

miRNA-126 与血管稳态

陆琦 崔翰斌

【摘要】 血管结构与功能的稳态平衡是人体生理活动的重要基础，而越来越多的研究认为微小 RNA (miRNA)，尤其是 miRNA-126，在血管的生成和修复过程中起着关键性的作用，是维持血管稳态的重要组成部分。因此，该文对 miRNA-126 在血管稳态中发挥的具体作用机制进行阐述。

【关键词】 微小 RNA-126；血管稳态；生物学机制

miRNA-126 and vascular homeostasis Lu Qi, Cui Hanbin. Medicine School of Ningbo University, Ningbo 315211, China

Corresponding author, Cui Hanbin, E-mail: hanbincui@hotmail.com

【Abstract】 Vascular structural and functional homeostasis is the fundamental basis of the physiological activities of human body. More and more researches have demonstrated that microRNA (miRNA), especially miRNA-126, plays a key role in the process of vascularization and repairing. It is a vital part of maintaining vascular homeostasis. Consequently, this review aims to elucidate the mechanism underlying the role of miRNA-126 in vascular homeostasis.

【Key words】 miRNA-126; Vascular homeostasis; Biological mechanism

心血管疾病现在已经成为全球范围内，特别是发达国家中最主要的死亡原因。但是从心血管疾病被发现至今，其病理机制仍在不断研究之中。现在人们更多的把重点放在通过健康的饮食，锻炼和避免吸烟等去远离那些众所周知的危险因素。然而更深入的了解环境中的危险因素对脉管系统的确切影响以及其具体生物学机制对保持我们血管的健康更具意义。越来越多的研究认为微小 RNA (miRNA)，尤其是 miRNA-126，在血管的生成和修复过程中起着关键性的作用，是维持血管稳态的重要组成部分。miRNA-126 是目前唯一已知的在内皮细胞和定向造血干细胞中特异性表达的 miRNA，它被发现大量存在于内皮组织，并与高血压病、动脉粥样硬化、冠状动脉粥样硬化性心脏病（冠心病）、心力衰竭等心血管疾病密切相关，因此本文将对 miRNA，特别是 miRNA-126 在血管稳态中的作用进行综述。

一、血管稳态与血管新生

血管网是指包括动脉、静脉、毛细血管等促进血液循环以及维持血管稳态的一个巨大的网络。内皮组织是体内循环血和血管壁其他结构之间的一层

半渗透屏障，它由一层薄薄的内皮细胞构成，内皮细胞对维持血管稳态起到了关键性的调节作用，因此维持健康的血管内皮组织显得尤为重要。组织缺血、炎症、高血糖、高血脂等病理状态会导致内皮细胞被激活、内皮功能紊乱并最终导致内皮细胞凋亡，而这无疑会大大提升动脉粥样硬化提早形成的风险。因此维持内皮组织的完整性是心血管健康的核心，而这很大程度上取决于内皮细胞损伤和修复之间的平衡^[1]。

在受损内皮细胞的修复过程中，一个核心的修复机制就是血管新生，血管新生过程中的新的血管芽则是来自于原有的毛细血管内皮细胞。Yancopoulos 等（2000 年）研究认为血管再生是一个严格的调控过程，它要求大量信号通路的紧密协调，在这个过程中，内皮细胞担当着参与者和调控者的双重角色。新毛细血管的形成不仅仅局限于毛细血管中内皮细胞的出芽形式，循环血中骨髓源性的细胞也被认为参与了新血管的形成和内皮化。有内皮祖细胞参与的过程被称为新的血管形成。

