

## 还原型谷胱甘肽通过抑制转化生长因子- $\beta$ 1/Smads 信号通路减轻博莱霉素致大鼠肺纤维化

秦静<sup>1</sup> 张小强<sup>1</sup> 庞国中<sup>1</sup> 陈羽<sup>1</sup> 左拥军<sup>1</sup> 杜明<sup>1</sup> 王晓芝<sup>2</sup>

(1. 德州市人民医院重症医学科, 山东 德州 253014; 2. 滨州医学院附属医院重症医学科, 山东 滨州 256603)

**【摘要】目的** 探讨还原型谷胱甘肽(GSH)对博莱霉素(BLM)致肺纤维化的保护作用和可能机制。**方法** 将 40 只 SD 大鼠按随机数字表法分为对照组、模型组、地塞米松组及 GSH 组, 每组 10 只。采用气管内滴注博莱霉素 5 mg/kg 诱导大鼠肺纤维化模型; 对照组气管内滴注生理盐水 2 mL/d。24 h 后, 模型组、地塞米松组及 GSH 组分别腹腔内注射生理盐水 2 mL/d、地塞米松 1 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> 及 GSH 120 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> 进行干预。制模 28 d 处死大鼠取肺组织, 苏木素-伊红(HE)染色评价肺组织病理学改变; Masson 染色评价肺间质纤维化程度; 免疫组化染色检测肺组织  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)表达水平; 反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)测定肺组织转化生长因子- $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)及 Smad3 和 Smad7 的 mRNA 表达。**结果** 光镜下可见对照组肺组织结构完整, 无炎性细胞浸润; 模型组肺组织大片肺泡结构破坏, 肺泡间隔明显增厚, 可见大量炎性细胞浸润; GSH 组与地塞米松组肺组织病理改变较模型组减轻, 以 GSH 组肺炎及肺纤维化程度减轻更显著。与对照组比较, 模型组肺组织胶原纤维染色面积显著增加( $\mu\text{m}^2$ : 127.47  $\pm$  6.98 比 39.29  $\pm$  5.42),  $\alpha$ -SMA 表达明显升高[吸光度(A)值: 12.22  $\pm$  1.21 比 1.97  $\pm$  0.75], TGF- $\beta$ 1 与 Smad3 的 mRNA 表达明显减少, Smad7 的 mRNA 表达明显增多(对照组为 1, TGF- $\beta$ 1、Smad3、Smad7 的 mRNA 相对表达量分别为 5.79  $\pm$  0.61、8.49  $\pm$  0.38、0.32  $\pm$  0.05, 均  $P < 0.01$ )。地塞米松与 GSH 干预均可减轻上述损伤效应, 以 GSH 组改善更为显著, GSH 组肺组织胶原纤维染色面积(87.81  $\pm$  7.71)、 $\alpha$ -SMA 表达(8.34  $\pm$  1.48)、TGF- $\beta$ 1 mRNA(1.58  $\pm$  0.22)、Smad3 mRNA(2.21  $\pm$  0.19)、Smad7 mRNA(0.87  $\pm$  0.04)表达水平与模型组比较差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ )。**结论** GSH 早期应用可能通过抑制 TGF- $\beta$ 1、Smad3 的表达及促进 Smad7 的表达来发挥对 BLM 致大鼠肺纤维化的保护作用。

**【关键词】** 肺纤维化; 还原型谷胱甘肽; 转化生长因子- $\beta$ 1; Smad3; Smad7

**Glutathione attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats by inhibiting transforming growth factor- $\beta$ 1/Smads signaling pathway** Qin Jing\*, Zhang Xiaoqiang, Pang Guozhong, Chen Yu, Zuo Yongjun, Du Ming, Wang Xiaozhi. \*Department of Critical Care Medicine, Dezhou People's Hospital, Dezhou 253014, Shandong, China

Corresponding author: Wang Xiaozhi, Department of Critical Care Medicine, Affiliated Hospital of Binzhou Medical College, Binzhou 256603, Shandong, China; Email: hxicuwz@163.com

