DOI:10.16016/j.1000-5404.201501059

论著

# PPARδ通过下调ACAT1抑制血管平滑肌细胞泡沫样变

龙春燕,张莉莉,孙梦娇,黎炳护,皮 燕,郭 露,曹小洁,尹延伟,廖少琼,李敬诚 (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所神经内科)

[摘要] **目的** 探讨过氧化物酶体增殖物激活受体δ(peroxisome proliferator-activated receptor δ,PPARδ)在血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells,VSMCs)泡沫化过程中的作用及可能机制。**方法** 用组织贴块法体外培养原代VSMCs;用氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein,ox-LDL)(50 μg/mL)刺激VSMCs构建泡沫细胞模型,分为空白对照组及24、48、72 h组4组以检测VSMCs泡沫化过程中PPARδ的表达变化;利用PPARδ激动剂(GW0742,25 nmol/L)和抑制剂(GSK0660,1 μmol/L)调控PPARδ并分为空白对照组、ox-LDL(50 μg/mL)组、GW0742+ox-LDL(50 μg/mL)组、GSK0660+ox-LDL(50 μg/mL)组4组,刺激48 h;油红O染色及酶标仪测细胞内萃取油红光密度值检测细胞内脂质沉积;Western blot检测VSMCs中PPARδ、ACAT1蛋白表达情况以探索PPARδ在VSMCs泡沫细胞中的作用以及PPARδ和酰基辅酶A:胆固醇酰基转移酶1(A-cholesterol acyltransferase 1,ACAT1)的关系。**结果** ox-LDL刺激下PPARδ的蛋白水平呈时间依赖地降低,其中48 h最低,下降约29%($P<0.05$),随后维持在低水平表达;GW0742激动PPARδ后可明显减少VSMCs内总胆固醇含量约55%($P<0.05$),而GSK0660则明显增加细胞内总胆固醇含量约20%($P<0.05$);同时,GW0742可使ACAT1的蛋白表达量下降了约28%($P<0.05$),而GSK0660则升高ACAT1的蛋白表达量约29%($P<0.05$)。**结论** PPARδ的激活可通过下调ACAT1表达抑制血管平滑肌源性泡沫细胞的形成。

[关键词] 泡沫细胞;血管平滑肌细胞;过氧化物酶体增殖物激活受体δ;胆固醇酰基转移酶1;氧化型低密度脂蛋白

[中图法分类号] R392.3;R543.502 [文献标志码] A

# PPARδ suppresses foam cells formation from vascular smooth muscle cells by down-regulating ACAT1

Long Chunyan, Zhang Lili, Sun Mengjiao, Li Binghu, Pi Yan, Guo Lu, Cao Xiaojie, Yin Yanwei, Liao Shaoqiong, Li Jingcheng (Department of Neurology, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042, China)

[**Abstract**] **Objective** To identified the role of peroxisome proliferator-activated receptor δ (PPARδ) and its possible mechanisms during the formation of vascular smooth muscle cells (VSMCs)-derived foam cells. **Methods** Primary VSMCs were isolated from male C57BL/6J mice by tissue attached methods. VSMCs were induced by oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) to form foam cells. The protein expression of PPARδ was detected by Western blotting in 24, 48 and 72 h after ox-LDL treatment. Furthermore, PPARδ agonist, GW0742 (25 nmol/L), and its inhibitor, GSK0660 (1 μmol/L) were used to regulate PPARδ for the role of the molecule in the formation. VSMCs were treated respectively by ox-LDL (50 μg/mL), GW0742 + ox-LDL (50 μg/mL), and GSK0660 + ox-LDL (50 μg/mL), and the cells without treatment served as control. In 48 h after above treatment, Oil Red O staining was used to observe intracellular lipid deposition. Protein levels of PPARδ and acyl coenzyme A-cholesterol acyltransferase 1 (ACAT1) were determined by Western blotting, and then the levels were analyzed to explore the role of PPARδ during the formation of foam cells and its relationship with ACAT1. **Results** The protein level of PPARδs was reduced in a time-

