

基础研究

双足直立诱导低褪黑素水平雌性
小鼠脊柱侧凸模型的观察吴涛^{1,2}, 朱泽章¹, 刘军², 王刚², 邱勇¹

(1 南京大学医学院附属鼓楼医院脊柱外科 210008 南京市; 2 南京医科大学第二附属医院骨科 210011 南京市)

【摘要】目的:观察双足直立诱导低褪黑素水平雌性 C57BL/6j 小鼠脊柱侧凸的发生情况,为选择理想的特发性脊柱侧凸模型提供依据。**方法:**选取低褪黑素水平 C57BL/6j 小鼠雌、雄各 20 只,分为低褪黑素雌性小鼠组(A 组)、低褪黑素雄性小鼠组(B 组),另选 C3He/ej 雄性小鼠 20 只作为对照组(C 组)。将三组小鼠均于 3 周龄时施行双上肢截肢合并鼠尾切除术建立双足直立小鼠模型,然后进行直立体态诱导。术后 4 个月,采用 X 线片评估三组小鼠脊柱侧凸发生情况,比较三组间脊柱侧凸发生率和侧凸严重程度。**结果:**三组小鼠建模后经直立体态诱导均可长时间保持直立体态。A 组 19 只发生脊柱侧凸,侧凸小鼠 Cobb 角 $17^{\circ}\sim 36^{\circ}$,平均 $24.6^{\circ}\pm 6.0^{\circ}$;B 组 16 只发生脊柱侧凸,侧凸小鼠 Cobb 角 $13^{\circ}\sim 31^{\circ}$,平均 $20.8^{\circ}\pm 4.3^{\circ}$;C 组 9 只发生脊柱侧凸,侧凸小鼠 Cobb 角 $13^{\circ}\sim 23^{\circ}$,平均 $18.3^{\circ}\pm 2.7^{\circ}$ 。A、B 组小鼠脊柱侧凸发生率均明显高于 C 组 ($\chi^2=11.904, P=0.005; \chi^2=5.2267, P=0.023$),A、B 两组脊柱侧凸发生率无显著性差异 ($P<0.05$)。A 组脊柱侧凸 Cobb 角明显高于 B 组 ($t=2.096, P=0.044$)和 C 组 ($t=3.646, P=0.001$);B 组与 C 组 Cobb 角无显著性差异 ($P>0.05$)。**结论:**雌性低褪黑素双足直立小鼠脊柱侧凸发生率高,脊柱侧凸更严重,可以较好模拟特发性脊柱侧凸的发生发展过程,为特发性脊柱侧凸相关研究提供良好平台。

【关键词】 脊柱侧凸;低褪黑素水平;双足直立雌鼠

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2014.04.11

中图分类号:R682.3 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2014)-04-0350-05

The effect of bipedal amputation on a scoliosis model of female mouse with low melatonin level/WU Tao, ZHU Zezhang, LIU Jun, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2014, 24(4): 350-354

【Abstract】 Objectives: To establish a better adolescent idiopathic scoliosis(AIS) model of bipedal amputated mouse with low melatonin level. **Methods:** Twenty C57BL/6j female mice and twenty male mice were chosen to serve as low melatonin and divided into two groups according to gender, and twenty C3He/ej male mice were treated as controls. Amputation of forelimbs and tail was performed at 3 weeks old in three groups. After amputation, all these bipedal amputated mice were trained to keep a standing posture. Then X-rays were obtained at the 4th month to determine the development of spinal deformity. Comparisons on the incidence of scoliosis, and curve magnitude were performed among groups. **Results:** After establishing models, all mice were capable of keeping a standing posture for a long time. Scoliosis was observed in 19 out of 20 C57BL/6j female mice with an average Cobb angle of $24.6^{\circ}\pm 6.0^{\circ}$ (range, 17° to 36°), in 16 out of 20 C57BL/6j male mice with an average Cobb angle of $20.8^{\circ}\pm 4.3^{\circ}$ (range, 13° to 31°) and in 9 out of 20 controls with an average Cobb angle of $18.3^{\circ}\pm 2.7^{\circ}$ (range, 13° to 23°). **Conclusions:** A higher scoliosis incidence and more severe curve are observed in C57BL/6j female bipedal mice compared with C57BL/6j male bipedal mice and control mice, which indicates that this model can be used for the research of AIS.

