



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2020.09.010

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2020.09.010

· 论著 ·

载脂蛋白 E 基因 526 C > T 多态性与氟伐他汀调脂作用的相关性分析

李汶嘉 杨伟 罗丹

【摘要】 目的 探讨载脂蛋白 E(Apo E) 基因 526 C > T 多态性与氟伐他汀调脂作用的相关性。**方法** 纳入血脂异常患者 152 例,抽取其静脉血并提取基因组 DNA 后采用聚合酶链反应(PCR)-荧光探针法检测 ApoE 基因,并分析 ApoE 基因多态性与低密度脂蛋白受体(LDLR)结合的相关性,比较 ApoE 等位基因出现的频率和各基因型出现的频率。根据基因检测结果将 152 例患者分为 E2 组(E2/E2 和 E2/E3 基因型)37 例、E3 组(E3/E3 和 E3/E4 基因型)110 例、E4 组(E2/E4 和 E4/E4 基因型)5 例,比较 3 组患者的上述检测结果。**结果** E2 组、E3 组、E4 组的 LDLR 最大置换量分别为 $(3.89 \pm 0.37) \mu\text{g}/\text{mg}$ 、 $(6.87 \pm 0.22) \mu\text{g}/\text{mg}$ 和 $(6.12 \pm 0.34) \mu\text{g}/\text{mg}$,其中 E3 组明显高于 E2 组和 E4 组,E4 组明显高于 E2 组($P < 0.05$)。152 例血脂异常患者中,ApoE 等位基因 E3 出现的频率(63.82%)高于 E2(15.46%)和 E4(20.72%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。E2 组、E3 组、E4 组疗效优良率分别为 19.74%(30/152)、55.92%(85/152)和 9.21%(14/152),E2 组明显高于 E3 组、E4 组($P < 0.001$)。**结论** 对于血脂异常而应用氟伐他汀治疗患者而言,ApoE 基因 526 C > T(E2)多态性对氟伐他汀有较好的降脂效能。

【关键词】 载脂蛋白 E 基因; 526 C > T 多态性; 氟伐他汀

Correlation analysis of apolipoprotein E gene 526 C > T polymorphism and lipid-regulating effect of fluvastatin Li Wenjia, Yang Wei, Luo dan. Department of Geriatrics, the First Affiliated Hospital of Medical College of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China

【Abstract】 Objective To explore the correlation of apolipoprotein E(ApoE) gene 526 C > T polymorphism and lipid-regulating effect of fluvastatin. **Methods** A total of 152 patients with dyslipidemia were enrolled. After venous blood was drawn and genomic DNA was extracted, ApoE gene was detected by polymerase chain reaction(PCR)-fluorescence probe method. Correlation between ApoE gene polymorphism and low density lipoprotein receptor(LDLR) binding was analyzed. Frequency of each ApoE allele and genotype were compared. According to the results of genetic test, 152 patients were divided into E2 group(E2/E2 and E2/E3 genotypes, 37 cases), E3 group(E3/E3 and E3/E4 genotypes, 110 cases), E4 group(E2/E4 and E4/E4 genotype, 5 cases), and above test results among three groups were compared. **Results** The maximum replacement amount of LDLR in the E2 group, E3 group and E4 group were $(3.89 \pm 0.37) \mu\text{g}/\text{mg}$, $(6.87 \pm 0.22) \mu\text{g}/\text{mg}$, $(6.12 \pm 0.34) \mu\text{g}/\text{mg}$ respectively, and that in E3 group was significantly higher than E2 group and E4 group, that in E4 group was significantly higher than E2 group($P < 0.05$). Among 152 patients with dyslipidemia, frequency of ApoE allele E3(63.82%) was higher than that of E2(15.46%) and E4(20.72%), and the difference was significant($P < 0.05$). Excellent and good curative effect rates in E2 group, E3 group and E4 group were 19.74%(30/152), 55.92%(85/152), 9.21%(14/152) respectively, and that in E2 group was higher than E3 group and E4 group($P < 0.001$). **Conclusion** For patients with dyslipidemia treated with fluvastatin, ApoE gene 526 C > T(E2) polymorphism has better lipid-lowering effect for fluvastatin.

