

urantide 抑制动脉粥样硬化大鼠单核细胞趋化蛋白-1 的表达

赵 娟

(承德医学院病理生理学教研室, 河北 承德 067000)

摘要:目的 研究 urantide 对动脉粥样硬化(AS)大鼠胸主动脉及血管平滑肌细胞(VSMC)中单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)的表达的影响。方法 (1)在体实验:采用给予高脂饮食及 ip 给予维生素 D₃ 制备 AS 模型。AS 大鼠分别尾静脉注射 urantide 30 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, 分为 3, 7 和 14 d 组。于各实验结束时间点测量体质量,检测血中甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)和 Ca²⁺;免疫组化法检测胸主动脉中 MCP-1 表达。(2)体外实验:贴块法制备的血管平滑肌细胞(VSMC)中加入尾加压素 II(U II) 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ + urantide 0.1, 1, 10 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 0.1 和 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 作用 48 h, ELISA 法检测细胞中 MCP-1 含量。结果 (1)在体实验:与 AS 模型组比较,只有 14 d urantide 给药组的体质量显著增加($P < 0.05$);3 d 组、7 d 组及 14 d 组血清中 Ca²⁺, TG, TC, HDL 及 LDL 均随给药时间的延长呈现逐渐降低的趋势($P < 0.01$),达到或接近阳性药氟伐他汀组水平;在大鼠胸主动脉内膜及中膜斑块内,与 AS 模型对照组相比,urantide 3 d 组、7 d 组及 14 d 组 MCP-1 阳性染色强度和范围均减少。(2)体外实验:urantide 各浓度组对 VSMC 培养上清中 MCP-1 的表达均有下调趋势($P < 0.05$)。结论 urantide 在大鼠动脉粥样硬化中可抑制炎症因子 MCP-1 的表达。

关键词: urantide; 尾加压素 II; 单核细胞趋化蛋白-1; 动脉粥样硬化; 血管平滑肌细胞

中图分类号: R966, R363 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-3002(2011)05-0425-05

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2011.05.003

尾加压素 II (urotensin II, U II) 作为目前收缩血管活性最强的活性肽,同时又是一种强烈的丝裂原,它在动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)中的病理生理意义越来越受到人们的重视。因此,对 U II 及其受体的直接干预,可能为治疗 AS 提供新的策略和手段^[1]。urantide 是在 hU II 基础上衍生的肽类 U II 受体拮抗剂,其能竞争性地拮抗 U II 对大鼠胸主动脉收缩作用及对血管壁细胞的促丝裂作用^[2]。单核细胞趋化蛋白(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)是炎症反应最强的单核细胞趋化因子,在正常血管壁中几乎未见表达,而在 AS 损伤部位则有 MCP-1 产生,促进 AS 的发生^[3-4]。U II 和炎症因子 MCP-1 都是促 AS 发生、发展的重要因素。urantide 在拮抗 U II 收缩作用的同时,是否对炎症因子 MCP-1 的表达也具有一定的作用,这对于明确 AS 中 U II 与炎症介质之间相互作用机制有重要的实验意义。

基金项目: 吉林省科技厅重大项目资助课题(2005040425);承德医学院博士基金(201102)

作者简介: 赵娟(1981-),女,博士,主要从事病理学研究。

通讯作者: 赵娟, E-mail: zhaajuan811015@sina.com, Tel: (0314)2291364

因此,本研究利用大鼠 AS 模型和体外培养的血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMC),探讨在 urantide 干预下,AS 大鼠胸主动脉及 VSMC 中 MCP-1 表达的变化,为临床防治 AS 提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 药物及试剂

urantide 由上海华大天源生物科技有限公司合成;氟伐他汀(flavastatin, Flu)购自北京诺华制药有限公司;DMEM 培养基干粉及 U II 2 购自美国 Gibco 公司;胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购自天津灏洋公司; α 肌动蛋白抗体(anti-actin α , α -SMA)抗体购自北京博奥森生物技术有限公司;山羊抗大鼠 MCP-1 多克隆抗体购自北京中杉公司;生物素标记小鼠抗山羊 IgG 购自武汉博士德生物工程公司;SABC 免疫组织化学试剂盒、DAB 显色试剂盒购自福州迈新生物技术公司。

