

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2012.03.014

RECK 和 MMP-9 在子宫内膜癌组织中的表达及其临床意义

刘晶晶, 顾振鹏, 姚丽娟(山东省滨州医学院附属医院妇产科, 山东滨州 256603)

[摘要] **目的:**检测子宫内膜癌(endometrial carcinoma, EC)组织中 RECK(reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs)mRNA 和基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)mRNA 的表达情况,探讨两者在子宫内膜癌中的临床意义。**方法:**选取 2009 年 3 月至 2010 年 11 月在滨州医学院附属医院妇科接受手术的子宫内膜癌患者组织标本 42 例,应用定量 PCR 法检测 RECK mRNA 及 MMP-9 mRNA 在子宫内膜癌中的表达情况,分析其相关性和临床意义。**结果:**在正常增生期子宫内膜、子宫内膜不典型增生、子宫内膜癌组织中 RECK mRNA 表达水平依次降低 (6.30 ± 0.34) 、 (4.29 ± 0.36) 、 (0.24 ± 0.18) , $F = 427.35, P < 0.05$], MMP-9 mRNA 依次升高 (0.08 ± 0.82) 、 (5.04 ± 0.30) 、 (6.22 ± 0.32) , $F = 1117.52, P < 0.05$], RECK 和 MMP-9 mRNA 的表达与子宫内膜癌临床分期、分化程度、淋巴转移关系密切($P < 0.05$),在子宫内膜癌中, MMP-9 mRNA 和 RECK mRNA 之间存在负相关($r = -0.478, P < 0.01$)。**结论:**定量 PCR 检测 RECK mRNA 和 MMP-9 mRNA 对子宫内膜癌早期诊断及预测癌前病变风险有一定参考价值。

[关键词] 子宫内膜癌; RECK; 基质金属蛋白酶-9; 实时定量 PCR

[中图分类号] R737.33; R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2012)03-0298-05

Expressions of RECK and MMP-9 in endometrial carcinoma and their clinical significance

LIU Jing-jing, GU Zhen-peng, Yao Li-juan (Department of Obstetrics and Gynecology, Affiliated Hospital of Binzhou Medical College, Binzhou 256603, Shandong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expressions of reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs (RECK) mRNA and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) mRNA in endometrial carcinoma and explore their clinical significance. **Methods:** Forty-two endometrial carcinoma samples were obtained from gynecological surgery in the Affiliated Hospital of Binzhou Medical University (Mar. 2009 to Dec. 2010). Real-time quantitative PCR was used to assess the expressions of RECK and MMP-9 mRNA in endometrial carcinoma, and their relationship with clinic pathological features of endometrial carcinoma was analyzed. **Results:** The expression level of RECK mRNA was progressively decreased from the normal to invasive carcinoma ($[6.30 \pm 0.34]$, $[4.29 \pm 0.36]$, $[0.24 \pm 0.18]$, $F = 427.35, P < 0.05$), while MMP-9 mRNA progressively increased ($[0.08 \pm 0.82]$, $[5.04 \pm 0.30]$, $[6.22 \pm 0.32]$, $F = 1117.52, P < 0.05$). Both expressions of RECK and MMP-9 mRNA were correlated with TNM stage, histological grade and lymph node metastasis of endometrial carcinoma ($P < 0.05$). There existed a significantly negative correlation between the expressions of RECK mRNA and MMP-9 mRNA in endometrial carcinoma ($r = -0.478, P < 0.01$). **Conclusion:** Combined detection of RECK mRNA and MMP-9 mRNA by quantitative PCR has a certain value for predicting risk of early diagnosis of endometrial carcinoma and precancerous lesions.

[Key words] endometrial carcinoma; reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs; matrix metalloproteinase-9; real-time quantitative PCR

[Chin J Cancer Biother, 2012, 19(3): 298-302]

[基金项目] 山东省保健医学科研项目资助(No. 2007BZ20)。Project supported by the Shandong Province Health Care Medicine Research Foundation (No. 2007BZ20)

