

· 综述 ·

免疫衰老及老年流感疫苗的研究进展

望朔 杨文彬 余军

江苏金迪克生物技术有限公司, 泰州 225300

通信作者: 望朔, Email: wangshuo@gdkbio.com, 电话: 0523-86200839

【摘要】 接种流感疫苗是预防季节性流感的有效方法。老年人是季节性流感的高危人群, 但普通流感疫苗对老年人的免疫保护效果不如健康成人。随着全球老龄化进程的加快, 急需研制更加有效的老年流感疫苗。本综述讨论了老年人体内的免疫衰老, 以及目前在老年流感疫苗领域取得的实质性进展。

【关键词】 老年人; 免疫衰老; 流感疫苗

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2019.03.021

Immunosenescence and development of influenza vaccines for the elderly

Wang Shuo, Yang Wenbin, Yu Jun

Jiangsu Jin Di Ke (GDK) Biological Technology Co. Ltd, Taizhou 225300, China

Corresponding author: Wang Shuo, Email: wangshuo@gdkbio.com, Tel: 0086-523-86200839

【Abstract】 Immunization with influenza vaccine is an effective prophylactic strategy in preventing seasonal flu. In the elderly, the standard influenza vaccines are not as effective as in non-elderly healthy adults, since the elderly people are particularly susceptible to influenza. With the acceleration of the global aging process, it is necessary to develop novel influenza vaccines which are more effective in the elderly. This review discusses immunosenescence and the substantial progress that has been made in the influenza vaccines for elderly people.

【Key words】 Elderly people; Immunosenescence; Influenza vaccine

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2019.03.021

流感是一种严重危害公众健康的呼吸道传染病。世界范围内, 流感每年可导致 25 万~50 万的死亡病例, 其中 90% 以上为老年人^[1]。每年的流感流行季中, 流感相关死亡率在 5~49 岁人群中为 1.5/10 万, 在 50~64 岁人群中为 12.5/10 万, 而在 65 岁及以上人群中可达 132.5/10 万^[2]。流感对于高龄老人的危害尤为严重, 75 岁及以上老年人的流感相关死亡率为 65~74 岁的老年人的 3~9 倍^[3], 而 85 岁及以上老年人的流感相关死亡率至少为 65~69 岁老年人的 16 倍^[2]。近年来, 我国及世界范围内的老龄人口均呈现持续上升的趋势。预计到 2050 年, 我国将有 35% 以上的人口达到或超过 60 岁, 60 岁以上老年人的数量将超过 4.8 亿^[4]。接种流感疫苗可降低老年人流感相关并发症的发病率, 减少老年人流感相关的急诊、住院和死亡人数, 是保护老年人免于罹患流感的最有效的公共卫生工具^[5-7]。然而遗憾的是, 万古数据表明, 流感疫苗在老年人中的免疫效果不

如年轻成人。针对疫苗株的血清阳转率(抗体滴度呈 4 倍增长的比例)和血清保护率(抗体滴度 ≥1:40 的比例), 在年轻人中可达 58%~62% 和 78%~84%, 而在老年人中仅为 35%~51% 和 67%~74%, 其中, 在 75 岁及以上老年人中仅为 29%~46% 和 65%~71%^[8]。因此, 需要研制免疫原性更强的老年流感疫苗, 以更有效的保护老年人免于罹患流感。本文简要分析了免疫衰老现象及其对流感疫苗免疫效果的影响, 并对国内外老年流感疫苗领域的研究进展进行了概述。

1 免疫衰老及其对流感疫苗免疫效果的影响

免疫衰老是一种与老龄化有关的免疫功能逐渐衰退的生物衰老过程, 包括先天性免疫和适应性免疫的一系列变化(表 1)^[9-12]。免疫衰老使得免疫系统的抗原提呈能力和抗原应答能力下降, 是导致老年人流感疫苗接种后免疫效果差的主要原因。研究

