

· 临床研究 ·

## 我国广西人群 CRYAB 基因 rs3212227 与 rs6894567 遗传多态性研究\*

王俊利<sup>1</sup>, 元辉雄<sup>1</sup>, 韦贵将<sup>1</sup>, 王春芳<sup>1</sup>, 罗春英<sup>2</sup>, 韦叶生<sup>1</sup>, 黄照权<sup>2△</sup>  
(右江民族医学院附属医院: 1. 检验科; 2. 病理科, 广西百色 533000)

**摘要:**目的 研究  $\alpha$ -B 晶状体蛋白(CRYAB)基因单核苷酸多态性(SNP)位点 rs3212227、rs6894567 的各基因型和等位基因在广西人群中的分布频率, 对比其在不同地区人群间的分布差异。方法 采用单碱基延伸的聚合酶链反应(PCR)技术和 DNA 测序法检测 199 名我国广西人的 CRYAB 基因 rs3212227、rs6894567 位点的多态性, 对比国际人类基因组单倍型图谱计划(Hapmap)上欧洲人群、非洲人群、日本人群及我国北京人群的 SNP 分型数据, 分析 5 个人群的 CRYAB 基因 SNP 位点 rs3212227、rs6894567 的基因型和等位基因频率。结果 在我国广西人群中存在 CRYAB 基因 rs3212227、rs6894567 多态性, 与欧洲和非洲人群相比, CRYAB 基因多态性的分布频率差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 与日本人群和北京人群比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 CRYAB 基因 SNP 位点 rs3212227、rs6894567 基因型和等位基因在广西人群中的分布频率与其他地区人群的比较结果存在差异, 这种差异可能是导致一些疾病在不同地区间的发病率和临床表现存在差异的因素之一。

**关键词:**CRYAB 基因; 单核苷酸多态性; 种族

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.31.008

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)31-3744-03

## Genetic polymorphism of CRYAB gene rs3212227 and rs6894567 in Chinese guangxi populations\*

Wang Junli<sup>1</sup>, Yuan HuiXiong<sup>1</sup>, Wei Guijiang<sup>1</sup>, Wang Chunfang<sup>1</sup>, Luo Chunying<sup>2</sup>, Wei Yesheng<sup>1</sup>, Huang Zhaoquan<sup>2△</sup>  
(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Pathology,

Affiliated Hospital of Youjiang Medical University, Baise, Guangxi 533000, China)

**Abstract: Objective** To study the frequencies of allele and genotype distribution of alpha-B-crystallin (CRYAB) gene rs3212227 and rs6894567 single nucleotide polymorphism (SNP) in Chinese guangxi populations, and to Compare the distribution differences among different ethnic. **Methods** The CRYAB gene rs3212227 and rs6894567 polymorphisms were detected by the polymerase chain reaction-single base extension (PCR-SBE) technique and DNA sequencing methods in 199 Chinese guangxi populations, frequencies of allele and genotype of CRYAB gene SNP loci, rs3212227、rs6894567 were analyzed in guangxi populations compared with other the four populations (HapMap-CEU, HapMap-YRI, HapMap-JPT and HapMap-HCB) from Human Genome Project group (Hapmap) data. **Results** There were CRYAB gene polymorphisms in Guangxi populations. The frequencies of allele and genotype distribution of CRYAB gene rs3212227、rs6894567 polymorphisms had significant difference compared with HapMap-CEU and HapMap-YRI populations ( $P < 0.05$ ), and had no significant difference compared with HapMap-JPT and HapMap-HCB ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The frequencies of allele and genotype distribution of CRYAB gene rs3212227、rs6894567 polymorphisms are significantly difference compared with others ethnic populations, and this variation might account for a variety of clinical manifestation and morbidity of of some CRYAB related diseases.

