

# 基于拉曼光谱的硝酸甘油对活体血液作用的实时分析

覃宗定<sup>1,2</sup> 许雪棠<sup>3</sup> 张枝芝<sup>1,2</sup> 林漫漫<sup>2,4</sup> 姚辉璐<sup>2</sup> 刘军贤<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 广西师范大学物理科学与技术学院, 广西 桂林 541004  
<sup>2</sup> 广西科学院生物物理实验室, 广西 南宁 530007; <sup>3</sup> 广西大学化学化工学院, 广西 南宁 530004  
<sup>4</sup> 武汉大学化学与分子科学学院, 湖北 武汉 430072

**摘要** 利用拉曼光谱对注射硝酸甘油后的活体裸鼠体内动脉血液进行实时连续无损的分析,每隔 10 s 获取一个动脉血管内血液的拉曼光谱,光谱分析表明,活体血液的拉曼光谱主要体现在以下几个位置:1548,1618,1654  $\text{cm}^{-1}$  (与蛋白质相关)和 1125  $\text{cm}^{-1}$  (与血糖相关)。通过分析部分特征峰发现注射硝酸甘油后在 280~730 s 内光谱强度下降,表明体内血液浓度变稀,这可能是由于血管扩张引起的。峰强度在注射硝酸甘油前后的变化为:1548  $\text{cm}^{-1}$  峰强度从 1965.42 降到 1273.61,下降了 35.2%,1125  $\text{cm}^{-1}$  峰强度从 411.59 降到 223.79,下降了 46.63%,说明血液中蛋白质、血糖的含量有不同程度的减少,即裸鼠体内血液中的血红蛋白发生变性、血糖含量明显降低。拉曼光谱活体实时分析技术为研究硝酸甘油代谢机理提供了新的技术和方法。

**关键词** 光谱学;拉曼光谱;硝酸甘油;血液;活体

中图分类号 O433.4 文献标识码 A doi: 10.3788/AOS201434.0130001

## Real-Time Analysis of Blood *in Vivo* Injected with Nitroglycerin Using Raman Spectroscopy

Qin Zongding<sup>1,2</sup> Xu Xuetao<sup>3</sup> Zhang Zhizhi<sup>1,2</sup> Lin Manman<sup>2,4</sup> Yao Huilu<sup>2</sup> Liu Junxian<sup>1</sup>

<sup>1</sup> College of Physics and Technology, Guangxi Normal University, Guilin, Guangxi 541004, China  
<sup>2</sup> Laboratory of Biophysics, Guangxi Academy of Sciences, Nanning, Guangxi 530007, China  
<sup>3</sup> School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi University, Nanning, Guangxi 530004, China  
<sup>4</sup> College of Chemistry and Molecular Sciences, Wuhan University, Wuhan, Hubei 430072, China

**Abstract** Raman spectra of blood in arteries of nude mice injected with nitroglycerin is analyzed in real-time and noninvasively. The Raman spectrum of blood in artery is captured every 10 s. Analysis results show that the spectra of the blood mainly have these characteristic peaks: 1548, 1618, 1654  $\text{cm}^{-1}$  (protein) and 1125  $\text{cm}^{-1}$  (blood sugar). Raman spectral intensity decreases from 280 s to 730 s after the injection of nitroglycerin, which shows that the blood concentration becomes diluted. This may be due to the expansion of blood vessels. The characteristic peak intensities before and after nitroglycerin injection change as below: the 1548  $\text{cm}^{-1}$  peak intensity decreases from 1965.42 to 1273.61, by 35.2%; the peak 1125  $\text{cm}^{-1}$  intensity decreases from 411.59 to 223.79, by 46.63%. This means that the contents of protein and sugar in blood decrease, namely, hemoglobin in the blood of nude mice denatures, and blood sugar levels significantly decrease. The Raman spectrum analysis in real-time *in vivo* can provide new technologies and methods for the study of the metabolic mechanism of nitroglycerin.

