

鸡鸣散镇痛抗炎作用及其机理的时间药理学实验研究

韩 军, 宋建国*

(皖南医学院药理学教研室, 安徽 芜湖 241001)

[摘要] 目的: 观察鸡鸣散(Ji-Ming-San, JMS)对啮齿类动物的毒性及镇痛抗炎作用, 探讨其机制及昼夜节律性差异, 验证前人关于 JMS 择时用药的合理性。方法: Bliss 法计算 JMS 半数致死量(LD₅₀)及相同剂量下 JMS 对小鼠急性死亡率的昼夜差异; 热板法、扭体法观察 JMS 镇痛作用, 硝酸还原酶法测定小鼠血清及脑组织一氧化氮(NO)含量及其昼夜差异; 耳廓肿胀法和足跖肿胀法观察 JMS 抗炎作用, 紫外分光光度计法测炎症组织前列腺素 E₂(PGE₂)含量及其昼夜差异。结果: JMS 对小鼠的急性毒性呈显著的用药时间依赖性, 白昼毒性大于夜间; JMS 对小鼠模型有良好的镇痛作用, 呈昼夜节律性, 并与其降低小鼠血清、脑组织 NO 含量的昼夜差异相吻合; JMS 具有良好的抗炎作用, 呈昼夜差异性, 并与其降低炎症组织中 PGE₂ 含量的昼夜差异相吻合。结论: JMS 具有良好的镇痛、抗炎作用, 并呈昼夜节律性, 镇痛作用可能与其降低 NO 含量有关, 抗炎作用可能与其降低 PGE₂ 含量有关。

[关键词] 鸡鸣散; 昼夜节律; 毒性; 镇痛; 抗炎; 一氧化氮; 前列腺素 E₂

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2008)09-0063-05

Chronopharmacological Study on Analgesia and Anti-inflammatory of Ji-Ming-San

HAN Jun, SONG Jian-guo*

(Department of Pharmacology, Wannan Medical College, Wuhu 241001, China)

[Abstract] **Objective:** To study pharmacodynamic action of Ji-Ming-San(JMS) in animal model and acute toxicity in mice. The circadian variations of the dosing action and toxicity were approached as well, to certify the rationality about the experience of predecessors, i. e. medication of timing in administering JMS. **Methods:** Bliss method was used to evaluate medial lethal dose(LD₅₀) and circadian variation on the acute mortality rate of JMS was observed with identical dosage in mice. The analgesic effects were observed by hot-plate test and body torsion test in mice. Nitrate reductase method was used to measure nitric oxide(NO) levels in blood serum and brain tissue in acetic acid caused pain mice. The anti-inflammatory action was observed by auricle swelling test in mice and voixpedis swelling test in rats. Ultraviolet spectrophotometer method was employed to measure Prostaglandin E₂(PGE₂) level in voixpedis swelling rat model. **Results:** JMS produced marked time-dependent acute toxicity in mice with dosage of LD₅₀ and remarkably analgesic effect on mice model with a diurnal rhythmicity. Furthermore, the results coincided with the circadian changes of decreased NO levels in blood serum and brain tissue. JMS obviously inhibited the ear edema in mice induced by dimethylbenzene and pedes intumescence in rats induced by egg white. The anti-inflammatory action of JMS showed circadian dependent change with dosing time. Furthermore, the rhythm was in line with the circadian change of PGE₂ level reduced by JMS. **Conclusion:** JMS has obvious analgesia, anti-inflammatory effects, showing dosing time-dependent. Analgesic effect may be correlated with decreased NO levels and anti-inflammatory effect probably relates to reduced PGE₂ level.

