

## · 临床论著 ·

## 富血小板血浆治疗症状性宫颈内膜移位的研究

高娟 张艳玲 张蓓 刘光旺 谢幼专 康红

**【摘要】 目的** 评价自体富血小板血浆注射对症状性宫颈内膜移位的治疗疗效。**方法** 收集 128 例诊断为Ⅲ度症状性宫颈内膜移位患者,随机分为自体富血小板血浆(PRP)注射组(实验组)和微波组(对照组),阴道镜评估宫颈糜烂区愈合情况,应用 Kirby-Baue 抑菌圈试验评价 PRP 的抗菌性能,采用 LIVE/DEAD BacLight 死活菌试剂盒检测生物膜中细菌活力。**结果** PRP 体外具备良好的抗菌性能,临床随访表明 PRP 组和微波组 6 周后总有效率为 96.8% (60/62) 和 80.0% (48/60),差异具有统计学意义( $\chi^2=9.206, P<0.05$ ),富血小板血浆组宫颈创面愈合速度( $5.3\pm 2.1$  周)较微波组( $7.9\pm 2.8$  周)显著加快( $\chi^2=7.206, P<0.01$ );PRP 组治疗相关的不良反应(阴道分泌物及出血等)显著低于微波组,提示 PRP 具有很好的耐受性和安全性。**结论** 自体 PRP 对治疗症状性宫颈内膜移位具有良好的应用前景。

**【关键词】** 症状性宫颈内膜移位;富血小板血浆;微波;阴道镜

**Study on treating symptomatic cervical ectopy with platelet-rich plasma** GAO Juan, ZHANG Yanling, ZHANG Bei, LIU Guangwang, XIE Youzhuang, KANG Hong. The Central Hospital of Xuzhou, Affiliated Hospital of Medical College of Southeast University, Xuzhou 221009, China

Corresponding author: ZHANG Bei, Email: bettyzhang10@163.com

**【Abstract】 Objective** To evaluate the therapeutic effects of autologous platelet-rich plasma (PRP) injections to treat symptomatic cervical ectopy. **Methods** Total of 124 women diagnosed with III° symptomatic cervical ectopy were randomized to PRP group (study group) and microwave group (control group). The wound healing of cervical erosion region were observed by colposcopy, antibacterial susceptibility of PRP gel was determined by Kirby-Bauer disc-diffusion, bacterial viability in biofilms was detected by the LIVE/DEAD BacLight viability kit. **Results** The PRP treatment had good antibacterial properties in vitro. Clinical follow-up indicated that the total efficiency rates were 96.8% (60/62) for the PRP group and 80.0% (48/60) for the microwave group ( $\chi^2=9.206, P<0.05$ ). The cervical wound-healing of patients in PRP group significantly quickly ( $5.3\pm 2.1$  weeks) than those in the microscopy group ( $7.9\pm 2.8$  weeks) ( $\chi^2=7.206, P<0.01$ ). Patients in PRP group with less treatment-related adverse reaction (vaginal discharge and bleeding) than that in the microwave group; PRP showed excellent tolerability and safety. **Conclusion** Autologous PRP applications have good potential for the treatment of symptomatic cervical ectopy.

**【Key words】** Symptomatic cervical ectopy; Platelet-rich plasma; Microwave; Colposcopy

宫颈内膜移位(cervical ectopy)是育龄期妇女常见疾病,其镜下表现为宫颈阴道部鳞状上皮被柱状上皮所取代<sup>[1]</sup>,亦惯称宫颈糜烂。宫颈管柱状上皮移位后局部对外侵微生物抵抗能力下降,阴道内存在多种细菌,主要为葡萄球菌、淋病奈瑟菌、大

