

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.15.021

## 新疆哈萨克族、汉族血浆非对称二甲基精氨酸水平与原发性高血压的相关性研究\*

秦 练<sup>1</sup>, 王 忠<sup>1</sup>, 王 丽<sup>1</sup>, 陈少泽<sup>1</sup>, 唐 辉<sup>2</sup>, 段军仓<sup>1</sup>, 任宏强<sup>1</sup>

(1. 石河子大学医学院第一附属医院心内二科, 新疆石河子 832002;

2. 石河子大学药学院药物分析实验室, 新疆石河子 832002)

**[摘要]** **目的** 探讨血浆非对称二甲基精氨酸(ADMA)与原发性高血压的相关性。**方法** 选择哈萨克族原发性高血压患者( $n=93$ )及汉族患者( $n=112$ ),以哈萨克族( $n=81$ )及汉族( $n=100$ )健康人作为健康对照组,采用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)法分别检测两个民族原发性高血压患者及健康对照人群血浆中 ADMA 水平,同时检测肝、肾功能,血脂、血糖、果糖胺等生化指标。**结果** 两个民族原发性高血压患者血浆 ADMA 水平较健康人群显著升高( $P<0.01$ ),血浆 ADMA 水平与高血压患者血压水平呈正相关(哈萨克族  $r=0.715, P<0.01$ ;汉族  $r=0.645, P<0.01$ )。**结论** 新疆哈萨克族及汉族血浆 ADMA 水平与原发性高血压之间均具有相关性,提示 ADMA 可能参与了原发性高血压的发生及发展。

**[关键词]** 新疆哈萨克族;非对称二甲基精氨酸;高血压**[中图分类号]** R544.1**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2015)15-2072-04

### Correlation between plasma asymmetric dimethylarginine and essential hypertension of Kazak and Han nationalities in Xinjiang\*

Qin Lian<sup>1</sup>, Wang Zhong<sup>1</sup>, Wang Li<sup>1</sup>, Chen Shaoze<sup>1</sup>, Tang Hui<sup>2</sup>, Duan Juncang<sup>1</sup>, Ren Hongqiang<sup>1</sup>

(1. Second Department of Cardiology, First Affiliated Hospital of Medical College, Shihezi University,

Shihezi, Xinjiang 832002, China; 2. Pharmaceutical Analysis Laboratory,

Pharmacy College of Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the correlation between plasma asymmetric dimethylarginine(ADMA) and essential hypertension(EH) by comparing the difference of plasma asymmetric dimethylarginine levels between Kazak and Han patients with EH in Xinjiang. **Methods** 91 Kazak and 112 Han patients with EH were selected, 81 Kazak and 110 Han healthy people were selected as healthy control groups. The plasma ADMA levels in EH groups and the control groups were measured by using the reverse phase-high performance liquid chromatography(RP-HPLC). Meanwhile the liver function, renal function, blood lipids, blood glucose and fructosamine were measured. **Results** Kazak and Han patients with EH had higher levels of plasma ADMA than the control groups ( $P<0.01$ ); there was a positive correlation between the plasma ADMA and blood pressure levels of EH patients in two nationalities( $r=0.715, P<0.01$  for Kazak;  $r=0.645, P<0.01$  for Han). **Conclusion** Both Kazak and Han patients with EH have higher levels of ADMA than the respective healthy control group in Xinjiang. The correlation between the plasma levels of ADMA and EH existed, which indicate that ADMA might be involved in the occurrence and development of EH.

