

复方丹参注射液对 JNK 信号通路调节人羊膜上皮细胞 AQP3 表达的影响

王晶晶 华莹 周青峰 谢爱兰 朱雪琼

摘要 目的 探讨复方丹参注射液调节人羊膜上皮细胞中水通道蛋白 3(aquaporin 3, AQP3) 的表达与 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK) 信号通路的关系。**方法** 分别取足月妊娠的正常羊水和羊水过少的人羊膜上皮细胞进行原代培养。将培养的正常羊水和羊水过少的人羊膜上皮细胞分别分成 4 个处理组:空白对照组(A 组)、SP600125 组(B 组)、复方丹参注射液组(C 组)和 SP600125 加复方丹参注射液组(D 组)。采用 cell counting kit-8 (CCK-8) 法检测各组细胞的活力,Western blot 技术分析人羊膜上皮细胞中总 JNK、磷酸化 JNK(p-JNK)和 AQP3 蛋白的表达量。**结果** (1)在正常羊水及羊水过少人羊膜上皮细胞中:4 组细胞活力和总 JNK 蛋白差异均无统计学意义($P > 0.05$)。p-JNK 差异有统计学意义($P < 0.05$)。与 A 组比较,p-JNK 在 B 组表达明显下降,而在 C 组中其表达明显上调($P < 0.05$)。且 p-JNK 在 D 组中的表达较 C 组明显下降,但高于 A 组和 B 组($P < 0.05$)。与 A 组比较,在正常羊膜上皮细胞中,C、D 组中 AQP3 表达明显上调($P < 0.05$)。但与 C 组比较,D 组 AQP3 表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。而在羊水过少人羊膜上皮细胞中,B 组中 AQP3 的表达明显下降($P < 0.05$),而 C 组中 AQP3 表达明显上调($P < 0.05$);D 组中 AQP3 表达低于 C 组($P < 0.05$),但高于 B 组($P < 0.05$)。**结论** 羊水过少时,复方丹参注射液可通过激活 JNK 信号通路来调节人羊膜上皮细胞中 AQP3 表达的水平。

关键词 水通道蛋白 3;c-Jun 氨基末端激酶;人羊膜上皮细胞;复方丹参注射液

Compound Danshen Injection Regulated the Expression of AQP3 in the Human Amnion Epithelium Cells through JNK Signal Pathway WANG Jing-jing, HUA Ying, ZHOU Qing-feng, XIE Ai-lan, and ZHU Xue-qiong Department of Obstetrics and Gynecology, Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Zhejiang (325027), China

ABSTRACT Objective To explore the role of Compound Danshen Injection (CDI) in regulating the expression of aquaporin 3 (AQP3) in human amnion epithelium cells (hAECs), and to study the relation between c-Jun N-terminal kinase (JNK) signal pathway and AQP3. **Methods** hAECs were isolated and primarily cultured from term pregnancy with normal amniotic fluid volume and from term pregnancy with oligohydramnios, and then hAECs were further divided into four groups, i.e., the blank control group (A), the SP600125 group (B), the CDI group (C), and the SP600125 + CDI group (D). The cell viability was measured by cell counting kit-8 assay (CCK-8). The expression of total JNK, phosphorylated JNK, and AQP3 were determined by Western blot. **Results** (1) In hAECs with normal AFV or with oligohydramnios: There was no statistical difference in the cell viability or the expression of total JNK among the 4 groups ($P > 0.05$). But there was statistical difference in the expression of p-JNK ($P < 0.05$). Compared with A group, the expression of p-JNK was obviously down-regulated in B group, but obviously up-regulated in C group ($P < 0.05$). The expression of p-JNK was significantly lower in D group than in C group, but higher than that in A group or B group ($P < 0.05$). The AQP3 expression in the hAECs with normal amniotic fluid volume of C group and D group were higher than that in the A group ($P < 0.05$). However, there

基金项目:浙江省中医药重点研究计划(No. 2010ZZ009);浙江省卫生高层次创新人才资助项目(No. 2010-21)

作者单位:温州医科大学附属第二医院妇产科(浙江 325027)

通讯作者:朱雪琼, Tel:0577-88002796, E-mail: zjwzxxq@163.com

DOI: 10.7661/CJIM.2014.08.0931

was no statistical difference in the AQP3 expression between C group and D group ($P > 0.05$). In hAECs with oligohydramnios, the expression of AQP3 obviously decreased in B group, but up-regulated in C group (both $P < 0.05$). The expression of AQP3 was lower in D group than in C group, but higher than in B group ($P < 0.05$). Conclusion CDI could regulate the AQP3 expression in hAECs with oligohydramnios via activating the JNK signal pathway.

