

督脉不同穴位组合电针对急性上颈段脊髓损伤影响的实验研究

移平¹ 王延雷¹ 谭明生^{1,2△} 齐英娜³ 杨峰¹ 唐向盛¹ 吴鑫杰^{1,2}

[摘要] 目的:探究督脉不同穴位组合电针刺激对急性重度上颈髓损伤大鼠的治疗效果。方法:SPF 级 Wistar 大鼠(30 只)随机分为 5 组(假手术组、激素组、电针 1 组、电针 2 组、模型组,每组 6 只),分别给予不同的干预方法,干预结束后取材。检测方法:Basso-Beattie-Bresnahan(BBB)的行为学评分,酶联免疫吸附实验法(ELISA)测定脊髓损伤组织血小板活化因子(PAF)含量,免疫印迹试验(Western Blot)法测定脊髓损伤组织 Caspase-9 表达。结果:BBB 评分:假手术组在各个时间点均高于其他组,激素组与电针 1 组评分相近,但高于电针 2 组和模型组,电针 2 组高于模型组。PAF 含量测定结果:假手术组的 PAF 含量低于其他组,电针 1 组低于激素组、电针 2 组和模型组,激素组低于电针 2 组及模型组,电针 2 组低于模型组。Caspase-9 表达结果:假手术组的 PAF 含量低于其他组,电针 1 组低于激素组、电针 2 组和模型组,激素组低于电针 2 组及模型组,电针 2 组低于模型组。结论:在脊髓减压的基础上,能够使电流通过损伤组织的督脉穴位组合电针治疗急性上颈髓损伤较未能使电流通过损伤组织的督脉穴位组合电针和单纯脊髓减压效果更佳,其作用机制可能与抑制细胞凋亡和改善脊髓损伤部位微环境有关。

[关键词] 上颈髓损伤;督脉电针;脊髓减压;血小板活化因子;细胞凋亡

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2019)06-0001-05

Effects of Different Du Meridian Electro-acupuncture Combinations for Rat with Acute Severe Upper Cervical Spinal Cord Compression Injury

YI Ping¹ WANG Yanlei¹ TAN Mingsheng^{1,2△} QI Yingna³
YANG Feng¹ TANG Xiangsheng¹ WU Xinjie^{1,2}

¹Department of Spine Surgery, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China;

²Postgraduate School, Peking Union Medical College, Beijing 100005, China;

³Beijing Chinese Medicine Hospital, Beijing 100010, China.

Abstract Objective: To verify the treatment effect that different Du meridian electro-acupuncture combinations for rat with acute severe upper cervical spinal cord compression injury. **Methods:** All the rats were divided into five groups randomly: sham, methylprednisolone(MP), EA-1, EA-2, DE, 6 each group. Giving them different interventions and obtaining experimental materials after interventions. Methods used: BBB score to evaluate the change of each group hind limbs motor function. The ELISA method to assess the change of the content of platelet activating factor(PAF) in injured spinal cord tissue. Western Blot method to assess the Caspase-9 expression for each group. **Results:** BBB score: score of the sham groups were higher than the other groups, score of the MP group and EA-1 group was similar and higher than the EA-2 and DE group, score of the EA-2 group was higher than the DE group. The content of PAF, the PAF contents of all the groups were sorted from low to high, that is, the sham group, the EA-1 group, the MP group, the EA-2 group, the DE

group. The caspase-9 expression: the caspase-9 expression of all the groups were sorted from low to high, that is, the sham group, the EA-1 group, the MP group, the EA-2 group, the DE group. **Conclusion:** Governor vessel electro-acupuncture which got the electricity through the damaged tissue on acute severe upper cervical spinal cord compression injury had a better effect than that which did not get the electricity through the damaged tissue and decompression only.

