



大鼠肝纤维化、肝硬化 MR 扩散参数与 Ki-67、PCNA 表达相关性

王国光¹, 孟令平¹, 胡明秀¹, 洪玉萍², 官兵²

(上海市第六人民医院金山分院 1 放射科; 2 病理科, 上海 201599)

摘要:目的 探讨 1.5T MR DWI 参数在大鼠肝纤维化、肝硬化分级诊断中的价值, 及其与 Ki-67、增殖细胞核抗原(PCNA)表达的相关性。**方法** 100 只清洁级 SD 大鼠随机分为 2 组: 实验组($n=84$), 采用硫代乙酰胺(TAA)诱导肝纤维化, 对照组($n=16$), 使用生理盐水对照处理。建模后第 6~30 周末分批次做肝脏常规 MR 及 DWI 检查, 测量 ADC 及指数化表观扩散系数(eADC)值, 按组织病理学进行肝纤维化分级, 并对 ADC 值、eADC 值和免疫组化指标 Ki-67、PCNA 表达作统计学分析。**结果** 共有 69 只大鼠(实验组 $n=57$; 对照组 $n=12$)成功获取 DWI 参数数据, 成功率 69% (69/100)。在肝纤维化分级中, ADC 和 eADC 值数据有一定统计学差异。Ki-67、PCNA 表达在肝纤维化期表达不明显, 但是在肝纤维化、肝硬化分级诊断中, Ki-67、PCNA 的表达强度有统计学差异。DWI 参数 ADC 值和 eADC 值与 Ki-67、PCNA 表达之间有统计学相关性($P<0.05$)。**结论** MR 扩散成像 ADC 值与 SD 大鼠肝纤维化、肝硬化病理分级之间呈负相关, 而 eADC 值则为正相关; ADC 值与 Ki-67、PCNA 表达负相关, eADC 值为正相关。

关键词: 扩散加权成像; 肝纤维化; 免疫组化; 动物模型

DOI: 10.3969/j.issn.1002-1671.2019.09.035

中图分类号: R445.2; R575; R-332 文献标志码: A 文章编号: 1002-1671(2019)09-1524-05

Correlation between MR diffusion parameters and expression of Ki-67 and PCNA in rats with liver fibrosis and cirrhosis

WANG Guoguang¹, MENG Lingping¹, HU Mingxiu¹, HONG Yuping², GUAN Bing²

(1 Department of Radiology; 2 Department of Pathology, Jinshan Branch of Shanghai Sixth People's Hospital, Shanghai 201599, China)

Abstract: Objective To investigate the value of 1.5T MR DWI parameters in the grading diagnosis of hepatic fibrosis and cirrhosis in rats, and their correlation with the expression of Ki-67 and PCNA. **Methods** One hundred clean SD rats were randomly divided into two groups: experimental group ($n=84$) with liver fibrosis induced by thioacetamide (TAA), and control group ($n=16$) processed by using normal saline. After modeled successfully, the rats underwent routine liver MR and DWI from the 6 th to 30 th weekends. ADC and eADC values were measured, and liver fibrosis was classified according to histopathology. Then, the ADC values, eADC values and immunohistochemical indicators of Ki-67, PCNA expression were statistically analyzed. **Results** A total of 69 rats (57 in the experimental group; 12 in the control group) were successfully obtained DWI parameters with the success rate of 69% (69/100). The values of ADC and eADC were significantly different with the different grade of liver fibrosis. The expression of Ki-67 and PCNA were not obvious in the rats with hepatic fibrosis, but the expression intensity of Ki-67 and PCNA were significantly different with the different grade of hepatic fibrosis and cirrhosis. There were significant correlation between the DWI parameters and the expression of Ki-67 and PCNA ($P<0.05$). **Conclusion** ADC value is negatively correlated, while eADC value is positively correlated with pathological grade of liver fibrosis and cirrhosis in SD rats. ADC value is negatively correlated and eADC value is positively correlated with the expression of Ki-67 and PCNA, respectively.

