猪源纤维蛋白贴配方的优化Δ

李茹冰[1*]，李伟达[2]，刘文婷[1]，李宇璐[1]，谷小红[1]，于丽娟[1]，万华印[3]（1.中国科学院大学深圳医院药学部，广东 深圳 518107；2.佛山市妇幼保健院药剂科，广东 佛山 528000；3.广州市众为生物科技股份有限公司，广州 510010）

中图分类号 R973+.1；943　　**文献标志码** A　　**文章编号** 1001-0408（2023）20-2497-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2023.20.09

摘　要　目的 优化猪源纤维蛋白贴（简称“DBT”）的配方。**方法** 在单因素实验的基础上，以冻干前的纤维蛋白原、凝血酶和胶原蛋白含量为考察因素，以黏合强度、持黏力和吸水力的总评归一化（OD）值为响应值，采用Box-Behnken-响应面法优化DBT的配方，并进行验证。**结果** 根据单因素实验和Box-Behnken-响应面法优化结果，结合实际生产，得DBT的最优配方为纤维蛋白原含量6.5 mg/cm²、凝血酶含量8.0 IU/cm²、胶原蛋白含量5.6 mg/mL；3次验证实验的平均OD值为0.726 6（RSD＝0.58%，n＝3），与预测OD值（0.733 0）的相对误差为－0.87%。**结论** 所得DBT的最优配方稳定、可行。

关键词 猪源纤维蛋白贴；配方优化；纤维蛋白原；凝血酶；胶原蛋白；Box-Behnken-响应面法

Optimization of the formulation of a porcine fibrin patch

LI Rubing[1], LI Weida[2], LIU Wenting[1], LI Yulu[1], GU Xiaohong[1], YU Lijuan[1], WAN Huayin[3] (1. Dept. of Pharmacy, Shenzhen Hospital, University of Chinese Academy of Sciences, Guangdong Shenzhen 518107, China; 2. Dept. of Pharmacy, Foshan Maternity and Child Healthcare Hospital, Guangdong Foshan 528000, China; 3. Guangzhou Zhongwei Biotechnology Co., Ltd., Guangzhou 510010, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To optimize the formulation of a porcine fibrin patch (abbreviated as “DBT”). **METHODS** Based on single-factor tests, with the contents of fibrinogen, thrombin and collagen before freeze-drying as the factors, with the overall desirability (OD) value of adhesion strength, holding viscosity and water absorption as response value, the formulation of DBT was optimized by Box-Behnken-response surface methodology, and the verification tests were conducted. **RESULTS** According to the results of the single factor tests and Box-Behnken-response surface methodology, combined with the actual production, the optimal formulation of DBT was 6.5 mg/cm² of fibrinogen, 8.0 IU/cm² of thrombin and 5.6 mg/mL of collagen. The average OD value of 3 validation tests was 0.726 6 (RSD＝0.58%, n＝3), and the relative error of which with the predicted value (0.733 0) was －0.87%. **CONCLUSIONS** The optimal formulation of DBT is stable and feasible.

KEYWORDS porcine fibrin patch; formulation optimization; fibrinogen; thrombin; collagen; Box-Behnken-response surface methodology

纤维蛋白类止血敷料主要含有纤维蛋白原和凝血酶成分，可模拟人体凝血过程的最后一步，其相关止血生物制剂可通过形成不溶性纤维蛋白而实现伤口的快速封闭[1-2]。临床现有止血制剂多以纤维蛋白类止血辅料为黏合剂，在使用时须提前将纤维蛋白原和凝血酶分别溶解，再利用双针筒混合装置喷洒至创面而成胶止血[3]。然而，这种须提前溶解且须配合使用特殊装置的制剂可能会导致危急手术患者错失最佳的止血时机；同时，由于黏合剂自身的机械强度不足[4]，若医护人员在喷洒后立即使用纱布吸取伤口周边渗血，则可能会因纱布擦拭掉未成胶的止血物而导致制剂失效。为此，本课题组自主研制了猪源纤维蛋白贴（porcine fibrin patch，简称“DBT”），即以从猪血浆中提取的纤维蛋白原和凝血酶，以及从猪跟腱中提取的胶原蛋白为原料，通过特殊工艺处理并冻干而制得的海绵片剂[5]。该DBT具有海绵样蛋白骨架结构，无须预配，遇血即可形成纤维蛋白；加之其外层为胶原蛋白，能有效防止制剂与纱布或周围结缔组织粘连，故可通过生化止血和机械按压止血相结合的方式实现快速止血[6]。目前上市的蛋白贴剂仅有人源性TachoComb®（奥地利Nycomed公司）、TachoSil®（日本Takeda公司）、Evarrest®（美国Johnson & Johnson公司）等品种[7-8]，尚无猪源性同类制剂。