[作者简介] 刘晶晶(1985-),女,山东省淄博市人,硕士生,医师,主要从事妇科肿瘤的研究。E-mail: liu.doctor@hotmail.com

[通信作者] 顾振鹏(GU Zhen-peng, corresponding author), E-mail: zhenpeng6729@163.com

子宫内膜癌(endometrial carcinoma, EC)为女性生殖道常见恶性肿瘤之一,其发病率占女性生殖道恶性肿瘤的 20% ~ 30%,近年来发病率呈上升及年轻化趋势^[1-2]。肿瘤侵袭和转移是造成子宫内膜癌患者死亡的主要原因,细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的降解是恶性肿瘤侵袭转移的重要信号和途径。其中,基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)及其抑制剂在细胞外基质的降解中发挥重要的调节作用,成为目前研究肿瘤侵袭转移的热点之一。*RECK*(reversion inducing cysteine rich protein with Kazal motifs)是近年来发现的新型 MMP 抑制剂,可在转录后水平抑制多种 MMP 的表达^[3],从而抑制肿瘤的侵袭及转移。*RECK* 表达异常与多种肿瘤的发生和预后有关,但有关 *RECK* 基因与子宫内膜癌的关系鲜有报道。本课题采用定量 PCR 检测 *RECK* mRNA 及 *MMP-9* mRNA 在子宫内膜癌组织中的表达水平,以探讨 *RECK*、*MMP-9* 在子宫内膜癌发生、发展中的作用。

1 材料与方法

1.1 资料

收集滨州医学院附属医院 2010 年 5 月至 2011 年 12 月行妇科手术中所取子宫内膜癌组织 42 例(其中,共 36 例做了淋巴结活检),所有病例均经术后病理确诊,术前无放疗化疗史。患者年龄 42 ~ 75 岁,中位年龄 54 岁。FIGO(2009 年)分期: I 期 20 例, II 期 12 例, III ~ IV 期 10 例,均为子宫内膜样腺

癌;另随机选择同期因良性病变切除子宫的不典型增生子宫内膜组织 15 例和正常增生期子宫内膜组织 26 例作对照。组织离体后立即冻于液氮中,然后保存于 -80 °C 供提取总 RNA 使用。

1.2 主要试剂和仪器

RNAiso Plus、PrimeScript® RT-PCR Kit、Tli RNaseH Plus 均购自 TaKaRa 公司, GeneAmp PCR System 9700 台式高通量 DNA 合成仪购自美国 ABI 公司, Gene Quant 1300 微量紫外分光光度计购自北京普析仪器有限责任公司, Rotor-Gene 3000 荧光定量 PCR 仪购自澳洲 Corbett Research 公司。

1.3 实时荧光定量 PCR 检测 *RECK* 及 *MMP-9* mRNA 的表达

RNA 提取步骤严格按说明书进行,所得 RNA D_{260}/D_{280} 在 1.8 ~ 2.0,符合纯度要求。*RECK*、*MMP-9* 及内参基因 *GAPDH* 序列源自 GenBank,用 Primer 5 软件设计引物,引物序列由大连宝生物工程有限公司合成,详见表 1。RNA 反转录为 cDNA,以 *GAPDH* 作为内参照,进行荧光定量 PCR 扩增。PCR 反应条件为:95 °C 预变性 30 s;然后 95 °C、5 s、60 °C、20 s,共 40 个循环。每个样品设 3 个平行对照,同时以灭菌的超纯水代替 cDNA 模板作阴性对照。反应结束后收集荧光信号,设定最佳阈值,获取标准品及待测样品的 Ct 值,将正常增生期子宫内膜组织基因表达作为对照值 1,应用 $\Delta\Delta CT$ 法^[4]进行定量分析。

表 1 实时定量 PCR 引物

Tab. 1 Real-time quantitative PCR primers

Gene	Accession number	Name	Sequence	Product size (bp)
<i>RECK</i>	NM_021111. 2	HA137919-F	5'-GCTGGCAATTTGCTGTGCTCTA-3'	140
		HA137919-R	5'-GGGTAAGTGCGCCATTCTG-3'	
<i>MMP-9</i>	NM_004994. 2	HA129244-F	5'-ACGCACGACGTCTTCCAGTA-3'	94
		HA129244-R	5'-CCACCTGGTTCAACTCACTCC-3'	
<i>GAPDH</i>	NM_002046. 3	HA067812-F	5'-GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3'	138
		HA067812-R	5'-TGGTGAAGACGCCAGTGGA-3'	

1.4 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 spss13.0 软件分析系统,两两比较采用 SNK-q 检验,临床病理参数间比较用单因素方差分析以及 Spearman 等级相关分析。 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *RECK* 和 *MMP-9* mRNA 在不同子宫内膜组织中的表达

