DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.04.015
第25卷第4期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 4
312 2003年2月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Feb. 2003

论著

文章编号:1000-5404(2003)04-0312-04

大鼠衰老模型的初步建立

徐 智[1],吴国明[1],钱桂生[1],王士雯[2],薛 桥[2] ([1]第三军医大学附属新桥医院全军呼吸内科研究所,重庆 400037;[2]中国人民解放军总医院老年心血管病研究所,北京 100853)

提 要:目的 探讨D-半乳糖皮下注射法致大鼠衰老的合适剂量,复制可靠的大鼠衰老模型。方法 实验分为D-半乳糖0.075 g/kg组、0.1 g/kg组、0.125 g/kg组、3月龄对照组、24月龄对照组(n=10)。前3组每天给予D-半乳糖皮下注射,对照组皮下注射等量生理盐水,40 d后观测脑中B型单胺氧化酶(MAO-B)活性、血清超氧化物歧化酶(SOD)活性、血清脂质过氧化物(LPO)含量,脑、心肌、肝中脂褐素含量,血清溶血素水平,胸腺指数、脾脏指数、体重增长率,血糖、血清胆固醇含量的变化。结果 各致衰组和24月龄组的脑中MAO-B活性、血清LPO含量均较3月龄组显著增高($P<0.01$);血清SOD活性较3月龄组降低($P<0.01$);脑、心肌、肝中脂褐素含量均较3月龄组增高($P<0.01$);血清溶血素水平、胸腺指数、脾脏指数仅0.125 g/kg组和24月龄组较3月龄组显著降低(分别:$P<0.05$;$P<0.01$;$P<0.01$);各致衰组的血糖与3月龄组间无显著差异;血清胆固醇仅0.1 g/kg组显著增高($P<0.01$);体重增长率较3月龄组显著降低($P<0.01$)。以上变化中0.125 g/kg组与24月龄组之间无显著差异($P>0.05$)。结论 D-半乳糖0.125 g·kg^{-1}·d^{-1}皮下注射40 d可以复制出与24月龄大鼠衰老程度近似的大鼠衰老模型。

关键词:D-半乳糖;大鼠;衰老模型
中图法分类号:R-332;R339.38;R977.7 文献标识码:A

Preliminary establishment of aging model in rat

XU Zhi, WU Guo-ming, QIAN Gui-sheng, WANG Shi-wen, XUE Qiao (Institute of Respiratory Diseases of PLA, Xingqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: **Objective** To investigate the suitable dosage of the aging model induced by D-galactose injected subcutaneously and the reliability of this aging model. **Methods** Forty-three-month old rats were randomly divided into 4 groups (n=10): 0.075 g/kg D-galactose group, 0.1 g/kg^{-1} D-galactose group, 0.125 g/kg D-galactose group, and 3-month old control group. The D-galactose groups received D-galactose injected subcutaneously once per day. Ten twenty-four-month rats were set as another control group. The two control groups were injected subcutaneously with equivalent saline. The following indices were observed 40 days later: the activity of MAO-B in the brain tissue, the activity of superoxide dismutase (SOD) and the content of the lipid peroxides (LPO) in serum, the contents of lipofuscin in brain, heart and liver, the content of hemolysin in serum, the thymus weight index, the spleen weight index, the growth rate of weight, the blood sugar and cholesterol in serum. **Results** Compared with those in 3-month group, the activity of MAO-B in the brain tissue and the content of the LPO of each D-galactose group and 24-month group increased respectively ($P<0.01$); the activity of SOD of each D-galactose group and 24-month group decreased ($P<0.01$); the contents of lipofuscin in brain, heart and liver increased ($P<0.01$); the content of hemolysin in serum, the thymus weight index and the spleen weight index of D-galactose 0.125 g/kg group and 24-month group decreased ($P<0.01$); no significant difference of blood sugar was found between D-galactose group and 3-month group; cholesterol in serum of D-galactose 0.1 g/kg group increased ($P<0.01$); the growth rate of weight decreased ($P<0.01$). These changes of D-galactose 0.125 g/kg group were similar to those in 24-month group ($P>0.05$). **Conclusion** The dosage of 0.125 g/kg of D-galactose injected subcutaneously once per day for 40 days can reproduce the aging model of the twenty-four-month old rat.