**Key words:**CRYAB gene; single nucleotide polymorphism; ethnic

$\alpha$ -B 晶状体蛋白(alpha-B-crystallin, CRYAB)是一种小分子热休克蛋白,具有抑制细胞凋亡的功能<sup>[1]</sup>。CRYAB在许多器官、组织、细胞均有结构性表达,在抵御内、外环境应激中发挥重要作用<sup>[2]</sup>。近年来研究发现,CRYAB 基因存在多个功能性多态性位点,且这种多态性与白内障、心脏病和鼻咽癌等具有相关性<sup>[3-5]</sup>。CRYAB 基因在 rs3212227、rs6894567 位点存在单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP),作者采用单碱基延伸技术和毛细管电泳方法检测 199 名广西人 CRYAB 基因 rs3212227、rs6894567 位点的基因型,并对比国际人类基因组单倍型图谱计划(Hapmap)公布的 4 个人群(欧洲人群、非洲人群、日本人群和北京人群)的 SNP 分型结果,分析不同人群 CRYAB 基因的 SNP 差异,为与 CRYAB 相关的遗传和疾病等方面的研究提供参考资料。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2012 年 7~8 月到广西右江民族医学院附属医院进行健康体检的 199 名体检结果健康者作为考察对象。考察对象籍贯均为广西,且长期在广西居住。在 199 名考察对象中,男 118 名,女 81 名,年龄 25~86 岁。

**1.2 标本采集及 DNA 提取** 经健康体检者知情同意,采集其静脉全血 2 mL,乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝,用改良碘化钠法提取基因组 DNA,置 -70 °C 保存备用。

**1.3 聚合酶链反应(PCR)** 根据 NCBI 上查找的 CRYAB 基因 DNA 序列,选择包含 rs3212227、rs6894567 位点的序列并输入引物设计软件 Primer 5,得到用于特异性扩增 rs3212227、rs6894567 位点的 PCR 上下游引物和延伸引物。其中,rs3212227 位点的上游引物序列为:5'-GGC AAC TTG AGA

GCT GGA AAA TCT-3',下游引物序列为:5-TCC AGG ATG AAA ATT TGG AGG AAA A-3',延伸引物为:5-TTT TTT TTT TTT TTT TTT TTT TTT TTT TTT GTT TCA ATG AGC ATT TAG CAT C-3'。rs6894567 位点的上游引物序列为:5-ATG GGG ATC CCA GCT GTC ATT T-3';下游引物序列为:5-TGA GTG GTG CCT GCC TTA CTA TGA-3',延伸引物为:5-TTT TTT TTT TTT TTC AGA CTT GCT CCC ATA TTT GTG A-3'。用于 CRYAB 基因的 PCR 扩增反应体系为 20  $\mu$ L,包括:10 $\times$ PCR 反应缓冲液 2.0  $\mu$ L,0.3 mmol/L dNTPs 2.0  $\mu$ L,上下游引物各 1.0  $\mu$ L,HotStar Taq DNA 聚合酶 1.0 U,基因组 DNA 1.0  $\mu$ L,不足体积用水补足到 20  $\mu$ L。PCR 产物 4  $^{\circ}$ C 保存。PCR 反应条件为:94  $^{\circ}$ C 15 min;94  $^{\circ}$ C $\times$ 30 s,60  $^{\circ}$ C $\times$ 30 s,72  $^{\circ}$ C $\times$ 20 s,共 35 个循环;72  $^{\circ}$ C $\times$ 10 min。PCR 产物 4  $^{\circ}$ C 保存。

**1.4 单碱基延伸反应和毛细管电泳** PCR 产物经过虾碱酶(SAP)和外切酶(EXO I)纯化后,用 ABI 公司的 SNaPshot Multiplex kit 进行延伸反应。延伸产物用虾碱酶纯化后在 ABI3130XL 上样。SNP 分型用 GeneMapper4.0(Appliedbiosystems)来分析。