如果能深入了解控制血管稳态的细胞和分子机制，就能找到心血管疾病及肿瘤等一系列跟异常及

缺陷新生血管形成相关疾病的病理机制以及治疗方法。而越来越多的证据表明, miRNA 是血管稳态的一种关键性的调节物质^[2]。

二、miRNA 的生物合成

miRNA 是一大类长度约 22 nt 的非编码 RNA, 这些短链非编码 RNA 最早在 1993 年被发现。但是 miRNA 在细胞生物学中的作用直到最近才被逐渐挖掘出来。Kloosterman 等 (2006 年) 认为基因组中的 miRNA 大多位于蛋白编码基因的内含子区, 已被发现在不同物种间具有很好的保守性。首先, miRNA 基因由 RNA 聚合酶 II 催化转录成含有 5' 帽和 3' 多聚 A 尾的初始 miRNA。然后, 细胞核内的初始 miRNA 被 III 类 RNA 酶 Drosha 和 Pasha 等组合而成的复合体切割, 形成约 60 ~ 110 nt 长度的 miRNA 前体。接着, miRNA 前体通过 Exportin-5-Ran-GTP 的作用从细胞核进入细胞浆内, 并且由 III 类 RNA 酶 Dicer 和 TRBP/PACT 等形成的复合物进行切割后, 生成约 22 ~ 23 nt 长度的不完全互补配对的双链 RNA 中间产物。最终, 这个双链在解螺旋酶的作用下被打开, 其中的引导链即 5' 端具有更低热力学稳定性的那条链, 可与 Argonaute 蛋白等结合成 RNA 诱导的沉默复合体 (RISC) 进而发挥相应的功能^[3]。而另外一条被称为乘客链, 通常在解链后不久即自行降解。

三、miRNA 在稳态中的作用

miRNA 在发育过程中能特异性表达于细胞和组织内, 这就提示 miRNA 在标记和维持组织特异性中的作用。而且, 更多的共识认为一个 miRNA 存在多个目标靶基因, 因而能影响多个不同的下游通路。这些特点也预示 miRNA 在调控血管稳态中起到的巨大作用, 而近期的研究也已证实了一些 miRNA 在促进血管生成和抑制血管生成中的作用^[4-5]。

在关于控制血管新生的研究中, 最受关注的莫过于 miRNA-126, 它被发现大量存在于内皮组织^[6]。起初, 研究者们认为 miRNA-126 仅仅表达于内皮细胞, 但是后来 miRNA-126 陆续也在一些肿瘤细胞、气道上皮、循环血以及血小板中被发现^[7-10]。很显然, 跟其他 miRNA 一样, miRNA-126 也在细胞生长的不同阶段发挥着不同的作用, 而且能在同一个细胞内作用于几个不同的目标。

现在, miRNA 在血浆中的水平已能通过芯片以及实时 PCR 技术被定量的检测出来, 而结果证实低水平的 miRNA-126 跟年龄、冠心病以及 2 型糖尿病有关^[11]。这些研究结果表明这种血管相关

的 miRNA 的减少与内皮功能失调之间的潜在关联。虽然内皮细胞是循环血中 miRNA-126 主要来源, 但是其他来源例如血小板以及骨髓源性循环血细胞同样能显著地表达 miRNA-126, 因而它们对循环血中的 miRNA-126 也同样有着很大的补充作用。

