

·药效与毒理学研究·

金福安汤对小鼠 Lewis 肺癌生长的抑制作用及其分子机制的研究

曹 洋¹, 林洁衡¹, 任明能¹, 谢宇晖¹, 吴玉生¹, 李丹青¹, 周健洪², 陈文华² (1. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学基础医学院, 广东 广州 510006)

摘要: **目的** 观察金福安汤对小鼠 Lewis 肺癌生长的抑制作用及其相关的分子机制。**方法** 将 50 只 Lewis 肺癌荷瘤小鼠分为金福安汤高、中、低剂量组, 环磷酰胺(CTX)组, 模型组; 给药结束后计算各组小鼠平均瘤体质量、抑瘤率、肺表面转移灶及抗转移率; 采用免疫组化法检测各组 Lewis 肺癌小鼠的 p120ctn 表达以及 RhoA、Cdc42 表达。**结果** 与模型组比较, 金福安汤中剂量组及 CTX 组的瘤体质量明显减轻($P < 0.05$); 金福安汤中、高剂量组及 CTX 组小鼠的肺转移灶数明显减少($P < 0.01$, $P < 0.05$); 金福安汤中剂量组及 CTX 组的 p120ctn 异常表达细胞数明显减少($P < 0.01$, $P < 0.05$); 金福安汤中剂量组和 CTX 组的 RhoA、Cdc42 的异常表达细胞数均明显减少($P < 0.01$)。**结论** 金福安汤具有抑制小鼠 Lewis 肺癌生长及转移的作用, 其机理可能与抑制 p120ctn 的异常表达, 进而抑制 RhoA 和 Cdc42 的异常表达相关。

关键词: 金福安汤; 肺癌; p120ctn; RhoA; Cdc42

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)04-0329-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.04.001

Inhibitory Effect of *Jinfuan* Decoction on Mice Lewis Lung Cancer and Its Molecular Mechanism

CAO Yang¹, LIN Jieheng¹, REN Mingneng¹, XIE Yuhui¹, WU Yusheng¹, LI Danqing¹, ZHOU Jianhong², CHEN Wenhua² (1. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China; 2. The Preclinical Medicine School of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To observe the inhibitory effect of *Jinfuan* decoction on Lewis lung cancer in mice and to explore its molecular mechanism. **Methods** Fifty mice transplanted with Lewis lung cancer were randomly divided into model control group, Cytosan(CTX) group, and high-dose, middle-dose and low-dose *Jinfuan* Decoction groups. The average tumor mass weight, tumor-inhibitory rate, pulmonary metastasis foci, and anti-metastasis rate were calculated in each group. The expression levels of p120ctn, RhoA and Cdc42 were examined by immunohistochemical method. **Results** The tumor mass weight was statistically lighter in CTX group and middle-dose *Jinfuan* Decoction group than that in the model control group($P < 0.05$). The number of pulmonary metastasis foci and cells with abnormal expression of p120ctn were statistically less in CTX group and middle-dose *Jinfuan* Decoction groups than those in the model control group ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). And the abnormal expression RhoA and Cdc42 was also statistically decreased in middle-dose *Jinfuan* Decoction group ($P < 0.01$). **Conclusion** *Jinfuan* Decoction has inhibitory effect on the growth and metastasis of Lewis lung cancer in mice, and its therapeutic mechanism is probably related with the inhibition of abnormal expression of p120ctn, RhoA and Cdc42 in mice.

