

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2023.03.015

基于“顺病位逆病势”的麻黄升浮药性和葶苈子沉降药性潜在靶点研究

张贝贝, 曾梦楠, 王亚奎, 张钦钦, 王茹, 吴媛媛,
徐瑞齐, 侯颖, 王梦梦, 冯卫生, 郑晓珂✉

河南中医药大学, 河南省郑州市金水东路 156 号, 450046



[摘要] **目的** 探究麻黄升浮药性和葶苈子沉降药性的潜在靶点。**方法** 将 340 只大鼠采用随机数字表法分为风寒表证模型组 80 只、风水水肿模型组 90 只、痰饮停聚模型组 90 只、肺水模型组 80 只, 各组大鼠按体重质量均衡原则及造模需要再行分组。采用吹风加寒冷刺激构建大鼠风寒表证模型, 分为正常对照组、风寒表证组、麻黄组、生物碱组、多糖组、非生物碱组和通宣理肺丸组 7 组, 各组均连续灌胃 4 天; 采用尾静脉注射盐酸多柔比星联合吹风刺激构建大鼠风水水肿模型, 分为正常对照组、风水水肿组、麻黄组、生物碱组、多糖组、非生物碱组和通宣理肺丸组 7 组, 各组均连续灌胃 21 天; 采用腹腔注射卵白蛋白联合雾化激发构建大鼠痰饮停聚模型, 分为正常对照组、痰饮停聚组、葶苈子组、黄酮苷组、黄酮苷元组、低聚糖组、多糖组和脂肪油组 8 组, 各组均连续灌胃 7 天; 通过胸腔注射角叉菜胶构建大鼠肺水模型, 分为正常对照组、肺水组、葶苈子组、黄酮苷组、黄酮苷元组、低聚糖组、多糖组和脂肪油组 8 组, 各组均连续灌胃 7 天。灌胃完成后检测各模型毒蕈碱乙酰胆碱受体 M3 (CHRM3)、毒蕈碱乙酰胆碱受体 M1 (CHRM1) 和过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR- γ) 的 mRNA 水平; 检测风寒表证和风水水肿模型 CHRM3 的蛋白表达, 痰饮停聚和肺水模型 PPAR- γ 的蛋白表达。**结果** 与风寒表证组相比, 麻黄组、通宣理肺丸组和生物碱组 CHRM3 的蛋白及 mRNA 水平, 麻黄组 CHRM1 的 mRNA 水平显著升高, 非生物碱组 CHRM3, 通宣理肺丸组和非生物碱组 CHRM1 及麻黄组、通宣理肺丸组、生物碱组和多糖组 PPAR- γ 的 mRNA 水平显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与风水水肿组相比, 麻黄组、通宣理肺丸组和生物碱组 CHRM3 的蛋白及 mRNA 水平, 麻黄组和通宣理肺丸组 CHRM1 的 mRNA 水平, 通宣理肺丸组、生物碱组、非生物碱组和多糖组 PPAR- γ 的 mRNA 水平显著升高, 麻黄组 PPAR- γ 的 mRNA 水平显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与痰饮停聚组相比, 低聚糖组 CHRM3 的 mRNA 水平, 葶苈子组、低聚糖组、黄酮苷组和脂肪油组 PPAR- γ 的蛋白及 mRNA 水平显著升高, 脂肪油组和黄酮苷元组 CHRM1 的 mRNA 水平显著降低 ($P < 0.01$)。与肺水组相比, 葶苈子组 CHRM3 的 mRNA 水平、多糖组 PPAR- γ 的 mRNA 水平显著降低, 低聚糖组、脂肪油组和多糖组 CHRM3 的 mRNA 水平, 葶苈子组、黄酮苷组、低聚糖组和脂肪油组 PPAR- γ 的蛋白及 mRNA 水平, 多糖组和黄酮苷元组 CHRM1 的 mRNA 水平显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论** 药性升浮的麻黄及生物碱组分和通宣理肺丸可显著促进病位在表的风寒表证和风水水肿模型大鼠 CHRM3 的表达, 其可能为麻黄升浮药性的潜在作用靶点之一; 药性沉降的葶苈子、黄酮苷、低聚糖和脂肪油可显著促进病位在里的痰饮停聚和肺水模型大鼠 PPAR- γ 的表达, 其可能为葶苈子沉降药性的潜在作用靶点之一。

[关键词] 升浮药性; 沉降药性; 麻黄; 葶苈子; 风寒表证; 风水水肿; 痰饮停聚; 肺水

中药升降浮沉药性理论概括药物对人体作用的

趋向性, 主要解释中药对于疾病病症、病势发展趋向的影响^[1]。中医学认为, 临床用药应遵循“顺病位、逆病势”的用药原则^[2]。由于疾病有在上、在表、在下和在里等病位之分和向上、向下、向内和

基金项目: 国家重点研发计划-中医药现代化研究专项 (2019YFC1708800), 河南省高层次人才特殊支持计划“中原千人计划”-中原领军人才 (ZYQR201810080)

✉ 通讯作者: zhengxk.2006@163.com

向外等病势趋向,药物的升降浮沉性能正是针对疾病的病势趋向,作用于相应的病势,达到治疗疾病的目的^[3]。因此,在临床用药时,病位在上在表者宜升浮不宜沉降,病位在下在里者宜沉降不宜升浮;病势上逆者宜降不宜升,病势下陷者宜升不宜降^[4]。

