

低功率激光对Beagle犬胫骨种植体周骨愈合的影响**

范 芹¹, 徐世同², 刘建国¹, 吕 聪³

Effect of low-level laser on the healing of bone tissues around the implant in tibia of Beagle dogs

Fan Qin¹, Xu Shi-tong², Liu Jian-guo¹, Lü Cong³

文章亮点:

实验发现低功率氦氖激光局部照射能显著促进种植体周骨组织早期愈合及其改建成熟, 同时增加种植体骨结合面积。

Abstract

BACKGROUND: There is no definitive conclusion for the effect of low-level laser irradiation on the healing and osseointegration of bone tissues around the implant.

OBJECTIVE: To investigate the effect of low-level He-Ne laser irradiation on the healing of bone tissues around the implant.

METHODS: Thirty-six implants were randomly divided into three groups and planted into both sides of tibia of six Beagle dogs. The dogs were received low-level He-Ne laser irradiation for 1 and 2 weeks, but the dogs in the control group did not receive laser irradiation. Two dogs were randomly euthanized at 4, 8 and 12 weeks respectively.

RESULTS AND CONCLUSION: Methylene blue-acid fuchsin staining showed that the healing degrees of the bone tissue around the implant were higher by laser irradiation. Bone histomorphome showed that the bone-implant contact ratio was gradually increased in a time-depend manner; at the same time points, the bone-implant contact ratio was highest in the 2-week irradiation group, and followed by 1-week irradiation group. The results revealed that the locally low-level He-Ne laser irradiation could promote the healing of bone tissue around the implant and increase the degree of osseointegration.

Fan Q, Xu ST, Liu JG, Lü C. Effect of low-level laser on the healing of bone tissues around the implant in tibia of Beagle dogs. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(30): 5581-5585. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 低功率激光照射对种植体周骨愈合及骨结合的影响尚无确切的结论。

目的: 探讨低功率氦氖激光局部照射对骨内种植体周骨愈合的影响。

方法: 取 6 只 Beagle 犬, 每只犬两侧胫骨分别植入 3 枚种植体, 植入后分别采用低功率氦氖激光局部照射 1 周, 2 周或不照射。分别于第 4, 8, 12 周随机处死 2 只 Beagle 犬取材。

结果与结论: 亚甲基蓝-酸性品红染色显示, 给予低功率氦氖激光局部照射的种植体周骨组织愈合优于未照射者。骨形态计量学分析结果显示, 随着种植体植入时间的延长, 种植体-骨结合率逐渐增高; 在相同时间点, 种植体-骨结合率以照射 2 周组最高, 照射 1 周组次之。提示低功率氦氖激光局部照射能显著促进种植体周骨组织愈合及其改建成熟, 同时增加种植体骨结合面积。

关键词: 低功率激光; 种植体; 骨形态计量学; 骨愈合; 骨结合

缩略语: 种植体-骨结合率: bone-implant contact, BIC; 低功率激光治疗: low-level-laser-therapy, LLLT

范芹, 徐世同, 刘建国, 吕聪. 低功率激光对 Beagle 犬胫骨种植体周骨愈合的影响[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(30):5581-5585. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

激光已被广泛应用于临床和牙科领域的治疗, 常用的低功率激光有镓铝砷激光, 氦氖激

光。低功率激光已在缓解疼痛、创伤、神经损伤、骨缺损方面取得了较好的疗效。但其目前用于口腔种植领域的研究极少。本实验采用低功率激光照射局部, 通过制作带种植体的不脱钙组织学切片观察种植体周围骨愈合的情况, 探索

¹Department of Oral Implantology, Stomatological Hospital Affiliated to Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China;
²Affiliated Stomatological Hospital of Southern Medical University, Implant Center of Guangdong Provincial Stomatological Hospital, Guangzhou 510280, Guangdong Province, China;
³Yantai Stomatological Hospital, Yantai 264001, Shandong Province, China

