

基础研究

植入式膈神经刺激器在兔颈脊髓半切损伤模型的应用研究

姜树东^{1,2}, 洪毅^{1,2}, 张军卫^{1,2}, 周雅^{1,2}

(1 中国康复研究中心北京博爱医院脊柱脊髓外科 100068 北京市;2 首都医科大学康复医学院 100068 北京市)

【摘要】目的:应用兔 C3 脊髓半切损伤模型造成单侧膈肌瘫痪,观测植入式膈神经刺激器对膈肌功能恢复的有效性和组织相容性。**方法:**30 只新西兰大白兔随机分为对照组(A 组)和实验组(B 组),每组 15 只,建立兔 C3 脊髓半切损伤模型造成单侧膈肌瘫痪,并植入膈神经刺激器。B 组每日施加电刺激干预(每日 1 次,每次 8h),A 组不施加电刺激干预。两组分别于颈髓损伤前、术后 1、2、4 周行血气分析检测;术后 1、2、4 周对膈肌、膈神经进行形态学观察,并对膈肌肌纤维细胞横截面的面积进行统计学分析。**结果:**颈髓损伤术后 1 周,两组 PaO₂ 值都下降,PaCO₂ 都升高,但组间比较无统计学意义($P>0.05$);术后 2 周 A 组 PaO₂ 值开始回升,PaCO₂ 值无明显变化,B 组 PaO₂ 值继续降低,PaCO₂ 值继续增大,两组间比较存在统计学差异($P<0.05$);术后 4 周 B 组 PaO₂ 值明显升高(未恢复至正常水平),PaCO₂ 恢复至正常水平,与 A 组相比存在统计学差异($P<0.05$)。术后 1 周两组膈肌细胞横截面积无显著差异($P>0.05$),术后 2 周、4 周 A 组膈肌细胞横截面积均较 B 组组明显减小,与 B 组存在统计学差异($P<0.05$)。A 组 2 周时膈肌细胞肌束膜及肌内膜边界不清,4 周时局部肌细胞破坏;B 组 4 周时肌细胞肌束膜及肌内膜边界仍清晰。A 组术后 1 周时膈神经结构正常,2 周时可见髓鞘增生,鞘索比例增大,数目减少;4 周时可见髓鞘异常增生明显,神经间质水肿,微管微丝线粒体大量缺失。B 组膈神经始终为正常结构。**结论:**植入式膈神经刺激器能够促进颈髓损伤后新西兰大白兔膈肌呼吸功能的恢复,其机制可能与膈神经刺激能够延缓颈髓损伤后膈肌萎缩和膈神经变性有关。

【关键词】脊髓半切损伤;膈神经;膈神经刺激器;兔;膈肌

doi:10.3969/j.issn.1004-406X.2017.02.12

中图分类号:R683.2 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2017)-02-0175-06

Evaluation of implantable phrenic nerve stimulator in the rabbit cervical cord hemisection injury model/JIANG Shudong, HONG Yi, ZHANG Junwei, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2017, 27(2): 175–180

[Abstract] Objectives: To develop a tailored implantable phrenic nerve stimulator, and to evaluate the effectiveness and compatibility of stimulator in the setting of rabbit cervical spinal cord hemisection injury model. **Methods:** Thirty New Zealand white rabbits were randomly divided into control group(group A) and experimental group(group B), with 15 rabbits in each group. C3 spinal cord hemisection injury model was established, which resulted in ipsilateral diaphragm paralysis confirmed by MEP. Simulator was implanted into the posterior triangle of neck between both groups, then electrical stimulation was regularly applied to the phrenic nerve only in group B. Blood gas was analyzed before and after injury. Diaphragm and phrenic nerve were collected for morphological observation at 1, 2, 4 weeks after injury. **Results:** The value of PaO₂ got down and PaCO₂ went up one week after injury in both groups with no statistically difference ($P>0.05$). PaO₂ returned to the normal range and PaCO₂ slightly decreased from two to four weeks after injury in group B, while PaO₂ decreased and PaCO₂ increased continuously at the same time in group A. There was a significant difference between group A and B. The dimension of diaphragm muscle cells in group A was significantly

