

# 桃仁提取物抗血瘀证大鼠血栓形成的机制

以敏<sup>1,2\*</sup>, 徐君毅<sup>2</sup>, 郝二伟<sup>3</sup>, 邓家刚<sup>3</sup>

(1. 广西中医药大学第一附属医院, 南宁 530023;

2. 广西医科大学第四附属医院, 广西柳州 545001; 3. 广西中医药大学重点实验室, 南宁 530001)

**[摘要]** **目的:**观察桃仁提取物对瘀热互结证大鼠抗微血栓效应,检测其与血小板黏附分子 31 (CD31),核转录因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)及其抑制物  $\kappa$ B (I $\kappa$ B)表达的关系,探讨桃仁对血瘀证抗血栓形成的机制。**方法:**60 只 SD 大鼠随机分为正常组,模型组,桃仁提取物低、中、高剂量组(2,4,8 g·kg<sup>-1</sup>)及丹参组(14 g·kg<sup>-1</sup>),用角叉菜胶+干酵母复合注射法建立瘀热互结证模型,用药组分别按剂量 *ig* 给药,连续 7 d。观察各组血瘀体征,全血黏度,血浆黏度及纤维蛋白含量;组织病理观察微血栓和肾损伤;免疫组化,原位杂交检测分析内皮细胞 CD31, NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ B 蛋白及 mRNA 表达吸光度 *A*。**结果:**与正常组比较,模型组大鼠出现血瘀体征:全身皮肤黏膜充血,肿胀,发绀;全血黏度,微血栓,肾损伤增多或明显;内皮 CD31 蛋白, NF- $\kappa$ B 核蛋白, I $\kappa$ B 总蛋白增多, NF- $\kappa$ B 总蛋白显著减少 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较,桃仁提取物高剂量组血瘀体征减轻,全血黏度,血浆黏度,微血栓及肾损伤均明显降低或减少 ( $P < 0.01$ ),内皮 CD31 蛋白减少, NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ B 总蛋白及 mRNA 均明显增多 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。**结论:**桃仁提取物能显著改善瘀热互结证,降低血黏度,抑制微血栓形成,保护肾实质;其可能通过降低 CD31 表达,促进 NF- $\kappa$ B 及其抑制物 I $\kappa$ B 的基因转录和翻译,或抑制其降解,从而发挥抗微血栓的作用。

**[关键词]** 桃仁; 血瘀证; 血管内皮; 血小板黏附分子 31; 核转录因子- $\kappa$ B

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)01-0125-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016010125

## Antithrombotic Mechanism of Persicae Semen Extract in Blood Stasis Rats

YI Min<sup>1,2\*</sup>, XU Jun-yi<sup>2</sup>, HAO Er-wei<sup>3</sup>, DENG Jia-gang<sup>3</sup>

(1. The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China;

2. The Fourth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Liuzhou 545001, China;

3. Key Laboratory of Chinese Medicines, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the antithrombotic effect of Persicae Semen extract (PSE) in blood stasis rats, its relationship with platelet adhesion molecule 31 (CD31), nuclear transcription factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) and its inhibitor  $\kappa$ B (I $\kappa$ B) expressions and the antithrombotic mechanism of Semen Persicae against blood stasis syndrome. **Method:** Sixty SD rats were randomly divided into the normal group, the model group, the PSE low-, middle-, high-dose groups (2, 4, 8 g·kg<sup>-1</sup>) and Danshen group (14 g·kg<sup>-1</sup>). The stasis model was established through *ip* with carrageenan and dry yeast liquid. All of treatment groups were given drugs by oral administration. The stasis symptom, blood viscosity, plasma viscosity, fibrinogen, micro-thrombosis and renal damage were observed by blood viscometer and histopathological method. CD31, NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ B protein and mRNA expression absorbance of vascular endothelial cells were detected by immunohistochemistry method and *in situ* hybridization technique. **Result:** Compared with the normal group, the model group had some stasis symptoms, such as congestion, swelling, cyanosis under skin mucosa; its blood viscosity, micro-thrombosis and renal injury increased, CD31, nuclear NF- $\kappa$ B and total-I $\kappa$ B protein of endothelial increased, but NF- $\kappa$ B total protein decreased

