

微调三号(WD-3)方对 BALB/c 小鼠大肠癌肝转移的影响

王旺胜*, 尤建良, 蒲琼华
(无锡市中医院, 江苏 无锡 214001)

[摘要] 目的:观察中药微调三号(WD-3)抗大肠癌肝转移的作用,并探讨其可能的作用机制。方法:将 96 只 BALB/c 小鼠分为两大组,两组均建立大肠癌肝转移模型并随机分为 6 组:模型组,西药组,中药低、中、高剂量组,中西药组。分组治疗 4 周,分别从小鼠生存时间、移植瘤和转移瘤的大体形态学、组织病理学及血清癌胚抗原(CEA)水平来观察 WD-3 的疗效。结果:西药组及中西药组与其他各组比较,小鼠生存时间延长,肝脏转移癌结节减少、癌重减轻($P < 0.05$),其中中西药组低于西药组($P < 0.05$)。西药组及中西药组与其他各组比较,CEA 含量明显降低($P < 0.05$)。结论:WD-3 联合化疗可以抑制模型动物肝脏转移瘤的生长。

[关键词] 微调三号方; 大肠癌; 肝转移

[中图分类号] R287 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2012)19-0270-05

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120731.1109.009.html>

[网络出版时间] 2012-07-31 11:09

大肠癌是消化道最常见的恶性肿瘤之一,而肝转移是影响大肠癌患者预后的最大问题之一^[1]。由于肿瘤生物学特性和大肠门静脉血回流的解剖学特点,大肠癌患者易发生肝转移,在确诊时已有

20%~40% 发生肝转移,在原发病灶治疗后,异时性肝转移发生率达 50%,在尸检中大肠癌患者肝转移发生率高达 60%~70%^[2]。微调三号(WD-3)方为“微调平衡”理论之代表方,本研究观察了微调三号方对大肠癌肝转移的作用,实验重复 3 次。

1 材料

阳性对照药使用奥沙利铂(L-OHP,江苏恒瑞制药有限公司提供,50 mg/瓶),5-氟尿嘧啶(5-Fu,上海旭东海普医药公司提供,250 mg/瓶),亚叶酸钙(LV,青岛国大生物制药股份有限公司提供,100

[收稿日期] 20120413(013)

[基金项目] 无锡市科技局及卫生局指令性课题(CSZ00854)

[通讯作者] *王旺胜,硕士,主治医师,从事大肠癌的中西医结合治疗研究, Tel: 13914262333, E-mail: huanghe7525@163.com

[4] 于辉,李春香,宫凌涛,等.甘草的药理作用概述[J].现代生物医学进展,2006,6(4):77.

[5] 黄霞,刘慧霞,邵静.熟地多糖对小鼠免疫功能的影响[J].辽宁中医杂志,2004,31(9):792.

[6] 张亚强,刘猷枋.中药前列腺汤对实验性前列腺炎病理模型的影响[J].中国中西医结合杂志,1991,11(8):480.

[7] 徐淑云.药理实验方法学[M].3版.北京:人民卫生出版社,2002:1557.

[8] Stancik I, Plas E, Juza J, et al. Effect of antibiotic therapy on interleukin-6 in fresh semen and postmasturbation urine samples of patients with chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome[J]. Urology, 2008,72(2):336.

[8] Penna G, Mondaini N, Amuchastegui S, et al. Seminal plasma cytokines and chemokines in prostate inflammation; interleukin 8 as a predictive biomarker in chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome and

benign prostatic hyperplasia[J]. Eur Urol, 2007, 51(2):524.

[9] 侯四川,冯元法,王春玲.慢性前列腺炎病人前列腺中 IL-2、IL-1 β 、IL-8、TNF- α 和 PEG₂ 的变化及意义[J].青岛大学医学院学报,2007,43(6):497.

[10] 贾金铭.前列腺炎综合症中西医结合治疗现状、对策及展望[J].中国中西医结合杂志,2002,22(3):217.

[11] 吕燕宁,邱全璞.黄柏对小鼠 DTH 及其机体内几种细胞因子的影响[J].北京中医药大学学报,1999,22(6):48.

