

# 经前期综合征肝气逆、郁两证大鼠模型血清及不同脑区单胺类神经递质含量分析

崇玉彬 魏 盛 乔明琦 王杰琼 张惠云

**摘 要** 目的 借助前期研制成功 PMS 肝气逆、郁两证大鼠模型检测其血清与不同脑区单胺类神经递质含量,探索“肝失疏泄”微观机制并对模型与中医证型关系进行初步分析。方法 挑出动情周期非接受期大鼠 40 只,随机分为 5 组:正常对照组、PMS 肝气逆证造模组、PMS 肝气郁证造模组、PMS 肝气逆证造模给药组、PMS 肝气郁证造模给药组,肝气逆证大鼠模型以情志刺激为主多因素复合造模法制备,肝气郁证大鼠模型以慢性束缚应激法制备,模型复制成功后肝气逆大鼠模型用经前平颗粒干预,肝气郁证大鼠模型用经前舒颗粒干预。HPLC 测定血清及中枢 NE、DA、5-HT 含量,比较各组差异并进行分析。结果 旷场实验中,相较正常对照组大鼠造模后逆模组水平得分、垂直得分及可旷场实验总分均显著增加( $P < 0.05$ ),而郁模组大鼠则显著减少( $P < 0.05$ ),用药后这一趋势得到明显纠正( $P < 0.05$ )。肝气逆证模型大鼠不同脑区 NE、DA、5-HT 含量均有上升趋势;肝气郁证模型大鼠不同脑区 DA 含量呈下降趋势,5-HT 含量显著上升。外周单胺类神经介质变化趋势多与中枢相反。结论 肝疏泄太过所致烦躁易怒等表现可能与边缘叶 DA 水平上升,下丘脑 DA、边缘叶 5-HT 水平下降密切相关;肝气疏泄不及呈现抑郁萎靡等症状可能与下丘脑 NE 水平上升,下丘脑、边缘叶 DA 水平下降,5-HT 水平上升有密切关系。据此推测,肝主疏泄可能通过调节机体该类活性物质含量而呈现作用;其功能定位为脑中枢,尤其是下丘脑。

**关键词** PMS 肝气逆证/肝气郁证 大鼠模型 单胺类神经递质

**Analysis of Monoamine Neurotransmitter Content in Serum and Different Encephalic Regions of PMS Liver - qi Invasion, Depression Rat Models.** Chao Yubin, Wei Sheng, Qiao Mingqi, Wang Jieqiong, Zhang Huiyun. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Classics Theory, Shandong 250355, China

**Abstract Objective** To detect monoamine neurotransmitter content in serum and different encephalic region by PMS Liver - qi invasion, depression rat models development before and to explore the probable mechanism of “Liver Losing Regulating” and to conduct initial analysis on relation of animal model and pattern of syndrome in TCM. **Methods** 40 rats were selected in the period of non-receptive phases and were divided into 5 group randomly: normal control team, PMS Liver - qi invasion model team, PMS Liver - qi depression model team, PMS Liver - qi invasion medication administration team and PMS Liver - qi deression medication administration team. Multiple factor combination method was adopted to prepare PMS Liver - qi invasion rat model based on emotion stimulation and to prepare PMS Liver - qi depression rat model based on chronic constraint stimulation. After modeling successfully, Jingqianping granule was administered to PMS Liver - qi invasion rat model and Jingqianshu granule to PMS Liver - qi deression rat model. Monoamine neurotransmitter content was detected in serum and different encephalic region using HPLC. **Results** In open-field experiment, liver - qi invasion rats' scores were much higher than those of controlled, while liver - qi depression rats' scores decreased notably, and the trend was retrieved after administration. Liver - qi invasion rats' NE, DA, 5-HT contents showed an increasing trend, while liver - qi depression rats DA content decreasing and 5-HT content raising obviously in different encephalic region. Periphery monoamine neurotransmitter showed an opposite change compared with center. **Conclusion** Tantrum appearance induced by Liver - qi regulating exciting maybe related to the increasing of DA level in limbic lobe, the descending of DA level in hypothalamus and 5-HT level in limbic lobe; while depression symptom induced by Liver - qi regulating restrain maybe related to the increasing of NE level in hypothalamus and the descending of DA level but ascending of 5-HT level in hypothalamus and limbic lobe. “Liver Governing Regulating” may show its function through regulating these active substances and its possible function location is brain center, especially hypothalamus.

