

· 论 著 ·

羧肽酶 G2 在大鼠体内的组织分布及排泄

吴卓娜^{1*}, 朱鲲鹏^{2*}, 顾若兰¹, 孟志云¹, 甘慧¹, 朱晓霞¹, 李俭¹, 窦桂芳¹

(1. 军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所, 北京 100850; 2. 中国人民武装警察部队特色医学中心, 天津 300162)

摘要:目的 探究 [¹²⁵I] 标记的羧肽酶 G2 ([¹²⁵I]CPG2) 尾静脉推注给予 Wistar 大鼠后的组织分布和排泄随着时间的变化。方法 采用同位素示踪的方法, 大鼠尾静脉推注 [¹²⁵I]CPG2 700 μg·kg⁻¹ 后, 于 0, 0.08, 0.5, 1, 2, 4, 14 和 24 h 经眼眶静脉采血, 用酸沉放射性计算血药浓度, 分析药物浓度-时间变化和药动学参数。给药后 0.5, 6 和 24 h 取大鼠全血、组织及消化道内容物, 给药后 5, 8, 15, 24, 41, 50, 73, 102, 159, 190, 211, 230 和 286 h 收集粪、尿和胆汁, 并用 γ 计数器测定各样本中 [¹²⁵I]CPG2 的放射性。结果 大鼠尾静脉推注 [¹²⁵I]CPG2 700 μg·kg⁻¹ 后, 药时曲线下面积 (AUC) 为 (27 792±6896) μg·h·L⁻¹, 峰浓度 C_{max} 为 (16 894±1809) μg·L⁻¹, 清除率 CL 为 (0.026±0.005) L·h⁻¹·kg⁻¹, 表观分布容积 V_d 为 (0.16±0.04) L·kg⁻¹, 半衰期 t_{1/2} 为 (4.18±0.59) h; 给药后 24 h, 药物暴露量胃内容物最高, 脑组织最低; 给药后 286 h 粪和尿累计排泄 (87±4)%, 给药后 24 h 从胆汁中回收到给药量的 (7.77±0.54)%。结论 尾静脉推注 [¹²⁵I]CPG2 后, 大鼠胃内容物中 [¹²⁵I]CPG2 含量高于其他组织。排泄主要通过尿液进行, 少量从粪中排泄, 70% 放射性在给药后 24 h 内排出。

关键词: [¹²⁵I]CPG2; 药动学; 组织分布; 排泄

中图分类号: R969.1

文献标志码: A

文章编号: 1000-3002-(2022)02-0115-05

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2022.02.005

羧肽酶 G2 (carboxypeptidase G2, CPG2) 是用基因重组技术从假单胞菌获得的甲氨蝶呤 (methotrexate, MTX) 解毒剂, 特异性地作用于 MTX 游离羧基端的谷氨酸, 可快速、持久、大量地将 MTX 转化为非活性代谢产物, 降低大剂量 MTX 在临床肿瘤治疗中的风险^[1-5]。基础研究和临床试验均显示, CPG2 迅速降低体内 MTX 浓度, 不通过生物膜转运, 对进入肿瘤细胞内的 MTX 的抗肿瘤活性影响较小, 安全性良好。目前, 美国 FDA 已批准其作为 MTX 的解毒药上市^[6-8]。

本研究采用同位素示踪法对国产的 CPG2 进行 [¹²⁵I] 标记 (即 [¹²⁵I]CPG2), 并对其在大鼠体内的药动学、组织分布和排泄进行研究, 为临床研究及临床用药提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 药物、试剂和主要仪器

重组 CPG2 冻干粉针剂 (批号: 20110803, 每支

作者简介: 吴卓娜, 博士, 实验师, 主要从事药物代谢研究; 朱鲲鹏, 硕士, 主管药师, 主要从事临床医学研究。

通讯作者: 窦桂芳, E-mail: douguifang@vip.163.com

*共同第一作者。

3.50 mg, 活性 1500 U), 重庆科润生物医药研发有限公司; 三氯醋酸 (trichloroacetic acid, TCA, 批号: 20110-919, 每瓶 500 mL), 国药集团化学试剂有限公司; BCA 蛋白分析测定试剂盒 (批号: TC263614, 每盒 10 mg), 美国 Thermo 公司; [¹²⁵I]CPG2 (每瓶 1 mL, 放射性 1 mCi), 由北京福瑞生物工程公司标记并纯化。

