# 硫化铅量子点对大鼠体内铜、钙、镁元素的影响

刘楠[1,2]，徐厚军[1]，李清钊[1,2]，郑国颖[1,2]，王茜[1,2]，白玉萍[1,2]，刘涛[1]

（1. 河北联合大学公共卫生学院，河北 唐山 063000；2. 河北省煤矿卫生与安全重点实验室，河北 唐山 063000）

**摘要：目的** 探讨大鼠经肺染硫化铅量子点后其体内铜、钙、镁含量的变化。**方法** 选择清洁级 Wistar 雄性大鼠随机分为高剂量组、低剂量组和对照组，最后经心脏取血致死，同时留取心、肝、肺、肾、脑皮质、海马和股骨标本，消化后，用 Agilent 7500a 型电感耦合等离子体质谱仪检测各组织的铅含量，并对相应组织中的铜、钙和镁元素含量进行测定。**结果** 随着硫化铅量子点剂量的加大，铅染毒大鼠血液和组织中的铅元素含量显著高于对照组（$P<0.05$），组织中的铜、钙和镁元素含量则明显低于对照组（$P<0.05$）；其中肝脏、肾脏和股骨为铅的主要积蓄器官，并可导致相应组织中铜、钙、镁元素含量降低，可能会影响机体的正常代谢和生理活动。**结论** 研究提示应加强对硫化铅量子点毒性的认识，对铅暴露水平积极干预，接触人员要注意个人防护。

**关键词：** 硫化铅量子点；电感耦合等离子体质谱仪（ICP-MS）；铜；钙；镁

**中图分类号：** R992 **文献标识码：** A **文章编号：** 1002－221X(2013)01－0007－04

## Effect of lead sulfide quantum dots on copper, calcium and magnesium in rats in vivo

LIU Nan*, XV Hou-jun, LI Qing-zhao, ZHENG Guo-ying, WANG Qian, BAI Yu-ping, LIU Tao

(*. *Hebei Provincial Key Laboratory for Coal Mine Health and Safety, Tangshan* 063000, *China*)

**Abstract: Objective** To explore the changes of copper, calcium and magnesium in rats exposed to lead sulfide quantum dots. **Methods** Clean level Wistar male rats were randomly divided into three groups according to exposure dosage (high dose, low dose and normal control), at the end of experiment, all the rats were killed by drawing blood from heart, meanwhile, heart, liver, lung, kidney, cerebral cortex, hippocampus and bone tissue were also taken; then use ICP-MS (inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry) to detect lead contents in the tissues, the levels of copper, calcium and magnesium the accumulated lead were also measured at the same time. **Results** The results showed that with the increase of lead sulfide quantum dots exposure levels the lead contents in blood and various tissues of exposed rats were all higher than that of control group ($P<0.05$), while the copper, calcium and magnesium levels were obviously lower than that of the controls ($P<0.05$). **Conclusion** The results suggested that the toxicity of lead sulfide quantum dots should be further realized, additionally, active intervention and personal protection to its exposure should also get strengthen.

**Key words:** lead sulfide quantum dots; inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS); copper; calcium, magnesium

硫化铅（PbS）量子点是一种研究量子尺寸效应的典型材料，它的量子束缚效应程度是其他半导体材料的数倍。目前，PbS 量子点已被广泛用作生物荧光探针、发光二极管、太阳能电池、Pb 离子传感器、热电冷却材料、激光材料及红外探测器等[1]。PbS 量子点具有刺激性，接触可引起恶心、呕吐和头痛，经吸入或口服均可对机体产生毒作用，尤其对肾脏和肺脏有慢性损害作用。可见，PbS 量子点已经迅速进入人们的日常生活中，但我们针对其对环境和健康造成的影响却知之甚少，因此，本文利用电感耦合等离子体质谱联用仪（ICP-MS）[2]检测经肺灌注 PbS 量子点染毒后大鼠的血液、心脏、肝脏、肺、肾脏、股骨、海马及脑皮质中铜、钙、镁的含量，为研究 PbS 量子点对体内铜、钙、镁元素的代谢提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