Fan Qin★, Master, Lecturer, Department of Oral Implantology, Stomatological Hospital Affiliated to Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China
fanqin.12345@163.com

Corresponding author: Xu Shi-tong, Master, Chief physician, Affiliated Stomatological Hospital of Southern Medical University, Implant Center of Guangdong Provincial Stomatological Hospital, Guangzhou 510280, Guangdong Province, China
xushitong621016@126.com

Supported by: Zhuohai Science and Technology Key Project in Guangzhou City, No.2007-Y-005*

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2012.30.015

Received: 2011-12-09
Accepted: 2012-04-25

¹ 遵义医学院附属口腔医院口腔种植科, 贵州省遵义市 563000; ² 南方医科大学附属医院口腔种植中心, 广东省广州市 510280; ³ 烟台口腔医院, 山东省烟台市 264001

范芹★, 女, 1976年生, 贵州省湄潭县人, 土家族, 2002年遵义医学院毕业, 硕士, 讲师, 主要从事口腔种植骨缺损修复的研究。
fanqin.12345@163.com

通讯作者: 徐世同, 硕士, 主任医师, 南方医科大学附属口腔医院·广东省口腔医院种植中心, 广东省广州市 510280
xushitong621016@126.com

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 2095-4344 (2012)30-05581-05

收稿日期: 2011-12-09
修回日期: 2012-04-25
(20111125004/WLM · C)

低功率激光照射能否促进种植体早期骨愈合及种植体周骨成熟。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 于2008-08/2009-01在中山大学动物实验中心和广东省口腔医院实验室完成。

材料:

实验动物: 健康9~10月龄成年国际标准级实验用Beagle犬6只, 雌雄各半, 体质量10.0~11.0 kg, 由广东省佛山市南海区科金实验动物科技有限公司提供, 实验动物质量合格许可证号: SCXK(粤)2003-0006; 质量合格证明编号: 0035516; 使用许可证号: SYXK(粤)2007-0081。实验动物喂养委托给中山大学实验动物中心。

纯钛种植体: BLB纯钛种植体购自北京莱顿生物材料有限公司, 直径3.3 mm, 长8 mm圆柱状。

方法:

种植体植入: Beagle犬6只圈养2周后, 禁食12 h, 称体质量, 麻醉后, 于Beagle犬每侧胫骨距近膝关节端3~7 cm范围内植入3枚种植体, 种植体间隔2 cm, 共36枚, 植入部分为羟基磷灰石涂层, 初期稳定性好, 将种植体位置标记于对应体表, 缝合伤口。术后每只犬立即注射盐酸青霉素 8×10^5 U, 连续注射5 d。

实验分组及激光照射: 植入后立即将每侧3枚种植体随机分为3组: 对照组、照射1周组、照射2周组, 分别采用广州市激光技术应用研究所有限公司生产的低功率HN-1000型氩氟激光治疗机照射种植体对应体表0, 1, 2周。照射波长为632.8 nm, 功率为35 mW, 频率为 (50 ± 1) Hz, 光纤头距离体表3 cm, 光斑直径为1.2 cm, 1次/d, 每次照射20 min。

标本的制备: 植入后4, 8, 12周麻醉处死动物, 每次处死2只, 制取带种植体的胫骨标本。以体积分数4%甲醛(pH 7.2)固定, 梯度乙醇脱水, 树脂包埋, 经德国EXAKT300CP切片机切取200~300 μ m厚切片, 然后于EXAKT400CS磨片机以800目、1 200目、2 500目水砂纸将切

片磨至10~15 μ m厚, 最后以4 000目水砂纸抛光组织表面。

亚甲基蓝-酸性品红染色: 磨片用亚甲基蓝染液60℃水浴染色15 min, 滤纸吸干染液; 60℃蒸馏水漂洗, 干燥; 酸性品红染液染色5 min, 滤纸吸干染液; 体积分数95%, 100%乙醇脱水, 二甲苯透明, 树脂封固, 显微镜下观察。

