

# 慢性髓性白血病相关信号通路的研究进展\*

钱丽综述,曾云<sup>△</sup>审校

(昆明医科大学第一附属医院血液科/云南省血液病研究中心,昆明 650032)

**[摘要]** 慢性髓性白血病(CML)是一种以髓系增生为主的造血干细胞恶性疾病,具有酪氨酸激酶活性的 BCR-ABL 融合蛋白是导致该病的核心因素。酪氨酸激酶抑制剂(TKI)的临床应用,尤其是第一代 TKI 伊马替尼的问世,使 CML 患者的缓解率和长期生存率得到很大提高。但临床仍有部分患者出现对该药原发或继发的耐药,治疗效果不佳。近年来,国内外学者发现 CML 的发生、发展及耐药的产生,往往伴随着 BCR-ABL 下游信号传导通路的异常,现就目前研究较热的 JAK2/STAT、Hedgehog、Notch、PI3K/AKT 等信号通路作一综述。

**[关键词]** 白血病,髓样,慢性;酪氨酸激酶抑制剂;信号通路;K562 细胞

**[中图分类号]** R733.72 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2018)19-2608-03

慢性髓性白血病(chronic myelogenous leukemia, CML)是一种以髓系增生为主的造血干细胞恶性疾病,占成人白血病的 15%,全球年发病率约为(1.6~2.0)/10 万<sup>[1]</sup>;而在我国 CML 年发病率已由 20 世纪 80 年代的 0.36/10 万发展至近年的(0.39~0.55)/10 万<sup>[2]</sup>。CML 在临床上分为慢性期、加速期和急变期,当病程发展到加速期和急变期,病情往往难以控制。BCR-ABL 融合基因的形成是该病的分子学基础,其表达的相应融合蛋白 BCR-ABL(特别是 P210 蛋白)具有超乎正常的酪氨酸激酶活性,可通过诱导多方位的信号转导通路异常,干扰造血干/祖细胞一系列细胞的增殖和凋亡。而随着酪氨酸激酶抑制剂(TKI)的临床应用,尤其是第一代 TKI 伊马替尼的问世,使 CML 患者的缓解率和长期生存率得到很大提高。相关数据表明,伊马替尼作为一线治疗药物,使 CML 患者的 10 年生存率达 85%~90%<sup>[3]</sup>。但临床仍有部分患者出现对该药原发或继发的耐药,治疗效果不佳,特别是急变期患者。国内外研究发现,CML 的发生、发展及耐药的产生,往往伴随着 BCR-ABL 下游信号传导通路的异常。现将近年来研究较热的 Janus 激酶(Janus Kinase, JAK)/信号传导及转录激活因子(signal transducer and activator of transcription, STAT)、Hedgehog、Notch 等信号通路 with CML 关系的相关研究综述如下。

## 1 JAK2/STAT 信号通路与 CML

JAK/STAT 信号通路是众多细胞因子信号转导的共同途径,可使特异性靶细胞上基因表达快速改变,广泛参与细胞增殖、分化、凋亡以及炎症等过程;JAK 家族是一类非受体型酪氨酸激酶,包括 JAK1、JAK2、JAK3 和 TYK2,受 BCR-ABL、细胞因子(如生

长因子)激活后发生磷酸化,作用于 STAT 蛋白<sup>[4]</sup>。目前针对 JAK2 的靶向治疗早已成为研究热点。LUNDBERG 等<sup>[5]</sup>研究证实,JAK2/STAT 信号通路在髓系祖细胞及红细胞生成过程中有促进或调节细胞增殖、凋亡的作用。王蜀燕等<sup>[6]</sup>利用基因芯片杂交技术,在人慢性髓系白血病细胞(K562 细胞)中检测到 STAT5 的固有激活,且 STAT5 固有结合于其特异性结合位点;而将显性失活的 STAT5 转染于 K562 细胞,检测到该位点的结合活性显著受抑制,随之 K562 细胞的增殖受限,提示 JAK2/STAT5 通路可影响 K562 细胞的转化,参与 CML 的发生。YE 等<sup>[7]</sup>利用 STAT 基因缺陷小鼠模型,证实 JAK2/STAT 的缺失,使鼠的 CML 样疾病出现诱导和维持障碍;在表达 BCR-ABL 的慢性髓系白血病干细胞(CML-LSC)和 CML 患者 CD34<sup>+</sup> 细胞中,使用伊马替尼抑制 BCR-ABL 激酶活性,通过级联反应 STAT5 通路受到抑制,从而细胞增殖也出现一定程度的抑制。证明对 CML 患者而言,JAK2/STAT5 通路的活化参与了疾病的发生。

