

· 基础研究 ·

早期应用疏风清热合剂调节急性相蛋白和 VEGF 促进骨折愈合的实验研究

袁晓芳^{1△} 张建芳¹ 万全庆²

摘要 目的 研究不同时间段骨折处 X 线摄片评分和 C 反应蛋白(CRP)、纤维蛋白原(FIB)及血管内皮细胞生长因子(VEGF)在血液中的表达情况,探讨早期应用疏风清热合剂促进骨折愈合的机制。**方法** 建立家兔双侧桡骨骨折模型,将造模成功后的 33 只家兔按随机数字表法分为模型对照组、生理盐水组和疏风清热合剂组,每组 11 只,另设空白对照组 11 只。疏风清热合剂组和生理盐水组于造模后 10 天内分别给予疏风清热合剂[10 mL/(kg·d)]和等体积的生理盐水灌胃。造模后第 28、42 天检测双侧桡骨进行 X 线摄片,第 1、3、7、14 天检测血液中 CRP、FIB 表达,第 7、14、28 天检测血液中 VEGF 表达情况。**结果** (1)与模型对照组比较,疏风清热合剂组第 28、42 天骨折部位 X 线评分较高($P < 0.01$),且高于生理盐水组($P < 0.05$)。(2)与本组造模后第 3 天比较,模型对照组、生理盐水和疏风清热合剂组第 7 天 CRP、FIB 均表达较低($P < 0.05$)。与空白对照组比较,模型对照组第 1、3、7 天血浆 CRP、FIB 表达水平均升高($P < 0.01$);与模型对照组比较,疏风清热合剂组第 3、7 天时间点 CRP、FIB 表达降低($P < 0.05$, $P < 0.01$);与生理盐水组比较,疏风清热合剂组在第 3、7 天时间点 CRP、FIB 表达降低($P < 0.01$)。(3)与本组造模后第 14 天比较,模型对照组、生理盐水和疏风清热合剂组第 7、28 天 VEGF 表达降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与空白对照组比较,模型对照组第 7、14、28 天 VEGF 表达均升高($P < 0.01$);与模型对照组比较,疏风清热合剂组第 7、14、28 天 VEGF 表达较高($P < 0.01$),且高于生理盐水组($P < 0.01$)。**结论** 早期应用疏风清热合剂可以促进新西兰家兔桡骨骨折的愈合,其作用机制可能是通过降低急性相蛋白 CRP、FIB 表达以及促进血液中 VEGF 的高表达实现。

关键词 骨折愈合;疏风清热合剂;C 反应蛋白;纤维蛋白原;血管内皮细胞生长因子

Early Application of Shufeng Qingre Mixture for Promoting Fracture Healing from Expressions of Acute Phase Proteins and VEGF YUAN Xiao-fang¹, ZHANG Jian-fang¹, and WAN Quan-qing²
1 Third Clinical School of Medicine, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou (310053); 2 Intervertebral Disc Center, Third Hospital Affiliated to Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou (310005)

ABSTRACT Objective To observe the mechanism of Shufeng Qingre Mixture (SQM) for promoting fracture healing by studying X-ray score at different time points and the expressions of C reactive protein (CRP), fibrinogen (FIB), vascular endothelial growth factor (VEGF) in blood. **Methods** Bilateral radial fracture model was set up. Totally successfully modeled 33 rabbits were divided into the model control group, the normal saline (NS) group, and the SQM group according to random number table, 11 in each group. Besides, a blank control group was set up consisting of 11 rabbits. SQM (10 mL·kg⁻¹·d⁻¹) was administered to rabbits in the SQM group. Equal volume of NS was administered to rabbits in the NS group. X-ray of bilateral radius was performed at day 28 and 42 after modeling. The expression levels of CRP and FIB in blood were tested by ELISA at day 1, 3, 7, and 14. The expression level of VEGF was de-

