

[ 文章编号 ] 1007-385X( 2008 )02-0101-04

· 专家论坛 ·

## 骨肉瘤生物治疗基础研究的现状

张伟滨 ( 上海交通大学医学院 瑞金医院 骨科, 上海市伤骨科研究所, 上海 200025 )



[ 作者简介 ] 张伟滨, 硕士, 主任医师、教授, 硕士生导师; 现任上海交通大学医学院附属瑞金医院骨科副主任, 兼任中华医学会骨科学会委员、中国医师学会骨科医师分会委员、上海市骨科专科委员会副主任委员、中华医学会骨科学会骨肿瘤学组副组长、上海市骨质疏松专科委员会委员、华裔骨科学会理事、世界疼痛医师学会中国分会常务委员, 中华外科杂志、中华创伤骨科杂志、临床骨科杂志、英国医学杂志( 中文版) 编委, 国际骨科学杂志常务编委等职。主持国家自然科学基金、上海市科委自然科学基金等 6 项研究课题, 先后获多项科研成果和医疗成果奖。E-mail: weibin@medmail.com.cn

[ 摘要 ] 随着新辅助化疗的广泛应用和手术技术的进展, 骨肉瘤患者的 5 年生存率得到了很大提高, 但受肿瘤细胞耐药机制和免疫逃逸的影响, 目前骨肉瘤的疗效处于“瓶颈”状态。近期的研究显示, 骨肉瘤细胞中存在着一些表达间充质干细胞和胚胎干细胞表面标志和表型的干细胞样肿瘤细胞, 它们具有自我更新、广泛增殖的特点; 同时, 自骨肉瘤细胞分选出表达高水平 ABCG2、能在 NOD/SCID 小鼠成瘤的 SP 细胞, 显示骨肉瘤细胞耐药可能与 SP 细胞相关。研究针对上述标志物和降低 ABCG2 表达的治疗方法或药物, 将有望进一步提高骨肉瘤的疗效。此外, 研究主动和被动免疫疗法, 以及针对 Src 蛋白酪氨酸激酶等靶点的靶向治疗也将为提高骨肉瘤的疗效提供新的途径。

[ 关键词 ] 骨肉瘤; 生物治疗; 肿瘤干细胞; 免疫治疗; 靶向治疗

[ 中图分类号 ] R738.1; R730.54 [ 文献标志码 ] A

## Basic research of biotherapy for osteosarcoma

ZHANG Wei-bin ( Institute of Orthopedics and Trauma, Ruijin Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao-tong University, Shanghai 200025, China )

[ Abstract ] Great improvement has been made in the 5-year survival of patients with osteosarcoma due to application of novel chemo-agent and progression in surgical techniques. However, the treatment outcome of osteosarcoma was bottlenecked by drug resistance and immuno-escape mechanism. Recent studies showed that some osteosarcoma cells possess the characteristic of tumor stem cells; capable of self-renewal and extensive proliferation. Meanwhile, SP cells, isolated from osteosarcoma cells, have high expression of ABCG2 and can form tumor in NOD/SCID mice, indicating that the drug resistance of osteosarcoma cells might be related to SP cells. Studies on the biomarkers of tumor stem cells and decrease of ABCG2 expression may contribute to the treatment outcome of osteosarcoma. Moreover, research on active and passive immunotherapy and Src protein tyrosine-kinase targeted therapy may provide new pathways for treatment of osteosarcoma.

[ Key words ] osteosarcoma, biotherapy, tumor stem cell, immunotherapy, targeted therapy

[ Chin J Cancer Biother, 2008, 15( 2 ): 101-104 ]

骨肉瘤是骨骼系统最常见的原发性恶性肿瘤, 尽管新辅助化疗结合手术( 截肢或保肢) 已可将骨肉瘤患者的 5 年生存率提高到 60% ~ 80%, 但近 20 年来患者的生存率始终没有进一步的提高, 骨肉瘤的临床治疗效果处于“瓶颈”状态。临床上未解的难题促进了对骨肉瘤发病机制和生物治疗的深入研究。近年来有关骨肉瘤的免疫治疗、基因治疗、靶向治疗等生物学治疗的基础研究取得了令人瞩目的进展, 为今后临床治疗骨肉瘤提供了新的思路。

