

帕病 2 号方对帕金森病大鼠的保护作用

文晓东¹, 雒晓东², 王春玲^{3*}

(1. 广州中医药大学, 广州 510405; 2. 广东省中医院, 广州 510120; 3. 广西中医学院, 南宁 530001)

〔摘要〕 目的:研究帕病 2 号方对帕金森病(PD)模型大鼠的抗氧化作用。方法:采用 6-羟基多巴胺(6-OHDA)纹状体两点注射法造成左侧纹状体损毁模型,ip 阿朴吗啡(APO)诱导并诊断大鼠旋转行为,将造模成功大鼠随机分为帕病 2 号方高、中、低剂量组(32.0,16.0,8.0 g·kg⁻¹)、美多巴组(0.075 g·kg⁻¹)、模型组,连续 ig 4 周,同时设立正常组,正常组与模型对照组给予等容积蒸馏水;应用比色法测定大鼠纹状体匀浆中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性及丙二醛(MDA)的含量,ip APO 诊断大鼠旋转行为的变化。结果:神经行为学方面,模型组大鼠治疗前后旋转圈数无显著差异,帕病 2 号方高、中剂量组大鼠旋转圈数较模型组显著减少($P<0.05$),且治疗前后比较差异显著($P<0.05$);美多巴组大鼠旋转圈数亦明显减少($P<0.05$)。模型组 MDA(13.48 ± 3.71) nmol·mg⁻¹ 明显升高, GSH-Px, SOD(497.48 ± 72.61) NU·g⁻¹, (113.11 ± 8.08) U·mg⁻¹ 明显降低,与正常对照组相比差异显著($P<0.05$ 或 $P<0.01$);帕病 2 号方高、中剂量组可明显降低 MDA(9.29 ± 3.25), (9.62 ± 2.78) nmol·mg⁻¹, 提高 GSH-Px, SOD 活性[分别为(612.53 ± 53.20), (637.03 ± 133.21) NU·g⁻¹ 及 (123.93 ± 9.84), (120.21 ± 10.63) U·mg⁻¹]($P<0.05$);低剂量组仅 GSH-Px 增加(573.19 ± 54.86) NU·g⁻¹, MDA, SOD 则无显著改变。美多巴组上述指标均无显著改善。结论:帕病 2 号方明显改善 PD 模型大鼠的旋转行为,提高其抗氧化能力和清除自由基的能力,并呈明显的量效关系。

〔关键词〕 帕金森病;帕病 2 号方;抗氧化作用

〔中图分类号〕 R285.5 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2012)09-0224-05

〔收稿日期〕 20111112(008)
〔基金项目〕 广东省卫生厅医学科研项目(C2010029)
〔第一作者〕 文晓东,博士研究生,主治医师,从事帕金森病临床及实验研究, Tel:13929594856, E-mail:wen909502xiaodong@yahoo.com.cn
〔通讯作者〕 *王春玲,医学博士,讲师,从事中药药效及药理研究, Tel:18277134674, E-mail:lingling9699china@yahoo.com.cn

单次及多次给药对大鼠胃组织受体水平的影响。结果显示,大黄和苍术主要影响受体数,且均表现为增加受体数,对受体结合常数(表征结合能力)影响不大。这可能与机体自身对于偏态有自我调节的功能有关。对于血清和组织 GAS 和 MTL 水平的变化,以单次和 7 次给药比较明显,但是对于受体数的变化,14 次和 28 次给药变化较明显。这可能跟受体数变化需要一定时间做出反应有关。

以往文献对单味药大黄或苍术对胃肠激素影响的报道不完全一致^[1-4]。作者对文献进行分析后认为,其主要原因是由于药材品种、产地、炮制、给药剂量、给药周期、动物性别、体重等诸多因素的影响,导致研究结果的不确定性。作者在同一实验条件下观察了大黄和苍术对正常大鼠胃肠激素及其受体水平的影响,尽管其检测结果中的一些数据与对照组比较并未出现显著性影响,但寒性药味大黄及温性药

味苍术给药各阶段对正常大鼠胃肠 MTL 和 GAS 及其受体水平的作用趋势已基本明确,其对于今后进一步探讨具有药性相反、作用靶点一致属性药对胃肠生物效应的差异奠定了基础,为进一步研究其病、生理条件下的作用差异奠定了基础。

〔参考文献〕

[1] 李永渝,魏玉,李岩. 藿香大黄等中药对胃泌素分泌的影响[J]. 遵义医学院学报,1998,21(2):6.

