

美丽鳞毛蕨粗多糖对 α-葡萄糖苷酶及小鼠耐糖量的影响

马继雄^{1,2}, 马祥忠¹, 曾阳^{1,2*}

(1. 青海师范大学生命与地理科学学院, 西宁 810008; 2. 教育部资源与环境重点实验室, 西宁 810008)

[摘要] 目的:观察美丽鳞毛蕨粗多糖对 α-葡萄糖苷酶抑制活性的影响及对蔗糖、葡萄糖、麦芽糖、淀粉负荷剂量后的正常小鼠血糖影响。方法:采用 α-葡萄糖苷酶活性测定方法,对美丽鳞毛蕨植物粗多糖进行 α-葡萄糖苷酶抑制活性的测定;以美丽鳞毛蕨粗多糖为实验药物,取血糖值 4.0~9.0 mmol·L⁻¹ 的小鼠,按体重随机分成 16 小组,每组 10 只,适应性饲养 3 d 后,分别用生理盐水、阿卡波糖(0.625 g·kg⁻¹)、高剂量粗多糖(0.48 g·kg⁻¹)、低剂量粗多糖(0.24 g·kg⁻¹) ig 小鼠,每天 1 次,连续 ig 4 d 造模;第 5 d 分别用葡萄糖(2.0 g·kg⁻¹)、蔗糖(4.0 g·kg⁻¹)、麦芽糖(4.0 g·kg⁻¹)、淀粉(6.0 g·kg⁻¹) 给小鼠负荷剂量,在 15,30,60,120 min 时间点测量小鼠血糖值并记录。观察美丽鳞毛蕨粗多糖对蔗糖、葡萄糖、麦芽糖、淀粉负荷剂量后的正常小鼠血糖影响。结果:美丽鳞毛蕨粗多糖在样品浓度 10 g·L⁻¹ 反应体系下,对 α-葡萄糖苷酶抑制活性达到 90.8% 以上,属于竞争性抑制类型(Ki=2.53 g·L⁻¹);以美丽鳞毛蕨粗多糖为实验药物,淀粉蔗糖负荷剂量后小鼠耐糖量与对照组比较,淀粉组和麦芽糖组血糖值降低较为明显(P<0.01),蔗糖组次之(P<0.05)。结论:美丽鳞毛蕨粗多糖对 α-葡萄糖苷酶抑制活性高,属于竞争性抑制,并能提高正常小鼠的耐糖量。

[关键词] 美丽鳞毛蕨;α-葡萄糖苷酶抑制剂;耐糖量

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)09-0243-04

Effect of *Dryopteris laeta* Polysaccharide on
α-glucosidase Enzyme and Blood Glucose in Mice

MA Ji-xiong^{1,2}, MA Xiang-zhong¹, ZENG Yang^{1,2*}

(1. School of Life and Geographical Scienses Qinghai Normal University, Xining 810000, China;

2. Key Laboratory of Education Department of Environment and Resources on
Tibetan Plateau, Xining 810008, China)

[Abstract] Objective: To observe the effect of *Dryopteris laeta* polysaccharide on α-glucosidase enzyme and blood glucose in mice. Method: The α-glycosidase enzymes activity determination method was used to determine the polysaccharide dryopteris beautiful plants for α-glucosidase inhibitory activity; *D. laeta* polysaccharide was considered as experimental drugs, the mice with blood glucose range of 4.0-9.0 mmol·L⁻¹, were chosen. According to the weight mice were divided in at random into 16 groups, 10 each group. After 3 days of adaptive feeding, mice were given with normal saline (0.135 g·kg⁻¹), acarbose (0.625 g·kg⁻¹), high doses of crude polysaccharide (0.48 g·kg⁻¹), low dose of crude polysaccharide (0.24 g·kg⁻¹), once a day. After 4 days of modeling, at day 5 mice were fed with glucose (2.0 g·kg⁻¹), sucrose (4.0 g·kg⁻¹), maltose (4.0 g·kg⁻¹), starch (6.0 g·kg⁻¹) as a loading dose. In 15, 30, 60, 120 min, blood glucose was measured, the influence of *D. laeta* polysaccharide on glucose, maltose, starch loading doses of blood glucose was observed after feeding sucrose in normal mice. Result: When *D. laeta* polysaccharide concentration in the sample was under 10 g·L⁻¹, reaction of α-glucosidase inhibitory activity reached more than 90.8%, which was considered as a competitive type of inhibition (Ki=2.53 g·L⁻¹). The polysaccharide as the experimental drug, after giving a