肠埃希菌及厌氧菌等,宫颈局部抵抗力的下降将导致病原微生物侵入,引发炎症反应,严重感染者将干扰创面修复的生理进程<sup>[2]</sup>,症状性宫颈内膜移位除易感染性传播疾病外,还存在罹患宫颈癌、黏液分泌增多性不孕等风险,因此,对症状性宫颈内膜移位需要积极干预。症状性宫颈内膜移位不但与局部细菌微环境相关,而且受生长因子等内分泌因素的影响。抗菌药物治疗宫颈糜烂的疗效有限且易于复发,国外已很少使用,原因在于抗菌药物并不能提供糜烂创面愈合所需的各类生长因子,且其不合理应用易导致耐药菌株的形成,血小板血浆中不但

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2014.01.005

基金项目:国家自然科学基金面上项目(No. 81071453);徐州市中心医院博士创新团队科技项目(No. XZB201236);江苏省中医药局项目(No. XZB201236);徐州市首届医学青年后备人才计划

作者单位:221009 徐州市,东南大学医学院附属徐州市中心医院(高娟、张艳玲、张蓓、刘光旺);上海交通大学医学院附属第九人民医院(谢幼专、康红)

通讯作者:张蓓, Email: bettyzhang10@163.com

第一作者:高娟、张艳玲为共同第一作者

含有大量创面修复所需的生长因子<sup>[3]</sup>,最近研究还发现其具有良好的抗菌性能<sup>[4-5]</sup>,本研究在前期工作基础上<sup>[6]</sup>,于2011年6月至2012年11月利用自体富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)技术治疗症状性宫颈内膜移位,临床随访取得满意疗效,报道如下。

## 资料与方法

### 一、一般资料

研究对象为2011年6月至2013年4月,东南大学医学院附属徐州市中心医院、上海交通大学医学院附属第九人民医院妇科门诊确诊为症状性宫颈内膜移位患者,共128例,术前接受阴道镜、宫颈刮片细胞学检查及细菌培养。纳入标准:①符合慢性宫颈炎诊断标准(参考乐杰主编第7版《妇产科学》<sup>[6]</sup>);②经门诊抗菌药物治疗1周无效(口服或阴道给药);③存在阴道分泌物增多、性交后出血、腰骶部疼痛症状;④所有患者阴道镜检查均为Ⅲ度宫颈糜烂。排除标准:①非育龄期妇女、哺乳期妇女、孕妇;②宫颈刮片细胞学检查提示急性炎症(每个高倍镜下白细胞 $\geq 30$ 个);③细胞涂片见异常宫颈细胞。共计128例患者符合上述标准,随机分为两组,治疗组接受PRP治疗(PRP组),平均年龄( $35.6 \pm 3.4$ )岁,对照组采用微波治疗,平均年龄( $36.2 \pm 2.8$ )岁,两组患者年龄差异无统计学意义( $t=34$ ,  $P>0.05$ )。

### 二、PRP的制作及其体外抗菌性能

1. PRP制备:参考本课题组前期研究的两步离心法<sup>[7]</sup>,即于患者肘正中静脉抽取20 ml静脉血,贮于无菌真空抗凝采血管,上下颠倒数次,血浆制作在超净层流细胞培养房进行,全血以Beckman高速离心机(转鼓直径:369 mm),按900 r/min速度离心10 min,呈现上下分层,上层为血清及大部分血小板,下层为红细胞、白细胞及少量血小板,采血管瓶口酒精灯旋转烧灼10 s,注射器小心抽取上层血清与血小板,移液至50 ml无菌离心管,以2000 r/min离心15 min,离心后再次出现分层,上层为贫血小板血浆,下层为PRP沉淀物,注射器抽弃上层贫血小板血浆,留底层PRP(约5 ml),震荡混匀备用,取1 ml送细菌培养,以上步骤均严格无菌操作。

2. 菌株来源与扩增:菌株来自门诊宫颈炎患者宫颈分泌物细菌培养所得金黄色葡萄球菌, -80℃保存,将冻存菌株分别接种于TSA琼

脂板,37℃静态培养24 h。挑取单克隆,接种于含10 ml TSB的50 ml无菌玻璃管中,置于摇床,290 r/min、37℃,有氧条件下培养12 h。取细菌悬液放入离心管中后3000 r/min离心10 min,去上清之后收集底部细菌备用。