表1 免疫系统中与老龄化有关的主要变化
Tab.1 Major changes in immune system related to aging

先天性免疫系统	适应性免疫系统
树突状细胞(DC)	T 淋巴细胞
循环 DC 细胞数量减少	初始 T 细胞减少
成熟 DC 细胞比例增加	记忆性 T 细胞的分化和增殖能力减弱
迁移能力减弱	T 细胞受体(TCR)多样性降低
分泌的细胞因子减少	CD28-无能 T 细胞增加
TLR3、TLR7 和 TLR8 表达下调	CD4+CD25+调节性 T 细胞(Treg)增加
巨噬细胞	B 淋巴细胞
循环巨噬细胞数量减少	初始 B 细胞减少
活性氧(ROS)和一氧化氮(NO)的产生减少	记忆性 B 细胞减少
趋化作用减弱	B 细胞多样性降低
分泌的促炎细胞因子增多	抗体类型转换能力和体细胞突变频率降低
TLR3 表达下调	循环的浆细胞减少
自然杀伤细胞(NK)	
CD56 ^{bright} 表型的 NK 细胞减少	
CD56 ^{dim} 表型的 NK 细胞增多	
杀伤细胞免疫球蛋白样受体(KIR)增多	
活化的自然细胞毒受体(NCR)减少	
CD94 减少	

表2 已上市或在研的老年流感疫苗
Tab.2 Influenza vaccines for the elderly that are marketed or under development

类型	可能的机制	商品名	生产厂家	研究阶段	特点	参考资料
高剂量疫苗	增加提呈给 B 细胞的抗原量	Fluzone®	Sanofi Pasteur	已上市	四倍剂量	[17-19]
	Flublok®	Protein Sciences	已上市	三倍剂量	[20]	
佐剂疫苗	募集 DC、巨噬细胞等并促使 其活化	Fluad®	Sequirus	已上市	含 MF59	[21,22]
	促进抗原迁移至引流淋巴结	无	GSK	临床试验	含 AS03	[23]
	引起局部炎症, 促进细胞因 子分泌	无	VaxInnate	临床试验	含 TLR 激动剂	[24]
	促进 T、B 细胞的增殖和活化	Novavax	Novavax	临床试验	含皂苷复合物	临床试验编号: NCT03293498
仿病毒体疫苗	激活 CD4+ T 细胞和 CD8+T 细胞	Inflexal®	Crucell	已上市	仿病毒体	[25-27]
皮内注射疫苗	有助于利用真皮内的抗原提 呈细胞	Intanza®	Sanofi Pasteur	已上市	皮内注射	[28,29]
加强针疫苗*	活化记忆性淋巴细胞	-	-	临床试验	每半年接种一次	临床试验编号: NCT02655874
高剂量套苗	增加提呈给 B 细胞的抗原量	无	江苏金迪克	临床前	四倍剂量, 且 A、B 型 分开接种	NCT02957890 专利号: CN107 469 075 A

注: * 采用已上市的普通三价裂解疫苗

Note: * Marketed ordinary trivalent split influenza vaccine was applied

显示, 老年人体内 CD8+CD28- T 细胞的增加, 与其接种流感疫苗后的抗体应答不佳直接相关, 而 CD28- T 细胞亚群的扩增正是免疫衰老的特征之一^[13]。将年轻小鼠的流感病毒特异性 CD8+ T 细胞

过继转移给老年小鼠后, 病毒感染过程中, 特异性 CD8+ T 细胞并不能在后者体内有效扩增^[14], 若共转移年轻小鼠的 DC 细胞, 则老年小鼠体内特异性 CD8+ T 细胞和 IFN-γ 的产生均显著增加^[15]。此

外,抗原特异性浆细胞的减少,而具有交叉反应性且对特定抗原亲和力低下的浆细胞克隆的增加,也可能导致流感疫苗接种后老年人的抗体应答水平低下^[16]。

2 老年流感疫苗的研究进展

近年来,通过提高抗原含量、添加佐剂或者改变给药方式等策略,已在老年流感疫苗的研制方面取得了一些有益的进展。目前已有多款老年流感疫苗在欧美上市,并有多种老年流感疫苗处于临床试验或临床前研究阶段(表 2)。

2.1 高剂量疫苗 提高疫苗剂量可增加提呈给 B 细胞的抗原量,从而增强特异性抗体的应答水平。FDA 于 2009 年批准了一款高剂量的流感病毒裂解疫苗 FluZone HD 用于 65 岁及以上老年人,该疫苗中的血凝素含量为 60 μg/株·剂,是标准剂量疫苗的 4 倍。在 65 岁及以上老年人中开展的研究显示,高剂量 FluZone HD 预防流感的效力比标准剂量 FluZone 高出 24.2%,而二者在安全性上并无太大差别^[17]。Meta 分析显示,相比于接种 FluZone 的老年人,接种 FluZone HD 的老年人罹患流感和因流感而住院的相对风险均显著较低^[18-19]。