Key words: D-galactose; rat; aging model

目前用于衰老机制研究的动物模型主要采用自然衰老动物或人为致衰老的动物。后者是指利用药物、辐射、臭氧等方法人为地将年轻动物在短期内致衰老,具有个体差异小、实验周期短、节省人力物力等优点。皮下注射D-半乳糖是常用的复制衰老模型的方法,该模型已广泛用于衰老机制、老年病、抗衰老药物筛选等方面的研究。但该模型的复制中存在D-半乳糖用量

基金项目:国家重点基础研究发展规划资助项目("973"项目)(G2000057004)
作者简介:徐 智(1973-),男,四川省乐山市人,硕士研究生,医师,主要从事老年多器官功能不全的肺启动机制方面的研究。电话:(023)68755320
通信作者:吴国明,E-mail:guomingwu@mail.tmmu.com.cn
收稿日期:2002-09-09;修回日期:2002-12-13

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

不规范、衡量衰老的指标不全面和评价衰老的程度不准确等缺点。本研究旨在探讨 D-半乳糖皮下注射法致大鼠衰老的可靠剂量, 并把该模型鼠的酶学指标、生理生化指标和免疫指标分别与 3 月龄鼠和 24 月龄老年鼠比较, 以证明该模型的可靠性, 为以后该模型的复制提供可信的方法和标准。

1　材料与方法

1.1　试剂

D-半乳糖(Sigma 公司), SOD 试剂盒(晶美生物公司), LPO 试剂盒(晶美生物公司), 盐酸苄胺(Sigma 公司), 小牛血清白蛋白(Sigma 公司), 考马斯亮蓝 G250(上海试剂厂), 绵羊血红细胞(第三军医大学实验动物中心), 豚鼠血清(第三军医大学实验动物中心), 其余试剂均为市售分析纯。

1.2　实验动物

3 月龄雄性 Wistar 大鼠 40 只, 体重(124.8±4.1) g, 24 月龄雄性 Wistar 大鼠 10 只, 体重(479.5±10.1) g。由第三军医大学实验动物中心提供。

1.3　实验分组

将 40 只 3 月龄雄性 Wistar 大鼠随机分成 4 组(n=10): D-半乳糖 0.075 g/kg 组; D-半乳糖 0.1 g/kg 组; D-半乳糖 0.125 g/kg 组; 3 月龄对照组。另将 10 只 24 月龄雄性 Wistar 大鼠设为 24 月龄对照组。D-半乳糖组分别皮下注射 D-半乳糖: 0.075 g·kg^{-1}·d^{-1}、0.1 g·kg^{-1}·d^{-1}、0.125 g·kg^{-1}·d^{-1}, 连续注射 40 d; 对照组每天皮下注射等量生理盐水。

1.4　测定方法

每 7 d 称体重 1 次。实验结束时, 解剖动物, 以电子天平称取胸腺和脾重量。脑 B 型单胺氧化酶(MAO-B)活性测定为紫外分光光度法; 血清超氧化物歧化酶(SOD)活性和血清过氧化脂质(LPO)测定采用化学比色法, 按试剂盒说明书进行; 脑、心肌、肝组织中脂褐素含量测定为荧光分光光度法; 体液免疫采用溶血素测定法; 血糖及血清胆固醇含量采用 HITACHI 全自动生化分析仪(7150)测定。

1.5　统计学处理

各组实验数据均用 SPSS 10.0 统计软件作统计学处理, 结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 进行单因素方差分析。

2　结果

2.1　脑 MAO-B 活性

各致衰组 MAO-B 活性均较 3 月龄对照组显著增高($P<0.01$), 其中 0.125 g/kg 组与 24 月龄对照组无显著差异($P>0.05$), 见表 1。

2.2　血清 SOD 活性和 LPO 含量

各致衰组血清 SOD 活性均较 3 月龄对照组显著降低($P<0.01$), 其中 0.125 g/kg 组与 24 月龄组无显著差异($P>0.05$)。各致衰组血清 LPO 含量均较 3 月龄对照组显著增高($P<0.01$), 其中 0.125 g/kg 组与 24 月龄对照组无显著差异($P>0.05$), 见表 1。