**【Abstract】Objective** To study the protective effect of reduced glutathione hormone (GSH) on pulmonary fibrosis induced by bleomycin in rats and the possible mechanism. **Methods** Forty healthy male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into control, model, GSH and dexamethasone groups by using random number table, 10 in each group. The rat model of pulmonary fibrosis was induced by intratracheal instillation of 5 mg/kg bleomycin, while the control group received intratracheal instillation of 2 mL/d normal saline. After 24 hours, the model, dexamethasone and GSH groups were interfered with intra-peritoneal injection of 2 mL/d normal saline, 1 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> dexamethasone and 120 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> GSH respectively. All rats were killed on the 28th day after modeling and their lung tissues were collected, the pathological changes of the lungs were evaluated by hematoxylin-eosin (HE) stain, the degree of pulmonary interstitial fibrosis was assessed by Masson stain, and the immunohistochemistry was used to detect the expressions of  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) in the rat lung tissues. The mRNA expressions of transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), Smad3, and Smad7 in lung tissues were measured by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results** Under a light microscope, it was shown that the lung tissue structure in the control group was normal and complete without any inflammatory cells infiltration; in the model group, there were large patches of pulmonary alveoli destruction in lung tissue, extensive thickening of alveolar walls and a large amount of inflammatory cells infiltration; in the dexamethasone group and GSH group, the pathological changes of lung tissue were milder than those in model group, and the degree of amelioration of pulmonary alveolitis and fibrosis in GSH group was more significant. Compared with control group, the staining area of collagen fiber in the model group was significantly increased ( $\mu\text{m}^2$ : 127.47  $\pm$  6.98 vs. 39.29  $\pm$  5.42), the expression level of lung tissue  $\alpha$ -SMA was significantly elevated [absorbance (A) value: 12.22  $\pm$  1.21 vs. 1.97  $\pm$  0.75], and the mRNA expressions of TGF- $\beta$ 1 and Smad3 were decreased

doi: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.02.009

基金项目: 山东省自然科学基金资助项目(ZR2014HM112); 山东省教育厅科技发展项目(J08LG03)

通讯作者: 王晓芝, Email: hxicuwz@163.com

significantly, but the mRNA expressions of Smad7 was increased obviously (the mRNA expressions of control group was 1.00, the mRNA relative expressions of TGF- $\beta$  1, Smad3 and Smad7 were  $5.79 \pm 0.61$ ,  $8.49 \pm 0.38$ ,  $0.32 \pm 0.05$ , respectively all  $P < 0.01$ ). Dexamethasone and GSH could obviously alleviate the above damaging effect on the lung, and the more obvious effect was seen in the GSH group, the staining area of collagen fiber was  $87.81 \pm 7.71$  in GSH group, the expression level of lung tissue  $\alpha$ -SMA was  $8.34 \pm 1.48$ , and the mRNA expressions of TGF- $\beta$  1, Smad3 and Smad7 in the lung tissue were  $1.58 \pm 0.22$ ,  $2.21 \pm 0.19$ ,  $0.87 \pm 0.04$ , respectively; statistically significant differences were found when they were respectively compared with model group (all  $P < 0.05$ ). **Conclusions** GSH used early has protective effect on the pulmonary fibrosis induced by bleomycin in rats possibly via inhibiting the expressions of TGF- $\beta$  1 and Smad3 and stimulating the expression of Smad7 in lung tissues.

**【Key words】** Pulmonary fibrosis; Glutathione; Transforming growth factor - $\beta$  1; Smad3; Smad7

肺间质纤维化的主要病理特点为肺间质和肺泡腔内纤维化和炎性细胞浸润混合存在,其 5 年生存率为 30%~50%<sup>[1]</sup>,目前临床上治疗药物仍以激素、免疫抑制剂与细胞毒性药物为主,但这些药物的临床疗效并不明确,同时具有明显毒副作用<sup>[2-3]</sup>。近年来研究表明,氧化/抗氧化失衡是肺纤维化发病的重要原因,还原型谷胱甘肽(GSH)能增加细胞内还原型巯基的含量,对抗机体氧化应激损伤<sup>[4]</sup>。因此,本研究应用 GSH 干预博来霉素(BLM)诱导的肺纤维化大鼠模型,探讨 GSH 对肺纤维化的影响及可能作用机制,为进一步了解肺纤维化的发病机制及 GSH 的开发应用提供实验基础和理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 主要试剂:**选择 40 只雄性 SD 大鼠(SPF 级),体质量( $180 \pm 20$ )g,购于山东省烟台绿叶制药有限公司,动物合格证号:SYXK(鲁)20130019。BLM 注射液(日本化药株式会社,批号:201560),GSH 注射液(山东绿叶制药有限公司,批号:050208),地塞米松磷酸钠注射液(济南利民制药,批号:11011115),Masson 染色试剂盒(南京建成生物工程有限公司),兔抗  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)抗体购于美国 Sigma 公司,二步法免疫组化试剂盒购于北京中杉金桥技术有限公司。

