

从组蛋白及组蛋白修饰看视网膜疾病

Samuel S. Zhang

【摘要】 视网膜疾病包括年龄相关性黄斑变性(AMD)、糖尿病视网膜病变(DR)、视网膜色素上皮变性(RP)和营养不良、视网膜和脉络膜肿瘤等,是一组与视网膜及其神经和血管相关的疾病。尽管基因变异和单核苷酸多态性等遗传学因素所造成的基因表达的改变已被证明与这些疾病的发病机制有密切关系,但在基因序列不发生改变的情况下,长期内在及外在环境变化造成的可遗传性基因表达的改变正受到研究者的关注。近年来越来越多的证据支持至少部分视网膜疾病的发病机制与表观遗传,特别是组蛋白及组蛋白修饰有关。相关研究的进展使我们加深了对视网膜疾病病理机制的认识。

【关键词】 组蛋白; 组蛋白修饰; 组蛋白甲基化; 组蛋白乙酰基化; 视网膜疾病

Histones and histone modifications of retina conditions and disorders Samuel S. Zhang, Department of Neural & Behavioral Sciences, Penn State University College of Medicine, Hershey, USA

Corresponding author: Samuel S. Zhang, Email: ssz3@psu.edu

[Abstract] Retina conditions and disorders, such as age-related macular degeneration (AMD), diabetic retinopathy (DR), retinitis pigmentosa (RP) and retinal or choroidal tumors, are relevant diseases to retinal neurons and vasculatures. Although genetic factors such as gene mutation and single nucleotide polymorphisms cause changes of gene expression and involve in the pathogenesis of certain retinal diseases, the alteration of gene expression can be observed without changing the genome sequences under the external or internal stimuli. This epigenetic role, especially histones and its modification, has been considered as a part of mechanisms of those diseases described above. Current advances have drawn our attentions to this field in both pathological and therapeutical challenges of retinal diseases.

[Key words] Histones; Histone modification; Histone methylation; Histone acetylation; Retinal diseases

人类许多疾病被认为是遗传因素和环境因素共同作用的结果,表观遗传在基因的调控中发挥重要作用。表观遗传涉及 DNA 甲基化、组蛋白修饰、染色体重塑和非编码 RNA 调控等,相关的研究不仅有助于对疾病发病机制的认识,也有助于利用相关的原理研发相关药物及对疾病进行靶向治疗。目前,国际上对表观遗传的研究日益关注,组蛋白修饰也是其中的热点之一。

1 组蛋白修饰的表观遗传学机制

表观遗传学是指在 DNA 序列变化的情况下,相关基因表达发生可遗传性改变的一种遗传学机制^[1-5]。组蛋白是存在于所有真核细胞核内的碱性蛋

白,富含带有正电荷的精氨酸和赖氨酸等碱性氨基酸,易与带负电荷的 DNA 结合形成 DNA-组蛋白复合物,称之为核小体。组蛋白包括 H2A、H2B、H3、H4 和 H1,其中前 4 种组蛋白各 2 个分子构成 8 聚体成为核小体的核心,而 H1 介于两核小体之间,称链接组蛋白。组蛋白氨基酸修饰的多样性为组蛋白的功能提供了丰富的内涵。蛋白修饰主要包括乙酰基化、磷酸化、甲基化和核糖基化等,其中在组蛋白不同氨基酸的乙酰基化和甲基化为调控 DNA 或染色质结构提供了有效的开关系统^[6-7],如位于组蛋白 H3 和 H4 N 末端上的赖氨酸被乙酰基化或去乙酰基化后可使所在 DNA 结合区域的染色质解螺旋或紧螺旋,为转录因子结合基因启动子部位提供了一个开关系统,从而达到对基因表达调控的作用。

与不同基因启动子区域结合的 H3 和 H4 可有不同的乙酰基化或去乙酰基化谱系,为细胞分化或维持组织和细胞的特异性及状态提供了一个有效机制。同

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.01.001

作者单位: Department of Neural & Behavioral Sciences, Penn State University College of Medicine, Hershey, USA

