

· 综 述 ·

脓毒症中线粒体的损伤及修复

庞秀峰, 石斌*

(上海市杨浦区中心医院·同济大学附属杨浦医院急诊内科, 上海 200089)

【摘 要】 线粒体是细胞基础结构的重要组成部分,是细胞中制造能量的主要场所,并参与诸如细胞分化、细胞信息传递和细胞凋亡等过程。脓毒症中线粒体受到多途径的损害,包括缺氧损伤、呼吸链损伤、内分泌改变、线粒体渗透性转换、钙超载、线粒体 DNA 损伤等。近期许多学者通过研究脓毒症中线粒体修复的方法,期望为脓毒症患者寻找新的治疗方法。本文针对在脓毒症中线粒体的损伤机制及损伤后修复方法做一综述,为脓毒症的诊断和治疗提供理论基础和研究热点。

【关键词】 线粒体;脓毒症;抗氧化应激;自噬

【中图分类号】 R320. 61 【文献标志码】 A 【DOI】 10. 11915/j. issn. 1671-5403. 2020. 10. 186

Damage and repair of mitochondria in sepsis

PANG Xiu-Feng, SHI Bin*

(Department of Emergency Medicine, Yangpu District Central Hospital of Shanghai, Yangpu Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200089, China)

【Abstract】 Mitochondria constitute an important part of cell infrastructure. They are the main places for energy production and participants in such processes as cell differentiation, cell information transmission and cell apoptosis. Mitochondria in sepsis are damaged in many ways, including hypoxia, damaged respiratory chain, endocrine changes, mitochondrial permeability transition, calcium overload, and mitochondrial DNA damage. Recently, many researchers have studied the methods for mitochondrial repair in sepsis, hoping to find new treatment methods for sepsis patients. This article reviews the mechanism of mitochondrial damage and repair methods in sepsis, providing theoretical basis and research hotspots for the diagnosis and treatment of sepsis.

【Key words】 mitochondria; sepsis; antioxidant stress; autophagy

This work was supported by Scientific and Research Foundation of Shanghai Health Commission (201840314).

Corresponding author: SHI Bin, E-mail: joysb1969@sina. com

线粒体是细胞基础结构的重要组成部分,它的功能包括能量转化、产生和解毒活性氧(reactive oxygen species, ROS)、渗透调节、调节Ca²⁺稳态、细胞器间沟通、细胞增殖和衰老以及细胞对多种生理和遗传应激的反应。ROS可以影响脂质、蛋白质和DNA的损伤,其作用方式与传统的第二信使分子类似^[1,2]。线粒体功能障碍在脓毒症的发病机制中发挥重要作用^[3,4]。本文就线粒体在脓毒症患者中的损伤机制及促进线粒体修复的方法进行综述,为临床脓毒症患者的治疗提供研究思路。

1 脓毒症对线粒体的损伤作用

1.1 呼吸链损伤

线粒体呼吸链的主要功能是传递电子,最终产

生三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)。脓毒症导致组织缺氧,虽然复合物IV(即细胞色素C氧化酶)的特殊酶特征使它能够在低氧浓度下发挥作用,但过低浓度的氧仍会危及ATP的产生,并触发细胞凋亡途径^[5]。另外脓毒症时由于缺氧导致炎症介质、ROS以及活性氮类(reactive nitrogen species, RNS)的大量产生,导致乳酸大量增加及ATP减少及线粒体呼吸链复合物I抑制。此外,内毒素激活了一氧化氮合酶的活性,增加了一氧化氮(nitric oxide, NO)的量,NO可直接抑制复合物IV的活性,从而抑制电子传递链的终末环节,导致即使在供氧充足时线粒体功能的障碍及氧化能力的损害^[6]。有研究表明脓毒症休克的患者线粒体复合物I(即NADH-CoQ氧化还原酶)活性降低,与其中NO产

收稿日期: 2019-12-21; 接受日期: 2020-04-13
基金项目: 上海市卫生健康委员会科研基金(201840314)
通信作者: 石斌, E-mail: joysb1969@sina. com

