

• 综 述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.28.024

Necroptosis 的分子机制及其在心血管疾病中的研究进展*

吴玉静¹, 曹先通², 蔡国荣¹, 肖秀娟¹, 李芳飞¹, 杨志超¹综述, 郑振中^{1△}审校

(1. 南昌大学第一附属医院心血管内科 330006; 2. 南昌大学第一附属医院普通外科 330006)

[摘要] Necroptosis 作为一种新的半胱氨酸天冬酰胺特异蛋白酶非依赖性的细胞死亡方式, 在细胞内环境稳态中扮演重要的角色。necroptosis 通过肿瘤坏死因子受体(TNFR)激活启动, 活化受体相互作用蛋白激酶 1(RIP1)-受体相互作用蛋白激酶 3(RIP3)-混合系列蛋白激酶样结构域(MLKL)信号通路诱导其发生。研究发现 necroptosis 与凋亡和自噬具有十分密切的关系, 因此探讨这 3 种信号机制间的相互作用关系对研究疾病进展及治疗方向具有十分重要的价值。本文以 necroptosis 分子调控机制及与凋亡、自噬三者间的关系进行综述, 同时探讨其在心血管疾病心肌损伤中的作用, 为临床认识、治疗心血管疾病提供方向。

[关键词] necroptosis; 受体, 肿瘤坏死因子; 受体相互作用蛋白激酶; 混合系列蛋白激酶样结构域

[中图分类号] R542.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)28-3691-04

细胞死亡是机体发育、清除衰老受损细胞、维持内环境稳态的一个重要过程, 现公认的细胞死亡方式分为“程序性死亡”和坏死。“程序性死亡”包括凋亡(apoptosis)和自噬(autophagy), 是细胞按照特定信号通路进行的主动、有序的调控过程。部分坏死在特定死亡进程中可以像凋亡一样, 按照特定程序、由基因调控, 这种死亡方式被命名为 necroptosis^[1]。

1 Necroptosis 的提出

以往观点认为坏死是细胞进行的被动、无序的死亡方式, 近年来深入探索发现凋亡和坏死在很多情况下共同存在, 共同参与细胞死亡进程。necroptosis 是一种 caspase 非依赖性的死亡方式, 它的死亡进程更迅速, 对机体的危害更大。由于 caspase 活性需要一定量 ATP 的支持, 当细胞出现炎症、缺血损伤等情况时, 能量代谢受到抑制, ATP 生成不足导致 caspase 活性下降, 机体沿 necroptosis 方向进展^[2]。这种在凋亡受阻时由死亡受体、配基活化启动、受体相互作用蛋白激酶 1 (receptor-interacting protein kinase 1, RIP1)/RIP3 介导、能被 Nec-1 特异性抑制的一类细胞死亡方式称为 necroptosis。此外发现 necroptosis 能被其特异性小分子抑制剂 Nec-1 抑制, 在 caspase-8 缺陷的小鼠中使用凋亡特异性抑制剂 z-VAD-fmk 不能抑制 necroptosis^[3]。研究发现 necroptosis 介导的细胞死亡中, 细胞中无凋亡小体, 但可发现自噬小体, 同时细胞可检测出损伤相关模式分子(damage-associated molecular pattern molecules, DAMPs)^[4]。

2 Necroptosis 的分子调控机制

2.1 Necroptosis 通路启动 necroptosis 信号通路需要死亡受体(death receptor, DR)与配基结合启动,

现发现主要有 TNF- α /TNFR1 肿瘤坏死因子- α /重组人 1 型肿瘤坏死因子受体、Fas 配基(Fas-L)/Fas、肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配基(tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand, TRAIL)/TRAILR、细胞表面 Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)及 DNA 依赖性 IFN 调节因子(DNA-dependent activator of IFN regulatory factors, DAI), 其中 TNF- α /TNFR1 是研究相对较清楚的启动因子^[5]。

在细胞信号转导通路中, TNFR1 的胞内段与沉默死亡结构域(silence of death domain, SODD)结合后构象改变, 继而与 TNFR1 相关死亡结构域(TNFR1-associated death domain, TRADD)结合, 招募 RIP、TNF 受体相关因子 2/5(TNF receptor associated factor, TRAF 2/5)、凋亡抑制蛋白(cellular inhibitor of apoptosis proteins, cIAP1/2)、LUBAC 复合体(linear ubiquitin chain assembly complex)形成 TNFR 复合体 I (complex I)发挥生物学效应^[6]。