Keywords: *Jinfuan* decoction; lung cancer; p120ctn; RhoA; Cdc42

收稿日期: 2013-03-06

作者简介: 曹洋, 男, 博士, 副主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 恶性肿瘤的中西医结合治疗。Email: doctorcaoyang@yahoo.com.cn。

基金项目: 国家自然科学基金(30901903)。

金福安汤是全国名老中医邓铁涛教授治疗肺癌的经验方,具有化痰祛瘀的功效。临床研究证实^[1]金福安汤有较好的防治肺癌转移,延缓肺癌发展的作用,并能改善患者血液流变学状态。前期研究发现金福安汤具有抑制 A549 细胞增殖的作用;对 A549 细胞 p120ctn 磷酸化的抑制作用可能是干预 A549 细胞生物学行为^[2]。本研究探讨金福安汤对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤组织 p120ctn 表达的影响以及 RhoA、Cdc42 表达的关系,从连环蛋白的角度进一步揭示金福安汤抑制肺癌转移的机制。

1 材料与方法

1.1 动物及细胞 C57BL/6J 小鼠 50 只,雌雄各半,体质量 18~22 g, SPF 级,由广东省医学实验动物中心提供,合格证号:0079057。小鼠 Lewis 肺癌细胞株由中国医科大学肿瘤研究所提供,广州中医药大学第一附属医院中医肿瘤研究所长期移植传代。

1.2 药物 金福安汤,由生南星(先煎 30 min)10 g、生半夏(先煎 30 min)10 g、浙贝母 15 g、苇茎 30 g、生苡仁 30 g、太子参 30 g、守宫 5 g、山慈菇 10 g、丹参 15 g、桃仁 10 g 组成,饮片购自广州中医药大学第一附属医院,常规煎煮 2 次,合并药液,过滤,恒温水浴浓缩至 8.580 g·mL⁻¹,4℃冰箱中贮存备用;环磷酰胺注射液(CTX),江苏恒瑞医药股份有限公司,批号:10051725。

1.3 试剂及仪器 胎牛血清(FBS),天津灏洋生物制品厂,批号:20110526;RPMI MEDIUM1640 培养基(批号:8111149)、HBSS 缓冲液(批号:8111089),上海英骏生物技术有限公司;Purified Mouse Anti-p120 Catenin,美国 BD Transduction Laboratories;RhoA (119)(批号:sc-179)、Cdc42 (B-8)(批号:sc-8401),美国 SANTA CRUZ 公司;BB16UV 二氧化碳培养箱,德国 Heraeus 公司;XDS-1B 生物倒置显微镜,重庆光学仪器厂;TDL-4 离心机,上海安亭科学仪器厂;SW-CJ-1F 超净工作台,苏州净化设备厂;RM2245 轮转切片机,德国 LEICA 公司;SEX-1 手术显微镜,上海医疗器械股份有限公司;TS-1 脱色摇床,中国海门麒麟医学仪器厂;GB1124-89 电热水浴箱,北京医疗器械厂。

1.4 Lewis 肺癌荷瘤小鼠模型建立 将液氮冻存的小鼠 Lewis 肺癌细胞复苏后传代 3 次,接种。在无菌条件下剥离 Lewis 肺癌荷瘤鼠皮下瘤块,选取生长良好的瘤组织,剪碎、称重,用细胞匀浆器制成匀浆,按 1:3 加生理盐水制成瘤细胞混悬液,接种于

C57BL/6J 小鼠右前肢腋窝皮下,每只 0.2 mL(约 $1 \times 10^6 \sim 2 \times 10^6$ 瘤细胞)^[3]。

1.5 分组及给药 小鼠接种 24 h 后随机分为金福安汤低、中、高剂量组,阳性对照组(CTX 组),模型组,每组 10 只。金福安汤低、中、高剂量分别灌胃给予金福安汤 21.45, 85.80, 171.60 g·kg⁻¹,为临床等效剂量的 1, 4, 8 倍。阳性对照组给予 CTX 0.02 g·kg⁻¹,腹腔注射。模型组给予等量生理盐水,灌胃给药。每天 1 次,给药 14 d。

