



阿尔茨海默病:自噬与 β 淀粉样肽关系的研究进展

金 贺¹, 王 蓉^{1,2,3,4}

(1. 首都医科大学宣武医院中心实验室, 2. 北京市老年医疗研究中心,
3. 北京脑重大疾病研究院, 4. 神经变性病教育部重点实验室, 北京 100053)

【摘要】 自噬是机体利用溶酶体清除受损细胞器和功能障碍蛋白质, 以维持蛋白质平衡和细胞内环境稳态的重要途径。而阿尔茨海默病作为一种以异常蛋白聚集为主要特征的中枢神经系统退行性疾病, 自噬在其发病机制中的作用尚不明确, 本文试以 $A\beta$ 为切入点, 探讨自噬对阿尔茨海默病的影响。

【关键词】 阿尔茨海默病、 β 淀粉样肽、自噬

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2015) 08-0068-04

doi: 10. 3969. j. issn. 1671. 7856. 2015. 008. 014

Research progress of the relationship between autophagy and β -amyloid peptide in Alzheimer's disease

JIN he¹, WANG rong^{1,2,3,4}

(1. Central Laboratory, Xuan Wu Hospital, Capital Medical University,
2. Center of Alzheimer's Disease, Beijing Institute for Brain Disorders,
3. Key Laboratory for Neurodegenerative Disease of Ministry of Education,
4. Beijing Geriatric Medical Research Center, Beijing 10053, China)

【Abstract】 Autophagy is an important pathway in the body to remove damaged cell organelles and dysfunctional proteins to maintain protein equilibrium and intracellular homeostasis by the lysosomal system. As a degenerative disease of central nervous system, the main feature of Alzheimer's disease is abnormal protein aggregation. However, the role of autophagy in the pathogenesis of Alzheimer's disease is not fully clear yet. The aim of this paper is to take β -amyloid peptide as a starting point to explore the relationship between autophagy and β -amyloid peptide in the pathogenesis of Alzheimer's disease.

【Key words】 Alzheimer's disease; β -peptide amyloid; Autophagy

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 又称老年性痴呆, 是一种最常见的中枢神经系统退行性疾病。该病起病隐匿, 呈渐进性发展, 患者主要表现为记忆力下降、认知能力减退, 最终导致生活自理能力完全丧失^[1]。随着社会人口老龄化的进展,

AD 已严重威胁人类健康, 庞大的患者群体给家庭和社会带来了沉重的精神和经济负担。但该病的发病机制目前尚未明确。尸检研究证实 β 淀粉样肽 (β -amyloid peptide, $A\beta$) 沉积形成的老年斑 (senile plaque, SP) 和神经元纤维缠结 (nerve fiber

[基金项目] 国家自然科学基金 (303-01-002-197); 北京市自然科学基金 (7132044); 首发基金 (2014-1-1031)。

[作者简介] 金贺, 女, 研究生, 专业: 生物化学与分子生物学, E-mail: 91jinhe@sina.com。

[通讯作者] 王蓉, 女, 博士生导师, 研究员, 研究方向: 神经元退行性变的发病机制和防治策略。E-mail: yong_wang72@aliyun.com。

tangles, NFT) 是 AD 的两大病理特征, 并且已经被列入 AD 的诊断标准^[2, 3]。由于寡聚态的 A β 具有神经毒性, 可引发复杂的级联反应, 最终导致神经元死亡和疾病的发生^[4], 其产生过多或清除障碍在 AD 的发生发展过程中扮演重要角色。而自噬作为细胞内清除异常折叠蛋白质、受损细胞器和其他有害物质的主要途径, 对 β 淀粉样肽产生和清除的平衡具有重要作用^[5]。笔者拟就目前 AD 中有关自噬与 β 淀粉样肽关系的研究进展做一综述。

