

· 基础研究 ·

β -细辛醚对胃癌裸鼠上皮间质转化的影响

吴 坚 邹 玺 陈 敏 刘沈林 张星星

摘要 **目的** 观察 β -细辛醚对人胃癌 MGC-803 细胞 BALB/c 裸鼠皮下移植瘤上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的影响并探讨其分子机制。**方法** 将胃癌 MGC-803 细胞接种于裸鼠皮下制备移植瘤模型。随机分为阴性对照组(模型组)、阳性对照组(5-FU 组, 25 mg/kg)、 β -细辛醚高剂量组(100 mg/kg)、低剂量组(50 mg/kg), 每组 8 只, 各组灌胃给药, 每日 1 次, 连续用药 10 日。干预结束后处死小鼠, 计算抑瘤率; 通过实时定量 PCR 及 Western Blot 法检测移植瘤中 EMT 上皮型标志物 E-钙黏蛋白(E-cadherin)、间质型标志物 N-钙黏蛋白(N-cadherin)、转录因子 Snail 以及磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)、磷酸化磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphorylation of phosphatidylinositol 3-kinase, p-PI3K)、丝氨酸-苏氨酸激酶(serine/threonine kinase, AKT)、磷酸化丝氨酸-苏氨酸激酶(phosphorylation of serine/threonine kinase, p-AKT)的表达。**结果** 与模型组比较, 5-FU 组、 β -细辛醚高、低剂量组第 7~11 日移植瘤体积明显缩小($P < 0.05$), N-cadherin、Snail、p-AKT、p-PI3K 蛋白及 mRNA 表达降低($P < 0.05$), E-cadherin 蛋白及 mRNA 表达升高($P < 0.05$)。**结论** β -细辛醚对胃癌细胞增殖能力有抑制作用, 其机制可能与下调胃癌细胞的 PI3K/AKT 信号通路, 抑制胃癌细胞 EMT 有关。

关键词 β -细辛醚; 胃癌细胞; 移植瘤; 上皮间质转化; PI3K/AKT 信号通路

Effects of β -asarone on Epithelial-Mesenchymal Transition of Gastric Cancer in Nude Mice WU Jian, ZOU Xi, CHEN Min, LIU Shen-lin, and ZHANG Xing-xing Central Lab, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing (210029)

ABSTRACT **Objective** To observe the effects of β -asarone on epithelial-mesenchymal transition (EMT) of human gastric cancer MGC-803 cells in BALB/c nude mice, and to study its possible molecular mechanism. **Methods** Gastric cancer MGC-803 cells were subcutaneously inoculated to nude mice for preparing transplanted tumor model. Totally 24 nude mice were then divided into the negative control group (model), the positive control group (5-FU, 25 mg/kg), the high dose β -asarone group (100 mg/kg), the low dose β -asarone group (50 mg/kg), 8 in each group. Corresponding medicines were administered to rats in respective group by gastrogavage, once per day for 10 successive days. The mice were sacrificed at the end of the intervention, and the tumor inhibition rate was calculated. The expressions of E-cadherin, N-cadherin, Snail, phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), phosphorylation of phosphatidylinositol 3-kinase (p-PI3K), serine/threonine kinase (AKT), phosphorylation of serine/threonine kinase (p-AKT) were detected by Real-time PCR and Western Blot. **Results** Compared with the model group, the volume of transplanted tumor was obviously reduced in 5-FU group and β -asarone groups from day 7 to day 11 ($P < 0.05$). Protein and mRNA expressions of N-cadherin, Snail, p-PI3K, p-AKT decreased, and protein and mRNA expressions of E-cadherin increased in 5-FU group and β -asarone groups ($P < 0.05$). **Conclusions** β -asarone could inhibit proliferation ability of gastric cancer cells, and its mechanism might be associated with down-regulating PI3K/AKT signal pathway of gastric cancer cells and re-

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81473605);国家中医临床研究基地业务建设科研专项(No.JDZX2012086);江苏省高校优势学科建设工程一期资助项目;江苏省中医院院级课题(No.Y14074);江苏省临床医学科技专项(No.BL2014100)

作者单位:南京中医药大学附属医院中心实验室(南京 210029)

通讯作者:张星星, Tel:025-86617141 转 91601, E-mail: zxxjsszy@sina.com

DOI: 10.7661/j. cjim. 20170203. 012

straining EMT of gastric cancer cells.

