

· 基础研究 ·

# 共染 MIP-1 $\alpha$ 与 B7-1 诱导乳腺癌大鼠免疫应答能力的研究

梁莉萍<sup>1</sup>, 贾存东<sup>2 $\Delta$</sup> 

(新疆医科大学附属肿瘤医院:1. 病理科;2. 肿瘤内科, 乌鲁木齐 830011)

**摘要:**目的 探讨共染 MIP-1 $\alpha$  与 B7-1 诱导乳腺癌大鼠的免疫应答能力。方法 采用 SHZ-88 乳腺癌细胞造模;每日观察 SD 大鼠接种乳腺癌细胞后有无肿瘤生长;将荷瘤大鼠随机分成对照组、MIP-1 $\alpha$  组、B7-1 组和联合组注射对应的转基因细胞进行治疗,分别在 1~4 周观察肿瘤体积变化和生存时间,收集大鼠外周血检测 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 百分比和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值以及白细胞介素 2(IL-2)、人  $\gamma$  干扰素(IFN- $\gamma$ ) 水平并进行比较。结果 对 SD 大鼠分别接种 SHZ-88、SHZ-88/MIP-1 $\alpha$ 、SHZ-88/B7-1 及 SHZ-88/MIP-1 $\alpha$ +B7-1 细胞 10 d 后,各组的致瘤率分别为 100%、20%、30% 及 0%;对照组、MIP-1 $\alpha$  组、B7-1 组和联合组注射对应的转基因细胞治疗后,联合组的肿瘤体积在 1~4 周均明显小于其他组,生存时间明显长于其他组,外周血 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 百分比和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值以及 IL-2、IFN- $\gamma$  水平均明显高于其他组,以上比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 共染 MIP-1 $\alpha$  与 B7-1,可诱导乳腺癌大鼠机体的免疫应答能力,起到抗肿瘤的作用。

**关键词:** MIP-1 $\alpha$ ; B7-1; 乳腺肿瘤; 免疫应答

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.28.025

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)28-3398-02

## Study on inducing immune response by cotransfection of rat breast cancer cells with MIP-1 $\alpha$ and B7-1

Liang Liping, Jia Cundong <sup>$\Delta$</sup> 

(1. Department of Pathology; 2. Department of Oncology, Tumor Hospital Affiliated to Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830011, China)

**Abstract: Objective** To investigate the ability of immune response of cotransfection of rat breast cancer cells with MIP-1 $\alpha$  and B7-1. **Methods** Tumor growth was observed every day after the SHZ-88 breast cancer cells were inoculated in the rats. The tumor-bearing rats were randomly divided into control group, MIP-1 $\alpha$  group, B7-1 group and combination group, which were injected with corresponding transgenic cells. The change of tumor volume in 1~4 weeks and the survival time were observed and compared. The peripheral blood was collected, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> percentage and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio and the levels of IL-2 and IFN- $\gamma$  of the peripheral blood were detected and compared. **Results** The tumorigenic rate were 100%, 20%, 30% and 0% after the SD rats were inoculated with SHZ-88, SHZ-88/MIP-1 $\alpha$ , SHZ-88/B7-1 and SHZ-88/MIP-1 $\alpha$ +B7-1 cells for 10 days. After the transgenic therapy, the tumor volume of the combination group in 1~4 weeks were significantly smaller than the other groups. The survival time of the combination group was significantly longer than the other groups. The CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> percentage and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio and the levels of IL-2 and IFN- $\gamma$  of peripheral blood in the combination group were significantly higher than the other groups. The differences above were all statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Cotransfection of MIP-1 $\alpha$  and B7-1 could induce immune response in breast cancer rats and play anti-cancer effects.