[12] 李兰群,周强,陈国宏,等.慢性前列腺炎症状严重度与前列腺液卵磷脂小体数量相关分析[J].中华中医药杂志,2007,22(12):901

[13] 赵连华,王相泽,赵广明,等.卵磷脂小体在前列腺炎诊断中的意义[J].中华男科学杂志,2005,11(8):617.

[责任编辑 李玉洁]

mg/瓶,)。“WD-3”由无锡市制剂室按有关工艺流程制成无糖型制剂(苏食药监注[2005]401号,苏药制字204002111),于4℃冰箱保存备用。

BALB/c 小鼠[扬州大学动物中心,合格证号 SCXK(苏)2007-003],小鼠 CT26 大肠癌细胞(中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心),胎牛血清(美国 Hyclone 公司),青霉素、链霉素(上海碧云天生物技术有限公司),RPMI 1640 培养基(美国 Hyclone 公司),磷酸盐缓冲液(PBS,上海碧云天生物技术有限公司),鼠抗 VEGF 抗体(武汉博士德公司),鼠抗 nm23-H1 抗体(武汉博士德公司),鼠抗 CD44 抗体(武汉博士德公司)。

2 方法

2.1 小鼠 CT26 大肠癌细胞复苏 从干冰中取出冻存细胞管,迅速放入 37℃ 水浴箱中,摇动冻存管使之在 1 min 内解冻;在超净工作台内用 75% 乙醇棉球擦拭冻存管外周,旋出管盖,吸出细胞悬液,放入离心管中,补充已预温的无血清 RPMI 1640 培养基至 10 mL,吹打细胞悬液。离心 1 000 r·min⁻¹,5 min,弃上清。重复洗涤 1 次。沉淀的细胞用含有胎牛血清的完全培养基覆盖,吹打均匀,转入培养瓶中,加入适量培养基,置 5% CO₂ 孵箱中培养,次日更换培养基继续培养。

2.2 小鼠 CT26 大肠癌细胞培养 在 37℃,5% CO₂ 孵箱中以含有 10% 胎牛血清的完全培养基培养大肠癌细胞,随时观察细胞的状态和数量,及时换液和传代。待细胞进入对数生长期后用于实验(图 1)。

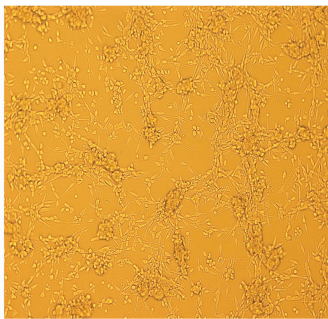


图 1 CT26 细胞对数生长期

2.3 小鼠 CT26 大肠癌细胞传代 单层细胞生长至 80% 或接近成片时传代,吸出培养瓶中的旧培养液,用 PBS 液清洗培养瓶 3 次,倒掉瓶中的 PBS 液,加入 1 mL 胰蛋白酶液,放置 5% CO₂ 培养箱内约 1 min,倒置显微镜下观察消化细胞,待胞质回缩,细胞之间不再连接成片后,加入 5 mL 培养液终止消化,用滴管将已经消化细胞吹打成细胞悬液。将细胞悬

液吸入 10 mL 离心管中,平衡后将离心管放入台式离心机中,以 1 000 r·min⁻¹ 离心 6~8 min。弃去上清液,加入 2 mL 培养液,用滴管轻轻吹打细胞制成细胞悬液。将细胞悬液吸出分装至 2~3 个培养瓶中,加入适量培养基旋紧瓶盖。置 5% CO₂ 培养箱中培养,隔天换次液。

2.4 脾内种植法建立小鼠大肠癌肝转移模型^[3]

随机抽取 96 只 BALB/C 小鼠,质量为 20~22 g 备用;待 CT26 癌细胞贴壁生长后,取对数生长期的 CT26 细胞,用 0.25% 胰酶消化,离心后用 PBS 将浓度调整癌细胞悬液到 2.0 × 10⁶ 个。无菌条件下用 1% 戊巴比妥钠 45 mg·kg⁻¹ 腹腔内注射麻醉,手术野皮肤消毒,左背部斜切口 0.5~1.0 cm,进腹暴露脾脏后,轻柔地将脾下极提出腹腔,用 5 号针头将 CT26 细胞缓慢注入小鼠脾脏,每只小鼠注射细胞悬液 0.2 mL,注射时间约 3 min,可见脾被膜肿胀、变白。注射完毕拔针后用 75% 乙醇棉棒压迫针眼 2 min,以压迫止血和杀灭可能外渗的癌细胞,防止腹腔内种植转移。将脾脏放回原位,关腹。整个过程遵循无菌操作原则。

