

系统性红斑狼疮患者骨髓基质细胞因子表达及对免疫功能的影响

邹外一¹, 童秀珍¹, 蓝惠霞¹, 冯炼强², 彭辉², 尹培达³, 罗绍凯¹

(中山大学附属第一医院 1. 血液科, 3. 风湿科, 2. 中山大学北校区免疫教研室, 广东 广州 510080)

摘要: 【目的】研究系统性红斑狼疮(SLE)患者骨髓基质细胞因子表达情况,及其对外周血淋巴细胞增殖反应的影响,探讨SLE的发病机制。【方法】采用ELISA方法观察SLE患者骨髓基质细胞培养液IL-6、MIP-1、IFN-、TGF-等细胞因子的表达,采用四甲基偶氮唑盐比色法(MTT),观察骨髓基质细胞培养上清液对外周血淋巴细胞增殖反应的影响。【结果】SLE患者骨髓基质细胞培养液IL-6、MIP-1、IFN-浓度明显增高,TGF-则降低,3种细胞因子与SLEDAI评分相关;正常人及SLE患者骨髓基质细胞上清液均对刀豆蛋白A诱导的外周血淋巴细胞增殖有明显的抑制作用,而SLE患者的上清液抑制作用明显低于正常人;在分别加入抗MIP-1、抗IFN-单抗后,骨髓基质细胞上清液对外周血淋巴细胞增殖的抑制作用明显增强,而加入抗TGF-单抗后,抑制作用明显减弱。【结论】SLE患者骨髓基质细胞对外周血淋巴细胞增殖的抑制作用较弱,与其部分细胞因子异常表达有关,骨髓基质细胞可能与SLE的发病、发展有一定关系。

关键词: 红斑狼疮,系统性;骨髓,基质细胞;细胞因子;淋巴细胞

中图分类号: R593.24

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2007)02-0170-05

Expression of Cytokines of Bone Marrow Stromal Cells and Effect on Peripheral Lymphocyte Proliferation in Patients with Systemic Lupus Erythematosus

ZOU Wai-yi¹, TONG Xiu-zhen¹, LAN Hui-xia¹, FENG Lian-qiang², PENG Hui², YIN Pei-da³, LUO Shao-kai¹

(1. Department of Hematology, The First Affiliated Hospital, 2. Department of Immunology, 3. Department of Rheumatology, The First Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: 【Objective】To investigate expression of cytokines of bone marrow stromal cells and their effect on peripheral lymphocyte proliferation in the patients with systemic lupus erythematosus (SLE), and explore the pathogenesis of SLE. 【Methods】We detected some cytokines of SLE patients by ELISA, and determined the effect on peripheral lymphocyte proliferation of bone marrow stromal cells and cell culture supernatants, and the roles of IL-6, MIP-1, IFN-, TGF- involved in this process by MTT assay. 【Results】Expression of IL-6 in bone marrow stromal cell culture suspension of SLE was higher than that in the control group, MIP-1 and IFN- in the SLE patients were obviously higher than those in the control group, TGF- was on the opposite. The later three cytokines were linear correlated to SLEDAI score. Both supernatant of the normal bone-marrow stromal cell and of SLE patients showed significant suppressing effect on the peripheral lymph cell proliferation, and the suppressing effect of the SLE patients was significantly weaker than normal people. Adding anti-MIP-1 or anti-IFN-, the suppression got much stronger; but anti-TGF- was on the opposite. 【Conclusions】Bone marrow stromal cells of SLE patients was deficient in abnormal secretion of cytokines, and its suppressing effect on proliferation of peripheral lymphocytes of the SLE patients is significantly weaker than normal people, that contributed to the pathogenesis of SLE.