1.2 在体实验

1.2.1 动物、模型制备及分组

高脂饲料的配制:基础饲料,3.5% 胆固醇,10% 猪油,0.2% 丙硫氧嘧啶,0.5% 胆酸钠和 5% 白糖。

健康雄性 Wistar 大鼠,160 只,体质量 180 ~ 200 g,

由吉林大学白求恩医学部动物部提供〔许可证号: SCXK(吉)-2009-0004〕。除 25 只大鼠作为正常对照组给予正常饲料外,其余 125 只 Wistar 大鼠,饲以高脂饲料基础上,每天 ip 给予维生素 D₃ (vitamin D₃, Vit D₃) 70 U·kg⁻¹,连续 3 d。实验周期为 6 周。HE 染色,观察大鼠胸主动脉形态学改变。

AS 模型复制成功后,AS 模型组再随机分 3 组:模型组(25 只)、阳性药氟伐他汀组(25 只)、urantide 组(75 只,每个时间点各 25 只)。正常对照组和模型组每日尾静脉注射生理盐水 30 μg·kg⁻¹,连续 14 d;氟伐他汀组每日 ig 给予氟伐他汀 5 μg·kg⁻¹,连续 14 d;urantide 组,每日尾静脉注射 urantide 30 μg·kg⁻¹,分别持续 3,7 和 14 d。

1.2.2 血脂及血 Ca²⁺ 浓度检测

分别在实验开始时、给药前及实验结束时进行血标本采集。采集方法:各组动物禁食过夜,大鼠用 0.3% 戊巴比妥 30 mg·kg⁻¹ ip 给予麻醉后,分离胸主动脉,用 5 ml 注射器采集动脉血,用 1006 × g。离心 15 min,吸取血清分装于 Eppendorf 管中, -20 °C 冰箱保存备用。全自动生化分析仪检测大鼠血清中的甘油三酯(triglycerides, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL) 和 Ca²⁺ 的含量。

1.2.3 免疫组织化学染色检测胸主动脉 MCP-1 表达

实验结束时,取胸主动脉约为 1 cm,用 4% 多聚甲醛固定,留做组织学检测之用。采用 SABC 法进行免疫组化染色,按试剂盒操作说明进行,一抗滴加的山羊抗大鼠 MCP-1 多克隆抗体按 1:100 比例稀释,新鲜配置的 DAB 显色液,室温下显色 3~5 min,复染,封片。每张切片随机选取 10 个高倍镜视野(×400),用 Introduction to Image-Proplus 6.0 病理图像分析软件对所选视野内的免疫组化阳性信号进行图像分析,计算各组大鼠胸主动脉阳性信号的平均吸光度值(absorbance, A)。

1.3 体外实验

1.3.1 血管平滑肌细胞原代培养

健康雄性 Wistar 大鼠采用贴块法进行血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMC)原代培养。步骤:①大鼠经乙醚麻醉后,迅速将胸主动脉自体内取出,立即放入 75% 乙醇中,移入无菌超净工作台;②将动脉剪成长 2~3 cm 的小段,去除外膜的血管放入培养皿中,纵向剪开管壁,然后用刀片轻轻刮除内膜,将中膜剪成 1 mm³ 左右的小块,

用弯吸管均匀接种于培养瓶中,在 37°C 条件下培养 2~4 h;③待组织块牢固贴壁,沿侧壁缓慢加入含有 10% 胎 FBS 的 DMEM 培养液,置于 CO₂ 孵箱静止培养 3 d 后,观察换液。至细胞呈单层汇合后进行传代。

1.3.2 ELISA 法检测上清中 MCP-1 的含量

对数生长期细胞用 0.25% 胰蛋白酶消化,制成细胞悬液,调整细胞密度约为 1 × 10⁷ L⁻¹ 接种至 24 孔板。待细胞 80% 融合后,加入含 0.5% 血清培养基同步生长 24 h 后,按照分组:(1)正常对照组,用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液继续培养;(2)U II 组,加入 U II,终浓度为 10⁻⁸ mol·L⁻¹; (3)氟伐他汀组:U II 组培养液的基础上加入氟伐他汀,终浓度为 10⁻⁷ mmol·L⁻¹ 氟伐他汀;(4)urantide 组:U II 组培养液的基础上加入 urantide,终浓度为 10⁻¹⁰ ~ 10⁻⁶ mol·L⁻¹,于 48 h 收集培养上清,用 ELISA 法检测上清中 MCP-1 的含量。每组设 5 个复孔。

