

文章编号:1000-5404(2014)12-1237-06

论著

γ -氨基丁酸通过其 A 型受体参与小鼠胎盘血管的形成研究

赵海,马婧,卢俊杰,谭冬梅,张倩,罗文萍,谭毅 (400016 重庆,重庆医科大学实验动物中心)

[摘要] 目的 探讨不同浓度的 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) A 型受体激动剂/抑制剂对小鼠胎盘形成的影响。方法 免疫组化检测孕鼠中晚期胎盘中 GABA 的 A 型受体 ($GABA_A R$) π 亚基 (GABRP) 的表达规律。将昆明孕鼠分为 8 组,每组 3 只,处理组从妊娠第 7~13 天分别腹腔注射 0.009 5、0.095 mg/kg 及 0.95 mg/kg A 型受体激动剂和 0.018 4、0.184 mg/kg 及 1.84 mg/kg 的 A 型受体抑制剂溶液,对照组注射生理盐水,空白组不作任何处理。第 14 天时称量各组胎盘和胚胎,HE 染色观察胎盘形态学变化,检测增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 及血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 表达情况。结果 GABRP 强表达于孕鼠第 10~17 天的母胎蜕膜区;与对照组比较,0.95 mg/kg $GABA_A R$ 激动剂组蜕膜区血管数量和胎盘迷路区胎儿有核红细胞的数量显著增加 ($P < 0.05$),同时迷路区 PCNA 和 VEGF 的表达显著增加 ($P < 0.05$);1.84 mg/kg $GABA_A R$ 抑制剂组胎盘和胚胎的质量显著降低 ($P < 0.05$),同时迷路区 PCNA 和 VEGF 表达均降低。结论 GABA 可能通过与其 A 型受体结合参与调节小鼠胎盘增殖和血管的生成过程。

[关键词] γ -氨基丁酸;蜕膜化;迷路区;胎盘

[中图分类号] R321.4;R322.12;R341.7

[文献标志码] A

Gamma-aminobutyric acid participates in mouse feto-maternal vasculogenesis through GABA type A receptor

Zhao Hai, Ma Jing, Lu Junjie, Tan Dongmei, Zhang Qian, Luo Wenping, Tan Yi (Laboratory Animal Center, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[Abstract] **Objective** To study the potential roles of γ -aminobutyric acid (GABA) type A receptor ($GABA_A R$) agonist and antagonist in mouse placentation. **Methods** Immunohistochemistry was applied to detect the expression of the π subunit of $GABA_A R$ (GABRP) in the placentas of mid and late phase during mouse pregnancy. Kunming pregnant mice were divided into 8 groups ($n = 3$) randomly, including 3 treatment groups with daily intraperitoneal injection of $GABA_A R$ agonist of 0.009 5, 0.095, and 0.95 mg/kg separately from D7 to D13, 3 treatment groups with daily intraperitoneal injection of $GABA_A R$ antagonist of 0.018 4, 0.184, and 1.84 mg/kg separately from D7 to D13, a control group with injection of saline solution, and a blank group without any treatment. The weights of embryos and placentas were measured and the structure of placenta was observed by HE staining on D14. Besides, the state of proliferation and vasculogenesis in the placenta were evaluated by the expression levels of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and vascular endothelial growth factor (VEGF) using immunohistochemical assay. **Results** GABRP was mainly expressed in the decidua basalis of the uterus from D10 to D17 in pregnant rats. The numbers of blood vessels in the placental decidua zone and nucleated red cells in the labyrinth were significantly increased in the 0.95 mg/kg $GABA_A R$ agonist group ($P < 0.05$), while the expression of PCNA and VEGF was also significantly increased in the placenta labyrinth ($P < 0.05$). Surprisingly, the weights of placenta and embryo were significantly decreased in the 1.84 mg/kg $GABA_A R$ antagonist group as compared to the control group ($P < 0.05$), while the expression of PCNA and VEGF was reduced in the placenta labyrinth. **Conclusion** GABA may participate in mouse placentation and vasculogenesis *via* $GABA_A R$.