Key words: systemic lupus erythematosus; bone marrow stromal cell; cytokines; lymphocyte

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2007, 28(2):170-174]

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus,

SLE)目前病因尚未完全阐明,一些研究发现部分

收稿日期: 2006-10-25

基金项目: 广东省卫生厅基金资助项目(A2003180)

作者简介: 邹外一(1970-),男,广东梅州人,博士,主治医师, E-mail: waiyizou@medmail.com.cn; 童秀珍,副教授,通讯作者。

SLE造血干/祖细胞存在异常^[1], 仅此并不能完全解释 SLE 的发病, 引起干/祖细胞异常的机制也未明确。骨髓基质细胞分泌细胞因子除参与造血外也可参与免疫炎症反应, 对免疫活性淋巴细胞的前体细胞起重要的作用。除干/祖细胞异常外, SLE 患者的骨髓造血微环境是否存在异常? 相关文献报道较少。我们采用双抗体夹心 ELISA 及四甲基偶氮唑盐 (3-4,5-dimethylthiazolyl-2,2,5-diphenyl tetrazolium, MTT) 比色法, 观察 SLE 患者骨髓造血微环境中的基质细胞培养上清液几种细胞因子的表达情况及其对淋巴细胞增殖反应的影响, 探讨 SLE 患者骨髓微环境是否有助于疾病发展或复发, 进一步阐明 SLE 发病机制, 并为探索新的治疗措施提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

所有病例来自中山大学附属第一医院 2004 年 3 月至 2005 年 4 月住院病人, 正常骨髓 15 例, 男性 2 例, 女性 13 例, 年龄 21~52 岁, 中位年龄 32 岁, 取自心胸外科患者手术切除的肋骨; 原发性血小板减少性紫癜或/和自身免疫性溶血性贫血 15 例, 男性 2 例, 女性 13 例, 年龄 17~38 岁, 中位年龄 25 岁; SLE 30 例均符合美国风湿学会 SLE 诊断标准^[2], SLE 活动指数评分^[2](SLEDAI) 5~25 分, 平均 12.6 分, SLEDAI>9 分为活动组, 共 18 例, 男性 2 例, 女性 16 例, 年龄 13~53 岁, 中位年龄 31 岁, SLEDAI 11~25, 平均 16.1; SLEDAI ≤9 分为非活动组, 共 12 例, 男性 2 例, 女性 10 例, 年龄 15~54 岁, 中位年龄 24 岁, SLEDAI 5~9, 平均 7.3。

1.2 方法

1.2.1 骨髓单个核细胞的制备 所有病例均取髂前上棘或髂后上棘, 用含肝素的注射器抽取骨髓 12~15 mL 置于含肝素 40 U/mL 的无菌试管, 正常对照组肋骨用咬骨钳挤出骨髓成分, 用 1640 液彻底冲洗骨髓腔, 将骨髓细胞收集在灭菌离心管内, 反复冲打使骨髓细胞充分分散, 加等量 1640 液稀释, 叠加于淋巴细胞分离液上, 2 000 r/min (r=15 cm), 离心 20 min, 吸取单个核细胞层, 用 1640 液洗涤 2 次, 然后配制成骨髓单个核细胞悬液, 计数调整细胞数为 2×10^6 cells/mL。

1.2.2 骨髓基质细胞层建立 液体培养体系中含

200 mL/L 胎牛血清, IMDM、青霉素 100 U/mL, 链霉素 100 U/mL, 氢化可的松 10^{-6} mmol/L, 骨髓单个核细胞 5×10^5 cells/mL, 置于 6 孔培养板中, 每孔 4 mL, 每份样本设置 3 个复孔, 37℃、饱和湿度、体积分数 5%CO₂ 条件下培养, 3 d 后弃去全部上清及悬浮细胞, 补充等量的上述体系培养液(不含细胞), 之后每周半量换液 1 次, 第 3~4 周当贴壁细胞铺满约 85%~90% 培养板底时, 吸弃上清, 用 PBS 洗涤 2 次, 加等量上述体系培养液, 添加终浓度为 5 μg/mL PHA-P 刺激, 继续培养 3~4 d, 收集上清, 保留待检。

1.2.3 骨髓基质细胞培养上清液细胞因子测定 采用固相双抗体夹心 ELISA 法测定细胞培养上清液白介素-6 (Interleukine-6, IL-6)、干细胞因子 (Stem cell factor, SCF)、基质细胞衍生因子-1 (Stromal cell-derived factor-1, SDF-1)、干扰素 (Interferon-γ, IFN-γ)、转化生长因子 (Transforming growth factor, TGF-β) 及巨噬细胞炎症蛋白-1 (Macrophage inflammation protein-1, MIP-1) 浓度, 严格按说明书操作。用 Bio-Tek Elix800 型酶标仪测定 A 值。试剂盒标准曲线相关系数在 0.99 以上。