生过多有关系^[7];同样在长期腹膜炎的啮齿动物的肌肉和肝脏中发现同一现象^[8]。观察研究脓毒症患者呼吸链复合物的变化发现,脓毒症患者中呼吸链复合物I、III、IV酶活性明显受抑,其受抑程度及活性与疾病严重程度及预后相关。该研究表明线粒体呼吸链复合物活性或可作为评价脓毒症病情的生物学指标^[9]。

1.2 甲状腺激素分泌改变

甲状腺功能减退与脓毒症、多发创伤、急性呼吸窘迫综合征和机械通气的不良结局之间存在相关性。研究表明重症监护室(Intensive Care Unit, ICU)死亡患者中游离甲状腺素3(free thyroxine 3, FT3)的水平较存活患者低,FT3降低是死亡的独立预测因子^[10]。甲状腺激素被认为主要通过调节线粒体活性发挥其作用。一方面,FT3和FT2通过细胞色素C氧化酶增加线粒体活性;另一方面,FT3能够通过p43诱导线粒体基因组的转录,而刺激线粒体的生物过程可能是通过甲状腺素受体1(thyroxine receptor 1, TR1)或者TRβ1影响基因组3的表达^[11]。

1.3 钙超载

脓毒症循环缺血过程促使了无氧代谢,致使细胞代谢和氧化磷酸化被抑制而导致了强烈持久的细胞内酸中毒的迅速发展,在此基础上由细胞膜钠-氢交换器、Na⁺通道、Na⁺-HCO₃⁻联合传输、Na⁺-K⁺ATP酶、Na⁺-Ca²⁺交换器的共同作用,驱动细胞膜Ca²⁺流入,从而产生胞质Ca²⁺超载^[12,13]。Ca²⁺超载会导致ATP消耗、细胞膜蛋白质和磷脂降解、染色体损伤、促进氧自由基生成、心律失常、肌原纤维过度收缩断裂,最后Ca²⁺超载和ROS会打开线粒体的渗透性转换孔(mitochondrion permeability transition pore, mPTP),进一步损害细胞的线粒体结构。

1.4 线粒体的渗透性转换与细胞凋亡

mPTP是连接线粒体内膜(inner mitochondrial membrane, IMM)和线粒体外膜(outer mitochondrial membrane, OMM)的复合蛋白孔隙结构,孔隙的开闭转变受到多个效应器的严格调控。在正常状态下线粒体内有多种胞质激酶维持线粒体内的渗透性:随着生长因子的结合,酪氨酸激酶受体(receptor of tyrosine kinases, RTKs)激活Erk和Akt,使凋亡蛋白Bcl-2家族远离OMM,从而不会激活GSK3β,这样让己糖激酶(hexokinase, HK)在OMM上与电压依赖性阴离子通道(voltage dependent anion channels, VDAC)结合,VDAC与线粒体内膜上的腺嘌呤核苷酸转位(adenine nucleotide translocation, ANT)、线粒体肌酸激酶(creatine kinase, CK)、基质嗜环素D(cyclotrophic D, cypD)蛋白紧密结合,维持PTP闭合状态,使得凋亡因子隔离在线粒体膜间隙空间,处于

无功能状态。当线粒体暴露在死亡刺激下,缺乏生长因子可抑制“生存激酶”的活性,支持促凋亡的Bcl-2家族蛋白在OMM上再定位促使HK与VDAC分离,OMM上促凋亡和抗凋亡Bcl-2家族蛋白之间的平衡向诱导死亡倾斜。一方面,通过改变OMM本身,使细胞色素C(cytochrome, CytC)和其他死亡诱导物通过蛋白孔(如Bax通道)释放;另一方面,通过打开IMM中的PTP,从而导致CytC释放到细胞质中,促进凋亡^[14]。

1.5 线粒体DNA与细胞免疫异常

Hauser实验室发现线粒体DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)的CpG基序可以触发Toll样受体9(Toll-like receptor 9, TLR9)信号,激活p38和p42-44丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)活性、CXC趋化配体8(CXC chemokine ligand-8)分泌和中性粒细胞趋化,与受体结合生成炎症小体,mtDNA能与这些形成炎症小体的受体结合成复合物,释放活化物,参与动脉硬化、黄斑变性、细菌感染等炎症性疾病^[15]。除了触发促炎反应外,胞质和细胞外mtDNA作为一种强效的损伤相关分子模式(damage associated molecular patterns, DAMP),可通过多种模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)诱导炎症反应,mtDNA作为膜结合和胞质PRRs调控I型干扰素(interferon, IFN)反应的激动剂,可触发I型IFNs和干扰素刺激基因(interferon-stimulated genes, ISG)表达^[16,17]。