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目 (31171436);重庆市教委科学技术研究项目 (KJ110316)

[通信作者] 谭毅,电话:(023)68485997,E-mail:tanyee66@hotmail.com

[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140428.1748.003.html>(2014-04-28)

[Key words] γ -aminobutyric acid; decidualization; labyrinth; placenta

Supported by the General Program of National Science Foundation of China (31171436) and the Project of Science and Technology Research of Chongqing Municipal Education Commission (KJ110316). Corresponding author: Tan Yi, Tel: 86-23-68485997, E-mail: tanyee66@hotmail.com

哺乳动物胎盘形成、胚胎的生长发育与滋养层细胞的增殖、分化、侵袭以及子宫螺旋动脉重建密切相关^[1-2]。小鼠囊胚植入时靠近内细胞团的滋养层细胞分化为具有侵袭能力的外胎盘锥^[3],随后有节制性的向子宫蜕膜基质部分入侵,直到妊娠的第13天小鼠胎盘结构完全形成。此时胎盘主要由母体蜕膜层、母胎界面的连接区及物质交换的迷路区构成^[4]。

γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)是脊椎动物中枢神经系统中主要的抑制性神经递质。其受体根据不同的药理特征分成A、B、C三种类型,迄今已发现GABA的A型受体(GABA_AR)至少由21个不同的亚基组成的膜蛋白五聚体。GABA_AR的 π 亚基(GABRP)高表达于人类胚胎植入窗口期及分泌晚期的子宫内腔中^[5-8],GABA可以通过改变A型受体对孕激素的敏感性,参与调节子宫内腔受性和啮齿类动物的蜕膜化进程确保妊娠的足月分娩^[9-12]。我们课题组前期研究发现GABA信号动态表达于胚胎植入期的子宫内腔中^[13],GABA与其A型受体作用后通过降调节Cyclin D3抑制小鼠子宫间质细胞的蜕膜化^[14]。同时发现GABA可以通过调节细胞增殖参与小鼠胎盘的形成功^[15]。但是GABA的A型受体在小鼠妊娠中后期是否表达及其在胎盘发育过程中具体起到何种作用尚未知晓。因此,本实验检测GABRP在孕鼠第13、15、17、19天胎盘中的表达规律,于第7~13天腹腔给予GABA_AR激动剂/抑制剂干预后观察胎盘的形态学等变化,进一步阐明GABA信号在小鼠胎盘形成过程中起到的分子机制。

1 材料与方法

1.1 动物与试剂

清洁级昆明雌鼠,6~8周龄,体质量20~25g,由重庆医科大学实验动物中心提供[SCXK(渝)2012-0001],实验中所涉及的操作方案均通过重庆医科大学伦理委员会批准。雄鼠与动情期雌鼠1:2合笼,次日09:00观察到阴栓者记为妊娠第1天(记为D1)。

兔源性GABRP(ab26055)多克隆抗体购自Abcam公司;兔源性增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)(bs-2007R)多克隆抗体购自博奥森公司;兔源性血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)(AV202)多克隆抗体购自碧云天公司;S-P兔源试剂盒(S-P9001)和DAB显试剂盒(ZLI-9017)均购自北京中杉金桥公司;GABA A型受体激动剂Muscimol(G019)和抑制剂SR-95531(S106)均购自Sigma公司。

1.2 方法

1.2.1 小鼠胎盘的收集 取正常孕鼠D10、D13、D15、D17、D19植入位点鼓包组织,预冷的PBS洗2遍,4%多聚甲醛固定24h后,经梯度酒精脱水、常规石蜡包埋和切片(5 μ m),用于HE、IHC观察。

将孕鼠分为8组,每组3只,处理组于妊娠D7~D13的上午09:00分别腹腔注射0.00975、0.095mg/kg及0.95mg/kg A型受体激动剂和0.0184、0.184mg/kg及1.84mg/kg的抑制剂溶液。对照组注射生理盐水,空白组不作任何处理。获取D14植入位点,分离胎盘及胚胎并称量,4%多聚甲醛固定,石蜡切片,HE染色,显微镜下观察胎盘的形态学变化。

1.2.2 免疫组化 按照北京中杉金桥公司生产的S-P免疫组化染色试剂盒说明书进行免疫组化,切片脱蜡,复水,枸橼酸溶液抗原修复,山羊血清封闭,加入兔源性多克隆抗体GABRP(1:2000)稀释,4 $^{\circ}$ C孵育过夜(16~18h),次日加入山羊抗兔二抗,滴加辣根酶标记链霉卵白素工作液(S-A/HRP)室温孵育30min,DAB显色,苏木精复染,封片,显微镜下观察GABRP在D10~D19胎盘中的表达情况。

检测PCNA(1:300)和VEGF(1:4000)在不同浓度GABA A型受体激动剂/抑制剂溶液处理前后D14胎盘石蜡切片中的表达情况,阴性对照以兔源性IgG代替一抗,并用Image Pro Plus(IPP)软件测各组PCNA和VEGF阳性细胞的累积光密度值,作为PCNA及VEGF蛋白的相对表达量。

1.3 统计学分析

所有实验重复3次,采用SPSS 12.0软件对各组胎盘、胚胎质量,PCNA及VEGF蛋白表达的光密度值进行单因素方差分析,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 GABRP在孕鼠D10、D13、D15、D17及D19胎盘中的表达情况