2.2 RIPs 家族在 necroptosis 中的作用及机制

RIP 是一类丝/苏氨酸蛋白激酶, 共 7 个成员, 该蛋白家族中含有一类高度保守的丝/苏氨酸激酶结构域。RIP1 和 RIP3 与细胞凋亡和 necroptosis 关系密切, 其中 RIP1 是 Nec-1 抑制 necroptosis 的靶向位点。

RIP1 含 671 个氨基酸, 既可诱导细胞凋亡、necroptosis, 又在 TNF-NF- κ B 介导的细胞生存通路中起关键作用。RIP1 由 3 部分组成, N 端是丝/苏氨酸激酶结构域(kinase domain, KD), 是 RIPs 家族成员共有的组成部分; 中间是 RIP 同源结合基序(RIP family homotypic interaction motifs, RHIM), C-端是与 TRADD 结合的死亡结构域(death domain, DD)。每

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81260044; 81660067)。
△ 通信作者, E-mail: greateful@163.com。

作者简介: 吴玉静(1990—), 住院医师, 硕士, 主要从事自身免疫性心肌

个 RIPs 成员具有各自独特的 C-端,这样的结构决定了它们具有不同的生物学功能,参与不同的信号转导机制。

RIP3 由 518 个氨基酸组成,C-端不含死亡结构域,由 RHIM 组成,在 RIPs 家族中只有 RIP1 和 RIP3 含有 RHIM 结构,该结构域在 necroptosis 调控通路中具有十分重要的作用。研究证明 RIP3 能使 caspase-8 缺陷的小鼠胚胎致死,敲除 RIP3 后,necroptosis 进程受阻,但 RIP1 介导的凋亡途径不受影响。necroptosis 通路中 RIP1 与 RIP3 紧密结合形成 RIP1-RIP3 复合体(necrosome)并相互磷酸化是信号通路能够正常发生的关键,且此现象为 necroptosis 独有。此外 RIP3 下游信号分子混合系列蛋白激酶样结构域(mixed lineage kinase domain-like,MLKL)寡聚化和质膜转位可能是 necroptosis 通路进行的关键^[7]。

2.3 Necrosome 在 necroptosis 中的调控作用及机制

TNFR 复合体 I 中 RIP1 泛素化是决定心肌细胞存活或死亡的关键,第 377 位赖氨酸是主要泛素化位点。当 RIP1 被多聚泛素化时,招募转化生长因子 β 激活激酶 1(transforming growth factor- β activated kinase1,TAK1)、TAK 结合蛋白 2(TAK1-binding protein 2,TAB2)和 TAB3,形成 TAK1-TAB2-TAB3 复合物,激活 NF- κ B 通路介导细胞生存。在 cIAPs 与 TAK1 介导的细胞泛素化中,抑制或敲除 cIAPs 后 RIP1 泛素化受阻而呈现明显的去泛素化状态,引起心肌细胞走向凋亡或 necroptosis^[8]。在去泛素化酶 cylindromatosis(CYLD)作用下,RIP1 从 TNFR 复合体 I 中解离释放到细胞质,招募 caspase-8、Fas 死亡结构域相关蛋白(Fas-associated protein via a death domain,FADD)和 TRADD 形成 TNFR 复合体 II(complex II),当 TNFR 复合体 II 中 caspase-8 聚集活化后,形成 TNFR 复合体 IIa,启动经典外源性凋亡通路,同时 caspase-8 降解 RIP1 和 RIP3,阻断 necroptosis 进程^[9]。z-VAD-fmk 抑制凋亡通路或敲除 caspase-8,RIP1 和 RIP3 降解受到抑制,RIP3 通过 C 端 RHIM 与 RIP1 结合形成 RIP1-RIP3 necrosome,necrosome 磷酸化激活 RIP3 进一步促进 necroptosis 进行^[10]。necrosome 的形成及相互磷酸化在 necroptosis 通路中发挥十分重要作用,Nec-1 靶向作用于 RIP1,抑制 necrosome 的形成而阻断 necroptosis 进程。