[收稿日期] 20110818(003)

[第一作者] 马继雄,从事资源植物学研究,Tel:15332380143, E-mail majixiong@sohu.com

[通讯作者] * 曾阳,Tel: 13997098645, E-mail zy-3@263.net

loading dose of starch sugar, compared with control group, blood glucose level in maltose and starch group decreased more significantly ($P < 0.01$), followed by sucrose group ($P < 0.05$). **Conclusion:** *D. laeta* polysaccharide has an inhibitory activity on α -glucosidase, which is considered as a competitive inhibition, and can improve glucose tolerance in normal mice.

[**Key words**] *Dryopteris laeta*; α -glucosidase inhibitors; glucose tolerance

人体对淀粉、糊精、蔗糖等碳水化合物的利用吸收依赖于小肠刷状缘上 α -葡萄糖苷酶 (α -glucosidase,) 的活性^[1-2]。该酶抑制剂可使葡萄糖的生成及吸收减缓,降低餐后高血糖,从而减少高血糖对胰腺的刺激,提高胰岛素的敏感性,保护胰腺的功能,预防并改善糖尿病并发症的发生和发展。近年来研究表明 α -葡萄糖苷酶抑制剂还可抑制蛋白糖基化,且具有抗 HIV、抗病毒感染和免疫刺激活性等作用^[3-4]。作者在对具有 α -葡萄糖苷酶抑制作用的高寒植物筛选中,发现美丽鳞毛蕨粗多糖对 α -葡萄糖苷酶具有较强的抑制活性^[5-6]。并测定美丽鳞毛蕨粗多糖对蔗糖、葡萄糖、麦芽糖、淀粉负荷剂量后的正常小鼠血糖影响。

1 材料

1.1 样品 美丽鳞毛蕨 *Dryopteris laeta* (Komar) C. Chr 采自青海省互助县(互助北山),海拔 2 700 m,由青海师范大学生命与地理科学学院马继雄副教授鉴定。将美丽鳞毛蕨枝叶粉碎成粗粉,称取 100 g 置于 500 mL 的圆底烧瓶中,加入石油醚 400 mL 回流提取 2 次,每次 2 h,然后用 80% 乙醇回流提取 1 h,残渣在水浴上挥干溶剂,加入 800 mL 水回流提取 3 次,每次 2 h,合并提取液并浓缩。浓缩后加 95% 乙醇沉淀,使得含醇量达到 70%,5 ℃ 静置过夜后抽滤,沉淀用水溶解后,将溶液中加入三氯甲烷-正丁醇(4:1)1:1 多次萃取,除去蛋白质,之后用丙酮、乙醚相继洗涤后,用旋转蒸发器浓缩得到美丽鳞毛蕨粗多糖,得率 9.20%。

1.2 动物 健康的普通级(CV)昆明种系(KM)小白鼠,6~8 周龄,体重(20±2) g,共 180 只(青海省实验动物中心提供,青医动字第 01 号)。试验前于动物实验室内正常喂养 1 周,以适应实验室环境。给予标准小鼠饲料,自由进食和饮水,饮用水为自来水。

1.3 试剂 α -葡萄糖苷酶(美国 Sigma 公司,批号 092K7445);对硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷(PNPG,纯度 99%,美国 Sigma 公司,批号 027K1446);阿卡波糖(商品名:拜唐平,德国拜耳公司);所用化学试剂均为市售分析纯。ACCU-CHEK Active 血糖仪