基金项目:首都卫生发展科研专项课题(编号:2011-6001-01)

第一作者简介:男(1975-),副主任医师,博士后,研究方向:脊柱脊髓损伤

电话:(010)87569067 E-mail:whyjsd@126.com

通讯作者:洪毅 E-mail:hongyihyy@163.com

less than that in group B at 2 and 4 weeks. The structures of phrenic nerve in group B were well preserved compared with group A. **Conclusions:** The customized implantable phrenic nerve stimulator can facilitate the improvement of respiratory dysfunction resulted from rabbits cervical cord hemisection injury, in the meanwhile better biological compatibility is observed. The potential mechanism of this benefit might be that electrical stimulation postpones or reverses the atrophy of diaphragm and degeneration of phrenic nerve as well.

[Key words] Hemisection spinal cord injury; Phrenic nerve; Phrenic nerve stimulator; Rabbit; Diaphragm

[Author's address] Department of Spine Surgery, China Rehabilitation Research Center, Beijing, 100068;
Faculty of Rehabilitation Medicine, Capital Medical University, Beijing, 100068, China

急性脊髓损伤后呼吸系统并发症的发生率为 36%~67%，是颈脊髓损伤患者早期死亡的首要原因^[1]。高位颈髓(C1~C3)损伤时，不仅肋间肌功能丧失，而且膈神经支配的膈肌功能也受损，多数患者在损伤后需要立即、永久的通气支持，以维持生命^[2,3]。长期机械通气的缺点较多，如院内感染、医疗护理花费较高、影响发音等。如何促进瘫痪的膈肌功能恢复，一直是临床和科研的难题。本实验应用免脊髓损伤模型，观察植入式膈神经刺激器能否对瘫痪的膈肌起到恢复作用，期望这项技术将来对颈髓损伤患者脱离呼吸机起辅助作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

新西兰大白兔 30 只，4~5 月龄，雌雄不限，体重 2.5~3.0kg，单笼饲养。由中国军事医学科学院实验动物中心提供。动物饲养及实验操作均在中国康复研究中心实验室完成。30 只兔随机分为对照组(A 组)和实验组(B 组)，每组 15 只，建立免颈脊髓半切损伤模型后均植入膈神经刺激器(中科院自动化所制作)。实验组每日施加电刺激干预，对照组不施加电刺激干预。两组按照观察时间的不同又随机分为颈髓损伤后 1、2、4 周三个亚组，每个亚组各 5 只。实验过程中死亡的白兔，按相等的数量和相同的实验方法补充。

1.2 颈髓半切损伤模型的制备及刺激器植人

新西兰大白兔购入后常规适应性饲养，观察健康状况及四肢活动无异常 3 天后待手术。术前禁食水，称体重并记录，3% 的戊巴比妥钠 30mg/kg 耳缘静脉注射麻醉。采用颈后路正中切口，以 C2 棘突作为定位标志，沿棘突做一个纵行切口，显露 C2~C4 的椎板和棘突，切除 C3~C4 椎板，纵向切开硬脊膜约 5mm，用锐利的虹膜刀片在 C3 水平沿脊髓后动脉左侧半横断脊髓，直至腹侧脊髓组织。术中运动诱发电位检测显示左侧膈肌 MEP 消

失，表明颈脊髓半切损伤模型成功。生理盐水冲洗伤口，彻底止血后予以逐层缝合肌肉、浅筋膜、皮肤。

脊髓半切模型制术后，在兔胸锁乳突肌下 1/3 与斜方肌的交界处，切开皮肤 3~4cm，肌肉用自动撑开器撑开，颈内静脉和胸锁乳突肌之间分离横行臂丛神经，其内侧即为向内下纵行的膈神经，暴露且用玻璃分针分离出左侧膈神经 2cm；将膈神经起搏器的刺激电极置于膈神经上，并用手术缝线将其固定，安放电极固定后，将导线经皮下隧道经颈部引出，接收-刺激器暴露于背部皮肤外。