高效液相色谱仪 (LC-20AT), 日本岛津公司; γ 计数器 (Wallac 1470), 美国 PerkinElmer™ 公司; 高效液相色谱仪自动分步收集器 (BS-100A), 上海沪西分析仪器厂; 酶标仪 (EIX800), 美国 Bio-Tek 公司; 凝胶色谱柱 (TSK-GEL G2000, 规格: 300 mm×7.8 mm, 5 μm), 日本东芝公司。

1.2 动物

Wistar 大鼠 36 只, 雌雄各半, 体重 180~220 g, 购自军事医学研究院实验动物中心, 动物生产许可证号: SCXK (京) 2007-004, 实验动物饲养许可证号: SYXK (军) 2007-004。动物饲养环境符合实验动物福利伦理委员会要求, 大鼠自由饮水摄食, 在室温 24~26℃、湿度 55%~65%、明暗交替 12 h (7:00-19:00 照明) 的环境下适应性饲养 1 周。

1.3 [¹²⁵I]CPG2 的纯度和蛋白含量测定

用高效液相色谱法鉴定 [¹²⁵I]CPG2 的纯度,

洗脱液为 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液, pH 7.4, 流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。用分步收集器收集洗脱液, 每 0.5 min 收集 1 管, 用 γ 计数器测定每管的放射性。用 BCA 试剂盒测定其蛋白含量, 96 孔板每孔加 25 μL 系列标准牛血清白蛋白 ($0.031 \sim 2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 及 $[^{125}\text{I}]$ CPG2, 然后加入 200 μL BCA 混匀, 37°C 置 30 min, 用酶标仪测定其在 570 nm 处的吸光度值, 绘制标准曲线, 加权最小二乘法 ($1/X^2$) 计算 $[^{125}\text{I}]$ CPG2 的蛋白含量。

1.4 $[^{125}\text{I}]$ CPG2 在大鼠体内药动学

6 只 Wistar 大鼠, 雌雄各半, 尾静脉推注 $[^{125}\text{I}]$ CPG2 $700 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 放射剂量 $936.88 \text{ kBq} \cdot \text{kg}^{-1}$, 饲以标准大鼠饲料, 自由饮水。给药前及给药后 0.08, 0.5, 1, 2, 4, 14 和 24 h 经眼眶静脉采血, $8000 \times g$ 离心 10 min 取血清, 加入等体积的 20% TCA 进行酸沉, 然后 $5000 \times g$ 离心 5 min, 弃上清, 测定酸沉物的放射性。根据血清中酸沉物放射性计算不同时间点的药物浓度, 再根据药物浓度-时间曲线, 计算 $[^{125}\text{I}]$ CPG2 在大鼠体内的药动学参数。

1.5 $[^{125}\text{I}]$ CPG2 在大鼠体内组织分布

18 只 Wistar 大鼠, 雌雄各半, 随机分为 3 组 (0.5, 6 和 24 h 组), 尾静脉推注 $[^{125}\text{I}]$ CPG2 $700 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 放射剂量 $936.88 \text{ kBq} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。分别于推注结束后 0.5, 6 和 24 h 取全血, 并将大鼠安乐死, 取肝、肾、脾、肺、肾上腺、睾丸、卵巢、子宫、输卵管、输精管、心脏、胰腺、胸腺、小肠、小肠内容物、脂肪、膀胱、胃、胃内容物、大肠、大肠内容物、骨骼、骨骼肌、皮肤、骨髓、脑和眼球, 共 28 种组织或体液、内容物及全血样本。组织和内容物分别称重, 剪碎; 血液离心, 取血清。各处理后的样本加入等重量的 20% TCA 沉淀蛋白, $5000 \times g$ 离心 5 min, 弃上清, 测定酸沉物的放射性, 并计算同一时间点相同组织的平均放射性。

