

## 不同药物对急性胰腺炎小鼠树突细胞的干预作用研究

王海曼 张淑文

**【摘要】** 目的 探讨急性胰腺炎(AP)免疫学发病机制,同时观察善宁、厚朴酚的干预作用。方法 90只 BALB/c 小鼠按随机数字表法均分为正常对照组、模型组、善宁组、厚朴酚组、联合治疗组,每组 18 只。采用连续 7 次腹腔注射雨蛙素的方法制备小鼠 AP 模型,每次间隔 1 h;善宁于每次注射雨蛙素前 30 min 皮下注射;厚朴酚于制模完成后即刻尾静脉注射。于制模后 9、12、24 h 摘除小鼠眼球取血,检测外周血淀粉酶、白细胞介素-10(IL-10)、 $\gamma$ -干扰素(IFN- $\gamma$ )水平;处死动物取脾脏和胰腺,用流式细胞仪检测髓系树突细胞(MDCs)与淋巴系树突细胞(LDCs)数量及其比值;进行胰腺组织病理评分。结果 与正常对照组[血清淀粉酶(1.12 $\pm$ 0.05) kU/L,胰腺病理评分(0.09 $\pm$ 0.10)分]比较,模型组血清淀粉酶[(26.11 $\pm$ 1.96) kU/L]及胰腺病理评分[(5.32 $\pm$ 0.19)分]均显著升高(均  $P < 0.01$ );模型组脾脏 MDCs/LDCs 比值有下降趋势,以制模后 9 h 最显著(0.421 $\pm$ 0.049 比 1.712 $\pm$ 0.372,  $P < 0.05$ );IL-10/IFN- $\gamma$  比值则无明显差异。与模型组比较,善宁组、厚朴酚组和联合组血清淀粉酶(kU/L)及胰腺病理评分(分)均显著下降(血清淀粉酶:18.25 $\pm$ 1.09、17.32 $\pm$ 1.26、17.62 $\pm$ 0.56,胰腺病理评分:4.55 $\pm$ 0.15、4.16 $\pm$ 0.18、4.10 $\pm$ 0.13,均  $P < 0.01$ )。善宁组 MDCs/LDCs 比值及 IL-10/IFN- $\gamma$  比值与模型组比较均无差异;而厚朴酚组 MDCs/LDCs 比值于制模后 9、12、24 h 显著高于善宁组(9 h:4.694 $\pm$ 0.527 比 0.819 $\pm$ 0.182, 12 h:2.566 $\pm$ 0.463 比 1.421 $\pm$ 0.163, 24 h:2.343 $\pm$ 0.359 比 1.421 $\pm$ 0.113,  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。厚朴酚组各时间点 IL-10/IFN- $\gamma$  比值显著高于模型组,12 h 时较善宁组显著升高(8.000 $\pm$ 1.738 比 3.558 $\pm$ 0.362,  $P < 0.05$ )。联合治疗组各指标变化同厚朴酚组。结论 AP 时,辅助性 T 细胞(Th0)向 Th1 分化增加、向 Th2 分化减少,导致促炎/抗炎反应失衡;厚朴酚通过调节树突细胞不同亚型的分化,促进 Th0 向 Th2 分化,增强抗炎作用,减轻局部及全身炎症反应;善宁未显示出此作用。

**【关键词】** 胰腺炎,急性; 雨蛙肽; 树突细胞; 细胞因子; 善宁; 厚朴酚

**The intervention effects of different drugs on dendritic cells in acute pancreatitis in mouse** WANG Hai-man, ZHANG Shu-wen. Department of Infectious Diseases, Beijing Friendship Hospital Affiliated to the Capital Medical University, Beijing 100050, China

Corresponding author: ZHANG Shu-wen, Email: zsw401106@sina.com

**【Abstract】 Objective** To study the immunologic mechanism in pathogenesis of the acute pancreatitis (AP) and the intervention effects of sandostatin and magnolol. **Methods** Ninety BALB/c mice were divided into negative control group, caerulein-induced model group, sandostatin-treatment group, magnolol-treatment group, combined sandostatin- and magnolol-treatment group by means of random number table, with 18 mice in each group. AP model was reproduced by seven intraperitoneal injections of caerulein at an interval of 1 hour. Every 30 minutes before the caerulein challenge, sandostatin was injected subcutaneously. Magnolol was injected intravenously immediately after the AP model was reproduced. Then at 9, 12, 24 hours after modelling, blood was drawn from orbital vein and serum was separated. Serum amylase (SA), interleukin-10 (IL-10) and  $\gamma$ -interferon (IFN- $\gamma$ ) were determined after the mice were sacrificed, and pancreas and spleen were harvested. The pathological changes of pancreas were observed, and the number and the ratio of myeloid-dendritic cells (MDCs) to lymphocyte dendritic cells (LDCs) were measured with flow cytometry. **Results** Compared with control group [SA (1.12 $\pm$ 0.05) kU/L, pancreatic score (PS) 0.09 $\pm$ 0.10], both indexes increased progressively in the model group [SA (26.11 $\pm$ 1.96) kU/L, PS 5.32 $\pm$ 0.19, both  $P < 0.01$ ]. The ratio of MDCs/LDCs showed downward tendency at every timepoint especially at 9th hour (0.421 $\pm$ 0.049 vs. 1.712 $\pm$ 0.372,  $P < 0.05$ ), while the ratio of IL-10 to IFN- $\gamma$  did not show significant differences. Compared with model group, both SA and PS significantly decreased in all the three drug intervention groups [SA (kU/L): 18.25 $\pm$ 1.09, 17.32 $\pm$ 1.26, 17.62 $\pm$ 0.56, PS: 4.55 $\pm$ 0.15, 4.16 $\pm$ 0.18, 4.10 $\pm$ 0.13, all  $P < 0.01$ ]. There was no significant difference in the two ratios of MDCs/LDCs and IL-10/IFN- $\gamma$  between sandostatin-treatment group and model group. However, the ratio of MDCs/LDCs of the magnolol-treatment group was higher than that in sandostatin-treatment group 9, 12, 24 hours after modelling (9 hours: 4.694 $\pm$ 0.527 vs. 0.819 $\pm$ 0.182, 12 hours: 2.566 $\pm$ 0.463 vs. 1.421 $\pm$ 0.163, 24 hours: 2.343 $\pm$ 0.359 vs. 1.421 $\pm$ 0.113,  $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). At every timepoint, the ratio of IL-10/IFN- $\gamma$  in the magnolol-treatment group was significantly higher compared with the model group, and at the 12-hour point, it was higher than that of sandostatin-treatment group (8.000 $\pm$ 1.738 vs. 3.558 $\pm$ 0.362,  $P < 0.05$ ). The combined treatment group showed similar changes as the magnolol-treatment group. **Conclusion** When AP occurs, the differentiation from T helper (Th0) to Th1 is augmented, while differentiation of Th0 to Th2 decreases, thus inducing an imbalance in the relationship of pro- and

