

芪七连胶囊对自发性高血压大鼠左心室肥厚的保护作用

罗远¹, 岳桂华², 叶云^{3*}, 付蕾¹

(1. 广西中医药大学附属瑞康医院, 南宁 530011; 2. 广西中医药大学, 南宁 530001;
3. 中国人民解放军第303医院, 南宁 530021)

[摘要] 目的:观察芪七连胶囊对自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rats, SHR)左心室肥厚的保护作用,并探讨其可能的作用机制。方法:取12周龄的SHR,随机分为模型组,氯沙坦组(4 mg·kg⁻¹),芪七连胶囊组高、中、低剂量组(1.2, 0.6, 0.3 g·kg⁻¹),每组10只,另取10只健康WKY大鼠作为正常组,正常组*ig*给生理盐水,给药组*ig*给相应药物,连续给药6周。每周无创尾套法测量大鼠尾动脉收缩压,采用ELISA测定血清中肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor alpha, TNF-α),白介素-1β(interleukin-1β, IL-1β),白介素-10(interleukin-10, IL-10)及高敏C-反应蛋白(high-sensitivity C-reactive protein, hs-CRP)的含量,观察各组大鼠心肌肥厚参数及心肌形态学变化。结果:与正常组比较,模型组SHR血压明显升高,血清中TNF-α, IL-1β, hs-CRP含量明显升高,IL-10的含量明显降低($P < 0.01$),左心室肥厚指数(LVHI),左心室湿质量(left ventricular weight, LVW)/右心室湿质量(right ventricular weight, RVW),心肌纤维直径(myocardial fiber diameter, MD)明显增加($P < 0.01$);与模型组比较,芪七连胶囊高、中、低剂量组能明显降低SHR血压,明显降低血清中TNF-α, IL-1β, hs-CRP含量,增加血清中IL-10的含量($P < 0.01$),并能明显降低SHR大鼠的LVHI, LVW/RVW, MD的水平($P < 0.05, P < 0.01$)。病理学检测发现,模型组可见心肌细胞弥漫性肥大,畸形、核大、深染,心肌纤维轻度水肿,排列紊乱,炎性细胞浸润明显,各给药组均能明显改善。结论:芪七连胶囊对SHR左心室肥厚具有保护作用,其作用机制可能与抑制炎症因子的表达有关。

[关键词] 芪七连胶囊; 左心室肥厚; 心肌组织; 炎症因子

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)19-0116-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015190116

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150824.1009.024.html>

[网络出版时间] 2015-08-24 10:09

Protective Effect of Qiqilian Capsule Against Left Ventricular Hypertrophy of Spontaneously Hypertensive Rats LUO Yuan¹, YUE Gui-hua², YE Yun^{3*}, FU Lei¹ (1. Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530011, China; 2. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China; 3. No. 303 Hospital of People's Liberation Army, Nanning 530021, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the protective effect of Qiqilian capsule on the left ventricular hypertrophy (LVH) of spontaneously hypertensive rats (SHR) and explore the possible mechanisms. **Method:** Twelve-week-old SHRs were divided into the model group, the losartan group (4 mg·kg⁻¹) and Qiqilian capsule high, middle and low dose groups (1.2, 0.6, 0.3 g·kg⁻¹), with 10 rats in each group. Another 10 healthy WKY rats were included in the normal group and given normal saline, *ig*. All of treatment groups were given corresponding drugs, *ig*, for consecutively six weeks. The blood pressure were measured by tail-cuff, and the method of ELISA was used to determine the contents of serum tumor necrosis factor alpha (TNF-α), interleukin-1β (IL-1β), interleukin-10 (IL-10) and high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP). Changes of cardiac hypertrophy parameters of SHRs were observed. **Result:** Compared with the normal group, the model group showed significant higher SHR blood pressure, serum TNF-α, IL-1β, hs-CRP, left ventricular hypertrophy index (LVH), left ventricular weight (LVW), right ventricular weight (RVW), myocardial fiber diameter (MD) and

[收稿日期] 20140824(007)

[基金项目] 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科攻1355004-2);广西壮族自治区卫生厅中医药科技专项(GZBZ14-05)