**Key words:** MIP-1 $\alpha$ ; B7-1; breast neoplasms; immune response

乳腺癌是女性中常见的恶性肿瘤,且发病率随着社会的发展而趋向增长<sup>[1-2]</sup>。对于乳腺癌的治疗手段多样,大大提高了患者的生存率,但其病死率仍较高,尤其是对于乳腺癌晚期及远处转移的患者,普通的治疗手段往往效果难以令人满意<sup>[3-4]</sup>。随着医疗相关学科及技术的发展,基因治疗引起了各学者的重视<sup>[5]</sup>。目前,关于乳腺癌基因治疗的研究仍较少,因此,笔者通过动物实验探讨共转染 MIP-1 $\alpha$  与 B7-1 基因对乳腺癌大鼠免疫效应应答的影响,为临床对乳腺癌患者实施基因治疗提供一个初步的基础。

### 1 材料与方 法

**1.1 实验材料** SPF 级环境下饲养的 SD 雌性大鼠 40 只,体质量 25~30 g, 7~10 d; 源性乳腺癌细胞株 SHZ-88 及经逆转录或(和)培育的 SHZ-88 亲代细胞、SHZ-88/MIP-1 $\alpha$  细胞、SHZ-88/B7-1 细胞及 SHZ-88/MIP-1 $\alpha$ +B7-1 细胞。

### 1.2 研究方法

**1.2.1 乳腺癌大鼠造模及成瘤实验** 采用 SHZ-88 乳腺癌细胞建立乳腺癌大鼠模型 40 只,观察模型的稳定性;将实验动物按照接种细胞的不同分成对照组(接种 SHZ-88 亲代细胞)、MIP-1 $\alpha$  组(接种 SHZ-88/MIP-1 $\alpha$  细胞)、B7-1 组(接种 SHZ-88/B7-1 细胞)及联合组(接种 SHZ-88/MIP-1 $\alpha$ +B7-1 细胞),每组 10 只,观察接种后有无肿瘤生长。

**1.2.2 转基因细胞对乳腺癌大鼠的治疗方法** 各细胞均经丝裂霉素 C 灭活,浓度为  $2.5 \times 10^7$  /mL, 1 周注射 1 次,每次 0.2 mL,共治疗 2 次。治疗完成 2 周后取一半大鼠的外周血检测 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 百分比和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值以及白细胞介素 2 (IL-2)、人  $\gamma$  干扰素(IFN- $\gamma$ ) 水平,另一半大鼠用于观察肿瘤体积变化以及生存时间。

**1.2.3 观察指标** 计算注射转基因肿瘤细胞后乳腺癌大鼠肿

瘤体积分别在第 1 周、第 2 周、第 3 周及第 4 周的大小;记录实验大鼠的生存时间,计算每组的平均值;采用流式细胞术检测大鼠外周血 CD4+、CD8+百分比和 CD4+/CD8+比值;使用酶联免疫吸附试验法检测大鼠外周血的 IL-2、IFN- $\gamma$  水平。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS17.0 建立数据库并对数据进行处理分析,计数资料采用  $\bar{x} \pm s$  的形式表示,组间差异采用  $t$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 SD 大鼠造模及成瘤结果** 采用 SHZ-88 细胞建立的乳腺癌大鼠模型均成功且稳定,致瘤率达到 100%,且肿瘤体积随着时间的延长不断增大。在肿瘤细胞接种 10 d 后,采用 SHZ-88 亲代细胞接种,成瘤性达到 100%;采用 SHZ-88/MIP-1 $\alpha$  接种,成瘤性降低到 20%;采用 SHZ-88/B7-1 接种,成瘤性降低到 30%;而采用 SHZ-88/MIP-1 $\alpha$ + B7-1 接种则成瘤性消失且保持无瘤状 100 d 以上。