KEYWORDS aquaporin 3; c-Jun N-terminal kinase; human amnion epithelium cell; Compound Danshen Injection

羊水过少是最常见的妊娠并发症,可导致不良的妊娠结局,是增加围产儿发病率及病死率的重要原因之一^[1]。复方丹参注射液在临床上被用于治疗羊水过少,其有效率约为 70%^[2],但其作用的分子机制目前并不明确。

水通道蛋白(aquaporin, AQP)是与细胞膜水通透相关的通道蛋白家族。本课题组和国内、外的研究均发现在人足月胎膜组织中有 AQP3 蛋白的表达^[3-5]。近年的研究还表明^[6],在人妊娠早期、中期和晚期的羊膜组织中均有 AQP3 mRNA 和蛋白的表达,同时随着妊娠的发展和羊水量的改变, AQP3 mRNA 和蛋白的表达水平也随之改变,推测在妊娠过程中羊膜组织中 AQP3 参与了正常羊水量的调节。本课题组近期研究发现:复方丹参注射液可以明显上调不明原因羊水过少组羊膜上皮细胞中 AQP3 蛋白的表达^[7],但具体的调节机制尚待进一步研究。

为此,本研究通过观察复方丹参注射液和 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)特异性抑制剂 SP600125 对羊水过少和羊水正常人羊膜上皮细胞 AQP3 表达的调控,来明确丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)-JNK 信号传导通路在复方丹参注射液调节人足月羊膜上皮细胞 AQP3 表达中的作用。

资料与方法

1 羊水过少诊断及中医辨证标准 根据《妇产科学》^[8]中羊水过少的诊断标准,产前 B 超监测羊水指数(amniotic fluid index, AFI):正常羊水量 AFI 为 8~18 cm, AFI ≤ 5 cm 为羊水过少。剖宫产术中进一步核实羊水量情况^[7],羊水总量 300~2 000 mL 为羊水量正常,羊水总量 <300 mL 明确为羊水过少。按照中医辨证分型,羊水过少分为肾气亏损、气血虚弱、阴虚血热型^[9]。

2 纳入标准 (1)符合羊水过少西医诊断标准及中医辨证分型标准;(2)年龄 21~32 岁;(3)足月单胎;(4)选择性剖宫产;(5)本试验经本院伦理委员

会批准,每例纳入试验的产妇均签署知情同意书。

3 排除标准 (1)催产素引产史;(2)其他药物治疗史;(3)其他妊娠合并症和并发症,如:胎膜早破、糖尿病、高血压、胎儿生长受限、胎儿畸形或胎儿窘迫等。

4 剔除标准 术前 B 超提示的 AFI 与剖宫产术中实际羊水量不符合者。

5 一般资料 选择 2012 年 6 月—2013 年 3 月温州医科大学附属第二医院产科分娩的原因不明羊水过少(20 例)和羊水正常的产妇 20 名。羊水正常产妇的平均年龄(28.38 ± 2.33)岁,终止妊娠时平均孕周(39.16 ± 1.01)周,平均体重(62.13 ± 4.73)kg。羊水过少产妇的平均年龄(26.25 ± 3.62)岁,终止妊娠时平均孕周(38.59 ± 1.68)周,平均体重(66.75 ± 12.04)kg。两组产妇的年龄、终止妊娠时平均孕周和体重比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

6 细胞培养和分组处理方法

6.1 标本采集 剖宫产术胎盘娩出后,在无菌状态下取脐带根部附近羊膜组织,用无菌的 PBS 缓冲液反复冲洗。

6.2 羊膜上皮细胞原代培养 用含双抗的无血清培养基浸泡羊膜组织 20 min,用无菌眼科剪剪成约 1 mm × 1 mm × 1 mm 碎块,加入胰蛋白酶消化液(GIBCO 公司,美国)在 37 °C 的摇床上消化 60 min,用含 10% 胎牛血清(杭州四季青生物工程有限公司)的完全培养基终止消化,收集消化液,1 500 r/min 离心 20 min,弃上清,再重悬 1 000 r/min 离心 5 min,弃上清,沉淀中加入完全培养液制成细胞悬液,以 1×10^5 个/mL 密度接种于培养皿中,置 37 °C、饱和湿度、5% CO₂ 培养箱中培养,隔 1~2 天换液 1 次,5~7 天以 1:2 传代 1 次。