2.3　脑、心肌、肝组织脂褐素含量

各致衰组的脑中脂褐素含量均较 3 月龄对照组显著增高($P<0.01$), 其中 0.1 g/kg、0.125 g/kg 组与 24 月龄对照组无显著差异($P>0.05$)。各致衰组的心肌脂褐素含量均较 3 月龄对照组显著增高($P<0.01$), 其中 0.125 g/kg 组与 24 月龄对照组无显著差异($P>0.05$)。肝脂褐素含量仅 0.125 g/kg 组较 3 月龄对照组显著增高($P<0.01$), 与 24 月龄对照组无显著差异($P>0.05$), 见表 2。

表 1　坐骨神经损伤后腰段脊髓 SOD 活性和 MDA 含量的变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 1　The change of SOD and MDA in lumbar spinal cord after sciatic nerve injury ($\bar{x}\pm s$)

Group	MAO-B(nmol·h^{-1}·mg^{-1})	SOD(NU/ml)	LPO(nmol/ml)
0.075 g/kg	213.46±11.42 **##	676.8±14.1 **##	4.93±0.45 **##
0.1 g/kg	229.2±14.58 **##	651.3±21.8 **#	5.34±0.35 **#
0.125 g/kg	254.32±17.59 **	644.0±24.9 **	5.46±0.43 **
3-month old	172.14±10.02	705.5±15.1	3.88±0.36
24-month old	262.01±15.68 **	628.1±21.4 **	5.77±0.41 **

**: $P<0.01$ *vs* 3-month old group; #: $P<0.05$, ##: $P<0.01$ *vs* 24-month old group

表 2　脑、心肌、肝组织中脂褐素含量($\bar{x}\pm s$)

Tab 2　The contents of lipofuscin in brain, heart and liver($\bar{x}\pm s$)

Group	Lipofuscin in brain (μg quinine sulfate/g wt)	Lipofuscin in heart (μg quinine sulfate/g wt)	Lipofuscin in liver (μg quinine sulfate/g wt)
0.075 g/kg	5.70±0.39 **#	8.42±1.99 **##	9.94±1.72 *#
0.1 g/kg	6.26±0.46 **	9.70±1.92 **#	9.82±2.66 *##
0.125 g/kg	6.20±0.49 **	10.74±2.05 **	11.08±2.22 **
3-month old	5.06±0.67	5.74±0.76	7.78±1.19
24-month old	6.27±0.42 **	11.6±1.86 **	12.38±1.96 **

**: $P<0.01$ *vs* 3-month old group; #: $P<0.05$, ##: $P<0.01$ *vs* 24-month old group

2.4　血清溶血素水平

各致衰组中仅 0.125 g/kg 组血清中溶血素水平较 3 月龄对照组显著降低($P<0.01$), 且与 24 月龄组无显著差异($P>0.05$), 见表 3。

表 3　溶血素 HC50、血糖、血清胆固醇($\bar{x}\pm s$)

Tab 3　The contents of hemolysin, blood sugar and cholesterol in serum($\bar{x}\pm s$)

Group	Hemolysin HC50	Blood sugar (mmol/L)	Cholesterol (mmol/L)
0.075 g/kg	75.31±8.61 ##	13.6±4.7	1.64±0.011
0.1 g/kg	73.99±8.84 #	14.7±5.5	2.06±0.55 **
0.125 g/kg	67.22±7.32 *	13.0±6.1	1.74±0.39
3-month old	88.98±18.03	10.25±4.9	1.46±0.29
24-month old	61.34±5.60 **	13.5±4.3	1.89±0.52 *

**: $P<0.01$ *vs* 3-month old group; #: $P<0.05$, ##: $P<0.01$ *vs* 24-month old group

2.5　血糖、血清胆固醇浓度

各致衰组的血糖与 3 月龄对照组间无显著差异($P>0.05$); 血清胆固醇仅 0.1 g/kg 组显著增高($P<0.01$), 见表 3。

2.6　胸腺指数和脾脏指数、体重增长率

胸腺指数仅 0.125 g/kg 组较 3 月龄对照组显著降低($P<0.01$), 其变化与 24 月龄对照组无显著差异($P>0.05$)。各致衰组的脾脏指数均较 3 月龄对照组显著降低($P<0.01$), 其中 0.125 g/kg 组与 24 月龄对照组无显著差异($P>0.05$)。各致衰组的体重增长率均较 3 月龄对照组显著降低($P<0.01$), 见表 4。