1.3 术后膈神经刺激干预

手术后开始对实验组进行膈神经刺激干预。每次刺激时将外接电刺激器与固定在兔背部的刺激电极相连接，打开电源开关进行电刺激。刺激器采用双通道电池供能，刺激参数为：呼吸频率(RR)50 次/分，吸入/呼出次数比值(I:E)=1:2，脉冲间隔 40ms，脉宽 150μs，恒定脉冲幅度 0.75mA；每日 1 次，每次 8h，刺激时间在每日 8:00AM~4:00PM，并在兔清醒状态下进行。

1.4 检测内容及方法

1.4.1 血气分析及取材 在对照组脊髓损伤前、脊髓损伤后 1、2、4 周，实验组脊髓损伤前、刺激 1 周、2 周、4 周时，均于兔耳中央动脉抽取动脉血 1ml，充分摇匀，10min 内利用 ABL-80 血气分析仪(丹麦雷度公司)进行动脉血氧分压(PaO₂)、动脉二氧化碳分压(PaCO₂)的检测。随后用 3% 戊巴比妥钠 30mg/kg 耳缘静脉注射麻醉，用 4% 多聚甲醛经心脏灌注，灌注结束后取出左侧膈肌组织(1×1×3cm³)2 块，左侧颈部膈神经 10mm。

1.4.2 膈肌组织学观察及横截面面积测量 膈肌标本 4% 多聚甲醛固定后，常规石蜡包埋，4μm 切片。间隔切片常规用二甲苯脱蜡，经梯度乙醇脱水。置伊红液染色 2min。常规脱水，透明，封片，中

性树脂封固，行光镜观察。对 HE 染色切片采用 IMS 细胞图像分析系统进行图像分析，在 10 倍目镜下，每张切片随机选取 4 个视野中的 20 根肌纤维，输入图像，测量各组膈肌细胞横截面积。

1.4.3 膈神经扫描电镜组织学观察 膈神经标本均经过 0.9% 生理盐水充分清洁表面，行 2.5% 戊二醛固定 2 h 后，使用磷酸缓冲液清洗 3 次，每次 10 min；使用浓度分别为 50%、70%、80%、90% 和 100% 乙醇梯度脱水，每次 15 min；而后用 75% 和 100% 叔丁醇干燥 2 次，每次 15 min，置于冰箱冷冻 10 min，真空抽气 1 h；随后采用真空镀膜法和离子镀膜法镀膜，行扫描电镜观察照相。

1.5 统计学方法

分别记录对照组和实验组术前、术后 1 周、2 周、4 周的 PaO_2 值和 PaCO_2 值的均值以及膈肌细胞横截面面积用于统计分析。应用 SPSS 13.0 统计分析软件对术前、术后 PaO_2 值和 PaCO_2 值采用配对 t 检验，对组间（实验组和对照组）采用独立样本 t 检验，每组内各观察时间点间行 LSD 法两两比较。 $P<0.05$ 有统计学意义。

2 结果

术后 2 d 内免进食较少，之后正常进食。爬行时右侧前后肢活动正常，左侧肢体无活动迹象，有腹胀、尿潴留、大便硬结等大小便功能障碍表现。A 组和 B 组未刺激期间大白兔存在呼吸频率急促，胸廓活动幅度降低，鼻腔及口腔偶有黏液分泌等颈脊髓损伤呼吸功能障碍表现。5 只（A 组 3 只，B 组 2 只）新西兰大白兔在实验后 3~10 d 将膈神经刺激器破坏，未纳入数据统计中。共 13 只试验动物死亡（A 组 10 只，B 组 3 只），死亡原因为呼吸衰竭，肠梗阻和泌尿系感染。实验过程中死亡的新西兰大白兔，按相等的数量和相同的实验方法补充。实验后 1 周、2 周、4 周灌注后打开颈部电极置入部位可见部分瘢痕组织形成，无感染迹象。