## 2 Hedgehog 信号通路与 CML

Hedgehog 蛋白是一种分泌性的信号蛋白,主要由 Sonic hedgehog(Shh)基因编码产生,参与控制细胞增殖、调节不同类型细胞分化以及保持成体干细胞自稳态,其传递过程受靶细胞膜上两种受体 Patched(Ptc)和 Smoothed(Smo)的控制<sup>[8]</sup>。该通路的异常活化与包括 CML 在内的血液肿瘤的发生相关,并参与了正常造血干细胞(HSC)的损伤<sup>[9]</sup>。Smo 作为一种跨膜蛋白,是 Hedgehog 信号向细胞膜内传递所必需的受体<sup>[8]</sup>。SEKE ETET 等<sup>[10]</sup>利用 Smo 缺陷小鼠,发现 Smo 的缺失对白血病干细胞(LSC)的分化并

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81060064);云南省卫生科技计划资助项目(2014NS167;2016NS047);云南省联合专项基金资助项目(2014FB027;2017FE468)。 作者简介:钱丽(1992-),在读硕士,主要从事血液系统疾病的研究。 <sup>△</sup> 通信作者,E-mail:zengyun\_fyy@si-na.com.cn。

无显著影响,但可抑制其再生,降低 CML 的发生率;而激活 Smo 则可增加 LSC 的数量并加速 CML 疾病的进展。PIMENTAL 等<sup>[11]</sup>用 Smo 抑制剂环靶明(cyclopamine)治疗 CML 小鼠时,发现其体内 CML-LSC 数量明显减少,且生存期得到延长;用环靶明处理伊马替尼耐药的 CML-LSC 后,可检测到 CML-LSC 克隆能力降低。可见,抑制 Hedgehog 信号通路不仅可清除 CML-LSC 从而减少 CML 的发生、减缓 CML 病程的进展,对克服伊马替尼耐药性也有一定的作用。

### 3 Notch 信号通路 with CML

Notch 信号通路是一个高度保守的信号通路,可调节正常造血干细胞(HSC)的分化、增殖和凋亡,维持 HSC 的特性<sup>[12]</sup>。有观点认为,有效活化的 Notch 信号与骨髓微环境一起参与调控 HSC 和 LSC,可能抑制 HSC 自我更新,相反促进 LSC 的自我更新和增殖,参与白血病的发病和疾病进展<sup>[13-14]</sup>。STIER 等<sup>[15]</sup>研究发现,CML-LSCs 中存在 Notch1 和 Notch2 表达上调和 Notch 信号通路的异常活化。YIN 等<sup>[16]</sup>在 K562 细胞中同样检测到了 Notch 信号通路的异常活化,且在 CML 病程中,活化的 Notch 信号可影响 K562 细胞分化,而激活 Notch 信号的同时,其中间产物亦可共同作用于 K562 细胞,引起细胞凋亡,过度表达活化形式的 Notch1 和 Notch2 则可抑制 K562 细胞的增殖。付伟<sup>[17]</sup>通过对基因芯片分析和体外实验验证后发现,Notch 信号相关基因表达与 CML 存在关联,在伊马替尼耐药 CML 细胞中表达较高,同时在 CML 不同病程阶段表达水平也不同,加速期、急变期及复发患者中表达较高。进一步证实 Notch 信号通路 with CML 的发生发展及伊马替尼耐药有关。由此可见,该通路 with CML 的发生发展密切相关,与伊马替尼耐药也有一定关联。同时该研究者在伊马替尼处理的 CML 细胞中检测到 Notch 信号表达的变化,提出伊马替尼可能通过调控 BCR-ABL 酪氨酸激酶活性来调控 Notch 信号,为 CML 伊马替尼耐药机制的研究指出了新的方向。