**1.5 统计学处理** 根据测序结果直接计算 CRYAB 基因 rs3212227、rs6894567 位点的基因型和等位基因频率,并登陆 NCBI 查找 Hapmap 公布的 4 个人群(欧洲人群、非洲人群、日本人群和北京人群)CRYAB 基因 rs3212227、rs6894567 位点分型结果,采用 SPSS 17.0 软件进行  $\chi^2$  检验计算,对比 4 个人群与广西人群的 CRYAB 基因型及等位基因频率差异,以  $P <$

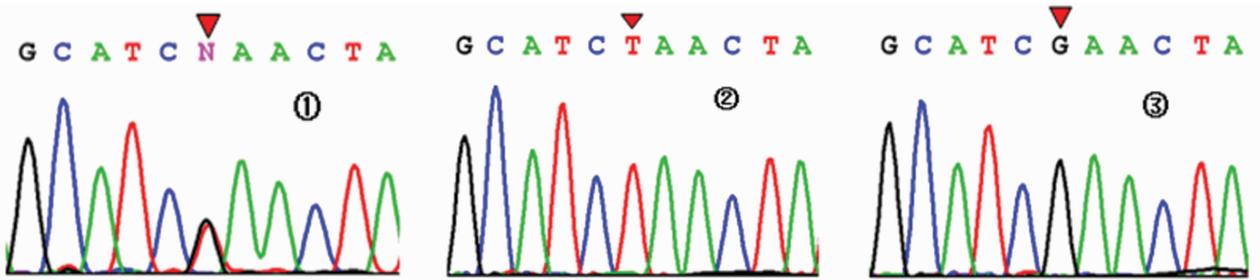
0.05 为差异有统计意义。

**2 结 果**

**2.1 CRYAB 基因 rs3212227、rs6894567 位点的检测结果** rs3212227、rs6894567 位点 PCR 扩增产物片段大小分别为 217 bp、169 bp,ABI3130XL 的 SNP 分型结果显示 rs3212227 位点的基因型有 GG、GT 和 TT 3 种(图 1);rs6894567 位点有 AA、AG 和 GG 3 种基因型(图 2)。

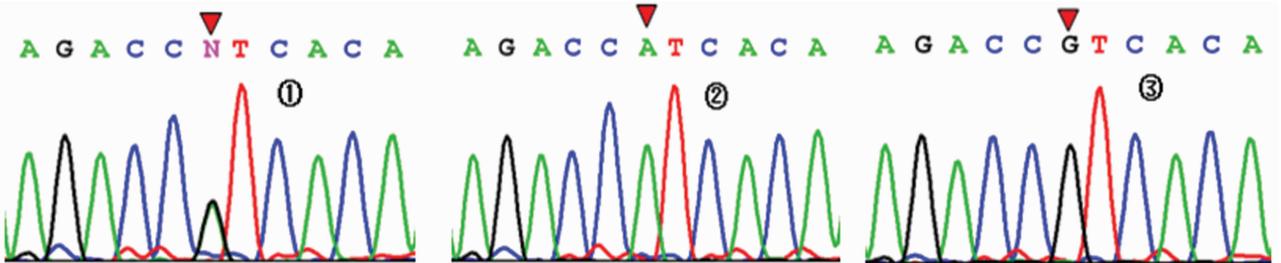
**2.2 CRYAB 基因多态性在我国广西人群中的分布** 根据检测结果直接计算 CRYAB 基因 rs3212227、rs6894567 位点的基因型和等位基因型频率,经过  $\chi^2$  检验,199 份样本的 CRYAB 基因 rs3212227、rs6894567 位点的基因型和等位基因型频率符合 Hardy-Weinberg 平衡,说明研究对象可以代表我国广西地区人群 CRYAB 基因多态性分布情况。统计结果见表 1、2,在我国广西人群中,CRYAB 基因 rs3212227 位点的以 GT 基因型最常见,约为 50.8%;T 等位基因型的频率最高,约为 51.0%;rs6894567 位点则以 AG 型多见,约占 50.8%;其等位基因 A(50.5%)、G(49.5%)的频率大致相同。rs3212227、rs6894567 位点多态性基因型及等位基因频率在男女性别间的分布差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