2.4 RIP1-RIP3-MLKL 在 necroptosis 分子信号通路中的作用 necrosome 如何激活下游信号通路,仍未完全研究清楚。研究发现,MLKL 可能是 RIP3 激酶下游底物,necroptosis 信号通路中的关键分子,此外还发现一种小分子物质 necrosulfonamide,能够作用于 MLKL 的 N-端,使 N-端丧失功能^[6]。有研究发现 RIP3 和 MLKL 具有典型的激酶折叠,MLKL 通过 AMP-PNP 形成非活性构象与 RIP3 稳定结合,在

RIP3-MLKL 复合体中,RIP3 与 MLKL 各自的 C-端、N-端发生改变,RIP3 发生 α C 螺旋和活性环的显著构象改变。MLKL 的 N 端含有 4 螺旋结构域(four-helix bundle domain,4HBD),是 MLKL 发挥效应的主要部分;C-端为激酶结构域,含有同源激酶序列蛋白,具有疏水性,二者通过 2 个 α -4HBD 连接,未被激活的 MLKL 在细胞质中以单体存在^[11]。当 RIP3 第 227 位丝氨酸发生自磷酸化后,MLKL 第 357 位苏氨酸/358 位丝氨酸位点磷酸化,引起 MLKL 单体发生寡聚化,寡聚后的 MLKL N-端结合磷脂酰肌醇磷脂(phosphatidylinositol phosphate lipids,PIPs),C-端结合线粒体特异性心磷脂(cardiolipin,CL),使细胞质中的 MLKL 聚集到质膜,引起质膜转位。MLKL 单体寡聚化和质膜转位在 necroptosis 进程扮演重要角色,N-端 4HBD 是主要功能部分,扰乱 N-端功能,MLKL 质膜转位受到阻碍^[12-13]。敲除 MLKL 后细胞对死亡敏感性下降,抑制 PI(5)P 或 PI(4,5)P 引起 necroptosis 进程受阻,但均不会影响凋亡通路进行。

MLKL 发生质膜转位后如何诱导 necroptosis 的发生发展,现仍未完全阐述清楚。现有以下几种观点仍存在争论:(1)线粒体蛋白磷酸酶 PGAM5(phosphoglycerate mutase family member 5,PGAM5)可能与 necroptosis 进程有关。MLKL 与 PGAM5 可能是 RIP3 下游两个重要信号分子,MLKL 激活引起 PGAM5 活化并磷酸化^[14-16]。在 Ca^{2+} 和活性氧(ROS)的作用下形成线粒体攻击复合物 III(mitochondrial attack complex,MAC),同时激活动力相关蛋白 Drp-1(dynamin-related protein 1)引发线粒体裂解,线粒体裂解后 ATP 生成减少,引起细胞发生 necroptosis,线粒体的断裂为推动早期 necroptosis 进程起到重要作用;此外 Drp-1 激活产生大量氧自由基,直接导致细胞膜破裂、细胞器肿胀崩解,细胞走向 necroptosis 进程;(2)MLKL 发生寡聚化引起质膜转位,细胞膜离子通道功能紊乱使膜内外离子平衡改变,引起细胞发生 necroptosis^[17];(3)MLKL 作为质膜上募集 Ca^{2+} 和 Na^{+} 通道的平台发挥推动 necroptosis 的作用;但近期 XIA 等^[18]发现,MLKL 形成一种新型阳离子通道,对 Mg^{2+} 通透性强并且允许其优先通过,对 Na^{+} 和 K^{+} 通透性弱,但不通透 Ca^{2+} ;(4)MLKL 通过 N-端与 PIPs 结合后募集到质膜上直接作为成孔复合体发挥作用^[16,19]。

2.5 RIP1-RIP3-钙/钙调素依赖的蛋白激酶 II (Ca^{2+} -calmodulin-dependent protein kinase, CaMK II)在 necroptosis 分子信号通路中的作用 不同于经典的 RIP1-RIP3-MLKL 信号通路介导的 necroptosis,ZHANG 等^[20]发现,在心肌缺血再灌注或氧化应激中,RIP3 直接磷酸化及间接氧化激活 CaMK II,通过 PIP3-CaMK II-线粒体通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore,mPTP)途径介导心肌