2.5 动物给药 将造模后的 BALB/c 小鼠按随机区组设计分为两大组,第 1 大组分为 6 组,每组 8 只,用于观察生存期,分别为空白组,西药组,中药低、中、高剂量组,中西药组。模型组:NS 0.5 mL 灌胃,每日 1 次;西药组(L-OHP + 5-FU + LV):L-OHP 1 mg,5-Fu 4 mg,LV 0.4 mg,腹腔注射;中药低、中、高剂量组(WD-3):分别以 WD-3 0.1,0.5,1.0 mL 灌胃,各相当于 60 kg 成人用量的 1,5,10 倍;中西药组(WD-3 + L-OHP + 5-FU + LV):WD-3 1.0 mL 灌胃,每日 1 次。L-OHP 1 mg,5-Fu 4 mg,LV 0.4 mg,腹腔注射。第 2 大组也分为以上 6 组,用于观察血清 CEA 含量、腹水抑制情况、肝转移瘤数目及蛋白测定。实验各组于移植后第 1 天开始给药,L-OHP + 5-Fu + LV 每周 1 次,共 3 次。WD-3 每天 1 次,共 3 周。记录小鼠生存情况,治疗 3 周后处死第 2 大组,第 1 大组停止治疗后继续观察生存情况。

2.6 检测及方法

2.6.1 小鼠生存期的变化 观察各组生存天数并计算其生命延长率。生存期为接种肿瘤至死亡日期。

$$\text{生命延长率} = (\text{治疗组平均生存天数} - \text{模型组平均生存天数}) / \text{模型组平均生存天数} \times 100\%$$

2.6.2 血清 CEA 含量测定 ELISA 法检测 CEA 含量,分析肝转移程度与 CEA 含量变化的关系。

2.6.3 腹水情况变化 将处死的小鼠, 在无菌条件下用注射器采集腹水计量腹水体积, 观察腹水发生情况、腹水量及腹水抑制率。

$$\text{腹水抑制率} = (\text{模型组平均腹水量} - \text{其他各组小鼠平均腹水量}) / \text{模型组平均腹水量} \times 100\%$$

2.6.4 肝脏表面肿瘤数目的变化 解剖第一组小鼠, 迅速打开腹腔, 仔细观察肝脏有无转移结节、转移结节数量、大小等, 挖出各个转移癌结节并称癌结节和肝脏质量, 并计算抑瘤率。

$$\text{抑瘤率} = (1 - \text{治疗组平均瘤质量} / \text{对照组平均瘤质量}) \times 100\%$$

3 统计学处理

计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 所有数据采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计, 定量指标用 One-Way ANOAY 方差分析, 组间比较采用 LSD 及 S-N-K 分析; 定性指标采用 Crosstabs 或 Nonparametric Tests 中的 Chi-Square 分析; 半定量指标采用 Nonparametric Tests 中的 K Independent Samples 及 Independent Samples 分析。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

4 结果

4.1 一般状况观察 BALB/c 鼠接种 2 周内, 各组小鼠状态正常, 饮食、活动方面无明显区别。2 周后, 各组小鼠逐渐消瘦, 部分小鼠出现腹水, 以模型组最明显并在第 4 周死亡 1 只。实验过程中, 中药低、高剂量组各有 1 只裸鼠因灌胃不当死亡。

4.2 小鼠肝组织病理学改变 取得的瘤块组织均为低至中度分化腺癌, 癌细胞异型性明显, 多呈实体状排列, 部分呈腺样排列, 肿瘤间质少, 有不同程度的肿瘤组织坏死和炎细胞浸润。西药组及中西药组见瘤细胞大片坏死, 坏死区中有淋巴细胞浸润, 坏死区可见有大片出血, 残存的瘤细胞可见有明显的异型性。中西药组肿瘤细胞的异型性较模型组明显减小(图 2)。