根据本课题组前期动物实验和国内外临床应用研究，纤维蛋白类止血制剂的用量需根据创面大小和止血

Δ **基金项目** 广州市科技计划项目基础研究计划民生科技项目（No.202002020089）

＊**第一作者** 主任药师，教授，博士生导师，博士。研究方向：生化药理、新药研发。电话：0755-27548785。E-mail：lrb90927@126.com

情况叠加使用，且止血物需在体内降解，故其量效关系主要体现于制剂的成分组成及含量[9－10]。为更直观地显示DBT的内在量效关系，本文运用了Box-Behnken-响应面设计方法，以DBT的黏合强度、持黏力和吸水力3个与止血性能密切相关的力学参数为检测指标[11－12]，以其总评归一化（overall desirability，OD）值为响应值，对冻干前纤维蛋白原、凝血酶和胶原蛋白3个主要有效成分的含量进行优化，以保障DBT止血效果的充分发挥，也为同类产品的研究开发提供参考。

1　材料

1.1　主要仪器

本研究所用主要仪器包括BLD-1028型剥离强度试验机、BLD-1008A型保持力测试仪（东莞博莱德仪器设备有限公司），GLZY-1型冻干机（上海浦东冷冻干燥设备有限公司），KD-DTC-210型电子天平（上海亚津电子科技有限公司）等。

1.2　主要药品与试剂

纤维蛋白原备用液（批号为20140423，质量浓度为50 mg/mL）、凝血酶备用液（批号为20140704，效价为500 IU/mL）、胶原蛋白中间体（批号为20140603，胶原蛋白含量为0.204 g/g）均购自广州市众为生物科技股份有限公司。

2　方法与结果

2.1　DBT的制备

分别将适量纤维蛋白原备用液、凝血酶备用液和胶原蛋白中间体溶液（由其中间体经盐析、甲酸等处理所得的溶液）注入冻干模具，采用特殊冻干工艺技术将三者冻干在一起，即得DBT（规格5 cm×10 cm）。本制备工艺已申请专利，申请公布号为CN104491917B。

2.2　DBT的力学性能测定

2.2.1　黏合强度测定

参照2020年版《中国药典》（四部）通则“0952黏附力测定法”第三法进行测定[13]：取DBT（5 cm×10 cm），分离其黄色纤维蛋白原层和白色胶原蛋白层，取黄色纤维蛋白原层，用双面胶将其剥离面朝上固定于不锈钢板上，再用胶带将该层上下两端加以固定，使其平整贴合在钢板上；随后，吸取生理盐水1 mL，均匀喷洒在该黄色层上；取棉布与该黄色层小心黏合并按压抚平，用重压辊来回滚压5次，静置30 min[温度（25±3）℃，相对湿度（55±10）%]；将棉布自由端180度对折，并将棉布自由端和钢板分别垂直夹于试验机上，同时使黄色纤维蛋白原层的剥离面与剥离强度试验机（已进行校准）线保持一致，确认安装无误后，开始测试。试验机以（300±10）mm/min的速度上升剥离，以刚剥离的最大强度为黏合强度。上述测试需取3片同规格的DBT，结果以平均值表示。