[2] 郑小伟,王颖,宋红. 三种脾气虚证模型大鼠血清胃泌素及胃窦 G 细胞的比较研究[J]. 中华中医药杂志,2006,21(6):338.

[3] 邱赛红,首第武,陈立峰,等. 芳香化湿药挥发油部分与水溶液部分药理作用的比较[J]. 中国中药杂志,1999,24(5):297.

[4] 王学清,王秀杰,李岩. 香砂平胃散对小鼠胃排空的影响[J]. 世界华人消化杂志,2003,11(5):571.

〔责任编辑 何伟〕

Experimental Study on Protective Effects of Pabing II Formula in Parkinson's Disease Rats

WEN Xiao-dong¹, LUO Xiao-dong², WANG Chun-ling^{3*}

(1. Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;

2. Guangdong province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China;

3. Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China)

[Abstract] Objective: To observe the effect of the antioxidation on Parbin II formula in Parkinson's disease (PD) rats. **Method:** PD rats were induced by injection of 6-hydroxydopamine (6-OHDA) twice stereotaxically into the left side of striatum, the rotation test was diagnosed by injecting apomorphin (APO), the PD rats were randomly divided into five groups: model group, Parbin II formula (32.0, 16.0, 8.0 g · kg⁻¹) and madopar group (0.075 g · kg⁻¹), at the same time, the normal group was established and the treatment lasted for 4 weeks. The model group and the normal group were given vehicle only. The colorimetric assays were used to detect the activities of glutathione peroxidase (GSH-Px), superoxidase dismutase (SOD) and the levels of malonaldehyde (MDA) in tissue homogenate that came from the the left side of striatum and behavioural changes were detected by injection of APO after the treatment. **Result:** There was no significant difference in the rotation behavior between before and after treatment in model group; compared with model group, the rotation behavior was significantly decreased in Parbin II formula high and media dose group ($P < 0.05$), and there was a significant difference between before and after treatment ($P < 0.05$). Madopar could also change the rotation behavior in PD rats. However, Parbin II formula low dose group had no change. Compared with the normal control group, the contents of MDA were obviously increased and the activities of GSH-Px and SOD were obviously reduced in model group ($P < 0.05$). However, the above indicators were improved in Parbin II Formula treatment group, the high, media dose group can decreased obviously MDA contents and had the significant difference ($P < 0.05$), which were (9.29 ± 3.25) , (9.62 ± 2.78) nmol · mg⁻¹ respectively, increased obviously the activities of GSH-Px and SOD ($P < 0.05$), which was (612.53 ± 53.20) , (637.03 ± 133.21) NU · g⁻¹, (123.93 ± 9.84) , (120.21 ± 10.63) U · mg⁻¹ respectively; low dose group could only remove the activities of GSH-Px and had no change in MDA and SOD contents. However, there was no significant difference in the above indicators in madopar group. **Conclusions:** Pabing II formula can significantly improve the rotation behavior of PD model rats, enhance antioxidation ability and eliminate free radicals ability, and its effect is in a dose dependent manner.

