

【基础研究】

(1. 新乡医学院机能学实验室, 河南 新乡 453003; 2. 新乡医学院研究生 2015 级, 河南 新乡 453003)

中图分类号: R338.2 文献标志码: A 文章编号: 1004-7239(2018)08-0568-05

通信作者:千智斌(1974-),男,河南武陟人,博士,教授,研究方向:延髓呼吸中枢病变机制;E-mail:qianzhibin@126.com

terone and optimal concentration of progesterone and mifepristone;the effect of different concentration of progesterone and mifepristone,and the combination of the two drugs on RRDA was observed. **Results** There was no statistic difference in the inspiratory time (TI),inspiratory strength(IA) and respiratory frequency(RF) among control group,before perfusion of progesterone group and 5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ progesterone group ($P > 0.05$). Compared with the control group,before perfusion of progesterone group and 5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ progesterone group,the TI prolonged,IA enhanced and RF increased in the 10,20,40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ progesterone group($P < 0.05$). Compared with 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ progesterone group, the TI prolonged,IA enhanced and RF increased in the 20,40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ progesterone group($P < 0.05$). There was no statistic difference in the TI,IA and RF between the 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ progesterone group and 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ progesterone group($P > 0.05$). There was no statistic difference in the TI,IA and RF among control group,before perfusion of mifepristone group and 5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ mifepristone group ($P > 0.05$). Compared with the control group,before perfusion in mifepristone group and 5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ mifepristone group,the TI shorten,IA weaken and RF decreased in the 10,20,40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ mifepristone group ($P < 0.05$). Compared with 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ mifepristone group,the TI shorten,IA weaken and RF decreased in the 20,40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ mifepristone group ($P < 0.05$). There was no statistic difference in the TI,IA and RF between the 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ mifepristone group and 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ mifepristone group($P > 0.05$). Compared with control group and before perfusion of mixed group,the TI prolonged,IA enhanced and RF increased after perfusion of progesterone of mixed group($P < 0.05$);compared with perfusion of progesterone,the TI shorten,IA weaken and RF decreased after perfusion of progesterone and mifepristone ($P < 0.05$);there was no statistic difference in the TI,IA and RF among control group,before perfusion of mixed group and after perfusion of progesterone and mifepristone($P > 0.05$). **Conclusions** The progesterone receptor is present in the cell membrane of the medullary respiratory neuron and it is involved in regulating the RRDA of medullary respiratory center in neonatal rats. The progesterone receptor can excite RRDA when it is activated.

Key words: medullary slice;progesterone receptor;basic rhythmic respiration discharge activity;neonatal rat

稳定的呼吸是机体存活的必要条件,哺乳动物呼吸性基本节律放电(rhythmic respiration discharge activity,RRDA)起源于延髓面神经后核内侧区(the medial area of nucleus retrofacialis,mNRF),它是呼吸运动得以产生的基础^[1-2]。黄体酮能够在神经系统分泌和合成,对神经系统功能有着重要影响^[3]。在中枢神经系统内存在内源性黄体酮和黄体酮受体,但相关研究主要集中在其对缺血再灌注损伤的保护作用^[4-5],黄体酮和黄体酮受体是否在生理条件下调节延髓呼吸中枢呼吸神经元电活动尚未见报道,因此,作者设计本实验,以新生大鼠离体延髓脑片为研究对象,使用神经电生理方法从功能上研究在延髓呼吸中枢是否存在黄体酮受体和内源性黄体酮调节RRDA和延髓呼吸中枢,为哺乳动物延髓呼吸中枢的发育和中枢性呼吸疾病的预防和治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 清洁级 Sprague-Dawley 大鼠购自河南省实验动物中心(许可证号:SCXK 豫-2013-0002),常规饲养,自由饮食,自然光照,实验选取其生产的 2 日龄的新生大鼠 24 只,雌雄不拘。