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81271282,81400967);重庆市杰出青年科学基金(CSTC2012JJJQ10003)

[通信作者] 李敬诚,电话:(023)68757842,E-mail:lijingcheng11@aliyun.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20150703.1449.011.html(2015-07-03)

dependent manner during the formation of foam cells derived from VSMCs, reached the lowest at the 48th hour by 29% reduction (*vs* control, $P < 0.05$), and then maintained at a low level. The addition of GW0742 obviously reduced the intracellular cholesterol content by about 55% (*vs* ox-LDL group, $P < 0.05$) in VSMCs, while GSK0660 significantly increased intracellular cholesterol content by about 20% (*vs* ox-LDL group, $P < 0.05$). In addition, GW0742 treatment decreased the protein level of ACAT1 by about 28% 0% (*vs* ox-LDL group, $P < 0.05$). However, GSK0660 elevated the level of ACAT1 by about 29% (*vs* ox-LDL group, $P < 0.05$). **Conclusion** Activation of PPARδ suppresses the formation of foam cells from VSMCs by down-regulating the expression of ACAT1.

[**Key words**] foam cells; vascular smooth muscle cells; peroxisome proliferator-activated receptor δ; acyl coenzyme A- cholesterol acyltransferase 1; oxidized low density lipoprotein

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81271282, 81400967) and the Science Foundation for Outstanding Young Scholars of Chongqing (CSTC2012JJJQ10003). Corresponding author: Li Jingcheng, Tel: 86-23-68757842, E-mail: lijingcheng11@aliyun.com

动脉粥样硬化是造成心血管和脑血管疾病的重要原因,而动脉粥样硬化的核心环节就是泡沫细胞的聚集[1]。文献[2]报道,除巨噬细胞(macrophage, Mo)外,血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)是泡沫细胞的另一来源,而且在中晚期的斑块中,VSMCs是泡沫细胞的主要来源,提示探索VMSCs泡沫样变的调控机制将有助于动脉粥样硬化以及心脑血管病的防治。最近有关氧化物酶体增殖物激活受体δ(peroxisome proliferator-activated receptor δ, PPARδ)的研究进展为该问题的解决提供了新思路。

PPARδ是核受体超家族成员之一,几乎存在于所有的组织[3]。目前越来越多的证据表明PPARδ可以通过调节代谢、炎症等进一步调节动脉粥样硬化的进程[4]。对于VSMCs来说,目前研究也显示出PPARδ在其主要病理生理过程中起关键作用,如Rikuta等[5]的研究显示激活PPARδ后能够抑制VSMCs的增殖从而有效地减轻内膜增生。那么PPARδ是否可以调控VSMCs的泡沫样变过程,以及其可能的机制如何,目前仍未明了。

酰基辅酶A:胆固醇酰基转移酶1(ACAT1)主要催化游离胆固醇酯化产生的胆甾醇酯能够累积在Mo和SMC,以产生泡沫细胞,导致斑块起始和动脉粥样硬化的进展[6-7]。我们及其他人之前的研究表明ACAT1能够调控VSMCs的泡沫样变过程,在动脉粥样硬化的发展中发挥了重要作用[7-8]。那么我们推测PPARδ是否通过下调ACAT1的表达来调控VSMCs的泡沫样变过程。

本研究旨在探讨激活PPARδ能否减轻VSMCs的泡沫化并激活PPARδ是否通过下调ACAT1的表达来抑制VSMCs源性泡沫细胞的形成。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验动物 8~10周龄C57BL/6J雄性小鼠15只,SPF级,购自北京维通利华实验动物中心。实验过程中对动物的处置符合动物伦理学标准。

1.1.2 主要试剂 胎牛血清(FBS)购自美国HyClone公司。油红O购自美国Sigma公司。氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)购自广东奕源生物公司。ACAT1、PPARδ一抗购自美国Santa Cruz公司。其余试剂均为国产或进口分析纯。

