

• 综 述 •

DNA 聚合酶 ϵ 的生物学功能研究进展^{*}

张 驰,高世超 综述,王培昌[△] 审校

(首都医科大学宣武医院检验科,北京 100053)

摘 要: DNA 聚合酶 ϵ 属于 DNA 聚合酶 B 家族,是参与真核生物细胞 DNA 合成和复制的关键酶之一,其由 Pol2、Dpb2、Dpb3 和 Dpb4 亚基构成。DNA 聚合酶 ϵ 具有 5'-3' 聚合酶活性和 3'-5' 外切酶活性,同时参与多种形式的 DNA 损伤修复过程,对于基因完整性有重要意义。本文就 DNA 聚合酶 ϵ 的结构及功能最新研究进展进行综述。

关键词: DNA 聚合酶 ϵ ; DNA 复制; DNA 修复

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.22.025

中图法分类号:Q78,R329.2

文章编号:1673-4130(2019)22-2791-04

文献标识码:A

The biological function of DNA polymerase ϵ ^{*}

ZHANG Chi,GAO Shichao,WANG Peichang[△]

(Department of Clinical Laboratory,Xuanwu Hospital of Capital Medical University,Beijing 100053,China)

Abstract: DNA polymerase ϵ (DNA pol ϵ) belongs to the family of DNA polymerase B, which is one of the key enzymes involved in the synthesis and replication of chromosomal DNA in eukaryotes. DNA pol ϵ consists of four subunits: Pol2, Dpb2, Dpb3 and Dpb4. DNA pol ϵ has 5'-3' polymerase activity and 3'-5' exonuclease activity, and participates in various forms of DNA damage repair process, which is of great significance for gene integrity. This paper reviews the latest research progress on the structure and function of DNA pol ϵ .

Key words: DNA polymerase ϵ ; DNA replication; DNA repair

真核细胞 DNA 聚合酶包括 DNA 聚合酶 α 、 β 、 γ 、 δ 、 ϵ 5 种,其在 DNA 复制及 DNA 损伤修复中发挥关键作用^[1]。DNA 半保留复制是细胞有丝分裂的重要基础,DNA 合成率下降是细胞衰老的主要生理机制。基于氧化损伤等导致的 DNA 损伤可引起 DNA 复制、转录及翻译异常,不仅与细胞凋亡、细胞转化密切相关,也与多种疾病的发生紧密关联。DNA 聚合酶 ϵ 不仅参与 DNA 合成复制,还在 DNA 损伤修复过程中发挥重要作用,对于维持基因组完整性和遗传稳定性有重要意义。自 DNA 聚合酶 ϵ 在 1970 年首次发现后,有很多研究者对其功能进行了较为深入的研究,本文就 DNA 聚合酶 ϵ 的生物学功能最新研究进展进行综述。

1 DNA 聚合酶 ϵ 的早期研究

真核 DNA 聚合酶 ϵ 于 1970 年首次从酵母中分离获得,其后许多研究者对其结构、功能和机制进行了研究。1995 年 NAVAS 等^[2]发现 DNA 聚合酶 ϵ 与 DNA 复制中的 S 相位点有相关性。1996 年 SHCHERBAKOVA 等^[3]以酵母菌为模型证明 DNA

聚合酶 ϵ 和 DNA 聚合酶 δ 可以对 DNA 合成的错误进行修复。2006 年 RYTKÖNEN 等^[4]对人类的 DNA 聚合酶 α 、DNA 聚合酶 δ 和 DNA 聚合酶 ϵ 在 S 期过程中的作用进行研究,发现在 DNA 复制早期, DNA 聚合酶 ϵ 是最活跃的。2010 年 OGI 等^[5]研究发现约 50% 的 DNA 修复合成是由 CTF18-RFC 和 DNA 聚合酶 ϵ 作用的。

2 DNA 聚合酶 ϵ 的组成及结构

DNA 聚合酶 ϵ 是 DNA 聚合酶 B 家族的成员之一,相对分子质量约为 371×10^3 ,含有 Pol2、Dpb2、Dpb3 和 Dpb4 共 4 个亚基^[6],分别由 POLE1、POLE2 和 POLE3 基因编码而成^[7]。