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81873141)

北京市科委首都临床特色课题(Z161100000516009)

¹中日友好医院骨科二部(北京, 100029)

²北京协和医学院研究生院

³北京中医医院

△通信作者 E-mail: zrtanms@sina.com

移平与王延雷对本文贡献一致,并列第一作者

Keywords: upper cervical spinal cord injuries; decompression; governor vessel electro-acupuncture; platelet-activating factor; apoptosis

急性脊髓损伤的治疗基石是手术脊髓减压^[1],中医学认为脊髓及脊髓损伤与督脉的关系密切^[2],在中医的相关治疗方法中,督脉电针在治疗脊髓损伤方面已从临床和基础实验角度均被证实具有确切的治疗效果^[3,4]。但在脊髓损伤电针治疗取穴原则上学界并没有形成较为统一的标准,各医家多为经验取穴^[5,6],所以对督脉取穴的一些原则的相关问题是值得探讨的。本课题组针对脊髓损伤提出了中西医结合“脊髓减压,从督论治”治疗重度脊髓损伤的理论^[7],并进行了相关基础研究,认为晚期(48 h)脊髓减压联合督脉电针在治疗急性上颈段重度脊髓压迫损伤时可以取得较为可靠的疗效^[8,9]。本研究就是在晚期(48 h)脊髓减压联合督脉电针治疗急性上颈段重度脊髓压迫损伤的背景下,继续探究在督脉不同位置取穴进行电针刺激治疗效果的差异,为临床应用提供参考依据。

1 材料和方法

1.1 动物与分组

Wistar 雌性大鼠 30 只,SPF 级,体质量(270 ± 30)g,6 个月龄,购于军事医学科学院实验动物中心,许可证号 SCXK-(军)2017-0004,单只单笼饲养于中日友好医院动物房,温度(22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,大鼠饮食饮水自理,将 30 只大鼠随机分成假手术组、激素组、电针 1 组、电针 2 组、模型组,每组 6 只。本实验已通过中日友好医院实验动物伦理委员会批准。

1.2 主要实验试剂

戊巴比妥钠(美国 Sigma 公司),注射用甲泼尼龙琥珀酸钠(美国辉瑞公司),Rat PAF ELISA 试剂盒(中国 Cusabio 公司),山羊抗兔 IgG(H+L)HRP(美国 CWBIO 公司),山羊抗小鼠 IgG(H+L)HRP(美国 CWBIO 公司), β -actin 鼠单抗(美国 Immunoway 公司),GAPDH 鼠单抗(美国 Immunoway 公司),Caspase-9 Antibody 兔单抗(美国 Proteintech 公司)。

1.3 主要实验仪器

球囊压迫系统:球囊导管(SPL25012X,美国 Medtronic 公司),Cougar XT 导丝(美国 Medtronic 公司),Everest 手推压力泵(美国 Medtronic 公司),韩氏电针仪(南京济生医疗科技有限公司,见图 1),华佗牌一次性针灸针($\Phi 0.30 \text{ mm} \times 13 \text{ mm}$,广州市穗鑫医疗器械有限公司),Fresco 低温高速离心机(中国 Thermo 公司),电泳仪(美国 Bio-Rad 公司),电动组织匀浆器(美国 Fluka 公司),MiniP-4 电泳槽(中国 Cavoy 公司),MultiSkan3 酶标仪(中国 Thermo 公司),酸度计 PH211(意大利 Hanna 公司)。

1.4 造模方法

全部大鼠麻醉后(2%戊巴比妥钠,用量 $2.5 \sim 2.8 \text{ mg/kg}$)取正常体位固定,在项部放置折叠好的纱布一块保证后枕颈部充分暴露,备皮、消毒,沿后正中线以枕外隆突为起点、 C_3 棘突为终点纵行切开,分别暴露大鼠皮肤和三层肌肉,小心分离右侧枕骨、寰椎、枢椎表面肌肉及其他软组织,显露右侧寰枕间隙和寰枢间隙后,使用神经剥离子及手术刀挑开寰枕后膜及寰、枢椎椎间韧带以保证两个间隙完全打开,注意此过程切勿伤及脊髓,在球囊导管头端插入连接着减少弧度的 $\Phi 5 \text{ mm} \times 12 \text{ mm}$ 缝合针的铜丝,将缝合针针尖向上经寰枕间隙穿入、经寰枢间隙穿出,最终引导球囊穿入寰枢间隙,穿出寰枕间隙,保证球囊的一段位于椎板和硬脊膜之间,伤口消毒缝合,将已经缠绕好的导管体外部分平铺在大鼠头部及背部,在保证一段球囊位于椎板和硬脊膜之间的情况下将体外部分固定在大鼠身上。完成造模 24 h 后,将激素组、电针 1 组、电针 2 组、模型组大鼠的球囊导管末端与 Everest 手推压力泵相连,推注生理盐水,待压力泵仪表显示加压至 600 kPa 时停止加压,压迫 48 h 之后抽成负压,将留在体外的导管部分解除固定,抽出留在体内的球囊导管,假手术组不再行加压处理。常规单只单笼饲养,实验过程中出现大鼠死亡则及时补充,保证每组 6 只。模型成功评价标准:鼠尾出现痉挛活动,肢体及躯体出现回缩扑动,单侧或双侧肢体出现瘫痪。