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

表4 胸腺和脾脏指数、体重增长率($\bar{x}\pm s$)

Tab 4 The indices of thymus weight spleen weight and the growth rate of weight($\bar{x}\pm s$)

Group	Thymus index (g/100 g)	Spleen index (g/100 g)	Weight growth rate (%)
0.075 g/kg	0.101±0.011 *##	0.46±0.03 ##	0.54±0.05 **##
0.1 g/kg	0.097±0.032	0.45±0.03 *##	0.46±0.05 **##
0.125 g/kg	0.081±0.020 **	0.43±0.04 **	0.39±0.08 **##
3-month old	0.130±0.020	0.49±0.02	0.66±0.06
24-month old	0.068±0.005 **	0.42±0.03 **	0.05±0.02 **

**: $P<0.01$ *vs* 3-month old group; #: $P<0.05$, ##: $P<0.01$ *vs* 24-month old group

3 讨论

研究衰老机制、老年病需要可靠的衰老模型。复制衰老模型的依据是目前公认的几种衰老学说。国外学者认为衰老与DNA的损伤和修复能力下降有关,因此给予家蝇小量辐射,成功地缩短了其寿命和诱使其功能基因出现损害。日本学者在培育AKR/J系小白鼠时发现部份小鼠发生变异出现快速老化症状,于是进行选择性近交延代,培育成快速老化模型小白鼠(Senescence accelerated mouse, SAM),SAM的不同品种分别具有或兼有老化淀粉样变、老年性骨质疏松、白内障、脑萎缩等老年性改变。我国学者根据衰老的氧自由基学说,给予小鼠吸入臭氧,导致体内脂质过氧化产物增多,影响某些酶及蛋白质的生物活性,从而致衰老。D-半乳糖致衰老模型是我国学者基于衰老的代谢学说而复制的衰老模型,该模型系在一定的时间内给动物连续注射D-半乳糖,使其细胞内半乳糖浓度增高,在醛糖还原酶催化下,还原成半乳糖醇,后者不能被细胞进一步代谢而堆积在细胞内,影响正常渗透压,导致细胞肿胀,功能障碍,代谢紊乱,最终机体衰老[1]。辐射致衰老模型、SAM、和臭氧致衰老模型的老化表现各有局限性,而D-半乳糖模型因全面影响细胞的代谢功能和一些重要的酶的功能,所导致的老化较全面。

研究表明,机体在衰老的过程中会发生酶的合成障碍和活力改变、抗氧化能力下降、免疫功能下降和糖、脂代谢紊乱等[2~4]。MAO-B是大脑和周围神经组织中一种十分重要的酶,它可以激活内源或外源的神经毒或提高有害的H_2O_2的水平来加速大脑的老化[5]。脑内MAO-B活性随年龄增长而升高,从而导致儿茶酚胺类递质含量减少,大脑的各种思维活动能力下降。本研究显示各致衰组脑MAO-B活性均较3月龄对照组显著增高,其中D-半乳糖0.125 g/kg组与24月龄对照组无显著差异。说明D-半乳糖0.125 g/kg皮下注射所引起的该酶的变化与自然衰老的大鼠相近,可以用于大脑的老化机制方面的研究。

SOD是体内重要的抗氧化酶,它的活性下降使自由基产生过量,引起不饱和脂肪酸氧化生成过氧化物,形成脂褐素和使DNA、蛋白质和酶等改变、破坏,从而加速衰老[3]。文献[6]报道0.048 g/kg D-半乳糖能引起大鼠血清SOD和LPO的显著变化,但其研究结果未与老龄大鼠比较。另有研究表明,0.1 g/kg D-半乳糖所引起SOD和LPO的变化与自然衰老时的变化相近。本研究显示3种浓度的D-半乳糖均能引起血清SOD显著降低和血清LPO含量显著增高,其中0.125 g/kg组与24月龄对照组的变化无显著差异。因此我们认为D-半乳糖0.125 g/kg所引起的抗氧化能力的衰老是可靠的。