KEYWORDS β -asarone; gastric cancer cell; transplanted tumor; epithelial-mesenchymal transition; PI3K/AKT signal pathway

胃癌是全球十大恶性肿瘤之一,发病率居恶性肿瘤的第 4 位,死亡率居第 2 位^[1]。调查显示,胃癌患者死亡的最主要原因是胃癌的复发及转移,80% 胃癌死亡患者解剖后发现存在局部或远处转移^[2]。胃癌复发转移严重影响患者的生活质量和预后,但目前现代医学尚无行之有效的解决方案。因此,临床亟需阐明胃癌复发转移的分子机制,并寻找有效药物进行干预。研究表明,上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)在肿瘤转移的早期阶段可使肿瘤细胞获得侵袭、迁移能力并具备干细胞特性^[3]。因此,抑制肿瘤 EMT 的发生可能是减少肿瘤复发转移的重要手段。

β -细辛醚是中药石菖蒲的主要挥发油成分,分子式为 $C_{12}H_{16}O_3$, 分子量为 208.25。 β -细辛醚在肿瘤方面的研究较少。本实验室前期体外研究发现, β -细辛醚有显著抑制肿瘤生长转移的作用^[4]。但其体内抑制胃癌的作用及机制并不明确。本研究旨在探讨 β -细辛醚对裸鼠移植瘤的抑制作用,并从 EMT 方向探讨其分子机制。

材料与方法

1 细胞及实验动物 人胃癌 MGC-803 细胞购自凯基生物公司。清洁级 BALB/c 裸小鼠 32 只,雌雄各半,4 周龄,体重 18~22 g,上海斯莱克动物中心,合格证号:SCXK(沪)2007-0005,南京中医药大学动物实验中心 SPF 动物房饲养。动物实验方法符合南京中医药大学动物实验伦理规程。

2 实验药物 β -细辛醚,美国 Sigma 公司,批号:03124JR。5-FU 注射液,天津金耀氨基酸有限公司,批号:1109161。

3 主要试剂及仪器 E-钙黏蛋白(E-cadherin)、N-钙黏蛋白(N-cadherin)、转录因子 Snail、磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)、磷酸化磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphorylation of phosphatidylinositol 3-kinase, p-PI3K)、丝氨酸-苏氨酸激酶(Serine/threonine kinase, AKT)、磷酸化丝氨酸-苏氨酸激酶(phosphorylation of serine/threonine kinase, p-AKT)单抗购自 Cell Signaling 公司。RPMI-1640 培养液,购自南京凯基生物科技发展有限公司,批号:12633012,小牛血清,购自杭州四

季青生物工程材料有限公司,批号 140902;胰蛋白酶购自 Biosharp 公司,批号:BL501A;TRIzol RNA 提取试剂购自美国 Invitrogen 公司,批号:15596018;PCR 试剂盒购自日本 TaKaRa 公司,批号:DRR420A;逆转录试剂盒购自日本 TaKaRa 公司,批号:DRR047A;DEPC 购自中国 Biosharp 公司,批号:BL510A;氯仿购自 SolarBio 公司,批号:P1012;PCR 引物购自 Invitrogen 公司;兔抗人 β -actin 单抗购自 Cell Signaling 公司,批号:4970;兔抗人 E-cadherin、兔抗人 N-cadherin、兔抗人 Snail 单抗,购自 Cell Signaling 公司,批号:9782;兔抗人 AKT、兔抗人 p-AKT 单抗,购自 Cell Signaling 公司,批号:9270;兔抗人 PI3K、兔抗人 p-PI3K 单抗,购自 Cell Signaling 公司,批号:9655;山羊抗兔二抗,购自中杉生物技术公司,批号:2301。