免疫组化结果显示GABRP强表达于D10~D17母胎蜕膜区,较强表达于D15、D17及D19胎盘迷路区,弱表达于D13胎盘迷路区,见图1。Image Pro Plus图像分析显示,D10、D13、D15、D17母胎蜕膜区和D13胎盘迷路区中GABRP阳性细胞的IOD值较D19均有显著性差异($P < 0.05$,图2)。

2.2 激活/抑制A型受体对妊娠小鼠胎盘质量及形态学结构的影响

各组胎盘及胚胎质量统计分析结果显示,对照组与空白组比较,胎盘、胚胎质量和胎盘结构无变化($P > 0.05$);与对照组比较,1.84mg/kg GABA_AR抑制剂组胎盘和胚胎质量均降低,且差异均具有显著性($P < 0.05$,表1)。HE染色显示0.975mg/kg GABA_AR激动剂组中母胎蜕膜区血管数量和迷路区有核红细胞的数量显著性增加($P < 0.05$),同时1.84mg/kg GABA_AR抑制剂组中蜕膜区血管数量和迷路区胎儿有核红细胞数量显著

降低 ($P < 0.05$)。见图3,表2。

表1 不同浓度 GABA_AR 激动/抑制剂溶液处理后各组孕鼠 D14 胎盘和胚胎的质量 (mg, $n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	胎盘的质量	胚胎的质量
空白组	104.47 ± 6.911	190.44 ± 7.894
对照组	105.05 ± 11.571	188.87 ± 7.243
GABA _A R 激动剂组		
0.009 75 mg/kg	108.51 ± 14.129	191.34 ± 7.584
0.097 5 mg/kg	112.08 ± 9.167	189.28 ± 10.587
0.97 5 mg/kg	112.16 ± 9.970	193.01 ± 5.896
GABA _A R 抑制剂组		
0.0184 mg/kg	94.16 ± 17.717	170.96 ± 18.681
0.184 mg/kg	96.44 ± 5.172	163.05 ± 10.072
1.84 mg/kg	73.12 ± 11.563 ^a	140.16 ± 9.568 ^a

a: $P < 0.05$, 与对照组比较

2.3 激活/抑制 GABA_AR 型受体对孕鼠 D14 胎盘中 PCNA 和 VEGF 表达情况的影响

免疫组化显示 PCNA 表达于细胞核中, VEGF 表达于胞质, 与对照组相比较, 空白组迷路区滋养细胞的增殖和 VEGF 表达均无明显变化; 0.097 5 mg/kg 和 0.975 mg/kg 的 GABA_AR 激动

剂组 PCNA 和 VEGF 在迷路区表达明显增加, 且随着 A 型受体激动剂浓度的增加, 二者阳性细胞数量增多, A 型受体抑制剂组具有相应抑制作用, 见图 4、5。Image Pro Plus 图像分析显示, 0.0975 mg/kg 和 0.975 mg/kg 激动剂组胎盘迷路区的 PCNA 和 VEGF 的表达较对照组均显著增加, 1.84 mg/kg GABA_AR 抑制剂组二者的表达显著降低 ($P < 0.05$, 表 3)。

表2 不同浓度 GABA_AR 激动/抑制剂处理后各组孕鼠 D14 胎盘蜕膜区血管数量和迷路区有核红细胞数量 (个, $n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	胎盘蜕膜区血管数量	迷路区有核红细胞数量
空白组	3.11 ± 1.054	48.00 ± 2.450
对照组	3.33 ± 1.500	49.56 ± 2.068
GABA _A R 激动剂组		
0.009 75 mg/kg	6.67 ± 1.581	53.78 ± 2.438
0.097 5 mg/kg	10.33 ± 1.323 ^a	73.11 ± 2.758
0.975 mg/kg	13.00 ± 1.118 ^a	80.44 ± 1.667 ^a
GABA _A R 抑制剂组		
0.0184 mg/kg	2.22 ± 0.972	35.00 ± 2.915
0.184 mg/kg	2.00 ± 0.866	23.56 ± 2.068
1.84 mg/kg	1.67 ± 0.707 ^a	10.22 ± 1.986 ^a