**2.2 乳腺癌大鼠肿瘤体积的变化** 注射转基因肿瘤细胞的荷瘤大鼠的肿瘤体积在 1~4 周均较对照组小,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );而在第 2 周、第 3 周及第 4 周,联合组荷瘤大鼠的肿瘤体积均明显小于 MIP-1 $\alpha$  组及 B7-1 组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 乳腺癌大鼠肿瘤体积的变化 (cm<sup>3</sup>,  $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	1 周	2 周	3 周	4 周
对照组	0.89 $\pm$ 0.11	3.26 $\pm$ 0.19	8.05 $\pm$ 0.54	53.38 $\pm$ 2.49
MIP-1 $\alpha$ 组	0.85 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	1.30 $\pm$ 0.11 <sup>ab</sup>	3.53 $\pm$ 0.33 <sup>ab</sup>	8.22 $\pm$ 0.52 <sup>ab</sup>
B7-1 组	0.86 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	1.39 $\pm$ 0.13 <sup>ab</sup>	3.84 $\pm$ 0.38 <sup>ab</sup>	9.31 $\pm$ 0.44 <sup>ab</sup>
联合组	0.82 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	1.03 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	1.64 $\pm$ 0.29 <sup>a</sup>	5.48 $\pm$ 0.47 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与联合组比较。

**2.3 荷瘤大鼠外周血 T 淋巴细胞亚型百分比比较** MIP-1 $\alpha$  组、B7-1 组及联合组外周血 T 淋巴细胞亚型 CD4+、CD8+ 的百分比与 CD4+/CD8+ 均较对照组高( $P < 0.05$ );且联合组明显高于 MIP-1 $\alpha$  组及 B7-1 组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 荷瘤大鼠外周血 T 淋巴细胞亚型百分比的比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	CD4+(%)	CD8+(%)	CD4+/CD8+
对照组	36.29 $\pm$ 1.03	13.19 $\pm$ 0.89	2.19 $\pm$ 0.20
MIP-1 $\alpha$ 组	40.80 $\pm$ 1.71 <sup>ab</sup>	15.81 $\pm$ 1.29 <sup>ab</sup>	2.79 $\pm$ 0.09 <sup>ab</sup>
B7-1 组	40.79 $\pm$ 1.28 <sup>ab</sup>	16.41 $\pm$ 1.04 <sup>ab</sup>	2.71 $\pm$ 0.14 <sup>ab</sup>
联合组	44.28 $\pm$ 4.10 <sup>a</sup>	19.81 $\pm$ 1.91 <sup>a</sup>	3.08 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与联合组比较。

表 3 荷瘤大鼠生存天数、外周血 IL-2 及 IFN- $\gamma$  水平的比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	生存天数(d)	IL-2(pg/mL)	IFN- $\gamma$ (pg/mL)
对照组	53.39 $\pm$ 1.15	9.17 $\pm$ 1.02	24.27 $\pm$ 2.23
MIP-1 $\alpha$ 组	63.79 $\pm$ 1.62 <sup>ab</sup>	11.40 $\pm$ 1.20 <sup>ab</sup>	33.09 $\pm$ 2.29 <sup>ab</sup>
B7-1 组	64.19 $\pm$ 1.91 <sup>ab</sup>	11.47 $\pm$ 1.24 <sup>ab</sup>	33.20 $\pm$ 2.22 <sup>ab</sup>
联合组	89.01 $\pm$ 2.54 <sup>a</sup>	16.77 $\pm$ 1.33 <sup>a</sup>	58.06 $\pm$ 3.35 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与联合组比较。

**2.4 荷瘤大鼠的生存天数、外周血 IL-2 及 IFN- $\gamma$  水平比较**

MIP-1 $\alpha$  组、B7-1 组及联合组荷瘤大鼠的生存天数均明显多于对照组( $P < 0.05$ );且联合组较 MIP-1 $\alpha$  组及 B7-1 组明显延长,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。MIP-1 $\alpha$  组、B7-1 组及联合组大鼠外周血的 IL-2 及 IFN- $\gamma$  水平均明显高于对照组( $P < 0.05$ );且联合组的水平明显高于 MIP-1 $\alpha$  组及 B7-1 组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

