DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.13.002
第25卷第13期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 13
2003年7月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jul. 2003

文章编号:1000-5404(2003)13-1123-04

论著

重复注射鱼藤酮对中枢多巴胺神经元的毒性作用

李云鹏[1],董兆君[1],王仕丽[1],蔡 颖[1],李奇慧[1],乐 卫东[2] ([1]第三军医大学预防医学系军事毒理学教研室,重庆 400038;[2]Department of Neurology, Baylor College of Medicine, TX 77030, USA)

提 要:目的 研究小剂量鱼藤酮长期暴露对大鼠和小鼠中枢多巴胺能神经元的损伤特点。方法 昆明小鼠和Wistar大鼠每日腹腔注射鱼藤酮(Rotenone),连续40 d。用小鼠攀爬笼检测阿扑吗啡(APO)诱导的定型行为,以HPLC法检测血浆和脑组织鱼藤酮浓度以及脑皮层和纹状体多巴胺(DA)、二羟基苯乙酸(DOPAC)含量。结果 注射鱼藤酮20 d,大鼠脑皮层和纹状体鱼藤酮明显蓄积,APO诱导的小鼠攀爬行为显著下降,纹状体DA和DOPAC含量也显著降低。鱼藤酮暴露20 d和40 d,纹状体DA和DOPAC含量均显著下降,且有明显的量效和时效关系。结论 重复注射鱼藤酮显著降低动物中枢多巴胺神经递质的含量并导致DA神经行为的异常。

关键词:鱼藤酮;多巴胺;帕金森病
中图法分类号:R338.2;R363.1+3;R995 文献标识码:A

Toxic effect of long-term exposure to rotenone on central dopaminergic nerve of rats and mice

LI Yun-peng, DONG Zhao-jun, WANG Shi-li, CAI Ying, LI Qi-hui, LE Wei-dong (Department of Toxicology, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To observe the characteristics of damage induced by long-term exposure to rotenone at low dose to the central dopaminergic nerve in rats and mice. Methods Kunming mice and Wistar rats were daily administrated with rotenone (ip) for 20 or 40 d. Apomorphine (APO)-induced stereotyped behavior in mice was tested with a cylindrical wired mash. High-performance liquid chromatography was used to determine the concentrations of rotenone in the blood plasma and brain tissues, dopamine (DA) and dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) in the cortex and striatum, respectively. Results After 20-day consecutive exposure, rotenone was accumulated in the brain tissues and the climbing behavior of mice was depressed significantly. A further decrease in DA and DOPAC contents in the cortex and striatum was identified in the rats administrated with rotenone for 40 d. Conclusion Long-term exposure to rotenone produces a remarkable decline of DA transmission and APO-induced climbing behavior.

Key words: rotenone; dopamine; Parkinson disease

帕金森病(Parkinson disease, PD)是以中脑多巴胺(Dopamine, DA)神经元进行性退变为主要病理特征的老年性疾病。家族性PD与遗传因素有关,但大多数散在患者的病因迄今尚不明了,环境因素一直是人们关注的焦点[1]。N-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydro-pyridine, MPTP)是第一个被证实有中枢DA神经元毒性的外源性化学物质,进入中枢后迅速与DA细胞的线粒体结合并抑制细胞呼吸链复合物Ⅰ(NADH脱氢酶)功能,进而导致DA神经元损伤和进行性退变。除MPTP外,环境中存在许多有毒化学物质,其中如氰化钠、氢氰酸、鱼藤酮(Rotenone)等化合物等都可损伤细胞线粒体功能,它们是否亦具人脑功能的损伤作用尚不明了。文献报道,鱼藤酮极易穿透血脑屏障进入中枢神经系统并在边沿脑富集。在整体动物模型,大剂量鱼藤酮持续灌注可使黑质DA神经元内出现包涵体[2,3]。但小剂量长期暴露鱼藤酮对中枢DA神经结构和功能的作用未见报道。本研究采用整体动物长期暴露模型,研究鱼藤酮对脑内DA神经系统的生物化学和行为学影响,以阐明鱼藤酮对DA神经元功能的远期危害作用,为PD研究提供相应的病因学资料。

