

肿瘤相关巨噬细胞表型逆转的研究进展

Research progress on the phenotype reversion of tumor-associated macrophage

王新 综述,袁小林 审阅(大连大学附属中山医院 中心实验室,辽宁 大连 116001)

[摘要] 巨噬细胞是机体固有免疫反应的重要组成成份,在不同趋化因子的作用下极化为具有不同表面标志及功能的巨噬细胞。大量研究表明,肿瘤组织中的巨噬细胞为 M2 型,其能够促进肿瘤生长、侵袭和转移。M2 型巨噬细胞在适当的诱导下可以转换为 M1 型。本文将近年来从 HIV-1 Nef 蛋白、CD40L、双磷酸盐及 CpG-DNA 联合 IL-10R 抗体等方面对巨噬细胞表型逆转的研究做一综述。巨噬细胞的表型逆转将可能为未来肿瘤治疗提供新的策略。

[关键词] 肿瘤相关巨噬细胞;极化;表型逆转

[中图分类号] R730.5; R392.12

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2014)02-0216-04

巨噬细胞是肿瘤组织中主要的白细胞之一,肿瘤组织中常有大量的巨噬细胞浸润聚集,浸润在肿瘤组织中的巨噬细胞称为肿瘤相关巨噬细胞(tumor associated macrophages, TAM)。TAM 以 M2 型巨噬细胞为主,M2 型巨噬细胞的促组织修复作用也促进了肿瘤的生长、侵袭和转移。肿瘤浸润巨噬细胞越多,患者的转移复发时间越快、生存期越短、预后也越差,肿瘤组织中的巨噬细胞已成为预后不良的标志。近年来,有关逆转 TAM-M2 的报道较多,逆转 TAM-M2 极化可抑制肿瘤生长和转移,本文就逆转 TAM-M2 极化的相关研究现状做一简要综述。

1 肿瘤相关巨噬细胞的极化

组织中的巨噬细胞主要源于外周血中的单核细胞,在众多趋化因子(CCL2、M-CSF 等)作用下单核细胞被募集到组织中,分化为巨噬细胞。在组织微环境中,巨噬细胞通过经典活化途径或选择性活化途径分别极化为 M1 型或 M2 型巨噬细胞。大量研究证实,肿瘤微环境中巨噬细胞常被极化为 M2 型。Green 等^[1]在研究结肠癌细胞 CT-26 与 RAW 264.7 巨噬细胞相互作用时证实,在共培养体系中 CT-26 与 RAW 264.7 巨噬细胞彼此相互吸引,RAW 264.7 巨噬细胞主要聚集在肿瘤细胞周边,促进 CT-26 肿瘤细胞生长、微血管生成及肺转移,表现出 M2 型巨噬细胞的特征。2011 年,Banerjee 等^[2]也发现可溶性的热休克蛋白 Hsp27 及其诱生的细胞因子可募集巨噬细胞进入肿瘤微环境,并使其极化为具有免疫耐受表型的巨噬细胞(HLA-DR^{low}、CD86^{low}、PD-L1^{high}、ILT2^{high} 和 ILT4^{high}),这种表型与乳腺癌中 TAM 表型极为相似。此外,热休克蛋白 HSP27 诱导

的巨噬细胞丧失了肿瘤杀伤活性,而表现出明显的促血管及诱导新血管生成的作用,以利于肿瘤生长。促进巨噬细胞-M2 极化的诱导因子主要有 IL-1、IL-4、IL-6、IL-10、IL-13、IL-34、CSF 及 TNF- α 等细胞因子。这些因子通过激活 STAT 信号通路促进 TAM-M2 极化^[3]。

2 M2 型巨噬细胞的表型转换

2.1 HIV-1 Nef 蛋白逆转 M2 极化

人 I 型免疫缺陷病毒(HIV-1)是引起艾滋病(AIDS)的病源。HIV 蛋白包括 Tat、gp120 和 Nef 蛋白,其中 Nef 蛋白是病毒合成的辅助蛋白之一,也是 HIV-1 病毒中一个多功能的致病蛋白^[4]。HIV 与巨噬细胞相互作用,一方面通过极化巨噬细胞表型,发挥巨噬细胞抗病毒感染的免疫防御作用^[5];另一方面,Nef 蛋白可以诱生 M1 巨噬细胞表型。巨噬细胞感染 HIV 以后,RNA 转录产物增加,与其他 HIV 调节蛋白相比,Nef 蛋白在逆转 M2 极化方面占有较大的优势。另外,Nef 蛋白促进受感染细胞的存活,增加单核细胞的迁移。在细胞内,Nef 蛋白通过调节各种各样的表面受体,与信号通路相互作用,发挥生物学效应^[6]。

