

Wnt/ β -catenin 信号通路抑制剂对骨肉瘤生长作用的研究进展

谢晓亮 李玉梅 朱海霞 樊天佑

摘要 Wnt/ β -catenin 信号通路在调控细胞增殖、分化中起重要作用,其活性异常表达能引起肿瘤的发生,被认为是肿瘤发生过程中的关键信号通路。骨肉瘤是儿童及青少年常见的原发性恶性骨肿瘤。以往的研究证实 Wnt/ β -catenin 信号异常激活是导致骨肉瘤发生和发展的重要因素之一。体内及体外实验研究中通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路的活性可以抑制骨肉瘤细胞的生长和侵袭转移。因此进一步探索 Wnt/ β -catenin 信号通路抑制剂可能成为骨肉瘤治疗的新热点。本文将近 5 年来关于 Wnt/ β -catenin 信号通路抑制剂在骨肉瘤中的研究做一综述。

关键词 Wnt/ β -catenin 骨肉瘤 抑制剂 研究进展

中图分类号 R738 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.05.007

骨肉瘤 (osteosarcoma, OS) 是儿童和青少年长骨干骺端常见的原发性恶性骨肿瘤,以产生骨样基质为病理特征,具有高复发率、多药耐药性、早期易肺转移等特点^[1]。以往骨肉瘤患者采用患肢手术切除治疗为主,随着以甲氨蝶呤、顺铂等为基础的新辅助化学治疗(以下简称化疗)的应用,骨肉瘤患者的 5 年生存率提高到 60%~70%,但却不能有效地降低总病死率和改善整体预后,出现转移或复发的患者 5 年生存率 < 20%^[2,3]。Wnt/ β -catenin 信号通路已被证实在多种肿瘤的发生和发展中起着重要的作用^[4,5]。众多研究表明,Wnt 信号的异常激活和 β -catenin 的高表达与骨肉瘤异常组织学形态及细胞的异常增殖和分化相关,最终导致骨肉瘤的发生^[6-8]。同时在骨肉瘤细胞系中 Wnt/ β -catenin 信号的多种配体、受体以及共同受体均呈高表达,而 Wnt 信号抑制因子 WIF-1、DKKs 水平却处于低表达状态,表明 Wnt/ β -catenin 信号在骨肉瘤细胞中的异常激活是导致骨肉瘤发生和发展的一个重要因素^[9]。因此,通过靶向抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路的活性可能成为骨肉瘤治疗的一个新策略,寻找 Wnt/ β -catenin 信号通路抑制剂成为探索治疗骨肉瘤的新热点。

一、Wnt/ β -catenin 信号通路的组成及机制

Wnt 信号通路在胚胎发育中扮演重要角色,对控制骨骼发育、骨量和成骨细胞分化起关键作用。Wnt 信号通路由细胞膜(包括膜外和膜上)、细胞质和细胞核 3 部分信号组成,即细胞膜外 Wnt 蛋白,细胞膜上特异性 7 次跨膜受体卷曲蛋白 (Frizzled) 和辅助性受体低密度脂蛋白受体相关蛋白 5/6 (LRP5/6),胞质内的散乱蛋白 (Dvl)、糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β)、轴蛋白 (Axin)、结直肠腺瘤性息肉蛋白 (APC)、酪蛋白激酶 I (CK1)、 β -连环蛋白 (β -catenin),细胞核内转录因子 T 细胞因子 (TCF)/淋巴样增强因子 (LEF) 家族及其下游靶基因,如 MMPs、survivin、cyclin D 和 c-Myc 等组成,由于经典 Wnt 通路的启动依赖 β -catenin 转入细胞核,故称为 Wnt/ β -catenin 信号^[10,11]。

在没有 Wnt 配体存在时,胞质内大部分 β -catenin 与细胞膜上 E-钙黏蛋白结合,使之附着于细胞骨架蛋白肌动蛋白上介导细胞之间黏附。对于少部分游离型 β -catenin 则被 Axin、APC、CK1 和 GSK-3 β 形成的 β -catenin 降解复合物通过氨基端磷酸化及 U3 泛素连接酶 β -转导素重复蛋白 (β -TRCP) 识别泛素化,最终通过泛素蛋白酶体途径降解。因此细胞内游离的 β -catenin 水平低,不能转入细胞核内启动转录因子 TCF/LEF 的转录作用而阻止下游靶基因的表达^[12]。反之,当细胞受到 Wnt 信号刺激时,胞膜外配体 Wnt 蛋白分子同时与 7 次跨膜细胞的特异性受体 Frizzled 和辅助性受体低密度脂蛋白受体相