[第一作者] 罗远, 硕士, 助理研究员, 从事中药民族药研究与开发工作, Tel:0771-2238816, E-mail:luoyuanr@126.com

[通讯作者] *叶云, 药师, 从事药物制剂开发工作, Tel:0771-2878036, E-mail:16101467@qq.com

lower IL-10 content ($P < 0.01$). The Qiqilian capsule high, middle-and-low-dose groups showed significantly lower blood pressure of SHRs, TNF- α , IL-1 β , hs-CRP, lower IL-10 content ($P < 0.01$) and lower LVHI, LVW/RVW, MD in SHR rats ($P < 0.05$, $P < 0.01$). According to the pathological detection, the model group showed diffuse enlargement, deformity, large nucleus, hyperchromic effect in myocardial cells, mild edema and disorder arrangement in myocardial fibers arranged, and significant inflammatory cell infiltration; all treatment groups showed obvious mitigations. **Conclusion:** Qiqilian capsule has the protective effect against LVH in SHRs, and the mechanism may be related to inhibition of the expression of inflammatory cytokines.

[Key words] Qiqilian capsule; left ventricle hypertrophy; myocardial tissue; inflammatory factors

左心室肥厚(left ventricular hypertrophy, LVH)是高血压左室后负荷升高状态下减少室壁张力,维持心脏功能的一种代偿,是高血压常见的常见的并发症之一。机体高血压状态下,可诱导多种细胞分泌肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素-1 β (IL-1 β),白介素-10(IL-10)及高敏C-反应蛋白(hs-CRP)等炎性细胞因子,介导炎症反应,并参与心肌缺血及心肌肥厚等病理过程^[1]。临床研究表明^[2-3],TNF- α ,IL-1 β 等促炎因子与LVH的病理严重程度呈正相关。因此,衡量药物能否控制、逆转/消除LVH状态,其关键是对炎性因子的调控程度。

芪七连胶囊是广西中医药大学附属瑞康医院院内制剂,由黄芪、黄连、三七、蒲黄、黄柏等药组成,具有益气活血解毒之功效。临床观察发现,其具有良好的降压作用^[4-6]。本实验研究通过芪七连胶囊对SHR左心室肥厚的影响,测定血清中TNF- α ,IL-1 β ,IL-10,hs-CRP的含量,以探索其改善心肌肥厚的作用机制,为其进一步的临床应用提供科学依据。

1 材料

1.1 动物 雄性SHR 50只和正常血压Wistar-kyoto(WKY)大鼠10只,体重(200 \pm 10)g,12周龄,SHR购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号SCXK(京)2006-0009。WKY组为正常组,购自广西医科大学动物实验中心,合格证号SCXK(桂)2006-0003。

1.2 药物及试剂 芪七连胶囊(广西中医药大学附属瑞康医院民族医药研发基地生产,批号2013062101),氯沙坦钾(杭州默沙东制药有限公司,批号120028),TNF- α (批号201308),IL-1 β (批号201308),IL-10(批号201308),hs-CRP(批号201308)均购自武汉市博士德生物工程有限公司。

1.3 仪器 MK3型酶标(美国Thermo Fisher公司),1575型洗板机(美国Bio-Rad),BP190S型电子天平(德国Startorius公司),LKB-V型超薄切片机(瑞士LKB公司),BP-6型大鼠无创血压测试仪(成

都泰盟科技有限公司),5810R型低温高速离心机(德国Eppendorf公司),PTPS-2011型彩色病理图文分析系统(重庆天海医疗设备有限公司)。

2 方法

2.1 分组及给药 取SHR大鼠50只,随机分为模型组,氯沙坦组,芪七连胶囊组,每组10只,另取10只WKY大鼠作为正常组。给药剂量为:氯沙坦组(4 mg \cdot kg⁻¹),芪七连胶囊高、中、低剂量组(1.2, 0.6, 0.3 g \cdot kg⁻¹,根据人与大鼠体表面积转换,分别相当于人的临床剂量0.5, 1, 2倍量)、模型组、正常组灌服等容积蒸馏水。每日1次,每次给药量为10 mL \cdot kg⁻¹,连续给药6周。