### 1.2 方法

1.2.1 血管平滑肌细胞原代培养 采用组织贴块法培养C57BL/6J雄性小鼠原代VSMCs,小鼠断颈处死后迅速取胸主动脉,刮去血管外的结缔组织,剪碎,均匀贴在培养瓶底,加入培养基,置于培养箱中培养。培养4~10 d可见VSMCs爬出组织块,生长8~14 d后进行传代培养。选取2~7代状态良好的细胞用于实验。取3代VSMCs以$1 \times 10^5$接种于12孔板贴壁后,用免疫染色固定液固定,PBS洗涤,0.3% Triton打孔,α-SMA一抗4 ℃孵育过夜,Cy3标记山羊抗小鼠IgG二抗室温避光孵育2 h,DAPI避光染核,抗荧光猝灭封片剂封片,激光共聚焦显微镜下观察拍照。

1.2.2 构建血管平滑肌源性泡沫细胞模型及细胞分组方法 ox-LDL已被广泛应用于诱导细胞泡沫样变[9]。细胞铺板培养18~24 h贴壁,换无血清DMEM饥饿24 h,再加入ox-LDL(50 μg/mL)培养,使脂质沉积于细胞内,建立泡沫细胞模型。为了检测VSMCs泡沫化过程中PPARδ的表达变化,我们将VSMCs分为空白对照组、24 h组、48 h组、72 h组4组;为了探索PPARδ和ACAT1的关系以及PPARδ在VSMCs泡沫细胞中的作用,我们使用了PPARδ激动剂GW0742和抑制剂GSK0660,将VSMCs分为空白对照组、ox-LDL组、GW0742+ox-LDL组、GSK0660+ox-LDL组4组。

1.2.3 Western blot检测PPARδ和ACAT1蛋白表达 药物干预后收集细胞,常规方法提取细胞总蛋白,

BCA 法测定蛋白浓度。蛋白上样后行 SDS-PAGE 凝胶电泳,将蛋白转移到 PVDF 膜上,5% 脱脂奶粉室温封闭 4 h,加入 PPARδ、ACAT1 和 β-actin 一抗 4 ℃孵育过夜。次日 TBST 洗膜 10 min ×4 次,二抗室温孵育 2 h,TBST 洗膜 10 min ×4 次,ECL 显影。Lab Works46 软件分析蛋白条带灰度值。

1.2.4 油红 O 染色 泡沫细胞形成由油红 O 染色证明[6]。具体如下:VSMCs 以 2 ×$10^5$/孔定量接种于 24 孔板中,贴壁后,无血清 DMEM 饥饿 24 h,再换用无血清 DMEM 或含 ox-LDL(50 μg/mL) + GW0742 或 GSK0660 干预培养 48 h。取出,用 PBS 液洗,多聚甲醛固定,油红避光染色,蒸馏水清洗,倒置显微镜下观察。细胞内总胆固醇含量的检测采用酶标仪测细胞内萃取油红光密度值的方法[10],具体如下:油红 O 染色后,每孔中加入 300 μL 异丙醇萃取细胞内的油红 O 染液,室温摇晃 5 min,即可取 100 μL 加入 96 孔板中于 518 nm 处测其光密度值[$D$(518)],定量检测细胞内总胆固醇含量。

### 1.3 统计学分析

使用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。每项实验重复 3 次,所有数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组之间比较用单因素方差分析,两组间的比较用 $t$ 检验。检验水准 $\alpha = 0.05$。

## 2 结果

### 2.1 原代 VSMCs 培养及细胞免疫染色鉴定 VSMCs

采用组织贴块法培养 C57BL/6J 雄性小鼠原代 VSMCs,普通光镜(图 1)观察原代 VSMCs 呈带状三角形、菱形、梭形等多种形态。α-SMA 标记 VSMCs 的肌动蛋白,经细胞免疫荧光染色,激光共聚焦显微镜下见细胞呈现红色荧光(图 2),即可证实培养的细胞为 VSMCs,且目的细胞纯度达 95% 以上,可用于实验。