1. miRNA-126 在内皮组织

miRNA-126 的基因编码序列位于内皮细胞特异性的表皮生长因子样结构域 7 (EGFL7) 基因的内含子 7 内。在人类和小鼠的 9 号染色体或者 2 号染色体中分别都能发现 EGFL7 基因的存在, EGFL7 是一种 41 kDa 大小的分泌蛋白, 在人体内, 动脉一旦受到损伤, EGFL7 即会上调, 而增多的 EGFL7 会募集内皮细胞、成血管细胞以及支持细胞至损伤部位进行血管修复^[12]。EGFL7/miRNA-126 的上游是两个进化上保守的 E26 转化特异性序列 (Ets) 结合位点。已经证实, Ets-1 或者 Ets-2 与 Ets 结合位点的结合需要内皮细胞内 EGFL7/miRNA-126 基因的反式激活^[13]。EGFL7 只限于人类和成年小鼠的内皮细胞内, 而 EGFL7 的表达有助于 miRNA-126 在这些细胞内的生成, 然而 miRNA-126 也存在于另外一些并不能表达 EGFL7 的细胞内。Shalaby 等 (1997 年) 认为 EGFL7 在这些细胞胚胎发育的早期有过短暂表达, 这可能就是 miRNA-126 会存在于那些造血系统的细胞中的原因^[14]。也很可能 EGFL7 的初级转录物是转录后沉默的, 与 miRNA-126 在细胞核和细胞质中的加工无关。而且, 已有研究发现 EGFL7 的信使 RNA (mRNA) 具有 miRNA-126 的结合位点, 这意味着 miRNA-126 本身就能阻止 EGFL7 的翻译^[15]。然而, 在一项从 110 例结肠癌患者中取得肿瘤样品的研究中并没有发现 miRNA-126 与其宿主基因的阳性或阴性关联, 这些数据表明 miRNA-126 的表达可能是对不同刺激的应答, 而这又导致了 EGFL7 的表达^[16]。

有趣的是, miRNA-126 的靶向缺失, 无论是动物中的基因缺失, 还是使用 miRNA 抑制剂, 都会扰乱血管的生长, 减慢心肌梗死后的恢复以及降低缺血性下肢损伤后的血管再生能力。而且, 该基因突变小鼠和斑马鱼表现出了严重的血管异常, 如心脏瓣膜生长缺陷、水肿、出血和胚胎死亡。通过这些实验可以发现内皮细胞中 miRNA-126 的减少会导致血管再生能力的降低以及血管功能的缺陷, 而这有力地证实 miRNA-126 在内皮细胞参与的促进血管生成中的关键性作用。因此, 内皮细胞需要 miRNA-126 在血管发育过程中维持脉管系统的完整

性。

而且，miRNA-126 也可以通过连接 CXCL12 的 mRNA 的 3'UTR 直接影响它的表达。已被证实 miRNA-126 在抑制剂的作用下表达减弱后，会增加 CXCL12 在 HUVEC 中的表达。在体内，miRNA-126 的使用会导致循环中 CXCL12 蛋白水平的提高以及缺血性损伤后组织的缺血性改变。CXCL12 的表达增加诱发更多的 Sca-1 (+) /Lin (-) 干细胞被动员进入血液循环^[15]。这些研究结果表明 miRNA-126 通过靶向调节 CXCL12，在缺血性损伤后的血管生成中可能起着重要作用。

众所周知，全身性炎症会导致内皮细胞激活。由于 miRNA-126 是内皮细胞功能和体内平衡的中心调节因子，因此 miRNA-126 可能参与内皮细胞对炎症刺激的反应。全身性炎症的一个主要反应是血管细胞黏附分子 1 (VCAM-1) 表达增加，导致 VCAM-1 在内皮表面上的聚集。而 VCAM-1 的聚集又会诱发许多细胞内信号的传输，这些信号促进白细胞通过内皮细胞渗透性屏障进入相邻组织而产生黏附，迁移和分裂^[17]。miRNA-126 有一个位于 VCAM-1 的 mRNA 的 3'UTR 的潜在结合位点，这意味着 miRNA-126 可能参与调控了 VCAM-1 在炎症中的表达。有研究表明，在 HUVEC 的由 TNF- α 诱导的炎症反应中，过表达的 miRNA-126 会抑制 VCAM-1 的蛋白质水平以及这些细胞黏附白细胞的能力^[18]。