2.2 血压测量 每周用BP-6无创尾动脉血压测量分析系统测量清醒状态下大鼠尾动脉血压,记录并绘制血压-时间曲线图。

2.3 血清炎性因子测定 给药6周后,上述各组动物以戊巴比妥30 mg \cdot kg⁻¹ ip麻醉,迅速从腹主动脉取血,-4 $^{\circ}$ C低温离心(3 000 r \cdot min⁻¹)10 min,取上清液,-80 $^{\circ}$ C保存备用。采用ELISA法测定血清中TNF- α ,IL-1 β ,IL-10,hs-CRP的含量,均按各试剂说明书严格操作。

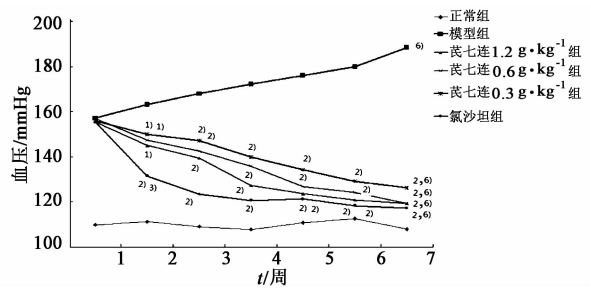
2.4 心肌肥厚指标、左室心肌纤维直径测定及心肌组织形态学病变观察 取血后,处死大鼠,迅速取心脏,去除心房、大血管和心包组织,用预冷的生理盐水冲洗干净,滤纸吸干水分,称取左心室湿质量(left ventricular weight, LVW)和右心室湿质量(right ventricular weight, RVW),计算左心室肥厚(left ventricular hypertrophy index, LVHI)指数^[7](LVHI = LVW/体重),LVW/RVW。于左心室壁长轴中点处垂直方向切取心肌组织,用10%多聚甲醛固定,石蜡切片,厚度为5 μ m,HE染色,观察SHR心肌组织形态学情况,并用PTPS-2011彩色病理图文分析系统观察(\times 400)切片,每张切片随机取5个视野,测30个心肌纤维直径(myocardial fiber diameter, MD),取平均值,观察心肌肥厚的程度。

2.5 统计学分析 采用 SPSS 17.0 软件进行统计处理,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用两独立样本 t 检验,组内不同时间点数据比较采用配对 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 SHR 血压的影响 与模型组比较(同时间点),在给药后 1 周至 6 周,氯沙坦组与芪七连胶囊高、中、低剂量组有明显的降压作用 ($P < 0.05, P < 0.01$);组内相邻时间比较,氯沙坦组在给药后 1 周即现明显降压的作用 ($P < 0.05$),而芪七连胶囊各组在相邻时间点无显著差异,但在给药后 5 周血压均降到正常范围,表明芪七连胶囊将血压的作用较为缓和;治疗后 6 周,各组与治疗前比较,模型组血压因无药物干预,血压持续上升 ($P < 0.01$),芪七连胶囊组有显著的降压作用 ($P < 0.01$),但与氯沙坦组比较,芪七连胶囊组无优效性。见图 1。

3.2 对 SHR 血清中炎症因子的影响 给药后 6 周,与正常组比较,模型组 TNF- α , IL-1 β , hs-CRP 炎症因子的含量明显升高 ($P < 0.01$),IL-10 含量明显



同时间点,与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;组内相邻时间比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$;治疗 6 周与治疗前比较⁵⁾ $P < 0.05$,⁶⁾ $P < 0.01$ (1 mmHg = 0.133 kPa)

图 1 芪七连胶囊对 SHR 血压的影响

Fig.1 Effects of Qiqilian capsules on blood pressure of SHR

降低 ($P < 0.01$);与模型组比较,芪七连胶囊高、中、低剂量组能有效降低 SHR 血清中促炎因子 TNF- α , IL-1 β , hs-CRP 炎症因子的含量 ($P < 0.01$),增强血清中抗炎因子 IL-10 的含量 ($P < 0.01$),表明其可抑制 SHR 血清中炎症的发展。与氯沙坦组比较,芪七连胶囊高、中剂量组在抑制 SHR 血清中 TNF- α , IL-1 β 的表达更加有优效性 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 1。

