

人参养荣汤的急性毒性及抗疲乏抗应激的研究

陈衍智¹, 林飞², 李萍萍^{1*}

(1. 北京大学临床肿瘤学院 北京肿瘤医院暨北京市肿瘤防治研究所中西医结合科, 恶性肿瘤发病机制及转化研究教育部重点实验室, 北京 100142; 2. 中国药品生物制品检定所, 北京 100050)

[摘要] 目的: 观察人参养荣汤的急性毒性以及抗疲劳、抗应激作用。方法: 选择 SPF 级 KM 种小鼠为受试对象, 采用急性经口毒性试验测定最大耐受量, 采用抗疲劳、耐缺氧以及耐高低温试验, 进行抗应激作用的评价。结果: 人参养荣汤的最大耐受量为 $>160 \text{ g 生药/kg}$, 相当于人临床每天口服用量的 76.2 倍。与空白对照组比较, 人参养荣汤的高、中剂量组(按生药量计为 $42.0, 21.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)和十一味参芪片组($1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)可延长小鼠不间断走动疲劳过度从转棒上跌落的时间; 人参养荣汤的高剂量组可延长小鼠断头后喘息时间和小鼠常压下的窒息时间; 人参养荣汤的高、中剂量组和十一味参芪片组具有延长小鼠 45°C 高温下死亡的时间和小鼠 -5°C 低温下死亡时间, 具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论: 人参养荣汤的最大耐受量按生药量计 $>160 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 相当于人临床每天口服用量的 76.2 倍。人参养荣汤可以提高小鼠的抗疲劳、耐缺氧和耐高低温能力, 具有抗疲劳和抗应激作用。

[关键词] 人参养荣汤; 小鼠; 急性毒性试验; 抗疲劳作用; 抗应激作用

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)08-0225-05

[收稿日期] 20100430(005)

[基金项目] 北京市中医局科技项目(2004 京中重 IV15)

[第一作者] 陈衍智, 副主任医师, 硕士学位, 研究方向: 肿瘤中医、中西医结合, Tel: 010-88196273, E-mail: chen9658@sina.com

[通讯作者] *李萍萍, 教授, 主任医师, 博士生导师, 研究方向: 肿瘤中医、中西医结合, Tel: 010-88196273, E-mail: lppma123@yahoo.com.cn

本实验采用体外和体内相结合的实验方法对吴茱萸次碱进行了毒性评价。在体外实验时, 本课题组通过单独培养体系与共培养体系之间的比较性试验, 表明了肝肾共培养体系对药物的反应在一定程度上与肝肾细胞单独培养一致, 而共培养体系具有缩短实验次数、减少药物使用量、辨别药物的优先毒性靶器官、研究药物代谢产物的毒性等优点作用, 符合目前国际上所提倡的“3R 原则”。

[参考文献]

- [1] 余奇一, 郭澄, 程泽能. 吴茱萸次碱的研究进展[J]. 药学实践杂志, 2007, 25(6): 353.
- [2] Li W, Cai S, Cai L, Li X. Anti-apoptotic effect of hepatocyte growth factor from actinomycin D in hepatocyte-derived HL7702 cells is associated with activation of PI3K/Akt signaling[J]. Toxicol Lett, 2006, 20, 165(2): 142.
- [3] Sohn S H, Ko E, Chung H S, et al. The genome-wide

expression profile of Curcuma longa-treated cisplatin-stimulated HEK293 cells[J]. Br J Clin Pharmacol, 2010, 70(4): 547.

- [4] 张启云, 徐国良, 黄丽萍, 等. LC/MS/MS 测定大鼠尿液中吴茱萸碱和吴茱萸次碱的方法学研究[J]. 江西中医学院学报, 2007, 19(6): 32.
- [5] Rannug U, Agurell E, Rannug A, et al. Certain tryptophan photoproducts are inhibitors of cytochrome P450-dependent mutagenicity[J]. Environ Mol Mutagen, 1992, 20(4): 289.
- [6] Ueng Y F, Jan W C, Lin L C, et al. The alkaloid rutaecarpine is a selective inhibitor of cytochrome P450 1A in mouse and human liver microsomes[J]. Drug Metab Dispos, 2002, 30(3): 349.
- [7] Iwata H, Tezuka Y, Kadota S, et al. Mechanism-based inactivation of human liver microsomal CYP3A4 by rutaecarpine and limonin from Evodia fruit extract[J]. Drug Metab Pharmacokin, 2005, 20(1): 34.