重症患者血浆mtDNA升高。一方面,应激状态下线粒体活性氧(mitochondrial reactive oxygen species, mROS)的生成增加,mROS的增加会降低线粒体膜电位,导致膜完整性受损,致mtDNA渗漏到细胞质中^[18];另一方面,mROS增加与mtDNA结合成OX-mtDNA,然后通过mPT或其他孔道释放到胞质中,或者mtDNA通过因凋亡启动导致的Bcl-2样蛋白4(BAX)和Bcl-2同源拮抗剂/杀伤剂(BAK)依赖性通道打开,mtDNA释放到胞质中^[19]。Krychtiuk等^[20]在一项研究中发现危重患者血浆mtDNA水平明显高于健康对照组,还发现ICU组患者mtDNA与死亡率显著相关,与APACHE II、性别一起能有效预测死亡率。这些研究结果表明,血浆mtDNA水平升高可作为脓毒症患者诊断的生物标志物,mtDNA亦是危重者死亡率的独立预测因子。

2 线粒体的修复

2.1 泛素

泛素(MitoQ)已被证明可以保护哺乳动物细胞免受过氧化氢诱导的凋亡,是线粒体靶向抗氧化剂

之一,在体内 MitoQ 治疗能降低急性肝肾功能障碍的生化标志物水平^[21]。MitoQ 被广泛用于人类疾病动物模型后,已被证明通过口服、静脉注射及腹腔内注射是有效的^[22]。Dare 等^[23]研究证明,在缺血开始前给予 MitoQ 可对肾脏提供功能保护,可能是因为在再灌注时可减少肾脏组织的氧化损伤。另外,MitoQ 已应用于 2 个人类 II 期临床试验,并在一个小型丙肝患者的研究中被证明安全和耐受性良好,能长期有效地防止肝脏炎症损伤^[24]。基于 MitoQ 已安全用于 II 期临床试验,其作为临床缺血再灌注多器官功能损伤的潜在治疗药物的作用值得进一步探索。

2.2 褪黑素

褪黑素是线粒体靶向抗氧化剂,具有显著的抗炎和抗凋亡作用。褪黑素在脓毒症中的有益作用在研究中得到了证明;脓毒症和多器官功能衰竭(multiple organ failure, MOF)的大鼠接受不同剂量的褪黑素治疗,其肝、肾、心血管功能障碍被完全阻止,恢复了正常代谢;并且,褪黑素以剂量依赖的方式抑制脓毒症大鼠的炎症反应^[25]。体外培养大鼠肝、脑线粒体发现,褪黑素使复合物 I 和 IV 的活性提高,其与基质线粒体蛋白特异性结合,增加了复合物 IV 的亚基 mtDNA 的体内外转录活性^[26]。滴定研究也表明了褪黑素抵消了氰化物对复合物 IV 的抑制作用^[26]。此外,褪黑素显著增加脓毒症小鼠心肌中沉默信息调节因子 1(silent information regulator 1, SIRT1)蛋白的表达,提示褪黑素通过激活小鼠 SIRT1 调节细胞凋亡和线粒体自噬来保护小鼠免受脓毒症心肌损伤^[27]。

2.3 血红素氧合酶-1

线粒体质量控制(quality control, QC),包括线粒体生物合成、线粒体自噬和线粒体动态变化,越来越被认为是恢复与氧化还原稳态相关的缺血性损伤的关键。血红素氧合酶-1(hemeoxygenase-1, HO-1)是一种可诱导的内源性细胞保护酶,在炎症、缺氧或热疗等多种细胞应激状态下均可激活,在氧化还原稳态维持及线粒体质量控制中发挥重要作用。磷酸甘油酸变位酶(phosphoglycerate mutase, PGAM)是糖酵解过程中将 3-磷酸甘油酯转化为 2-磷酸甘油酯的一种中间代谢酶。PGAM5 定位于线粒体,参与抗氧化反应、细胞凋亡和线粒体自噬。研究发现 HO-1 通过激活 PGAM5 信号调节线粒体 QC,促进线粒体生物合成,修复受损的线粒体,抑制线粒体分裂,从而保护肝脏免受脓毒症缺血/再灌注损伤,这些发现提示 HO-1 可能是脓毒症中线粒体 QC 的调节剂^[28]。