1.4 统计学分析

所有数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。显著性检验采用 SPSS 13.0 软件,组间差异用方差分析或秩和检验进行统计学检验,组间两两比较采用最小显著差法(LSD)。

2 结果

2.1 饲高脂饲料大鼠胸主动脉的组织结构改变

HE 染色结果发现,正常对照组大鼠血管内皮完整,中膜可见梭形平滑肌细胞,弹力纤维层结构清晰完整(图 1A);而饲高脂饲料大鼠病变部位内膜明显增厚,血管内皮细胞排列不完整,平滑肌细胞在内膜增生显著,大量堆积的泡沫细胞,出现典型 AS 病理改变(图 1B)。说明 ip 给予 Vit D₃ 联合高脂饲料喂养的方法可成功建立大鼠 AS 模型。

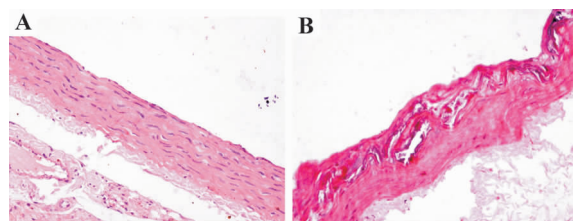


图 1 饲高脂饲料大鼠胸主动脉的组织结构(HE ×200)。Wistar 大鼠饲以高脂饲料基础上,每天 ip 给予维生素 D₃ 70 U·kg⁻¹,连续 3 d。实验周期为 6 周。A:正常对照组;B:饲高脂饲料组。

Fig.1 Morphological characters of thoracic aorta of atherosclerosis (AS) rats fed with high fat diet (HE ×200)

2.2 urantide 对动脉粥样硬化大鼠体质量的影响

表 1 结果显示,在模型制备期间,正常对照组

大鼠体质量随饲养时间的增加而增长;与正常对照组比较,模型组大鼠体质量明显减少($P < 0.01$)。给药后,与模型组比较,只有 urantide 给药 14 d 时

表 1 urantide 对动脉粥样硬化 (AS) 大鼠体质量的影响
Tab.1 Effect of urantide on body mass of atherosclerosis (AS) rats

组别	体质量/g	
	给药前	给药后
正常对照	293 ± 9	347 ± 24
模型	164 ± 5 **	122 ± 6 **
氟伐他汀	164 ± 2 **	144 ± 4 **##
urantide 3 d	164 ± 4 **	128 ± 2 **
7 d	164 ± 7 **	138 ± 6 **
14 d	164 ± 3 **	143 ± 5 **##

正常对照组和模型组每日尾静脉注射生理盐水 $30 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 连续 14 d; 氟伐他汀组每日 ig 给予氟伐他汀 $5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 连续 14 d; urantide 组, 每日尾静脉注射 urantide $30 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 分别持续 3, 7 和 14 d. $\bar{x} \pm s$, $n = 20$. ** $P < 0.01$ 与正常对照组比较; ## $P < 0.01$, 与模型组比较。

表 2 urantide 对 AS 大鼠血脂和血钙浓度的影响
Tab.2 Effect of urantide on lipid and calcium concentrations of AS rats

组别	<i>n</i>	$\text{Ca}^{2+} / \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{TG} / \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{TC} / \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{HDL} / \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{LDL} / \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$
正常对照	25	2.62 ± 0.06	0.03 ± 0.01	1.20 ± 0.02	0.57 ± 0.04	0.16 ± 0.01
模型	23	3.82 ± 0.01 **	1.74 ± 0.08 **	17.61 ± 0.08 **	2.19 ± 0.05 **	16.05 ± 0.15 **
氟伐他汀	25	3.12 ± 0.01 **##	0.74 ± 0.05 **##	12.45 ± 0.02 **##	1.27 ± 0.00 **##	11.95 ± 0.06 **##
urantide 3 d	24	3.57 ± 0.00 **##	1.04 ± 0.00 **##	17.03 ± 0.01 **##	1.98 ± 0.00 **##	15.16 ± 0.01 **##
7 d	25	3.48 ± 0.01 **##	0.72 ± 0.14 **#	15.87 ± 0.00 **##	1.81 ± 0.02 **##	14.20 ± 0.01 **##
14 d	25	3.43 ± 0.39 **##	0.43 ± 0.04 **##	12.83 ± 0.06 **##	1.48 ± 0.06 **##	10.16 ± 0.05 **##

