

大鼠子宫肌瘤模型造模方法研究进展*

杨荣兰¹ 李凤灵¹ 魏 青¹ 彭必龙¹ 徐萌萌^{2△}

摘要:子宫肌瘤是女性生殖系统最常见的肿瘤之一。大鼠子宫肌瘤模型是临床前研究的重要载体,对评判药物效能具有重要作用。大鼠子宫肌瘤模型的造模方法以化学诱导法最为常见,此文对化学诱导法中的雌激素单模法,雌孕激素双重造模法,雌孕激素负荷结合多因素刺激法等具体造模方法的差异进行总结,旨在为临床治疗子宫肌瘤提供技术和理论支持。

关键词: 瘢痕;子宫肌瘤;动物模型;大鼠;雌激素;孕激素

doi:10.3969/j.issn.1003-8914.2024.02.058 文章编号:1003-8914(2024)-02-0405-04

Research Progress in the Modeling Methods of Rat Uterine Fibroids

YANG Ronglan¹ LI Fengling¹ WEI Qing¹ PENG Bilong¹ XU Mengmeng^{2△}

(1. The First Clinical Medical College, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guizhou Province, Guiyang 550025, China;

2. School of Basic Medicine, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guizhou Province, Guiyang 550025, China)

Abstract: Uterine fibroids are one of the most common tumors of the female reproductive system. The rat uterine fibroid model is an important carrier for preclinical study and plays an important role in evaluating drug efficacy. The chemical induction method is the most common method for the modeling of rat uterine fibroids. This paper summarized the differences of specific modeling methods in the chemical induction method, including single estrogen modeling method, double estrogen progesterone modeling method, estrogen progesterone loading combined with multi-factor stimulation method. The aim is to provide technical and theoretical support for clinical treatment of uterine fibroids.

Key words: abdominal mass; uterine fibroids; animal model; rat; estrogen; progesterone

子宫肌瘤是女性生殖系统最常见的良性肿瘤之一^[1],好发于性激素分泌旺盛的育龄期妇女,绝经后肌瘤发展停止或缩小,发病率难以准确统计,中国育龄期妇女的患病率约 25%,且近年来仍呈上升趋势^[2]。其发病机制尚不明确,临床症状多有不,亦可无明显症状。常以腹部疼痛、经量增加、经期延长、月经周期缩短、贫血、早产、流产、不孕、压迫直肠或膀胱等为临床表现^[1-5]。中医将子宫肌瘤归属于“癥瘕、石瘕”范畴^[6]。临床上以手术治疗和药物保守治疗为主,且临床上暂无明显有效药物治疗可以减少平滑肌瘤的大小以及复发的预防。随病情发展,当患者体内子宫肌瘤体积增大,该病存在一定的恶变风险^[3]。因此,常用动物造模实验研究该疾病的病因病机、发病机制以及治疗和预防的方法。

子宫肌瘤动物模型的造模方法主要有自发性、基因工程法、移植法和化学诱导法等,由于自发性、基因工程法和移植法需要极高的实验成本以及技术,故动物实验最常用的造模方法是化学诱导法^[7]。化学诱导法是指通过化学药物(相关激素)等运用于实验动

物诱导构建动物模型的一种方法,现代医学认为该造模方法与子宫肌瘤发生机制中血清雌激素与孕激素水平升高有一定的相似性。化学诱导法比较符合人体子宫中肌瘤生长、发育的过程和疾病发生发展的生理病理机制。动物实验中,以大鼠为造模对象尤其较多,其造模成功率大致有 80%^[7]。具体方法包括雌激素单模法和雌孕激素双模法,其中雌孕激素双模法又有全程联用和后期加入孕激素的方法。此外,从造模时间而言,有短期造模和长期造模之分,目前尚未有统一标准。文章对这些造模方法的具体差异进行总结,旨在为临床治疗子宫肌瘤提供基础技术和理论支持。