1.6 观察指标及方法

1.6.1 小鼠生活状态观察 观察小鼠实验过程中饮食、毛发、活动、精神状态。

1.6.2 抑瘤率 末次给药后 24 h, Lewis 荷瘤小鼠颈椎脱臼处死,用眼科剪分离剥取肿瘤,电子天平称质量,计算各组小鼠平均瘤体质量及抑瘤率。

抑瘤率 = (模型组瘤体质量 - 给药组瘤体质量) / 模型组瘤体质量 × 100 %。

1.6.3 对 Lewis 肺癌转移灶的影响 处死小鼠后取肺脏经气管注入 Bouin,使肺充盈,然后固定于 Bouin 液中,24 h 后显微镜下计算肺表面转移灶及抗转移率。抗转移率 = (模型组肺转移灶数 - 给药组肺转移灶数) / 模型组肺转移灶数 × 100 %。

1.6.4 p120ctn、RhoA、Cdc42 表达的检测 将标本常规石蜡包埋、4 μm 连续切片,经脱蜡、脱苯、水化后,采用免疫组化二步法检测方法检测 p120ctn、RhoA、Cdc42 的表达。石蜡切片,常规脱蜡至水。用 3 %过氧化氢孵育后,采用微波炉抗原修复法进行抗原修复。滴加一抗,稀释浓度为 1:100 的 p120ctn、RhoA 和 Cdc42, PBS 冲洗后滴加相应的检测试剂(PV-6001、PV-6002 及 PV-6003)。用 DAB 显色剂显色后封片,将玻片置于显微镜下观察 p120ctn、RhoA 和 Cdc42 的染色情况。以肿瘤周围正常组织细胞染色及已知阳性组织为阳性对照, PBS 缓冲液代替一抗为阴性对照。

参考文献^[4]方法将 p120ctn 正常肺组织的表达定位于细胞膜,表现为膜着色清楚、连续;膜表达下降表现为膜着色淡且不连续;而胞浆出现棕褐色颗粒为异位表达;异位表达和膜表达下降统归为异常表达。同时根据 RhoA 和 Cdc42 的染色情况,把两者胞浆无染色或轻度染色定义为正常表达,将胞浆出现明显棕褐色染色定义为异常表达。每张切片随机选取 5 个高倍视野,每高倍视野计数 100 个瘤细胞,分别计算 3 个指标异常表达的肿瘤细胞数,即 500

瘤细胞中异常表达的肿瘤细胞个数。

1.7 统计学处理方法 采用 SPSS13.0 统计软件，等级资料比较用秩和检验，分类资料比较用 χ^2 检验，均数比较用 ANOVA(单因素方差分析)， $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般状况观察 金福安汤低、中、高剂量组在实验中均有 1 只小鼠死亡。实验结束后，各组别小鼠表现为身体瘦小，前肢活动明显受限，活动少，毛发缺少光泽；CTX 组少数小鼠于实验第 4 天起开始出现脱毛，大部分进食减少；金福安汤各剂量组及模型组小鼠基本无出现脱毛现象；金福安汤各剂量组小鼠活动力及进食优于 CTX 组及模型组。

2.2 金福安汤对 Lewis 肺癌小鼠抑瘤率的影响 金福安汤各剂量组、CTX 组的瘤体质量均轻于模型组，其中金福安汤中剂量组及 CTX 组与模型组比较差异有统计学意义($P<0.05$)，见表 1。

表 1 金福安汤对 Lewis 肺癌小鼠抑瘤率的影响($\bar{x}\pm s$)
Table 1 Effect of *Jinfuan* decoction on tumor-inhibitory rate of Lewis lung cancer mice

组别	<i>n</i>	剂量 / g·kg ⁻¹	瘤体质量 / g	抑瘤率 / %
模型组	10		2.950 ± 0.972	
CTX 组	10	0.02	1.670 ± 0.811*	43.39
金福安汤低剂量组	9	21.45	2.811 ± 0.872	4.94
金福安汤中剂量组	9	85.80	2.011 ± 0.643*	31.83
金福安汤高剂量组	9	171.60	2.811 ± 0.925	4.94