清洁级 Wistar 健康雄性大鼠 19 只，体重约 200 g，购自河北联合大学实验动物中心。

溶液Ⅰ：浓度为 30 mg/kg 的 PbS 量子点溶液；溶液Ⅱ：浓度为 15 mg/kg 的 PbS 量子点溶液；溶液Ⅲ：生理盐水。消化液：硝酸、高氯酸（优级纯），比例为 4∶1。7500 a 型 ICP-MS（美国 Agilent 公司产品）。

### 1.2 方法

1.2.1 动物分组及染毒 实验开始前将小鼠进行 1 周的适应性饲养。随机分为 3 组，分别为 PbS Ⅰ（高剂量组，7 只）、PbS Ⅱ（低剂量组，6 只）、对照（生理盐水，6 只）。塑料笼饲养，自由饮水、进食，饲养室温度在 22 ℃左右，环境干燥，通风良好。将

收稿日期：2012－08－06；修回日期：2012－09－24

作者简介：刘楠（1982—），女，助理研究员，研究方向：劳动卫生与职业病。

PbS 量子点加去离子水 10 ml，2 000 r/min 离心 10 min，去上清液，反复 3 次。然后加生理盐水分别配制成浓度 10 mg/L 和 5 mg/L 的混浊液，经过充分的超声振荡使液体均匀。按上述分组，对高剂量组、低剂量组和对照组分别以 30 mg/kg、15 mg/kg PbS 量子点溶液和生理盐水进行肺灌注，每次 1 ml，左右肺各 0.5 ml，每周 1 次，连续 3 个月。于最后一次肺灌注染毒 24 h 后处死大鼠。心脏取血，于 −20 ℃冰箱中冷冻保存待测。取其心、肝脏、肺、肾脏、脑皮质、海马和股骨，用 4 ℃生理盐水洗净各组织表面的残血，滤纸将水分吸干后，电子天平称重并记录，于冰箱中冷冻 −20 ℃保存待测。

1.2.2　样品测定　将血清、心、肝脏、肺、肾脏、脑皮质、海马和股骨样品分别置于锥形瓶中，加入消化液在电热板上进行消化至消化液变为无色且恰好蒸干。消化完毕冷却后，用 10% 的盐酸溶液定容至 10 ml，离心 10 min（2 000 r/min），再用微量移液器吸取 1 ml 稀释至 10 ml，用7500 a 型 ICP-MS 进行铅元素以及铜、钙和镁元素的定量分析。

### 1.3　数据处理

所有数据均用均值 ± 标准差表示，采用 SPSS 13.0 for Windows 统计软件进行分析。

## 2　结果

### 2.1　方法学考察

本方法灵敏度高，检出限为 0.15 μg/L。连续 2 d 检测方法的日间精密度的相对标准偏差 <5%，稳定性符合生物样品分析的要求，所作标准曲线 $r \geqslant 0.998$。

### 2.2　组织分布实验结果分析

各 PbS 量子点组最后一次染毒 24 h 后，测定并分析、计算得出各组血清、心、肝脏、肺、肾脏、皮质、海马和股骨样品中铅元素以及铜、钙和镁元素的浓度。以所分组为横坐标，分别以血清、心、肝脏、肺、肾脏、皮质、海马和股骨样品中铅元素以及铜、钙和镁元素的浓度为纵坐标，进行方差分析，判别差异是否有统计学意义。

2.2.1　血清中各组所含元素含量　对照组血清中铜、镁含量高于低、高剂量组，钙含量高于高剂量组，铅含量低于高剂量组，差异均具有统计学意义；血清中铅含量越高铜、镁含量越低，呈负相关关系。见表 1。

2.2.2　心脏中各组所含元素含量　对照组和低剂量组心脏中的铜、钙、镁含量均高于高剂量组；对照组中铅含量低于高剂量组，差异均具有统计学意义。心脏中铅含量与铜、钙、镁含量呈负相关关系。见表 2。

表 1　血清中各组所含元素含量比较　μg/g

| 分组 | Cu | Ca | Mg | Pb |
|---|---|---|---|---|
| 对照组 | 11.68 ± 8.32[ab] | 170.26 ± 63.88[a] | 102.66 ± 42.30[ab] | 0.41 ± 0.26[a] |
| 低剂量组 | 5.39 ± 3.78 | 133.44 ± 52.26 | 13.75 ± 5.62 | 0.78 ± 0.60 |
| 高剂量组 | 4.47 ± 2.17 | 87.07 ± 10.43 | 3.38 ± 1.28 | 1.48 ± 0.72 |
| *F* 值 | 4.434 | 5.231 | 8.986 | 5.259 |
| *P* 值 | 0.029 | 0.018 | 0.002 | 0.019 |