通信作者: Samuel S. Zhang, Email: ssz3@psu.edu

样,位于组蛋白 H3 和 H4 N 末端上的赖氨酸也可被甲基化或去甲基化,对细胞分化或维持组织和细胞的特异性基因表达的管控提供了又一个有效机制。近年基因组中组蛋白的修饰谱逐渐成为不同细胞分化阶段和细胞或组织所处状态的重要表观遗传学标志^[8-10],如与某一基因转录开始点相应的组蛋白 H3 N 末端上的第 4 位赖氨酸可被甲基化 1 次 (H3K4me) 或 2 次 (H3K4me₂)。目前认为组蛋白 H3 赖氨酸 K4 的甲基化是相应位点基因转录活性化的标志,与此相反,组蛋白 H3 赖氨酸 K27 的甲基化 (H3K27me₃) 是相应位点基因转录沉静化的标志。另外,组蛋白 H3 赖氨酸 K9 的甲基化 (H3K9me₃) 的清除和随之而来的组蛋白 H3 赖氨酸 K9 的乙酰基化 (H3K9Ac) 将使相应位点基因转录活化。同一细胞的不同分化状态、疾病的不同阶段或不同细胞之间的表观遗传学标志不尽相同。在视网膜及相关组织发育或发病过程中把握同一细胞不同阶段基因转录开始点相应组蛋白的修饰谱是理解疾病病理机制的重要表观遗传学指标。

不同类型的组蛋白修饰是由不同种类的酶作用实现的,例如组蛋白的乙酰基化和去乙酰基化分别由组蛋白乙酰转移酶 (histone acetyltransferase, HAT) 和组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylase, HDAC) 催化完成。组蛋白的甲基化和去甲基化分别由一系列的组蛋白甲基转移酶 (histone methyltransferase, HMT) 催化完成,如组蛋白甲基转移酶 Set7/9 (SetD7) 和组蛋白去甲基化酶、赖氨酸特异性脱甲基酶 1 (lysine-specific demethylase 1, LSD1)。由于参与组蛋白修饰的酶的多样性及其组织或细胞特异性,不同类型组蛋白修饰酶在细胞中的分布或不同疾病阶段组蛋白修饰酶的表达为疾病病理过程提供了重要的生物学机制。近年来第 2 代 DNA 测序和染色质免疫沉淀 (chromatin immunoprecipitation, ChIP) 技术的相互结合,使全面了解全基因组的组蛋白修饰成为可能。

许多视网膜疾病,如糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR)、年龄相关性黄斑变性 (age-related macular degeneration, AMD)、视网膜色素上皮变性 (retinitis pigmentosa, RP) 和视网膜营养不良、视网膜及脉络膜肿瘤等,已用表观遗传学的方法研究其不同的发病机制。由于篇幅所限,本文将集中分享组蛋白及组蛋白修饰在视网膜变性疾病和 DR 发病机制等方面的研究内容。

2 视网膜变性疾病

视网膜变性疾病,如 RP 的发病多始于视网膜细

胞发育完成时或发育成熟过程中,关于蛋白修饰对视网膜发育和细胞分化影响的研究始于 10 年前。1 项斑马鱼的研究发现,HDAC1 对维持心脏和神经上皮的发育有重要作用^[11],敲除 HDAC1 可造成视网膜结构的发育异常。敲除 HDAC1 使视网膜干细胞不能离开细胞周期,同时伴有 *Cyclin D* 和 *Cyclin E* 基因的高表达^[12],使 Wnt 和 Hotch/Hes 信号通路增强^[13],增加与细胞死亡有关基因的表达^[14],提示 HDAC1 可使视网膜干细胞进入有丝分裂后的状态,并促进神经细胞的分化和存活。在哺乳类动物研究中发现,抑制小鼠 HDAC 活性可减少视网膜特异性基因的表达,包括 *Crx*、*Nrl* 和 *Otx2*^[15],导致视网膜神经细胞死亡,几乎完全阻碍视杆细胞和 Müller 细胞分化,但却增加双极细胞的数量。HDAC4 在小鼠出生第 1 天时表达在视网膜内外神经母细胞层,敲除 HDAC14 导致视杆细胞和双极细胞变性和死亡^[16]。