1 自噬

泛素-蛋白酶体系统和自噬溶酶体系统是真核细胞降解和循环利用细胞内物质的两种主要途径, 泛素-蛋白酶系统主要降解短半衰期蛋白质, 而自噬主要降解长半衰期蛋白质和细胞器^[6]。因此自噬是维持细胞正常周期的必要程序。根据底物进入到溶酶体腔途径的不同, 哺乳动物自噬可分为三类: 大自噬 (macroautophagy)、小自噬 (microautophagy) 和分子伴侣介导的自噬 (chaperone-mediated autophagy)^[7]。由于大自噬是自噬的主要途径, 本文所述及的自噬均指大自噬。自噬途径起始于细胞内形成双层膜结构的自噬泡, 自噬泡包裹细胞内受损细胞器和聚集的蛋白质, 并逐渐延长、融合, 形成自噬小体, 自噬小体进一步与溶酶体融合形成自噬溶酶体, 溶酶体内水解酶降解加工底物以维持细胞内代谢平衡^[6]。自噬过程受 30 多种自噬相关基因 (autophagy-related gene, Atg) 以及其他分子的调控, 分为启动、延长、融合、降解四个步骤。在自噬的启动和延长阶段主要受哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 途径以及 PI3KIII 型途径的调节; 自噬体与溶酶体融合的过程受 LC3、beclin-1、LAMP1 和 2 及早老素 1 等的调控; 而溶酶体内多种蛋白水解酶则参与自噬降解过程。由于大量研究表明异常聚集的蛋白质可以导致细胞器损害、突触功能障碍和神经元退化, 因此自噬作为清除细胞外异常聚集蛋白质的主要途径, 其在中枢神经系统退行性疾病的发生发展中具有重要作用^[8]。

2 自噬与 AD

2.1 自噬功能紊乱与 AD 发病

AD 是一种以渐进性痴呆为特征性临床表现的中枢神经系统退行性疾病, 病理改变主要有脑萎

缩, 细胞外 A β 形成的老年斑沉积和细胞内 tau 蛋白磷酸化形成的神经元纤维缠结。近年来很多学者认为, 作为老年斑主要成分的 A β 可能是 AD 的原发性病理因子^[9]。在正常情况下 A β 的产生和降解保持平衡。大量证据表明无论是 AD 模型还是 AD 患者, 自噬功能异常均与 A β 的产生、清除及其诱导的神经毒性密切相关。A β 沉积之前, PS1/APP 小鼠神经细胞内就已发现大量自噬小体的存在, 8 周龄小鼠神经细胞自噬囊泡数目较正常小鼠高 5 倍, 而 9 月龄小鼠则至少高 23 倍^[10, 11]。而且自噬相关标志物 Atg5、Atg12 和 LC3 与 AD 的老年斑沉积和神经原纤维缠结等病理改变相关^[12]。对 AD 相关基因的研究也表明 PS-1、GSK-3 β 可通过干扰溶酶体酸化和自噬降解过程而介导 AD 的发生^[13, 14], 而早发型 AD 相关基因 APP 突变及过表达 ApoE4 均可导致自噬溶酶体功能损害^[15], 提示自噬溶酶体途径参与 AD 的发生发展。

2.2 自噬调控与 AD 的防治

多项研究业已证实, 以自噬途径为靶点进行干预是改善 AD 病理表现行之有效的方法。例如雷帕霉素、Dimebon 等可通过抑制 mTOR 活性激活自噬从而改善 AD 动物模型的病理和行为学表现^[16, 17]。亮氨酸缺乏可引起引起 SH-SY5Y 细胞发生自噬, 并且 A β 随之减少^[18]。牛蒡子提取物牛蒡子甘元既可通过促进自噬而增加 A β 清除又可减少 A β 生成^[19]。并且条件性去除小鼠中枢神经系统的自噬相关蛋白 (ATGs) 可导致其自噬功能丧失并伴随泛素化蛋白的聚集和神经退行性病变的发生^[20, 21]。ATG5 基因敲除或 beclin1 和 Ulk1 基因沉默细胞 A β 和 β CTF 水平显著升高^[22]。但自噬在 AD 发生发展中的具体作用机制目前尚不清楚, 所以探讨自噬与 A β 产生和清除之间的关系具有重要意义。