2.2.2　持黏力测定

参照2020年版《中国药典》（四部）通则“0952黏附力测定法”第二法进行测定[13]：将保持力测试仪的试验板和加载板紧挨并对齐，在距离两板10～15 cm高处均匀喷洒生理盐水0.5 mL；取DBT（2.5 cm×5 cm，剪裁所得），黏于试验板和加载板的中部，并用滚轮来回滚压5次使其黏合紧密；喷水2 min后，将试验板固定在保持力测试仪上，在加载板下端挂上200 g的砝码，记录脱落时间（脱落时间须超过10 min方能符合实验要求）。上述测试需取3片同规格的DBT，结果以平均值表示。

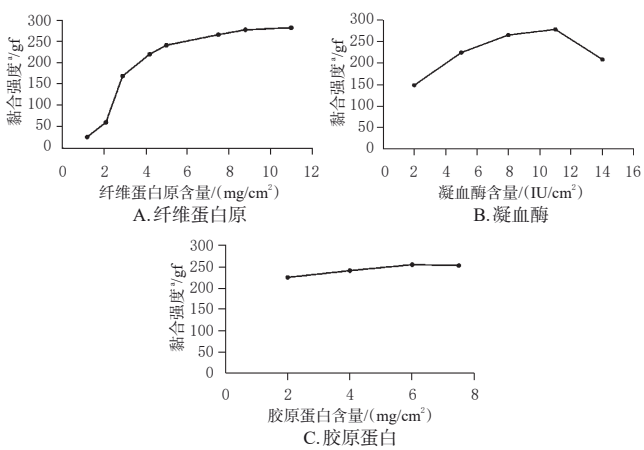
2.2.3　吸水力测试

取DBT（5 cm×10 cm），精密称定其质量（W_1）；于室温（25±2）℃下在生理盐水中浸泡20 min，待其充分吸水后，取出，静置3 min，待其无明显水滴后再次精密称定其质量（W_2），按下式计算吸水力：吸水力＝W_2/W_1。上述测试需取3片同规格的DBT，结果以平均值表示。

2.3　DBT配方优化的单因素实验

DBT的止血性能与其3个主要成分（纤维蛋白原、凝血酶和胶原蛋白）的含量密切相关，故本研究以“2.2.1”项下黏合强度为检测指标，以冻干前上述成分的含量（其中胶原蛋白含量以胶原蛋白中间体溶液质量浓度计，下同）为考察因素，在固定其中2个因素的条件下进行单因素实验。

（1）固定凝血酶含量为6 IU/cm²、胶原蛋白含量为3 mg/cm²，考察不同纤维蛋白原含量（1.2、2.1、2.9、4.2、5.0、7.5、8.8、11 mg/cm²）对所制DBT黏合强度的影响。结果显示，随着纤维蛋白原含量的升高，黏合强度逐渐增大；当纤维蛋白原含量为7.5～11 mg/cm²时，黏合强度的增幅明显不如含量1.2～4.2 mg/cm²时。综合考虑，本研究选择纤维蛋白原含量3～9 mg/cm²进行后续优化实验。结果见图1A。



a：1 gf＝0.000 98N。

图1　各配方成分含量对DBT黏合强度的影响

（2）固定纤维蛋白原含量为6 mg/cm²、胶原蛋白含量为3 mg/cm²，考察不同凝血酶含量（2、5、8、11、14 IU/cm²）对所制DBT黏合强度的影响。结果显示，黏合强度曲线呈抛物线样，当凝血酶含量为2～11 IU/cm²时，

黏合强度呈升高趋势；当凝血酶含量为11～14 IU/cm^{2}时，黏合强度明显降低（可能与凝固过快有关）。综合考虑，本研究选择凝血酶含量6～10 IU/cm^{2}进行后续优化实验。结果见图1B。

（3）固定纤维蛋白原含量为6 mg/cm^2、凝血酶含量为6 IU/cm^2，考察不同胶原蛋白含量（1、2、3、3.75、4、5 mg/cm^2，后续均以对应的中间体溶液质量浓度2、4、6、7.5、8、10 mg/mL表示）对所制DBT黏合强度的影响。结果显示，随着胶原蛋白含量的增加，黏合强度呈平缓升高的趋势。但笔者在实验过程中发现，当胶原蛋白质量浓度为8、10 mg/mL时，其中间体呈非流体状态，无法实现冻干制剂的批量化操作。综合考虑，本研究选择胶原蛋白含量2.5、5、7.5 mg/mL进行后续优化实验。结果见图1C（略去8、10 mg/mL的胶原蛋白中间体溶液对应数据）。