分组处理见表 1. TG: 甘油三酯; TC: 总胆固醇; HDL: 高密度脂蛋白; LDL: 低密度脂蛋白. $\bar{x} \pm s$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与正常对照组比较; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, 与模型组比较。

的体质量显著增加,与氟伐他汀组近似($P < 0.05$)。urantide 给药 3 d 与 7 d 体质量与模型组无差异,依旧低于正常对照组($P < 0.01$)。

2.3 urantide 对动脉粥样硬化大鼠血脂和血钙浓度的影响

表 2 结果显示,与正常对照组比较,模型组大鼠血清中 Ca^{2+} , TG, TC, HDL 及 LDL 含量均明显升高,具有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,氟伐他汀组血清中 Ca^{2+} , TG, TC, HDL 及 LDL 含量均明显降低($P < 0.01$), urantide 各给药组在给药后,血清中各项指标均随给药时间的延长呈现逐渐降低的趋势($P < 0.01$),达到或接近氟伐他汀组的水平。

2.4 urantide 对动脉粥样硬化大鼠胸主动脉 MCP-1 表达的影响

图 2 和表 3 结果显示,正常对照组大鼠胸主动脉内膜及中膜几乎没有 MCP-1 表达。在模型组胸主动脉 AS 斑块内, MCP-1 阳性颗粒有少量表达。urantide 各给药组及氟伐他汀组 MCP-1 表达减少。

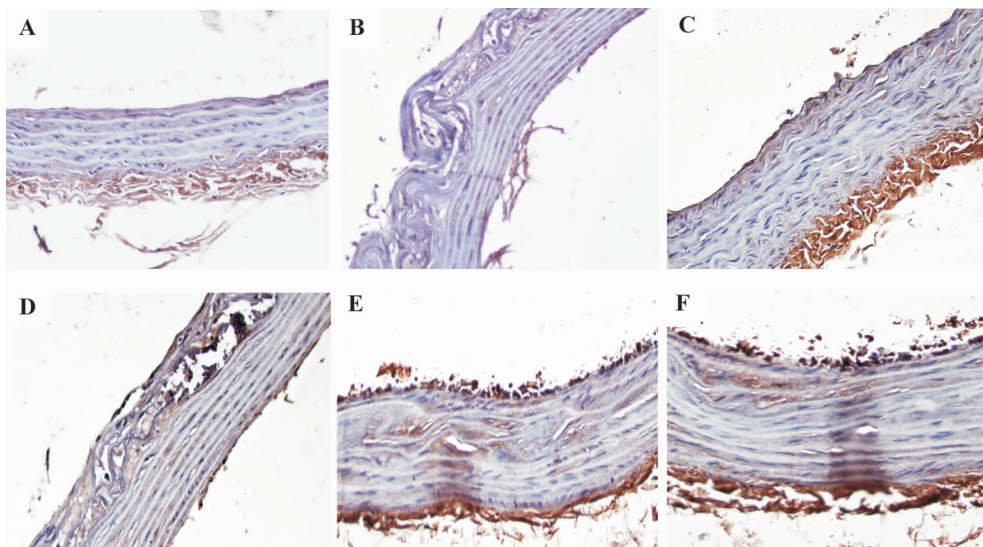


图 2 免疫组化法检测 urantide 对 AS 大鼠胸主动脉单核细胞趋化蛋白 (MCP-1) 表达的影响 (×400). A: 正常对照; B: 模型; C: 氟伐他汀; D, E, F: urantide 给药 3, 7 及 14 d 组。

Fig.2 Effect of urantide on monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in thoracic aorta of AS rats by immunohistochemistry (×400).