**Key words** PMS Liver - qi invasion; Liver - qi depression; Rat model; Monoamine neurotransmitter

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973 计划)资助课题(2006CB504804);国家自然科学基金资助课题(90709009);山东省科技攻关项目课题(20070915193)

作者单位:250355 济南,山东中医药大学中医药经典理论教育部实验室

通讯作者:张惠云,电子信箱:zhuiyun@163.com

经前期综合征(PMS)作为情志病证研究领域代表性病种近年来备受国际医学界关注,基础实验研究中PMS动物模型具有焦虑型(anxiety-like traits,类似肝气逆证)和抑郁型(depressive-like traits,类似肝气郁证)已成为共识。本课题组借助前期研制成功PMS肝气逆、郁两证大鼠模型检测其血清与不同脑区单胺类神经递质含量,探索“肝失疏泄”微观机制并对模型与中医证型关系进行初步分析。

### 材料与方法

1. 实验材料:(1)实验动物:健康 Wistar 雌性大鼠,体重 180~220g,50 只。由山东中医药大学实验动物中心自中国啮齿类实验动物种子库上海分中心引入,生产许可证号:SCXK(鲁)20050015。大鼠均饲养于昼夜颠倒环境,每日于 21:00 开灯,9:00 关灯。除实验期外自由饮食饮水。各组大鼠每日均由实验操作者抓握移动,熟悉环境,消除人为操作影响<sup>[1]</sup>。(2)实验药品:生理盐水;无水乙醇;吉姆萨染液;经前平颗粒(江苏扬子江药业集团公司生产批号:040216);经前舒颗粒(秦皇岛市山海关制药厂生产批号:Z20053087);标准品:去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)均为 SIG-MA 公司产品(A.R 级);乙酸钠、柠檬酸、辛烷基磺酸钠、正丁胺、乙二胺四乙酸均为分析纯;甲醇为色谱纯;水为超纯水。(3)实验仪器:Olympus 显微镜(日本);载玻片;滴管;ST-A 数字脉冲生物刺激仪(由济南空军后勤装备总厂、山东中医药大学联合研制);无菌纱布;旷场箱(自制);数码摄像机 NV-MX7D(日本);Agilent 1100 高效液相色谱仪(二元泵,自动进样器,柱温箱,ECD 检测器);LGR16-W 高速冷冻离心机(北京医用离心机厂)。

2. 实验步骤及方法:(1)受试大鼠筛选:采用旷场实验筛选得分相近大鼠进入实验。(2)大鼠动情周期确定方法:依阴道涂片镜检法确定正常未孕大鼠的动情周期<sup>[2]</sup>。阴道涂片每天 5~9 次,连续涂片 28 天以确定每只试验大鼠动情周期资料。(3)动情周期行为学评定方法<sup>[3]</sup>:大鼠动情周期评定辅助采用行为学观察方法。将雌鼠引入雄鼠笼中,观察大鼠动情行为(跳跃、奔走、摇耳、弓背、雄鼠击打雌鼠背部)确定大鼠动情周期,阻止雄鼠爬跨雌鼠。大鼠动情前期/动情期(即动情周期接受期)显示活跃动情行为,而动情间期/动情后期(即动情周期非接受期)动情行为减退或消失,中间间隔约 2 天左右,动情行为规则出现且活跃大鼠纳入本实验。按上记录鼠号及所属各期,称重,然后分期装笼(4 只或 5 只合装于一笼),同一期置于同一列笼架上,放于镜头正面适当距离处,后面笼架上放两笼共 8 只雄鼠,安装录像机,录像带分析保存。(4)分组及给药方法:记录各鼠号及所属期属,称重。挑出动情周期非接受期大鼠 40 只分别处理,每笼 8 只,随机分为 5 组,为正常对照组(对照组)、PMS 肝气逆证造模组(逆模组)、PMS 肝气郁证造模组(郁模组)、PMS 肝气逆证造模给药组(逆药组)、PMS 肝气郁证造模给药组(郁药组),刺激造模持