**[Key words]** Kazak nationality in Xinjiang; asymmetric dimethylarginine; hypertension

原发性高血压(essential hypertension, EH)具有高致残率及致死率,是由多危险因素导致的常见疾病之一。我国疾病预防控制中心的一项横断面研究显示,2010年中国成年人高血压患病率已高达33.5%<sup>[1]</sup>,但患病人群对该疾病知晓率、控制率及治疗率均明显低于发达国家水平<sup>[2]</sup>,不同地区、不同民族高血压患病率存在差异。EH发生及发展的始动机制之一是血管内皮功能损伤,非对称二甲基精氨酸作为一氧化氮合酶(NOS)的内源性抑制剂,在人体内通过对NOS产生竞争性抑制作用导致血管内皮细胞NO/NOS通路障碍,NO合成减少;同时NO的抑制平滑肌细胞收缩、血管收缩调节作用及抗血小板聚集等功能进一步下降<sup>[3]</sup>。近年来ADMA已成为EH发病新的研究热点,本研究应用反相高效液相法对新疆哈萨克族、汉族高血压人群血浆ADMA进行检测,比较两个民族血浆ADMA水平是否存在差异,进一步探讨ADMA与EH之间的相关性。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 通过流行病学调查选择新疆玛纳斯县早卡子滩乡、沙湾县东湾镇哈萨克族EH及健康人群;同期选择石河子大学医学院第一附属医院体检中心汉族EH患者及健康人群作为研究对象。选择年龄35~70岁,按2010年中国高血压防治指南标准,确诊为EH患者,哈萨克族EH患者93例作为病例组,其中男48例(52%),女45例(48%),平均年龄(46.1±10.6)岁;哈萨克族健康人群81例作为对照组,其中男39例(48%),女42例(52%),平均年龄(45.3±11.7)岁;选择本院体检中心汉族EH患者112例作为病例组,其中男62例(55%),女50例(45%),平均年龄为(47.2±10.0)岁;汉族健康人群共计110例作为对照组,其中男59例(54%),女51例(46%),平均年龄(46.1±12.7)岁。将研究对象严格按统计学标准分为病例组及对照组。入选病例组与对照组之间年龄、性别差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。

1.2 方法

1.2.1 标本采集及生化指标检测 入选病例均隔夜禁食 12 h,晨起后取肘前静脉血 10 mL 并分成两份,于普通离心管及 5 mL 乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝保存。普通离心管中静脉血以 3 000 r/min 转速于 4 ℃ 离心 15 min 后于 -80 ℃ 冰箱保存。生化指标于石河子大学医学院第一附属医院检验科检测(各项指标均由同一人员使用同一仪器,统一标准完成)。检测项目及正常值范围:总胆固醇(<5.72 mmol/L)、低密度脂蛋白胆固醇(<3.37 mmol/L)、高密度脂蛋白胆固醇(0.90~1.45 mmol/L)、三酰甘油(<2.3 mmol/L)、血糖(3.91~6.21 mmol/L)、果糖胺(10~286 μmmol/L)等。

1.2.2 ADMA 检测方法步骤 (1)标准品溶液配制:将 5 mg ADMA 标准品加入 50 mL 超纯水并漩涡混匀 5 min(标准品储备液浓度:100 μg/mL,于 4 ℃ 冰箱冷藏)。(2)OPA 衍生剂:于 40 mL 避光储液瓶中加入邻苯二甲醛 200 mg,硼酸溶液 36 mL,甲醇 4 mL 及三巯基丙酸 200 μL;将上述溶液漩涡混匀 10 min 冷藏备用<sup>[4]</sup>。(3)色谱条件:色谱柱为 Agilent C18 柱(5 μm,3.9 mm×250 mm),流动相 A 为 0.05 μmmol/L 乙酸钠溶液(pH 6.8),流动相 B 为甲醇(65:35)等度洗脱,进样量 20 μL/次,流速 1 mL/min。紫外检测器吸收值通道 A 203 nm,通道 B 254 nm<sup>[5]</sup>。(4)标准曲线制备:于 5 支 1.5 mL 离心管中依次加入不同量及浓度的 ADMA 储备液,再一次加入空白血浆,配制浓度依次为 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0 μg/mL 的血浆标准品溶液。按血浆样本处理方法进行处理,同时记录色谱图,以峰面积为纵坐标,ADMA 浓度为横坐标进行线性回归,得到直线回归方程  $Area=1\ 680.2C+5\ 251.6$ ,  $r^2=0.999\ 4$ ,其含量在 0.1~2.0 μg/mL 之间有良好的线性关系。(5)血浆样品检测:于 1.5 mL 离心管加入 200 μL 待测血浆及乙腈 800 μL,漩涡混匀 5 min,4 ℃ 12 000 r/min 低温离心 15 min;取上清液 100 μL,加 OPA 衍生剂 100 μL 漩涡混匀,避光反应 3 min,将反应后产物经 0.22 μm 微孔滤膜过滤,取滤液进行测定<sup>[6]</sup>。色谱图可见血浆中 ADMA 峰形良好,分离完全,无杂质峰干扰。