在体外,用重组的 Nef 蛋白处理小鼠腹腔巨噬

[基金项目] 大连市科技计划资助项目(No. 2011-20135)。Project supported by the Science and Technology Program of Dalian City(No. 2011-20135)

[作者简介] 王新(1988-),女,山东省枣庄市人,硕士生,主要从事肿瘤生物治疗基础研究。E-mail: wangxin19881219@163.com

[通信作者] 袁小林(Yuan Xiaolin, corresponding author), E-mail: daiwoguo@sina.com

细胞,能够活化 IKK- α 、IKK- β 、JNK 以及 p38MAP 激酶,诱导酪氨酸激酶磷酸化,激活 NF- κ B、STAT-1、STAT-2 和 STAT-3 信号通路,促进包括 INF- β 在内的促炎性细胞因子及趋化因子的产生^[7]。研究^[8]发现,TRAF2 可以与 Nef 蛋白上的 AQEEEE 序列靶点相结合,与巨噬细胞相互作用,调节 TRAF/NF- κ B 及 TRAF/IRF-3 信号,同样诱导促炎性细胞因子及趋化因子的合成。据此推测,Nef 蛋白能促进巨噬细胞向 M1 型转化。

Chihara 等^[4]在研究 HIV 活化巨噬细胞时,采用 GM-CSF 和 M-CSF 作用于巨噬细胞,分别诱导出 M1 及 M2 表面标志的巨噬细胞,当巨噬细胞的纯度达 95% 以上时,从中选取 M-CSF 诱导实验组并先后应用激酶抑制剂刺激 1 h、Nef 蛋白处理 30 min,通过 Western blotting、流式细胞学等方法分析细胞表面标志及细胞吞噬活性。结果发现,实验组中作为 M2 型巨噬细胞高表达的表面分子 CD163 显著减少,同时 Nef 蛋白的加入减弱了细胞的吞噬活性,提示 Nef 蛋白能够进入 M2 巨噬细胞,并趋化 M2 型巨噬细胞向 M1 型转化。Porcheray 等^[9]在探讨巨噬细胞活化与 HIV 感染关系的研究中也发现,感染 HIV 病毒的巨噬细胞其表面的 CD163、CD206 以及另一种选择性活化的巨噬细胞标志 CCL18 均被抑制,进一步证明巨噬细胞向促炎性的 M1 巨噬细胞转化。

2.2 高表达的 CD40L 逆转 M2 极化

CD40L 也称 CD154、gp39,是 II 型穿膜蛋白,其结构类似于 TNF- α ,属于 TNF 家族细胞因子^[10]。CD40L 主要表达于成熟活化的 CD4⁺ T 细胞,近年发现,除了 T 细胞外,CD40L 也表达于 B 细胞、自然杀伤细胞、单核/巨噬细胞、树突状细胞,以及非造血系统起源的内皮细胞^[11-12]。CD40-CD40L 在细胞免疫和体液免疫中是一条重要的细胞信号转导途径,多种细胞因子可以促进人体内皮细胞、单核细胞表达 CD40、CD40L。研究^[13-14]证明,CD40L 在活化的 T 细胞促使单核-巨噬细胞产生促炎性细胞因子过程中发挥了重要作用。体外实验证实,CD40-CD40L 的相互作用可以促进人体内皮细胞、平滑肌细胞、巨噬细胞黏附分子、细胞因子、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)和组织因子的表达。应特别指出,CD40-CD40L 的相互作用可诱导内皮细胞、平滑肌细胞表达和释放 MMP-1、MMP-3、MMP-9 等。这些细胞因子的表达在巨噬细胞表型的转换中发挥重要作用。

