

中药筋脉通对糖尿病大鼠背根神经节神经元超微结构影响的研究

杨丹 梁晓春 屈岭 吴群励 吴亚楠 石玥 戴威

【摘要】 目的 观察中药筋脉通对链尿佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导的糖尿病(diabetes mellitus, DM)大鼠背根神经节(dorsal root ganglia, DRG)感觉神经元超微结构的影响。**方法** 雄性SD大鼠18只,腹腔内注射STZ诱导建立糖尿病大鼠模型,随机分为糖尿病组、筋脉通组与牛磺酸组,每组6只大鼠,并设正常对照组6只。成模后每天1次灌胃给药,持续16周。药物干预16周后,用电子Von Frey仪检测机械痛阈值,取大鼠背根神经节,按常规方法制成切片后,在电镜下观察背根神经节神经元超微结构的病理学改变。**结果** 糖尿病大鼠的机械痛阈值较正常组显著明显下降($P<0.01$),背根神经节感觉神经元超微结构出现重度损伤,神经元细胞中线粒体数量显著减少($P<0.01$),并且线粒体肿胀及空泡化比率、凋亡率显著升高($P<0.01$);中药筋脉通可显著提高机械痛阈值($P<0.01$),减轻神经元的损伤,提高神经元中线粒体的数量($P<0.05$),并且降低线粒体的肿胀及空泡化比率及凋亡率($P<0.01$),且中药筋脉通的疗效优于牛磺酸($P<0.01$)。**结论** 中药筋脉通对抑制糖尿病大鼠背根神经节感觉神经元及其线粒体超微结构的损伤而对糖尿病所致周围神经病变起到一定的保护作用。

【关键词】 糖尿病周围神经病变; 背根神经节神经元; 筋脉通; 超微结构; 线粒体

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2016.06.003

Effects of Jinmaitong on ultrastructure of DRG neurons in STZ-DM rats YANG Dan, LIANG Xiao-chun, QU Ling, et al. Department of Traditional Chinese Medicine, PUMC Hospital, PUMC&CAMS, Beijing 100730, China

Corresponding author: LIANG Xiao-chun, E-mail: xcliang@vip.sina.com

【Abstract】 Objective To study the effects of Jinmaitong on ultrastructure of dorsal root ganglion (DRG) neurons in STZ-induced diabetic rats. **Methods** The STZ-induced diabetic rats were randomly divided into 4 groups including normal control group (Con), Diabetic group (DM), JMT group (JMT) and Taurine group (Tau). Six rats were in each group. All rats were given intragastric administration for 16 weeks and then culled. The mechanical withdrawal threshold was tested by electronic Von Frey instrument before death. The DRG of the rats was collected and used for transmission electron microscopy. **Results** Compared with the control group, the mechanical pain threshold of the DM group was significantly decreased ($P<0.01$). The ultrastructure of mitochondria in DRG neurons of the DM group was severely damaged. The number of mitochondria in neurons was significantly decreased ($P<0.01$), and the rate of swelling mitochondria and mitochondria vacuolar degeneration in DRG neurons was significantly

基金项目:北京市自然科学基金(7122147)

作者单位:100730 中国医学科学院北京协和医学院北京协和医院中医转化医学中心(杨丹、梁晓春、屈岭、吴群励、吴亚楠、石玥);中国医学科学院基础医学研究所电镜室(戴威)

作者简介:杨丹(1980-),女,博士,主治医师。研究方向:糖尿病慢性并发症的中西医结合临床研究。E-mail:jsj000jsj@163.com

通讯作者:梁晓春(1956-),女,博士,教授,博士生导师。中国中西医结合学会常务理事,中国中西医结合学会内分泌代谢病专业委员会副主任委员,北京中西医结合学会糖尿病专业委员会主任委员。研究方向:中西医结合防治糖尿病慢性并发症。E-mail: xcliang@vip.sina.com

increased of the DM group ($P < 0.01$). The mechanical pain threshold and the number of mitochondria of two treatment groups were significantly improved compared with the DM group. The rate of swelling mitochondria and mitochondria vacuolar degeneration of two treatment groups were decreased strikingly ($P < 0.01$), and the JMT group was more effective than the Tau group ($P < 0.01$). **Conclusion** JMT could ameliorate the peripheral neuropathy by improving the pathological morphology of mitochondria in DRG neurons.