1.2 试剂与仪器 黄体酮受体激动剂、黄体酮、黄体酮受体拮抗剂、米非司酮、人工脑脊液(artificial

cerebrospinal fluid, ACSF)(配制成分为 NaCl 124 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、KCl 5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、CaCl₂ 2.4 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、NaHCO₃ 26 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、MgSO₄ 1.3 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、KH₂PO₄ 1.2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)均购于美国 Sigma 公司,30 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 葡萄糖为国产分析纯;BL-420 生物信号采集与处理系统购自成都泰盟科技有限公司,体视显微镜购自济南八一光学仪器厂,直流前置放大器(FZG-81)购自上海嘉龙教学仪器厂,数字测氧仪(CY-12C)购自上海隆拓仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 离体延髓脑片标本的制备 取 2 日龄新生大鼠,吸入乙醚进行深度麻醉后,在第 4~5 颈椎断头处死,将鼠头立即置于 0℃ 的 ACSF 中清洗和降温 5~10 s,再转移至含有 200 mL 0℃ ACSF 的解剖盒中,并持续通入含体积分数 95% O₂ 和体积分数 5% CO₂ 的混合气。鼠头固定在解剖槽中,使用眼科剪剥离颅骨的皮肤和肌肉组织,顺延颅骨背侧正中线缓慢剪开顶颅骨和椎管,并向尾端延伸直至完整剪开椎管,去除背侧颅骨和椎骨,完全暴露大脑、小脑、脑干和脊髓。在游离出来的中枢神经系统标本上去除小脑,完整暴露出延髓后在上下丘处切去高位脑组织,即完成延髓标本的制备。在延髓标本上第 1~2 颈椎间剪去脊髓尾端,刀刃垂直于脊髓在弓前后切出 900~1 200 μm 厚度的脑片,即完成脑片

制备,脑片上保留有 mNRF、橄榄核、舌下神经根和背侧呼吸组等结构。为减少脑组织缺氧损伤,脑片制备时间控制在 3 min 以内^[6]。

1.3.2 记录脑片 RRDA 切好的脑片迅速转移至灌流槽内,保持腹侧面朝上,灌流含有体积分数 95% O₂ 和体积分数 5% CO₂ 混合气体的 ACSF,流速 4~6 mL·min⁻¹,温度为 25~27℃。使用体视显微镜辨认脑片腹侧面的舌下神经根,使用含有银-氯化银保护电极的吸附电极加以负压吸附舌下神经根,记录到的 RRDA 经放大后通过 BL-420F 生物信号采集系统输出,并对其处理和分析。

1.3.3 实验分组 实验分 4 组,每组 6 只脑片,分别进行灌注实验。(1)对照组:使用空白 ACSF 灌流脑片,在灌流 10、20、30、40、50 min 时测量 RRDA,对各时间点的数据进行统计处理以检测实验模型的稳定性,并以灌流 10 min 时的数据作为其他各组的对照;(2)黄体酮组:灌流含有不同浓度(5、10、20、40 μmol·L⁻¹)黄体酮的 ACSF,在灌流 10 min 时测量并分析 RRDA 的变化;(3)米非司酮组:灌流含有不同浓度(5、10、20、40 μmol·L⁻¹)米非司酮的 ACSF,灌流 10 min 时测量 RRDA 并分析其变化;(4)混合组:先灌流黄体酮(20 μmol·L⁻¹)10 min,然后用空白 ACSF 冲洗脑片,再灌流黄体酮+米非司酮(20 μmol·L⁻¹)10 min,对比单独使用黄体酮 10 min 和混合使用黄体酮+米非司酮 10 min 时 RRDA 的变化情况。

1.4 测量指标 机体呼吸过程中,吸气时程(inspiratory time, TI)、吸气幅度(inspiratory strength, IA)和呼吸频率(respiratory frequency, RF)是反映呼吸运动的参数,本研究同样以上述 3 个参数作为判断 RRDA 的指标。每次 RRDA 从放电开始至结束所持续的时间即为 TI;每次呈簇状的呼吸放电积分即为 IA;每分钟内发生呼吸放电的次数即为 RF。为使实验结果更直观,以对照组大鼠脑片灌流 10 min 时所测得的结果作为 100%,对本组各时间点和和其他各组不同浓度的数据进行标准化处理。

1.5 统计学处理 应用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析,数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组内和组间的实验数据采用重复测量数据方差分析和单因素方差分析,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 模型稳定性 结果见表 1。对照组大鼠脑片

在灌流 10、20、30、40、50 min 时各时间点 TI、IA、RF 比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),说明 50 min 内灌流的脑片标本 RRDA 无衰弱现象,本模型具有可靠的稳定性。

表 1 对照组不同时间点 RRDA 比较

Tab.1 Comparison of RRDA at different time points in the control group				($\bar{x} \pm s$)
时间	TI/s	IA/mV	RF/(次·min ⁻¹)	
10 min	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	
20 min	98.83 ± 2.48	103.17 ± 5.05	101.67 ± 8.43	
30 min	101.78 ± 4.33	102.40 ± 6.29	99.67 ± 7.07	
40 min	98.67 ± 5.16	98.67 ± 5.63	98.55 ± 8.44	
50 min	96.54 ± 4.21	98.33 ± 4.26	97.02 ± 8.67	
F	0.751	0.812	0.887	
P	0.680	0.644	0.720	