[收稿日期] 2008-03-20

[通讯作者] * 宋建国, Tel: (0553) 3932450; E-mail: hanjun@wmmc.edu.cn

[**Key words**] Ji-Ming-San; circadian rhythm; toxicity; analgesia; anti-inflammatory; nitric oxide(NO); prostaglandin E₂(PGE₂)

时间生物学研究表明,生物体内存在与外环境周期性变化相适应的时间调控机制,使机体的许多生理、生化功能具有一定的周期节律性,并导致许多组织、器官、系统对药物的敏感性呈用药时间依赖性变化,其中以昼夜节律尤为多见^[1]。因此,在 1 d 不同时间给药,药物的疗效及不良反应可能会有明显的差异。祖国医学有悠久的“择时用药”原则,但缺乏时间生物学及时间药理学实验依据。鸡鸣散是一典型的应择时用药的方剂,并以最佳服药时辰命名。该方具有祛湿化浊、行气解郁、通络除滞之功效,目前临床上多用于骨伤科及软组织损伤,对肿痛等症状疗效明显^[2]。本实验初步研究了鸡鸣散的急性毒性、镇痛、抗炎等作用,并对以上作用可能存在的机理及其是否具有昼夜时间依赖性进行了初步探讨。

1 材料

1.1 药品与试剂 鸡鸣散方:槟榔 15 g、陈皮 30 g、木瓜 30 g、吴茱萸 6 g、紫苏 9 g、桔梗 15 g、生姜 15 g。饮片由皖南医学院弋矶山医院药剂科购得。药材饮片常规水煎,60%乙醇沉淀,回收乙醇,浓缩至含生药 4.8 g·mL⁻¹溶液备用(以下剂量均以生药 g·kg⁻¹表示)。NO 试剂盒(购自南京建成生物工程研究所)。冰醋酸、二甲苯、乙醇、甲醇均为分析纯。

1.2 动物 昆明种小鼠,6 周龄,♂♀各半,体重(20±2)g,每 10 只 1 笼饲养;SD 大鼠,8 周龄,♂♀各半,体重(150~200)g,每 6 只 1 笼饲养。动物均购自南京青龙山动物饲养中心(合格证号:SCXK(苏)2002-0018)。

1.3 实验条件 自实验前 2 周,动物置于人工调控明暗(明期 06:00~18:00,LD12:12 h),室温(22±1)℃,相对湿度为(60±10)%条件下同步饲养。实验过程中维持相同条件,动物可自由进水、进食。

1.4 主要仪器 YLS-6B 智能热板仪(安徽省濉溪正华教学实验器械厂);XD-811 生化分析仪(上海讯达医疗仪器公司);TGL-16G-A 冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂);JA5003N 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司);UV-9100 紫外分光光度计(北京瑞利分析仪器公司)。

2 实验方法

2.1 急性毒性实验

2.1.1 LD₅₀测定^[3] 小鼠 100 只,♂♀各半,随机分 5 组,组间剂量比 0.8。各组动物分别 ip JMS,给药容量 20 mL·kg⁻¹。给药后 7 d 内观察动物毒性反应并记录死亡数,Bliss 法计算 LD₅₀及 95%可信区间。

2.1.2 急性死亡率的时辰差异^[5] 小鼠 120 只,♂♀各半,随机分 6 组,即 6:00、10:00、14:00、18:00、22:00 及 2:00 组。各组动物分别于相应时间 ip JMS 46.08 g·kg⁻¹,观察记录 7 d 内动物的死亡率及中毒表现。

2.2 镇痛作用及其时辰差异实验^[3]

2.2.1 热板法 雌性小鼠,按文献方法筛选动物。取合格小鼠 40 只,随机分 4 组,即 6:00、12:00、18:00 及 24:00 组。各组动物分别于相应时间 ig 给予 JMS 36 g·kg⁻¹,用药后 1 h 将小鼠置于热板仪,记录用药前及用药后小鼠舔后足反应的潜伏时间。

2.2.2 扭体法 小鼠 80 只,随机分 8 组,JMS 及对照组(NS)各 4 组,即 6:00、12:00、18:00 及 24:00 组。于相应时间分别 ig 给予 JMS 36 g·kg⁻¹及 NS,1 次/d,连续用药 4 d。于末次用药后 1 h,各鼠 ip 0.6%冰醋酸 10 mL·kg⁻¹,观察 20 min 内小鼠出现扭体反应的次数,计算镇痛率(%)。