此外，最近研究显示在微血管中的 miRNA-126 的表达是肾脏急性炎症中的一个决定因素，在

TNF- α 、脂多糖或抗髓过氧化物酶诱导的肾小球肾炎中，VCAM-1 的 miRNA 在小动脉和肾小球中表达增加。在肾小球和小动脉中的 RNA 分析表明在肾小球中发现有较高的 miRNA-126 水平与对应较低的 VCAM-1 蛋白表达，而小动脉中则出现了低 miRNA-126 水平和增加的 VCAM-1 蛋白表达。在肾小球内皮细胞中 miRNA-126 的升高水平与 Ets-1 的表达增加相一致，Ets-1 是一种明确的 miRNA-126 的转录调节因子。miRNA-126 和 Ets-1 之间的相互作用对血管炎症的调节增添了额外的复杂性^[13]。血管炎症诱导 Ets-1 表达，从而激活促炎蛋白（包括 VCAM-1）的转录，Ets-1 反过来也会诱导 miRNA-126 表达，随后抑制 VCAM-1 的翻译。通过其对 VCAM-1 的表达和聚集的影响，miRNA-126 可能有助于 EC 对炎症刺激产生不同的反应。总而言之，内皮细胞中的 miRNA-126 在血管发育的不同阶段、新血管生成、炎症过程中都有重要的调节作用（详见图 1）。

2. miRNA-126 在祖细胞

miRNA-126 的作用不仅仅体现在内皮细胞的表达，在一些肿瘤和造血系统来源的细胞内，miRNA-126 也存在高水平的表达^[7,9]。例如，在 CD34⁺ 造血干细胞以及经过红细胞诱导、粒细胞集落刺激因子 (G-CSF) 动员的祖细胞中都能检测到增高的 miRNA-126 表达。有趣的是，研究发现 miRNA-126 在巨核细胞生成过程中表达降低。由于 miRNA 的差异表达会高度影响靶基因的表达，所以可以推测造血祖细胞中 miRNA-126 表达的改变

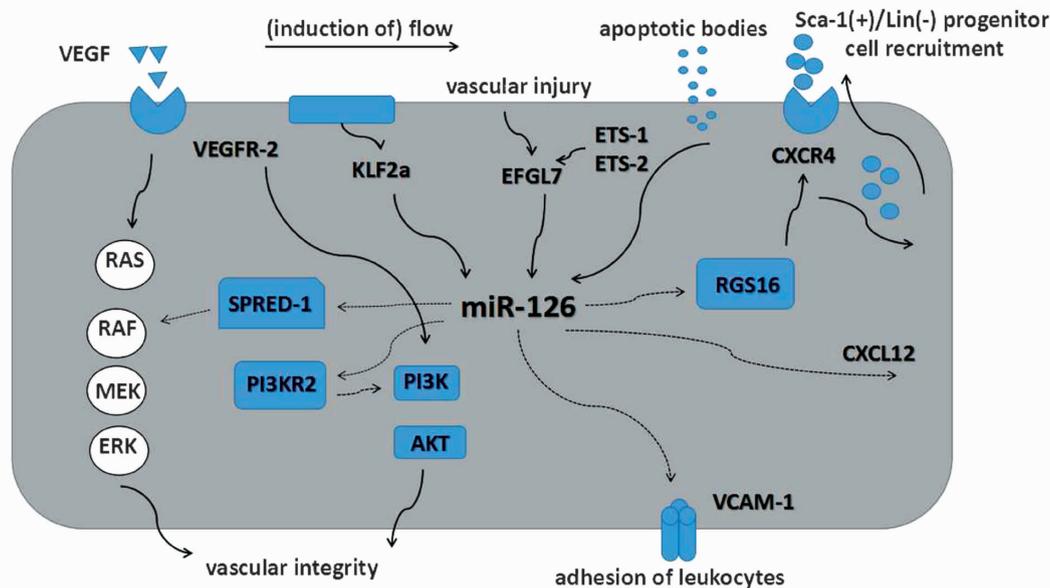


图 1 miRNA-126 在内皮细胞中的多重调节功能

可以深刻影响相关的细胞功能。

因为进化保守的同源 (HOX) 基因在发育和造血过程中发挥了重要作用, shen 及其合作者假设 miRNA-126 可以通过调节 HOX mRNA 转录物稳定性影响造血^[9]。然而, 只有两个 HOX 基因, 即 HOXA3 和 HOXA9 包含 miRNA-126 的预测的结合位点。体外实验表明, 在鼠骨髓细胞中内源性 miRNA-126 的消除增加了 HOXA9 蛋白的表达和活性。此外, 研究还证明了 miRNA-126 的表达谱与正常鼠骨髓中的 HOXA9 mRNA 表达相一致, 结果提示了 miRNA-126 通过调节 HOXA9 蛋白的水平在调控造血过程中的潜在作用。