动脉损伤后,动脉内膜的增生离不开 CD40。CD40 是 TRAF 蛋白和依赖 NF- κ B 促炎性基因表达

不可缺少的因子。在 CD40(-/-)的小鼠颈动脉损伤模型中,由于抑制了 NF- κ B 活化,以及 NF- κ B 释放基因表达的下调(包括 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、CXCL2 等),导致中性粒细胞及巨噬细胞的募集降低。可以推测,CD40 通过调节 NF- κ B 信号通路,释放促炎性细胞因子,诱导 M1 型巨噬细胞^[15]。研究者^[16]在动物模型中发现,CD40 激动剂与活化 T 细胞协同增敏,趋化肿瘤巨噬细胞从免疫抑制表型复极到具有杀瘤表型的 Th1 表型,从而抑制肿瘤生长。

Imaizumi 等^[17]在研究 CD40-CD40L 与肿瘤的相互关系时发现,巨噬细胞通过与 CD40-CD40L 相互作用,诱导抗肿瘤免疫,提高抗肿瘤活性。该实验将 CD40L 基因转染到小鼠肺癌细胞中,通过癌细胞表达的 CD40L 刺激肺泡巨噬细胞表面的 CD40 分子。刺激后的巨噬细胞中 NO、TNF、IL-12 以及 IFN- γ 表达增加,但在缺乏 CD40 的小鼠肺泡巨噬细胞中未见表达。CD40-CD40L 与巨噬细胞的相互作用促进了 M1 巨噬细胞表型细胞因子的产生,提示肿瘤组织中表达的 CD40-CD40L 可以逆转 M2 型巨噬细胞为 M1 表型。Bergamini 等^[18]对 CD40L 的研究也得到了相同的结论,他们采用 CD40L 诱导感染 HIV 病毒的巨噬细胞,结果具有 M1 巨噬细胞特征的 IL-1 β 、IL-6 等细胞因子显著增加。在应用单克隆抗 CD40L 抗体后,CD40L 导致的细胞因子分泌完全消失,进一步印证了 CD40L 可诱导巨噬细胞向 M1 型分化。

2.3 双磷酸盐逆转 M2 巨噬细胞极化

双磷酸盐是稳定的无机焦磷酸盐类似物,最初仅应用于工业化肥和防腐剂,在被发现有抑制破骨细胞和提高骨吸收的功能以后,便应用于医学领域^[19-21]。双磷酸盐进入体内后,很快沉积于骨组织,在骨质吸收时又被游离释放,并被周围的破骨细胞摄入。巨噬细胞与破骨细胞均可作为双磷酸盐的作用靶点^[22]。双磷酸盐对巨噬细胞的作用主要是逆转其表型。

在晚期骨转移的肿瘤患者中,应用唑来膦酸抑制巨噬细胞及破骨细胞,对延长肿瘤患者生存期起到良好效果。将治疗剂量的唑来膦酸分别作用于不同表型的巨噬细胞、乳腺癌细胞以及巨噬细胞诱导浸润的乳腺癌细胞,证明了唑来膦酸主要作用在巨噬细胞靶点,通过逆转巨噬细胞表型治疗骨转移^[23]。下颌骨坏死是唑来膦酸不良反应之一,在研究下颌骨坏死与固有免疫关系的研究^[24]中发现,唑来膦酸预处理组可以激活 NF- κ B 信号通路,使促炎性细胞因子及 NO 产量增加,促进 M1 型巨噬细胞表

