

长链非编码 RNA-AP001528.2 通过靶向调控 miR-149-5p 介导宫颈癌的发生发展

叶文蔚 应柳青 蒋梦亭 修丽梦 柴芝红

[摘要] 目的 研究长链非编码 RNA AP001528.2 对宫颈癌 C-33A 细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响,并探讨其调控机制。方法 采用 qRT-PCR 实验检测 61 例宫颈癌组织及癌旁组织中 miR-149-5p 的表达量,再分析 AP001528.2 和 miR-149-5p 的表达水平的相关性;采用 CCK-8 法、Transwell 测定与划痕实验方法,检测 AP001528.2 基因表达下调对 C-33A 细胞增殖活性、迁移速率及侵袭潜能的影响变化;荧光原位杂交试验检测 miR-149-5p 与 AP001528.2 在宫颈癌组织和细胞中的共定位情况,通过生物信息学预测网站预测到 miR-149-5p 与 AP001528.2 有互补结合位点,并利用双荧光素酶报告系统鉴定它们的靶向关系;再记录敲低或者上调 AP001528.2 表达后 miR-149-5p 的表达变化情况;将 miR-149-5p inhibitor 与 siRNA- AP001528.2 共转染 C-33A 细胞后,检测 C-33A 细胞增殖、迁移和侵袭情况。结果 在宫颈癌组织中 miR-149-5p 呈低表达,且与 AP001528.2 的表达呈负相关;敲低 AP001528.2 的表达可以明显抑制 C-33A 细胞的增殖、迁移和侵袭能力;AP001528.2 靶向调控 miR-149-5p 的表达,下调 AP001528.2 水平能升高 miR-149-5p 的表达,而上调 AP001528.2 水平能降低 miR-149-5p 的表达;下调 miR-149-5p 表达能明显逆转敲低 AP001528.2 水平对 C-33A 细胞增殖、迁移和侵袭能力的抑制作用。AP001528.2 与 miR-149-5p 在细胞质中存在共定位,且两者间存在靶向调控关系。结论 AP001528.2 与宫颈癌的发展及预后密切相关,AP001528.2 可通过靶向调控 miR-149-5p 表达促进宫颈癌 C-33A 细胞增殖、迁移和侵袭。

[关键词] AP001528.2; miR-149-5p; 宫颈癌; 细胞增殖; 细胞迁移; 细胞侵袭

Long non-coding RNA-AP001528.2 mediates cervical carcinogenesis through targeted regulation of miR-149-5p

YE Wenwei, YING Liuqing, JIANG Mengting, et al. Department of Gynecology, Taizhou Municipal Hospital, Taizhou 318000, China.

[Abstract] **Objective** To explore the effects of long non-coding RNA AP001528.2 on the growth, motility, and invasive capacity of cervical cancer C-33A cells, and to decipher its fundamental regulatory pathways. **Methods** The qRT-PCR technique was employed to quantify the miR-149-5p expression levels in 61 samples of cervical cancer tissues and their adjacent non-tumor tissues. The relationship between AP001528.2 and miR-149-5p expression levels was analyzed. The proliferation, migration, and invasion abilities of C-33A cells were evaluated using the CCK-8 assay, Transwell migration assay, and wound healing assay after the knockdown of AP001528.2 expression. Fluorescence in situ hybridization (FISH) was used to visualize the spatial coexistence of miR-149-5p and AP001528.2 within cervical cancer tissues and cellular structures. Bioinformatic prediction tools were utilized to identify potential complementary binding sites between miR-149-5p and AP001528.2, and the targeting relationship was further validated by using a dual-luciferase reporter system. The expression of miR-149-5p was quantified by qRT-PCR following the knockdown or upregulation of AP001528.2. Finally, the proliferation, migration, and invasion of C-33A cells were assessed following co-transfection with a miR-149-5p inhibitor and siRNA targeting AP001528.2. **Results** miR-149-5p was significantly underexpressed in cervical cancer tissues and negatively correlated with the expression of AP001528.2. Knocking down the expression of AP001528.2 significantly inhibited the proliferation, migration, and invasive abilities of C-33A cells. AP001528.2 targeted

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2025.004.003

基金项目:浙江省医药卫生科技计划项目(2022KY1393),台州市科技计划项目(20ywa37)