Pol2 是 DNA 聚合酶 ϵ 的催化亚基,相对分子质量为 $(147 \sim 156) \times 10^3$,编码基因位于 14 号染色体,编码序列为 NC_000014.9,长度为 58 kbp。Pol2 与其他 B 家族成员的催化亚基在结构上有同源性,其 N 端结构域与 DNA 聚合酶 ϵ 催化活性和外切酶活性密切相关,C 端结构域的功能尚不清楚,但 C 端结构域中的锌指结构(CX2CX18CX2CX30CX2CX11CXC)与

^{*} 基金项目:国家自然科学基金项目(81472007);北京市医院管理局“登峰”人才培养计划(DFL20180803)。

[△] 通信作者,E-mail:pcw1905@126.com。

本文引用格式:张驰,高世超,王培昌.DNA 聚合酶 ϵ 的生物学功能研究进展[J].国际检验医学杂志,2019,40(22):2791-2793.

Dpb2 的相互作用却是细胞存活所必须的^[7]。

Dpb2 是聚合酶 ϵ 的第 2 大亚基,相对分子质量为 $(59\sim 86)\times 10^3$,由 3 个部分组成,编码基因位于 14 号染色体,编码序列为 NC_001148.4,长度为 2.7 kbp。虽然 Dpb2 是非催化亚基,但其对细胞的存活至关重要^[8]。所有包含保守性 Dpb2 结构的 DNA 聚合酶都与 DNA 复制有关,Dpb2 的缺失虽然不会降低 DNA 聚合酶 ϵ 的催化活性,但如果 Dpb2 功能障碍,将导致 DNA 复制延长,延长 S 期,增加自发突变的发生^[9]。最新的研究发现,Dpb2 如发生突变,则不能激活 nrm1 调控的复制检查点,造成细胞死亡^[10-12]。

Dpb3 和 Dpb4 是 2 个最小的亚基,Dpb3 的编码基因位于 2 号染色体,编码序列为 NC_001134.8,长度为 788 bp。Dpb4 编码基因位于 4 号染色体,编码序列为 NC_001136.10,长度为 769 bp。Dpb3 和 Dpb4 是非必需亚基,与 CCA AT 结合因子密切相关,其并没有加强 DNA 聚合酶 ϵ 的催化活性,但是在正常的复制叉进程中,与 Dpb11 和 Rad53 的基因作用时,因其可保证反应的稳定性,所以又是必不可少的。并且它们在 DNA 复制过程中起到调节异染色质重组,确保染色质中表观遗传标记遗传的作用。

3 DNA 聚合酶 ϵ 的相关蛋白

Dpb11 是 DNA 复制和 S 期检查点所必须的^[13]。在 DNA 复制起始时,Dpb11 与 DNA 聚合酶 ϵ 结合形成 CMG 复合物,对复制叉的形成起重要作用^[14]。TopBP1 是 Dpb11 的人类同源体,Topbp1 在人类细胞中缺乏并不会使细胞死亡,但是会使细胞由于 S 期中 DNA 链断裂而导致基因复制不稳定。

Mdm2 是一种肿瘤相关蛋白,在许多人类肿瘤中水平升高,是 p53 的一个主要负调节因子,作为 E3 泛素连接酶,以 p53 为降解靶点。Mdm2 的 N-端 166 氨基酸区域与 DNA 聚合酶 ϵ 的 C 端结构域相互作用以刺激 DNA 聚合酶 ϵ 的活性,以此调节 DNA 聚合酶 ϵ 对 DNA 的校对及修复^[6]。

Tim-tipin 复合体在 S 期检查点和复制叉稳定性中发挥了重要作用,但其生物功能的分子机制尚不完全清楚。最新的研究发现重组人 Tim-Tipin 复合物能够显著增强 DNA 聚合酶 ϵ 的合成活性^[15]。

Mrc1 是一种复制叉相关蛋白,在 DNA 复制和调节 S 期检查点的过程中都起到重要作用。DNA 聚合酶 ϵ 通过 Pol2 的 N 端具有催化功能的结构域结合 Mrc1 的 N 端,并通过 Pol2 的 C 端结合 Mrc1 的 C 端。Mrc1 与 Mcm6 和 DNA 聚合酶 ϵ 相互作用,可以稳定解旋酶和 DNA 聚合酶 ϵ 之间的相互作用^[16]。