3. PRP抑菌圈试验:参考Moskowitz的Kirby-Bauer琼脂扩散法稍做调整<sup>[8-9]</sup>,实验组取直径6 mm圆形高温消毒滤纸片,浸泡20  $\mu$ l活化后的PRP,对照组仅浸泡20  $\mu$ l含凝血酶的10%氯化钙溶液,以含 $10^8$  CFU/ml金黄色葡萄球菌菌液100  $\mu$ l涂板,加入各组滤纸,37℃孵育36 h,测量抑菌圈直径。

4. PRP细菌生物膜抑制试验:将直径8 mm消毒钛板置于48孔板中,加入 $1.0 \times 10^6$  CFU/ml细菌悬液1 ml,37℃下细菌培养基静态培养12 h,形成生物膜后小心吸掉培养液,无菌镊子取出表面覆盖生物膜的钛片,PBS漂洗3次去除未黏附细菌,钛板转移至含有900  $\mu$ l细菌培养基负孔(每组重复3孔),分别加入100  $\mu$ l活化后的PRP或仅含凝血酶的10%氯化钙溶液,继续37℃静态培养12 h,进行L7012 live/dead back light™ viability kit荧光染色,激光共聚焦显微镜观察生物膜活力,活菌发绿色荧光,死菌发红色荧光。

### 三、临床治疗

1. 治疗方法:两组患者均于月经干净后5~7 d开始治疗:取截石位,碘伏常规消毒,包括外阴、阴道及宫颈,铺无菌单,窥阴器辅助下暴露宫颈糜烂区,对照组以CWY1CR2001L微波治疗仪消毒探头紧贴宫颈,自宫颈内口糜烂区逐渐向外扩展辐射(功率30 W),包括宫颈内膜移位区的边缘部分正常组织,功率及加温时间的调节以病变组织凝固变白至微黄为准。治疗组取4 ml PRP,加入0.4 ml含200 U凝血酶的10%氯化钙溶液活化血小板,宫腔镜暴露宫颈内膜移位区,以硬膜外穿刺针均分4个注射点迅速注入,卵圆钳夹持无菌棉球旋转压迫2~5 min,确保止血及注入血浆在宫颈内膜下均匀分布。两组患者每两周复诊并重复上述治疗,共计3次。术后注意会阴卫生,2个月内禁盆浴及房事,所有患者首次治疗后2、4和8周随访,阴道镜检查拍照存档。

2. 评价标准:疗效标准参照肖雁冰等方法<sup>[10]</sup>:①痊愈:糜烂面消失,宫颈光滑,肥大消退;息肉、纳囊消失,临床症状消失;②显效:治疗后宫颈糜烂面积较治疗前缩小 $> 50\%$ 或宫颈糜烂面改善Ⅰ度以上;息肉、纳囊消失,肥大的宫颈缩小为原体积的1/3~

1/2, 临床症状减轻(异常分泌物减少、接触性出血消失或减轻); ③无效: 自觉症状无好转, 糜烂面未见缩小。

治疗相关的不良反应: (1) 阴道分泌物: ①重度: 量多, 需护垫保护; ②中度: 较多, 外阴潮湿不适; ③轻度: 量少, 外阴稍有潮湿。

(2) 阴道出血: ①重度: 量多, 超过平常月经量 1/2; ②中度: 较多, 约平时月经量 1/3 ~ 1/2; ③轻度: 量少, 少于平时月经量 1/3。

#### 四、统计学处理

以 SPSS 15.0 统计软件包进行数据处理, 连续变量以  $\bar{x} \pm s$  表示, 分类变量以百分比表示, 采用  $\chi^2$  检验或 Fisher 确切概率法对结果进行分析, 以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 结 果