6.3 分组及处理方法 将 20 名羊水正常和 20 例羊水过少人羊膜上皮细胞各分为 4 组。空白对照组(简称 A 组)、SP600125 组(简称 B 组, SP600125 购自 Cell Signaling Technology 公司,美国)、复方丹参注射液组(简称 C 组,复方丹参注射液购自上海新

亚药业高邮有限公司,生产批号:120601-3,每支 2 mL)和 SP600125 加复方丹参注射液组(简称 D 组)。C 组采用 5 mg/mL 复方丹参注射液作用 12 h。本课题组的前期研究发现 SP600125 作用羊水正常人羊膜上皮细胞的最适浓度和时间为 10 μmol/L 作用 2 h,在羊水过少人羊膜上皮细胞中最适浓度和时间为 20 μmol/L 作用 1 h。D 组:先采用 SP600125 最适浓度和最适时间作用后再用 5 mg/mL 复方丹参注射液作用 12 h。

7 观察项目和检测方法

7.1 细胞活力 采用 CCK-8 法检测,收集对数生长期的人羊膜上皮细胞,96 孔培养板中加入 100 μL/孔的细胞悬液,密度为 8 000 个/100 μL。至细胞单层铺满孔底,分 A、B、C、D 4 个不同处理组,并设置调零孔(不加细胞和处理)。每组设 3 个复孔。各组培养所需时间后,每孔分别加入 10 μL CCK-8(同仁化学研究所,日本),37 °C 继续孵育 4 h,用酶标仪在 450 nm 波长处检测其光密度(optical density, OD)值,细胞活力(%)=(处理组 OD 值-调零组 OD 值)/(A 组 OD 值-调零组 OD 值)×100%。

7.2 检测总 JNK、磷酸化-JNK(phosphorylation of JNK, p-JNK)及 AQP3 蛋白的表达水平 采用免疫印迹(Western blot)技术。用冰预冷的 PBS 缓冲液冲洗细胞 2 次,RIPA 裂解细胞,提取蛋白,BCA 法测定细胞蛋白质浓度。取等量蛋白行 12% 聚丙烯酰胺凝胶电泳,用湿转仪湿转至 PVDF 膜上,5% 脱脂奶粉封闭 2 h,加入一抗(兔抗人 AQP3 多克隆抗体,武汉博士德公司,稀释比例 1:300;兔抗人总 JNK 多克隆抗体和兔抗人 p-JNK 多克隆抗体,Cell Signaling Technology 公司,美国,稀释比例均为 1:1 000;鼠抗人 GAPDH 单克隆抗体,碧云天生物技术有限公司,稀释比例 1:2 000)4 °C 摇床过夜,加入相应的二抗(山羊抗兔 IgG 或山羊抗小鼠 IgG,碧云天生物技术有限公司)置室温 1 h,增强化学发光试剂(Pierce 公司,美国)显影,利用 AlphaEase FC 软件进行灰度扫描,总 JNK/GAPDH、p-JNK/GAPDH 及 AQP3/GAPDH 的吸光度比值作为总 JNK、p-JNK 及 AQP3 蛋白的相对表达量。

8 统计学方法 用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行处理,计量资料数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间均值比较采用单因素方差分析。方差齐的多组间两两比较采用 LSD 检验;方差不齐的多组间两两比较用 Dunnett's t3 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 4 组不同处理羊水正常/羊水过少人羊膜上皮细胞细胞活力比较(表 1) 在羊水正常人羊膜上皮细胞中,4 组不同处理之间细胞活力均未见明显变化,差异无统计学意义(P > 0.05)。在羊水过少人羊膜上皮细胞中,4 组不同处理之间细胞活力均未见明显变化,差异无统计学意义(P > 0.05)。

表 1 4 组不同处理羊水正常/羊水过少人羊膜上皮细胞细胞活力比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	细胞活力(%)	
		羊水正常	羊水过少
A	10	100	100
B	10	99.41 ± 0.40	99.80 ± 0.16
C	10	101.26 ± 1.59	101.05 ± 1.19
D	10	101.11 ± 0.67	100.90 ± 0.89