(Roche, Mannheim Germany)和血糖试纸。

1.4 仪器 Autolab PM400-3 全自动分光光度仪(北京兰桥医学科技有限公司),BCD-210C 低温冰箱(青岛海尔有限公司),HH-1-6 型恒温振荡器(常州国华电器有限公司),AB104-N 电子天平(南京庚辰科学仪器有限公司),UV-9100 紫外分光光度计(北京瑞利分析仪器公司)。

2 方法

2.1 相关溶液的配制 底物溶液:将对硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷 0.091 g 溶于 DMSO 1 mL 中,加入蒸馏水 1.6 mL,配成 0.116 mol·L⁻¹的底物溶液。葡萄糖苷酶溶液以 0.05 mol·L⁻¹磷酸盐缓冲液配制 0.1 U·mL⁻¹的溶液。磷酸盐缓冲液(PB)用蒸馏水配制浓度为 0.2 mol·L⁻¹的 PB 缓冲液,调 pH 为 6.8,使用时稀释成 0.05 mol·L⁻¹。Na₂CO₃ 终止液 Na₂CO₃ 106 g 溶于蒸馏水 1 000 mL 中,配制成 1 mol·L⁻¹的反应终止液。

2.2 酶抑制活性测定方法和酶活性抑制率的计算

根据 Chapdelaine 等^[5]已有方法改进,以 PNPG 为底物, α -葡萄糖苷酶催化水解 PNPG 的活性,产生对硝基酚(PNP),以一定时间内反应体系中对硝基酚的含量变化来计算样品提取物的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。确定以 0.5 mL Eppendorf 管为反应载体,最终反应体积为 500 mL。

反应体系:取磷酸缓冲液 250 μ L 和 0.017 6 mol·L⁻¹的 PNPG 50 μ L,加入质量浓度为 0.625 g·L⁻¹的样品 50 μ L 和 0.1 U·mL⁻¹的 α -葡萄糖苷酶 50 μ L 后温浴 20 min,用 1 mol·L⁻¹碳酸钠溶液 100 μ L 做终止反应,将反应液置于全自动分光光度仪 405 nm 波长下测定吸光度,并用蒸馏水代替酶液作为空白对照,每个样品同一浓度下同时作 3 个平行试验,取平均值。抑制剂活力单位定义:在 37 ℃,pH 6.8 条件下降低 1 个酶活力单位所需的抑制剂的量。

酶活力抑制率 = (抑制剂活力/酶活力) × 100%

由于样品提取物都含有色素,因此每个样品需要测定背景吸收,以 0.05 mol·L⁻¹磷酸盐缓冲液代替样品进行校正,另外为消除 PNPG 对测定结果的

影响,对底物的背景吸收同样进行了校正。

根据抑制率的定义与本实验的实际方法,样品提取物对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制率按下式计算:

$$\text{抑制率} = (AE - A) / AE \times 100\%$$

式中: AE 为酶与底物反应后的吸光度(扣除相应空白), A 为加入抑制剂后酶反应的吸光度(扣除相应空白)。

2.3 美丽鳞毛蕨粗多糖酶学动力学实验 分别对美丽鳞毛蕨粗多糖浓度、水浴温度、pH 值、反应时间等多种因素的改变,观察美丽鳞毛蕨粗多糖在不同的反应条件下与酶活性抑制率的影响。

2.3.1 美丽鳞毛蕨粗多糖不同浓度对酶的抑制活性 准确称取纯化后干燥的美丽鳞毛蕨粗多糖,分别配制成质量浓度为:0.312,0.625 0,1.25,2.50,5,10 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,依照 AGI 活性的测定方法,在相同温度、时间和 pH 条件下进行酶反应,终止后分别测定不同浓度下的吸光度,计算抑制率。

2.3.2 美丽鳞毛蕨粗多糖与酶的反应时间对酶的抑制活性 在美丽鳞毛蕨粗多糖质量浓度为 5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 条件下,与酶的反应时间分别为:0,0.50,1.00,2.00,3.00,5.00,10.00 min,反应终止后分别测定酶活性抑制率。

