

[文章编号] 1000-4718(2019)01-0028-06

# 丹参酮 IIA 通过 JNK 通路诱导人骨肉瘤 HOS 细胞凋亡\*

陆建红<sup>1</sup>, 黄晓文<sup>1▲</sup>, 金益军<sup>1</sup>, 杨彦楠<sup>2△</sup>, 吴奕征<sup>3</sup>  
(武警浙江省总队医院<sup>1</sup>检验科,<sup>2</sup>重症监护科, 浙江 嘉兴 314000;  
<sup>3</sup>浙江大学医学院附属邵逸夫医院骨科, 浙江 杭州 310016)

[摘要] 目的: 探究丹参酮 IIA 对人骨肉瘤 HOS 细胞增殖和凋亡的影响及机制。方法: 采用 CCK-8 实验考察丹参酮 IIA 对 HOS 细胞活力的影响, 并确定给药剂量。集落形成实验与细胞迁移实验研究丹参酮 IIA 对肿瘤细胞增殖与迁移能力的影响。Hoechst 33258 染色、透射电镜与流式细胞技术检测丹参酮 IIA 对肿瘤细胞凋亡的影响。Western blot 进一步检测细胞凋亡与 JNK 通路相关蛋白的变化; 并通过 JNK 抑制剂验证肿瘤细胞中上述通路  
与凋亡的关系。结果: 一定剂量的丹参酮 IIA 能抑制 HOS 细胞的增殖与迁移能力, 且效应呈浓度依赖与作用时间依赖性, 并能诱导凋亡发生。Western blot 进一步表明, 随着药物浓度增加, cleaved caspase-3 与 Bax 蛋白水平上升, Bcl-2 蛋白表达下降, JNK 通路相关蛋白表达上升, 这些变化可被 JNK 抑制剂 SP600125 缓解。CCK-8 实验结果显示, 抑制 JNK 通路可减少药物导致的细胞活力抑制。结论: 丹参酮 IIA 可通过 JNK 通路诱导人骨肉瘤 HOS 细胞发生凋亡, 具有显著抑制肿瘤细胞增殖的作用。

[关键词] 丹参酮 IIA; 骨肉瘤; 细胞凋亡; JNK 信号通路

[中图分类号] R738. 7; R730. 23

[文献标志码] A doi:10. 3969/j. issn. 1000-4718. 2019. 01. 005

## Tanshinone IIA induces apoptosis via JNK signaling pathway in human osteosarcoma HOS cells

LU Jian-hong<sup>1</sup>, HUANG Xiao-wen<sup>1</sup>, JIN Yi-jun<sup>1</sup>, YANG Yan-nan<sup>2</sup>, WU Yi-zheng<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>Department of Clinical Laboratory, <sup>2</sup>Intensive Care Unit, Zhejiang Provincial Corp's Hospital, Chinese People's Armed Forces, Jiaxing 314000, China; <sup>3</sup>Department of Orthopaedic Surgery, Sir Run Run Shaw Hospital, Medical College of Zhejiang University, Hangzhou 310016, China. E-mail: yynrp@126.com)

[ABSTRACT] AIM: To explore the effect of tanshinone IIA on human osteosarcoma HOS cells and the underlying mechanism. METHODS: The cell viability and the appropriate dose of tanshinone IIA were determined by CCK-8 assay. Colony formation assay and Transwell assay were used to investigate the proliferation and migration abilities of the HOS cells treated with tanshinone IIA. The apoptosis of the HOS cells was monitored by Hoechst 33258 staining, transmission electron microscopy and flow cytometry. The protein levels of apoptosis-related molecules and JNK signaling-associated proteins were determined by Western blot. Meanwhile, a JNK inhibitor was added for confirming the relationship between the pathway and apoptosis mentioned above. RESULTS: Tanshinone IIA inhibited both HOS cell proliferation and migration in a dose- and time-dependent manner. Exposure of the HOS cells to tanshinone IIA resulted in the activation of apoptosis. Tanshinone IIA treatment increased the protein levels of cleaved caspase-3, Bax and JNK signaling-associated proteins, and decreased the protein level of Bcl-2, which were reversed by JNK inhibitor SP600125. Moreover, the result of CCK-8 assay revealed that tanshinone IIA-induced cell death was alleviated by JNK inhibitor. CONCLUSION: Tanshinone IIA induces cell growth inhibition and the activation of apoptosis via JNK signaling pathway in human osteosarcoma HOS cells.