基金项目:重庆市科学研究基金课题(2000)
作者简介:李云鹏(1971-),男,陕西省安康市人,硕士研究生,助理实验师,主要从事神经毒理学方面的研究,发表论文5篇。电话:(023)68752285
收稿日期:2003-03-12;修回日期:2003-04-25

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1 材料和方法

1.1 试剂和器材

鱼藤酮、阿扑吗啡(Apomorphine, APO)和氟哌啶醇(Haloperidol, HAL)均购自Sigma公司。鱼藤酮以二甲亚砜(Dimethylsulfoxide, DMSO)溶解后加入等量10%聚乙二醇(Polyethylene glycol, PEG),充分震荡混匀后4 ℃保存,1周内用完。APO和HAL于临用前配制,以无菌注射用水溶解后加0.25%的抗坏血酸。MPTP-HCl、DA和二羟基苯乙酸(Dihydroxy-phenylacetic acid, DOPAC)购自Sigma公司,其他试剂为国产分析纯。高效液相色谱仪为Waters公司产品,连接C18柱和紫外检测器或电化学检测器(ESA Coulochem Ⅱ)。

1.2 动物中毒模型

各种动物均由第三军医大学实验动物中心提供,进入实验室检疫观察7 d后用于实验。动物饲养室温度控制在(23±3) ℃,光/暗周期为14 h∶10 h。

5周龄昆明小鼠120只,雌雄各半,体质量18~22 g。将小鼠分为APO 0.75 mg/kg(A组),APO 1.00 mg/kg(B组),APO 1.25 mg/kg(C组),APO 1.25 mg/kg+HAL 0.1 mg/kg(D组),APO 1.25 mg/kg加鱼藤酮不同剂量组:0.8 mg/kg(A_1组),1.0 mg/kg(B_1组),1.2 mg/kg(C_1组),1.2 mg/kg再加0.1 mg/kg HAL(D_1组),共8组,每组15只。对照组动物每日腹腔注射对照溶液共40 d、鱼藤酮组动物每日腹腔注射鱼藤酮溶液共40 d。

1月龄Wistar大鼠75只,雌雄兼有,体质量140~170 g,分为毒物蓄积实验和神经生化分析等两大组。毒物蓄积性实验组共25只,每日腹腔注射鱼藤酮1.0 mg/kg,共20 d,于末次注射鱼藤酮后1、2、4、6、8 h后处死大鼠待用,各时相点5只。神经生化分析组共50只,下设对照、MPTP中毒、鱼藤酮0.8 mg/kg、1.0 mg/kg和1.2 mg/kg等5个亚组,每亚组10只,分别用于20 d实验(5只)和40 d实验(5只)。对照组动物每日腹腔注射对照溶液;MPTP中毒组动物每日腹腔注射MPTP溶液,剂量为2 mg/kg;对照溶液为DMSO∶10% PEG=1∶1,MPTP和鱼藤酮均以对照溶液稀释。

1.3 纹状体和血浆鱼藤酮含量测定

末次注射鱼藤酮后1、2、4、6、8 h,将毒物蓄积实验组大鼠以戊巴比妥麻醉后颈动脉放血处死,血液收集入抗凝瓶待测。置冰上开颅取脑,仔细分离双侧脑皮层和纹状体组织,称重后置-20 ℃保存备用。按1∶2比例向脑组织和血浆加预冷的Na_2SO_4和5 ml冰醋酸溶液匀浆10 s。匀浆液3 000 r/min离心5 min,将上清液转移入15 ml玻璃试管。沉淀后再加5 ml冰醋酸溶液,同法匀浆离心后合并两次上清液,以氮气吹干。向试管内加2 ml正戊烷,充分震荡混匀后过SPE柱,以正戊烷-乙醚混合液(正戊烷∶乙醚=0.62∶0.38)洗脱。将流出液收集入试管内,用氮气吹干。按1 g湿组织0.1 ml的比例加流动相溶液,震荡过夜待测。用高效液相色谱法检测鱼藤酮含量,注射容积为20 μl,流动相为35%乙腈水溶液,检测波长为295 nm。脑组织鱼藤酮含量以ng/g表示,血浆鱼藤酮含量以ng/ml表示。