**1.2 肺纤维化模型的建立与实验分组:**将 40 只 SD 大鼠按随机数字表法分为对照组、模型组、地塞米松组及 GSH 组,每组 10 只,每组最终有 9 只完成实验。参照 Thrall 报告的方法气管内一次性滴注 BLM 5 mg/kg 复制大鼠肺纤维化模型,对照组气管内滴注 0.2 mL 生理盐水。24 h 后地塞米松组和 GSH 组腹腔注射  $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  地塞米松及  $120 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  的 GSH,对照组和模型组腹腔注射 0.2 mL/d 生理盐水。

**1.3 伦理学:**本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

**1.4 检测指标及方法:**于制模后 28 d 处死大鼠,取大鼠肺组织进行下列染色和组织学观察;所有染色

图像均应用 Image-pro plus 6.0 专业图像分析软件系统采集。

**1.4.1 肺组织病理学观察:**苏木素-伊红(HE)染色,评价肺组织病理学改变;Masson 染色评定肺间质纤维化程度,按照试剂盒说明书进行染色操作,蓝色为阳性染色,应用图像分析软件系统采集 Masson 染色图像,随机选取染色区域 6 个高倍视野( $\times 400$ ),半定量分析每个视野阳性染色面积。

**1.4.2 免疫组化法测定肺组织  $\alpha$ -SMA 表达:**按试剂盒说明书进行操作。组织切片常规脱蜡至水,抗原修复,用山羊血清封闭;I 抗为兔抗鼠  $\alpha$ -SMA 单克隆抗体 1:400;II 抗为生物素化山羊抗兔 IgG,3,3'-二氨基联苯胺(DAB)显色;常规苏木素复染,脱水、透明、封片。阴性对照以磷酸盐缓冲液(PBS)代替 I 抗进行免疫细胞化学染色。应用图像分析软件系统,随机选取染色区域 6 个高倍视野,测量其吸光度(A)值。

**1.4.3 用反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)测定 TGF- $\beta$  1、Smad3 及 Smad7 的 mRNA 表达:** $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin),TGF- $\beta$  1, Smad3, Smad7 由上海生工生物工程有限公司合成。TRIpure 试剂提取大鼠肺组织总 RNA,反转录 RNA 为 cDNA,再以此为模板进行 RT-PCR 扩增。PCR 反应条件:95  $^{\circ}\text{C}$ , 10 min,1 个循环;95  $^{\circ}\text{C}$ , 15 s,60  $^{\circ}\text{C}$ , 60 s,40 个循环。每个样品按相同条件重复 3 次,与内参照三磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)均一化后取平均值,用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算基因表达水平。

**1.5 统计学分析:**使用 SPSS 19.0 统计软件处理数据,计量数据以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用 LSD 检验,组间均值比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 肺组织病理学变化(图 1):**HE 染色显示,正常肺组织结构完整清晰;模型组肺泡间隔增厚,肺泡结构破坏连成大片状实变,实变区内可见大量炎症



细胞浸润;地塞米松组部分肺泡结构破坏,炎症较模型组减轻;GSH 组肺泡间隔略增厚,炎症与模型组和地塞米松组比较明显减轻。Masson 染色显示,对照组可见极少量蓝色胶原纤维沉积于肺泡间隔及肺血管壁;模型组可见典型的肺间质纤维化变化,肺泡间隔及肺血管壁可见片状或束状的胶原纤维沉积,大量蓝染胶原沉积于肺泡腔;地塞米松组蓝色胶原纤维主要表达在支气管壁、肺血管壁的肌层下,胶原纤维表达较模型组显著减少;GSH 组肺组织仍可见蓝染的胶原纤维表达,但较模型组和地塞米松组均明显减少。模型组阳性染色面积较对照组明显增加;地塞米松组和 GSH 组阳性染色面积较模型组减少,且以 GSH 组的降低更显著( $P < 0.01$ ;表 1)。