[KEY WORDS] Tanshinone IIA; Osteosarcoma; Apoptosis; JNK signaling pathway

骨肉瘤好发于少年儿童, 预后差, 病死率高<sup>[1]</sup>。随着外科手术与新辅助化疗的联合应用, 大多数患者实现了保肢<sup>[2]</sup>, 但仍有远处转移和复发者, 5 年生  
存率无法超过 70%<sup>[3]</sup>。此外, 化疗药物及一些新型靶向药的使用, 也增加了对患者的毒副作用<sup>[4]</sup>。因此, 寻找新型有效的骨肉瘤治疗药物, 提高远期缓解

[收稿日期] 2018-03-14 [修回日期] 2018-04-24

\* [基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金资助项目 (No. 81802680)

△通讯作者 Tel: 0573-83600444; E-mail: yynrp@126.com

▲并列第 1 作者

率,成为临床工作中亟待解决的问题之一。丹参酮 IIA (tanshinone IIA) 良好的抗氧化与抑制炎症反应的能力已被证实<sup>[5]</sup>,并能促进部分肿瘤细胞凋亡或自噬,诱导相关癌基因表达变化,进而抑制肿瘤生长<sup>[6-9]</sup>,但对人骨肉瘤细胞系 HOS 的作用,目前尚无相关文献报道。本研究应用 CCK-8 实验、集落形成实验、细胞迁移实验、荧光显微镜技术、电镜、蛋白质印迹法 (Western blot) 及流式细胞术等方法,探讨不同浓度丹参酮 IIA 对 HOS 细胞增殖的抑制作用及其相关机制,为进一步探究该药作为骨肉瘤治疗药物的可能性提供依据。

## 材 料 和 方 法

### 1 材 料

丹参酮 IIA (纯度 >99%) 和 SP600125 购自 Sigma; CCK-8 试剂盒、结晶紫染色液和 Hoechst 33258 染液购自江苏碧云天生物技术公司; Transwell 细胞培养小室购自 Corning; Annexin V-FITC/PI 凋亡试剂盒购自 BD; 抗 cleaved caspase-3、Bcl-2、Bax 和 p-JNK 等抗体均购自 Abcam。

### 2 细胞培养

人骨肉瘤细胞系 HOS 购自美国菌种保藏中心 (American Type Culture Collection, ATCC), 细胞培养于 DMEM 高糖培养液 (含 10% 四季青胎牛血清、 $1 \times 10^5$  U/L 青霉素和 100 mg/L 链霉素), 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 孵箱内培养。

### 3 主要方法

**3.1 CCK-8 实验检测细胞活力** 取指数生长期 HOS 细胞,按每孔 3 000 个的细胞密度接种于 96 孔板,每孔补足 DMEM 高糖培养液至 100 μL,增设只加培养液的阴性对照孔。待 12 h 细胞完全贴壁后,分别加入不同浓度的丹参酮 IIA,使终浓度为 10、20 和 30 μmol/L,每个浓度设置 5 个复孔。于加药 24 h 和 48 h 后每孔分别加入 10 μL CCK-8 检测溶液终止培养。将 96 孔板于 37 °C 孵育 4 h 后振荡,使用酶标仪在 450 nm 波长下检测各孔的吸光度 (A) 值。细胞抑制率 (%) = (1 - 实验组吸光度值/对照组吸光度值) × 100%。结合剂量效应关系计算半数抑制浓度 (IC<sub>50</sub>)。

**3.2 集落形成实验** 细胞按单克隆铺于 6 孔板上,待第 2 天贴壁后加入相应浓度的药物处理,约 7 d 后用 PBS 洗涤 3 次,4% 多聚甲醛固定 15 min,再用 PBS 洗涤 1 次。加入 0.1% 的结晶紫染液染色 20 min, PBS 洗涤后观察各孔集落形成数量并拍照计数。

**3.3 细胞迁移实验** 将细胞铺于 Transwell 上室 (小

室)内,同时加入不同浓度的药物处理。培养板上室内使用不含血清的 DMEM 高糖培养液,下室内加入含 10% FBS 的 DMEM 高糖培养基。1 d 后用 PBS 洗涤培养板,加入 0.1% 的结晶紫染液染色 20 min,洗涤后在显微镜下观察并拍照。

**3.4 Hoechst 33258 染色** 添加爬片于 6 孔板内,并接种细胞。用不同浓度药物处理 1 d 后, PBS 洗涤 3 次,加入 Hoechst 33258 染液染色 20 min,再次洗涤后置于荧光显微镜下观察并拍照。

**3.5 透射电镜观察** 将药物处理后的细胞用 2.5% 的戊二醛溶液固定过夜,随后经固定漂洗、脱水与包埋后制作切片并染色,用透射电镜观察并拍照。

**3.6 流式细胞术检测细胞凋亡** 用不含 EDTA 的胰酶消化并收集经不同浓度的药物和制剂处理后的细胞,离心后用 PBS 洗涤 2 次,并重悬于 100 μL Binding Buffer 中,分别加入 5 μL Annexin V-FITC 与 PI 染色,避光孵育 15 min 后补充 Binding Buffer 至 500 μL,转移到流式检测管中,1 h 内上机测量细胞凋亡比例。