anti-inflammatory response. Magnolol can induce the differentiation from Th0 to Th2 by modulating the different subtype dendritic cells, thus improving the anti-inflammatory response, resulting in attenuating local and systemic inflammatory response in AP. However, sandostatin did not show such effect.

**【Key words】** Acute pancreatitis; Caerulein; Dendritic cell; Cytokine; Sandostatin; Magnolol

免疫反应在急性胰腺炎(AP)的发生发展中起重要作用<sup>[1]</sup>,其中研究最早最多的当属细胞因子的作用<sup>[2]</sup>。免疫系统的构成中有树突细胞(DCs)及辅助性T细胞(Th0),脾脏DCs根据其表面CD分子不同又可分为髓系(MDCs)和淋巴系(LDCs)。本实验中即通过观察AP模型小鼠不同亚群DCs数量及比例的变化,从免疫学角度探讨AP的发病机制;同时对比观察中药单体厚朴酚与善宁在治疗AP中的作用及机制。

### 1 材料与方

**1.1 动物与材料:**BALB/c小鼠购自中国医学科学院动物研究所〔动物合格证号:SCXK(京)2009-0007〕;雨蛙素购自美国Sigma公司,善宁购自诺华制药有限公司,厚朴酚(纯度≥98%)购自成都思科华生物技术有限公司;藻红蛋白(PE)标记抗小鼠CD11c单克隆抗体(单抗)、异硫氰酸荧光素(FITC)标记抗小鼠CD11b单抗及别藻青蛋白(APC)标记抗小鼠CD8a单抗均购自美国eBioscience公司;白细胞介素-10(IL-10)、γ-干扰素(IFN-γ)等试剂盒购自美国BD公司。

**1.2 动物分组及AP模型制备:**按随机数字表法将90只动物分为正常对照组、模型组、善宁治疗组、厚朴酚治疗组和联合治疗组,每组18只。取雨蛙素冻干粉溶解于质量分数为0.9%的生理盐水中,充分混匀后腹腔注射1ml(50 μg/kg),连续7次,每次间隔1h,以制备AP动物模型<sup>[3]</sup>。正常对照组则腹腔注射0.9%生理盐水;善宁治疗组于每次腹腔注射雨蛙素前30min皮下注射生理盐水稀释过的善宁50 μg/kg<sup>[4-5]</sup>;厚朴酚治疗组于末次雨蛙素腹腔注射完毕后即刻尾静脉注射厚朴酚溶液0.1 mg/kg<sup>[6]</sup>;联合治疗组中厚朴酚及善宁给药方式、剂量及间隔时间同单独给药组。

### 1.3 检测指标及方法

**1.3.1 外周血淀粉酶测定:**于首次腹腔注射雨蛙素后12h摘除小鼠眼球取血,离心,取上清液,用酶速率法测定淀粉酶活性。

**1.3.2 外周血细胞因子测定:**于首次注射雨蛙素后9、12、24h摘除小鼠眼球取血,4℃下离心10min,取上清液冻存于-80℃冰箱。采用流式蛋白定量检测技术(CBA)检测IL-10,流式细胞术检测IFN-γ,按试剂盒说明书步骤操作。

**1.3.3 胰腺病理观察与评分:**于首次注射雨蛙素后12h处死小鼠取胰腺,观察水肿、出血或坏死情况;用甲醛水溶液固定,乙醇脱水,石蜡包埋,切片,苏木素-伊红(HE)染色。光镜下(×100)每张病理片随机取8个视野,观察间质水肿程度,空泡形成及实质坏死程度,炎性细胞浸润程度。按Schmidt评分标准<sup>[7]</sup>对每个视野各指标行0~3分评分,取均值。

**1.3.4 脾脏DCs提取及MDCs/LDCs比值测定:**用磷酸盐缓冲液(PBS)研磨脾脏制备细胞混合液。取10 μl细胞混合液,按细胞浓度1×10<sup>4</sup>个/μl分别加入抗PE-CD11c单抗0.5 μg、抗FITC-CD11b单抗0.5 μg、抗APC-CD8a单抗0.125 μg。充分混匀后常温下避光静置孵育30min,再加入100 μl PBS充分混匀,使用流式细胞仪分析小鼠脾脏细胞中DCs(CD11c<sup>+</sup>)数量及比例,以及不同亚型MDCs(CD11c<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>CD8a<sup>-</sup>)和LDCs(CD11c<sup>+</sup>CD11b<sup>-</sup>CD8a<sup>+</sup>)的比值。

**1.4 统计学方法:**采用SPSS 11.5统计软件,计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用单因素方差分析及一般线性分析重复测量方法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 血清淀粉酶变化(表1):**模型组12h血淀粉酶较正常对照组显著升高( $P < 0.01$ );善宁组、厚朴酚组及联合治疗组血淀粉酶水平较模型组显著降低,但仍高于正常对照组(均 $P < 0.01$ )。

**表1 各组急性胰腺炎小鼠首次腹腔注射雨蛙素后12h血淀粉酶及胰腺病理评分比较( $\bar{x} \pm s$ )**

| 组别    | 动物数 | 血淀粉酶(kU/L)               | 胰腺病理评分(分)                |
|-------|-----|--------------------------|--------------------------|
| 正常对照组 | 6   | 1.12±0.05                | 0.09±0.10                |
| 模型组   | 6   | 26.11±1.96 <sup>a</sup>  | 5.32±0.19 <sup>a</sup>   |
| 善宁组   | 6   | 18.25±1.09 <sup>ab</sup> | 4.55±0.15 <sup>ab</sup>  |
| 厚朴酚组  | 6   | 17.32±1.26 <sup>ab</sup> | 4.16±0.18 <sup>abc</sup> |
| 联合治疗组 | 6   | 17.62±0.56 <sup>ab</sup> | 4.10±0.13 <sup>abc</sup> |

