

PTEN 和 LKB1 在非小细胞肺癌中的表达及意义^{*}

李 洋^{1,2}, 李 英³, 杨 慧³, 王 平^{2△}

1. 昆明理工大学医学院 (昆明 650500); 2. 云南省第一人民医院·昆明理工大学附属昆华医院 胸外科 (昆明 650500);
3. 云南省第一人民医院·昆明理工大学附属医院 病理科 (昆明 650500)

【摘要】 目的 分析 PTEN 和 LKB1 在非小细胞肺癌中的表达特点以及二者的相关性。**方法** 收集 74 例非小细胞肺癌患者蜡块,以免疫组织化学法检测 PTEN 及 LKB1 的表达;通过分析临床相关指标与 PTEN 及 LKB1 表达的相关性,探讨 PTEN 及 LKB1 表达的临床意义。**结果** PTEN 和 LKB1 的表达阳性率分别为 47.3% 和 70.3%,LKB1 表达阴性样本多伴有 PTEN 阴性表达,统计学分析发现 LKB1 与 PTEN 表达呈正相关($r=0.287$, $P=0.017$);PTEN 和 LKB1 在非小细胞肺癌中的表达与性别、年龄、病理类型无关(P 均 >0.05),PTEN 表达缺失与淋巴结转移($P=0.017$)、侵袭($P=0.008$)及临床分期($P=0.019$)相关,LKB1 的表达缺失与肺癌侵袭($P=0.043$)和临床分期($P=0.003$)相关;联合 PTEN 和 LKB1 表达情况分析,同时为阳性表达的肺癌病例出现淋巴结转移和/或侵袭的比例低于同时为阴性表达者。**结论** PTEN 和 LKB1 的表达与非小细胞肺癌的发生及恶性进展有关,且可能存在协同作用;检测两个蛋白表达可作为非小细胞肺癌预后的判断依据。

【关键词】 非小细胞肺癌 PTEN LKB1 免疫组化

Expressions and Significance of PTEN and LKB1 in Non-small Cell Lung Cancer LI Yang^{1,2}, LI Ying³, YANG Hui³, WANG Ping^{2△}. 1. Medical Faculty of Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China; 2. Department of Thoracic Surgery, Affiliated Kunhua Hospital of Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China; 3. Department of Pathology, Affiliated Hospital of Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China

△ Corresponding author, E-mail: wangping2467@aliyun.com

【Abstract】 Objective To analyze the correlation between the expression of PTEN and LKB1 in non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** Paraffin blocks of 74 cases of NSCLC patients were collected, and the expression of LKB1 and PTEN were detected by immunohistochemistry. The clinical related index and the correlation with the expression of PTEN and LKB1 were analyzed to explore the expression clinical significance of them. **Results** The PTEN and LKB1 expression positive rate were 47.3% and 70.3%, respectively. LKB1 expression negative samples were mostly associated with PTEN negative expression. Statistical analysis showed that LKB1 was positively correlated with PTEN expression ($r=0.287$, $P=0.017$). The expression of PTEN and LKB1 in NSCLC had no relationship with gender, age and pathology type ($P>0.05$). The expression of PTEN is closely associated with lymph node metastasis (LNM, $P=0.017$), invasion ($P=0.008$) and clinical stage ($P=0.019$). And lack expression of LKB1 was closely associated with tissue invasion ($P=0.043$) and clinical stage ($P=0.003$). Patients with PTEN and LKB1 positive showed more LNM and/or invasion than those with them negative. **Conclusion** The expression of PTEN and LKB1 may be related to the occurrence and progression of NSCLC, and may have a synergistic effect, and it can be used as a judgment of the prognosis of NSCLC.

【Key words】 Non-small cell lung cancer PTEN LKB1 Immunohistochemistry

非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)是肺癌中最常见的一种类型,约占全部肺癌的 85%,最常见为腺癌(adenocarcinoma, ADC)和鳞状细胞癌(squamous cell carcinoma, SCC)两种

类型^[1]。近年多项研究报道,抑癌基因第 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源的基因(phosphatase and tensin homology deleted on chromosome ten, PTEN)和肝激酶 B1(liver kinase B1, LKB1)同时作为哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路上游调控基因,参与多种重要细胞生理活性调控^[2-3],并与 NSCLC 的发生发展密切相关^[4]。两

^{*} 云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项资金项目(No. 2012FB093)资助