作者单位:318000 浙江台州,浙江省台州市立医院妇科

通讯作者:柴芝红, Email: czhfuke@163.com

the regulation of miR-149-5p expression, resulting in a significant decrease in the expression of miR-149-5p. The down-regulation of AP001528.2 led to an elevation in miR-149-5p expression, whereas its upregulation reduced miR-149-5p expression. Furthermore, the downregulation of miR-149-5p expression significantly reversed the inhibitory effects of knocking down AP001528.2 on the proliferation, migration, and invasion abilities of C-33A cells. AP001528.2 and miR-149-5p co-localized in the cytoplasm, indicating a target-regulatory relationship between them. **Conclusion** AP001528.2 is closely associated with the development and prognosis of cervical cancer. Specifically, AP001528.2 stimulates the growth, motility, and invasiveness of cervical cancer C-33A cells by modulating the expression of miR-149-5p in a targeted manner.

[Key words] AP001528.2; miR-149-5p; cervical cancer; cell proliferation; cell invasion

宫颈癌全球每年新发病例超过50万例^[1], 乳头瘤状病毒感染是发生宫颈癌的高危因素^[2], 晚期宫颈癌患者的淋巴结转移率达20%~30%^[3]。探究宫颈癌转移的分子机制对于其治疗策略的制定具有重要意义。

长链非编码RNA (long non-coding RNA, LncRNA) 在胃癌^[4]、肺癌^[5]、喉癌^[6]等肿瘤的发展过程中发挥着重要的作用。另外, LncRNA可调控miRNAs的表达调控及其生物学功能^[7]。本课题组前期研究发现AP001528.2在宫颈癌组织中呈高表达^[8]。本研究通过进一步分析AP001528.2对宫颈癌细胞C-33A增殖以及迁移侵袭能力的影响, 深入探讨AP001528.2在宫颈癌中的功能及其作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料 选取2014年1月至2016年12月在台州市立医院(台州学院医学院附属市立医院)妇科行手术切除的宫颈癌患者的蜡块标本61例作为实验组, 将配对的癌旁组织61例作为对照组。本实验已经通过医院伦理委员会的批准, 所有患者已签署知情同意书。所有患者术前未经过放疗、化学药物治疗和靶向性治疗。

1.2 细胞和试剂 C-33A宫颈癌细胞系来源于中国科学院细胞库(典型培养物保藏委员会), 置于37℃、5% CO₂的1640培养基中培养。双荧光素酶检测试剂盒由Promega公司生产; 抑制LncRNA AP001528.2表达质粒(si-AP001528.2)及阴性对照质粒(si-NC)、LncRNA AP001528.2过表达质粒(pcDNA-AP001528.2)及对照(pcDNA-NC)、miR-149-5p抑制剂(miR-149-5p inhibitor)及阴性对照(NC inhibitor)、miR-149-5p的模拟物(miR-149-5p mimics)及其阴性对照(miR-NC)由通用生物(安徽)股份有限公司生产; 核糖核酸试剂盒Trizol以及细胞转染试剂Lipofectamine™ 2000由Invitrogen公司

生产; Real MasterMix (SYBR Green) 荧光定量PCR试剂盒由Tiangen公司生产; CCK-8试剂盒、二甲基亚砜(DMSO)由美国Sigma公司生产, RPMI-1640培养液由美国Gibco公司生产; 胎牛血清由以色列BI公司生产; Transwell小室(3422, 孔径8.0 μm, 直径6.5 mm)由Corning公司生产; Matrigel Basement Membrane Matrix由BD公司生产。引物由上海生工生物公司合成。

1.3 RNA提取和实时定量PCR检测 将每个蜡块样品切成10 μm厚的切片, 根据Trizol说明书的方法, 进行总RNA的提取, 并利用紫外分光光度计测A260/A280。通过逆转录合成cDNA, 并将合成的cDNA稀释5倍。按如下条件进行PCR反应: 预变性95℃ 30 s, 变性95℃ 5 s, 退火延伸60℃ 30 s, 扩增40个循环。记录每个孔的CT值, 并取3个孔的平均值作为结果, miR-149-5p用加尾法检测, 以U6为内参基因, 并采用2^{-ΔΔC_t}法计算miR-149-5p的相对表达量, 每个样本独立重复实验3次, 取平均值。宫颈癌C-33A细胞中总RNA提取及检测方法同前。引物序列如下: AP001528.2上游引物: 5'-GCG-GAAAAGGTAGCTTGGCGGCTT-3', 下游引物: 5'-TTTTGTTCAAAGAAACAAGGTGAA-3'; U6上游引物: 5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAA-3', 下游引物: 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTTCAT-3'; miR-149-5p上游引物: 5'-TCTGGCTCCGT-GTCTTCACTCCC-3', 下游引物为通用引物(Universal Adaptor PCR Primer)。