1.4 APO诱导小鼠攀爬行为检测[4]

小鼠特异性攀爬行为检测在特制的不锈钢攀爬笼中进行。笼高14 cm,直径12 cm,纵杆间距为1.0 cm。实验前先将小鼠放于笼中适应3 min,皮下注射APO 0.75~1.25 mg/kg后,每间隔10 min将小鼠放回攀爬笼2 min,观察APO诱导的攀爬行为并记分,共3次。记分标准是:四肢着地记0分,双前肢扶笼记1分,四肢扶笼或攀笼记2分。计算3次检测得分均值。阻滞实验于注射APO前30 min腹腔注射HAL 0.1 mg/kg。本实验在隔音行为实验室中进行,室温控制在(23±2) ℃。

1.5 大鼠纹状体DA和DOPAC含量测定

分别于第20天和第40天,每组取5只大鼠以戊巴比妥麻醉后,经左心导管灌流预冷的PBS 300 ml。于冰上开颅取脑,仔细分离双侧纹状体,称重后按照1∶1比例加入0.1 mol/L过氯酸匀浆10 s。11 000×g离心10 min,上清液经0.2 μm滤膜过滤后4 ℃保存待测。以微量注射器精确吸取20 μl注入样品室进行高效液相色谱分析,流速为1.2 ml/min,流动相为75 mmol/L磷酸缓冲液(pH 3.0),内含25 μmol EDTA,1.7 mmol辛磺酸,0.01%(体积分数)三乙胺和7%(体积分数)乙腈。电化学检测器电压设定为700 mV,DA和DOPAC的峰值面积与外参比较后计算实际含量,结果以ng/mg表示[5]。

1.6 统计学处理

实验结果以$\bar{x}\pm s$表示,采用t检验。

2 结果

2.1 大鼠脑皮层、纹状体和血浆鱼藤酮浓度变化

于第20天注射鱼藤酮后1、2、4、6和8 h处死大鼠,取脑皮层、纹状体和血浆,分别测定鱼藤酮含量,见表1。给药后1 h血浆的鱼藤酮浓度为(7.26±0.81) ng/ml,脑皮层和纹状体鱼藤酮浓度分别为(3.31±0.27) ng/g和(2.56±0.18) ng/g,血浆浓度高于脑组织浓度。但血浆鱼藤酮2 h降至1 h的5.2%,此后维持在低水平。注射后8 h,脑皮层和纹状体鱼藤酮浓度分别是1 h的22%和29%。

表1 注射鱼藤酮20 d后大鼠血浆和脑组织鱼藤酮含量变化(n=5, $\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Rotenone concentration in rat brain tissue and blood plasma after 20 day's injection(n=5, $\bar{x}\pm s$)

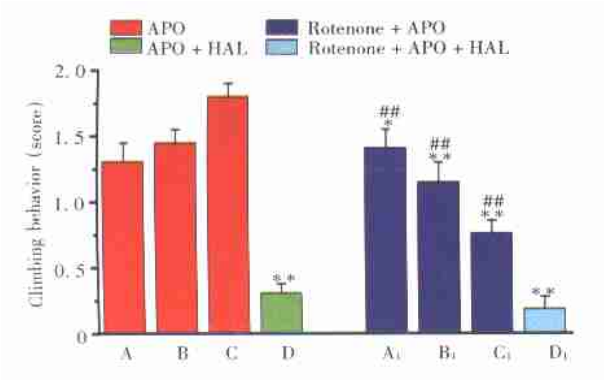
Time after last injection of rotenone(h)	Brain area(ω_B /ng·g^{-1})		Blood plasma (ρ_B /ng·ml^{-1})
	Cortex	Striatum	
1	3.31±0.27	2.56±0.18	7.26±0.81
2	1.50±0.20	1.97±0.42	0.38±0.06
4	0.98±0.11	1.13±0.06	0.41±0.07
6	0.90±0.10	0.73±0.08	0.35±0.05
8	0.73±0.08	0.74±0.06	0.32±0.04

2.2 阿扑吗啡诱导的小鼠攀爬行为变化

对照组小鼠皮下注射APO后,出现啃、舔、嗅和垂直攀爬等多巴胺系统的定型行为。小剂量时以啃、舔、嗅表现突出,大剂量时以垂直攀爬为主。皮下注射0.75、1.00和1.25 mg/kg APO后小鼠攀爬行为记分均值分别为(1.31±0.14)、(1.45±0.10)和(1.80±0.10)。预先注射HAL可阻断1.25 mg/kg APO诱导的攀爬行为。以1.25 mg/kg APO检测鱼藤酮注射对小鼠定型行为的影响,注射0.8、1.0、1.2 mg/kg鱼藤酮40 d后,APO诱导的垂