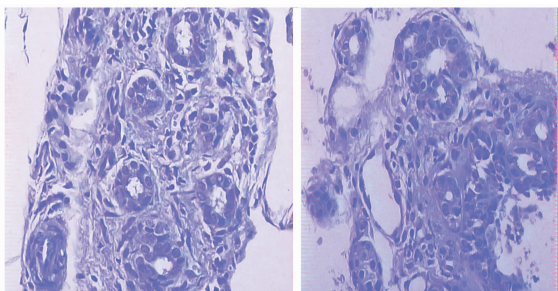


图 2 中西医结合组肝转移性病理学改变

4.3 各组小鼠生存期比较(表 1) 各组小鼠生存

期与模型组比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 其中中西药组与其余各组比较均有统计学意义 ($P < 0.01$), 中药低、中、高及西药组之间无统计学差异, 同时治疗组均可延长生存期, 提高生命延长率。

表 1 各组小鼠生存期比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mL	平均生存时间/d	生命延长率/%
模型	0.5	26.38 ± 4.10	-
SD-3	0.1	30.25 ± 2.49 ¹⁾	14.67
	0.5	31.63 ± 2.45 ¹⁾	19.90
	1.0	29.88 ± 3.22 ¹⁾	13.27
WD-3 + 西药	6.4	41.13 ± 2.03 ^{1,2)}	25.59
西药	5.4	30.13 ± 1.93 ¹⁾	14.22

注: 与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$; 与其余各组比较²⁾ $P < 0.01$ 。

4.4 各组血清 CEA 含量情况(表 2) ELISA 法检测, 各组血清 CEA 水平均低于模型组 ($P < 0.05$)。中药组及西药组低于中药低、中、高剂量组 ($P < 0.05$), 且两组之间无差异, 中药低、中、高剂量组之间差异无统计学意义。

表 2 各组血清 CEA 含量情况 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mL	动物数(n)	血清 CEA 浓度
模型	0.5	7	104.04 ± 22.00
WD-3	0.1	7	80.89 ± 16.89 ¹⁾
	0.5	8	78.98 ± 15.96 ¹⁾
	1.0	7	76.11 ± 16.40 ¹⁾
WD-3 + 西药	6.4	8	56.36 ± 15.27 ^{1,2)}
西药	5.4	8	59.90 ± 12.50 ^{1,2)}

注: 与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$; 与中药低、中、高剂量组比较²⁾ $P < 0.05$ (表 3 同)。

表 3 各组小鼠的腹水情况 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mL	腹水发生率/%	平均腹水量/mL	腹水抑制率/%
模型	0.5	100	1.58 ± 0.44	-
WD-3	0.1	71 ¹⁾	0.85 ± 0.75 ¹⁾	46.20
	0.5	68 ¹⁾	0.91 ± 0.86 ¹⁾	42.41
	1.0	66 ¹⁾	0.98 ± 0.77 ¹⁾	37.97
WD-3 + 西药	6.4	48 ^{1,2)}	0.58 ± 0.71 ¹⁾	63.29 ¹⁾
西药	5.4	50 ^{1,2)}	0.82 ± 0.70 ¹⁾	54.43

4.5 各组小鼠的腹水情况(表 3) 各治疗组与模型组比较, 腹水发生率均下降 ($P < 0.05$); 中药低、中、高剂量组、西药组与模型组比较, 平均腹水量下降, 腹水抑制率上升 ($P < 0.05$); 中西药组与中药各剂量组比较, 平均腹水量差异有统计学意义, 中药各

剂量组间比较差异无统计学意义,中西药组与西药组比较差异无统计学意义;中西药组与中药各剂组比较,腹水抑制率差异有统计学意义($P < 0.05$)。

4.6 各组肝脏肿瘤及转移瘤数目比较(表4) 各治疗组肝转移结节及肝转移癌重均较模型组下降

($P < 0.05$),且中西药组及西药组均较中药各剂量组下降($P < 0.05$);中药各剂量组之间比较差异无统计学意义,癌重/肝重方面,治疗组与模型组比较具有统计学差异($P < 0.05$),其他组间比较均无统计学意义。