基金项目:浙江省自然科学基金项目(No. LY14H270012);姚新苗全国名老中医药专家传承工作室建设项目(国中医药人教发 2014|20 号)

作者单位:1. 浙江中医药大学第三临床医学院(杭州 310053);2. 浙江中医药大学附属第三医院椎间盘中心(杭州 310005)

通讯作者:万全庆, Tel:18958077827, E-mail:13003678819@163.com

△现在江苏省常州市第一人民医院康复科(江苏 213002)

DOI: 10.7661/j.cjim.20170315.045

tected at day 7, 14, and 28. Results (1) Compared with the model control group, the X-ray scores were higher in the SQM group at day 28 and 42 ($P < 0.01$). It was higher in the SQM group than in the NS group ($P < 0.05$). (2) Compared with 3-day intervention in the same group, the expression levels of CRP and FIB were lower in the model control group, the NS group, and the SQM group ($P < 0.05$). Compared with the blank control group, the expression levels of CRP and FIB were all elevated in model control group at day 1, 3, and 7 ($P < 0.01$). Compared with model control group, the expression levels of CRP and FIB were significantly reduced in the SQM group at day 3 and 7 ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the NS group, the expression levels of CRP and FIB decreased in the SQM group at day 3 and 7 ($P < 0.01$). (3) Compared with 14-day intervention in the same group, the expression level of VEGF was lower in the 3 groups at day 7 and 28 ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the blank control group, the expression level of VEGF increased in the model control group at day 7, 14, and 28 ($P < 0.01$). Compared with the model control group, the expression level of VEGF was higher in the SQM group at day 7, 14, and 28 ($P < 0.01$), and it was higher than that of the NS group ($P < 0.01$). Conclusion Early using SQM could promote radial fracture healing in New Zealand rabbits, which might be achieved through reducing the expression levels of acute phase proteins such as CRP and FIB, and promoting the expression level of VEGF in blood.

KEYWORDS fracture healing; Shufeng Qingre Mixture; C reactive protein; fibrinogen; vascular endothelial cell growth factor

中医学治疗骨折的三期理论中骨折早期是指骨折后 1~2 周,常表现为断端疼痛,局部红肿。治疗原则为活血化瘀,其中活血化瘀法(桃红四物汤为主)在骨折愈合早期尤为重要^[1]。但是单纯用活血化瘀方药,对部分患者(特别是对气血旺盛的骨折患者)的治疗效果也不够理想。疏风清热法出自第二批全国名老中医学术传承人、全国名中医传承工作室负责人、传承人叶海教授。其治疗骨折(早期)在临床上已应用 30 余年,在原有的活血化瘀法指导下,加以疏风清热法辅助,会明显缩短骨折愈合时间、增加骨折愈合强度^[2]。骨折早期患者多因脉络受损,气血凝滞,脉络阻塞,出现各种疼痛;又因骨折后局部脉络受损,血液流离,脉络不畅,导致气血瘀积于肌肤腠理出现肿胀。如果不及时治疗,不仅会加重或延长患者的痛苦,而且会变生他病。因此,结合“活血化瘀、疏风清热”等功能的药物,在外科或其他保守治疗的前提下,中医药治疗可以加快骨折愈合进程,增强骨折愈合质量,具有重要临床意义。然而,疏风清热法是如何消肿止痛,其加快骨折愈合的机制仍不完全清楚。急性相蛋白如 C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、纤维蛋白原(fibrinogen, FIB)在机体应激、创伤、炎症时会产生明显改变。近年来的研究表明,CRP、FIB 的表达水平对骨折的诊断、损伤程度及并发症的发生具有较高的参考价值^[3]。此外,文献报道血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial cell growth factor, VEGF)可以

促进血管内皮细胞的增殖、分化和血管形成,并与其他生长因子有强烈的协同作用^[4]。本实验将通过家兔桡骨骨折模型,观察早期应用疏风清热合剂对骨折愈合的影响,并进一步探讨疏风清热法干预骨折早期加快骨折愈合的作用机制。