注：与模型组比较，* $P<0.05$ 。

2.3 金福安汤对肺肿瘤转移灶的影响 各组小鼠的肺组织内均可观察到一定数量的肿瘤转移病灶，金福安汤组中、高剂量组及 CTX 组小鼠的肺转移

灶数量明显少于模型组 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$)，见表 2。

表 2 金福安汤对 Lewis 肺癌小鼠肺肿瘤转移灶的影响($\bar{x}\pm s$)
Table 2 Effect of *Jinfuan* decoction on the numbers of metastases in Lewis lung cancer mice

组别	<i>n</i>	剂量 / g·kg ⁻¹	转移灶数量	抗转移率 / %
模型组	10		14.80 ± 3.43	
CTX 组	10	0.02	8.10 ± 3.67**	45.27
金福安汤低剂量组	9	21.45	13.67 ± 3.67	7.66
金福安汤中剂量组	9	85.80	8.11 ± 3.82**	45.20
金福安汤高剂量组	9	171.60	10.56 ± 3.61*	28.68

注：与模型组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ 。

2.4 金福安汤对 p120ctn、RhoA 和 Cdc42 异常表达的影响 金福安汤中剂量组及 CTX 组 p120ctn 异常表达细胞数均明显少于模型组($P<0.01$ 或 $P<0.05$)，见表 3、图 1。

表 3 金福安汤对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤组织 p120ctn 异常表达的影响($\bar{x}\pm s$)
Table 3 Effect of *Jinfuan* decoction on the the abnormal p120ctn expression in Lewis lung cancer mice

组别	<i>n</i>	剂量 / g·kg ⁻¹	异常表达细胞数
模型组	10		394.00 ± 80.728
CTX 组	10	0.02	312.86 ± 29.701*
金福安汤低剂量组	9	21.45	335.43 ± 59.941
金福安汤中剂量组	9	85.80	254.43 ± 55.716**
金福安汤高剂量组	9	171.60	357.86 ± 62.240

注：与模型组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ 。

金福安汤中剂量组、CTX 组 RhoA 及 Cdc42 异常表达细胞数均少于模型组 ($P<0.01$)，见表 4、图 2，表 5、图 3。

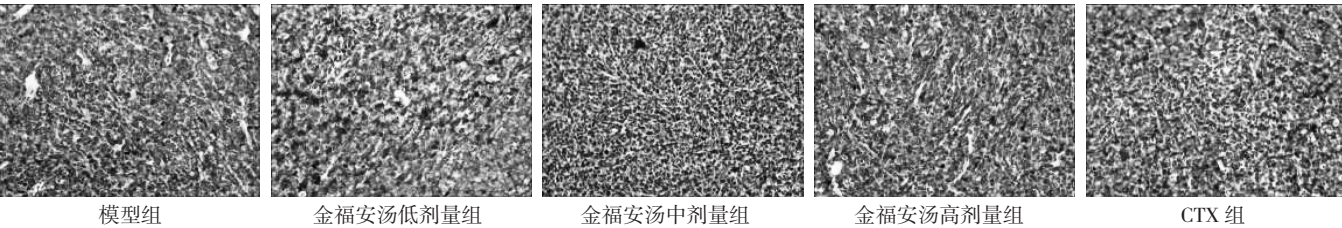


图 1 各组肿瘤细胞胞浆内 p120ctn 表达(免疫组化二步法 ×200 倍)

Figure 1 The expression of p120ctn in different groups (immunohistochemical staining Sp method ×200)

3 讨论

p120ctn 是近年来新发现的与肿瘤转移过程密切相关的连环蛋白^[5]。在越来越多的人类肿瘤中发现了 p120ctn 的改变或缺失，而且在许多病例中，p120ctn 的缺失可能是肿瘤进展的早期改变^[6-8]。p120ctn 可以

通过改变 Rho GTP 酶的状态进而调节细胞的黏附和肿瘤的转移，它是钙黏蛋白表达的感受器，是控制钙黏蛋白作用的可变电阻器和调定点。肿瘤发生转移的分子机制非常复杂，涉及胞内多条信号转导通路，Rho GTP 酶，尤其是 RhoA、Rac1 和 Cdc42 是