1.3 统计学处理 应用 Excel2007 对实验数据进行录入,实

验数据采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析。计量资料符合正态分布应用  $\bar{x}\pm s$  进行描述,采用  $t$  检验进行组间均数比较,如不满足  $t$  检验条件的数据采用两独立样本秩和检验,应用  $\chi^2$  检验对分类资料进行关联性分析。

2 结果

2.1 病例组与对照组血浆 ADMA 水平比较 与同民族的对照组相比,两个民族病例组年龄、血清葡萄糖、果糖胺、体质量指数、总胆固醇、三酰甘油、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇水平比较差异均无统计学意义。两个民族病例组血浆 ADMA 水平均高于各自对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );哈萨克族病例组血浆 ADMA 水平高于汉族病例组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 1。

2.2 哈萨克族与汉族病例组血浆 ADMA 水平与各自对照组比较 哈萨克族与汉族病例组血浆 ADMA 水平明显高于各自对照组( $P<0.01$ ),二者差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 1。

2.3 哈萨克族与汉族病例组 ADMA 水平比较(根据血压分层) 按 2010 年中国高血压指南标准,将哈萨克族及汉族高血压患者按血压水平进行分层,采用秩和检验,两民族高血压患者血浆 ADMA 水平均随血压水平增高而逐渐增高( $P<0.01$ ),见表 2、3。

2.4 哈萨克族与汉族血浆 ADMA 浓度与 EH 相关性分析 经双变量相关分析发现两个民族患者血浆 ADMA 水平均与 EH 之间呈正相关(哈萨克族  $r=0.715$ ,  $P<0.01$ ;汉族  $r=0.645$ ,  $P<0.01$ )。

2.5 哈萨克族与汉族病例组 ADMA 水平与高血压危险因素关联性分析 根据实验结果,按血浆 ADMA 水平进行分层,分析两民族血浆 ADMA 水平与高血压危险因素相关指标的关联性,根据公式求得哈萨克族总胆固醇与 ADMA 的列联系数为 0.269,低密度脂蛋白与 ADMA 列联系数为 0.247,汉族胆固醇与内脏脂肪素的列联系数为 0.24,低密度脂蛋白与 ADMA 列联系数为 0.239。结果提示哈萨克族、汉族 ADMA 水平均与总胆固醇、低密度脂蛋白相关,虽然具有统计学意义,但关系不密切,见表 4、5。

表 1 哈萨克族与汉族病例组与对照组相关临床指标及血浆 ADMA 水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

项目	哈萨克族		汉族	
	病例组( $n=93$ )	对照组( $n=81$ )	病例组( $n=112$ )	对照组( $n=110$ )
年龄(岁)	46.13±10.6	45.26±11.7	47.16±10.01	46.11±12.65 <sup>a</sup>
SBP(mm Hg)	134.13±15.48 <sup>a</sup>	121.24±12.63	131.44±15.49	124.58±14.81 <sup>a</sup>
DBP(mm Hg)	85.70±13.51 <sup>a</sup>	81.42±10.28	82.14±12.62	79.56±10.64
GLU(mmol/L)	5.44±0.63	5.35±0.54	5.28±0.49	4.81±0.41
FROCT(μmol/L)	238.34±23.40	231.69±19.33	248.02±20.62	239.71±17.25
TC(mmol/L)	5.35±0.63	4.98±0.55	5.01±1.09	4.82±0.76
TG(mmol/L)	1.35±0.63	1.15±0.57	1.15±0.65	1.08±0.37
LDL(mmol/L)	2.88±0.64	2.67±0.43	3.15±1.08	2.87±0.69
HDL(mmol/L)	1.78±0.37	1.84±0.23	1.87±0.46	2.01±0.33
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	26.23±1.86	25.94±1.91	25.63±2.58	25.35±2.24
ADMA(μg/mL)	0.38±0.03 <sup>ab</sup>	0.29±0.02	0.33±0.15 <sup>a</sup>	0.27±0.18