骨形态计量学分析: 将磨片置于DM143数码相机视显微镜下观察并拍照, 再置于倒置相差显微镜下进行组织学观察, 采用Motic image pro图像处理软件在半自动数字化图像分析仪下分析骨磨片, 在4×10倍图像下进行实时测量新生骨与种植体接触面的总长度及埋入骨组织中种植体的总长度, 利用公式计算出各组的种植体-骨结合率(bone-implant contact, BIC)。

BIC=新生骨与种植体接触面的总长度/埋入骨组织中的种植体的总长度×100%

主要观察指标: 种植体植入后骨组织愈合情况及骨形态计量学指标的改变。

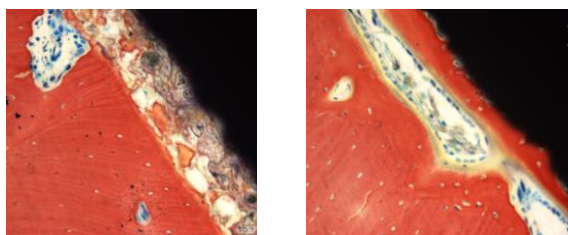
统计学分析: 应用SPSS 11.5统计分析软件进行统计学处理, 结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析进行组间比较, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 实验动物数量分析 实验共纳入6只犬, 均进入结果分析。

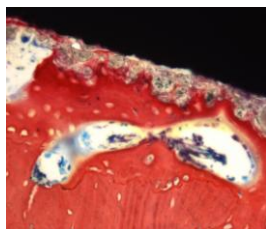
2.2 低功率激光对种植体周骨组织愈合的影响

植入4周: 对照组种植体与骨界面含较多胶原组织、类骨质, 周边骨小梁少而疏松; 种植体表面未见成骨现象; 骨髓腔内可见少量成骨细胞, 排列紊乱, 分泌类骨质较少; 照射1, 2周组种植体与皮质骨接触区可见新生骨组织较多较致密, 形成新骨带, 新生骨组织与原板层骨界限明显, 与种植体结合较对照组多; 种植体表面出现成骨现象; 骨髓腔内可见较多成骨细胞, 排列整齐, 细胞核较大, 外侧见类骨质带。照射2周组骨结合最多, 骨髓腔内可见成骨细胞排列紧密, 部分呈簇状, 细胞核大, 外侧形成较宽类骨质带, 见图1。



a: Control group

b: 1-week irradiation group

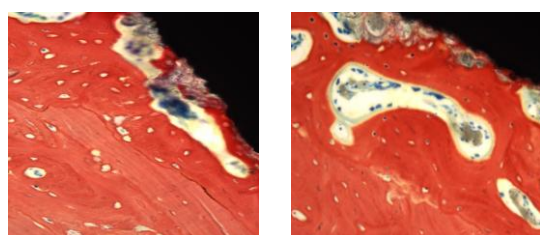


c: 2-week irradiation group

Figure 1 Healing of bone tissues around the implant at 4 wk after implantation (Methylene blue-acid fuchsin staining, $\times 400$)

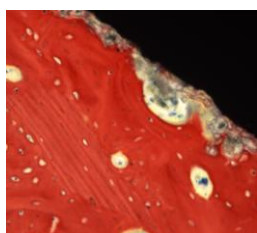
图1 种植体植入4周种植体周骨组织的愈合情况(亚甲基蓝-酸性品红染色, $\times 400$)