【Key words】 Diabetic peripheral neuropathy; Dorsal root ganglia; Jinmaitong; Ultrastructure; Mitochondria

糖尿病周围神经病变 (diabetic peripheral neuropathy, DPN) 是糖尿病最常见的慢性并发症之一^[1], 随着病程的进展, 可有 30% ~ 90% 的糖尿病患者存在周围神经病变。DPN 早期主要表现为感觉功能障碍, 临床表现为四肢末端对称性的神经性疼痛和/或感觉异常, 晚期可出现下肢的溃疡, 糖尿病足, 甚至导致截肢。临床研究证实中药筋脉通可改善糖尿病患者的临床症状^[2]。背根神经节 (dorsal root ganglia, DRG) 神经元是初级感觉神经元, 负责将外界疼痛刺激转换为内在神经冲动并将其传导至脊髓。本研究应用链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ) 诱导大鼠 1 型糖尿病周围神经损伤模型, 观察周围神经损伤后糖尿病大鼠机械疼痛阈值和背根神经节感觉神经元及神经元中线粒体超微结构的病理学改变, 并从对感觉神经元超微结构的影响方面, 探讨中药筋脉通对糖尿病周围神经病变的保护作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物清洁级 雄性 SD 大鼠, 体质量 270 ~ 310 g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 动物许可证号: SCXK (京) 2009-0017。

1.1.2 主要药物和试剂 筋脉通胶囊 (由菟丝子、女贞子、桂枝、水蛭、延胡索、细辛、荔枝核等 7 味药物组成), 中国医学科学院北京协和医院院内制剂, 由北京九龙制药厂加工生产, 每粒含生药 0.35 g, 生产批号: 061019; 牛磺酸 (牛磺酸组 rine) (Sigma-Aldrich, 美国); 精蛋白鲜胰岛素注射液 (江苏万邦生化医药股份有限公司, 中国), 原位末端标记法 [terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)-mediated dUTP nick end labeling, TUNEL] 凋亡试剂盒 (Roche, 美国)。

1.2 实验方法

1.2.1 动物模型 建立及分组给药适应性饲养

1 周后, 根据随机数字表法将大鼠随机分为正常对照组和造模组。造模前禁食不禁水 12 小时, 造模组大鼠按 60 mg/kg 的剂量, 一次性左下腹腔内注射 0.45% 的 STZ 溶液。正常对照组按 60 mg/kg 的剂量, 一次性左下腹腔内注射 0.1 mol/L 枸橼酸盐缓冲液。72 小时后用血糖仪测尾尖静脉血血糖, 凡血糖 ≥ 16.7 mmol/L 者为造模成功, 作为糖尿病 (糖尿病) 大鼠。根据随机数字表法将造模成功的 18 只糖尿病大鼠随机分为 3 组: 模型对照组、筋脉通组及牛磺酸组, 每组各 6 只。腹腔内注射枸橼酸盐缓冲液的大鼠, 72 小时后测尾尖静脉血血糖, 血糖 < 7.0 mmol/L 的大鼠, 作为正常对照组, 共 6 只, 体质量与鼠龄均相匹配, 且均为雄性。糖尿病大鼠每天皮下注射精蛋白胰岛素注射液 1 ~ 3 IU, 维持血糖在 30 mmol/L 以下, 防止因血糖过高无法存活至实验终点。成模后即开始灌胃给药, 每天 1 次, 连续 16 周, 筋脉通及牛磺酸组均按成人剂量 15 倍给药, 即筋脉通组给药量 1.31 g/(kg · d) (给药剂量为生药量), 牛磺酸组给药量 1.20 g/(kg · d)。糖尿病组和正常对照组灌服蒸馏水 10 mL/(kg · d)。