1 大鼠的选择

1.1 大鼠的年龄 大鼠子宫肌瘤模型制备成功决定性的因素很多,选择适龄的大鼠也是重要因素之一。因子宫肌瘤的发病人群广,临床表现较多且不明显,具体发病率难以统计,在孕龄期妇女尤为多见,根据现在的社会压力及医学技术的发展,该病发病人群逐渐有年轻化趋势^[8]。虽然暂无确切的发病机制,但有不少研究者认为该病的高危因素包括年龄 > 40 岁、初潮年龄小、未生育、晚育、肥胖、多囊卵巢综合征、激素补充治疗、黑色人种及子宫肌瘤家族史等^[1],以上因素均与子宫肌瘤的发病风险增加密切相关。选取大鼠年龄较小则可能大鼠子宫及平滑肌细胞未成熟,不利于后期观察子宫肌瘤大小;选取大鼠年龄较大则可能大

* 基金项目:贵州中医药大学大学生创新创业训练计划省级立项项目 (No. 贵中医大创合字(2021)99 号)

作者单位:1. 贵州中医药大学第一临床医学院(贵州 贵阳 550025);

2. 贵州中医药大学基础医学院(贵州 贵阳 550025)

△通信作者:E-mail:805278130@qq.com

鼠的激素和子宫平滑肌组织中钙神经磷酸酶的活性即达到最高并趋于稳定,因而可能降低其造模成功率。根据子宫肌瘤的发病率多在育龄期妇女,大多研究选择鼠龄在 2~8 个月,平均鼠龄(4.5±0.3)个月的壮年雌性 SD 大鼠,也有部分研究使用 Wistar 品系大鼠^[9]。

1.2 大鼠的体质量及基础疾病 大鼠的体质量、大鼠是否存在基础疾病,都与子宫肌瘤造模的成功有一定的关系。根据多数大鼠子宫肌瘤的相关研究实验统计得知实验大鼠体质量一般为 180~230 g^[2,10-12],大鼠年龄及体质量增长选择平均体质量在(210±10)g 即可。根据毛惠娟等^[4]的研究,子宫肌瘤的发生与代谢综合征包括心血管疾病及糖尿病等指标有一定的关系,其中血清胰岛素样生长因子-1 水平、空腹血糖、三酰甘油、高密度脂蛋白胆固醇水平是子宫肌瘤发生的危险因素。亦有研究者提出子宫肌瘤的发病机制可能与遗传易感性、性激素水平和干细胞功能失调等存在一定的关系^[1]。为实验数据准确性,减少不可控因素和增加造模成功的机率,故可选用健康 SD 雌性大鼠体质量(210±10)g。

2 造模方法

2.1 雌激素单模法 雌激素单模法是指仅用雌激素进行构建子宫肌瘤动物模型的一种方法。此方法也有少数相关研究人员运用,造模周期上也有所不同。张兰兰等^[13]使用隔日肌肉注射苯甲酸雌二醇注射液 0.05 mg/100 g,3 次/周,共计 10 周的造模方法,子宫系数、子宫分角下及分角根部横径、子宫平滑肌厚度显著增大。陈智昌等^[14]、周立等^[7]采用苯甲酸雌二醇(0.5 mg/kg),每周 3 次,连续 12 周给大鼠腹腔注射进行模型构建。此造模方法与正常组比较,模型组子宫系数和雌激素水平均有增加,子宫平滑肌厚度以及血浓度均有一定上调。单一的雌激素造模剂量、造模周期与子宫肌瘤发生率也呈正相关,同时雌激素运用的频率与动物病死率也呈正相关的关系,但整体造模成功率可达 60% 左右。

2.2 雌孕激素双重造模法 雌孕激素双模法是指运用雌激素以及孕激素构建子宫肌瘤动物模型的一种方法,该造模方法更符合现代医学认为的子宫肌瘤与雌孕激素水平升高存在一定关系的作用机制,造模的成功率也有一定上升。双模法造模子宫平滑肌细胞增生活跃程度更高,成模后表现更为稳定^[10],且与子宫肌瘤的发病原因相吻合,更容易观察到药物的治疗作用。雌孕激素双模法从激素的使用情况看,有全程联用和后期加入孕激素之分,从造模周期的长短看,存在长期与短期双模法之分。此外,还有雌孕激素负荷结合多