**Key words** spectroscopy; Raman spectroscopy; nitroglycerin; blood; *in vivo*

**OCIS codes** 300.6450; 300.6170; 170.2655

收稿日期: 2013-07-21; 收到修改稿日期: 2013-08-19

基金项目: 国家自然科学基金(60868002,31060128)、广西自然科学基金(2012GXNSFFA060008)

作者简介: 覃宗定(1988—),男,硕士研究生,主要从事药物在活体中的作用及拉曼光谱数据分析等方面的研究。

E-mail: zdqin316@gmail.com

导师简介: 姚辉璐(1972—),男,研究员,硕士生导师,主要从事仪器开发及光谱分析等方面的研究。

E-mail: huiluy@gmail.com(通信联系人)

# 1 引言

硝酸甘油<sup>[1-2]</sup>是一种已应用百余年的扩血管药物,具有重要的临床应用价值,其在生物体内的代谢机理研究始终是一个热点和有争议的领域。硝酸甘油在机体内分解生成亚硝酸盐早有报道,但一般认为它是无活性的代谢产物,由具有血管调节活性的一氧化氮氧化产生<sup>[1]</sup>。一氧化氮作用于平滑肌细胞,使平滑肌松弛,引起血管扩张、血压下降。硝酸甘油体内代谢涉及多种代谢酶活性、内源性活性物质水平以及受体活性变化,其代谢途径尚未明了,研究硝酸甘油的代谢机理具有重要意义。

拉曼光谱具有灵敏度高、反应快、简单、可重复和无损伤的定性定量分析等优点,已经广泛应用在单细胞和组织分子组分的研究中<sup>[3-8]</sup>。Tones 等<sup>[8]</sup>对活体小鼠肠膜上血管中的血液进行了共焦拉曼分析,在不破坏血管壁的条件下,获得了血液的光谱信息。在活体中得到的血液拉曼光谱与体外全血的拉曼光谱是非常相似的,特别是在  $751, 1604, 1617 \text{ cm}^{-1}$  等血红蛋白的拉曼特征峰上<sup>[6]</sup>。从拉曼光谱的特征峰的位置、强度和线宽可以获得样品的分子组成及结构信息,因此拉曼光谱已成为研究物质分子结构的

有效手段。

由于拉曼光谱具有反应快、可重复测量的特点,本文应用拉曼技术对裸鼠耳朵动脉血液进行无创的光谱分析,获取注射硝酸甘油后血液的光谱,连续观察注射硝酸甘油后体内血液成份的变化情况及其药效时间。这为研究硝酸甘油代谢机理提供了一种新的技术手段。

## 2 实验部分

### 2.1 实验装置

本实验所用的共焦显微拉曼光谱仪系统如文献<sup>[5,9]</sup>所述,主要由倒置显微镜(TE2000U, Nikon, 日本),光谱仪(Spectra2 Pro2300i, Acton, 美国)和电荷耦合器件(CCD, PIXIS 400BR, Princeton Instruments, 美国)组成,CCD 会自动进行冷却降温到  $-70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 。实验裸鼠麻醉后固定在载物台上,将裸鼠耳朵紧贴在载玻片上,如图 1(b)所示。为了找到动脉血管的位置,使用 LED 灯(560 nm)照射裸鼠耳朵,调节显微镜焦距,选取耳皮深处血液快速流动、粗大的动脉血管并获取光谱。图 1(a)为从显微镜中观察到的动脉血液在血管中流动的图像。

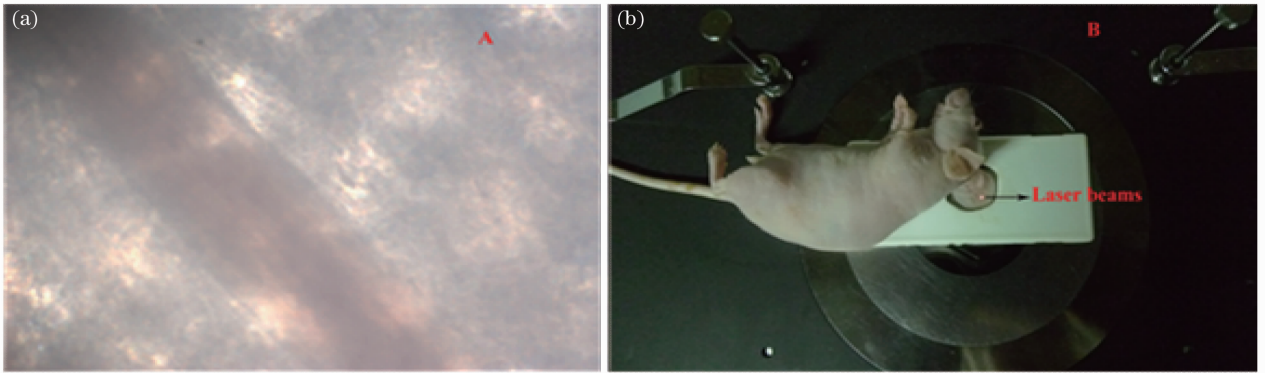


图 1 实验裸鼠图像。(a)显微镜下观察到的血管图像;(b)实验台激光照射下的裸鼠图像

Fig. 1 Images of nude mouse in experiment. (a) Image of blood vessel observed by a microscope; (b) image of nude mouse irradiated by laser beams at experimental table