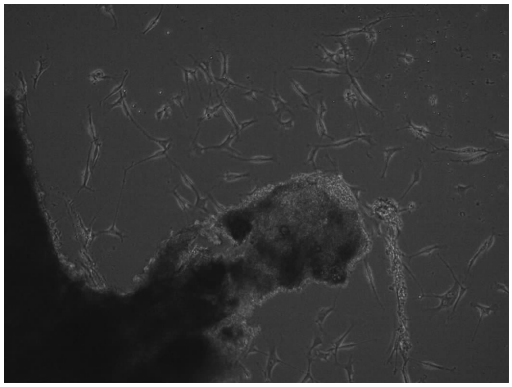


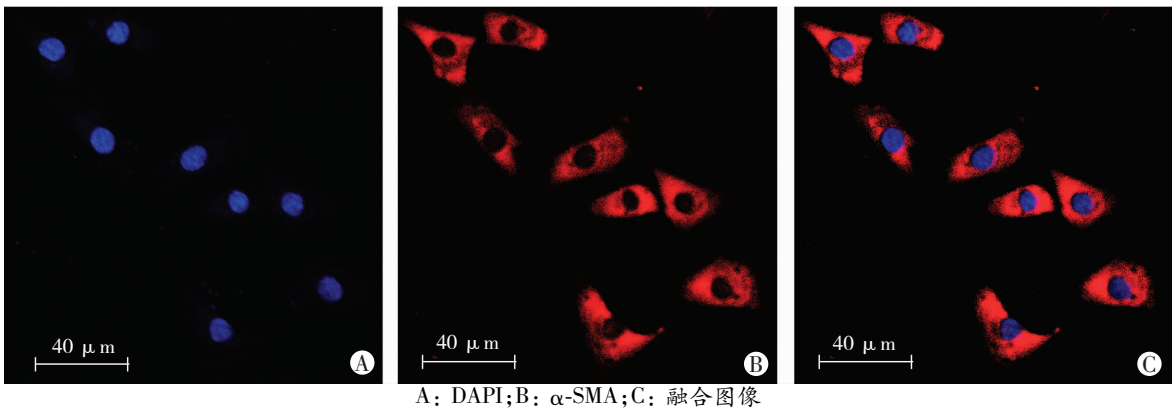
**图 1 光镜观察培养第 5 天原代血管平滑肌细胞变化** (×100)

### 2.2 PPARδ 在 VSMCs 泡沫化过程中的表达

为了探讨 PPARδ 在 VSMCs 泡沫样变过程中的作用,我们用 Western blot 检测 PPARδ 的蛋白表达变化。结果如图 3 显示 ox-LDL 刺激 48 h 及 72 h 后 PPARδ 的蛋白量明显降低,其中 48 h 最低,下降约 29%,与空白对照组比较($P < 0.05$)。而 48 h 组和 72 h 组的差异无统计学意义。提示 ox-LDL 刺激 48 h 后 PPARδ 明显降低并维持在低水平,为此 48 h 用于后续实验。

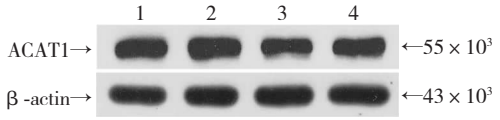
### 2.3 激活 PPARδ 可以抑制平滑肌细胞的泡沫化

为了进一步检测 PPARδ 在平滑肌细胞泡沫化的作用,我们使用了 PPARδ 的激动剂(GW0742, 25 nmo/L)和抑制剂(GSK0660,1 μmol/L)。经油红 O 染色,观察各实验组中的脂滴含量。结果如图 4 显示 ox-LDL 组脂滴明显增多,GW0742 激活 PPARδ 后,GW0742 + ox-LDL 组脂滴相比于 ox-LDL 组明显减少,而 GSK0660 则显示出相反的效应,GSK0660 + ox-LDL 组相比于 ox-LDL 脂组滴明显增多。油红 O 染色后,经异丙醇萃取,结果显示 GW0742 + ox-LDL 组光密度值下降约 55%,与 ox-LDL 组比较($P < 0.05$),而 GSK0660 + ox-LDL 组中增加约 20%,与 ox-LDL 组比较($P < 0.05$),证明激活 PPARδ 可以抑制平滑肌细胞的泡沫化。