1.5 干预方法

假手术组、模型组不再进行处理,穴位选取依据实验动物针灸穴位图谱^[10]。百会穴:顶骨中央,针刺手法以向前或向后斜刺 2 mm 为宜。大椎穴: C_7 与 T_1 棘突之间,背部正中线上,针刺手法以直刺 5 mm 为宜。脊中穴: T_{11} 与 T_{12} 棘突之间,背部正中线上,针刺手法以直刺 4 mm 为宜。电针 1 组完成减压后立即进行电针治疗,选取百会穴与大椎穴,连接韩式电针仪,采用连续波,调整频率为 2 Hz,治疗强度保证大鼠头部出现轻微颤动,每日治疗 1 次,治疗时间为 15 min,连续治疗 14 d,见图 2。电针 2 组在完成减压后立即进行电针治疗,选取大椎穴、脊中穴,连接韩式电针仪,采用连续波,调整频率为 2 Hz,治疗强度保证大鼠头部出现轻微颤动,每日治疗 1 次,治疗时间为 15 min,连续治疗 14 d,见图 3。激素组在完成减压后立即经尾静脉注射进行甲强龙冲击治疗,冲击疗法如下:首次剂量按 30 mg/kg 为准,之后以每 4 h $5.4 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{h})$ 的剂量给药,持续给药 24 h。



图 1 韩式电针仪



图 2 电针 1 组针刺实物图



图 3 电针 2 组针刺实物图

1.6 观察指标及检测方法

1.6.1 BBB 评分法检测行为学 让两名不参与此实验研究但对评分法相当熟悉的观察者单独完成 BBB 评分,取两人的平均分作为 BBB 最终得分,选择观察的时间点包括 5 个,即脊髓减压后 0 h,电针组干预的 24 h,3 d,7 d 和 14 d.

1.6.2 ELISA 法损伤组织 PAF 含量测定 对脊髓损伤组织进行剪切、研磨、匀浆,根据 ELISA 试剂盒说明书上规定的步骤逐步操作,最终完成损伤组织 PAF 含量的测定。

1.6.3 Western Blot 法损伤组织 Caspase9 表达测定 将脊髓损伤组织裂解、匀浆,抽提蛋白、BCA 法定量蛋白、调整蛋白浓度、目的蛋白 WB 正式实验(电泳、转膜、封闭、一抗孵育,洗膜,二抗孵育、洗膜、曝光、显影,定影),内参 β -actin 正式实验(洗膜、封闭、孵育内参、洗膜、二抗孵育、洗膜、曝光、显影,定影),采用图像处理软件对目的条带进行分析。

1.7 统计学方法

借助 SPSS 20.0 统计学软件对数据进行分析,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各时间点 BBB 评分采用重复测量数据的方差分析,其余计量资料采用单因素方差分析,两两比较时采用方差分析 LSD 检验, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BBB 评分