### 4 Wnt/ $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)信号通路 with CML

Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路是 Wnt 通路中最重要且研究最为深入的部分。 $\beta$ -catenin 是一种细胞骨架蛋白,作为 Wnt 通路中重要的信号传递因子,参与调节细胞的生长、增殖和细胞间的黏附,与血液系统恶性疾病的发生密切相关<sup>[18]</sup>。ZHAO 等<sup>[19]</sup>通过建立造血系统中缺乏  $\beta$ -catenin 的小鼠模型,发现  $\beta$ -catenin 的缺失使小鼠向 CML 转化的能力显著减弱,且这些小鼠形成的 HSC 在长期生长和维持中存在缺陷。JAMIESON 等<sup>[20]</sup>证实 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的激活,可促进 CML-LSCs 的自我更新和分化为白血病细胞的潜能,并参与了在 CML 的急性变及伊马替尼的耐药的发生。HEIDEL 等<sup>[21]</sup>研究显示, $\beta$ -catenin 在

急变期患者体内的表达量随着 BCR-ABL 基因的扩增而增高,药物或其他基因抑制  $\beta$ -catenin 表达能够明显降低 CML 的耐药,并延缓其进入急变期。因此可推断 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的存在 with CML 的发生相关,该通路的异常激活,可能会增加 CML 的发病率,并且加快 CML 疾病的进展,诱导 K562 细胞耐药,而此条件下的急变及耐药,与 BCR-ABL 酪氨酸激酶有密切联系。

### 5 磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase,PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B,AKT) 信号通路 with CML

PI3K/AKT 信号通路是 BCR-ABL 下游的关键信号通路之一,通过激活下游 mTOR、核因子(NF)- $\kappa$ B 等通路,灭活 caspase 凋亡相关基因,诱导细胞的增殖、分化,避免细胞发生凋亡,在维持细胞恶性生物学特性中起重要作用,其持续激活贯穿于 CML 病程中的各个时期<sup>[22-23]</sup>。KANG 等<sup>[24]</sup>通过对 K562 细胞逆转录的研究,发现 PI3K/AKT 信号通路的活化,可通过改变体外 K562 细胞内 caspase-3、caspase-8 及 NF- $\kappa$ B 蛋白活性,促进 K562 细胞增殖,同时抑制其凋亡。刘张玲等<sup>[25]</sup>通过采用不同浓度的 PI3K/AKT 信号通路靶向抑制剂 AKTi IV 处理 K562 细胞,发现随着 PI3K/AKT 通路抑制时间的延长,K562 细胞的增殖也受到了不同程度的抑制。其机制可能为 AKT 受抑制后, $\beta$ -catenin 表达下降,通过抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路阻碍细胞的生长信号传导,从而影响细胞生长。可推断 PI3K/AKT 信号通路的异常活化,with CML 的进展相关,也同样提醒 CML 的发生发展并非某一信号通路的单独作用,复杂信号网中不同通路间的相互影响,共同调节慢粒细胞增殖及克隆形成能力,影响疾病进展。

### 6 MAPK 信号通路 with CML

丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,MAPK)是一组能被不同的细胞外刺激,如细胞因子、神经递质、激素、细胞应激及细胞黏附等激活的丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶,参与细胞的生长、分化、对环境的应激适应、炎症反应等多种重要的细胞生理/病理过程<sup>[26]</sup>。MAPK 信号通路是信号从细胞表面传导到细胞核内部的重要部分之一,可分为不同的亚族,其中 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase,JNK)通路、细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases,ERK)通路及 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38MAPK)通路已被证实 with CML 相关,且上述通路主要通过诱导 K562 细胞的凋亡参与 CML 的发展<sup>[27-29]</sup>。张进芳等<sup>[30]</sup>利用基因芯片数据库分析并得到 with CML 加速期和急变期相关的基因集,对这两组基因集进一步进行信号通路分析发现,在 CML 加速期和急变期存在 MAPK 信号通路、Wnt 信号通路、JAK/SATA 信号通路的异常激活,而这些信