**2.3 广西人群 CRYAB 基因多态性与其他人群的比较** CRYAB 基因多态性与其他 4 个人群的比较结果显示,广西人群与欧洲人群及非洲人群的 rs3212227、rs6894567 位点的基因型和等位基因型频率的差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),而与日本人群和北京人群的差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 3、4。



①、②、③:GT、TT、GG 基因型;箭头:SNP 位点。

图 1 CRYAB 基因 rs3212227 位点测序结果



①、②、③:AG、AA、GG 基因型;箭头:SNP 位点。

图 2 CRYAB 基因 rs6894567 位点测序结果

表 1 rs3212227 G/T 在广西人群中的分布[n(%)]

| SNP 位点        | 性别 | n   | 基因型频率     |            |           | 等位基因频率     |            |
|---------------|----|-----|-----------|------------|-----------|------------|------------|
|               |    |     | GG        | GT         | TT        | G          | T          |
| rs3212227 G/T | 男  | 118 | 25 (21.2) | 66 (55.9)  | 27 (22.9) | 116 (49.2) | 120 (50.8) |
|               | 女  | 81  | 22 (27.2) | 35 (43.2)  | 24 (29.6) | 79 (48.8)  | 83 (51.2)  |
|               | 合计 | 199 | 47 (23.6) | 101 (50.8) | 51 (25.6) | 195 (49.0) | 203 (51.0) |

表 2 rs6894567 G/A 在广西人群中的分布[n(%)]

| SNP 位点        | 性别 | n   | 基因型频率     |            |           | 等位基因频率     |            |
|---------------|----|-----|-----------|------------|-----------|------------|------------|
|               |    |     | AA        | AG         | GG        | A          | G          |
| rs6894567 G/A | 男  | 118 | 27 (22.9) | 66 (55.9)  | 25 (21.2) | 120 (50.8) | 116 (49.2) |
|               | 女  | 81  | 23 (28.4) | 35 (27.2)  | 23 (28.4) | 81 (50.0)  | 81 (50.0)  |
|               | 合计 | 199 | 50 (25.1) | 101 (50.8) | 48 (24.1) | 201 (50.5) | 197 (49.5) |

表 3 广西人群 CRYAB 基因 rs3212227 G/T 多态性分布频率与其他人群的比较[n(%)]

| 人群   | n   | 基因型       |            |            | 等位基因       |            |
|------|-----|-----------|------------|------------|------------|------------|
|      |     | GG        | GT         | TT         | G          | T          |
| 欧洲人群 | 226 | 2 (0.9)   | 82 (36.3)  | 142 (62.8) | 86 (19.0)  | 366 (81.0) |
| 非洲人群 | 226 | 30 (13.3) | 88 (38.9)  | 108 (47.8) | 148 (32.7) | 304 (67.3) |
| 日本人群 | 172 | 56 (32.6) | 80 (46.5)  | 36 (20.9)  | 192 (55.8) | 152 (44.2) |
| 北京人群 | 86  | 14 (16.3) | 46 (53.5)  | 26 (30.2)  | 74 (43.0)  | 98 (57.0)  |
| 广西人群 | 199 | 47 (23.6) | 101 (50.8) | 51 (25.6)  | 195 (49.0) | 203 (51.0) |