【Key words】 Apolipoprotein E gene; 526 C > T polymorphism; Fluvastatin

血脂是生命细胞基础代谢的必需物质,广泛分布在人类机体中,主要包括血浆中的中性脂肪和类脂,其中前者包括甘油三酯(TG),后者包括类固醇、固醇、糖

脂及磷脂等^[1]。血脂异常是冠心病和脑梗死等疾病的危险因素。氟伐他汀属临床常见药物,是目前已知的第一个全化学合成的降胆固醇药物,主要作用于肝脏,其药代动力学为非线性,即可刺激低密度脂蛋白(LDL)受体的合成和提高其微粒摄取等^[2-3]。载脂蛋白 E(ApoE)是常见血浆脂蛋白的重要成员之一,是维

持人类正常脂质代谢的重要物质,存在多种脂蛋白中,人体中 ApoE 通过结合 LDL 受体(LDLR)以调节脂质代谢。既往临床研究证实,他汀类药物利用竞争性结合羟甲戊二酰辅酶 A(HMG-CoA)还原酶的活性调节体内血脂水平,而 ApoE 基因多态性可影响他汀类药物的调脂效果^[4]。这可能是不同亚型的 ApoE 基因结合 LDLR 能力存在差异导致,但这种差异是否同时造成 HMG-CoA 还原酶活性的改变尚未完全明确。本研究主要探讨 ApoE 基因 526 C > T 多态性与氟伐他汀调脂作用的相关性。

对象与方法

1. 对象:纳入 2015 年 1 月~2018 年 1 月我院收治的血脂异常患者 152 例,根据氟伐他汀治疗效果将其分为疗效良好组(A 组,87 例)、疗效正常组(B 组,42 例)、疗效不良组(C 组,23 例);根据基因检测结果将其分为 E2 组(E2/E2 和 E2/E3 基因型)37 例、E3 组(E3/E3 和 E3/E4 基因型)110 例、E4 组(E2/E4 和 E4/E4 基因型)5 例。氟伐他汀标准品购于海正辉瑞制药有限公司(国药准字 H20070168,规格:40 mg,含量 >97.0%),二肉豆蔻磷脂酰胆碱(DMPC)购于上海健超化学科技有限公司。二辛可宁酸法(BCA)蛋白检测试剂盒购于上海碧云天生物技术有限公司,实时定量聚合酶链反应(RT-PCR)相关试剂和总 RNA 提取试剂均购于北京全式金公司。PCR 扩增仪购于杭州朗基科学仪器有限公司,全波长酶标仪、凝胶成像仪等均购于美国 Bio-RAD 公司。人体正常肝细胞(NFH)和皮肤成纤维细胞(HSF)均由美国典型菌种保藏中心(ATCC)提供,其中 NFH 为 L-02,5~15 代,HSF 为 10~20 代。

2. 方法

(1)DNA 提取和 ApoE 基因检测:所有患者均抽取静脉血 5 ml,采用人血 DNA 提取试剂盒提取 DNA 后,利用 PCR-荧光探针法检测 3 组患者的 ApoE 基因。

(2)氟伐他汀标准品贮备液制备:精确称取氟伐他汀标准品 25.0 mg 与二甲基亚砜(DMSO)5 ml 配制成贮备液(5 mg/ml)后置于 -20 ℃ 冰箱中保存,于临用前稀释。

(3)ApoE-DMPC 复合物制备:取 10 mg DMPC 标准品溶于 1 ml 的氯仿/甲醇(3:1)中,待其挥发干燥后加入 0.05 mol/L 氯化钠溶液 0.15 g/ml、乙二胺四乙酸二钠(EDTA)(pH = 7.6)缓冲液 1 ml 及 HCl 配置成 1 mmol/L 溶液,随后将其置于 30 ℃ 的超声下处理 0.5 h。待上述步骤完成后,将 100 mg 的 ApoE 溶于 1 ml 上述缓冲液中,然后将其加入超声处理后的 DMPC 溶液