1.4 细胞转染 将宫颈癌C-33A细胞分为si-NC组、si-AP001528.2组、pcDNA-NC组、pcDNA-AP001528.2组、si-AP001528.2+miR-149-5p inh组、si-AP001528.2+NC inh组。C-33A细胞以2.5×10⁵个/孔接种到6孔板中, 待细胞株的生长密度达到约80%时, 根据Lipofectamine™ 2000的操作说明

书,使用转染试剂将相应质粒导入到对应组别的细胞中,各组细胞在转染24 h后更换培养基继续培养24 h,在荧光显微镜下观察转染效率。

1.5 CCK-8法检测细胞增殖 将对数生长期的各组细胞采用0.25%胰酶消化后,制备成 $3 \times 10^4/\text{mL}$ 的细胞悬浮液,并按150 μL /孔的量接种至96孔板,随后置于37 $^{\circ}\text{C}$ 、含5% CO_2 的恒温培养箱中。在C-33A细胞培养至24、48、72、96 h时,分别向每孔加入10 μL CCK-8溶液(浓度为5 mg/mL),并继续在培养箱中孵育4 h。最后,使用酶标仪在450 nm波长下测量各孔的吸光度值(optical density, OD)。OD值越高表示活细胞数越多,细胞增殖活性也越高。实验重复3次,取平均值。

1.6 细胞划痕试验检测细胞迁移能力 培养转染后的细胞至密度90%~100%。吸除6孔板内培养基,将6孔板倒扣在台面上,使用记号笔在板底绘制三等分水平线条,用10 μL 移液枪头在6孔板中划三等分的划痕(与记号笔标记的水平线条垂直),用培养液洗去刮起的漂浮细胞,再每孔加入3 mL的无血清培养基,培养24 h。分别采集0 h和24 h的划痕图像。划痕愈合率=(0 h划痕宽度-24 h划痕宽度)/0 h划痕宽度 $\times 100\%$ 。

1.7 Transwell检测细胞侵袭能力 将各组细胞制备成 5.0×10^4 个/L的悬液,并按200 μL /孔的量接种于预先铺有Matrigel的Transwell小室上层。同时,向下层室中加入600 μL 含有10% FBS的1640培养基。细胞在培养箱中培养24 h后,使用棉签轻轻旋转去除上层未穿透膜的细胞。接着,用多聚甲醛固定20 min,随后以0.5%结晶紫染色30 min。最后,在倒置显微镜下观察,随机选取3个视野进行细胞计数和拍照,实验重复3次,取平均值。

1.8 荧光原位杂交试验检测 AP001528.2 和 miR-149-5p 的亚细胞定位 将冰冻切片或细胞爬片在55 $^{\circ}\text{C}$ 下进行2 h的预杂交处理,在37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,使用特异性Cy3标记的AP001528.2探针和FITC标记的miR-149-5p探针与样本进行杂交过夜。杂交完成后,样本采用DAPI进行核染色。最后,利用SP8共聚焦显微镜对载玻片进行观察和拍摄。

1.9 AP001528.2 的下游 miRNA 预测及双荧光素酶实验 利用生物信息学预测平台(<http://www.starbase.sysu.edu.cn>)预测能与AP001528.2互补配对的miRNA。构建携带AP001528.2野生序列的载体(WT-AP001528.2)和AP001528.2突变序列的载体

(MUT-AP001528.2),并将它们分别与阴性对照miRNA(miR-NC)和miR-149-5p模拟物(miR-149-5p mimics)共转染至C-33A细胞中。转染48 h后,更换培养基以去除24孔板中的转染试剂,并按照Dual-Luciferase Reporter Assay试剂盒的说明进行操作。每孔加入300 μL 的1 $\times$ Passive Lysis Buffer,在4 $^{\circ}\text{C}$ 下静置20 min后再震荡5 min,然后吸取40 μL 细胞裂解液至检测管中。向检测管中加入20 μL 的Luciferase Assay Reagent并混匀,立即用酶标仪测定萤火虫荧光素酶的荧光强度。随后,向每个检测管中加入20 μL 的Stop & Glo试剂并混匀,再次使用酶标仪测定海肾荧光素酶的荧光强度。