### 一、PRP 外观及体外抑菌情况

静脉血经两步离心法后, 浓缩的 PRP 外观呈淡红色, 加入激活剂后呈凝胶样外观, 见图 1。

对照组滤纸周围无抑菌圈形成, 而浸泡有激活的 PRP 滤纸抑菌效果显著, 其抑菌直径平均为  $(2.00 \pm 0.67)$  mm, 见图 2; 金黄色葡萄球菌为导致宫颈炎的常见病原菌, 可形成致病性生物膜, 钛片经菌液静态培养 12 h 后表面形成以绿色活菌生物膜, 未见死菌形成, 加入有活化的 PRP 培养基后细菌生物膜出现红绿混杂, 提示 PRP 对金葡萄菌活力具有显著抑制作用, 见图 3。

### 二、两组患者的临床疗效

共 128 例患者纳入本项研究, PRP 制作过程严格无菌, 所有血浆均取样细菌培养, 未培养出菌落。两组随访脱落情况: PRP 组 2 例, 微波组 4 例; 治愈情况: 术后 6 周复查, 62 例 PRP 组患者中 40 例 (64.5%) 治愈、20 例显效 (32.3%)、无效 2 例 (3.2%)、总有效率为 96.8% (60/62), 60 例微波治疗患者中 31 例 (51.7%) 治愈、17 例显效 (28.3%)、无效 12 例 (20.0%)、总有效率 80.0% (48/60), 两

组患者创面愈合总有效率差异具有统计学意义 ( $\chi^2 = 9.206$ ,  $P = 0.008$ ), 见表 1。

### 三、两组患者术后创面愈合时间与随访情况

2 周愈合者治疗组 7 例 (11.2%), 微波治疗组 0 例, 2 ~ 4 周愈合者治疗组 39 例 (62.9%), 微波治疗组 7 例 (11.6%), 4 ~ 8 周愈合者治疗组 14 例 (22.6%), 微波组 41 例 (68.3%), 两组患者平均愈合时间差异具有统计学意义 ( $\chi^2 = 7.206$ ,  $P = 0.017$ ), 见表 2。

术后 2、4 和 8 周随访, 阴道镜检查见 PRP 组患者显著优于微波组, 见图 4。

### 三、治疗相关的不良反应

两组患者治疗中不良反应, 即阴道排液或出血情况比较可见, PRP 组在持续性阴道流液与出血严重程度显著低于微波组, 且症状消失时间较快, 提示 PRP 治疗较微波干预具备更好的耐受性与安全性, 见图 5。

## 讨 论

症状性宫颈内膜移位表现为宫颈管柱状上皮外移、宫颈糜烂、性交后出血、阴道分泌物增加等<sup>[11]</sup>, 宫颈管柱状上皮自颈管外移至宫颈阴道部, 取代阴道壁鳞状上皮, 在阴道酸性环境及各种微生物刺激作用下, 柱状上皮易于受损、导致宫颈阴道部内膜下未分化的储备细胞过度增生, 其中部分细胞化生为鳞状上皮, 低分化的鳞状上皮可向非典型方向发展, 形成上皮肉瘤样变, 部分可发展为早期浸润癌, 因此, 症状性宫颈内膜移位应积极干预以降低宫颈癌发生的风险<sup>[12-13]</sup>, 同时外露的宫颈柱状细胞对各类微生物抵抗力差, 罹患性传播疾病的风险显著增高<sup>[14]</sup>; 此外, 宫颈柱状上皮外移分泌大量黏稠样液体, 黏性分泌物可导致继发性不孕, 目前, 针对症状性宫颈内膜移位, 目前以微波、激光、冷冻、红外线以及超声聚焦等物理治疗为多, 也有部分文献报道抗菌药物治疗宫颈糜烂, 但由于抗菌药物的不合理应用, 细菌耐药问题日益突出<sup>[15]</sup>, 且抗菌药物不含促进组织修复的各类生长