[责任编辑 聂淑琴]

Acute Toxicity and Anti-stress Effect of Ginseng Tonic Decoction in Mice

CHEN Yan-zhi¹, LIN Fei², LI Ping-ping^{1*}

(1. Key Laboratory of Carcinogenesis and Translational Research (Ministry of Education),
Department of Integration of Traditional Chinese and Western Medicine, Peking University School of Oncology,
Beijing Cancer Hospital & Institute, Beijing 100142, China; 2. National Institute for the Control
of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing 100050, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the acute toxicity, anti-fatigue effect and anti-stress effect of Ginseng Tonic Decoction in mice. **Method:** Mice of KM species were used to test the maximum tolerance dose (MTD) of Ginseng Tonic Decoction. The mouse anti-fatigue test, the mouse acute cerebral ischemia anti-hypoxia test, the mouse anti-hypoxia test and the mouse resistant test to high and low-temperature were used to evaluate anti-stress effect of Ginseng Tonic Decoction at doses of 42.0, 21.0 and 10.5 g·kg⁻¹·d⁻¹. **Result:** the oral MTD of Ginseng Tonic Decoction in mice was > 160 g·kg⁻¹·d⁻¹, equal to 76.2 times of human adult's clinical dose per day. Compared with the control group, mice in Ginseng Tonic Decoction in high dosage group, moderate dosage group and positive control group could prolong the falling time that mice drop from rotating bar because of fatigue; Ginseng Tonic Decoction in high dosage group could prolong the asthmatic time after decapitation and the death time under ambient pressure in mice; Decoction in high dosage group, moderate dosage group and positive control group could prolong the death time under high temperature of 45 °C and under low temperature of -5 °C, there were significant differences ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion:** Tonic Decoction can improve the ability of anti-fatigue, anti-hypoxia and resistance to high and low-temperature. So, the decoction shows anti-stress effects without detectable acute toxicity.

[Key words] Ginseng Tonic Decoction; mice; acute toxicity test; anti-fatigue effect; anti-stress effect

人参养荣汤^[1]是我国的传统古方,来源于宋代的《太平惠民和剂局方》。由人参、白术、茯苓、甘草、当归、熟地黄、白芍、黄芪等 12 味中药组成,具有益气补血,养心安神之功效,常用于一些慢性疾病的治疗。疲劳(fatigue)是指自觉不能胜任原来能适应的活动、工作、生活^[2],如果在过度劳动、长时间工作后,感到乏力,休息后很快恢复正常,不能认为是异常现象。很多疾病都可引起疲乏,有些是疾病的临床表现之一,有些对诊断疾病具有特殊的意义。应激(stress)是指机体在受到强烈刺激时所出现的一系列非特异性全身反应^[3]。而机体的抗应激能力是机体对不利环境适应能力的体现,具有抗应激作用的药物能增强机体对各种有害刺激的非特异性抵抗能力,延长在有害刺激下的生存时间^[4]。本文对人参养荣汤的急性毒性以及抗疲劳,抗应激反应进行研究,为临床进一步使用人参养荣汤提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 KM 种小鼠,体重 18 ~ 20 g,雄、

雌各半,由中国药品生物制品检定所实验动物中心提供,生产许可证号 SCXK(京)2005-0004,使用许可证号 SYXK(京)2006-0004。小鼠分笼饲养,小鼠的急性毒性试验,按性别饲养每笼 10 只,在实验动物室饲养观察 2 d 后用于试验,试验前小鼠禁食 16 h,不禁水。小鼠的抗疲乏抗应激作用的试验,按性别饲养每笼 5 只,每组动物 10 只,饲养观察 2 d 后用于试验。