50 μl 中混匀,在常温下过夜待用。最后将其保存于 4 ℃ 冰箱中待用,临用前稀释处理。

(4)氟伐他汀与 L-02 细胞株的毒性试验:采用四甲基偶氮唑盐微量酶反应比色(MTT)法检测不同浓度氟伐他汀标准品对 L-02 细胞活性的影响。

(5)PCR 反应体系:cDNA 4 μl、Supermix 12.5 μl 及引物各 1 μl 加入 ddH₂O 中配制至 25 μl;随后将 HMG-CoA 还原酶 cDNA 与 Supermix 各 3 μl、12.5 μl 及引物各 1 μl 再次加入 ddH₂O 中配制至 25 μl 待用。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

PCR 引物名称	碱基对数量	序列
LDLR	317	F:5'-AAGGACACAGCACACAACCA-3' R:5'-GGTGTGGCAAATGTGGACC-3'
HMG-CoA 还原酶	247	F:5'-TTGCTGATGGGAGCTTGTGT-3' R:5'-CAGAGTCACAAGCACGTGGA-3'
内参 GAPDH	199	F:5'-CCATGGAGAAGGCTGGGG-3' R:5'-CAAAGTGTCTATGGATGA-3'

(6)PCR 反应条件:LDLR、HMG-CoA 还原酶的预变性、变性、退火、延伸条件见表 2,上述 4 个步骤均 30 个循环后再延伸(温度:72 ℃,时间:10min),随后将其置于 4 ℃ 冰箱中保存待用。

表 2 PCR 反应条件

反应物	预变性条件		变性条件		退火条件		延伸条件	
	温度	时间	温度	时间	温度	时间	温度	时间
LDLR	94 ℃	5 min	94 ℃	30 s	53 ℃	30 s	72 ℃	30 s
HMG-CoA 还原酶	94 ℃	4 min	94 ℃	30 s	58 ℃	30 s	72 ℃	30 s

(7)ApoE 基因多态性与 LDLR 结合的相关性:将处于对数生长期的 HSF 细胞接种于 24 孔板,每孔接种约 5×10^4 个细胞,待其长满后在无血清培养基上诱导 LDLR 活性,24 h 后弃去上述培养基,然后在无血清培养基上加入 20 μg/ml 的 LDL 和 ApoE-DMPC 复合物 1 ml 并确保每孔中的 LDL 终浓度均为 10 μg/ml,而 ApoE 终浓度分别为 0 μg/ml、0.12 μg/ml、0.25 μg/ml、0.50 μg/ml、1.00 μg/ml、2.00 μg/ml。每孔设 3 个复孔,将上述配制好的 LDL、ApoE 终浓度溶液置于 4 ℃ 下结合 120 min。然后每孔取上清液 500 μl 以 1 000 r/min 离心 10 min 后取上清液并采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测未结合的 LDL,采用 BCA 法检测裂解细胞的蛋白质含量。各等位基因与 SNPs、基因型与检测位点的对应关系见表 3。

(8)LDLR mRNA、HMG-CoA 还原酶 mRNA 表达水平的检测:将处于对数生长期的 L-02 细胞接种于 24 孔板,每孔接种约 5×10^4 个细胞。直至细胞贴壁,然

表 3 各等位基因与 SNPs、基因型与检测位点的对应关系

等位基因	SNPs	基因型	检测位点	
			ApoE2	ApoE4
E2	526 C > T	E2/E2	526 T/T	388 T/T
		E2/E3	526 T/C	388 T/T
E3	野生型	E3/E3	526 C/C	388 T/T
		E3/E4	526 T/C	388 T/C
E4	388 T > C	E2/E4	526 T/C	388 T/C
		E4/E4	526 C/C	388 T/C

后用无血清的培养基诱导 120 min。根据不同组别配制待检溶液(表 4),配制要求均按 MTT 实验操作执行,其中各药实验浓度均按半抑制浓度(IC₅₀)配制,每组设 3 个复孔。加药成功 24 h 后提取 5 组细胞的总 RNA,采用 RT-PCR 检测 HMG-CoA 还原酶和 LDLR mRNA 的表达水平。