**3.7 Western blot 检测蛋白水平** 用含有 1% PMSF 蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液裂解经不同浓度药物和相应抑制剂处理过的细胞提取蛋白,定量后调齐内参上样。采用 80 V 恒压电泳 15 min,再转为 120 V 恒压电泳分离蛋白后,经 280 mA 恒流转膜 100 min,用 5% 脱脂牛奶封闭液常温下封闭 1 h,然后分别加入抗 cleaved caspase-3、Bcl-2、Bax、p-JNK 和 GAPDH 抗体,置 4 °C 孵育过夜 (抗体稀释比例为 1:1 000),用 TBST 洗涤 3 次,每次 10 min,加入 HRP 辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG (1:5 000) 室温孵育 90 min,再次洗涤 3 次,每次 10 min 后进行曝光测量目标蛋白的含量。

### 4 统计学处理

应用 SPSS 20.0 统计软件分析,实验数据以均数 ± 标准差 (mean ± SD) 表示。CCK-8 细胞活力检测实验、蛋白灰度分析、流式细胞术凋亡检测等单变量不同浓度间的比较采用单因素方差分析和 Dunnett's 检验;相同药物浓度下的抑制剂、药物共处理组与单药处理组间的比较采用成组设计资料 *t* 检验。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 结 果

### 1 丹参酮 IIA 对 HOS 细胞活力的影响

CCK-8 细胞活力实验显示,丹参酮 IIA 对 HOS 细胞的生长有明显抑制作用,并呈浓度和作用时间依赖性,24 h 的 IC<sub>50</sub> 为 (23.80 ± 2.15) μmol/L,48 h 的 IC<sub>50</sub> 为 (19.36 ± 2.21) μmol/L。与对照组相比,

各处理组细胞活力的差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 见图 1。集落形成实验进一步证实丹参酮 IIA 对 HOS 细胞增殖能力有强烈的抑制效果, 与对照组相比, 各处理组集落数有显著差异( $P < 0.05$ ), 见图 2。

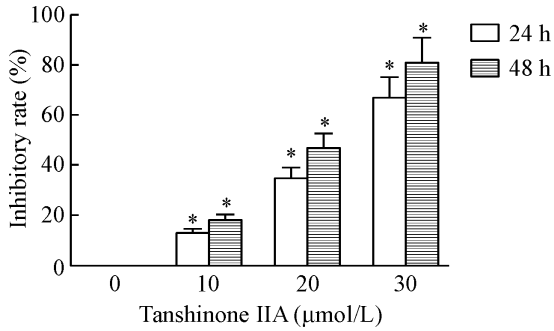


Figure 1. The inhibitory effect of tanshinone IIA on HOS cell viability detected by CCK-8 assay. Mean  $\pm$  SD.  $n = 5$ . \*  $P < 0.05$  vs 0  $\mu\text{mol/L}$  group.

图 1 丹参酮 IIA 对 HOS 细胞活力的抑制作用

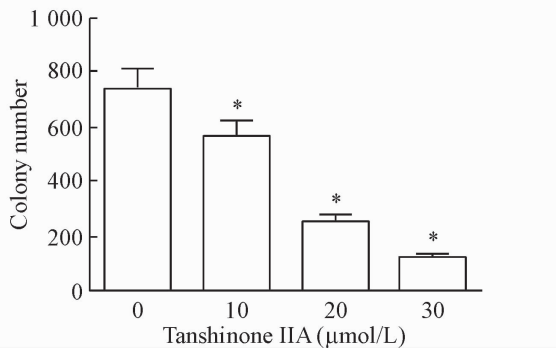
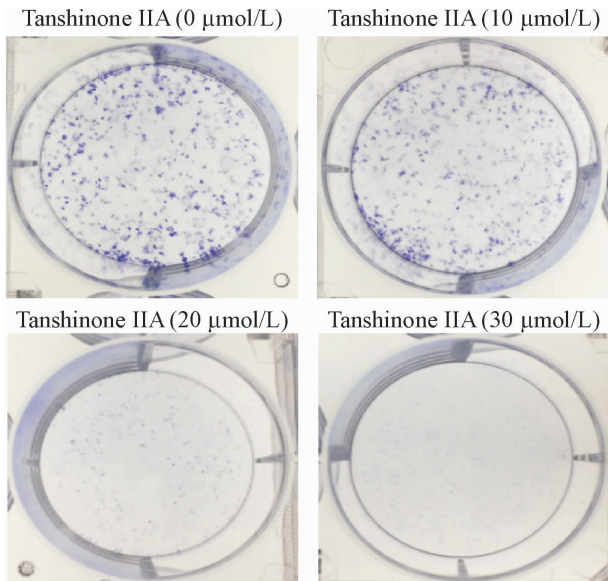