脂褐素的形成与自由基有密切的关系。自由基作用于多不饱和脂肪酸产生脂质过氧化物,后者产生醛基和羰基,导致大分子交联,最终形成脂褐素[7]。脂褐素存在于老年人及动物的心、血管、大脑、肝和神经等组织中,随年龄的增长,脂褐素越积越多。本研究显示脑组织对D-半乳糖反应较敏感,0.1 g/kg D-半乳糖的剂量已能引起与自然衰老时相同的变化。心肌和肝的脂褐素含量仅0.125 g/kg组的变化与老龄组无显著差异。

免疫学说认为衰老时免疫系统出现结构改变和功能下降,对感染和应激的抵抗能力减弱,从而导致机体衰老[8,9]。本研究检测了反应体液免疫的血清溶血素以及反应免疫器官重量改变的胸腺指数和脾脏指数。结果显示0.125 g/kg D-半乳糖组的血清溶血素水平显著降低,胸腺和脾脏明显萎缩,其变化与老龄对照组相似。有文献报道0.1 g/kg D-半乳糖未能引起免疫功能的改变。本研究中0.1 g/kg D-半乳糖组的溶血素水平与正常对照组间亦无显著差异。说明需较大剂量的D-半乳糖才能降低大鼠的免疫功能。

衰老时糖、脂代谢功能下降,出现血糖和血脂升高。本研究中3个致衰组的血糖均无明显变化,血胆固醇仅0.1 g/kg D-半乳糖组较正常对照组显著升高。说明D-半乳糖对糖、脂代谢的影响较小,这与文献[6]报道是相符的。

可靠的衰老模型应能较全面地模拟以上衰老过程中发生的变化。辐射致衰老的模型虽能损害一些功能基因,但该模型多以果蝇作为研究对象,其老化仅表现为寿命缩短。SAM是由于基因突变而出现衰老加速,但其不同的品种各有不同的老化表现,并未出现全身多系统的老化,可能与突变的基因不同有关。以前的D-半乳糖致衰老模型所用的D-半乳糖剂量从0.05~0.12 g/kg不等,且多采用某一方面的指标评价模型的衰老程度,未能全面证明该模型的可靠性。我们的实验采用3个梯级浓度的D-半乳糖给予大鼠皮下注射,40 d后检测以上指标,并分别与3月龄和24月龄大鼠比较。结果表明:①D-半乳糖皮下注射引起以上指标的变化与自然衰老的变化是一致的,但对血糖和血脂的影响较小。②3种浓度的D-半乳糖均能使以上指标发生不同程度的变化,但以0.125 g/kg组的变化最全

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

面、差异最显著。③3 个浓度组中仅 0.125 g/kg 组与 24 月龄组无显著差异。说明采用 D-半乳糖 0.125 g·kg^{-1}·d^{-1}皮下注射 40 d 能使大鼠表现出与自然衰老一致的变化，并且其衰老的程度与 24 月龄大鼠相似。因而该模型是较理想的用于衰老研究的动物模型。

参考文献：

[1] Song X, Bao M, Li D. Advanced glycation in D-galactose induced mouse aging model[J]. Mech Ageing Dev, 1999, 108(3): 239—251.
[2] Leutner S, Eckert A, Muller W E. ROS generation, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in the aging brain[J]. J Neural Transm, 2001, 108(8-9): 955—967.
[3] Wei Y H, Lu C Y, Wei C Y, *et al*. Oxidative stress in human aging and mitochondrial disease-consequences of defective mitochondrial respiration and impaired antioxidant enzyme system[J]. Chin J Physiol, 2001, 44(1): 1—11.
[4] Inal M E, Kanbak G, Sunal E. Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels related to aging[J]. Clin Chim Acta, 2001, 305(1): 75—80.
[5] Shemyakov S E. Monoamine oxidase activity, lipid peroxidation, and morphological changes in human hypothalamus during aging[J]. Bull Exp Biol Med, 2001, 131(6): 586—588.
[6] 王吉，赵新华，陆承荣，等. D-半乳糖亚急性中毒大鼠拟衰老生理生化改变[J]. 实验动物科学与管理，1999, 16(2): 24—25.
[7] Kim H C, Bing G Y, Jhoo W K, *et al*. Oxidative damage causes formation of lipofuscin-like substances in the hippocampus of the senescence-accelerated mouse after kainate treatment[J]. Behav Brain Res, 2002, 131(1-2): 211—220.
[8] Khorram O, Garthwaite M, Golos T. The influence of aging and sex hormones on expression of growth hormone-releasing hormone in the human immune system[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2001, 86(7): 3157—3161.
[9] Straub R H, Cutolo M, Zietz B, *et al*. The process of aging changes the interplay of the immune, endocrine and nervous systems[J]. Mech Ageing Dev, 2001, 122(14): 1591—1611.