假手术组始终维持在 (21.00 ± 0.00) 分,完成造模后其余 4 组评分显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),在减压 0 h 时评分相似,差异无统计学意义($P > 0.05$);电针 1 组、激素组其余各时间点的评分差异无统计学意义($P > 0.05$),电针 2 组在其余各时间点评分比电针 1 组和激素组低,差异有统计学意义($P < 0.05$),但比模型组高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。模型组在其余时间点评分比任何一组都要低,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1 5 组大鼠在各时间点 BBB 评分比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数/只	减压 0 h	干预 24 h	干预 3 d	干预 7 d	干预 14 d
假手术组	6	21.00 \pm 0.00	21.00 \pm 0.00	21.00 \pm 0.00	21.00 \pm 0.00	21.00 \pm 0.00
电针 1 组	6	1.50 \pm 0.20	3.33 \pm 0.41	6.58 \pm 0.38	16.67 \pm 0.61	17.17 \pm 0.93
电针 2 组	6	1.33 \pm 0.12	2.52 \pm 0.55	5.67 \pm 0.67	12.85 \pm 0.74	15.68 \pm 0.88
激素组	6	1.20 \pm 0.25	3.00 \pm 0.45	6.17 \pm 0.41	16.25 \pm 0.27	17.33 \pm 0.41
模型组	6	1.22 \pm 0.30	1.50 \pm 0.32	4.25 \pm 0.27	9.00 \pm 0.55	11.92 \pm 0.58
F		15 226.67	2 624.84	1 156.37	558.62	100.91
P		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

2.2 ELISA 法测定损伤组织中 PAF 含量

结果显示:模型组损伤组织 PAF 含量较其余四组高,差异有统计学意义($P < 0.05$);电针 2 组、激素组含量较电针 1 组、假手术组高,差异有统计学意义($P < 0.05$);电针 1 组含量较假手术组高,差异有统计学意义($P < 0.05$);电针 2 组与激素组含量相近,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

2.3 Western Blot 检测 Caspase9 表达

模型组脊髓损伤组织中 Caspase9 表达较其余四组高,差异有统计学意义($P < 0.05$);电针 2 组、激素组表达较电针 1 组、假手术组高,差异有统计学意义($P < 0.05$);电针 1 组表达较假手术组高,差异有统计

学意义($P < 0.05$);电针 2 组与激素组表达相近,差异无统计学意义($P > 0.05$),见图 4 及表 3。

表 2 实验组干预 14 d 后各组脊髓组织 PAF 含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数/只	组织 PAF
假手术组	6	42.02 \pm 2.44
电针 1 组	6	45.79 \pm 1.20
电针 2 组	6	49.25 \pm 2.33
激素组	6	50.57 \pm 2.08
模型组	6	63.01 \pm 2.65
F		115.21
P		<0.01

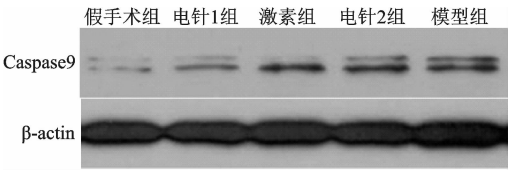


图 4 各组 Caspase9 表达示意图

表 3 干预 14 d 后各组大鼠损伤脊髓

部位 Caspase9 表达的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数/只	Caspase9 表达
假手术组	6	0.056±0.002 8
电针 1 组	6	0.118±0.004 7
电针 2 组	6	0.254±0.005 1
激素组	6	0.262±0.006 5
模型组	6	0.366±0.008 0
F		3 855.845
P		<0.01

3 讨论

在当代中医看来,脊髓损伤与督脉受损关系密切,而且其病理基础为“督脉瘀阻”^[11]。本课题组结合脊髓损伤病人经过手术治疗前后的症状表现,直观认为手术治疗与脊髓损伤中的督脉瘀阻是有密切关联的^[12]。后续研究发现手术治疗联合中药或电针在治疗脊髓损伤的效果上较单纯手术治疗更好。本课题组在总结前人和同行成果及个人临床经验的前提下,提出了“脊髓减压,从督论治”脊髓损伤的观点。