对照组和实验组兔行颈髓半切损伤后，使用神经电生理仪（Medelec Synergy；德国）进行运动诱发电位的检测，健侧波幅及潜伏期正常，脊髓半切侧显示为直线，即患侧膈肌 MEP 消失（图 1），表明颈髓半切损伤模型成功。

术前及术后不同时间点兔血气分析见表 1。术后 1 周时，实验组和对照组两组间 PaO_2 值及 PaCO_2 值没有显著性差异 ($P>0.05$)。术后 2 周和 4

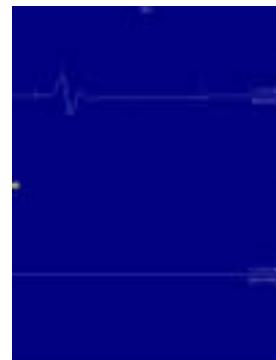


图 1 颈髓半切损伤成功后 MEP 表现，颈髓半切侧膈肌（图中下方 MEP）为直线，没有动作电位引出

Figure 1 MEP diagram on cervical spinal cord hemisection side (pictured below, is a straight line, there is no action potential leads) and contralateral side

表 1 对照组和实验组 PaO_2 值和 PaCO_2 值

($\bar{x}\pm s$, mmHg)

Table 1 PaO_2 and PaCO_2 value between experiment group and control group

	对照组($n=15$) Control group		实验组($n=15$) Experiment group	
	PaO_2	PaCO_2	PaO_2	PaCO_2
术前 Preoperation	93.22±1.11	36.95±1.39	92.82±1.95	37.82±1.95
术后(周) Postoperation(week)				
1	84.91±1.04	38.94±1.48	84.66±1.77	38.71±1.38
2	74.49±1.91	48.57±2.64	87.16±2.86	38.02±2.47
4	60.78±1.98	58.74±0.77	91.25±2.60	36.80±1.24

周时，实验组动物 PaO_2 值明显高于对照组 ($P<0.05$)； PaCO_2 值明显低于对照组 ($P<0.05$)。

术后 1、2、4 周时膈肌 HE 染色结果见图 2。采用 IMS 细胞图像分析系统进行图像分析，在 10 倍目镜下，每张切片随机选取 4 个视野中的 20 个肌纤维，输入图像，测量各组膈肌细胞横截面面积。颈脊髓损伤后 1 周两组膈肌细胞横截面积无显著差异 ($P>0.05$)，颈脊髓损伤后 2 周、4 周，对照组膈肌细胞横截面积明显小于实验组，存在统计学差异 ($P<0.05$ ，表 2)。

在扫描电镜 5000 倍条件下观察，1 周时两组都可见髓鞘无增生，轴索内可见微管微丝排列正常，线粒体均匀排列，结构正常。对照组 2 周时可见髓鞘增生，压迫轴索，甚至突出，鞘索比例增大，微管微丝排列紊乱，数目减少，线粒体部分缺失；4 周时可见髓鞘异常增生明显，偶见施旺细胞，神经间质水肿，微管微丝线粒体大量缺失（图 3）。实验