CO₂ 培养箱, HERAcell 150i, 美国 Thermo 公司;生物安全柜, 1300 A2, 美国 Thermo 公司;倒置显微镜, IX51, 日本 Olympus 公司;超纯水机, Milli Q, 美国 Millipore 公司;紫外分光光度计, Biophotometer plus, 美国 ABI 公司;PCR 扩增仪, 2720 型, 美国 ABI 公司;荧光定量 PCR 仪, 7500 fast, 美国 ABI 公司;电泳仪、转印槽, MP-4, 美国 BioRad 公司;化学发光成像仪, XRS+, 日本 BioRad 公司;冷冻离心机, 5804R, 德国 Eppendorf 公司;超低温冰箱, MDF-38, 日本三洋公司。

4 裸鼠皮下移植瘤模型制备 人胃癌 MGC-803 细胞用 RPMI-1640 培养液常规培养, 取对数生长期细胞制备细胞悬液, 调整细胞浓度为 3×10^7 个/mL, 每只裸鼠右侧腋下接种 0.2 mL 细胞悬液。裸鼠右侧腋下出现直径为 5~7 mm 硬结提示造模成功。

5 动物分组及干预方法 将 32 只成瘤裸鼠随机分为:阴性对照组(模型组)、阳性对照组(5-FU 组)、 β -细辛醚低剂量组、 β -细辛醚高剂量组。阴性对照组予生理盐水灌胃, 每日 1 次;阳性对照组予 5-尿嘧啶(5-FU, 25 mg/kg)灌胃, 每日 1 次; β -细辛醚高、低剂量组分别以 100、50 mg/kg 灌胃每日 1 次, 连续用药 10 天, 次日处死荷瘤裸鼠, 剖瘤称重。

6 观察指标及方法 干预结束后次日脱颈椎处死荷瘤裸鼠, 剖瘤称重。

6.1 移植瘤生长状况 干预第 1 日开始, 隔日

以游标卡尺隔日测量瘤体最长径和最短径,计算瘤体体积(V, mm^3) = (长径 $\times$ 短径²)/2,绘制肿瘤生长曲线。计算瘤体体积抑制率,抑制率(%) = $(1 - V_{\text{实验组}} / V_{\text{模型组}}) \times 100\%$ 。判断标准:肿瘤抑制率 $> 30\%$,经统计学处理有差异有统计学意义($P < 0.05$)为有抗肿瘤作用。

6.2 实时定量 PCR 检测 E-cadherin、N-cadherin、Snail m-RNA 表达水平 液氮中取出各组瘤块,剪成 0.2 cm^3 大小,PBS 洗 2 次。按试剂盒要求,提取肿瘤组织中总 RNA,紫外分光光度仪测定 RNA 样品浓度及纯度,并逆转录。用 PCR 试剂盒,对 cDNA 进行实时定量 PCR 检测。引物序列如表 1。

表 1 引物序列		
名称	引物序列	产物长度 (bp)
β-actin	上游:5'-CATGTACGTTGCTATCCAGGC-3'	13
	下游:5'-CTCCTTAATGTCACGCACGAT-3'	
E-cadherin	上游:5'-GGTGCTCTCCAGGAACCTC-3'	196
	下游:5'-GGAACTCTCTCGGTCCAGC-3'	
N-cadherin	上游:5'-TTTGGGAGGGGTAAAGTTC-3'	96
	下游:5'-R: AAGAAACAGGCCACCCCTT-3'	
Snail	上游:5'-TAGGCCCTGGCTCGCTACAAG-3'	
	下游:5'-GCCCTCCCTCCACAGAAATG-3'	

