **Conclusion** A1166C gene type is related to EH in the Chinese, C allele might a susceptible gene to hypertension, while TCM syndrome type of EH patients might not be related to whether C allele was borne. The hypotensive effect of QC or captopril was not related to whether C1166 allele was borne. No significant difference of blood pressure, blood glucose, blood lipid, plasma Ang II, ET, or CGRP in patients with different gene types, which suggested the effect of gene types on hypertension might not be by path of glucose or lipid metabolism, ET, CGRP or plasma Ang II system.

Key words essential hypertension; angiotensin II type I receptor, polymorphism of gene; TCM syndrome type, Qingxin Capsule

血管紧张素(angiotensin, Ang)是已知内源性升压物质中作用最强的激素之一,其作用主要通过血管紧张素 II (Ang II) 与其一型受体(AT₁R)结合而发挥。故 AT₁R 基因是原发性高血压研究的重要候选基因,而 AT₁R 基因多态性与高血压病的关系已成为研究的热点之一。本研究以 206 例汉族原发性高血压患者和 86 名汉族健康人为对象,用盐析法提取外周血白细胞 DNA,用 PCR 加上限制性酶切方法检测 AT₁R 的 A1166C 位基因突变,观察 AT₁R 基因 A1166C 多态性与中国汉族人高血压关系,并进一步观察其与高血压中医辨证分型和中药降压疗效的关系,以期在基因水平探索高血压病中医辨证分型及治疗的机理。

资料与方法

1 资料

1.1 研究对象 206 例汉族高血压病(EH)患者均来自北京市海淀区青龙桥 5 个社区,患者知情同意。除外继发性高血压、严重的糖尿病或冠心病患者以及肝、肾功能障碍者。高血压病诊断标准参照 1999 年中国高血压防治指南^[1],中医辨证分型参照《中药新药临

床研究指导原则》^[2]。

正常对照组 86 名均来自北京市海淀区青龙桥 5 个社区。入选者收缩压 < 140 mmHg 和舒张压 < 90 mmHg,无高血压家族史,临床及生化检查未发现有机质性疾病证据。

1.2 药物 清心胶囊主要由杜仲、钩藤、玄参、牡丹皮、莲子心组成,每粒 0.4 g (1 g 相当于生药 10 g),由中国中医研究院西苑医院药厂提供。卡托普利片: 25 mg,上海普康药业有限公司生产,生产批号: 0109031。

1.3 试剂及仪器

试剂:PCR 试剂及引物合成(上海生工生物工程公司),蛋白酶 E(华美公司),限制性内切酶 BusR I (MBI Fermentas 公司),琼脂糖(西班牙 Hispanagar 公司),TaqDNA 聚合酶和 dNTP(北京鼎国公司),DNA Marker(大连宝生物工程公司),ET、CGRP、Ang II 试剂盒(北京东亚放免试剂公司)。

仪器:低温离心机,美国 SORVA II RC5C;扩增仪, GeneAmp® 5700 Sequence Detection System;水平电泳槽, Bio-RAD POWER/PAC 300;恒压恒流电泳

仪,Bio-RAD POWER/PAC 300;紫外分析装置,Macro Vue Uvis-20 Hoefer;凝胶图像分析系统,Bio-RAD Gel Doc 1000。

2 方法

2.1 AT₁R 基因多态性的检测 基因组脱氧核糖核酸(DNA)抽提,以及目的基因片段扩增及基因型的检测参考文献^[3],采用饱和盐析法提取外周血白细胞 DNA,采用多聚酶链式反应(PCR)结合限制性内切酶方法检测基因多态性。PCR 扩增所用的引物序列为: AT₁ Sense: 5'-GCAGCACTTCACTACCAAATGGGC-3', AT₁ Antisense: 5'-CAGGACAAAAGCAGGCTAGGGAAA-3'(上海生工生物工程公司合成)。反应总体积 10 μl,扩增程序:预变性 94℃,6 min;变性 94℃,1 min,退火 58℃,1 min,延伸 72℃,1 min,循环 30 次,最后延伸 72℃,7 min。扩增产物经限制性内切酶(BusR I)37℃ 酶解 16 h,酶解反应物用 3% 琼脂糖凝胶电泳,EB 染色,紫外灯下检测并拍照。