实时荧光定量 PCR 结果(图 1、2,表 2)显示,

RECK mRNA 在子宫内膜癌组织表达水平明显低于子宫内膜不典型增生组织和正常增生期子宫内膜组织[(0.24 ± 0.18) vs (4.29 ± 0.36)、(6.30 ± 0.34), $F = 427.35, P < 0.05$]; MMP-9 mRNA 在子宫内膜癌组织表达水平明显高于子宫内膜不典型增生组织和正常增生期子宫内膜组织[(6.22 ± 0.32) vs (5.04 ± 0.30)、(0.08 ± 0.82), $F = 1117.52, P < 0.05$]。

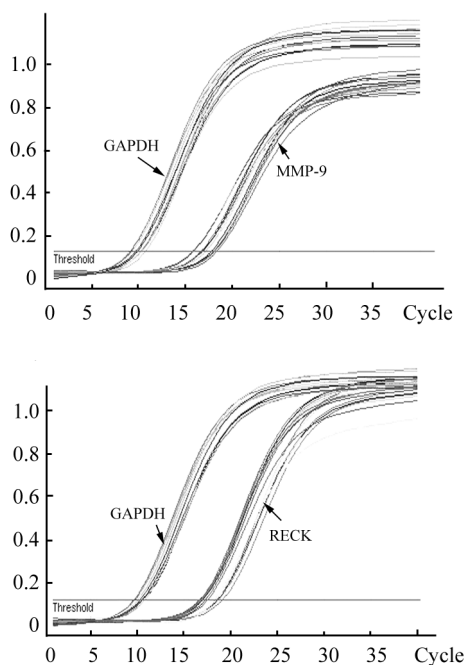


图1 RECK、MMP-9、GAPDH mRNA 在不同子宫内膜组织中的扩增曲线
Fig.1 Amplification curves of RECK, MMP-9 and GAPDH mRNA in different endometrial tissues

2.2 RECK mRNA 与 MMP-9 mRNA 的表达与子宫内膜癌临床病理的关系

RECK mRNA 在子宫内膜癌的表达水平与子宫内膜癌的临床分期、组织学分级、肌层浸润深度、淋

巴结转移有关(均 $P < 0.05$), 与绝经状态比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表3。

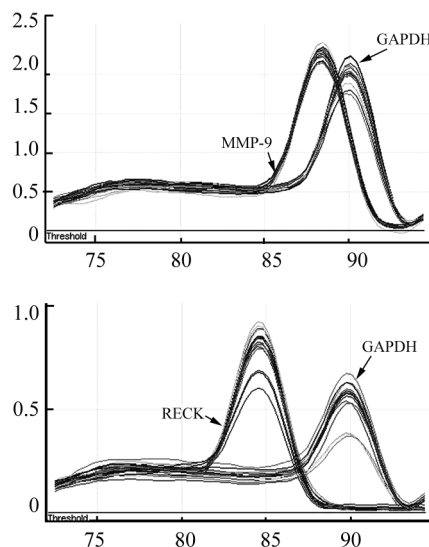


图2 RECK、MMP-9、GAPDH mRNA 在不同子宫内膜组织中的溶解曲线
Fig. 2 Dissociation curves of RECK, MMP-9, and GAPDH mRNA in different endometrial tissues

MMP-9 mRNA 在子宫内膜癌中表达水平与子宫内膜癌的临床分期、组织学分级、淋巴结转移有关(均 $P < 0.05$), 而与肌层浸润深度、绝经状态比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表3。

2.3 子宫内膜癌中 MMP-9 mRNA 和 RECK mRNA 相关性分析

Spearman 等级相关分析显示, 在子宫内膜癌中, MMP-9 mRNA 和 RECK mRNA 之间存在负相关($r = -0.478, P < 0.01$), 随着 MMP-9 mRNA 的表达增强, RECK mRNA 的表达降低。

表2 RECK、MMP-9 mRNA 在不同子宫内膜组织中的表达
Tab.2 Expressions of RECK and MMP-9 mRNA in different endometrial tissues