Key words: diffusion-weighted imaging; hepatic fibrosis; immunohistochemistry; animal model

MR DWI 是能够从微观上反映水分子自由扩散的功能成像技术, 其 ADC 和指数化表观扩散系数

(exponential apparent diffusion coefficient, eADC) 参数值有较好的临床应用价值^[1], 免疫组化指标 Ki-67、增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 表达对肝病不同时期判断也有较高的参考价值^[2]。本实验旨在探讨 DWI 的 ADC 和 eADC 参数和 Ki-67、PCNA 表达在肝纤维化形成过程中的作用及相

作者简介: 王国光(1986-), 男, 山东省青州市人, 本科, 主治医师, 主要从事腹部 MR 影像诊断工作。

通信作者: 孟令平, E-mail: menglingping2004@163.com

基金项目: 上海市科委医学引导类项目(12119b1400)。

关性。现报告如下。

1 材料与方 法

1.1 实验动物及分组 纯系清洁级 SD 雄性大鼠 100 只, 随机分为 2 组: 实验组 ($n = 84$), 硫代乙酰胺 (TAA) 200 mg/kg, 腹腔注射, 3 次/周, 连续 7 周, 第 8 周开始增量 20%, 持续至第 17 周; 第 18 周开始再增量 20%, 持续至第 30 周; 对照组 ($n = 16$), 每周 3 次腹腔内注射同量生理盐水。建模第 6 周开始进行实验, 实验组 5 只/次, 对照组 1~2 只/次。

1.2 MRI 检查 荷兰 Philips 1.5T 超导型 MR 成像仪, 小动物专用线圈 [内径 3 英寸 (1 英寸 = 2.54 cm) 正交线圈], 麻醉方式采用腹腔推注 10% 水合氯醛 (2 mg/kg); DWI 参数: 快速自旋回波-回波平面成像 (FSE-EPI), TR 840 ms, TE 57 ms, 信号叠加次数 (NSA) 10, 矩阵 68×128 , b 值分别取 0, 300 s/mm² 和 600 s/mm², 扫描时间为 2 min 42 s。原始图像传入后处理工作站生成 ADC 图及 eADC 图, 每只鼠肝取 3 个层面, 每个平面 (避开脉管及肝缘) 选取 2 个 ROI 进行 ADC、eADC 值的测量, ROI 面积 5~10 mm², 共 6 个数据, 取其平均值^[3] (图 1, 2)。

1.3 病理组织学检查 MRI 检查后 24 h 内过量麻醉下剖腹取肝。尽量按照 MRI 横断切面制作病理标本切片, 厚度约 3~4 mm, HE 染色, 镜下观察肝纤维化特点。由 2 位高年资病理医师, 根据肝纤维化分期标准进行肝纤维化诊断^[4-5]。

1.4 免疫组化检查 采用 SP 法, 进行 PCNA 和 Ki-67 染色, DAB 显色, 以肝组织作为 PCNA、Ki-67 阳性对照, 以 PBS 代替一抗作阴性对照, 每张切片在高倍镜下 ($\times 400$) 随机选择 5 个染色适中视野, 每个视野计数 200 个细胞。结果判断: 细胞核和/或细胞质出现黄色、棕黄色或棕褐色颗粒者为阳性细胞, 计数各级阳性细胞数。再

按染色强度评分: 不着色为 0, 淡黄色为 1, 棕黄色为 2, 棕褐色为 3。最后按两者乘积数之和得出每个视野的表达强度 (不着色细胞数 $\times 0$ + 淡黄色细胞数 $\times 1$ + 棕黄色细胞数 $\times 2$ + 棕褐色细胞数 $\times 3$) / (200 $\times 3$), 5 个视野表达强度的平均值作为本标本的表达强度。

1.5 统计学分析 采用 SPSS20.0 统计学软件包, 结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。数据结果采用单因素方差分析 (ANOVA), P 值 < 0.05 为差异有统计学意义; 采用 *Pearson* 进行相关性分析, P 值 < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病理结果 (图 3, 4) 病理诊断肝 S0 期 16 只 (DWI 检查成功者 12 只); S1~S2 期 18 只 (15 只), S3 期 30 只 (24 只), S4 期 21 只 (18 只)。