表 4 广西人群 CRYAB 基因 rs6894567 G/A 多态性分布频率与其他人群的比较[n(%)]

| 人群   | n   | 基因型       |            |           | 等位基因       |            |
|------|-----|-----------|------------|-----------|------------|------------|
|      |     | AA        | AG         | GG        | A          | G          |
| 欧洲人群 | 120 | 70 (58.3) | 48 (40.0)  | 2 (1.7)   | 188 (78.3) | 52 (21.7)  |
| 非洲人群 | 120 | 58 (48.3) | 50 (41.7)  | 12 (10.0) | 166 (69.2) | 74 (30.8)  |
| 日本人群 | 90  | 24 (26.7) | 48 (53.3)  | 18 (20.0) | 96 (53.3)  | 84 (46.7)  |
| 北京人群 | 90  | 28 (31.1) | 46 (51.1)  | 16 (17.8) | 102 (56.7) | 78 (43.3)  |
| 广西人群 | 199 | 50 (25.1) | 101 (50.8) | 48 (24.1) | 201 (50.5) | 197 (49.5) |

### 3 讨论

CRYAB 基因在软体鱼与高等脊椎动物分支进化前一直存在,它的转录产物发挥小分子热休克蛋白的功能,和现代的脊椎动物体内的 CRYAB 发挥的功能一样<sup>[6]</sup>。CRYAB 是一种小分子热休克蛋白家族,具有分子伴侣作用,能够帮助未折叠蛋白正确折叠,防止变性蛋白质聚集,保持 DNA 的稳定,从而维持细胞的正常结构和功能<sup>[7]</sup>。CRYAB 基因位于 11 号染色体长臂(11q 2213~2311),约 691 个碱基对,编码 175 个氨基酸,存在多个位点的基因多态性<sup>[8]</sup>。近年来分子生物学的研究表明,CRYAB 基因多态性除与白内障、肌病等相关外,还与多种肿瘤密切相关<sup>[9]</sup>。Su 等<sup>[10]</sup>对台湾地区乳腺癌患者 CRYAB 基因 rs14133 多态性位点的研究发现基因型为 CG、GG 的患者乳腺癌发病率是 CC 基因型的 1.50~2.22 倍;Bau 等<sup>[11]</sup>通过基因分析发现,台湾地区口腔肿瘤患者与健康对照人群在 CRYAB 基因 C-820G 多态性位点的基因型频率存在显著差异。此外,Sun 等<sup>[12]</sup>对瑞典人群的研究发现,CRYAB 基因 rs2234702 位点的多态性与糖尿病的易感性密切相关。因此,分析不同种族和地域人群中 CRYAB 基因多态性及其分布特点,可为不同人群 CRYAB 基因多态性与某些疾病的发生、发展提供更多有力的研究数据。

本研究采用 PCR 结合单碱基延伸技术和毛细管电泳方法检测 199 名广西人 CRYAB 基因 rs3212227、rs6894567 位点多

态性,对比 Hapmap 上 4 个人群(欧洲人群、非洲人群、日本人群和北京人群)的 SNP 分型数据,分析 5 个人群的 CRYAB 基因 SNP 位点 rs3212227、rs6894567 的基因型和等位基因频率。结果显示,rs3212227、rs6894567 位点基因型和等位基因频率在男女组间比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),说明这 2 个位点基因型和等位基因分布与性别无关;rs3212227、rs6894567 位点在广西人群与欧洲人群和非洲人群之间的分布存在显著差异( $P<0.05$ ),而与日本人群和北京人群的差异无统计学意义( $P>0.05$ ),表明 rs3212227、rs6894567 位点基因型和等位基因型频率与人种有密切关系,即亲缘关系越近,基因型和等位基因型频率越相近。

综上所述,分析和阐明我国广西人群 CRYAB 基因 rs3212227、rs6894567 位点的多态性及其与其他地区人群的分布差异,可为临床上研究不同地区和人群 CRYAB 基因相关的多种疾病提供基础分子遗传学数据。