3 自噬与 A β

3.1 自噬影响 A β 的分泌

大量证据表明正常情况下自噬可以通过清除 A β , 对神经系统起到保护作用。 α 7 型烟碱样乙酰胆碱受体 (α 7nAChR) 是一种含半胱氨酸环的配体门控离子通道受体, 对 Ca²⁺ 具有高度通透性, 可调节乙酰胆碱的释放, 对认知和记忆功能有重要影响, 并且在人类神经母细胞瘤细胞系 SH-SY5Y 细胞和海马 CA1 区及皮层广泛表达^[23-27]。细胞实验表明在培养基中用外源性 A β 1-42 处理使神经细胞中

A β 1-42 聚集,后续用 α 7nAChR 拮抗物 α -BTX 共作用可增强 A β 在 SH-SY5Y 细胞中的毒性作用,而用 nAChR 兴奋剂 nicotine 处理可增强 α 7nAChR 与自噬小体的聚集,并抑制应用 A β 后导致的细胞死亡^[28]。基因水平的研究也表明用 Atg7siRNA 抑制早期阶段自噬体的形成或用 α 7nAChR siRNA 可以显著增强自噬诱导的神经毒性。故 Shil-Ya Hung 等认为是 α 7nAChR 作为载体将 A β 转运至细胞质,经自噬途径降解,从而抑制 A β 的细胞毒性^[28]。在动物模型中 Nordberg 和 Hellstrom-Lindhag 分别用长期(4.5 月)和短期(10 天)的 nicotine 处理都可以减少 APP^{sw} 小鼠脑内 A β 的沉积和不可溶性 A β ,而不影响可溶性 A β 、 α / β / γ 分泌酶活性和 APP 合成,提示 nicotine 诱导的自噬增强可能在细胞外 A β 的清除中发挥作用^[29, 30]。溶酶体组织蛋白酶 B (CSTB) 是木瓜蛋白酶家族中的一种半胱氨酸蛋白酶,可降解溶酶体系统内的多肽和蛋白质。Dun-Sheng Yang 等在 TgCRND8 小鼠中敲除 CSTB 基因,以加强 CSTB 活性,发现小鼠脑组织中 A β 沉积现象明显改善, A β 40 和 A β 42 水平显著下降,并且在惊恐试验和嗅觉记忆实验中与对照组相比表现出更好的学习和记忆能力^[31, 32]。而 CSTB 缺失的小鼠脑内 A β 1-42 水平升高, A β 斑块过度沉积^[33]。又 PADK 作为一种溶酶体调节剂,可以升高 CSTB 水平及其活性,减少 AD 小鼠脑组织中的 A β 沉积^[34]。ATG5 基因敲除或 Beclin1 和 Ulk1 基因沉默细胞 A β 和 β CTF 水平显著升高^[22]。

3.2 A β 聚集与自噬诱导的神经系统退行性疾病

虽然自噬通过清除异常聚集的蛋白质发挥神经保护作用已被大家广泛接受和认可,但随着研究的深入,有些学者认为异常的自噬反而导致了造成神经系统退行性病变的异常聚集蛋白质的产生,对细胞具有损伤作用^[35]。自噬的功能可受多种因素的影响,如衰老、营养不良、氧化应激、小分子物质等。例如 A β 既可以被自噬途径清除,又可以作为调控点来诱导自噬以维持其自身的平衡^[28, 36, 37]。正常情况下 A β 清除障碍可激活 beclin1 诱导的自噬正调控通路,使其对 A β 清除能力增强,对抗 A β 毒性引起的神经损伤^[28]。但研究表明 AD 病人早期脑内 beclin1 蛋白表达减少, beclin1 缺乏使自噬体成熟过程受阻,AVs 积累,造成 A β 生成增加^[8]。这提示一旦自噬功能障碍可使 A β 不能被有效清除。Nixon 等用免疫电子显微镜研究显示,在 AD 患

者脑内营养不良神经突的神经细胞内自噬泡和自噬小体显著聚集,也提示在 AD 中自噬介导的蛋白质降解途径发生进展性功能障碍^[38]。而在 Yu 等研究中发现无论在神经细胞还是非神经细胞(过表达野生型人类 APP 的转基因小鼠肝细胞)自噬囊泡中均富集 A β 、APP 羧基末端(C 末端)片段 β -CTF 和早老素依赖性 γ 分泌酶,认为自噬体可产生 A β ^[10, 11]。但其具体机制尚不清楚,有待于进一步研究。