2.2.3 小鼠血清、脑组织 NO 含量测定 另取小鼠 80 只,按 2.2.2 进行实验,于 ip 0.6%冰醋酸后 5 min 眼球后静脉丛采血,分离血清。处死动物,取脑组织,称湿重,按 20 mg 组织加入 1 mL NS 制备匀浆,匀浆液离心(10 000 r·min⁻¹,10 min),取上清液用硝酸还原酶法测血清、脑组织 NO 含量。

2.3 抗炎作用及其时辰差异实验^[3]

2.3.1 耳廓肿胀法 雄性小鼠 80 只,随机分 8 组,分组方法同 2.2.2。于相应时间分别 ig 给予 JMS 36 g·kg⁻¹及 NS,1 次/d,连续用药 7 d。于末次用药后 1 h,右耳涂 0.5 mL 二甲苯致炎 1 h,处死动物,7 mm 打孔器在左右耳相同部位取耳片称重,以两耳片重量差作为肿胀度,计算用药组肿胀抑制率(%)。

2.3.2 足跖肿胀法 雄性大鼠 40 只,随机分 4 组,JMS 及 NS 各 2 组:6:00 及 18:00 组。于相应时间分别 ig 给予 JMS 27.84 g·kg⁻¹及 NS,1 次/d,连续用药 7 d。末次用药后于右后足跖 sc10%鸡蛋清 0.1 mL/只。致炎后 0.5、1、2、3、4、5 h 分别测量足跖容积,计

算其肿胀度。

肿胀度(mL) = (给药后容积) - (给药前容积)

PGE₂ 含量测定 末次测量后处死大鼠, 于右后肢踝关节上 0.5 cm 处剪下足爪, 称重, 按文献方法^[3,4]测定其光密度值, 以每 g 炎性组织的吸收光密度值(A·g⁻¹)表示 PGE₂ 含量。

2.4 数据处理 数据以($\bar{x} \pm s$)表示。余弦法分析各组时间序列资料^[1]并求算参数。组间差异用 *t* 检验或 χ^2 检验分析。

3 结果

3.1 急性毒性实验

3.1.1 LD₅₀测定 结果见表 1。Bliss 法求得: LD₅₀为 (46.29 ± 3.34) g·kg⁻¹, 95% 可信限为(43.07~ 49.76) g·kg⁻¹。

表 1 鸡鸣散 LD₅₀(n = 20)

剂量(g·kg ⁻¹)	死亡数
67.20	20
53.76	14
43.01	6
34.41	3
27.53	0

3.1.2 急性死亡率的时辰差异 实验表明, 在相同剂量下 JMS 对小鼠毒性白昼用药大于夜间。最高死亡率见于 14:00 用药组(55%), 最低死亡率见于 2:00 用药组(15%), 两组间差异有统计学意义(*P* < 0.05 见表 2)。余弦法分析表明, JMS 对小鼠的急性毒性有明显的昼夜节律(*P* < 0.01)。最佳拟合余弦曲线为: $Y_i = 0.31 + 0.17\cos(0.26t - 0.09)$ 。

表 2 LD₅₀鸡鸣散对小鼠的急性死亡率($\bar{x} \pm s$, n = 20)

组别	死亡率(%)
6:00	30
10:00	40
14:00	55
18:00	25
22:00	20
2:00	15 ¹⁾

注: 与 14:00 组比较¹⁾ *P* < 0.05

3.2 镇痛作用及其时辰差异实验

3.2.1 热板法 用药前, 正常动物对热刺激的疼痛反应呈明显的昼夜差异, 白昼潜伏时间短于夜间。余弦法分析有显著的昼夜节律(*P* < 0.01)。最佳拟合余弦曲线为: $Y_i = 15.78 + 3.34\cos(0.26t + 0.95)$ 。

JMS 可明显增加小鼠痛阈值, 延长潜伏时间(*P* < 0.05 或 *P* < 0.01, 表 3)。表明 JMS 有良好的镇痛作用。JMS 镇痛作用也呈明显的昼夜差异, 夜间用药镇痛作用强于白昼, 18:00 镇痛作用最显著。最佳拟合余弦曲线为: $Y_i = 23.73 + 7.87\cos(0.26t + 1.25)$ (*P* < 0.01)。实验结果还表明, JMS 对小鼠的镇痛作用不改变动物原有的疼痛敏感性昼夜差异, 用药后动物痛阈在用药前基础上平行增高。