1.2.2 检测血糖 分别于药物干预前、干预后 4 周、8 周、12 周及 16 周取尾尖静脉血, 用血糖仪测定血糖。

1.2.3 检测机械痛阈值 应用电子 Von Frey 仪在药物干预 16 周后、处死大鼠前进行测定。将大鼠置于升高的金属网上, 盖以透明的有机玻璃罩。大鼠适应环境 15 分钟, 待大鼠的梳理和探究活动基本消失后, 用探头纤维垂直刺激大鼠后肢足底中部, 使探头纤维稍成 S 形, 观察是否出现缩足反应。大鼠在刺激后出现快速的缩足反应, 记为阳性反应, 并记录电子屏幕上的受力数值 (g)。身体活动所引起的缩足反应则不记作阳性反应。第一次测量后, 待大鼠适应环境 3 ~ 5 分钟, 再次测量。每只大鼠每侧足底测量 3 次, 并记录。取平均值作为大鼠的机械痛阈值。

1.2.4 电镜标本的制备 各组大鼠均于灌胃 16 周后处死,用 12% 的乌拉坦以 1 mL/100 g 体质量进行腹腔注射麻醉后,暴露坐骨神经,用玻璃分针钝性分离,将神经完整拉出,切取膨大的背根神经节组织,分别用 2.5% 戊二醛前固定、1% 锇酸后固定 2 小时;乙醇梯度脱水、纯丙酮脱水;按照丙酮与环氧树脂 Epon812 包埋剂浸透,再用纯环氧树脂 Epon812 浸透 2~3 小时;环氧树脂 Epon812 包埋、聚合、固化处理形成包埋块;制成超薄切片,用 200 目铜网捞片,电子双重染色;JEM1010 透射电子显微镜观察背根神经节神经元超微结构并拍照。在 30,000 倍电镜下每组选取 5 个 DRG 神经元计数其中的线粒体个数及其变性线粒体个数,计算线粒体变性率。

1.2.5 荧光标记原位末端转移酶标记法检测背根神经节细胞凋亡 将背根神经节组织梯度脱水后制备成蜡块,经切片、脱蜡后,按照 TUNEL 试剂盒所示的操作步骤进行操作,切片经脱水、透明、封片、镜检,激光共聚焦显微镜下观察并用 Leica 正常对照 focal 图像分析软件照相。每组任意选择 5 个视野,计数凋亡细胞数,计算凋亡比率。

1.3 统计学分析

应用 SPSS 21.0 统计软件,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 方法。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血糖值比较

药物干预前后各组大鼠血糖情况如表 1 所示:药物干预前造模各组大鼠即糖尿病组、筋脉通组及牛磺酸组血糖与正常组相比显著升高($P<0.01$),药物干预前糖尿病组、筋脉通组及牛磺酸组各组之间的血糖无统计学差异($P>0.05$)。

药物干预 16 周后糖尿病组、筋脉通组及牛磺酸组的大鼠血糖与正常组相比均显著升高($P<0.01$),

表 1 药物干预前、后各组大鼠血糖的比较($\bar{x}\pm s$, mmol/L)

组别	n	血糖	
		(药物干预前)	(药物干预 16 周后)
正常对照组	6	4.85±0.61	5.45±1.01
糖尿病组	6	28.20±3.12 ^a	27.33±2.38 ^a
筋脉通组	6	27.52±3.95 ^a	27.05±3.02 ^a
牛磺酸组	6	27.70±2.52 ^a	27.15±2.86 ^a

注:与正常对照组相比,^a $P<0.01$ 。

糖尿病组、筋脉通组及牛磺酸组各组之间的大鼠血糖在药物干预 16 周后无统计学差异($P>0.05$)。正常组、糖尿病组、筋脉通组及牛磺酸组各组大鼠的血糖在药物干预 16 周后与干预前比较无统计学差异($P>0.05$)。

2.2 各组大鼠的机械痛阈值比较

糖尿病模型组大鼠的机械痛阈值较正常组出现显著下降($P<0.01$)。各治疗组的机械痛阈值较糖尿病组有不同程度的回升:筋脉通组及牛磺酸组两治疗组的左侧机械痛阈值较糖尿病组升高($P<0.05$),且两治疗组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$);筋脉通组及牛磺酸组两治疗组的右侧机械痛阈值较糖尿病组显著提高($P<0.01$),且组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠机械痛阈测量表($\bar{x}\pm s$, g)

组别	n	机械痛阈值(左)	机械痛阈值(右)
正常对照组	6	94.39±21.83	92.48±4.42
糖尿病组	6	46.38±20.92 ^a	39.38±4.83 ^a
筋脉通组	6	74.18±7.54 ^b	72.59±20.91 ^c
牛磺酸组	6	81.83±32.25 ^b	77.50±9.95 ^c