△ 通信作者, E-mail: wangping2467@aliyun.com

基因在 NSCLC 组织中的表达特点及关系尚不清楚,本研究检测了 PTEN 和 LKB1 在肺腺癌和肺鳞状细胞癌(简称肺鳞癌)中的蛋白表达水平,分析二者在 NSCLC 组织中的表达差异和相互关系,以及二者表达与临床病理特征的关系,为探讨 PTEN 与 LKB1 在 NSCLC 发生发展中的作用提供依据。

1 材料与方法

1.1 组织标本

选取云南省第一人民医院 2013 年 3 月至 2015 年 1 月手术切除的 NSCLC 组织标本 74 例。所有患者术前均未进行化疗和放疗,并在术后经病理诊断证实。其中男性 49 例,女性 25 例;年龄 31~83 岁。根据 WHO 分型标准:肺腺癌 37 例,肺鳞癌 37 例。所选取病例的临床资料完整详实。

1.2 主要试剂

一抗:PTEN(138G6) Rabbit mAb (#9188)和 LKB1 (D60C5F10) Rabbit mAb (#13031)均购自美国 Cell Signaling Technology(CST)公司;二抗试剂盒 EnVision™FLEX 及 DAB 显色系统购自丹麦 Dako 公司。

1.3 免疫组织化学法检测 PTEN 和 LKB1 表达

组织蜡块连续切片(3 μm /片),黏附于载玻片,烘干,对组织切片进行常规脱蜡、水化,PTEN 采用 pH6.0 柠檬酸高压抗原修复,LKB1 采用 pH9.0 EDTA 进行高压抗原修复,自然冷却至室温,3% H_2O_2 避光孵育 10 min 阻断内源性过氧化物酶活性。经 PBS 冲洗,加 PTEN 或 LKB1 抗体,26 $^{\circ}\text{C}$ 水浴孵育 1 h,洗净加入 EnVision™FLEX 二抗,26 $^{\circ}\text{C}$ 水浴孵育 15 min。DAB 显色溶液显色,苏木素复染,脱水封片。以 PBS 代替一抗作为阴性对照;根据 CST 公司抗体说明书,以前列腺癌组织切片为 PTEN 和 LKB1 阳性对照片。

1.4 结果判定

以阳性部位出现棕黄色颗粒分布并明显高于背景着色即判定为阳性结果。每张切片选取 5 个高倍镜视野($\times 400$),分别计数每个视野中阳性细胞占总细胞的分分数及着色程度,平均 5 个视野结果,按以下标准进行判定。评分标准:①着色程度:无着色记 0 分,淡黄色记 1 分,棕黄色记 2 分,棕褐色记 3 分;②阳性细胞在观察细胞中所占比例: $<5\%$ 记 0 分, $5\%\sim 25\%$ 记 1 分, $26\%\sim 50\%$ 记 2 分, $51\%\sim 75\%$ 记 3 分, $>75\%$ 记 4 分;以上两项结果相加,总分为 0~1 分记为阴性结果(-),2~3 分为弱阳性

(+),4~5 分为中等阳性(++),6~7 分为强阳性(+++)。每张切片染色结果均由两位病理医师独立观察打分,结果如存在差异则取平均值。

1.5 统计学方法

计数资料采用 χ^2 检验,双变量相关分析采用 Spearman 相关分析, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 PTEN 和 LKB1 蛋白在 NSCLC 中的表达

见附图和表 1。PTEN 蛋白阳性着色位置为细胞浆和部分细胞核。在 74 例 NSCLC 中有 35 例为 PTEN 蛋白阳性(47.3%);37 例肺腺癌中,阳性 21 例(56.8%);37 例肺鳞癌中,阳性 14 例(37.8%),病理分型差异无统计学意义($P=0.162$);在 51 例男性病例和 23 例女性病例中,PTEN 阳性表达率分别为 43.1%和 56.5%,差异无统计学意义($P>0.05$);18 例淋巴结转移的样本中,PTEN 阳性表达率达 22.2%,56 例未发现淋巴结转移的样本中,PTEN 阳性表达率为 55.4%,差异有统计学意义($P=0.017$);另外在 20 例检测出侵犯周围组织的样本中,PTEN 阳性率为 20.0%,54 例无侵犯的样本 PTEN 阳性率为 57.4%,差异有统计学意义($P=0.008$)。