综合上述单因素实验结果可看出，纤维蛋白原和凝血酶的含量对DBT黏合强度的影响相对明显，且在一定范围内呈正相关；而胶原蛋白的含量对DBT黏合强度的影响相对较弱。

2.4 DBT配方优化的Box-Behnken-响应面实验

2.4.1 实验设计与结果

在单因素实验结果的基础上，本研究采用Design-Expert 8.0.6软件，以冻干前的纤维蛋白原含量（A）、凝血酶含量（B）和胶原蛋白含量（C）为考察因素，以黏合强度（Y_1）、持黏力（Y_2）和吸水力（Y_3）3个效应指标的OD值为响应值，设计3因素3水平共17个实验点的Box-Behnken方案。3个效应指标的OD值按如下步骤计算：首先，对Y_1、Y_2、Y_3进行归一化处理，得$d_i=(Y_i-Y_{min})/(Y_{max}-Y_{min})$（式中，$Y_i$为实测值，$Y_{max}$和$Y_{min}$分别为每个效应指标在整个实验安排中的实测最大值和最小值）；随后，计算OD值，即$OD=(d_1+d_2+d_3)/3$[14]。Box-Behnken实验设计的因素与水平见表1，实验安排与结果见表2。

表1 DBT配方优化的Box-Behnken实验设计因素与水平

水平	A/(mg/cm^2)	B/(IU/cm^2)	C/(mg/mL)
−1	3	6	2.5
0	6	8	5
1	9	10	7.5

2.4.2 模型方程建立与方差分析

应用Design-Expert 8.0.6软件对表2数据进行回归分析，得二次多项回归方程如下：$OD=0.690+0.170A+0.029B+0.110C+0.011AB-0.064AC-0.046BC-0.230A^2-0.100B^2-0.120C^2$。对该回归模型进行方差分析，结果见表3。由表3可知，模型的$P<0.01$，表示其可信度较高；模型失拟检验的$P>0.05$，表明该模型可用于DBT最优配方的预测；模型的调整系数（R^2）为0.932 6，说明该模型的拟合程度较好。在一次项中，A、C对3个效应指标OD值的影响显著（$P<0.01$），各因素对OD值影响的排序为$A>C>B$；二次项中，A^2、B^2、C^2对OD值影响均显著（$P<0.05$）；在交互项中，AB、AC、BC的影响均不显著（$P>0.05$）。

表2 DBT配方优化的Box-Behnken实验安排与结果

序号	A	B	C	Y_1[a]/gf	Y_2/min	Y_3	OD
1	0	−1	1	244	15.6	15.8	0.573 3
2	1	1	0	308	47	4.2	0.600 4
3	0	0	0	280	34.1	12.6	0.673 2
4	0	0	0	300	35.8	14.9	0.762 8
5	1	0	1	356	15.4	6.1	0.470 8
6	1	−1	0	370	19.7	8.4	0.572 4
7	0	0	0	279	32.9	11.8	0.644 4
8	−1	1	0	79	1.3	8.7	0.112 6
9	1	0	−1	332	15.4	4	0.393 7
10	0	1	−1	262	17.6	8.8	0.442 9
11	0	0	0	276	29.4	13.4	0.653 4
12	−1	−1	0	114	2	7.4	0.127 0
13	0	1	1	227	28.8	13.3	0.590 6
14	0	−1	−1	231	6.6	5.1	0.240 1
15	0	0	0	302	36.4	11.8	0.696 2
16	−1	0	1	131	2.5	18.1	0.403 1
17	−1	0	−1	88	1.1	6.5	0.069 4