基金项目:国家自然科学基金资助项目(面上项目)(81573995);
国家自然科学基金青年科学基金资助项目(81403412)

作者单位:200071 上海中医药大学附属市中医院骨伤科

通讯作者:樊天佑,主任医师,硕士生导师,电子信箱:fantiany-
ou365@hotmail.com

关蛋白 5/6(LRP5/6)结合,促进胞质内 Dvl 蛋白的活化,活化的 Dvl 蛋白抑制 β -catenin 降解复合物中关键成分 GSK-3 β 的活性,使 β -catenin 不被 GSK-3 β 磷酸化,避免了泛素蛋白酶体对其识别和降解而积聚在细胞质中。当 β -catenin 在细胞质中积聚到一定浓度时就开始转向细胞核内,并与细胞核内转录因子 TCF/LEF 结合导致下游靶基因的启动因子暴露而被激活表达,引起细胞的异常增殖,凋亡抵抗等作用,促进肿瘤的形成^[9]。因此, β -catenin 被认为是整条信号通路中的关键枢纽分子,它由细胞质向细胞核的转移被认为是该信号通路激活后行使其功能的重要特征^[13]。

二、Wnt/ β -catenin 信号通路抑制剂与骨肉瘤

骨肉瘤是一种高度恶性的侵袭性疾病,虽然随着根治性手术结合新辅助化疗的应用,患者的 5 年生存率有了较大的提高,但它仍然是医学上难以攻克的难题。以往研究表明 Wnt/ β -catenin 信号通路的异常激活参与了骨肉瘤的发生、发展,但其机制较为复杂,通过抑制该信号通路的活性可抑制骨肉瘤发生、发展^[14]。目前通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路阻碍骨肉瘤的发展主要围绕在药物类抑制剂、酶类抑制剂、微小 RNA 等抑制作用的研究。

1. 药物类抑制剂:耐药性是骨肉瘤患者治疗失败的归因之一,尤其是多药耐受性,寻找药物作用新靶点是解决骨肉瘤药物耐受的关键。尽管如此,对于骨肉瘤患者来说,药物耐受的关键机制仍然没有定论。

(1) GSK-3 β 药物作用靶点:GSK-3 β 可使 β -catenin 磷酸化,磷酸化位点为 β -catenin 的 4 个 N 端位点,这些位点为 β -catenin 磷酸化的一个标志,将被蛋白酶体降解,是 Wnt/ β -catenin 信号通路的负调控因子^[15]。近年来, Liu 等^[16] 研究发现青蒿素能够抑制骨肉瘤细胞和裸鼠移植瘤的生长,其机制是通过抑制 GSK-3 β 中丝氨酸 9(Ser9)磷酸化来激活 GSK-3 β 降解 β -catenin;同时青蒿素能下调骨肉瘤细胞中的 Dvl 蛋白,解除了 Dvl 蛋白对由 GSK-3 β 、APC 和 Axin 等形成的降解复合物中的关键成分 GSK-3 β 活性的抑制,使 β -catenin 被 GSK-3 β 磷酸化所降解,使 Wnt/ β -catenin 信号转导失活抑制骨肉瘤的活性。同时也有研究表明冬凌草甲素通过增加 GSK3 β 的活性和上调 dickkopf-1(Dkk-1)表达,下调了 β -catenin 的表达抑制 143B 细胞的增殖作用,相反,Dkk-1 过表达或 β -catenin 敲低可以增强 143B 细胞中冬凌草甲素对细胞的增殖抑制作