PCR 反应体系:SYBR Premix Ex Taq (2 ×), 5 μL;PCR Forward Primer (10 μmol/L), 0.2 μL; PCR Reverse Primer (10 μmol/L), 0.2 μL; ROX Reference Dye (50 ×), 0.2 μL; cDNA, 1 μL; dH₂O, 3.4 μL。PCR 反应扩增条件:预变性:95 ℃ 30 s,循环 1 次;PCR 反应:95 ℃ 5 s, 60 ℃ 30 s,循环 40 次;融解曲线分析:95 ℃ 15 s, 60 ℃ 60 s, 95 ℃ 15 s,循环 1 次。

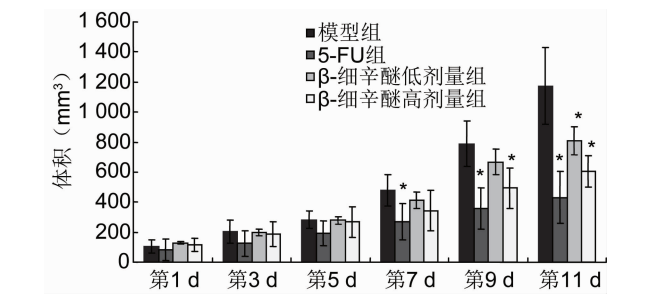
采用 2^{-ΔΔCt} 方法对 qPCR 结果进行数据分析,计算 ΔCt = 目的基因 Ct - 内参基因 Ct; ΔΔCt = ΔCt (给药组) - ΔCt (阴性对照组);差别倍数 = 2^{-ΔΔCt},其中阴性对照组的数值均为 1。

6.3 Western Blot 检测 E-cadherin、N-cadherin、Snail、AKT、p-AKT、PI3K、p-PI3K 蛋白表达 将移植瘤组织研磨成匀浆,PIPA 中 4 ℃ 裂解 30 min, 4 ℃、12000 ×g 离心 15 min,上清即为细胞总蛋白。吸取上清,蛋白定量后分装,Bradford 法测蛋白浓度,每个样品取 20 μg 上样量进行 Western Blot 试验。经 SDS PAGE 分离后转到 PVDF 膜上,5 % 脱脂奶粉溶液封闭 1 h,一抗 4 ℃ 过夜,次日二抗室温孵育后,经 PBST 漂洗,使用 ECL 液进行发光和条带分析。

7 统计学方法 采用 SPSS 13.0 统计软件,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,方差齐性检验后,组间比较用 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组肿瘤体积、体重、抑瘤率比较(图 1,表 2) 肿瘤种植后约 14 日,皮下可见直径约 5 ~ 7 mm 的移植瘤。干预期间移植瘤瘤体继续增大,各组裸鼠一般状况无明显变化。各组裸鼠体重给药前后无明显差异。与模型组比较,β-细辛醚高、低剂量组第 7 ~ 11 日瘤体积明显缩小 ($P < 0.05$)。



注:与模型组比较,* $P < 0.05$

图 1 各组肿瘤体积率比较

表 2 各组体重、抑瘤率比较				
组别	n	体重(g, $\bar{x} \pm s$)		抑瘤率 (%)
		给药前	给药后	
模型	6	23.3 ± 2.3	25.5 ± 3.4	-
5-FU	6	23.7 ± 2.1	24.9 ± 3.6	63.39
β-细辛醚高剂量	6	23.1 ± 2.8	26.0 ± 2.4	30.96
β-细辛醚低剂量	6	21.2 ± 3.9	23.2 ± 2.4	48.30

2 各组移植瘤中 E-cadherin、N-cadherin、Snail mRNA 表达比较(图 2) 与模型组比较,5-FU 组、β-细辛醚高、低剂量组 E-cadherin mRNA 表达上调,N-cadherin、Snail mRNA 表达下调($P < 0.05$)。