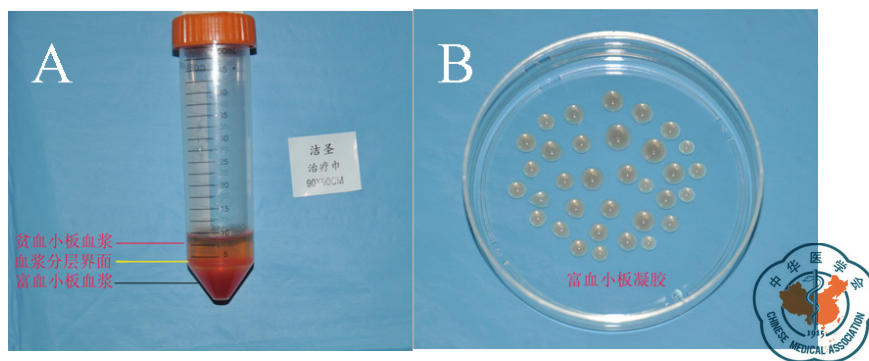
表 1 治疗 6 周后两组患者的疗效比较

组别	例数	治愈 [例 (%)]	显效 [例 (%)]	无效 [例 (%)]	总有效率 (%)
PRP 组	62	40 (64.5)	20 (32.3)	2 (3.2)	96.8
微波组	60	31 (51.7)	17 (28.3)	12 (20.0)	80.0
$\chi^2$		7.359	5.348	6.849	9.206
$P$		0.009	0.049	0.012	0.008

表 2 两组患者治疗后伤口愈合速度比较

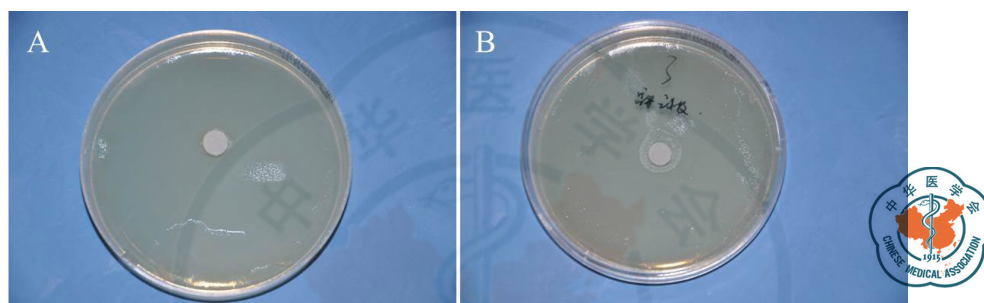
组别	例数	≤ 2 周 [例 (%)]	2 ~ 4 周 [例 (%)]	4 ~ 8 周 [例 (%)]	平均愈合时间 (周)
PRP 组	62	7 (11.6)	39 (62.9)	14 (22.6)	5.3 ± 2.1
微波组	60	0 (0.0)	7 (11.6)	41 (68.3)	7.9 ± 2.8
$\chi^2$			7.379	6.293	7.206
$P$			0.015	0.038	0.017