续大鼠非接受期阶段,连续刺激造模 2 个周期。①造模方法:PMS 肝气逆、郁证造模方法参考课题组前期工作<sup>[4]</sup>;②给药方法:造模给药组造模同时每天上午 9:00 灌胃 1 次,持续造模过程整个阶段;③给药剂量:大鼠给药量 1ml/100g,每天给药 1 次,连续给药 5 天。大鼠边造模边灌胃给予经前平、经前舒颗粒(相当于人临床 8 倍剂量<sup>[5]</sup>)。模型组、正常组大鼠给予相同体积的灭菌饮用水。大鼠造模完成后即进行旷场实验测定相关行为学指标,随后处死。断头取血 10ml,放入离心机以 3000r/min,离心 20min,取血清冷藏送检。剥取大脑,分离相关脑组织,液氮保存送检。(5)模型评价方法:模型评价采用旷场实验法<sup>[4]</sup>。记录大鼠旷场实验中水平得分与垂直得分数据,计算旷场实验得分 = ① + ②。每只动物造模结束后进行一次测定,3 分/次,比较各组得分差异。(6)单胺类神经递质(介质)检测方法:用 HPLC 测定血清及中枢 NE、DA、5-HT 含量<sup>[6]</sup>。取待检血清 200μl 置于 1.5ml EP 管内,再加入等体积 5% HClO<sub>4</sub>(v:v)溶液,加盖后摇匀,室温放置 20min 充分沉淀血清中的蛋白质,4℃ 10000r/min 离心 15min,取上清液,0.22μm 微孔滤膜过滤,得供试液。取待检组织精确称量后移至玻璃匀浆器中,加入预冷的 0.5% HClO<sub>4</sub> 1ml,于冰浴上充分研磨,0~2℃ 制成匀浆,3500r/min 低温离心 15min,取上清 0~4℃ 冷藏备用。(7)统计处理:实验数据用 SPSS 13.0 统计软件分析,多个样本均数比较用单因素方差分析,检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

### 结 果

1. 各组大鼠旷场实验得分比较见表 1。由表 1 可见,相较正常对照组大鼠造模后逆模组水平得分、垂直得分及旷场实验总分均显著增加( $P < 0.05$ ),而郁模组大鼠则显著减少( $P < 0.05$ ),用药后这一趋势得到明显纠正( $P < 0.05$ ),郁模组用药后纠正更有非常显著性差异( $P < 0.01$ )。以上结果证实 PMS 肝气逆、郁两证大鼠模型效果良好,模型动物整体表征与临床原型近似一致<sup>[4]</sup>。

表 1 各组大鼠旷场实验行为学得分比较( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

| 组别  | 水平得分             | 垂直得分             | 旷场实验得分           |
|-----|------------------|------------------|------------------|
| 对照组 | 49.92 ± 29.11    | 11.58 ± 5.41     | 61.50 ± 30.93    |
| 逆模组 | 64.00 ± 20.15 *  | 15.92 ± 6.26 *   | 79.92 ± 24.18 *  |
| 郁模组 | 13.58 ± 6.85 **  | 6.50 ± 2.94 *    | 20.08 ± 8.98 **  |
| 逆药组 | 43.33 ± 11.11 #  | 9.75 ± 2.18 #    | 53.08 ± 12.56 #  |
| 郁药组 | 38.17 ± 4.70 *** | 14.67 ± 3.81 *** | 52.83 ± 8.20 *** |

\* 表示与正常对照组相比, $P < 0.05$ ,\*\* 表示与正常对照组相比, $P < 0.01$ ;# 表示与逆模组相比, $P < 0.05$ ;\*\*\* 表示与郁模组相比, $P < 0.01$

2. 各组大鼠血清及不同组织 NE 含量检测结果见表 2。由表 2 可见,血清中 NE 含量各组与正常对

照组相比均显著下降( $P < 0.01$ ),用药后 NE 有上升趋势;边缘叶中 NE 含量除郁药组与正常组相比有显著差异( $P < 0.05$ )外,其余各组间差异均无统计学意义;下丘脑中 NE 含量郁模组较正常对照组显著上升,逆模组亦有上升趋势,给药后均可拮抗此一现象。