### 2.2 样品准备

实验动物为 5 周龄左右的无特定病原体(SPF)级裸鼠 5 只,体重为 20 g 左右。用质量分数为 4% 的水合氯醛腹腔注射麻醉(0.15 mL/10 g)。麻醉一段时间后,注射硝酸甘油注射液(0.01 mg/g)。为了研究硝酸甘油对血液的光谱的影响,注射硝酸甘油之前和注射之后获取的光谱是同一血管的同一位置。整个实验过程中,裸鼠耳朵始终紧贴在载玻片上保持不动。激光器产生的激光波长为 785 nm,激光射入显微镜前的功率为 40 mW,拉曼信号收

集时间为 10 s,激光光斑大小为  $2 \mu\text{m}$ 。连续采集注射硝酸甘油之前 30 min 和注射硝酸甘油之后 1 h 的体内血液拉曼光谱。对 5 只裸鼠进行实验,得到的实验结果基本一致。

### 2.3 数据处理

所得的光谱数据在 Origin 8.1 软件中进行 5 点平滑和多项式线性拟合基线校正,并用自制软件在 Matlab 7.0 中消除荧光背景。消除拉曼光谱荧光背景的方法可参考文献<sup>[10]</sup>,其原理是基于信号极小值极大值自适应缩放的荧光背景消除方法,首先

对光谱进行平滑,并使用小波阈值法消除高频白噪声;其次选取信号的极小点位置,根据相邻两个极小点寻找它们之间的最大值的位置;最后将极小值与极大值自适应缩放划分峰的范围。新的消除荧光背景的方法优于传统消除背景的方法,可以有效地提取和增强较弱的特征峰,并且更有利于减少相邻峰间的影响。

## 3 结果与讨论

### 3.1 注射硝酸甘油前的体内血液光谱

图2中曲线a为体内血液拉曼光谱,曲线b为体外硝酸甘油注射液的光谱,其主要特征峰表现在

887、1053、1100、1331、1595  $\text{cm}^{-1}$ 处,与血液光谱特征峰不重复,因此,体内血液特征峰不会来源于注射入体内的硝酸甘油注射液。

图3为注射硝酸甘油前30 min获取的体内血液的平均光谱,其中曲线a是体内血液的原始光谱,曲线b是原始光谱在Origin 8.1软件中进行5点平滑和基线校正后的光谱,曲线c是运用文献[10]的方法通过自制的软件处理后的光谱。从图中可以清晰看到活体内血液拉曼光谱特征峰主要体现在751、935、1001、1214、1450、1548、1618、1654  $\text{cm}^{-1}$ (与血红蛋白相关)和1125  $\text{cm}^{-1}$ (与血糖相关)等位置,光谱的主要特征峰表明取得的光谱为血液光谱。

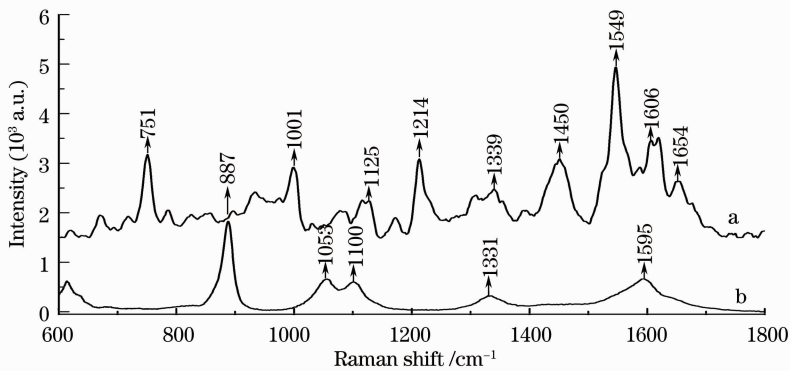


图2 体内血液拉曼光谱(曲线a)和体外硝酸甘油注射液的拉曼光谱(曲线b)

Fig. 2 Raman spectrum of blood *in vivo* (curve a) and Raman spectrum of nitroglycerin *in vitro* (curve b)