注:与正常对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P < 0.01$ ;与善宁组比较,<sup>c</sup> $P < 0.01$

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2010.04.003

基金项目:北京市科委重大资助项目(H020920020530)

作者单位:100050首都医科大学附属北京友谊医院感染内科

通信作者:张淑文,Email:zsw401106@sina.com

2.2 胰腺病理改变

2.2.1 光镜下观察:模型组胰腺细胞有坏死、空泡变性改变,可见少量炎性细胞;善宁组可见局部坏死及炎性细胞聚集,少量空泡变性;厚朴酚组有空泡变性,可见间质水肿,未见明显组织坏死;联合治疗组可见空泡变性及间质水肿,未见明显坏死。

2.2.2 组织病理评分(表 1):首次腹腔注射雨蛙素 12 h,模型组胰腺间质水肿程度、胰腺腺泡细胞空泡形成和实质坏死程度及炎性细胞浸润程度 3 项评分均较正常对照组显著升高( $P < 0.01$ );3 个治疗组较模型组均有一定的改善作用(均  $P < 0.01$ );而厚朴酚组及联合治疗组在改善胰腺局部炎症反应程度上较善宁组显著提高(均  $P < 0.01$ )。

2.3 脾脏 MDCs/LDCs 比值(表 2):模型组 9 h MDCs/LDCs 比值降低最为显著( $P < 0.05$ );善宁组与正常对照组及模型组均无明显差异;厚朴酚组和联合治疗组各时间点均较善宁组显著升高( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),但两组间无明显差异。

2.4 外周血 IL-10 水平(表 2):模型组 9 h IL-10 水平升高最为明显( $P < 0.01$ ),随后逐渐下降;善宁组与模型组各时间点 IL-10 水平均无明显差异;厚朴酚组 12 h 较模型组显著升高( $P < 0.05$ ),但各时间点与善宁组、联合治疗组比较差异无统计学意义。

2.5 外周血 IFN- $\gamma$  水平(表 2):模型组各时间点 IFN- $\gamma$  均较正常对照组显著升高(均  $P < 0.01$ );善宁组、厚朴酚组及联合治疗组较模型组均显著降低,且厚朴酚组及联合治疗组 9 h 降低更为显著(均  $P < 0.01$ ),但两组比较无明显差异。

2.6 IL-10/IFN- $\gamma$  比值变化(表 2):制模后各时间点正常对照组、模型组及善宁组 IL-10/IFN- $\gamma$  比值差异均无统计学意义;而厚朴酚组各时间点均较模型组显著升高,且 12 h 时较善宁组升高显著( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );联合治疗组与厚朴酚组无明显差异。

3 讨论

AP 具有高发病率、高病死率及高医疗耗费等特点。善宁是目前治疗 AP 的有效药物之一。袁耀宗等<sup>[8]</sup>研究表明,善宁能诱导损伤的胰腺细胞凋亡,从而减轻炎症反应。但近年来,多项大宗临床研究发现,善宁并不像所想的那样具有降低 AP 患者脓毒症发生率、手术干预措施的使用率及病死率等作用。故人们开始提出质疑:在应用善宁治疗 AP 时,淀粉酶的降低是善宁本身起到关键作用还是其他对症状支持疗法的效果呢?在抑制胰酶分泌的同时是否就具有改善胰腺局部和全身的炎症反应作用呢?随着这些疑问的提出,新一轮的基础实验开始验证善宁对 AP 是否有治疗效果<sup>[9]</sup>。同时在对 AP 治疗方面,国内医疗工作者逐步向祖国医学探索,中药通腑、灌肠等治疗措施均取得了较好的疗效。秦月花等<sup>[10]</sup>研究表明,芒硝联合生长抑素(施他宁)治疗重症急性胰腺炎(SAP)在改善患者腹痛等临床症状或降低血、尿淀粉酶方面均较单独应用施他宁有明显优势。冯志松等<sup>[11]</sup>应用生大黄、芒硝、厚朴、柴胡等中药灌肠治疗 AP 患者,发现单用中药或中西医联用时患者并发症发生率及手术中转率较单用西药治疗有所降低。上述研究均表明:中药的应用在通腑、促进肠蠕

表 2 各组急性胰腺炎小鼠首次腹腔注射雨蛙素后 9、12、24 h 脾脏 MDCs/LDCs 比值及外周血细胞因子 IL-10、IFN- $\gamma$  水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | 动物数 | 脾脏 MDCs/LDCs 比值            |                           |                            | 血 IL-10(ng/L)             |                            |              |
|-------|-----|----------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|--------------|
|       |     | 制模 9 h                     | 制模 12 h                   | 制模 24 h                    | 制模 9 h                    | 制模 12 h                    | 制模 24 h      |
| 正常对照组 | 6   | 1.712±0.372                | 1.702±0.310               | 1.158±0.106                | 12.617±1.895              | 9.617±1.658                | 8.667±1.487  |
| 模型组   | 6   | 0.421±0.049 <sup>a</sup>   | 1.087±0.200               | 1.307±0.240                | 30.067±1.672 <sup>b</sup> | 14.833±2.412               | 12.667±1.726 |
| 善宁组   | 6   | 0.819±0.182                | 1.421±0.163               | 1.421±0.113                | 24.050±2.702 <sup>b</sup> | 16.233±0.908 <sup>a</sup>  | 11.050±2.446 |
| 厚朴酚组  | 6   | 4.694±0.527 <sup>bdf</sup> | 2.566±0.463 <sup>de</sup> | 2.343±0.359 <sup>ace</sup> | 24.600±2.267 <sup>b</sup> | 21.517±1.790 <sup>bc</sup> | 13.983±2.247 |
| 联合治疗组 | 6   | 5.294±0.473 <sup>bdf</sup> | 2.362±0.403 <sup>c</sup>  | 2.420±0.284 <sup>bdf</sup> | 23.983±1.887 <sup>b</sup> | 20.667±2.426 <sup>bc</sup> | 10.033±1.903 |