表 2 各组大鼠不同组织 NE 含量检测  
结果比较( $\bar{x} \pm s$ , ng/ml,  $n = 8$ )

| 组别  | 血清                 | 边缘叶              | 下丘脑                |
|-----|--------------------|------------------|--------------------|
| 对照组 | 851.20 ± 153.56    | 124.88 ± 32.74   | 587.01 ± 102.60    |
| 逆模组 | 370.11 ± 70.92 **  | 138.79 ± 29.74   | 774.76 ± 348.20    |
| 郁模组 | 140.87 ± 51.87 **  | 216.08 ± 127.24  | 825.14 ± 246.97 *  |
| 逆药组 | 426.28 ± 95.66 **  | 142.26 ± 33.05   | 668.23 ± 109.75    |
| 郁药组 | 238.08 ± 50.96 *** | 159.47 ± 17.40 * | 611.04 ± 126.51 ** |

\* 表示与正常对照组相比,  $P < 0.05$ ; \*\* 表示与正常对照组相比,  $P < 0.01$ ; \* 表示与郁模组相比,  $P < 0.05$ , \*\* 表示与郁模组相比,  $P < 0.01$

3. 各组大鼠血清及不同组织 DA 含量检测结果见表 3。由表 3 可见,血清中 DA 含量各组与正常对照组相比均显著上升( $P < 0.01$ ),用药后 DA 有下降趋势;边缘叶中 DA 含量逆模组、郁模组与正常组相比有显著差异( $P < 0.05$ ),用药后 DA 有上升趋势;下丘脑中 DA 含量郁模、逆模组较正常对照组显著下降( $P < 0.01$ ),用药后这一趋势得到明显纠正( $P < 0.01$ )。

表 3 各组大鼠血清及不同组织 DA 含量检测  
结果比较( $\bar{x} \pm s$ , ng/ml,  $n = 8$ )

| 组别  | 血清              | 边缘叶            | 下丘脑               |
|-----|-----------------|----------------|-------------------|
| 对照组 | 0.79 ± 0.34     | 13.96 ± 2.28   | 111.96 ± 17.13    |
| 逆模组 | 1.62 ± 0.71 **  | 17.67 ± 3.49 * | 64.39 ± 9.25 **   |
| 郁模组 | 4.92 ± 1.18 **  | 7.49 ± 2.77 ** | 22.21 ± 1.42 **   |
| 逆药组 | 1.27 ± 0.27 **  | 20.91 ± 9.92   | 115.14 ± 5.35 #   |
| 郁药组 | 1.73 ± 0.66 *** | 12.00 ± 4.43 * | 116.52 ± 20.77 ** |

\* 表示与正常对照组相比,  $P < 0.05$ , \*\* 表示与正常对照组相比,  $P < 0.01$ ; # 表示与逆模组相比,  $P < 0.01$ ; \* 表示与郁模组相比,  $P < 0.05$ , \*\* 表示与郁模组相比,  $P < 0.01$

4. 各组大鼠血清及不同组织 5-HT 含量检测结果见表 4。由表 4 可见,血清中 5-HT 含量各组与正常对照组相比均显著下降( $P < 0.01$ ),用药后 5-HT 含量则显著上升( $P < 0.01$ );边缘叶中 5-HT 含量逆模、郁模组较正常组显著上升( $P < 0.05$ ),用药后恢复至正常水平;下丘脑中 5-HT 含量仅郁模组与正常对照组有显著差异,用药后降至正常水平( $P < 0.01$ )。

表 4 各组大鼠血清及不同组织 5-HT 含量检测  
结果比较( $\bar{x} \pm s$ , ng/ml,  $n = 8$ )

| 组别  | 血清                    | 边缘叶               | 下丘脑                |
|-----|-----------------------|-------------------|--------------------|
| 对照组 | 4824.28 ± 488.86      | 60.18 ± 25.57     | 124.47 ± 42.20     |
| 逆模组 | 1592.48 ± 221.57 **   | 79.00 ± 6.61 *    | 94.00 ± 19.49      |
| 郁模组 | 1386.42 ± 604.16 **   | 257.93 ± 79.53 ** | 454.51 ± 65.18 **  |
| 逆药组 | 2902.23 ± 343.53 ** # | 50.39 ± 18.04 #   | 127.56 ± 58.92     |
| 郁药组 | 2213.02 ± 155.18 ***  | 54.92 ± 27.58 *** | 234.11 ± 14.38 *** |