从前期的基础研究成果来看,晚期(>24 h)脊髓减压联合督脉电针的治疗效果较单纯晚期脊髓减压效果更佳^[8,9]。督脉电针的取穴位置是进一步加强“脊髓减压,从督论治”脊髓损伤治疗效果不可忽视的问题。临床上,许多医家在治疗脊髓损伤患者时多取损伤部位以上和以下的督脉穴位进行针刺或电针治疗,如王文春等^[13]利用截瘫三联针治疗脊髓损伤患者,取督脉穴位时即同时取损伤平面以上和以下的穴位,并取得了远优于对照组的治疗效果。在基础研究方面,多数相关研究集中在损伤部位以上和以下进行督脉取穴后加入其他部位取穴与单独损伤部位以上或以下部位进行督脉取穴作对比。如杨扬等^[14]在进行大鼠 T₉ 部位脊髓损伤造模后对单独脊中(T₇~T₈)、至阳(T₁₁~T₁₂)取穴与上述两穴再联合腰腧和长强取穴进行电针治疗效果的对比。也有全部在损伤部位以上和以下进行督脉取穴但是取穴位置不同的研究,如王晶等在造成大鼠 T₁₁~T₁₂ 急性脊髓损伤模型以后,分别选取靠近损伤部位上下两个督脉穴位和选取“大椎”“命门”穴进行电针刺激的两组进行对比。当前对于电针治疗脊髓损伤只选取损伤位置以上或以下的督脉穴位效果的基础相关研究较少,对于选择损伤部位以上和以下的督脉穴位和只选择损伤部位以上或以下的督脉穴位的疗效对比研究亦较少,本研究以此为切入点入手,进

行了进一步实验,以期丰富“脊髓减压,从督论治”治疗脊髓损伤的理论,并为临床上的电针治疗提供参考。

脊髓损伤后神经功能的恢复是评价治疗效果的一个重要指标,从宏观上反映了治疗效果的优劣,BBB 评分结果表明,电针 1 组和激素组的神经改善效果相近,优于电针 2 组,电针 2 组又优于单纯的脊髓减压组。说明联合治疗效果优于单纯减压组,这一结果与临床在电针治疗脊髓损伤时选择损伤组织以上和以下的督脉穴位结果一致。

电针具有抑制细胞凋亡和改善损伤组织周围微环境的作用^[15,16],在细胞凋亡中,半胱氨酸蛋白酶(Caspase)家族是重要凋亡途径-线粒体途径和死亡受体途径的重要调控物质^[17],其中 Caspase-9 已被证明是通道上游重要的启动因子^[18],Caspase-9 的表达程度可反映细胞凋亡水平的强弱,本实验中督脉电针 1 组 Caspase-9 的表达强度明显低于督脉电针 2 组,但均低于脊髓减压组,这表明督脉电针 1 组抑制细胞凋亡的水平更强。

血小板活化因子(PAF)已被证实是 SCI 后继发性损伤的重要病理因子,脊髓损伤后组织 PAF 含量会迅速升高,可引起微循环障碍、加重炎症反应、加重自由基反应等多条改变脊髓微环境的因素^[19-21],而且肖建如等^[22]认为在急性颈髓损伤后期(14 d)PAF 的含量变化可以提示预后的变化。在本实验中,督脉电针 1 组的血小板活化因子的组织含量低于电针 2 组,但高于脊髓减压组,这也证明电针 1 组在改善脊髓微环境方面优于电针 2 组。

电针技术是传统针刺手段结合现代科技发展而来,结合了针刺刺激和电刺激两种治疗手段。单纯针刺治疗脊髓损伤是传统中医的治疗手段,其中,百会、大椎、脊中等穴位在治疗脊髓损伤中均有涉及,其治疗效果较为确切^[14,23]。本研究结果也能说明不同位置督脉电针效果的不同与电流是否通过脊髓损伤组织有关,这与电刺激加强疏通督脉有关。

综上所述,急性脊髓损伤后在保证完成脊髓减压的前提下,选取脊髓损伤部位以上及以下的督脉穴位效果是优于选取单纯脊髓损伤部位以上或以下督脉穴位的,这与电流通过脊髓损伤部位加强疏通督脉的作用具有很大的相关性。目前对于电刺激作用于督脉的具体机理仍不明晰,希望随着科学技术的发展为笔者揭开这一谜底,相信在明晰电刺激治疗原理后对脊髓损伤治疗的帮助是极大的。

参考文献

[1] TER WENGEL P V,FELLER R E,STADHOUDER A,et al. Timing of surgery in traumatic spinal cord injury:a national,multidisciplinary survey[J]. European Spine Journal,