表 4 不同组别的培养基配制情况

组别	培养基				总含量 (ml)
	性质	ApoE		氟伐他汀 (μg)	
		种类	含量(μg)		
E2 组	含药	ApoE2	0.35	1.62	1
E3 组	含药	ApoE3	0.05	1.62	1
E4 组	含药	ApoE4	0.24	1.62	1
阴性对照组	含药	-	-	1.62	1
空白组	无血清	-	-	-	1

3. 统计学处理:应用 SPSS 21.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验;计数资料以例数和百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. ApoE 不同基因型对竞争性结合 LDLR 能力的影响:E2 组、E3 组、E4 组的 LDLR 最大置换量分别为 $(3.89 \pm 0.37) \mu\text{g}/\text{mg}$ 、 $(6.87 \pm 0.22) \mu\text{g}/\text{mg}$ 、 $(6.12 \pm 0.34) \mu\text{g}/\text{mg}$,其中 E3 组明显高于 E2 组和 E4 组,E4 组明显高于 E2 组($P < 0.05$)。

2. 152 例血脂异常患者 ApoE 等位基因和基因型频率检测结果:152 例血脂异常患者中,ApoE 等位基因 E3 出现的频率高于 E2 和 E4($P < 0.05$),而 ApoE 等位基因 E2 和 E4 出现的频率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 5。

3. 患者不同 ApoE 基因型分布情况及 E2 组、E3 组、E4 组疗效优良率比较:A 组、B 组、C 组患者不同 ApoE 基因型分布情况见表 6。疗效优良包括疗效良好和疗效正常。E2 组、E3 组、E4 组疗效优良率分别为 19.74% (30/152)、55.92% (85/152)、9.21% (14/152),其中 E2 组高于 E3 组、E4 组($P < 0.001$)。

表 5 152 例血脂异常患者 ApoE 等位基因和基因型频率检测结果

等位基因	例(%)	基因型	例(%)
E2	47(15.46)	E2/E2	2(1.32)
		E2/E3	35(14.47)
E3	194(63.82) ^{ab}	E3/E3	92(60.53)
		E3/E4	18(11.84)
E4	63(20.72)	E2/E4	4(2.63)
		E4/E4	1(0.66)

注:与等位基因 E2 比较,^a $P < 0.05$;与等位基因 E4 比较,^b $P < 0.05$

表 6 A 组、B 组、C 组患者不同 ApoE 基因型分布情况 [例,(%)]

组别	例数	E2 组		E3 组		E4 组	
		E2/E2	E2/E3	E3/E3	E3/E4	E2/E4	E4/E4
A 组	87	6(6.90)	11(12.64)	12(13.79)	49(56.32)	8(9.20)	1(1.15)
B 组	42	5(11.90)	8(19.05)	1(2.38)	23(54.76)	4(9.52)	1(2.38)
C 组	23	2(8.70)	1(4.35)	10(43.48)	6(26.09)	4(17.39)	0(0)

讨 论

从目前的研究结果而言,ApoE 基因在人体中有显著的遗传多态性,相对常见的异构体包括 ApoE2、ApoE3、ApoE4,其中突变型为 ApoE2、ApoE4,而野生型为 ApoE3。有学者采用多重单碱基延伸(SNAPshot)技术检测发现,转铁蛋白(TF)、胆固醇 24 s-羟化酶(CYP46)及 ApoE 等基因均有显著的多态性,且种族差异不明显。ApoE 是一种常见的碱性蛋白,富含精氨酸,由 299 个氨基酸残基构成^[6],由肝脏中的肝实质细胞(PMC)和脑组织中的星形胶质细胞合成。据统计,ApoE 作为 LDLR 的配体之一,其与血浆中 TG 和胆固醇的运输及代谢明显相关,故临床上将其作为脂类代谢及心血管疾病的主要决定分子。既往研究结果显示,ApoE 不仅参与机体的免疫调节和神经组织再生,还参与水解脂肪酶类的激活和血小板聚集的抑制等^[7]。