**[收稿日期]** 20150408(013)

**[基金项目]** 国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2007CB512602);广西自然科学基金项目(2014NSFBA118200);广西卫生厅自筹课题(Z2011112)

**[通讯作者]** \*以敏,博士,副主任医师,从事中药药效物质基础研究, Tel:13978744834, 0771-5848712, E-mail:dolly791111@126.com

( $P < 0.01$ ). Compared with the model group, the PSE high dose group showed relieved stasis symptoms, lower blood viscosity, plasma viscosity, micro-thrombosis and relieved kidney damage ( $P < 0.01$ ), decreased CD31 protein of endothelial, but higher NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ B total protein and mRNA ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** PSE can significantly improve blood stasis symptoms, lower blood viscosity, inhibit thrombosis and protect renal. It might show the anti-micro thrombosis effect by promoting NF- $\kappa$ B and its inhibitor I $\kappa$ B gene transcription and translation, or inhibiting its degradation, as well as reducing the CD31 protein.

**[Key words]** Persicae Semen; stasis syndrome; vascular endothelial; platelet adhesion molecule 31; nuclear transcription factor- $\kappa$ B

血液循环障碍(blood circulation disorder, BCD)是各种原因导致的局部或全身循环不足,造成组织器官缺血缺氧等损伤。微循环障碍(microcirculation disturbance, MCD)则主要指局部微血流与微血管水平发生的功能或器质性紊乱,血流缓慢,黏稠乃至血栓形成,从而造成局部血液灌注的障碍<sup>[1-3]</sup>。中医瘀热互结证的“瘀”就包含了 MCD 的特征。多种中药或其复方制剂能有效改善血瘀症状。桃仁又名桃核仁,可扩张血管,抑制血小板聚集,抗凝血,抗血栓等,从而发挥活血化瘀作用<sup>[4-8]</sup>。

本研究推测桃仁可能通过降低血液凝固性,抑制血栓形成,实现改善瘀热互结证的效应,其机制可能与影响血管内皮细胞凝血相关黏附分子的表达及核转录因子功能状态相关。故拟用角叉菜胶和干酵母联合腹腔注射法<sup>[9]</sup>,建立瘀热互结证大鼠模型,以桃仁提取物干预,观察动物中医表征,检测凝血相关指标,血栓形成及器官损伤情况,检测血小板黏附分子 31(CD31),核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)及其抑制物  $\kappa$ B(I $\kappa$ B)表达情况,探讨其抗血栓形成的机制。

## 1 材料

**1.1 药材和试剂** 桃仁 *Prunus persica* (产地河北,批号 07123015),丹参 *Salvia miltiorrhiza* (产地河北,批号 07110814),由南宁医药股份有限公司采购,经广西中医药大学中药生药学科辛宁教授鉴定,由中药制剂教研室经水提,浓缩成浸膏,加水配制成  $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  质量浓度的药液;角叉菜胶(上海华蓝化学科技有限公司,批号 CAS9000-07-1),活性干酵母(安琪股份,批号 20091202),CD31, NF- $\kappa$ B p65, I $\kappa$ B- $\alpha$  鼠单抗和增强型兔二抗(北京中杉公司,批号分别为 BA-0531, SC-8008, SC-371, PV-6001), NF- $\kappa$ B p65 和 I $\kappa$ B- $\alpha$  原位杂交试剂盒(武汉博士德公司,批号分别为 MK1339, MK1325)。

