基础研究 文章编号:0253-3626(2010)06-0864-05

黄芪对兔耳增生性瘢痕作用的实验研究

张 艳,邱 林,吴清华,李明勇
(重庆医科大学附属儿童医院烧伤整形外科,重庆 400014)

【摘 要】目的:观察黄芪(Radix astragali)对日本大耳白兔增生性瘢痕的作用。方法:日本大耳白兔 20 只,建立兔耳增生性瘢痕动物模型。待创面上皮化(伤后 21 d)将其随机分为 5 组,每组 4 只,实验组 A、B、C 分别局部注射不同浓度的黄芪注射液,对照组 D 局部注射生理盐水,对照组 E 为空白对照。分别在伤后 32、43 d 测量瘢痕厚度、硬度,并常规做 HE 染色,RT-PCR 观察瘢痕组织中转化生长因子 β1(Transforming growth factor-β1,TGF-β1) mRNA 水平的变化,免疫组化观察 TGF-β1 蛋白的表达。结果:治疗组中瘢痕厚度、硬度与药物浓度呈负相关($P<0.05$),治疗组瘢痕组织中 TGF-β1mRNA 和其蛋白水平均明显减少,呈剂量效应关系;与生理盐水和空白对照组比较,差异有统计学意义,实验组在伤后 32、43 d 时两组间差异有统计学意义($P<0.05$),对照组在伤后 32、43 d 时两组间差异无统计学意义($P>0.05$)。结论:黄芪注射液通过减少 TGF-β1mRNA 水平合成,减少 TGF-β1 蛋白的表达,从而抑制兔耳增生性瘢痕组织增生,显示黄芪注射液可能是治疗增生性瘢痕较好的药物。

【关键词】黄芪;增生性瘢痕;转化生长因子 β1
【中国图书分类法分类号】R726.2 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-09-03

The effects of radix astragali on hypertrophic scars in rabbit ears

ZHANG Yan, et al
(*Department of Burns and Plastic Surgery, the Children's Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To observe the effects of radix astragali on hypertrophic scars in rabbit ears. *Methods*: Twenty healthy adult Japanese big ear rabbits were given hypertrophic scars over the ventral surface of the ears and on the 21st day after wound, animals were randomly divided into the treated groups (groups A, B, and C were treated with radix astragali in different concentrations)and the control groups (groups D and E were treated with saline and blank control, respectively). On the 32nd and 43rd day after wound, the thickness and hardness of scar were measured.The TGF-β1mRNA were detected in hypertrophic scar samples with RT-PCR.The change of scar tissues was observed with H&E staining and immunohistochemical staining with TGF-β1. *Results*: The thickness and hardness of scar were inversely correlated with the concentration of radix astragali in the radix astragali-treated group($P<0.05$).Image analysis demonstrated that the expression of TGF-β1mRNA and its protein in all radix astragali-treated groups were significantly reduced as compared with those in saline group and blank control group; There was significant difference in treated groups ($P<0.05$), but no significant difference in control groups ($P>0.05$) between the 32nd day and