a: $P < 0.05$, 与对照组比较

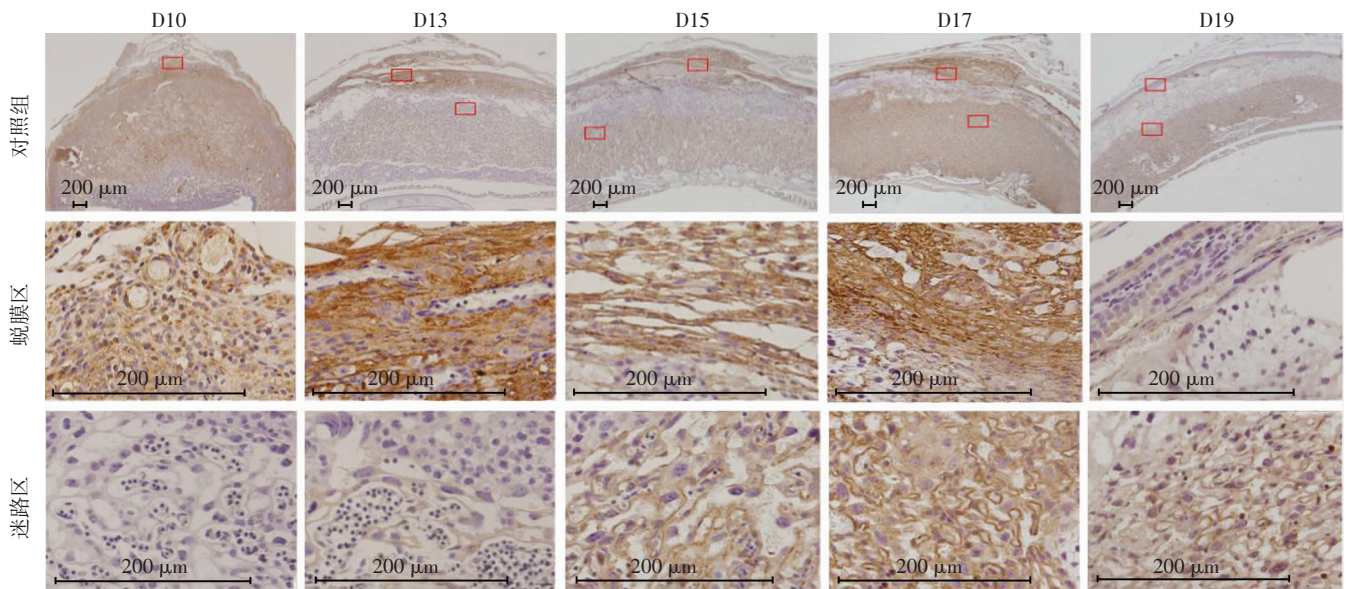
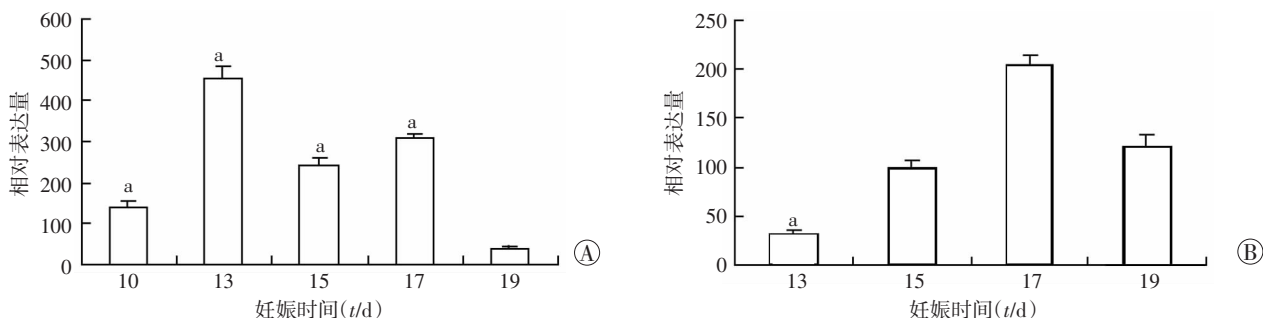


图1 免疫组化检测 GABRP 在各组孕鼠 D10 ~ D19 胎盘中的表达 (S-P)