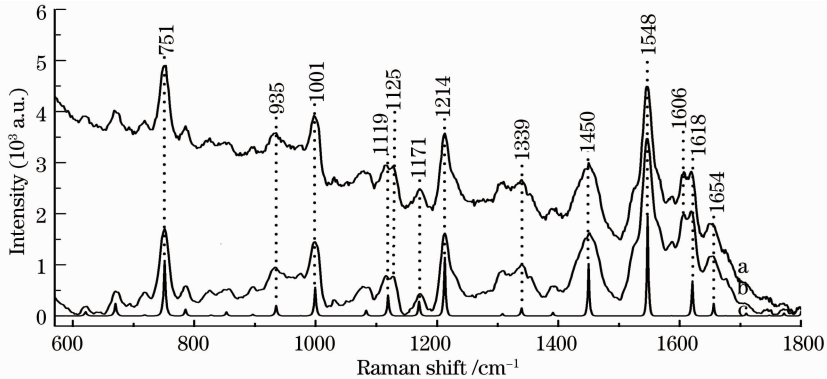


图3 注射硝酸甘油前体内动脉血液的平均拉曼光谱。曲线a为原始光谱;曲线b为5点平滑、多项式拟合基线校正后的光谱;曲线c为自制软件校正后的光谱

Fig. 3 Average Raman spectra of arterial blood before nitroglycerin injection *in vivo*. Curve a: original Raman spectrum of artery; curve b: spectrum by five-spot smoothed, fitted by polynomial and processed using baseline correction; curve c: spectrum corrected by custom software

### 3.2 注射硝酸甘油后的体内血液光谱分析

#### 3.2.1 血红蛋白的变性分析

图4为注射硝酸甘油前后的对比图,图4(a)为注射硝酸甘油前30 min内血液的平均光谱,图4(b)~(f)为注射硝酸甘油后,每2 min内血液的平均光谱。峰的归属如表1所示,蛋白质特征峰主要表现在751、

935、1001、1171、1214、1548、1618、1654  $\text{cm}^{-1}$ 等位置,1654  $\text{cm}^{-1}$ 是归属于蛋白质的酰胺I,酰胺I是非常重要的谱带,它对蛋白质主链构象的变化十分敏感;1450  $\text{cm}^{-1}$ 归属于蛋白质主链中的 $\text{CH}_2$ 的变形振动;1001  $\text{cm}^{-1}$ 归属于蛋白质侧链苯丙氨酸对称呼吸环的振动;1171  $\text{cm}^{-1}$ 归属于蛋白质侧链色氨酸的CH内

面弯曲模式。体内各物质含量的微妙变化可以通过拉曼光谱相关特征峰的强度来反映。从图 4 中可以看到,注射硝酸甘油后,1654,1450,1001  $\text{cm}^{-1}$  峰强度减小,说明体内蛋白质主链有序结构减少,无规卷曲增加,某些氢键断裂、氢键体系以及侧链苯丙氨酸残基发生变化<sup>[11]</sup>,这些基团的变化必然会导致血红蛋白分子空间结构的变化,即导致蛋白质的变性。这与文献[12]中体外通过光密度测定的方法得到的结论相似,亚硝酸盐诱导红细胞的氧合血红蛋白氧化,形成高铁血红蛋白,导致血红蛋白变性。注射后6~

8 min 内,血红蛋白特征峰强度减小到最低值,此时体内血红蛋白处于最低含量。注射后 8~10 min,血红蛋白特征峰强度开始上升,血红蛋白含量开始恢复。注射 12 min 以后,体内血红蛋白的含量逐渐恢复正常。从注射硝酸甘油之前与注射之后的原始光谱对比分析可知,注射硝酸甘油后 4~10 min 内,不仅某些特征峰下降,而且光谱强度全部下降,表明体内血液浓度被稀释了,这很可能是由于硝酸甘油对血管的扩张作用引起的。