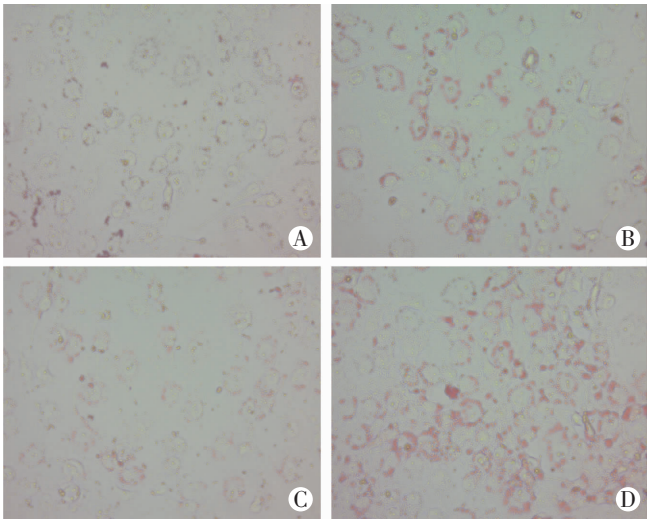

A: DAPI;B: α-SMA;C: 融合图像

**图 2 α-SMA 细胞免疫荧光鉴定原代 VSMCs**




1:空白对照组;2:24 h组;3:48 h组;4:72 h组

**图3 Western blot检测ox-LDL干预后VSMCs中PPARδ蛋白的表达**

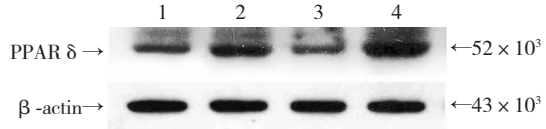



A:空白对照组;B:ox-LDL组;C:GW0742 + ox-LDL组;D:GSK0660 + ox-LDL组

**图4 油红O染色检测PPARδ激动剂(GW0742)和抑制剂(GSK0660)干预VSMCs后细胞脂质沉积** (LM×400)

### 2.4 激活PPARδ可能通过下调ACAT1途径抑制VSMCs的泡沫化

我们进一步探讨了激活PPARδ对VSMCs泡沫样变抑制作用的可能机制。我们再次使用了GW0742和GSK0660来激活和抑制PPARδ。结果如图5显示GW0742 + ox-LDL组的ACAT1的表达相比于ox-LDL组下降了约28%,而GSK0660 + ox-LDL组的ACAT1的表达较ox-LDL组升高了约29%,且差异有统计学意义($P < 0.05$)。这个结果可以说明激活的PPARδ可能通过下调ACAT1途径抑制VSMCs的泡沫化。




1:空白对照组;2:ox-LDL组;3:GW0742 + ox-LDL组;4:GSK0660 + ox-LDL组

**图5 Western blot检测VSMCs中ACAT1蛋白的表达**

## 3 讨论

泡沫细胞的形成是动脉粥样硬化发生、发展的核心环节和主要细胞学改变[11]。目前研究显示巨噬细胞和VSMCs通过摄取脂质均可分化为泡沫细胞[2, 12]。相对于巨噬细胞的泡沫样变,关于VSMCs泡沫样变相关机制的研究相对较少,目前关于VSMCs泡沫样变的潜在机制已成为现在研究的一个重要领域。我们的研究利用ox-LDL诱导体外培养的VSMCs泡沫样变构建细胞模型,证实了在ox-LDL诱导的VSMCs泡沫样变过程中PPARδ的表达量明显降低;激活PPARδ能够减少VSMCs中脂质聚集和胆固醇量而进一步抑制PPARδ则会进一步加重脂质聚集和胆固醇量;PPARδ的激活可能通过下调ACAT1途径抑制VSMCs的泡沫化。