因素刺激造模的方法,以期更好地模拟人类患子宫肌瘤的过程。

2.2.1 雌孕激素全程联用法 雌孕激素全程联用是全程以雌激素和孕激素同时参与造模。因目前子宫肌瘤造模方法尚未统一,采用的药物、剂量以及频次等都存在差异。较为常见的短期雌孕激素全程联用造模法是每天腹腔注射苯甲酸雌二醇注射液 0.5 mg/kg 连续 30 d,期间每周注射 1 次孕酮注射液 4 mg/kg,最后 5 d 2 种激素同时注射,剂量不变^[15-20]。雌孕激素全程联用法造模在一定的程度上符合了马林纳等^[21]的激素异常分泌,使孕激素介导和推动了子宫肌瘤生成的观点。

造模周期较长的方法,如李亚梅等^[22]应用持续 8 周每周肌肉注射 3 次(周一、三、五)黄体酮(1 mg/kg)和 3 次(周二、四、六)苯甲酸雌二醇(2 mg/kg)造模的方法,通过雌激素和孕激素的交叉干预成功建立了大鼠模型。虽然在造模过程中出现了 8 只大鼠死亡,但雌激素和孕激素通过激活相应受体诱导了细胞增殖和分化,从而促进子宫肌瘤细胞有丝分裂和子宫肌瘤的发生。造模周期相同也有可能在浓度和频次上有差异。王家平等^[23]则连续 8 周对大鼠双腿每日交替注射 0.1 ml 黄体酮和乙烯雌酚注射液进行造模。造模模型组子宫系数显著增加,子宫平滑肌肌层显著增厚,伴有局灶性增生,达到预期效果。另有更长周期造模法,使用的是乙烯雌酚和黄体酮配合造模,方法是每周肌肉注射己烯雌酚(0.4 mg/ml)0.1 ml;和黄体酮(10 mg/ml)0.1 ml^[24],共 15 周建立子宫肌瘤模型,造模效果良好。

2.2.2 后期加入孕激素法 雌孕激素双模法造模后期加入孕激素是相当于将造模分为 2 个阶段,第 1 个阶段运用的雌激素,第 2 个阶段在第 1 个阶段的基础上加入孕激素参与造模。与雌孕激素全程联用法相比,相同造模周期与剂量的前提下,后期加入孕激素法在孕激素加入的时间上进行了调整。方法是每天 1 次腹腔注射苯甲酸雌二醇溶液 0.5 mg/kg 连续 25 d 后,改为每天 1 次腹腔注射黄体酮注射液 4 mg/kg,连续 5 d^[25,26],此法造模组织学变化和临床子宫肌瘤病理组织学相似,较为常用。另有研究者在剂量和造模周期又有些许不同,苯甲酸雌二醇溶液(0.5 mg/kg)的注射时间增至 28 d,再以相同剂量的黄体酮加入,连续 5 d 造模,共计 33 d^[27]。

此外,还有造模周期更长的造模方法,周期有 8 周、12 周、16 周和 20 周之分。如杨敏春等^[2]应用每周 2 次肌注苯甲酸雌二醇注射液 1 mg/kg 的剂量连续 8 周肌注,于第 5 周起加用黄体酮注射液 5 mg/kg 每周 2

次肌注至第 8 周进行造模。12 周造模法则是每周 3 次肌肉注射苯甲酸雌二醇注射液 0.5 mg/kg 连续注射 8 周后,再每周 2 次腹腔注射黄体酮注射液 4mg/kg 连续注射 4 周,共计 12 周进行造模^[28,29]。16 周造模法是 3 次/周肌肉注射苯甲酸雌二醇溶液 0.06 ml/只(含药量 0.12 mg)16 周,于第 10 周起 2 次/周加黄体酮注射液 0.05 ml/只(含药量 1 mg)^[30];或者黄体酮注射周期缩短为 4 周^[31]。20 周造模法,每周 3 次肌肉注射苯甲酸雌二醇注射液 0.05 mg/100 g,共 20 周;第 14 周至 20 周 2 次/周,加注黄体酮注射液 0.04 mg/100 g,共 7 周^[11,32],同样也能达到造模预期效果。

吴晓贞等^[10]比较了 12 周全程联用法和后期加入孕激素法造模效果的差异,发现全程给药、后期加入孕激素组法均能成功制备子宫肌瘤大鼠模型,其中全程联用法较优。综上所述,后期加入孕激素造模与雌孕激素全程联用造模方法在一定程度上均能表现出大鼠子宫平滑肌不同程度的增生,大鼠血清和子宫中 ER 与 PR 水平均有显著的上升趋势,但效果稍逊于全程联用法。