**1.2 动物** SPF 级 SD 大鼠,体重( $210 \pm 20$ ) g,购自湖南斯莱克景达有限公司,合格证号 SCXK(湘)

2009-0004。

**1.3 仪器** FASCO 系列血流变快测仪(重庆维多科技),Leica-RM2135 型高级组织切片机(德国莱卡),BX60 PM20 型显微镜(日本 Olympus),DMR<sup>+</sup>550 型病理图像分析仪(德国莱卡)。

## 2 方法

**2.1 瘀热互结证大鼠模型制备** 大鼠第 1, 2, 3 天自由饮水,进食,第 4, 5, 6 天 *ip* 角叉菜胶溶液 1 次(质量浓度  $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),第 7 天 *sc* 20% 的活性干酵母悬液  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  建立瘀热互结证模型<sup>[4]</sup>。

**2.2 分组与给药** 60 只大鼠随机分为正常组,模型组,桃仁提取物高、中、低剂量组,丹参组,每组 10 只,雌雄各半。各组第 1, 2, 3 天自由饮水,进食,第 4, 5, 6 天除正常外,各组按 2.1 建立瘀热互结证模型,同时各用给药组连续 7 d 每天 *ig* 给予桃仁提取物低、中、高剂量( $2, 4, 8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )和丹参( $14 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )。实验第 8 天,观察各组行为活动,精神,皮肤黏膜等血瘀表征。

**2.3 血液检测** 实验第 8 天,各组行水合氯醛麻醉动物,腹主动脉取血 5 mL,肝素抗凝,用血流变快测仪检测全血低、中、高切( $1, 30, 200 \text{ s}^{-1}$ )黏度,血浆黏度,纤维蛋白原含量等,按说明书操作。

**2.4 组织病理观察及判读标准**<sup>[7-8]</sup> 麻醉下取大鼠肾脏标本,常规固定,脱水,包埋,连续切片(防脱片)备用(对所用刀具及容器作清洁处理,用 0.1% DEPC 水灭活 RNA 酶预处理)。常规苏木素和伊红(HE)染色,光镜观察肾实质损伤情况。肾损伤判读标准:400 倍光镜下观察肾小管细胞,胞质轻度水肿,变性,1 分;中至重度变性,散在凋亡,2 分;出现坏死,3 分;每例标本观察 10 个高倍视野,计平均分。改良 PATH 染色观察肾微血栓。微血栓判读标准:400 倍光镜下观察微小血管腔内纤维素性血栓,红细胞凝固性血栓形成与否。阳性者呈紫蓝色网格状或团块状。

**2.5 CD31, NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ B 蛋白表达及组织定**

位<sup>[8]</sup> 按免疫组化二步法试剂盒说明,检测各组内皮细胞 CD31 蛋白, NF- $\kappa$ B 蛋白, I $\kappa$ B 总蛋白,病理图像分析获得其吸光度 A (6.0.0.260 版本 Image-Pro Plus 软件自动生成)。内皮细胞胞质或核呈棕黄色,棕褐色者均视为阳性表达。

表 1 原位杂交检测 NF- $\kappa$ B 及 I $\kappa$ B mRNA 的探针序列

Table 1 Probe sequences of NF- $\kappa$ B and I $\kappa$ B mRNA by in situ hybridization

探针	序号	序列
NF- $\kappa$ B p65 mRNA	1	5'-AGCGGGGCATGCGTTTCCGTTACAAGTGGCAGGGC-3'
	2	5'-GCCAGACACAGACGATGCCACCGATTGAAGAAA-3'
	3	5'-ATGCTGATGGAGTACCCTGAAGCTATAACTCGCCT-3'
I $\kappa$ B- $\alpha$ mRNA	1'	5'-AGCGGGGCATGCGTTTCCGTTACAAGTGGCAGGGC-3'
	2'	5'-GCTGGCTGTGATCCTGAGCTCCGAGACTTT-3'
	3'	5'-TTCACAGAGGACGAGCTGCCCTATGATGAC-3'

2.7 统计学分析 应用 SPSS 17.0 软件,计量资料均采用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间均数比较采用单因素方差分析 *t* 检验,若方差不齐,采用 *t'* 检验或秩和检验。 $P < 0.05$  为有统计学意义。