PPARδ属于激素核受体超家族,也是配体激活的转录因子超家族的成员之一[13]。越来越多的证据证明PPARδ在调节代谢,炎症反应和细胞增殖方面起着重要的作用[14]。在脂质代谢方面,Jelske等[15]针对野生型小鼠和ABCA1(三磷酸腺苷-结合盒转运子A1)敲除小鼠的巨噬细胞的研究显示PPARδ通过增强ABCA1的表达以增强胆固醇的逆转运来提高高密度脂蛋白胆固醇的浓度从而调节脂代谢。而在动脉粥样硬化中的作用也受到越来越多的关注。如在血管内皮细胞,PPARδ的激活可以通过增加促氧化剂硫氧还蛋白相互作用蛋白的表达加速内皮细胞的衰老,而内皮细胞的衰老常与动脉粥样硬化的早期发展密切相关[16];Bojic等[17]的研究表明激活的PPARδ能够减轻巨噬细胞的泡沫化,更加直接提示PPARδ在泡沫细胞形成中其重要作用。在VSMCs多个病理生理过程,PPARδ也具有重要作用,如PPARδ通过降低MMP9表达抑制VSMCs的增殖和迁移[18],也可增强其抗氧化能力减轻炎性反应从而保持VSMCs内环境稳定[14]。但是,PPARδ在VSMCs泡沫化过程中的作用如何目前尚不清楚。我们的研究显示,在VSMCs泡沫化过程中PPARδ蛋白表达呈时间依赖性下降,提示PPARδ在ox-LDL诱导的VSMCs泡沫样变过程中有重要作用。那么,PPARδ在VSMCs泡沫样变过程中的起什么样的作用是我们关注的一个主要问题。为了探索PPARδ在ox-LDL诱导的VSMCs泡沫样变过程中的具体作用,我们使用了PPARδ激动剂和抑制剂。本研究结果显示使用激动剂激活PPARδ能够减轻VSMCs的脂质聚集和胆固醇含量,而使用抑制剂抑制PPARδ则会增加VSMCs的脂质聚集和胆固醇含量。为此,我们推测PPARδ的激活能够阻止VSMCs的泡沫化。那么PPARδ是通过什么样的机制来抑制VSMCs泡沫样变呢,是我们关注的另外一个主要问题。

VSMCs泡沫细胞的形成过程与巨噬细胞类似,涉

及多个复杂的过程,包括脂质的摄入,细胞内胆固醇酯化和胆固醇流出[19]。而在这 3 个环节当中,胆固醇酯化尤为重要。胆固醇酯化是将游离胆固醇催化形成胆固醇酯的过程,储存在细胞质的胆固醇酯与游离胆固醇保持动态平衡,一旦平衡被打破,过度胆固醇酯化导致胆固醇酯的在细胞质的过量累积,随后引发泡沫细胞的形成。在胆固醇酯化过程中,ACAT1 是其中的关键酶,它可以催化游离胆固醇形成胆甾醇酯,并作为脂滴存储胆固醇酯[19]。目前的研究显示,抑制 ACAT1 有抗动脉粥样硬化的效果[19]。我们之前的研究也得出类似结果,在 ox-LDL 诱导 VSMCs 泡沫样变过程中,ACAT1 的表达逐渐增加,而 ACAT1 基因敲除小鼠阻碍了高脂饮食诱导的动脉粥样硬化斑块的形成[7]。在本实验中我们发现,PPARδ 的激活下调了 ACAT1 的表达,而抑制 PPARδ 则上调 ACAT1 的表达。以上结果提示 PPARδ 的激活可能通过下调 ACAT1 途径抑制 VSMCs 的泡沫化。

综上所述,本研究发现 PPARδ 的激活能够减少 VSMCs 泡沫细胞的脂质含量,而 ACAT1 信号通路是其发挥作用的机制之一,这为动脉粥样硬化的防治提供新的靶点。但是,PPARδ 通过什么途径下调 ACAT1 以及 ACAT1 在 PPARδ 调控 VSMCs 泡沫样变过程中的具体作用如何有待于进一步的离体及在体实验证明。

**参考文献:**


[1] Yu X H, Zhang J, Zheng X L, *et al*. Interferon-gamma in foam cell formation and progression of atherosclerosis[J]. Clin Chim Acta, 2015, 441: 33 – 43.