前期通过网络药理学结合正常大鼠实验研究,发现典型升浮和沉降中药作用靶点区别主要在毒蕈碱乙酰胆碱受体 M3 (CHRM3)、毒蕈碱乙酰胆碱受体 M1 (CHRM1) 和过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR- γ)^[5],但麻黄升浮药性和葶苈子沉降药性的潜在靶点是否与上述靶点相关仍需进一步验证。麻黄性温,味辛、微苦,具有发汗散寒、宣肺平喘、利水消肿之功效,药性主升浮^[6]。前期研究表明,可以将麻黄拆分为成分互不交叉的生物碱、非生物碱和多糖组分^[7],并且生物碱组分为麻黄药性升浮的物质基础^[8-9]。葶苈子性大寒,味辛、苦,具有泻肺平喘、行水消肿之功效,药性主沉降^[10]。前期研究表明,可以将葶苈子拆分为互不交叉的低聚糖、脂肪油、黄酮苷、黄酮苷元和多糖组分,并且低聚糖、黄酮苷和脂肪油为葶苈子沉降药性的物质基础^[11]。本实验旨在基于“顺病位、逆病势”治疗原则,采用麻黄和葶苈子及其功效对应的疾病模型(风寒表证、风水水肿、痰饮停聚、肺水),探究麻黄升浮药性和葶苈子沉降药性的潜在作用靶点。本研究通过河南中医药大学动物伦理委员会伦理审批,伦理审批号:DWLL2018080003。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 340 只,6~8 周龄,体质量 180~220 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(京)2016-0011。大鼠饲养于 SPF 级动物房中,12 h 光照,恒温 24℃,湿度 40%,自由饮食、饮水。

1.2 药物

麻黄购买于内蒙古自治区鄂托克前旗九康中药材开发有限责任公司,葶苈子购买于北京同仁堂郑东新区药店,经河南中医药大学董诚明教授鉴定其分别为麻黄科植物草麻黄 *Ephedra sinica* Stapf 的干燥草质茎和十字花科植物播娘蒿 *Descurainia sophia* (L.) Webb ex Prantl. 的干燥成熟种子。通宣理肺丸购买于北京同仁堂股份有限公司同仁堂制药厂,批号:19015355,规格:每丸重 6 g。

麻黄和葶苈子水提物制备:均取 2 kg 的药材,麻黄提前用 10 倍量水浸泡 30 min,葶苈子提前 10 倍量水浸泡 50 min,然后用水煎煮两次,每次 1 h,合并滤液,纱布过滤后,滤液浓缩,得到各药材的水煎液总提物。

麻黄和葶苈子拆分组分的制备参考课题组前期研究成果^[7,11]:其中麻黄多糖提取率为 5.9%,生物碱组分提取率为 1.1%,非生物碱组分提取率为 4.6%;葶苈子多糖组分提取率为 1.231%,低聚糖组分提取率为 1.306%,黄酮苷组分提取率为 0.289%,黄酮苷元组分提取率为 0.517%,脂肪油组分提取率为 28.8%。

1.3 主要试剂与仪器

注射用盐酸多柔比星(批号:2006E1),深圳万乐药业有限公司;Ⅱ级和 V 级致敏液 OVA(批号:A5253、A5503),美国 Sigma 公司;SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒(货号:64136301),美国 Bio-Rad 公司;一抗毒蕈碱乙酰胆碱受体 M3 (CHRM3,货号:A1602)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR- γ ,货号:A0270)、 β -肌动蛋白(β -actin 抗体,货号:AC026),ABclonal 公司;二抗山羊抗兔(货号:925-68071)和山羊抗鼠(货号:925-32210),美国 Li-Cor 公司;HiScript III RT SuperMix(货号:R323-01)、ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix(货号:Q711-02),南京诺维赞生物科技股份有限公司;总 RNA 提取试剂盒(货号:R1200)、全蛋白提取试剂盒(货号:BC3710)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(货号:PC0020),北京索莱宝科技有限公司。

ABI QuantStudio 5 型实时荧光定量 PCR 系统(美国赛默飞世尔公司);BioTek 型多功能酶标仪(美国伯腾仪器有限公司);Odyssey-CLx 型双色红外荧光成像系统(美国 Li-Cor 公司);FS-75 型落地电风扇(佛山市杨柳清泉电器有限公司)。

2 方法

2.1 动物实验

将 340 只大鼠采用随机数字表法分为风寒表证模型组 80 只、风水水肿模型组 90 只、痰饮停聚模型组 90 只、肺水模型组 80 只,各组大鼠适应性喂养 1 周后,按体质量均衡原则(根据体质量由大到小依次进行分组,第 1 次从第一组开始直到最后一组,每组 1 只,第 2 次从第二组开始直到最后一组,然后再将第一组补齐 2 只,依次进行直至将大鼠均

分到每组)及造模需要再行分组。

2.1.1 风寒表证模型大鼠造模、分组及给药方法 80 只大鼠中 10 只设为正常对照组, 剩余 70 只大鼠造模。造模大鼠放置在透风的不锈钢丝笼内饲养, 调节风扇距离和转速, 使大鼠感受到的风力为 5~6 级, 室温为 3~5℃, 相对湿度 (40%±5%) 的环境中, 让动物自由摄食活动^[12]。正常对照组大鼠放置在正常环境中。造模期间, 每天观察大鼠状态并测量大鼠体温和体质量, 以大鼠出现打喷嚏、流涕、弓背耸毛、蜷缩聚卧并且体温升高表明风寒表证模型成功^[12]。本模型造模成功大鼠 64 只, 根据大鼠体质量均衡原则去掉体质量最大的 2 只和最小的 2 只, 剩余 60 只大鼠分为风寒表证组、麻黄组、生物碱组、多糖组、非生物碱组、通宣理肺丸组 6 组, 每组 10 只。

除正常对照组和风寒表证组大鼠灌胃蒸馏水 1 ml/100 g 外, 其余给药组大鼠灌胃相应药物 1 ml/100 g, 每日 1 次, 连续给药 4 天。课题组前期研究^[13]表明, 麻黄中剂量即麻黄按照人与大鼠等效剂量^[14]的 14 倍量约 2340 mg/kg 给药对该模型作用效果最好, 因此本实验采用该剂量。然后根据生物碱、多糖和非生物碱组分的提取率 1.1%、5.9% 和 4.6% 计算其给药剂量分别为 25.74、138.06、107.64 mg/kg。通宣理肺丸按照人与大鼠等效剂量^[14]的 14 倍量给药为 5600 mg/kg。