2.4 氢

氢(H₂)能通过气体扩散穿过血脑屏障和细胞膜及细胞器膜到达线粒体,具有明确的选择性抗氧化、抗炎、抗凋亡作用,在治疗脓毒症方面很有前景。Shimada 等^[29]报道,低浓度的氢气(浓度为 2%)可以通过选择性地减少细胞毒性活性氧而发挥治疗性抗氧化作用。越来越多的研究表明,H₂有望成为脓毒症相关急性肺损伤、肝缺血/再灌注损伤和休克的治疗气体^[30,31]。研究发现,H₂通过调节线粒体动力学清除损伤的线粒体,改善线粒体功能,如线粒体呼吸控制率、线粒体膜电位、ATP 的产生和线粒体呼吸复合物 I 等,而发挥有益影响^[32]。

2.5 线粒体自噬的调控

线粒体自噬作为一种选择性自噬,指在缺血、缺氧、氧化应激和衰老等刺激下,细胞内的线粒体发生去极化损伤,从而激活自噬体-溶酶体途径,完成受损线粒体的降解,维持细胞内环境稳态的过程^[33]。研究显示,免疫相关的 GTPase 家族 M 基因(immune related GTPase family-M Gene, IRGM)中自噬相关位点的多态性与脓毒症的死亡率有关,携带纯合子 TT 等位基因的患者,其死亡率几乎是其他基因型的 2 倍,分别为 48.1%和 25.1%^[34]。体外实验显示,TT 基因型中 IRGM 的 mRNA 表达显著降低,导致其自噬缺陷;健康志愿者全血内毒素刺激后,TT 纯合子中 IRGM 表达明显降低,提示严重脓症患者 IRGM(+313)位点 TT 纯合子可能参与抑制 IRGM 表达,从而抑制自噬,导致不良的临床结局^[34]。西罗莫司是一种自噬激动剂,可通过抑制 mTOR 的功能,减弱 mTOR 对线粒体自噬 MAPK 途径的调控,促进肾脏缺血/再灌注损伤的修复。因此,调节自噬激动剂将有望减少脓毒症相关损害。

3 结论和展望

在疾病变化过程中,线粒体的功能具有可变性、多变性和特异性等特点,线粒体损伤在脓毒症演变中起着关键作用,其作用机制目前还无法完全阐明。通过调控修复线粒体功能达到治疗脓毒症的路径依然很长,还需要我们不断努力。

【参考文献】

[1] Rabii AE, Corinne D. Detection of reactive oxygen species in cells undergoing oncogene-induced senescence[J]. Methods Mol Biol, 2017, 1534(11): 139-145. DOI: 10.1007/9781-4939-6670-7-13.

[2] Rani V, Deep G, Singh RK, et al. Oxidative stress and metabolic disorders: pathogenesis and therapeutic strategies[J]. Life Sci, 2016, 148(3): 183-193. DOI: 10.1016/j.lfs.2016.02.002.

[3] Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis[J]. N Engl J Med, 2003, 348(2): 138-150. DOI: 10.1056/NEJMr021333.