表 1 芪七连胶囊对 SHR 血清中炎症因子的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effects of Qiqilian capsules on serum inflammatory factors of SHR ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TNF- α /ng·L ⁻¹	IL-1 β /ng·L ⁻¹	IL-10/ng·L ⁻¹	hs-CRP/ μ g·L ⁻¹
正常	-	163.73 \pm 17.06	31.58 \pm 2.62	73.47 \pm 2.65	4.15 \pm 0.10
模型	-	394.52 \pm 14.11 ²⁾	81.04 \pm 4.34 ²⁾	39.43 \pm 2.79 ²⁾	10.22 \pm 0.67 ²⁾
氯沙坦	0.004	277.39 \pm 12.76 ⁴⁾	60.50 \pm 3.18 ⁴⁾	55.66 \pm 1.64 ⁴⁾	6.16 \pm 0.39 ⁴⁾
芪七连胶囊	0.3	291.44 \pm 20.05 ⁴⁾	69.19 \pm 5.61 ⁴⁾	63.07 \pm 2.34 ⁴⁾	7.33 \pm 0.82 ⁴⁾
	0.6	249.17 \pm 15.30 ^{4,5)}	49.63 \pm 3.21 ^{4,5)}	57.12 \pm 2.27 ⁴⁾	5.93 \pm 0.71 ⁴⁾
	1.2	228.90 \pm 16.49 ^{4,6)}	43.15 \pm 4.31 ^{4,5)}	49.24 \pm 1.85 ⁴⁾	5.41 \pm 0.30 ⁴⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$;与氯沙坦组比较⁵⁾ $P < 0.05$,⁶⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

3.3 对 SHR 左心室肥厚指标的影响 给药后 6 周,与正常组比较,模型组左心室肥厚指标 LVHI, LVW/RVW, MD 指数明显升高 ($P < 0.01$);与模型比较,芪七连胶囊高、中、低剂量组、氯沙坦组在左心室肥厚指标 LVHI, LVW/RVW, MD 指数,均有较大的改善 ($P < 0.05, P < 0.01$),表明芪七连胶囊对 SHR 左心室肥厚具有较好的保护作用。与氯沙坦组比较,芪七连胶囊无优效性。见表 2。

3.4 对 SHR 心肌组织形态学改变的影响 光镜下观察,正常组可见心肌纤维排列整齐、胞核明显,无细胞肿胀;模型组可见心肌细胞弥漫性肥大,畸形、核大、深染,心肌纤维轻度水肿,排列紊乱,炎性细胞浸润明显;氯沙坦组可见心肌细胞轻度水肿,心肌纤维排列局部紊乱,炎性细胞浸润较模型组稍有改善;

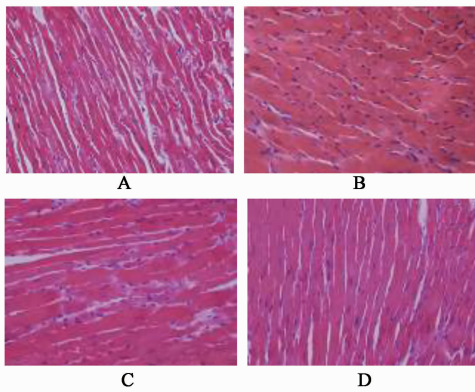
表 2 芪七连胶囊对 SHR 左心室心肌肥厚指数及心肌纤维直径的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of Qiqilian capsules on LVHI and MD in SHR with LVH ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	LVHI/mg·g ⁻¹	LVW/RVW	MD/ μ m
正常	-	2.28 \pm 0.40	4.36 \pm 0.27	40.68 \pm 3.34
模型	-	3.85 \pm 0.47 ²⁾	5.79 \pm 0.64 ²⁾	57.26 \pm 3.52 ²⁾
氯沙坦	0.004	2.87 \pm 0.41 ⁴⁾	4.80 \pm 0.28 ³⁾	47.20 \pm 2.84 ⁴⁾
芪七连胶囊	0.3	3.30 \pm 0.51 ³⁾	5.13 \pm 0.34 ³⁾	50.81 \pm 4.37 ³⁾
	0.6	2.73 \pm 0.44 ⁴⁾	4.65 \pm 0.31 ³⁾	48.34 \pm 3.46 ⁴⁾
	1.2	2.52 \pm 0.47 ⁴⁾	4.37 \pm 0.40 ³⁾	46.21 \pm 2.72 ⁴⁾