3 各组 E-cadherin、N-cadherin、Snail、AKT、P-AKT、PI3K、p-PI3K 蛋白表达比较(图 3,表 3) 与模型组比较,5-FU 组、β-细辛醚高、低剂量组 N-cadherin、Snail、p-AKT、p-PI3K 蛋白表达下调 ($P < 0.05$),E-cadherin 蛋白表达上调($P < 0.05$),PI3K、AKT 蛋白表达无明显变化。

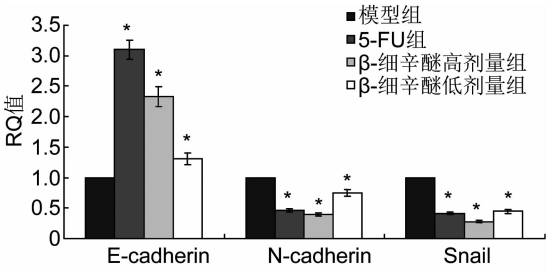
讨 论

肿瘤的侵袭转移是导致肿瘤患者死亡的主要原因之一。肿瘤的转移是多基因、多因素交互作用及多条信号通路交叉调控的结果。肿瘤细胞间黏附能力减弱、侵袭性增加并最终从原发灶脱落是启动肿瘤转移

表 3 各组移植瘤相关蛋白表达灰度值比较 ($\bar{x} \pm s$)

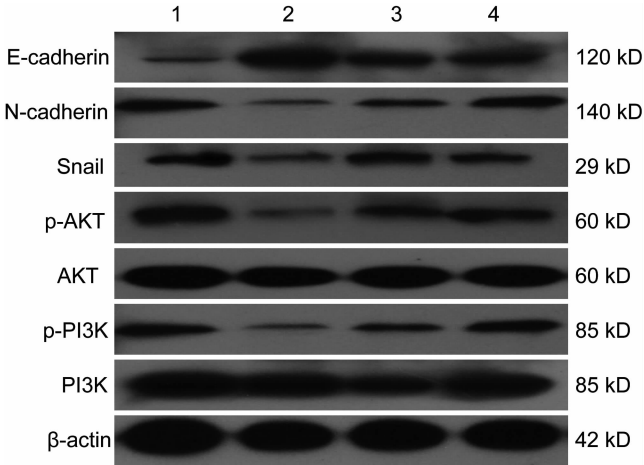
组别	n	E-cadherin	N-cadherin	Snail	AKT	p-AKT	PI3K	p-PI3K
模型	8	0.152 ± 0.020	0.471 ± 0.022	0.346 ± 0.036	0.774 ± 0.019	0.678 ± 0.042	0.77 ± 0.04	0.434 ± 0.026
5-FU	8	0.645 ± 0.067 *	0.210 ± 0.079 *	0.222 ± 0.039 *	0.729 ± 0.057	0.252 ± 0.041 *	0.77 ± 0.03	0.153 ± 0.007 *
β-细辛醚高剂量	8	0.476 ± 0.020 *	0.194 ± 0.120 *	0.311 ± 0.009 *	0.722 ± 0.053	0.398 ± 0.041 *	0.73 ± 0.03	0.207 ± 0.018 *
β-细辛醚低剂量	8	0.404 ± 0.022 *	0.364 ± 0.091	0.300 ± 0.024 *	0.732 ± 0.086	0.510 ± 0.019 *	0.78 ± 0.04	0.283 ± 0.017 *