### 1 骨肉瘤干细胞的相关问题

#### 1.1 肿瘤干细胞和骨肉瘤干细胞

肿瘤细胞生长、转移和复发的特点与干细胞的基本特性十分相似。有研究<sup>[1]</sup>表明, 某些肿瘤中存在着数量极少、具有正常干细胞特征的细胞亚群, 它们具有自我更新能力和分化潜能, 是肿瘤启动、增殖、转移、复发的根源。早在 1997 年, Bonnet 和 Dick<sup>[2]</sup>就在急性淋巴细胞白血病患者体内分离出一群不表达成熟细胞的标志, 却表达 CD34<sup>+</sup> CD38<sup>-</sup> 的

细胞群体,这群仅占肿瘤细胞 5% 的细胞具有自我更新和增殖、分化潜能的干细胞特性,这是首次获得肿瘤中存在干细胞的直接证据。此后在乳腺癌、脑肿瘤、胰腺癌、头颈鳞状细胞癌等许多实体瘤中也分离出相应的肿瘤干细胞。近来,Gibbs 等<sup>[3]</sup>采用抗黏附、无血清培养技术分离出干细胞样骨肉瘤细胞——“悬浮骨肉瘤细胞球”。该细胞球细胞表达活性 STAT3 及多功能胚胎干细胞表型:Oct3/4 和 Nanog,还表达骨髓间充质干细胞的表面标志Stro-1、CD44、CD105,表达的基因(Gata-4、Gata-6、AFP、 $\beta$ -III tubulin RNA 等)涉及内、中、外三个胚层,还可被诱导为两种间充质谱系细胞,说明它们至少是源于间充质干细胞这一级的干细胞。

研究肿瘤干细胞及其特征性的表达标志最重要的意义在于研发针对这些标志物的靶向治疗方法或药物。一旦能确定并实施针对骨肉瘤干细胞的靶向治疗,结合目前的综合治疗模式,有望进一步提高骨肉瘤的疗效。

## 1.2 SP 细胞与肿瘤耐药

多药耐药(multidrugresistance, MDR)是骨肉瘤化疗失效的主要原因,而肿瘤细胞表达 ABC 转运体是发生耐药的机制之一。ABC 转运体通过 ATP 水解获得能量,再通过细胞膜向细胞外转运多种底物。与多药耐药现象有关的人 ABC 转运体有 3 种:P 糖蛋白(P-gp)、多药耐药相关蛋白 1(MRP1)、和 ABCG2。其中,ABCG2 被认为是多药耐药泵<sup>[4]</sup>,可将进入细胞内的化疗药物重新泵出细胞外而产生耐药。

侧群(side population, SP)细胞因其表达高水平的 ABCG2,可以泵出 Hoechst 33342 染料而被流式细胞仪将其与其他细胞分选开来;也因其高表达 ABCG2 而可将进入 SP 细胞内的化疗药物排出细胞,避免了化疗药物对 DNA 的破坏而保护了 SP 细胞。SP 细胞最早用于鉴定正常造血干细胞。目前已发现在胶质瘤、肺癌、鼻咽癌等恶性肿瘤细胞中存在 SP 细胞,有些肿瘤 SP 细胞还具有干细胞样特征<sup>[5-8]</sup>。最近,Colleen 等<sup>[9]</sup>从骨肉瘤等间叶肿瘤中也分离出 SP 细胞,并将该细胞接种 NOD/SCID 小鼠成功致瘤,表明这些表达 ABCG2 的 SP 细胞具有干细胞特性。因此,肿瘤干细胞特有的耐药性状可能是化疗耐药的重要机制,针对阻断 ABC 转运体功能的干预手段,是破解肿瘤细胞耐药现象的重要研究课题。