2.3.3 美丽鳞毛蕨粗多糖在不同的 pH 条件下对酶的抑制活性 美丽鳞毛蕨粗多糖质量浓度为 5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,相同反应体系,pH 分别为 2.0,3.0,4.0,5.0,6.0,7.0,8.0,9.0,10.0,11.0,12.0 的条件下,测定粗美丽鳞毛蕨粗多糖对酶活性抑制作用。

2.3.4 美丽鳞毛蕨粗多糖在不同水浴温度下对酶的抑制活性 美丽鳞毛蕨粗多糖的质量浓度为 5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,水浴时间为 10 min,分别测定美丽鳞毛蕨粗多糖在不同的水浴温度下,即 37 $^{\circ}\text{C}$,70 $^{\circ}\text{C}$,100 $^{\circ}\text{C}$,对酶的抑制活性。

2.4 美丽鳞毛蕨粗多糖对 α -葡萄糖苷酶抑制作用类型的测定 底物浓度为 $124.32 \times 10^3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,分别按 1:5,1:10,1:15,1:20 的比例稀释成 4 个不同的浓度,即 $24.86 \times 10^3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $12.43 \times 10^3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $8.29 \times 10^3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $6.22 \times 10^3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 与质量浓度为 25,50,100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的美丽鳞毛蕨粗多糖,测定其反应速度。按 Lineweaver-Burk 作图法,绘制美丽鳞毛蕨粗多糖的抑制作用的动力学曲线。

2.5 美丽鳞毛蕨粗多糖对小鼠耐糖量影响 取血糖值 4.0 ~ 9.0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的小鼠 160 只,按体重随机分成 16 小组,每组 10 只测定小鼠血糖并记录。适

应性饲养 3 d 后,禁食不禁水 12 h 后,从尾静脉采血用 ACCU-CHEK Active 血糖仪(Roche, Mannheim Germany),测定小鼠的血糖值。分别用生理盐水(15 $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$),阿卡波糖(0.625 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$),高剂量美丽鳞毛蕨粗多糖(0.48 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$),低剂量美丽鳞毛蕨粗多糖(0.24 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)给小鼠灌胃,每天 1 次,连续 4 d;第 5 d 分别用葡萄糖(2.0 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、蔗糖(4.0 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、麦芽糖(4.0 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、淀粉(6.0 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)给小鼠负荷剂量,在 15,30,60,120 min 时间点测量小鼠血糖值并记录。

2.6 统计方法 实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,由计算机用 SPSS 13.0 统计软件包中的 ANOVA 法进行单因素方差分析处理,组间比较采用 t 检验处理, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 美丽鳞毛蕨粗多糖的不同质量浓度对酶的抑制活性的影响 美丽鳞毛蕨粗多糖质量浓度为 0.625 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时对酶的活性抑制率就已经达到了 60.83%,当美丽鳞毛蕨粗多糖质量浓度在 0.625 ~ 10 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,酶的抑制率随着浓度的增加而升高,当质量浓度为 10 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到 90.8%。

3.2 美丽鳞毛蕨粗多糖与酶的反应时间对酶的抑制活性 美丽鳞毛蕨粗多糖在约 0.5 min 内,对酶活性的抑制率就达到了 89.9%,之后,随着反应时间的延长对酶的抑制活性没有出现明显的变化。得出美丽鳞毛蕨粗多糖在短时间内能与酶快速的结合,并显示出较强的抑制活性,为一种快速、高亲和性的酶抑制剂。

3.3 美丽鳞毛蕨粗多糖在不同的 pH 条件下对酶的抑制活性 美丽鳞毛蕨粗多糖在 pH 5 ~ 8 时,对酶的活性抑制率保持在一个相对稳定的水平上即 87.7% ~ 90.08%,波动范围小;pH 7 时酶的活性较高。

3.4 美丽鳞毛蕨粗多糖在不同水浴温度下对酶的抑制活性 在 37 $^{\circ}\text{C}$ ~ 100 $^{\circ}\text{C}$,美丽鳞毛蕨粗多糖对酶的抑制活性保持在 80% 以上,说明它对热的稳定性较好。