GLU:血清葡萄糖;FROCT:果糖胺;BMI:体质量指数;LDL-C:低密度脂蛋白胆固醇;HDL-C:高密度脂蛋白胆固醇;<sup>a</sup>: $P<0.05$ ,与同民族对照组比较;<sup>b</sup>: $P<0.05$ ,与汉族病例组比较。

表 2 哈萨克族高血压患者不同血压水平与血浆 ADMA 浓度比较  $M(P_{75} \sim P_{25})$

血压水平	n	ADMA( $\mu\text{g/mL}$ )	$\chi^2$	P
I 级	43	0.35(0.02)	62.250	0.000
II 级	35	0.37(0.03)		
III 级	14	0.38(0.02)		

表 3 汉族高血压患者不同血压水平与血浆 ADMA 浓度比较  $M(P_{75} \sim P_{25})$

血压水平	n	ADMA( $\mu\text{g/mL}$ )	$\chi^2$	P
I 级	56	0.27(0.03)	68.457	0.000
II 级	40	0.28(0.01)		
III 级	16	0.30(0.02)		

表 4 哈萨克族 ADMA 水平与 EH 危险因素关联性分析(n)

组别	ADMA 分组	GLU		TC		LDL		TG		BUN	
		正常	异常	正常	异常	正常	异常	正常	异常	正常	异常
病例组	$\leq 0.3$	13	5	23	6	19	15	10	7	15	5
	$0.3 \sim \leq 0.35$	22	9	27	5	24	7	21	14	23	11
	$> 0.35$	30	14	18	14	23	5	26	15	25	14
对照组	$\leq 0.3$	15	5	17	13	21	4	12	5	14	6
	$0.3 \sim \leq 0.35$	20	7	22	5	23	5	17	10	21	7
	$> 0.35$	22	12	20	4	16	12	24	13	23	10

表 5 汉族 ADMA 水平与 EH 危险因素关联性分析(n)

组别	ADMA 分组	GLU		TC		LDL		TG		BUN	
		正常	异常	正常	异常	正常	异常	正常	异常	正常	异常
病例组	$\leq 0.3$	18	8	16	13	20	16	22	10	16	10
	$0.3 \sim \leq 0.35$	25	12	31	7	27	6	20	11	24	12
	$> 0.35$	32	17	26	19	24	19	32	17	35	15
对照组	$\leq 0.3$	15	8	24	18	19	16	17	11	21	14
	$0.3 \sim \leq 0.35$	26	14	29	7	33	8	24	14	23	13
	$> 0.35$	31	16	17	15	22	12	27	17	26	13

### 3 讨论

ADMA 作为 L-精氨酸/NO 通路的内源性抑制因子,通过与 L-精氨酸竞争 NOS 的活性结合位点<sup>[7]</sup>抑制 NOS 活性,并促进 NOS 解耦连<sup>[8]</sup>;同时还通过竞争阳离子  $\gamma^+$  转运通路,进一步干扰 L-精氨酸向细胞内转运,通过上述两种机制导致内源性 NO 生成进一步减少。有研究发现高血压患者血浆 ADMA 水平高于健康对照组<sup>[9-10]</sup>,其水平增高与血管内皮损伤及动脉硬化发生具有相关性<sup>[11-12]</sup>。但国内外对哈萨克族高血压人群 ADMA 水平的相关研究较少。本研究采用反相高效液相法检测哈萨克族与汉族高血压人群血浆 ADMA 浓度,观察到两个民族高血压患者血浆 ADMA 水平均高于各自对照组,伴随患者血压分级的增高,ADMA 水平亦逐渐升高,ADMA 水平与高血压之间呈正相关。同时发现 ADMA 与高血压危险因素中的低密度脂蛋白及胆固醇之间具有一定相关性,虽有统计学差异,但二者关系不密切。