## 2 骨肉瘤的免疫治疗

利用机体免疫系统清除异种细胞或抗原能力构

成了恶性肿瘤免疫治疗的基本原理,包括主动和被动两种免疫疗法。

### 2.1 被动(过继性)免疫疗法

离体扩增肿瘤特异性细胞毒免疫细胞,特别是 T 淋巴细胞,然后转输给肿瘤患者,引起针对肿瘤细胞的过继性免疫杀伤。

2.1.1 细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL) 许多肿瘤抗原,如黑素瘤相关抗原(MAGE)、T 细胞识别的鳞状上皮细胞癌抗原(SART)1、3 等在骨肉瘤中有表达,是针对骨肉瘤免疫治疗的理论基础。新近确认的 SART3 在骨肉瘤中高表达<sup>[10]</sup>,由 SART3 抗原产生的肽片段可以离体诱导生成 SART3 特异性细胞毒 T 淋巴细胞,通过识别 HLA-A24 激活抗骨肉瘤细胞的作用。这一治疗方案可适用于 60% 的 HLA-A24<sup>+</sup>骨肉瘤患者<sup>[11]</sup>。

2.1.2 肿瘤浸润性淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL) TIL 浸润于实体瘤内和周围的淋巴结中,往往被肿瘤抗原致敏而具有特异性抗肿瘤作用。但 TIL 在体外培养十分困难,其主要原因是由于 Fas/FasL 介导的信号通路引起 TIL 凋亡<sup>[12]</sup>。已发现某些肿瘤 Fas 表达明显低下,却高表达 FasL,而进入肿瘤的免疫细胞因未被激活而不表达 FasL,但组成性表达 Fas,结果反而导致 TIL 的凋亡<sup>[13]</sup>。因此,Fas/FasL 通路可作为肿瘤的治疗靶点,而 TIL 克隆方案有望在骨肉瘤治疗中取得较好的临床疗效。有研究<sup>[14]</sup>提示:IFN- $\alpha$  通过上调 FasL,可增敏骨肉瘤细胞对 Fas 介导的凋亡。使用 IL-12 和 4-氢过氧化环磷酰胺联合治疗骨肉瘤,可以诱导出对 Fas 介导凋亡耐受的 TIL,特异杀伤骨肉瘤细胞。此外,Fas/FasL 通路在肿瘤转移中也起了重要的作用。近来有人<sup>[15]</sup>发现,K7M2 小鼠骨肉瘤的肺转移灶中不表达 Fas,从而使肿瘤细胞逃过肺内皮细胞杀伤;采用吉西他滨治疗可上调 Fas 的表达并促进转移灶缩小。

2.1.3 天然杀伤细胞(natural killer cell, NK) NK 是先天免疫中一类十分重要的淋巴细胞,通过其细胞毒活性和产生淋巴因子,在机体抗感染、抗肿瘤、免疫调节等方面发挥重要的免疫功能。杀伤细胞免疫球蛋白样受体(killer cell immunoglobulin-like receptor, KIR)是 NK 细胞重要的功能受体,通过传递抑制或激活信号,调节 NK 细胞的活性并产生相应的功能。Kubista 等<sup>[16]</sup>报道,体温升高可增加 NK 细胞介导的对骨肉瘤细胞的杀伤作用,原因是热休克蛋白 72 表达增加。

### 2.2 主动免疫疗法

常使用抗原提呈细胞(APC),如树突状细胞

(DC)或细胞因子促进机体对肿瘤细胞的免疫效应。

**2.2.1 DC** DC是已知功能最强大的抗原提呈细胞,能摄取加工和提呈抗原,也是惟一能激活初始T细胞和B细胞的APC。DC免疫疗法的主要途径是上调淋巴细胞(NK细胞和TIL)的活性,并力求完善DC在提呈肿瘤疫苗以激活T淋巴细胞方面的作用。已有使用DC治疗小儿实体瘤(包括骨肉瘤)的报道<sup>[17]</sup>。

**2.2.2 单核/巨噬细胞系统** 单核/巨噬细胞介导的肿瘤杀伤是机体抵御原发或转移肿瘤的重要机制。Kurzman等<sup>[18]</sup>认为多柔比星与单核/巨噬细胞激活剂联合用药,比单独使用化疗药物具有更强的肿瘤细胞杀伤活性,再次支持了化疗和免疫疗法相联合治疗的理论。