[2] Johnson J L. Emerging regulators of vascular smooth muscle cell function in the development and progression of atherosclerosis [J]. Cardiovasc Res, 2014, 103(4): 452 – 460.

[3] Kim H J, Ham S A, Kim S U, *et al*. Transforming growth factor-beta1 is a molecular target for the peroxisome proliferator-activated receptor delta[J]. Circ Res, 2008, 102(2): 193 – 200.

[4] Bojic L A, Burke A C, Chhoker S S, *et al*. Peroxisome proliferator-activated receptor delta agonist GW1516 attenuates diet-induced aortic inflammation, insulin resistance, and atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor knockout mice [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2014, 34(1): 52 – 60.

[5] Hamaya R, Ogawa M, Suzuki J, *et al*. A selective peroxisome proliferator-activated receptor-beta/delta agonist attenuates neointimal hyperplasia after wire-mediated arterial injury [J]. Expert Opin Investig Drugs, 2013, 22(9): 1095 – 1106.

[6] 蒙颖, 徐芳, 王志禄, 等. 罗格列酮对泡沫细胞中胆固醇贮存与运输相关蛋白 ACAT-1、ABCA-1 表达的影响[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(22): 2288 – 2291.

[7] Yin Y W, Liao S Q, Zhang M J, *et al*. TLR4-mediated inflammation promotes foam cell formation of vascular smooth muscle cell by upregulating ACAT1 expression[J]. Cell Death Dis, 2014, 5: e1574.

[8] Vaziri N D, Navab M, Fogelman A M. HDL metabolism and activity in chronic kidney disease[J]. Nat Rev Nephrol, 2010, 6(5): 287 – 296.

[9] Mauer J, Chaurasia B, Goldau J, *et al*. Signaling by IL-6 promotes alternative activation of macrophages to limit endotoxemia and obesity-associated resistance to insulin[J]. Nat Immunol, 2014, 15(5): 423 – 430.

[10] 郭露, 张莉莉, 曹小洁, 等. TLR4 通过下调 ABCA1 表达促进平滑肌源性泡沫细胞形成[J]. 第三军医大学学报, 2014, 36(7): 625 – 630.

[11] Yu X H, Fu Y C, Zhang D W, *et al*. Foam cells in atherosclerosis[J]. Clin Chim Acta, 2013, 424: 245 – 252.

[12] Angelovich T A, Hearps A C, Jaworowski A. Inflammation-induced foam cell formation in chronic inflammatory disease [J]. Immunol Cell Biology, 2015, [Epub ahead of print].

[13] Usuda D, Kanda T. Peroxisome proliferator-activated receptors for hypertension[J]. World J Cardiol, 2014, 6(8): 744 – 754.

[14] Ding Y, Yang K D, Yang Q. The role of PPARdelta signaling in the cardiovascular system[J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2014, 121: 451 – 473.

[15] van-der-Veen J N, Kruit J K, Havinga R, *et al*. Reduced cholesterol absorption upon PPARdelta activation coincides with decreased intestinal expression of NPC1L1[J]. J Lipid Res, 2005, 46(3): 526 – 534.

[16] Riahi Y, Kaiser N, Cohen G, *et al*. Foam cell-derived 4-hydroxynonenal induces endothelial cell senescence in a TXNIP-dependent manner[J]. J Cell Mol Med, 2015, [Epub ahead of print].

[17] Bojic L A, Sawyez C G, Telford D E, *et al*. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor delta inhibits human macrophage foam cell formation and the inflammatory response induced by very low-density lipoprotein[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2012, 32(12): 2919 – 2928.

[18] Yin K J, Deng Z, Hamblin M, *et al*. Vascular PPARdelta protects against stroke-induced brain injury[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011, 31(3): 574 – 581.

[19] Rogers M A, Liu J, Song B L, *et al*. Acyl-CoA: cholesterol acyltransferases (ACATs/SOATs): Enzymes with multiple sterols as substrates and as activators[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2015, 151: 102 – 107.


(**收稿**:2015-02-01;**修回**:2015-03-30)

(编辑 栾 嘉)