

多重耐药鲍曼不动杆菌的耐药机制研究

梁小英, 农波综述, 农少云 审校

广西壮族自治区民族医院检验科, 广西南宁 530001

关键词: 鲍曼不动杆菌; 耐药机制; 多重耐药; β -内酰胺酶**中图分类号:** R446.5**文献标志码:** A**文章编号:** 1672-9455(2022)11-1566-04

由于抗菌药物的大量暴露,致使具有多重耐药性的鲍曼不动杆菌检出率不断提高,给临床治疗工作带来极大的挑战。鲍曼不动杆菌具有强大的耐药性和克隆传播能力。鲍曼不动杆菌的耐药问题已引起临床及传染病学专家的广泛关注^[1-4]。中国耐药监测网 2021 年上半年数据显示,我国临床分离菌中鲍曼不动杆菌数量位于大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌后,排第 4 位,该菌对碳青霉烯类耐药率从 2004 年的 13.3% 上升至 2020 年的 72.9%,呈现明显上升趋势,鲍曼不动杆菌已属于医院感染中最主要的病原菌,耐药情况越来越复杂和严峻,尤其是在重症监护室(ICU)中,多重耐药的鲍曼不动杆菌感染率显著高于普通病房^[5]。该菌的耐药机制复杂,类型多样,固有耐药和获得性耐药是该菌的主要耐药机制。现就其耐药机制进行总结。

1 产 β -内酰胺酶

β -内酰胺类抗菌药物的大量使用,致使细菌的耐药率日渐增加。细菌产生 β -内酰胺酶是目前耐药菌中最常见、研究最深入的耐药机制, β -内酰胺酶耐药基因分布广泛,对该类酶耐药基因的分析已引起广泛关注^[6]。产生该类酶是鲍曼不动杆菌最关键的耐药机制,比如:A 类超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)、B 类金属酶、C 类头孢菌素酶(AmpC)、D 类 OXA 型酶。鲍曼不动杆菌很少产 C 类酶,少见有产 AmpC 的报道。

1.1 A 类 ESBLs 酶 ESBLs 一般由质粒介导,可致细菌对青霉素、1~3 代头孢类以及单环 β -内酰胺酶类药物产生耐药,鲍曼不动杆菌中较常见 SHV、PER、CTX、TEM、VEB 基因型 ESBLs,我国常见的基因型为 PER-1、TEM。产酶菌株除了对碳青霉烯类、头霉素类及含酶抑制剂类药物敏感外,对其余 β -内酰胺类、氨基糖苷类、喹诺酮类药物呈现耐药性,相同菌株能够同时携带多种耐药基因。鲍曼不动杆菌的各类耐药基因共同存在与其对亚胺培南、美罗培南耐药紧密相关^[7]。

1.2 B 类金属酶 该酶可使鲍曼不动杆菌对多种 β -内酰胺类药物出现耐药,尤其是该酶具有较强的碳青霉烯水解活性,可破坏亚胺培南或美罗培南等内部的 β -内酰胺环,导致环内的酰胺键断裂,致使抗菌药物丧失活性^[8]。鲍曼不动杆菌 B 类金属 β -内酰胺酶主要

包括 IMP、VIM、SIM、NDM 4 型。IMP 型金属 β -内酰胺酶对头孢类、青霉素类、碳青霉烯类药物都有不同的水解活性,但不被 β -内酰胺酶抑制剂所抑制,几乎不水解氨曲南,多达 18 个类型,具有地方流行性,主要出现在亚洲。VIM 型主要存在于革兰阴性菌中,在肠杆菌科、假单胞菌属、不动杆菌属多见,其携带率仅次于 IMP 型。NDM 型大多出现在大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、阴沟肠杆菌等细菌中,能够水解大多数的 β -内酰胺类抗菌药物,除对多黏菌素、替加环素高敏感外,对其余抗菌药物高度耐药,是现今水解范围最大、作用最强的金属酶。国内鲍曼不动杆菌的 NDM 型携带率呈不断升高趋势,必须给予足够的关注^[9]。