表 4 金福安汤对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤组织 RhoA 异常表达的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Effect of *Jinfuluan* decoction on the the abnormal RhoA expression in Lewis lung cancer mice

组别	<i>n</i>	剂量 / g·kg ⁻¹	异常表达细胞数
模型组	10		316.14 ± 96.510
CTX 组	10	0.02	175.00 ± 83.815**
金福安汤低剂量组	9	21.45	260.00 ± 60.828
金福安汤中剂量组	9	85.80	152.14 ± 86.499**
金福安汤高剂量组	9	171.60	243.57 ± 118.417

注：与模型组比较，***P* < 0.01。

表 5 金福安汤对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤组织 Cdc42 异常表达的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 5 Effect of *Jinfuluan* decoction on the the abnormal Cdc42 expression in Lewis lung cancer mice

组别	<i>n</i>	剂量 / g·kg ⁻¹	异常表达细胞数
模型组	10		306.43 ± 62.498
CTX 组	10	0.02	167.14 ± 97.888**
金福安汤低剂量组	9	21.45	252.86 ± 69.693
金福安汤中剂量组	9	85.80	157.14 ± 92.864**
金福安汤高剂量组	9	171.60	238.57 ± 90.264

注：与模型组比较，***P* < 0.01。

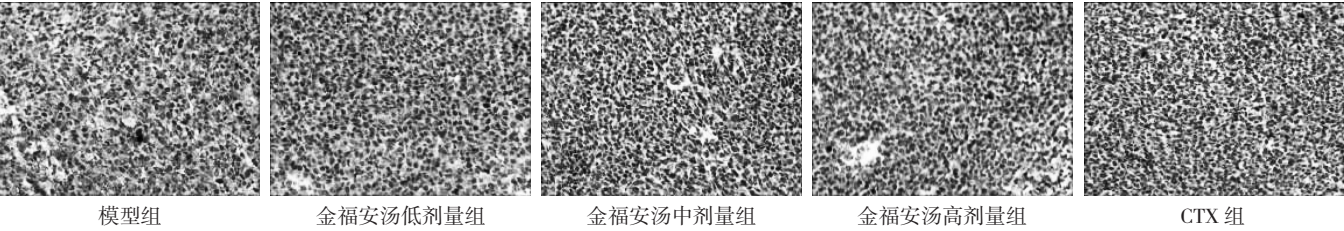


图 2 各组肿瘤细胞胞浆内 RhoA 表达(免疫组化二步法 × 200 倍)

Figure 2 The expression of RhoA in different groups(immunohistochemical staining Sp method × 200)

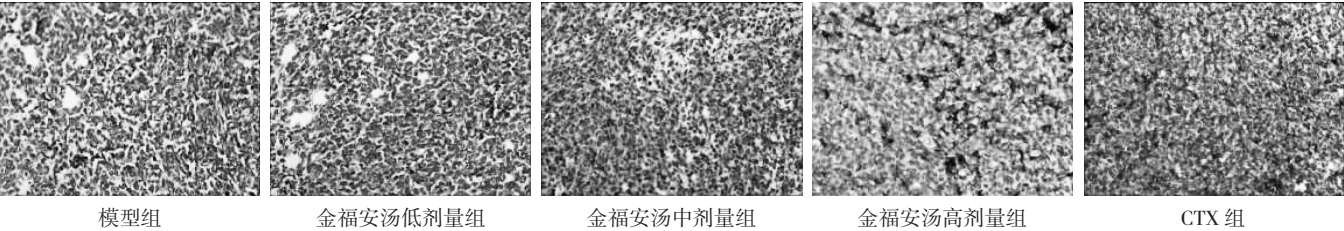


图 3 各组肿瘤细胞胞浆内 Cdc42 表达(免疫组化二步法 × 200 倍)

Figure 3 The expression of Cdc42 in different groups(immunohistochemical staining Sp method × 200)