[4] Vaporciyan AA, DeLisser HM, Yan HC, et al. Involvement of

- platelet endothelial cell adhesion molecule-1 in neutrophil recruitment *in vivo* [J]. *Science*, 1993, 262(5139): 1580–1582. DOI: 1. 1126/science. 8248808.
- [5] Srinivasan S, Avadhani NG. Cytochrome C oxidase dysfunction in oxidative stress[J]. *Free Radic Biol Med*, 2012, 53(6): 1252–1263. DOI: 10. 1016/j. feeradbiomed. 2012. 07. 021.
- [6] Szabó C, Módis K. Pathophysiological roles of peroxynitrite in circulatory shock [J]. *Shock*, 2010, 34 (Suppl 1): 4–14. DOI: 10. 1097/SHK. 0b013e3181e7e9ba.
- [7] Brealey D, Brand M, Hargreaves I, *et al.* Association between mitochondrial dysfunction and severity and outcome of septic shock [J]. *Lancet*, 2002, 360 (9328): 219–223. DOI: 10. 116/S0140-6736(02)09459-X.
- [8] Duvigneau JC, Kozlov AV. Pathological impact of the interaction of NO and CO with mitochondria in critical care diseases [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2017, 4(12): 223–233. DOI: 10. 3389/fmed. 2017. 00223.
- [9] 敬颖洁, 李福祥. 脓毒血症患者线粒体呼吸链功能改变及预后评估的临床研究 [D]. 泸州: 西南医科大学, 2016: 1–66.
Jing YJ, Li FX. Clinical study on mitochondrial respiratory chain function changes and prognosis evaluation in patients with sepsis [D]. Luzhou: Southwest Medical University, 2016: 1–66.
- [10] Wang F, Pan W, Wang H, *et al.* Relationship between thyroid function and ICU mortality: a prospective observation study [J]. *Crit Care*, 2012, 16(1): R11. DOI: 10. 1186/cc11151.
- [11] Boelen A, Kwakkel J, Fliers E, *et al.* Beyond low plasma T3: local thyroid hormone metabolism during inflammation and infection [J]. *Endocr Rev*, 2011, 32(5): 670–693. DOI: 10. 1210/er. 2011-0007.
- [12] Tani M, Neely JR. Intermittent perfusion of ischemic myocardium. Possible mechanisms of protective effects on mechanical function in isolated rat heart [J]. *Circulation*, 1990, 82(2): 536–548. DOI: 10. 1161/01. cir. 82. 2. 536.
- [13] Schafer C, Ladilov Y, Inserte J, *et al.* Role of the reverse mode of the Na⁺/Ca²⁺ exchanger in reoxygenation induced cardiomyocyte injury [J]. *Cardiovasc Res*, 2001, 51(2): 241–250. DOI: 0. 1016/s0008-6363(01)00282-6.
- [14] Rasola A, Bernardi P. The mitochondrial permeability transition pore and its involvement in cell death and in disease pathogenesis [J]. *Apoptosis*, 2007, 12(5): 815–833. DOI: 1. 1007/s10495-007-0723-y.
- [15] Gantsetseg K, Kenichi S, Jargalsaikhan D, *et al.* Ogg1-dependent DNA repair regulates NLRP3 inflammasome and prevents atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2016, 119(6): 76–90. DOI: 10. 1161/CIRCRESAHA. 116. 308362.
- [16] 胡琼源. 线粒体 DNA 诱导肠屏障功能障碍 [J]. 肠外与肠内营养, 2019, 16(1): 10–11. DOI: 10. 16151/j. 1007-810x. 2019. 01. 004.
Hu QY. Mitochondrial DNA induced intestinal barrier dysfunction [J]. *Parenter Enter Nutrit*, 2019, 26(1): 10–11. DOI: 10. 16151/j. 1007-810x. 2019. 01. 004.
- [17] West AP, William KH, Staron M, *et al.* Mitochondrial DNA stress primes the antiviral innate immune response [J]. *Nature*, 2015, 520(7548): 553–557. DOI: 10. 1038/nature14156.
- [18] Won JH, Park S, Hong S, *et al.* Rotenone-induced impairment of mitochondrial electron transport chain confers a selective priming signal for NLRP3 inflammasome activation [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(45): 27425–27437. DOI: 10. 1074/jbc. M115. 667063.
- [19] West AP, Shadel GS. Mitochondrial DNA in innate immune responses and inflammatory pathology [J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(6): 363–375. DOI: 10. 1038/nri. 017. 21.