A: 蜕膜区; B: 迷路区 a: $P < 0.05$, 与第19天比较

图2 GABRP 在各组孕鼠 D10 ~ D19 胎盘中的表达分析

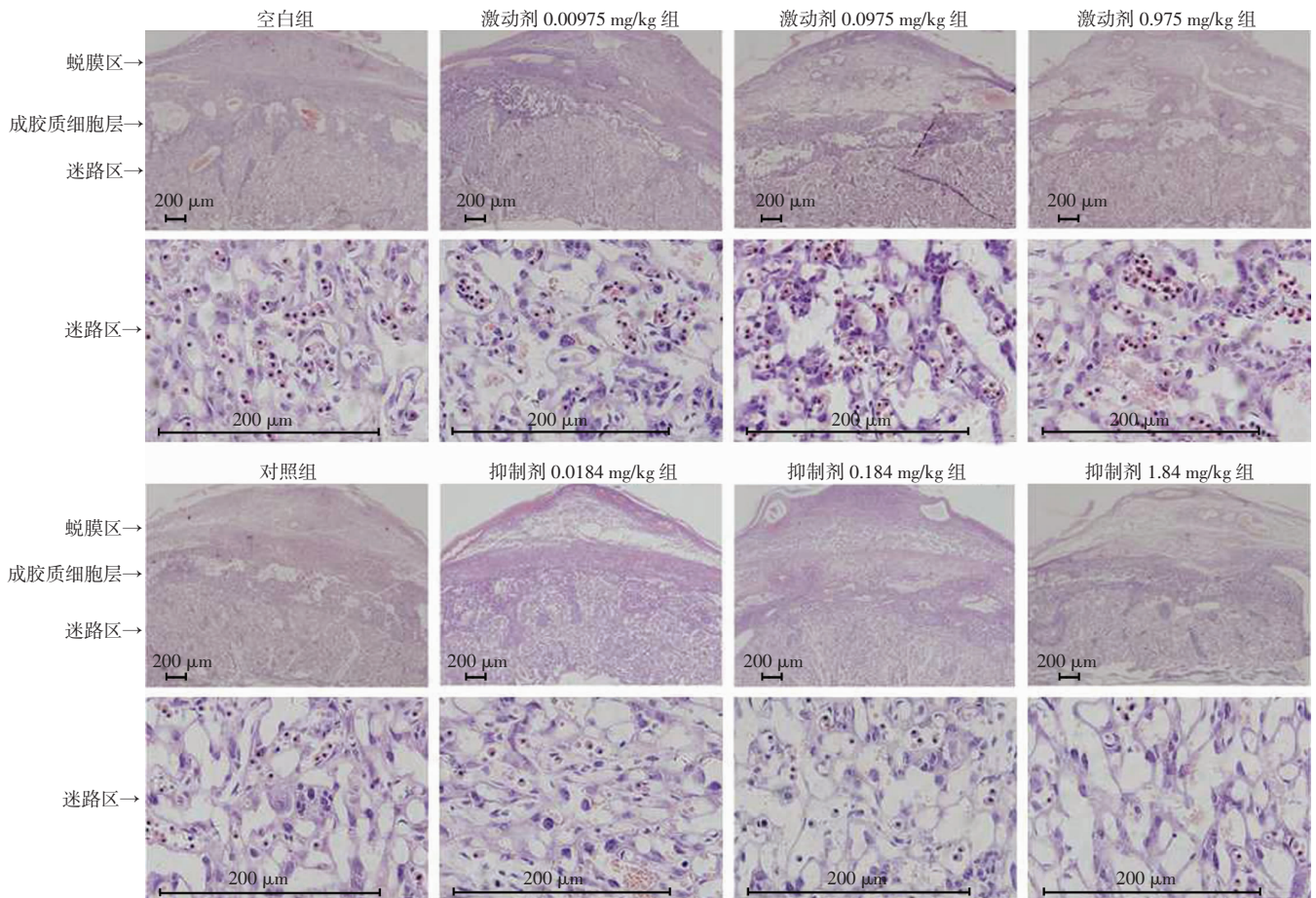


图3 不同浓度 GABA_AR 激动/抑制剂处理后各组孕鼠 D14 胎盘形态学变化 (HE)