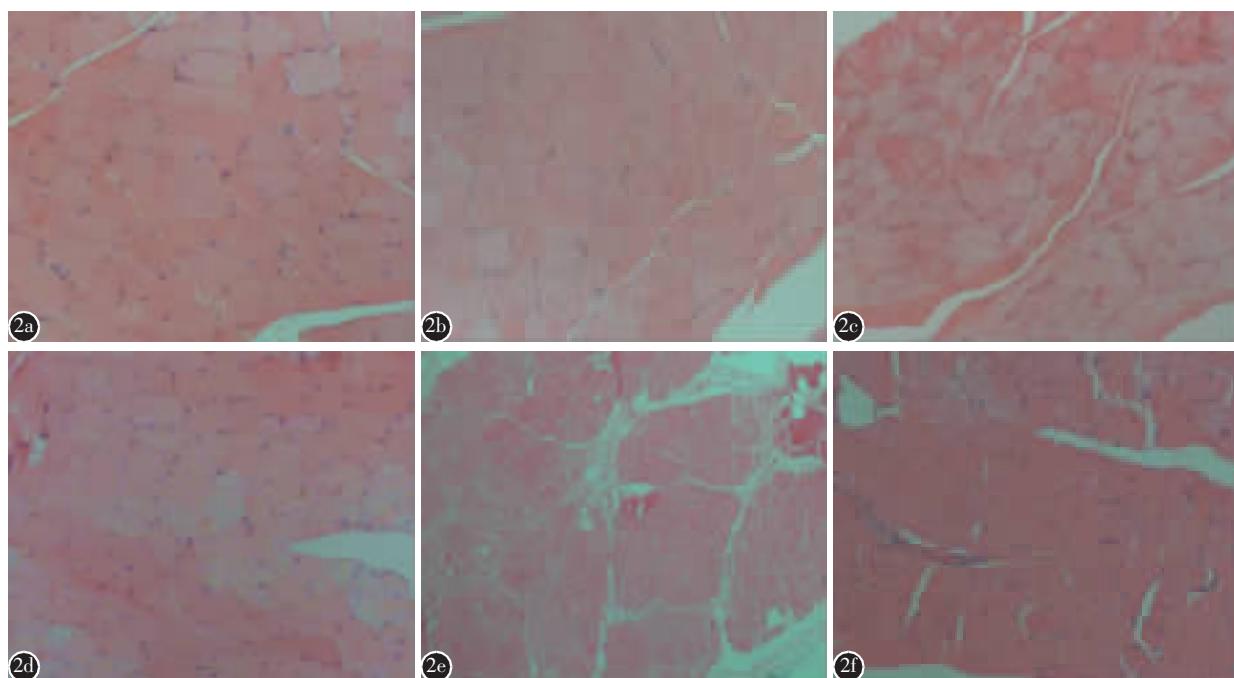


图2 两组新西兰大白兔膈肌光镜组织学观察结果(200×, 200μm) **a** 对照组术后1周时肌细胞肌束膜及肌内膜边界清晰, 肌纤维排列整齐, 肌细胞核为椭圆形, 位于肌膜下方 **b** 实验组术后1周时肌细胞肌束膜及肌内膜边界清晰, 肌纤维排列整齐, 肌细胞核为椭圆形, 肌细胞核位于肌膜下方, 与对照组相比无明显差异 **c** 对照组术后2周时肌细胞截面积缩小, 较实验组相比缩小明显, 肌细胞肌束膜及肌内膜边界欠清晰 **d** 实验组术后2周肌细胞截面积略有缩小, 肌细胞肌束膜及肌内膜边界清晰 **e** 对照组术后4周肌细胞截面积较对照组2周时缩小, 局部肌细胞破坏 **f** 实验组术后4周肌细胞截面积较实验组术后2周略有缩小, 肌细胞肌束膜及肌内膜边界仍清晰

Figure 2 Diaphragm microscopy demonstrations on different period of postoperation (200×, 200μm) **a** Control group at postoperative 1 week of muscle cells endomysium and perimysium boundary was clear, neat rows of muscle, muscle cell nucleus to elliptic, located in the muscle below the membrane **b** Experimental group at postoperative 1 week of muscle cells endomysium and perimysium boundary was clear, neat rows of muscle, muscle cell nucleus to elliptic, below the muscle cell nucleus was located in the muscle membrane, no obvious difference compared with control group **c** Control group at 2 weeks after muscle cross-sectional area, the experimental group compared to shrink significantly, muscle cells endomysium and perimysium border less clear **d** After two weeks of the experimental group myocyte cross-sectional area slightly narrowed, muscle cells endomysium and perimysium boundaries clear **e** Control group after 4 weeks myocyte cross-sectional area was reduced at 2 weeks, local muscle cell damage **f** Experimental group 4 weeks postoperatively muscle cells after two weeks of the experimental section of slightly narrowed, muscle cells endomysium and perimysium boundary was clear