其中非常关键的调控因子，与肿瘤的侵袭有密切关系^[9]。有多个研究^[10-12]报道 Rho GTP 酶在人类多种肿瘤中存在着过度表达的情况。

中医学认为痰瘀是与肿瘤侵袭和转移关系最为密切的病因病机^[13]，有报道^[14]对 120 例晚期非小细胞肺癌患者进行证候频次统计，从单证候出现的频率分析，痰证和血瘀证是晚期非小细胞肺癌最主要的邪实表现，分别达到 73 例（60.83 %）和 72 例（60.00 %）。活血化瘀类中药可改善患者微循环及高凝状态，从而达到抑瘤和抑制肿瘤转移的作用。化痰药物可以影响癌细胞表面细胞黏附因子的表达，从而抑制肿瘤的生长和侵袭转移^[15]。从痰瘀角度入手来研究肺癌转移具有较好的中医药理论基础、临床基础和实验基础^[16]。

金福安汤是全国名老中医邓铁涛教授治疗肺癌的经验方，方中南星、半夏燥湿化痰，消肿散结；桃仁活血化瘀，攻坚消积共为君药；苇茎甘寒轻浮，善清肺热；薏苡仁甘淡微寒，浙贝母苦寒，三药配

伍，能清肺化痰，解毒消肿散结；壁虎、山慈菇两药配伍南星、半夏加强化痰散结，解毒消肿之功，丹参配伍桃仁加强活血祛瘀攻积之功，上药共为臣药；太子参健脾益气养阴，使祛邪不伤正，为佐药。全方诸药合用，共奏化痰祛瘀、消肿散结之功效。临床研究^[17]证实金福安汤能够减少肺癌的转移，延缓肿瘤的发展进程，有较好的防治肺癌转移的作用，进一步研究发现金福安汤能够明显降低肺癌患者全血低切、高切黏度和血浆黏度，从而改变血液高黏状态，提示金福安汤有可能是通过改变肺癌患者异常的血液流变学从而达到抑制肿瘤转移的目的。作者前期研究显示^[2]，金福安汤具有较强的抑制人肺腺癌 A549 细胞增殖的作用，呈药物剂量相关性，金福安汤对 EGF 刺激引起的 p120ctn 酪氨酸磷酸化有一定的抑制作用，能有效地干预 p120ctn 磷酸化及 A549 细胞生物学行为。从金福安汤处理后细胞的黏附能力和迁移能力结果来看，抑制 p120ctn 酪氨酸磷酸化后有助于细胞聚集，在一定程度上抑制了迁移。本

研究发现中剂量金福安汤具有较强的抑瘤作用, 中剂量金福安汤均能够明显抑制 Lewis 肺癌小鼠的肺转移, 进一步研究提示中剂量金福安汤组 p120ctn 异常表达细胞数明显少于模型组, 同时 RhoA 和 Cdc42 异常表达细胞数也明显少于模型组, 提示中剂量金福安汤可能是通过抑制 p120ctn 异常表达, 进而抑制 RhoA 和 Cdc42 异常表达而发挥抗肿瘤作用。

参考文献:

- [1] 吴玉生, 贾建伟, 李丹青, 等. 邓老金福安汤治疗中晚期非小细胞肺癌的临床观察[J]. 广州中医药大学学报, 2008, 25(3): 187-192.
- [2] 曹洋, 陈文华, 周京旭, 等. 金福安汤对人肺腺癌 A549 细胞生物学行为的影响[J]. 中医杂志, 2013, 54(3): 241-244.
- [3] 徐叔云, 卞如濂, 陈修, 等. 药理实验方法学[M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 1769-1770.
- [4] Syrigos KN, Karayiannakis A, Syrigou EI, et al. Abnormal expression of p120 correlates with poor survival in patients with bladder cancer[J]. Eur J Cancer, 1998, 34(13): 2037-2040.
- [5] Castano J, Solanas G, Casagolda D, et al. Specific phosphorylation of p120-catenin regulatory domain differently modulates its binding to RhoA[J]. Mol Cell Biol, 2007, 27(5): 1745-1757.
- [6] 吴颖. p120 在肿瘤中的作用[J]. 肿瘤防治研究, 2006, 33(3): 207-209.
- [7] 周兰兰. p120 与恶性肿瘤[J]. 现代医药卫生, 2006, 22(23): 3387-3389.
- [8] 苗原, 刘洋, 王妍, 等. p120ctn 亚型在肺鳞癌、腺癌中表达及意义[J]. 中国肺癌杂志, 2008, 11(2): 189-194.
- [9] 吴福国, 陈一戎. Rho GTP 酶在肿瘤发生发展中的作用[J]. 生命的化学, 2009, 29(4): 563-567.
- [10] Horiuchi A, Imai T, Wang C, et al. Up-regulation of small GTPases, RhoA and RhoC, is associated with tumor progression in ovarian carcinoma[J]. Lab Invest, 2003, 83(6): 861-870.
- [11] Fritz G, Just I, Kaina B. Rho GTPases are over-expressed in human tumors[J]. Int J Cancer, 1999, 81(5): 682-687.
- [12] Fritz G, Brachetti C, Bahlmann F, et al. Rho GTPases in human breast tumours: expression and mutation analyses and correlation with clinical parameters[J]. Br J Cancer, 2002, 87(6): 635-644.
- [13] 杨早. 肿瘤转移中的黏附分子与痰瘀因素[J]. 辽宁中医杂志, 2005, 32(4): 280-281.
- [14] 曹洋. 晚期非小细胞肺癌的中医证候规律研究[J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(4): 754-757.
- [15] 孙宏新, 朴炳奎. 流式细胞仪检测益肺清化膏对荷瘤小鼠瘤组织 E-cad, CD44V6 表达水平的影响[J]. 中医药学刊, 2005, 23(6): 1010-1016.
- [16] 胡小勤, 陈利国. 肺癌转移的痰瘀病机探讨[J]. 辽宁中医杂志, 2006, 33(12): 1555-1556.
- [17] 吴玉生, 赵媛媛, 曹洋, 等. 金福安汤治疗中晚期非小细胞肺癌的临床研究[J]. 中成药, 2010, 32(4): 547-550.

(编辑: 梁进权)

炉甘石敛口生肌的药效学研究

周灵君^{1,2}, 张 丽¹, 丁安伟¹ (1. 南京中医药大学药学院江苏省方剂高技术研究重点实验室, 江苏 南京 210046; 2. 江苏省环境科学研究院, 江苏 南京 210036)

摘要: **目的** 观察炉甘石敛口生肌的药效作用。**方法** 建立深达肌层的大鼠小面积全层皮肤缺损创面模型, 观察炉甘石对损伤修复中大鼠体质量、创面直径以及创面肉芽组织的影响。**结果** 炉甘石有助于缩小创口面积; 炉甘石、煅炉甘石在高剂量时均可以促进肉芽组织中的新生毛细血管生成($P < 0.01$), 增加受损创面的血供, 加速创面恢复。炉甘石高剂量组在给药 8 d 后, 可以增大新生肉芽组织中毛细血管的面积($P < 0.05$); 煅炉甘石高剂量组可以增加毛细血管的周长($P < 0.01$)。炉甘石、煅炉甘石均可增大肉芽组织中毛细血管管径和增加毛细血管的数量($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 对新生毛细血管的生长具有明显促进作用。**结论** 炉甘石、煅炉甘石均能促进大鼠伤口成纤维细胞和毛细血管的形成, 加快肉芽组织增生, 从而加速皮肤创口的愈合, 煅炉甘石生肌作用更强。

关键词: 炉甘石; 矿物药; 敛口生肌; 药效学

收稿日期: 2013-05-08

作者简介: 周灵君, 女, 高级工程师, 研究方向: 中药质量标准及炮制机理。Email: lark.zlj@163.com。通讯作者: 丁安伟, 教授, 博士生导师, 研究方向: 中药质量标准及炮制机理。Email: awding105@163.com。

基金项目: 江苏省普通高校研究生科研创新计划资助项目(CX09B_2802)。