另一种高剂量的 4 价流感病毒重组疫苗 Flublok Quadrivalent,也于 2013 年被 FDA 批准用于 18 岁及以上人群。该疫苗中的血凝素含量为 45 μg/株·剂,是标准剂量疫苗的 3 倍。在 50 岁及以上老年人中开展的研究显示,相比于接种标准剂量 4 价灭活疫苗的老年人,接种 Flublok Quadrivalent 的老年人的流感样疾病的发病率下降了 30%^[20]。

尽管高剂量疫苗具有优于标准剂量疫苗的免疫原性,以及与标准剂量流感疫苗相似的安全性,但仍需要研制其他的老年流感疫苗,以期为老年人提供更好的保护效果和更多样化的选择。

2.2 佐剂疫苗 添加佐剂是另一种改善老年人中流感疫苗有效性的方法。佐剂是一种非特异性的免疫增强剂,可通过募集抗原提呈细胞和促进抗原迁移等机制,增强机体对抗原的免疫应答,达到节约抗原的效果。含水包油乳剂 MF59 的流感病毒亚单位疫苗 Fluad,继在欧洲上市多年后,于 2015 年被 FDA 批准用于 65 岁及以上的老年人。在一项平均年龄为 83 岁,且将近 90% 的受试者患有至少一种慢性疾病的临床研究中,相比于未接种流感疫苗者,Fluad 保护受试者^{无数据}罹患流感的有效性可达 58%,而普

通裂解疫苗未观察到有效^[21]。在 65 岁及以上人群中开展的临床研究显示,免后 22 d 免疫原性结果,Fluad 试验组均显著高于亚单位疫苗对照组,更重要的是,免后 366 d 针对 H3N2 亚型的免疫原性结果,Fluad 试验组仍显著高于亚单位疫苗对照组^[22],而 H3N2 亚型正是对老年人影响最大的流感病毒亚型^[2]。尽管 Fluad 试验组的总体不良反应发生率略高于亚单位疫苗对照组,但程度较轻且多在接种后 4 d 内自然消失^[22],说明 Fluad 的安全性与普通亚单位疫苗相似。

另一种含水包油乳剂 AS03 的流感病毒裂解疫苗,也被证明在老年人体内具有更好的免疫原性。在 65 岁及以上人群中开展的临床研究显示,相比于不含佐剂的裂解疫苗,含 AS03 的裂解疫苗不仅可以更有效的预防流感病毒(尤其是 H3N2 亚型)的感染,还可以进一步降低流感相关的肺炎发病率和全因死亡率^[23]。

处于临床开发早期的多种新型免疫调节剂,如 TLR 激动剂、免疫刺激复合物等,可能也是有希望的老年流感疫苗候选佐剂。TLR 激动剂可识别并激活 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLR),有助于促进炎性因子的释放及抗体的分泌,被认为是一种非常有前景的新型佐剂。一项小规模的临床试验结果显示,一种由 HA1 蛋白和鞭毛蛋白(TLR5 激动剂)融合而成的重组蛋白 VAX128,不仅可在老年受试者中表现出良好的耐受性,还可在老年人体内诱发与年轻成人水平相当的阳转率和保护率^[24]。皂昔复合物(Matrix-M)是一种基于皂昔的新型佐剂,与 AS03、铝佐剂或弗氏完全佐剂相比,该复合物可在小鼠体内表现出更好的免疫增强效果^[30],诱发高水平的特异性 IgG1 和 IgG2a 抗体。目前,含 Matrix-M 的重组疫苗正在 60 岁及以上老年人中进行 I/II 期临床试验(NCT03293498),以评价其在老年人中的免疫原性和安全性。