材料与方法

1 动物 50 只清洁级雄性新西兰家兔,5~8 月龄,体重 2.0~2.5 kg,由浙江中医药大学实验动物中心提供,许可证号:SYXK(浙)2013-0184,饲养期间给予家兔标准饲料及自由饮水。室温控制在(20±2)℃,湿度 60%。12 h 间隔照明,定期紫外线消毒与排风。

2 药物 疏风清热合剂(荆芥 12 g 防风 12 g 连翘 12 g 泽兰 12 g 茜草 12 g 土贝母 12 g 银花 12 g 薄荷 10 g 焦山桅 10 g 赤芍 10 g),在浙江中医药大学药学院制剂室由传统煎剂方法制备提纯,生药浓度为 1.05 g/mL,冷藏。

3 主要试剂及仪器 VEGF、CRP ELISA 试剂盒(杭州诚维生物科技有限公司,批号:E2015062905, E2015062906)、Sorvall Stratos 冷冻高速离心机、Multiskan FC 酶标仪(Thermo 公司,美国)、ALC-CED8 型电钻(上海奥尔科特生物科技有限公司)、CA-500 全自动血凝仪(Sysmex 公司,日本)、DRX NOVA 型 X 线摄片机(锐珂医疗器材有限公司)

4 动物模型的制备 参照参考文献[5]。将 39

只家兔用 3 % 戊巴比妥钠按 1 mL/kg 耳缘静脉注射麻醉后,将家兔以俯卧位固定双侧下肢于手术台上,用剃毛器剃除家兔双侧前肢兔毛,碘伏消毒后无菌条件下取桡骨中下 1/3 交界处(即旋前圆肌止点附近)手术切开皮肤约 3 cm,暴露桡骨远端,用直径 2.3 mm 的颅钻钻成 3 mm 左右宽的骨缺损,保持尺骨完整。生理盐水冲洗,逐层缝合。术后分笼饲养,造模后即将双侧桡骨进行 X 线摄片,摄片显示桡骨完全离断无移位,而尺骨保持相对完整即为造模成功,其中有 3 只家兔由于麻醉意外死亡(主要原因为麻醉药物推注过快,造成家兔呼吸抑制),3 只家兔造模不成功(主要原因为 1 只桡骨未完全离断,2 只尺骨离断 >50%),造模成功率为 85%。造模即日起肌注青霉素(40 万 U,连续 3 天)以预防感染,5 天后拆线。造模成功后的 33 只家兔编号后采用随机数字表法分为模型对照组、生理盐水组和疏风清热合剂组,每组 11 只。另设空白对照组 11 只,与造模组一起进行指标检测。

5 给药方法 按“动物与人的每千克体重剂量折算系数表^[6]”折算成等效剂量,相当于临床正常人用量的 10 倍,10 mL/(kg·d)一次性灌胃,从造模后第 1 天开始,实验中每 3 天称重 1 次,根据体重调节给药量,共 10 天。生理盐水组给予等体积的生理盐水灌胃。模型组与空白对照组做空灌胃(即只有灌胃动作,不灌任何药物),给予自由饮水、饮食。

6 检测指标及方法

6.1 骨折处 X 线评分 采用 X 线摄片观察。3 组动物于造模后 28、42 天两个时间点进行左侧桡骨 X 摄片,曝光条件为:50 mA,0.1 s,52 kV,摄片距离 90 cm,兔俯卧位,使用自制木板将其固定,对骨折部位愈合情况进行影像学评分^[7]。