1.2.4 骨髓基质细胞上清液对淋巴细胞增殖的影响 取正常人外周血 5 mL, 先用等量缓冲液稀释, 然后缓慢置于等量的淋巴细胞分离液上, 2 000 r/min (r=15 cm), 离心 20 min, 分离吸取单个核细胞层, 用 1640 液洗涤 2 次, 然后配制成外周血单个核细胞悬液, 计数调整细胞数为 2×10^5 /mL。使用 96 孔培养板, 每孔加细胞悬液 100 μL, 并分别加 SLE 患者或正常人骨髓基质细胞上清液 100 μL, 对照组则不加上清液, 各设 3 个复孔, 每孔加刀豆蛋白 A 至终质量浓度为 2.5 μg/mL, 37℃、饱和湿度、体积分数 5%CO₂ 培养 72 h, 各孔加 MTT (5 mg/mL) 20 μL, 继续培养 4 h, 800 r/min, 离心 20 min, 小心吸弃全部上清液, 每孔加二甲基亚砜 100 μL, 微量振荡器振荡 30 min, 使 MTT 还原产物甲胺完全溶解。酶标仪测定 540 nm 吸光度。

1.2.5 单抗对淋巴细胞增殖的影响 方法同上, SLE 患者骨髓基质细胞上清液分别加抗 IL-6 (5 μg/mL)、抗 MIP-1 (5 μg/mL)、抗 IFN-γ (5 μg/mL)、抗 TGF-β 单抗 (20 μg/mL), 余步骤同上。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件包处理, 计量资料数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组

均数的比较用 t 检验; 多组均数的比较采用单因素方差分析; 两变量之间关系采用线性相关分析。

2 结 果

2.1 SLE 患者骨髓基质细胞培养上清液细胞因子测定

SLE 患者除 IL-6 高于对照组外 ($t=3.192$, $P<0.01$), SCF、SDF-1 与对照组无异 (分别 $t=0.611$ 、

0.567 , $P>0.05$), 3 者在 SLE 活动组与非活动组则基本相近。原发性血小板减少性紫癜或溶血性贫血患者, SCF 高于对照组及 SLE 组 (分别 $t=2.555$ 、 2.287 , $P<0.05$); 负调控因子中 SLE 患者 MIP-1、IFN- γ 浓度明显高于对照组 (分别 $t=4.171$, 4.527 , $P<0.01$), TGF- β 则低于对照组 ($t=3.298$, $P<0.01$), 3 种细胞因子与 SLEDAI 评分呈线性相关, 分别 $r=0.917$ 、 0.818 、 -0.741 , $P<0.01$ (表 1)。

表 1 骨髓基质细胞培养上清液细胞因子测定

Table 1 Concentration of IL-6, SCF, SDF-1, MIP-1, IFN- γ and TGF- β in bone marrow stromal cell culture suspension (pg/mL, $\bar{x}\pm s$)

Group	n	IL-6	SCF	SDF-1	MIP-1	IFN- γ	TGF- β
Control	15	139.9 \pm 58.9	18.1 \pm 6.9	47.5 \pm 15.2	240.1 \pm 78.3	35.5 \pm 9.1	1889.1 \pm 552.8
ITP/AIHA	15	181.8 \pm 58.5 ²⁾	25.8 \pm 9.6 ¹⁾	51.7 \pm 15.3	235.4 \pm 88.2	32.9 \pm 9.3	1783.3 \pm 742.7
SLE(active)	18	211.4 \pm 52.8 ²⁾	19.3 \pm 6.1	49.4 \pm 11.8	348.7 \pm 54.2 ²⁾	56.9 \pm 15.3 ²⁾	1221.4 \pm 275.6 ²⁾
SLE(silent)	12	175.6 \pm 44.2 ²⁾	19.6 \pm 8.8	50.8 \pm 14.9	324.6 \pm 84.4 ²⁾	48.7 \pm 11.0 ²⁾	1597.8 \pm 351.9 ²⁾

Compared with control group 1) $P<0.05$, 2) $P<0.01$

2.2 骨髓基质细胞上清对刀豆蛋白 A 诱导的外周血淋巴细胞增殖的影响:

在刀豆蛋白 A 存在的情况下, 外周血淋巴细胞发生显著的增殖效应。但正常人及 SLE 患者骨髓基质细胞上清液均对刀豆蛋白 A 诱导的外周血淋巴细胞增殖有明显的抑制作用 (分别 $t=3.999$ 、 3.349 , $P<0.01$); 而 SLE 患者的抑制作用明显低于正常人 ($t=2.982$, $P<0.01$); 活动期 SLE 患者的抑制作用低于非活动期患者, 但无统计学差异 ($t=0.560$, $P>0.05$; 表 2)。

表 2 骨髓基质细胞培养上清液对淋巴细胞增殖影响

Table 2 Effect of bone marrow stromal cells culture supernatant on peripheral lymphocyte proliferation

Group	n	Culture supernatant
Control	15	0.611 \pm 0.107
Normal	15	0.357 \pm 0.116 ¹⁾
SLE	30	0.457 \pm 0.112 ¹⁾²⁾
SLE(active)	18	0.484 \pm 0.114 ¹⁾²⁾
SLE(silent)	12	0.418 \pm 0.093 ¹⁾²⁾

Compared with control group 1) $P<0.01$, Compared with normal group 2) $P<0.01$

2.3 单抗对刀豆蛋白 A 诱导的外周血淋巴细胞增殖的影响

无论正常人骨髓基质细胞上清液, 还是 SLE 患者骨髓基质细胞上清液, 在分别加入抗 MIP-1、抗 IFN- γ 单抗后, 骨髓基质细胞上清液对外周血淋巴细胞增殖的抑制作用明显增强 (分别 $t=3.122$ 、 3.950 、 2.935 、 3.618 , $P<0.01$), 加入抗 IL-6 则无差别不大 (分别 $t=0.472$ 、 0.381 , $P>0.05$); 而加入抗 TGF- β 单抗后 (分别 $t=3.505$ 、 3.171 , $P<0.01$), 则抑制作用明显减弱 (表 3)。

表 3 不同单抗对骨髓基质细胞培养上清液抑制淋巴细胞增殖作用影响

Table 3 Effect of some antibody to the suppression of bone marrow stromal cells culture supernatant on peripheral lymphocyte proliferation

Group	Normal (n=15)	SLE (n=30)
Culture supernatant	0.357 \pm 0.116	0.457 \pm 0.112
Culture supernatant +Anti-IL-6	0.322 \pm 0.102	0.430 \pm 0.113
Culture supernatant +Anti-MIP-1	0.276 \pm 0.091 ¹⁾	0.354 \pm 0.092 ²⁾
Culture supernatant +Anti-IFN- γ	0.237 \pm 0.063 ¹⁾	0.361 \pm 0.083 ²⁾
Culture supernatant +Anti-TGF- β	0.457 \pm 0.105 ¹⁾	0.558 \pm 0.143 ²⁾

Compared with normal supernatant 1) $P<0.01$, Compared with SLE supernatant 2) $P<0.01$

3 讨 论

骨髓造血微环境由骨髓基质细胞、细胞外基质、黏附分子、基质细胞分泌的各种细胞因子及血管神经等组成^[3]。其中以骨髓基质细胞最为重要,它是产生调控造血的细胞因子的主要来源之一,Dormady 等^[4]检测小鼠骨髓基质细胞培养上清中有多种细胞因子表达。本研究发现 SLE 患者骨髓基质细胞培养液 IL-6、MIP-1、IFN- γ 浓度明显增高, TGF- β 则降低, 3 种细胞因子与 SLEDAI 评分相关, IL-6 是多功能细胞因子, 参与造血、免疫和炎症反应, 是骨髓造血干细胞早期增殖与分化的重要细胞因子, 也是 T、B 淋巴细胞增殖分化以及活化的重要调节因子^[5]。在负调控因子方面, TGF-