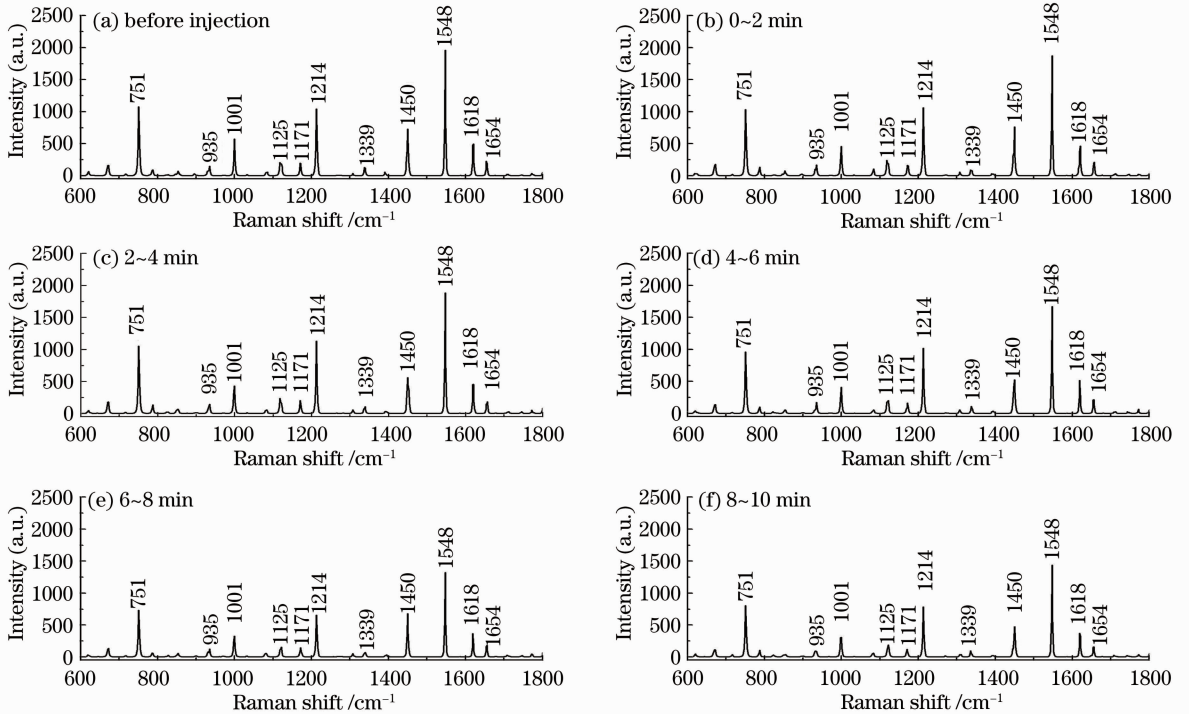


图 4 血液的平均光谱。(a)注射硝酸甘油前;(b) 0~2 min;(c) 2~4 min;(d) 4~6 min;(e) 6~8 min;(f) 8~10 min

Fig. 4 Average spectrum of blood. (a) Before the injection of nitroglycerin; (b) 0~2 min; (c) 2~4 min; (d) 4~6 min; (e) 6~8 min; (f) 8~10 min

表 1 拉曼光谱特征峰的归属表<sup>[6-7,13-14]</sup>

Table 1 Characteristic peak assignments for the Raman spectra<sup>[6-7,13-14]</sup>

Wavenumber / $\text{cm}^{-1}$	Assignment	Wavenumber / $\text{cm}^{-1}$	Assignment
751	Symmetric breathing of tryptophan	1305	$\text{CH}_2$ deformation (lipid), adenine, cytosine
935	CC stretch backbone	1339	$\text{CH}_3\text{CH}_2$ wagging mode of collagen
1001	Symmetric ring breathing mode of phenylalanine	1450	Protein, lipid
1119	CO stretching	1489	Guanine and adenine
1171	C-H inplane bending mode of Trp	1548	Tryptophan
1125	CO stretching	1618	Tryptophan, PHE, tyrosine
1214	Tryptophan and phenylalanine	1654	Amide I; $\alpha$ -helix

### 3.2.2 血红蛋白、血糖的拉曼光谱特征峰强度随时间的变化

硝酸甘油是用于心绞痛的急性用药,起效快,药

效持续时间短,根据多数文献报道其药效时间为5~10 min<sup>[15]</sup>。为进一步研究硝酸甘油在体内血液中的代谢机理及药效时间,对血液拉曼光谱一些主要