作者介绍:张 艳(1983-),女,硕士,
研究方向:儿童烧伤整形。
通讯作者:邱 林,女,副教授,E-mail:qiulin118@gmail.com。

[9] Anne S, Tuomas T, Anniina Fürkkilä, et al. Vascular endothelial growth factor-C accelerates diabetic wound healing[J]. Am J Pathol, 2006, 169(3): 1080-1087.
[10] Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenes[J]. Nature Med, 2000, 6(6): 389-395.
[11] Elson D A, Thurston G, Huang L E, et al. Induction of hypervascularity without leakage or inflammation in transgenic mice over-expressing hypoxia-inducible factor-1 α[J]. Genes Dev, 2001, 15(19): 2520-2532.
[12] Song E, Yue H, X Qi, et al. Effects of high-concentration insulin on expression of vascular endothelial growth factor in cultured Müller cells in vitro[J]. Chinese Journal of Ophthalmology, 2004, 40(1): 201-204.
[13] Poulaki V, Qin W, Joussen A M, et al. Acute intensive insulin therapy exacerbates diabetic blood-retinal barrier breakdown via hypoxia-inducible factor-1 α and VEGF[J]. J Clin Invest, 2002, 109(6): 805-815.
[14] Camelia R B, Stephen M T. Fibrosis in diabetes complications: pathogenic mechanisms and circulating and urinary markers[J]. Vascular Health Risk Management, 2008, 4(3): 575-596.
[15] Clinton M, Duane R H. Burn wound Infections[J]. Clin Microbiol Rev, 2006, 19(2): 403-434.
[16] Yoshiyuki Kimura, Maho Sumiyoshi, Kazuhiro Kawahira, et al. Effects of ginseng saponins isolated from red ginseng roots on burn wound healing in mice [J]. Br J Pharmacol, 2006, 148(6): 860-870.
[17] Hirsch T, Spielmann M, Zuhaili B, et al. Enhanced susceptibility to infections in a diabetic wound healing model[J]. BMC Surg, 2008, 8(5): 2482-2490.

(责任编辑:关蕴良)

43rd day groups. *Conclusion*: Radix astragali could inhibit proliferation of hypertrophic scars in the rabbit ears by decreasing the expression of TGF-β 1mRNA and its protein. Thereby radix astragali may have beneficial effects in the treatment of hypertrophic scar.
【Key words】Radix astragali; Hypertrophic scar; TGF-β 1

瘢痕是继发于创伤后创面修复过程中形成的结构异常的纤维化组织,过度愈合的创面形成增生性瘢痕或瘢痕疙瘩影响美观,甚至瘢痕挛缩导致畸形,影响机体的功能。目前瘢痕的治疗方法主要有药物、压迫、放射、激光以及外科手术等治疗方法,但尚无一种方法具有绝对的权威性[1],各种治疗方法都在不断地探索之中。因此,如何调控瘢痕使其增生至适当的程度,成为当今医学研究的热点。黄芪(Radix astragali)是豆科植物蒙古或膜荚黄芪的干燥根,是一类有很大发展潜力的药物,黄芪注射液的主要化学成分为黄芪甲甙、黄芪多糖、黄芪黄酮及微量元素硒等,具有调节免疫、抑制炎症、抗纤维化的作用[2,3]。本研究采用兔耳瘢痕模型,观察并研究了黄芪对增生性瘢痕组织作用的影响,为增生性瘢痕防治药物临床应用提供理论和实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

黄芪注射液(成都地奥九泓制药厂生产)10 ml(相当于生药 20 g)1 支,共 6 支/盒,Trizol RNA 提取试剂、PCR 试剂(TIANGEN),RT 试剂盒(TOYOBO),转化生长因子 β 1(TGF-β 1)抗体(中国武汉博士德公司),三步法染色试剂盒和 DAB 试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立 健康成年日本大耳白兔 20 只,体重 1.8 ~ 2.5 kg,雌雄不论,购自重庆医科大学实验动物中心,分笼饲养。

动物瘢痕模型的制作参照 Morris[4]方法并加以改良:速眠新臀部肌注(0.2 ml/kg)麻醉。常规消毒兔耳腹侧面,在每侧的兔耳腹侧中部沿长轴避开血管做 4 个边长为 1 cm 的正方形切口,完整切除全层皮肤及软骨膜,保留软骨,其间相距 1 cm,创面用湿盐水纱布压迫止血、油纱覆盖,其上用弹力胶带固定,每日更换敷料 1 次,直至其痊愈后形成瘢痕增生块。