表 3 鸡鸣散对热刺激致痛小鼠疼痛阈的影响($\bar{x} \pm s$, n = 10)

组别	潜伏时间(s)	
	给药前	给药后
6:00	12.1 ± 3.3	16.5 ± 4.4 ¹⁾
12:00	13.8 ± 1.8	21.0 ± 3.0 ^{2,3)}
18:00	17.5 ± 3.5 ⁴⁾	31.4 ± 6.2 ^{2,4)}
24:00	18.6 ± 3.3 ⁴⁾	26.0 ± 5.0 ^{2,4)}

注: 与给药前比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01; 与 6:00 组比较³⁾ *P* < 0.05, ⁴⁾ *P* < 0.01

3.2.2 扭体法 对照组动物对醋酸刺激所致疼痛反应呈明显的昼夜差异, 白昼扭体次数多于夜间。余弦法分析表明昼夜差异有显著统计学意义(*P* < 0.01)。最佳拟合余弦曲线为: $Y_i = 40.98 + 4.42\cos(0.26t + 0.82)$ 。与对照组相比, JMS 明显减轻醋酸所致小鼠的疼痛, 各组小鼠 20 min 扭体次数均较相应时间对照组显著减少(*P* < 0.01, 表 4)。JMS 镇痛作用有明显的昼夜差异, 扭体抑制率以 18:00 用药组(63.8%)最高, 6:00 用药组(36.1%)最低(*P* < 0.01)。最佳拟合余弦曲线为: $Y_i = 21.75 + 8.12\cos(0.26t + 1.16)$ (*P* < 0.01)。

表 4 鸡鸣散对小鼠醋酸扭体反应的影响($\bar{x} \pm s$, n = 10)

组别	扭体次数		抑制率(%)
	NS	JMS	
6:00	45.8 ± 5.6	29.0 ± 3.4 ²⁾	36.1
12:00	42.4 ± 6.2	25.2 ± 3.8 ^{2,3)}	39.7
18:00	39.3 ± 6.4 ³⁾	14.1 ± 4.1 ^{2,4)}	63.8 ⁴⁾
24:00	36.4 ± 4.5 ⁴⁾	18.7 ± 5.1 ^{2,4)}	48.4 ³⁾

注: 与同时点 NS 组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01; 与 6:00 组比较³⁾ *P* < 0.05, ⁴⁾ *P* < 0.01(下同)

NS 18:00 组小鼠血清和脑组织 NO 含量低于其它时间组, 但无显著性差异(*P* > 0.05)。JMS 能明显降低疼痛小鼠血清和脑组织 NO 含量(*P* < 0.01), 且 18:00 用药降低效果明显优于 6:00 (*P* < 0.01, 表 5)。余弦法分析表明, JMS 对小鼠血清和脑组织 NO

含量的影响有明显的昼夜差异($P < 0.01$)。最佳拟合余弦曲线分别为: $Y_i = 65.93 + 20.04\cos(0.26t + 0.99)$, $Y_i = 6.77 + 2.05\cos(0.26t + 1.37)$ 。

表 5 鸡鸣散对小鼠血清和脑组织 NO 含量的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	NS		JMS	
	血清 ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	脑组织 ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}\cdot\text{prot}^{-1}$)	血清 ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	脑组织 ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}\cdot\text{prot}^{-1}$)
6:00	138.2 ± 25.8	14.5 ± 3.3	77.3 ± 20.1 ²⁾	8.8 ± 1.5 ²⁾
12:00	134.8 ± 37.9	15.5 ± 2.4	82.4 ± 20.1 ²⁾	7.2 ± 1.3 ^{2,3)}
18:00	110.6 ± 22.7	12.8 ± 1.9	43.6 ± 10.8 ^{2,4)}	4.8 ± 1.2 ^{2,4)}
24:00	127.1 ± 24.5	14.0 ± 3.0	60.5 ± 17.7 ²⁾	6.4 ± 1.2 ^{2,4)}