2.2 DWI 结果 (图 5~7) 剔除标准: 大鼠呼吸及腹部运动伪影严重, 或检查期间死亡。共 69 只大鼠获得满意 DWI 图像 (实验组 57 只, 对照组 12 只)。随着肝纤维化进展, DWI 显示实验组肝内信号逐渐增高, 高 b 值图像较明显, 但图像质量较差。在肝纤维化分级中, ADC 及 eADC 值有一定差异 (表 1)。

2.3 Ki-67、PCNA 在肝纤维化、肝硬化中的表达 (图 8, 9) Ki-67、PCNA 在对照组鼠肝中无明显阳性细胞颗粒存在; 在实验组中阳性颗粒逐渐增多, 染色加深; 肝纤维化晚期及肝硬化期较为明显 (表 2)。

2.4 不同 b 值的 ADC 值、eADC 值和 Ki-67、PCNA 表达的相关性 见表 3。

3 讨论

MRI 是目前慢性肝病诊断最主要、最准确的检查手段之一^[6-7], MRDWI 属于磁共振功能成像, 可以在分子水平反映肝脏纤维化、肝硬化的发生发展过

表 1 肝脏纤维化-硬化模型不同 b 值情况下 ADC 值与 eADC 值测量结果 ($\bar{x} \pm s$)

病理分期/DWI	例数	ADC 值 ($\times 10^3$ mm ² /s)		eADC 值 ($\times 10^3$ mm ² /s)	
		b=300 s/mm ²	b=600 s/mm ²	b=300 s/mm ²	b=600 s/mm ²
S0	12	1.38 \pm 0.42	1.05 \pm 0.41	0.68 \pm 0.08	0.60 \pm 0.13
S1~S2	15	1.08 \pm 0.49	0.90 \pm 0.42	0.71 \pm 0.09	0.59 \pm 0.13
S3	24	0.99 \pm 0.49	0.80 \pm 0.35	0.75 \pm 0.09	0.63 \pm 0.11
S4	18	0.65 \pm 0.31	0.55 \pm 0.23	0.82 \pm 0.06	0.76 \pm 0.12
F 值		6.805	5.058	7.362	6.977
P 值		0.001	0.003	0.000	0.000
<i>Spearman</i> 相关分析					
r 值		-0.463	-0.606	0.504	0.435
P 值		0.037	0.002	0.000	0.181