2.1.2 风水水肿模型大鼠造模、分组及给药方法 90 只大鼠中 10 只设为正常对照组, 剩余 80 只大鼠造模。先制备水肿模型: 将注射用盐酸多柔比星粉末用生理盐水溶解, 对大鼠进行尾静脉注射, 首次按 4 mg/kg (浓度为 0.4 mg/ml) 进行注射, 7 天后用同样方法按 3.5 mg/kg (浓度为 0.35 mg/ml) 大鼠体重注射第 2 次^[15]。大鼠出现大便溏泄、精神萎靡、畏寒喜暖、自主活动和尿量减少、尿蛋白水平增加视为水肿模型造模成功^[16]。将水肿模型造模成功大鼠置于四面透风的鼠笼中, 调节电风扇风速 2.5 m/s, 湿度为 (40±5)%, 每天刺激 4~6 h, 时间为 2~6 天, 以大鼠出现恶风、弓背毛松、瘙痒、喷嚏、流涕、小便减少、体温略升高等类似表征的表现认为风水水肿造模成功, 模型判定标准参照《金匱要略·水气病脉证并治第十四》^[17]中对风水水肿疾病症状的描述制定。68 只大鼠造模成功, 除去体质量最大的 4 只和体质量最小的 4 只, 剩余 60 只大鼠根据大鼠体质量均衡原则分为风水水肿组、麻黄组、生物碱组、多糖组、非生物碱组、通

宣理肺丸组 6 组, 每组 10 只。

各组大鼠以 1 ml/100 g 药量灌胃给药连续 21 天, 正常对照组和风水水肿组给予同体积蒸馏水。根据课题组前期研究结果^[18], 麻黄高剂量即按照人与大鼠等效剂量的 28 倍量约 4680 mg/kg 给药效果对该模型最好, 因此本实验采取该剂量。然后根据生物碱、多糖和非生物碱组分的提取率 1.1%、5.9% 和 4.6% 计算其给药剂量分别为 51.48、276.12、215.28 mg/kg。通宣理肺丸剂量依据同 2.1.1。

2.1.3 痰饮停聚模型大鼠造模、分组及给药方法 90 只大鼠中 10 只设为正常对照组, 剩余 80 只大鼠造模。将痰饮停聚造模时间分为致敏期和激发期, 分别在第 0、8 天, 腹腔注射 V 级致敏液 (OVA 1 mg+氢氧化铝 10 mg) 1 ml/200 g 致敏; 第 15 至 20 天连续雾化激发 7 天, 激发液为 2% 的 II 级致敏液 OVA 30 ml, 每次雾化激发 30 min^[19]。造模完成后, 大鼠出现点头呼吸, 喘息次数明显增多、呼吸幅度增大, 腹肌收缩频率加快证明模型成功^[19]。造模成功大鼠共 76 只, 根据体质量均衡原则, 除去体质量最大的 3 只和体质量最小的 3 只, 将剩余 70 只大鼠分为痰饮停聚组、葶苈子组、黄酮苷组、黄酮苷元组、低聚糖组、多糖组、脂肪油组 7 组, 每组 10 只。

各组大鼠以 1 ml/100 g 药量灌胃给药连续 7 天, 正常对照组和痰饮停聚组给予同体积蒸馏水。按照人与大鼠等效剂量的 14 倍量即 2334 mg/kg 给药, 然后根据黄酮苷、黄酮苷元、低聚糖、多糖和脂肪油的提取率 0.289%、0.517%、1.306%、1.231% 和 28.8% 计算其给药剂量分别是 6.75、12.07、30.48、28.74、672.19 mg/kg。

2.1.4 肺水模型大鼠分组、造模及给药方法 80 只大鼠中 10 只设为正常对照组, 剩余 70 只大鼠分为肺水组 (2 mg/100 g)、葶苈子组 (2334 mg/kg)、黄酮苷组 (6.75 mg/kg)、黄酮苷元组 (12.07 mg/kg)、低聚糖组 (30.48 mg/kg)、多糖组 (28.74 mg/kg)、脂肪油组 (672.19 mg/kg), 每组 10 只。给药第 7 天, 除正常对照组按照 0.2 ml/100 g 体积胸腔注射生理盐水外, 其余各组大鼠从肋间肌处向胸膜腔内注射角叉菜胶溶液进行造模, 以大鼠出现咳嗽、喘促、呼吸困难、弓背现象、鼻子湿润及鼻孔出现泡沫液体等征状为模型成功标准^[29]。

给药剂量依据同 2.1.3。各给药组先连续灌胃给药 7 天 (1 ml/100 g), 正常对照组和肺水组给予同体积蒸馏水, 每天 1 次。

2.2 实时荧光定量PCR检测大鼠肺组织中CHRM3、CHRM1和PPAR- γ mRNA表达

提取大鼠肺脏组织总RNA,使用HiScript III RT SuperMix预混液进行逆转录得到cDNA,最后采用ChamQ通用SYBR qPCR预混液,以实时荧光定量PCR对CHRM3、CHRM1和PPAR- γ 的mRNA水平进行分析,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参基因计算mRNA相对表达量。引物由武汉塞维尔生物有限公司设计合成。引物序列:CHRM3上游(5'-3'): ACCAGGGCCATCTAT-TCCATT,下游(5'-3'): ACGGCAGACTCTAAC-TGGATGG,长度:224 bp;CHRM1上游(5'-3'): GCTGGTTTCCTTCGTTCTCTG,下游(5'-3'): ACAC-ATGACCGTGACAGGGAG,长度:166 bp;PPAR- γ 上游(5'-3'): CCCTTTACCACGGTTGATTTC,下游(5'-3'): CTTCAATCGGATGGTTCTTCG,长度:321 bp;GAPDH上游(5'-3'): CTGGAGAAACCTGCCAAG-TATG,下游(5'-3'): GGTGGAAGAATGGGAGTT-GCT,长度:138 bp。