Group	n	RECK		MMP-9	
		- ΔΔCT	2 ^{-ΔΔCT}	- ΔΔCT	2 ^{-ΔΔCT}
Endometrial neoplasms	42	0.24 ± 0.18	1(0.06 - 3.89)*	6.22 ± 0.32	70.52(45.25 - 124.94)*
Endometrial atypical hyperplasia	15	4.29 ± 0.36	16.56(14.07 - 30.15)	5.04 ± 0.30	31.12(22.01 - 42.81)
Normal proliferative phase endometrium	26	6.30 ± 0.34	66.72(52.07 - 125.45)	0.08 ± 0.82	1.00(0.17 - 2.58)

* $P < 0.05$ vs normal proliferative phase endometrium

表3 *RECK*、*MMP-9* mRNA 与子宫内膜癌临床病理参数的关系Tab.3 Relationship of expressions of *RECK* and *MMP-9* mRNA with clinicohistological features of endometrial carcinoma

Clinicopathological feature	n	RECK		F	P	MMP-9		F	P
		$-\Delta\Delta CT$	$2^{-\Delta\Delta CT}$			$-\Delta\Delta CT$	$2^{-\Delta\Delta CT}$		
Menses menopausal	29	0.24 ± 1.04	1(0.24 - 3.16)	0.02	>0.05	6.21 ± 0.33	74.3(45.25 - 123.94)	0.04	>0.05
Non-menopausal	13	0.25 ± 1.41	1.13(0.30 - 7.78)			6.23 ± 0.30	75.06(55.06 - 110.07)		
Grade of differentiation									
Well	17	0.93 ± 0.73	4.29(0.61 - 7.78)	17.08	<0.05	6.07 ± 0.34	67.18(45.25 - 124.94)	5.70	<0.05
Moderate	9	0.22 ± 1.20	2.62(0.30 - 3.16)			6.22 ± 0.30	74.54(57.28 - 102.01)		
Poor	16	-1.17 ± 1.20	1(0.24 - 1.65)			6.42 ± 0.21	85.63(61.82 - 110.07)		
Myometrial invasion									
Superficial muscle	24	0.46 ± 1.27	2.31(0.24 - 7.78)	8.95	<0.05	6.15 ± 0.32	71.01(45.25 - 110.07)	2.87	>0.05
Deep muscle	18	-0.75 ± 1.27	1(0.30 - 0.61)			6.32 ± 0.31	79.89(88.76 - 110.07)		
Grade of FIGO									
I	20	0.62 ± 1.04	3.20(0.30 - 7.78)	6.22	<0.05	6.07 ± 0.26	67.18(45.25 - 92.41)	8.91	<0.05
II	12	-0.15 ± 1.13	1.88(0.46 - 3.16)			6.22 ± 0.31	74.5(56.28 - 124.94)		
III ~ IV	10	-1.06 ± 1.68	1(0.24 - 2.69)			6.51 ± 0.24	91.14(63.01 - 110.07)		
Lymphatic metastasis									
Yes	10	0.45 ± 1.07	1(0.24 - 2.69)	5.68	<0.05	6.51 ± 0.24	91.14(63.01 - 110.07)	20.53	<0.05
No	26	0.36 ± 1.16	1.75(0.30 - 7.78)			6.10 ± 0.25	68.59(45.25 - 92.41)		

3 讨论

子宫内膜癌的发生、发展以及侵袭、转移过程比较复杂,目前机制尚不明确。一般认为,突破细胞基底膜屏障是肿瘤侵袭转移早期事件的关键一步,而MMP及其抑制蛋白在这个过程中发挥着重要作用。MMP-9作为基质金属蛋白酶中的一员,能降解细胞外基质和基底膜中的许多组成部分,从而参与肿瘤的发生、发展过程。RECK是近年来发现的新型MMP抑制蛋白,可在转录后水平抑制多种MMP的表达,从而抑制肿瘤的侵袭与转移。RECK在多种肿瘤中表达下调,已作为一个独立的因素与肝癌^[3]、胰腺癌^[5]、乳腺癌^[6]、肺癌^[7]等预后密切相关。在这些研究中,人们大多采用免疫组化、普通RT-PCR等定性或半定量方法,均因敏感度或特异性不高不能取得理想的检测效果。荧光定量PCR是近年来新兴的一种核酸定量技术,与普通PCR技术比较,它不仅具有高灵敏性、高特异性及高精确性,还可以避免普通PCR操作过程中的交叉污染问题,使得定量更加准确。