号通路可能通过调控 CML-LSC 的分化与凋亡,参与疾病进展。

## 7 展 望

对于 CML 而言,长期缓解或临床治愈是追求的治疗目标。继第一代 TKI 伊马替尼之后,尼洛替尼、达沙替尼等第二代 TKI 因其能够获得更快、更深的分子学反应,逐步成为 CML 患者的一线治疗方案之一<sup>[31-32]</sup>。2017 年欧洲血液学年会上,ENESTfreedom 和 ENESTOP 两项临床试验负责人提交了其最新数据,表明约有 50% 的慢性期费城染色体阳性慢性骨髓性白血病(CML)的成年人患者,在一线使用尼洛替尼治疗或从伊马替尼转换为使用尼洛替尼治疗至少 3 年以上(在停药前 1 年维持深度的分子反应)后,即使停止治疗 2 年后,依旧能够维持无治疗缓解状态。这一里程碑式的发现在 CML 的疾病管理方面迈出了巨大的一步。随着对 CML 研究的深入,CML 病程中信号通路的异常同样成为研究的重点和热点,信号级联的水平或垂直封锁组合是否比阻断通路中某个单一节点更有效,相关信号通路中是否存在有效且不良反应最小的靶点,以及是否可利用不同通路间的相互抑制或激活来协同治疗 CML,这些均是需要进一步探寻的问题。随着分子靶向治疗的持续发展,加上 CML 中相关信号通路机制的研究,寻找新的适宜的靶向药,或联合其他重要信号通路靶向药物,将会帮助更好地实现 CML 长期缓解或临床治愈的目标。

## 参考文献

- [1] WETZLER M; NCCN Chronic Myelogenous Leukemia Practice Guidelines Panel. NCCN: Chronic myelogenous leukemia[J]. *Cancer Control*,2001,8(6 Suppl 2):44-48.
- [2] 中华医学会血液学分会. 中国慢性髓性白血病诊断与治疗指南(2016 年版)[J]. *中华血液学杂志*,2016,37(8):633-639.
- [3] KALMANTI L, SAUSSELE S, LAUSEKER M, et al. Safety and efficacy of imatinib in CML over a period of 10 years; data from the randomized CML-study IV[J]. *Leukemia*,2015,29(5):1123-1132.
- [4] 薛翔,刘红梅,邵旦兵,等. JAK/STAT 信号通路调节机制的研究进展[J]. *现代生物医学进展*,2015(11):2161-2165.
- [5] LUNDBERG P, TAKIZAWA H, KUBOVCAKOVA L, et al. Myeloproliferative neoplasms can be initiated from a single hematopoietic stem cell expressing JAK2-V617F[J]. *J Exp Med*,2014,211(11):2213-2230.
- [6] 王蜀燕,孙朝辉,危敏,等. STI571 诱导慢性髓系白血病 K562 细胞凋亡信号通路的研究[J]. *中国实验血液学杂志*,2008,16(5):1010-1015.
- [7] YE D, WOLFF N, LI L. STAT5 signaling is required for the efficient induction and maintenance of CML in mice[J]. *Blood*,2006,107(12):4917-4925.
- [8] 汤颖,程雁. Hedgehog 通路信号转导机制的研究进展[J]. *生理学报*,2014,66(4):415-422.
- [9] 何晓薇,燕玮,杨威,等. 三氧化二砷对慢性髓系白血病细胞 Hedgehog 通路的影响[J]. *中国实验血液学杂志*,2015,23(4):971-975.
- [10] SEKE ETET P F, VECCHIO L, NWABO KAMDJE A H. Signaling pathways in chronic myeloid leukemia and leukemic stem cell maintenance: key role of stromal microenvironment[J]. *Cell Signal*,2012,24(9):1883-1888.
- [11] PIMENTEL A, VELEZ M, BARAHONA L J, et al. New prospects for drug development: the hedgehog pathway revealed. Focus on hematologic malignancies[J]. *Future Oncol*,2013,9(5):681-697.
- [12] WEISBERG E, GRIFFIN JD. Resistance to imatinib (Gleevec): update on clinical mechanisms[J]. *Drug Resist Updat*,2003,6(5):231-238.
- [13] ZHANG B, HO Y W, HUANG Q, et al. Altered microenvironmental regulation of leukemic and normal stem cells in chronic myelogenous leukemia[J]. *Cancer Cell*,2012,21(4):577-592.
- [14] BOWERS M, ZHANG B, HO Y, et al. Osteoblast ablation reduces normal long-term hematopoietic stem cell self-renewal but accelerates leukemia development[J]. *Blood*,2015,125(17):2678-2688.
- [15] STIER S, CHENG T, DOMBKOWSKI D, et al. Notch1 activation increases hematopoietic stem cell self-renewal in vivo and favors lymphoid over myeloid lineage outcome[J]. *Blood*,2002,99(7):2369-2378.
- [16] YIN D D, FAN F Y, HU X B, et al. Notch signaling inhibits the growth of the human chronic myeloid leukemia cell line K562[J]. *Leuk Res*,2009,33(1):109-114.
- [17] 付伟. Notch 信号在慢性粒细胞白血病细胞增殖和伊马替尼耐药的调控作用研究[D]. 西安:第四军医大学,2014.
- [18] 苏尚,吴畏. Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路对靶基因转录的调控[J]. *中国科学:生命科学*,2014,44(10):1029-1042.
- [19] ZHAO C, BLUM J, CHEN A, et al. Loss of beta-catenin impairs the renewal of normal and CML stem cells in vivo[J]. *Cancer Cell*,2007,12(6):528-541.
- [20] JAMIESON CH, AILLES LE, DYLLA SJ, et al. Granulocyte-macrophage progenitors as candidate leukemic stem cells in blast-crisis CML[J]. *N Engl J Med*,2004,351(7):657-667.
- [21] HEIDEL F H, BULLINGER L, FENG Z, et al. Genetic and pharmacologic inhibition of beta-catenin targets imatinib-resistant leukemia stem cells in CML[J]. *Cell Stem Cell*,2012,10(4):412-424.
- [22] CALABRETTA B, PERROTTI D. The biology of CML blast crisis[J]. *Blood*,2004,103(11):4010-4022.
- [23] XU XM, ZHANG Y, QU D, et al. Osteole suppresses migration and invasion of A549 human lung cancer cells through inhibition of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in vitro[J]. *Mol Med Rep*,2012,6(5):1018-1022.
- [24] KANG Q, YAN S. Piperlongumine rev-(下转第 2613 页)