[Key words] Parkinson's disease; Parbin II formula; the effect of antioxidation

帕金森病(Parkinson's disease,PD)是一种老年常见的、严重危害中老年健康的慢性进展性神经系统变性疾病。目前复方左旋多巴类药物仍然是治疗PD的“金标准”,但所有的治疗措施仍停留在对症治疗阶段,并不能阻止疾病的进展,且长期应用会产生疗效减退及难以纠正的症状波动、异动症等,因而现代医学提出了对PD进行神经保护性治疗,这可能推迟发病或延缓病情的发展^[1],为当前研究的热点。但迄今为止,尚未找到一种能确切保护神经元,延缓PD病情的药物,在这方面仍需要进行大量的研究。近年来大量的实验和临床研究从多方面试图

阐明中药神经保护作用,在应用中药复方治疗PD机制方面进行了许多有意义的研究和探索。中药复方在PD的神经保护作用可发挥多重靶标优势^[2],有着良好的应用前景。帕病2号方为导师雒晓东教授治疗PD的经验方,源出《伤寒论·厥阴病》主方乌梅丸,具有滋养肝肾,熄风止颤之功效。

本课题在已有的临床研究基础之上,采用神经毒素6-羟多巴胺(6-hydroxydopamine,6-OHDA)单侧纹状体损毁法复制PD动物模型,观察帕病2号方对PD大鼠行为学及氧化应激反应的影响,旨在进一步证实其对PD的治疗作用。

1 材料

1.1 动物 雄性SD大鼠80只,SPF级,体重210~240 g,由广东省医学实验动物中心提供,许可证号SCXK(粤)2008-002。

1.2 仪器 TL-251603型大鼠脑立体定位仪(美国,STOELTING),307-6型台式牙钻车(上海医用分析仪器厂),Allegra X-22低温高速离心机(BeckmanCoulter, USA),PL403型精密电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),721型分光光度计(上海第三分析仪器厂),超声波匀浆器(美国,PRO DPS-20型)。

1.3 药物 帕病2号方(乌梅20 g,黄连3 g,白芍20 g,当归10 g,熟附子10 g,熟地黄10 g,何首乌20 g,川芎10 g,葛根20 g,生晒参10 g,石菖蒲5 g,天麻10 g,龟板10 g,炙甘草3 g)饮片购自广州中医药大学第二附属医院药剂科,以1:10及1:8比例分别水煎2次,过滤,合并药液,浓缩至 $1.6\text{ kg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的浸膏。左旋多巴-苄丝肼(商品名:美多巴,上海罗氏制药有限公司生产,批号SH1081)。

1.4 试剂 6-羟基多巴胺(6-OHDA,批号16000-085)、阿朴吗啡(APO,批号3522C02)、抗坏血酸(批号4250B06)均购自美国Sigma公司;超氧化物歧化酶试剂盒(SOD,批号20110125)、谷胱甘肽过氧化物酶试剂盒(GSH-Px,批号20110120)、丙二醛试剂盒(MDA,批号20101216)试剂盒及考马斯亮蓝试剂盒(批号20101103)均购自南京建成生物工程研究所。

2 方法

2.1 药物的配制 6-OHDA溶液:1 mg 6-OHDA溶于含0.2%抗坏血酸的生理盐水200 μL 中,质量浓度为 $5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,现用现配。0.05% APO溶液:5 mg APO溶于生理盐水10 mL中,现用现配。

2.2 动物造模 术前按常规进行行为学测试,确认无异常旋转行为后,以10%水合氯醛($3.5\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)给予大鼠腹腔注射麻醉。头部毛发备皮,固定于脑立体定位仪上,参照文献方法^[3]脑立体定位图谱,确定左侧纹状体(CPU)两点坐标:前囟嘴侧(AP)+1.6 mm,正中线上旁开(ML)-2.8 mm,大脑表面腹侧-5.0 mm;前囟尾侧(AP)-1.0 mm,正中线上旁开(ML)-4.5 mm,大脑表面腹侧-5.0 mm;进行标记定位后,牙科钻在相应部位钻透颅骨。用微量进样器吸取6-OHDA($5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{ }\mu\text{L}^{-1}$)缓慢进针达预定深度,以 $1\text{ }\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ 速度注入,每点各注射3 μL ,注射完毕后留针10 min,缓慢退出,缝合皮肤。术后予以