2.2 临床表型观察 采用临床调查问卷,认真记录年龄、性别、心率、家族史、合并症、吸烟、饮酒、嗜盐等;测量血压(采用汞柱血压计)、身高、体重,并计算体重指数(BMI=体重/身高²);进行中医辨证分型。检测血糖、血脂(采用自动生化分析仪测定);血浆 ET、CGRP、Ang II 水平测定采用放免试剂盒。

2.3 给药方法 应用 SAS 软件区组随机化方法,将 206 例 EH 患者随机分为清心胶囊组和卡托普利组,清心胶囊组患者口服清心胶囊 4 粒,每天 3 次;卡托普利组口服卡托普利 12.5 mg,每天 2 次,连续服药 12 周。

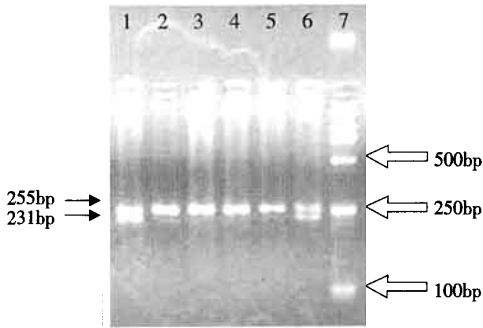
2.4 统计学方法 采用 SPSS 10.0 统计软件处理。计量指标比较用 *t* 检验。基因型及基因频率比较用 χ^2 检验,所有数据均用均数±标准差表示。

结 果

1 两组一般临床资料的比较 本试验 206 例 EH 患者中男性 60 例,女性 146 例,平均年龄(64.02±8.04)岁,体重指数(BMI)为(26.17±4.73) kg/m²;86 名正常对照者中男性 32 名,女性 54 名,平均年龄(59.09±8.02)岁,BMI 为(25.32±3.50) kg/m²,经统计学比较,两组在年龄和性别分布,以及体重指数、空腹血糖、血脂和血浆 Ang II、ET、CGRP 水平等方面差异均无显著性(*P*>0.05),表明两组间具有可比性。

2 两组 AT₁R 基因多态性的分布比较 AT₁R 基因多态性的 PCR 扩增产物长度为 255bp DNA,经

BusR I 酶切后分为 3 种基因型,即分别是 AA 基因型,凝胶分析显示为一条 255bp 大小的 DNA 条带;AC 基因型,显示两条大小分别为 255bp、231bp 的条带;CC 型,显示一条 231bp 大小的条带。见图 1。



注:第 1 和 6 电泳道为 AC 基因型;第 2~5 电泳道为 AA 基因型;第 7 电泳道为 DNA marker

图 1 AT₁R 基因 A1166C 多态性凝胶电泳图

EH 组和正常对照组 AT₁R 基因型分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律,表明所有研究对象来自同一个群体,具有本地区群体代表性。由于正常对照组无 CC 基因型,EH 组 2 例,故计算时归入 AC 基因型。比较 AT₁R 基因型和等位基因在两组间的分布频率,结果显示,EH 组 AC 加 CC 基因型频率显著高于正常对照组(0.126 vs 0.047,*P*<0.05),C1166 等位基因频率在 EH 组和正常对照组中分别是 0.068 和 0.023,经 χ^2 检验,差异有显著性(*P*<0.05),A 等位基因的分布频率分别是 0.932 和 0.977,差异无显著性(*P*>0.05),见表 1。

表 1 两组 AT₁R 基因型及等位基因频率比较 [例(%)]

组别	例数	基因型频率		等位基因频率	
		AA	AC+CC	A	C
EH	206	180(0.874)	26(0.126)*	384(0.932)	28(0.068)*
正常对照	86	82(0.953)	4(0.047)	168(0.977)	4(0.023)