注: $P < 0.05$ 为有统计学意义

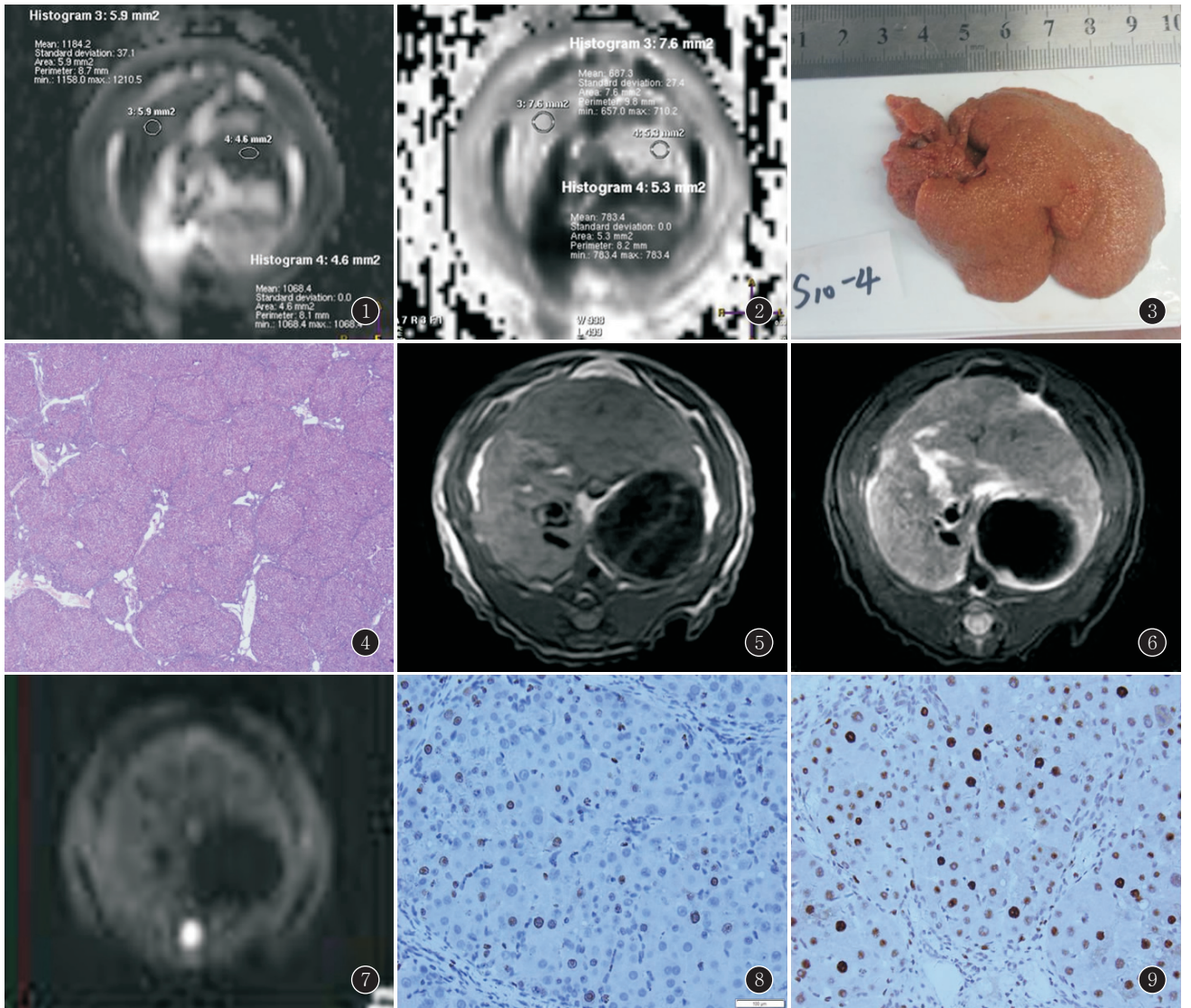


图 1 ADC 值测量方法 图 2 eADC 值测量方法 图 3 实验组纤维化兔肝新鲜标本 图 4 实验组纤维化兔肝标本切片 (HE ×400) 图 5 实验组纤维化兔肝 T₁WI 图像 图 6 实验组纤维化兔肝压脂 T₂WI 图像 图 7 实验组纤维化兔肝压脂 DWI 图像 图 8 实验组纤维化兔肝标本免疫组化(Ki-67, ×400) 图 9 实验组纤维化兔肝标本免疫组化(PCNA, ×400)

表 2 肝脏纤维化-硬化模型 Ki-67、PCNA 表达强度结果 ($\bar{x} \pm s$)

组别/参数	例数	Ki-67(%)	PCNA(%)
S0	16	1.63 ± 0.36	1.24 ± 0.21
S1~S2	18	1.97 ± 0.53	2.31 ± 0.37
S3	30	3.36 ± 0.65	3.69 ± 0.48
S4	21	4.13 ± 0.84	4.49 ± 0.61
F 值		64.475	184.606
P 值		0.000	0.000

注: P < 0.05 为有统计学意义

表 3 DWI 参数与 Ki-67、PCNA 表达相关性

	ADC 值		eADC 值	
	b=300 s/mm ²	b=600 s/mm ²	b=300 s/mm ²	b=600 s/mm ²
Ki-67				
r 值	-0.459	-0.328	0.739	0.627
P 值	0.075	0.047	0.029	0.122
PCNA				
r 值	-0.652	-0.731	0.646	0.648
P 值	0.043	0.039	0.038	0.182

注: P < 0.05 为有统计学意义

程^[8]。本研究以 TAA 药物诱导大鼠建立肝纤维化动物实验模型,进行 MR DWI 检查,测量并观察 ADC 值和 eADC 值的动态变化。PCNA 和 Ki-67 抗原是反映细胞增殖状态的标记物,近年应用较为成熟。本研究