2.3 Western Blot检测大鼠肺组织中CHRM3、PPAR- γ 蛋白表达

取大鼠肺组织,采用全蛋白提取试剂盒提取总蛋白,并使用BCA法进行蛋白定量。每孔蛋白上样量60 μ g进行10% SDS-PAGE凝胶电泳,半干法电转移至PVDF膜,封闭1.5 h后,加入一抗CHRM3和PPAR- γ 抗体,稀释比例参照说明书推荐比例均是1:1000,4 $^{\circ}$ C孵育过夜,回收一抗,PBST洗5次,每次5 min,加入二抗,稀释比例1:20 000,室温孵育1 h,PBST洗3次,每次5 min。Odyssey双色红外荧光成像系统进行成像,采用Image Studio 5.2.5软件进行数据分析。在风寒表证和风水水肿模型中发现,CHRM3的基因表达具较强的规律性,因此在这两个模型中检测CHRM3的蛋白表达。在痰饮停聚和肺水模型中发现,PPAR- γ 的基因表达具有较强的规律性,因此在这两个模型中检测PPAR- γ 的蛋白表达。

2.4 统计学方法

采用SPSS 26.0软件进行数据分析,计量数据均符合正态分布以($\bar{x}\pm s$)表示。多组间比较采用单因素方差分析,方差齐者组间比较采用LSD法,方差不齐者组间比较采用Tamhane's T^e 法。检验水准 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 风寒表证大鼠模型研究结果

3.1.1 风寒表证模型各组大鼠肺组织中CHRM3、CHRM1和PPAR- γ mRNA水平比较 表1示,与正常对照组比较,风寒表证组CHRM3的mRNA水平显著降低,CHRM1和PPAR- γ 的mRNA水平显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与风寒表证组相比,麻黄组、通宣理肺丸组和生物碱组CHRM3的mRNA水平显著升高($P<0.01$),非生物碱组CHRM3的mRNA水平显著降低($P<0.05$);麻黄组CHRM1的mRNA水平显著升高($P<0.01$),通宣理肺丸组和非生物碱组CHRM1的mRNA水平显著降低($P<0.01$);麻黄组、通宣理肺丸组、生物碱组和多糖组PPAR- γ 的mRNA水平显著降低($P<0.01$)。

表1 风寒表证模型各组大鼠肺组织中CHRM3、CHRM1和PPAR- γ mRNA表达比较 ($2^{-\Delta\Delta C_t}$, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	CHRM3	CHRM1	PPAR- γ
正常对照组	10	1.00 $\pm$ 0.01	1.01 $\pm$ 0.17	1.00 $\pm$ 0.01
风寒表证组	10	0.64 $\pm$ 0.04 ^{a)}	3.48 $\pm$ 0.17 ^{a)}	1.15 $\pm$ 0.04 ^{b)}
麻黄组	10	0.90 $\pm$ 0.06 ^{c)}	5.20 $\pm$ 1.05 ^{c)}	0.60 $\pm$ 0.06 ^{c)}
通宣理肺丸组	10	1.05 $\pm$ 0.08 ^{c)}	1.82 $\pm$ 0.25 ^{c)}	0.71 $\pm$ 0.02 ^{c)}
生物碱组	10	0.92 $\pm$ 0.08 ^{c)}	2.93 $\pm$ 1.31	0.80 $\pm$ 0.17 ^{c)}
多糖组	10	0.66 $\pm$ 0.06	2.37 $\pm$ 0.39	0.67 $\pm$ 0.08 ^{c)}
非生物碱组	10	0.47 $\pm$ 0.13 ^{d)}	1.68 $\pm$ 0.73 ^{c)}	1.25 $\pm$ 0.03

注:CHRM3,毒蕈碱乙酰胆碱受体M3;CHRM1,毒蕈碱乙酰胆碱受体M1;PPAR- γ ,过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 。

a)与正常对照组比较, $P<0.01$;b)与正常对照组比较, $P<0.05$;c)与风寒表证组比较, $P<0.01$;d)与风寒表证组比较, $P<0.05$ 。

3.1.2 风寒表证模型中各组大鼠肺组织中CHRM3蛋白表达比较 表2示,与正常对照组相比,风寒表证组大鼠CHRM3蛋白水平显著降低($P<0.01$);与风寒表证组相比,麻黄组、通宣理肺丸组和生物碱组大鼠CHRM3的蛋白水平显著升高($P<0.01$)。蛋白电泳图见附件(图1,扫描本文二维码获取)。

3.2 风水水肿模型研究结果

3.2.1 风水水肿模型各组大鼠肺组织中CHRM3、CHRM1和PPAR- γ mRNA表达比较 表3示,与正常对照组相比,风水水肿组大鼠CHRM3和PPAR- γ 的mRNA水平显著降低,CHRM1的mRNA水平显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与风水水肿组相比,麻黄组、通宣理肺丸组和生物碱组CHRM3的mRNA水平显著升高,麻黄组和通宣理肺丸组CHRM1的mRNA水平显著升高,麻黄组PPAR- γ 的mRNA水平降低,通宣理肺丸组、生物碱组、非生物碱组

和多糖组 PPAR- γ 的 mRNA 水平显著升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

表 2 风寒表证模型各组大鼠肺组织中 CHRM3 蛋白表达的比较 (β -actin, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	CHRM3
正常对照组	10	1.00 $\pm$ 0.10
风寒表证组	10	0.47 $\pm$ 0.03 ^{a)}
麻黄组	10	0.81 $\pm$ 0.18 ^{b)}
通宣理肺丸组	10	0.90 $\pm$ 0.06 ^{b)}
生物碱组	10	0.82 $\pm$ 0.13 ^{b)}
多糖组	10	0.44 $\pm$ 0.04
非生物碱组	10	0.35 $\pm$ 0.14