植入8周: 对照组种植体窝皮质骨壁可见较多新生骨组织, 形成新骨带, 与种植体骨结合仍较少, 欠紧密; 种植体表面开始出现成骨现象; 骨髓腔内可见少量成骨细胞, 排列紊乱, 分泌类骨质较少。照射1, 2周组种植体与皮质骨接触区可见新生骨组织多而致密, 新生骨组织与原板层骨界限模糊, 与种植体结合较多而紧密; 骨髓腔变小, 成骨细胞较少, 外侧见类骨质带较窄。照射2周组大部分界限消失, 部分胶原纤维呈同心圆排列, 见图2。



a: Control group

b: 1-week irradiation group

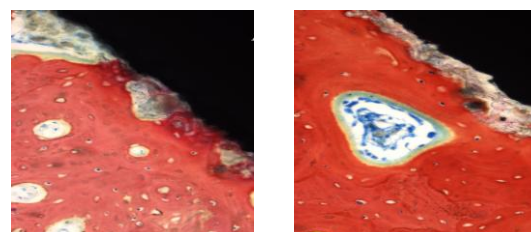


c: 2-week irradiation group

Figure 2 Healing of bone tissues around the implant at 8 wk after implantation (Methylene blue-acid fuchsin staining, $\times 400$)

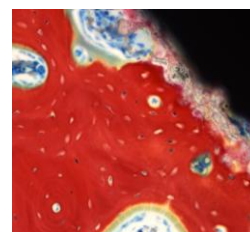
图2 种植体植入8周种植体周骨组织的愈合情况(亚甲基蓝-酸性品红染色, $\times 400$)

植入12周: 对照组新生骨与原板层骨间界限模糊, 照射1, 2周组界限大部分消失, 种植体周围骨组织成熟, 可见板层骨和哈弗氏管结构; 照射2周组种植体界面出现较窄的新生骨带, 新生骨与复合骨组织间界限明显, 复合骨内胶原纤维呈层状及同心圆排列, 不如原板层骨规则, 大部分骨髓腔消失, 见图3。



a: Control group

b: 1-week irradiation group

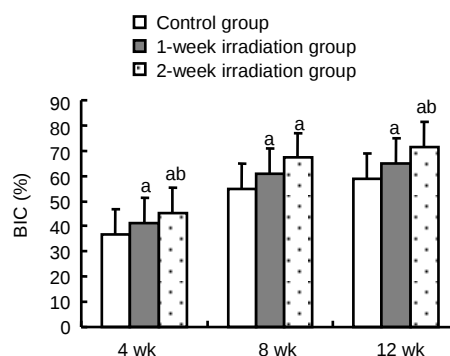


c: 2-week irradiation group

Figure 3 Healing of bone tissues around the implant at 12 wk after implantation (Methylene blue-acid fuchsin staining, $\times 400$)

图3 种植体植入12周种植体周骨组织的愈合情况(亚甲基蓝-酸性品红染色, $\times 400$)

2.3 低功率激光对BIC的影响 骨形态计量学分析结果显示, 随着植入时间的延长, 各组BIC均逐渐增高; 在相同时间点, BIC为: 对照组<照射1周组<照射2周组, 除植入8周时照射1周组与照射2周组间差异无显著性意义外, 其余各时间点各组间差异均有显著性意义($P < 0.05$), 见图4。



^a $P < 0.01$, vs. control group; ^b $P < 0.01$, vs. 1-week irradiation group

Figure 4 Comparison of the bone-implant contact (BIC) at different time points in each group

图4 不同时间点各组种植体-骨结合率的比较

3 讨论

低功率激光治疗(low-level-laser-therapy, LLLT)属于一种物理因素刺激,低功率激光是强有力的生理刺激器^[1],以低功率氦氖激光的生物刺激作用最强^[2],不仅对软组织愈合有促进作用,对促进骨等硬组织愈合也有明显的效果^[3-5]。近年已有报道证实LLLT具有光生物调节作用,可促进动物模型的实验性骨缺损修复,且有效促进了缺损区成骨细胞、成纤维细胞及未分化的骨原细胞增殖^[6-7],而且具有便于操作,成本低等优点,具有良好的应用前景,已被广泛应用于临床。