用^[17]。Chang 等^[18] 研究表明重楼皂苷(PPI)具有抑制骨肉瘤的生长、侵袭转移作用,其机制与 Wnt/ β -catenin 信号通路的失活有关,PPI 能靶向降低 p-GSK-3 β 的表达,导致活性 β -catenin 水平下调,使通路被抑制,而加入 GSK-3 β 特异性抑制剂 CHIR99021 后,PPI 诱导的骨肉瘤细胞活力抑制被消除,表明通过抑制该通路具有很好的抑瘤效果。综上所述可见多种药物可通过增加 GSK-3 β 的活性,促进 β -catenin 的降解并减少其向细胞核内转移,使 Wnt/ β -catenin 信号通路失活,抑制肿瘤的生长。靶向作用 GSK3 β 使 Wnt/ β -catenin 信号通路失活可能是骨肉瘤的潜在治疗靶点。

(2) β -catenin 药物作用靶点:Ma 等^[19] 体外实验研究表明夹竹桃苷能抑制骨肉瘤细胞增殖和侵袭,促进细胞的凋亡,具有很好的抗癌作用,其作用机制是通过减少骨肉瘤细胞总 β -catenin 的表达以及减少 β -catenin 向细胞核内转入,抑制了 Wnt/ β -catenin 信号通路转导。同时 Wnt 特异性 TOP/FOP 荧光酶素报告基因表达量的减少也表明减弱了转录因子 TCF/LEF 在 Wnt/ β -catenin 信号通路中的转录活性,以及下调 Wnt 靶基因 MMP2 和 MMP9 的表达抑制细胞的迁移侵袭能力。Guo 等^[20] 研究表明黄芩素处理的骨肉瘤细胞中 β -catenin 及其靶基因(包括 C-myc, cyclin D1 和 survivin)的水平显著下降,而 β -catenin 的外源性过表达可逆转黄芩素的抗增殖和抗转移作用。在异种移植瘤模型,发现黄芩素的治疗显著抑制移植瘤的生长,提高荷瘤鼠的生存率,抑制瘤体 β -catenin 的表达。Tie 等^[21] 研究表明淫羊藿苷通过下调 Wnt/ β -catenin 信号通路能诱导骨肉瘤细胞的凋亡及抑制细胞的生长,减弱 TOPFlash 荧光表达,腺病毒过表达 β -catenin 后能逆转淫羊藿苷的抑制作用。Liu 等^[22] 研究表明芹菜素可抑制人骨肉瘤细胞增殖,减少其侵袭能力,下调 β -catenin 的表达抑制骨肉瘤的生长。当 β -catenin 过表达时抑制作用减弱,敲减 β -catenin 的表达时抑制作用增强,表明芹菜素通过作用该通路抑制骨肉瘤细胞的生长。同时另有研究表明白藜芦醇、乌索酸等也具有通过下调 β -catenin 的表达抑制 Wnt/ β -catenin 信号的活性而使骨肉瘤细胞的生长被抑制^[23,24]。

以上研究表明,不同药物具有不同的作用靶点,其中 β -catenin 的下调对通路的活性抑制具有重要的作用,通过抑制通路的不同环节使异常激活的 Wnt/ β -catenin 信号通路被抑制将是骨肉瘤治疗的

重要策略之一。

2. 酶类抑制剂: Xia 等^[25]研究表明环氧化酶 COX-2 塞来昔布通过激活 GSK-3 β 依赖性基因的转录使 β -catenin 被磷酸化而降解,减少 β -catenin 向细胞核转入而使 Wnt/ β -catenin 信号通路失活,抑制 MG-63 细胞生长。Li 等^[26]研究表明 TIKI2 是抑制 Wnt 信号的蛋白酶,在骨肉瘤标本和细胞系中 TIKI2 低表达,TIKI2 蛋白酶能抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路的活性,能将成熟的 Wnt 蛋白去除 N-末端氨基酸,Wnt 蛋白随后被寡聚化而失活。通过腺病毒转染 TIKI2 恢复其表达后促进 β -catenin 的磷酸化和减少细胞核 β -catenin 表达,抑制了骨肉瘤细胞的增殖。同时在荷瘤鼠实验中使用 Wnt 激活剂后能减弱 TIKI2 对瘤体的生长抑制作用,表明 TIKI2 对骨肉瘤的抑制作用是通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路发挥作用的。在活性酶的水平上进行调控是一高效的方法,环氧化酶 COX-2 和 TIKI2 蛋白酶均能抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路活性,从而抑制骨肉瘤细胞的活性,对骨肉瘤的治疗具有很好的应用价值。