1.2 实验动物室 为三级标准,温度 22 ~ 24 °C,相对湿度 40% ~ 45%,日光灯 12 h 照明。SPF 级小鼠繁殖颗粒饲料和去离子水自由饮食。塑料鼠盒体积 28 cm × 17 cm × 12 cm,不锈钢丝顶盖。

1.3 药物

1.3.1 人参养荣汤的急性毒性试验药物配制 人参养荣汤(黄芪 30 g,熟地黄 10 g,当归 12 g,白芍 15 g,党参 20 g,白术 10 g,茯苓 15 g,甘草 10 g,陈皮 10 g,肉桂 6 g,五味子 12 g,远志 10 g)每剂药材总质量为 160 g,购自于北京白塔寺药店。在动物试验前 1

d 取 160 g 中药材,加蒸馏水 500 mL,浸泡后加热煮沸,小火煎煮 30 min,药液倒出后,再加蒸馏水 400 mL,加热煮沸,小火煎煮 20 min,两次药液混合后,小火挥发水分,药液浓缩到 80 mL 已显黏稠,冷却至室温用 16 号小鼠 ig 针头可以抽取,作为最大药液浓度(160 g 生药/80 mL = 2 g 生药/mL),密封后置普通冰箱 4 ℃ 下避光保存。人参养荣汤的抗疲乏抗应激试验的药物配制:人参养荣汤每付含生药 146 g (人体重按 70 kg 计算,临床人每天口服剂量为 2.0 g 生药/kg),共 14 中药饮片,全部由北京鹤延龄饮片公司提供。实验前取 7 付共 1 022 g 生药,加蒸馏水 3 000 mL,浸泡后加热煮沸,小火煎煮 30 min,药液倒出后,再加蒸馏水 1 800 mL,加热煮沸,小火煎煮 20 min,2 次药液混合后,小火挥发水分,药液浓缩到 510 mL 已较黏稠,相当每 1 mL 容积含生药 2 g,用 16 号小鼠 ig 针头和 1 mL 注射器能够直接抽取药液。浓缩药液分别置 4 个 150 mL 烧杯中,用封口膜密闭后放普通冰箱 4 ℃ 避光保存。

人参养荣汤分为 3 个剂量组,即高、中和低剂量组。高剂量组为 42.0 g 生药/kg(相当于临床人用量的 20 倍);中剂量组为 21.0 g 生药/kg(相当于临床人用量的 10 倍);低剂量组为 10.5 g 生药/kg(相当于临床人用量的 5 倍);而空白对照组则给予等容积的蒸馏水 ig。小鼠按 10 g 体重 ig 0.21 mL。

1.3.2 阳性对照药 十一味参芪片由吉林制药股份有限公司生产,批号 20090508;临床人用量为 0.05 g·kg⁻¹。试验时取 5 片(1.5 g)在乳钵中研磨成细粉,逐渐加入蒸馏水至 30 mL,制成混悬药液 0.05 g·mL⁻¹,小鼠按 10 g 体重 ig 0.20 mL(1.0 g·kg⁻¹,相当于临床人用量的 20 倍)。

1.4 仪器和器械 45 ℃ 电热恒温培养箱;-5 ℃ 低温冰箱;JXDP-1 型小动物疲劳仪;电子天平;电热吹风机等。

2 方法

2.1 小鼠的急性毒性试验^[5] 小鼠分成 2 组,20 只/组,雌、雄各半。用人参养荣汤的最大浓度(2.0 g 生药/mL)和最大给药容积(0.04 mL·g⁻¹体重),称重后 ig 给药 1 日 1 次和 2 次(间隔 6 h),给予人参养荣汤的总量分别为生药 80 g·kg⁻¹和 160 g·kg⁻¹。连续观察 14 d 内动物的不良反应及死亡状况,解剖观察小鼠主要脏器的病变情况,同时记录给药 0 d、给药 7 d 和给药 14 d 的小鼠体重的变化