- [20] Krychtiuk KA, Ruhittel S, Hohensinner PJ, *et al.* Mitochondrial DNA and Toll-like receptor-9 are associated with mortality in critically ill patients [J]. *Crit Care Med*, 2015, 43(12): 233–2641. DOI: 10. 1097/CCM. 0000000000001311.
- [21] Lowes WA, Thottakam BM, Webster NR, *et al.* The mitochondria-targeted antioxidant MitoQ protects against organ damage in a lipopolysaccharide-peptidoglycan model of sepsis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2008, 45(11): 1559–1565. DOI: 10. 1016/j. freeradbiomed. 2008. 09. 003.
- [22] Smith RA, Murphy MP. Animal and human studies with the mitochondria targeted antioxidant MitoQ [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2010, 1201(7): 96–103. DOI: 10. 1111/j. 1749-6632. 2010. 05627. x.
- [23] Dare AJ, Bolton EA, Pettigrew GJ, *et al.* Protection against renal ischemia-reperfusion injury *in vivo* by the mitochondria targeted antioxidant MitoQ [J]. *Redox Biol*, 2015, (5): 163–168. DOI: 10. 1016/j. redox. 2015. 04. 008.
- [24] Gane EJ, Weilert F, Orr DW, *et al.* The mitochondria-targeted anti-oxidant mitoquinone decreases liver damage in a phase II study of hepatitis C patients [J]. *Liver Int*, 2010, 30(7): 1019–1026. DOI: 10. 1111/j. 1478-3231. 2010. 02250. x.
- [25] Guerrero JM, Acuña CD. Melatonin inhibits expression of the inducible NO synthase II in liver and lung and prevents endotoxemia in lipopolysaccharide-induced multiple organ dysfunction syndrome in rats [J]. *FASEB J*, 1999, 13(12): 1537–1546.
- [26] Germaine E, Josefa L, Manuel M, *et al.* Melatonin counteracts lipopolysaccharide induced expression and activity of mitochondrial nitric oxide synthase in rats [J]. *FASEB J*, 2003, 17(8): 932–934. DOI: 10. 1096/fj. 02-0692je.
- [27] Zhang WX, He BM, Wu Y, *et al.* Melatonin protects against sepsis-induced cardiac dysfunction by regulating apoptosis and autophagy *via* activation of SIRT1 in mice [J]. *Life Sci*, 2019, 217(1): 8–15. DOI: 10. 1016/j. lfs. 2018. 11. 055.
- [28] Hong JM, Lee SM. Heme oxygenase-1 protects liver against ischemia/reperfusion injury *via* phosphoglycerate mutase family member 5-mediated mitochondrial quality control [J]. *Life Sci*, 2018, 200(5): 94–104. DOI: 10. 1016/j. lfs. 2018. 03. 017.
- [29] Shimada S, Wakayama K, Fukai M, *et al.* Hydrogen gas ameliorates hepatic reperfusion injury after prolonged cold preservation in isolated perfused rat liver [J]. *Artif Organs*, 2016, 40(12): 1128–1136. DOI: 10. 1111/aor. 12710.
- [30] Yang T, Wang L, Sun RQ, *et al.* Hydrogen-rich medium ameliorates lipopolysaccharide-induced barrier dysfunction *via* RhoA-Mdia1 signaling in Caco-2 cells [J]. *Shock*, 2016, 45(2): 228–237. DOI: 10. 1097/SHK. 0000000000000503.
- [31] Yu Y, Ma XY, Yang T, *et al.* Protective effect of hydrogen-rich medium against high glucose-induced apoptosis of Schwann cells *in vitro* [J]. *Mol Med*, 2015, 12(3): 3986–3992. DOI: 10. 3892/mmr. 2015. 3874.
- [32] Dong AL, Yu Y, Wang YY, *et al.* Protective effects of hydrogen gas against sepsis-induced acute lung injury *via* regulation of mitochondrial function and dynamics [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 65: 366–372. DOI: 10. 1016/j. intimp. 2018. 10. 012.
- [33] Bueno M, Lai YC, Romero Y, *et al.* PINK1 deficiency impairs mitochondrial homeostasis and promotes lung fibrosis [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(2): 521–538. DOI: 10. 1172/JCI74942.
- [34] Kimura T, Watanabe E, Sakamoto T, *et al.* Autophagy related IRGM polymorphism is associated with mortality of patients with severe sepsis [J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e91522. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0091522.

(编辑: 连学飞)