4 总结与展望

综上所述,在正常情况下,神经元自噬功能活跃^[39],APP 可在自噬溶酶体中剪切生成 A β ,随后被自噬溶酶体清除,以防止 A β 聚集^[40]。但随着年龄增长,基因作用,代谢产物聚集等因素的影响,体内自噬溶酶体的降解过程受损,自噬能力减弱,A β 的清除变慢,游离的 A β 增加达到一定浓度时,就会聚集、沉积,从而产生细胞毒性,并进一步阻止自噬的更新^[10]。所以明确自噬功能在 AD 不同阶段的变化情况,在体内 A β 达到临界浓度之前,以自噬过程中某些信号分子为靶点进行干预,以期阻止 A β 的沉积,对于防治 AD 的发生发展具有重要的理论意义和广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] Boeve BF. Mild cognitive impairment associated with underlying Alzheimer's disease versus Lewy body disease [J]. Parkinsonism Relat Disord, 2012, 18(Suppl 1): S41-S44.
- [2] Serrano-Pozo A, Frosch MP, Masliah E, et al. Neuropathological alterations in Alzheimer disease [J]. Cold Spring Harb Persp Med, 2011, 1(1): a6189.
- [3] Korczyn AD. Commentary on "Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease." [J]. Alzheimer's & Dementia, 2011, 7(3): 333-334.
- [4] 董雯,王蓉. β 淀粉样肽与阿尔茨海默病的研究进展[J]. 神经损伤与功能重建, 2014, 6(5): 418-420.
- [5] Eisenstein M. Molecular biology: remove, reuse, recycle [J]. Nature, 2014, 514(7522): S2-S4.
- [6] Moreira PI, Santos RX, Zhu X, et al. Autophagy in Alzheimer's disease [J]. Expert Rev Neurotherapeut, 2010, 10(7): 1209-1218.
- [7] Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, et al. Autophagy fights disease through cellular self-digestion [J]. Nature, 2008, 451(7182): 1069-1075.
- [8] Banerjee R, Beal MF, Thomas B. Autophagy in neurodegenerative disorders: pathogenic roles and therapeutic