LKB1 蛋白阳性着色位置为细胞浆。在 74 例 NSCLC 中 52 例为 LKB1 蛋白阳性(70.3%);37 例肺腺癌和 37 例肺鳞癌中 LKB1 蛋白阳性均为 26 例(70.3%),两者差异无统计学意义($P>0.05$);51 例男性病例和 23 例女性病例中 LKB1 阳性表达率分别为 74.5%和 65.2%,差异无统计学意义($P>0.05$);18 例淋巴结转移样本,LKB1 阳性率 61.1%,56 例未发现淋巴结转移病例,LKB1 阳性率 73.2%,差异无统计学意义($P>0.05$);20 例侵犯周围组织样本中,LKB1 阳性率为 50%,54 例无侵犯的样本 LKB1 阳性率 77.8%,差异有统计学意义($P=0.043$)。

将免疫组化结果量化,依据判定结果时所记录分数,通过 Spearman 相关分析显示,PTEN 与 LKB1 在 NSCLC 中的表达呈正相关($r=0.287$, $P=0.017$)。

2.2 PTEN 和 LKB1 的表达与 NSCLC 恶性特征的关系

结果见表 2。根据 PTEN 和 LKB1 表达情况将患者分为 4 组,PTEN 与 LKB1 均为阴性(P^-/L^- ,

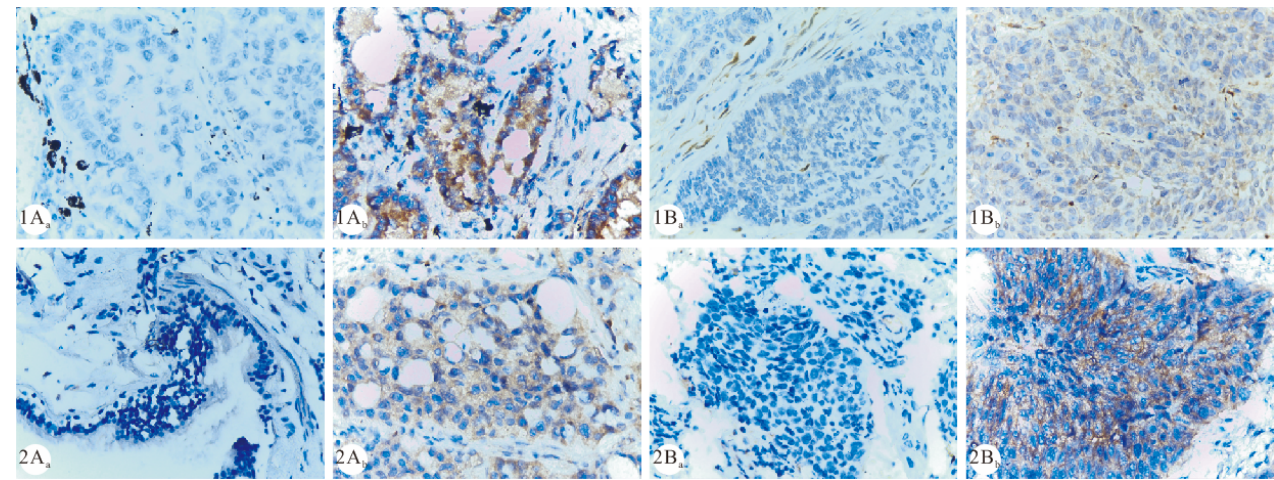


图 1 PTEN 在 NSCLC 组织中的表达。SP ×400

图 2 LKB1 在 NSCLC 组织中的表达。SP ×400

Fig 1 Expressions of PTEN in non-small cell lung cancer tissues. SP ×400

Fig 2 Expressions of LKB1 in non-small cell lung cancer tissues. SP ×400

A: Adenocarcinoma tissues; B: Squamous cellcarcinoma tissues; a: Negative expression; b: Positive expression

表 1 PTEN 及 LKB1 在 74 例 NSCLC 中的表达情况

Table 1 The expressions of PTEN and LKB1 in 74 cases non-small cell lung cancer

Factor		PTEN				LKB1			
		Negative (n=39)	Positive (n=35)	Positive rate/%	P	Negative (n=22)	Positive (n=52)	Positive rate/%	P
Gender	Male	29	22	43.1	>0.05	13	38	74.5	>0.05
	Female	10	13	56.5		9	14	60.9	
Age/yr.	≤45	4	3	42.9	>0.05	3	4	57.1	>0.05
	46-	13	11	45.8		9	15	62.5	
	56-	15	16	51.6		6	25	80.6	
	>65	8	4	33.3		4	8	66.7	
Pathology	ADC	16	21	56.8	>0.05	11	26	70.3	>0.05
	SCC	23	14	37.8		11	26	70.3	
LNM	Positive	14	4	22.2	0.017	7	11	61.1	>0.05
	Negative	25	31	55.4		15	41	73.2	
Tissue invasion	Positive	16	4	20.0	0.008	10	10	50.0	0.043
	Negative	23	31	57.4		12	42	77.8	
Stage	I	14	25	64.0	0.019	5	34	87.2	0.003
	II	17	6	26.1		13	10	43.5	
	III	7	4	36.3		4	7	63.6	
	IV	1	0	0		0	1	100	