注: CHRM3, 毒蕈碱乙酰胆碱受体 M3。
a) 与正常对照组比较, $P<0.01$; b) 与风寒表证组比较, $P<0.01$ 。

表 3 风水水肿模型各组大鼠肺组织中 CHRM3、CHRM1 和 PPAR- γ mRNA 表达比较 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	CHRM3	CHRM1	PPAR- γ
正常对照组	10	1.00 $\pm$ 0.13	1.00 $\pm$ 0.11	1.00 $\pm$ 0.06
风水水肿组	10	0.70 $\pm$ 0.04 ^{a)}	2.70 $\pm$ 0.44 ^{a)}	0.60 $\pm$ 0.02 ^{b)}
麻黄组	10	1.24 $\pm$ 0.06 ^{c)}	5.87 $\pm$ 0.69 ^{c)}	0.53 $\pm$ 0.00 ^{d)}
通宣理肺丸组	10	1.01 $\pm$ 0.04 ^{d)}	4.36 $\pm$ 0.78 ^{d)}	0.70 $\pm$ 0.03 ^{c)}
生物碱组	10	1.36 $\pm$ 0.10 ^{c)}	2.93 $\pm$ 0.06	0.74 $\pm$ 0.03 ^{c)}
多糖组	10	0.68 $\pm$ 0.02	2.85 $\pm$ 0.60	0.97 $\pm$ 0.02 ^{c)}
非生物碱组	10	0.83 $\pm$ 0.06	3.17 $\pm$ 0.22	0.88 $\pm$ 0.06 ^{c)}

注: CHRM3, 毒蕈碱乙酰胆碱受体 M3; CHRM1, 毒蕈碱乙酰胆碱受体 M1; PPAR- γ , 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 。
a) 与正常对照组比较, $P<0.05$; b) 与正常对照组比较, $P<0.01$; c) 与风水水肿组比较, $P<0.01$; d) 与风水水肿组比较, $P<0.05$ 。

3.2.2 风水水肿模型各组大鼠肺组织中 CHRM3 蛋白表达比较 表 4 示, 与正常对照组相比, 风水水肿组大鼠 CHRM3 蛋白表达水平显著降低 ($P<0.01$); 与风水水肿组相比, 麻黄组、通宣理肺丸组和生物碱组 CHRM3 的蛋白水平显著升高 ($P<0.01$)。蛋白电泳图见附件(图 2, 扫描本文二维码获取)。

3.3 痰饮停聚模型研究结果

3.3.1 痰饮停聚模型各组大鼠肺组织中 CHRM3、CHRM1 和 PPAR- γ mRNA 表达比较 表 5 示, 与正常对照组相比, 痰饮停聚组大鼠 CHRM3 和 CHRM1 的 mRNA 水平显著降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 与痰饮停聚组相比, 低聚糖组 CHRM3 的 mRNA 水平显著增加, 葶苈子组、低聚糖组、黄酮苷组和脂肪油组 PPAR- γ 的 mRNA 水平显著增加, 脂肪油组和黄酮苷元组 CHRM1 的 mRNA 水平显著降低 ($P<0.01$)。

表 4 风水水肿模型中各组大鼠肺组织中 CHRM3 蛋白表达比较 (β -actin, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	CHRM3
正常对照组	10	1.00 $\pm$ 0.06
风水水肿组	10	0.58 $\pm$ 0.06 ^{a)}
麻黄组	10	0.78 $\pm$ 0.10 ^{b)}
通宣理肺丸组	10	0.88 $\pm$ 0.05 ^{b)}
生物碱组	10	1.23 $\pm$ 0.16 ^{b)}
多糖组	10	0.60 $\pm$ 0.07
非生物碱组	10	0.57 $\pm$ 0.05

注: CHRM3, 毒蕈碱乙酰胆碱受体 M3。
a) 与正常对照组比较, $P<0.01$; b) 与风水水肿组比较, $P<0.01$ 。

表 5 痰饮停聚模型各组大鼠肺组织中 CHRM3、CHRM1 和 PPAR- γ mRNA 表达比较 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	CHRM3	CHRM1	PPAR- γ
正常对照组	10	1.01 $\pm$ 0.15	1.00 $\pm$ 0.12	1.00 $\pm$ 0.10
痰饮停聚组	10	0.22 $\pm$ 0.04 ^{a)}	0.70 $\pm$ 0.05 ^{b)}	0.84 $\pm$ 0.10
葶苈子组	10	0.36 $\pm$ 0.02	0.67 $\pm$ 0.14	1.85 $\pm$ 0.11 ^{c)}
低聚糖组	10	0.62 $\pm$ 0.38 ^{c)}	0.76 $\pm$ 0.25	1.42 $\pm$ 0.14 ^{c)}
黄酮苷组	10	0.37 $\pm$ 0.07	0.59 $\pm$ 0.05	1.59 $\pm$ 0.11 ^{c)}
脂肪油组	10	0.15 $\pm$ 0.05	0.20 $\pm$ 0.09 ^{c)}	1.61 $\pm$ 0.40 ^{c)}
多糖组	10	0.45 $\pm$ 0.12	0.54 $\pm$ 0.22	1.05 $\pm$ 0.10
黄酮苷元组	10	0.16 $\pm$ 0.04	0.26 $\pm$ 0.08 ^{c)}	1.08 $\pm$ 0.05

注: CHRM3, 毒蕈碱乙酰胆碱受体 M3; CHRM1, 毒蕈碱乙酰胆碱受体 M1; PPAR- γ , 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 。
a) 与正常对照组比较, $P<0.01$; b) 与正常对照组比较, $P<0.05$; c) 与痰饮停聚组比较, $P<0.01$ 。

3.3.2 痰饮停聚模型各组大鼠肺组织中 PPAR- γ 蛋白表达比较 表 6 示, 与正常对照组相比, 痰饮停聚组 PPAR- γ 的蛋白表达差异无统计学意义 ($P>0.05$); 与痰饮停聚组相比, 葶苈子组、低聚糖组、黄酮苷组和脂肪油组 PPAR- γ 的蛋白水平显著升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。蛋白电泳图见附件 (图 3, 扫描本文二维码获取)。

3.4 肺水模型研究结果

3.4.1 肺水模型各组大鼠肺组织中 CHRM3 mRNA 表达比较 表 7 示, 与正常对照组相比, 肺水组大鼠 CHRM3 和 CHRM1 的 mRNA 水平显著降低 ($P<0.01$); 与肺水组相比, 葶苈子组 CHRM3 的 mRNA 水平显著降低, 低聚糖组、脂肪油组和多糖组 CHRM3 的 mRNA 水平显著升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 葶苈子组、黄酮苷组、低聚糖组和脂肪油组 PPAR- γ 的 mRNA 水平显著升高, 多糖组 PPAR- γ 的 mRNA 水平显著降低 ($P<0.01$), 多糖组和黄酮苷元组 CHRM1 的 mRNA 水平显著升高 ($P<0.01$)。