续 3~6 个月(平均 4 个月),因此,1 年内患者只需注射 4 次左右即可。透明质酸是由单位 D-葡萄糖醛酸及 N-乙酰葡萄糖胺组成的高分子酸性粘多糖聚合物。透明质酸在人体内有重要的功能包括润滑关节、调节血管通透性、促进伤口愈合等。此外,透明质酸由于其特殊的分子结构,具有极好的保水作用,2%的纯透明质酸水溶液能牢固地保持 98%水分。透明质酸的保水作用可保持皮肤具有良好的弹性作用,还可保持皮肤的光滑,且不会引起永久性不良反应,在改善面部皱纹上也可取得良好的临床疗效<sup>[7-8]</sup>。本研究结果提示,A 型肉毒素联合透明质酸钠溶液治疗面部皱纹,注射后 1 个月和 3 个月,疗效显著,注射后 6 个月,2 例患者再次出现面部皱纹,需再次接受 A 型肉毒素联合透明质酸钠溶液注射治疗,进行巩固;84 例患者中,84 例患者出现注射部位疼痛、肿胀,但均于注射后 1~3 d 消失,1 例患者出现肉芽肿,无患者出现感染症状;治疗后患者满意度高达 97.62%,其治疗效果和患者满意度上均优于单独应用 A 型肉毒素,本研究结果与文献<sup>[9-10]</sup>研究结果相一致。

综上所述,A 型肉毒素联合透明质酸钠溶液在面部除皱中可取得良好的临床疗效,其具有对患者创伤小、起效快、治疗手段简易、不良反应小及安全性高等优点,值得临床推广应用。