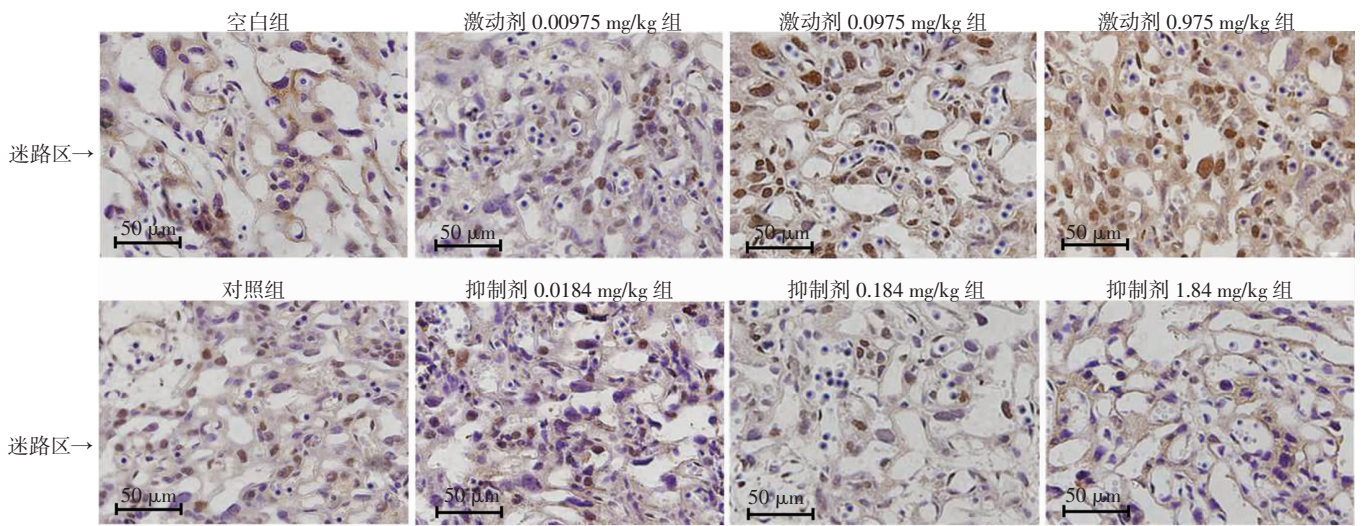


图4 不同浓度的 GABA_AR 激动/抑制剂处理后各组孕鼠 D14 胎盘迷路区中 PCNA 的表达 (S-P)

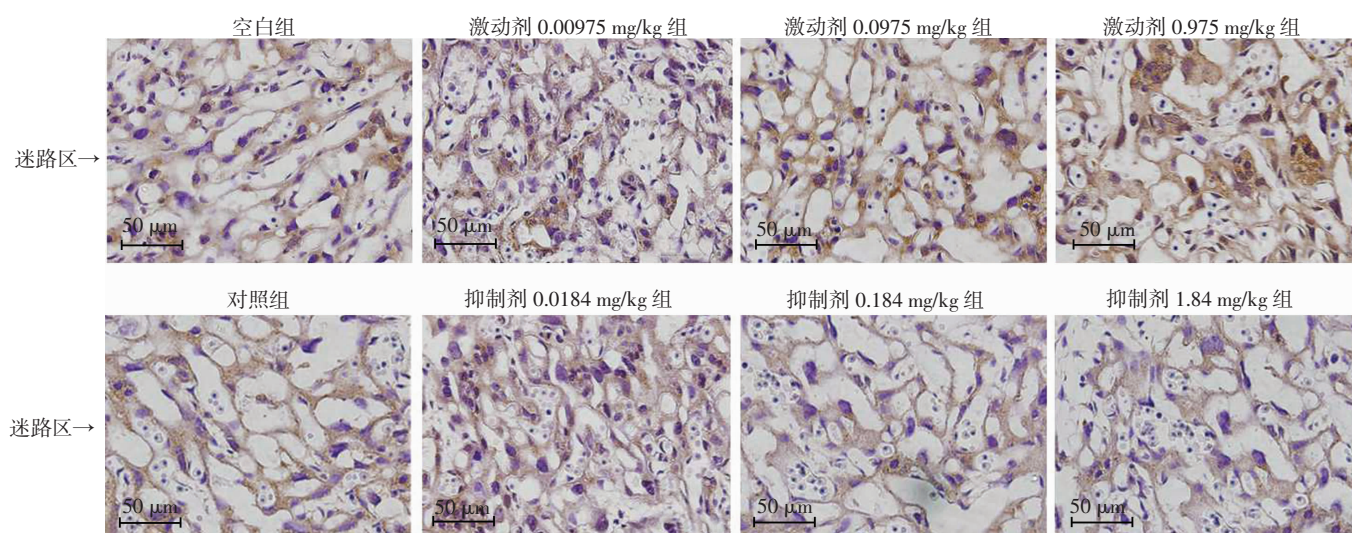


图5 不同浓度的 GABA_AR 激动/抑制剂处理后各组孕鼠 D14 胎盘迷路区中 VEGF 的表达 (S-P)

表3 不同浓度 GABA_AR 激动/抑制剂处理后各组孕鼠 D14 胎盘迷路区 PCNA 及 VEGF 的表达分析 (n=3, $\bar{x} \pm s$)