1.3 D 类 OXA 型酶 D 类 OXA 型酶又称为苯唑西林水解酶,OXA 基因位于菌体的染色体或质粒上,主要包括 OXA-23、OXA-24、OXA-51、OXA-58 等多种亚型,由整合子或转座子基因介导,OXA 基因亚型在不同菌株之间容易发生转移。耐药菌株的不断增多和此耐药基因的传播方式有关。与鲍曼不动杆菌产生耐药性有关的碳青霉烯酶主要包括 B 类金属 β -内酰胺酶和 D 类 OXA 型酶,其中 OXA 型酶更具有重要作用^[10],据报道,OXA-23 和 OXA-51 基因是耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌中出现频率最高的基因^[11]。OXA-23 基因携带率最高,存在质粒或染色体上,易于转移并与其他菌株整合,是引起鲍曼不动杆菌耐药的重要原因。OXA-51 基因是鲍曼不动杆菌中的固有基因,其在极低水平时就有碳青霉烯水解活性。OXA-24、OXA-58 基因在鲍曼不动杆菌中的携带率低,相关报道较少。

2 细菌生物膜形成

生物膜主要由细菌及其自身生成的胞外多糖基质、纤维蛋白质、脂蛋白等物质构成,待其形成后,首先具有物理屏障作用,其次,其内部特殊环境可使抗菌药物作用细菌的难度加大,使细菌能够产生较强的耐药力和免疫逃逸能力,引起长时间的感染。这些原因使患者难以治愈^[12]。该膜的生成与鲍曼不动杆菌的耐药力和毒力机制有关。在黏附、传染、耐药基因的传递、耐药性等方面起到了不可替代的作用^[13]。鲍曼不动杆菌有了生物膜可以延长其在医疗器械上的

停留时间,抵抗干燥、营养缺乏等不利因素能力增强,从而增加感染能力,并且拮抗抗菌药物进入。实验表明,abal、CarO、ompA、bap 等基因与鲍曼不动杆菌生物膜形成紧密关联^[14],这些基因能够参与调控生物膜形成,使其更容易传递耐药性质粒,导致鲍曼不动杆菌多耐、泛耐药菌株日益增多。因此,在加强生物膜检测能力同时,为减少生物膜对患者的影响,治疗上也要选择有清除生物膜作用的抗菌药物^[15]。

3 外排泵

外排泵的过度作用是鲍曼不动杆菌多重耐药的又一机制,可造成对不同结构的多种抗菌药物同时耐药。外排泵属于活性蛋白质,位于细胞膜上,能够将部分进入细胞中细胞质或穿过细胞膜的抗菌药物排出细胞外^[16]。该作用是细菌主要耐药机制,会使菌体内的药物含量减少,未起到抗菌效果而引起耐药。因此,细菌多重耐药的原因之一是外排泵的过度表达^[17]。目前,鲍曼不动杆菌的外排泵分为 6 个家族,分别为蛋白细菌抗菌化合物外排家族(AdePACE)、主要协同转运蛋白超家族(AdeMFS)、耐药结节分化家族(AdeRND)、多药及毒性化合物外排家族(AdeMATE)、ATP 结合盒家族(AdeABC)、小多重耐药家族(AdeSMR),其介导多种化合物的外排,使细菌产生多重耐药性,还在细菌的运动及毒性方面起重要作用。目前,研发外排泵抑制剂,从而抑制抗菌药物的外排^[18],可为临床治疗感染提供新策略,对于治疗鲍曼不动杆菌感染至关重要。

3.1 AdePACE AdePACE 是后来发现的一类新型外排泵,是鲍曼不动杆菌中氯己定转运蛋白 Acel 及同源代表的一类多药外排系统,可介导常用医疗消毒剂的外排^[19]。氯己定是一种具有膜活性的杀菌剂,通常是医院环境中的消毒剂,转运蛋白 Acel 还可介导苯扎氯铵、原黄素等其他消毒剂外排,当消毒剂进入鲍曼不动杆菌细胞内时可产生一系列复杂反应使其外排,使鲍曼不动杆菌在医院环境,特别是 ICU 中引起难以治愈的感染。