3. 微小 RNA: 越来越多的研究表明微小 RNA (miRNA) 失调和 Wnt/ β -catenin 信号通路共同推动癌症的发生、转移和耐药性。miRNA 具有定向调节基因表达作用,通过对基因的修饰,一些 miRNA 启动子含有 Wnt 信号通路中细胞信号分子的特异性结合位点,能激活或抑制 Wnt 信号通路的各步骤。就肿瘤的发病和预后而言,miRNA 可以扮演癌基因或抑癌基因的角色,而 miRNA 主要在转录后水平调节基因的表达且与骨肉瘤的发病机制相关,具有更优越的应用前景。Li 等^[27]研究表明 miR-370 作为肿瘤抑制因子,miR-370 能够靶向抑制 FOXM1 与 β -catenin 相结合形成的复合物,抑制 β -catenin 从细胞质转移到细胞核,抑制转录因子 TCF/LEF 的转录启动,使 Wnt/ β -catenin 信号通路失活,具有抑制肿瘤细胞生长和侵袭转移作用。同时另有研究表明,miR-182 能靶向作用 HOXA9 的转录后修饰,下调 Wnt/ β -catenin 信号转导,促进了人骨肉瘤细胞的凋亡。Yang 等^[28]研究发现 miR-183 具有抑癌功能,Wnt 信号通路中的 LRP6 mRNA 3'-UTR 含有保守的 miR-183 结合位点,miR-183 通过直接靶向其 3'-UTR 来下调 LRP6 的表达使 Wnt/ β -catenin 信号转导通路失活。当 LRP6 过表达后具有逆转 miR-183 对肿瘤抑制作用,表明 miR-183 能使 Wnt/ β -catenin 信号转导途径失活,抑制骨肉瘤细胞的生长、迁移

和侵袭作用。Zhang 等^[29]研究表明 miR-107 能够靶向作用于 Dkk-1 的 3'-UTR 区域,miR-107 的过表达可以促进 Dkk-1 的表达,而 Dkk-1 为竞争性结合 LRP5/6 关闭了 Wnt/ β -catenin 信号通路,抑制骨肉瘤细胞的生长。综上研究表明,miRNA 通过靶向结合 Wnt 信号通路的不同分子,对通路相关分子进行基于水平的修饰而影响骨肉瘤细胞的生长。

4. 其他: 围绕以抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路而使骨肉瘤细胞的生长受抑制,Yong 等^[30]研究发现,癌症亮氨酸拉链下调因子 1 (LDOC1) 表达增加与 Wnt5a 水平降低相关,降低了骨肉瘤细胞的肺转移能力。上调骨肉瘤 LDOC1 表达,减少 Dvl2 和 Wnt5a 的表达,而 Dvl2 和 Wnt5a 都是 Wnt 信号通路蛋白并参与肿瘤侵袭和转移,从而表明 LDOC1 可以通过直接/间接与 Wnt 信号通路相互作用调节骨肉瘤的侵袭转移。Zhang 等^[31]研究表明,RAS 蛋白家族 RASSF4 在骨肉瘤组织和细胞中低表达,RASSF4 过表达显著抑制骨肉瘤细胞的增殖,迁移和侵袭以及 EMT 过程。同时,RASSF4 过表达显著降低骨肉瘤细胞中 β -catenin、cyclin D1 和 c-Myc 的蛋白表达,表明 RASSF4 是通过 Wnt/ β -catenin 信号通路抑制骨肉瘤的活性。以上研究表明,调节因子和拮抗剂在抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路的同时也具有抑制骨肉瘤的活性,具有很好的应用前景。