Figure 2. The effect of tanshinone IIA on the colony formation ability of HOS cells. The cell colonies were suppressed by the drug at different concentrations for 24 h. Mean  $\pm$  SD.  $n = 3$ . \*  $P < 0.05$  vs 0  $\mu\text{mol/L}$  group.

图 2 丹参酮 IIA 抑制细胞集落形成

## 2 丹参酮 IIA 对 HOS 细胞迁移能力的影响

Transwell 细胞迁移实验显示, 丹参酮 IIA 可抑制肿瘤细胞的迁移, 其效应随着药物浓度的增加而增强, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ), 见图 3。

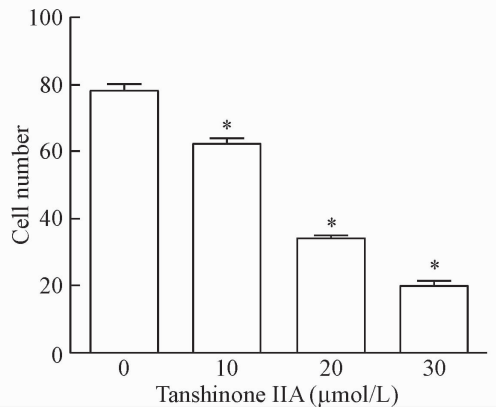
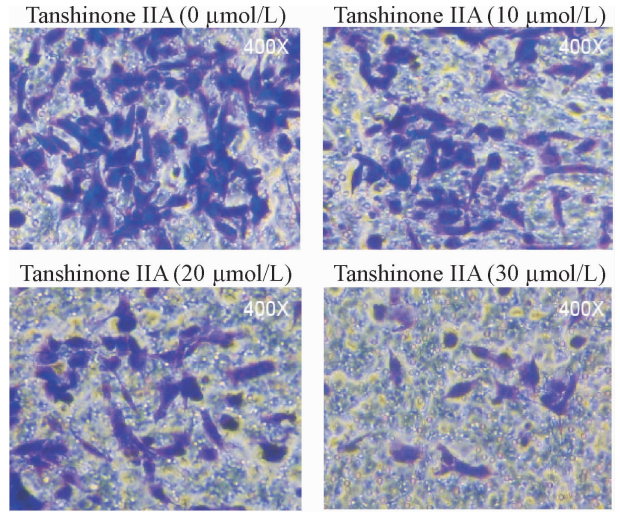


Figure 3. The effect of tanshinone IIA on HOS cell migration ability ( $\times 400$ ). Mean  $\pm$  SD.  $n = 3$ . \*  $P < 0.05$  vs control group.

图 3 丹参酮 IIA 抑制 HOS 细胞迁移能力

## 3 丹参酮 IIA 促进 HOS 骨肉瘤细胞发生凋亡

Hoechst 染色和透射电镜结果显示, 经 30  $\mu\text{mol/L}$  丹参酮 IIA 处理 24 h 后的细胞内出现核皱缩与凋亡小体, 见图 4、5。流式细胞技术量化了细胞凋亡的比例, 随着药物浓度的增加, 细胞凋亡比例呈现上升趋势( $P < 0.05$ ), 见图 6。Western blot 结果显示, 丹参酮 IIA 能上调 cleaved caspase-3 与 Bax 蛋白的水平, 并下调 Bcl-2 蛋白的水平( $P < 0.05$ ), 进一步从蛋白层面证实了凋亡的发生, 见图 7。

## 4 丹参酮 IIA 诱导 JNK 通路激活

Western blot 检测结果表明, 与对照组相比, 丹参酮 IIA 处理提高了 HOS 细胞的 p-JNK 与其底物 p-c-Jun 的蛋白水平, 且上升程度呈现药物浓度依赖性( $P < 0.05$ ), 见图 8。

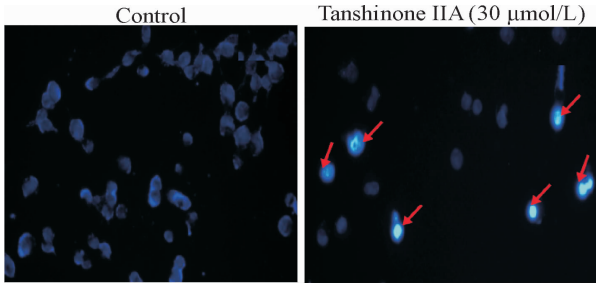


Figure 4. Apoptosis of the HOS cells induced by tanshinone IIA. The apoptotic cells demonstrated by Hoechst 33258 staining under fluorescence microscope (red arrow,  $\times 400$ ).