2.2.3 雌孕激素负荷结合多因素刺激法 另有少数研究者使用雌孕激素负荷结合多因素刺激法建立子宫肌瘤模型,如有研究^[33,34]运用己烯雌酚药液以每天每只 1.35 mg·kg⁻¹的量进行灌胃,再以 3 次/周的频率对每只鼠肌注 1.0 mg 黄体酮注射液连续 5 周进行造模;同时于第 4 周起对每只大鼠进行 0.9 mg·(kg·d)⁻¹盐酸肾上腺素注射液皮下注射,并每周随机选用以下 2 种刺激:噪音刺激、冰水浴游泳、昼夜颠倒、悬尾等。该造模方法虽然耗时耗力,但从中、西医学的角度观察该造模方法较贴近人类患子宫肌瘤的过程。另有何嘉伦等^[35]每天 1 次肌肉注射苯甲酸雌二醇 0.1 mg,每周 3 次肌肉注射黄体酮 1 mg,并每天饲喂高糖高脂饲料,连续 5 周进行性激素刺激协同胰岛素抵抗的方法建立子宫肌瘤模型,造模效果基本与临床子宫肌瘤患者的病理改变一致。

3 总结与展望

综上所述,常用苯甲酸雌二醇、己烯雌酚和黄体酮等激素药物构建大鼠子宫肌瘤模型。其中应用雌激素单模法造模的较少,该方法多使用苯甲酸雌二醇构模;而应用雌孕激素双模法造模在化学诱导模型中占的比例较大。雌激素单模法应用的雌激素均为苯甲酸雌二醇,而雌孕激素双模法多是苯甲酸雌二醇和黄体酮搭配运用参与造模,少部分运用己烯雌酚和黄体酮搭配构模。子宫肌瘤模型构建的方法尚未统一,在雌孕激素双模法中存在造模周期长短之分,长则有 20、16、15、12 周,短则有 1 个月甚至 7 d 之短。因为造模周期

的长短不一,所以药物种类、剂量、频率也存在较大的差异以及较多的选择。大部分还是以 10~16 周为造模周期,小部分采用 30 d 以内频率,不过近年来短期造模的使用也不断在上升。虽激素药使用的剂量和频率以及使用的周期各有不同,但该造模方法的成功率也在使用中不断上升。

综合不同研究,采用的大鼠子宫肌瘤模型造模方法、药物、药物剂量、药物的使用频率及造模周期等,发现构建子宫肌瘤模型采用的基本原理是使雌激素和孕激素水平异常升高来推动子宫肌瘤生成,最常用的造模方法是雌孕激素双模法。该文旨在为后续临床研究获取更有价值的研究成果提供基础理论支持。