1.2.2 动物分组及处理 20 只日本大耳白兔共制备 160 个全层皮肤缺损创面,伤后 21 d 创面均上皮化,局部注射黄芪液,注射用量为 0.2 ml,注射时每组均从瘢痕周围正常皮肤约 0.5 cm 处刺入至瘢痕中央内注射,致瘢痕变苍白并稍隆起。造有瘢痕的兔子随机分为 5 组,其中实验组 3 组:A 组:浓度为 1 g/ml 黄芪治疗组(高)、B 组:浓度为 500 mg/ml 黄芪治疗组(中)、C 组:浓度为 250 mg/ml 黄芪治疗组(低)、阳性对照组 D 组:相同容积的生理盐水对照组、阴性对照组 E 组:未处理的瘢痕组,A、B、C、D、E 各 4 只兔子 (32 个瘢痕),4 d 后再注射 1 次,于其后 1 周(术后 32 d)取材、取每组瘢痕数的一半;取材后当天接着注射剩余的瘢痕,4 d 后再次注射,其后 1 周(术后 43 d)行剩余瘢痕取材。取材方式:按 1.2.1 麻醉方式及消毒,切口沿瘢痕边缘位于兔耳正常皮肤与瘢痕交界处,垂直于皮肤表面,深达软骨表面,整个瘢痕组织完整切取。将每个瘢痕平均分成 2 份,1 份用作 HE 及 TGF-β 1 免疫组织化学染色,1 份用作 TGF-β 1mRNA 检测(每次等分切取 1/2 份用来检测)。

1.2.3 瘢痕厚度测定 术后 32、43 d 用彩色超声诊断仪(探头超声频率为 13 MHz),于同一测定人在相同条件下测定各组创面形成瘢痕的厚度。

1.2.4 瘢痕硬度测定 术后 32、43 d 用瘢痕硬度精密测定仪测定瘢痕硬度:将硬度计垂直放置于待测的瘢痕和皮肤上,靠硬度计本身重量作用于测定部位,根据测定不同瘢痕和皮肤的硬度不同,仪表上即显示不同的数据。每个瘢痕、皮肤分别测定 3 次,计算平均值,将读数换算成硬度值,单位为 N/mm^2。

1.2.5 瘢痕组织 HE 染色 瘢痕组织标本用 4%多聚甲醛固定,石腊包埋,连续 5 μm 厚度切片,常规爬片。做 HE 染色,观察增生性瘢痕的病理表现。

1.2.6 TGF-β 1 免疫组化 切片二甲苯脱腊和梯度酒精脱水,3%过氧化氢阻断过氧化物酶。然后与 TGF-β 1 一抗(1:100)4℃冰箱孵育过夜,滴加适量生物素标记山羊抗鼠 IgG,37℃孵育 20 min,磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗 3 × 5 min,滴加辣根酶标记链霉卵白素,37℃孵育 20 min,PBS 冲洗 3 × 5 min,DAB 显色,自来水充分冲洗,如需要,苏木素复染,脱水,透明,封片。于光镜下观察阳性信号,阳性信号为黄色。在 400 倍光镜下观察结果,在每张切片的上、中、下、左、右找 5 个视野进行计数,阳性细胞反应率(R)= 阳性细胞数/细胞总数,结果取均数。

1.2.7 TGF-β 1 mRNA 的水平的分析 Trizol 提取兔耳瘢痕组织总 RNA,方法按照试剂说明书操作,用紫外分光光度计测定 RNA 纯度和浓度,RT-PCR 分析 TGF-β 1,看家基因 β 肌动蛋白(β-actin)作为内参照,TGF-β 1 上游引物序列:5'-CGG CAG CTG TAC ATT GAC TT-3', 下游引物序列:5'-AGC GCA CGA TCA TGT TGG AC-3',扩增片断长度 271 bp。β-actin 上游引物序列:5'-CTA CAA TGA GCT GCG TGT GG-3', 下游引物序列:5'-TAG CTC TTC TCC AGG GAG GA-3', 扩增片断长度 450 bp。RT-PCR 反应按照该反应试剂盒说明操作,PCR 条件为 95℃ 5 min,95℃ 30 s,55℃ 1 min,72℃1 min,30 循环,72℃ 5 min;取 10 μl PCR 产物,1.5%琼脂糖凝胶电泳,紫外灯下观察拍照,用凝胶图像分析系统检测灰度值(IVD),对条带量化处理。