图 4 丹参酮 IIA 诱导 HOS 细胞发生凋亡

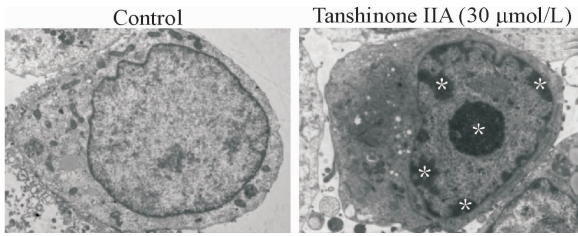


Figure 5. The ultrastructure of apoptotic HOS cells induced by tanshinone IIA under transmission electron microscope (white asterisk,  $\times 5000$ ).

图 5 透射电镜观察丹参酮 IIA 对 HOS 细胞凋亡的影响

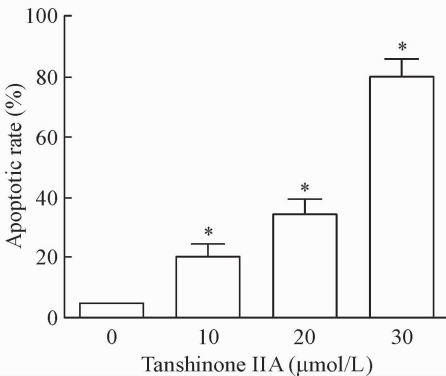
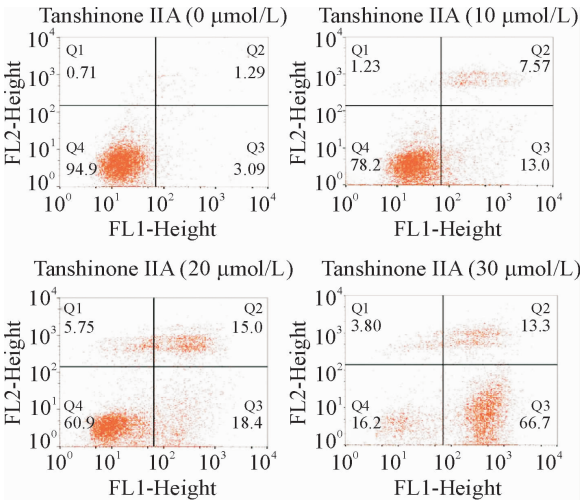


Figure 6. Apoptosis of the HOS cells triggered by tanshinone IIA was detected by flow cytometry. Mean  $\pm$  SD.  $n = 3$ .

\*  $P < 0.05$  vs 0  $\mu\text{mol/L}$  group.

图 6 流式细胞技术检测丹参酮 IIA 对 HOS 细胞凋亡的影响

## 5 JNK/c-Jun 通路对细胞凋亡的影响

CCK-8 实验显示, JNK 抑制剂 SP600125 在一定程度上减轻丹参酮 IIA 对 HOS 细胞生长的抑制作用, 与相应单药物处理组相比, 丹参酮 IIA 与 SP600125 共处理组在中、高浓度下细胞活力明显提高 ( $P < 0.05$ ), 见图 9。Western blot 结果显示, 与单药物处理组相比, 丹参酮 IIA 与 SP600125 共处理组 cleaved caspase-3 和 Bax 的蛋白表达下调, Bcl 表达上调 ( $P < 0.05$ ), 见图 10。因此, 丹参酮 IIA 通过激活 JNK 通路, 导致 HOS 细胞凋亡的发生。

## 讨 论

骨肉瘤的发病率位居恶性肿瘤之首, 病情进展迅速, 近年来不断提高的治疗方法, 远期缓解率也始终无法突破瓶颈, 迫使我们探索行之有效且安全的新治疗方案。丹参酮 IIA 是从传统中药丹参中提取的有效药物成分, 很多研究已证实其具有一定抑制肿瘤细胞生长的作用<sup>[6-9]</sup>。本研究结果表明, 丹参酮 IIA 在体外能有效抑制 HOS 细胞增殖与迁移, 通过激活 JNK 信号通路产生细胞抑制作用, 诱导凋亡发生, 发挥抗肿瘤效应。