**2.2.3 细胞因子** 细胞因子是免疫疗法的基本分子。以ILs为代表的细胞因子,可调节细胞黏附分子(CAMs)的表达以及免疫细胞(如NK细胞)抗肿瘤功能。Luksh等<sup>[19]</sup>报道,18例骨肉瘤患者,在术前、术后与化疗交替使用4个疗程IL-2治疗,结果发现密集的大剂量化疗对IL-2诱导的免疫活性没有影响,却加强了NK细胞对骨肉瘤的杀伤作用。此外,IL-12在调节人类骨肉瘤细胞对NK细胞敏感性上与IL-2有协同效应<sup>[20]</sup>。另有报道<sup>[18]</sup>TNF- $\alpha$ 和IFN- $\gamma$ 能够诱导巨噬细胞的抗骨肉瘤活性。

**2.2.4 基因疗法** 基因疗法包括自杀基因,抑癌基因和基于细胞因子的多种基因治疗,常需要基因载体将相关基因导入相应的作用靶点。目前最常用的基因载体是腺病毒载体(Adv),如单一注射Adv编码的IL-2基因(Ad IL-2)到原发肿瘤可引发抗肿瘤免疫,不但可阻止原发肿瘤的生长,还可以清除播散在远处的微小转移灶<sup>[21]</sup>。应用这一方法的最大的障碍是非复制Adv导入失败,不能获得有效地肿瘤细胞转导和有效实体瘤的穿透。除Adv外,使用慢病毒载体可很好地将有用基因靶向导入骨肉瘤细胞<sup>[22]</sup>。

骨保护素(osteoprotegerin,OPG),是一种抑制骨吸收的天然蛋白,Lamoureux等<sup>[23]</sup>将编码OPG的cDNA转入鼠类骨肉瘤模型中,发现OPG基因转染可以有效地阻止溶骨性破坏,降低肿瘤发生率和局部生长;转染后28d小鼠的生存率是对照组的4倍。然而,单独使用OPG并不能阻止肺转移。OPG不能直接作用于肿瘤细胞,而是与骨的微环境中受体活性NF- $\kappa$ B配体(RANKL)作用,从而使破骨细胞数量减少,抑制骨质溶解。因此OPG有望在骨肿瘤发展过程中封闭肿瘤增殖伴骨吸收这一恶性循环而发挥治疗作用。

### 3 骨肉瘤的靶向治疗

#### 3.1 环氧合酶(Cyclooxygenase,COX)

COX-2是催化花生四烯酸合成前列腺素的限速酶,定位于染色体1q25.2,在正常组织中一般无明显表达,在炎症和肿瘤中高表达。COX-2的高表达与肿瘤血管形成增加、细胞凋亡减少、侵袭性增加和免疫抑制相关。骨肉瘤COX-2亦高表达,因此成为骨肉瘤预防和治疗的靶点<sup>[24]</sup>。Zheng等<sup>[25]</sup>将小鼠COX-2 cDNA转入Saos-2细胞,发现过表达COX-2组比对照组肿瘤细胞减少50%~80%,并认为COX-2过表达导致的增殖抑制可能与细胞周期G<sub>2</sub>-M阻滞有关。

#### 3.2 Src蛋白酪氨酸激酶

Dasatinib是Src激酶活性的一种小分子抑制剂,有望成为肿瘤治疗药物。Shor研究小组<sup>[26]</sup>评估了dasatinib对12株人类骨和软组织肉瘤细胞系中的作用,发现其是通过阻断细胞迁移和浸润而抑制Src信号转导,并介导骨肉瘤和尤文肉瘤的凋亡。用干扰RNA(iRNA)抑制Src蛋白的表达也可以诱导肿瘤细胞凋亡,提示这些骨肉瘤细胞系的生存依赖Src活性。所以dasatinib有可能通过阻止患者骨肉瘤细胞的生长和转移而达到治疗作用。

#### 3.3 其他潜在的靶向药物

Maehara等<sup>[27]</sup>指出midkine在骨肉瘤中过表达,且与患者预后相关。使用抗midkine的抗体抑制肿瘤细胞系(9N2,3N1,Saos-2,和NOS-1)的增殖,能明显抑制肿瘤的增殖。因此,midkine可作为一种骨肉瘤预后标志物,并且是靶向治疗候选靶点。