2.3 仿病毒体疫苗 仿病毒体(Virosome)是在脂质体的基础上发展起来的一种抗原递送技术。仿病毒体疫苗利用嵌有病毒包膜蛋白的脂质体来递送病毒抗原,模拟天然抗原的递送方式,可同时促进 CD4+ T 细胞和 CD8+ T 细胞的活化。进而增强疫苗的有效性。Inflexal V 是第一个上市的仿病毒体疫苗,自 1997 年首次在瑞士被批准以来,Inflexal V 已被批准用于多个欧洲国家。研究显示,Inflexal V 在老年人中的免疫原性显著高于普通亚单位疫苗和全病

毒疫苗^[25]。更重要的是,Inflexal V 对老年人的保护效果优于含 MF59 的佐剂疫苗,可进一步降低老年人流感和肺炎相关的住院率^[26]。此外,Inflexal V 的不良反应发生率显著低于含 MF59 的佐剂疫苗,而与普通亚单位疫苗无明显差异^[27]。

2.4 皮内注射疫苗 相比于肌肉组织,真皮内具有数量更多的 DC 细胞、巨噬细胞等抗原提呈细胞,因此,皮内注射被认为能更有效的诱发免疫应答。Intanza 15 于 2009 年被欧盟批准用于 60 岁及以上的老年人,其血凝素含量与肌肉注射的普通流感疫苗一样,即 15 μg/株·剂。在 60/65 岁以上老年人中开展的多项临床研究显示,Intanza 15 诱发的抗体应答水平不仅显著高于肌肉注射的普通裂解疫苗,还非劣效于含 MF59 的佐剂疫苗^[28-29]。接种 Intanza 15 后的全身不良反应发生率与普通裂解疫苗无明显差异,局部不良反应发生率略高,但程度较轻且可在接种后 7 d 内自然消失^[28]。

2.5 加强针疫苗 相比于健康成人,老年人接种流感疫苗后,不仅抗体的应答水平较差,且抗体的滴度下降较快,这可能导致 1 年 1 针的流感疫苗传统接种策略不适合于老年人。有研究显示,初免 84 d 后加强接种 1 针流感疫苗,可以显著提高老年人体内的抗体滴度^[31]。此外,在包括我国南方省份在内的亚热带地区中,季节性流感常常呈现 1 年 2 季(冬季和夏季)的流行特点。因此,每 6 个月为老年人接种 1 次流感疫苗,使流感季来临时老年人体内的抗体水平最高,可能有助于最大程度的保护老年人免于罹患流感。目前正在新加坡(NCT02655874)及香港(NCT02957890)老年人中开展的Ⅳ期临床试验,将对每年接种 1 次或 2 次流感疫苗的免疫效果进行比较。

2.6 高剂量疫苗 目前,国内已在老年流感疫苗的研制方面取得了一定的进展。江苏金迪克生物技术有限公司研制了一种高剂量 4 价流感病毒裂解疫苗套苗,将抗原剂量提高至 4 倍,同时将疫苗组分中的 A、B 型血凝素分开注射,即先注射 A 型后注射 B 型,或先注射 B 型后注射 A 型。动物实验结果显示,当间隔为 7 d 或 10 d 时,无论是先注射 A 型还是先注射 B 型,高剂量套苗的免疫效果均优于标准剂量疫苗。此外,相比于 1 针法的高剂量疫苗,高剂量套苗减少了每针的注射剂量,有助于减少疫苗接种后的副反应,是一种有望用于老年人的新型 4 价流感疫苗(专利号:CN107 469 075 A)。

3 小结与展望

老年人罹患流感后,出现严重疾病和死亡的风险高,是流感疫苗的优先接种对象^[1,5]。目前,国际市场上已有多种老年流感疫苗上市,为解决临幊上流感疫苗对老年人保护效果不佳的问题提供了一定的帮助。但是,除推荐用于 18 岁及人群的 Flublok Quadrivalent 外,目前已上市的老年流感疫苗均为 3 价苗。世界卫生组织自 2012 年起开始推荐 4 价流感疫苗^[5],3 价流感疫苗将逐渐被 4 价流感疫苗所取代,4 价老年流感疫苗也将同样得到重视。因此,未来需要在进一步了解免疫衰老及临幊保护效果相关机制的基础上,继续研制安全、有效的 4 价老年流感疫苗,以期同时激活细胞免疫和体液免疫两方面,更好的保护这一流幊高危人群。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 望朔:论文撰写;杨文彬:资料整理;余军:经费支持