2 4 组羊水正常人羊膜上皮细胞中总 JNK、p-JNK 及 AQP3 蛋白表达比较(表 2,图 1) 羊水正常人羊膜上皮细胞中总 JNK 表达 4 种不同处理组间比较,差异无统计学意义(P > 0.05)。与 A1 组比较,人羊膜上皮细胞中 p-JNK 表达在 B1 组明显下降(P < 0.05),C1 组和 D1 组中表达明显上调(P < 0.05)。与 B1 组比较,C1、D1 组中 p-JNK 表达均上调(P < 0.05)。但 D1 组中 p-JNK 的表达较 C1 组明显下调(P < 0.05)。与 A1 组比较,B1 组中 AQP3 的表达无明显变化(P > 0.05),而 C1 组和 D1 组中 AQP3 的表达明显上调(P < 0.05)。但 C1 组与 D1 组比较,差异无统计学意义(P > 0.05)。

表 2 4 组羊水正常人羊膜上皮细胞中总 JNK、p-JNK 及 AQP3 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	总 JNK	p-JNK	AQP3
A1	20	2.55 ± 0.09	2.73 ± 0.10	2.31 ± 0.03
B1	20	2.51 ± 0.06	1.16 ± 0.14 *	2.25 ± 0.22
C1	20	2.44 ± 0.10	5.37 ± 0.19 *△	3.39 ± 0.07 *△
D1	20	2.48 ± 0.09	3.60 ± 0.04 *△▲	3.31 ± 0.10 *△

注:A1 为空白对照组;B1 为 SP600125 组;C1 为复方丹参注射液组;D1 为 SP600125 加复方丹参注射液组;图 1 同;与 A1 组比较,*P < 0.05;与 B1 组比较,△P < 0.05;与 C1 组比较,▲P < 0.05

3 4 组羊水过少人羊膜上皮细胞中总 JNK、p-JNK 及 AQP3 蛋白表达比较(表 3,图 2) 羊水过少人羊膜上皮细胞 4 种不同处理组间比较,总 JNK 蛋白的表达差异无统计学意义(P > 0.05)。与 A2 组比较,B2 组人羊膜上皮细胞中 p-JNK 蛋白表达明显下降(P < 0.05),而在 C2 组和 D2 中其表达却明显上调

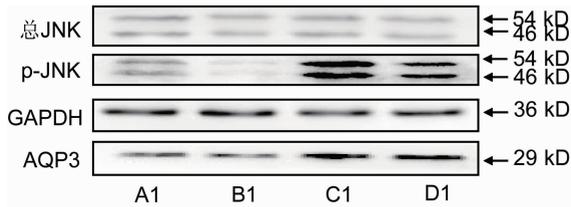


图 1 4 组羊水正常羊膜上皮细胞中总 JNK、p-JNK 及 AQP3 蛋白表达的电泳图

($P < 0.05$)。与 B2 组比较, C2 组和 D2 组中 p-JNK 蛋白表达均上调($P < 0.05$)。但 D2 组中 p-JNK 的表达较 C2 组明显下调($P < 0.05$)。与 A2 组比较, B2 组中人羊膜上皮细胞 AQP3 的表达明显下降($P < 0.05$), 而 C2 组中 AQP3 的表达明显上调($P < 0.05$)。与 B2 组比较, C2 组和 D2 组中 AQP3 的表达明显上调($P < 0.05$), 但 C2 组 AQP3 的表达高于 D2 组($P < 0.05$)。

表 3 4 组羊水过少人羊膜上皮细胞中总 JNK、p-JNK 及 AQP3 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	总 JNK	p-JNK	AQP3
A2	20	2.99 ± 0.01	2.61 ± 0.05	1.76 ± 0.09
B2	20	2.98 ± 0.10	1.39 ± 0.05*	1.10 ± 0.08*
C2	20	2.99 ± 0.53	3.99 ± 0.08* [△]	3.09 ± 0.08* [△]
D2	20	3.01 ± 0.10	2.88 ± 0.03* ^{△▲}	1.77 ± 0.03 ^{△▲}