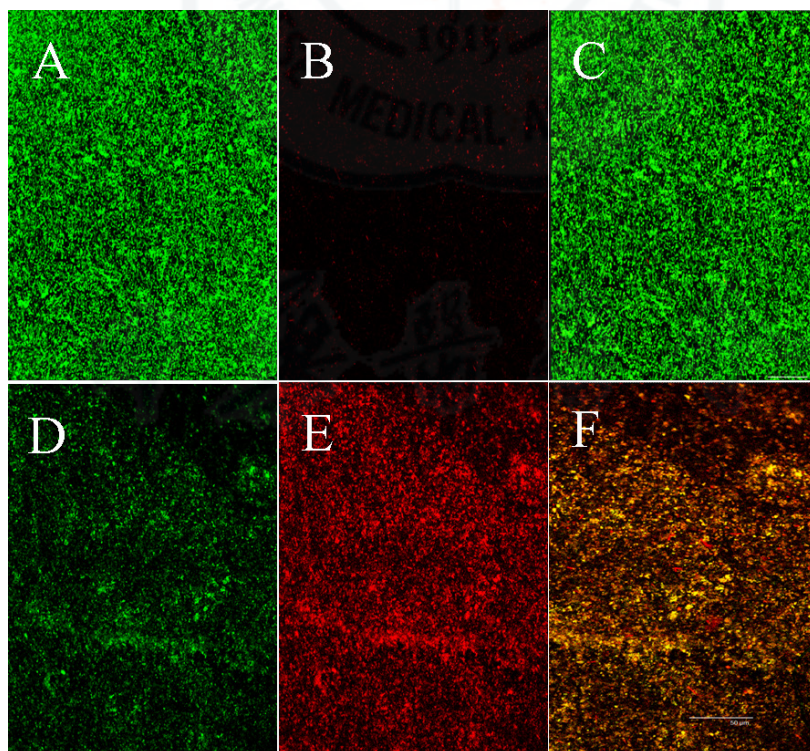
注：A：PRP 两步离心后的最终分层；B：PRP 凝胶

图 1 PRP 的制作及其外观



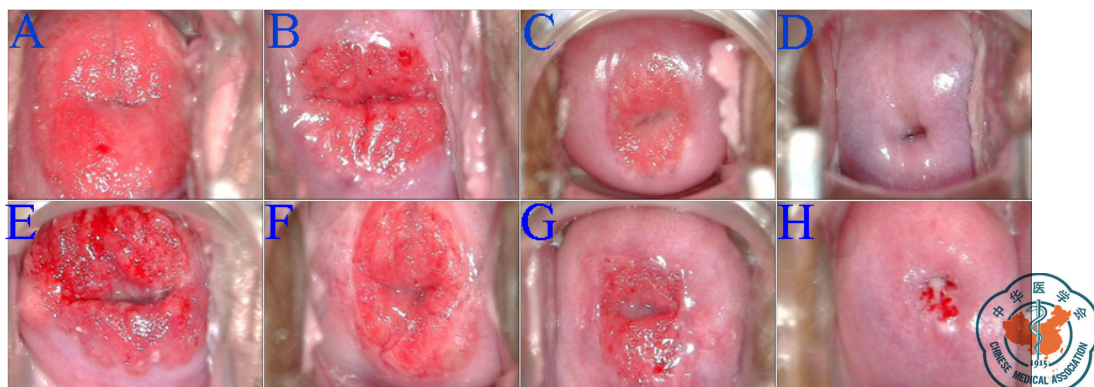
注：A：含凝血酶的氯化钙溶液对照；B：凝血酶的氯化钙溶液活化后的 PRP

图 2 PRP 的体外抑菌圈试验



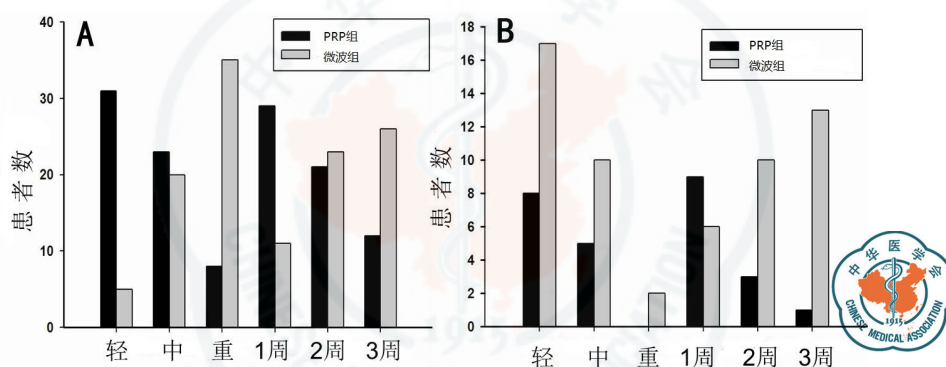
注：A～C：对照组细菌生物膜（A：活菌染色、B：死菌染色、C：Merge）；D～F：PRP 组细菌生物膜（D：活菌染色、E：死菌染色、F：Merge）