1.10 统计学方法 采用GraphPad Prism 8软件进行统计分析并绘制统计图。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,重复测量资料采用重复测量资料方差分析。对于两个分类变量之间的相关性分析,运用Pearson相关系数进行分析。设 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 敲低 AP001528.2 水平对 C-33A 细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响 见封二图1

用靶向AP001528.2的siRNA转染C-33A细胞以敲低AP001528.2的内源性表达,与si-NC组比较,转染si-AP001528.2能有效地沉默AP001528.2的表达(0.97 ± 0.02 vs. 0.56 ± 0.02),差异有统计学意义($t=27.50$, $P < 0.05$)。由封二图1A可见,si-AP001528.2组细胞增殖能力明显低于si-NC组($F=171.20$, $P < 0.05$)。由封二图1B~1C可见,与si-NC组比较,敲低AP001528.2水平能明显降低C-33A细胞的迁移($89.27\% \pm 3.09\%$ vs. $48.73\% \pm 3.45\%$)和侵袭能力(170.67 ± 12.06 vs. 87.00 ± 13.11),差异均有统计学意义(t 分别=15.14、8.14, P 均 < 0.05)。

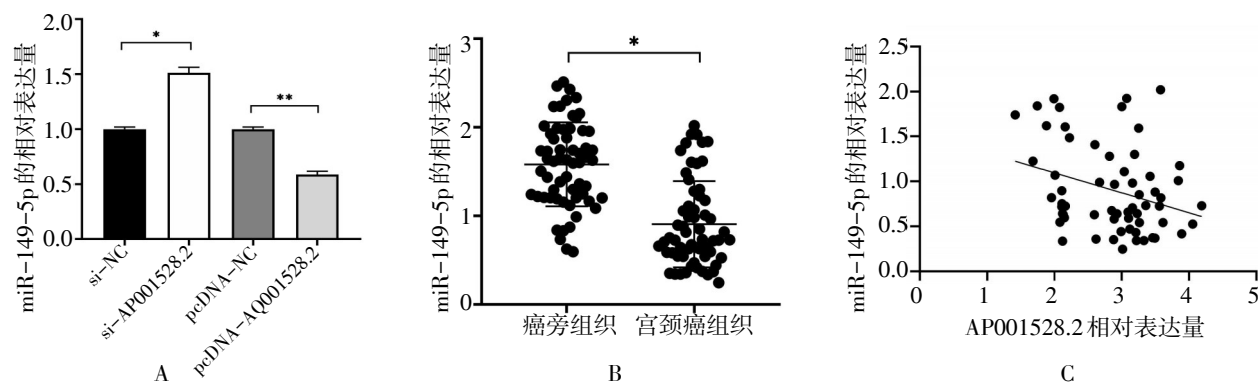
2.2 AP001528.2 与 miR-149-5p 靶向关系验证 见封三图3

由封三图3A可见,AP001528.2(绿色)和miR-149-5p(红色)大部分共定位于细胞质中。由封三图3B可见,进一步通过生物信息学预测网站(www.starbase.sysu.edu.cn)预测到AP001528.2与miR-149-5p之间存在互补结合位点。双荧光素酶报告系统检测结果显示,野生型载体(WT-AP001528.2)和miR-149-5p mimics共转染后细胞的相对荧光素

酶活性降低(0.97 ± 0.02 vs. 0.58 ± 0.05), 差异有统计学意义($t=22.49$, $P<0.05$), 而突变型载体(MUT-AP001528.2)和 miR-149-5p mimics 共转染后细胞

的相对荧光素酶活性没有明显变化(1.00 ± 0.03 vs. 0.98 ± 0.02), 差异无统计学意义($t=0.12$, $P>0.05$)。

2.3 AP001528.2对 miR-149-5p 的调控作用见图 1



注: A: 敲低或过表达 AP001528.2 对 miR-149-5p 表达水平的影响; B: 宫颈癌组织与其配对的癌旁组织中 miR-149-5p 的相对表达量; C: AP001528.2 与 miR-149-5p 的相关性。