a：1 gf=0.009 8 N。

表3 DBT配方优化的Box-Behnken实验方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方和	F	P
模型	0.713	9	0.079	10.76	0.002 5
A	0.220	1	0.220	29.81	0.000 9
B	6.827×10^{-3}	1	6.827×10^{-3}	0.93	0.367 7
C	0.099	1	0.099	13.50	0.007 9
AB	4.494×10^{-3}	1	4.494×10^{-3}	0.061	0.812 0
AC	0.016	1	0.016	2.24	0.178 5
BC	8.603×10^{-3}	1	0.009	1.17	0.315 6
A^2	0.223	1	0.223	30.29	0.000 9
B^2	0.044	1	0.044	6.03	0.043 8
C^2	0.062	1	0.062	8.44	0.022 8
残差	0.052	7	7.363×10^{-3}		
失拟检验	0.043	3	0.014	6.31	0.053 6
纯误差	8.986×10^{-3}	4	2.246×10^{-3}		
总误差	0.764	16			

应用Design-Expert 8.0.6软件绘制各因素交互作用对OD值影响的二维等高线图和三维响应曲面图。等高线越密集，表明OD值变化越明显；响应面的曲面倾斜度越大，颜色变化越明显，表明因素间的交互作用越显著。结果显示，3个因素的两两交互之中，因素A与C的交互作用最强，因素A与B的交互作用次之，因素B与C的交互作用最弱。结果见图2。

2.4.3 DBT最优配方的确定及验证

运用Design-Expert 8.0.6软件对上述二次多项回归方程求解，得DBT最优配方为纤维蛋白原含量6.93 mg/cm^2、凝血酶含量8.15 IU/cm^2、胶原蛋白含量5.90 mg/mL，预测OD值为0.733 0。考虑到实际操作的可行性，本研究最终选择DBT的最优配方为纤维蛋白原含量6.5 mg/cm^2、凝血酶含量8.0 IU/cm^2、胶原蛋白含量5.6 mg/mL。

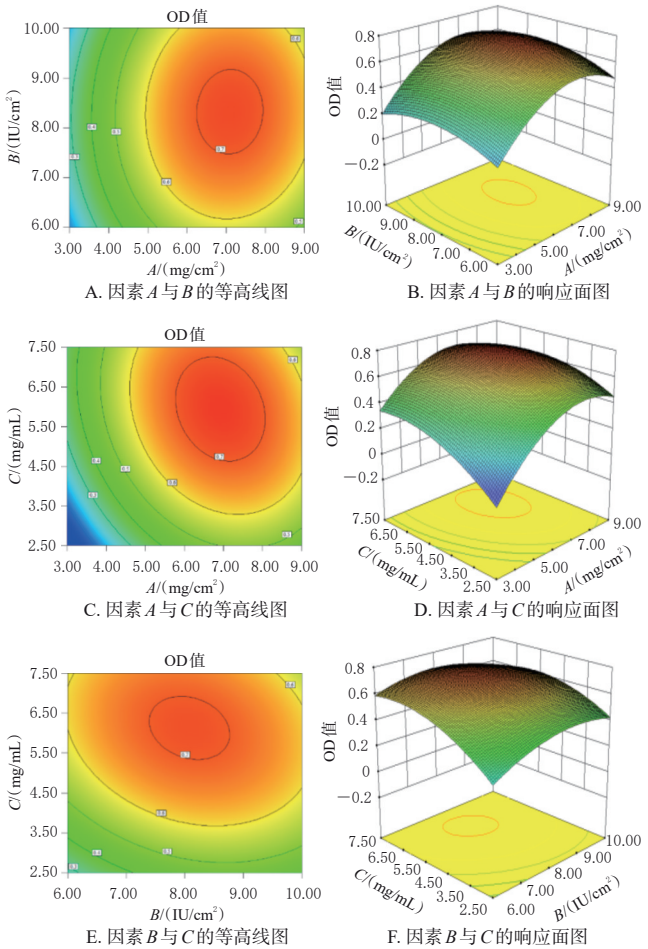


图2　各因素交互作用对OD值影响的等高线图和响应面图

按上述最优配方制备3批DBT，所得OD值分别0.727 5、0.722 0、0.730 3，平均OD值为0.726 6（RSD=0.58%，n=3），与预测OD值的相对误差为−0.87%，表明该配方稳定、可行。结果见表4。