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

直攀爬行为分别为(1.41±0.14)、(1.15±0.15)和(0.76±0.10), 均与对照组有显著差异, 见图 1。1.2 mg/kg 鱼藤酮暴露小鼠经 HAL 处理后, APO 诱导的攀爬行为几近完全消失。



*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* C group; ##: $P<0.01$ *vs* D_1 group

图 1　阿扑吗啡诱导的小鼠攀爬行为($n=15$, $\bar{x}\pm s$)

Fig 1　Effect of rotenone exposure on DA and DOPAC concentrations in mice striatum($n=15$, $\bar{x}\pm s$)

2.3　大鼠纹状体 DA 和 DOPAC 含量变化

第 20 天测得对照大鼠纹状体组织 DA 和 DOPAC 含量分别为(56.56±9.54)和(24.46±3.92) nmol/mg, 鱼藤酮组大鼠纹状体 DA 和 DOPAC 含量均明显下降($P<0.01$), 见表 2, 其中鱼藤酮 1.2 mg/kg 组大鼠纹状体的 DA 和 DOPAC 含量仅为(21.30±1.43)和(9.54±1.51) nmol/mg, 分别是对照组的 37.7% 和 39.0%, 与 MPTP 的效果接近。第 40 天对照组大鼠纹状体 DA 和 DOPAC 含量与 20 d 组无明显差别($P<0.05$), 但鱼藤酮组大鼠纹状体 DA 和 DOPAC 含量下降更为严重, 1.2 mg/kg 组纹状体 DA 和 DOPAC 含量仅为对照组的 17.2% 和 23.4%, 也与 MPTP 的作用效果接近。

表 2　鱼藤酮对大鼠纹状体 DA 和 DOPAC 含量的影响(b_B/nmol·mg^{-1}, $n=5$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Effect of rotenone exposure on DA and DOPAC concentrations in rat striatum(b_B/nmol·mg^{-1}, $n=5$, $\bar{x}\pm s$)

	20 d		40 d	
	DA	DOPAC	DA	DOPAC
Control	56.56±9.54	24.46±3.92	55.76±4.72	25.04±2.76
MPTP	18.90±2.18**	9.72±2.69**	11.10±2.66**	5.96±1.56**
Rotenone				
0.8 mg/kg	52.60±5.00	22.80±2.74	49.18±3.40*	20.70±1.70*
1.0 mg/kg	27.14±3.06**	14.36±2.50**	16.72±4.70**	10.08±3.29**
1.2 mg/kg	21.30±1.43**	9.54±1.51**	9.60±3.14**	5.86±1.44**

*: $P<0.01$, **: $P<0.01$ *vs* control

3　讨论

20 世纪 80 年代, 美国的吸毒者自制冰毒以扩大毒品来源。但长期服用冰毒后产生极似 PD 的临床症状和病理学特点。研究证实, 冰毒中的 MPTP 穿过血脑屏障后被星形细胞的酸性细胞器捕获, 经单胺氧化酶转化为二氢吡啶, 后者进一步转化为 N-甲基-4-苯基吡啶(MPP+)。MPP+释放到细胞外, 再被 DA 转运体(DA transporter, DAT)载入 DA 神经元内, 并通过线粒体外膜上能量依赖性转运机制聚集入线粒体, 抑制线粒体呼吸链的复合物Ⅰ, 进而导致 DA 神经元损伤。因此, 线粒体功能干扰剂在 DA 神经元退变中的作用受到人们关注。环境中有不少化合物对线粒体功能具有干扰作用, 鱼藤酮是其中之一。文献报道, 鱼藤酮进入中枢后迅速与 DA 神经元结合, 并特异性地抑制线粒体复合物Ⅰ。Ferrante 等[7] 为大鼠静脉灌注大剂量鱼藤酮, 10 d 后动物出现明显的运动障碍, 双侧纹状体 DA 神经元的数目减少。为 Lewis 大鼠持续灌注鱼藤酮, 近 50%的动物纹状体和黑质出现典型的 DA 神经元退变、细胞内形成 Lewy 小体[2]。但上述研究中的鱼藤酮接触剂量过大, 在人类生活中实际不可能。小剂量鱼藤酮是否也引起中枢 DA 神经损害尚不明了。