6.2 CRP 与 VEGF 表达水平检测 采用 ELISA 方法。在第 1、3、7、14 天检测血液中 CRP 表达,第 7、14、28 天检测血液中 VEGF 表达情况。严格按照杭州诚维生物科技有限公司提供的 CRP 试剂盒和 VEGF 试剂盒说明书要求,通过 ELISA 方法分别检测标本 CRP 和 VEGF 的表达情况。具体方法为:耳中央动脉取血,30 min 静置后 3 000 r/min,离心 10 min,分离出血浆后 -20 ℃ 保存。按照试剂盒中的操作步骤和试剂稀释方法检测出标准品浓度及对应的 OD 值,在 Excel 工作表中回执标准品线性回归曲线,按曲线方程计算,得出浓度值。

6.3 FIB 水平检测 采用免疫浊度方法。各组在第 1、3、7、14 天检测血液中 FIB 的表达。采用 CA-

500 全自动血凝仪进行 FIB 定量检测。取血方法同上,取血 900 μL 并加入 100 μL 浓度为 3.8 % 的枸橼酸钠充分混合均匀,应用 CA-500 定标液按照仪操作步骤对仪器定标,仪器自动绘制标准曲线,根据凝固时间(fbgT)得出 FIB 浓度。

7 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件进行数据分析,各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用重复测量的统计学方法,组间或组内比较采用 ANOVA,方差齐时采用 LSD,方差不齐时采用 Dunnett's *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组骨折处 X 线评分比较(表 1,图 1) 与模型对照组比较,生理盐水组骨折修复评分差异无统计学意义($P > 0.05$),疏风清热合剂组造模后第 28、42 天骨折部位 X 线评分较高($P < 0.01$),且高于生理盐水组($P < 0.05$)。

造模后第 28 天模型对照组和生理盐水组桡骨断端边缘模糊,骨膜反应浅,少量骨痂;疏风清热合剂组断端边缘可见但接近消失,骨痂量增多;造模后第 42 天模型对照组和生理盐水组分断端边缘接近消失,骨痂量未填满缺损;疏风清热合剂组断端边缘完全消失,骨痂填满缺损与骨皮质紧密连接。

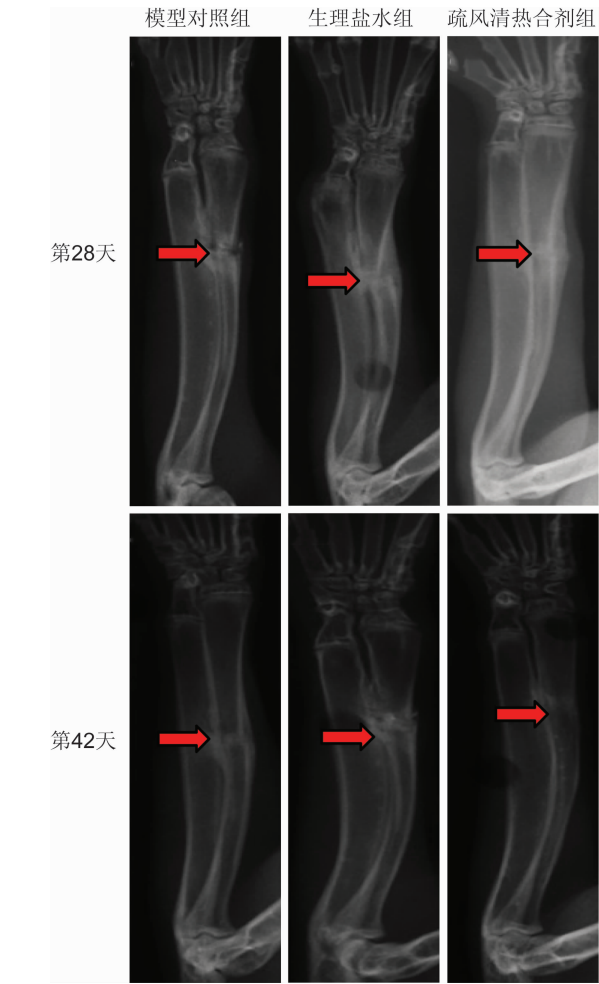
表 1 各组骨折处 X 线评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	X 线评分	
		第 28 天	第 42 天
空白对照	—	—	—
模型对照	11	1.72 ± 0.65	2.55 ± 0.82
生理盐水	11	1.82 ± 0.87	2.64 ± 0.67
疏风清热合剂	11	2.64 ± 0.51 *△	3.36 ± 0.50 *△