作为 RP 的致病基因,视细胞特异性转录因子,如 *Crx* 和 *Nr2e3* 对视细胞的发育和功能维持起着重要的作用,但最近的研究显示,这些转录因子功能分别需要 HAT 或 HDAC 的共同作用。研究发现,*Crx* 和其他 3 种分子形成蛋白复合物,包括 STAGA、CBP 和 p300。这 3 种蛋白都属于 HAT,当 *Crx* 结合到视细胞特异性基因启动子 DNA 上以后,紧接着结合 HAT,使组蛋白 H3 乙酰基化,然后结合其他转录因子,如 *Nrl*、*Nr2e3* 和 RNA 多聚酶 2^[17]。*Nr2e3* 是一个 DNA 序列特异性和抑制型转录因子,在视杆细胞中阻止视锥细胞特异性基因的表达。研究发现,*Nr2e3* 的功能依赖于它的蛋白复合物,其中包括 HDAC^[18]。在这个分离的蛋白复合物中,HDAC 保持活性,并能和 *Nr2e3* 一起结合到特定的基因启动子 DNA 上。研究表明,尽管在视细胞上敲除 CBP 和 p300 其中之一没有明显的影响,但同时敲除 CBP 和 p300 后视细胞形态严重扭曲并且发生功能障碍^[19],提示在视网膜视杆细胞分化过程中,组蛋白修饰机制对转录因子的作用上是不可缺少的。

组蛋白 H3 N 末端赖氨酸的甲基化随着视网膜细胞分化的进程而变化^[20-21]。最近利用第 2 代 DNA 测序和染色质免疫沉淀技术进行研究,发现整个基因组中 H3K4me₂ 和 H3K27me₃ 在视杆细胞特异性基因的转录起始点的分布有别于其他基因^[21]。在视杆细胞特异性基因的转录起始点周围,H3K4me₂ 的积累随着细胞的分化而急剧增加,视杆细胞成熟时达到高峰。与此同时,H3K27me₃ 在视杆细胞特异性基因的转录起始点周围几乎没有任何积累。随着细胞的分化,在 RGCs 和无长突细胞特异性基因的转录起始点周围

H3K4me2 始终维持一定的积累,与此同时 H3K27me3 的积累逐渐减少。在对具有相同基因表达谱的一组视网膜基因进行分析后发现,H3K4me2 和 H3K27me3 在其基因转录起始点的积累不尽相同,提示同样的基因表达水平不一定有同样的表观遗传学特征。H3K4me2 的积累不仅限于转录起始点周边,有时可看到 H3K4me2 的积累从基因启动子开始一直到基因主体,甚至基因 3' 端与基因表达产物的增加呈正相关。以上结果表明,在视网膜发育和成熟过程中,组蛋白的甲基化或去甲基化进程具有高度的时间和细胞特异性。任何影响组蛋白修饰的病理过程都有可能引起视网膜的变性。这些表观遗传学现象是否也存在于人视网膜发育和细胞分化过程中仍有待进一步研究。

不同于其他组蛋白,组蛋白 H1 不参与核小体的中心结构,但在 2 个核小体之间起着重要的链接作用。目前认为组蛋白 H1 在维持染色质高维结构和调节基因转录上起着重要的作用^[22]。人类组蛋白有 5 个亚类,H1 存在于所有体细胞中,还有 6 个特异性亚类,如睾丸中的 H1t 和 H1t2,以及存在于所有终末分化细胞内的 H1.0。即便是存在于所有细胞中的 5 种组蛋白也有其细胞特异性。

研究发现,在小鼠视网膜发育过程中,2 个核小体之间的长度在成年后比出生时明显增加^[23],同时组蛋白 H1 的一个亚类 H1c 在视网膜内显著增加,仅敲除组蛋白 H1c 基因不影响视网膜细胞分化,但是当组蛋白 H1 的 3 个亚类,H1c、H1e 和 H1.0 基因被同时敲除以后,视杆细胞的细胞核明显增大,成年时和同龄野生型小鼠相比视杆细胞核内异染色质区域明显减少,视杆细胞核移位,细胞变性和凋亡。脊髓小脑共济失调 7 型 (spinocerebellar ataxia type 7, Sca7) 的基因产物可分布于小脑、脑干和视网膜,其突变或异常可造成神经退行性病变。研究发现,Sca7 突变导致视杆细胞核异染色质分布改变,如异染色质片段化和脱聚化^[24]。与野生型小鼠相比,Sca7 突变型小鼠视网膜内组蛋白 H1c 含量明显降低,提示链接组蛋白 H1 对视杆细胞的存活及其功能的维持有一定作用。