4 DNA 聚合酶 ϵ 的生物学功能

DNA 聚合酶 ϵ 在复制 DNA 前导链和延迟链方面发挥重要作用,并且其在清除引导链中的 DNA 聚合酶 δ 产生的错误方面发挥重要作用。此外,DNA 聚合酶 ϵ 还参与 DNA 损伤修复、细胞周期进程的控

制、染色质重塑和遗传调控,以确保信息稳定地从母细胞转移到子细胞^[17-20]。

4.1 DNA 聚合酶 ϵ 在 DNA 复制中的作用 细胞 DNA 复制机制是高度保守的,所有的生物体都以类似的方式进行半保留复制。DNA 聚合酶 ϵ 在稳定的复制叉上进行主链 DNA 合成^[21]。在 S 期复制开始时,通过包括 Cdc45、Sld2、Sld3 和 Dpb11 等多个蛋白的结合和磷酸化,形成 CMG(Cdc45-MCM-GINS)复合物^[22],建立复制叉,在激活后,通过与 CTF18-RFC 结合,将 PCNA 加载到复制模板的 3'端,作为 DNA 合成的一个平台,用于 DNA 聚合酶的加载及冈崎片段的加工、DNA 损伤修复、染色质组装和染色单体黏附。但在 PCNA 缺失的情况下,DNA 聚合酶 ϵ 仍然能够独立合成 DNA^[23-24]。

4.2 DNA 聚合酶 ϵ 在 DNA 损伤修复中的作用 许多形式的内源性 DNA 损伤是自发产生的,在某些情况下是高频率发生的^[25]。DNA 聚合酶 ϵ 最初被认为能够修复人类细胞修复缺陷的可溶性因子,其与 DNA 聚合酶 δ 两者均能够支持核苷酸切除修复重组,因为两者的突变体均显示 NER 活性降低。直到 2010 年才发现约 50% 的修复合成是由 DNA 聚合酶 ϵ 与 CTF18-RFC 协同完成的,剩下 50% 是 DNA 聚合酶 δ 、 κ 与 CTF18-RFC 协同完成的,但具体的过程尚未明确。

4.3 DNA 聚合酶 ϵ 的其他功能 人类的 DNA 聚合酶 ϵ 是 RNA Pol II 增加转录激活复合体的一部分,它增加了转录激活。这个复合体包含许多修复因素。进一步的研究表明 DNA 聚合酶 ϵ 与 RNA pol II 的过度磷酸化有关,在转录过程中发生,与 RNA 转录过程中的 DNA 损伤修复有关^[26]。

5 DNA 聚合酶 ϵ 与疾病的关系

5.1 阿尔茨海默病 阿尔茨海默病是一种起病隐匿的进行性发展的神经系统退行性疾病。临床上以记忆障碍、失语、失用、失认、视空间技能损害、执行功能障碍及人格和行为改变等全面性痴呆表现为特征。近期的全基因组关联研究发现,19 个基因区域的突变似乎与患病风险有关,其中 TREM2 发生突变时,罹患阿尔茨海默病的风险高出 2~3 倍^[27]。BUCHOLTZ 等^[28]的研究表明,包括 DNA 聚合酶 ϵ 在内的多种蛋白,对相关 DNA 损伤可以进行碱基切除修复,其水平和活性与阿尔茨海默病的多种相关蛋白表达有相关性。

5.2 癌症 尽管肿瘤的发生机制十分复杂,但与其相关基因突变存在密切关联,DNA 聚合酶 ϵ 在 DNA 合成及损伤修复中扮演关键角色,研究表明,精准的复制能够有效抑制肿瘤的发生^[29-31]。当 DNA 聚合酶 ϵ 的核酸外切酶区发生突变时,DNA 复制过程中突变率将升高 10~100 倍,POLE 发生种系突变和体细胞突变时,发生子宫内膜癌、结直肠癌、卵巢癌和胶质瘤的概率大大提高^[32]。在子宫肿瘤中 DNA 聚合酶 ϵ 超

突变与 T 淋巴细胞浸润和对铂类化疗药抗药性增加有关^[33]。2019 年 1 月, PARKASH 等^[34]发现, 最常见的复发性癌症相关的 DNA 聚合酶 ϵ 突变是在核酸外切酶区域的 P286R 替换。