新疆为多民族聚居区,哈萨克族居民主要分布于新疆北部地区,以牧业为主,由于气候较寒冷,生存环境及生活条件较恶劣,哈萨克族牧民饮食结构有自身特点,日常以面食、肉制品及乳制品为主,动物脂肪及盐摄入量高<sup>[13]</sup>,但蔬菜及水果摄入量相对较少,哈萨克族高血压发病率高于同地区汉族人群<sup>[14]</sup>。Xiao 等<sup>[15]</sup>发现给予小鼠(载脂蛋白 E 基因缺陷)4 周高 ADMA 饮食后,小鼠血脂水平增高,同时血管粥样硬化病变程度

明显增加。同时有报道发现哈萨克族肥胖程度及血脂水平均高于汉族<sup>[16]</sup>,本研究以石河子市周边哈萨克族牧民及市区汉族 EH 患者为研究对象,入选人群生活环境及饮食结构相对固定,两个民族血浆 ADMA 水平差异可能因素有以下几点:(1) 基因遗传特性;(2) 少数民族特有的膳食习惯、生活方式;(3) 哈萨克族高血压患者疾病知晓率及就诊率低,治疗依从性差。本研究结果具有自身的区域特征,在实验过程中对血浆样本处理、液相条件的选择及 ADMA 衍生方法等方面均有一定的创新。

伴随血压水平的增高及病情的加重,EH 患者血浆 ADMA 水平逐渐增高,提示 ADMA 在 EH 发展的各个阶段持续参与了血管内皮功能的损害,该因子对临床上 EH 病情监测<sup>[17]</sup>具有应用价值,同时为研究特异性治疗药物提供线索,但 ADMA 的其他生成途径及代谢通路,包括转运<sup>[18]</sup>及调控机制等仍须进一步研究。

### 参考文献

- [1] 中国疾病预防控制中心(CDC). 2010 年中国成年人高血压患病率调查[J]. 中华预防医学杂志,2012,46(2):406-409.
- [2] 易艳秋. 原发性高血压流行病学研究进展[J]. 中华高血压杂志,2010,18(9):823-825.

- [3] Cooke JP. Asymmetrical dimethylarginine; the uber marker[J]. *Circulation*, 2004, 109(15):1813-1813.
- [4] Ivanova M, Artusi C, Boffa GM, et al. HPLC determination of plasma dimethylarginines: method validation and preliminary clinical application[J]. *Clin Chim Acta*, 2010, 411(21/22):1632-1636.
- [5] Salvatore S, Angelo Z. A new selective pre-column ninhydrin-based derivatization for a RP-HPLC determination of plasma ADMA by fluorescence detection[J]. *Amino Acids*, 2008(34):677-682.
- [6] Tom T. HPLC analysis of ADMA and other methylated L-arginine analogs in biological fluids[J]. *J Chromatography B*, 2007(851):21-29.
- [7] 邹放君, 唐斌, 何芳, 等. eNOS 基因 27bpVNTR 多态性与新疆汉族原发性高血压的相关性研究[J]. *石河子大学学报:自然科学版*, 2011, 29(3):309-313.
- [8] Boger RH. The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor[J]. *Cardio Res*, 2003, 59(4):824-833.
- [9] Elesber AA, Solomon H, Lennon RJ, et al. Coronary endothelial dysfunction is associated with erectile dysfunction and elevated asymmetric dimethylarginine in patients with early atherosclerosis[J]. *Eur Heart J*, 2006, 27(7):824-831.
- [10] 王洪巨, 刘俊, 史晓俊, 等. 原发性高血压患者血浆非对称性二甲基精氨酸浓度升高[J]. *中华高血压杂志*, 2007, 15(11):930-932.
- [11] Juonala M, Viikari JS, Alftan G, et al. Brachial artery flow-mediated dilation and asymmetric dimethylarginine in the cardiovascular risk in young finns study[J]. *Circulation*, 2007, 116(12):1367-1373.
- [12] 崔璐华, 王庸晋. 不对称二甲基精氨酸与动脉粥样硬化[J]. *国际心血管病杂志*, 2010, 37(2):78-81.
- [13] 谷杨, 马雅静, 程江, 等. 435 例哈萨克族、汉族牧区与市区居民血脂调查分析[J]. *检验医学*, 2005, 20(4):342-343.
- [14] 李娜, 郭淑霞, 张翼华, 等. 新疆哈萨克族居民高血压知识、态度、行为调查分析[J]. *石河子大学学报*, 2007, 25(2):435-438.
- [15] Xiao HB, Yang ZC, Jia SJ, et al. Effect of asymmetric dimethylarginine on atherogenesis and erythrocyte formability in apolipoprotein E deficient mice[J]. *Life Sci*, 2007, 81(1):1-7.
- [16] 杨建峰, 石晓鹏, 赵丹, 等. TGF- $\beta_1$  rs1800469 基因多态性与新疆汉族原发性高血压的相关性研究[J]. *石河子大学学报:自然科学版*, 2010, 28(5):576-581.
- [17] Pizzarelli F, Mass R, Dattolo P, et al. Asymmetric dimethylarginine predicts survival in the elderly[J]. *AGE*, 2013, 35(6):2465-2475.
- [18] Strobe J, Müller F, Zolk O, et al. Transport of asymmetric dimethylarginine (ADMA) by cationic amino acid transporter 2 (CAT2), organic cation transporter-2 (OCT2) and multidrug and toxin extrusion protein 1 (MATE1) [J]. *Amino Acids*, 2013, 45(4):989-1002.