1.6 粪-尿和胆汁排泄实验

Wistar 大鼠 6 只, 雌雄各半, 尾静脉推注 $[^{125}\text{I}]$ CPG2 $700 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (放射剂量 $936.88 \text{ kBq} \cdot \text{kg}^{-1}$) 后单独饲养于代谢笼内, 饲以标准大鼠饲料, 自由饮水。给药前和给药后 5, 8, 15, 24, 41, 50, 73, 102, 159, 190, 211, 230 和 286 h 收集尿液和粪便, 记录体积或重量, 测定其放射性。

Wistar 大鼠 6 只, 雌雄各半, 麻醉后行胆管插管手术。待大鼠清醒后, 尾静脉推注 $[^{125}\text{I}]$ CPG2 $700 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 放射剂量 $936.88 \text{ kBq} \cdot \text{kg}^{-1}$, 给药后 5, 8, 15 和 24 h 收集胆汁, 记录体积, 测定其放射性。

1.7 统计学分析

使用计算机程序 Microsoft Excel 和 Microcal

Origin 进行数据处理和制图。采用 WinNorlin 5.2 的非房室模型计算药动学参数。

2 结果

2.1 $[^{125}\text{I}]$ CPG2 的纯度和蛋白含量

$[^{125}\text{I}]$ CPG2 经 TSK-GEL G2000 凝胶过滤色谱分离后得到一个放射性主峰, 该主峰在相同条件下与未标记的 CPG2 的洗脱保留体积一致, 表明洗脱出的放射性主峰为 $[^{125}\text{I}]$ CPG2, 且放射性主峰的放射量占总放射量的 95.06%。放射性主峰流分用 BCA 试剂盒测得蛋白浓度为 $840 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 换算得到比活性为 $13.87 \text{ GBq} \cdot \text{g}^{-1}$, 放化纯度为 97.8%, 满足实验要求。

2.2 $[^{125}\text{I}]$ CPG2 在大鼠体内的药动学参数

大鼠静脉推注 $[^{125}\text{I}]$ CPG2 $700 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 后平均血药浓度-时间变化曲线见图 1。药-时曲线下面积 AUC 为 $(27\ 792 \pm 6896) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$, 峰浓度 C_{max} 为 $(16\ 894 \pm 1809) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 清除率 CL 为 $(0.026 \pm 0.005) \text{ L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$, 表观分布容积 V_d 为 $(0.16 \pm 0.04) \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$, 半衰期 $t_{1/2}$ 为 $(4.2 \pm 0.6) \text{ h}$ 。

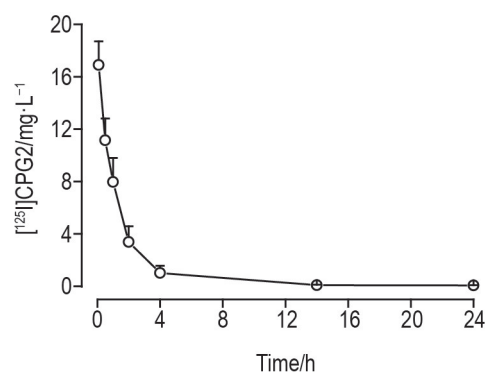


Fig. 1 Serum concentration-time curve of rats after intravenous injection of $[^{125}\text{I}]$ labelled carboxypeptidase G2 ($[^{125}\text{I}]$ CPG2). Six Wistar rats, half males and half females, were injected $[^{125}\text{I}]$ CPG2 with a chemical dose $700 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (radiation dose $936.88 \text{ kBq} \cdot \text{kg}^{-1}$) via the caudal vein, fed with standard rat food and water. Before administration and 0.08, 0.5, 1, 2, 4, 14 and 24 h after administration, blood was collected through the orbital vein and $8000 \times g$ centrifuged for 10 min, the serum in the supernatant was taken, the same volume of 20% TCA was added to the serum for acid precipitation and centrifuged, the supernatant was discarded, and the radioactivity in the acid precipitation was measured. The drug concentrations at different time points were calculated according to the acid precipitation radioactivity in the serum, and the pharmacokinetic parameters of $[^{125}\text{I}]$ CPG2 in rats were calculated according to the changes in serum drug concentrations over time. $\bar{x} \pm s$, $n=6$.