三、展 望

信号通路是当今生物医学研究领域较活跃的主题之一,经典的 Wnt/ β -catenin 信号通路是一条研究较明确的通路,以往大量研究证明 Wnt/ β -catenin 信号通路的异常激活是导致骨肉瘤发病的机制之一,为临床骨肉瘤的治疗提供了一个潜在的治疗思路。但目前仍处于实验和探索阶段,缺乏相关的临床试验。Wnt/ β -catenin 信号通路抑制剂能够通过调节通路信号分子而失活,抑制骨肉瘤细胞增殖,促进骨肉瘤细胞凋亡。这些实验数据证实了 Wnt/ β -catenin 信号通路是治疗骨肉瘤很有前景的治疗策略。因此,在大量实验研究的基础上,可以进行基于 Wnt/ β -catenin 信号通路的前期临床试验研究,进一步证明 Wnt/ β -catenin 信号通路是治疗骨肉瘤有效的靶点,为临床上应用 Wnt/ β -catenin 信号通路治疗骨肉瘤提供一个有力的依据。此外,当前的研究多集中在单信号通路之间的抑癌作用,不同信号通路之间的交互作用需进一步探讨。也有研究表明此通路参与人体正常生理反应,抑制该通路时是否会同时带来其

他的不良反应需进一步研究^[13]。不同抑制剂在体外的作用效果当在复杂的体内生理环境下是否具有同样的效果,需开展相关的动物实验及临床试验进行验证。因此,随着相关机制不断深入研究,人们可以从更多的角度进行探索骨肉瘤的治疗靶点,并获得基于该靶点治疗骨肉瘤的可能,将为人类战胜肿瘤提供新的希望。

参考文献

- 1 Heymann D, Rédini F. Bone sarcomas: pathogenesis and new therapeutic approaches [J]. *Ibms Bonekey*, 2011, 8(9): 402-414
- 2 Bielack SS, Carle D, Harges J, et al. Bone tumors in adolescents and young adults [J]. *Curr Treat Options Oncol*, 2008, 9(1): 67-80
- 3 Kim T, Chung HS, Cho WH, et al. Is osteosarcoma between the two peak ages different? [J]. *J Cancer Ther*, 2018, 9(1): 64-78
- 4 Krishnamurthy N, Kurzrock R. Targeting the Wnt/beta - catenin pathway in cancer: update on effectors and inhibitors [J]. *Cancer Treat Revi*, 2017, 62:50-60
- 5 Nusse R, Clevers H. Wnt/beta - catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities [J]. *Cell*, 2017, 169(6): 985-999
- 6 Martins - Neves SR, Paiva - Oliveira DI, Fontes - Ribeiro C, et al. IWR - 1, a tankyase inhibitor, attenuates WNT/ I^2 - catenin signaling in cancer stem - like cells and inhibits in vivo the growth of a subcutaneous human osteosarcoma xenograft [J]. *Cancer Lett*, 2018, 414:1-15
- 7 Chen X, Xu P, Zhu J, et al. Down regulation of NKD1 in human osteosarcoma and its clinical significance [J]. *Mol Med Reports*, 2018, 17(1):1111-1117
- 8 Guan GF, Zhou Y, Chen J, et al. Aberrant CXCR4 and beta - catenin expression in osteosarcoma correlates with patient survival [J]. *Oncol Lett*, 2015, 10(4): 2123-2129
- 9 Lin CH, Ji T, Chen CF, et al. Wnt signaling in osteosarcoma [J]. *Oxygen Transport to Tissue XXXIII*, 2014, 804: 33-45
- 10 Cadigan KM, Liu YI. Wnt signaling: complexity at the surface [J]. *J Cell Sci*, 2006, 119(Pt 3): 395-402
- 11 Gordon MD, Nusse R. Wnt signaling: multiple pathways, multiple receptors, and multiple transcription factors [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(32): 22429-22433
- 12 Clevers H. Wnt/ β - catenin signaling in development and disease [J]. *Cell*, 2006, 127(3): 469-480
- 13 Haydon RC, Deyrup A, Ishikawa A, et al. Cytoplasmic and/or nuclear accumulation of the β - catenin protein is a frequent event in human osteosarcoma [J]. *Inter J Cancer*, 2002, 102(4): 338-342
- 14 Xu L, Jiang Y, Zheng J, et al. Aberrant expression of β - catenin and E - cadherin is correlated with poor prognosis of nasopharyngeal cancer [J]. *Human Pathol*, 2013, 44(7): 1357-1364
- 15 Alomar SY, Mansour L, Abuderman A, et al. β - Catenin accumulation and S33F mutation of CTNNB1 gene in colorectal cancer in Saudi Arabia[J]. *J Polish Soc Pathol*, 2016, 67(2):156-162
- 16 Liu Y, Wang W, Xu J, et al. Dihydroartemisinin inhibits tumor growth of human osteosarcoma cells by suppressing Wnt/ β - catenin