  

| 组别    | 动物数 | 血 IFN- $\gamma$ (ng/L)    |                           |                          | 血 IL-10/IFN- $\gamma$ 比值  |                             |                          |
|-------|-----|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------------|--------------------------|
|       |     | 制模 9 h                    | 制模 12 h                   | 制模 24 h                  | 制模 9 h                    | 制模 12 h                     | 制模 24 h                  |
| 正常对照组 | 6   | 2.617±0.352               | 2.167±0.256               | 2.567±0.278              | 4.955±0.697               | 3.973±0.728                 | 3.619±0.714              |
| 模型组   | 6   | 15.683±1.222 <sup>b</sup> | 11.683±1.358 <sup>b</sup> | 7.267±0.902 <sup>b</sup> | 2.010±0.256               | 1.412±0.290                 | 1.834±0.237              |
| 善宁组   | 6   | 8.517±1.187 <sup>bd</sup> | 4.833±0.569 <sup>ad</sup> | 3.267±0.263 <sup>d</sup> | 3.255±0.788               | 3.558±0.362                 | 3.526±0.984              |
| 厚朴酚组  | 6   | 4.250±0.471 <sup>df</sup> | 3.050±0.396 <sup>d</sup>  | 3.167±0.589 <sup>d</sup> | 6.126±0.869 <sup>c</sup>  | 8.000±1.738 <sup>de</sup>   | 4.824±0.793 <sup>d</sup> |
| 联合治疗组 | 6   | 4.317±0.854 <sup>df</sup> | 2.150±0.255 <sup>de</sup> | 3.183±0.164 <sup>d</sup> | 7.268±1.956 <sup>de</sup> | 11.061±2.673 <sup>bdf</sup> | 3.159±0.542              |

注:MDCs/LDCs 比值:髓系树突细胞/淋巴系树突细胞比值,IL-10:白细胞介素-10,IFN- $\gamma$ : $\gamma$ -干扰素;与正常对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ,<sup>b</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ,<sup>d</sup> $P < 0.01$ ;与善宁组比较,<sup>e</sup> $P < 0.05$ ,<sup>f</sup> $P < 0.01$

动、维持肠道菌群平衡方面均起到重要作用。

本实验中应用雨蛙素制备 AP 小鼠模型,可见小鼠血淀粉酶显著升高,间质水肿、炎性细胞浸润等胰腺局部炎症反应均较正常对照组严重,说明 AP 模型制备成功,但是胰腺组织并未见明显出血、坏死等改变,故考虑此模型分型仅为轻型胰腺炎。

AP 时,随着胰腺局部大量消化酶的分泌,在直接损伤器官的同时,会产生局部甚至全身性炎症反应,炎症由局部到全身,其中的放大效应离不开免疫系统的作用。免疫系统中的 DCs 是功能最强的抗原呈递细胞,参与抗原的识别、加工处理和呈递,是机体免疫反应的始动者,也是惟一能显著刺激初始 T 淋巴细胞增殖的细胞。但本研究中观察到,模型组小鼠脾脏 MDCs/LDCs 比值较正常对照组小鼠显著降低,表明 AP 发生时脾脏 DCs 分化方向倾向于淋巴系而非髓系,考虑 DCs 可能通过向不同方向分化来参与 AP 的发生发展。Niederer 等<sup>[4]</sup>用连续 7 次腹腔注射雨蛙素的方法制备 AP 小鼠模型时发现,在第 3 次注射后小鼠胰腺局部炎症就已发生,至首次注射后 12 h 炎症程度最为严重。而本实验中发现,AP 小鼠脾脏 DCs 变化最为显著的时间点不在胰腺炎症反应最为严重的 12 h,而是在首次注射雨蛙素后的 9 h,推测在炎症反应开始 3 h 时 DCs 即出现反应,而本实验中选择的第 1 个时间点即是制模开始后 9 h,故推测在此时或在此之前,AP 小鼠的 DCs 最为活跃,表现出来向淋巴系分化增加而向髓系分化相应减少。

抗炎因子 IL-10 主要由 MDCs 产生,具有抑制炎症反应的作用,同时也是 Th2 相关细胞因子,即能够促进 Th0 向 Th2 方向分化,最终介导免疫耐受。而炎症相关细胞因子 IFN- $\gamma$  主要由 LDCs 分泌,是炎症反应的推动者,同时也是 Th1 相关细胞因子,它促进 Th0 向 Th1 方向分化,最终介导体液免疫或免疫过度。王健和易继林<sup>[12]</sup>研究认为,IL-10 能显著降低 AP 病情严重度。本实验中发现,IL-10、IFN- $\gamma$  在 AP 时均显著升高,且以制模后 9 h 最为明显,此后均呈逐渐下降趋势,至制模后 24 h 时基本恢复正常,考虑 IL-10、IFN- $\gamma$  两种细胞因子确实参与了 AP 的病理过程。为了明确两种细胞因子与两种 DCs 亚型之间是否存在对应关系,进一步观察 IL-10/IFN- $\gamma$  比值的变化后发现,模型组与正常对照组的 IL-10/IFN- $\gamma$  比值差异无统计学意义,但呈下降趋势,故推测 AP 时,小鼠脾脏 DCs 向淋巴系分化增加,而后的增加又促进 IFN- $\gamma$  等 Th1 型细

胞因子的分泌,而 AP 小鼠胰腺炎症反应程度的增加,考虑与 Th1 介导的免疫过程相关。

应用厚朴酚治疗后发现,AP 小鼠血淀粉酶及胰腺炎症反应程度均显著下降;外周血 IFN- $\gamma$  水平均下降,IL-10 则升高,IL-10/IFN- $\gamma$  比值呈升高趋势,同时能升高脾脏 MDCs/LDCs 比值。推断厚朴酚能调节 AP 小鼠的 DCs 分化,即相对增加髓系分化的比例,进一步促进 IL-10 分泌,在抑制炎症反应的同时,促进 Th0 向 Th2 方向分化,从而最终导致抗炎作用不断被放大;相应在上调 MDCs 的同时,LDCs 的作用必定会被下调,而其对应的炎症细胞因子 IFN- $\gamma$  水平也会下降,故其诱导的 Th0 向 Th1 分化作用势必会减弱。应用厚朴酚的最终结果即使使抗炎作用强于促炎作用,从而抑制 AP 小鼠胰腺局部以及系统炎症反应,促进其病情的缓解。