- implications [J]. Trends Neurosci, 2010, 33(12): 541–549.
- [9] 张静爽, 王蓉. 阿尔茨海默病发生机制的研究进展 [J]. 首都医科大学学报, 2014, 35(6): 721–724.
- [10] Yu WH, Cuervo AM, Kumar A, et al. Macroautophagy—a novel β -amyloid peptide-generating pathway activated in Alzheimer's disease [J]. J Cell Biol, 2005, 171(1): 87–98.
- [11] Yu WH, Kumar A, Peterhoff C, et al. Autophagic vacuoles are enriched in amyloid precursor protein-secretase activities; implications for β -amyloid peptide over-production and localization in Alzheimer's disease [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2004, 36(12): 2531–2540.
- [12] Ma JF, Huang Y, Chen SD, et al. Immunohistochemical evidence for macroautophagy in neurones and endothelial cells in Alzheimer's disease [J]. Neuropathol Appl Neurobiol, 2010, 36(4): 312–319.
- [13] Lee J, Yu WH, Kumar A, et al. Lysosomal proteolysis and autophagy require presenilin 1 and are disrupted by Alzheimer-related PS1 mutations [J]. Cell, 2010, 141(7): 1146–1158.
- [14] Avrahami L, Farfara D, Shaham-Kol M, et al. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 ameliorates β -amyloid pathology and restores lysosomal acidification and mammalian target of rapamycin activity in the Alzheimer disease mouse model; in vivo and in vitro studies [J]. J Biol Chem, 2013, 288(2): 1295–1306.
- [15] Belinson H, Lev D, Masliah E, et al. Activation of the amyloid cascade in apolipoprotein E4 transgenic mice induces lysosomal activation and neurodegeneration resulting in marked cognitive deficits [J]. J Neurosci, 2008, 28(18): 4690–4701.
- [16] Bové J, Martínez-Vicente M, Vila M. Fighting neurodegeneration with rapamycin; mechanistic insights [J]. Nature Rev Neurosci, 2011, 12(8): 437–452.
- [17] Steele JW, Lachenmayer ML, Ju S, et al. Latrepirdine improves cognition and arrests progression of neuropathology in an Alzheimer's mouse model [J]. Mol Psychiatry, 2012, 18(8): 889–897.
- [18] Onodera J, Ohsumi Y. Autophagy is required for maintenance of amino acid levels and protein synthesis under nitrogen starvation [J]. J Biol Chem, 2005, 280(36): 31582–31586.
- [19] Zhu Z, Yan J, Jiang W, et al. Arctigenin effectively ameliorates memory impairment in Alzheimer's disease model mice targeting both β -amyloid production and clearance [J]. J Neurosci, 2013, 33(32): 13138–13149.
- [20] Hara T, Nakamura K, Matsui M, et al. Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in mice [J]. Nature, 2006, 441(7095): 885–889.
- [21] Komatsu M, Waguri S, Chiba T, et al. Loss of autophagy in the central nervous system causes neurodegeneration in mice [J]. Nature, 2006, 441(7095): 880–884.
- [22] Tian Y, Bustos V, Flajolet M, et al. A small-molecule enhancer of autophagy decreases levels of A and APP-CTF via Atg5-dependent autophagy pathway [J]. The FASEB J, 2011, 25(6): 1934–1942.
- [23] Young JW, Crawford N, Kelly JS, et al. Impaired attention is central to the cognitive deficits observed in alpha 7 deficient mice [J]. Eur Neuropsychopharmacol, 2007, 17(2): 145–155.
- [24] Hoyle E, Genn RF, Fernandes C, et al. Impaired performance of alpha7 nicotinic receptor knockout mice in the five-choice serial reaction time task [J]. Psychopharmacology, 2006, 189(2): 211–223.
- [25] Berg DK, Conroy WG. Nicotinic $\alpha 7$ receptors: synaptic options and downstream signaling in neurons [J]. J Neurobiol, 2002, 53(4): 512–523.
- [26] Court JA, Martin-Ruiz C, Graham A, et al. Nicotinic receptors in human brain: topography and pathology [J]. J Chem Neuroanat, 2000, 20(3–4): 281–298.
- [27] Peng X, Gerzanich V, Anand R, et al. Chronic nicotine treatment up-regulates alpha3 and alpha7 acetylcholine receptor subtypes expressed by the human neuroblastoma cell line SH-SY5Y [J]. Mol Pharmacol, 1997, 51(5): 776–784.
- [28] Hung SY, Huang WP, Liou HC, et al. Autophagy protects neuron from Abeta-induced cytotoxicity [J]. Autophagy, 2009, 5(4): 502–510.
- [29] Hellstrom-Lindahl E, Court J, Keverne J, et al. Nicotine reduces Ab in the brain and cerebral vessels of APPsw mice [J]. Eur J Neurosci, 2004, 19(10): 2703–2710.
- [30] Nordberg A, Hellstrom-Lindahl E, Lee M, et al. Chronic nicotine treatment reduces beta-amyloidosis in the brain of a mouse model of Alzheimer's disease (APPsw) [J]. J Neurochem, 2002, 81(3): 655–658.
- [31] Yang DS, Stavrides P, Mohan PS, et al. Reversal of autophagy dysfunction in the TgCRND8 mouse model of Alzheimer's disease ameliorates amyloid pathologies and memory deficits [J]. Brain, 2010, 134(1): 258–277.
- [32] Yang DS, Stavrides P, Mohan PS, et al. Therapeutic effects of remediating autophagy failure in a mouse model of Alzheimer disease by enhancing lysosomal proteolysis [J]. Autophagy, 2011, 7(7): 788–789.
- [33] Mueller-Stieber S, Zhou Y, Arai H, et al. Anti-amyloidogenic and neuroprotective functions of cathepsin B: implications for Alzheimer's disease [J]. Neuron, 2006, 51(6): 703–714.
- [34] Butler D, Hwang J, Estick C, et al. Protective effects of positive lysosomal modulation in Alzheimer's disease transgenic mouse models [J]. PLoS ONE, 2011, 6(6): e20501.
- [35] Tung YT, Wang BJ, Hu MK, et al. Autophagy: a double-edged sword in Alzheimer's disease [J]. J Biosci, 2012, 37(1): 157–165.
- [36] Hayashi S, Sato N, Yamamoto A, et al. Alzheimer disease-associated peptide, amyloid beta40, inhibits vascular regeneration with induction of endothelial autophagy [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2009, 29(11): 1909–1915.
- [37] Lipinski MM, Zheng B, Lu T, et al. Genome-wide analysis reveals mechanisms modulating autophagy in normal brain aging and in Alzheimer's disease [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(32): 14164–14169. (下转第 75 页)