图1 AP001528.2与 miR-149-5p 的负向调控关系

由图 1A 可见, 敲低 AP001528.2 的表达后 C-33A 细胞中 miR-149-5p 的表达水平明显高于 si-NC 组($t=16.42$, $P<0.05$); 而过表达 AP001528.2 的 C-33A 细胞中 miR-149-5p 的表达水平明显低于 pcDNA-NC 组($t=19.61$, $P<0.05$)。由图 1B 可见, 宫颈癌组织中 miR-149-5p 的表达水平明显低于相应的癌旁组织($t=13.45$, $P<0.05$)。由图 1C 可见, AP001528.2 在宫颈癌组织中的表达与 miR-149-5p 呈负相关($r=-0.30$, $P<0.05$)。

2.4 下调 miR-149-5p 对 AP001528.2 功能的逆转作用见封二图 2

与 NC inh 组相比, 在 C-33A 细胞中敲低 AP001528.2 表达后再转染 miR-149-5p inhibitor 后能明显降低 miR-149-5p 的表达水平(1.00 ± 0.02 vs. 0.42 ± 0.04), 差异有统计学意义($t=25.00$, $P<0.05$)。由封二图 2A 可见, si-AP001528.2+miR-149-5p inh 组细胞增殖能力明显高于 si-AP001528.2+NC inh 组($F=117.80$, $P<0.05$)。由封二图 2B~C 可见, 与 si-AP001528.2+NC inh 组相比, si-AP001528.2+miR-149-5p inh 组细胞迁移和侵袭能力明显升高($55.28\% \pm 3.08\%$ vs. $68.25\% \pm 1.97\%$; 47.33 ± 8.02 vs. 131.33 ± 11.02), 差异均有统计学意义(t 分别=6.15、10.68, P 均 <0.05)。

3 讨论

宫颈癌是一种严重威胁女性健康的恶性肿瘤, 早期治疗效果较好, 但到中晚期则预后较差, 早期检测对于发现宫颈癌并提高预后至关重要, 人乳头瘤病毒检查虽有助于早发现、早治疗, 但是较低

的阳性预测率仍限制了它的使用, 为宫颈癌的早期诊断及术后随访带来不便。因此, 研究开发新的生物标记物尤其重要。据报道, LncRNAs 的表达失调与肿瘤细胞的增殖、转移、凋亡相关, 这使得 LncRNAs 有作为诊断肿瘤及判断预后的潜在生物标志物的价值^[9,10]。

许多研究者近年来发现在宫颈癌中存在多种 LncRNAs 的异常表达, Wang 等^[11]研究发现 LncRNA-MEG3 通过调控 PI3K/AKT/Bcl-2/Bax/P21 和 PI3K/AKT/MMP-2/9 信号通路抑制宫颈癌细胞的增殖、侵袭和迁移能力。Liu 等^[12]应用人 LncRNA 基因芯片对 3 对宫颈癌组织及相应的癌旁组织进行差异分析后发现, LncRNA-SNHG1 在宫颈癌组织及宫颈癌细胞中高表达, 敲低 SNHG1 后宫颈癌细胞的增殖、侵袭及迁移能力均受到抑制。Fan 等^[13]的研究结果表明, Lnc-PTENP1 通过竞争性结合 miR-106b 抑制宫颈癌的进展, 从而促进 PTEN 基因的表达, 达到抑制肿瘤细胞增殖、上皮-间质转换并诱导细胞凋亡的作用。由此可见, 不同的 LncRNAs 在宫颈癌中发挥着类似癌基因或者抑癌基因的功能。本课题前期研究发现, LncRNA-AP001528.2 在宫颈癌组织中异常高表达, 而且与宫颈癌患者的预后不良有关^[8], 而 AP001528.2 在宫颈癌发生发展中的作用及其调控机制仍未见报道。本研究中通过敲低宫颈癌 C-33A 细胞 AP001528.2 的表达后发现肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭能力受到明显抑制, AP001528.2 在宫颈癌中可能发挥类似癌基因的作用。