特征峰进行跟踪测量,观察这些特征峰在注射硝酸甘油之后的变化情况。血红蛋白特征峰 751、1001、1214、1548、1618、1654  $\text{cm}^{-1}$  峰的强度值随时间的变化关系如图 5 所示,横坐标上,0 值左边为注射硝酸甘油之前 0.5 h 内峰强度随时间的变化,0 值右边为注射硝酸甘油后 1 h,每 10 s 收集一次拉曼光谱的峰强度随时间的变化。蛋白质的几个特征峰强度在注射硝酸甘油后 280~730 s 内明显有下降趋势,下降区域所对应的时间是硝酸甘油在血液中的药效时间。751  $\text{cm}^{-1}$  和 1214  $\text{cm}^{-1}$  峰是同步减小的,说明血红蛋白中色氨酸和苯丙氨酸残基的反应是同时进行的。1001  $\text{cm}^{-1}$  峰归属于蛋白质侧链苯丙氨酸,构象不灵敏,注射硝酸甘油后,变化时间为 280~730 s,下降最快、持续时间最长,说明 1001  $\text{cm}^{-1}$  峰对

应的苯丙氨酸残基结构受到破坏最快,并且这种破坏持续到药效期结束。1654  $\text{cm}^{-1}$  峰属于酰胺 I,它对蛋白质主链构象的变化十分敏感,变化时间为 310~680 s,下降最慢、持续时间最短,说明血红蛋白主链结构受到破坏最慢,并且破坏程度最小。1001  $\text{cm}^{-1}$  峰强度下降时间比 1654  $\text{cm}^{-1}$  峰提前 1 min,说明体内血红蛋白结构是从侧链到主链依次受到破坏的。蛋白质结构受到破坏的程度可以通过注射硝酸甘油后相关特征峰的变化率来表达,峰的变化率越大说明该结构被破坏越严重。表 2 为各个特征峰的变化情况,1654  $\text{cm}^{-1}$  峰的变化率为 26.05%,说明蛋白质主链结构受破坏程度较小。751、1001、1214  $\text{cm}^{-1}$  峰的变化率分别为 33.14%、30.5% 和 37.74%,说明蛋白质侧链基团的受到更严重、更明显的破坏。蛋白质各个

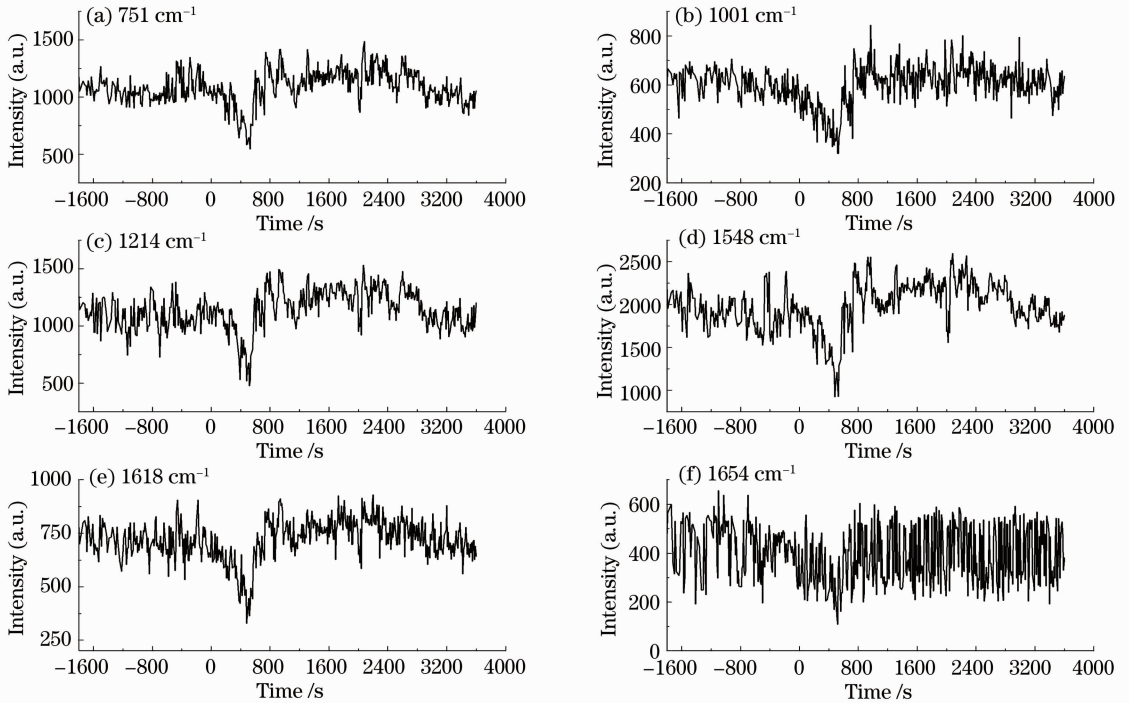


图 5 蛋白质峰 751、1001、1214、1548、1618、1654  $\text{cm}^{-1}$  随时间的变化曲线

Fig. 5 Curves of the protein peaks of 751, 1001, 1214, 1548, 1618, 1654  $\text{cm}^{-1}$  versus time