本实验采用荧光定量PCR $\Delta\Delta CT$ 定量法检测比较42例子官内膜癌组织、15例子官内膜不典型增生组织及26例正常增生期子宫内膜组织中RECK mRNA及MMP-9 mRNA表达差异。RECK在各种肿瘤来源的细胞系及转染了Ras等癌基因的细胞中表达缺失,在大部分正常组织或正常细胞株中

RECK基因呈高表达。在恶性肿瘤细胞中,RECK基因表达水平与多种恶性肿瘤侵袭力呈负相关,并且RECK基因呈高表达的患者的预后往往优于低表达的患者的预后。Xu等^[8]在骨肉瘤组织中的最新研究结果显示,RECK高表达的患者5年生存率明显高于RECK低表达的患者,差异具有统计学意义($P=0.003$)。Namwat等^[9]最新研究也证实,RECK基因的表达下调与肿瘤的转移和低生存率有关。

本研究结果显示,RECK mRNA在正常增生期子宫内膜组织、子宫内膜不典型增生组织和子宫内膜癌组织中均有表达,在该三种组织中RECK mRNA表达水平依次降低[(6.30 ± 0.34)、(4.29 ± 0.36)、(0.24 ± 0.18)], $F=427.35, P<0.05$],其中在子宫内膜癌组织的表达量明显低于子宫内膜不典型增生组织($F=20.854, P<0.01$)和正常增生期子宫内膜组织($F=35.837, P<0.01$),提示RECK表达缺失可能与肿瘤的发生及局部浸润有关。在子宫内膜癌组织中,RECK mRNA表达水平与肿瘤的临床分期、组织学分级、肌层浸润深度密切相关($P<0.05$),且随临床分期的增加、组织学分级的升高、肌层浸润深度的增加、淋巴结转移而降低,与患者绝经状无关($P>0.05$)。该结果与国内外研究^[10-14]结果一致,提示RECK失表达可能与子宫内膜癌的侵袭和转移有关。

目前研究发现,MMP-9在食管鳞癌^[15]、非小细胞肺癌^[16]、乳腺癌^[17]、前列腺癌^[18]、胃癌^[19]、大肠癌^[20]等多种肿瘤中均有不同程度的表达,并且

MMP-9 呈高表达的患者往往较 *MMP-9* 低表达的预后差。本实验结果显示, *MMP-9* mRNA 在正常增生期子宫内膜组织、子宫内膜不典型增生组织和子宫内膜癌组织中均有表达, 在该三种组织中 *MMP-9* mRNA 依次升高, 在子宫内膜癌组织的表达量明显高于正常增生期子宫内膜组织 ($F = 21.146, P < 0.01$), 在子宫内膜不典型增生组织表达量高于正常增生期子宫内膜组织 ($F = 10.564, P < 0.01$)。 *MMP-9* mRNA 在子宫内膜癌中表达水平随肿瘤临床分期的升高、肌层浸润深度的加深、淋巴结转移而升高, 与患者绝经状态、肌层浸润深度无关 ($P > 0.05$)。结果提示, *MMP-9* 基因表达增强可能在子宫内膜癌的浸润转移中起重要作用。

此外, Spearman 等级相关分析显示, 在子宫内膜癌中, *MMP-9* mRNA 和 *RECK* mRNA 之间存在负相关 ($r = -0.478, P < 0.01$)。随着 *MMP-9* mRNA 的表达增强, *RECK* mRNA 的表达反而降低, 与国外研究^[11-21]结果一致。最新研究发现, 在鼻咽癌^[13]、结肠癌^[14]中 *RECK* 较正常组织显著降低, 而 *MMP-9* 表达显著升高, 两者呈负相关, 提示 *RECK* 通过抑制 *MMP-9* 表达而发挥抑癌作用。结果说明 *RECK* 参与 *MMP-9* 的调节过程, 推测 *RECK* 通过抑制 *MMP-9* 的表达而发挥抑癌作用。因此, 联合检测 *RECK* 和 *MMP-9* 有望成为早期预测子宫内膜癌的重要指标, 从而为研究新的抗肿瘤药物提供新的思路。

[参 考 文 献]