参考文献

- [1] 子宫肌瘤的诊治中国专家共识专家组. 子宫肌瘤的诊治中国专家共识[J]. 中华妇产科杂志, 2017, 52(12): 793-800.
- [2] 杨敏春,李清林,彭芳,等. “阿胶-鳖甲胶”对大鼠子宫肌瘤的影响研究[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(11): 9-12, 259.
- [3] 任晋洪,陈颐. 名中医李丽芸教授经验方消症丹预防子宫肌瘤剔除术后复发的临床研究[J]. 中华中医药学刊, 2023, 42(3): 92-95.
- [4] 毛惠娟,黄国琴,于明静,等. 子宫肌瘤的发生与胰岛素样生长因子-1、代谢综合征的相关性分析[J]. 现代医药卫生, 2021, 37(21): 3691-3694.
- [5] 倪杰,李琴. 子宫黏膜下肌瘤不同影像学方法诊断价值的研究进展[J]. 现代医药卫生, 2022, 38(18): 3170-3174.
- [6] 郝雨培,崔妍或,赵若楠,等. 中药治疗子宫肌瘤的作用机制研究进展[J]. 中国中医药图书情报杂志, 2021, 45(4): 69-73.
- [7] 周立,李淑荣,张娥. 血府逐瘀汤对子宫肌瘤模型大鼠 NOS、TNF- α 、IL-2 水平及子宫平滑肌厚度的影响[J]. 世界中医药, 2019, 14(6): 1408-1411.
- [8] 彭晓燕,刘阳,周雪,等. 基于网络药理学探讨妇科再造丸治疗子宫肌瘤的作用机制[J]. 中药材, 2022, 45(9): 2250-2256.
- [9] 吕明圣,王璐睿,张见伟,等. 国内子宫肌瘤动物模型造模方法近况研究[J]. 中国中医药现代远程教育, 2016, 14(16): 146-148.
- [10] 吴晓贞,何嘉伦,刘思诗,等. 大鼠子宫肌瘤模型的建立以及雌孕激素两种联用方法造模结果的比较[J]. 新中医, 2017, 49(7): 6-8.
- [11] 王凡,孙鹭,孙武,等. 金雀异黄素对子宫肌瘤模型大鼠雌激素和孕激素水平的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(5): 560-563.
- [12] 谭薇,王众,代芳芳,等. 子宫肌瘤动物造模的研究进展[J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(3): 393-398.
- [13] 张兰兰,徐磊,刘晓燕,等. 消瘤片对实验性大鼠子宫肌瘤的作用研究[J]. 中成药, 2014, 36(11): 2402-2405.
- [14] 陈智昌,潘春梅,郭虹. 桂枝茯苓丸对子宫肌瘤模型大鼠的作用机制[J]. 世界中医药, 2019, 14(8): 2010-2013, 2018.
- [15] 张瑞,聂敦利,陈妍,等. 米非司酮对子宫肌瘤大鼠性激素、Wnt/ β -catenin 通路的影响[J]. 宁夏医科大学学报, 2020, 42(9): 885-890.
- [16] 郑冬雪,刘津源,陈如枫,等. 基于 micRNA 表达谱分析加味桂枝

- 茯苓丸干预大鼠子宫肌瘤的分子机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(3): 1-7.
- [17] 刘娜, 呼婷, 米娟. 来曲唑联合米非司酮对子宫肌瘤模型大鼠的消瘤效果及对 TIMPs 和 PTEN 蛋白表达的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2022, 21(4): 345-349.
- [18] 沈雪, 王新斌, 司红红, 等. 益气消瘕方对子宫肌瘤大鼠血液流变学和免疫功能的影响[J]. 实用中医内科杂志, 2022, 36(4): 119-122, 153.
- [19] 王超, 安瑞芳, 何菊仙, 等. GnRH 类似物对子宫肌瘤大鼠模型血液黏度、子宫系数和炎性细胞浸润的影响[J]. 现代生物医学进展, 2022, 22(4): 632-636.
- [20] 张晓敏, 伦明辉, 黄泽清. 长托宁联合米非司酮通过下调 Wnt/ β -catenin 通路调节子宫肌瘤大鼠雌激素减轻子宫损伤[J]. 解剖科学进展, 2022, 28(2): 113-116, 120.
- [21] 马林纳, 白明, 苗明三. 基于中西医临床病证特点的子宫肌瘤动物模型分析[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(2): 911-914.
- [22] 李亚梅, 唐洁, 罗弘杉, 等. 妇科千金方对子宫肌瘤模型大鼠激素及其受体的影响及代谢组学研究[J]. Digital Chinese Medicine, 2021, 4(4): 316-327.
- [23] 王家平, 居博伟, 朱瑾. 自拟消瘤方对实验性大鼠子宫肌瘤的作用机制研究[J]. 新疆医学, 2021, 51(11): 1239-1242, 1246.
- [24] 吴艳丽, 范楷, 孔守芳, 等. 消瘕汤对大鼠子宫平滑肌细胞增殖和迁移的影响及机制[J]. 中国药房, 2021, 32(20): 2450-2458.
- [25] 邹小丽, 李冬华. 从细胞外基质成分变化研究理冲汤对子宫肌瘤模型大鼠的影响[J]. 环球中医药, 2018, 11(8): 1177-1181.
- [26] 李楠, 贺丰杰, 李小宁, 等. 宫瘤消胶囊对子宫肌瘤模型大鼠雌孕激素水平及其受体表达的影响[J]. 中国妇产科临床杂志, 2015, 16(6): 534-537.
- [27] WANG YS, LI DH, XU X, et al. Lichong decoction reduces Matrix Metalloproteinases-2 expression but increases Tissue Inhibitors of Matrix Metalloproteinases-2 expression in a rat model of uterine leiomyoma[J]. Chung I Tsa Chih Ying Wen Pan, 2016, 36(4): 479-485.
- [28] 刘美平. 黄芪多糖对子宫肌瘤模型大鼠肿瘤组织的抑制作用[J]. 现代食品科技, 2019, 35(10): 32-37.
- [29] 矫秀环, 孙德艳, 胡欣楠, 等. 活血消瘤方对子宫肌瘤模型大鼠的抑瘤作用及雌激素受体、孕激素受体表达的影响[J]. 中国药师, 2022, 25(3): 414-418, 425.
- [30] 阙红卫, 阙晶, 尹艳艳, 等. 胡枝子提取物对子宫肌瘤模型动物及血瘀大鼠的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(7): 165-168.
- [31] 霍安妮, 赵娜, 周娟. 丹参注射液联合消瘤颗粒对子宫肌瘤大鼠激素水平的影响及机制研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2022, 21(3): 255-258.
- [32] 刘笑梅, 张蕾, 陈桂玲, 等. 坤泰胶囊对雌激素、孕激素联合诱发子宫肌瘤大鼠激素水平及相关生长因子的影响[J]. 中医杂志, 2017, 58(11): 960-965.
- [33] 张黎, 徐秋霞, 余成浩, 等. 三棱-莪术对子宫肌瘤大鼠 MCP-1、GM-CSF、GRO/KC 表达的影响[J]. 中药与临床, 2021, 12(6): 22-24, 29.
- [34] 张黎, 徐秋霞, 余成浩, 等. 三棱-莪术组分配伍对子宫肌瘤大鼠白细胞介素的影响[J]. 中药与临床, 2022, 13(1): 28-31.
- [35] 何嘉仑, 吴晓贞, 张毅靖. 荔枝核水提液对胰岛素抵抗协同性激素诱导的子宫肌瘤大鼠模型的影响[J]. 现代医学, 2022, 50(2): 151-156.