3.3 抗炎作用及其时辰差异实验

3.3.1 耳廓肿胀法 实验表明, NS 各时间组小鼠耳肿胀度无明显差异。JMS 对二甲苯诱发小鼠耳肿胀性炎症有明显抑制作用, 与 NS 组比较, 能明显降低耳肿胀度($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$, 表 6)。JMS 抗炎作用呈用药时间依赖性($P < 0.01$), 18:00 用药肿胀抑制率为 58.3%, 显著优于 6:00 用药($P < 0.05$)。最佳拟合余弦曲线为: $Y_i = 2.05 + 0.73\cos(0.26t + 1.29)$ 。

表 6 鸡鸣散对二甲苯诱发小鼠耳肿胀的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	两耳片重量差(mg)		抑制率(%)
	NS	JMS	
6:00	3.8 ± 1.1	2.6 ± 1.0 ¹⁾	31.0
12:00	3.5 ± 1.0	2.3 ± 0.8 ¹⁾	29.2
18:00	3.2 ± 0.9	1.2 ± 0.8 ^{2,4)}	58.3 ³⁾
24:00	3.6 ± 0.7	2.0 ± 0.6 ²⁾	43.2

3.3.2 足跖肿胀法 NS 两时间组大鼠足跖肿胀度无明显差异。JMS 对蛋清所致足跖肿胀有明显的抑制作用。与 NS 组比较, JMS 明显抑制肿胀($P < 0.01$, 表 7), 5 h 仍有一定作用。18:00 用药效果明显优于 6:00($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

表 7 鸡鸣散对蛋清致大鼠足跖肿胀足跖容积的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

给药后时间 (h)	NS 肿胀度(mL)		JMS 肿胀度(mL)	
	6:00	18:00	6:00	18:00
0.5	0.56 ± 0.06	0.56 ± 0.09	0.43 ± 0.09 ²⁾	0.38 ± 0.11 ^{2,3)}
1	0.54 ± 0.11	0.53 ± 0.12	0.40 ± 0.13 ²⁾	0.37 ± 0.14 ^{2,3)}
2	0.43 ± 0.08	0.42 ± 0.15	0.30 ± 0.09 ²⁾	0.25 ± 0.09 ^{2,3)}
3	0.35 ± 0.07	0.36 ± 0.13	0.25 ± 0.08 ²⁾	0.19 ± 0.09 ^{2,3)}
4	0.35 ± 0.07	0.28 ± 0.08	0.18 ± 0.07 ²⁾	0.13 ± 0.07 ^{2,3)}
5	0.22 ± 0.09	0.21 ± 0.10	0.12 ± 0.08 ²⁾	0.06 ± 0.05 ^{2,3)}

NS 组大鼠 PGE₂ 含量测定无明显差异。JMS 能明显降低致炎足跖 PGE₂ 含量, 与 NS 组比较, 差异有显著意义($P < 0.01$, 表 8), 且 18:00 用药对 PGE₂ 含量降低作用优于 6:00($P < 0.05$)。

表 8 鸡鸣散对蛋清致大鼠炎症组织 PGE₂ 含量的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	NS($\text{A}\cdot\text{g}^{-1}$)	JMS($\text{A}\cdot\text{g}^{-1}$)
6:00	0.106 ± 0.007	0.075 ± 0.008 ²⁾
18:00	0.104 ± 0.010	0.068 ± 0.004 ^{2,3)}

4 讨论

JMS 对小鼠的急性毒性呈用药时间依赖性, 在动物的活动期毒性显著低于休息期。小鼠死亡多发生在用药后 2 h 内。中毒症状表现为抽搐、躁动、强直、竖尾等。尸体解剖各脏器未见明显改变。已知本方中紫苏茎叶含有的紫苏酮具有刺激性, 大剂量吴茱萸具有一定中枢神经兴奋性^[5], 动物致死的原因可能与这些因素有关。