3 DR

DR 是目前主要的致盲眼病之一,长期糖代谢异常造成视网膜微环境改变可引起视网膜血管异常和神经细胞损害。尽管许多相关的基础和临床研究已取得较大进展,但目前其发病机制仍然不明。在没有基因组改变的情况下,代谢环境的改变即可造成基因表达的变化^[3],如线粒体超氧化物歧化酶 2 (mitochondrial

superoxide dismutase 2, Sod2) 和基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9) 等基因可受到表观遗传学修饰的影响。

在大鼠糖尿病模型的早期,视网膜线粒体内超氧化物自由基增加,同时清除酶 Sod2 活性降低,逐渐引起毛细血管上皮细胞凋亡和视网膜血管病变^[25]。增加 Sod2 的表达可有效阻止大鼠 DR 的形成^[26-27]。研究表明在糖尿病及高血糖状态下可使视网膜内 Sod2 基因启动子和增强子相关组蛋白的修饰发现变化,如组蛋白 H4K20me3 的甲基化和 H3K9 的乙酰基化增加^[28],H4K20 甲基化酶 SUV420h2 蛋白和基因表达量增加,而血糖控制到正常水平后,这些表观遗传学指标并未得到改善。Sod2 基因启动子或增强子相关组蛋白 H4K20 甲基化水平的持续增加导致 Sod2 基因表达量减少,甚至发生 DR,称之为代谢记忆现象。最近还发现高血糖状态可使 Sod2 基因启动子相关组蛋白 H3K4 位点上单甲基及二甲基含量降低,同时赖氨酸特异性脱甲基酶 1 (lysine-specific demethylase 1, LSD1) 与 Sod2 基因启动子的结合增加^[29]。在糖尿病模型大鼠高血糖得到控制的情况下,Sod2 基因启动子相关组蛋白 H3K4 位点上单甲基及二甲基含量降低仍然不可逆转,LSD1 在 Sod2 基因启动子上的活性仍然保持。在 DR 患者的视网膜组织中也观察到同一现象,说明 Sod2 基因启动子相关组蛋白的甲基化改变在 DR 的病理进程中有重要作用。

在大鼠视网膜内皮细胞及 DR 患者的视网膜组织中,MMP-9 基因启动子相关组蛋白的甲基化及 LSD1 的活性也有相似的变化^[30]。一般认为糖尿病可使视网膜内 MMP-9 增加并损害毛细血管细胞的线粒体,导致细胞凋亡,LSD1 的酶活性增加可减少 MMP-9 基因启动子相关组蛋白 H3K9 的甲基化水平,使组蛋白 H3K9 位点更易乙酰基化,引起 MMP-9 基因启动子的活化,MMP-9 表达增加。

红细胞来源核因子 2 相关蛋白 2 (nuclear related protein factor 2, NRF2) 是第 1 线参与抗氧化应激反应的转录因子之一^[31],正常情况下红细胞来源 NRF2 存在于细胞质内,一旦被激活则进入细胞核并与基因启动子含有抗氧化应激序列 (antioxidant response element, ARE) 的 DNA 结合,促进基因转录。Kelch 样 ECH 相关蛋白 1 (kelch like ECH associated protein 1, KEAP1) 是红细胞来源 NRF2 的细胞内抑制因子。研究发现高血糖可促进 KEAP1 的表达,同时伴随 KEAP1 启动子相关组蛋白 H3K4 位点单甲基化及其组蛋白甲基转移酶 Set7/9 (SetD7) 的增加^[32],血糖降