### 3 结果

3.1 血瘀体征 模型组大鼠蜷缩少动,精神萎靡,舌底充血肿胀,尾部明显紫黑色,耳廓边缘及四肢皮肤不同程度肿胀发绀,体温升高。桃仁提取物高剂量组及丹参组大鼠行为活动增多,舌底充血减轻,尾

2.6 NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ B mRNA 表达及组织定位<sup>[8]</sup> 按试剂盒说明书进行操作。观察各组内皮细胞 NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ B mRNA 阳性信号,病理图像分析获得其吸光度 A (同 2.5)。内皮细胞核和/或胞质呈棕黄色,棕褐色细颗粒状者均视为阳性表达。探针序列见表 1。

部,耳廓边缘及四肢皮肤紫绀程度减轻。

3.2 血液学及组织病理观察 模型组大鼠较正常组全血低、中、高切黏度升高,微血栓增多,肾实质评分显著增大 ( $P < 0.01$ ),但血浆黏度及血纤维蛋白原含量未见明显差异。桃仁提取物高剂量组和丹参组全血高切、低切黏度,血浆黏度,微血栓形成率及肾损伤评分较模型组均显著降低 ( $P < 0.01$ );血纤维蛋白原含量除丹参组有明显降低 ( $P < 0.05$ ),其余各组均未见显著差异。见表 2。

表 2 桃仁提取物对血瘀证大鼠血黏度、微血栓及肾损伤的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 2 Effect of Persicae Semen extract on blood viscosity, micro-thrombosis and renal injury in stasis rats ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

分组	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	全血黏度/mPa·s			血浆黏度 /mPa·s	纤维蛋白原 /g·L <sup>-1</sup>	微血栓形成率 /比例	肾损伤评分 /分
		1 s <sup>-1</sup>	30 s <sup>-1</sup>	200 s <sup>-1</sup>				
正常	-	11.62 ± 0.90 <sup>2)</sup>	5.98 ± 0.50 <sup>2)</sup>	4.89 ± 0.42 <sup>2)</sup>	1.15 ± 0.33	2.41 ± 0.49	0/10 <sup>2)</sup>	0.20 ± 0.42 <sup>2)</sup>
模型	-	12.48 ± 0.88	6.56 ± 0.54	5.39 ± 0.43	1.27 ± 0.36	2.67 ± 0.55	8/10	2.10 ± 0.32
桃仁	2	12.33 ± 0.68	6.34 ± 0.58	5.36 ± 0.53	1.25 ± 0.76	2.66 ± 0.65	8/10	2.00 ± 0.32
	4	12.08 ± 0.60	6.13 ± 0.44	5.30 ± 0.63	1.24 ± 0.30	2.65 ± 0.75	6/10	2.00 ± 0.39
	8	11.44 ± 0.79 <sup>2)</sup>	5.88 ± 0.45	4.84 ± 0.36 <sup>2)</sup>	0.43 ± 0.03 <sup>2)</sup>	2.65 ± 0.53	4/10 <sup>1)</sup>	1.10 ± 0.32 <sup>2)</sup>
丹参	14	11.17 ± 0.65 <sup>2)</sup>	5.74 ± 0.38 <sup>2)</sup>	4.73 ± 0.31 <sup>2)</sup>	0.42 ± 0.03 <sup>2)</sup>	2.29 ± 0.38 <sup>1)</sup>	4/10 <sup>1)</sup>	1.50 ± 0.53 <sup>2)</sup>

注:与模型组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ (表 3 同)。

3.3 CD31 蛋白, NF- $\kappa$ B 及 I $\kappa$ B 蛋白及 mRNA 表达 与正常组比较,模型组大鼠内皮 CD31 蛋白, NF- $\kappa$ B 核蛋白, I $\kappa$ B 总蛋白增多, NF- $\kappa$ B 总蛋白显著减少 ( $P < 0.01$ );与模型组比较,高剂量组内皮 CD31 蛋白减少, NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ B 总蛋白及 mRNA 均明显增多 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。见表 3。