- [1] Covens A, Brunetto VL, Markman M, et al. Phase II trial of danazol in advanced, recurrent, or persistent endometrial cancer: A gynecologic oncology group study [J]. *Gynecol Oncol*, 2003, 89(3): 470-474.
- [2] Ghafoor A, Jemal A, Cokkinides V, et al. Cancer statistics for African Americans [J]. *CA Cancer J Clin*, 2002, 52(6): 326-341.
- [3] Furumoto K, Arai S, Mori A, et al. RECK gene expression in hepatocellular carcinoma: Correlation with invasion-related clinicopathological factors and its clinical significance. Reverse-inducing-cysteine-rich protein with Kazal motifs [J]. *Hepatology*, 2001, 33(1): 189-195.
- [4] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta CT) Method [J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [5] Masui T, Doi R, Koshiba T, et al. RECK expression in pancreatic cancer: Its correlation with lower invasiveness and better prognosis [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(5): 1779-1784.
- [6] Span PN, Sweep CG, Manders P, et al. Matrix metalloproteinase inhibitor reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs: A prognostic marker for good clinical outcome in human breast carcinoma [J]. *Cancer*, 2003, 97(11): 2710-2715.
- [7] Takemoto N, Tada M, Hida Y, et al. Low expression of reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs (RECK) indicates a shorter survival after resection in patients with adenocarcinoma of the lung [J]. *Lung Cancer*, 2007, 58(3): 376-383.
- [8] Xu J, Wu S, Shi X. Expression of matrix metalloproteinase regulator, RECK, and its clinical significance in osteosarcoma [J]. *J Orthop Res*, 2010, 28(12): 1621-1625.
- [9] Namwat N, Puetkasichonpasutha J, Loilome W, et al. Downregulation of reversion-inducing-cysteine-rich protein with Kazal motifs (RECK) is associated with enhanced expression of matrix metalloproteinases and cholangiocarcinoma metastases [J]. *J Gastroenterol*, 2011, 46(5): 664-675.
- [10] 张宏, 丛进春, 崔明明, 等. RECK 和基质金属蛋白酶 9 及血管内皮生长因子 C 在结直肠癌的表达及意义 [J]. *中华胃肠外科杂志*, 2010, 13(9): 695-698.
- [11] 张军, 张文君, 郭家龙. 非小细胞肺癌组织中 RECK 蛋白的表达及与预后的关系 [J]. *实用癌症杂志*, 2009, 24(2): 135-137.
- [12] Rhee JS, Coussens LM. RECKing MMP function: Implications for cancer development [J]. *Trends Cell Biol*, 2002, 12(5): 209-211.
- [13] Song SY, Son HJ, Nam E, et al. Expression of reversion-inducing-cysteine-rich protein with Kazal motifs (RECK) as a prognostic indicator in gastric cancer [J]. *Eur J Cancer*, 2006, 42(1): 101-108.
- [14] 亓民, 李建生, 李印. RECK 基因和基质金属蛋白酶 2 在食管鳞癌中的表达及其临床病理意义 [J]. *中华肿瘤杂志*, 2010, 32(4): 283-285.
- [15] Span PN, Sweep CG, Manders P, et al. Matrix metalloproteinase inhibitor reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs: A prognostic marker for good clinical outcome in human breast carcinoma [J]. *Cancer*, 2003, 97(11): 2710-2715.
- [15] 李晨磊, 赵秋民, 刘宗文等. 食管鳞癌中 RECK 和 MMP-9 蛋白表达的相关性及临床病理意义 [J]. *世界华人消化杂志*, 2007, 15(10): 1082-1086.
- [16] Zheng S, Chang Y, Hodges KB, et al. Expression of KISS1 and MMP-9 in non-small cell lung cancer and their relations to metastasis and survival [J]. *Anticancer Res*, 2010, 30(3): 713-718.
- [17] Daniele A, Zito AF, Giannelli G, et al. Expression of metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 in sentinel lymph node and serum of patients with metastatic and non-metastatic breast cancer [J]. *Anticancer Res*, 2010, 30(9): 3521-3527.
- [18] Di Carlo A, Mariano A, Terracciano D, et al. Matrix metalloproteinase-2 and -9 in the urine of prostate cancer patients [J]. *Oncol Rep*, 2010, 24(1): 3-8.
- [19] Nomura Y, Takasaki K, Tada M, et al. Pro-MMP-9 is associated with poor prognosis in gastric cancer [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2007, 42(9): 1070-1072.
- [20] 李荣华, 邓燕飞. RECK 和 RAGE 以及 MMP-9 在鼻咽癌中的表达及意义 [J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2010, 24(18): 823-827.

[收稿日期] 2012-02-04

[修回日期] 2012-04-22

[本文编辑] 韩丹