3.2 AdeMFS AdeMFS 家族是存在于细胞膜上的转运蛋白质,参与各种底物运输,其外排泵可降低多种毒性化合物在细胞内的浓度,而使鲍曼不动杆菌多重耐药。其转运蛋白 AbaF 除了促进细胞内磷霉素向细胞外释放外,还参与生物膜基质内有毒化合物的分泌,并对宿主免疫因子起到抵抗作用,因而对鲍曼不动杆菌的感染起关键作用^[20]。AmvA 外排蛋白表现出对碳青霉烯类、氨基糖苷类、头孢类、喹诺酮类药物具有耐受力;AbaQ 转运蛋白除在喹诺酮类药物排出中发挥重要作用外,还与鲍曼不动杆菌的毒性和表面运动有关。另外,该类蛋白还参与细胞外 DNA 的释放。

3.3 AdeRND AdeRND 在多重耐药的鲍曼不动杆菌中出现频率最高,是作用效果最强的外排泵,目前

还未研制出针对 AdeRND 外排泵的有效药物。大多数多重耐药菌株至少表达一种 AdeRND 外排泵,鲍曼不动杆菌中的该家族成员主要为 3 种,包括 AdeABC、AdeIJK、AdeFGH,上述外排泵的作用都和细菌的多重耐药有关。AdeABC 是最早发现的主动外排泵,当其过表达时,鲍曼不动杆菌表现为多重耐药;AdeIJK 是第 2 个发现的主动外排泵,存在于大多数鲍曼不动杆菌中,其过表达与替加环素和米诺环素的耐药性有关,还介导对喹诺酮类药物耐药;对 AdeFGH 的耐药性分析很少,其主要参与 β -内酰胺类、喹诺酮类等药物的主动外排^[21]。

3.4 AdeMATE 该外排泵与鲍曼不动杆菌的耐药、活动和毒性有关^[22]。外排泵家族中的转运蛋白 AbeM 通过质子动力介导较广范围的底物外排,可使环丙沙星、庆大霉素、红霉素等多种药物的最低抑菌浓度(MIC)增加 2~4 倍,AbeM 赋予鲍曼不动杆菌对氨基糖苷类、喹诺酮类等抗菌药物及细胞染料等有毒化合物的抵抗性。MATE 蛋白家族在鲍曼不动杆菌的主要致病性、生物膜生成以及多重耐药中起到了至关重要的作用。

3.5 AdeABC 及其他家族外排泵 AdeABC 是鲍曼不动杆菌中最早被认识的外排泵,是细菌产生耐药性的主要影响因素,表现为对 β -内酰胺类、氨基糖苷类、替加环素、庆大霉素和米诺环素等药物具有耐药性。其转运机制发生在细胞膜上,ABC 外排泵结合或水解三磷酸腺苷,驱动输送蛋白质的核苷酸结合结构域二聚化或解离,致使其结构产生改变,进而将底物经过双层细胞膜传输^[23]。在鲍曼不动杆菌的多重耐药性和其他生理活性中,ABC 家族外排泵发挥重要功能,我国的 ABC 外排泵基因检出率越来越多,携带基因也呈多样性。另一家族成员 AdeSMR 是位于内膜上一类由较短氨基酸序列组成的较小蛋白质,介导鲍曼不动杆菌的多种底物外排,其显示出广泛的底物特异性,与菌株多重耐药性有关。

4 作用靶位的改变

抗菌药物作用靶位的修饰和改变,使鲍曼不动杆菌产生多重耐药性。不同抗菌药物通过不同作用靶位,以及鲍曼不动杆菌对抗菌药物作用靶位的改变,影响细胞壁、蛋白质及脱氧核糖核酸生成等,致使抗菌药物丢失作用靶位,让药物难以发挥效果进而产生耐药性。喹诺酮类药物是对不动杆菌具有抗菌活性的药物之一,其主要作用于细菌脱氧核糖核酸螺旋酶(gryA)和拓扑异构酶(parC),一旦喹诺酮类药物耐药区域基因突变,对 gryA 或 parC 进行结构修饰,将减弱该药物与 gryA 的亲合程度,致鲍曼不动杆菌对喹诺酮类药物产生耐药性。青霉素结合蛋白(PBP)的变化也会导致耐药性。原因在于 PBP 属于 β -内酰胺类药物发挥作用的重要位点,一旦 PBP 结构发生改变或表达缺失都可能使抗菌药物无法与该蛋白结合或亲