细胞凋亡是由特定因素诱导并受基因调控的一种程序性死亡过程, 以形态上出现细胞表面微绒毛消失、胞浆浓缩、核膜皱缩、核仁裂解、染色质浓聚以及出现凋亡小体等为特征性标志, 与机体的生长发育、细胞病理生理状态以及内环境关系十分密切<sup>[10]</sup>。通过 Hoechst 33258 染色与透射电镜检查, 我们观察到在丹参酮 IIA 作用下的 HOS 细胞出现大量核膜皱缩, 染色质浓聚等现象, 提示细胞出现凋亡。研究显示, 凋亡是由 caspase 家族介导的一系列级联放大反应, caspase-3 作为凋亡反应下游的执行蛋白, 是不同凋亡途径所共同的必经之路, 其表达水平可以整体反映凋亡的强弱<sup>[11]</sup>。此外, Bcl-2 家族是肿瘤细胞中影响凋亡的关键因素之一, 在不同的信号通路中起重要作用, 其中 Bcl-2 和 Bax 分别是 Bcl-2 家族中最具代表性的凋亡抑制和促进基因, 当凋亡发生时, Bcl-2 家族中的相应蛋白作用于线粒体, 破坏其完整性, 进一步释放线粒体中的促凋亡因子, 从而诱导凋亡的发生<sup>[12]</sup>。本课题研究发现, 在丹参酮 IIA 作用之下, HOS 细胞内 caspase-3 与 Bax 表达水平显著上升, 而 Bcl-2 水平下降, 进一步佐证了细胞内凋亡的发生且呈现一定的浓度依赖性, 并与流式细胞术检测凋亡所得结果相吻合。

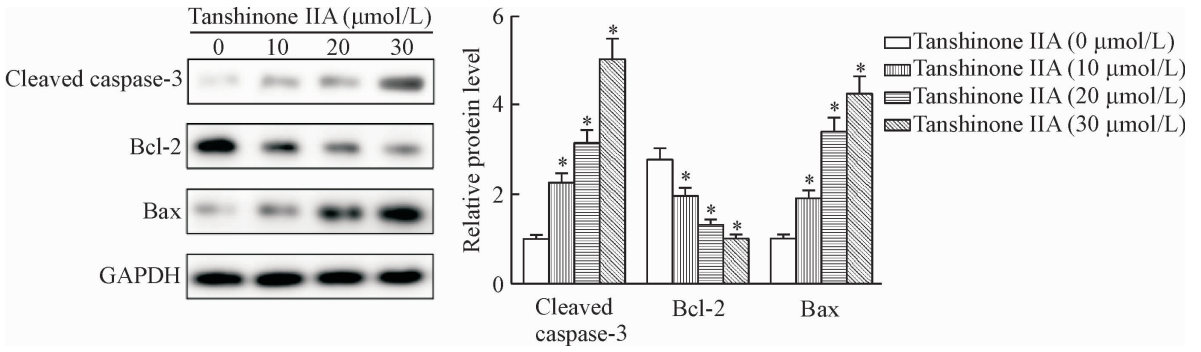


Figure 7. The alterations of apoptosis-related proteins caused by tanshinone IIA. Mean ± SD.  $n = 3$ . \*  $P < 0.05$  vs 0  $\mu\text{mol/L}$  group.

图 7 丹参酮 IIA 导致凋亡相关蛋白改变

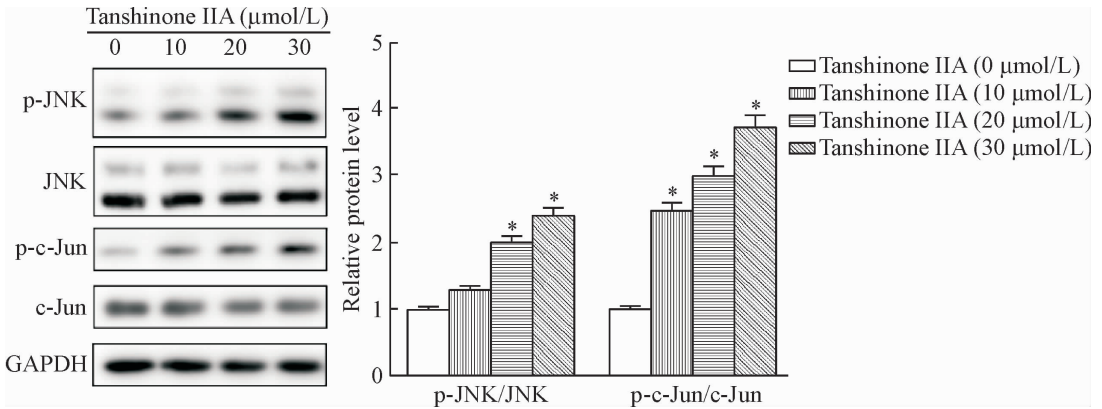


Figure 8. Tanshinone IIA induced activation of JNK signaling pathway. Mean ± SD.  $n = 3$ . \*  $P < 0.05$  vs 0  $\mu\text{mol/L}$  group.