应用善宁治疗 AP 时小鼠血淀粉酶水平显著下降,且胰腺局部炎症反应较模型组亦有所减轻;虽然 IL-10 较模型组有下降趋势,但差异无统计学意义;而 IFN- $\gamma$  则较模型组显著下降,但比正常对照组仍显著升高。说明善宁对 AP 小鼠外周血细胞因子也具有一定的降低作用,但对脾脏 DCs 并未发现有任何影响。故推断善宁对 AP 的治疗作用不是通过介导 DCs 等免疫系统来完成,可能是通过抑制胰酶分泌,从而减轻胰腺局部炎症反应来达到的。

应用厚朴酚及善宁联合治疗 AP 时,不论在减轻胰腺炎症反应方面,还是对脾脏 DCs 的影响上,都与单用厚朴酚组无显著差异。故考虑联合治疗组各种作用的发生关键在于厚朴酚。

综上所述,DCs 参与 AP 的发生发展过程,细胞因子的变化至少部分是源于 DCs。善宁、厚朴酚均具有治疗小鼠 AP 的作用,但后者优于前者,且二者联用强于任一药物单独使用;厚朴酚治疗 AP 的作用途径之一是通过参与免疫调节来完成,而善宁并未表现出此作用。今后在治疗 AP 上可以尝试应用中中西医结合治疗的措施。

#### 参考文献

- [1] Dugernier T, Reynaert M, Laterre PF. Early multi-system organ failure associated with acute pancreatitis, a plea for a conservative therapeutic strategy. *Acta Gastroenterol Belg*, 2003,66:177-183.
- [2] 邓群,黎洁良,姚咏明,等.急性坏死性胰腺炎早期血清细胞因子的变化及免疫干预的影响. *中国危重病急救医学*, 1999,11:358-360.
- [3] Genovese T, Mazzon E, Di Paola R, et al. Hypericum perforatum attenuates the development of cerulein-induced acute pancreatitis in mice. *Shock*, 2006,25:161-167.

- [4] Niederau C, Ferrell LD, Grendell JH. Caerulein-induced acute necrotizing pancreatitis in mice: protective effects of proglumide, benzotript, and secretin. *Gastroenterology*, 1985, 88: 1192-1204.
- [5] Woeste G, Wullstein C, Meyer S, et al. Octreotide attenuates impaired microcirculation in postischemic pancreatitis when administered before induction of ischemia. *Transplantation*, 2008, 86: 961-967.
- [6] Shih HC, Wei YH, Lee CH. Magnolol alters the course of endotoxin tolerance and provides early protection against endotoxin challenge following sublethal hemorrhage in rats. *Shock*, 2004, 22: 358-363.
- [7] Schmidt J, Lewandrowski K, Warshaw AL, et al. Morphometric characteristics and homogeneity of a new model of acute pancreatitis in the rat. *Int J Pancreatol*, 1992, 12: 41-51.
- [8] 袁耀宗, 龚自华, 楼恺炯, 等. 生长抑素及 Octreotide 对急性胰腺炎胰腺细胞凋亡的作用机制. *中国危重病急救医学*, 2000, 12: 402-405.
- [9] 王艳蕾, 张凤宇, 贾玉杰, 等. 生长抑素和栀子联合应用治疗重症急性胰腺炎的实验研究. *胰腺病学*, 2007, 7: 34-36.
- [10] 秦月花, 傅文安, 王丽敏, 等. 芒硝联合施他宁治疗重症急性胰腺炎的临床研究. *中国中西医结合急救杂志*, 2006, 13: 187-188.
- [11] 冯志松, 黄涛, 任权, 等. 中药泻下法治疗重症急性胰腺炎的临床观察. *中国中西医结合急救杂志*, 2007, 14: 11-13.
- [12] 王健, 易继林. 白介素-10 治疗急性胰腺炎的实验研究. *中国危重病急救医学*, 2002, 14: 371-374.

(收稿日期: 2009-08-09)

(本文编辑: 李银平)

## • 基层园地 •

## 浅谈术后早期炎性肠梗阻的诊治体会

陈宏伟 陈玉红

【关键词】 术后; 早期; 肠梗阻; 炎性

本院收治的 10 例炎性肠梗阻患者取得了理想疗效, 现报告如下。

## 1 临床资料

1.1 一般资料: 10 例患者中男 9 例, 女 1 例; 年龄 14~56 岁。均为腹部外伤引起小肠挫伤穿孔, 其中交通事故 6 例, 砸伤 4 例; 重度挫伤 6 例, 中度挫伤 3 例, 轻度挫伤 1 例; 发生在回肠 4 例, 空肠 6 例; 单个穿孔 5 例, 贯通伤 3 例, 肠断裂 2 例; 合并后腹膜血肿 3 例, 腰椎体压缩性骨折 2 例。8 例行手术修补, 2 例行部分肠切除、端端肠吻合术。

1.2 临床表现: 肠梗阻发生于术后 3~18 d, 平均为 7.2 d。10 例均有腹胀, 停止排气、排便。腹部 X 线平片或透视均可见多少不等的液气平面; 5 例 B 超检查提示腹腔积液; 4 例腹部 CT 检查提示肠梗阻, 小肠壁增厚粘连, 肠管积液。

1.3 治疗方法: 禁食; 进行胃肠减压, 其中 4 例患者口服或胃管注入增液承气汤或 1:10 的大黄水溶液保留灌肠。静脉营养, 并输入水溶性和脂溶性维生素, 纠正低蛋白血症, 维持水、电解质、酸碱平衡, 预防性使用抗生素, 适当给予糖皮质激素和生长抑素。腹部盐块热敷加理疗。