表 6 痰饮停聚模型各组大鼠肺组织中 PPAR- γ 蛋白表达比较
($/\beta$ -actin, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	PPAR- γ
正常对照组	10	1.00 $\pm$ 0.10
痰饮停聚组	10	1.10 $\pm$ 0.28
葶苈子组	10	2.90 $\pm$ 0.43 ^{a)}
低聚糖组	10	2.48 $\pm$ 0.60 ^{a)}
黄酮苷组	10	2.14 $\pm$ 0.20 ^{b)}
脂肪油组	10	2.20 $\pm$ 0.23 ^{b)}
多糖组	10	1.32 $\pm$ 0.54
黄酮苷元组	10	1.05 $\pm$ 0.49

注: PPAR- γ , 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 。a) 与痰饮停聚组比较, $P < 0.01$; b) 与痰饮停聚组比较, $P < 0.05$ 。表 7 肺水模型各组大鼠肺组织中 CHRM3、CHRM1
和 PPAR- γ mRNA 表达比较 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	CHRM3	CHRM1	PPAR- γ
正常对照组	10	1.00 $\pm$ 0.11	1.01 $\pm$ 0.18	1.00 $\pm$ 0.05
肺水组	10	0.44 $\pm$ 0.05 ^{a)}	0.60 $\pm$ 0.08 ^{a)}	0.88 $\pm$ 0.06
葶苈子组	10	0.29 $\pm$ 0.01 ^{c)}	0.67 $\pm$ 0.04	1.33 $\pm$ 0.01 ^{b)}
低聚糖组	10	0.79 $\pm$ 0.03 ^{b)}	0.58 $\pm$ 0.19	1.24 $\pm$ 0.17 ^{b)}
黄酮苷组	10	0.31 $\pm$ 0.04	0.53 $\pm$ 0.09	1.11 $\pm$ 0.02 ^{b)}
脂肪油组	10	0.97 $\pm$ 0.08 ^{b)}	0.49 $\pm$ 0.12	1.04 $\pm$ 0.05 ^{b)}
多糖组	10	1.22 $\pm$ 0.16 ^{b)}	1.57 $\pm$ 0.11 ^{b)}	0.40 $\pm$ 0.03 ^{b)}
黄酮苷元组	10	0.36 $\pm$ 0.01	1.02 $\pm$ 0.20 ^{b)}	0.88 $\pm$ 0.01

注: CHRM3, 毒蕈碱乙酰胆碱受体 M3; CHRM1, 毒蕈碱乙酰胆碱受体 M1; PPAR- γ , 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 。a) 与正常对照组比较, $P < 0.01$; b) 与肺水组比较, $P < 0.01$; c) 与肺水组比较, $P < 0.05$ 。

3.4.2 肺水模型各组大鼠肺组织中 PPAR- γ 蛋白表达比较 表 8 示, 与正常对照组相比, 肺水组 PPAR- γ 的蛋白表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 与肺水组相比, 葶苈子组、低聚糖组、黄酮苷组和脂肪油组 PPAR- γ 的蛋白水平显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。蛋白电泳图见附件 (图 4, 扫描本文二维码获取)。

4 讨论

升降浮沉是临床遣方用药的重要依据^[21]。中医认为, 临床治疗应遵循“顺病位、逆病势”的用药原则, 可以利用药势调节脏腑气机紊乱, 使之恢复正常的生理功能, 亦或作用于机体的不同部位, 因势利导, 趋邪外出, 从而达到治疗疾病的目的^[3]。本实验旨在采用病位在表的风寒表证和风水水肿及病位在里的痰饮停聚和肺水动物模型分别探究麻黄升浮药性和葶苈子沉降药性的潜在作用靶点。

前期通过给予正常大鼠典型的升浮药 (麻黄、

表 8 肺水模型各组大鼠肺组织中 PPAR- γ 蛋白表达比较
($/\beta$ -actin, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	PPAR- γ
正常对照组	10	1.00 $\pm$ 0.17
肺水组	10	1.03 $\pm$ 0.2
葶苈子组	10	1.94 $\pm$ 0.46 ^{a)}
低聚糖组	10	3.05 $\pm$ 0.70 ^{a)}
黄酮苷组	10	1.89 $\pm$ 0.12 ^{a)}
脂肪油组	10	2.43 $\pm$ 0.31 ^{a)}
多糖组	10	0.88 $\pm$ 0.15
黄酮苷元组	10	0.86 $\pm$ 0.19

注: PPAR- γ , 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 。a) 与肺水组比较, $P < 0.01$ 。

柴胡、升麻、葛根、桔梗、薄荷) 和沉降药 (葶苈子、旋覆花、川牛膝、丁香、刀豆、茯苓、苦杏仁), 发现升浮药和沉降药对正常动物的影响区别主要是 CHRM3、CHRM1 和 PPAR- γ 的表达水平^[5]。中药升降浮沉主要解释中药对疾病病症、病势发展趋向的影响^[22]。因此在正常动物找到升浮和沉降药性的规律后, 根据麻黄发汗解表、利水消肿的功效建立风寒表证、风水水肿病位在表的动物模型, 并检测 CHRM3、CHRM1 和 PPAR- γ 的水平从而进一步探究麻黄的升浮药性潜在靶点。前期研究发现生物碱为麻黄升浮药性的物质基础, 且通宣理肺丸药性升浮, 而本研究表明药性升浮的麻黄、生物碱组分和通宣理肺丸可显著增加病位在表的风寒表证和风水水肿模型大鼠肺中 CHRM3 蛋白及 mRNA 的表达。CHRM3 为毒蕈碱型乙酰胆碱受体, 乙酰胆碱受体是一种跨膜蛋白受体, 结合神经递质乙酰胆碱而起到信号传递的作用。其中 M 受体主要分布在副交感神经纤维所支配的效应器上, 乙酰胆碱作用于 M 受体时主要表现为心脏活动的抑制、汗腺分泌等^[23]。肺主气、司呼吸, 肺气的升降出入运动对全身气机具有重要的调节作用。肺主宣发功能可以使津液和水谷精微布散周身, 外达皮毛, 也可将津液化为汗液排出体外。麻黄通过肺气宣发生理功能发挥其升浮药性可能与 CHRM3 有关, CHRM3 可能为麻黄升浮药性的潜在靶点之一。