ADC: Adenocarcinoma; SCC: Squamous cell carcinoma; LNM: Lymph node metastasis

表 2 PTEN 联合 LKB1 的表达与 NSCLC 恶性特征的关系

Table 2 Relationship between PTEN/LKB1 co-expressions and the malignant characteristics of carcinoma in NSCLC

Characteristic		Group A (P ⁻ /L ⁻ , n=16)	Group B (P ⁻ /L ⁺ , n=23)	Group C (P ⁺ /L ⁻ , n=6)	Group D (P ⁺ /L ⁺ , n=29)
LNM	Positive	6 (37.5%)*	9 (39.1%)*	3 (50.0%)*	2 (6.9%)
	Negative	10 (62.5%)	14 (60.9%)	3 (50.0%)	27 (93.1%)
Tissue invasion	Positive	9 (56.3%)	7 (30.4%)△	1 (16.7%)△·▲	3 (10.3%)△·▲
	Negative	7 (43.8%)	16 (69.6%)	5 (83.3%)	26 (89.7%)
LNM with tissue invasion	Positive	3 (18.8%)	5 (21.7%)	0 (0)△·▲	0 (0)△·▲
	Negative	13 (81.3%)	18 (78.3%)	6 (100%)	29 (100%)

* P<0.05, vs. group D; △ P<0.05, vs. group A; ▲ P<0.05, vs. group B

n=16) 病例为 A 组、PTEN 阳性且 LKB1 阴性 (P⁻/L⁺, n=6) 为 C 组、PTEN 与 LKB1 均为阳性 (P⁺/L⁻, n=23) 为 B 组、PTEN 阴性且 LKB1 阳性 (P⁺/L⁺, n=29) 为 D 组, 每组之间根据肿瘤恶性程

度进行分析,结果发现,在有无淋巴结转移这一项 A、B、C 3 组均与 D 组差异有统计学意义($P < 0.05$),而 A、B、C 3 组间差异无统计学意义($P > 0.05$);有无组织侵犯一项,A 组与 B、C、D 3 组差异均有统计学意义($P < 0.05$),且 B 组与 C、D 两组差异也具有统计学意义($P < 0.05$);在淋巴结转移且伴有组织侵犯一项,A、B 两组均高于 C、D 两组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

PTEN 基因作为一个肿瘤抑制基因已被广泛认可,也被视为 *p53* 后最重要的抑癌基因。*PTEN* 主要作用底物是磷脂酰肌醇(3,4,5)-三磷酸(phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate, PIP3),PIP3 为磷脂酰肌醇-3 激酶(phosphatidylinositol-3' kinaes, PI3K)的产物,其介导蛋白激酶 B(protein kinase B, PKB/AKT)的活化。*PTEN* 的脂质磷酸酶活性使 PIP3 的第 3 位磷酸基团去磷酸化,作为 PI3K 的拮抗调控因子,间接的抑制其活性,负调控 PI3K/AKT/mTOR 信号通路,从而抑制肿瘤细胞生长和生存^[5]。在细胞核中,*PTEN* 促进染色体的稳定和 DNA 的修复,缺失 *PTEN* 会破坏其稳定性^[6]。另有研究表明,*PTEN* 缺失会导致肿瘤细胞的迁移和侵袭能力增强,这是通过 PI3K/AKT 信号通路其下游的 Ras 同源蛋白、Ras 相关的 C3 肉毒素底物 1 和细胞分裂周期蛋白 42(cell division cycle 42, CDC42)使细胞骨架重排,调节细胞运动和蔓延,另外还通过上调基质金属蛋白酶 2 促进细胞侵袭^[7]。此外,*PTEN* 的缺失导致的 PI3K/AKT 信号通路的激活还与血管形成、肿瘤耐药和肿瘤免疫逃逸有关^[8-10]。