**3 讨 论**

肿瘤患者存在不同程度的免疫抑制<sup>[6-7]</sup>,且随肿瘤负荷的增大而越趋明显,导致肿瘤局部未能显现出有效的抗肿瘤免疫应答<sup>[8]</sup>。因此,尝试提高免疫效应细胞的数量及质量,激发机体产生抗肿瘤免疫应答,增强肿瘤局部免疫原性,逆转免疫抑制状态,可达到治疗肿瘤的效果。

MIP-1 $\alpha$  主要生物功能有<sup>[9-10]</sup>:管理炎症反应;参与 T 淋巴细胞免疫反应;增强单核、巨噬细胞、T 淋巴细胞与内皮细胞的黏附性;诱导各种炎症介质的产生等。肿瘤细胞往往缺乏 B7 分子的共刺激作用,未能有效激活 T 细胞,使得肿瘤细胞未能被机体免疫系统攻击<sup>[11]</sup>。转染 B7-1 分子,促进第二信号系统作用,激活 T 细胞效应,可产生抗肿瘤作用<sup>[11-12]</sup>。本实验结果显示在乳腺癌大鼠模型内接种转染 MIP-1 $\alpha$  与 B7-1 细胞后,成瘤性消失且保持无瘤状态超过 100 d,荷瘤大鼠生存时间明显长于转染单基因及亲代肿瘤细胞大鼠。可见转染 MIP-1 $\alpha$  与 B7-1 能够提高肿瘤局部有效的免疫效应细胞数量及质量,提高肿瘤的免疫原性,激发强烈的抗肿瘤作用。

T 淋巴细胞介导的细胞免疫是抗肿瘤免疫效应机制的最主要部分,其主要元素是激活状态下的 T 细胞 CD4+ 及 CD8+2 个亚型,加以 CD4+/CD8+ 可作为反映机体免疫功能状态的指标<sup>[13]</sup>。CD4+ 细胞参与巨噬细胞、B 细胞、NK 细胞等的激活,还可分泌各种细胞因子,从而起到抗肿瘤的作用<sup>[14]</sup>。CD8+ 细胞对肿瘤细胞具有一定的杀伤作用且不伤害正常细胞<sup>[15]</sup>。细胞因子中以 IL-2 及 IFN- $\gamma$  在抗肿瘤效应中起主要作用<sup>[16-17]</sup>。因此,本研究通过测定 CD4+、CD8+、CD4+/CD8+ 及 IL-2、IFN- $\gamma$  水平来评价荷瘤大鼠接种转基因细胞后的抗肿瘤免疫效应。结果显示,共转染 MIP-1 $\alpha$  与 B7-1 细胞的荷瘤大鼠外周血 CD4+、CD8+ 百分比和 CD4+/CD8+ 比值以及 IL-2、IFN- $\gamma$  水平均明显高于对照组及转染单基因的大鼠,可见共转染 MIP-1 $\alpha$  与 B7-1 后,能明显提高机体的免疫效应,大大提高抗肿瘤作用。

本实验表明,协同 MIP-1 $\alpha$  与 B7-1 的不同作用原理及机制,能增强对乳腺癌大鼠的抗肿瘤作用,疗效明显优于单基因治疗,可为日后进一步的实验研究提供初步的参考。

**参考文献:**

[1] 吴爱国. 乳腺癌基因治疗研究现状[J]. 中华乳腺病杂志: 电子版, 2008, 2(5): 561-570.  
 [2] 荀艳莉. 关于国内乳腺癌治疗的进展研究[J]. 科技资讯, 2012(8): 242.  
 [3] 唐金海, 徐晓明. 乳腺癌规范化和个体化治疗进展[J]. 肿瘤学杂志, 2011, 17(5): 325-330.  
 [4] 冉健, 孙万邦. 乳腺癌免疫生物治疗研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(2): 197-199.  
 [5] 杜力成, 王栋, 刘奇, 等. 乳腺癌基因治疗的研究进展[J]. 医学综述, 2012, 18(20): 3400-3403. (下转第 3402 页)