(收稿日期:2014-10-08 修回日期:2015-01-16)

(上接第 2071 页)

- [2] 杨欣文, 吴德康, 李俊松, 等. 黄芩炮制前后 6 种黄酮类成分含量的比较[J]. *广东药学院学报*, 2012, 28(3):282-286.
- [3] Deng YX, Shi QZ, Chen B, et al. Comparative pharmacokinetics of baicalin in normal and the type 2 diabetic rats after oral administration of the *Radix scutellariae* extract[J]. *Fitoterapia*, 2012, 83(8):1435-1442.
- [4] Huang P, Tan S, Zhang YX, et al. The effects of wine-processing on ascending and descending: The distribution of flavonoids in rat tissues after oral administration of crude and wine-processed *Radix scutellariae*[J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 155(1):649-664.
- [5] 杨庆, 许膜英, 杨帆, 等. 正交试验筛选酒黄芩最佳炮制工艺[J]. *湖北中医学院学报*, 2008, 10(2):48-49.
- [6] 贾艳萍, 林松竹, 周璇. 黄芩酒炮制工艺的研究[J]. *中国酿造*, 2009(1):178-179.
- [7] 黄琪, 张村, 吴德玲, 等. 酒黄芩炮制研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(10):364-369.
- [8] 徐雯宇. 尼莫地平鼻用亚微粒凝胶的制备及质量评价[J]. *中国药师*, 2011, 14(5):662-663.
- [9] 王玮, 廖维, 朱少璇, 等. 综合评分法在阿德福韦酯分散片处方筛选中的应用[J]. *中国医院药学杂志*, 2011, 31(12):1001-1003.
- [10] Srinivas NR. Baicalin an emerging multi-therapeutic agent: pharmacodynamics, pharmacokinetics, and considerations from drug development perspectives[J]. *Xenobiotica*, 2010, 40(5):357-367.
- [11] 辛文好, 宋俊科, 何国荣, 等. 黄芩素和黄芩苷的药理作用及机制研究进展[J]. *中国新药杂志*, 2013, 22(6):647-653.
- [12] Chen J, Li Z, Chen AY, et al. Inhibitory effect of baicalin and baicalein on ovarian cancer cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(3):6012-6025.
- [13] Moghaddam E, Teoh BT, Sam SS, et al. Baicalin, a metabolite of baicalein with antiviral activity against dengue virus[J]. *Sci Rep*, 2014, 4:5452.
- [14] 任晓东, 符伟, 张晓芸, 等. 天然产物汉黄芩素的研究进展[J]. *中国新药杂志*, 2011, 20(9):777-784.
- [15] Yang YZ, Tang YZ, Liu YH. Wogonoside displays anti-inflammatory effects through modulating inflammatory mediator expression using RAW264.7 cells[J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 148(1):271-276.

(收稿日期:2014-12-18 修回日期:2015-02-16)