（编辑 王 红）

文章编号：1000-5404(2003)04-0315-01

个案与短篇

皮质下动脉性脑病 36 例临床报告

A clinical report of 36 cases of Binswanger disease

谭明贤，张才英，张书琼 （重庆三峡中心医院神经内科，重庆 404000）

皮质下动脉硬化性脑病（Binswanger disease, BD）自 CT 及 MRI 的问世，报道较多，现将我院 4 年来的 36 例总结分析如下。

1 临床资料

1.1 一般资料

36 例中男 30 例，女 6 例，年龄 47～82 岁，平均 69.2 岁。本组有高血压，动脉硬化史 31 例，冠心病 8 例，脑卒中史 25 例短暂性脑缺学发作 6 例，糖尿病史 22 例。

1.2 临床表现

反复发病，逐渐加重，病程 16 年以上 3 例，5～10 年 16 例，3～5 年 5 例，1～3 年 12 例。36 例均有不同程度智能障碍。其中进行性记忆力，计算力下降、思维迟缓 16 例。性格、行为及情感改变、精神错乱 8 例。假性球麻痹 13 例，强哭强笑 9 例，肢体瘫痪 20 例，掌颏反射阳性 30 例，病理征阳性 10 例共济失调 3 例，排尿障碍 16 例。

1.3 长谷川简易智力量表（HDS）智能测定

36 例中 16 例 0～10 分属肯定痴呆；12 例 10.5～21.5 为可疑痴呆；8 例 22～30.5 属边缘状态。痴呆前均有 1～2 年的智力衰退过程。

1.4 CT 表现

36 例 CT 检查均显示侧脑室周围及半卵圆中心白质大致对称的弥漫性低密度改变，边缘模糊呈月晕状，并有单个或多发性腔隙性梗塞灶，36 例并存普遍性或局限性脑萎缩。

1.5 脑电图（EEG）

26 例行 EEG 检查，轻度异常 6 例，中度异常 12 例，重度异常 4 例。脑电图异常程度与痴呆程度有密切关系。

2 讨论

BD 的诊断目前无统一标准，本组病例均采用朱晓钢[1]提出的标准：①有脑血管病危险因素存在；②进行性智能障碍；③CT 或 MRI 检查显示脑室周围脑白质疏松（LA）；④有皮质下功能损害的症状和体征；⑤有卒中发作史并除外其它白质脑病。

BD 的病因是多因素的，但主要的原因是由于高血压动脉硬化引起[2]，本组 86% 有高血压病史，与扬柳报道接近。本组结果显示智能障碍，尤其记忆力衰退明显，HDS 测定达痴呆者 44.4%，较扬柳[3]按精神认知能力筛选表（CCSE）及社会功能活动调查表（FAQ）判定属于痴呆者占 28.57% 为高。这可能与 HDS 评分等级受文化程度影响有关。在正常等级中，文化程度高的人比例较大。在边缘状态、可疑痴呆和痴呆中，文化程度高的人百分比较小[4]。无痴呆者除 CT 有典型（LA）外，也存在进行性智能衰退和局限性神经症状和体征。而部分正常老年人

（下转 318 页）

作者简介：谭明贤（1963—），男，重庆市万州区人，主要从事老年期痴呆方面的研究，发表论文 5 篇。电话：(023)58103125

收稿日期：2001-11-14；修回日期：2002-06-17

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