注:与模型对照组比较,* $P < 0.01$;与生理盐水组比较,△ $P < 0.05$

2 各组不同时间点血浆 CRP 表达比较(表 2) 与本组造模后第 3 天比较,模型对照、生理盐水和疏风清热合剂第 7 天 CRP 表达较低($P < 0.05$)。与空白对照组比较,模型对照组在第 1、3、7 天血浆 CRP 表达水平平均升高($P < 0.01$),第 14 天差异无统计学意义($P > 0.05$);与模型对照组比较,疏风清热合剂组在第 3、7 天 CRP 表达降低($P < 0.05$, $P < 0.01$);与生理盐水组比较,疏风清热合剂组在第 3、7 天 CRP 亦表达降低, ($P < 0.01$)。

3 各组不同时间点血浆 FIB 表达比较(表 3) 与本组造模后第 3 天比较,3 组第 7 天 FIB 表达较低($P < 0.05$)。与空白对照组比较,模型对照组在第 1、3、7 天血浆 FIB 表达水平平均升高($P < 0.01$),第 14 天



注:箭头所示为骨折愈合及骨痂生长情况
图 1 各组骨折处 X 线摄片图

差异无统计学意义($P>0.05$);与模型对照组比较,疏风清热合剂组在第 3、7 天时间点 FIB 表达降低($P<0.01$);且较生理盐水组在相同时间点 FIB 表达降低

更明显($P<0.01$)。

4 各组血浆 VEGF 表达比较(表 4) 与本组造模后第 14 天比较,除空白对照组外,其他组第 7、28 天 VEGF 表达较低($P<0.05$, $P<0.01$)。与空白对照组比较,模型对照组在第 7、14、28 天 VEGF 表达均升高($P<0.01$);与模型对照组比较,生理盐水组在第 7、14、28 天 VEGF 的表达差异无统计学意义($P>0.05$)。与模型对照组比较,疏风清热合剂组第 7、14、28 天 VEGF 表达较高($P<0.01$);与生理盐水组比较,疏风清热合剂组在第 7、14、28 天 VEGF 表达较高($P<0.01$)。

讨 论

中医学根据骨折损伤的发展过程,分为早、中、晚 3 期,由于兔骨折愈合速度较人类相对较快,故将骨折后 1~7 天为早期即血肿机化演进期,骨折后 8~28 天为中期即原始骨痂形成期;28 天以后为后期即改建塑形期^[8]。孙权等^[9]应用瘀去接骨丸治疗兔胫骨骨折发现实验组骨折局部肿胀消退明显快于模型对照组,其原因主要是祛瘀药物可以减轻因创伤而产生的应激性反应,减少炎性渗出,促进局部血液循环等作用。所以,在骨折早期应用活血化瘀类中草药对于加快骨折愈合过程并且增强骨痂强度是非常有必要的。

疏风清热合剂合剂因其在活血化瘀的基础上加以疏风清热类药物,在临床上应用已有 30 年余^[2]。近年对于疏风清热合剂的临床研究证实该复方的早期应用可以减轻骨折部位的肿胀程度,减少血液中 CRP 的表达^[2]。本研究应用 X 线摄片观察兔骨折愈合的程度,对比显示疏风清热合剂组在第 28、42 天时的愈合程度明显优于其他两组,尤其在 42 天时,合剂组多个实验动物 X 线显示骨折断端边缘完全消失,骨痂填

表 2 各组不同时间点血浆 CRP 水平比较 (ng/mL, $\bar{x}\pm s$)