注:与模型组比较, *P < 0.05



注:与模型组比较, *P < 0.05

图 2 各组 E-cadherin、N-cadherin、Snail mRNA 表达比较



注:1 为模型组;2 为 5-FU 组;3 为 β-细辛醚高剂量组;4 为 β-细辛醚低剂量组

图 3 各组 E-cadherin、N-cadherin、Snail、AKT、p-AKT、PI3K、p-PI3K 蛋白表达

的第一步。越来越多证据表明,EMT 参与多种肿瘤的侵袭和转移过程^[3,5,6]。

E-cadherin 是 EMT 中最重要的上皮标记物,定位于上皮细胞间的黏连接头部位,参与细胞间黏附结构的形成,对于维持上皮细胞的黏附性和完整性发挥着重要的作用。N-cadherin 是重要的间质标志物。EMT 发生后,E-cadherin 表达下调,N-cadherin 表达上调,细胞骨架重组,细胞间原本紧密的连接变得松散,细胞间黏附力下降,易从原发肿瘤部位脱落,增加了肿瘤细胞的侵袭能力。Snail 是含有锌指结构的 DNA 结合蛋白,在胞浆、胞核之间穿梭,可与 E-cad-

herin 启动子上游的 E-box 区域结合,抑制 E-cadherin 的表达,促发 EMT^[7]。

本实验以荷人胃癌 MGC-803 裸鼠为研究对象。裸鼠对异体肿瘤排斥性低、易于成瘤,是成熟稳定的肿瘤动物模型。本次实验研究发现,β-细辛醚可以抑制裸鼠皮下移植瘤的生长,高、低剂量组抑瘤率分别为 48.30%、30.96%,高于模型组。通过实时定量 PCR 及 Western Blot 检测,发现 β-细辛醚干预后,瘤体内 E-cadherin 表达上调,N-cadherin 表达下调,Snail 下调,提示 β-细辛醚能抑制胃癌细胞 EMT。

为进一步探明 β-细辛醚对抑制胃癌细胞 EMT 的机制作用,对 EMT 相关调控通路进行了检测。PI3K/AKT 是常见的细胞信号通路,PI3K 可磷酸化 PIP2 的 3-OH 位点,使之成为 PIP3,PIP3 又通过 PDK1 促进 AKT 的磷酸化,激活 PI3K/AKT 通路。激活后的 PI3K/AKT 通过多种途径调节肿瘤细胞的迁移和侵袭^[8]。有研究证实,PI3K/AKT 可诱导基质金属蛋白酶家族的表达,促进 E-cadherin 降解,加速胃癌细胞的侵袭转移能力,而阻断 PI3K/AKT 通路后,胃癌 EMT 也明显减少^[9]。同时,PI3K/AKT 通路对 Snail 的表达也有促进作用。一方面,PI3K/AKT 通路能直接上调 Snail 在细胞内的表达水平^[10]。另一方面,PI3K/AKT 的激活使糖原合成激酶-3β (glycogen synthase kinase 3β, GSK-3β) 9 号位点的丝氨酸磷酸化,被泛素化降解,阻止了 GSK-3β 对 Snail 的降解^[11]。因此对 PI3K/AKT 通路中关键蛋白及磷酸化水平进行检测。发现 β-细辛醚干预后,PI3K、AKT 表达虽无明显改变,但 p-PI3K、p-AKT 表达下调,表明 β-细辛醚对 PI3K/AKT 信号通路有抑制作用,其具体调控方式有待进一步研究。

综上所述,β-细辛醚对于 MGC-803 胃癌细胞株裸鼠移植瘤的有一定的增殖抑制作用。其分子机制可能与 β-细辛醚能够通过抑制 PI3K/AKT 通路,抑制胃癌 EMT 有关。