参考文献

- [1] Fiore AE, Uyeki TM, Broder K, et al. Prevention and control of influenza with vaccines: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2010 [J]. MMWR Recomm Rep, 2010, 59 (RR-8):1-62. DOI: 10.1111/ajt.13505.
- [2] Thompson WW, Shay DK, Weintraub E, et al. Mortality associated with influenza and respiratory syncytial virus in the United States[J]. JAMA, 2003, 289(2):179-186.
- [3] Nordin J, Mullooly J, Poblete S, et al. Influenza vaccine effectiveness in preventing hospitalizations and deaths in persons 65 years or older in Minnesota, New York, and Oregon: data from 3 health plans[J]. J Infect Dis, 2001, 184(6):665-670. DOI: 10.1086/323085.
- [4] United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division. World Population Ageing 2017 [A]. UN, 2017.
- [5] World Health Organization. Vaccines against influenza WHO position paper-November 2012[J]. Wkly Epidemiol Rec, 2012, 87(47):461-476.
- [6] Nichol KL, Nordin JD, Nelson DB, et al. Effectiveness of influenza vaccine in the community-dwelling elderly[J]. N Engl J Med, 2007, 357(14):1373-1381. DOI: 10.1056/NEJMoa070844.
- [7] Gross PA, Hermogenes AW, Sacks HS, et al. The efficacy of influenza vaccine in elderly persons. A meta-analysis and review of the literature[J]. Ann Intern Med, 1995, 123(7):518-527.
- [8] Goodwin K, Viboud C, Simonsen L. Antibody response to influenza vaccination in the elderly: a quantitative review[J]. Vaccine, 2006, 24(8):1159-1169. DOI: 10.1016/j.vaccine.2005.08.105.
- [9] Boraschi D, Italiani P. Immunosenescence and vaccine failure in the elderly: strategies for improving response[J]. Immunol Lett, 2014, 162(1 Pt B):346-353. DOI: 10.1016/j.imlet.2014.