【Key words】 Scoliosis; Low melatonin level; Bipedal amputated female mice

【Author's address】 Department of Orthopedics, Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing, 210008, China

基金项目:青年科学基金资助项目(编号:81301523)

第一作者简介:男(1985-),博士研究生,研究方向:脊柱外科

电话:(025)58509844 E-mail:13770329486@163.com

通讯作者:邱勇 E-mail:Scoliosis2002@sina.com

青少年特发性脊柱侧凸(adolescent idiopathic scoliosis, AIS)是发生于青春期前后的脊柱三维畸形,以女性多见,其在全部脊柱侧凸患者中所占的比例约为 74.7%^[1]。虽然此类脊柱侧凸畸形较为常见,但其具体发病机制至今尚未探明。既往文献报道 AIS 患者体内褪黑素水平较同龄青少年明显偏低,提示低褪黑素水平可能在特发性脊柱侧凸发病过程中发挥重要作用^[2-4]。在此研究基础上,相关研究通过建立低褪黑素水平动物模型,成功诱导脊柱侧凸发生,进一步验证了低褪黑素水平与特发性脊柱侧凸间的相关性。其中,由 Machida 等^[5]和 Oyama 等^[6]提出的 C57BL/6j 双足直立小鼠模型是目前较为经典且易于操作的脊柱侧凸动物模型。为避免雌激素对实验结果的干扰,其在研究中均选用雄性小鼠进行脊柱侧凸模型建立。但是,除了褪黑素外,雌激素在 AIS 发病过程中亦发挥重要作用^[7-12]。应用 C57BL/6j 双足直立雄性小鼠脊柱侧凸模型作为病因学研究无疑是极其成功的,但作为药物干预模型尚存不足,忽略了雌激素在 AIS 发病过程中的作用,使得相关实验结果的可靠性大为下降。本研究采用雌性 C57BL/6j 小鼠作为实验对象,建立与特发性脊柱侧凸发生机制更为近似的雌性 C57BL/6j 双足直立小鼠模型,观察其脊柱侧凸发生率及严重程度,为特发性脊柱侧凸治疗的相关研究提供合适的动物模型。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选取 3 周龄 C57BL/6j 雌性、C57BL/6j 雄性及 C3He/ej 雄性 SPF 级小鼠各 20 只(由南京大学模式动物中心提供),体重 14~16g,将其分为低褪黑素雌性小鼠组(C57BL/6j 雌性小鼠, A 组)、低褪黑素雄性小鼠组(C57BL/6j 雄性小鼠, B 组)、对照组(C3He/ej 雄性小鼠, C 组)。将三组小鼠均按 SPF 级标准进行饲养:温度 20~24℃,光照时间 7:00~19:00,空气湿度 45%~55%,饲料与饮水可随意食用。A、B 组小鼠均饲以低褪黑素含量特殊饲料。

1.2 实验方法

三组小鼠均按 Machida 等提出的方法建立并诱导双足直立小鼠脊柱侧凸模型^[5]:小鼠均于 3 周龄时在腹腔麻醉下行上肢截肢合并鼠尾切除术。首先将氯胺酮(0.05g/ml)与地西洋(5mg/ml) 1

:1 混合溶液按 10ml/kg 剂量进行腹腔注射。待麻醉起效后,将小鼠妥善固定于解剖板上,去除两侧肩关节周围毛发,消毒手术相关区域。首先用剪刀以上肢纵轴为中心环形剪开皮肤,并充分分离近端皮缘。然后于近端皮缘上方用丝线结扎肢体后,切除远端肢体并妥善止血,最后缝合预先游离皮肤并包埋肢体残端。再于尾部基底部后牢固结扎后切除鼠尾,完成双足小鼠模型的建立。术后均采用特殊高笼饲养以诱导其直立体态形成,小鼠于笼内需双足站立方能进食,饲料及饮水水瓶口高度低于双足小鼠直立体长约 1~2cm。直立诱导过程中每日观察鼠笼内饲料及水瓶内水位变化,确定小鼠已进食。术后早期小鼠出现因虚弱无法直立进食时可予以少量食物临时过渡。术后 4 个月,将三组小鼠麻醉,置于一平板上,用线绳固定头部。然后倾斜平板,使之与水平面成 45°角,垂直拍摄 X 线片评估小鼠脊柱侧凸情况。