表2 对照组和实验组膈肌细胞横截面积
(n=15, $\bar{x} \pm s$, μm)

Table 2 Cross-sectional area of diaphragm cell in experiment group and control group

	对照组 Control group	实验组 Experiment group
1周(1 week)	2128.54±14.19	2126.95±16.53
2周(2 weeks)	1832.52±24.98	2022.21±14.86 ^①
4周(4 weeks)	1467.84±16.42	1853.80±12.91 ^①

注:①与对照组比较 $P<0.05$

Note: ①Compared with control group, $P<0.05$

组2周可见髓鞘轴索,且髓鞘无增生,轴索内可见微管微丝排列正常,线粒体均匀排列,至4周时仍是正常结构。

3 讨论

通过电刺激治疗已经被证明对颈髓损伤后瘫痪膈肌的功能恢复有帮助,刺激的方法有膈肌电刺激、膈神经电刺激或者高频脊髓电刺激等^[6-8]。本实验应用刺激器进行直接膈神经电刺激,发现在颈髓损伤最初1周内膈神经刺激器的介入对呼

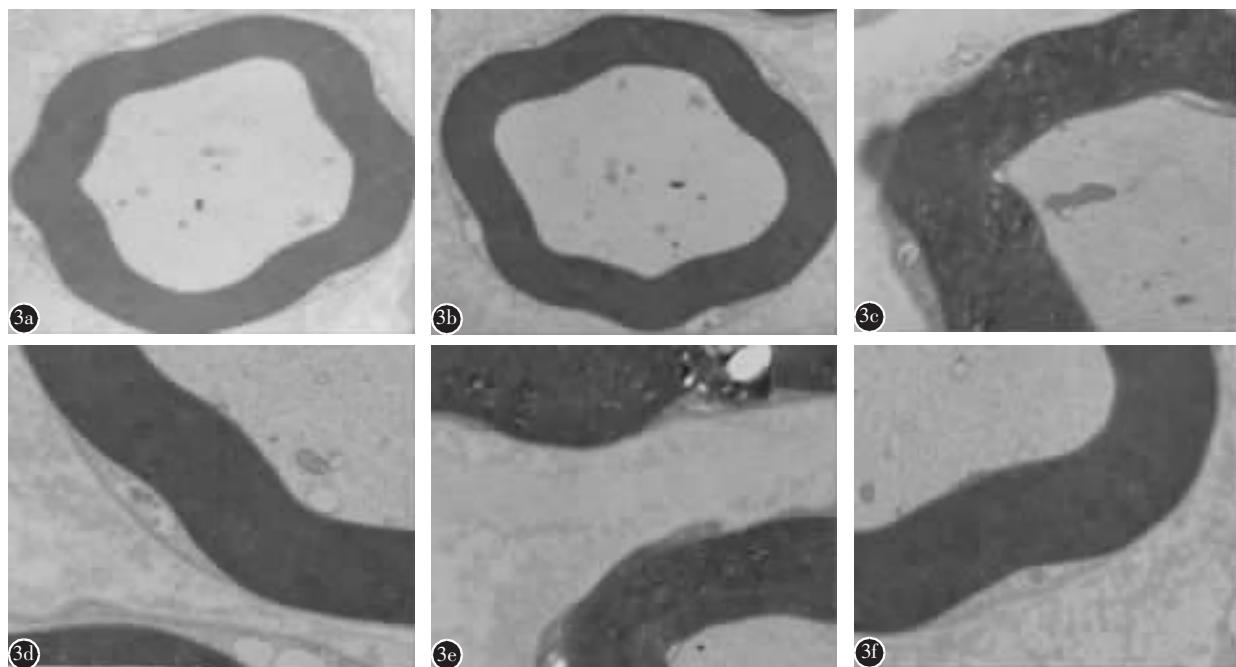


图 3 两组新西兰大白兔膈神经扫描电镜下观察结果 **a、b** 1 周时对照组和实验组: 在扫描电镜 5000 倍条件下, 两组髓鞘无增生, 轴索内可见微管微丝排列正常, 线粒体均匀排列, 结构正常 **c、d** 2 周时对照组和实验组: 7000 倍条件下, 对照组髓鞘增生, 压迫轴索, 鞘索比例增大, 微管微丝排列紊乱, 线粒体部分缺失; 实验组髓鞘轴索, 髓鞘无增生, 轴索内可见微管微丝排列正常 **e、f** 4 周时对照组和实验组: 7000 倍条件下, 对照组髓鞘异常增生明显, 神经间质水肿, 微管微丝线粒体大量缺失; 实验组髓鞘轴索无增生, 微管微丝排列正常, 线粒体均匀排列, 仍为正常结构

Figure 3 Pathologic observation of phrenic nerve under scanning electron microscope **a, b** At 1 week of the control group and experimental group: under the condition of the scanning electron microscopy (sem) 5000 times, the myelin sheath hyperplasia, the two groups could be seen in the axon microtubules arrange normal microfilament, mitochondria uniform arrangement, structure was normal **c, d** 2 weeks in the control group and experimental group: 7000 times, under the condition