注：a，与高剂量组相比，$P<0.05$；b，与低剂量组相比，$P<0.05$；下表同。

表 2　心脏中各组所含元素含量比较　μg/g

| 分组 | Cu | Ca | Mg | Pb |
|---|---|---|---|---|
| 对照组 | 6.181 ± 2.52[a] | 151.77 ± 86.50[a] | 292.29 ± 27.67[a] | 0.51 ± 0.43[a] |
| 低剂量组 | 5.98 ± 2.44[a] | 132.09 ± 20.58[a] | 280.25 ± 34.94[a] | 0.75 ± 0.72 |
| 高剂量组 | 3.25 ± 1.23 | 26.64 ± 18.64 | 209.59 ± 51.84 | 1.27 ± 0.74 |
| *F* 值 | 9.048 | 12.489 | 8.113 | 2.377 |
| *P* 值 | 0.002 | 0.001 | 0.004 | 0.125 |

2.2.3　肝脏中各组所含元素含量　对照组肝脏中钙含量高于低、高剂量组，差异有统计学意义；铜、镁虽高于低、高剂量组，但差异未见统计学意义；铅含量低于低、高剂量组，差异有统计学意义。见表 3。提示肝脏对铅在体内的代谢有重要意义，肝脏中的铅可能影响钙的代谢。

表 3　肝脏中各组所含元素含量比较　μg/g

| 分组 | Cu | Ca | Mg | Pb |
|---|---|---|---|---|
| 对照组 | 29.70 ± 18.31 | 230.96 ± 137.35[ab] | 318.69 ± 28.19 | 0.50 ± 0.35[ab] |
| 低剂量组 | 10.42 ± 4.28 | 112.27 ± 29.63 | 291.28 ± 19.48 | 5.91 ± 6.32 |
| 高剂量组 | 3.95 ± 3.88 | 88.52 ± 57.44 | 277.80 ± 39.73 | 27.72 ± 21.52 |
| *F* 值 | 1.160 | 4.914 | 1.977 | 7.430 |
| *P* 值 | 0.338 | 0.022 | 0.171 | 0.006 |

2.2.4　肺组织中各组所含元素含量　对照组和低剂量组肺组织中铜、镁含量高于高剂量组，低剂量组肺组织中钙含量高于高剂量组，对照组中铅含量低于低剂量组和高剂量组，差异均具有统计学意义，见表 4。

表 4　肺组织中各组所含元素含量比较　μg/g

| 分组 | Cu | Ca | Mg | Pb |
|---|---|---|---|---|
| 对照组 | 4.86 ± 2.69[a] | 529.00 ± 427.28 | 224.35 ± 17.44[a] | 0.68 ± 0.80[ab] |
| 低剂量组 | 3.41 ± 1.10[a] | 153.88 ± 40.52[a] | 212.13 ± 13.83[a] | 10.12 ± 8.05 |
| 高剂量组 | 2.33 ± 0.97 | 70.35 ± 45.73 | 145.09 ± 22.89 | 20.26 ± 22.18 |
| *F* 值 | 4.358 | 3.181 | 34.314 | 3.036 |
| *P* 值 | 0.310 | 0.069 | 0.000 | 0.076 |

2.2.5　肾脏中各组所含元素含量　对照组和低剂量组中铜、镁含量均高于高剂量组；对照组中钙含量高于高剂量组，铅含量低于低、高剂量组；差异均具有统计学意义。见表 5。提示肾脏组织也可能是铅在体内进行代谢的重要器官。

表 5 肾脏中各组所含元素含量比较 μg/g

| 分组 | Cu | Ca | Mg | Pb |
|---|---|---|---|---|
| 对照组 | 11.50 ± 9.01[a] | 209.55 ± 67.34[a] | 269.75 ± 19.70[a] | 0.44 ± 0.40[ab] |
| 低剂量组 | 8.55 ± 7.50[a] | 145.78 ± 64.28 | 266.75 ± 31.07[a] | 13.92 ± 13.60 |
| 高剂量低 | 1.39 ± 0.67 | 115.42 ± 59.32 | 193.95 ± 8.45 | 185.35 ± 174.66 |
| *F* 值 | 4.125 | 3.641 | 26.911 | 6.127 |
| *P* 值 | 0.036 | 0.050 | 0.000 | 0.011 |