注:与正常对照组相比,^a $P<0.01$;与糖尿病组相比,^b $P<0.05$,^c $P<0.01$ 。

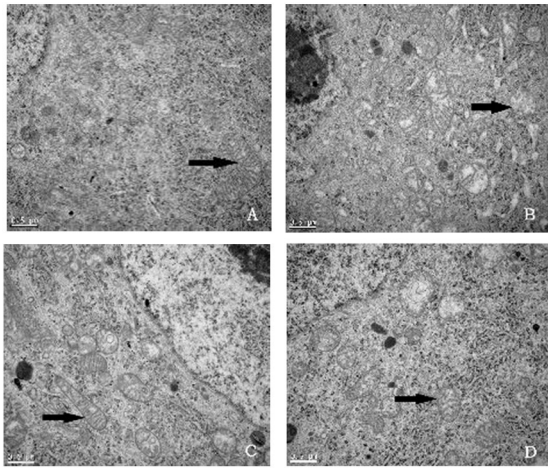
2.3 大鼠背根神经节超微结构损伤的抑制作用比较

正常对照组:DRG 细胞神经髓鞘均匀一致,呈同心圆形排列,胞浆均匀。细胞核大,核膜规整,常染色质丰富且分布均匀,核仁清晰居中。胞质内富含粗面内质网、线粒体,溶酶体少或无,粗面内质网大小、形态均正常,内质网管腔清晰细长,表面核糖体密集。线粒体含量丰富且结构正常,线粒体内外膜、线粒体嵴结构完整清晰,分布均匀。

糖尿病组:DRG 细胞神经髓鞘排列紊乱疏松,出现板层分离现象,皱缩和裂隙,DRG 细胞内超微结构出现重度损伤。病理学异常表现如下:背根神经节细胞水肿,细胞核明显变小,核膜明显皱褶,部分模糊,核仁偏向一侧。粗面内质网肿胀扩张,线粒体肿胀变性,线粒体外膜破坏,线粒体嵴断裂、稀疏、甚至消失,大部分呈空泡样变、甚至溶解,溶酶体明显增多。

筋脉通组及牛磺酸组:筋脉通及牛磺酸两治疗组 DRG 细胞超微结构出现轻度损伤,背根神经节细胞呈现轻度水肿,部分神经节细胞可见细胞核膜破坏,内质网略增大,线粒体数目减少且轻度肿胀,细胞结构改变较糖尿病组轻,损伤程度介于正常组与

糖尿病组之间。见图 1。



注：A 为正常对照组；B 为糖尿病组；C 为筋脉通治疗组；D 为牛磺酸治疗组

图 1 大鼠背根神经节超微结构损伤的抑制作用比较 (×30,000)

2.4 各组大鼠背根神经节超微结构下线粒体数量比较

对相同倍数视野下每个 DRG 神经元中线粒体进行计数。如表 3 所示,各组单个 DRG 神经元中线粒体的平均数目。正常对照组单个 DRG 神经元中含有线粒体的数目为(225±21)个。糖尿病组单个 DRG 神经元中含有线粒体的数目为(136±19)个,较正常对照组显著下降($P<0.01$)。筋脉通组 DRG 神经元中含有线粒体的数目为(182±23)个,较糖尿病组显著升高($P=0.012$)。牛磺酸组 DRG 神经元中含有线粒体的数目为(170±20)个,较糖尿病组显著升高($P=0.041$)。筋脉通组与牛磺酸组两组中线粒体数目比较,无统计学差异($P>0.05$)。

表 3 超微结构下各组大鼠单个 DRG 神经元线粒体数量及变性率比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	单个 DRG 神经元线粒体数量	线粒体变性率(%)
正常对照组	5	225±21	18.70±2.21
糖尿病组	5	136±19 ^a	66.68±4.27 ^a
筋脉通组	5	182±23 ^b	39.89±2.57 ^c
牛磺酸组	5	170±20 ^b	51.89±5.96 ^{cd}