- signaling [J]. *Oncol Rep*, 2013, 30(4): 1723-1730
- 17 Liu Y, Liu YZ, Zhang RX, et al. Oridonin inhibits the proliferation of human osteosarcoma cells by suppressing Wnt/ β - catenin signaling [J]. *Int J Oncol*, 2014, 45(2): 795-803
- 18 Chang J, Li Y, Wang X, et al. Polyphyllin I suppresses human osteosarcoma growth by inactivation of Wnt/ β - catenin pathway in vitro and in vivo [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 1-12
- 19 Ma Y, Zhu B, Liu X, et al. Inhibition of oleandrin on the proliferation and invasion of osteosarcoma cells in vitro by suppressing Wnt/ β - catenin signaling pathway [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2015, 34(1): 1-12
- 20 Guo D, Di Z, Wang Q, et al. Baicalein inhibits progression of osteosarcoma cells through inactivation of the Wnt/ β - catenin signaling pathway [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(49): 86098-86116
- 21 Tie HT, Kuang G, Gong X, et al. Icariin inhibits growth of human osteosarcoma cells by inducing apoptosis via downregulation of β - catenin signaling [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2016, 9(8): 15437-15446
- 22 Liu X, Li L, Lv L, et al. Apigenin inhibits the proliferation and invasion of osteosarcoma cells by suppressing the Wnt/ β - catenin signaling pathway [J]. *Oncol Rep*, 2015, 34(2): 1035-1041
- 23 Zou Y, Yang J, Jiang D. Resveratrol inhibits canonical Wnt signaling in human MG - 63 osteosarcoma cells [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(5): 7221-7226
- 24 Zhang RX, Li Y, Tian DD, et al. Ursolic acid inhibits proliferation and induces apoptosis by inactivating Wnt/ β - catenin signaling in human osteosarcoma cells [J]. *Int J Oncol*, 2016, 49(5): 1973-1982
- 25 Xia JJ, Lb P, Jp Z, et al. Celecoxib inhibits β - catenin - dependent survival of the human osteosarcoma MG - 63 cell line [J]. *J Int Med Res*, 2010, 38(4): 1294-1304
- 26 Li R, Liu J, Wu H, et al. TIKI2 suppresses growth of osteosarcoma by targeting Wnt/ β - catenin pathway [J]. *Mol Cell Biochem*, 2014, 392(1-2): 109-116
- 27 Li Z. DNA methylation mediated down - regulation of miR - 370 regulates cell growth through activation of the Wnt/ β - catenin signaling pathway in human osteosarcoma cells [J]. *Int J Biol Sci*, 2017, 13(5): 561-573
- 28 Yang X, Wang L, Wang Q, et al. MiR - 183 inhibits osteosarcoma cell growth and invasion by regulating LRP6 - Wnt/ I^2 - catenin signaling pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 496(4): 1197-1203
- 29 Zhang ZC, Liu JX, Shao ZW, et al. In vitro effect of microRNA - 107 targeting Dkk - 1 by regulation of Wnt/ β - catenin signaling pathway in osteosarcoma [J]. *Medicine*, 2017, 96(27): e7245
- 30 Yong BC, Lu JC, Xie XB, et al. LDOC1 regulates Wnt5a expression and osteosarcoma cell metastasis and is correlated with the survival of osteosarcoma patients [J]. *Tumor Biol*, 2017, 39(2): 1-10
- 31 Zhang M, Wang D, Zhu T, et al. RASSF4 overexpression inhibits the proliferation, invasion, EMT, and Wnt signaling pathway in osteosarcoma cells [J]. *Oncol Rese Feat Preclin Clin Cancer Therapeut*, 2017, 25(1): 83-91

(收稿日期:2018-07-20)

(修回日期:2018-08-20)