1.3 统计学处理

兔耳瘢痕组织学检测数据分析采用 SPSS13.0 统计分析软件完成，数据采用均数 ± 标准差表达，采用配对设计的 t 检验、单因素方差分析，以 $P<0.05$ 确定差异有显著意义。

2 结 果

2.1 瘢痕组织学观察结果

在术后 32、43 d 兔耳瘢痕组织治疗组瘢痕面积变小，高度变低，质地变软，与对照组相差十分显著，在 HE 染色法切片上，对照组瘢痕组织内大量成纤维细胞、细胞外基质和毛细血管，浅部可见环形或螺旋样分布，组织内少量炎性细胞，黄芪治疗组瘢痕组织内成纤维细胞明显少于对照组，表皮层增厚，成纤维细胞排列较规则，细胞外基质多，可见少量毛细血管，在术后 43 d 兔耳瘢痕组织治疗组较术后 32 d 真皮层更薄，成纤维细胞排列较整齐。见图 1。

2.2 瘢痕厚度测定

在术后 32、43 d 兔耳瘢痕组织对照组 D 组、E 组愈合创面厚度接近，明显高于 A、B、C 组，而 C 组又高于 A、B 组。且术后 43 d 的愈合创面厚度与术后 32 d 相比有明显的降低。

2.3 瘢痕硬度测定

瘢痕硬度测得的结果与瘢痕厚度一致。

2.4 TGF-β1 免疫组织化学

在术后 32、43 d 兔耳瘢痕组织对照组 D 组、E 组 TGF-β1 表达明显，黄色为阳性表达，在 A、B 黄芪治疗组 TGF-β1 表达明显下降，C 组 TGF-β1 表达有所下降。且术后 43 d 的 TGF-β1 表达比术后 32 d 有明显下降。见图 2。

2.5 TGF-β1mRNA 的表达

在术后 32 d 的瘢痕组织中，RT-PCR 结果表明，各实验组泳道中内参 β-actin 条带亮度强弱相似，说明 RT-PCR 中加入的模板的量一致，而扩增的 TGF-β1 电泳带亮度强弱存在差异。

应用 Image Master VDS 图像系统分析结果，以生理盐水对照组的 RT-PCR 为标准（亮度定为 100），其中高浓度（A）、中浓度（B）、低浓度黄芪治疗组（C）TGF-β1mRNA 的扩增带亮度明显减弱，分别为生理盐水对照组（D）的 73.9%、84.3%、91.5%，但未抑制 β-actinmRNA 的表达，提示黄芪治疗组成功抑制 TGF-β1 基因的表达；而空白对照组及生理盐水对照组的 TGF-β1mRNA 的表达无明显差异。术后 43 d 的瘢痕组织中，高（A）、中（B）、低（C）浓度治疗组 TGF-β1mRNA 的扩增带亮度分别为生理盐水对照组（D）的 46.9%、68.1%、

表 1 各组瘢痕厚度(mm)

组别	例数	瘢痕厚度（mm）	
		32 d	43 d
空白对照组	16	1.862 ± 0.143	1.846 ± 0.145
生理盐水组	16	1.874 ± 0.146	1.853 ± 0.144
低浓度组	16	1.696 ± 0.142*	1.516 ± 0.141*
中浓度组	16	1.533 ± 0.144*	1.313 ± 0.164*
高浓度组	16	1.343 ± 0.167*	1.071 ± 0.152*