除了鼠骨髓细胞外, 人胚胎干细胞 (hESC) 也已被用来研究 miRNA-126 在造血分化中的功能^[19]。实验中, miRNA-126 在胚胎形成中于 hESC 内表达增加, 进而使红细胞集落数生成减少。而含有预测的 miRNA-126 的结合位点的酪氨酸蛋白磷酸酯酶非受体 9 型 (PTPN9) 的共表达会导致红细胞生成的部分恢复。同时, 红细胞生成不能完全恢复也提示在红细胞途径中可能还有 miRNA-126 的另一个靶标未被发现。

3. 循环血中的 miRNA-126

在各类研究中, 具有心血管疾病风险因子的受试者的血浆样品已经被广泛地用于研究生物标志物的存在。miRNA 能作为新的生物标志物, 是因为它们可以在血液循环中被检测到, 使得 miRNA 在健康人或者患者中能被较容易地评估。更重要的是, 尽管循环血中的内源性 RNA 酶具有高活性, 但是 miRNA 却不可思议的稳定。循环血中的 miRNA 在血清和血浆中都存在, 并且可以使用实时定量 PCR 测量。

有许多不同的疾病队列研究都已将循环血 miRNA 与健康对照组相比较。在一个纳入 12 个心力衰竭患者和健康组对照的研究中, 在 miRNA-126 水平上并没有发现明显差异^[20]。相比之下, 具有年龄、CAD 和 DM2 等心血管风险因素的患者与健康对照组相比, miRNA-126 的表达降低。miRNA-126 的损失可以解释那些被诊断患有 CAD 和 DM2 的患者的外周血管生成信号传导的损伤。在心血管疾病患者急性内皮细胞激活过程中, miRNA-126 表达的调整有可能是引起对应反应的必需条件。miRNA-126 在内皮细胞中大量表达, 且是刺激新血管形成的必需因素, 同时在面对慢性内皮细胞激活和损伤时却会减少其自身表达, 以避免内皮细胞死亡。

本文前面阐述了循环血中 miRNA-126 的细胞来源, 包括内皮细胞和循环造血干细胞。最近, 研究发现血小板也能表达 miRNA-126^[10]。尽管血小板没有细胞核, 而且也不具有转录或产生成熟 miRNA 的机制, 但是 miRNA (包括 miRNA-126) 在血小板中却大量存在且具有生理功能。这些成熟 miRNA-126 分子的来源可能是巨核细胞, 因为已经发现巨核细胞表达显著水平的 miRNA-126, 这表明 miRNA 可能从巨核细胞转移到出芽的血小板。此外, 血小板也可能从外周主动内吞囊泡或 Ago2 结合的 miRNA, 从而增加血小板内 miRNA-126 的含量。

在内皮损伤后, 血小板暴露于胶原, 血管性血友病因子和来源于内膜下层的组织因子被激活, 并导致血小板聚集, 在这个过程中会触发各种细胞因子和含 miRNA 微囊泡的分泌^[21]。微泡和血小板来源的微囊泡可以作为循环 miRNA 的主要来源被 EC 或其他循环细胞摄取, 这也进一步说明了 miRNA-126 不仅仅在 EC 中发挥作用, 而且承担着血管内环境稳定的关键介质的作用。