2.2 不同浓度黄体酮对延髓脑片 RRDA 的影响 结果见表 2。对照组、黄体酮组灌注前和 5 μmol·L⁻¹黄体酮组 TI、IA 和 RF 比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);与对照组、黄体酮组灌注前和 5 μmol·L⁻¹黄体酮组比较,10、20、40 μmol·L⁻¹黄体酮组 TI 延长,IA 增强,RF 增加,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与 10 μmol·L⁻¹黄体酮组比较,20、40 μmol·L⁻¹黄体酮组 TI 延长,IA 增强,RF 增加,差异均有统计学意义($P < 0.05$);40 μmol·L⁻¹黄体酮组与 20 μmol·L⁻¹黄体酮组 TI、IA 和 RF 比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 不同浓度黄体酮对延髓脑片 RRDA 的影响

Tab.2 Effect of different concentrations of progesterone on RRDA					($\bar{x} \pm s$)
组别	n	TI/s	IA/mV	RF/(次·min ⁻¹)	
对照组	6	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	
黄体酮组	6				
灌注前		99.52 ± 3.59	102.67 ± 4.83	100.37 ± 5.11	
5 μmol·L ⁻¹ 组		101.78 ± 4.34	102.17 ± 3.56	102.50 ± 4.25	
10 μmol·L ⁻¹ 组		104.50 ± 2.43 ^a	106.33 ± 3.84 ^a	108.77 ± 4.09 ^a	
20 μmol·L ⁻¹ 组		117.67 ± 5.49 ^{ab}	120.50 ± 5.13 ^{ab}	115.39 ± 5.85 ^{ab}	
40 μmol·L ⁻¹ 组		116.38 ± 5.32 ^{ab}	119.17 ± 5.22 ^{ab}	117.20 ± 4.46 ^{ab}	
F		6.152	10.038	7.783	
P		0.001	0.000	0.000	

注:与对照组、黄体酮组灌注前和 5 μmol·L⁻¹黄体酮组比较^a $P < 0.05$;与 10 μmol·L⁻¹黄体酮组比较^b $P < 0.05$ 。

2.3 不同浓度米非司酮对延髓脑片 RRDA 的影响 结果见表 3。对照组、米非司酮组灌注前和 5 μmol·L⁻¹米非司酮组 TI、IA 和 RF 比较差异均无统计学意义($P > 0.05$);与对照组、米非司酮组灌注前和 5 μmol·L⁻¹米非司酮组比较,10、20、40 μmol·L⁻¹米非司酮组 TI 缩短,IA 降低,RF 减

少,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 米非司酮组比较,20、40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 米非司酮组 TI 缩短,IA 减弱,RF 减少,差异均有统计学意义($P < 0.05$);40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 米非司酮组与 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 米非司酮组 TI、IA 和 RF 比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表 3 不同浓度米非司酮对延髓脑片 RRDA 的影响
Tab.3 Effect of different concentrations of mifepristone on RRDA ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	TI/s	IA/mV	RF/(次·min ⁻¹)
对照组	6	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00
米非司酮组	6			
灌注前		99.41±4.26	101.29±4.40	101.68±4.79
5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组		96.83±3.40	95.33±3.02	100.32±3.42
10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组		92.33±3.22 ^a	90.17±3.66 ^a	97.06±3.67 ^a
20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组		84.00±3.20 ^{ab}	83.17±3.77 ^{ab}	90.81±4.21 ^{ab}
40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组		83.16±5.63 ^{ab}	82.50±4.51 ^{ab}	90.95±5.06 ^{ab}
<i>F</i>		8.367	10.519	5.406
<i>P</i>		0.000	0.000	0.001

注:与对照组、黄体酮组灌注前和 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 黄体酮组比较^a $P < 0.05$;与 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 黄体酮组比较^b $P < 0.05$ 。