注:与正常对照组比较,**P*<0.05

分别比较了两组男性和女性 AT₁R 基因多态性的分布,结果显示,在 EH 组和正常对照组中,男性与女性 AT₁R 基因型和等位基因分布频率差异均无显著性(*P*>0.05),见表 2。

表 2 两组不同性别 AT₁R 基因型及等位基因频率比较 [例(%)]

组别	性别	例数	基因型		等位基因频率	
			AA	AC+CC	A	C
EH	男	60	52(0.867)	8(0.133)	112(0.933)	8(0.067)
	女	146	128(0.877)	18(0.123)	272(0.932)	20(0.068)
对照	男	32	30(0.937)	2(0.063)	62(0.969)	2(0.031)
	女	54	52(0.963)	2(0.037)	106(0.981)	2(0.019)

3 AT₁R 基因多态性与血压、血糖、血脂水平和

血浆 Ang II、ET、CGRP 含量的比较 见表 3。在 EH 患者中,AA 基因型者与 AC+CC 基因型者之间的收缩压、舒张压、脉压(SBP、DBP、PP)差异无显著性($P>0.05$);而心率和体重指数、血糖、血脂水平、血中 Ang II、ET、CGRP 含量等差异亦无显著性($P>0.05$)。

表 3 AT₁R 基因多态性与临床相关指标的比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	AA($n=180$)	AC+CC($n=26$)
SBP(mmHg)	152.33±19.43	154.33±13.24
DBP(mmHg)	86.38±12.94	84.33±15.07
PP(mmHg)	67.57±15.41	69.44±11.35
HR(bpm)	78.68±8.90	76.67±9.61
BMI(kg/m ²)	25.78±5.73	26.11±3.87
Glu(mmol/L)	5.63±1.83	6.34±3.49
TC(mmol/L)	5.51±1.20	5.75±1.28
TG(mmol/L)	1.85±1.22	2.03±0.74
HDL-C(mmol/L)	1.26±0.42	3.42±1.17
VLDL-C(mmol/L)	0.87±0.61	0.93±0.35
Ang II (ng/L)	14.81±8.84	19.31±11.51
ET(ng/L)	131.95±18.95	122.97±11.63
CGRP(ng/L)	77.93±46.37	56.07±29.18
ET/CGRP	2.60±2.18	2.87±1.69

4 AT₁R 基因多态性与中医证型的相关分析
AT₁R 基因的 AA 基因型和 AC 加 CC 基因型在高血压病 3 种不同证型中的分布,经 χ^2 检验 $P=0.497$,差异无显著性。比较其等位基因 A 和 C 在辨证分型中的分布频率,差异亦无显著性($P>0.05$),见表 4。

表 4 AT₁R 基因型和等位基因在高血压病不同中医证型中的分布 [例(%)]

项目	例数	阳亢型	痰湿型	阴阳两虚型
基因型				
AA	180	134(0.74)	28(0.16)	18(0.10)
AC+CC	26	22(0.84)	2(0.08)	2(0.08)
等位基因				
A	384	288(0.75)	58(0.15)	38(0.10)
C	28	24(0.86)	2(0.07)	2(0.07)

5 AT₁R 基因多态性与清心胶囊及卡托普利疗效关系 共 66 例阴虚阳亢型高血压患者完成 12 周的药物治疗,其中卡托普利组 32 例,清心胶囊组 34 例。不同治疗组基因型患者之间年龄、体重指数、血糖、血脂和血浆 Ang II、ET、CGRP 水平均无显著性($P>0.05$)。

卡托普利组 AA 和 AC 基因型高血压患者血压基础值相近($P>0.05$),AA 基因型患者治疗后 SBP、

DBP、PP 较治疗前分别下降了 25.81、7.61、18.19 mmHg,与治疗前比较差异有显著性($P<0.01$)。AC+CC 基因型患者治疗后的 SBP、DBP、PP 较治疗前分别下降了 25.67、11.67、14.00 mmHg,与治疗前比较,差异亦有显著性($P<0.05$, $P<0.01$)。不同基因型患者降压幅度差别不显著。