表 1 各组大鼠肺组织胶原纤维面积及肺组织  $\alpha$ -SMA 表达比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数(只)	阳性染色面积( $\mu\text{m}^2$ )	$\alpha$ -SMA(A 值)
对照组	9	39.29 $\pm$ 5.42	1.97 $\pm$ 0.75
模型组	9	127.47 $\pm$ 6.98 <sup>a</sup>	12.22 $\pm$ 1.21 <sup>a</sup>
地塞米松组	9	101.92 $\pm$ 6.07 <sup>ab</sup>	9.39 $\pm$ 1.34 <sup>a</sup>
GSH 组	9	81.87 $\pm$ 6.61 <sup>acd</sup>	7.87 $\pm$ 1.13 <sup>ac</sup>

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ,<sup>c</sup> $P < 0.01$ ;与地塞米松组比较,<sup>d</sup> $P < 0.01$ ,<sup>e</sup> $P < 0.05$

2.2 各组大鼠肺组织  $\alpha$ -SMA 表达比较(图 1):免疫组化结果显示,细胞中出现棕黄色颗粒为  $\alpha$ -SMA 阳性显色。模型组可见典型成纤维细胞灶

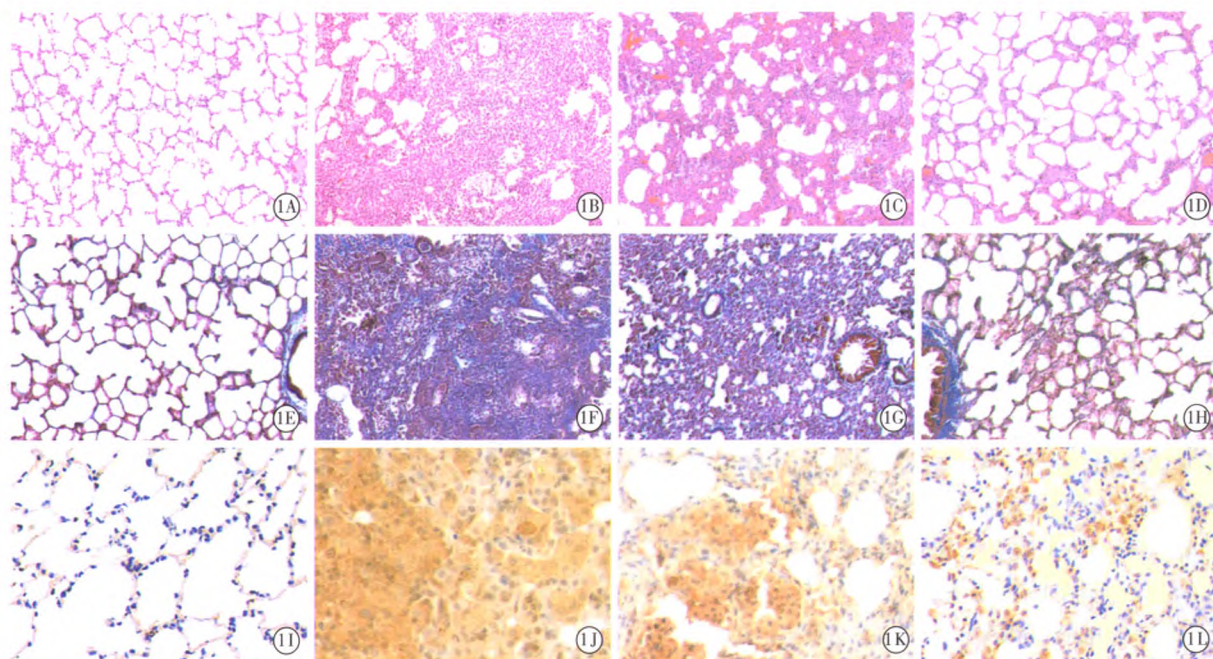
形成,即大量  $\alpha$ -SMA 棕黄色阳染细胞聚集成团;地塞米松组肺组织可见成纤维细胞灶,但较模型组明显减少;GSH 组肺组织  $\alpha$ -SMA 阳染细胞较模型组与地塞米松组均明显减少,无典型成纤维细胞灶。模型组  $\alpha$ -SMA 表达较对照组明显增加;地塞米松组、GSH 组  $\alpha$ -SMA 水平较模型组明显降低,且以 GSH 组降低更显著( $P < 0.05$ ;表 1)。