\* 表示与正常对照组相比,  $P < 0.05$ , \*\* 表示与正常对照组相比,  $P < 0.01$ ; # 表示与逆模组相比,  $P < 0.01$ ; \*\*\* 表示与郁模组相比,  $P < 0.01$

讨 论

单胺类递质是 3 种单胺类递质的总称,即 NE, DA, 5-HT。这 3 种单胺类递质相互作用,相互影响,其作用十分复杂,主要与精神活动行为、情绪等密切相关<sup>[7]</sup>。NE 有多方面作用,可使心脏兴奋,心率加快、心肌收缩力加强,皮肤黏膜和内脏血管收缩,血压上升,支气管和内脏平滑肌松弛,糖原分解和糖异生作用加强。由上述微观指标检测结果可见:不同脑区 NE 含量逆模组均有上升趋势,用药后均拮抗上述现象。已有研究表明躁狂症与 NE 的极度上升有关,以上实验结果可较好解释肝气逆证模型大鼠情志亢奋易怒、食欲不振、眠差的整体表现,与课题组前期报道结果一致<sup>[8]</sup>。抑郁症则与某些大脑回路上的 NE 缺乏有关,有研究证实 NE 含量降低与抑郁症发病密切相关<sup>[9]</sup>,上述检测结果表明郁模组大鼠血清中 NE 含量显著降低,不同脑区 NE 含量则无显著差异,与上述结论部分吻合。不同脑区检测结果不具统计学意义可能与实验过程中非可控因素过多导致数据离散度过大有关。

DA 结构和功能上与 NE 有密切联系,由于中枢内 DA 能神经元系统与 NE 能神经元系统为相互拮抗关系,所以 DA 上升对机体的作用具体是兴奋还是抑制尚不清楚<sup>[10]</sup>。比对分析上述检测结果可见:不同脑区 DA 含量逆模组呈上升趋势,郁模组则呈下降趋势,给药后可逆转此一变化。此结果与韩鑫等人的报道近似一致<sup>[11]</sup>,课题组前期研究中也类似发现<sup>[8]</sup>。血清中 DA 含量则呈与脑区相反变化趋势,可能是由于应激刺激了交感-肾上腺髓质系统,导致大量的 DA 释放入血。另外,由于中枢 DA 能抑制外周 DA 释放,当中枢 DA 能低下时,交感-肾上腺系统兴奋,外周 DA 含量脱抑制性增加<sup>[12]</sup>。中枢内 5-HT 与睡眠、痛觉、精神活动及行为、摄食、体温调节及心血管功能调节、下丘脑-垂体功能调节等多种生理活动密

切相关。许多证据均表明 PMS 与 5-HT 能系统紊乱有关,选择性 5-HT 再摄取抑制剂是 PMS 的一线治疗药物<sup>[13]</sup>。本研究结果显示大鼠边缘叶和下丘脑中 5-HT 含量逆郁模组均显著上升,而血清中变化正好相反。金光亮等人曾报道慢性应激抑郁大鼠脑 5-HT 含量下降,通过电针治疗可纠正此一现象,与本研究结果不尽一致,可能与采用不同造模方法有关,我课题组前期研究则证实肝气逆证模型大鼠中枢 5-HT 含量显著增加,推测 PMS 肝气逆证大鼠模型发病与中枢 5-HT 能神经亢奋有关,国外相关报道亦支持此一观点<sup>[14,15]</sup>。以往报道多集中于模型大鼠中枢单胺类神经递质水平变化,而鲜见对模型大鼠外周 NE、DA、5-HT 含量变化研究,本研究揭示外周单胺类神经介质变化趋势多与中枢相反,其中外周 5-HT 含量变化意义较大,国外研究报道已证实 PMS 患者黄体中晚期(症状呈现期)血清中 5-HT 含量较正常者低,本研究结果较好模拟了此一变化趋势,呈现良好吻合度<sup>[16]</sup>。