本研究结果显示,E3 组 LDLR 最大置换量高于 E2 组和 E4 组,且 E4 组高于 E2 组,提示 E2、E4 突变基因在 LDLR 中的竞争性结合力较 E3 低,且 E2 低于 E4。在人体的各种细胞和组织中,如血管平滑肌细胞、肝细胞及成纤维细胞等中均有一定量的 LDL 分布。本研究选用 HSF 细胞的原因为 LDLR 直接与机体中的 LDL 相关。本研究结果显示,ApoE 不同基因型均可在 HSF 上的 LDLR 结合,但 ApoE 的结合力较 LDL 更强。与之对应的是,ApoE 受体活性越大时,LDL 被置换出来的比例也越高,提示 ApoE 受体活性与 LDL 被置换率呈正比。另外,本研究中 ELISA 检测结果显示,本次纳入的细胞培养基中同样有 ApoE 未与

细胞的 LDLR 结合。有学者通过间接法比较 ApoE2、ApoE3、ApoE4 的竞争性结合实验后证实,随着 LDL 浓度递增,不同基因型的 ApoE 与 LDLR 结合的能力越低,即越接近饱和,这与本研究结果相对接近^[8],表明突变型 E2、E4 的受体结合活性较野生型 ApoE (E3) 低,突变型 E2 最低。上述研究结果间接证实,采用 LDLR 检测血脂异常人群的 ApoE2 具有敏感性高、特异性强和操作简便等优势。相关研究也证实上述方法在检测大样本时同样具有上述特点^[9]。本研究 152 例血脂异常患者中,ApoE2、ApoE3、ApoE4 等位基因的频率分别为 15.46%、63.82% 和 20.72%,E2/E2、E2/E3、E2/E4、E3/E3、E3/E4、E4/E4 基因型的频率分别为 1.32%、14.47%、2.63%、60.53%、11.84% 和 0.66%,表明 ApoE2 基因多态性与氟伐他汀的相关性较 ApoE3 低,ApoE3 基因多态性与氟伐他汀的相关性较 ApoE4 高,而 ApoE2 基因多态性与氟伐他汀的相关性与 ApoE4 比较差异无统计学意义,其原因可能为人体中的精氨酸与半胱氨酸突变或多或少地降低 ApoE2 基因多态性,这与相关文献^[10]报道的 ApoE2 基因有缺陷基本相符。

本研究结果显示,E2 组的疗效优良率高于 E3 组、E4 组,表明在对血脂异常人群的临床治疗过程中,合理地给予氟伐他汀治疗有较好的降脂疗效。当然也提示 ApoE2 基因多态性与疾病严重程度可能存在联系,即疾病治疗时的降脂效果越好,ApoE2 基因的多态性越低。简言之,氟伐他汀的降脂作用强弱与 ApoE2 基因多态性呈反比,但二者之间的具体作用机制尚未明确。氟伐他汀的作用部位在肝脏,既往临床研究结果证实,氟伐他汀不仅对内源性胆固醇的合成有抑制作用,还可使肝细胞内的胆固醇含量降低,刺激 LDLR 合成并使 LDL 微粒摄取提高^[11]。还应注意的是,氟伐他汀同样可降低血浆总胆固醇水平。

从本研究结果而言,ApoE2 基因多态性与氟伐他汀调脂作用的相关性可能与以下原因有关:(1) ApoE2 基因多态性作为常见的位点 C 等位基因在一定程度上可减弱 OATP1B1 的转运功能^[12],氟伐他汀较辛伐他汀的脂溶性更低,继而不容易分布于人体的肌肉组织或引起相关疾病。(2) ApoE2 基因多态性决定了人体肝细胞转运体对氟伐他汀的转运效率有一定的调控机能^[13],其在机体正常或异常不显著的状态下产生的不良反应更低。(3) 氟伐他汀可有效抑制 HMG-CoA 还原酶的表达效能,这与 ApoE 基因突变位点可减少 LDL 置换量,从而促使 HMG-CoA 还原酶呈高表达有关^[14];但近年来的研究结果又证实,HMG-CoA 还原酶受 ApoE2 的抑制作用极低,而当 ApoE4 存在时,机体

中丹参素的抑制效能较无 ApoE4 时更明显,这可能与丹参素和突变型 E4、氟伐他汀和突变型 E2 在机体中形成某种尚未发现的复合物而使氟伐他汀在血脂异常人群中的整体治疗效果被抑制有关^[15],也提示 ApoE2 基因多态性与氟伐他汀的调脂作用具有相关性。