2.3 $[^{125}\text{I}]$ CPG2 在大鼠体内组织分布

大鼠静脉注射 $[^{125}\text{I}]$ CPG2 $700 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 后, 不同

时间点不同组织、内容物及血清的平均放射性见表 1。实验结果显示, [^{125}I]CPG2 主要分布在血清中, 其次为血流丰富的组织及代谢和排泄器官, 如肝、肾和胃内容物, 在脑、肌肉和脂肪中较低, 表明药物不易进入脂肪和肌肉组织, 不易透过血脑屏障。给药 24 h 后 [^{125}I]CPG2 在泌尿排泄系统内浓

度较高, 说明其主要通过肾排泄。

2.4 [^{125}I]CPG2 在大鼠体内的排泄

大鼠静脉注射 [^{125}I]CPG2 $700 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 后 286 h 内粪便、尿液和胆汁的平均累积排泄量见表 2。给药后 286 h 内, 从尿液中回收到给药量的 $(84\pm 4)\%$, 从粪便中回收到给药量的 $(3.00\pm 0.78)\%$, 粪尿合计

Tab.1 Average radioactivity in different tissues, body fluids and contents of digestive tract at different time points after intravenous injection of [^{125}I]CPG2 in rats

Sample	Average radioactivity/Bq·g ⁻¹			AUC _{0-24h} /Bq·h·g ⁻¹
	0.5	6	24(h)	
Contents in stomach	2247±1256	5968±2843	1273±830	88 322.5
Serum	20 640±2340	1041±267	299±52	76 843.8
Contents in small intestine	1533±840	2448±1039	962±864	42 016.0
Stomach	731±437	2206±800	332±153	31 103.8
Spleen	6117±1794	545±138	78±14	25 460.9
Kidney	5249±832	599±171	135±23	24 000.7
Lung	2435±521	677±139	109±23	16 235.9
Liver	2578±551	624±520	119±46	16 140.5
Small intestine	1260±469	865±355	166±97	15 446.9
Bladder	549±234	887±161	136±43	13 291.7
Vas deferens	1554±574	582±206	129±4	12 666.8
Contents in large intestine	75±36	792±503	348±138	12 662.2
Ovary	1943±357	458±51	100±37	12 116.3
Uterus	655±112	775±170	114±31	12 101.4
Oviduct	697±148	685±65	126±92	11 276.0
Adrenal gland	1546±658	418±277	60±17	10 011.4
Skin	479±221	556±279	186±62	9646.4
Bone	1447±356	310±105	69±24	8604.5
Testis	1072±232	413±99	46±5	8482.4
Heart	1826±188	217±68	45±11	8426.6
Pancreas	744±224	329±46	52±11	6568.5
Large intestine	368±112	358±192	54±14	5793.8
Eye	568±413	315±185	35±4	5721.9
Thymus	425±63	284±80	53±9	5085.0
Spinal cord	768±314	188±110	47±35	4927.4
Skeletal muscle	231±63	155±97	21±4	2699.6
Brain	226±28	59±54	11±3	1472.1
Fat	121±43	58±29	15±4	1179.3

Eighteen Wistar rats, half males and half females, were randomly divided into three groups (0.5, 6 and 24 h), and injected [^{125}I]CPG2 $700 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (radiation dose $936.88 \text{ kBq}\cdot\text{kg}^{-1}$) via the caudal vein. The rats were euthanized 0.5, 6 and 24 h after injection, and 28 kinds of tissue, body fluids or contents of digestive tract were taken. Each tissue was weighed, chopped, and 20% TCA precipitated protein of the same weight was added. The total radioactivity of [^{125}I]CPG2 in each tissue was measured. After $5000\times g$ centrifugation for 5 min, the supernatant was removed, the radioactivity after acid precipitation was measured, and the average radioactivity of the same tissue at the same time point was calculated. $\bar{x}\pm s, n=6$.