1.3 统计分析

计算三组双足直立小鼠脊柱侧凸发生率,测量 Cobb 角,并计算 Cobb 角均值及标准差。运用统计学分析软件(SPSS 13.0 软件包),分别用卡方检验和独立样本 *t* 检验分析三组脊柱侧凸发生率及严重程度差异。 $P<0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

三组小鼠经直立体态诱导后均具有保持直立体态能力,双足直立小鼠模型建立成功。三组小鼠建模 4 个月后脊柱侧凸发生情况见表 1 和图 1, A、B 组脊柱侧凸的发生率均明显高于 C 组($\chi^2=11.9048, P=0.005; \chi^2=5.2267, P=0.023$), A、B 两组间脊柱侧凸发生率无显著性差异($P<0.05$)。A 组 14 只为胸弯, 1 只为腰弯, 4 只为胸腰双弯; B 组 9 只为胸弯, 2 只为腰弯, 5 只为胸腰双弯; C 组 6 只为胸弯, 3 只为腰弯。

A 组侧凸小鼠 Cobb 角 17°~36°, 平均 24.6°±6.0°; B 组侧凸小鼠 Cobb 角 13°~31°, 平均 20.8°±4.3°; C 组侧凸小鼠 Cobb 角 13°~23°, 平均 18.3°±2.7°。A 组 Cobb 角明显高于 B 组($t=2.096, P=0.044$)和 C 组($t=3.646, P=0.001$); B 组与 C 组 Cobb 角无显著性差异($P>0.05$)。

3 讨论

AIS 的发病机制至今尚未探明。近年来相关

病因学研究发现其发病可能与遗传、骨骼发育异常、内分泌及代谢系统异常、中枢神经系统异常以及结缔组织异常等有关。其中,低褪黑素水平是 AIS 较为公认的病因之一。1959 年,Thillard 等^[13]无意间发现鸡在松果体切除后常继发脊柱侧凸并报道了这一现象,提示了褪黑素水平异常与脊柱侧凸间可能存在一定关联。但这一成果未被重视。而后 Dubousset 等^[14]于 1983 年在 Thillard 的基础上成功建立了松果体切除脊柱侧凸鸡模型,首次明确提出了低褪黑素水平可能是导致青少年脊柱侧凸发生的重要病因。但由于鸟类与哺乳动物亲缘性较远、物种差异性较大,脊柱形态迥异,体内

激素作用方式与代谢机制也存在显著差异。因此,松果体切除鸡虽可较为稳定地诱导出脊柱侧凸,但并不适合作为青少年脊柱侧凸病因学及治疗相关研究的模型动物。

由于脊柱侧凸鸡模型的上述缺陷,既往研究考虑通过更换模型动物的方法建立与人类 AIS 发生机制更为相近的新型脊柱侧凸动物模型^[15]。在这个过程中,C57BL/6j 小鼠由于其自身优势被作为理想的模型动物被广泛关注。首先,小鼠与人类亲缘性较近,在基因结构与功能、个体发生发育过程、体内激素调控代谢等方面非常相似,更适用于研究内分泌因素对相关疾病的影响;其次,C57BL/6j 小鼠已被证明处于先天性低褪黑素水平状态,可以免除松果体切除手术这一过程,使低褪黑素动物模型更易于建立^[16]。Machida 及研究团队则通过前肢截除+直立体态诱导的方法进一步解决了小鼠与人类体态差异的问题,创立了 C57BL/6j 双足直立小鼠,成功诱导出了脊柱侧凸,并对这一模型进行了系统研究,发现其脊柱侧凸诱导成功率为 64.3%~96.7%,从而肯定了这一模型的有效性^[5,6]。本研究中雄性低褪黑素组双足直立小鼠脊柱侧凸发生率为 80%,与既往文献中脊柱侧凸发生率相符,提示本研究双足直立鼠脊柱侧凸模型建立成功。卡方检验结果显示雄性低褪黑素组双足直立鼠脊柱侧凸发生率明显高于对照组小鼠,再一次验证了低褪黑素在脊柱侧凸发生过程发挥的重要作用。而上述两组小鼠间脊柱侧凸严重程度未见显著性差异,可能是由于对照组小鼠脊柱侧凸发生率较低,样本量偏少,使得两者间差异无法显现。

雄性低褪黑素双足直立小鼠模型准确来说是

表 1 三组双足直立小鼠脊柱侧凸发生情况
Table 1 The difference of scoliosis incidence among three groups of bipedal amputated mice