本研究结果表明, 大鼠接触小剂量鱼藤酮 20 d, 纹状体内鱼藤酮含量高达 3.31 ng/g, 4～8 h 仍维持在 0.7～0.9 ng/g, 消除速度较慢。提示鱼藤酮在纹状体内有一定量的蓄积, 蓄积的鱼藤酮可持续地作用于线粒体复合物Ⅰ, 可能导致 DA 神经元的损伤。

APO 诱导的小鼠攀爬行为模型是检测中枢 DA 神经功能的重要方法之一。本实验观察到, 皮下注射 APO 小鼠出现啃、舔、嗅和垂直攀爬等定型行为。从结果看出, 1.25 mg/kg APO 诱导的攀爬行为能为 DA 受体阻滞剂 HAL 所对抗, 提示本模型结果可靠。鱼藤酮暴露 40 d 后, 小鼠攀爬行为明显减弱。0.8、1.0 和 1.2 mg/kg 组小鼠的得分均值, 分别由对照组的 1.80 降至 1.41、1.15 和 0.76, 说明鱼藤酮对 DA 神经功能的损伤有剂量依赖性。

DA 神经行为的变化以神经递质的变化为基础。用 HPLC 分析大鼠长期暴露后纹状体内 DA 和 DOPAC 的含量。0.8、1.0、1.2 mg/kg 鱼藤酮暴露 20 d, 大鼠纹状体 DA 含量由对照组的 56.56 减少至 52.60、27.14 和 21.30 nmol/mg, 暴露 40 d 则由对照组的 55.76 减少至 49.18、16.72 和 9.60。纹状体 DOPAC 含量的变化与 DA 变化趋势一致。结果提示, 鱼藤酮长期暴露对大鼠中枢 DA 神经递质的影响具有明显的剂量和时间依赖性(表 2)。对比实验结果提示, 1.2 mg/kg 鱼藤酮对纹状体 DA 和 DOPAC 含量的影响, 在 20 d 和 40 d 两个时相点均与 MPTP 的作用相似。说明鱼藤酮对中枢 DA 神经元的损伤作用与 MPTP 接近。

鱼藤酮通过何种途径与 DA 神经元结合？导致 DA 神经元损伤的机制是什么？这些问题正在研究之中。

参考文献:

[1] Tanner C M, Goldman S M. Epidemiology of Parkinson's disease[J]. Neur-

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

rol Clin, 1996, 14(2): 317－335.
[2] Betarbet R, Sherer T B, MacKenzie G, *et al*. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease[J]. Nat Neurosci, 2000, 3(12): 1301－1306.
[3] 董兆君. 鱼藤酮的多巴胺神经元毒性与帕金森病[J]. 国外医学神经病学神经外科学分册, 2001, 28(5): 357－360.
[4] Kim H S, Rhee G S, Jung J Y, *et al*. Inhibition by noncompetitive NMDA receptor antagonists of apomorphine-induced climbing behavior in mice[J]. Life Sci, 1996, 58(17): 1397－1402
[5] Le W D, Bostwick J R, Appel S H. Use of ^{3}H-GBR12935 to measure dopaminergic nerve terminal growth into the developing rat striatum[J]. Brain Res Dev Brain Res, 1992, 67(2): 375－377.
[6] Rothblat D S, Schroeder J A, Schneider J S. Tyrosine hydroxylase and dopamine transporter expression in residual dopaminergic neurons: potential contributors to spontaneous recovery from experimental Parkinsonism[J]. J Neurosci Res, 2001, 65(3): 254－266.
[7] Ferrante R J, Schulz J B, Kowall N W, *et al*. Systemic administration of rotenone produces selective damage in the striatum and globus pallidus, but not in the substantia nigra[J]. Brain Res, 1997, 753(1): 157－162.