图 3 PRP 的对金葡菌生物膜活力的抑制作用（生物膜死 / 活细菌荧光染色法，40×）



注: A~D: PRP 组宫颈内膜修复情况 (A: 术前、B: 2 周、C: 4 周、D: 8 周); E~H: 微波组 (E: 术前、F: 2 周、G: 4 周、H: 8 周)

图 4 PRP 与微波对宫颈内膜移位的修复作用



注: A: PRP 与微波治疗后阴道分泌物比较; B: PRP 与微波治疗后阴道出血比较

图 5 PRP 和微波治疗宫颈内膜移位后阴道分泌物与出血情况

因子, 故疗效并不显著, 而各类物理治疗对操作部位又存在不同程度的副损伤, 因此, 面对门诊大量症状性宫颈内膜移位患者, 妇科医师迫切需要开发一种兼具自我抗菌、无创、富含生长因子的产品以满足临床的需要, 而自体 PRP 正是符合此需求的理想选择。

症状型宫颈内膜移位常见宫颈糜烂、性交后出血、阴道分泌物增多, 这与局部的炎症反应密切相关, 创面愈合是一个序贯事件, 包括炎症期、新生肉芽组织形成期、肉芽改建期, 能否顺利完成取决于局部微环境, 适度的炎症反应有利于对创面修复起作用的细胞向损伤局部趋移, 但过度、慢性持久的炎症反应却严重干扰了创面的修复, 参与组织修复的细胞离不开生长因子的调动<sup>[16]</sup>, 移位的宫颈内膜易发生炎症损伤, 慢性炎症导致局部生长因子不足, 糜烂面迁延不愈, PRP 被激活后, 则可释放大量的有利于组织修复的生长因子如血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、表皮

生长因子 (epidermal growth factor, EGF)、血小板源生长因子 (platelet derived growth factor, PDGF) 以及转化生长因子- $\beta$ 1 (transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1) 等, 因此, PRP 已在骨、软组织工程等领域得到广泛应用<sup>[17-19]</sup>, 本课题组前期研究发现 PRP 可促进产妇脂肪液化伤口的愈合, 近年来, 有研究发现 PRP 具备抗菌性能<sup>[20]</sup>, 最新研究表明血小板的抗菌作用与其分泌的  $\beta$ - 防卫素 1 ( $\beta$ -defensin 1) 密切相关<sup>[21]</sup>, 本研究采用 Kirby-Bauer 抑菌圈试验与死活细菌生物膜荧光染色, 发现其对女性生殖道常见的金黄色葡萄球菌有显著抑杀作用, 同时通过临床随访, 发现接受 PRP 治疗患者, 较微波治疗效果更佳。血小板富集术操作方便, 价格低廉, 可重复多次注射, 且血小板血浆来自患者自身, 无免疫排斥反应和伦理限制, 适合临床进一步推广。