达。

Muratsu 等^[24]采用唑来膦酸预处理脂多糖刺激的巨噬细胞作为实验组, 单独脂多糖刺激的巨噬细胞为对照组, 分析 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的表达, 结果发现, 实验组中 IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 分别为对照组的 2.3、2.5 和 2.4 倍, NOS 的释放为对照组的 1.6 倍。这些促炎性细胞因子的高表达说明双磷酸盐可以促进 M1 巨噬细胞的转化。在肿瘤组织中, Tsagozis 等^[25]将 TAM 暴露在各种浓度的唑来膦酸后, MMP-9 及 2 型细胞因子表达量减低, 而 1 型细胞因子如 TNF- α 、IFN- γ 表达量显著增加, 证实唑来膦酸可以有效地逆转 TAM 为 M1 型。进一步, Coscia 等^[26]以乳腺癌小鼠为模型通过体内实验研究双磷酸盐对 TAM 的影响作用, 未接受唑来膦酸治疗的荷瘤小鼠的腹腔巨噬细胞表达 IL-10 而不表达 IFN- γ , 而接受唑来膦酸治疗的荷瘤小鼠的腹腔巨噬细胞不表达 IL-10 而高表达 IFN- γ 。NOS 的表达受 GTP 酶信号蛋白的抑制, 而 GTP 酶信号蛋白受异戊烯化的调节, 接受唑来膦酸治疗的荷瘤小鼠的腹腔巨噬细胞中 Ras 异戊烯化及 Ras-GTP 水平显著减少, 说明唑来膦酸对 TAM 异戊二烯化有抑制作用, 同时观察到接受唑来膦酸治疗的荷瘤小鼠的腹腔巨噬细胞 NOS 的表达显著提高。从而证实 NOS 的高表达使 TAM 由促进肿瘤侵袭转移的 M2 型转化为抑制肿瘤的 M1 型。

2.4 CpG-DNA 联合 IL-10R 抗体对 M2 巨噬细胞的逆转作用

近年发现, 细菌 DNA 和一些人工合成的寡脱氧核苷酸具有免疫刺激活性, 进一步研究揭示, 核酸的免疫刺激活性与一些含有未甲基化 5'-CG-3' 二核苷酸的六碱基特征序列(CpG 基序) 有关, 含有 CpG 基序的寡脱氧核苷酸称为 CpG 寡脱氧核苷酸(CpG-DNA)^[27]。根据结构及生物学行为不同, 将 CpG-DNA 分为 A、B、C 三种类型, 每种类型则根据其碱基序列的不同表现出不同的抗肿瘤和免疫调节活性^[28-29]。研究^[30-32]表明, CpG-DNA 能够促进 B 细胞增殖和分化, 激活单核/巨噬细胞、树突状细胞及 NK 细胞, 并能够诱生免疫球蛋白、IFN、IL-12 和 IL-1, 促进 MHC-II 及 CD86 等分子的表达。

Ryu 等^[33]在研究细菌 CpG-DNA 加速 Alport 肾小球硬化时指出, 在肾小球疾病中, CpG-DNA 主要通过诱导 M1 巨噬细胞, 增加其数量并释放炎性细胞因子导致肾病。缺乏 Col4a3 的小鼠注射 CpG-DNA 后肾内巨噬细胞(代表经典活化促炎型巨噬细胞) 数量为 90%, 较 LPS 组的 50% 及生理盐水注射

组的 40% 明显增加。并且 M1 巨噬细胞标志分子 TNF- α 、iNOS、IL-12 及 CXCL10 增加, 然而所有这些标志在注射 LPS 后均相对下调。同时通过抗 iNOS IgG 抗体与抗 TNF- α IgG 抗体进行的免疫组化分析 iNOS 及 TNF- α 表达同样有所增加。

以上仅从 CpG-DNA 单方面证实可促进 M1 巨噬细胞的生长, 2005 年 Guiducci 等^[34]采用 CpG-DNA 与 IL-10 受体抗体联合作用, 进一步证实了对巨噬细胞表型的逆转作用, 他们将荷瘤小鼠中 CCL16 寡集的巨噬细胞做为观察对象, 观察到肿瘤组织浸润的巨噬细胞表达高水平的 IL-10, 不表达 TNF 及 IL-12, 表明肿瘤浸润的巨噬细胞为 M2 表型。荷瘤小鼠注射 CpG-DNA 以及 IL-10 受体抗体 6 h 后, 对 TNF 与 IL-12 的表达及 NO 的含量检测结果表明, 注射 CpG-DNA 以及 IL-10 受体抗体后, 小鼠 TNF、IL-12 及 NO 的产生量远高于单一成份注射组和未注射组, 证明 CpG-DNA 联合 IL-10 受体抗体在一定程度上有逆转巨噬细胞表型的作用。