（编辑 汪勤俭）

个案与短篇

文章编号: 1000-5404(2003)13-1126-01

以米托蒽醌为主的化疗方案治疗成人急性白血病疗效分析

Mitoxantrone as major chemotherapeutic agent for adult acute leukemia

史曦凯, 张翼军, 裴 莉, 张红宾 （第三军医大学附属西南医院血液内科, 重庆 400038）

以蒽环类药物为主的联合化疗方案是治疗急性白血病(Acute leukemia, AL)的常用方案。米托蒽醌(Mitoxantrone, NVT)是一种较新型的蒽环类药物, 已经作为治疗急性白血病的基本用药, 国内外多家单位报道其疗效与柔红霉素相近, 但心脏毒性较小。我们应用国产米托蒽醌治疗了 30 例急性白血病, 取得了较好效果, 现报告如下。

1 材料与方法

1.1 药物

米托蒽醌(米西宁)每支含盐酸米托蒽醌 2 mg。

1.2 病例

按文献[1]标准诊断, 共 30 例急性白血病。男性 17 例, 女性 13 例, 年龄 18～72 岁。按 FAB 分型, 急性非淋巴细胞白血病 19 例, 其中初治 5 例, 难治 9 例, 复发 5 例; 急性淋巴细胞白血病 11 例, 其中初治 2 例, 难治 4 例, 复发 5 例。

1.3 治疗方法

急性非淋巴细胞白血病采用 NVT＋阿糖胞苷(Ara-C), NVT 6 mg·m^{-2}·d^{-1} 静脉注射, 第 1～3 天, Ara-C 200 mg/d 静脉注射, 5～7 d; 急性淋巴细胞白血病采用 NVT＋VP, NVT 剂量同前, VCR 2 mg 静脉注射, 第 1 天, Pred 60 mg/d 口服 7 d, 加或不加环磷酰胺(CTX)400～600 mg/d 静脉注射, 第 2、4 天。

1.4 疗效标准

均按文献[1]评判。

2 结果

2.1 治疗效果

30 例急性白血病应用以 NVT 为主的化疗方案完全缓解率(CR)50%, 部分缓解率(PR)23.3%, 未缓解率(NR)26.7%, 总有效率 73.3%。其中难治与复发病例, 完全缓解率 9.1%, 部分缓解率 26.1%, 总有效率 65.2%。

2.2 毒副反应

以 NVT 为主的联合化疗方案毒副反应主要是骨髓抑制。30 例中有 21 例发生不同程度骨髓抑制, 严重抑制有 3 例(10%)。粒细胞受抑制最为显著, 血小板次之, 血红蛋白仅轻度下降, 2～3 周外周血象可恢复正常。所有病例中, 25 例有程度不同的恶心、呕吐、纳差, 1 例出现频发室性早搏, 2 例心电图 ST 段下移, 5 例 SGPT、SGOP 轻度增高。

3 讨论

NVT 属抗肿瘤抗生素类化疗药, 通过嵌入 RNA 改变 RNA 复制, 转录阻止 DNA 合成。国外文献报道, NVT 治疗 AL 缓解率约 60%～70%。我们应用国产 NVT 为主联合化疗治疗 AL, 总完全缓解率 50%, 总有效率 73.3%, 难治、复发病例总有效率 65.2%与文献报道相似。NVT 主要毒性是骨髓抑制, 大部分病例发生骨髓抑制反应, 严重抑制占 10%, 采用细胞因子治疗, 血象多在 2～3 周恢复。心脏毒性较 ADM、DNR 轻, 仅 1 例出现频发室早, 应用利多卡因静滴, 早搏消失; 2 例 ST 段改变, 无特殊处理, 停药后恢复正常。5 例转氨酶异常, 经加强护肝处理, 恢复正常。全部消化道反应均可通过对症处理得到控制。

由于国产 NVT 对 AL 疗效肯定, 心脏毒性低, 故我们认为应用国产 NVT 为主的联合化疗方案是治疗初治、难治、复发急性白血病的有效方案。

关键词: 米托蒽醌; 急性白血病; 化疗
中图法分类号: R733.710.5 文献标识码: B

参考文献:

[1] 张之楠. 血液病诊断及疗效标准[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1991.368

（编辑 陈聪连）

作者简介: 史曦凯(1965－), 男, 重庆市人, 硕士, 主治医师, 讲师, 主要从事血液病临床诊断及治疗方面的研究。电话: (023)68754000－73059

收稿日期: 2003-04-25; 修回日期: 2003-05-18

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net