至正常后,组蛋白 H3K4 的甲基化水平仍然维持,使 *KEAP1* 基因表达持续增高,从而抑制红细胞来源 NRF2 的功能及抗氧化应激反应过程。

4 应关注组蛋白修饰与视网膜疾病的关系

越来越多的研究表明,不仅是 RP 及 RP 的发病机制与组蛋白修饰有关,组蛋白变异及组蛋白修饰也是很多视网膜疾病发病机制中的一环,包括 AMD 及视网膜和脉络膜肿瘤等。目前与视网膜疾病相关的组蛋白和组蛋白修饰机制研究正处于研究的初始阶段,其临床实践仍有很多研究的空间,了解和关注相关的研究进展并通过化学或生物学方式影响组蛋白修饰过程将为视网膜疾病的治疗提供一个新途径。

参考文献

- [1] Imhof A. Epigenetic regulators and histone modification[J]. Brief Funct Genomic Proteomic, 2006, 5(3): 222-227. doi:10.1093/bfgp/ell030.
- [2] Gemenetzi M, Lotery AJ. The role of epigenetics in age-related macular degeneration[J]. Eye (Lond), 2014, 28(12): 1407-1417. doi:10.1038/eye.2014.225.
- [3] Kowluru RA, Santos JM, Mishra M. Epigenetic modifications and diabetic retinopathy. [J/OL] Biomed Res Int, 2013, 2013: 635284 [2014-12-10] http://www.hindawi.com/journals/bmri/2013/635284/. doi:10.1155/2013/635284/.
- [4] He S, Li X, Chan N, et al. Review: Epigenetic mechanisms in ocular disease[J/OL]. Mol Vis, 2013, 19: 665-674 [2014-12-10] http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3611946.
- [5] Yan B, Yao J, Tao ZF, et al. Epigenetics and ocular diseases: from basic biology to clinical study[J]. J Cell Physiol, 2014, 229(7): 825-833. doi:10.1002/jcp.24522.
- [6] Jenuwein T, Allis CD. Translating the histone code[J]. Science, 2001, 293(5532): 1074-1080. doi:10.1126/science.1063127.
- [7] Kouzarides T. Chromatin modifications and their function[J]. Cell, 2007, 128(4): 693-705.
- [8] Barski A, Cuddapah S, Cui K, et al. High-resolution profiling of histone methylations in the human genome[J]. Cell, 2007, 129(4): 823-837. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2007.05.009.
- [9] Mikkelsen TS, Ku M, Jaffe DB, et al. Genome-wide maps of chromatin state in pluripotent and lineage-committed cells[J]. Nature, 2007, 448(7153): 553-560. doi:10.1038/nature06008.
- [10] Wang Z, Zang C, Rosenfeld JA, et al. Combinatorial patterns of histone acetylations and methylations in the human genome[J]. Nat Genet, 2008, 40(7): 897-903. doi:10.1038/ng.154.
- [11] Pillai R, Coverdale LE, Dubey G, et al. Histone deacetylase 1 (HDAC) required for the normal formation of craniofacial cartilage and pectoral fins of the zebrafish[J]. Dev Dyn, 2004, 231(3): 647-654.
- [12] Stadler JA, Shkumatava A, Norton WH, et al. Histone deacetylase 1 is required for cell cycle exit and differentiation in the zebrafish retina[J]. Dev Dyn, 2005, 233(3): 883-889. doi:10.1002/dvdy.20427.
- [13] Yamaguchi M, Tonou-Fujimori N, Komori A, et al. Histone deacetylase 1 regulates retinal neurogenesis in zebrafish by suppressing Wnt and Notch signaling pathways[J]. Development, 2005, 132(13): 3027-3043.
- [14] Wallace DM, Donovan M, Cotter TG. Histone deacetylase activity regulates apaf-1 and caspase 3 expression in the developing mouse retina[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2006, 47(7): 2765-2772. doi:10.1167/iops.05-1383.
- [15] Chen B, Cepko CL. Requirement of histone deacetylase activity for the expression of critical photoreceptor genes[J/OL]. BMC Dev Biol, 2007, 7: 78 [2014-12-10] http://www.biomedcentral.com/1471-213X/7/78. doi:10.1186/1471-213X-7-78.
- [16] Chen B, Cepko CL. HDAC4 regulates neuronal survival in normal and diseased retinas[J]. Science, 2009, 323(5911): 256-259. doi:10.1126/science.1166226.
- [17] Peng GH, Chen S. Crx activates opsin transcription by recruiting HAT-containing co-activators and promoting histone acetylation[J]. Hum Mol Genet, 2007, 16(20): 2433-2452. doi:10.1093/hmg/ddm200.