参考文献:

- [1] 许钟麟. 洁净室及其受控环境设计[M]. 北京, 化学工业出版社, 2008. 03.
- [2] 中华人民共和国住房和城乡建设部, 中华人民共和国质量监督检验检疫总局. 实验动物 环境及设施 (GB14925-2010) [S]. 北京, 中国标准出版社, 2011. 02.
- [3] 中华人民共和国住房和城乡建设部, 中华人民共和国质量监督检验检疫总局. 实验动物设施建筑技术规范 (GB50447-2008) [S]. 北京, 中国建筑工程出版社, 2008. 08.

- [4] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 实验动物机构 质量和能力的通用要求 (GB50447-2014) [S]. 北京, 中国建筑工程出版社, 2014. 09.
- [5] 丁士昭, 逢宗展. 机电工程管理与实务[M]. 北京, 中国建筑工业出版社, 2014. 04.

[修回日期]2015-07-10

(上接第 61 页)

- [2] 高改霞, 卫小春, 李凯, 等. 大鼠膝关节软骨不同染色方法的差异 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 24(14): 4385-4389.
- [3] 简月奎, 吴雪晖, 田晓滨, 等. 不同方法显像骨组织微血管的对比研究 [J]. 中国矫形外科杂志, 2008, 16(7): 535-536.
- [4] 李坚, 娄玉铃, 李满意, 等. 健膝丸对大鼠膝关节组织形态学的影响 [J]. 风湿病与关节炎, 2013, 2(1): 13-17.
- [5] 席越, 孟淑琴, 宫丽华, 等. 骨组织病理学技术 (第 2 版) [M]. 北京: 人民卫生出版社. 2009: 1.
- [6] 袁雪凌, 汪爱媛, 孟昊业, 等. 兔膝关节炎症进程中软骨下骨血管生成的实验研究 [J]. 中华关节外科杂志 (电子版), 2013, 7(6): 810-814.
- [7] Schmitz N, Laverty S, Kraus VB, et al. Basic methods in histopathology of joint tissues [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2010,

18(Suppl 3): 113-116.

- [8] Király K, Lapveteläinen T, Arokoski J, et al. Application of selected cationic dyes for the semiquantitative estimation of glycosaminoglycans in histological sections of articular cartilage by microspectrophotometry [J]. Histochem J, 1996, 28(8): 577-590.
- [9] Dimri GP, Lee XH, Basile G, et al. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo [J]. Proc Natl Sci U S A, 1995, 92(20): 9363-9367.
- [10] Itahana K, Campisi J, Dimri GP. Methods to detect biomarkers of cellular senescence: the senescence-associated beta-galactosidase assay [J]. Methods Mol Biol, 2007, 371: 21-31.

[修回日期]2015-07-12

(上接第 71 页)

- [38] Nixon RA, Wegiel J, Kumar A, et al. Extensive involvement of autophagy in Alzheimer disease: an immuno-electron microscopy study [J]. J Neuropathol Exp Neurol, 2005, 64(2): 113-122.
- [39] Fimia GM, Bartolomeo SD, Piacentini M, et al. Unleashing the Ambra1-Becn1 complex from dynein chains: Ulk1 sets Ambra1 free to induce autophagy [J]. Autophagy, 2011, 7(1): 115

-117.

- [40] 刘敏, 马建芳, 汤荟冬. 自噬在阿尔茨海默病中的作用机制及治疗前景 [J]. 中国现代神经疾病杂志, 2014(05): 441-445.

[修回日期]2015-07-10