6 展 望

DNA 聚合酶 ϵ 在 DNA 复制、细胞周期进程的控制、损伤修复、染色质重塑和遗传调控中发挥重要的作用, 同时其在肿瘤、衰老及衰老相关疾病的发生发展中同样具有十分重要的意义, 然而其具体分子机制尚不十分清楚, 尤其是对 DNA 聚合酶 ϵ 增龄过程中的变化机制研究甚少。因此, 深入阐明 DNA 聚合酶 ϵ 在衰老过程中的变化及其机制, 将为揭示肿瘤、衰老的发生奠定坚实的基础, 并为肿瘤预防、衰老及衰老相关疾病的干预提供重要靶点。

参考文献

- [1] DESHPANDE A M, IVANOVA I G, RAYKOV V, et al. Polymerase epsilon is required to maintain replicative senescence[J]. *Mol Cell Biol*, 2011, 31(8): 1637-1645.
- [2] NAVAS T A, ZHOU Z, ELLEDGE S J. DNA polymerase links the DNA replication machinery to the S phase checkpoint[J]. *Cell*, 1995, 80(1): 1-39.
- [3] SHCHERBAKOVA P V, PAVLOV Y I. 3' leads to 5' exonucleases of DNA polymerases epsilon and delta correct base analog induced DNA replication errors on opposite DNA strands in *saccharomyces cerevisiae*[J]. *Genetics*, 1996, 142(3): 717-726.
- [4] RYTKÖNEN A K, VAARA M, NETHANEL T, et al. Distinctive activities of DNA polymerases during human DNA replication[J]. *FEBS J*, 2006, 273(13): 2984-3001.
- [5] OGI T, LIMSIRICHAIKUL S, OVERMEER R M, et al. Three DNA polymerases, recruited by different mechanisms, carry out NER repair synthesis in human cells. [J]. *Molecular Cell*, 2010, 37(5): 714-727.
- [6] PURSELL Z F, KUNKEL T A. DNA polymerase ϵ : a polymerase of unusual size (and complexity) [J]. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol*, 2008, 82(1): 101-145.
- [7] GARBACZ M, ARAKI H, FLIS K, et al. Fidelity consequences of the impaired interaction between DNA polymerase epsilon and the GINS complex[J]. *DNA Repair (Amst)*, 2015, 29(1): 23-35.
- [8] DMOWSKI M, RUDZKA J, CAMPBELL J L, et al. Mutations in the non-catalytic subunit Dpb2 of DNA polymerase epsilon affect the Nrm1 branch of the DNA replication checkpoint[J]. *PLoS Genet*, 2017, 13(1): e1006572.
- [9] DMOWSKI M, FIJALKOWSKA I J. Diverse roles of Dpb2, the non-catalytic subunit of DNA polymerase ϵ [J]. *Curr Genet*, 2017, 63(6): 983-987.
- [10] MICHAŁ DMOWSKI, RUDZKA J, CAMPBELL J L, et al. Mutations in the non-catalytic subunit Dpb2 of DNA polymerase epsilon affect the Nrm1 branch of the DNA replication checkpoint [J]. *PLoS Genet*, 2017, 13(1):