### 4 讨论

本研究成功复制了大鼠瘀热互结证模型<sup>[9]</sup>,观察到大鼠血瘀证,组织病理检查证实微循环血栓形

成,并导致肾微循环障碍,肾实质损伤;桃仁提取物尤其是高剂量预防性灌胃干预后,结果未出现典型血瘀体征,同时微血栓较少,肾损伤不明显,提示桃仁提取物可有效预防和控制血瘀证的发生,发展。本研究发现桃仁提取物干预后血黏度降低,但纤维蛋白原含量无明显改变,其作用及对凝血及纤溶功能的作用尚需深入研究。

血管内皮细胞黏附分子 CD31 可促进血小板黏附及血栓形成<sup>[5]</sup>,桃仁能降低其表达等功能<sup>[7-10]</sup>。

表 3 桃仁提取物对血瘀证大鼠内皮 CD31, NF- $\kappa$ B 及 I $\kappa$ B 表达 A 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 3 Effect of Persicae Semen extract on endothelial CD31, NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ B expression in stasis rats ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

分组	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	CD31 蛋白	NF- $\kappa$ B p65			I $\kappa$ B- $\alpha$	
			核蛋白	总蛋白	mRNA	总蛋白	mRNA
正常	-	0.26 ± 0.03 <sup>2)</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>2)</sup>	0.46 ± 0.01 <sup>2)</sup>	0.14 ± 0.00	0.23 ± 0.00 <sup>2)</sup>	0.10 ± 0.01
模型	-	0.38 ± 0.02	0.37 ± 0.04	0.37 ± 0.04	0.13 ± 0.01	0.28 ± 0.04	0.11 ± 0.02
桃仁	2	0.38 ± 0.01	0.38 ± 0.05	0.37 ± 0.09	0.13 ± 0.05	0.29 ± 0.05	0.12 ± 0.06
	4	0.38 ± 0.04	0.39 ± 0.02	0.38 ± 0.04	0.14 ± 0.06	0.30 ± 0.04 <sup>1)</sup>	0.13 ± 0.07 <sup>1)</sup>
	8	0.34 ± 0.02 <sup>1)</sup>	0.41 ± 0.00	0.41 ± 0.01 <sup>1)</sup>	0.27 ± 0.04 <sup>2)</sup>	0.32 ± 0.06 <sup>1)</sup>	0.25 ± 0.01 <sup>2)</sup>
丹参	14	0.32 ± 0.04 <sup>2)</sup>	0.42 ± 0.07	0.42 ± 0.07 <sup>2)</sup>	0.12 ± 0.01	0.27 ± 0.05	0.18 ± 0.06 <sup>2)</sup>

本研究模型组内皮细胞 CD31 表达较正常增多, 桃仁能降低 CD31 的表达, 推测血瘀体征与 CD31 过表达密切相关。

正常状态下 NF- $\kappa$ B 与其抑制物 I $\kappa$ B 家族在胞质中结合, 无转录活性; 当 I $\kappa$ B-a 经磷酸化被降解, NF- $\kappa$ B 以 p65 蛋白的形式进入胞核, 激活靶基因转录, 产生细胞因子的下游效应<sup>[10-11]</sup>。桃仁有效成分可能有改变细胞膜稳定性及核转录的作用。本研究给大鼠注射角叉菜胶 + 干酵母, 可能通过此过程, 降低血黏度, 减少血栓形成, 并减少 NF- $\kappa$ B 总蛋白的降解或促进其基因的转录翻译<sup>[12-15]</sup>。