### 参考文献:

- [1] Acunzo J, Katsogiannou M, Rocchi P. Small heat shock proteins HSP27 (HspB1),  $\alpha$ B-crystallin (HspB5) and HSP22 (HspB8) as regulators of cell death[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012, 44(10): 1622-1631.
- [2] Ghosh JG, Shenoy AK Jr, Clark JI. Interactions between important regulatory proteins and human alphaB crystallin[J]. *Biochemistry*, 2007, 46(21): 6308-6317.
- [3] Ju H, Zhao KX, Wang LM, et al. Gene mapping and analysis of candidate genes in a Chinese family with autosomal dominant congenital coralliform cataract [J]. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi*, 2012, 48(8): 713-717.
- [4] Pattison JS, Osinska H, Robbins J. Atg7 induces basal autophagy and rescues autophagic deficiency in CryABR 120G cardiomyocytes[J]. *Circ Res*, 2011, 109(2): 151-160.
- [5] Huang Z, Cheng Y, Chiu PM, et al. Tumor suppressor Alpha B-crystallin (CRYAB) associates with the cadherin/catenin adherens junction and impairs NPC progression-associated properties[J]. *Oncogene*, 2012, 31(32): 3709-3720.
- [6] Ghahghaei A, Rekas A, Carver JA, et al. Structure/function studies of dogfish alpha-crystallin, comparison with bovine alpha-crystallin[J]. *Mol Vis*, 2009, 15(20): 2411-2420.
- [7] 袁迎莉,朱国兴.  $\alpha$ B-Crystallin 细胞凋亡调控作用的研究进展[J]. *皮肤性病诊疗学杂志*, 2012, 19(4): 260-262.
- [8] Berry V, Francis P, Reddy MA, et al. Alpha-B crystallin gene (CRYAB) mutation causes dominant congenital posterior polar cataract in humans[J]. *Am*(下转第 3749 页)

NK 细胞功能特征,因此作者推测,NK 细胞及 NKT 细胞均在 HBV-ACLF 疾病中可能起到一定的作用<sup>[5-13]</sup>。

在本研究中,作者直接检测了 HBV-ACLF 患者外周血中 NK 细胞、NKT 细胞的频率,结果显示 HBV-ACLF 组、CHB 组及 HC 组的 NK 细胞比例依次升高,而 NKT 细胞比例依次降低。有文献报道,在 CHB 患者体内,NK 细胞可能由于 HBV 的持续存在而受到了抑制。在本研究中,作者也发现 CHB 患者外周血中的 NK 细胞频率较健康者低,与其他报道相似<sup>[14-15]</sup>。本研究还发现,HBV-ACLF 患者的 NK 细胞频率较 CHB 组更低,可能是由于在 HBV-ACLF 的疾病过程中外周血中的大量 NK 细胞向肝脏迁移,并与其他多种炎性细胞共同参与了肝脏的凋亡与坏死过程,最终大量 NK 细胞消耗,导致了外周血中的 NK 细胞比例降低。而与 NK 细胞相反,NKT 细胞在 HBV-ACLF 及 CHB 患者中均表现为升高,且 HBV-ACLF 患者高于 CHB 患者。由于 NKT 细胞的重要功能包括了分泌 IL-4 等细胞因子,因此增多的 NKT 细胞可能参与到 HBV-ACLF 疾病过程的免疫调节中。因此,实验结果提示了 NK 细胞与 NKT 细胞在 HBV-ACLF 疾病中可能起到不同的作用,推测 NK 细胞可能主导细胞毒效应,而 NKT 细胞是以免疫调节效应为主。

但相关性分析结果并未显示 HBV-ACLF 患者的 NK 细胞或 NKT 细胞比例与肝功能水平或 HBV-DNA 载量相关,这可能与 HBV-ACLF 的疾病过程复杂,不同患者的免疫细胞变化波动差异大相关。