图 8 丹参酮 IIA 诱导 JNK 信号通路激活

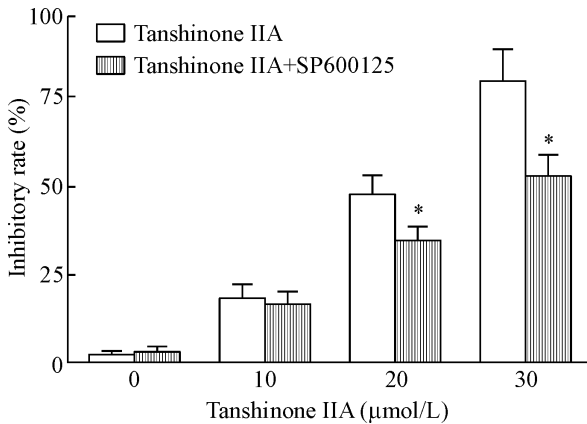


Figure 9. The JNK inhibitor SP600125 reversed tanshinone IIA-induced HOS cell viability inhibition. Mean ± SD.  $n = 3$ . \*  $P < 0.05$  vs tanshinone IIA group.

图 9 SP600125 缓解丹参酮 IIA 对细胞活力的抑制作用

目前已经发现调控凋亡的相关上游信号通路有多条,包括 JNK 通路、IL-6/STAT3 通路和 PI3K /Akt 通路等<sup>[13-15]</sup>。JNK 通路作为一条经典的 MAPK 信号通路,在细胞的生长发育、分化以及多种代谢活动中起到重要作用。JNK 小分子能被上游多种激酶激活而磷酸化,再激活下游底物如 c-Jun 发挥病理生理作用<sup>[16]</sup>。JNK 的亚型 JNK1 和 JNK2 普遍表达于各组

织,而 JNK3 则在少数器官中才表达,因此我们选择 p-JNK 与 p-c-Jun 以及总 JNK 与总 c-Jun 作为检测指标以反映 JNK 信号通路的激活情况。本实验结果提示,在丹参酮 IIA 作用之下,蛋白表达水平 p-JNK/JNK 与 p-c-Jun/c-Jun 显著上升。为了进一步验证 JNK 通路与凋亡的关系,我们添加了 JNK 抑制剂 SP600125 与丹参酮 IIA 共处理组,再次通过细胞增殖实验与 Western blot 进行检测,结果显示 JNK 通路一定程度上被抑制,在此基础上细胞存活率有所提升,凋亡某种程度上被逆转。由此可见,JNK 通路参与了丹参酮 IIA 引起的凋亡,但 SP600125 并不能完全逆转凋亡的发生,我们推测可能有其它通路参与该药物介导的凋亡,或是抑制剂浓度以及作用时间的关系,有待于我们作进一步研究。

综上所述,本实验通过细胞生物学与分子生物学的方法,研究丹参酮 IIA 对人骨肉瘤 HOS 细胞的影响。我们发现一定剂量的丹参酮 IIA 可通过作用于 JNK 信号通路而导致 HOS 细胞增殖被抑制,从而诱导凋亡发生,效应呈现浓度和作用时间依赖性。该结果为丹参酮 IIA 在骨肉瘤方面的临床应用提供了可参考的实验基础。