1.4 结果: 10 例经保守治疗均痊愈。住

院时间为 5~10 d。

## 2 讨论

术后早期炎性肠梗阻是因为手术的机械损伤、炎症反应、肠壁水肿等多种因素所致肠道动力功能障碍, 其发生机制中既有机械因素亦有动力性因素。这充分说明对该病的认识、诊治特点有其独特性。在诊断方面, 应特别注意腹部坚韧, 形似“冰冻腹”, 腹部炎症改变, 影像学平片有液气平面等。CT 的诊断价值更大, 有报道 CT 能充分显示梗阻肠段及其邻近结构, 对肠梗阻的病因诊断具有重大意义<sup>[1]</sup>。本病一旦确诊, 保守治疗是行之有效的, 具体可参照黎介寿<sup>[2]</sup>院士设计的方法治疗。笔者就本例病例总结以下经验以供参考: ①仍应保守治疗为基础, 早期下床活动、腹部盐块热敷加理疗可以增加肠管血运和肠蠕动功能。②承气汤治疗肠梗阻行之有效, 作者体会增液承气汤效果更好, 尤其是莱菔子、麦冬、生地三药配伍相得益彰, 生津生液, 增加血运, 降低组织水肿, 类似糖皮质激素的疗效。大黄具有双向调节作用, 不仅增加肠蠕动, 而且保留灌肠有利于肠内容物排出。③术后胃肠道功能恢复的具体机制目前尚不能完全解释, 但有一种生理现象是明确的, 即禁食时胃和小肠蠕动缓慢, 有不规律的收缩波; 进食状态时肠蠕动有力、频繁, 有规律的收缩波。在治疗时主要以肠胀气为主的炎性改变, 发生呕吐或胃扩张少见。所以在不

存在上述症状时不主张胃肠减压。这既避免了因放置胃肠减压管出现咽喉疼痛、恶心、呕吐、肺部感染、心理因素等并发症, 又有早期恢复进食、增加肠蠕动、减少静脉输液、恢复自身生理需要的作用。

在手术中预防早期炎性肠梗阻十分关键: ①本组病例是因腹部外伤而致, 肠管本身就有不同程度的损伤、水肿, 亦是造成术后早期炎性肠梗阻的最基本因素。术中操作更要细致、认真, 保护好肠管, 以保证浆膜层的完整性。②术后用大量等渗盐水反复冲洗腹腔, 尽量减少肠内容物遗留腹腔。③最后将碘伏和生理盐水配制成的 1:50 混合液 100 ml 置入腹腔, 起到润滑作用, 完全可以预防肠粘连。④放置引流管(一般 3~5 d)充分引流, 防止腹腔感染。⑤早期下床活动。有报道, 腹部按摩可直接促进肠管运动, 分解粘连, 促进炎性物质吸收, 从而解除肠梗阻<sup>[3]</sup>。

## 参考文献

- [1] 刘雅刚, 胡亚民, 胡亚力. 急性肠梗阻 98 例治疗体会. *中国危重病急救医学*, 2008, 20: 445.
- [2] 黎介寿. 认识术后早期炎性肠梗阻的特性. *中国实用外科杂志*, 1998, 18: 387-388.
- [3] 陈茂惠, 殷发林. 中西医结合治疗术后早期炎性肠梗阻的体会. *中国中西医结合急救杂志*, 2003, 10: 8.

(收稿日期: 2010-01-18)

(本文编辑: 李银平)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2010.04.004

作者单位: 046200 山西省襄垣县人民医院外科

作者: [王海曼](#), [张淑文](#)  
作者单位: [首都医科大学附属北京友谊医院感染内科, 100050](#)  
刊名: [中国危重病急救医学](#) **ISTIC** **PKU**  
英文刊名: [CHINESE CRITICAL CARE MEDICINE](#)  
年, 卷(期): 2010, 22(4)  
被引用次数: 0次

## 参考文献(12条)

1. 袁耀宗; 龚自华; 楼恺娴 [生长抑素及Octreotide对急性胰腺炎胰腺细胞凋亡的作用机制](#) [期刊论文] - [中国危重病急救医学](#) 2000(7)
2. Schmidt J; Lewandrowski K; Warshaw AL [Morphometric characteristics and homogeneity of a new model of acute pancreatitis in the rat](#) 1992
3. Shih HC; Wei YH; Lee CH [Magnolol alters the course of endotoxin tolerance and provides early protection against endotoxin challenge following sublethal hemorrhage in rats](#) 2004
4. Woeste G; Wullstein C; Meyer S [Octreotide attenuates impaired microcirculation in postischemic pancreatitis when administered before induction of ischemia](#) 2008
5. Niederau C; Ferrell LD; Grendell JH [Caerulein-induced acute necrotizing pancreatitis in mice: protective effects of proglumide, benzotript, and secretin](#) 1985
6. 王艳蕾; 张风宇; 贾玉杰 [生长抑素和栀子联合应用治疗重症急性胰腺炎的实验研究](#) [期刊论文] - [胰腺病学](#) 2007(07)
7. 王健; 易继林 [白介素-10治疗急性胰腺炎的实验研究](#) [期刊论文] - [中国危重病急救医学](#) 2002(6)
8. 冯志松; 黄涛; 任权 [中药泻下法治疗重症急性胰腺炎的临床观察](#) [期刊论文] - [中国中西医结合急救杂志](#) 2007(1)
9. 秦月花; 傅文安; 王丽敏 [芒硝联合施他宁治疗重症急性胰腺炎的临床研究](#) [期刊论文] - [中国中西医结合急救杂志](#) 2006(3)
10. [Genovese T; Mazzon E; Di Paola R](#) [Hypericum perforatum attenuates the development of cerulein-induced acute pancreatitis in mice](#) 2006
11. [邓群; 黎洁良; 姚咏明](#) [急性坏死性胰腺炎早期血清细胞因子的变化及免疫干预的影响](#) [期刊论文] - [中国危重病急救医学](#) 1999(6)
12. [Dugernier T; Reynaert M; Laterre PF](#) [Early multi-system organ failure associated with acute pancreatitis: a plea for a conservative therapeutic strategy](#) 2003

## 相似文献(6条)

1. 期刊论文 [关凯](#), [刘晓红](#), [钱家鸣](#) [表皮生长因子对雨蛙肽联合应激诱导的大鼠急性出血性胰腺炎的保护作用](#) - [胃肠病学](#) 2004, 9(2)