四、小结与展望

miRNA-126 在内皮细胞中大量表达, 并且通过调控各种蛋白的表达来同时驱动血管生成和血管发生因而在新血管形成中起着重要作用。此外, 研究已证实炎症过程中 miRNA-126 在调节内皮细胞上 VCAM-1 的表达以及微血管中的作用部位的重要作用^[6]。而且 miRNA-126 还表达在骨髓源性的细胞中, 而这些细胞能在人体造血中起到关键性作用^[9]。

当前对 miRNA-126 生物学的理解的主要研究点是关于内皮细胞中这种 miRNA 的调节的分子机制。现在已经证明 Ets-1 或 Ets-2 与 EBS 的结合需要 EGFL7/miRNA-126 基因的表达来调控^[13]。此外, 已经表明内皮细胞来源的凋亡小体可以增加内皮细胞中的 miRNA-126 的水平。除了这些研究, 是否存在任何细胞外因子可能有助于 miRNA-126 表达的改变仍是未知的。因此, 如果能设计出研究方案解开导致 miRNA-126 增加或消除的机制无疑是十分有意义的。

到目前为止, miRNA-126 在循环血中的来源仍然不是很明确。内皮细胞、循环血细胞和血小板被认为是 miRNA-126 释放到外周的主要来源。除了这三种细胞类型, 可能还有其他潜在的细胞类型与循环血中被检测到的 miRNA-126 数量有关。

无论循环 miRNA-126 的来源是内皮、循环细

胞还是血小板, miRNA-126 在血管生物学中的重要作用将使其成为研究患者心血管病危险因素中的关键组分。至今为止, 使用循环血 miRNA 作为预测和监测生物标志物仍处于早期阶段。在未来, 循环血 miRNA、尿液样品或其他体液中的 miRNA 将对临床上的患者的疾病状态提供更多的信息。已有临床试验发现具有心血管风险因子的受试者在其血浆中 miRNA-126 水平降低, 表明 miRNA-126 可以做为一种预防甚至治疗心血管疾病的有效靶点^[22]。