芪七连胶囊高剂量组 (1.2 g·kg⁻¹) 可见心肌细胞轻度肥大,心肌纤维排列较整齐,较少炎性细胞浸润,

较模型组比较,有较好的改善。芪七连中、低剂量组与氯沙坦组相似。见图 2。



A. 正常组;B. 模型组;C. 氯沙坦组;D. 芪七连胶囊 1.2 g·kg⁻¹组

图 2 芪七连胶囊对 SHR 心肌组织形态学改变的影响(HE, ×400)

Fig.2 Effect of Qiqilian capsules on left ventricular myocardial histopathology in SHR with LVH (HE, ×400)

4 讨论

近年来的研究发现,高血压左心室肥厚病的发展是一种低度慢性炎症的过程^[8-9],其发生发展过程中,炎症的严重程度决定了其病变的程度。当高血压发生时,通常导致血管内皮系统的损伤,从而引起了炎性细胞黏附,促进 TNF- α , IL-1 β , IL-6 等炎性细胞因子的释放,并刺激肝脏合成 hs-CRP,而这些炎性因子的释放,又促进高血压的发展^[10]。高血压通过多重途径,特别是细胞因子及其介导的信号通路、丝裂原活化蛋白激酶(MAPKs)等途径,引发 LVH^[11]。TNF- α , IL-1 β , hs-CRP, IL-10 等炎性因子可通过免疫调节,参与细胞生长、分化、修复和免疫过程,特别是在高血压的机体中,这些炎性细胞因子相互作用,通过免疫调控网络参与 LVH 的发生、发展过程^[2]。

TNF- α 是由激活巨噬细胞分泌的一种促炎性因子,能够同时在一多位点、多层次上启动和/或促进血管平滑肌细胞的增殖与迁移。同时, TNF- α 在压力负荷诱导的心肌肥厚过程中发挥重要作用,过度表达可导致心肌细胞肥大,在压力负荷增加时,心肌中 TNF- α 含量也会增加,也引起心肌蛋白质合成增加,引起心肌肥厚。IL-1 β 是最重要的促炎因子之一,参与免疫调节,介导炎症反应,作为炎症信使能促进吞噬细胞杀伤作用,正常人血中不含 IL-1 β 或含量很低,在机体急性炎症状态下, IL-1 β 水平出现增高。有研究表明^[12], TNF- α , IL-1 β 在心肌细胞上的异常表达,刺激各种生长因子的表达,并作用于心肌细胞,促使心肌肥大。压力负荷增加可引发心肌中

TNF- α , IL-1 β mRNA 转录及蛋白质合成增加,进入血液循环进一步刺激心肌肥厚产生。hs-CRP 是局部炎症或全身炎症的非特异性标示物,主要通过 IL-6 及脂肪组织中的一些细胞因子诱导肝脏产生的一种蛋白质。研究表明^[13], hs-CRP 能加强血管紧张素 II-1 型受体及内皮素-1 受体的作用从而导致 LVH 的发生发展。hs-CRP 的表达程度与 LVH 病情发展程度呈正相关^[14-16]。IL-10 是一种抗炎性因子,具有多种生物学活性的细胞因子,可抑制炎症免疫反应、调节免疫,并明显抑制血管平滑肌细胞增殖,调节细胞外基质的降解,通过对血管细胞外基质及血管平滑肌细胞的影响,可通过多种途径预防、延缓甚至逆转左心室肥厚^[17]。

本实验中发现,芪七连胶囊可以有效的降低 SHR 血清中促炎因子 TNF- α , IL-1 β , hs-CRP 的含量,上调血清中抗炎因子 IL-10 的表达,与模型组比较,具有显著性差异。与氯沙坦组比较,芪七连胶囊高、中剂量组在抑制血清中促炎因子 TNF- α , IL-1 β 的表达更具优效性,可能是由于芪七连胶囊方中的黄连、黄柏等药材,在抑制炎症因子方面,具有较好的作用。心肌组织形态病变观察,更直观的反映了芪七连胶囊在保护 LVH 的作用, LVHI, LVW/RVW, MD 等心肌肥厚指数检测结果表明,芪七连胶囊可有效的降低 LVHI, LVW/RVW, MD 等指数,改善 SHR 左心室肥厚,与模型组比较,具有显著性差异。