青霉素肌肉注射预防感染,待动物清醒后放回饲养笼中饲养。术前、术后均在SPF级条件下饲养,大鼠自由进食、饮水。

2.3 筛选PD大鼠模型 术后第2周开始给受试大鼠ip $0.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ APO诱发大鼠向健侧单向旋转,记录开始旋转后30 min内的旋转圈数,动物以健侧前肢或后肢为支点、身体环曲、首尾相接原地旋转,伴觅食样动作。旋转360度为一转(r),若大鼠恒定转向右侧,最大转速大于 $7\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,30 min内旋转圈数大于150 r,视为PD大鼠模型制作成功^[4]。供进一步试验之用。

2.4 分组及给药 选取注射手术完成后第2周和第3周旋转试验符合标准的60只大鼠,按照旋转圈数结合体重随机分成5组,每组12只,即模型组、美多巴组($0.075\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、帕病2号方高、中、低剂量组(按生药量计,32.0, 16.0, 8.0 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$),各给药组ig给药,同时纳入12只正常大鼠为正常组,正常组和模型组均给予等容积的蒸馏水。每天1次,连续4周。

2.5 大鼠神经行为学检测 上述分组动物在术后第22天(3周)、第29天(4周)、第36天(5周)、第43(6周)天分别进行阿朴吗啡诱导的旋转行为实验,并记录体重。

2.6 组织匀浆 GSH-Px, SOD 的活性及 MDA 的含量测定 末次给药后第2天(6-OHDA注射术后的第44天),应用10%水合氯醛ip深度麻醉动物后,立即断头取脑,在冰上迅速分离出大鼠左侧纹状体,用预冷的生理盐水冲洗干净,滤纸吸干水分,称重后放入5 mL的小烧杯中,加适量预冷的生理盐水(体积总量为组织重量的9倍),用眼科剪剪碎,倒入匀浆管中,用超声波匀浆器制备成10%的组织匀浆,4 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心5 min,取上清液备测。应用考马斯亮蓝法测匀浆上清液蛋白含量后,再按试剂盒说明书测组织匀浆中GSH-Px, SOD的活性及MDA的含量。

2.7 统计学方法 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 13.0统计软件,多组均数采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表明数据差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对PD大鼠神经行为学的影响 正常对照组未见旋转行为。模型组大鼠治疗前后旋转圈数比较差异无统计学意义,表明6-OHDA纹状体注射后建立的PD动物模型是稳定可靠的。与治疗前相比,帕病2号方高剂量组治疗2周开始即能改善大鼠旋

转行为($P < 0.05$);中剂量组治疗3周后与治疗前相比,旋转圈数明显较少($P < 0.05$);低剂量治疗4周后与治疗前相比,大鼠旋转行为无明显改变。美多巴组治疗3周后与治疗前相比能改善大鼠旋转行为($P < 0.05$)。

与模型组同期相比较,帕病2号方高剂量治疗3周后能明显改善PD大鼠的旋转行为($P < 0.05$),4周结束后有显著差异($P < 0.01$);中剂量组治疗3周后与模型组相比,旋转圈数明显较少($P < 0.05$)。见表1。

表1 帕病2号方对大鼠开始旋转后30 min 内的旋转圈数的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

旋转数/r

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	治疗前	治疗1周	治疗2周	治疗3周	治疗4周
正常对照	—	0	0	0	0	0
模型	—	185.4 ± 26.0	191.7 ± 31.0	197.5 ± 40.3	194.8 ± 33.5	198.3 ± 38.0
帕病2号方	32.0	196.2 ± 30.5	206.5 ± 41.0	$170.2 \pm 28.3^{1)}$	$158.6 \pm 50.2^{1,3)}$	$145.8 \pm 42.1^{2,4)}$
	16.0	190.8 ± 36.5	183.2 ± 42.4	176.3 ± 45.0	$169.4 \pm 48.2^{1,3)}$	$161.7 \pm 38.5^{1,3)}$
	8.0	184.2 ± 44.5	191.3 ± 47.0	179.2 ± 46.1	172.5 ± 54.3	163.9 ± 63.3
美多巴	0.075	192.7 ± 29.8	186.5 ± 30.3	161.8 ± 44.0	$158.3 \pm 39.0^{1,3)}$	$151.5 \pm 35.6^{2,4)}$