注：与对照组比较，*$P<0.01$；术后 32 d 与 43 d 配对 t 检验，*$P<0.01$

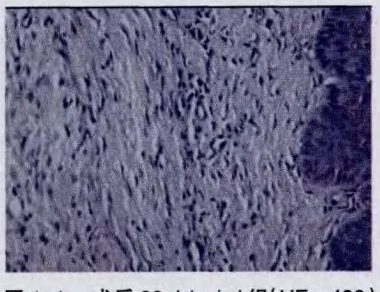


图 1-1 术后 32 d 1 g/ml 组（HE × 400）

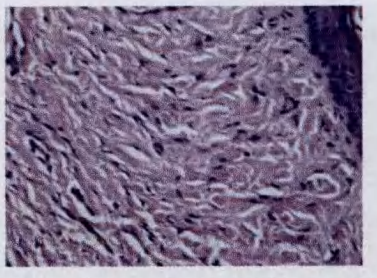


图 1-2 术后 32 d 生理盐水组（HE × 400）

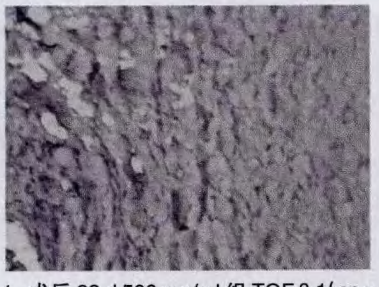


图 2-1 术后 32 d 500 mg/ml 组 TGF β 1（sp × 400）



图 2-2 术后 43 d 500 mg/ml 组 TGF β 1（sp × 400）

表 2 各组瘢痕硬度(N/mm²)

组别	例数	瘢痕硬度(N/mm²)	
		32 d	43 d
空白对照组	16	0.559 ± 0.033	0.557 ± 0.032
生理盐水组	16	0.561 ± 0.034	0.558 ± 0.031
低浓度组	16	0.530 ± 0.024*	0.498 ± 0.020*
中浓度组	16	0.499 ± 0.021**	0.462 ± 0.029**
高浓度组	16	0.468 ± 0.028*	0.425 ± 0.009*

注:与对照组比较,*P<0.05,**P<0.05;术后 32 d 与 43 d 配对 t 检验,*P<0.01,**P<0.05

表 3 各组 TGF-β1 表达分析(%)

组别	例数	TGF-β1 表达量	
		32 d	43 d
空白对照组	16	6.008 ± 0.851	5.923 ± 0.859
生理盐水组	16	6.064 ± 0.853	6.001 ± 0.864
低浓度组	16	5.081 ± 0.736*	4.103 ± 0.770*
中浓度组	16	4.166 ± 0.761*	3.023 ± 0.839*
高浓度组	16	3.154 ± 0.801*	1.955 ± 0.834*

注:与对照组比较及各实验组间比较,P<0.05;术后 32 d 与 43 d 配对 t 检验,*P<0.05

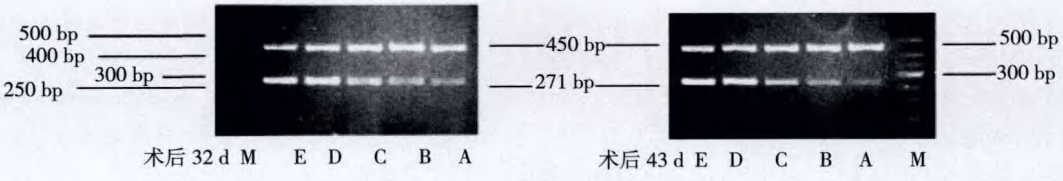


图 3 TGF-β1 mRNA 的表达

表 4 各组 TGF-β1 mRNA 表达分析(%)

组别	例数	TGF-β1 mRNA 扩增带亮度	
		32 d	43 d
空白对照组	16	100	100
生理盐水组	16	100	100
低浓度组	16	91.5	82.7
中浓度组	16	84.3	68.1
高浓度组	16	73.9	46.9