组别	迷路区 PCNA 阳性细胞的光密度值	迷路区 VEGF 阳性细胞的光密度值
空白组	100.09 ± 13.763	230.04 ± 31.926
对照组	110.97 ± 38.593	233.65 ± 62.853
GABA _A R 激动剂组		
0.00975 mg/kg	103.57 ± 18.176	210.40 ± 56.562
0.0975 mg/kg	291.92 ± 24.394 ^a	266.48 ± 62.875
0.975 mg/kg	378.28 ± 21.742 ^a	713.97 ± 90.972 ^a
GABA _A R 抑制剂组		
0.0184 mg/kg	106.63 ± 22.948	134.88 ± 27.976 ^a
0.184 mg/kg	86.032 ± 11.343	113.50 ± 26.260 ^a
1.84 mg/kg	54.37 ± 17.254 ^a	49.36 ± 13.050 ^a

a: $P < 0.05$, 与对照组比较

3 讨论

胎盘作为胚胎发育中维系母体和胎儿氧气及营养物质交换的重要暂时性器官,由起源于细胞滋养层和胚外中胚层的胎儿丛密绒毛膜和母体子宫基蜕膜共同组成。研究发现 Bcl-2 家族成员,转化生长因子 β (TGF- β) 家族成员,肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体 (TRAIL) 及其受体与蜕膜细胞的增殖凋亡机制有密切的关系^[16]。一系列激素、转录因子、生长因子、Mash2、Hand1、Stra13、Gcm1、Akt1 和大麻素等通过分泌或自分泌方式参与了滋养层干细胞的增殖、分化、侵袭和母体血管重建过程^[17-19]。

小鼠胎盘迷路区具有促使母体和胎儿之间氧气和

营养物质的高效交换并为胎儿提供免疫保护等作用,该区域中的胎儿有核红细胞的数量直接反应了母胎血液交换及胎儿的生长发育等情况^[20]。研究表明激活 GABAR 型受体可以抑制人类肝癌细胞系 HepG2 增殖,促进 KAT III、胃癌 SGC-7901 的增殖,由于其胞膜 GABAR 亚单位组成及胞内信号传导通路的差异性和调节作用及相关机制也会有所不同,从而表现为 GABA 通过不同受体途径对肿瘤细胞增殖能力的调节具有特异性^[21-24]。

我们前期研究发现 GABA 信号动态表达于 D1 ~ D8 的子宫内蜕膜中^[13-14],GABA 可通过调节细胞增殖参与小鼠胎盘的形成功^[15]。GABRP 只表达于胎盘的蜕膜区,这提示我们 GABA 可能通过 GABRP 参与了小鼠子宫基质细胞的蜕膜化进程,本实验用不同浓度的 GABA_AR 激动/抑制剂溶液在体干预后研究发现高浓度的 A 型受体激动剂组能够促进胎盘蜕膜区血管数量和迷路区胎儿有核红细胞的数量,且迷路区中 PCNA 和 VEGF 的表达增强,随着激动剂浓度的增加阳性细胞数量增多,与对照组比较差异均具有显著性 ($P < 0.05$)。高浓度的 GABA_AR 型受体抑制剂组能够显著性降低胎盘、胚胎的质量 ($P < 0.05$),同时蜕膜区血管数量、迷路区胎儿有核红细胞的数量、迷路区中 PCNA 和 VEGF 的阳性细胞表达都显著性降低 ($P < 0.05$)。因此我们猜测 GABA 通过与其 A 型受体结合可能参与调节胎盘细胞的增殖、子宫基质细胞的蜕膜化、胎盘血管形成、迷路区胎儿有核红细胞的生成、母胎血液交换等多个环节,确保母体和胎儿之间氧气

和营养物质的高效交换,胎儿的正常发育。

总之,在本研究中我们首先检测 GABRP 在孕鼠胎盘形成中后期的表达,并通过特异性的受体干预手段探讨了 A 型受体在胎盘形成中的作用,这将丰富我们对胎盘形成调节的新认识,有助于进一步理解胎盘发生异常所致的产科疾病的发病机制。但是 GABA 信号参与调节胎盘形成的具体分子机制及信号通路,尚需进一步研究和证实。在妊娠晚期 GABA 信号是否参与调节小鼠子宫肌肉收缩性和胎儿分娩,分娩后子宫恢复过程中 GABA 信号是否表达,该信号所起到的功能及分子机制还尚不清楚,有待进一步研究。

参考文献:

[1] Cross J C, Werb Z, Fisher S J. Implantation and the placenta: key pieces of the development puzzle[J]. *Science*, 1994, 266(5190): 1508 - 1518.

[2] Wang H, Dey S K. Roadmap to embryo implantation: clues from mouse models[J]. *Nat Rev Genet*, 2006, 7(3): 185 - 199.

[3] Dey S K, Lim H, Das S K, *et al.* Molecular cues to implantation[J]. *Endocr Rev*, 2004, 25(3): 341 - 373.

[4] Ramathal C Y, Bagchi I C, Taylor R N, *et al.* Endometrial decidualization: of mice and men[J]. *Semin Reprod Med*, 2010, 28(1): 17 - 26.

[5] Zhang H, Long Q, Ling L, *et al.* Elevated expression of KiSS-1 in placenta of preeclampsia and its effect on trophoblast[J]. *Reprod Biol*, 2011, 11(2): 99 - 115.