注:与治疗前比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组同期比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ 。

3.2 对大鼠左侧纹状体氧化应激反应的影响 与正常对照组相比,模型组大鼠左侧纹状体MDA含量明显升高,GSH-Px和SOD活性均明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组相比,帕病2号方高剂量组治疗4周结束后,上述指标均有明显改善,能降低MDA含量,提高GSH-Px,SOD活性($P < 0.05$);中剂量组可提高GSH-Px活性并降低MDA含量($P < 0.05$),SOD活性与模型组相比差异无统计学意义;低剂量组仅GSH-Px活性增加($P < 0.05$),MDA、SOD则无显著改变。美多巴组上述指标均无显著改善,见表2。

表2 帕病2号方对大鼠左侧纹状体SOD、GSH-Px活性及MDA含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	SOD/ $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$	MDA/ $\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$	GSH-Px/ $\text{nU} \cdot \text{g}^{-1}$
正常对照	—	127.85 ± 12.39	8.76 ± 2.34	701.49 ± 53.86
模型	—	$113.11 \pm 8.08^{1)}$	$13.48 \pm 3.71^{1)}$	$497.48 \pm 72.61^{2)}$
帕病2号方	32.0	$123.93 \pm 9.84^{3)}$	$9.29 \pm 3.25^{3)}$	$612.53 \pm 53.20^{4)}$
	16.0	120.21 ± 10.63	$9.62 \pm 2.78^{3)}$	$637.03 \pm 133.21^{3)}$
	8.0	119.17 ± 12.59	12.24 ± 4.08	$573.19 \pm 54.86^{3)}$
美多巴	0.075	109.34 ± 11.72	15.17 ± 6.61	486.11 ± 66.85

注:与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

神经毒素6-OHDA纹状体注射后经轴突逆行运输至黑质,造成黑质神经元的毁损,产生类似PD症状,6-OHDA诱导的PD大鼠模型已成为PD经典模型之一^[5]。阿朴吗啡诱导的旋转实验是常用的PD动物模型行为学评价指标,其原理是6-OHDA纹状体注射后造成黑质神经元的毁损,此时患侧黑质-纹状体通路多巴胺D₂受体代偿性大量增加,且敏感性增高,呈超敏现象^[6],因而对PD大鼠模型注射多巴胺受体激动剂APO可使模型动物向健侧产生旋转行为。本实验发现,PD模型大鼠左侧黑质-纹状体通路受损而致向右侧产生旋转行为且大鼠治疗前后旋转圈数变化不大,说明本实验建立的动物模型是稳定可靠的。予帕病2号方干预后,低、中、

高剂量组与模型组相比旋转圈数均明显较少,提示帕病2号方可以改善6-OHDA对毁损侧黑质-纹状体通路的损伤。

目前认为,抗氧化机制障碍及氧化应激可能与PD发病和病情进展密切相关。研究发现,PD患者黑质区存在明显的脂质过氧化,DA能神经元中脂质过氧化物MDA含量明显增多,抗氧化保护系统GSH、GSH-Px、SOD活性明显下降^[7-8]。本实验结果表明,6-OHDA模型鼠左侧纹状体内MDA含量明显升高,SOD和GSH-Px活性明显降低,提示PD模型脑组织中存在明显的氧化应激反应。帕病2号方低、中、高剂量组大鼠毁损侧纹状体内MDA的含量及SOD、GSH-Px的活性与模型组比较均呈现不同程度的改善,尤其是高剂量组改变最为明显,说明帕病