清心胶囊组 AA 和 AC 基因型高血压患者血压基础值相近($P>0.05$)。AA 基因型患者治疗后 SBP、DBP、PP 较治疗前分别下降了 21.40、10.77、14.40 mmHg,与治疗前比较,差异有显著性($P<0.05$, $P<0.01$)。AC+CC 基因型患者治疗后的 SBP、DBP、PP 较治疗前分别下降了 30.71、9.57、21.14 mmHg,与治疗前比较,差异均有显著性($P<0.05$, $P<0.01$)。不同基因型患者降压幅度差别不显著,见表 5。

讨 论

1 AT₁R 基因多态性与高血压

长期以来,临床上就认识到不同的个体对同一种疾病的易感性存在着差异。而患同一种疾病的患者其临床表现、对治疗的反应及预后,不同个体间也存在着显著的差异。目前认为人类基因多态性(genopolymorphism)在阐明人体对疾病、药物的敏感性与耐受性、疾病临床表现的多样性(clinical phenotype diversity)以及治疗的反应性上都起着重要的作用。

人类 AT₁R 基因定位于染色体 3q21-q25,并发现其 3 端非编码区 1166 处存在 A-C 碱基置换,且可能与原发性高血压相关^[4]。1994 年 Bonnardeaux A 等^[4]首先应用单链构象多态(SSCP)和等位基因特异的寡核苷酸探针(ASO)杂交技术发现 AT₁R 基因 3 端非编码区存在 5 个多态性位点,即 573T/C、1166A/C、1878A/G、1062A/G、1517G/T,而其中仅 1166A/C 出现的频率在 EH 和健康人中差异显著,从此 AT₁R 基因 A1166C 多态性作为新的遗传标记被广泛注目。本研究结果发现,EH 患者 AC+CC 基因型及 C 等位基因频率分别为 0.126 和 0.067,都明显高于正常对照组的 0.047 和 0.023,提示 AT₁R 基因多态性与 EH 发生有关。由于高血压为多基因遗传病,呈遗传易感性与环境因素相结合的发病模型,基于人群研究的局限

表 5 不同基因型 EH 患者卡托普利、清心胶囊治疗前后血压的比较 (mmHg, $\bar{x} \pm s$)

组别	时间	AA 基因型			AC+CC 基因型		
		SBP	DBP	PP	SBP	DBP	PP
卡托普利	治前	156.65±11.89(28)	87.26±10.48(28)	69.39±12.89(28)	149.00±1.73(4)	88.33±2.89(4)	60.67±1.15(4)
	治后	130.84±11.99(28)**	79.65±8.68(28)**	51.19±10.14(28)**	123.33±2.89(4)**	76.67±5.77(4)*	46.67±2.89(4)*
清心胶囊	治前	157.00±11.70(28)	89.32±9.97(28)	70.68±14.66(28)	155.00±11.18(6)	91.71±10.48(6)	63.29±13.72(6)
	治后	135.60±13.24(28)*	78.55±8.86(28)**	56.28±15.12(28)*	124.29±12.39(6)**	82.14±7.56(6)*	42.14±12.54(6)**

注:与本组治疗前比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;()内数据为例数

性,本研究得出的 AT_1R 基因 A1166C 多态性与 EH 有关的结论,尚需扩大样本,并作进一步基因连锁分析。

2 AT_1R 基因多态性与高血压临床表型

本试验中各临床参数比较,结果发现,年龄、BMI、血压、血糖、血脂以及血浆 Ang II、ET、CGRP 水平在 AT_1R 基因型间比较差异均无显著性($P>0.05$),提示 AT_1R 基因多态性对 EH 及其并发症的影响作用可能并非通过糖脂代谢以及循环 RAS 等途径来完成的,与以往报道相一致^[5]。 AT_1R 基因 A1166C 变异位于 3 端非编码区内,理论上不影响 AT_1R 蛋白质编码过程,但如果与邻近有功能变异的染色体位置呈连锁不平衡,可能影响 AT_1R 基因 mRNA 表达稳定性,引起 AT_1R 数目、分布密度以及 AT_1R 对 Ang II 亲和力等改变,增强 Ang II 反应性进而促进 EH 发生发展。