2.4 黄体酮和黄体酮 + 米非司酮对延髓脑片 RR-DA 的作用 结果见表 4。与对照组和混合组灌注前比较,混合组灌注黄体酮后 TI 延长,IA 增强,RF 增加,差异有统计学意义($P < 0.05$);与灌注黄体酮相比,灌注黄体酮 + 米非司酮后 TI 缩短,IA 减弱,RF 减少,差异有统计学意义($P < 0.05$);对照组、混合组灌注前和灌注黄体酮 + 米非司酮后 TI、IA 和 RF 比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表 4 黄体酮和黄体酮 + 米非司酮对 RRDA 的影响
Tab.4 Effects of progesterone and progesterone + mifepristone on RRDA ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	TI/s	IA/mV	RF/(次/min ⁻¹)
对照组	6	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00
混合组	6			
灌注前		98.57±5.32	100.33±3.96	100.67±5.24
灌注黄体酮后		115.89±4.61 ^a	121.33±4.44 ^a	116.21±5.67 ^a
灌注黄体酮 + 米非司酮后		103.91±4.26 ^b	102.84±4.65 ^b	98.67±5.08 ^b
<i>F</i>		11.901	16.726	20.243
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000

注:与对照组和混合组灌注前比较^a $P < 0.05$;与灌注黄体酮后比较^b $P < 0.05$ 。

3 讨论

哺乳动物完整的节律性呼吸起源于延髓呼吸中枢,是呼吸运动产生的基础^[7]。本实验记录的 RR-DA 是由脑片 mNRF 区呼吸起步神经元膜电位的周

期性自动去极化产生,通过 mNRF 区呼吸神经元换元过程将动作电位传导至舌下运动神经元,从而促进吸气神经元放电,这就是在舌下神经根记录到的电活动。因此,实验过程中所记录的 RRDA 反映了新生大鼠延髓呼吸中枢的呼吸功能,也间接反映中枢神经系统发育和成熟情况^[8]。

黄体酮又称黄体酮或黄体激素,是外周神经系统中由卵巢分泌的具有生物活性的主要孕激素。有关黄体酮在外周神经系统的研究绝大多数集中在它作为孕激素方面,在中枢神经系统的研究大多数集中在它对缺血再灌注损伤组织的保护作用^[9-10]。近年来,黄体酮被作为一种内源性信号分子得到研究,有研究发现,位于延髓背内侧即孤束核腹外侧的去甲肾上腺素能神经元上有黄体酮受体的表达;而在延髓腹外侧区、小细胞性网状结构和孤束核中同时存在黄体酮受体免疫反应阳性细胞和黄体酮受体 mRNA 表达^[11]。

本研究发现,在 5 ~ 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度范围内,黄体酮能够增加 TI 和 IA,增加 RF,对 RRDA 呈浓度依赖性兴奋作用,且 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 黄体酮为兴奋 RRDA 的最适浓度,继续增加黄体酮浓度对脑片 RRDA 无明显改变;而黄体酮受体拮抗剂米非司酮能够缩短 TI 和 IA,减少 RF,对 RRDA 呈浓度依赖性抑制作用,且 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的米非司酮为抑制 RRDA 的最适浓度,继续增加米非司酮浓度对脑片 RRDA 无明显改变;单独使用黄体酮对 RRDA 具有兴奋作用,联合使用黄体酮 + 米非司酮可完全阻断黄体酮对 RRDA 的兴奋作用。本研究结果提示,在新生大鼠离体延髓脑片内有黄体酮受体激动剂黄体酮的存在,它可能由局部神经元或胶质细胞分泌。黄体酮与黄体酮受体结合后能够增加神经元的兴奋性,表现为 RRDA 增强^[12]。使用黄体酮受体拮抗剂阻断受体后导致黄体酮通过受体对神经元所产生的兴奋作用消失,从而使 RRDA 减弱。联合使用黄体酮和米非司酮后对 RRDA 无明显作用。以上实验结果证实,黄体酮和米非司酮对 RRDA 的作用是通过受体途径实现的。

黄体酮膜受体是经典的 Gq 蛋白受体,被激活后可通过经典途径激活磷脂酶 C,将细胞膜长链脂蛋白水解为磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸(phosphatidylinositol biphosphate,PIP2),PIP2 被水解后产生三磷酸肌醇和二酰基甘油,前者通过与内质网上的三磷

酸肌醇受体结合,使钙离子依赖性氯离子通道因细胞内的钙离子通道开放而得以激活;后者不仅能够激活背根神经节神经元上的蛋白激酶 C 通路,还可通过激活细胞内钙离子蛋白激酶 C 并使其发生磷酸化而增强活性,同时,对细胞内大量蛋白质的活性进行调节^[13-15]。黄体酮受体被激活后除沿经典的信号跨膜转导途径调节神经元兴奋性外,也可通过黄体酮受体介导的电流调节神经元兴奋性,黄体酮借助 GABA 受体的激活引起氯离子内流,使细胞内达到超极化状态,降低神经元的过度兴奋性,还能抑制兴奋性氨基酸的毒性作用,以维持神经元正常的兴奋性^[16-17]。