2.2.6 脑皮质中各组所含元素含量 对照组脑皮质中铜含量高于低、高剂量组，镁含量高于高剂量组，铅含量低于高剂量组；对照组和低剂量组脑皮质中钙含量均高于高剂量组；差异均具有统计学意义。见表 6。

表 6 脑皮质中各组所含元素含量比较 μg/g

| 分组 | Cu | Ca | Mg | Pb |
|---|---|---|---|---|
| 对照组 | 5.245 ± 2.28[ab] | 372.04 ± 293.12[a] | 237.45 ± 56.25[a] | 0.11 ± 0.97[a] |
| 低剂量组 | 3.10 ± 2.80 | 37.56 ± 15.34[a] | 194.01 ± 16.17 | 0.80 ± 0.79 |
| 高剂量组 | 1.39 ± 1.24 | 10.91 ± 4.12 | 151.82 ± 24.57 | 1.20 ± 0.55 |
| *F* 值 | 4.886 | 5.657 | 9.144 | 6.103 |
| *P* 值 | 0.022 | 0.014 | 0.002 | 0.011 |

2.2.7 海马中各组所含元素含量 对照组海马中钙含量高于低、高剂量组，铅含量低于低、高剂量组，差异有统计学意义；铜的含量虽高于低、高剂量组，但差异未见统计学意义。对照组和低剂量组海马中镁含量高于高剂量组，差异有统计学意义。见表 7。

表 7 海马中各组所含元素含量比较 μg/g

| 分组 | Cu | Ca | Mg | Pb |
|---|---|---|---|---|
| 对照组 | 11.43 ± 7.48 | 864.94 ± 663.56[ab] | 238.20 ± 49.72[a] | 0.66 ± 0.86[ab] |
| 低剂量组 | 6.99 ± 5.64 | 145.05 ± 85.50 | 212.35 ± 23.39[a] | 1.46 ± 0.43 |
| 高剂量组 | 3.49 ± 2.43 | 124.98 ± 26.20 | 159.70 ± 34.41 | 1.95 ± 0.98 |
| *F* 值 | 3.046 | 7.825 | 7.572 | 4.203 |
| *P* 值 | 0.076 | 0.004 | 0.005 | 0.034 |

2.2.8 股骨中各组所含元素含量 对照组股骨中铜含量高于低、高剂量组，铅含量低于低、高剂量组，差异有统计学意义；对照组和低剂量组股骨中镁含量高于高剂量组，差异有统计学意义；3 组股骨中钙的差异未见统计学意义。见表 8。提示股骨也是铅的主要蓄积器官。

表 8 骨组织中各组所含元素含量比较 μg/g

| 分组 | Cu | Ca | Mg | Pb |
|---|---|---|---|---|
| 对照组 | 7.82 ± 5.87[ab] | 2964.81 ± 442.95 | 170.26 ± 63.89[a] | 1.89 ± 0.42[ab] |
| 低剂量组 | 3.20 ± 20.8 | 2690.49 ± 397.08 | 133.44 ± 52.26[a] | 138.43 ± 53.84 |
| 高剂量组 | 1.48 ± 0.54 | 2510.54 ± 666.97 | 87.07 ± 10.43 | 272.77 ± 111.61 |
| *F* 值 | 8.431 | 1.306 | 5.213 | 21.282 |
| *P* 值 | 0.003 | 0.298 | 0.018 | 0.000 |

## 3 讨论

量子点（quantum dots，QDs）又称半导体纳米晶，其本质是无机纳米粒子。QDs 具有量子产率高、消光系数大、光耐受性强、荧光寿命长、发射光谱窄和激发光谱范围较宽等显著性质，是纳米科学与技术研究的重要组成部分，在未来的光电子学、纳米电子学、量子计算和生命科学等方面将会有着非常重要的应用，日渐成为人们研究的热点。