82.7%,较术后 32 d 的 TGF-β1mRNA 的扩增带亮度呈明显减弱,但对照组间无明显差异。

3 讨 论

增生性瘢痕是整形外科基础研究的重要课题之一,严重创伤、烧伤及外科手术后常常遗留增生性瘢痕,影响外观和功能,但一直都缺乏理想的治疗方法。近年来大量的研究热衷于从祖国中医中药中筛选出疗效确切、副作用小的有效药物来抗疤痕纤维化。但对于药物防治瘢痕增生的研究手段,主要有 3 种途径:一是细胞培养,尤其是成纤维细胞培养,通过药物对成纤维细胞的作用来进行筛选;二是将人的病理性瘢痕组织移植到裸鼠的皮下,研究药物对瘢痕组织作用产生的变化;三是通过药物临床实践来总结有关药物防治和瘢痕的经验。这些方法已经取得了一定的成绩。然而,只有动物本身产生的瘢痕模型,才能深入地研究瘢痕发生、发展及其转归。本实验成功建立了兔耳瘢痕动物模型,有利于对瘢痕治疗的进一步研究。目前广泛认为增生性瘢痕是成纤维细胞过量增殖和胶原纤维过度沉积的结果[5]。在随着对瘢痕组织纤维化发生机制研究的不断深入,大量研究结果证实创伤愈合瘢痕形成是个复杂的过程,涉及细胞、细胞基质和细胞因子间的相互作用[6],其中细胞因子在瘢痕组织纤维化发生发展中起关键作用。

在多种器官纤维化的研究中,TGF-β1 是研究得最多、

作用最强的致纤维化因子,也是首先被发现得有利于创口愈合的因子[7],TGF-β1 的持续存在会不断刺激成纤维细胞诱导基质产生,导致过度的细胞外基质(ECM)沉积的纤维反应[8]。巨噬细胞、上皮细胞、内皮细胞、成纤维细胞等多种细胞分泌 TGF-β1,其主要作用表现为:(1)趋化并促进成纤维细胞分裂增殖及成熟分化;(2) 刺激成纤维细胞大量合成胶原蛋白Ⅰ、Ⅲ、Ⅳ型,尤其是Ⅳ型胶原蛋白,以增加真皮间质的胶原成分, 同时 TGF-β1 可抑制胶原蛋白酶及纤溶酶原激活物的合成,增加蛋白酶抑制物的形成,以减少真皮间质 ECM 的降解,造成 ECM 调控失衡;(3)趋化炎细胞及单核巨噬细胞,合成释放血小板源性生长因子(PDGF)、胰岛素样生长因子(IGFs)、肿瘤坏死因子(TNF)和白介素(IL-1、IL-6)等细胞因子,提高其生物活性。在各种实验模型和临床纤维化疾病中,TGF-β1 持续上调,抑制 TGF-β1 的生物活性会抑制基质生成和调节纤维化过程[9],这个指标是检测瘢痕形成或者预后的比较好的指标之一,因此我们选用它作为测量指标。

本实验采用局部注射黄芪对兔耳瘢痕进行治疗,为避免注射不同浓度或对照药物出现相互影响,我们对造模兔子随机分组后行局部药物干预,发现治疗组中瘢痕厚度、硬度与药物浓度呈负相关,治疗组瘢痕组织中 TGF-β1 蛋白和其 mRNA 水平均明显减少,呈剂量效应关系;与生理盐水和空白对照组比较,其表达呈显著性降低;不同时间点(术后 32、43 d)取材的同浓度黄芪治疗组间相比,术后 43 d 的 TGF-β1 蛋白和其 mRNA 表达较术后 32 d 明显减少;然而生理盐水、空白对照组间其表达无明显变化。由此显示黄芪可以明显抑制 TGF-β1 mRNA 的表达,进而抑制 TGF-β1 蛋白的表达,减少 TGF-β1 产生;同时 HE 染色结果显示,黄芪药物治疗组中成纤维细胞明显少于对照组,表皮层增厚,成纤维细胞排列较规则,细胞外基质多,可见少量毛细血管,充分说明黄芪通过抑制成纤维细胞及 TGF-β1 的增生,起到减轻瘢痕形成的作用,并且在一定范围内其疗效与药物浓度成正比。