of the control group myelin hyperplasia, oppression axon, sheath line ratio increases, disordered arrangement of microtubules microfilament, loss of mitochondria; Experimental myelin axon and myelin sheath without hyperplasia, could be seen in the axon microtubules microfilament arranged properly **e, f** At 4 weeks in the control group and experimental group: 7000 times, under the condition of the control myelin abnormal growths, nerve interstitial edema, mitochondria microtubules microfilament numerous lack; Experimental myelin axon hyperplasia, arrange normal microtubules microfilament, mitochondria equally arranged, was still the normal structure

吸功能无明显效果, 但在伤后 2 周时对呼吸功能开始有改善作用, 在伤后 4 周时作用达到最大。膈神经刺激器可一定程度上增加膈肌活动, 改善通气功能, 提高 PaO_2 , 促进 CO_2 排除。

膈肌属于骨骼肌, 是最重要的呼吸肌, 是完成呼吸泵功能的主要动力来源, 膈肌收缩而增加的通气量占平静呼吸时通气量的 3/4~4/5^[9]。膈肌纤维主要由慢收缩氧化纤维(I型)、快收缩氧化酵解纤维(IIa型)及快收缩酵解纤维(IIb型)组成^[10]。颈脊髓损伤后, 膈肌因失去脊髓的神经支配而废用, 且没有神经营养作用而发生萎缩。研究表明, 长期功能性电刺激可以使膈肌的 II 型肌纤维

变成具有抗疲劳作用的 I 型肌纤维, 提高膈肌收缩能力, 使膈肌抗疲劳能力增强^[11]。Glenn 等^[12]曾报道, 经膈神经电刺激, 膈肌的快肌纤维(白肌)和慢肌纤维(红肌)将发生变化, 而且增加膈肌的血供和能量, 提高膈肌的肌力, 延缓膈肌萎缩, 进一步改善脊髓损伤后呼吸功能。

本研究表明, 经膈神经电刺激后膈肌肌细胞萎缩程度明显降低, 膈肌结构无明显破坏。可见膈神经刺激器对膈神经电刺激能够延缓颈髓损伤后失神经支配的膈肌萎缩, 可稳定膈肌细胞结构, 有助于颈脊髓损伤后膈肌功能的恢复。

颈髓膈神经元受损后, 通常膈神经发生

Wallerian 变性, 导致功能丧失。Sunderland 等^[13]报道失神经支配的肌肉进行性萎缩的程度在早期达到高峰, 然后会逐渐减慢。本研究电镜观察到了对照组膈神经变性改变, 实验组膈神经刺激对膈神经没有损害, 且可逆转颈髓损伤后膈神经变性, 为将来膈肌功能恢复奠定了基础。