- 2018(5):1-8.
- [2] 胥林波. 督脉与脊髓的关系探析[J]. 现代中西医结合杂志, 2011, 20(30): 3844-3845.
- [3] 刘鹏民, 李灵玲, 王良, 等. 督脉电针结合游泳训练对大鼠全横断脊髓损伤后 GAP-43 和 Nogo-A 表达的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2016, 31(4): 399-404.
- [4] 任宏巍, 孟红梅. 中药与督脉电针联合高压氧治疗对脊柱骨折伴脊髓损伤患者的疗效分析[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(5): 618-620.
- [5] 许健鹏, 王明火, 刘学茹, 等. 以督脉电针为主治疗脊髓损伤 80 例的临床观察[J]. 针灸临床杂志, 1994(6): 13-15.
- [6] 李晓宁, 迟蕾. 夹脊配合督脉电针治疗脊髓损伤后功能障碍临床观察[J]. 上海针灸杂志, 2015, 34(10): 972-975.
- [7] 谭明生. “病证结合, 从督论治”颈脊髓损伤的思考[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2018, 26(2): 1-2.
- [8] 王延雷, 齐英娜, 谭明生, 等. 脊髓减压联合督脉电针对急性脊髓压迫损伤大鼠疗效影响的实验研究[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2018, 26(2): 3-7.
- [9] 谭明生, 王延雷, 齐英娜, 等. 脊髓减压联合电针对急性上颈段重度脊髓压迫损伤影响的实验研究[J]. 中国骨伤, 2018, 31(1): 67-73.
- [10] 郭义. 实验针灸学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2008: 414.
- [11] 王明新, 汪茜, 姚共和. 中医对脊髓损伤病机的认识[J]. 湖南中医药导报, 2004, 34(6): 7-11.
- [12] 谭明生, 李显, 张恩忠, 等. 寰枢椎脱位外科治疗与疏通督脉瘀阻相关性研究[J]. 中国骨伤, 2012, 25(11): 915-919.
- [13] 王文春, 张安仁, 庞日朝, 等. 截瘫三联针法对外伤性脊髓损伤患者感觉及运动功能的影响[J]. 四川中医, 2012, 30(5): 105-109.
- [14] 杨扬, 曾园山, 丁英, 等. 两种督脉电针对大鼠脊髓受损神经元存活的影响[J]. 解剖学研究, 2018, 40(1): 2-5.
- [15] 李长明, 谢尚举, 王拓, 等. 电针对大鼠急性脊髓损伤后神经细胞凋亡及相关功能的影响[J]. 中国骨伤, 2015, 28(8): 733-738.
- [16] 李波霖, 周宾宾, 金昕. 电针刺激不同穴位治疗脊髓损伤机制实验研究进展[J]. 针灸临床杂志, 2015, 31(5): 75-78.
- [17] PARK H H. Structural features of caspase-activating complexes[J]. Int J MolSci, 2012, 13(4): 4807-4818.
- [18] 岳原亦, 张扬, 张一奇, 等. Caspase 家族与细胞凋亡[J]. 中国医疗前沿, 2011, 6(6): 25-26.
- [19] SAHU R P, REZANIA S, OCANA J A, et al. Topical application of a platelet activating factor receptor agonist suppresses phorbol ester-induced acute and chronic inflammation and has cancer chemopreventive activity in mouse skin[J]. PloS One, 2014, 9(11): e111608.
- [20] FADEN A I, HALT P. Platelet activating factor reduces spinal cord blood flow and causes behavioral deficits after intrathecal administration in rats through a specific receptor mechanism[J]. J Pharmacol Exp Ther, 1992, 261(3): 1064-1070.
- [21] BREWER C, BONIN F, BULLOCK P, et al. Platelet activating factor induced apoptosis is inhibited by ectopic expression of the platelet activating factor G-protein coupled receptor[J]. J Neurochem, 2002, 82(6): 1502-1511.
- [22] 肖建如, 邵擎东, 胡业丰, 等. 颈髓损伤的患者血液脂质炎症介质的变化[J]. 第二军医大学学报, 1997, 18(6): 534-537.
- [23] 张丽, 林海燕, 屠文展, 等. 电针对慢性期脊髓损伤大鼠功能恢复及神经营养因子表达的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2014, 29(4): 311-315.

(收稿日期: 2019-01-10)