EDA-A2是新近分离出来的肿瘤坏死因子超家族成员,可与其受体XEDAR相结合。Chang<sup>[28]</sup>报道,经导入表达EDA-A2的腺病毒载体可以通过激活半胱天冬酶,阻滞肿瘤细胞停滞于G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>阶段而诱导细胞凋亡。EDA-A2还能以半胱天冬酶依赖的方式上调碱性磷酸酶的表达,故EDA-A2也有望成为骨肉瘤基因治疗药物。

尽管骨肉瘤的临床疗效在过去的30年已取得很大的提高,但目前离完全治愈骨肉瘤仍有不小差距。重要的原因是我们尚未真正了解骨肉瘤的发病机制,以及其逃逸机体免疫监控、杀伤的机制,因此无法形成针对骨肉瘤病因和发病机制的治疗手段。研究针对骨肉瘤干细胞的基因治疗、靶向治疗,以及激发机体对骨肉瘤细胞识别、免疫攻击的免疫疗法,将为骨肉瘤治疗效果进一步提高奠定理论基础和提供新的手段。

## [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, *et al.* Stem cells, cancer, and cancer stem cells[ J ]. *Nature*, 2001, 414( 6859 ): 105-111.
- [ 2 ] Bonnet D, Dick J E. Human acute myeloid leukemia is or gained as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell [ J ]. *Nat Med*, 1997, 3( 7 ):730-737.
- [ 3 ] Gibbs CP, Kukekov VG, Reith JD, *et al.* Stem-like cells in bone sarcomas: implications for tumorigenesis[ J ]. *Neoplasia*, 2005, 7( 11 ), 967-976.
- [ 4 ] Robey RW, Polgar O, Deeken J, *et al.* ABCG2: determining its relevance in clinical drug resistance[ J ]. *Cancer Metastasis Rev*, 2007, 26( 1 ): 39-57.
- [ 5 ] Hirschmann-Jax C, Foster AE, Wulf GG, *et al.* A distinct “side population” of cells with high drug efflux capacity in human tumor cells[ J ]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101( 39 ): 14228-14233.
- [ 6 ] Redvers RP, Li A, Kaur P. Side population in adult murine epidermis exhibits phenotypic and functional characteristics of keratinocyte stem cells[ J ]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103( 35 ): 13168 - 13173.
- [ 7 ] Hoshi N, Kusakabe T, Taylor BJ, *et al.* Side population cells in the mouse thyroid exhibit stem/progenitor cell-like characteristics [ J ]. *Endocrinology*, 2007, 148( 9 ): 4251-4258.
- [ 8 ] Ho MM, Ng AV, Lam S, *et al.* Side population in human lung cancer cell lines and tumors is enriched with stem-like cancer cells [ J ]. *Cancer Res*, 2007, 67( 10 ): 4827-4833.
- [ 9 ] Wu C, Wei Q, Utomo V, *et al.* Side population cells Isolated from mesenchymal neoplasms have tumor initiating potential[ J ]. *Cancer Res*, 2007, 67( 17 ):8216-8222.
- [ 10 ] Mori K, Rédini F, Gouin F, *et al.* Osteosarcoma: current status of immunotherapy and future trends ( review ) [ J ]. *Oncol Rep*, 2006, 15( 3 ): 693-700.
- [ 11 ] Tsuda N, Murayama K, Ishida H, *et al.* Expression of a newly defined tumor-rejection antigen SART3 in musculoskeletal tumors and induction of HLA class I-restricted cytotoxic T lymphocytes by SART3-derived peptides[ J ]. *J Orthop Res*, 2001, 19( 3 ): 346-351.
- [ 12 ] Zou W. Immunosuppressive networks in the tumour environment and their therapeutic relevance[ J ]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5( 4 ): 263-274.
- [ 13 ] Inaba H, Glibetic M, Buck S, *et al.* Interferon-gamma sensitizes osteosarcoma cells to Fas-induced apoptosis by up-regulating Fas receptors and caspase-8[ J ]. *Pediatr Blood Cancer*, 2004, 43( 7 ): 729-736.
- [ 14 ] Laffleur EA, Koshkina NV, Stewart J, *et al.* Increased Fas expression reduces the metastatic potential of human osteosarcoma cells[ J ]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10( 23 ): 8114-8119.