注：与正常对照组相比,^a $P<0.01$ ；与糖尿病组相比,^b $P<0.05$,^c $P<0.01$ ；与筋脉通组比较,^d $P<0.01$ 。

2.5 各组大鼠背根神经节超微结构下线粒体变性率比较

如表 3 所示,正常对照组 DRG 神经元中线粒体肿胀且线粒体棘消失、空泡化的线粒体出现率为

(18.70±2.21)% ,糖尿病组 DRG 神经元中线粒体肿胀且线粒体棘消失、空泡化的线粒体出现率为(66.68±4.27)% ,糖尿病组变性线粒体的比率较正常对照组显著增加($P<0.01$)。

筋脉通组 DRG 神经元中线粒体肿胀且线粒体棘消失、空泡化的线粒体出现率为(39.89±2.57)% ,牛磺酸组 DRG 神经元中肿胀及空泡化的线粒体出现率为(51.89±5.96)% ,两治疗组 DRG 神经元中线粒体的变性率均较糖尿病组显著下降($P<0.01$) ,并且筋脉通组变性线粒体出现率显著低于牛磺酸组($P<0.01$)。

2.6 各组大鼠背根神经节细胞凋亡比较

每组随机选取 5 个视野,TUNEL 荧光检测结果显示:正常对照组 DRG 细胞凋亡较少;糖尿病组 DRG 凋亡明显增加,各治疗组介于两者之间。计算细胞的凋亡率并分析如下,见表 4:与正常对照组相比,糖尿病组的细胞凋亡率显著升高($P<0.01$) ,筋脉通与牛磺酸组两治疗组与正常对照组相比,细胞凋亡率无统计学差异($P<0.01$) ;与糖尿病组相比,筋脉通与牛磺酸组两治疗组的细胞凋亡率均降低,其中筋脉通组降低显著($P<0.01$) ,牛磺酸组较糖尿病组细胞凋亡率降低具有统计学差异($P<0.05$) ;两治疗组间细胞凋亡率比较无统计学差异($P>0.05$)。

表 4 各组大鼠背根神经节细胞凋亡率比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	细胞凋亡率(%)
正常对照组	5	6.18±1.81
糖尿病组	5	72.70±18.65 ^b
筋脉通组	5	16.99±8.35 ^d
牛磺酸组	5	26.19±1.58 ^c

注：与正常对照组相比,^b $P<0.01$ ；与糖尿病组相比,^c $P<0.05$,^d $P<0.01$ 。

3 讨论

DPN 的发病机制十分复杂,持续的高糖状态所致复杂的下游代谢途径参与到疾病的发病过程中,包括多元醇通路活性的增加、非酶糖基化终产物的形成、氧化应激作用的增强、神经营养支持功能的受损以及蛋白激酶 C 的活化 and/或丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 的活性^[3-5]。而高糖所致线粒体途径活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的生成与以上这些机制均有关联,表明线粒体功能障碍及其在氧化应激中所起的触发作用,可见线粒体在 DPN 病因学中发挥了重要

的媒介作用及在糖尿病神经病变的神经元中扮演着调节者的角色^[6-8]。

DRG 是外周感觉神经传入中枢神经的第一站,其结构和功能对于神经传导的影响尤为重要。糖尿病神经病变是以周围神经 DRG 神经元的退行性改变为特征的,线粒体是细胞内对缺氧最敏感的细胞器,因此 DRG 中线粒体尤其会受到影响。在神经细胞中,线粒体的地位尤其重要。线粒体为神经元的各项活动提供能量,并且几乎是能量的唯一提供者。线粒体并被认为是糖尿病中与神经元相关并发病的关键调控者^[7]。由于 DRG 中的线粒体是高糖环境下神经元产生 ROS 的主要来源,因此它们更易受到损伤。过量 ROS 的生成可促进氧化应激反应,通过 DNA、蛋白的修饰作用或通过诱导的线粒体凋亡通路,促使线粒体功能障碍和线粒体退行性改变^[9-11]。可见,糖尿病时高糖可通过 ROS 的生成、线粒体损伤和凋亡促使神经的损伤和死亡^[12]。大量证据表明,糖尿病神经病变发生时,神经元中的线粒体受到损害^[13]。