3 结 语

肿瘤相关巨噬细胞为 M2 型巨噬细胞, 这已为许多研究所证实, M2 型巨噬细胞具有分泌 MMP9、VEGF、EGF 及 TGF- β 1 等细胞因子的作用, 在肿瘤侵袭、转移中起重要作用。调控巨噬细胞极化方向, 使 M2 逆转为具有抑制肿瘤生长和抗原递呈作用的 M1 型, 对于抑制肿瘤的侵袭与转移、改善肿瘤患者预后具有重要意义。TAM 表型逆转将可能成为肿瘤治疗的重要辅助疗法之一, 相信随着研究的深入, 更多的巨噬细胞极化调控药物与调控方法会被发现, 肿瘤相关巨噬细胞表型的逆转将会在肿瘤治疗过程中发挥更大的作用。

[参 考 文 献]

- [1] Green CE, Liu T, Montel V, et al. Chemoattractant signaling between tumor cells and macrophages regulates cancer cell migration, metastasis and neovascularization [J]. PLoS One, 2009, 4(8): e6713.
- [2] Banerjee S, Lin CF, Skinner KA, et al. Heat shock protein 27 differentiates tolerogenic macrophages that may support human breast cancer progression [J]. Cancer Res, 2011, 71(2): 318-327.
- [3] Jedinak A, Dudhgaonkar S, Sliva D. Activated macrophages induce metastatic behavior of colon cancer cells [J]. Immunobiology, 2010, 215(3): 242-249.
- [4] Chihara T, Hashimoto M, Osman A, et al. HIV-1 proteins preferentially activate anti-inflammatory M2-type macrophages [J]. J Immunol, 2012, 188(8): 3620-3627.