- 06.006.
- [10] Haq K, McElhaney JE. Immunosenescence: Influenza vaccination and the elderly[J]. *Curr Opin Immunol*, 2014, 29: 38-42. DOI:10.1016/j.coim.2014.03.008.
- [11] Dorrington MG, Bowdish DME. Immunosenescence and novel vaccination strategies for the elderly[J]. *Front Immunol*, 2013, 4:171. DOI:10.3389/fimmu.2013.00171.
- [12] Reber AJ, Chirkova T, Kim JH, et al. Immunosenescence and Challenges of Vaccination against Influenza in the Aging Population[J]. *Aging Dis*, 2012, 3(1):68-90.
- [13] Gorony JJ, Fulbright JW, Crowson CS, et al. Value of immunological markers in predicting responsiveness to influenza vaccination in elderly individuals[J]. *J Virol*, 2001, 75(24) : 12182-12187. DOI:10.1128/JVI.75.24.12182-12187.2001.
- [14] Jiang J, Bennett AJ, Fisher E, et al. Limited expansion of virus-specific CD8 T cells in the aged environment[J]. *Mech Ageing Dev*, 2009, 130(11-12) :713-721. DOI:10.1016/j.mad.2009.08.007.
- [15] Jiang J, Fisher E, Bennett AJ, et al. Enhancement of virus-specific expansion of transgenic CD8 T cells in aged mice by dendritic cells[J]. *Mech Ageing Dev*, 2010, 131(9):580-583. DOI:10.1016/j.mad.2010.08.003.
- [16] McElhaney JE. Influenza vaccine responses in older adults[J]. *Ageing Res Rev*, 2011, 10 (3) : 379-388. DOI:10.1016/j.arr.2010.10.008.
- [17] DiazGranados CA, Dunning AJ, Kimmel M, et al. Efficacy of high-dose versus standard-dose influenza vaccine in older adults [J]. *N Engl J Med*, 2014, 371 (7) :635-645. DOI:10.1056/NEJMoa1315727.
- [18] Wilkinson K, Wei Y, Szwajcer A, et al. Efficacy and safety of high-dose influenza vaccine in elderly adults: A systematic review and meta-analysis [J]. *Vaccine*, 2017, 35 (21) : 2775-2780. DOI:10.1016/j.vaccine.2017.03.092.
- [19] Gravenstein S, Davidson HE, Taljaard M, et al. Comparative effectiveness of high-dose versus standard-dose influenza vaccination on numbers of US nursing home residents admitted to hospital: a cluster-randomised trial [J]. *Lancet Respir Med*, 2017, 5(9) :738-746. DOI:10.1016/s2213-2600(17)30235-7.
- [20] Dunkle LM, Izikson R, Patriarca P, et al. Efficacy of Recombinant Influenza Vaccine in Adults 50 Years of Age or Older[J]. *N Engl J Med*, 2017, 376 (25) :2427-2436. DOI:10.1056/NEJMoa1608862.
- [21] Van Buynder PG, Konrad S, Van Buynder JL, et al. The comparative effectiveness of adjuvanted and unadjuvanted trivalent inactivated influenza vaccine (TIV) in the elderly[J]. *Vaccine*, 2013, 31 (51) :6122-6128. DOI:10.1016/j.vaccine.2013.07.059.
- [22] Frey SE, Reyes MR, Reynales H, et al. Comparison of the safety and immunogenicity of an MF59® -adjuvanted with a non-adjuvanted seasonal influenza vaccine in elderly subjects [J]. *Vaccine*, 2014, 32 (39) :5027-5034. DOI:10.1016/j.vaccine.2014.07.013.
- [23] McElhaney JE, Beran J, Devaster JM, et al. AS03-adjuvanted versus non-adjuvanted inactivated trivalent influenza vaccine against seasonal influenza in elderly people: a phase 3 randomised trial[J]. *Lancet Infect Dis*, 2013, 13 (6) :485-496. DOI:10.1016/s1473-3099(13)70046-x.
- [24] Taylor DN, Treanor JJ, Sheldon EA, et al. Development of VAX128, a recombinant hemagglutinin (HA) influenza-flagellin fusion vaccine with improved safety and immune response [J]. *Vaccine*, 2012, 30 (39) :5761-5769. DOI:10.1016/j.vaccine.2012.06.086.
- [25] Glück R, Mischler R, Finkel B, et al. Immunogenicity of new virosome influenza vaccine in elderly people[J]. *Lancet*, 1994, 344 (8916) :160-163.
- [26] Gasparini R, Amicizia D, Lai PL, et al. Effectiveness of adjuvanted seasonal influenza vaccines (Inflexal V® and Fludac®) in preventing hospitalization for influenza and pneumonia in the elderly: a matched case-control study [J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2013, 9 (1) :144-152. DOI:10.4161/hvi.22231.
- [27] Ruf BR, Colberg K, Frick M, et al. Open, randomized study to compare the immuno-genicity and reactogenicity of an influenza split vaccine with an MF59-adjuvanted subunit vaccine and a virosome-based subunit vaccine in elderly[J]. *Infection*, 2004, 32 (4) :191-198. DOI:10.1007/s15010-004-3204-z.
- [28] Arnou R, Icardi G, De Decker M, et al. Intradermal influenza vaccine for older adults: a randomized controlled multicenter phase III study[J]. *Vaccine*, 2009, 27 (52) :7304-7312. DOI:10.1016/j.vaccine.2009.10.033.
- [29] Van Damme P, Arnou R, Kafeja F, et al. Evaluation of non-inferiority of intradermal versus adjuvanted seasonal influenza vaccine using two serological techniques: a randomised comparative study[J]. *BMC Infect Dis*, 2010, 10:134. DOI:10.1186/1471-2334-10-134.
- [30] Magnusson SE, Reimer JM, Karlsson KH, et al. Immune enhancing properties of the novel Matrix-M™ adjuvant leads to potentiated immune responses to an influenza vaccine in mice [J]. *Vaccine*, 2013, 31 (13) :1725-1733. DOI:10.1016/j.vaccine.2013.01.039.
- [31] Van Eijndhoven DGR, Cools HJM, Westendorp RGJ, et al. Randomized controlled trial of seroresponses to double dose and booster influenza vaccination in frail elderly subjects[J]. *J Med Virol*, 2001, 63 (4) : 293-298. DOI:10.1002/1096-9071(200104)63:4<293::AID-JMV1004>3.0.CO;2-C.

(收稿日期:2018-07-13)

(本文编辑:吕新军)