作为双向造血调控因子, 它对各系造血干/祖细胞常常具有负调控作用, 与多种细胞因子有拮抗作用, 如 IFN- γ 、TNF- α 、IL-1 等, 而 SLE 患者上述因子均增加, 也可引起 TGF- β 降低, MIP-1 主要对粒系产生抑制。本研究结果与文献报道^[6]SLE 患者外周血 MIP-1、IFN- γ 及 TGF- β 表达改变是一致的, 说明这些因子可以反映 SLE 的活动性, Papadaki 等^[7]报道认为原发自身免疫病患者骨髓基质细胞以负调控因子, 如 TNF- α 、IFN- γ 表达增高为主, 而原发性溶血或血小板减少患者以正调控因子如 SCF、G-CSF 表达增高为主, 我们的研究结果则提示 SLE 患者骨髓基质细胞负调控细胞因子表达异常, 而正调控细胞因子中 IL-6 升高, 可能与 SLE 自身抗体破坏外周血细胞后反应性骨髓代偿增生有关。

骨髓基质细胞分泌细胞因子除参与造血外也参与免疫炎症反应, 对免疫活性淋巴细胞起重要作用^[8]。胚胎期 T 细胞及 B 细胞分别在胸腺及骨髓微环境中发育, 至表达功能性抗原识别受体阶段, T、B 细胞受体分别与微环境基质细胞表面表达的自身抗原肽 (主要组织相容性抗原复合物分子及自身抗原) 呈高亲和力结合, 引发阴性选择, 将对自身抗原产生免疫应答的 T、B 细胞克隆消除。在出生后, T 及 B 细胞仍在发育, 对自身抗原应答不成熟的 T 及 B 细胞继续施加克隆消除, 如果生后胸腺及骨髓微环境基质细胞缺陷, 则克隆消除功能障碍, 不成熟 T、B 细胞对自身抗原的应答作用不能消除, 导致自身免疫病增加。骨髓基质细胞抑

制活化的 T 淋巴细胞的扩增, 这种抑制与基质细胞分泌的可溶性细胞因子有关^[9]。也有研究^[10]认为基质细胞分泌的细胞因子可以使记忆性 T 细胞存活, 免于凋亡, IFN- γ 能诱导吞噬细胞及抗原呈递细胞上调主要组织相容性抗原复合物 Ⅱ 类分子, 增强抗原处理及提呈能力, TGF- β 则可抑制免疫应答, TGF- β 降低使淋巴细胞激活增加, 从而导致致敏 T 淋巴细胞及多种自身抗体的产生, 发生自身免疫反应^[11]。总之, 自身免疫性疾病患者骨髓造血微环境基质细胞细胞因子分泌缺陷使记忆性 T 细胞存活并激活, 同时对活化的 T 淋巴细胞扩增抑制缺失或减少, 可能导致自身免疫性疾病的发生^[12]。

我们的实验结果支持上述报道, 本研究发现, 正常人或 SLE 患者骨髓基质细胞培养上清液均对刀豆蛋白 A 诱导的外周血淋巴细胞增殖有抑制作用, 而 SLE 患者的抑制作用低于正常人, 活动期 SLE 患者的抑制作用低于非活动期患者, 表明 SLE 患者骨髓造血微环境缺陷促使淋巴细胞的增殖活化, 促进 SLE 的发生、发展。进一步研究发现, 分别加入抗 MIP-1、抗 IFN- γ 单抗后, 骨髓基质细胞上清液对外周血淋巴细胞增殖的抑制作用明显增强, 而加入抗 TGF- β 单抗后, 骨髓基质细胞上清液对外周血淋巴细胞增殖的抑制作用明显减弱, 而我们在之前的研究已发现 SLE 患者造血微环境中 MIP-1、IFN- γ 是升高的, TGF- β 是减低的, 提示 SLE 患者骨髓造血微环境细胞因子异常分泌是导致淋巴细胞存活并激活的重要原因之一, 骨髓造血微环境与 SLE 的发生、发展有着密切的关系。因此, 针对 SLE 患者骨髓基质细胞的干预措施可能有利于疾病的长期缓解。

参考文献:

- [1] JAYNE D, PASSWEG J, MARMONT A, et al. Autologous stem cell transplantation for systemic lupus erythematosus[J]. *Lupus*, 2004, 13(3): 168-176.
- [2] 童秀珍, 李娟, 邹外一, 等. 系统性红斑狼疮患者骨髓基质细胞对造血干(祖)细胞的作用[J]. *中山大学学报: 医学科学版*, 2004, 25(2): 146-149.
- [3] MINEHATA K, TAKEUCHI M, HIRABAYASHI K, et al. Oncostatin maintains the hematopoietic microenvironment and retains hematopoietic progenitors in the bone marrow[J]. *Int J Hematol*, 2006, 84(4): 319-327.