和效果减弱,最终使细菌的耐药力提高^[24-25]。

5 外膜蛋白的缺失或改变

外膜蛋白的缺失或改变是引起多重耐药鲍曼不动杆菌的重要耐药机制之一。细菌的外膜蛋白是细菌进行各种物质交换的通道,同时外膜蛋白参与各种抗菌药物的转运,由于外膜蛋白基因发生改变,外膜蛋白表达水平下降,药物通过的孔道便会发生阻塞甚至消失,使细菌外膜通透性下降,抗菌药物不能通过外膜蛋白这一重要通道与 PBP 结合或结合能力下降,不能破坏细菌细胞壁,导致进入菌体的抗菌药达不到有效作用浓度,从而使细菌耐药。这是鲍曼不动杆菌耐碳青霉烯类药物的主要机制之一。外膜蛋白 A 是鲍曼不动杆菌外膜蛋白的核心成分,其除了能够使外膜的通透性改变外,还与细菌黏附、免疫反应及生物膜生成紧密相关。外膜蛋白 A 还可以结合宿主细胞表面的特定成分,导致靶细胞凋亡^[26]。

6 产生氨基糖苷类钝化酶

细菌对氨基糖苷类药物耐药的主要原因是产生氨基糖苷类钝化酶,这也是鲍曼不动杆菌对氨基糖苷类药物耐药的主要原因。氨基糖苷类药物经过游离氨基乙酰化、游离羟基磷酸化后,进入细菌的难度会大大提高,最终引起细菌耐药。氨基糖苷类钝化酶分布广泛,具有的亚型多种多样。王江元等^[27]的研究结果显示,两种耐药基因同时存在时可明显提高鲍曼不动杆菌对氨基糖苷类药物的耐药率。由单一介导耐药转变为多种共同耐药是鲍曼不动杆菌对氨基糖苷类药物耐药性逐渐增强的原因。近年报道较多的一种耐药基因是 16S rRNA 甲基化酶基因,16S rRNA 被甲基化后破坏氨基糖苷类药物与 16S rRNA 作用靶位,导致细菌对氨基糖苷类药物高水平耐药^[28]。16S rRNA 甲基化酶基因与 β -内酰胺酶基因之间可能存在连锁传播,造成多重耐药。鲍曼不动杆菌对氨基糖苷类药物的耐药性也受到 AdeRND、AdeMATE 家族的影响。

7 结 语

总而言之,鲍曼不动杆菌具有多种耐药机制,呈现在产生不同类型的 β -内酰胺酶、细菌生物膜、外排泵、作用靶位的变化、外膜蛋白的缺失或变化、产生氨基糖苷类钝化酶等,其耐药谱广,已成为医院感染最常见的病原菌,给临床治疗带来困难,研究其耐药机制可为临床合理用药提供理论基础。寻找快速而准确的检测方法能有效提升该菌的确诊率,这也是治疗多重耐药鲍曼不动杆菌感染的关键^[29]。目前对于鲍曼不动杆菌这一“超级细菌”,相对综合地掌握其耐药机制,避免耐药基因的传播非常关键。高建平^[30]报道,鲍曼不动杆菌在医院内传播的主要路径为接触传播。因此,做好传播的阻断与病原体检测工作尤为关键,包括对患者周围环境、器械、医护人员的手及衣物等进行常规消毒,开展耐药菌检测,获得感染源头,采