3 AT_1R 基因多态性与高血压中医辨证分型

高血压病不同中医证型与基因多态性是否存在着关联?某一基因型是否对某一证型具有易感性?目前未见文献报道。本试验根据中医辨证分型标准,将 206 例高血压患者进行辨证分型,比较其基因型分型,结果发现, AT_1R 不同基因型在各证型间分布差异无显著性($P>0.05$),提示 AT_1R 基因型分布对中医辨证分型可能没有影响。但由于 C 等位基因在亚洲人群中分布频率较低,因此应进一步扩大样本量来证实。

4 AT_1R 基因多态性与降压药物疗效

近年来的研究表明,不同 AT_1R 基因型患者对 ACEI 在降压、减轻动脉硬化等疗效上存在显著差异;AC 型者比 AA 型者效果好。1996 年 Benetos A 等^[6]研究报道携带 C 等位基因的高血压患者应用血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂卡托普利,颈动脉脉搏传导速度(PWV)下降幅度要比 AA 纯合子高 3 倍,而应用钙离子拮抗剂尼群地平治疗组中只有 AA 纯合子的 PWV 下降,说明不同 AT_1R 基因型高血压患者对治疗的反应也有所不同。

本试验通过 ACEI 类卡托普利和中药制剂清心胶

囊来观察不同基因型高血压患者对治疗的反应及疗效的差异。结果显示卡托普利和清心胶囊对不同基因型高血压患者均有一定的降压效应,各治疗组中 AA 和 AC 基因型高血压患者降压效果相仿,与是否携带 C1166 等位基因无关。

深入探讨 EH 患者 AT_1R 基因多态性,对降压药物选择具有积极的意义,从而使治疗更加个体化,更有效,副反应更少,也为开发和研制新一代降压中药提供了一定的理论依据。

参 考 文 献

- 1 WHO/ISH. Guidelines for the management of hypertension. J Hypertens 1999;17:151.
- 2 郑筱萸主编.中药新药临床研究指导原则.北京:中国医药科技出版社,2002:73—77.
- 3 Zheng XY, editor. Guidance principle of clinical study on new drug of TCM. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science Technology Publishing House, 2002:73—77.
- 4 柯晓刚,林从容,吴可贵,等. I 型血管紧张素 II 受体基因多态性与高血压病及其并发症的关系. 中华心血管病杂志 2001;29(2):121.
- 5 Ke XG, Lin CR, Wu KG, et al. The relationships between angiotensin II type I receptor gene polymorphism and essential hypertension and its complications. Chin J Cardiol 2001;29(2):121.
- 6 Bonnardeaux A, Davies E, Jennem Aitre X, et al. Angiotensin II type I receptor gene polymorphism in the human essential hypertension. Hypertension 1994;24(1):63—69.
- 7 Ashavaid TF, Shalia KK, Nair KG, et al. ACE and AT_1R gene polymorphism and hypertension in Indian population. J Clin Lab Anal 2000;14(5):230—237.
- 8 Benetos A, Gautier S, Richard S, et al. Influence of angiotensin converting enzyme and angiotensin II type I receptor gene polymorphisms on aortic stiffness in normotensive and hypertensive patients. Circulation 1996;94:698—703.

(收稿:2005-02-16 修回:2005-04-20)

· 书 讯 ·

由张宝林、虞佩兰、冯泽康主编《虞张冯中医儿科手册》于 2005 年 5 月由中南大学出版社出版。全书 56 万字。附 500 多个药名索引,600 多个方剂及 700 多个病证索引。本书原名《实用中医儿科手册》,曾于 1980 年出版,此次增修后更名《虞张冯中医儿科手册》。全书内容科学性强,新颖实用,突出中西医结合。供各级西医学习中医儿科医生与中医儿科医生临床参阅。全国各地新华书店发行。每册定价 38 元,邮购 40 元。邮购地址:湖南省长沙市湘雅路 110 号湘雅医学院 15 号信箱(邮编 410078)谢新元、张碧金收;联系电话:0731-4805372, 13007414822;邮购 8 册(整包装)按定价 9 折优惠,免收寄费。