- e1006572.
- [11] GARBACZ M, ARAKI H, FLIS K, et al. Fidelity consequences of the impaired interaction between DNA polymerase epsilon and the GINS complex[J]. *DNA Repair*, 2015, 29(1): 23-35.
- [12] POSPIECH H, JUHANI E. DNA polymerase ϵ -more than a polymerase[J]. *Sci World J*, 2003, 3(3): 87-104.
- [13] MASUMOTO H, SUGINO A, ARAKI H. Dpb11 controls the association between DNA polymerases alpha and varepsilon and the autonomously replicating sequence region of budding yeast [J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(8): 2809-2817.
- [14] MURAMATSU S, HIRAI K, TAK Y S, et al. CDK-dependent complex formation between replication proteins Dpb11, Sld2, Pol ϵ , and GINS in budding yeast[J]. *Genes Dev*, 2010, 24(6): 602-612.
- [15] ARIA V, FELICE M D, PERNA R D, et al. The human tim-tipin complex interacts directly with DNA polymerase and stimulates its synthetic activity[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(18): 12742-12752.
- [16] KOMATA M, REISALVES S C, CAMPBELL K L, et al. Mrc1 and DNA polymerase epsilon function together in linking DNA replication and the S phase checkpoint [J]. *Mol Cell*, 2008, 32(1): 106-117.
- [17] ZAHURANCIK W J, BARANOVSKIY A G, TAHIROV T H, et al. Comparison of the kinetic parameters of the truncated catalytic subunit and holoenzyme of human DNA polymerase ϵ . [J]. *DNA Repair*, 2015, 29(1): 16-22.
- [18] ZAHURANCIK W J, KLEIN S J, SUO Z. Kinetic mechanism of DNA polymerization catalyzed by human DNA polymerase[J]. *Biochemistry*, 2013, 52(40): 7041-7049.
- [19] MOISEEVA T N, GAMPER A M, HOOD B L, et al. Human DNA polymerase ϵ is phosphorylated at serine-1940 after DNA damage and interacts with the iron-sulfur complex chaperones CIAO1 and MMS19 [J]. *DNA Repair*, 2016, 43(1): 9-17.
- [20] GÖKSENIN A Y, ZAHURANCIK W, LECOMPTE K G, et al. Human DNA polymerase is able to efficiently extend from multiple consecutive ribonucleotides [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(51): 42675.
- [21] BURGERS P M J, KUNKEL T A. Eukaryotic DNA replication fork [J]. *Annu Rev Biochem*, 2017, 86(1): 417-438.
- [22] BERMUDEZ V P, FARINA A, RAGHAVAN V, et al. Studies on human DNA polymerase epsilon and GINS and their role in DNA replication. [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(33): 28963.
- [23] FUJISAWA R, OHASHI E, HIROTA K, et al. Human CTF18-RFC clamp-loader complexed with non-synthesising DNA polymerase ϵ efficiently loads the PCNA sliding clamp [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(8): 4550-4563.
- [24] LUJAN S A, WILLIAMS J S, KUNKEL T A. DNA polymerases divide the labor of genome replication [J]. *Trends Cell Biol*, 2016, 26(9): 640-654.

理特征的关系进行了探讨,结果表明,结直肠癌患者血清中骨膜蛋白和 CEA 水平随患者临床 Dukes 分期进展而升高,这在一定程度上说明越是接近于结直肠癌晚期的患者,其血清中骨膜蛋白和 CEA 水平亦越高,特别是 C 期和 D 期的血清骨膜蛋白水平显著高于 A 期和 B 期,与临床研究结果相符。因此,血清中骨膜蛋白水平在提示结直肠癌患者具有侵袭和转移的风险评估中有重要意义,可以作为高风险的临床指标。但本研究也观察到,不论处于何种临床分期和何种肿瘤病理类型的结直肠癌患者,其血清骨膜蛋白和 CEA 水平与年龄、性别差异无统计学意义。

本研究也发现,骨膜蛋白和 CEA 在不同病理组织学类型的表达程度也不同,在未分化癌血清中骨膜蛋白和 CEA 水平最高,其次是黏液癌和腺癌。低分化型大肠癌血清中骨膜蛋白水平显著高于中分化、高分化大肠癌,肿瘤分化程度越低,骨膜蛋白和 CEA 水平越高。此外研究还发现,血清骨膜蛋白和 CEA 水平升高的患者发生远处器官转移的概率较高,与临床报道一致^[9-10],这在判断肿瘤进展、临床分期、术后复发及预后等方面会有一定意义。

综上所述,骨膜蛋白和 CEA 在大肠癌的诊断中具有高度的一致性,这 2 项指标对患者病情评估和预后判断均有重要参考价值。目前,研究者所用的多数肿瘤标志物缺乏器官特异性,再加上不同肿瘤组织的复杂性和异质性,单项肿瘤标志物的判断价值有限,辅助诊断效果不佳,已不能满足临床需求。因此,多项标志物联合检测已是诊断肿瘤的一个趋势。