LKB1 抑癌基因也称作 STK11 (serine/threonine kinase 11),编码一种 CAMK 家族的丝氨酸/苏氨酸激酶,是激活能量感受激酶 adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase (AMPK)的主要上游激酶,通过与 *p53* 和 CDC42 的相互作用来调控 AMPK 的活性,实现对 mTOR 活性的负向调控^[11-13]。另外 *LKB1* 还能通过调控细胞极性、抑制细胞周期和激活 *p53* 来发挥肿瘤抑制功能^[14]。有研究表明,*LKB1* 与上皮间充质转变有关,进而影响肿瘤的发生、发展和转移。ROY 等^[15]沉默了肺腺癌中 *LKB1* 的表达,发现不仅能显著增加其自我分裂和远处侵袭的能力,还能诱导锌指结构蛋白等间充质蛋白的表达。GAO 等^[16]发现

肿瘤转移相关基因赖氨酰氧化酶受 *LKB1* 下游通路信号的负调控,*LKB1* 缺失导致 LOX 上调,引起胶原在肿瘤外细胞基质中过度沉淀而激活整合素 $\beta 1$ (integrin $\beta 1$)信号通路,进而增强了肺癌细胞的侵袭能力。研究显示,*LKB1* 单因素突变缺失并不会促生肿瘤,需要通过 *PTEN* 或 *p53* 的缺失,或者 *Kras* 致癌因素来协同 *LKB1* 的缺失以促进肿瘤的发生发展^[17-19],也说明 *LKB1* 并非肿瘤发生的驱动突变,而是可能间接增强肿瘤发生发展的突变因素。

近年来多项研究显示 *PTEN* 和 *LKB1* 之间可能存在相互作用。*PTEN* 对 PI3K/AKT 信号通路的抑制和 *LKB1* 通过对 AMPK 活性的调控,都对 mTOR 信号通路起到负调控作用,从而抑制细胞生存、增殖和迁移;*PTEN* 和 *LKB1* 可以协同抑制小鼠膀胱组织中 EMT 的发生^[20];在小鼠模型中分别对 *PTEN* 和 *LKB1* 进行双等位基因敲除均对小鼠生存无影响,而同时敲除 *PTEN* 和 *LKB1* 则使小鼠模型生存期大大缩减^[21];在转基因工程小鼠模型中,使 *PTEN* 和 *LKB1* 双等位基因失活,诱导了 NSCLC 中鳞状细胞癌的组织学表型,并表达角蛋白 5(keratin-5, KRT5)、p63、转录因子 SOX2 (SRY-related HMG box 2)等鳞癌标志物,另外 *PTEN* 和 *LKB1* 还参与了 PD-L1 的表达调控,从而影响肿瘤细胞的免疫逃逸^[4]。

本研究通过免疫组化对 NSCLC 中腺癌和鳞癌的 *PTEN* 和 *LKB1* 蛋白表达情况进行分析。发现 *PTEN* 和 *LKB1* 在腺癌和鳞癌中均存在一定比例阴性表达,且 *PTEN* (52.7%)阴性表达率高于 *LKB1* (29.7%),另外 *LKB1* 阴性表达多伴有 *PTEN* 阴性表达(16/22),相关性统计分析提示二者的表达具有正相关关系;另外 *PTEN* 和 *LKB1* 在 74 例 NSCLC 中的表达,与性别、年龄、病理类型均无相关性,而 *PTEN* 的缺失与淋巴结转移和组织侵犯以及临床分期有关,*LKB1* 的缺失也与组织侵犯及临床分期有关。通过联合分析 *PTEN* 与 *LKB1* 表达情况,发现 *PTEN* 或 *LKB1* 任一表达缺失的样本都存在较多的淋巴结转移和/或侵袭,而 *PTEN* 和 *LKB1* 同时为阳性表达的样本淋巴结转移和/或侵袭较少,说明 *PTEN* 和 *LKB1* 均对 NSCLC 的转移、侵袭及预后有影响,当 *PTEN* 和 *LKB1* 共存于细胞中时会抑制肿瘤恶化。

综上所述,*PTEN* 和 *LKB1* 与 NSCLC 的发生及恶性进展有关,且可能存在协同作用,为进一步研究 NSCLC 发生机制和治疗靶点及方案提供了一定

的理论基础和依据。检测其蛋白表达也可能作为 NSCLC 预后的判断。

参 考 文 献

[1] 陈 竺. 全国第三次死因回顾抽样调查报告. 第 1 版. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2008; 23-38.

[2] ETTINGER DS, WOOD DE, AKERLEY W, *et al.* Non-small cell lung cancer, Version 6. 2015. J Natl Compr Canc Netw, 2015, 13(5): 515-524.