结合肝纤维化的 DWI 图像特点与 PCNA 和 Ki-67 的观察结果,探讨 DWI 参数及免疫组化指标对肝纤维化损害程度的诊断效能。

肝纤维化是多种慢性肝病发展至肝硬化的必经过程^[9],而肝实质内星形细胞的活化及其成纤维功能是导致肝脏纤维化的关键因素^[10]。在肝纤维化的起始阶段,受到各种物理生化刺激的影响,肝细胞、内皮细胞、炎症细胞产生分泌多种细胞因子及生长因子,激活窦周间隙(即 Disse 间隙)的肝星形细胞,促使其转变成具有增殖性的产纤维细胞,合成并分泌大量胶原蛋白并转化为胶原纤维,沉积在肝小叶汇管区及窦周间隙,导致肝脏间质压力逐渐增高^[11],水分子的自由扩散运动受到限制,导致 ADC 值降低^[12-13]。本次动物实验过程中,肝脏纤维化各期 ADC 值均明显低于对照组,这与大多数研究结果是相一致的^[14-15]。而随着病情进展,细胞外基质中胶原纤维沉积的越来越多,同时 Disse 间隙内正常基质分解、纤维堆积,正常肝细胞表面微绒毛减少、内皮窗闭塞,促进肝脏纤维化持续进展,ADC 值下降愈加显著。而 eADC 图在成像过程中,不会受到 T₂ 穿透效应的影响,图像质量较 ADC 图好,能够更好地反映肝脏病理变化^[10]。

近年来,越来越多的研究发现 PCNA 和 Ki-67 抗原作为标记物可以显示细胞增殖状态。PCNA 是一种细胞增殖的上调因子,通过与周期性蛋白激酶结合引起细胞的增殖过程^[16],高表达表明细胞内有 DNA 合成反应非常频繁,可以明显地标记 S 期细胞^[17]。有研究^[18]发现在整个细胞分裂周期中,Ki-67 在静止期(G₀期)不表达,在 G₁、S、G₂、M 期都存在,其中 G₂ 期和 M 期表达最明显,所以 Ki-67 的表达强度可以评估细胞的增殖状态。在本实验中发现,正常鼠肝组织基本看不到 PCNA 和 Ki-67 的表达,说明细胞大多处于静止状态(G₀期);实验组鼠肝标本中 PCNA 和 Ki-67 表达强度不高,但高于正常对照组,说明肝纤维化期细胞增殖活动增强,肝纤维化期肝细胞肿胀、坏死、再生活动增强,同时窦周间隙的肝星形细胞活化转变成可增殖性的产纤维细胞开始增殖^[13]。在肝纤维化后期及肝硬化期 PCNA 和 Ki-67 表达最明显,原因可能是因为动物实验中,为了促进肝脏纤维化的进程,除常规诱导鼠肝纤维化模型外,还在实验后期加大了药物 TAA 的剂量,实验组动物肝脏持续受到药物刺激,促进 PCNA 和 Ki-67 的表达。所以 PCNA 和 Ki-67 在肝纤维化分级方面的价值有待进一步研究。

本实验结果表明,MR DWI 参数 ADC、eADC 值以及免疫组化指标 PCNA 和 Ki-67 均能够反映肝纤维化、肝硬化发展的严重程度,ADC、eADC 值与 PCNA、Ki-67 之间也有一定相关性。应用 DWI 技术结合免疫组化指标,判断肝纤维化、肝硬化分期,能够较为准确

地把握肝病的发生、发展过程,预测病变程度,为治疗提供依据。本研究存在不足之处:测量指标均为半定量数据,有一定的主观偏差,并且受测量方法及设备参数限制,其远期判断效果仍有待于进一步验证。今后,仍需大样本、多参数比较分析,提高 MR 新技术的应用范围及判断准确率。

参考文献:

- [1] PARK H S, KIM Y J, YU M H, et al. Three-Tesla magnetic resonance elastography for hepatic fibrosis: comparison with diffusion-weighted imaging and gadoxetic acid-enhanced magnetic resonance imaging [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(46): 17558-17567. DOI: 10.3748/wjg.v20.i46.17558.
- [2] 崔刚, 姜浩, 金星林. Ki-67、VEGF、Cyclin D1 的表达与肝细胞癌生物学行为的关系[J]. *世界华人消化杂志*, 2012, 20(27): 2622-2627. DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2013.03.007.
- [3] 史卓, 赵心明, 宋俊峰, 等. 肝脏扩散加权成像 3 种呼吸方式下 ADC 值的比较[J]. *实用放射学杂志*, 2015, 31(3): 458-462. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1671.2015.03.029.
- [4] 王国光, 孟令平, 胡明秀, 等. 磁共振灌注成像在鼠肝纤维化、肝硬化病理分级中的价值[J]. *放射学实践*, 2017, 32(11): 1117-1121. DOI: 10.13609/j.cnki.1000-0313.2017.11.004.
- [5] 胡根文, 全显跃, QUEENIE CHAN, 等. 磁共振体内不相干运动成像在大鼠肝纤维化模型中的应用[J]. *中国医学影像学杂志*, 2016, 24(9): 658-661. DOI: 10.3969/j.issn.1005-5185.2016.09.005.
- [6] 郭启勇, 石喻. 磁共振成像在肝病的应用及进展[J]. *磁共振成像*, 2014, 5(z1): 10-14. DOI: 10.3969/j.issn.1674-8034.2014.05.S1.003.
- [7] HAGAN M, ASRANI S K, TALWALKAR J. Non-invasive assessment of liver fibrosis and prognosis[J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2015, 9(10): 1251-1260. DOI: 10.1586/17474124.2015.1075391.
- [8] 路洪剑, 战跃福, 李群, 等. 3.0T MRI 表观扩散系数诊断中度肝纤维化价值的实验研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2017, 27(19): 17-21. DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.19.004.
- [9] 阳腾飞, 黄仲奎. 肝纤维化的磁共振功能成像研究进展[J]. *实用放射学杂志*, 2016, 32(10): 1614-1617. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1671.2016.10.034.
- [10] 李秋菊, 赵周社, 于兵, 等. 磁共振扩散加权成像在肝纤维化中的应用进展[J]. *中国临床医学影像杂志*, 2014, 25(7): 502-506. DOI: 10.3969/j.issn.1008-1062.2014.07.015.
- [11] 付芳芳, 王梅云, 史大鹏, 等. 多种模型 MRI 扩散加权成像评估慢性乙型肝炎肝纤维化程度的价值[J]. *中华放射学杂志*, 2018, 52(2): 113-118. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1201.2018.02.007.
- [12] 李珊玫, 高知玲, 吕茜婷, 等. 量化的扩散加权成像对肝脏占位性病变的鉴别诊断价值[J]. *实用放射学杂志*, 2016, 32(7): 1048-1051. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1671.2016.07.014.
- [13] OZKURT H, KESKINER F, KARATAG O, et al. Diffusion weighted MRI for hepatic fibrosis: impact of b-value[J]. *Iran J Radiol*, 2014, 11(1): e3555. DOI: 10.5812/iranjradiol.3555.

讨论: SFT 是临床上少见的软组织肿瘤, 据报道其发生率不足软组织肿瘤的 2%。SFT 是一种起源于表达 CD34 抗原的树突状间质细胞的肿瘤^[1], 因为该细胞分布于全身的结缔组织内, 因此 SFT 可以发生在全身各个系统。临床上 SFT 多见于胸膜, 胸膜外的 SFT 少见^[2]。免疫组化 CD34 表达阳性对诊断 SFT 非常关键。

椎管的 SFT 可表现 3 种类型: 髓内、髓外硬膜下和髓外硬膜外来源的肿瘤^[3]。发生于髓内及髓外硬膜下的病例者较髓外硬膜外多见。椎管内 SFT 常引起脊髓或神经根受压, 从而产生相应的临床症状^[4]。本例患者出现下肢疼痛及会阴区麻木, 考虑为肿瘤压迫神经根所致。