	诱导成功 Success	诱导失败 Failure	侧凸发生率 Scoliosis Incidence
C57BL/6j 雌性小鼠组 (A 组) C57BL/6j Female mice (Group A)	19	1	95%
C57BL/6j 雄性小鼠组 (B 组) C57BL/6j male mice (Group B)	16	4	80%
C3Heej 雄性小鼠组 (C 组) C3Heej male mice (Group C)	9	11	45%

注:三组间比较 $\chi^2=13.4659, P<0.05$; A 组与 B 组比较 $\chi^2=0.9143, P=0.366$; A 组与 C 组比较 $\chi^2=11.9048, P<0.05$; B 组与 C 组比较 $\chi^2=5.2267, P<0.05$

Note: The result of Chi-square test showed that the comparison among three group, $\chi^2=13.4659, P<0.05$; group A vs group B, $\chi^2=0.9143, P=0.366$; group A vs group C, $\chi^2=11.9048, P<0.05$; group B vs group C, $\chi^2=5.2267, P<0.05$

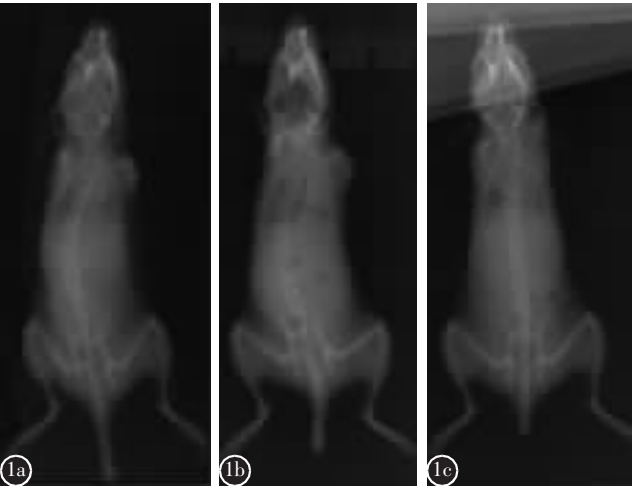


图 1 三组双足直立小鼠模型 X 线片表现 a C57BL/6j 雌性双足小鼠经直立诱导后脊柱 X 线片示胸腰弯, Cobb 角 29° b C57BL/6j 雄性双足小鼠经直立诱导后脊柱 X 线片示胸弯, Cobb 角 23° c C3Heej 雄性双足小鼠经直立诱导后 X 线片示无脊柱畸形

Figure 1 The appearance and X-ray of bipedal amputated mice in three groups a X-ray of C57BL/6j bipedal amputated female mice with a thoracolumbar scoliosis(29°) after standing posture training b X-ray of C57BL/6j male bipedal amputated mice with a thoracic scoliosis(23°) c X-ray of C3Heej male bipedal amputated mice without scoliosis

一种单一病因脊柱侧凸动物模型,它较好地显示了低褪黑素水平对脊柱侧凸发生发展过程中发挥的作用,但作为疾病干预治疗动物模型尚有不足。Machida 等^[5]尝试予以外源性褪黑素治疗双足直立 C57BL/6j 小鼠脊柱侧凸,取得了良好效果。Akel 等^[17]亦采用该模型研究钙调蛋白拮抗剂对 AIS 的治疗作用,发现钙调蛋白拮抗剂可以减少 AIS 发生率及严重程度。由于此脊柱侧凸模型的局限性,上述研究结果仅针对于单纯低褪黑素源性脊柱侧凸,难以真正推广至 AIS 临床实践。众所周知, AIS 发病存在明显的性别差异,其发病男女比例约为 1:4,提示性别因素在 AIS 发病过程中发挥重要作用。而大量相关研究亦从多个角度提示雌激素信号通路异常在 AIS 发病过程中起到至关重要的作用^[7-12]。为弥补雄性低褪黑素双足直立鼠的缺陷,本研究中首次采用雌性 C57BL/6j 幼鼠建立双足直立小鼠模型并诱导脊柱侧凸发生,在原有模型基础上加入雌激素的干预,使该模型脊柱侧凸发生过程与人类 AIS 更为相近,为脊柱侧凸药物预防及治疗等提供了更为相符的研究平台。本研究中雌性 C57BL/6j 双足直立鼠经 20 周直立体态诱导后脊柱侧凸发生率高达 95%,虽然其脊柱侧凸发生率与雄鼠组无显著性差异,但其发生率已明显超过雄鼠组(80%),可能由于两种模型均有较高的脊柱侧凸诱导成功率,两者之间的差异需更大样本的研究方能显现。此外,雌性低褪黑素双足直立鼠脊柱侧凸严重程度不仅明显高于对照组小鼠,亦显著高于雄性组小鼠,提示除了低褪黑素外,性别因素也对脊柱侧凸发生发展过程产生了较大影响。与既往文献中雄性小鼠模型相比,该模型具有高脊柱侧凸发生率、较严重脊柱侧凸及与 AIS 发病相近机制等优势,可为研发 AIS 治疗药物提供理想的研发平台。但本研究样本量较少,结果可能存在一定偏倚。C57BL/6j 雄性小鼠模型原本脊柱侧凸诱导率已较高(64.3%~96.7%),难以直接比较雌性小鼠与雄性小鼠脊柱侧凸发生率间差异,两种脊柱侧凸模型差异可能在药物干预情况下才能体现出来。而且本研究脊柱侧凸评估过程中,小鼠麻醉程度以及相关操作也可能一定程度上造成实验结果的误差。因此,在今后工作中应针对上述问题进行探讨,进一步探究雌性 C57BL/6j 双足直立脊柱侧凸小鼠模型特征及应用前景。