参考文献:

- [1] JONES S E, DUTSCHMANN M. Testing the hypothesis of neurodegeneracy in respiratory network function with a priori transected arterially perfused brain stem preparation of rat[J]. *J Neurophysiol*, 2016, 115(5): 2593-2607.
- [2] 郝志勇, 千智斌. 5-羟色胺 2C 受体对新生大鼠离体延髓脑片基本节律性呼吸放电的调节作用[J]. 新乡医学院学报, 2017, 3(4): 261-264.
- [3] WESSEL L, OLBRICH L, BRAND-SABERI B, et al. New aspects of progesterone interactions with the actin cytoskeleton and neurosteroidogenesis in the cerebellum and the neuronal growth cone[J]. *J Histochem Cytochem*, 2014, 62(12): 835-845.
- [4] BROTFAIN E, GRUENBAUM S E, BOYKO M, et al. Neuroprotection by estrogen and progesterone in traumatic brain injury and spinal cord injury[J]. *Curr Neuroparmacol*, 2016, 14(6): 641-653.
- [5] WALI B, ISHRAT T, WON S, et al. Progesterone in experimental permanent stroke: a dose-response and therapeutic time-window study[J]. *Brain*, 2014, 137(2): 486-502.
- [6] 闫思涵, 刘友才, 千智斌. 腺苷 A2A 受体对新生小鼠离体延髓脑片基本节律性呼吸放电的调节作用[J]. 郑州大学学报(医学版), 2017, 52(1): 25-28.
- [7] ZHAO C, WANG X B, CONG Y L, et al. Effects of bile acids and the bile acid receptor FXR agonist on the respiratory rhythm in the in vitro brainstem medulla slice of neonatal Sprague-Dawley rats[J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e112212.
- [8] IKEDA K, KAWAKAMI K, ONIMARU H, et al. The respiratory control mechanisms in the brainstem and spinal cord: integrative views of the neuroanatomy and neurophysiology[J]. *J Physiol Sci*, 2017, 67(1): 45-62.
- [9] ROBERTSON C L, FIDAN E, STANLEY R M, et al. Progesterone for neuroprotection in pediatric traumatic brain injury[J]. *Pediatr Crit Care Med*, 2015, 16(3): 236-244.
- [10] YANG J W, HU Z P. Neuroprotective effects of atorvastatin against cerebral ischemia/reperfusion injury through the inhibition of endoplasmic reticulum stress[J]. *Neural Regen Res*, 2015, 10(8): 1239-1244.
- [11] BRINTON R D, THOMPSON R F, FOY M F, et al. Progesterone receptors: form and function in brain[J]. *Front Neuroendocrinol*, 2008, 29(2): 313-339.
- [12] MILNER T A, MITTERLING K L, IADECOLA C, et al. Ultrastructural localization of extranuclear progestin receptors relative to C1 neurons in the rostral ventrolateral medulla[J]. *Neurosci Lett*, 2008, 431(2): 167-172.
- [13] LUO H, LI S S, ZHAO M H, et al. Prognostic value of progesterone receptor expression in ovarian cancer: a meta-analysis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(22): 36845-36856.
- [14] WANG X M, CHEN Q Y, HUANG X, et al. Effects of 17 β -estradiol and tamoxifen on gastric cancer cell proliferation and apoptosis and ER- α 36 expression[J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(1): 57-62.
- [15] ROCHE S L, WYSE-JACKSON A C, GÓMEZ-VICENTE V. Progesterone attenuates microglial-driven retinal degeneration and stimulates protective fractalkine-CX3CR1 signaling[J]. *PLoS One*, 2016, 11(11): e0165197.
- [16] UPPARI N P, JOSEPH V, BAIRAM A. Inhibitory respiratory responses to progesterone and allopregnanolone in newborn rats chronically treated with caffeine[J]. *J Physiol*, 2016, 594(2): 373-389.
- [17] HUANG H, CHEN Y M, ZHU F, et al. Down-regulated Na⁺/K⁺-ATPase activity in ischemic penumbra after focal cerebral ischemia/reperfusion in rats[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(10): 12708-12717.

(本文编辑:孟 月 英文编辑:孟 月)