养的小鼠系膜细胞在高糖刺激下也停顿于细胞周期的 G<sub>1</sub> 期, 且发生了细胞的肥大<sup>[7]</sup>, 并且 p27 蛋白水平也呈增高趋势。与本研究结果较为一致。

近年来他汀类药物的非依赖降脂的肾脏保护作用越来越受到人们的重视。糖尿病肾病的重要病理特征之一便是转化生长因子 β1(TGF-β1) 的过度表达, 辛伐他汀可明显降低高糖培养下肾小球系膜细胞上清液中 TGF-β1 的浓度的, 并抑制肾小球系膜细胞的增殖及减少细胞外基质蛋白的产生, 从而发挥肾脏保护作用<sup>[8]</sup>。也有研究发现, 辛伐他汀可通过降低糖尿病肾病患者血清相关炎症因子如 CRP、IL-6 及 TNF-α 的水平进而减少尿蛋白, 保护肾脏功能<sup>[3,9]</sup>。阿托伐他汀可通过降低糖尿病肾病患者超敏 C 反应蛋白、蛋白尿延缓肾功能的恶化<sup>[4,10]</sup>。阿托伐他汀也可抑制肾小球系膜细胞的增殖、抑制血管紧张素 II、TGF-β1 的表达及分泌, 进而降低基质蛋白的生成与沉积发挥保护肾脏的功能<sup>[11]</sup>。本研究发现, 辛伐他汀与阿托伐他汀可明显降低高糖培养的大鼠肾小球系膜细胞 p27 蛋白表达水平及 mRNA 转录水平, 据此可以认为, 辛伐他汀与阿托伐他汀可通过抑制 p27 蛋白的表达, 使细胞周期能够顺利地进入 S 期, 降低肾小球系膜细胞的肥大, 减轻糖尿病肾病患者的肾脏肥大, 对肾脏发挥保护作用。因此本研究建议, 无论糖尿病患者有无脂质代谢异常, 均可以使用他汀类药物早期治疗糖尿病肾病<sup>[12]</sup>。

#### 参考文献:

[1] 钱华翔, 何爱琴, 缪珩, 等. Resveratrol 对高糖培养大鼠肾小球系膜细胞氧化应激和 p27 蛋白表达的影响[J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 2011, 31(5): 656-659.

[2] Wolf G, Reinking R, Zahner G, et al. Erk 1, 2 phosphorylates p27(Kip1): Functional evidence for a role in high glucose-induced hypertrophy of mesangial cells[J]. *Diabetologia*, 2003, 46(8): 1090-1099.

[3] 杨铁青, 蒋慧君, 韦红金, 等. 辛伐他汀治疗早期糖尿病肾病的疗效评价[J]. *临床荟萃*, 2011, 26(19): 1674-1676.

[4] 潘攀, 周海艳, 杨晶. 阿托伐他汀治疗早期糖尿病肾病临床疗效观察[J]. *中华全科医学*, 2010, 8(11): 1374-1375.

[5] Ding DF, You N, Wu XM, et al. Resveratrol attenuates renal hypertrophy in early-stage diabetes by activating AMPK[J]. *Am J Nephrol*, 2010, 31(4): 363-374.

[6] 丁大法, 游娜, 徐家蓉, 等. Resveratrol 对糖尿病大鼠肾皮质 4E-BP1 和 S6 磷酸化表达的影响[J]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2009, 29(10): 1347-1351.

[7] Wolf G, Schroeder R, Ziyadeh FN, et al. High glucose stimulates expression of p27Kip1 in cultured mouse mesangial cells: relationship to hypertrophy[J]. *Am J Physiol*, 1997, 273(3 Pt 2): 348-356.