模型 I $\kappa$ B 总蛋白较正常增多, 桃仁促进其蛋白及 mRNA 表达, 提示其可能既促进 NF- $\kappa$ B 和 I $\kappa$ B 转录翻译, 加强了两者间结合抑制, 又抑制其蛋白降解, 使其总蛋白胞质内蓄积。本研究推测, 桃仁或其有效成分可协同参与了 NF- $\kappa$ B 及 I $\kappa$ B 的转录, 翻译, 移位及降解, 最终实现抗血栓和保护器官的作用。

[参考文献]

[ 1 ] De Backer D, Ospina-Tascon G, Salgado D, et al. Monitoring the microcirculation in the critically ill patient; current methods and future approaches [ J ]. Intensive Care Med, 2010, 36(11):1813-1825.  
 [ 2 ] Boldt J, Ince C. The impact of fluid therapy on microcirculation and tissue oxygenation in hypovolemic patients; a review [ J ]. Intensive Care Med, 2010, 36(8):1299-1308.  
 [ 3 ] Tsai M, Kita A, Leach J, et al. In vitro modeling of the microvascular occlusion and thrombosis that occur in hematologic diseases using microfluidic technology [ J ]. Clin Invest, 2012, 122(1):408-418.

[ 4 ] 郝二伟, 邓家刚, 杜正彩, 等. 平性药桃仁双向适用药性特征的研究 [ J ]. 中药药理与临床, 2011, 27(1):56-58.  
 [ 5 ] Liu L, Shi G P. CD31; beyond a marker for endothelial cells [ J ]. Cardiovasc Res, 2012, 94(1):3-5.  
 [ 6 ] 以敏, 郝二伟, 邓家刚, 等. 桃仁对血液循环障碍大鼠内皮细胞凋亡及相关蛋白表达的影响 [ J ]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(14):178-182.  
 [ 7 ] 以敏, 邓家刚, 郝二伟, 等. 桃仁提取物对不同病因所致大鼠血液循环障碍的影响 [ J ]. 中草药, 2013, 44(7):858-862.  
 [ 8 ] 安尚玉. 雌激素在缺氧/复氧心肌细胞中对 NF $\kappa$ B 及黏附分子表达的影响 [ D ]. 长春: 东北师范大学, 2009.  
 [ 9 ] 邓家刚, 杨柯, 郝二伟, 等. 一种瘀热互结证动物模型的建立方法. 医药评价, 中医药理研究技术领域: 广西, CN101933951A [ P ]. 2011-01-05.  
 [ 10 ] 王杏, 王超, 邢邯英, 等. 通心络胶囊对糖尿病小鼠视网膜 IKK $\beta$ /IKB $\alpha$ /NF $\kappa$ B 通路的作用 [ J ]. 眼科新进展, 2014, 34(11):1005-1008.  
 [ 11 ] 张瑞, 汤彪, 柳国英, 等. 慢盆消炎方对慢性子宫内膜炎模型大鼠 NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ B- $\alpha$  及 TNF- $\alpha$ , MCP-1 表达的影响 [ J ]. 中华中医药学刊, 2012, 30(5):1132-1135.  
 [ 12 ] 张晨晨, 刘俊, 卞卡. NF- $\kappa$ B 与疾病及中药介入 [ J ]. 时珍国医国药, 2011, 22(1):62-65.  
 [ 13 ] 张竞之, 陈利国, 胡小勤, 等. 黄芪多糖对原发性高血压病血瘀证患者 Toll 样受体 4、核转录因子- $\kappa$ B 表达的影响 [ J ]. 中医杂志, 2011, 52(15):1286-1289.  
 [ 14 ] 张秀英, 王雪峰, 王思源, 等. 双表法对流感病毒感染小鼠肺组织 MyD88 及 NF- $\kappa$ B P65mRNA 表达的影响 [ J ]. 现代中西医结合杂志, 2014, 23(10):1027-1029.  
 [ 15 ] 李小波, 李均, 师晶丽. 桃仁对单侧输尿管梗阻大鼠肾组织 NF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$  表达的影响 [ J ]. 中国中医基础医学杂志, 2006, 12(7):526-527.

[责任编辑 聂淑琴]