组别	n	CRP			
		第 1 天	第 3 天	第 7 天	第 14 天
空白对照	11	417.8±51.9	426.3±68.0	403.2±97.9	446.3±85.8
模型对照	11	774.4±78.3 [△]	920.3±58.7 [△]	824.7±116.2 ^{*△}	517.3±75.9
生理盐水	11	761.5±81.1	947.0±107.9	840.5±108.0 [*]	523.8±66.8
疏风清热合剂	11	736.0±91.4	831.7±63.0 ^{▲△○}	711.0±62.2 ^{*▲○}	489.4±72.9

注:与本组造模后第 3 天比较, $^*P<0.01$;与空白对照组同期比较, $^{\Delta}P<0.01$;与模型对照组同期比较, $^{\Delta}P<0.05$, $^{\Delta\Delta}P<0.01$;与生理盐水组同期比较, $^{\circ}P<0.01$

表 3 各组不同时间点血浆 FIB 检测结果 (g/L, $\bar{x}\pm s$)

组别	n	FIB			
		第 1 天	第 3 天	第 7 天	第 14 天
空白对照	11	2.38±0.67	2.56±0.70	2.28±0.73	2.52±0.61
模型对照	11	3.53±0.37 [△]	5.14±0.71 [△]	4.13±0.83 ^{**△}	2.94±0.35
生理盐水	11	3.60±0.52	4.99±0.60	4.07±0.60 [*]	2.88±0.35
疏风清热合剂	11	3.23±0.59	4.01±0.38 ^{▲○}	3.16±0.55 ^{*▲○}	2.76±0.63

注:与本组造模后第 3 天比较, $^*P<0.05$, $^{**}P<0.01$;与空白对照组同期比较, $^{\Delta}P<0.01$;与模型对照组同期比较, $^{\Delta}P<0.01$;与生理盐水组同期比较, $^{\circ}P<0.01$

表 4 各组不同时间点血浆 VEGF 检测结果 (ng/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	VEGF		
		第 7 天	第 14 天	第 28 天
空白对照	11	8.37 ± 1.11	8.78 ± 1.03	8.25 ± 1.27
模型对照	11	12.33 ± 1.25 **△	14.80 ± 2.20 △	10.45 ± 1.74 **△
生理盐水	11	12.83 ± 1.20 *	14.50 ± 2.57	10.64 ± 1.25 **
疏风清热合剂	11	14.52 ± 1.13 **▲○	17.16 ± 1.43 ▲○	13.45 ± 2.07 **▲○

注:与本组造模第 14 天比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与空白对照组同期比较,△ $P < 0.01$;与模型对照组同期比较,▲ $P < 0.01$;与生理盐水组同期比较,○ $P < 0.01$

满缺损并与骨皮质紧密连接。而其他两组大多为骨折断端骨痂量未填满缺损,骨折边缘模糊未消失。这足以说明本实验作用于兔骨折早期的效果是明显的。CRP、FIB 等能反映骨折早期全身或骨折处的炎症反应及血凝状态^[3],许大勇研究结果表明,在骨折修复过程中,尤其在骨折愈合早期,复元活血汤可以调节 CRP、FIB 的合成与分泌,以消散炎症、改变血液的高凝状态,从而促进骨折愈合^[10]。疏风清热合剂的中连翘、焦山桅、银花等药物主要作用为清热解毒,活血消肿^[11]。本研究中,疏风清热合剂组血液 CRP、FIB 在第 3、7 天下降幅度均高于其余两组,说明疏风清热合剂对于骨折早期减少骨痂局部或全身的炎症反应以及降低血液的高凝状态有积极作用。本研究结果显示疏风清热合剂组的 VEGF 在第 14 天时的表达明显增加,在第 7、28 天时维持一个相对高的水平,其中的原因可能为疏风清热合剂的应用减轻了局部或全身的炎症反应以及血液的高凝状态,加速了血液循环从而使新生血管的生成^[12],维持新生血管的重建速度。方中泽兰、茜草、赤芍等行瘀、止痛、凉血,使用可以加速骨折断端组织中血肿消散,促进骨痂中微血管的再生^[1]。因此,疏风清热合剂遵循“未病先防”的原则,泽兰、茜草、赤芍活血化瘀活血与理气兼顾,药物选用金银花、连翘、焦山桅等苦寒之品,苦可以清热解毒,在热毒未甚之时直折热毒之势,使邪势得以遏制,祛除病因,并适当辅以荆芥、防风、薄荷轻清质寒之品以防邪郁化火,火盛酿毒的发生,从而尽早促进骨折愈合^[11]。