细胞程序性坏死,引起心肌损伤、恶性心室重构和心力衰竭;敲除 RIP3 或抑制 CaMK II 能够预防心肌缺氧和氧化应激引起的 necroptosis,过表达 RIP3 促进 necroptosis 的发展。

3 Necroptosis 与凋亡、自噬的关系

凋亡是一种 caspase 依赖性的细胞死亡方式,一直以来凋亡被认为是维持内环境稳态的经典死亡方式,当凋亡信号通路阻断时,necroptosis 以一种替代的形式参与细胞死亡^[21]。现阶段认为,necroptosis 和凋亡是互补的信号通路,具有共同的启动分子、激酶和蛋白酶,通过 TNFR 或 TLR 启动,招募 RIP1、FADD、TRADD 形成复合体介导细胞死亡通路^[22]。随着研究的深入,越来越多学者发现在很多疾病中 necroptosis 和凋亡共同参与细胞的死亡进程。敲除 RIP3 或 MLKL 阻断 TNF- α 诱导的 necroptosis 进程后,可以促进 necroptosis 向凋亡转换,但是当 RIP1 的活性被抑制,这种转换效果会减弱。使用 zVAD-fmk 抑制凋亡通路,caspase-8 的活性被抑制,RIP1 磷酸化进而促进凋亡向 necroptosis 的转换。

自噬是一种具有自我更新和自我保护机制的细胞死亡方式,能够调节细胞内成分的降解,对维持体内平衡起至关重要的作用。自噬可以通过降解细胞内过剩的蛋白质和受损的细胞器维持机体稳态,适度的自噬可保护细胞免受环境刺激的影响,但是当自噬被过度激活或抑制时,介导损伤性作用将导致疾病^[23]。OBERST 等^[24]认为招募 FAS 与自噬体结合可以直接激活 RIP1 和 RIP3。在 TNF- α 或饥饿状态下介导的自噬可以抑制 necroptosis,敲除 RIP1 或用 Nec-1 可以抑制自噬信号通路的进程。这些结果显示,自噬本身可能并不会诱导细胞死亡,它可能是 necroptosis 的下游信号通路。然而部分研究者认为,自噬并不仅仅可以介导细胞生存,其本身也会诱导细胞死亡。OSBORN 等^[25]发现 FADD 缺陷的 T 细胞增殖介导的 necroptosis 并不会影响自噬,提示自噬并不是 necroptosis 通路中的一部分,自噬与 necroptosis 是两种完全独立的细胞死亡方式。因此对于自噬与 necroptosis 的关系,至今依然没有确切的定论。

截至目前,对于 necroptosis 与凋亡和自噬这 3 种细胞死亡方式之间的相互关系及具体的信号分子机制依然未阐述清楚,需要更多的研究来探索。

4 Necroptosis 在心血管疾病中的研究进展

在鼠心肌缺血再灌注模型中发现,给予一定剂量 Nec-1 能够使缺血再灌注急性期的心肌损伤明显减小,慢性期心肌纤维化减弱,梗死灶体积与对照组相比明显缩小。在缺氧诱导的心肌缺血损伤中,使用抑制剂 Nec-1,凋亡信号通路 caspase-3 表达相对增加;使用凋亡抑制剂 z-VAD-fmk,necroptosis 信号通路 RIP3 表达量增加。通过大量研究发现在急性心肌梗死(acute myocardial infarction,AMI)模型中凋亡占

据了重要的地位,其中线粒体通路研究相对较充分,而 TNF- α 死亡受体通路证据较少。后期通过不断研究证实在大鼠 AMI 模型中有 necroptosis 信号通路 RIP1、RIP3 蛋白表达,提示心肌细胞的死亡方式不仅有凋亡与自噬,necroptosis 也发挥了作用,并且在一定条件下 necroptosis 与凋亡共同存在且相互转化。有文献报道在病毒性心肌炎(viral myocarditis,VMC)中发现了凋亡和自噬,但使用 caspase 抑制剂处理病毒感染的心肌细胞发现,心肌细胞的死亡进程加快,具体机制目前仍不清楚。