表4 各组肝脏肿瘤及转移瘤数目比较($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mL	n	肝转移癌结节数/个	肝转移癌重/g	癌重/肝重/%
模型	0.5	7	10.38 ± 2.83	1.902 ± 0.852	59.49 ± 8.57
WD-3	0.1	7	7.75 ± 1.67 ¹⁾	0.895 ± 0.777 ¹⁾	36.20 ± 25.57 ¹⁾
	0.5	8	7.63 ± 1.92 ¹⁾	0.862 ± 0.487 ¹⁾	34.99 ± 22.14 ¹⁾
	1.0	7	7.50 ± 2.33 ¹⁾	0.741 ± 0.697 ¹⁾	32.84 ± 23.91 ¹⁾
WD-3 + 西药	6.4	8	4.13 ± 2.95 ^{1,2)}	0.281 ± 0.227 ^{1,2)}	29.53 ± 16.63 ¹⁾
西药	5.4	8	4.38 ± 3.82 ^{1,2)}	0.264 ± 0.172 ^{1,2)}	28.81 ± 16.25 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$;与中药各剂量组相比²⁾ $P < 0.05$ 。

5 讨论

通过实验研究抗癌复方已成为抗癌复方研究中非常重要的一部分,但是抗癌复方的实验研究时间不长,中医理论在实验中体现较少,还不能摆脱现代医药学实验研究的思维方法^[4]。中药血清药理学能通过有效成分在血中的动态变化、相互作用及与药效的相互关系,更好地反映中药复方的配伍原则和药物的量效关系,并在一定程度上揭示中药及其复方在胃肠内处置过程中活性成分的转化与改变^[5]。迄今已进行了许多卓有成效的研究,如发现痛泻要方对溃疡性结肠炎癌变有一定干预作用,对于2-二甲胍诱发的大肠肿瘤具有一定的抑制作用^[6]。消瘿方对人乳腺癌MDA2MB2435裸小鼠移植瘤有抑制作用,并发现其抑瘤效应与下调瘤体内VEGF表达密切相关^[7]。用益气复原汤大鼠含药血清干预大肠癌Lovo细胞,细胞形态学及流式细胞检测都表明其具有诱导癌细胞凋亡作用,并能增强化疗药诱导癌细胞凋亡效应^[8]。

目前中医界对肿瘤转移治疗的基本原则为解毒、活血、扶正、化湿利水。但是肿瘤患者无论是手术治疗,还是化疗、放疗或是中药解毒、活血化瘀等治疗,都将不同程度地使局部或全身气血受损,脏腑功能失调,从而伤及脾胃。脾胃一旦受伤,则水谷精微不循常道运化,痰、湿等新的病理产物随即产生,日久成瘀,瘀积不散,继而形成新的肿块。这样恶性循环,为肿瘤的远处转移创造了必要条件。且临证时常用滋腻药物来峻补,致使脾胃运化不能,气血生化无源,水湿痰浊不化,则又可致水湿痰浊相互搏结而成肿块。

鉴于此,尤建良教授提出了“微调平衡”理论,尤教授认为,肿瘤的发生发展的整个过程就是肿瘤细胞和机体免疫机制相互作用的过程,病人始终处于变动中的不平衡状态,表现为脏腑功能失调,阴阳气血紊乱,气血、津液运行化生失常。以此提出了治疗肿瘤的“微调平衡”理论,概言之就是不断追踪某一时期癌症病人所处的不平衡状态,找到内在失衡的“枢纽”。调节人体内环境、调节肿瘤与机体免疫,使其在一个较低水平达到相对平衡,通过逐步不断的微调节使肿瘤增殖逐渐得到控制的目的。中药微调三号(WD-3)为微调平衡理论之基本方,主要含有潞党参、白术、茯苓、薏苡仁、淮山药、猪苓、炒谷麦芽、苏梗、制枇杷叶等中药。其方重在微调中焦脾胃,以后天促先天。不单纯扶正,不用解毒药,不直接使用活血化瘀中药,而是调气以化瘀,使气血得和改善高黏高凝状态而无肿瘤脱落扩散之虞;健脾以化湿,使痰湿生成无源而达正本清源之目的;健脾以扶正,扶正以驱邪,发挥正气固摄作用而抑制癌毒扩散、抑制肿瘤脱落。重在微调平衡,微微调控,在微调后天脾胃的基础上,间接调节肾与气血,通过平衡阴阳气血而调动机体自身的免疫、康复功能,达到抗大肠癌及肿瘤转移之目的。