注: A2 为空白对照组; B2 为 SP600125 组; C2 为复方丹参注射液组; D2 为 SP600125 加复方丹参注射液组; 图 2 同; 与 A2 组比较, * $P < 0.05$; 与 B2 组比较, $^{\Delta}P < 0.05$; 与 C2 组比较, $^{\Delta}P < 0.05$

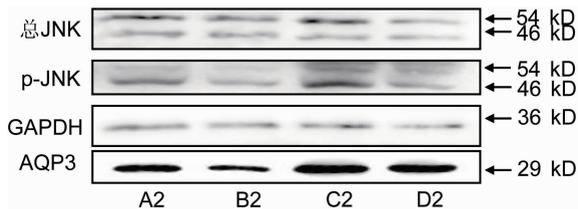


图 2 4 组羊水过少人羊膜上皮细胞中总 JNK、p-JNK 及 AQP3 蛋白表达的电泳图

讨 论

MAPK 属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, MAPK-JNK 为哺乳动物中主要的亚家族, 可活化为有生物学作用的磷酸化形式来发挥调节细胞功能的作用, 参与细胞的迁移、增殖、分化、存活等多种生理过程^[10]。有研究发现^[11], 化学性缺氧可通过 MAPK-JNK 信号传导通路上调人视网膜色素上皮细胞 AQP3 mRNA 的表达。但在人羊膜细胞中 AQP3 的表达与 MAPK-JNK 信号传导通路的相关性研究尚未见报道。

研究表明, 复方丹参的有效成分隐丹参酮可通过激活 MAPK-JNK 信号传导通路促使人类肿瘤细胞凋亡达到抗肿瘤的效果^[12]。本课题前期研究发现^[7], 复方丹参注射液可使羊水正常和羊水过少人羊膜上皮细胞中 AQP3 蛋白的表达上调, 对羊水过少 AQP3 蛋白表达的调节更显著。因此, 进一步研究 MAPK-JNK 信号传导通路在复方丹参注射液调节 AQP3 蛋白表达中的作用可以阐明复方丹参有效治疗羊水过少的机制。

本研究通过 CCK-8 实验发现, JNK 抑制剂 SP600125、复方丹参注射液和 SP600125 联合复方丹参注射液对羊水正常和羊水过少人羊膜上皮细胞的细胞活力均无影响, 因此, 用药后细胞中各种蛋白的变化不是因为药物的毒性所致。

本研究还发现, 无论羊水正常和羊水过少, SP600125 对人羊膜上皮细胞中总 JNK 蛋白的表达无影响, 但可明显抑制 p-JNK 蛋白的表达, 表明 SP600125 可以特异性地抑制人羊膜上皮细胞 JNK 的磷酸化。SP600125 作用后, 羊水过少人羊膜上皮细胞 AQP3 蛋白的表达明显受到抑制, 而羊水正常人羊膜上皮细胞中 AQP3 蛋白的表达未受影响, 研究结果提示: 羊水过少时, 人羊膜上皮细胞 AQP3 蛋白的表达受 MAPK-JNK 信号传导通路的调控; 而羊水正常时, 人羊膜上皮细胞 AQP3 蛋白的表达不受 MAPK-JNK 信号传导通路调控, 有可能受 MAPK-p38 或 cAMP-PKA 等其他信号传导通路的调节。

本研究表明, 复方丹参注射液能上调羊水正常和羊水过少人羊膜上皮细胞 p-JNK 和 AQP3 蛋白的表达。在羊水正常情况下, SP600125 联合复方丹参注射液组中 AQP3 蛋白表达与复方丹参注射液组无明显差异, 提示复方丹参注射液对 AQP3 蛋白表达的上调与 MAPK-JNK 信号传导通路无明显关系。但在羊水过少时, SP600125 联合复方丹参注射液组中 AQP3 蛋白表达较 SP600125 组高, 而低于复方丹参注射液组, 提示羊水过少时, 复方丹参注射液对 AQP3 蛋白表达的上调与 MAPK-JNK 信号传导通路相关。表明了复方丹参注射液可通过激活 MAPK-JNK 信号传导通路上调人羊膜上皮细胞 AQP3 蛋白的表达, 从而改变胎膜对液体的转运达到治疗羊水过少的目的, 为临床有效治疗羊水过少提供了新思路。

参 考 文 献

- [1] Harman CR. Amniotic fluid abnormalities[J]. Semin Perinatol, 2008, 32(4): 288-294.