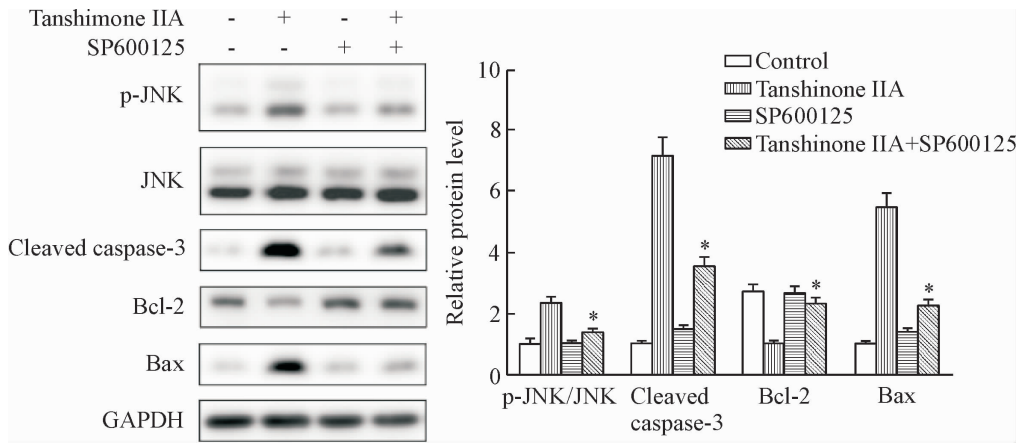


Figure 10. The JNK inhibitor SP600125 reversed tanshinone IIA-induced HOS cell apoptosis. The cells were treated with tanshinone IIA (30  $\mu\text{mol/L}$ ) for 24 h after incubation of JNK inhibitor SP600125 at 40  $\mu\text{mol/L}$  for 2 h. Mean  $\pm$  SD.  $n = 3$ . \*  $P < 0.05$  vs tanshinone IIA group.

图 10 SP600125 缓解丹参酮 IIA 导致细胞凋亡的作用

[参 考 文 献]

[1] Siddiqui YS, Sherwani MK, Khan AQ, et al. Neglected orthopedic oncology: causes, epidemiology and challenges for management in developing countries [J]. Indian J Cancer, 2015, 52(3):325-329.

[2] 易生辉, 秦刚, 黄肖华, 等. 骨肉瘤的治疗进展[J]. 医学综述, 2017, 23(8):1529-1532.

[3] Amankwah EK, Conley AP, Reed DR. Epidemiology and therapies for metastatic sarcoma [J]. Clin Epidemiol, 2013, 5(1):147-162.

[4] Ando K, Heymann MF, Stresing V, et al. Current therapeutic strategies and novel approaches in osteosarcoma [J]. Cancers, 2013, 5(2):591-616.

[5] Jang SI, Kim HJ, Kim YJ, et al. Tanshinone IIA inhibits LPS-induced NF- $\kappa$ B activation in RAW 264.7 cells: possible involvement of the NIK-IKK, ERK1/2, p38 and JNK pathways[J]. Eur J Pharmacol, 2006, 542(1-3):1-7.

[6] Chiu SC, Huang SY, Chang SF, et al. Potential therapeutic roles of tanshinone IIA in human bladder cancer cells [J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(9):15622-15637.

[7] Chiu SC, Huang SY, Chen SP, et al. Tanshinone IIA inhibits human prostate cancer cells growth by induction of endoplasmic reticulum stress *in vitro* and *in vivo*[J]. Prostate Cancer Prostatic Dis, 2013, 16(4):315-322.

[8] 万强, 杨玉萍, 刘中勇. 丹参酮 II A 通过抑制 p38 MAPK 通路减轻 PM2.5 对血管内皮细胞的损伤[J]. 中国病理生理杂志, 2016, 32(4):597-601.

[9] Yang L, Guo H, Dong L, et al. Tanshinone IIA inhibits the growth, attenuates the stemness and induces the apoptosis of human glioma stem cells[J]. Oncol Rep, 2014, 32(3):1303-1311.

[10] Pfeffer CM, Singh ATK. Apoptosis: a target for anticancer therapy[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(2):E448.

[11] Fiandalo MV, Kyprianou N. Caspase control: protagonists of cancer cell apoptosis[J]. Exp Oncol, 2012, 34(3):165-175.

[12] Kale J, Osterlund EJ, Andrews DW. BCL-2 family proteins: changing partners in the dance towards death[J]. Cell Death Differ, 2018, 25(1):65-80.

[13] 李 邈, 王 纯, 卢宏达. 马钱子碱通过抑制 IL-6/STAT3 信号通路诱导结肠癌 SW480 细胞凋亡[J]. 中国病理生理杂志, 2016, 32(6):998-1003.

[14] 周开宇, 毛天明, 陈 茜, 等. 苦参碱对人髓母细胞瘤 D341 细胞凋亡及相关蛋白表达的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2014, 30(4):629-634.

[15] Sharma A, Yerra VG, Kumar A. Emerging role of Hippo signalling in pancreatic biology: YAP re-expression and plausible link to islet cell apoptosis and replication[J]. Biochimie, 2017, 133(2):56-65.

[16] Dhanasekaran DN, Reddy EP. JNK-signaling: a multiplexing hub in programmed cell death[J]. Genes Cancer, 2017, 8(9-10):682-694.

(责任编辑: 卢 萍, 罗 森)