本研究结果显示,利用雌性低褪黑素双足直立雌鼠建立脊柱侧凸成功率高,脊柱侧凸程度严重,可以更好地模拟特发性脊柱侧凸发生发展过程,可为研究特发性脊柱侧凸的治疗提供良好平台。

4 参考文献

1. 邱勇, 朱丽华, 宋知非, 等. 脊柱侧凸的临床病因学分类研究[J]. 中华骨科杂志, 2000, 20(5): 265-268.
2. Fagan AB, Kennaway DJ, Sutherland AD. Total 24-hour melatonin secretion in adolescent idiopathic scoliosis: a case-control study[J]. Spine, 1998, 23(1): 41-46.
3. Bagnall KM, Raso VJ, Hill DL, et al. Melatonin levels in idiopathic scoliosis: diurnal and nocturnal serum melatonin levels in girls with adolescent idiopathic scoliosis [J]. Spine, 1996, 21(17): 1974-1978.
4. Machida M, Dubousset J, Yamada T, et al. Serum melatonin levels in adolescent idiopathic scoliosis prediction and prevention for curve progression: a prospective study [J]. J Pineal Res, 2009, 46(3): 344-348.
5. Machida M, Dubousset J, Yamada T, et al. Experimental scoliosis in melatonin-deficient C57BL/6J mice without pinealectomy[J]. J Pineal Res, 2006, 41(1): 1-7.
6. Oyama J, Murai I, Kanazawa K, et al. Bipedal ambulation induces experimental scoliosis in C57BL/6J mice with reduced plasma and pineal melatonin levels[J]. J Pineal Res, 2006, 40(3): 219-224.
7. Inoue M, Minami S, Nakata Y, et al. Association between estrogen receptor gene polymorphisms and curve severity of idiopathic scoliosis[J]. Spine, 2002, 27(21): 2357-2362.
8. Wu J, Qiu Y, Zhang L, et al. Association of estrogen receptor gene polymorphisms with susceptibility to adolescent idiopathic scoliosis[J]. Spine, 2006, 31(10): 1131-1136.
9. Letellier K, Azeddine B, Parent S, et al. Estrogen cross-talk with the melatonin signaling pathway in human osteoblasts derived from adolescent idiopathic scoliosis patients [J]. J Pineal Res, 2008, 45(4): 383-393.
10. Leboeuf D, Letellier K, Alos N, et al. Do estrogens impact adolescent idiopathic scoliosis [J]. Trends Endocrinol Metab, 2009, 20(4): 147-152.
11. 陈海鸥, 邱勇, 邱旭升, 等. 雌激素 β 受体基因多态性与青少年特发性脊柱侧凸关系的研究[J]. 中华骨科杂志, 2009, 29(1): 54-60.
12. 吴洁, 邱勇, 张乐, 等. 青少年特发性脊柱侧凸患者骨组织中雌激素受体的表达[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2007, 17(7): 528-531.
13. Thillard MJ. Deformation de la collone vertebrale consecutives a lepiphysectomie chez le poussin [J]. Extrait des Comptes Rendus de l'Association des Anatomistes, 1959, 46(1): 22-26.