SFT 的影像学多表现为密度不均匀的肿块影, 边界清楚; 当肿瘤具有恶性倾向时, 病灶边界欠清。CT 平扫呈等或稍高密度, 胶原纤维密集区密度较高, 而细胞密集区密度较低; CT 增强扫描时, SFT 常表现为渐进性强化或延迟强化。Chong 等^[5]报道了 SFT 的强化程度与病灶的成分密切相关: 囊变、坏死区无强化; 胶原纤维密集区呈轻度强化; 肿瘤细胞密集区呈中度强化; 富血管区增强扫描早期即明显强化。SFT 的 MRI 表现为: T₁ WI 呈稍低信号, T₂ WI 呈混杂信号, 胶原纤维成分在 T₂ WI 表现为低信号, 肿瘤细胞在 T₂ WI 表现为略高信号, 囊变或坏死区在 T₂ WI 表现为高信号^[6]。T₂ WI 上病灶内部散在片状低信号区是大多数 SFT 的典型 MRI 表现。

SFT 在临床上主要采取手术治疗, 必要时辅以放疗或化疗。虽然大部分 SFT 为良性, 但仍有部分病变表现为侵袭性行为(复发或转移)。

综上所述, SFT 是临床上少见的软组织肿瘤, 可发生于全身各个系统。影像学表现具有一定的特征性。病理检查尤其是免疫组化检查能够确诊。部分 SFT 具有一定的恶性倾向, 肿瘤切除后仍需长期随访。

参考文献:

[1] 朱黎, 赵新湘, 李迎春, 等. 胸膜外孤立性纤维瘤 MRI 表现及误诊分析[J]. 实用放射学杂志, 2018, 34(1): 27-30. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1671.2018.01.008.

[2] 孙娜娜, 徐迅, 刘希胜, 等. 胸膜外孤立性纤维瘤的影像学诊断及病理特征[J]. 实用放射学杂志, 2017, 33(4): 517-521. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1671.2017.04.008.

[3] HWANG U S, KIM S B, JO D J, et al. Intramedullary solitary fibrous tumor of cervicothoracic spinal cord[J]. J Korean Neurosurg Soc, 2014, 56(3): 265-268. DOI: 10.3340/jkns.2014.56.3.265.

[4] 胡杉杉, 郭庆, 陈秋智, 等. 椎管内髓外硬膜下孤立性纤维瘤 1 例[J]. 中国医学影像技术, 2017, 33(S1): 111. DOI: 10.13929/j.1003-3289.2017035.

[5] CHONG S, KIM T S, CHO E Y, et al. Benign localized fibrous tumor of the pleura: CT features with histopathological correlations[J]. Clin Radiol, 2006, 61(10): 875-882. DOI: 10.1016/j.crad.2006.06.008.

[6] KOBAYASHI K, IMAGAMA S, ITO Z, et al. Recurrence of solitary fibrous tumor of the cervical spinal cord[J]. Nagoya J Med Sci, 2014, 76(1/2): 217-223.

(收稿日期: 2018-07-03; 修回日期: 2018-10-22)

(上接第 1527 页)

[14] BARRY B, BUCH K, SOTO J A, et al. Quantifying liver fibrosis through the application of texture analysis to diffusion-weighted imaging[J]. Magn Reson Imaging, 2014, 32(1): 84-90. DOI: 10.1016/j.mri.2013.04.006.

[15] BHARWANI N, KOH D M. Diffusion-weighted imaging of the liver: an update[J]. Cancer Imaging, 2013, 13: 171-185. DOI: 10.1102/1470-7330.2013.0019.

[16] KUANG R G, WU H X, HAO G X, et al. Expression and significance of IGF-2, PCNA, MMP-7 and α -actin in gastric carcinoma with

Lauren classification[J]. Turk J Gastroenterol, 2013, 24(2): 99-108. DOI: 10.4318/tjg.2013.0571.

[17] 张文华, 唐瑞峰, 白建国, 等. 增殖细胞核抗原、Ki-67 在肝内胆管癌及肝内胆管结石胆管中的表达及意义[J]. 临床荟萃, 2014, 29(1): 35-37, 121. DOI: 10.3969/j.issn.1004-583X.2014.01.010.

[18] 罗旻, 曹颖, 文安智. Ki-67 在人肝癌组织中的表达特点[J]. 现代肿瘤医学, 2013, 21(12): 2759-2761. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2013.12.39.

(收稿日期: 2018-10-16; 修回日期: 2018-11-26)