(编辑: 李佳丽 收稿日期: 2023-04-11)

从国医大师张灿理先生治学思想谈中医发展

张传光 周 政[△] 王蓉蓉

摘要: 国医大师张灿理先生从事中医事业 70 余载, 自幼秉承家学, 而立之年从事教书育人, 晚年从事文献整理, 在治学上具有极高的造诣, 形成了自己独特的治学思想, 提出了对于基本功、临床实践、文献、博览群书、继承发扬、医文并重、临床实践文献于一体等六项治学思想指导。张灿理先生一生致力于传承、发展弘扬中医事业, 张灿理先生曾先后多次在各种采访及书刊上表达自己对中医发展的建议, 先后提出了中医发展要解决五大问题, 发展中医要处理的 8 个关系, 从较全面的角度分析了近代中医如何发展的道路与可行方案。虽然先生已仙逝, 但其思想、精神一直值得中医人反复深思学习。

关键词: 中医发展; 治学思想; 张灿理

doi: 10.3969/j.issn.1003-8914.2024.02.059 文章编号: 1003-8914(2024)-02-0408-05

“淡泊名利厚岐黄, 辨章考镜吐芬芳, 学验俱宏盛杏林, 国医大师傲东方” 杨悦娅老师缅怀张灿理先生题词中写到^[1]。张老从医 70 余载, 治病救人心怀“三心”, 闻道明理阐释中医特色, 严谨治学继承发扬^[2]。先生是集临床、理论、文献于一身的大医, 在诊疗、治

学、医德等方面有极高的造诣。

1 张灿理先生简介

张灿理, 1928 年生人, 字昭华, 号葆真, 别号五龙山人、暮村老人、杏林一丁、齐东野老, 山东省荣成市下回头村人。中国共产党党员, 山东中医药大学主任医师、教授。1948 年开始独立行医, 1959 年起于山东中医学院任教。2009 年, 被评为新中国成立以来首届国医大

作者单位: 日照市中心医院中医科(山东 日照 276800)

[△]通信作者: E-mail: 1635490125@qq.com