考虑活检取材对患者的医源性损伤, 本研究未取宫颈内膜进行细胞培养及组织切片染色, 因而未能明确 PRP 释放的生长因子对宫颈内膜上皮细胞及肌



纤维细胞增殖、迁移的影响, 下一步研究将利用蛋白芯片技术, 进一步明确 PRP 中存在主要生长因子及抗菌成分, 并研究其促进创面愈合的相关机制。

### 参考文献

- 1 Marrazzo JM, Martin DH. Management of women with cervicitis[J]. Clin Infect Dis, 2007, 44(Suppl 3):102-110.
- 2 Robson MC. Wound infection. A failure of wound healing caused by an imbalance of bacteria[J]. Surg Clin North Am, 1997, 77(3):637-650.
- 3 Filardo G, Kon E, Della Villa S, et al. Use of platelet-rich plasma for the treatment of refractory jumper's knee[J]. Int Orthop, 2010, 34(6):909-915.
- 4 Burnouf T, Chou ML, Wu YW, et al. Antimicrobial activity of platelet (PLT)-poor plasma, PLT-rich plasma, PLT gel, and solvent/detergent-treated PLT lysate biomaterials against wound bacteria[J]. Transfusion, 2013, 53(1):138-146.
- 5 Cieslik-Bielecka A, Gazdzik TS, Bielecki TM, et al. Why the platelet-rich gel has antimicrobial activity?[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2007, 103(3):303-305.
- 6 乐杰主编. 妇产科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008:244
- 7 高娟, 刘光旺. 富血小板血浆治疗妇产科手术后切口脂肪液化的研究[J]. 现代妇产科进展, 2010, 19(10):69-70.
- 8 Moskowitz JS, Blaise MR, Samuel RE, et al. The effectiveness of the controlled release of gentamicin from polyelectrolyte multilayers in the treatment of Staphylococcus aureus infection in a rabbit bone model[J]. Biomaterials, 2010, 31(23):6019-6130.
- 9 Bielecki TM, Gazdzik TS, Arendt J, et al. Antibacterial effect of autologous platelet gel enriched with growth factors and other active substances: an in vitro study[J]. J Bone Joint Surg Br, 2007, 89(3):417-420.
- 10 肖雁冰, 孙丽君. 聚焦超声单次治疗慢性宫颈炎的临床疗效及影响因素[J]. 中华妇产科杂志, 2007, 42(1):14-17.
- 11 Abu J, Davies Q, Ireland D, et al. Should women with postcoital bleeding be referred for colposcopy?[J]. J Obstet Gynaecol, 2006, 26(1):45-47.
- 12 Hwang LY, Lieberman JA, Ma Y, et al. Cervical ectopy and the acquisition of human papillomavirus in adolescents and young women[J]. Obstet Gynecol, 2012, 119(6):1164-1170.
- 13 Bayram A, Erkilic S, Balat O, et al. Prevalence and genotype distribution of human papillomavirus in non-neoplastic cervical tissue lesion: cervical erosion[J]. J Med Virol, 2011, 83(11):1997-2003.
- 14 Bright PL, Norris Turner A, Morrison CS, et al. Hormonal contraception and area of cervical ectopy: a longitudinal assessment[J]. Contraception, 2011, 84(5):512-519.
- 15 Spellberg B, Guidos R, Gilbert D, et al. The epidemic of antibiotic-resistant infections: a call to action for the medical community from the Infectious Diseases Society of America[J]. Clin Infect Dis, 2008, 46(2):155-164.
- 16 Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, et al. Wound repair and regeneration[J]. Nature, 2008, 453(7193):314-321.
- 17 Lee HR, Park KM, Joung YK, et al. Platelet-rich plasma loaded hydrogel scaffold enhances chondrogenic differentiation and maturation with up-regulation of CB1 and CB2[J]. J Control Release, 2012, 159(3):332-337.
- 18 El Backly RM, Zaky SH, Muraglia A, et al. A platelet-rich plasma-based membrane as a periosteal substitute with enhanced osteogenic and angiogenic properties: a new concept for bone repair[J]. Tissue Eng Part A, 2013, 19(1-2):152-165.
- 19 Pires Fraga MF, Nishio RT, Ishikawa RS, et al. Increased survival of free fat grafts with platelet-rich plasma in rabbits[J]. J Plast Reconstr Aesthet Surg, 2010, 63(12):e818-e822.
- 20 Moojen DJ, Everts PA, Schure RM, et al. Antimicrobial activity of platelet-leukocyte gel against Staphylococcus aureus[J]. J Orthop Res, 2008, 26(3):404-410.
- 21 Kraemer BF, Campbell RA, Schwertz H, et al. Novel anti-bacterial activities of beta-defensin 1 in human platelets: suppression of pathogen growth and signaling of neutrophil extracellular trap formation[J]. PLoS Pathog, 2011, 7(11):e1002355.

(收稿日期: 2013-06-27)

(本文编辑: 孙荣华)

高娟, 张艳玲, 张蓓, 等. 富血小板血浆治疗症状性宫颈内膜移位的研究 [J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志 电子版, 2014, 8 (1): 22-27.