2.3 各组肺组织 TGF- $\beta$  1、Smad3、Smad7 mRNA 表达比较(表 2):与对照组比较,模型组 TGF- $\beta$  1、Smad3 的 mRNA 表达显著增高,Smad7 mRNA 的表达显著降低;与模型组比较,地塞米松组、GSH 组 TGF- $\beta$  1、Smad 3 的 mRNA 表达均显著降低,但较对照组升高;GSH 组 Smad7 mRNA 的表达较模型组与地塞米松组均显著升高,但较对照组明显降低( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

表 2 各组大鼠肺组织 TGF- $\beta$  1、Smad3、Smad7 的 mRNA 表达比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数(只)	mRNA 表达( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ )		
		TGF- $\beta$ 1	Smad3	Smad7
对照组	9	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00
模型组	9	5.97 $\pm$ 0.54 <sup>a</sup>	8.36 $\pm$ 0.33 <sup>a</sup>	0.39 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>
地塞米松组	9	3.36 $\pm$ 0.28 <sup>ac</sup>	4.27 $\pm$ 0.28 <sup>bc</sup>	0.48 $\pm$ 0.06 <sup>ac</sup>
GSH 组	9	1.56 $\pm$ 0.37 <sup>bcd</sup>	2.06 $\pm$ 0.31 <sup>bcd</sup>	0.98 $\pm$ 0.03 <sup>acd</sup>

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>c</sup> $P < 0.01$ ;与地塞米松组比较,<sup>d</sup> $P < 0.01$



A 为对照组;B 为模型组;C 为地塞米松组;D 为 GSH 组

图 1 光镜下观察各组大鼠肺组织病理学改变(1A~1D, HE 染色 低倍放大)、肺组织胶原沉积(1E~1H, Masson 染色 低倍放大)及肺组织  $\alpha$ -SMA 的表达(1I~1L,免疫组化染色 高倍放大)

### 3 讨论

近年来肺纤维化的发病率及病死率呈增多趋势,但目前仍缺乏有效的治疗手段<sup>[5]</sup>。研究证实 GSH 能抑制炎症细胞因子,补充外源性 GSH 可通过预防、减轻、终止组织细胞的损伤来改变其病理生理过程<sup>[6]</sup>;同时研究还发现,GSH 是肺泡上皮衬液中最主要的小分子抗氧化物质,但在肺纤维化患者的肺泡上皮衬液中明显降低。

成纤维细胞灶主要由肌成纤维细胞(MFb)构成,是继发性肺纤维化的主要病理学特征之一<sup>[7]</sup>。MFb 是造成细胞外基质(ECM)异常沉积的主要效应细胞<sup>[8]</sup>。研究表明,MFb 通过抑制成纤维细胞的增殖和分化来延缓肺纤维化过程,是肺纤维化过程中的关键步骤<sup>[9]</sup>。 $\alpha$ -SMA 是成纤维细胞向 MFb 转化的标志性蛋白<sup>[10]</sup>,其蛋白表达水平可间接反映 MFb 的增殖情况。本实验证实, $\alpha$ -SMA 表达程度在 GSH 组大鼠肺组织中明显降低,表明 GSH 可通过阻止  $\alpha$ -SMA 表达为主的 MFb 的增殖来抑制肺纤维化的发展。

目前 GSH 对肺纤维化的研究主要集中在抗氧化作用上,在分子机制上,肺纤维化是多种细胞因子启动和维持的原蛋白代谢失衡结果。

TGF- $\beta$ 1 作为重要的致病因子,能刺激成纤维细胞的生长、增殖和迁移,诱导成纤维细胞转换为 MFb,促进胶原蛋白在肺间质内沉积<sup>[11-12]</sup>,其机制主要是通过改变 Smads 信号通路中细胞因子表达水平而发生肺纤维化效应<sup>[13-15]</sup>。

Smads 是一种重要的胞内激酶底物,可以介导 TGF- $\beta$ 1 细胞内信号转导,其中 Smad3 促进纤维化发生发展,而 Smad7 与 Smad3 相反,是信号转导的抑制性蛋白<sup>[16]</sup>。