WD-3长期用于直肠癌、结肠癌中晚期的治疗取得了较好的临床效果^[9]。前期研究显示,WD-3能显著提高细胞因子IL-2,IL-4,IFN- γ 的水平,而IL-4,TNF及IFN是主要的抗肿瘤转移-肿瘤血管形成抑制因子,可通过激发机体免疫功能及明显地抑制肿瘤血管内皮因子而具有可靠的抗癌转移作用,提示WD-3有一定的抗肿瘤转移作用^[10]。

本研究表明,WD-3 能明显提高小鼠的生存时间,与化疗药联合应用时有更明显的延长生存时间优势。对肝脏转移瘤来说,化疗药与 WD-3 的联合使用起到了更好的治疗作用,无论肝转移瘤结节还是肝转移瘤重均低于其他组,同时也低于西药组,表明在化学治疗的同时使用 WD-3 可以增强疗效。在对肝脏转移瘤的形态学观察中发现化疗药与 WD-3 联合治疗后的肿瘤细胞异型性减小,还见有大量坏死的肿瘤细胞,表明 WD-3 可能具有诱导肿瘤细胞分化的作用。

CEA 是大肠癌细胞表达的一种黏附分子,肝脏的 Kupffer 细胞上有 80KD 的 CEA 受体,可与之特异性结合,并诱导 Kupffer 细胞分泌细胞因子 IL-1 α , IL-1 β , IL-6, TNF α 。这些细胞因子可诱导肝窦内皮细胞表达细胞间黏附分子,从而促进了肿瘤细胞的黏附并滞留于肝脏。所以目前血清 CEA 是较有价值的预测大肠癌肝转移与否的指标^[11-13]。从本次实验中我们发现 WD-3 有降低模型动物的血清 CEA 水平的作用,提示 WD-3 对抑制大肠癌肝转移具有一定的作用。

以上结果显示,WD-3 可延长小鼠的生存时间,降低血清 CEA,抑制大肠癌肝转移,与化疗组联合时有更明显的作用,为“微调平衡”理论提供了实验支持,其作用机制有待于进一步的研究。

[参考文献]

[1] Mcleod H L, McKay J A, Collie-Duguid E S, et al. Therapeutic opportunities from tumor biology in metastatic colon cancer [J]. Eur J Cancer, 2000, 36 (13):1706.

[2] Ekberg H T, ranberg K G, Andersben R, et al. Pattern of recurrence in liver resection for colorectal second. dories1 [J]. World J Surg, 1987, 11:54.

[3] 杨扬,李乃卿,李兰芳,等. 两种小鼠结肠癌肝转移造模方法的比较 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14 (4):54.

[4] 王星,王三虎,郭华. 中药复方抗癌实验研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11 (6):71.

[5] 黄臣虎,陆茵,高骁君. 中药血清药理学研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17 (10):2660

[6] 章宸,刘斌,郑虎占,等. 痛泻要方药理作用和临床应用研究概况 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17 (10):2660

[7] 欧阳华强,黄雯霞. 消瘦方抑制人乳腺癌裸鼠移植瘤血管内皮生长因子表达的实验研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15 (3):44.

[8] 秦伟夫,贺菊乔. 益气复元汤联合化疗药含药血清对大肠癌 Lovo 细胞 Bel-2, Bax 表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16 (17):158.

[9] 周留勇,单珍珠,尤建良. 中药赵氏微调三号联合化疗治疗大肠癌疗效观察 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21 (8):2008.

[10] 周留勇,尤建良. 单珍珠. 中药赵氏微调三号治疗大肠癌临床与实验研究 [J]. 中华中医药杂志, 2009, 24 (1):34.

[11] 郝立强,孟荣贵. 定量 RT-PCR 方法检测大肠癌外周血 CEA mRNA 方法及临床应用 [J]. 大肠肛门病外科杂志, 2001, 7 (1):8.

[12] 王向昱,倪仲琳,张伟. 联合检测 K-ras, p53 基因突变及 CEA mRNA 表达对大肠癌肝转移的预测价值 [J]. 实用医学杂志, 2001, 26 (5):855.

[责任编辑 邹晓翠]