情志异常所致情绪行为改变中医认为与“肝”密切相关。结合导师前期提出相关科学假说,分析本研究动物模型整体表现与相应微观指标变化特点,发现两者密切相关,表明中医“肝疏泄失常”部分微观机制:肝疏泄太过所致烦躁易怒等表现可能与边缘叶 DA 水平上升,下丘脑 DA、边缘叶 5-HT 水平下降密切相关;肝气疏泄不及呈现抑郁萎靡等症状可能与下丘脑 NE 水平上升,下丘脑、边缘叶 DA 水平下降,5-HT 水平上升有密切关系。据此推测,肝主疏泄可能通过调节机体该类活性物质含量而呈现作用,其功能定位为脑中枢,尤其是下丘脑。

#### 参考文献

- 1 Rafal Rygula, Nashat Abumaria, Gabriele Flügge, *et al.* Anhedonia and motivational deficits in rats: Impact of chronic social stress[J]. *Behavioural Brain Research*, 2005, (162): 127-134

- 2 屠霞芬. 大运动量游泳对小白鼠动情周期的影响[J]. *中国临床康复*, 2004, 8(36): 8316-8317
- 3 Hoi - Por Ho, Marie Olsson, Lars Westberg, *et al.* The Serotonin Reuptake Inhibitor Fluoxetine Reduces Sex Steroid - Related Aggression in Female Rats: An Animal Model of Premenstrual Irritability[J]. *Neuro - psychopharmacology*, 2001, 24(5): 502-510
- 4 魏盛, 乔明琦. 经前期综合征肝气逆、肝气郁证动物模型改进及肝失疏泄微观机制研究[J]. *山东中医药大学学报*, 2007, 31(5): 404-408
- 5 徐叔云, 卞如谦, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版, 北京: 人民卫生出版社, 2002: 202-203
- 6 文江平, 唐爱国. 高效液相色谱法快速测定血清中的芳香族氨基酸[J]. *中国色谱杂志*, 2003, 21(2): 155-157
- 7 Yuan Y G, Wu A Q, Zhang X B, *et al.* Study of plasma monoamine neurotransmitters in comorbid anxiety and depression[J]. *J Clin Psychol Med*, 2001, 11(3): 129-131
- 8 吴翔, 王海军, 高冬梅, 等. 肝气逆证模型大鼠下丘脑中单胺类神经递质变化研究[J]. *山东中医药大学学报*, 2005, 29(4): 304-305
- 9 Hsiao JK, Bartko JJ, Doran AR, *et al.* Monoamine metabolite interaction in schizophrenia[J]. *Biol Psychiatry*, 1990, 27: 116
- 10 K. T. 斯托曼著, 张燕云. 情绪心理学[M]. 沈阳: 辽宁人民出版社, 1987: 399
- 11 韩鑫, 李晓泓, 郭顺根, 等. 电针对抑郁大鼠中枢及外周单胺类神经递质的影响[J]. *中医药学刊*, 2004, 22(1): 185-188
- 12 姚芳传. 情感性精神障碍[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1998: 68
- 13 Rapkin AJ, Edelmuth E, Chang LC, *et al.* Whole - blood serotonin in premenstrual syndrome[J]. *Obstet Gynecol*, 1987, 70: 533-537
- 14 金光亮, 周东, 苏晶. 电针对慢性应激抑郁模型大鼠脑单胺类神经递质的影响[J]. *中华精神科杂志*, 1999, 32(4): 220-222
- 15 Moller SE. Serotonin, carbohydrates, and atypical depression[J]. *Pharmacol Toxicol*, 1992, 71 Suppl 1: 61-71
- 16 Steege JF, Stout AL, Knight DL, *et al.* Reduced platelet tritium - labeled imipramine binding sites in women with premenstrual syndrome[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1992, 167(1): 168-172

(收稿: 2010-01-20)

## 晚期乳腺癌 ER 和 HER-2 表达状态与 TE 方案化疗近期有效率的相关性研究

汪 青 鞠 放 王 宁 王雅杰

**摘 要 目的** 研究晚期乳腺癌不同的 ER 和 HER-2 表达状态与多西紫杉醇联合表柔比星的姑息化疗近期有效率的相关

基金项目: 上海市科学技术委员会科研计划资助项目(06DZ19505)

作者单位: 200433 上海第二军医大学附属长海医院肿瘤科

通讯作者: 王雅杰, 电子信箱: yajiewa0459@163.com