氦氖激光在穿透组织0.5~2.0 cm之后,光强仍大于0.01 J/cm²,可有效调整细胞功能,因此可用体表照射方式来治疗^[8]。实验采用种植体周激光局部照射方式具有可操作性、可重复性、对周围组织无损伤性等特点。目前低功率激光照射治疗口腔疾病已用于临床研究^[9-12],Makhlouf等^[13]发现根面平整结合低功率激光照射治疗能有效缓解慢性牙周炎,增强牙周骨组织密度,减少牙周探诊深度。故将其应用于口腔种植领域临床有一定可能性。

种植体周围骨愈合是一个动态的血管生成、骨生成和机体免疫激活过程,它与骨损伤修复类似。各种细胞、生长因子及细胞因子均参与整个骨整合过程,包括炎症反应、血管生成、骨生成以及最后的骨改建过程^[14]。Campanha等^[15]的动物实验结果显示低功率激光治疗可增加种植体取出扭矩,从而推测低功率激光照射治疗可增加松质骨内种植体骨结合。

Maluf等^[16]的研究结果显示,低功率激光照射后种植体取出时扭矩较对照组大,说明种植体与骨结合的程度较紧密。Khadra等^[17]观察了LLLT对兔胫骨骨种植体骨结合的作用,抗拉实验和能量激光散射X射线显微分析证实了LLLT对钛种植体的骨结合作用明显,提示这种方法可能缩短种植体的愈合过程,推测是通过加速骨愈合来完成的。Javadieh等^[18]研究了LLLT对链脲霉素诱导的糖尿病鼠的局部胫骨截骨的愈合作用,结果发现LLLT促进了糖尿病鼠的骨修复,与对照组相比,有更高的抗弯刚度和最大受力。但他们的研究只是从体现种植体与骨结合的程度去推测低功率激光对种植体周围骨组织愈合及骨结合有促进作用。实验采用不脱钙的种植体骨磨片从骨形态计量学角度直接观察低功率激光对种植体周围骨组织愈合及种植体与骨结合状况更直接,更可靠。

实验观察到,种植体植入4周后,照射1,2周组与对照组相比种植体与皮质骨接触区可见较多新生骨组

织生长,骨髓腔内可见较多成骨细胞且排列整齐,细胞核较大,分泌类骨质较多。说明低功率氦氖激光局部照射早期能促进成骨细胞、骨原细胞增殖,分化,且可以调节骨细胞功能,促进其新陈代谢,从而促进种植体周新生骨组织形成。同时种植体骨结合率也较对照组高,高达50%以上,这更直接的说明低功率氦氖激光局部照射能加速早期种植体与周围骨组织结合。虽然低功率激光照射对增加种植体早期稳定性有一定的作用,但是否可以减少种植体早期失败率需进一步研究。8周后,照射1,2周组种植体界面骨组织可见胶原纤维呈层状排列,骨髓腔变小,类骨质较少。表明低功率激光不仅可以促进种植体周骨组织生成,还可以促进其改建成熟。Shimizu等^[19]研究也发现低能量激光照射能刺激骨结节形成。12周时,对照组新生骨与基板层骨间界限模糊,照射1,2周组界限大部分消失,种植体周围骨组织成熟,可见板层骨和哈弗氏管结构。说明低功率激光照射加速了种植体周骨小梁的改建,促进骨组织成熟。