如何保护高糖状态下神经元及其线粒体结构从而发挥其生理功能的研究,已成为 DPN 治疗的策略之一。前期实验结果表明^[2],筋脉通能够显著减轻糖尿病周围神经病变患者临床症状,改善病变神经传导速度。本实验将暴露于高糖环境下的背根神经节神经元及其线粒体作为糖尿病周围神经病变的模型进行研究,对损伤神经相应感觉神经元及其线粒体的超微结构变化进行了观察。实验结果证实糖尿病可导致大鼠缩足阈值下降,出现痛觉过敏。而筋脉通可提高大鼠的机械痛阈值,改善 DPN 所导致的痛觉过敏。

对大鼠 DRG 的超微结构观察发现,高糖环境可导致背根神经节细胞的坏死及其 DRG 感觉神经元的退行性改变的病理学变化,高糖可显著减少 DRG 内线粒体数量,增加背根节内 DRG 神经元内肿胀和空泡化线粒体的出现率。筋脉通可使 DPN 大鼠 DRG 内线粒体数量增加,感觉神经元线粒体的肿胀及空泡化变性程度减轻,进一步从筋脉通对 DRG 及其线粒体的超微结构影响的角度,探讨了其可能的作用机制,中药筋脉通可能通过抑制糖尿病所致感觉神经元中线粒体的退行性病变,从而保护背根神经发挥其正常的生物学功能,维持神经正常的感觉、传导功能,同时通过抑制糖尿病大鼠 DRG 细胞内源性途径即线粒体途径的细胞的凋亡而发挥神

经保护作用。

综上所述,糖尿病可导致背根神经节神经元及其线粒体坏损伤并降低糖尿病大鼠的机械痛阈值,筋脉通可改善上述病理学改变并提高其机械痛阈值。本研究提供了中药筋脉通治疗糖尿病周围神经病变的超微结构方面的证据。

参 考 文 献

- [1] Callaghan BC, Cheng HT, Stables CL, et al. Diabetic neuropathy: clinical manifestations and current treatments [J]. *Lancet Neurol*, 2012, 11(6): 521-534.
- [2] 梁晓春, 崔丽英, 郭赛珊, 等. 筋脉通治疗糖尿病周围神经病变的临床观察 [J]. *中国中西医结合杂志*, 1999, 19(9): 517-519.
- [3] Yagihashi S, Yamagishi S, Wada R. Pathology and pathogenetic mechanisms of diabetic neuropathy: correlation with clinical signs and symptoms [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2007, 77(Suppl 1): S184-S189.
- [4] Calcutt NA, Jolivald CG, Fernyhough P. Growth factors as therapeutics for diabetic neuropathy [J]. *Curr Drug Targets*, 2008, 9(9): 47-59.
- [5] Tomlinson DR, Gardiner NJ. Glucose neurotoxicity [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2008, 9(1): 36-45.
- [6] Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications [J]. *Nature*, 2001, 414(6865): 813-820.
- [7] Fernyhough P, Huang TJ, Verkhatsky A. Mechanism of mitochondrial dysfunction in diabetic sensory neuropathy [J]. *J Peripher Nerv Syst*, 2003, 8(4): 227-235.
- [8] Verkhatsky A and Fernyhough P. Mitochondrial malfunction and Ca^{2+} dyshomeostasis drive neuronal pathology in diabetes [J]. *Cell Calcium*, 2008, 44(1): 112-122.
- [9] Kang D, Hamasaki N. Alterations of mitochondrial DNA in common diseases and disease states: aging, neurodegeneration, heart failure, diabetes, and cancer [J]. *Curr Med Chem*, 2005, 12(4): 429-441.
- [10] Zeevalk GD, Bernard LP, Song C, et al. Mitochondrial inhibition and oxidative stress: reciprocating players in neurodegeneration [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2005, 7(9-10): 1117-1139.
- [11] Beal MF. Mitochondria take center stage in aging and neurodegeneration [J]. *Ann Neurol*, 2005, 58(4): 495-505.
- [12] Vincent AM, Felan EL. New insights into the mechanisms of diabetic neuropathy [J]. *Rev Endocr Metab Disord*, 2004, 5(3): 227-236.
- [13] Vincent AM, Edwards JL, McLean LL, et al. Mitochondrial biogenesis and fission in axons in cell culture and animal models of diabetic neuropathy [J]. *Acta Neuropathol*, 2010, 120(4): 477-489.

(收稿日期: 2015-12-27)

(本文编辑: 董历华)