表 3 urantide 对 AS 大鼠 MCP-1 表达的影响
Tab. 3 Effect of urantide on MCP-1 expression in AS rats

组别	n	MCP-1 表达(A)
正常对照	25	1.10 ± 0.01
模型	23	4.17 ± 0.01 **
氟伐他汀	25	3.83 ± 0.01 ***
urantide 3 d	24	2.56 ± 0.05 ***
7 d	25	9.81 ± 0.19 ***
14 d	25	1.83 ± 0.08 ***

分组处理见表 1. $\bar{x} \pm s$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与正常对照组比较; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, 与模型组比较.

2.5 urantide 对血管平滑肌细胞培养上清中 MCP-1 含量的影响

表 4 结果显示,与正常对照组比较,U II 组 VSMC 培养上清中 MCP-1 的表达明显增加($P < 0.01$);urantide 各浓度组对 MCP-1 的表达均有下调趋势,仅 urantide 10^{-8} , 10^{-7} 及 10^{-6} mol · L⁻¹ 组对 MCP-1 的抑制作用具有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。

表 4 urantide 对尾加压素 II 诱导的血管平滑肌细胞中 MCP-1 表达的影响

Tab. 4 Effect of urantide on MCP-1 expression in vascular smooth muscle cells induced by urotensin II

浓度/nmol · L ⁻¹	MCP-1(A)
正常对照	2.22 ± 0.03
尾加压素 II 0.01	2.31 ± 0.07 **
尾加压素 II + 氟伐他汀 0.1	2.26 ± 0.04 #
尾加压素 II + urantide 0.0001	2.28 ± 0.02 *
0.001	2.28 ± 0.02 *
0.01	2.26 ± 0.01 * #
0.1	2.24 ± 0.02 ##
1	2.23 ± 0.02 ##

细胞与药物培养 48 h. $\bar{x} \pm s$, $n = 5$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 正常与对照组比较; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 与尾加压素 II 组比较.

3 讨论

研究证实,MCP-1 主要存在于 AS 损伤部位脂质核心周缘富含巨噬细胞、内皮细胞和 VSMC 的区域。AS 早期,炎症细胞在内膜聚集的过程,依赖于炎症细胞相关趋化因子的表达^[5-6]。本实验发现,在模型组的胸主动脉内膜及中膜斑块内有 MCP-1 阳性颗粒表达,得到与 MCP-1 在血管损伤早期表达

相一致的类似结果,提示 MCP-1 直接或间接地参与 AS 的发生。MCP-1 在单独或与其他细胞因子协同作用下,可吸引血中单核细胞浸润到动脉壁,而浸润的单核细胞进入内皮转变成巨噬细胞,后者表面的受体与氧化变性的 LDL 结合,使之摄入大量的胆固醇,成为 AS 的泡沫细胞,促进 AS 斑块形成^[7]。动物实验中,正常对照组 MCP-1 阳性颗粒在胸主动脉内膜及中膜几乎没有表达;在胸主动脉内膜及中膜斑块内,模型组 MCP-1 阳性颗粒有少量表达;而 urantide 给药 3, 7 及 14 d 时, MCP-1 阳性颗粒表达较模型组染色强度和范围逐渐减少。由此表明,urantide 对 MCP-1 的表达有下调趋势, MCP-1 随 AS 症状缓解而表达减少,这可能与 U II 在 AS 含量变化有关。

MCP-1 除能趋化单核细胞和 T 细胞外,对 VSMC 也有趋化、增殖作用,对单核/巨噬细胞的迁移和激活起特异性调控作用,从而直接或间接地参与 AS 的发生和发展^[8]。U II 对 VSMC 有很强的促丝裂作用,并与其他丝裂原有协同作用。本实验结果显示,在 VSMC 的培养上清中,U II 对 MCP-1 的表达有上调作用,U II 受体拮抗剂 urantide 各浓度组对 MCP-1 的表达均有下调趋势,表明 urantide 不但可以拮抗 U II 对 VSMC 的促丝裂作用,而且还可进一步的抑制 U II 和炎症因子 MCP-1 之间的协同促增殖作用。