高位颈脊髓损伤损伤后存在膈神经功能自发性恢复现象^[14], 其机制是由于膈神经存在交叉支配现象。本研究没有除外或证实单侧颈脊髓半切后的膈神经功能自发恢复现象, 但也不能排除电刺激会促进膈神经的自发恢复, 从而改善呼吸功能。

总之, 植入式膈神经刺激器能够促进颈髓损伤后新西兰大白兔膈肌呼吸功能的恢复, 其机制可能是膈神经刺激能够延缓颈髓损伤后膈肌萎缩和膈神经变性。实验为观察植入式膈神经电刺激器疗效的初步实验, 其长期作用需进一步研究。

4 参考文献

- 朱巍, 贾连顺, 邵将. 颈脊髓损伤致早期死亡的相关研究[J]. 中华创伤骨科杂志, 2007, 9(2): 139-142.
- Tedde ML, Vasconcelos Filho P, Hajjar LA, et al. Diaphragmatic pacing stimulation in spinal cord injury: anesthetic and perioperative management[J]. Clinics(Sao Paulo), 2012, 67(11): 1265-1269.
- 李昕, 温峻翔, 李立钧, 等. 高位颈髓完全性损伤后重建呼吸功能的初步实验研究[J]. 中国骨与关节损伤杂志, 2010, 9(25): 797-799.
- Wolfe LF. Point: Should phrenic nerve stimulation be the treatment of choice for spinal cord injury? Yes [J]. Chest, 2013, 143(5): 1201-1203.
- Assouad J, Masmoudi H, Steltzlen C, et al. Minimally invasive trans-mediastinal endoscopic approach to insert phrenic stimulation electrodes in the human diaphragm: a preliminary description in cadavers[J]. Eur J Cradiothorac Surg, 2011, 40(4): e142-e145.
- Krzysztof EK, Yee-Hsee H, Thomas E, et al. Diaphragm activation via high frequency spinal cord stimulation in a rodent model of spinal cord injury[J]. Experimental Neurology, 247(2013): 689-693.
- Garrido H, Mazaira J, Gutierrez P, et al. Permanent artificial respiration by diaphragm pacemaker in tetraplegic children[J]. Paraplegia, 1986, 24(5): 276-281.
- Mayr W, Bijak M, Girsch W, et al. Multichannel stimulation of phrenic nerves by epineurial electrodes[J]. ASAIO J, 1993, 39(3): M729-735.
- Hirschfeld S, Vieweg H, Schulz AP, et al. Threshold currents of platinum electrodes used for functional electrical stimulation of the phrenic nerves for treatment of central apnea [J]. Pacing Clin Electrophysiol, 2013, 36(6): 714-718.
- Jamaoki J. Effects of elastase-induced emphysema on histochemical properties of guinea pig diaphragm[J]. Respiration, 1988, 54(1): 16-23.
- Vodovnik L. Therapeutic effects of functional electrical stimulation of extremities[J]. Med Biol Eng Comput, 1981, 19(4): 470-478.
- Glenn WW, Hogan JF, Phelps ML. Ventilatory support of the quadriplegic patient with respiratory paralysis by diaphragm pacing[J]. Surg Clin North Am, 1980, 60(5): 1055-1080.
- Schmalbruch H, al-Amood WS, Lewis DM. Morphology of long-term denervated rat soleus muscle and the effect of chronic electrical stimulation[J]. J Physiology, 1991, 441: 233-241.
- 姜树东, 洪毅, 张军卫, 等. 脊髓损伤后恢复瘫痪膈肌功能的治疗方法及效果[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2012, 22(3): 287-288.

(收稿日期:2016-11-28 修回日期:2017-01-20)

(英文编审 蒋 欣/贾丹彤)

(本文编辑 彭向峰)