参 考 文 献

[1] Gomceli I, Demiriz B, Tez M. Gastro-carcinogene-

- sis[J]. World J Gastroenterol, 2012, 18(37): 5164-5170.
- [2] 柯彬, 刘宁, 梁寒, 等. 138 例淋巴结转移阴性胃癌患者的预后因素分析[J]. 中华胃肠外科杂志, 2011, 14(3): 192.
- [3] De Craene B, Berx G. Regulatory networks defining EMT during cancer initiation and progression[J]. Nat Rev Cancer, 2013, 13(2): 97-110.
- [4] Zou X, Liu SL, Zhou JY. Beta-asarone induces LoVo colon cancer cell apoptosis by up-regulation of caspases through a mitochondrial pathway *in vitro* and *in vivo* [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2012, 13(10): 5291-5298.
- [5] Nurwidya F, Takahashi F, Murakami A, et al. Epithelial mesenchymal transition in drug resistance and metastasis of lung cancer[J]. Cancer Res Treat, 2012, 44(3): 151-156.
- [6] Foroni C, Broggin M, Generali D, et al. Epithelial-mesenchymal transition and breast cancer: role, molecular mechanisms and clinical impact [J]. Cancer Treat Rev, 2012, 38(6): 689-697.
- [7] Vega S, Morales AV, Ocaña OH, et al. Snail blocks the cell cycle and confers resistance to cell death[J]. Genes Dev, 2004, 18(10): 1131-1143.
- [8] Chen X, Liao J, Lu Y, et al. Activation of the PI3K/Akt pathway mediates bone morphogenetic protein 2-induced invasion of pancreatic cancer cells Panc-1 [J]. Pathol Oncol Res, 2011, 17(2): 257-261.
- [9] Yoo YA, Kang MH, Lee HJ, et al. Sonic hedgehog pathway promotes metastasis and lymphangiogenesis via activation of Akt, EMT, and MMP-9 pathway in gastric cancer [J]. Cancer Res, 2011, 71(22): 7061-7070.
- [10] Hong KO, Kim JH, Hong JS, et al. Inhibition of Akt activity induces the mesenchymal-to-epithelial reverting transition with restoring E-cadherin expression in KB and KOSCC-25B oral squamous cell carcinoma cells[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2009, 28: 28.
- [11] Qiao M, Sheng S, Pardee AB. Metastasis and Akt activation[J]. Cell Cycle, 2008, 7(19): 2991-2996.

(收稿: 2015-07-29 修回: 2016-12-09)

责任编辑: 赵芳芳

英文责编: 张晶晶

《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 王文健 史大卓 吕爱平 肖培根 吴伟康 沈自尹 雷燕

顾问 王永炎 邓铁涛 吴咸中 辛育龄 张伯礼 陈香美 陈凯先 陈维养 侯灿

唐由之 曹洪欣

编辑委员

于德泉	马必生	王一涛	王卫霞	王宁生	王伟	王阶	王拥军(上海)	王拥军(北京)	
王昌恩	王学美	王硕仁	王舒	车镇涛	卞兆祥	方邦江	尹光耀	邓跃毅	叶文才
史载祥	白彦萍	吕志平	吕维柏	朱元杰	朱兵	朱明军	危北海	庄曾渊	刘干中
刘平	刘建平	刘建勋	刘保延	刘鲁明	齐清会	阮新民	孙汉董	孙燕	苏励
杨任民	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
李恩	李涛	李焕荣	连方	吴大嵘	吴万垠	吴泰相	吴根诚	吴烈	时毓民
邱峰	张永贤	张永祥	张荣华	张亭栋	张家庆	张敏州	张敏建	陆付耳	陈士奎
陈冬燕	范吉平	范维琥	林志彬	林求诚	林瑞超	郁仁存	果德安	季光	周俊
周霁祥	赵一鸣	赵伟康	赵健雄	胡义扬	胡镜清	侯凡凡	饶向荣	洪传岳	顾振纶
栗原博(日本)	徐凤芹	徐治鸿	徐浩	殷惠军	郭军	郭艳	郭赛珊	唐旭东	凌昌全
黄光英	黄熙	黄璐琦	梅之南	曹小定	崔红	麻柔	梁晓春	梁繁荣	葛秦生
董竞成	韩济生	谢竹藩	谢明村	谢恬	蔡定芳	裴正学	廖福龙	衡先培	戴瑞鸿

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

(以上名单按姓氏笔画为序)