由上述结果推测低功率激光促进种植体界面骨愈合机制可能与促进骨折愈合机制相同。首先低功率激光照射可能加速成骨细胞黏附于种植体表面,且促进种植体周成骨细胞及附着在种植体表面成骨细胞增殖,通过双向成骨加快种植体骨愈合与骨结合。实验结果显示照射1,2周组成骨细胞较对照组明显增多,且细胞外基质明显增多。Grassi等^[20]研究也显示低功率激光照射能促进附着在钛及二氧化锆表面的人成骨样细胞及骨原细胞分化增殖,增强碱性磷酸酶活性。其次,低功率激光照射可促进种植体周成骨细胞活性增加。有学者研究发现,波长为632.8 nm、强度为5 J/cm²的氦氖激光照射可使骨髓细胞增生活跃^[21]。Pugliese等^[22]的实验结果也表明,强度为4 J/cm²的低功率激光可促进胶原沉积和肌纤维母细胞增生,尤其在照射后3 d,胶原及弹性纤维生长比对照组明显增加。激光照射下的骨折区,碱性磷酸酶活动度增加,成骨细胞内DNA、蛋白质及碱性磷酸酶的合成加快^[23]。此外,低功率激光照射可能增加种植体周成骨细胞成骨因子的表达。Kim等^[24]研究发现,在牙种植体骨整合期LLLT影响骨组织中骨保护素、细胞核因子 κ B受体活化因子配体和细胞核因子 κ B受体活化因子的表达,且骨代谢的活性和骨细胞的活性均增加。Saygun等^[25]研究显示低功率激光照射促进成骨细胞碱性成纤维细胞生长因子、胰岛素样生长因子1及其受体的表达。而碱性成纤维细胞生长因子具有良好的骨诱导作用,转碱性成纤维细胞生长因子基因的组织工程骨可作为新移植骨治疗骨缺损。Grassi等^[20]研究还发现附着在钛

及二氧化锆表面的人成骨样细胞及骨原细胞特异性转录因子Runx2、Osterix表达增强, 而Runx2、Osterix在成骨细胞发育分化和骨形成过程中起着至关重要的作用。

综上所述, 低功率氦氖激光照射种植体对应体表不仅有效促进种植体周围骨早期愈合, 并促进骨组织改建成熟, 且在早期种植体骨结合率达到临床要求, 增加早期稳定性, 这对缩短种植义齿疗程和提高种植体成功率均有一定作用, 对临床有一定的指导意义, 且方法简单, 价格低廉, 易于推广。但低功率激光照射是否能增强种植体周围骨的抗力强度, 适宜早期负重需要进一步的研究。如需将低功率氦氖激光应用于口腔种植临床还需要进一步的研究探讨其机制和模式。

致谢: 感谢广东省口腔医院种植中心及实验室全体人员、中山大学实验动物中心人员、解放军总医院口腔杂志编辑部王东胜老师在实验过程中的帮助!