通过不断深入研究,necroptosis 参与包括感染和炎症性疾病、动脉粥样硬化、脑缺血性疾病等疾病进程,近年来 necroptosis 在急性心肌缺血再灌注损伤及心力衰竭中的作用受到广泛重视,使用 Nec-1 能够明显减弱心肌损伤。在心肌炎或心瓣膜病等其他心血管疾病中是否也存在 necroptosis? 具体信号调控机制是什么? 阻止进程能否保护心肌细胞? 这些问题至今还没有确切定论。随着 necroptosis 研究的日益深入,其机制的探索也取得了一定进展,其将有望为研究心肌细胞坏死的病理机制、治疗方向及干预措施提供新的突破口。

参考文献

- [1] DEGTAREV A,HUANG Z H,BOYCE M,et al. Chemical inhibitor of nonapoptotic cell death with therapeutic potential for ischemic brain injury[J]. Nat Chem Biol, 2005,1(2):112-119.
- [2] PASPARAKIS M,VANDENABEELE P. Necroptosis and its role in inflammation[J]. Nature,2015,517(7534):311-320.
- [3] KAISER W J,UPTON J W, LONG A B,et al. RIP3 mediates the embryonic lethality of caspase-8-deficient mice[J]. Nature,2011,471(7338):368-372.
- [4] KACZMAREK A,VANDENABEELE P,KRYSKO D V. Necroptosis:the release of damage-associated molecular patterns and its physiological relevance[J]. Immunity,2013,38(2):209-223.
- [5] UPTON J W, KAISER W J, MOCARSKI E S. DAI/ZBP1/DLM-1 complexes with RIP3 to mediate virus-induced programmed necrosis that is targeted by murine cytomegalovirus vIRA[J]. Cell Host Microbe,2012,11(3):290-297.
- [6] CHRISTOFFERSON D E,LI Y,YUAN J. Control of life-or-death decisions by RIP1 Kinase[J]. Annu Rev Physiol, 2014,76:129-150.
- [7] SUN L M,WANG H Y,WANG Z G,et al. Mixed lineage kinase domain-like protein mediates necrosis signaling downstream of RIP3 kinase[J]. Cell,2012,148(1/2):213-227.
- [8] DANNAPPEL M,VLANTIS K,KUMARI S,et al. RIPK1 maintains epithelial homeostasis by inhibiting apoptosis and necroptosis[J]. Nature,2014,513(7516):90-94.

- [9] NEWTON K, DUGGER D L, WICKLIFFE K E, et al. Activity of protein kinase RIPK3 determines whether cells die by necroptosis or apoptosis[J]. *Science*, 2014, 343(6177):1357-1360.
- [10] ZHOU W, YUAN J Y. SnapShot: necroptosis[J]. *Cell*, 2014, 158(2):464.
- [11] HILDEBRAND J M, TANZER M C, LUCET I S, et al. Activation of the pseudokinase MLKL unleashes the four-helix bundle domain to induce membrane localization and necroptotic cell death[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(42):15072-15077.
- [12] MURPHY J M, CZABOTAR P E, HILDEBRAND J M, et al. The pseudokinase MLKL mediates necroptosis via a molecular Switch mechanism[J]. *Immunity*, 2013, 39(3):443-453.
- [13] WU J F, HUANG Z, REN J M, et al. Mkl knockout mice demonstrate the indispensable role of Mkl in necroptosis[J]. *Cell Res*, 2013, 23(8):994-1006.
- [14] RICKARD J A, O'DONNELL J A, EVANS J M, et al. RIPK1 regulates RIPK3-MLKL-driven systemic inflammation and emergency hematopoiesis[J]. *Cell*, 2014, 157(5):1175-1188.
- [15] CAI Z Y, JITKAEW S, ZHAO J, et al. Plasma membrane translocation of trimerized MLKL protein is required for TNF-induced necroptosis[J]. *Nat Cell Biol*, 2014, 16(1):55-65.
- [16] WANG Z G, JIANG H, CHEN S, et al. The mitochondrial phosphatase PGAM5 functions at the convergence point of multiple necrotic death pathways[J]. *Cell*, 2012, 148(1/2):228-243.
- [17] CHEN X, LI W J, REN J M, et al. Translocation of mixed lineage kinase domain-like protein to plasma membrane leads to necrotic cell death[J]. *Cell Res*, 2014, 24(1):105-121.
- [18] XIA B Q, FANG S, CHEN X Q, et al. MLKL forms cation channels[J]. *Cell Res*, 2016, 26(5):517-528.
- [19] WANG H Y, SUN L M, SU L J, et al. Mixed lineage kinase domain-like protein MLKL causes necrotic membrane disruption upon phosphorylation by RIP3[J]. *Mol Cell*, 2014, 54(1):133-146.
- [20] ZHANG T, ZHANG Y, CUI M Y, et al. CaMK II is a RIP3 substrate mediating ischemia- and oxidative stress-induced myocardial necroptosis[J]. *Nat Med*, 2016, 22(2):175-182.
- [21] MURPHY J M, SILKE J. Ars moriendi; the art of dying well - new insights into the molecular pathways of necroptotic cell death[J]. *EMBO Rep*, 2014, 15(2):155-164.
- [22] KAISER W J, UPTON J W, LONG A B, et al. RIP3 mediates the embryonic lethality of caspase-8-deficient mice[J]. *Nature*, 2011, 471(7338):368-372.
- [23] MIZUSHIMA N, KOMATSU M. Autophagy: renovation of cells and tissues[J]. *Cell*, 2011, 147(4):728-741.
- [24] OBERST A. Autophagic cell death RIPs into tumors[J]. *Cell Death Differ*, 2013, 20(9):1131-1132.
- [25] OSBORN S L, DIEHL G, HAN S J, et al. Fas-associated death domain (FADD) is a negative regulator of T-cell receptor-mediated necroptosis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(29):13034-13039.