取有效的防控措施,对减少多重耐药鲍曼不动杆菌感染非常重要。

参考文献

- [1] SIMNER P J, OPENE B, CHAMBERS K K, et al. Carbapenemase detection among carbapenem-resisyant glucose-nonfermenting gram-negative bacill[J]. J Clin Microbiol, 2017, 55(9): 2858-2864.
- [2] AYDEMIR H, TUZ H I, PISKIN N, et al. Risk factors and clinical responses of pneumonia patients with colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*-calcoacetic-us [J]. World J Clin Cases, 2019, 7(10): 1111-1121.
- [3] 张焱, 黄新玲, 孙洁, 等. 重症医学科连续 5 年鲍曼不动杆菌感染分布及耐药性变迁[J]. 中国感染控制杂志, 2017, 16(1): 54-57.
- [4] 柳玲, 李鼎, 王庆林. 2012—2014 年鲍曼不动杆菌感染的临床分布及耐药性检测[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(7): 895-897.
- [5] GAO L, LYU Y, LI Y. Trends in drug resistance of *acinetobacter baumannii* over a 10-year period: nationwide data from the China surveillance of antimicrobial resistance program[J]. Chin Med J (Engl), 2017, 130(6): 659-664.
- [6] 李飞, 陈丹娜, 李丽娟, 等. 耐亚胺培南铜绿假单胞菌耐药特征及产金属 β -内酰胺酶基因型分析[J]. 热点医学杂志, 2019, 19(4): 447-450.
- [7] 孙静娜, 王国欣, 刘泽世, 等. 鲍曼不动杆菌临床分离株的耐药型分析[J]. 现代预防医学, 2015, 42(6): 1149-1151.
- [8] 吴忠伟, 王珊珊, 赵健平, 等. 耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌耐药机制及抗菌药物的选择[J]. 医学综述, 2020, 26(1): 138-142.
- [9] 侯盼飞, 祝丽晶, 潘艳. 碳青霉烯酶在亚胺培南耐药鲍曼不动杆菌中的作用[J]. 中国实验诊断学, 2018, 22(11): 1938-1941.
- [10] AVILA-NOVOA M G, SOLIS-VELAZQUEZ O A, RANGEL-OPEZ D E, et al. Biofilm formation and detection of fluoroquinolone and carbapenem-resistant genes in multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*[J]. Can J Infect Dis Med Microbiol, 2019, 2019: 3454907.
- [11] TOOKE C L, HINCHLIFFE P, BRAGGINTON E C, et al. β -Lactamases and β -lactamase inhibitors in the 21st century[J]. J Mol Biol, 2019, 431(18): 3472-3500.
- [12] 蔺飞, 杜冰洁, 高灿, 等. 鲍曼不动杆菌生物被膜对抗菌药物耐药性的影响[J]. 中国感染控制杂志, 2018, 17(1): 1-5.
- [13] 陈刚, 蒋冬香. 鲍曼不动杆菌耐药机制研究进展[J]. 华夏医学, 2016, 29(2): 197-201.
- [14] LONGO F, VUOTTO C, DONELLI G. Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii* [J]. New Microbiol, 2014, 37(2): 119-127.
- [15] SABA S K, NADAL A S, SUSAN A I. Immunomodulation by *Acinetobacter baumannii* of endotracheal tube biofilm in ventilator-associated pneumonia[J]. Meta Gene, 2020, 24: 100672
- [16] REENS A L, CROOKS A L, SU C C, et al. A cell-based