本研究发现,GSH 组肺组织 TGF- $\beta$ 1 mRNA 表达较模型组显著降低,提示 GSH 的抗纤维化作用是通过抑制 TGF- $\beta$ 1 表达来实现的。同时本研究还证实,Smad3 mRNA 表达在模型组明显升高,Smad7 mRNA 降低,表明 TGF- $\beta$ 1/Smads 信号通路可被 BML 激活,诱导成纤维细胞向 MFb 转化,从而形成肺间质纤维化;但 GSH 干预可减少肺组织 Smad3 mRNA 表达,增加 Smad7 mRNA 表达,提示 GSH 可抑制 TGF- $\beta$ 1/Smads 信号转导途径,调控肺组织中 Smad3 mRNA 与 Smad7 mRNA 的表达,从而抑制成纤维细胞与 MFb 相互转化,减少胶原蛋白

的过度集聚,发挥其抗肺纤维化作用。

综上所述,GSH 可拮抗 BML 诱导的大鼠肺纤维化过程,其机制可能是通过抑制 TGF- $\beta$ 1/Smads 信号通路,从而阻止肺组织中表达  $\alpha$ -SMA 的 MFb 的增殖。由于肺纤维化的形成过程错综复杂,涉及到多因素、多环节,同时 GSH 是否通过其他靶点抑制肺纤维化进程尚不明确,因此深入研究其作用机制,对于治疗肺纤维化具有重要的临床意义。

### 参考文献

- [1] Zisman DA, Keane MP, Belperio JA, et al. Pulmonary fibrosis[J]. *Methods Mol Med*, 2005, 117: 3-44.
- [2] Dempsey OJ. Clinical review: idiopathic pulmonary fibrosis: past, present and future [J]. *Respir Med*, 2006, 100(11): 1871-1885.
- [3] 俞森洋. 糖皮质激素在急性呼吸窘迫综合征治疗中的作用和评价[J]. *中华危重病急救医学*, 2005, 17(6): 321-322.
- [4] 张曙, 齐菲, 左振华, 等. 谷胱甘肽乙酯对烟雾吸入性肺损伤的作用[J]. *中华危重病急救医学*, 2012, 24(10): 624-627.
- [5] 梁贤凯, 葛玉霞, 王秀杰. 肺纤维化生物标志物[J]. *中华危重病急救医学*, 2012, 24(2): 125-128.
- [6] 钱小明, 吴学豪. 还原型谷胱甘肽在急危重症中的应用[J]. *中国急救医学*, 2003, 23(6): 411-412.
- [7] King TE Jr, Schwarz MI, Brown K, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: relationship between histopathologic features and mortality [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, 164(6): 1025-1032.
- [8] Jiang D, Jiang Z, Han F, et al. HGF suppresses the production of collagen type III and alpha-SMA induced by TGF-beta1 in healing fibroblasts [J]. *Eur J Appl Physiol*, 2008, 103(5): 489-493.
- [9] Gu L, Zhu YJ, Yang X, et al. Effect of TGF-beta/Smad signaling pathway on lung myofibroblast differentiation [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2007, 28(3): 382-391.
- [10] Phan SH. Biology of fibroblasts and myofibroblasts [J]. *Proc Am Thorac Soc*, 2008, 5(3): 334-337.
- [11] Böhm M, Raghunath M, Sunderkötter C, et al. Collagen metabolism is a novel target of the neuropeptide alpha-melanocyte-stimulating hormone [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(8): 6959-6966.
- [12] 周长福, 李志军, 刘红栓. 血必净联合前列腺素 E1 对肺纤维化大鼠转化生长因子- $\beta$ 1 的影响[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2007, 14(3): 186.
- [13] 李杨, 王德文, 宋良文, 等. TGF $\beta$ 1 对肺成纤维细胞中转录因子 SP1、API 和 Smad3-Smad4 活性的影响[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2005, 21(6): 679-682.
- [14] Bartram U, Speer CP. The role of transforming growth factor beta in lung development and disease [J]. *Chest*, 2004, 125(2): 754-765.
- [15] 秦静, 赵铭山, 李君. 丹参素干预对肺纤维化大鼠 TGF- $\beta$ 1/Smads 信号通路的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2013, 29(5): 937-940, 946.
- [16] Leask A, Abraham DJ. TGF-beta signaling and the fibrotic response [J]. *FASEB J*, 2004, 18(7): 816-827.

(收稿日期: 2015-04-17)

(本文编辑: 邸美仙 李银平)