背景: 表皮生长因子(EGF)是参与细胞增殖、成熟和再生的主要因子。目前已证实其对胃肠道黏膜具有保护作用,能促进溃疡愈合,但是罕见关于EGF在急性出血性胰腺炎中作用的报道。目的: 观察外源性EGF对雨蛙肽联合应激诱导的大鼠急性出血性胰腺炎的保护作用。方法: 予雄性Sprague-Dawley大鼠腹腔内注射雨蛙肽(40 μg/kg, 两次注射间隔1 h)联合水浸束缚应激(第一次注射雨蛙肽后开始,持续5 h)诱导急性出血性胰腺炎。EGF治疗组第一次注射雨蛙肽之前0.5 h和之后2.5 h, 分别皮下注射EGF 1、10或30 μg/kg。观察各组动物胰腺炎生化、病理学等指标的变化。结果: 制模开始后12 h, 对照组的胰腺湿重为4.24 g/kg±0.68 g/kg, 血清淀粉酶含量为4 325 U/L±822 U/L, 胰腺组织DNA和淀粉酶含量分别为1 577 μg/g±433 μg/g和21.39 U/mg蛋白±6.83 U/mg蛋白, 各病理学指标评分均为0。胰腺炎组的胰腺湿重(10.49 g/kg±1.87 g/kg)和血清淀粉酶含量(24 433 U/L±16 751 U/L)较对照组显著增高(P<0.01), 胰腺组织DNA(561 μg/g±278 μg/g)和淀粉酶含量(16.95 U/mg蛋白±5.01 U/mg蛋白)则降低, 病理学评分显著增高(P<0.01)。10 μg/kg EGF能显著降低胰腺湿重(6.47 g/kg±2.64 g/kg, P<0.01)和血清淀粉酶含量(9 010 U/L±3 983 U/L, P<0.05), 提高胰腺组织淀粉酶含量(23.92 U/mg蛋白±8.58 U/mg蛋白, P<0.05), 并改善病理学评分。免疫组化检查结果显示该组胰腺腺泡细胞EGF受体表达上调, DNA合成增加。10 μg/kg EGF对急性出血性胰腺炎的保护作用呈时间依赖性。结论: 外源性EGF对雨蛙肽联合应激诱导的大鼠急性出血性胰腺炎有一定的保护和促恢复作用。该作用至少是部分依赖于减轻炎症、上调EGF受体的表达和促进胰腺组织DNA合成来实现的。

## 2. 期刊论文 [徐敏, 汤茂春, 陈敬涵, 吴恺, XU Min, TANG Maochun, CHEN Jinghan, WU Kai](#) 塞来昔布对大鼠胰腺腺泡细胞

### 炎症损伤的作用 - 胃肠病学2009(6)

背景:急性胰腺炎(AP)的发病始于胰腺腺泡细胞内胰酶的激活,造成腺泡细胞损伤。环氧化酶-2(COX-2)和核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)在AP的炎症反应中起重要作用。目的:观察雨蛙肽和选择性COX-2抑制剂塞来昔布对离体大鼠胰腺腺泡细胞COX-2和NF- $\kappa$ B表达的影响,探讨塞来昔布对腺泡细胞炎症损伤的作用。方法:分离大鼠胰腺腺泡细胞,分为对照组、雨蛙肽组( $1 \times 10^{-7}$  mol/L)和塞来昔布干预组( $100 \mu$ mol/L, 15 min)后加入雨蛙肽,分别培养1、3、6、12 h。测定腺泡细胞活力、淀粉酶分泌率和乳酸脱氢酶(LDH)漏出率,逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)和免疫细胞化学染色检测COX-2、NF- $\kappa$ B mRNA和蛋白表达。结果:与对照组相比,雨蛙肽组各时间点腺泡细胞活力均显著降低,淀粉酶分泌率和LDH漏出率显著增高,COX-2和NF- $\kappa$ B mRNA表达量显著增高,蛋白表达阳性率亦增加( $P < 0.05$ )。塞来昔布干预组各时间点腺泡细胞活力、淀粉酶分泌率和LDH漏出率均较雨蛙肽组显著改善( $P < 0.05$ ),COX-2 mRNA和蛋白表达显著降低( $P < 0.05$ ),NF- $\kappa$ B mRNA和蛋白表达与雨蛙肽组无明显差异。结论:塞来昔布可抑制大鼠胰腺腺泡细胞中雨蛙肽刺激的COX-2活性,从而减轻细胞炎症损伤。

## 3. 期刊论文 [李磊, 王兴鹏, 吴恺, LI Lei, WANG Xingpeng, WU Kai](#) 脂多糖诱导实验性急性水肿性胰腺炎演变为急性坏

### 死性胰腺炎的基因表达谱变化 - 胃肠病学2008, 13(6)

背景:既往对急性坏死性胰腺炎(ANP)的研究一般仅限于个别炎症相关基因的阐明,其发展过程中的基因表达谱变化尚未明确。目的:应用基因芯片技术分析脂多糖(LPS)诱导小鼠实验性急性水肿性胰腺炎(AEP)演变为ANP的基因表达谱变化,探讨该过程的基因变化机制。方法:分别以腹腔内注射雨蛙肽和雨蛙肽+LPS诱导小鼠AEP和ANP模型,组织病理学检查鉴定建模是否成功,以Affymetrix小鼠寡核苷酸芯片检测AEP组和ANP组白细胞基因表达谱,筛选差异表达基因。结果:ANP组/AEP组表达显著上调的基因包括转录因子、信号转导、炎症反应、黏附分子、急性反应蛋白、蛋白酶、细胞凋亡、氧自由基代谢等基因;表达显著下调的基因包括信号转导、黏附分子、细胞凋亡、防御反应、转录因子、代谢酶等基因。结论:AEP演变为ANP的基因变化模式可能为LPS等炎症信号激活酪氨酸蛋白激酶(TPK)信号通路和G蛋白介导的信号转导途径,活化C/EBP $\beta$ 、Klf5等转录因子,从而促发Tnf, I11b, Icam1等相关基因表达。