3.5 美丽鳞毛蕨粗多糖对 α -葡萄糖苷酶抑制作用类型的测定 美丽鳞毛蕨粗多糖的抑制作用类型为竞争性抑制,通过以 $1/[S]$ 为横坐标, $1/[V]$ 为纵坐标双倒数作图,由双倒数曲线图(图 1),得美丽鳞毛蕨粗多糖的表观 $K_m = 1.83 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,美丽鳞毛蕨粗多糖的抑制常数 $K_i = 2.53 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

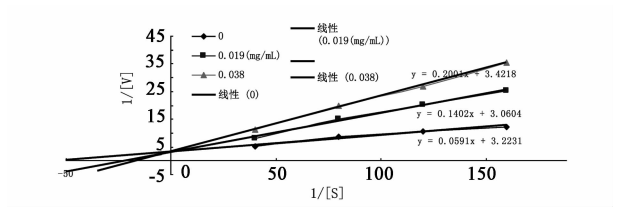


图 1 美丽鳞毛蕨粗多糖对酶的抑制类型

3.6 美丽鳞毛蕨粗多糖对小鼠耐糖量的影响
与对照组比较,美丽鳞毛蕨粗多糖能改善高血糖小鼠的糖耐量。明显降低用淀粉、麦芽糖和蔗糖负荷后小鼠的血糖值,给药后 15 min,30 min 后,下降趋势明显,具有统计学的意义(见表 1)。

表 1 美丽鳞毛蕨粗多糖对小鼠耐糖量的影响 ($\bar{x} \pm s$)
mmol·L⁻¹

糖负荷种类	组别	剂量 /g·kg ⁻¹	正常血糖	禁食 12 h 血糖	糖负荷后不同时间血糖			
					15 min	30 min	60 min	120 min
葡萄糖	鳞毛蕨粗多糖	0.48	5.84 ± 1.11	3.96 ± 0.75	12.58 ± 1.42	9.86 ± 1.17	7.88 ± 0.73	7.48 ± 0.65
	鳞毛蕨粗多糖	0.24	5.33 ± 1.32	4.35 ± 0.74	12.74 ± 2.09	10.18 ± 0.67	8.58 ± 0.72	7.60 ± 0.48
	阿卡波糖	0.625	6.76 ± 1.03	5.23 ± 0.32	11.14 ± 1.39	9.42 ± 0.70	8.00 ± 0.67	6.44 ± 0.58
	生理盐水	-	6.87 ± 0.94	5.14 ± 0.56	12.29 ± 1.66	11.97 ± 1.32	8.55 ± 0.97	8.00 ± 0.68
蔗糖	鳞毛蕨粗多糖	0.48	6.96 ± 1.29	5.96 ± 0.28	7.95 ± 0.78 ²⁾	8.04 ± 0.84 ²⁾	7.56 ± 0.63	7.04 ± 0.56
	鳞毛蕨粗多糖	0.24	5.71 ± 1.29	4.41 ± 0.22	8.48 ± 0.91	8.96 ± 0.58	7.96 ± 0.32	7.16 ± 0.77
	阿卡波糖	0.625	6.03 ± 1.13	5.95 ± 0.31	7.24 ± 0.44 ²⁾	7.40 ± 0.37 ²⁾	7.34 ± 0.35	6.58 ± 0.38
	生理盐水	-	6.01 ± 1.31	4.91 ± 0.42	10.04 ± 1.40	10.44 ± 1.58	9.52 ± 1.28	7.48 ± 0.98
麦芽糖	鳞毛蕨粗多糖	0.48	6.72 ± 0.58	5.14 ± 0.65	6.26 ± 1.01 ¹⁾	6.39 ± 1.30 ¹⁾	6.02 ± 0.85	6.76 ± 1.04
	鳞毛蕨粗多糖	0.24	6.65 ± 0.44	5.07 ± 0.90	6.97 ± 0.84 ¹⁾	7.02 ± 0.88 ¹⁾	6.53 ± 0.72	6.54 ± 0.61
	阿卡波糖	0.625	6.81 ± 0.99	5.11 ± 0.83	7.58 ± 0.98 ²⁾	7.67 ± 1.02 ²⁾	6.61 ± 0.87	6.79 ± 0.88
	生理盐水	-	6.15 ± 1.11	5.02 ± 0.86	10.23 ± 1.62	10.98 ± 1.57	8.45 ± 1.01	6.07 ± 0.92
淀粉	鳞毛蕨粗多糖	0.48	6.17 ± 0.97	5.33 ± 0.77	6.53 ± 0.20 ¹⁾	7.48 ± 0.79 ¹⁾	7.13 ± 0.57	6.21 ± 0.48
	鳞毛蕨粗多糖	0.24	5.91 ± 1.02	4.96 ± 0.68	7.86 ± 0.73 ²⁾	8.10 ± 0.91 ²⁾	7.72 ± 0.90	6.83 ± 0.58
	阿卡波糖	0.625	5.49 ± 1.38	4.31 ± 1.09	7.22 ± 0.58 ²⁾	7.66 ± 0.59 ²⁾	7.14 ± 0.56	6.43 ± 0.86
	生理盐水	-	5.91 ± 0.89	4.27 ± 0.46	9.48 ± 0.92	9.90 ± 1.03	7.33 ± 0.76	6.32 ± 0.73