LncRNAs可以通过“海绵”效应吸附miRNAs,从而靶向调控miRNAs的表达,发挥促癌或者抑癌的作用。本研究借助生物信息学分析手段,在宫颈癌中识别出AP001528.2与miR-149-5p之间可能存在的结合位点,并进一步利用双荧光素酶报告实验系统对这一潜在的靶向关系进行了验证,并且证实了在宫颈癌细胞中AP001528.2对miR-149-5p具有靶向负调控作用。miR-149-5p在多种肿瘤中表达降低,扮演着肿瘤抑制因子的角色,过表达miR-149-5p能抑制肿瘤细胞的增殖及转移,如结肠癌^[14]、肺癌^[15]、肝癌^[16]等。本研究结果也显示,miR-149-5p在宫颈癌组织中表达降低,而且miR-149-5p在宫颈癌组织中的表达与AP001528.2呈负相关,通过转染miR-149-5p inhibitor重新下调miR-149-5p的表达水平能逆转敲低AP001528.2表达对细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用,提示敲低AP001528.2表达发挥抑制细胞增殖、迁移侵袭的作用可能是通过调控miR-149-5p来实现。以上研究结果表明,AP001528.2可能是通过“海绵”效应吸附miR-149-5p,形成内源性竞争性RNA机制来调节宫颈癌细胞的增殖、迁移和侵袭。

综上所述,AP001528.2能通过调控miR-149-5p表达发挥促癌作用,miR-149-5p的下游调控机制本课题组将进一步进行深入研究,AP001528.2在基因调控方面发挥的作用与宫颈癌发生发展的关系随着研究的深入会逐渐清晰,将为宫颈癌的诊断与治疗提供新的分子靶标。

参考文献

- 1 Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics [J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2): 87-108.
- 2 Pimple S, Mishra G, Shastri S. Global strategies for cervical cancer prevention [J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2016, 28(1): 4-10.
- 3 Menderes G, Black J, Schwab CL, et al. Immunotherapy and targeted therapy for cervical cancer: An update [J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2015, 16(1): 83-98.
- 4 Zhang ZB, Li Y, Fan LQ, et al. LncRNA THUMP3-AS1 promotes invasion and EMT in gastric cancer by regulating the miR-1297/BCAT1 pathway [J]. *Science*, 2023, 26(9): 107673.
- 5 Yang Q, Wang M, Xu J, et al. LINC02159 promotes non-small cell lung cancer progression via ALYREF/YAP1 signaling [J]. *Mol Cancer*, 2023, 22(1): 122.
- 6 Silva GK, Gergana S, Veronika P, et al. Exploration of the association between HIF3 α mRNA and lncRNA MALAT1 in laryngeal squamous cell carcinoma by correlation analysis [J]. *Oncol Lett*, 2024, 28(1): 292.
- 7 Chiu HS, Martínez MR, Bansal M, et al. High-throughput validation of ceRNA regulatory networks [J]. *BMC Genomics*, 2017, 18(1): 418.
- 8 叶文蔚, 郭丙静, 应柳青, 等. 宫颈癌预后相关长链非编码RNA筛选及其临床意义研究 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2023, 33(3): 266-270.
- 9 Cantile M, Scognamiglio G, Marra L, et al. HOTAIR role in melanoma progression and its identification in the blood of patients with advanced disease [J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(12): 3422-3432.
- 10 Jin XJ, Chen XJ, Zhang ZF, et al. Long noncoding RNA SNHG12 promotes the progression of cervical cancer via modulating miR-125b/STAT3 axis [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5): 6624-6632.
- 11 Wang X, Wang Z, Wang J, et al. LncRNA MEG3 has anti-activity effects of cervical cancer [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 94: 636-643.
- 12 Liu Y, Yang Y, Li L, et al. LncRNA SNHG1 enhances cell proliferation, migration and invasion in cervical cancer [J]. *Biochem Cell Biol*, 2018, 96(1): 38-43.
- 13 Fan YR, Sheng WW, Meng Y, et al. LncRNA PTENP1 inhibits cervical cancer progression by suppressing miR-106b [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2020, 48(1): 393-407.
- 14 Feng PF, Zhu LX, Sheng N, et al. CircXRN2 accelerates colorectal cancer progression through regulating miR-149-5p/MACC1 axis and EMT [J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1): 2448.
- 15 Yang Z, He J, Gao P, et al. miR-149-5p suppressed cell proliferation, migration and invasion by targeting TGFBR1 in non-small cell lung carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(69): 113558-113570.
- 16 Shen MH, Zhang QH, Pan WN, et al. CircUCK2 promotes hepatocellular carcinoma development by upregulating UCK2 in a miR-149-5p-dependent manner [J]. *Discov Oncol*, 2024, 15(1): 14.

(收稿日期 2024-06-23)

(本文编辑 葛芳君)