2 号方可减轻模型鼠脑内的氧化应激反应,提高抗氧化酶系的活性和清除自由基的能力,且呈一定的剂量相关。本实验发现,美多巴作为目前 PD 最有效的治疗药物,但不能改善 PD 大鼠的氧化应激状态,甚至有使氧化应激进一步加重的可能,这与文献报道一致^[9],可能是其代谢过程中产生自由基而加速 DA 能神经元的凋亡。

帕病 2 号方为经验方,方中乌梅养肝柔筋,何首乌、熟地黄补益肝肾、强筋壮骨,天麻、龟板熄风止颤,当归、白芍养血柔筋,葛根解肌舒筋,全方共奏滋养肝肾,熄风止颤之功。中药药理研究表明,何首乌可增加脑匀浆中 DA 水平,降低 PD 大鼠 L-DOPA 诱发的脑内羟自由基的增高^[10],其有效成分何首乌多糖能显著提高 D-半乳糖衰老模型小鼠血 SOD,CAT 及 GSH-Px 活力^[11]。乌梅能显著提高小鼠脑、血 SOD 活性^[12]。白芍总苷可显著减少脑组织脂质过氧化产物 MDA 和一氧化氮(NO)的含量,提高脑组织 SOD 活性^[13]。天麻可能通过影响兴奋性毒性、NO 系统、胶质细胞、生物膜、氧化损伤及细胞凋亡等因素起到神经保护作用^[14]。

[参考文献]

[1] Mandel S, Grunblatt E, Riederer P, et al. Neuroprotective Strategies in Parkinson's disease; an update on progress [J]. CNS Drugs, 2003, 17 (10):729.

[2] 刘国卿. 神经元保护剂的研究进展[J]. 药学学报, 2002,37:657.

[3] George Paxinos, Charles Waton. 大鼠脑立体定位图谱[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社.

[4] Sanchez Iglesias S, Rey P, Mendez Alvarez E, et al. Time course of brain oxidative damage caused by intrastriatal administration of 6-hydroxydopamine in a rat

model of Parkinson's disease [J]. Neurochem Res, 2007, 32(1): 99.

[5] Thiele SL, Warre R, Nash JE. Development of a Unilaterally-lesioned 6-OHDA Model of Parkinson's disease[J]. J Vis Exp, 2012, 60(14): 3234.

[6] Iancu R, Mohapel P, Brundin P, et al. Behavioral characterization of a unilateral 6-OHDA -lesion model of Parkinson's disease in mice [J]. Behav Brain Res, 2005, 162(1): 1.

[7] Ali S F, Binienda Z K, Imam S Z. Molecular aspects of dopaminergic neurodegeneration: gene-environment interaction in parkin dysfunction [J]. Int J Environ Res Public Health, 2011, 8(12):4702.

[8] Przedborski S, Ischiropoulos H. Reactive oxygen and nitrogen species: weapons of neuronal destruction in models of Parkinson's disease [J]. Antioxid Redox Signal, 2005,7 (6): 685.

[9] 曹非, 骆芳, 段国安. 左旋多巴加速帕金森病大鼠黑质细胞凋亡的实验研究[J]. 临床神经电生理学杂志, 2007,16(2):67.

[10] 孙晓芳, 王丹巧, 吴兆恩, 等. 首乌方对帕金森病模型大鼠血液和纹状体细胞外液左旋多巴药代动力学影响的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17 (11):114.

[11] 苗明三, 方晓艳. 制何首乌多糖对衰老模型小鼠抗氧化作用的研究[J]. 中药药理与临床, 2002, 18 (5):23.

[12] 张尔贤, 俞丽君, 肖湘. 青竹梅对健康 NIH 鼠 LOP 和 SOD 水平的调节作用[J]. 自然杂志, 1991, 14 (4):313.

[13] 翁小刚, 聂淑琴, 黄璐琦. 芍药科植物的研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志, 2003, 9(1):57.

[14] 孙晓芳, 王巍, 王丹巧, 等. 天麻及其制剂神经保护机制的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(4):292.

[责任编辑 聂淑琴]