(收稿日期:2018-05-10 修回日期:2018-06-18)

(上接第 3690 页)

- [17] COUTURE D E, CRANTFORD J C, SOMASUNDARAM A, et al. Efficacy of passive helmet therapy for deformational plagiocephaly: report of 1 050 cases[J]. *Neurosurg Focus*, 2013, 35(4):E4.
- [18] MORTENSON P, STEINBOK P, SMITH D. Deformational plagiocephaly and orthotic treatment: Indications and limitations[J]. *Childs Nerv Syst*, 2012, 28(9):1407-1412.
- [19] FLANNERY A B, LOOMAN W S, KEMPER K. Evidence-Based care of the child with deformational plagiocephaly, part II: management[J]. *J Pediatr Health Care*, 2012, 26(5):320-331.
- [20] LENNARTSSON F. Testing guidelines for child health care nurses to prevent nonsynotic plagiocephaly: a Swedish pilot study[J]. *J Pediatr Nurs*, 2011, 26(6):541-551.
- [21] VAN WIJK R M, VAN VLIMMEREN L A, GROTHUIS-ODSHOORN C G, et al. Helmet therapy in infants with positional skull deformation: randomised controlled trial[J]. *BMJ*, 2014, 348:2741.
- [22] DOERHAGE K W, BECK-BROICHSITTER B E, VON GRABE V, et al. Therapy effects of head orthoses in positional plagiocephaly[J]. *J Craniomaxillofac Surg*, 2016, 44(10):1508-1514.
- [23] FREUDLSPERGER C, STEINMACHER S, SAURE D, et al. Impact of severity and therapy onset on helmet therapy in positional plagiocephaly[J]. *J Craniomaxillofac Surg*, 2016, 44(2):110-115.
- [24] WILBRAND J F, WILBRAND M, MALIK C Y, et al. Complications in helmet therapy[J]. *J Craniomaxillofac Surg*, 2012, 40(4):341-346.
- [25] NAIDOO S D, CHENG A L. Long-Term satisfaction and parental decision making about treatment of deformational plagiocephaly[J]. *J Craniofac Surg*, 2014, 25(1):160-165.
- [26] PAGNONI M, FADDA M T, SPALICE A, et al. Surgical timing of craniosynostosis: what to do and when[J]. *J Craniomaxillofac Surg*, 2014, 42(5):513-519.
- [27] SHAMJI M F, FRIC-SHAMJI E C, MERCHANT P, et al. Cosmetic and cognitive outcomes of positional plagiocephaly treatment[J]. *Clin Invest Med*, 2012, 35(5):266-270.

(收稿日期:2018-05-16 修回日期:2018-06-16)