- [2] Chu HN, Shen MJ. Treating oligohydramnios with extract of *Salvia Miltiorrhiza*: a randomized control trial[J]. Ther Clin Risk Manag, 2008, 4(1): 287-290.
- [3] 朱雪琼, 蒋珊珊, 邹双微, 等. 水通道蛋白 3、9 在特发性羊水过多产妇胎盘和胎膜中的表达变化及意义[J]. 中华妇产科杂志, 2009, 44(12): 920-923.
- [4] Zhu XQ, Jiang SS, Zhu XJ, et al. Expression of Aquaporin 1 and Aquaporin 3 in fetal membranes and placenta in human term pregnancies with oligohydramnios[J]. Placenta, 2009, 30(8): 670-676.
- [5] 刘慧妹, 郝荣增, 熊正方. 羊水过多孕妇胎膜组织中水通道蛋白-1、3、8、9 mRNA 的表达[J]. 中华围产医学杂志, 2009, 12(3): 197-200.
- [6] Prat C, Blanchon L, Borel V, et al. Ontogeny of aquaporins in human fetal membranes[J]. Biol Reprod, 2012, 86(2): 48.
- [7] 译文, 马小燕, 丁盛娣, 等. 复方丹参对人羊膜上皮细胞水通道蛋白 3 表达的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2013, 33(1): 51-55.
- [8] 乐杰主编. 妇产科学[M]. 第 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 128-129.
- [9] 马宝璋, 齐聪主编. 中医妇科学[M]. 第 9 版. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 90-92.
- [10] Zhang JY, Selim MA. The role of the c-Jun N-terminal kinase signaling pathway in skin cancer[J]. Am J Cancer Res, 2012, 2(6): 691-698.
- [11] Hollborn M, Ulbricht E, Reichenbach A, et al. Transcriptional regulation of aquaporin-3 in human retinal pigment epithelial cells[J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(8): 7949-7956.
- [12] Chen W, Liu L, Luo Y, et al. Cryptotanshinone activates p38/JNK and inhibits Erk1/2 leading to Caspase-independent cell death in tumor cells[J]. Cancer Prev Res (Phila), 2012, 5(5): 778-787.

(收稿: 2013-10-30 修回: 2014-04-17)

《中国中西医结合杂志》第八届编委会名单

总编辑 陈可冀

副总编辑 沈自尹 肖培根 雷燕

顾问 吴咸中 辛育龄 陈凯先 陈维养 邓铁涛 王永炎 侯灿 曹洪欣

编辑委员(以姓氏笔画字母为序)

于德泉	马必生	王一涛	王卫霞	王文健	王宁生	王伟	王阶	王拥军	王昌恩
王学美	王宝恩	王硕仁	王舒	车镇涛	尹光耀	叶文才	史大卓	史载祥	白彦萍
吕志平	吕爱平	吕维柏	朱兵	朱明军	危北海	庄曾渊	刘干中	刘平	刘良
刘建平	刘建勋	刘猷枋	齐清会	阮新民	孙汉董	孙燕	杨任民	杨宇飞	杨秀伟
李乃卿	李大金	李玉光	李廷谦	李军祥	李连达	李国栋	李国勤	李顺成	李恩
李涛	李焕荣	连方	吴伟康	吴泰相	吴根诚	时毓民	邱峰	张大钊	张永贤
张永祥	张伯礼	张荣华	张亭栋	张家庆	张敏州	陆付耳	陈士奎	陈小野	陈冬燕
陈香美	范维琥	林志彬	林求诚	林瑞超	郁仁存	果德安	周文泉	周俊	周霭祥
赵一鸣	赵伟康	赵健雄	胡义扬	胡镜清	饶向荣	洪传岳	栗原博(日本)	顾振纶	
徐治鸿	徐浩	殷惠军	郭军	郭赛珊	唐由之	唐旭东	凌昌全	黄光英	黄怡超
黄晓愚	黄熙	曹小定	崔红	麻柔	梁晓春	葛秦生	董竞成	董福慧	韩济生
谢竹藩	谢明村	谢恬	蔡定芳	裴正学	廖家桢	廖福龙	衡先培	戴瑞鸿	

Yung-chi CHENG(美国) Sheng-xing MA(美国) Qun-hao ZHANG(美国)