参考文献

- [1] RATAJCZAK-WIELGOMAS K,GRZEGRZOLKA J,PI-OTROWSKA A, et al. Expression of periostin in breast cancer cells[J]. Int J Oncol,2017,51(4):1300-1310.
- [25] KIM Y J,WILSON D M 3RD. Overview of base excision repair biochemistry[J]. Curr Mol Pharmacol,2012,5(1):3-13.
- [26] ANNA K R,HILLUKKALA T,VAARA M, et al. DNA polymerase ϵ associates with the elongating form of RNA polymerase II and nascent transcripts[J]. Febs J,2010,273(24):5535-5549.
- [27] GAO L,JIANG T,YAO X, et al. TREM2 and the progression of Alzheimer's disease[J]. Curr Neurovasc Res,2017,14(2):177.
- [28] BUCHOLTZ N,DEMUTH I. DNA-repair in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease[J]. DNA Repair,2013,12(10):811-816.
- [29] CHURCH D N,BRIGGS S E W,PALLES C, et al. DNA polymerase ϵ and δ exonuclease domain mutations in endometrial cancer [J]. Hum Mol Genet,2013,22(14):2820-2828.
- [30] KORONA D A,LECOMPTE K G,PURSELL Z F. The

- [2] LI J S,SUN G W,WEI X Y, et al. Expression of periostin and its clinicopathological relevance in gastric cancer[J]. World J Gastroenterol,2007,13(39):5261-5266.
- [3] MURAKAMI D,TAKAMORI S,KAWAHARA A, et al. Periostin expression in non-small cell lung cancer:clinical significance[J]. Kurume Med J,2018,64(1/2):13-20.
- [4] SUNG P L,JAN Y H,LIN S C, et al. Periostin in tumor microenvironment is associated with poor prognosis and platinum resistance in epithelial ovarian carcinoma [J]. Oncotarget,2016,7(4):4036-4047.
- [5] MINO M,KANNO K,OKIMO K, et al. Periostin promotes malignant potential by induction of epithelial-mesenchymal transition in intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. Hepatol Commun,2017,1(10):1099-1109.
- [6] LIU Y,LI F,GAO F, et al. Role of microenvironmental periostin in pancreatic cancer progression[J]. Oncotarget,2016,8(52):89552-89565.
- [7] BAO S,OUYANG G,BAI X, et al. Periostin potently promotes metastatic growth of colon cancer by augmenting cell survival via the Akt/PKB pathway[J]. Cancer Cell,2004,5(4):329-339.
- [8] YANG K L,YANG S H,LIANG W Y, et al. Carcinoembryonic antigen(CEA)level,CEA ratio,and treatment outcome of rectal cancer patients receiving pre-operative chemoradiation and surgery[J]. Radiat Oncol,2013,8(1):43.
- [9] YANG K M,PARK I J,KIM C W, et al. The prognostic significance and treatment modality for elevated pre- and postoperative serum CEA in colorectal cancer patients [J]. Ann Surg Treat Res,2016,91(4):165-171.
- [10] THOMAS D S,FOURKALA E O,APOSTOLIDOU S, et al. Evaluation of serum CEA,CYFRA21-1 and CA125 for the early detection of colorectal cancer using longitudinal preclinical samples[J]. Br J Cancer,2015,113(2):268-274.

(收稿日期:2019-04-18 修回日期:2019-06-30)

(上接第 2793 页)

- high fidelity and unique error signature of human DNA polymerase ϵ [J]. Nucleic Acids Res,2011,39(5):1763-1773.
- [31] HENNINGER E E,PURSELL Z F. DNA polymerase ϵ and its roles in genome stability. [J]. Iubmb Life,2014,66(5):339-351.
- [32] 黄茜,张声. POLE 突变在肿瘤发生发展中的作用[J]. 临床与病理杂志,2015,35(12):2173-2179.
- [33] BELLONE S,BIGNOTTI E,LONARDI S, et al. Polymerase ϵ (POLE) ultra-mutation in uterine tumors correlates with T lymphocyte infiltration and increased resistance to platinum-based chemotherapy in vitro[J]. Gynecol Oncol,2016,144(1):146-152.
- [34] PARKASH V,KULKARNI Y,TER BEEK J, et al. Structural consequence of the most frequently recurring cancer-associated substitution in DNA polymerase ϵ [J]. Nat Commun,2019,10(1):373.

(收稿日期:2019-04-08 修回日期:2019-06-20)