由于外周血与肝脏中的免疫细胞还存在一定的差异,因此,下一步还将进一步做肝脏内 NK 细胞或 NKT 细胞的比例分析。

#### 参考文献:

- [1] 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组,中华医学会肝病学会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊疗指南[J]. 中华内科杂志,2006,45(12):1053-1056.
- [2] 张耿林,高志良. 乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭的免疫学特征及治疗策略[J]. 中国病毒病杂志,2011,1(1):5-8.
- [3] 刘青,王泰龄. 慢加急性肝衰竭(ACLF)共识纪要:亚太肝病学会推荐(APASL)[J]. 临床肝胆病杂志,2010,26(1):13-18.
- [4] Zou Z, Li B, Xu D, et al. Imbalanced intrahepatic cytokine expression of interferon-gamma, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-10 in patients with acute-on-chronic liver failure associated with hepatitis B virus infection[J]. J Clin Gastroenterol, 2009, 43(2):182-190.
- [5] Vivier E, Tomasello E, Baratin M, et al. Functions of natural killer cells[J]. Nat Immunol, 2008, 9(5):503-510.
- [6] Welsh RM, Waggoner SN. NK cells controlling virus-specific T cells: Rheostats for acute vs. persistent infections[J]. Virology, 2013, 435(1):37-45.
- [7] 陈大为,张鸿飞,王福生. NK/NKT 细胞亚群研究进展及其在乙型肝炎中的作用[J]. 肝脏,2005,10(3):249-250.
- [8] Bendelac A, Savage PB, Teyton L. The biology of NKT cells[J]. Annu Rev Immunol, 2007, 25(3):297-336.
- [9] Zhang Z, Zhang S, Zou Z, et al. Hypercytolytic activity of hepatic natural killer cells correlates with liver injury in chronic hepatitis B patients[J]. Hepatology, 2011, 53(1):73-85.
- [10] 邹勇,陈韬,王洪武,等. 肝脏自然杀伤细胞在小鼠急性肝衰竭中的作用[J]. 中华肝脏病杂志,2008,16(9):660-664.
- [11] 中华医学会肝病学会和中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南[J]. 中华内科杂志,2006,45(2):162-170.
- [12] 赵阳. NKT 细胞在乙型病毒性肝炎治疗中作用的研究进展[J]. 国际免疫学杂志,2007,30(6):436-439.
- [13] Dong Z, Wei H, Sun R, et al. The roles of innate immune cells in liver injury and regeneration[J]. Cell Mol Immunol, 2007, 4(4):241-252.
- [14] Wei H, Wei H, Gao Y, et al. Blocking the natural killer cell inhibitory receptor NKG2A increases activity of human natural killer cells and clears hepatitis B virus infection in mice[J]. Gastroenterol, 2013, 144(2):392-401.
- [15] Peppas D, Micco L, Javadi A, et al. Blockade of immunosuppressive cytokines restores NK cell antiviral function in chronic Hepatitis B virus infection[J]. PLoS Pathog, 2010, 6(12):e1001227.

(收稿日期:2013-06-05 修回日期:2013-07-10)

(上接第 3746 页)

- [9] Sacconi S, Féasson L, Antoine JC, et al. A novel CRYAB mutation resulting in multisystemic disease[J]. Neuro-muscul Disord, 2012, 22(1):66-72.
- [10] Su CH, Liu LC, Hsieh YH, et al. Association of Alpha B-Crystallin (CRYAB) genotypes with breast cancer susceptibility in Taiwan[J]. Cancer genomics proteomics, 2011, 8(5):251-254.
- [11] Bau DT, Tsai CW, Lin CC, et al. Association of alpha B-

crystallin genotypes with oral cancer susceptibility, survival, and recurrence in Taiwan[J]. PLoS One, 2011, 6(9):e16374.

- [12] Sun C, Sedimbi SK, Ashok AK, et al. CRYAB-650 C>G (rs2234702) affects susceptibility to Type 1 diabetes and IAA-positivity in Swedish population[J]. Hum Immunol, 2012, 73(7):759-766.

(收稿日期:2013-06-15 修回日期:2013-07-10)