根据葶苈子泻肺平喘、利水消肿的功效建立痰饮停聚、肺水病位在里的动物模型从而进一步研究葶苈子沉降药性的潜在靶点。前期研究表明, 低聚糖、黄酮苷和脂肪油为葶苈子沉降药性的物质基础^[11], 药性沉降的葶苈子、低聚糖、黄酮苷和脂肪油可显著增加病位在里的痰饮停聚和肺水模型大

鼠肺中 PPAR- γ 的蛋白及 mRNA 表达。PPAR- γ 是过氧化物酶体增殖物激活受体 γ , 是核激素受体超家族的一部分, 在能量、葡萄糖及脂质代谢, 炎症基因表达与脂肪生成等过程中发挥着关键作用^[24]。此外, 有大量研究表明, PPAR- γ 在很多肺部相关疾病如哮喘、肺纤维化和慢性阻塞性肺疾病等过程中也具有重要作用^[25]。肺主肃降的生理功能可肃清肺和呼吸道内的异物, 保持呼吸道洁净, 有利于治疗哮喘和慢性阻塞性肺疾病等疾病。葶苈子通过促肺肃降发挥其沉降药性可能与 PPAR- γ 有关, PPAR- γ 可能是葶苈子沉降药性的潜在靶点之一。

综上, CHRM3 可能是麻黄升浮药性的潜在作用靶点之一, PPAR- γ 可能是葶苈子沉降药性的潜在作用靶点之一。本研究存在一定局限性, 只是针对该靶点的 mRNA 和蛋白表达水平进行检测, 并未对该靶点所产生的效应进行评价。在未来的研究中将通过呼吸系统、消化系统、中枢系统、循环系统等整体评价 CHRM3 对麻黄升浮药性的影响以及 PPAR- γ 对葶苈子沉降药性的影响, 进一步验证上述观点。

参考文献

- [1] 陈勇, 杨敏, 闵志强, 等. 析中药升降浮沉渊源流变[J]. 四川中医, 2016, 34(10): 17-20.
- [2] 钟赣生. 中药学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2021: 27-28.
- [3] 傅阳, 袁培培, 侯颖, 等. 基于 GnRHR 信号通路探讨升浮药麻黄与沉降药葶苈子干预哮喘作用差异[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(5): 2553-2562.
- [4] 项丽玲, 李艳, 苗明三. 升降浮沉药性现代药理研究的分析与思考[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(11): 5269-5272.
- [5] 张贝贝, 曾梦楠, 王亚玺, 等. 典型升浮中药和沉降中药潜在作用靶点网络药理学及大鼠体内验证研究[J]. 中医杂志, 2023, 64(2): 174-181.
- [6] 曹艳梅, 张囡, 史楠楠, 等. 基于古代经方传承的清肺排毒汤组方配伍分析[J]. 世界中医药, 2022, 17(9): 1343-1349.
- [7] 李苗, 曾梦楠, 张贝贝, 等. 麻黄水煎液及拆分组分对肾阳虚水肿大鼠的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(23): 91-96.
- [8] 徐瑞齐. 基于“风水水肿”模型的麻黄拆分组分升降浮沉药性研究[D]. 郑州: 河南中医药大学, 2022.
- [9] 吴媛媛. 基于“风寒表证”动物模型的麻黄拆分组分升降浮沉药性研究[D]. 郑州: 河南中医药大学, 2022.
- [10] 刘庆林. 葶苈子药对的临床应用[J]. 光明中医, 2006, 21(12): 58-59.
- [11] 袁培培, 侯颖, 李潘莹, 等. 基于痰饮停聚哮喘模型及主成分分析的葶苈子化学拆分组分沉降药性归属研究[J]. 中草药, 2022, 53(2): 449-460.
- [12] 杨士友, 孙备, 裴月梅, 等. 风寒表证和寒凝血瘀证动物模型的研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 1997, 3(1): 54-64.
- [13] 曹兵. 基于“风寒表证”模型的麻黄升降浮沉药性研究[D]. 郑州: 河南中医药大学, 2021.
- [14] 魏伟. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 71.
- [15] 蔺建军, 杨勇, 高娜, 等. 阿霉素注射次数及剂量对肾病综合征模型的影响[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2011, 12(8): 676-678, 755.
- [16] 赵彧, 杜志仙. 阿霉素致肾阳虚水肿模型大鼠三种实验方法的对比研究[J]. 山东中医杂志, 2011, 30(3): 190-193.
- [17] 张仲景. 金匮要略[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 56-58.
- [18] 李本科. 基于“风水水肿”模型的麻黄升浮药性研究[D]. 郑州: 河南中医药大学, 2021.
- [19] 姜慧慧, 唐迎雪, 梁晓东, 等. 支气管哮喘肺阳虚证及其动物模型研究概况[J]. 山东中医药大学学报, 2022, 46(5): 662-665.
- [20] 李平, 卢韵碧, 周汉良, 等. 大鼠角叉菜胶胸膜炎渗出白细胞磷脂酶 D 活性的变化[J]. 中国药理学通报, 2000, 16(1): 39-43.
- [21] 邓慧, 闫玲玲, 王健. 从升降浮沉药性理论探析升阳益胃汤立方本旨[J]. 亚太传统医药, 2021, 17(5): 107-109.
- [22] 陈龙. 浅析中药升降浮沉药性理论[J]. 广西中医药, 2020, 43(2): 44-47.
- [23] 丛馨, 闵赛南, 吴立玲, 等. 激活毒蕈碱乙酰胆碱受体调控下颌腺分泌的机制研究[J]. 北京大学学报(医学版), 2019, 51(3): 390-396.
- [24] 陈超, 张瑞芬, 张海荣. PPAR- γ 与动脉粥样硬化及其危险因素的相关研究进展[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2021, 13(9): 1146-1147.
- [25] 王贵佐, 卢家美, 谢新明, 等. 过氧化物酶体增殖物激活受体在肺部疾病中的作用[J]. 中国药理学通报, 2013, 29(1): 18-22.