[3] CHEN Z, FILLMORE CM, HAMMERMAN PS, *et al.* Non-small cell lung cancers: a heterogeneous set of diseases. Nat Rev Cancer, 2014, 14(8): 535-546.

[4] XU CX, FILLMORE CM, KOYAMA S, *et al.* Loss of LKB1 and PTEN leads to lung squamous cell carcinoma with Elevated PD-L1 expression. Cancer Cell, 2014, 25(5): 590-604.

[5] MILELLA M, FALCONE I, CONCIATORI F, *et al.* PTEN: multiple functions in human malignant tumors. Front Oncol, 2015(5): 24[2016-01-12]. http://www.researchgate.net/publication/273466580_PTEN_Multiple_Functions_in_Human_Malignant_Tumors. doi: 10.3389/fonc.2015.00024.

[6] PUC J, KENIRY M, LI HS, *et al.* Lack of PTEN sequesters CHK1 and initiates genetic instability. Cancer Cell, 2005, 7(2): 193-204.

[7] KIM D, KIM S, KOH H, *et al.* Akt/PKB promotes cancer cell invasion via increased motility and metalloproteinase production. FASEB J, 2001, 15(11): 1953-1962.

[8] FANG J, DING M, YANG L, *et al.* PI3K/PTEN/AKT signaling regulates prostate tumor angiogenesis. Cell Signal, 2007, 19(12): 2487-2497.

[9] LIU LZ, ZHOU XD, QIAN G, *et al.* AKT1 amplification regulates cisplatin resistance in human lung cancer cells through the mammalian target of rapamycin/p70S6K1 pathway. Cancer Res, 2007, 67(13): 6325-6332.

[10] PARSA AT, WALDRON JS, PANNER A, *et al.* Loss of tumor suppressor PTEN function increases B7-H1 expression and immunoresistance in glioma. Nat Med, 2007, 13(1): 84-88.

[11] JI H, RAMSEY MR, HAYES DN, *et al.* LKB1 modulates lung cancer differentiation and metastasis. Nature, 2007, 448(7155): 807-810.

[12] REUNGWETWATTANA T, WEROHA SJ, MOLINA JR. Oncogenic pathways, molecularly targeted therapies, and highlighted clinical trials in non-small cell lung cancer (NSCLC). Clin Lung Cancer, 2012, 13(4): 252-266.

[13] MARCUS AI, ZHOU W. LKB1 regulated pathways in lung cancer invasion and metastasis. J Thorac Oncol, 2010, 5(12): 1883-1886.

[14] ALESSI DR, SAKAMOTO K, BAYASCAS JR. LKB1-dependent signaling pathways. Annu Rev Biochem, 2006(75): 137-163.

[15] ROY BC, KOHNO T, IWAKAWA R, *et al.* Involvement of lkb1 in epithelial-mesenchymal transition (EMT) of human lung cancer cells. Lung Cancer, 2010, 70(2): 136-145.

[16] GAO Y, XIAO Q, MA H, *et al.* LKB1 inhibits lung cancer progression through lysyl oxidase and extracellular matrix remodeling. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(44): 18892-18897.

[17] HUANG X, WULLSCHLEGER S, SHPIRO N, *et al.* Important role of the LKB1-AMPK pathway in suppressing tumorigenesis in PTEN-deficient mice. Biochem J, 2008, 412(2): 211-221.

[18] TAKEDA H, MIYOSHI H, KOJIMA Y, *et al.* Accelerated onsets of gastric hamartomas and hepatic adenomas/carcinomas in Lkb1 +/− p53 −/− compound mutant mice. Oncogene, 2006, 25(12): 1816-1820.

[19] MORTON JP, JAMIESON NB, KARIM SA, *et al.* LKB1 haploinsufficiency cooperates with Kras to promote pancreatic cancer through suppression of p21-dependent growth arrest. Gastroenterology, 2010, 139(2): 586-597.

[20] SHORNING BY, GRIFFITHS D, CLARKE AR. LKB1 and PTEN synergise to suppress mTOR-mediated tumorigenesis and epithelial-mesenchymal transition in the mouse bladder. PLoS One, 2011, 6(1): e16209[2016-01-12]. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0016209>.

[21] CHENG H, LIU P, ZHANG F, *et al.* A genetic mouse model of invasive endometrial cancer driven by concurrent loss of Pten and Lkb1 is highly responsive to mTOR inhibition. Cancer Res, 2014, 74(1): 15-23.

(2015-10-20 收稿, 2016-02-25 修回)

编辑 汤 洁