表 2 各个特征峰的变化

Table 2 Changes of the characteristic peaks

	Wavenumber / $\text{cm}^{-1}$	Average intensity before injection (a. u.)	Average intensity of decrease (a. u.)	Time in decrease /s	Rate of change /%
Peaks of protein	751	1078.21	720.88	350~560	33.14
	1001	578.13	401.78	350~560	30.5
	1214	1150.2	716.09	350~560	37.74
	1548	1965.42	1273.61	350~560	35.2
	1618	700.52	462.72	380~560	33.95
	1654	337.06	249.26	350~590	26.05
Peak of blood sugar	1125	411.59	223.79	450~540	46.63

特征峰的变化率不同,说明体内蛋白质结构受到不同程度的破坏,导致蛋白质发生变性。

1125  $\text{cm}^{-1}$  峰是葡萄糖的特征峰,血液中的葡萄糖称为血糖,血糖是体内各组织细胞活动所需的能量,必须保持一定的水平才能维持体内各器官和组织的需要。图 6 为注射硝酸甘油后 340~720 s 内

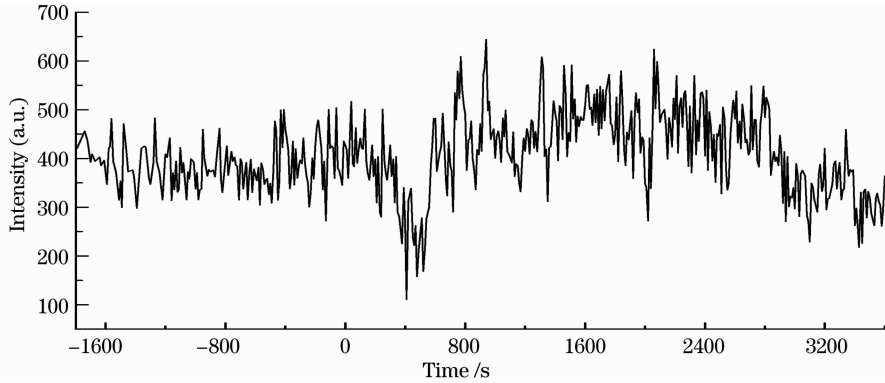


图 6 峰 1125  $\text{cm}^{-1}$  血糖随时间变化的曲线

Fig. 6 Curve of the blood sugar versus time at peak of 1125  $\text{cm}^{-1}$

## 4 结 论

应用拉曼光谱对注射硝酸甘油的活体裸鼠体内耳朵动脉血液的光谱进行研究,对注射硝酸甘油前和注射后体内血红蛋白、血糖特征峰进行分析,发现注射硝酸甘油后:光谱强度下降,血液浓度降低;血红蛋白的侧链、主链结构先后受到不同程度的破坏,导致血红蛋白发生变性;硝酸甘油在血液中的药效时间为 280~730 s;血糖含量在硝酸甘油药效期内下降明显。通过拉曼光谱对硝酸甘油在体内血液代谢机理的研究,可以更精确地获取其药效的作用时间以及体内血液中各物质的实时变化,为研究硝酸甘油的代谢机理提供新的技术和依据。

## 参 考 文 献

- Zhou Heping, Tian Yaping, Jia Xingwang. Nitrite is an intermediate of glyceryl trinitrate metabolism in blood [J]. Chinese J Pharmacology and Toxicology, 2001, 15(3): 194-196.  
周和平, 田亚平, 贾兴旺. 亚硝酸盐是硝酸甘油在血中代谢的中间产物[J]. 中国药理学和毒理学杂志, 2001, 15(3): 194-196.
- Nie Shengdan, Hu Changping, Li Yuanjian. The research process of nitroglycerin about tolerance mechanisms [J]. Chinese J Arterioscler, 2005, 13(6): 796-798.  
聂盛丹, 胡长平, 李元建. 硝酸甘油耐受机制研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2005, 13(6): 796-798.
- Tao Zhanhua, Yao Huilu, Wang Guiwen, *et al.*. Using Raman spectroscopy to analyze apoptosis of gastric cancer cells induced by cisplatin [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2009, 29(9): 2442-2445.  
陶站华, 姚辉璐, 王桂文, 等. 利用拉曼光谱分析顺铂诱导的胃癌细胞凋亡[J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(9): 2442-2445.