Study on Potential Targets for the Ascending and Floating Nature of Mahuang (*Herba Ephedrae*) and Descending and Sinking Nature of Tinglizi (*Semen Descurainiae seu Lepidii*) based on “Conforming to the Location of the Disease and Reversing the Tendency of the Disease”

ZHANG Beibei, ZENG Mengnan, WANG Yaxi, ZHANG Qinqin, WANG Ru, WU Yuanyuan, XU Ruiqi, HOU Ying, WANG Mengmeng, FENG Weisheng, ZHENG Xiaoke

Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou, 450046

ABSTRACT **Objective** To Explore the potential targets of the ascending and floating nature of Mahuang (*Herba Ephedrae*) as well as the descending and sinking nature of Tinglizi (*Semen Descurainiae seu Lepidii*). **Methods** Totally 340 rats were randomly divided into wind-cold exterior pattern model group (n=80), wind-water edema model group (n=90), phlegm-rheum retention model group (n=90), and pulmonary edema model group (n=80). Further grouping was performed according to the principle of weight balance and modeling needs. The model of wind-cold exterior pattern was constructed by blowing wind and cold stimulation, and the rats were further divided into normal control group, wind-cold exterior pattern group, Mahuang group, alkaloid group, polysaccharide group, non-alkaloid group and *Tongxuan Lifei Pill* (通宣理肺丸) group. All groups were given continuous gavage for four days. The wind-water edema rat model was established by tail vein injection of adriamycin plus blowing wind, and the rats were divided into normal control, wind-water edema, Mahuang, alkaloid, polysaccharide, non-alkaloid and *Tongxuan Lifei Pill* groups, which were all administered with continuous gavage for 21 days. The phlegm-rheum retention rat model was established through intraperitoneal injection of ovalbumin and with atomization, and the modeled rats were divided into normal control, phlegm-rheum retention, Tinglizi, flavonoid glycoside, flavonoid aglycones, oligosaccharide, polysaccharide and fatty oil groups, which were all given intragastric administration continuously for 7 days. The pulmonary edema model was established by pleural injection of carrageenan, and the rats were divided into normal control, pulmonary edema, Tinglizi, flavonoid glycoside, flavonoid aglycones, oligosaccharide polysaccharide and fatty oil groups, all for 7 days of intragastric administration continuously. The mRNA levels of muscarinic acetylcholine receptor M3 (CHRM3), muscarinic acetylcholine receptor M1 (CHRM1) and peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR- γ) were detected. The protein expression of CHRM3 in wind-cold exterior pattern and wind-water edema model, and the protein expression of PPAR- γ in phlegm-rheum retention and pulmonary edema model were detected. **Results** Compared to those in the wind-cold exterior pattern group, the protein and mRNA level of CHRM3 in the Mahuang, *Tongxuan Lifei Pill* and alkaloid groups, as well as the mRNA level of CHRM1 in the Mahuang group significantly increased, while the level of CHRM3 in the non-alkaloid group, the CHRM1 level in the *Tongxuan Lifei Pill* and non-alkaloid groups, and the mRNA level of PPAR- γ in the Mahuang, *Tongxuan Lifei Pill*, alkaloid and polysaccharide groups significantly decreased ($P<0.01$ or $P<0.05$). Compared to those in the wind-water edema group, the protein and mRNA level of CHRM3 in the Mahuang, *Tongxuan Lifei Pill* and alkaloid groups, the mRNA level of CHRM1 in the Mahuang and *Tongxuan Lifei Pill* groups, as well as the mRNA level of PPAR- γ in the *Tongxuan Lifei Pill*, alkaloid, non-alkaloid and polysaccharide groups significantly increased, while the mRNA level of PPAR- γ in the Mahuang group significantly decreased ($P<0.01$ or $P<0.05$). Compared to those in the phlegm-rheum retention group, the mRNA level of CHRM3 in the oligosaccharide group, and the protein and mRNA level of PPAR- γ in the Tinglizi, oligosaccharide group, flavonoid glycoside group and fatty oil group significantly increased, while the mRNA level of CHRM1 in the fatty oil group and flavonoid aglycon group were reduced ($P<0.01$). Compared to those in the pulmonary edema group, the mRNA level of CHRM3 in the Tinglizi group, and the mRNA level of PPAR- γ in the polysaccharide group were significantly reduced, while the mRNA level of CHRM3 in the oligosaccharide group, fatty oil group and polysaccharide group, the mRNA level of PPAR- γ in the Tinglizi group, flavonoid glycoside group, oligosaccharide group and fatty oil group, and the mRNA level of CHRM1 in the polysaccharide group and flavonoid aglycon group increased ($P<0.01$ or $P<0.05$). **Conclusion** Mahuang of ascending and floating nature, alkaloid and *Tongxuan Lifei Pill* could increase the expression of CHRM3 in the rats model of wind-cold exterior pattern and wind-water edema where the disease is located at the exterior; CHRM3 may be one of the potential targets of the ascending and floating nature of Mahuang. Tinglizi of descending and sinking nature, oligosaccharide, flavonoid glycoside and fatty oil could increase the level of PPAR- γ in the model of phlegm-rheum retention and pulmonary edema where the disease is located at the interior; PPAR- γ may be one of the potential targets of descending and sinking nature of Tinglizi.

Keywords ascending and floating nature; descending and sinking nature; Mahuang (*Herba Ephedrae*); Tinglizi (*Semen Descurainiae seu Lepidii*); wind-cold exterior pattern; wind-water edema; phlegm-rheum retention; pulmonary edema

(收稿日期: 2022-03-05; 修回日期: 2022-11-19)

[编辑: 王利芬]