情况。

2.2 小鼠抗疲劳实验^[6] 试验分 5 组,空白对照组、十一味参芪片组(1.0 g·kg⁻¹)、人参养荣汤高、中、低剂量组,(按生药量计为 42.0,21.0,10.5 g·kg⁻¹),每组 10 只小鼠。每天 ig 1 次,连续 7 d。第 7 天给予人参养荣汤后 2 h,分别将小鼠放到小动物疲劳仪上,转棒的转速 24 r·min⁻¹,让小鼠随着转棒的转动不间断的向前走动,直到疲劳过度从转棒上跌落下来,记录跌落的时间。

延长率 = (给药组跌落时间 - 空白对照组跌落时间 / 空白对照组跌落时间) × 100%。

2.3 小鼠急性脑缺血性耐缺氧实验^[7] 试验分 5 组,分组及给药剂量同 2.2。第 7 天给予人参养荣汤后 2 h,将小鼠放到断头台上断头,同时用秒表记录小鼠张嘴次数和喘息时间。

2.4 小鼠常压耐缺氧性实验^[8] 试验分 5 组,分组及给药剂量同 2.2。第 7 天给予人参养荣汤 2 h 后,分别将每只小鼠放到盛有 15 g 钠石灰的 250 mL 广口瓶中,用凡士林密闭瓶口,断绝空气交换,并立即秒表计时,观察小鼠因缺氧而窒息死亡的时间。

延长率 = (给药组死亡时间 - 空白对照组死亡时间 / 空白对照组死亡时间) × 100%

2.5 小鼠耐高温实验^[9] 试验分 5 组,分组及给药剂量同 2.2,第 7 天给予人参养荣汤 2 h 后,分别将每只小鼠放入 7 cm × 7 cm × 7 cm 铁丝笼中,置 45 ℃ 恒温培养箱内,并立即秒表计时。每 10 min 观察 1 次小鼠,确定每只小鼠的死亡时间。

2.6 小鼠耐低温实验^[9] 试验分 5 组,分组及给药剂量同 2.2。第 7 天给予人参养荣汤 2 h 后,分别将每只小鼠放入 7 cm × 7 cm × 7 cm 铁丝笼中,置 -5 ℃ 恒温冰箱内,并立即秒表计时。每 10 min 观察 1 次小鼠,确定每只小鼠的死亡时间。

2.7 统计学方法 所有的统计数据均采用 SPSS13.0 软件由专业统计人员进行统计处理,实验数据以组为单位,经统计用 $\bar{x} \pm s$ 列表,t 检验或方差分析对各给药剂量组与空白对照组进行比较, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 小鼠的急性毒性试验 第 1 次给药后连续观察 6 h,小鼠精神、行为、活动等均正常,对声响等弱刺激敏感;未见精神兴奋或抑制行为。第 2 次给药后 0.5 h,小鼠出现精神不振、俯卧少动、呼吸减慢、对弱刺激(声、光)不敏感等;但被毛不松、呼吸均

匀。大约 2~3 h 以后上述异常反应逐渐消失。次日除成型粪便颜色较黑外,小鼠精神好,活动自如,呼吸频率无变化,对光、声等刺激敏感,被毛润泽;饲料消耗、饮水等均正常。给药 14 d 未发现小鼠出现毒性反应或死亡,期间存活小鼠体重增长 11~15 g。给药满 14 日存活小鼠全部脱颈椎处死,解剖观察胸腔和腹腔未见出血、积液;心、肺、肝、脾、肾、胃、肠和膀胱等组织器官完整、未见肿大、包块、溃疡和瘀血等,大体观察未见异常。人参养荣汤的临床人口服用量为 146 g 生药/日(若成人按 70 kg 体重计算),则人每天的给药总量为 2.1 g 生药/kg。小鼠 1 次 ig 给药剂量 80 g 生药/kg,相当于临床人用量的 38.1 倍。小鼠 1 日 2 次 ig 给药,其最大给药量 > 160 g 生药/kg,相当于临床人口服用量的 76.2 倍。