- [18] Takezawa S, Yokoyama A, Okada M, et al. A cell cycle-dependent co-repressor mediates photoreceptor cell-specific nuclear receptor function[J]. EMBO J, 2007, 26(3): 764-774. doi:10.1038/sj.emboj.7601548.
- [19] Hennig AK, Peng GH, Chen S. Transcription coactivators p300 and CBP are necessary for photoreceptor-specific chromatin organization and gene expression[J/OL]. PLoS One, 2013, 8(7): e69721. doi:10.1371/journal.pone.0069721 [2014-12-10] http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0069721.
- [20] Rao RC, Tchchedre KT, Malik MT, et al. Dynamic patterns of histone lysine methylation in the developing retina[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2010, 51(12): 6784-6792. doi:10.1167/iops.09-4730.
- [21] Popova EY, Xu X, DeWan AT, et al. Stage and gene specific signatures defined by histones H3K4me2 and H3K27me3 accompany mammalian retina maturation in vivo[J/OL]. PLoS One, 2012, 7(10): e46867 [2014-12-10] http://www.plosone.org/article/infor%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0069721. doi:10.1371/journal.pone.0046867.
- [22] Harshman SW, Young NL, Parthun MR, et al. H1 histones: current perspectives and challenges[J]. Nucleic Acids Res, 2013, 41(21): 9593-9609. doi:10.1093/nar/gkt700.
- [23] Popova EY, Grigoryev SA, Fan Y, et al. Developmentally regulated linker histone H1c promotes heterochromatin condensation and mediates structural integrity of rod photoreceptors in mouse retina[J]. J Biol Chem, 2013, 288(24): 17895-17907. doi:10.1074/jbc.M113.452144.
- [24] Kizilyaprak C, Spehner D, Devys D, et al. The linker histone H1C contributes to the SCA7 nuclear phenotype[J]. Nucleus, 2011, 2(5): 444-454. doi:http://dx.doi.org/10.4161/nucl.2.5.17843.
- [25] Kowluru RA, Kern TS, Engerman RL. Abnormalities of retinal metabolism in diabetes or experimental galactosemia. IV. Antioxidant defense system[J]. Free Radic Biol Med, 1997, 22(4): 587-592. doi:10.1016/S0891-5849(96)00347-4.
- [26] Kowluru RA, Odenbach S. Effect of long-term administration of alpha-lipoic acid on retinal capillary cell death and the development of retinopathy in diabetic rats[J]. Diabetes, 2004, 53(12): 3233-3238.
- [27] Kowluru RA, Kowluru V, Xiong Y, et al. Overexpression of mitochondrial superoxide dismutase in mice protects the retina from diabetes-induced oxidative stress[J]. Free Radic Biol Med, 2006, 41(8): 1191-1196. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2006.01.012.
- [28] Zhong Q, Kowluru RA. Epigenetic changes in mitochondrial superoxide dismutase in the retina and the development of diabetic retinopathy[J]. Diabetes, 2011, 60(4): 1304-1313. doi:10.2337/db10-0133.
- [29] Zhong Q, Kowluru RA. Epigenetic modification of Sod2 in the development of diabetic retinopathy and in the metabolic memory: role of histone methylation[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013, 54(1): 244-250.
- [30] Zhong Q, Kowluru RA. Regulation of matrix metalloproteinase-9 by epigenetic modifications and the development of diabetic retinopathy[J]. Diabetes, 2013, 62(7): 2559-2568.
- [31] Kern TS, Kowluru R, Engerman RL. Abnormalities of retinal metabolism in diabetes or galactosemia. ATPases and glutathione[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1994, 35: 2962-2967.
- [32] Mishra M, Zhong Q, Kowluru RA. Epigenetic modifications of Keap1 regulate its interaction with the protective factor Nrf2 in the development of diabetic retinopathy[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014, 55(11): 7256-7265.

(收稿日期:2014-12-20)

(本文编辑:尹卫靖)