- [ 15 ] Gordon N, Koshkina NV, Jia SF, *et al.* Corruption of the Fas pathway delays the pulmonary clearance of murine osteosarcoma cells, enhances their metastatic potential, and reduces the effect of aerosol gemcitabine[ J ]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13( 15 Pt 1 ): 4503-4510.
- [ 16 ] Kubista B, Trieb K, Blahovec H, *et al.* Hyperthermia increases the susceptibility of chondro- and osteosarcoma cells to natural killer cell-mediated lysis[ J ]. *Anticancer Res*, 2002, 22( 2A ): 789-792.
- [ 17 ] Geiger J, Hutchinson R, Hohenkirk L, *et al.* Treatment of solid tumours in children with tumour-lysate-pulsed dendritic cells[ J ]. *Lancet*, 2000, 356( 9236 ): 1163-1165.
- [ 18 ] Kurzman ID, Shi F, Vail DM, *et al.* *In vitro* and *in vivo* enhancement of canine pulmonary alveolar macrophage cytotoxic activity against canine osteosarcoma cells[ J ]. *Cancer Biother Radiopharm*, 1999, 14( 2 ): 121-12.
- [ 19 ] Luksch R, Perotti D, Cefalo G, *et al.* Immunomodulation in a treatment program including pre- and post-operative interleukin-2 and chemotherapy for childhood osteosarcoma[ J ]. *Tumori*, 2003, 89( 3 ): 263-268.
- [ 20 ] Mariani E, Meneghetti A, Tarozzi A, *et al.* Interleukin-12 induces efficient lysis of natural killer-sensitive and natural killer-resistant human osteosarcoma cells: the synergistic effect of interleukin-2 [ J ]. *Scand J Immunol*, 2000, 51( 6 ): 618-625.
- [ 21 ] Nagano S, Yuge K, Fukunaga M, *et al.* Gene therapy eradicating distant disseminated micro-metastases by optimal cytokine expression in the primary lesion only: novel concepts for successful cytokine gene therapy[ J ]. *Int J Oncol*, 2004, 24( 3 ): 549-558.
- [ 22 ] Ketola A, Maatta AM, Pasanen T, *et al.* Osteosarcoma and chondrosarcoma as targets for virus vectors and herpes simplex virus thymidine kinase/ganciclovir gene therapy[ J ]. *Int J Mol Med*, 2004, 13( 5 ): 705-710.
- [ 23 ] Lamoureux F, Richard P, Wittrant Y, *et al.* Therapeutic relevance of osteoprotegerin gene therapy in osteosarcoma: blockade of the vicious cycle between tumor cell proliferation and bone resorption [ J ]. *Cancer Res*, 2007, 67( 15 ):7308-7318.
- [ 24 ] Naruse T, Nishida Y, Hosono K, *et al.* Meloxicam inhibits osteosarcoma growth, invasiveness and metastasis by COX-2-dependent and independent routes[ J ]. *Carcinogenesis*, 2006, 27( 3 ): 584-592
- [ 25 ] Xu Z, Choudhary S, Voznesensky O, *et al.* Overexpression of Cox-2 in human osteosarcoma cells decrease proliferation and increases apoptosis[ J ]. *Cancer Res*, 2006, 66( 13 ): 6657-6664.
- [ 26 ] Shor AC, Keschman EA, Lee FY, *et al.* Dasatinib inhibits migration and invasion in diverse human sarcoma cell lines and induces apoptosis in bone sarcoma cells dependent on SRC kinase for survival[ J ]. *Cancer Res*, 2007, 15, 67( 6 ): 2800-2808.
- [ 27 ] Maehara H, Kaname T, Yanagi K, *et al.* Midkine as a novel target for antibody therapy in osteosarcoma[ J ]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 358( 3 ): 757-762.
- [ 28 ] Chang B, Punj V, Shindo M, *et al.* Adenoviral-mediated gene transfer of ectodysplasin-A2 results in induction of apoptosis and cell-cycle arrest in osteosarcoma cell lines[ J ]. *Cancer Gene Ther*, 2007, 14( 11 ): 927-933.

[ 收稿日期 ] 2008 - 03 - 20

[ 修回日期 ] 2008 - 04 - 05

[ 本文编辑 ] 韩 丹