随着纳米级铅进入环境的数量越来越多，有可能对环境和人体健康产生影响。许多研究表明，大鼠暴露于纳米颗粒或超微颗粒下比暴露于同样剂量同一物质的普通尺度的颗粒更容易引起炎症反应和细胞内改变[3]。本研究选用 PbS 量子点，建立肺灌注大鼠染毒模型，以探讨 PbS 量子点对大鼠的血液、心脏、肝脏、肺、肾脏、股骨、海马和皮质中铜、钙、镁元素含量的影响，为 PbS 量子点对铜、钙、镁元素的代谢研究提供新的资料。

微量元素是人体很多酶的组成成分或激活剂，构成体内重要的载体与电子传递系统，如铜（Cu）是构成细胞色素酶及细胞色素氧化酶等多种酶的重要物质；钙（Ca）是人体内含量最多的矿质元素之一，调节人体各个系统组织器官的正常功能，也是脑神经元代谢不可缺少的重要元素；镁（Mg）在神经传递和神经肌肉的应激性方面具有重要作用。

本次实验结果显示，肺灌注染毒大鼠体内的铅与铜、钙、镁呈负相关关系。钙与铅有着确定的拮抗关系，钙与铜也是互为抑制的元素，钙明显下降，铜本应上升，但实验结果表明，铜也有明显的下降，可见铅对铜的抑制作用十分显著。同时对染毒大鼠心、肝脏、肺、肾脏、皮质、海马和股骨中的铅含量进行分析发现，这些组织均为 PbS 量子点的蓄积器官，进入机体组织中的铅主要通过肝脏代谢，肾脏排泄[4]；肝脏、肾脏也是铅在体内主要的蓄积部分，尤其是早期接触的铅主要蓄积于肾脏、肝脏等软组织中。

实验结果发现随着给铅水平的增加，大鼠各组织中铅含量逐渐升高，而铜、钙、镁逐渐下降，铅染毒组与对照组相比铅及铜、钙、镁差异均有统计学意义。铅和铜、钙、镁都是二价金属离子，在机体的各部位相互影响、相互作用，具体表现在吸收途径、生物转化等多个生理过程中。由于铅的亲合力远大于铜、钙、镁的亲合力，从而导致铅中毒大鼠出现高铅、低铜、低钙、低镁的结果。所以，铅暴露达到一定程度会破坏机体的自我调节，导致铜、钙、镁稳态的改变，从而影响多种生命代谢活动。

为保障人体的正常生长发育，我们必须对铅暴露水平进行积极干预，对于新型材料硫化铅量子点的毒性更要加强认识，降低其在生产环境中的浓度，加强个人防护，以降低危害。

（下转第 20 页）

### 2.3　外科医生工作满意感评分与各自变量间逐步回归分析

为了探讨外科医生负性情绪的影响因素，以外科医生的负性情绪评分为因变量，以人口统计学资料以及紧张因素、缓解因素评分为自变量进行逐步回归分析。如表 5 所示，共有 6 个因素被引入外科医生负性情绪回归方程，包括工作角色、工作前景、行为方式、工作单调性、年龄和工作危险，这些因素是影响外科医生负性情绪的主要因素。

表 5　负性情绪评分与各自变量间逐步回归分析

| 引入变量 | 偏回归系数 | 标准偏回归系数 | $t$ 值 | $P$ 值 | 标准误 |
|---|---|---|---|---|---|
| 工作角色 | −0.047 | −0.270 | −4.108 | 0.000 | 0.011 |
| 工作前景 | −0.107 | −0.213 | −3.249 | 0.001 | 0.033 |
| 行为方式 | −0.111 | −0.228 | −3.456 | 0.001 | 0.032 |
| 工作单调性 | −0.149 | −0.178 | −2.651 | 0.009 | 0.056 |
| 年龄 | 0.032 | 0.172 | 2.564 | 0.011 | 0.013 |
| 工作危险 | −0.073 | −0.157 | −2.308 | 0.022 | 0.032 |

## 3　讨论

情绪是人脑对客观现实是否满足自身需要的一种主观体验，涉及生理、心理和行为，分为积极情绪（如欣快、满足、愉悦、兴奋）和负性情绪（如紧张、焦虑、抑郁、恐惧、悲哀）[5,6]。负性情绪的出现可影响人们的工作、生活，甚至会危及生命。