## 4. 期刊论文 [袁耀宗, 龚自华, 楼恺姻, 涂水平, 翟祖康, 徐家裕](#) 生长抑素及Octreotide对急性胰腺炎胰腺细胞凋亡的

### 作用机制 - 中国危重病急救医学2000, 12(7)

目的:探讨生长抑素(SS)及其类似物(Octreotide)治疗小鼠急性胰腺炎对胰腺细胞凋亡及凋亡调控基因bax、p53的作用。方法:以雨蛙肽诱导CD1小鼠急性胰腺炎模型,并应用细胞凋亡原位标记检测(TUNEL)染色、免疫组化技术等检测胰腺细胞凋亡及凋亡调控基因bax、p53的蛋白表达,以及生长抑素及其类似物治疗后对胰腺细胞凋亡及凋亡调控基因bax和p53蛋白表达的影响。结果:HE染色见胰腺组织中典型的细胞核固缩及凋亡小体形成。SS治疗后1小时及Octreotide治疗后5、14小时胰腺细胞凋亡指数显著高于非治疗组1、5和14小时各时间点( $P < 0.01$ )。正常胰腺组织未见凋亡调控基因bax、p53的表达,SS治疗后1小时胰腺细胞p53染色阳性率明显高于非治疗组, $P < 0.01$ ,而非治疗组和SS治疗组1小时的胰腺细胞bax染色阳性率无显著差异;Octreotide治疗后5、14小时胰腺细胞bax染色阳性率明显高于非治疗组相应时间点, $P < 0.01$ ,而非治疗组和Octreotide治疗组5、14小时的胰腺细胞p53染色阳性率无显著差异。结论:生长抑素及其类似物治疗急性胰腺炎的相同机制之一可能是诱导损伤的胰腺细胞凋亡以减轻炎症反应,但前者诱导胰腺细胞凋亡机制可能与凋亡调控基因p53的表达有关而与bax的表达无关;后者诱导胰腺细胞凋亡机制可能与凋亡调控基因bax的表达有关而与p53的表达无关。

## 5. 期刊论文 [李磊, 王兴鹏, 吴恺](#) 氧化磷脂对小鼠急性坏死性胰腺炎的治疗作用 - 中华医学杂志2004, 84(15)

目的探讨氧化磷脂(OXPAPC)对小鼠急性坏死性胰腺炎(ANP)的治疗作用及其可能机制。方法48只C57BL/6J小鼠随机被分为ANP模型组和OXPAPC治疗组。ANP模型制备采用腹腔内注射雨蛙肽和脂多糖, OXPAPC治疗组于脂多糖注射前5 min给予OXPAPC(25 mg/kg)腹腔注射。于第1次雨蛙肽注射后第9、12和24小时分批处死小鼠,留取血液分离血清,用于测定淀粉酶和乳酸脱氢酶(LDH)活性;取胰腺组织作HE染色;应用酶组织化学检测胰腺组织中粒细胞髓过氧化物酶(MPO)活性改变;通过RT-PCR检测炎症介质肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 、白细胞介素(IL)-1 $\beta$ 、E-选择素和细胞间黏附分子(ICAM)-1 mRNA表达;Western印迹检测c-Jun氨基激酶1(JNK1)及核因子- $\kappa$ (NF- $\kappa$ B)p65蛋白表达的变化。结果与ANP模型组相比, OXPAPC治疗组血清淀粉酶活性于第9、12小时显著降低( $P < 0.05$ ), LDH活性于第24小时明显下降( $P < 0.05$ );病理组织学评分结果显示, OXPAPC治疗组胰腺组织坏死和炎性细胞浸润程度显著减轻,但水肿及出血程度无明显变化;OXPAPC治疗组胰腺组织MPO活性于第9、12及24小时显著降低;炎性介质TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、E-选择素和ICAM-1 mRNA表达呈不同程度的下调;JNK1及NF- $\kappa$ Bp65蛋白表达下调。结论OXPAPC可显著降低实验性ANP的严重程度,其可能途径与阻断内毒素信号通路、抑制中性粒细胞活化、下调炎性介质表达有关。

## 6. 期刊论文 [张伟, 王兴鹏, 俞卓伟, 于晓峰, 竺越, 吴恺, 曾悦, 徐铭益, ZHANG Wei, WANG Xing-peng, YU Zhao-wei, YU](#)

### Xiao-feng, ZHU Yue, WU Kai, ZENG Yue, XU Ming-yi

### 高脂血症相关性急性胰腺炎大鼠蛋白质组学分析 - 中华医学杂志2008, 88(16)

目的 探讨高脂血症对大鼠急性胰腺炎的损伤机制。方法 对高脂饮食SD大鼠和正常饮食SD大鼠分别予雨蛙肽腹腔注射和牛磺胆酸钠胰管注射,建立4组动物模型:高脂血症急性水肿性胰腺炎组、高脂血症急性坏死性胰腺炎组、正常血脂急性水肿性胰腺炎组和正常血脂急性坏死性胰腺炎组,每组5只,采用相差双向电泳(2D-DIGE)和MALDI串联飞行时间质谱(MALDI-TOF/TOF)检测差异蛋白质,并采用免疫组化验证差异蛋白质表达。结果 高脂血症急性水肿性胰腺炎和高脂血症坏死性胰腺炎动物模型胰腺组织有典型组织病理学改变。通过DeCyder图像分析软件进行匹配,高脂血症急性坏死性胰腺炎组与正常血脂急性坏死性组分析到59个差异点,39个差异点经质谱成功鉴定,23个点在高脂血症急性坏死性胰腺炎组上调,16个点下调。高脂血症急性水肿性胰腺炎组与正常血脂急性水肿性组分析到12个差异点,7个差异点经质谱成功鉴定,2个点在高脂血症急性水肿性胰腺炎组上调,5个点下调。差异蛋白质主要包括代谢酶类(脂肪酶、淀粉酶、 $\alpha$ 1抗胰蛋白酶等),内质网应激和钙代谢相关蛋白质[葡萄糖调节蛋白(GRP)78、热休克蛋白(HSP)60、蛋白二硫键异构酶等],以及DNA损伤修复、细胞凋亡、循环障碍、信号转导通路等相关蛋白质。淀粉酶和GRP78免疫组化验证结果与电泳结果一致。结论 应用相差凝胶电泳和二级质谱的蛋白质组学手段筛选到内质网应激、细胞凋亡等相关蛋白质在高脂血症急性胰腺炎中的差异表达。高脂血症对急性胰腺炎的损伤加重通过多种途径,内质网应激相关蛋白质可能作为高脂血症相关性重症胰腺炎的早期预警信号和临床治疗新靶点。

本文链接: [http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zgwbjy201004003.aspx](http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zgwbjy201004003.aspx)

授权使用: qkzgz16(qkzgz16), 授权号: e2df70d4-fefb-4375-8856-9ede01593d16

下载时间: 2011年5月9日