[8] 曹宏, 杨涛, 刘超, 等. 辛伐他汀对高糖培养肾小球系膜细胞增殖和促基质蛋白分泌的影响[J]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2003, 23(1): 56-59.

[9] 翟小琳, 徐晓燕. 辛伐他汀对糖尿病肾病相关炎症因子的影响分析[J]. *中国实用医药*, 2009, 4(7): 128-129.

[10] 肖宁. 阿托伐他汀治疗糖尿病早期肾病的疗效观察[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2012, 20(10): 1660, 1662.

[11] 缪珩, 李慧敏, 蒋秀琴, 等. 阿托伐他汀对高糖培养人肾系膜细胞的作用[J]. *江苏医药*, 2005, 31(4): 255-257.

[12] Costa J, Borges M, David C, et al. Efficacy of lipid lowering drug treatment for diabetic and non-diabetic patients: meta-analysis of randomised controlled trials[J]. *BMJ*, 2006, 332(7550): 1115-1124.

(收稿日期: 2013-05-26 修回日期: 2013-06-18)

(上接第 3399 页)

[6] Boniface JD, Poschke I, Mao Y, et al. Tumor-dependent down-regulation of the ζ-chain in T-cells is detectable in early breast Cancer and correlates with immune cell function[J]. *Int J Cancer*, 2012, 131(1): 129-139.

[7] 万华, 邹强, 董佳容, 等. 乳腺癌患者免疫指标检测及其临床意义[J]. *肿瘤*, 2006, 26(3): 279-281.

[8] 刘季芳, 祁岩超. 肿瘤免疫编辑研究进展[J]. *广东医学*, 2009, 30(10): 1579-1581.

[9] 刘志忠, 陈燕, 叶虹等. 星形细胞瘤和髓母细胞瘤患儿血清 IL-6、IL-8 和 MIP-1α 水平变化[J]. *标记免疫分析与临床*, 2012, 19(5): 278-281.

[10] 张佩莲. 趋化因子 MCP-1、MIP-1α、RANTES 与自身免疫性疾病[J]. *皮肤病与性病*, 2012, 34(4): 204-207.

[11] Ilias Basha H, Tiriveedhi V, Fleming TP, et al. Identification of immunodominant HLA-B7-restricted CD8+ cytotoxic T cell epitopes derived from mammaglobin-A expressed on human breast cancers[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2011, 127(1): 81-89.

[12] 孙宏治, 官建, 王巍, 等. 协同刺激分子 CD28、B7-1 在乳腺癌患者外周血的表达及意义[J]. *山东医药*, 2011, 51

(41): 57-58.

[13] 顾敏, 范原铭, 王强等. 乳腺癌患者外周血 CD4+、CD8+ 以及 CD4+CD25+ 调节性 T 细胞变化及其意义[J]. *重庆医学*, 2009, 38(7): 869-871.

[14] Khan MM, Chatterjee S, Dwivedi VP, et al. CD4+ T cell-derived novel peptide Thp5 induces interleukin-4 production in CD4+ T cells to direct T helper 2 cell differentiation[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(4): 2830-2835.

[15] 于益芝, 曹雪涛. 调节性 T 细胞在肿瘤免疫和肿瘤免疫治疗中的作用[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2010, 17(1): 1-6.

[16] Tomala J, Chmelova H, Mrkvan T, et al. In vivo expansion of activated naive CD8+ T cells and NK cells driven by complexes of IL-2 and anti-IL-2 monoclonal antibody as novel approach of Cancer immunotherapy[J]. *J Immunol*, 2009, 183(8): 4904-4912.

[17] 黄文炼, 徐曼, 王婷婷等. 乳腺癌 B7-H4 异常表达及与肿瘤内 CD8+ T 细胞浸润 IFN-γ 分泌的相关性研究[J]. *中国肿瘤临床*, 2012, 39(15): 1096-1099, 1103.

(收稿日期: 2013-05-14 修回日期: 2013-06-17)