卫生部进行的一项调查显示，90% 的医务人员感觉到工作压力很大，尤其外科工作除了高工作负荷量之外，还要求医生工作中快速反应，注意力高度集中，由于经常要诊治急重症患者，因此其工作危险性大、对病人的健康所负的责任重，且工作环境又比较拥挤、噪声高，也经常接触到麻醉剂、化疗药物、电离辐射等危害因素，这些因素很容易引起外科医生的职业紧张，并诱发负性情绪。

本研究中外科医生周平均工作时间 >40h 时负性情绪高，近一年发生有责任事故组负性情绪明显高于未发生责任事故组。我国目前医生和医疗设施的严重短缺直接导致了医生的工作量大、工作负荷重[7]。工作时间过长是引起“过度疲劳”的主要原因[8]，日本学者调查某大学附属医院时发现，有高达 25.9% 的医护人员患有精疲力竭症[9]。长时间高负荷的工作状态由于得不到有效的休息，常导致外科医生极度疲劳，无疑增加其消极情绪。蒋立新等[10]研究显示，医师的主要紧张源为任务过重、任务不适和责任感。本次调查显示，外科医生中工作需求高、工作单调、工作危险性高、角色模糊、工作前景不乐观、社会支持低者，其负性情绪高。除此之外，行为方式和年龄也是影响负性情绪的主要因素。因此，加强建立良好的社会支持，组织机构在工作安排上尽可能做到有效、合理的作息制度，并在医疗纠纷、工作时间、福利待遇等方面给予明确的法律保障，外科医生通过医德医风教育加强个人修养，提高医疗技术，以增强个体应对能力是缓解负性情绪的有效途径。

随着科技、社会的进步，人们已逐渐重视负性情绪，尤其是职业环境因素诱发的负性情绪。正确认识和分析外科医生负性情绪以及职业紧张对其影响的主要因素，有利于社会大众对医生工作的尊重，有助于促进外科医生身心健康，也有利于医疗工作的改革和发展。

### 参考文献：


[1] 张西超，杨六琴，徐晓锋，等. 负性情绪在工作压力作用中机制的研究 [J]. 心理科学，2006，29（4）：967-969.

[2] 李煜. 驻军医院医务人员职业紧张现状及其对职业生活质量的影响 [D]. 山西医科大学，2010，30-50.

[3] Bruce A Harms，Charles P Heise，Jon C Gould，*et al*. A 25-year single institution analysis of health，practice，and fate of general surgeons [J]. Ann Surg，2005，242：520-529.

[4] 余善法，张锐. 职业紧张测量工具研究 [J]. 河南医学研究，2000，9（2）：171-174.

[5] 张积家. 普通心理学 [M]. 广州：广东高等教育出版社，2004：466-508.

[6] 彭聃龄. 普通心理学 [M]. 修订版. 北京：北京师范大学出版社，2004：364-401.

[7] 中华人民共和国国家统计局. 2010 年国民经济和社会发展统计公报（2011-02-28）[EB/OL]. http：//www. stats. gov. cn.

[8] 杨迎春，巢健茜. 南京市医院医生工作满意度调查 [J]. 中国医院管理，2008，28（3）：31-33.

[9] 稻冈，文昭. 减轻护理人员的精神压力 [J]. 国外医学·护理学分册，1991，10（2）：53-54.

[10] 蒋立新，张世英，黄先青，等. 医师职业紧张和紧张反应的研究 [J]. 环境与职业医学，2006，23（2）：133-136.


（上接第 9 页）

### 参考文献：


[1] Lu X F，Zhao Y Y，Wang C. Fabrication of PbS nanoparticles in polymer-fiber matrices by electrospinning [J]. Ady Mater，2005，17（20）：2485-2488.

[2] De Z Q，Xiao M M，Lin Y，*et al*. Biomimetic synthesis of HgS nanoparticles in the bovine-erum albumin solution [J]. J Nanopart Res，2008，10（4）：559-566.

[3] Oberdorster G，Oberdorster E，Oberdorster J. Nanotoxicology：an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles [J]. Enviren Health Perspect，2005，113（7）：823-839.

[4] 张建平，庄峙厦，陈成祥，等. 大鼠体内铅镉分布的稳定同位素示踪 ICP-MS 研究 [J]. 分析测试学报，2008，27（8）：835-838.