表4　DBT最优配方验证实验结果（n=3）

实验号	黏合强度/gf	持黏力/min	吸水力	OD
1	322	33.0	13.2	0.727 5
2	318	33.2	13.1	0.722 0
3	317	35.8	12.7	0.730 3
平均值	319	34.0	13.0	0.726 6

3　讨论

本课题组所制DBT是将极易发生凝血级联反应的纤维蛋白原和凝血酶经过特殊工艺与胶原蛋白一起冻干成型而得，多以单片使用，叠加给药无法使其止血效能加倍，反而会改变其原有结构并增加机体降解负担，因此通过优化其配方以确定内在成分含量与其止血性能的关系更为必要。为提高实验精确度并减少实验次数[15]，本文选择了Box-Behnken-响应面法对DBT的主要成分含量进行了优化。

本课题组在提取纯化胶原蛋白中间体溶液的过程中发现，当胶原蛋白分子量越大、浓度越高时，所得溶液的黏度越高，当胶原蛋白质量浓度为8、10 mg/mL时，中间体已处于非流体状态；若使用高质量浓度非流体状态的胶原蛋白，冻干所得制剂将没有疏松、多孔、结构均匀的海绵骨架，其吸收能力将会大大减弱，甚至会与纤维蛋白原层分离；若通过高温或酶水解来增加胶原蛋白的溶解度，则难以保持其三螺旋结构，冻干所得制剂的蛋白组织结构亦不稳定，止血时极易发生溶解。因此，本研究选择了胶原蛋白含量2.5～7.5 mg/mL进入下一步优化实验。在纤维蛋白原、凝血酶含量的单因素考察中，因纤维蛋白原层的溶解度和吸水力并不强，故为更好地体现纤维蛋白原与凝血酶的效价强度，本研究只选择了黏合强度作为效应指标进行分析，从而更准确地选择两者需优化的含量范围。

然而，止血敷料的止血性能除了与创面黏附的牢固性有关外，还与其是否能快速吸收渗出血液和与创面黏合的持久性相关（以预防止血物短时间内发生移位脱离）。因此，本研究在Box-Behnken-响应面优化设计中，引入黏合强度、持黏力和吸水力作为效应指标，并以三者的OD值作为综合评价的响应值。虽然本研究并未在方差分析中发现这3个主要成分含量（即3个因素）之间的交互作用，但进一步的响应面分析结果显示，这3个因素之间存在一定的两两交互作用；同时，笔者前期分别对3个效应值（Y_1、Y_2、Y_3）进行了分析，发现3个因素间是有显著的交互作用存在，前后结果的差异可能与拟合OD值后部分交互作用被抵消有关。

本研究最终优化得DBT最优配方为纤维蛋白原含量6.93 mg/cm²、凝血酶含量8.15 IU/cm²、胶原蛋白含量5.90 mg/mL；结合生产实际，最终确定最优配方为纤维蛋白原含量6.5 mg/cm²、凝血酶含量8.0 IU/cm²、胶原蛋白含量5.6 mg/mL。经3次验证实验，所得OD值的RSD为0.58%，与预测OD值的相对误差为−0.87%，提示所得配方稳定、可行。此外值得注意的是，DBT的主要有效成分含量并不完全与其止血性能成正比[16]，笔者猜想这可能与不同有效成分含量配伍冻干所得成品的孔隙率差异、微量成分发生生化反应而影响了产品性能等因素有关。但上述推断尚需通过电镜扫描观察和药理、药效学实验进一步论证。

综上所述，本文优化的DBT配方稳定、可行。

参考文献

[1] 曾奇峰，陈谊. 纤维蛋白粘合剂的功能和对皮肤软组织修复的影响[J]. 粘接，2023，50(3)：25-29.
ZENG Q F，CHEN Y. Hemostatic function of fibrin adhesive and its effect on skin and soft tissue repair[J]. Adhesion，2023，50(3)：25-29.

[2] LITVINOV R I，PIETERS M，DE LANGE-LOOTS Z，et al. Fibrinogen and fibrin[J]. Subcell Biochem，2021，96：471-501.