综上所述,在 AS 中,U II 特异性受体拮抗剂 urantide 在竞争性拮抗 U II 对大鼠胸主动脉收缩及促丝裂作用的同时,对炎症因子 MCP-1 的表达也有下调作用,使大鼠 AS 症状缓解,对 AS 起一定的保护作用。其作用机制可能是 urantide 直接拮抗 U II 与其受体 GPR14 结合产生的,也可能是通过调节 MCP-1 等炎症因子的表达间接引起的,或者是由其他途径介导的,这些尚有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Ban Y, Watanabe T, Suguro T, Matsuyama TA, Iso Y, Sakai T, *et al.* Increased plasma urotensin- II and carotid atherosclerosis are associated with vascular dementia [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2009, **16**(3):179-187.
- [2] Cheriyan J, Burton TJ, Bradley TJ, Wallace SM, MäkiüPetäjä KM, Mackenzie IS, *et al.* The effects of urotensin II and urantide on forearm blood flow and systemic haemodynamics in humans [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2009, **68**(4):518-523.
- [3] 林 杨, 叶山东. 单核细胞趋化蛋白-1 与糖尿病动脉粥样硬化的关系 [J]. *国际内科学杂志*, 2007, **34**

- (7):381-385.
- [4] Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s[J]. *Nature*, 1993, **362**(6423):801-809.
- [5] Weisberg SP, Hunter D, Huber R, Lemieux J, Slaymaker S, Vaddi K, *et al.* CCR2 modulates inflammatory and metabolic effects of high-fat feeding[J]. *J Clin Invest*, 2006, **116**(1):115-124.
- [6] Viedt C, Vogel J, Athanasiou T, Shen W, Orth SR, Kübler W, *et al.* Monocyte chemoattractant protein-1 induces proliferation and interleukin-6 production in human smooth muscle cells by differential activation of nuclear factor-kappaB and activator protein-1[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, **22**(6):914-920.
- [7] 陈志伟, 李胜涛, 陈琪, 张静, 张钰敏. 白细胞介素 26、白细胞介素 210 与冠心病关系的研究进展[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2008, **6**(8):949-951.
- [8] Ohman MK, Eitzman DT. Targeting MCP-1 to reduce vascular complications of obesity[J]. *Recent Pat Cardiovasc Drug Discov*, 2009, **4**(3):164-176.

Inhibitory effect of urantide on monocyte chemotactic protein-1 in atherosclerotic rats

ZHAO Juan

(Department of Pathophysiology, Chengde Medical College, Chengde 067000, China)

Abstract: OBJECTIVE To study the effect of urantide on monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) expression in the vascular smooth muscle cells (VSMC) of the thoracic aorta atherosclerotic (AS) rats. **METHODS** The AS rat model was replicated by high fat diet with vitamin D₃ intraperitoneally. Urantide was injected from tail vein at 30 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, the body mass in various groups of rats were recorded and triglyceride (TG), total cholesterol (TC), high density lipoprotein (HDL), low density lipoprotein (LDL) and the concentration of calcium in serum were detected at 3, 7 and 14 d after urantide injection. The MCP-1 protein expression was detected by immunohistochemistry. The VSMC of thoracic aorta were cultured *in vivo* in the medium containing urotensin II ($10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) with or without urantide 0.1, 1, 10, 100 and 1000 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$. The MCP-1 in the medium was detected by ELISA after 48 h. **RESULTS** Compared with AS model group, only the body mass of 14 d group of urantide 30 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ increased significantly ($P < 0.05$) while Ca^{2+} , TG, TC, HDL and LDL in 3, 7 and 14 d all decreased markedly ($P < 0.01$). The immunostaining of MCP-1 could be seen in the intima and media of thoracic aorta, which increased significantly as well. Urantide down-regulated the expression of MCP-1 in VSMC ($P < 0.01$). **CONCLUSION** MCP-1 can be inhibited by urantide in AS rats.

Key words: urantide; urotensin II; monocyte chemotactic protein-1; atherosclerosis; vascular smooth muscle cells

Foundation item: The project supported by Major Projects Funded Project of Science and Technology Bureau of Jilin Province (2005040425); and by Doctor Funded Project of Chengde Medical College (201102)

Corresponding author: ZHAO Juan, E-mail: zhaojuan811015@sina.com, Tel: (0314)2291364

(收稿日期: 2011-03-01 接受日期: 2011-07-05)

(本文编辑: 乔虹)