- infection assay identifies efflux pump modulators that reduce bacterial intracellular load[J]. PLoS Pathog, 2018, 14(6):e1007115.
- [17] LIN M F, LIN Y Y, TU C C, et al. Distribution of different efflux pump genes in clinical isolates of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* and their correlation with antimicrobial resistance[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2017, 50(2):224-231.
- [18] LIN K H, LO C C, CHOU M C, et al. Synergistic actions of benzylsulfonamide with ethylenediaminetetraacetic acid and efflux pump inhibitor phenylalanine-arginine β -Naphthylamide against multidrug-resistant *Escherichia coli*[J]. Microb Drug Resist, 2020, 26(5):468-474.
- [19] HASSAN K A, JACKSON S M, PENESYAN A, et al. Transcriptomic and biochemical analyses identify a family of chlorhexidine efflux proteins[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110(50):20254-20259.
- [20] SHARMA A, SHARMA R, BHATTACHARYYA T, et al. Fosfomycin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by efflux through a major facilitator superfamily (MFS) transporter-AbaF[J]. J Antimicrob Chemother, 2017, 72(1):68-74.
- [21] 张凯华, 左玲玲, 徐新, 等. 多重耐药鲍曼不动杆菌主动外排系统基因 *adeFGH* 的 mRNA 表达研究[J]. 中国现代医生, 2018, 56(32):5-11.
- [22] DU D, WANG K X, NEUNERGER A, et al. Multidrug efflux pumps: structure, function and regulation[J]. Nat Rev Microbiol, 2018, 16(9):523-539.
- [23] CROW A, GREENE N P, KAPLAN E, et al. Structure and mechanotransmission mechanism of the MacB ABC transporter superfamily[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2017, 114(47):12572-12577.
- [24] 刘明涛, 李凯述, 闫鹏鹏, 等. 氨基糖苷类药物在联合用药时缩小抗菌药物对鲍曼不动杆菌耐药突变选择窗中的作用[J]. 中国感染与化疗杂志, 2014, 14(4):334-337.
- [25] MIYACHIRO M M, CONTRERAS M C, DESSEN A. Penicillin-binding proteins (PBPs) and bacterial cell wall elongation complexes[J]. Subcell Biochem, 2019, 93:273-289.
- [26] NIE D, HU Y, CHEN Z, et al. Outer membrane protein A (OmpA) as a potential therapeutic target for *Acinetobacter baumannii* infection[J]. J Biomed Sci, 2020, 27:538-582.
- [27] 王江元, 卢念红, 王子浔, 等. 多重 PCR 检测鲍曼不动杆菌 6 种耐药基因及其临床意义[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(12):1779-1782.
- [28] 许恒, 唐春雷, 范为正. 氨基糖苷类抗生素的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2019, 28(15):1828-1835.
- [29] XU A, ZHU H, GAO B Q, et al. Diagnosis of severe community acquired pneumonia caused by *Acinetobacter baumannii* through next-generation sequencing: a case report[J]. BMC Infect Dis, 2020, 20(1):692-699.
- [30] 高建平, 潘孔寒, 陈衍, 等. ICU 内鲍曼不动杆菌流行的溯源分析与院感控制[J]. 中华急诊医学杂志, 2016, 25(3):369-373.

(收稿日期:2021-09-16 修回日期:2022-01-08)

• 综述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.11.036

非肿瘤人群中血清癌胚抗原水平升高的研究进展

周孟杰 综述, 王军文, 杨传松, 陈玲[△] 审核
江油市人民医院检验科, 四川绵阳 621700

关键词: 癌胚抗原; 非肿瘤疾病; 生理因素; 慢性疾病

中图分类号: R446.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2022)11-1569-04

癌胚抗原(CEA)是由黏膜上皮细胞分泌的糖基化大分子多肽蛋白,能够在胃肠道、肝细胞、鳞状上皮、子宫内膜、脾和前列腺中表达,是一种广谱肿瘤标志物,不能作为特异性肿瘤标志物来筛查肿瘤,在大多数管腔脏器的恶性肿瘤,如大肠癌、胰腺癌、胃癌、乳腺癌等疾病其水平会增高^[1]。CEA 主要用途是监测原发肿瘤初次切除后发生局部转移和肿瘤复发。CEA 也在炎症中起作用,能够刺激单核细胞和巨噬细胞产生促炎因子,如肿瘤坏死因子(TNF)- α 、白细胞介素(IL)-1b 和 IL-6;血清中高水平的 CEA 还可能与肥胖人群的胰岛素抵抗和代谢综合征有关^[2]。在健康成人血清中 CEA 水平极低,其参考区间为 2.0~

5.0 ng/mL(电化学法测定),在非肿瘤人群中也会出现 CEA 水平升高的情况时,需结合患者具体情况,正确分析检测结果,制订个体化的诊治随访方案。这对消除患者的心理负担,减少医疗资源浪费是非常有必要的。

1 生理因素对 CEA 的影响

1.1 妊娠对 CEA 的影响 CEA 是一种胎儿抗原,该抗原于 1965 年首次被描述,是一种相对分子质量约为 180×10^3 的糖蛋白,它由大约 40% 的蛋白质和 60% 的碳水化合物组成^[3]。CEA 最早产生于胚胎及胎儿期,妊娠 2 个月胎儿的消化道产生并分泌 CEA,因此在羊水中 CEA 水平随着胎儿消化系统的

[△] 通信作者, E-mail: 673603163@qq.com.