综上所述,芪七连胶囊对 SHR 左心室肥厚具有保护作用,其作用机制可能与芪七连胶囊降低 SHR 血清中促炎因子 TNF- α , IL-1 β , hs-CRP 的含量,上调血清中抗炎因子 IL-10 的表达有关。芪七连胶囊是否还通过其他途径保护左心室肥厚,还需开展进一步研究。

[参考文献]

[1] Yin H Q, Zhang J, Lin H, et al. p38MAPK mitogen-activated protein kinase inhibition decrease TNF alpha secretion and protects against left ventricular remodeling in rats with myocardial ischemia [J]. Inflammation, 2008, 31(2): 65-73.
[2] 保彦昕. 炎症因子在原发性高血压患者左心室肥厚中的作用及阿托伐他汀钙的干预作用[J]. 实用心脑血管肺血管病杂志, 2014, 22(5): 13-15.
[3] 江洪, 潘兴寿. 老年高血压左心室肥厚患者炎症因子变化的临床分析[J]. 中国误诊学杂志, 2008, 8(19): 4576-4577.
[4] 覃裕旺, 朱志华, 张爱珍, 等. 芪七连胶囊对高血压病

- 及相关危险因素的影响[J]. 河南中医, 2013, 33(9): 1463-1465.
- [5] 覃裕旺, 朱志华, 张爱珍, 等. 芪七连胶囊合硝苯地平缓释片治疗高血压病的临床研究[J]. 广西中医药, 2013, 36(2): 3-6.
- [6] 覃裕旺, 朱志华, 张爱珍, 等. 芪七连胶囊对高血压病患者生存质量的影响[J]. 江苏中医药, 2013, 45(4): 25-27.
- [7] 邓江, 邓雪松, 罗洁, 等. 当归提取物对大鼠左心室肥厚的保护作用[J]. 中草药, 2013, 44(6): 721-726.
- [8] Li M, Georgakopoulos D, Lu G, et al. p38MAPK MAP kinase mediates inflammatory cytokine induction in cardiomyocytes and extracellular matrix remodeling in heart [J]. Circulation, 2005, 111(19): 2494-2502.
- [9] 冯丽萍, 李娟娟, 刘同强, 等. 氯沙坦逆转维持性血液透析患者左心室肥厚与炎症和氧化应激的关系[J]. 中国血液净化, 2012, 11(8): 421-424.
- [10] 张志伟, 岳桂华, 罗远. 黄连解毒汤对自发性高血压大鼠血栓前状态的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2): 105-108.
- [11] 张伟, 张连峰. 高血压左心室肥厚机制研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2009, 19(9): 63-68.
- [12] 史君, 王静, 王星, 等. 肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-6在高血压心肌肥厚大鼠实验中的意义[J]. 中国医药导报, 2012, 9(6): 23-25.
- [13] Vongpatanasin W, Thomas G D, Schwartz R, et al. C-reactive protein causes downregulation of vascular angiotensin subtype 2 receptors and systolich hypertension in mice [J]. Circulation, 2007, 115(8): 1020-1028.
- [14] Assadi F. Effect of microalbuminuria lowering on regression of left ventricular hypertrophy in children and adolescents with essential hypertension [J]. Pediatr Cardio, 2007, 28(1): 27-33.
- [15] 石峻峰, 张学红, 邹丽英, 等. 宁心汤对高血压性心脏病患者舒张功能及超敏C反应蛋白的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(23): 234-236.
- [16] 付军, 白晶, 冷吉燕, 等. 替米沙坦对原发性高血压患者左室肥厚及C反应蛋白的干预作用[J]. 中国老年学杂志, 2008, 28(19): 1916-1918.
- [17] 黄志刚. IL-10对血管升压素诱导SD大鼠心脏成纤维细胞增殖和胶原合成的影响及其与心脏重构关系的研究[D]. 西安: 第四军医大学, 2006: 28-39.

[责任编辑 周冰冰]