综上所述,本研究证实在骨折早期应用疏风清热合剂中融合活血化瘀与疏风清热两者的优点,可明显加快骨折愈合速度,其机制主要是通过降低 CRP、FIB 在血液中的表达,促进 VEGF 合成与分泌来实现的。此外,骨折愈合是一个多种细胞因子共同参与、相互协调的过程^[14],本研究仅发现疏风清热合剂对各种指标的单独作用,对于上述指标之间是否有相互联系以及相互协调的关系,将有待进一步证实。

参 考 文 献

[1] 张金生. 活血化瘀治法理论“祛瘀血”与“生新”层面的

干细胞生物学特性探讨[J]. 中医杂志, 2013, 54(6): 463-465.

[2] 万全庆, 王富江. 疏风清热合剂对骨折初期 C 反应蛋白及肿痛的影响[J]. 浙江中医杂志, 2011, 46(12): 878.

[3] 罗柳阳, 郭福, 邹家礼, 等. 经皮穴位电刺激治疗对胫腓骨骨折术后早期患者血清 CRP、IL-6、TNF-α 的影响[J]. 中医临床研究, 2014, 6(7): 3-6.

[4] Einhorn TA, Gerstenfeld LC. Fracture healing: mechanisms and interventions [J]. Nat Rev Rheumatol, 2015, 11(1): 45-54.

[5] 李长雷, 马宝苗, 陈晓青, 等. 利用骨科电锯建立兔桡骨骨折模型的研究[J]. 长江大学学报(自科版), 2014, 11(27): 6-9.

[6] 苗明三主编. 实验动物和动物实验技术[M]. 北京: 中国中医药出版社, 1997: 145.

[7] 沈明勤, 王颖钰, 荆梅, 等. 伤科接骨片治疗大鼠骨折模型的影像学评价[J]. 中国实验动物学报, 2015, 23(1): 91-96.

[8] 毕锴, 温建民, 孙永生, 等. 中医骨折三期治疗对家兔骨折愈合中 VEGF 与 BMP-2 表达影响的实验研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2012, 18(12): 1344-1347.

[9] 孙权, 刘凌峰, 汪洋, 等. 祛瘀接骨丸对实验性兔胫骨骨折愈合作用的影响[J]. 中国中医急症, 2013, 22(4): 566-567.

[10] 许大勇. 复元活血汤对脊柱骨折患者术后炎症因子、凝血功能及疼痛程度的影响[J]. 中药药理与临床, 2015, 31(3): 140-142.

[11] 张建芳, 万全庆, 袁晓芳, 等. 疏风清热合剂对兔桡骨骨折愈合早期骨组织形态与强度的影响[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(10): 2514-2516.

[12] Giannoudis PV, Calori GM, Bégue T, et al. Tissue loss and bone repair: time to develop an international strategy? [J]. Injury, 2015, 46(8): S1-2.

[13] Loi F, Córdova LA, Pajarinen J, et al. Inflammation, fracture and bone repair [J]. Bone, 2016, 86: 119-130.

(收稿: 2015-10-07 修回: 2017-01-13)

责任编辑: 白霞
英文责编: 张晶晶