## 参考文献

- WEHRLI N E, BURAL G, HOUSENI M, et al. Determination of age-related changes in structure and function of skin, adipose tissue, and skeletal muscle with computed tomography, magnetic resonance imaging, and positron emission tomography[J]. *Semin Nucl Med*, 2007, 37(3): 195-205.
- 宋建良. 应用 A 型肉毒素治疗面部皱纹临床分析[J]. *浙江临床医学*, 2009, 11(1): 65-66.
- 郭全保, 林桂松. A 型肉毒素在面部除皱的应用及其并发症的防治[J]. *当代医学*, 2009, 15(31): 136.
- CARRUTHERS J D, CARRUTHERS J A. Treatment of glabellar frown lines with C. botulinum-A exotoxin[J]. *J Dermatol Surg Oncol*, 1992, 18(1): 17-21.
- 王涛, 董志红, 谢玉娥, 等. 除皱肽联合 A 型肉毒素改善面部皮肤皱纹的临床应用[J]. *中国煤炭工业医学杂志*, 2014, 17(2): 233-234.
- HANKINS C L, STRIMLING R, ROGERS G S. Botulinum a toxin for glabellar wrinkles. dose and response[J]. *Dermatol Surg*, 1998, 24(11): 1181-1183.
- 戴强, 施文娟, 陈晓明, 等. 透明质酸填充改善面部皱纹的临床疗效[J]. *组织工程与重建外科杂志*, 2016, 12(6): 371-372.
- GOLDBERG R A, FIASCHETTI D. Filling the periorbital hollows with hyaluronic acid gel: initial experience with 244 injections[J]. *Ophthal Plast Reconstr Surg*, 2006, 22(5): 335-341.
- 宋斌, 刘进辉, 李明华. A 型肉毒素联合透明质酸在眼周年轻化治疗的疗效观察[J]. *中国医疗美容*, 2014(5): 29-30.
- 郭晓波, 章一新, 张振, 等. A 型肉毒素在面部除皱中的应用[J]. *组织工程与重建外科杂志*, 2010, 6(4): 225-226.
- (收稿日期: 2017-11-16 修回日期: 2018-02-26)
- erses doxorubicin resistance through the PI3K/Akt signaling pathway in K562/A02 human leukemia cells[J]. *Exp Ther Med*, 2015, 9(4): 1345-1350.
- 刘张玲, 胡晶, 黄峥兰, 等. AKT 抑制剂对慢粒急性期 K562 细胞中 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的影响及其效应观察[J]. *解放军医学杂志*, 2015, 40(9): 710-715.
- 魏强, 李静, 刘艺, 等. MAPK 信号转导通路在人参多糖诱导白血病 K562 细胞凋亡中的作用[J]. *中草药*, 2013, 44(2): 193-198.
- LIN M, XIE H L, SU Q, et al. Effects of diallyl disulfide on differential expression of apoptosis-associated genes in leukemia cell line HL-60[J]. *Chin J Can*, 2007, 26(4): 351-356.
- SHEN H M, LIU Z G. JNK signaling pathway is a key modulator in cell death mediated by reactive oxygen and nitrogen species[J]. *Free Radic Biol Med*, 2006, 40(6): 928-939.
- TAN H, LING H, HE J, et al. Inhibition of ERK and activation of p38 are involved in diallyl disulfide induced apoptosis of leukemia HL-60 cells[J]. *Arch Pharm Res*, 2008, 31(6): 786-793.
- 张进芳, 刘晓力, 林愈灯, 等. 慢性髓系白血病疾病进展相关基因的生物信息学分析与初步实验验证[J]. *中国实验血液学杂志*, 2014, 22(4): 909-913.
- REA D, NICOLINI F E, TULLIEZ M, et al. Discontinuation of dasatinib or nilotinib in chronic myeloid leukemia: interim analysis of the STOP 2G-TKI study[J]. *Blood*, 2017, 129(7): 846-854.
- HOCHHAUS A, MASSZI T, GILES F J, et al. Treatment-free remission following frontline nilotinib in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase: results from the ENESTfreedom study [J]. *Leukemia*, 2017, 31(7): 1525-1531.
- (收稿日期: 2017-10-20 修回日期: 2018-01-23)

(上接第 2610 页)