[6] Hu D, Cross J C. Development and function of trophoblast giant cells in the rodent placenta[J]. *Int J Dev Biol*, 2010, 54(2/3): 341 - 354.

[7] 张辉, 徐满英. γ -氨基丁酸作用的研究进展[J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2006, 40(3): 267 - 268, 封3.

[8] Vitiello D, Pinard R, Taylor H S. Gene expression profiling reveals putative HOXA10 downstream targets in the periimplantation mouse uterus[J]. *Reprod Sci*, 2008, 15(5): 529 - 535.

[9] Yao M W, Lim H, Schust D J, *et al.* Gene expression profiling reveals progesterone-mediated cell cycle and immunoregulatory roles of Hoxa-10 in the preimplantation uterus[J]. *Mol Endocrinol*, 2003, 17(4): 610 - 627.

[10] Das S K, Lim H, Paria B C, *et al.* Cyclin D3 in the mouse uterus is associated with the decidualization process during early pregnancy [J]. *J Mol Endocrinol*, 1999, 22(1): 91 - 101.

[11] Majewska M D, Vaupel D B. Steroid control of uterine motility *via* gamma-aminobutyric acidA receptors in the rabbit: a novel mechanism? [J]. *J Endocrinol*, 1991, 131(3): 427 - 434.

[12] Hedblom E, Kirkness E F. A novel class of GABAA receptor subunit

in tissues of the reproductive system[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(24): 15346 - 15350.

[13] Quezada M, Henriquez S, Vargas M, *et al.* Proenkephalin A and the gamma-aminobutyric acid A receptor pi subunit: expression, localization, and dynamic changes in human secretory endometrium[J]. *Fertil Steril*, 2006, 86(6): 1750 - 1757.

[14] Sadeghi H, Taylor H S. HOXA10 regulates endometrial GABAA {pi} receptor expression and membrane translocation [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2010, 298(4): E889 - E893.

[15] 刘真真, 罗文萍, 谭冬梅, 等. γ -氨基丁酸(GABA)及其 A 型受体 π 亚基在植入前小鼠子宫的动态表达 [J]. *生殖与避孕*, 2011, 31(6): 364 - 368.

[16] Luo W, Liu Z, Tan D, *et al.* Gamma-amino butyric acid and the A-type receptor suppress decidualization of mouse uterine stromal cells by down-regulating cyclin D3[J]. *Mol Reprod Dev*, 2013, 80(1): 59 - 69.

[17] 赵海, 卢俊杰, 马婧, 等. γ -氨基丁酸(GABA)通过调节细胞增殖参与小鼠胎盘的形成功能[J]. *生殖与避孕*, 2013, 33(11): 719 - 724.

[18] Rogers P A, Murphy C R, Rogers A W, *et al.* Capillary patency and permeability in the endometrium surrounding the implanting rat blastocyst[J]. *Int J Microcirc Clin Exp*, 1983, 2(3): 241 - 249.

[19] Burke S D, Barrette V F, Bianco J, *et al.* Spiral arterial remodeling is not essential for normal blood pressure regulation in pregnant mice [J]. *Hypertension*, 2010, 55(3): 729 - 737.

[20] Franco H L, Dai D, Lee K Y, *et al.* WNT4 is a key regulator of normal postnatal uterine development and progesterone signaling during embryo implantation and decidualization in the mouse[J]. *FASEB J*, 2011, 25(4): 1176 - 1187.

[21] Downs K M. Early Placental ontogeny in the mouse [J]. *Placenta*, 2002, 23(2/3): 116 - 131.

[22] Downs K M, Gardner R L. An investigation into early placental ontogeny: allantoic attachment to the chorion is selective and developmentally regulated[J]. *Development*, 1995, 121(2): 407 - 416.

[23] Rossant J, Cross J C. Placental development: lessons from mouse mutants[J]. *Nat Rev Genet*, 2001, 2(7): 538 - 548.

[24] Cross J C, Baczyk D, Dobric N, *et al.* Genes, development and evolution of the Placenta[J]. *Placenta*, 2003, 24(2/3): 123 - 130.

[25] 史良会, 张才全. γ -氨基丁酸及其 A 型受体在胃癌 SGC-7901 细胞的表达及对细胞增殖的影响[J]. *第三军医大学学报*, 2011, 33(20): 2132 - 2135.

[26] Jezewska E, Scinska A, Kukwa W, *et al.* Gamma-aminobutyric acid concentrations in benign parotid tumours and unstimulated parotid saliva[J]. *J Laryngol Otol*, 2011, 125(5): 492 - 496.

(收稿:2013-12-15;修回:2014-02-25)

(编辑 吴培红)