注:与生理盐水组比较¹⁾ $P < 0.01$, ²⁾ $P < 0.05$ 。

4 讨论

经本试验初步研究表明,美丽鳞毛蕨粗多糖在体外具有很强的 α-葡萄糖苷酶抑制活性。酶抑制作用类型研究显示,其呈竞争性抑制作用, $K_m = 1.83 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $K_i = 2.53 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。耐糖量实验表明,明显降低用淀粉、麦芽糖和蔗糖负荷后小鼠的血糖,给药 60,120 min 后,美丽鳞毛蕨粗多糖各剂量组和阿卡波糖各组小鼠血糖水平无明显降低。无论是美丽鳞毛蕨粗多糖还是阿卡波糖给药后,均对葡萄糖负荷后的小鼠血糖没有明显的降低趋势。因为葡萄糖本身是单糖,无需转化可以直接被小肠吸收入血,淀粉是多糖,蔗糖、麦芽糖是双糖,二者必须在 AG 的作用下转化成葡萄糖才能入血,美丽鳞毛蕨粗多糖主要是通过抑制 AG 起作用的,阻止多糖和双糖转变成单糖进入血液,从而达到降低血糖的目的。在对小鼠负荷糖耐量的试验中,提示美丽鳞毛蕨粗多糖能够降低对淀粉、麦芽糖、蔗糖引起的高血糖,淀粉组和麦芽糖组的血糖值降低最为明显,降血糖作用与剂量有一定的相关性,说明美丽鳞毛蕨粗多糖和阿卡波糖的体内抑制作用机制相似,是一种 AGI,通过抑制肠道内的 AG 发挥降血糖的作用。

[参考文献]

[1] Alan D. Glycosidase inhibitors as antiviral and/or antitumor agents[J]. CellBiology,1991,2:309.
[2] 池芝盛. 阿卡波糖的临床应用[J]. 中国糖尿病杂志, 1995,3(3):165.
[3] Gruters R A, Nessfjes J J, Tersmette M, et al. Interference with HIV-induced syncytium for mation and viral in fecitivity by inhibitors of trimming glucosidase [J]. Nature,1987,330(6134):74.
[4] Fischer P B, Collin M, Karlsson G B, et al. The alphagluco side inhibitor N-butyldeoxyn ojirimycin inhibits human immunodeficiency viru sentry at the level of post-CD4 binding[J]. J Virol,1995,69(9):5791.
[5] 黄元,陈睿陈,马继雄,等. 高寒菊科植物提取物中 α-葡萄糖苷酶抑制剂的筛选[J]. 中国药科大学学报,2008,39(6):566.
[6] Chapdelaine P,Tremblay R R,Dube J Y. P-Nitrophenyl alpha-glucopyranoside as substrate for measurement of maltase activity in human semen[J]. Clin Chem, 1978, 24(2):208.

[责任编辑 聂淑琴]