4 参考文献

- [1] Chen M, Luo QM. Jiguang Shengwu Xuebao. 2002;1(11):55-57.
陈敏, 骆清铭. 弱激光的生物效应及对红细胞变形性的改善作用[J]. 激光生物学报, 2002, 1(11):55-57.
- [2] Cheng JW, Zhou YC. Jiguang Zazhi. 1990;1(11):34-37.
陈纪伟, 周岳城. 低功率激光促进组织生长修复的研究进展[J]. 激光杂志, 1990, 1(11):34-37.
- [3] Nunez SC, Nogueira GE, Ribeiro MS, et al. He-Ne laser effects on blood microcirculation during wound healing: a method of in vivo study through laser Doppler flowmetry. Surg Med. 2004;35(5):363-368.
- [4] Pyezek M, Sopala M, Dabrowski Z. Effect of low-energy laser power on the bone marrow of the rat. Folia Biol (Krakow). 1994;42(3-4):151-156.
- [5] Pugliese LS, Medrado AP, Reis SR, et al. The influence of low-level laser therapy on biomodulation of collagen and elastic fibers. Pesqui Odontol Bras. 2003;17(4):307-313.
- [6] Miloro M, Miller JJ, Stoner JA. Low-level laser effect on mandibular distraction osteogenesis. J Oral Maxillofac Surg. 2007;65(2):168-176.
- [7] Re Poppi R, Da Silva AL, Nacer RS, et al. Evaluation of the osteogenic effect of low-level laser therapy (808 nm and 660 nm) on bone defects induced in the femurs of female rats submitted to ovariectomy. Lasers Med Sci. 2011;26(4):515-522.
- [8] Qiu RX, Zhu LL. Yingyong Jiguang. 2002;4(22):439-440.
仇荣星, 朱丽丽. 低功率激光在耳鼻喉疾病中的应用[J]. 应用激光, 2002, 4(22):439-440.
- [9] Obradović R, Kesić L, Mihailović D, et al. A histological evaluation of a low-level laser therapy as an adjunct to periodontal therapy in patients with diabetes mellitus. Lasers Med Sci. in press.
- [10] Petrucci A, Sgolastra F, Gatto R, et al. Effectiveness of low-level laser therapy in temporomandibular disorders: a systematic review and meta-analysis. J Orofac Pain. 2011;25(4):298-307.
- [11] Orhan K, Aksoy U, Can-Karabulut DC, et al. Low-level laser therapy of dentin hypersensitivity: a short-term clinical trial. Lasers Med Sci. 2011;26(5):591-598.
- [12] Kan B, Altay MA, Tasar F, et al. Low-level laser therapy supported teeth extractions of two patients receiving IV zolendronate. Lasers Med Sci. 2011;26(5):569-575.
- [13] Makhoul M, Dahaba MM, Tunér J, et al. Effect of adjunctive low level laser therapy (LLLT) on nonsurgical treatment of chronic periodontitis. Photomed Laser Surg. In press.
- [14] Dimitriou R, Babis GC. Biomaterial osseointegration enhancement with biophysical stimulation. J Musculoskelet Neuronal Interact. 2007;7(3):253-265.
- [15] Campanha BP, Gallina C, Geremia T, et al. Low-level laser therapy for implants without initial stability. Photomed Laser Surg. 2010;28(3):365-369.
- [16] Maluf AP, Maluf RP, Brito Cda R, et al. Mechanical evaluation of the influence of low-level laser therapy in secondary stability of implants in mice shinbones. Lasers Med Sci. 2010;25(5):693-698.
- [17] Khadra M, R nold HJ, Lyngstadaas SP, et al. Low level laser therapy stimulates bone-implant interaction: An experimental study in rabbits. Clin Oral Impl Res. 2004;15(3):325-332.
- [18] Javadieh F, Bayat M, Abdi S, et al. The effects of infrared low-level laser therapy on healing of partial osteotomy of tibia in streptozotocin-induced diabetic rats. Photomed Laser Surg. 2009;27(4):641-646.
- [19] Shimizu N, Mayahara K, Kiyosaki T, et al. Low-intensity laser irradiation stimulates bone nodule formation via insulin-like growth factor-I expression in rat calvarial cells. Lasers Surg Med. 2007;39(6):551-559.
- [20] Grassi FR, Ciccolella F, D'Apolito G. Effect of low-level laser irradiation on osteoblast proliferation and bone formation. J Biol Regul Homeost Agents. 2011;25(4):603-614.
- [21] Hirata S, Kitamura C, Fukushima H, et al. Low-level laser irradiation enhances BMP-induced osteoblast differentiation by stimulating the BMP/Smad signaling pathway. J Cell Biochem. 2010;111(6):1445-1452.
- [22] Pires Oliveira DA, de Oliveira RF, Zangaro RA, et al. Evaluation of low-level laser therapy of osteoblastic cells. Photomed Laser Surg. 2008;26(4):401-404.
- [23] Yang S, Leong KF, Du Z, et al. The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part II. Rapid prototyping techniques. Tissue Eng. 2002;8(1):1-11.
- [24] Kim YD, Kim SS, H wang DS, et al. Effect of low level laser treatment after installation of dental titanium implant immunohistochemical study of RANKL, RANK, OPG: an experimental study in rats. Lasers Surg Med. 2007;39(5):441-450.
- [25] Saygun I, Nizam N, Ural AU, et al. Low-level laser irradiation affects the release of basic fibroblast growth factor (bFGF), insulin-like growth factor-1 (IGF-1), and receptor of IGF-1 (IGFBP3) from osteoblasts. Photomed Laser Surg. In press.

来自本文课题的更多信息——

基金声明: 广州市海珠区科技重点攻关项目(编号: 2007-Y-005)。