综上所述,对于血脂异常而应用氟伐他汀治疗者,ApoE 基因 526 C > T 多态性对氟伐他汀有较好的降脂效能,可在检测 ApoE 基因 526 C > T 多态性和获取相关数据的基础上制定相关的氟伐他汀治疗方案以降低不良反应的发生率。

参 考 文 献

- [1] 罗余萍. ApoE 基因多态性对氟伐他汀抑制 HMG-CoA 还原酶影响及分子机制的研究[J]. 南昌大学医学院, 2016, 11 (32): 5327-5336.
- [2] Meng XD, Yao HH, Wang LM, et al. Knockdown of GAS5 Inhibits Atherosclerosis Progression via Reducing EZH2-Mediated ABCA1 Transcription in ApoE/Mice [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2019, 31 (25): 3025-3033.
- [3] 张晓丹, 向倩, 赵侠, 等. SLC01B1 基因 T521C 多态性对氟伐他汀药代动力学、药效学和药物不良反应影响的系统评价[J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34 (11): 1380-1382.
- [4] Riphagen JM, Ramakers IHGM, Freeze WM, et al. Linking APOEε4, blood brain barrier dysfunction and inflammation to Alzheimer's pathology [J]. Neurobiol Aging, 2019, 85 (32): 3112-3118.
- [5] 刘婧, 熊玉卿. 基因多态性对氟伐他汀药代动力学和药效学特征的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2016, 17 (11): 1282-1286.
- [6] Blue EE, Horimoto ARVR, Mukherjee S, et al. Local ancestry at APOE modifies Alzheimer's disease risk in Caribbean Hispanics [J]. Alzheimers Dement, 2019, 15 (12): 3411-3418.
- [7] Díaz-Guerra E, Rodríguez-Traver E, Moreno-Jiménez EP, et al. An integration-free iPSC line, ICCSIC007-A, derived from a female Alzheimer's disease patient with the APOE-ε4/ε4 alleles [J]. Stem Cell Res, 2019, 41 (32): 3331-3338.
- [8] 孙旭, 罗余萍, 熊玉卿. 载脂蛋白 E 基因多态性对氟伐他汀抑制 L-02 细胞中 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶活性的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 21 (17): 1742-1744.
- [9] Rasmussen PM, Aamand R, Weitzberg E, et al. APOE gene-dependent BOLD responses to a breath-hold across the adult lifespan [J]. Neuroimage Clin, 2019, 24 (32): 4221-4229.
- [10] Yoshida K, Hata Y, Ichimata S, et al. Tau and Amyloid-β Pathology in Japanese Forensic Autopsy Series Under 40 Years of Age: Prevalence and Association with APOE Genotype and Suicide Risk [J]. J Alzheimers Dis, 2019, 72 (2): 3210-3217.
- [11] 吴延庆, 程晓曙, 柴俊兵. 高低密度脂蛋白胆固醇对血小板免疫活化的影响及氟伐他汀的干预作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2010, 28 (4): 291-295.
- [12] 陈天鸿. 基因多态性对氟伐他汀药代动力学和药效学特征的影响[J]. 健康必读(中旬刊), 2016, 12 (2): 3400-3404.
- [13] Hobel Z, Isenberg AL, Raghupathy D, et al. APOEε4 Gene Dose and Sex Effects on Alzheimer's Disease MRI Biomarkers in Older Adults with Mild Cognitive Impairment [J]. J Alzheimers Dis, 2019, 71 (2): 3547-3553.
- [14] 张晓丹, 向倩, 赵侠. SLC01B1 基因 T521C 多态性对氟伐他汀药代动力学、药效学和药物不良反应影响的系统评价[J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34 (11): 2101-2109.
- [15] Wang J, Peng G, Liu P, et al. Regulating effect of CBF on memory in cognitively normal older adults with different ApoE genotype: the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) [J]. Cogn Neurodyn, 2019, 13 (6): 2311-2318.

(收稿日期: 2019-12-16)

(本文编辑: 周三凤)