参 考 文 献

- [1] Rabelink TJ, de Boer HC, van Zonneveld AJ. Endothelial activation and circulating markers of endothelial activation in kidney disease. *Nat Rev Nephrol*, 2010, 6 (7): 404-414.
- [2] Makhdoui P, Roohbakhsh A, Karimi G. MicroRNAs regulate mitochondrial apoptotic pathway in myocardial ischemia-reperfusion-injury. *Biomed Pharmacother*, 2016, 84: 1635-1644.
- [3] Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*, 2009, 136 (2): 215-233.
- [4] Chen Y, Gorski DH. Regulation of angiogenesis through a microRNA (miR-130a) that down-regulates antiangiogenic homeobox genes GAX and HOXA5. *Blood*, 2008, 111 (3): 1217-1226.
- [5] Suárez Y, Fernández-Hernando C, Pober JS, Sessa WC. Dicer dependent microRNAs regulate gene expression and functions in human endothelial cells. *Circ Res*, 2007, 100 (8): 1164-1173.
- [6] Harris TA, Yamakuchi M, Ferlito M, Mendell JT, Lowenstein CJ. MicroRNA-126 regulates endothelial expression of vascular cell adhesion molecule 1. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105 (5): 1516-1521.
- [7] 岑俊威, 曾骏成, 周宇. miRNA-126 与消化系统疾病关系的研究进展. *新医学*, 2015, 46 (10): 645-649.
- [8] Collison A, Herbert C, Siegle JS, Mattes J, Foster PS, Kumar RK. Altered expression of microRNA in the airway wall in chronic asthma: miR-126 as a potential therapeutic target. *BMC Pulm Med*, 2011, 11: 29.
- [9] Shen WF, Hu YL, Uttarwar L, Passegue E, Largman C. MicroRNA-126 regulates HOXA9 by binding to the homeobox. *Mol Cell Biol*, 2008, 28 (14): 4609-4619.
- [10] Edelstein LC, McKenzie SE, Shaw C, Holinstat MA, Kunapuli SP, Bray PF. MicroRNAs in platelet production and activation. *J Thromb Haemost*, 2013, 11 Suppl 1: 340-350.
- [11] Karakas M, Schulte C, Appelbaum S, Ojeda F, Lackner KJ, Münzel T, Schnabel RB, Blankenberg S, Zeller T. Circulating microRNAs strongly predict cardiovascular death in patients with coronary artery disease—results from the large AtheroGene study. *Eur Heart J*, 2016, pii: ehw250. [Epub ahead of print]
- [12] Fitch MJ, Campagnolo L, Kuhnert F, Stuhlmann H. Egfl7, a novel epidermal growth factor-domain gene expressed in endothelial cells. *Dev Dyn*, 2004, 230 (2): 316-324.
- [13] Harris TA, Yamakuchi M, Kondo M, Oettgen P, Lowenstein CJ. Ets-1 and Ets-2 regulate the expression of microRNA-126 in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30 (10): 1990-1997.
- [14] Sun Y, Bai Y, Zhang F, Wang Y, Guo Y, Guo L. miR-126 inhibits non-small cell lung cancer cells proliferation by targeting EGFL7. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 391 (3): 1483-1489.
- [15] van Solingen C, de Boer HC, Bijkerk R, Monge M, van Oeveren-Rietdijk AM, Seghers L, de Vries MR, van der Veer EP, Quax PH, Rabelink TJ, van Zonneveld AJ. MicroRNA-126 modulates endothelial SDF-1 expression and mobilization of Sca-1 (+) /Lin (-) progenitor cells in ischaemia. *Cardiovasc Res*. 2011, 92 (3): 449-455.
- [16] Díaz R, Silva J, García JM, Lorenzo Y, García V, Peña C, Rodríguez R, Muñoz C, García F, Bonilla F, Domínguez G. Down-regulated expression of miR-106a predicts survival in human colon cancer patients. *Genes Chromosomes Cancer*, 2008, 47 (9): 794-802.
- [17] Barreiro O, Yanez-Mo M, Serrador JM, Montoya MC, Vicente-Manzanares M, Tejedor R, Furthmayr H, Sanchez-Madrid F. Dynamic interaction of VCAM-1 and ICAM-1 with moesin and ezrin in a novel endothelial docking structure for adherent leukocytes. *J Cell Biol*, 2002, 157 (7): 1233-1245.
- [18] Asgeirsdóttir SA, van Solingen C, Kurniati NF, Zwiers PJ, Heeringa P, van Meurs M, Satchell SC, Saleem MA, Mathieson PW, Banas B, Kamps JA, Rabelink TJ, van Zonneveld AJ, Molema G. MicroRNA-126 contributes to renal microvascular heterogeneity of VCAM-1 protein expression in acute inflammation. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2012, 302 (12): F1630-F1639.
- [19] Huang X, Gschwend E, Van Handel B, Cheng D, Mikkola HK, Witte ON. Regulated expression of microRNAs-126/126* inhibits erythropoiesis from human embryonic stem cells. *Blood*, 2011, 117 (7): 2157-2165.
- [20] Tijssen AJ, Creemers EE, Moerland PD, de Windt LJ, van der Wal AC, Kok WE, Pinto YM. MiR423-5p as a circulating biomarker for heart failure. *Circ Res*, 2010, 106 (6): 1035-1039.
- [21] Badimon L, Suades R, Fuentes E, Palomo I3, Padró T. Role of platelet-derived microvesicles as crosstalk mediators in atherothrombosis and future pharmacology targets: a link between inflammation, atherosclerosis, and thrombosis. *Front Pharmacol*, 2016, 7: 293.
- [22] Suárez Y, Wang C, Manes TD, Pober JS. Cutting edge: TNF-induced microRNAs regulate TNF-induced expression of E-selectin and intercellular adhesion molecule-1 on human endothelial cells; feedback control of inflammation. *J Immunol*, 2010, 184 (1): 21-25.

(收稿日期: 2016-11-06)

(本文编辑: 杨江瑜)