现代创伤研究证明成纤维细胞是创伤后组织修复的主要细胞,皮肤等软组织损伤后,经成纤维细胞增殖、肉芽组织形成、胶原合成沉积后创面愈合。若此反应过度则病理性瘢痕即不可避免。在本实验过程中我们观察到,伤后 21 d 创面全部上皮化后,即出现增生性硬块,略高出周围皮肤,此时开始注射药物以避免瘢痕过度增生,尽管创面上皮化之前局部用药可预防瘢痕增生,但研究提示黄芪有抑制胶原合成的作用,影响创面愈合,故在伤口愈合后即可局部注射黄芪对兔耳瘢痕进行治疗,以免在伤口愈合阶段使用延迟伤口愈合。本实验采用局部注射除可以大大减少全身的副作用外,还能更大地提高瘢痕局部的药物浓度。虽然目前局部注射曲安奈德或得宝松等激素对瘢痕治疗效果显著,但本方法一次性局部给药,药效持续时间短,局部组织的高浓度易造成用药局部肌萎缩、色素减退或脱毛,毛细血管扩张及至皮肤坏死、溃疡形成,经血管吸入可产生失眠等。全身反应如高血压、骨质疏松、消化系统溃疡穿孔等。相比之下,中药的副作用更小,尤其对于禁忌使用糖皮质激素的患者。因此,黄芪瘢痕内局部注射具备临床推广的价值。但由于我们使用的黄芪成分复杂,其具体作用机理往往是多靶点、多环节地,亟需更深层次的研究为其临床治疗提供有力的依据。

参 考 文 献

[1] 李荟元.瘢痕防治讲座(二)[J].中国美容医学,2002,11(12):183-185.

[2] 赵 杰,王 竞.黄芪注射液对支气管哮喘模型大鼠的免疫调节作用[J].现代预防医学,2007,34(15):2845-2846.

[3] 马桂凤,王 莉,季万胜,等.黄芪注射液对肝纤维化大鼠模型肝细胞胶原及 TGF-β1 表达的影响[J].中国现代医生,2007,45(15):20-21.

[4] Morris D E,Wu L,Zhao L L,et al.Acute and chronic animal models for excessive dermal scarring:quantitative[J].Plast Reconstr surg,1997,100:674-681.

[5] Tredget E E,Nedelec B,Scott P G,et al.Hypertrophic scars,keloids,and contractures:The cellular and molecular basis for therapy[J]. Surg Clin North Am,1997,77(3):701-705.

[6] Li j,Chen J,Kirsner R,et al.Pathophysiology of acute wound healing [J].Clin Dermatol,2007,25(1):9-18.

[7] Tateshita T,Ono I,Kaneko F,et al. Efect of collagen matrix containing transforming growth factor (TGF)-beta (Ⅰ)on wound contraction[J]. Dermatol Sci,2001,27(2):104-113.

[8] 陈 伟,付小兵,葛世丽,等.增生性瘢痕形成和成熟过程中 TGF-β1、TGF-β3 及其受体的基因表达变化[J].中华整形外科杂志,2004,7(20):308-309.

[9] Isaka Y,Tsujie M,Ando Y,et al.Transforming growth Factor-beta 1 antisense oligodeoxy-nucleotides block interstitial fibrosis in unilateral ureteral obstruction[J].Kidney Int,2000,58(5):1885-1892.

(责任编辑:关蕴良)

欢迎投稿,欢迎订阅

《重庆医科大学学报》

邮发代号 78-132