3.2 小鼠的抗疲劳实验 小鼠从疲劳仪上跌落的时间以及延长率见表 1。人参养荣汤的高、中剂量组和 11 味参芪片组的小鼠从转棒上跌落的时间较长,其延长率 > 28.6%,与空白对照组比较。

表 1 小鼠抗疲劳转棒跌落时间的观察($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	跌落时间/min	延长率/%
空白对照	-	61.8 ± 16.4	-
11 味参芪片	1.0	90.0 ± 14.3	45.6 ²⁾
人参养荣 ³⁾	10.5	60.8 ± 16.5	-1.6
	21.0	79.5 ± 16.8	28.6 ¹⁾
	42.0	88.3 ± 24.2	42.9 ¹⁾

注:与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; ³⁾ 剂量为生药量(表 2~5 同)。

3.3 小鼠急性脑缺血性耐缺氧实验 小鼠断头后,小鼠的张嘴次数和喘息时间见表 2。人参养荣汤高、中剂量组和 11 味参芪片组的小鼠断头后张嘴次数增加,小鼠断头后喘息时间延长,与空白对照组比较,统计学分析具有显著性差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

表 2 小鼠急性脑缺血性耐缺氧的观察($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	张嘴次数/次	喘息时间/min
空白对照	-	13.7 ± 4.8	22.9 ± 2.9
11 味参芪片	1.0	21.7 ± 2.5 ²⁾	25.4 ± 2.4 ¹⁾
人参养荣 ³⁾	10.5	16.5 ± 3.0	23.9 ± 3.0
	21.0	18.6 ± 2.7 ¹⁾	24.3 ± 2.3 ¹⁾
	42.0	25.6 ± 2.3 ²⁾	27.3 ± 2.9 ²⁾

3.4 小鼠常压耐缺氧性实验 小鼠因缺氧而窒息死亡的时间和延长率见表 3。人参养荣汤高剂量组小鼠窒息时间延长率可达 35.9%,与空白对照组比较,统计学分析具有差异($P < 0.01$)。

表 3 小鼠常压耐缺氧的观察($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	死亡时间/min	延长率/%
空白对照	-	32.9 ± 7.1	-
11 味参芪片	1.0	39.3 ± 7.0	19.5
人参养荣 ³⁾	10.5	33.5 ± 5.8	1.8
	21.0	36.9 ± 6.8	12.2
	42.0	44.7 ± 9.1	35.9 ²⁾

3.5 小鼠耐高温实验 小鼠在 45 °C 恒温培养箱中死亡的时间,见表 4。人参养荣汤高、中剂量组和 11 味参芪片组小鼠 45 °C 高温死亡时间明显延长,与空白对照组比较,统计学分析具有显著性差异($P < 0.05$ 或 < 0.01)。

表 4 小鼠耐 45 °C 高温的观察($n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	死亡		死亡时间/min	
		n	%	开始	$\bar{x} \pm s$
空白对照	-	10	100	50	67.0 ± 9.5
11 味参芪片	1.0	3	30 ²⁾	80	91.0 ± 8.8 ²⁾
人参养荣 ³⁾	10.5	10	100	60	69.0 ± 7.4
	21.0	5	50 ¹⁾	70	86.0 ± 9.7 ¹⁾
	42.0	1	10 ²⁾	80	95.0 ± 7.1 ²⁾

3.6 小鼠耐低温实验 小鼠在 -5 °C 恒温冰箱内,死亡的时间见表 5。人参养荣汤高、中剂量组和 11 味参芪片组小鼠 -5 °C 低温死亡时间明显延长,与空白对照组比较,统计学分析具有非常显著性差异($P < 0.01$)。

表 5 小鼠耐 -5 °C 低温的观察($n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	死亡		死亡时间/min	
		n	%	开始	$\bar{x} \pm s$
空白对照	-	10	100	70	84.0 ± 10.7
11 味参芪片	1.0	1	10 ²⁾	110	118.0 ± 10.3 ²⁾
人参养荣 ³⁾	10.5	10	100	70	83.0 ± 9.5
	21.0	5	50 ²⁾	90	104.0 ± 11.7 ²⁾
	42.0	0	0 ²⁾	110	128.0 ± 10.3 ²⁾