实验表明 JMS 可提高小鼠的痛阈, 延长动物对痛刺激反应的潜伏时间, 减少痛刺激引起的扭体次数。JMS 方剂中吴茱萸、紫苏茎叶、桔梗、生姜等药物具有良好的镇痛作用^[5,6]。这些药物的活性成分可能是构成本方临床镇痛功效的物质基础。前人研究已证实, 人及正常动物对疼痛的反应性均具有昼夜节律, 一般在活动期对疼痛刺激反应性较低, 休息期则较高^[7]。本研究中, 无论热板法或是扭体法, 小鼠的痛刺激反应性均呈昼高夜低特征, 与前人报道相吻合。JMS 镇痛作用也呈昼夜节律性差异, 在动物休息期作用较弱, 活动期作用较强。且 JMS 镇痛作用的昼夜差异不改变动物原有的疼痛生物节律, 而是在原有节律的基础上发挥作用的。已有研究证实, 动物体内疼痛相关介质存在昼夜节律性差异^[7]。本实验测定了小鼠血清和脑组织 NO 含量, 证实 JMS 可明显降低致痛小鼠血清和脑组织 NO 含量, 夜间用药降低 NO 效果优于白昼, 尤其使 NO 原本就偏低的 18:00 组降低更为显著。鉴于 NO 在伤害性信息的传递中起促进作用, 且在外周及中枢不同水平的痛觉调节中起重要作用^[8]。本实验结果提示, JMS 的镇痛作用至少部分地与其降低疼痛刺激下动物血清及脑组织 NO 含量有关。JMS 对休息期末(18:00) NO 降低作用更为显著, 提示其镇痛作用的昼夜差异可能与此有关。鉴于多种机制及介质参与疼痛反应, 故 JMS 镇痛的详尽机制有待深入研究。

本研究证实, JMS 对二甲苯诱发小鼠耳肿胀及蛋清所致大鼠足跖肿胀均有显著的抑制作用。文献报道, JMS 方剂中陈皮、木瓜、桔梗、生姜等药物均有很强的抗炎作用^[5,6]。本实验证实了 JMS 的抗炎作用, 并与其临床功效相吻合。本实验证实, JMS 对两种动物模型的抗炎作用均有显著的昼夜差异, 18:00 用药作用显著高于其他时间。JMS 能明显降低炎性组织中 PGE₂ 含量, 且 18:00 组降低 PGE₂ 作用显著强于 6:00 组。该结果与前人关于穿心草口山酮能明显降低蛋清致炎大鼠足跖的 PGE₂ 含量的结果相似^[4]。PGE₂ 是一种活性很强的致炎物质, 并在加剧炎症反应中起重要作用。实验结果提示, JMS 抗炎作用可能与其降低炎症过程中过高的 PGE₂ 有关, 而其抗炎作用的昼夜差异也与其降低 PGE₂ 作用的昼夜差异有关。由于炎症反应涉及众多炎性介质, 故 JMS 抗炎作用的详尽机制有待于进一步研究。

由于本次实验所用动物为鼠类, 属夜行性动物, 生活习性与人相反。因此, JMS 有可能在人的休息期末、活动期初用药呈现较强的药效和较低的毒副作用。因此, 初步的研究结果显示, 前人关于 JMS 应

在“平旦鸡鸣时”用药的经验具有一定的时间生物学依据。

[参考文献]

- [1] 何绍雄. 时间药理学与时间治疗学[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1994. 5-7, 37-44, 259-260.
- [2] 邹志新. 鸡鸣散在骨伤科的应用[J]. 中医学报, 1994, 4: 375.
- [3] 陈 奇. 中药药理研究方法[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 112-118, 308-309, 356-365, 370-371.
- [4] 杨东梅, 许实波. 穿心草口山酮抗炎作用及毒性的初步研究[J]. 广东药学院学报, 2001, 17(1): 33-35.
- [5] 王浴生, 邓文龙, 薛春生. 中药药理与应用[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1995. 169-177, 541-546, 582-588, 1161-1163.
- [6] 丁兆梦, 鞠福祥, 林承矩, 等. 中药药效学与临床[M]. 北京: 中国医学科技出版社, 1999. 48-50.
- [7] Puglisi-Allegra S, Castilano C. Circadian variations in stress-induced analgesia[J]. Brain Res, 1982, 252(4): 373-377.
- [8] 田金华, 王晓民, 韩济生. 一氧化氮与痛觉调制[J]. 生理学科学进展, 1996, 27(2): 161-164.