[3] STERGIOS K，FROUNTZAS M，PERGIALIOTIS V，et al. The effect of TISSEEL® on colorectal anastomosis hea-

ling process in a diabetic animal experimental model[J]. In Vivo,2020,34(2):659-665.

[4] 朱浩方,毛宏理,顾忠伟. 医用组织粘合剂的研究进展[J]. 中国材料进展,2020,39(增刊1):535-550,557.
ZHU H F,MAO H L,GU Z W. Medical tissue adhesives: research progress[J]. Mater China,2020,39(Suppl 1):535-550,557.

[5] 李伟达,邓乐君,朱晋辉,等. 猪源纤维蛋白贴对大鼠肝脏及肝素化兔臀大肌创面的止血作用[J]. 中国药房,2017,28(28):3911-3914.
LI W D,DENG L J,ZHU J H,et al. Study on the hemostatic effect of porcine fibrin sealant patch on bleeding wound of liver in rats and gluteus maximus in heparinized rabbits[J]. China Pharm,2017,28(28):3911-3914.

[6] HOFFMANN G A,WONG J Y,SMITH M L. On force and form: mechano-biochemical regulation of extracellular matrix[J]. Biochemistry,2019,58(47):4710-4720.

[7] OKAMURA H. Sutureless repair techniques for post-infarction left ventricular free wall rupture[J]. Ann Cardiothorac Surg,2022,11(3):268-272.

[8] ROMERO-VELEZ G,KABAN J M,CHAO E,et al. Use of the EVARREST patch for penetrating cardiac injury[J]. Trauma Case Rep,2020,28:100324.

[9] LIPITSÄ T,SIISKONEN H,NAUKKARINEN A,et al. Mast cell chymase degrades fibrinogen and fibrin[J]. Br J Dermatol,2019,181(2):296-303.

[10] LUYENDYK J P,SCHOENECKER J G,FLICK M J. The multifaceted role of fibrinogen in tissue injury and inflammation[J]. Blood,2019,133(6):511-520.

[11] FELLER T,CONNELL S D A,ARIËNS R A S. Why fibrin biomechanical properties matter for hemostasis and thrombosis[J]. J Thromb Haemost,2022,20(1):6-16.

[12] 骆井万,范海明,刘畅,等. 可注射封闭性水凝胶力学性质与其止血性能的相关性[J]. 医用生物力学,2020,35(4):496-501.
LUO J W,FAN H M,LIU C,et al. The correlation between mechanical properties and hemostatic ability of injectable sealing hydrogels[J]. J Med Biomech,2020,35(4):496-501.

[13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部[M]. 2020年版. 北京:中国医药科技出版社,2020:143-145.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Chinese Pharmacopoeia: part Ⅳ [M]. 2020 edition. Beijing: The Medicine Science and Technology Press of China,2020:143-145.

[14] 张玖捌,张伟,王彬,等. 基于Box-Behnken响应面法的白芍产地加工与炮制生产一体化工艺研究[J]. 中草药,2022,53(18):5657-5662.
ZHANG J B,ZHANG W,WANG B,et al. Study on integrated process of producing area and processing production for Paeoniae Radix Alba based on Box-Behnken response surface methodology[J]. Chin Tradit Herb Drugs,2022,53(18):5657-5662.

[15] 黄光强,郑飘雪,梁洁,等. Box-Behnken响应面法结合多指标综合评分法优化龙眼叶提取工艺[J]. 中国药房,2022,33(14):1688-1693.
HUANG G Q,ZHENG P X,LIANG J,et al. Optimization of the extraction technology of the leaves of *Dimocarpus longan* by Box-Behnken response surface methodology combined with multi-index comprehensive score[J]. China Pharm,2022,33(14):1688-1693.

[16] HE S,WALLÉN H,THÅLIN C,et al. Fibrin network porosity and endo-/exogenous thrombin cross-talk[J]. Semin Thromb Hemost,2021,47(7):775-786.

（收稿日期:2023-04-21　修回日期:2023-09-08）
（编辑:张元媛）