- [5] 黄自坤, 李俊明. 巨噬细胞极化及其在感染性疾病中的作用 [J]. 国际免疫学杂志, 2012, 35(4): 255-258.
- [6] Lamers SL, Fogel GB, Singer EJ, et al. HIV-1 Nef in macrophage-mediated disease pathogenesis [J]. *Int Rev Immunol*, 2012, 31(6): 432-450.
- [7] Mangino G, Serra V, Borghi P, et al. Exogenous nef induces proinflammatory signaling events in murine macrophages [J]. *Viral Immunol*, 2012, 25(2): 117-130.
- [8] Mangino G, Percario ZA, Fiorucci G, et al. HIV-1 Nef induce-sproinflammatory state in macrophages through its acidic cluster domain: Involvement of TNF alpha receptor associated factor 2 [J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): e22982.
- [9] Porcheray F, Viaud S, Rimaniol AC, et al. Macrophage activation switching: An asset for the resolution of inflammation [J]. *Clin Exp Immunol*, 2005, 142(3): 481-489.
- [10] Karpusas M, Hsu YM, Wang JH, et al. 2 A crystal structure of an extracellular fragment of human CD40 ligand [J]. *Structure*, 1995, 3(10): 1031-1039.
- [11] Chatzigeorgiou A, Phieler J, Gebler J, et al. CD40L stimulates the crosstalk between adipocytes and Inflammatory cells [J]. *Horm Metab Res*, 2013, 45(10): 741-747.
- [12] Rakhmievich AL, Alderson KL, Sondel PM. T-cell-independent antitumor effects of CD40 ligation [J]. *Int Rev Immunol*, 2012, 31(4): 267-278.
- [13] Song Z, Jin R, Yu S, et al. Crucial role of CD40 signaling in vascular wall cells in neointimal formation and vascular remodeling after vascular interventions [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(1): 50-64.
- [14] Chai H, Aghaie K, Zhou W. Soluble CD40 ligand induces human coronary artery smooth muscle cells proliferation and migration [J]. *Surgery*, 2009, 146(1): 5-11.
- [15] Song Z, Jin R, Yu S, et al. CD40 is essential in the upregulation of TRAF proteins and NF-kappaB-dependent proinflammatory gene expression after arterial injury [J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): e23239.
- [16] Luheshi N, Davies G, Poon E, et al. Th1 cytokines are more effective than Th2 cytokines at licensing anti-tumour functions in CD40-activated human macrophages in vitro [J]. *Eur J Immunol*, 2014, 44(1): 162-172.
- [17] Imaizumi K, Kawabe T, Ichiyama S, et al. Enhancement of tumoricidal activity of alveolar macrophages via CD40-CD40 ligand interaction [J]. *Am J Physiol*, 1999, 277(1 Pt 1): L49-L57.
- [18] Bergamini A, Bolacchi F, Bongiovanni B, et al. Human immunodeficiency virus type 1 infection modulates the interleukin (IL)-1 beta and IL-6 responses of human macrophages to CD40 ligand stimulation [J]. *J Infect Dis*, 2000, 182(3): 776-784.
- [19] Krieger E, Jacobs C, Walter C, et al. Current state of orthodontic patients under bisphosphonate therapy [J]. *Head Face Med*, 2013, 9:10.
- [20] Saleh A, Hegde VV, Potty AG, et al. Bisphosphonate therapy and atypical fractures [J]. *Orthop Clin North Am*, 2013, 44(2): 137-151.
- [21] Winter MC, Coleman RE. Bisphosphonates in breast cancer: Teaching an old dog new tricks [J]. *Curr Opin Oncol*, 2009, 21(6): 499-506.
- [22] Rogers TL, Hohen I. Tumour macrophages as potential targets of bisphosphonates [J]. *J Transl Med*, 2011, 9: 177.
- [23] Rietkötter E, Menck K, Bleckmann A, et al. Zoledronic acid inhibits macrophage/microglia-assisted breast cancer cell invasion [J]. *Oncotarget*, 2013, 4(9): 1449-1460.
- [24] Muratsu D, Yoshiga D, Taketomi T, et al. Zoledronic acid enhances lipopolysaccharide-stimulated proinflammatory reactions through controlled expression of SOCS1 in macrophages [J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e67906.
- [25] Tsagozis P, Eriksson F, Pisa P. Zoledronic acid modulates antitumoral responses of prostate cancer-tumor associated macrophages [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2008, 57(10): 1451-1459.
- [26] Coscia M, Quaglino E, Iezzi M, et al. Zoledronic acid repolarizes tumour-associated macrophages and inhibits mammary carcinogenesis by targeting the mevalonate pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2010, 14(12): 2803-2815.
- [27] Krieg AM, Yi AK, Matson S, et al. CpG motifs in bacterial DNA trigger direct B-cell activation [J]. *Nature*, 1995, 374(6522): 546-549.
- [28] Vollmer J, Weeratna R, Payette P, et al. Characterization of three CpG oligodeoxynucleotide classes with distinct immunostimulatory activities [J]. *Eur J Immunol*, 2004, 34(1): 251-262.
- [29] Booth JS, Nichani AK, Benjamin P, et al. Innate immune responses induced by classes of CpG oligodeoxynucleotides in ovine lymph node and blood mononuclear cells [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 2007, 115(1/2): 24-34.
- [30] Kubo S, Yamada T, Osawa Y, et al. Cytosine-phosphate-guanosine-DNA induces CD274 expression in human B cells and suppresses T helper type 2 cytokine production in pollen antigen-stimulated CD4-positive cells [J]. *Clin Exp Immunol*, 2012, 169(1): 1-9.
- [31] Ma C, Muranyi M, Chu CH, et al. Involvement of DNA-PKcs in the IL-6 and IL-12 response to CpG-ODN is mediated by its interaction with TRAF6 in dendritic cells [J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e58072.
- [32] Souza-Fonseca-Guimaraes F, Parlato M, de Oliveira RB, et al. Interferon-gamma and granulocyte/monocyte colony-stimulating factor production by natural killer cells involves different signaling pathways and the adaptor stimulator of interferon genes (STING) [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(15): 10715-10721.
- [33] Ryu M, Kulkarni OP, Radomska E, et al. Bacterial CpG-DNA accelerates Alport glomerulosclerosis by inducing an M1 macrophage phenotype and tumor necrosis factor-alpha-mediated podocyte loss [J]. *Kidney Int*, 2011, 79(2): 189-198.
- [34] Guiducci C, Vicari AP, Sangaletti S, et al. Redirecting in vivo elicited tumor infiltrating macrophages and dendritic cells towards tumor rejection [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(8): 3437-3446.

[收稿日期] 2013 - 10 - 25

[修回日期] 2014 - 03 - 11

[本文编辑] 阮芳铭, 黄静怡