1125  $\text{cm}^{-1}$  峰强度的变化,在 450~540 s 内处于最低值,血糖的变化率为 46.63%,说明血糖含量降低最明显。有文献指出:硝酸甘油对体内循环影响较大,血压波动明显,引起血流动力学不稳定。因此,体内各物质的峰强度变化较大的现象很可能是由于血流动力学不稳定而引起的。

- B R Wood, L Hammer, L Davis, *et al.*. Raman microspectroscopy and imaging provides insights into heme aggregation and denaturation within human erythrocytes [J]. J Biomed Opt, 2005, 10(1): 014005.
- Wang Guiwen, Yao Huilu, He Bijuan, *et al.*. Raman microspectroscopy of single blood platelets [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2007, 27(7): 1347-1350.  
王桂文, 姚辉璐, 何碧娟, 等. 单个血小板的拉曼光谱分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27(7): 1347-1350.
- Meng Lingjing, Lin Mammam, Niu Liyuan, *et al.*. Raman spectroscopic analysis of single red blood cells *in vivo* rat [J]. Chinese J Analytical Chemistry, 2011, 39(11): 1394-1399.  
孟令晶, 林漫漫, 牛丽媛, 等. 活体小鼠中单个红细胞的拉曼光谱分析[J]. 分析化学, 2011, 39(11): 1394-1399.
- Ai Min, Liu Junxian, Yao Huilu. Raman spectra of single reticulocytes and small lymphocytes in blood [J]. Acta Optica Sinica, 2009, 29(4): 1043-1045.  
艾敏, 刘军贤, 姚辉璐. 外周血中单个网织红细胞与小淋巴细胞的拉曼光谱[J]. 光学学报, 2009, 29(4): 1043-1045.
- F Tones, J Turner, R N Rttman, *et al.*. Hemoglobin oxygen saturation measurements using resonance Raman intravital microscopy [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005, 289(11): 488-495.
- C Xie, C Gwdman, M A Dinno, *et al.*. Real-time Raman spectroscopy of optically trapped living cells and organelles [J]. Opt Express, 2004, 12(25): 6208-6214.
- Gao Guoming, Li Xue, Qin Zongding, *et al.*. New method for eliminating background fluorescence of Raman spectrum and its application [J]. Acta Optica Sinica, 2013, 33(2): 0230002.  
高国明, 李雪, 覃宗定, 等. 消除拉曼光谱荧光背景的新方法及其应用[J]. 光学学报, 2013, 33(2): 0230002.
- Zhang Zhiyi, Xu Yiming. Themolecular mechanism of photoporphyrin photosensitization-laser Raman spectroscopic study of microcosmic and photosensitive damage of YHPD to protein [J]. Science in China (Series B), 1991, 21(6): 595-601.  
张志义, 许以明. 光卟啉(YHPD)光敏作用的分子机制—YHPD对蛋白质微观光敏损伤的激光喇曼光谱研究 [J]. 中国科学(B

- 辑), 1991, 21(6): 595-601.
- 12 I B Zavodnik, E A Lapshina, K Rekawiecka, *et al.*. Membrane effects of nitrite-induced oxidation of human red blood cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1999, 1421(2): 306-316.
- 13 Nicholas Stone, Catherine Kendall, Jenny Smithl, *et al.*. Raman spectroscopy for identification of epithelial cancers [J]. *Faraday Discuss*, 2004, 126: 141-157.
- 14 Bayden R Wood, Brian Tait, Donald McNaughton. Micro-Raman characterisation of the R to T state transition of hemoglobin within a single living erythrocyte [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2001, 1539(1-2): 58-70.
- 15 Zhong Guoqiang, Zhu Shuxiong, Liu Tangwei, *et al.*. Influence of the nitroglycerin injection into abdominal cavity on nitric oxide content in heart, brain, kidney of rats [J]. *J Guangxi Medical University*, 2000, 21(1): 22-23.
- 钟国强, 朱树雄, 刘唐威, 等. 小鼠腹腔注射硝酸甘油后心、脑、肾一氧化氮含量的变化[J]. *广西医科大学学报*, 2000, 21(1): 22-23.

栏目编辑: 韩 峰