Tab.2 Average cumulative excretion of [¹²⁵I]CPG2 in feces, urine and bile of rats after intravenous injection of [¹²⁵I]CPG2

Time/h	Average cumulative excretion/%			
	Feces	Urine	Cumulative feces and urine	Bile
0-5	0.01±0.01	11±9	11±9	0.72±0.14
5-8	0.04±0.01	50±5	50±5	2.38±0.23
8-15	0.31±0.09	66±5	66±5	3.18±0.23
15-24	0.56±0.12	72±4	72±4	7.77±0.54
24-41	1.10±0.26	76±4	78±4	-
41-50	1.21±0.32	77±4	79±4	-
50-73	1.43±0.40	79±4	80±4	-
73-102	1.58±0.49	80±4	81±4	-
102-159	1.97±0.57	81±4	83±3	-
159-190	2.28±0.65	82±4	84±4	-
190-211	2.47±0.68	82±4	85±4	-
211-230	2.70±0.70	83±4	86±4	-
230-286	3.00±0.78	84±4	87±4	-

Six Wistar rats, half males and half females, were injected with [¹²⁵I]CPG2 700 μg·kg⁻¹ (radiation dose of 936.88 kBq·kg⁻¹) via the caudal vein, and the rats were fed with standard rat food and water. Urine and feces were collected before administration and 5, 8, 15, 24, 41, 50, 73, 102, 159, 190, 211, 230 and 286 h after administration, the volume or weight was recorded and the radioactivity was measured. Six Wistar rats, half males and half females, underwent bile duct intubation after anesthesia. After the rats were awake, [¹²⁵I]CPG2 was injected via the caudal vein, at a chemical dose of 700 μg·kg⁻¹ (radiation dose of 936.88 kBq·kg⁻¹). Bile was collected at 5, 8, 15 and 24 h after administration, the volume was recorded and the radioactivity was measured. $\bar{x} \pm s$, $n=6$. -: not detected.

(87±4)%。给药后 24 h 内,从胆汁中回收到给药量的(7.77±0.54)%。

3 讨论

本研究应用同位素示踪法探究了 [¹²⁵I]CPG2 在大鼠体内的药动学、组织分布和排泄的特点。大鼠尾静脉推注 [¹²⁵I]CPG2 后,于不同时间取大鼠组织、内容物及全血,通过 γ 计数器测定 TCA 可沉淀部分的放射性。TCA 可沉淀部分是相对分子质量较大的蛋白质,近似代表原形药物 CPG2,因此用 TCA 沉淀部分的放射性统计分析各组织、内容物及血清中 CPG2 的含量。大鼠尾静脉推注 [¹²⁵I]CPG2 后,放射性主要分布在血清中,其次为血流丰富的组织及代谢和排泄的器官,如肝、肾及胃肠道等。 [¹²⁵I]CPG2 在脑组织中浓度较低,表明其不易透过血脑屏障;给药后 6 和 24 h, [¹²⁵I]CPG2 在泌尿排泄系统内的浓度较高,推测 CPG2 可能通过肾排泄。 [¹²⁵I]CPG2 在脂肪、肌肉中的放射性含量较低,表明该蛋白不易进入脂肪、肌肉等组织。 [¹²⁵I]CPG2 在胃内容物中浓度比较高,可能与标记方法有关。 [¹²⁵I]需要标记到 CPG2 的酪氨酸上,酪氨酸是碱性氨基酸,胃液为酸性环境,代谢后的 ¹²⁵I-酪氨酸或蛋

白片断可能通过胃壁分泌,导致在胃肠道内有较高的放射性分布。 [¹²⁵I]CPG2 在大鼠体内的排泄研究表明,药物主要从尿液中排泄,少量从粪便中排泄,70% 的放射性在给药后 24 h 内已经排泄,给药后 41~286 h 的排泄较缓慢,286 h 时排泄 ≥80%。粪便和尿液中的放射性主要是 [¹²⁵I]CPG2 的降解产物。

本研究结果可为制定 CPG2 的临床给药方案提供参考依据,同时也可为其他药物的药动学及组织分布和排泄研究提供借鉴。

参考文献:

- [1] 龙成, 易铁男, 孙华志, 等. 羧肽酶 G2 的研究进展[J]. 实用药物与临床(*Practical Drugs and Clinics*), 2016, 19(5): 636-638.
- [2] Csordas K, Hegyi M, Eipel O, et al. Comparison of pharmacokinetics and toxicity after high-dose methotrexate treatments in children with acute lymphoblastic leukemia [J]. *Anticancer Drugs*, 2013, 24(2): 189-197.
- [3] Holmboe L, Andersen AM, Morkrid L, et al. High dose methotrexate chemotherapy: pharmacokinetics, folate, and toxicity in osteosarcoma patients [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2012, 73(1): 106-114.