基础研究

颈椎三维运动状态下颈脊髓所受压力与
脊髓腹侧致压深度的关系

陈 祺, 赵 斌, 赵轶波, 赵晓峰

(山西医科大学第二附属医院骨科 030002 山西省太原市)

【摘要】目的:探讨颈椎三维运动状态下颈脊髓所受压力与脊髓腹侧致压深度的关系。**方法:**采用 10 具新鲜成人尸体颈椎标本(C1~T1), 于 C4/5 椎间隙水平前后开窗, 通过腹侧置入半球形致压杆, 模拟颈椎间盘退变时对颈脊髓腹侧致压。致压深度分别为椎管矢状径的 10%~60%, 逐次递增 10%, 分别测量三维运动状态下不同致压深度颈脊髓腹背侧所受压力。**结果:**(1)中立位、后伸 30°位、侧弯 30°位、旋转 15°位时致压深度 10%和 20%颈脊髓腹侧压力差异无统计学意义($P>0.05$), 致压深度 30%时颈脊髓腹侧压力明显增加, 30%~60%时颈脊髓腹侧压力随致压深度的增加而增大, 相邻致压深度两两比较差异有统计学意义($P<0.05$)。前屈 30°时, 致压深度 20%时颈脊髓腹侧压力即明显增加, 20%~60%时颈脊髓腹侧压力随致压深度的增加而增大, 各相邻致压深度两两比较差异有统计学意义($P<0.05$)。(2)中立位及各运动形式下硬脊膜背侧所受压力随致压深度的增加无明显增加, 各相邻致压深度间两两比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论:**颈脊髓腹侧所受压力与致压深度密切相关, 并随着运动方式不同而改变, 提示脊髓腹侧致压时颈椎前屈位脊髓损伤风险增大。

【关键词】 颈脊髓; 腹侧致压; 三维运动; 生物力学

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2014.04.12

中图分类号: R318.01, R681.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2014)-04-0354-05

Biomechanical study of the pressure sustained by cervical cord-meningeal complex under three-dimensional movement/CHEN Qi, ZHAO Bin, ZHAO Yibo, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2014, 24(4): 354-358

【Abstract】 Objectives: To investigate the relationship between the pressure sustained by cervical cord-meningeal complex(CCMC) and the strength under the 3D movement. **Methods:** 10 intact fresh cervical spines (C1-T1) from adult cadaver were collected, and a hemispherical steel ball was placed in the front of the spine canal through the C4/5 bone window to simulate the pressure of ventral side of CCMC caused by cervical disc herniation. The ventral side of CCMC was compressed with the depth of canal stenosis varying from 10% to 60%(with an interval of 10%), and the pressure change on the ventral and dorsal side of CCMC following different depths of stress under the 3D movement was measured. **Results:** (1)In neutral position, 30° of extension, 30° of lateral and 15° of rotation, the pressure on the ventral side of CCMC showed no significance with strength of stress between 10% and 20%($P>0.05$); while the pressure on the ventral side of CCMC

第一作者简介: 男(1986-), 硕士研究生, 研究方向: 脊柱外科电

话: (0351)3365103 E-mail: cq2004se7en@gmail.com

通讯作者: 赵斌 E-mail: zzb2005@tom.com

14. Dubousset J, Queneau P, Thillard M. Experimental scoliosis induced by pineal and diencephalic lesions in young chickens: its relation with clinical findings[J]. Orthop Trans, 1983, 7(1): 7-10.

15. 沈晓龙, 周许辉, 刘洋, 等. A 型肉毒毒素一侧椎旁肌注射建立双足直立鼠脊柱侧凸模型的初步研究[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2012, 22(9): 824-828.

16. Goto M, Oshima I, Tomita T, et al. Melatonin content of the

pineal gland in different mouse strains[J]. J Pineal Res, 1989, 7(2): 195-204.

17. Akel I, Demirkiran G, Alanay A, et al. The effect of calmodulin antagonists on scoliosis: bipedal C57BL/6 mice model[J]. Eur Spine J, 2009, 18(4): 499-505.

(收稿日期: 2013-11-11 修回日期: 2013-12-27)

(英文编审 蒋欣/贾丹彤)

(本文编辑 卢庆霞)