- [4] DORMADY S P, BASHAYAN O, DOUGHERTY R, et al. Immortalized multipotential mesenchymal cells and the hematopoietic microenvironment [J]. *J Hematother Stem Cell Res*, 2001, 10(1): 125- 140.
- [5] FRICK JS, ZAHIR N, MULLER M, et al. Colitogenic and non-colitogenic commensal bacteria differentially trigger DC maturation and Th cell polarization: an important role for IL-6[J]. *Eur J Immunol*, 2006, 36(6): 1537- 1547.
- [6] ROBAK E, SMOLEWSKI P, WOZNIACKA A, et al. Relationship between peripheral blood dendritic cells and cytokines involved in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus[J]. *Eur Cytokine Netw*, 2004, 15(3): 222- 230.
- [7] PAPADAKI H A, MARSH J C, ELIOPOULOS G D. Bone marrow stem cells and stromal cells in autoimmune cytopenias[J]. *Leuk Lymphoma*, 2002, 43(4): 753- 760.
- [8] 吴北燕, 黄绍良, 陈惠芹, 等. 胎肝造血期胎肝间充质干细胞的分离、培养及生物学特性[J]. *中山大学学报: 医学科学版*, 2005, 26(5): 498- 501.
- [9] GOTHERSTROM C, RINGDEN O, TAMMIK C, et al. Immunologic properties of human fetal mesenchymal stem cells [J]. *Am J Obstet gynecol*, 2004, 190(1): 239- 245.
- [10] EL-BADRI N S, MAHESHWARI A, SANBERG PR. Mesenchymal stem cells in autoimmune disease [J]. *Stem Cells Dev*, 2004, 13(5): 463- 472.
- [11] KOONPAEW S, SHEN S, FLOWERS L, et al. LAT-mediated signaling in CD4+CD25+ regulatory T cell development[J]. *J Exp Med*, 2006, 203(1): 119- 129.
- [12] WUFFRAAT N M, DE KLEER I M, PRAKKEN B. Refractory juvenile idiopathic arthritis: using autologous stem cell transplantation as a treatment strategy [J]. *Expert Rev Mol Med*, 2006, 8(26): 1- 11.

(编辑 张恩健)

(上接第 169 页 from page 169)

- inopeptidase N inhibitors and SARS [J]. *Lancet*, 2003, 361(9368): 1558- 1558.
- [12] 周国鹏, 赵志杰, 王广发. 大剂量糖皮质激素治疗 SARS 的病例分析[J]. *北京大学学报: 医学版*, 2003, 35 (Supplement): 147- 148.
- [13] 郑瑞强, 邱海波. 糖皮质激素治疗对 SARS 患者胸部 X 线片变化影响的临床研究[J]. *东南大学学报: 医学版*, 2004, 23(1): 38- 40.
- [14] 姚婉贞, 陈亚红, 张立强, 等. 肾上腺糖皮质激素治疗停止后 SARS 患者胸部 X 线影像变化[J]. *北京大学学报: 医学版*, 2003, 35 (Supplement): 26- 28.
- [15] GREGORY E, KA T, WONG, EVA L, et al. Chest radiograph scores as potential prognostic indicators in severe acute respiratory syndrome(SARS)[J]. *AJR*, 2005, 184(March): 734- 741.
- [16] 聂立功, 李海潮, 阙呈立, 等. SARS 第二峰的临床表现和处理[J]. *北京大学学报: 医学版*, 2003, 35(5): 553- 555.
- [17] 李 嘉, 朱理珉, 任 崧. 严重急性呼吸综合征患者激素治疗后胸部 X 线表现动态观察[J]. *中华传染病杂志*, 2003, 21(6): 413- 415.
- [18] 梁碧玲, 许晓予, 任俊杰, 等. 105 例传染性非典型肺炎 X 线临床特征 [J]. *中山大学学报: 医学科学版*, 2003, 24(7): 310- 311.

(编辑 张恩健)