- [4] Suzuki K, Doki K, Homma M, *et al.* Co-administration of proton pump inhibitors delays elimination of plasma methotrexate in high-dose methotrexate therapy [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2009, 67(1): 44-49.
- [5] Saland J, Leavey P, Bash R, *et al.* Effective removal of methotrexate by high-flux hemodialysis [J]. *Pediatr Nephrol*, 2002, 17(10): 825-829.
- [6] Imazawa M, Kojima T, Boku N, *et al.* Efficacy of sequential methotrexate and 5-fluorouracil (MTX/5FU) in improving oral intake inpatients with advanced gastric cancer with severe peritoneal dissemination [J]. *Gastric Cancer*, 2009, 12(3): 153-157.
- [7] McBride A, Antonia SJ, Haura EB, *et al.* Suspected methotrexate toxicity from omeprazole: a case review of carboxypeptidase G2 use in a methotrexate-experienced patient with methotrexate toxicity and a review of the literature [J]. *J Pharm Pract*, 2012, 25(4): 477-483.
- [8] Buchen S, Ngampolo D, Melton RG, *et al.* Carboxypeptidase G2 rescue in patients with methotrexate intoxication and renal failure [J]. *Br J Cancer*, 2005, 92(3): 480-487.

Distribution and excretion of carboxypeptidase G2 in rats

WU Zhuo-na^{1*}, ZHU Kun-peng^{2*}, GU Ruo-lan¹, MENG Zhi-yun¹, GAN Hui¹, ZHU Xiao-xia¹, LI Jian¹, DOU Gui-fang¹

(1. Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China;
2. Characteristic Medical Center of the Chinese People's Armed Police Force, Tianjin 300162, China)

Abstract: OBJECTIVE To investigate the distribution and excretion of [¹²⁵I] labeled carboxypeptidase G2 ([¹²⁵I]CPG2) in various tissues of Wistar rats after intravenous injection. **METHODS** The radioisotope tracing method was used. The whole blood, tissues and contents of the digestive tract of rats were collected at 0.5, 6 and 24 h after administration. The feces, urine and bile were collected at 5, 8, 15, 24, 41, 50, 73, 102, 159, 190, 211, 230 and 286 h after administration. After caudal vein injection of [¹²⁵I]CPG2 700 μg · kg⁻¹, the serum drug concentration-time changes and pharmacokinetic parameters were analyzed by acid precipitation radioactivity. The rat tissues, feces, urine and bile were collected at different time points. The radioactivity of [¹²⁵I]CPG2 in each tissue sample was determined by the gamma counter. **RESULTS** After intravenous injection of [¹²⁵I]CPG2 700 μg · kg⁻¹, the AUC was (27 791.89 ± 6896.26) μg · h · L⁻¹, C_{max} was (16 894.18 ± 1808.88) μg · L⁻¹, CL was (0.026 ± 0.005) L · h⁻¹ · kg⁻¹, V_d was (0.16 ± 0.04) L · kg⁻¹, t_{1/2} was (4.18 ± 0.59) h, respectively. 24 h after intravenous injection, the drug exposure was the highest in contents of the stomach and the lowest in the brain. 286 h after drug administration, the cumulative excretion of feces and urine was about (87 ± 4)% of the total dose. (7.77 ± 0.54)% of the total dose was recovered from bile within 24 h of administration. **CONCLUSION** The content of [¹²⁵I]CPG2 in contents of the stomach of rats is higher than that in other tissues after intravenous injection of [¹²⁵I]CPG2. Excretion is mainly carried out in urine, and a small amount is excreted from feces. 70% of radioactivity is excreted within 24 h of administration.

Key words: [¹²⁵I]CPG2; pharmacokinetics; tissue distribution; excretion

Corresponding author: DOU Gui-fang, E-mail: douguifang@vip.163.com

*Co-first author.

(收稿日期: 2020-12-18 接受日期: 2021-10-22)

(本文编辑: 魏霞)