4 讨论

人参养荣汤的临床应用较为广泛,而其实验研究相对欠缺。国内研究者^[10]发现,人参养荣汤具有

延缓衰老,提高机体免疫力的作用。对于人参养荣汤的急性毒性的研究,尚无人涉及。本研究发现,人参养荣汤无急性毒性作用,测不出其LD₅₀值(半数致死量,medium lethal dose),故给予最大耐受量试验。其最大耐受量为>160 g生药/kg,相当于人临床口服用量的76.2倍。

疲劳作为一个症状,可见于许多种疾病。而疲劳的机制目前尚不清楚。本研究发现,人参养荣汤的高、中剂量组和11味参芪片组可以延长小鼠疲劳过度,从转棒上跌落的时间,其延长率>28.6%,与空白对照组比较,具有统计学意义,说明人参养荣汤的高、中剂量组和11味参芪片组的小鼠抗疲劳能力较强。

应激究其基本性质而言,是防御性和保护性的,旨在对抗各种强烈刺激的损伤性作用;但反应过程中机体处于高度动员状态,这对机体毕竟是一种负担,如果应激反应持续不断,各器官系统长期高负荷运转,必然陷入过度消耗状态,抵抗力下降,成为一些疾病发生和发展的基础。如果应激反应速度快、强度大,机体的代偿还来不及和/或不足以抵抗其损伤性作用时,同样机体也会迅速发生衰竭,甚至死亡^[3]。引起应激反应的各种刺激称为应激原(stressor),应激原包括冷、热、放射线、机械损伤、内毒素和器官缺失等,可直接引起器官和组织的损伤。为了减轻应激所造成的损伤,除了预防和消除应激原外,就是积极治疗应激性损伤,而滋补类的中药可以抵抗恶性应激的损伤。本研究通过耐缺氧实验发现,人参养荣汤的高剂量组可延长小鼠断头后喘息时间和小鼠常压下的窒息时间,与空白对照组比较,具有统计学意义,说明人参养荣汤具有增强机体的耐缺氧能力。通过耐高低温试验,发现人参养荣汤的高、中剂量组和十一味参芪片组具有延长小

鼠45℃高温下死亡时间以及小鼠-5℃低温下死亡时间,与空白对照组比较,具有统计学意义,说明人参养荣汤可以增强机体的耐高低温的能力。因此,人参养荣汤具有对抗恶性应激所致损伤的能力。

总之,人参养荣汤的最大耐受量为>160 g生药/kg,相当于人临床口服用量的76.2倍。人参养荣汤可以提高小鼠的抗疲劳、耐缺氧、耐高温和耐低温能力,具有抗疲劳和抗应激损伤的能力。

[参考文献]

- [1] 杨医亚. 中国医学百科全书. 方剂学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1992: 192.
- [2] 张树基, 罗明. 内科症状鉴别诊断学[M]. 2版. 北京: 科学出版社, 2008: 91.
- [3] 杨惠玲, 潘景轩, 吴伟康. 高级病理生理学[M]. 北京: 科学出版社, 1998: 175.
- [4] 韩丽, 王振涛, 申洪超, 等. 律复康胶囊对小鼠抗应激能力的影响的实验研究[J]. 中医学报, 2010, 25(146): 99.
- [5] 张均田. 现代药理实验方法. 下册[M]. 北京: 北京医科大学 中国协和医科大学联合出版社, 1998: 1820.
- [6] 何来英, 严卫星, 楼密密, 等. 保健食品抗疲劳作用试验方法研究[J]. 中国食品卫生杂志, 1997, 9(4): 1.
- [7] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 948.
- [8] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科技出版社, 2006: 684, 687.
- [9] 陈勤. 抗衰老实验研究[M]. 北京: 中国医学科技出版社, 1996: 758.
- [10] 罗晶, 郭焱, 勾敏慧, 等. 人参养荣汤对小鼠免疫功能的调节[J]. 中国现代医学杂志, 2002, 12(5): 27.

[责任编辑 聂淑琴]