

白肉灵芝水提物对衰老大鼠皮肤的作用研究

王 昱*,何九军,张宗舟

陇南师范高等专科学校农林技术学院 陇南特色农业生物资源研究开发中心,成县 742500

摘要:为研究白肉灵芝水提物(*Ganoderma leucocontextum* aqueous extracts, GLAE)对D-半乳糖致衰大鼠皮肤的影响,用D-半乳糖构建衰老大鼠模型,同时分别给予不同剂量的(0、50、100和200 mg/kg)的GLAE处理,利用生物显微技术观察皮肤组织结构的变化,ELISA法检测I、II型胶原蛋白含量,彗星电泳检测细胞DNA损伤,定量PCR检测基因MAP3K5、TGF- β 1和PLOD2的表达水平。结果显示与模型组比较,GLAE干预后,大鼠皮肤病理改变明显减轻;皮肤细胞DNA损伤程度显著降低,I、II型胶原蛋白含量显著升高;基因MAP3K5、TGF- β 1表达上调,基因PLOD2的表达下调。GLAE可增加胶原蛋白含量、抑制皮肤细胞DNA损伤、调节MAP3K5、TGF- β 1和PLOD2基因的表达而发挥延缓皮肤衰老的作用。

关键词:白肉灵芝水提物;皮肤衰老;D-半乳糖;延缓衰老;大鼠

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2019)12-2131-06

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.12.017

Effect of the aqueous extracts of *Ganoderma leucocontextum* on aging rats skin

WANG Yu*, HE Jiu-jun, ZHANG Zong-zhou

College of Agriculture and Forestry, Center for research & development of longnan characteristic agro-bioresources, Longnan Teachers College, Chengxian 742500, China

Abstract: The aim of this study was to investigate the effects of the aqueous extracts of *Ganoderma leucocontextum* on the skin of D-galactose-induced aging rats. Aging rat models were made by D-galactose, and then treated continuously with different doses (0, 50, 100, 200 mg/kg) of GLAE. The changes of skin histological structure were observed by bio-microscopy. ELISA was used to determine the contents of type I and type II collagen. The cell DNA damage and gene MAP3K5, TGF- β 1 and PLOD2 expressions were detected by comet assay and quantitative PCR, respectively. The results showed that compared to model group, administration of GLAE could obviously alleviate skin pathological changes. The levels of cell DNA damage were markedly reduced, the contents of type I and type II collagen were markedly increased. The expressions of gene MAP3K5 and TGF- β 1 were up-regulated, while expressions of gene PLOD2 were statistically down-regulated. Based on these results, it was concluded that GLAE could delay skin aging process through enhancing collagen contents, inhibiting skin cell DNA damage, regulating expressions of gene MAP3K5, TGF- β 1 and PLOD.

Key words: *Ganoderma leucocontextum* aqueous extracts; skin aging; D-galactose; anti-aging; rat

人体衰老是一个全方位、多因素、系统的不可逆的过程,常伴随着结构的退行性变和机能的衰退。皮肤的衰老则表现为皮肤变薄、弹性减退、皱纹出现、干燥粗糙、色素沉着、血管突显等临床症状^[1]。目前文献报道,皮肤的衰老与氧自由基损伤、免疫力衰退、端粒酶活性降低、炎性浸润等有关^[2,3]。在延

缓皮肤衰老的方面,外科手术运用皮肤提紧术、肉毒素注射、胶原皮下注射等方法治疗,但有一定的风险及副作用。中医从疏通经络气血、调整脏腑功能等入手^[4],是治疗皮肤衰老的有效方法之一。所以,将传统中医药的抗衰防老手段与现代科学技术相结合,开发用于皮肤保健及抗衰老的功能性食品是当前重要的课题。

肉灵芝学名太岁,《本草纲目》记载肉灵芝既可食用,也可入药,有“轻身不老、延年神仙”功效。《神农本草经》也提到肉灵芝无毒,能补中益气、增

收稿日期:2019-07-08 接受日期:2019-11-27

基金项目:甘肃省高等学校科研资助项目(1128B-01);甘肃省陇南市科技计划(2019-ZD-10)

*通信作者 Tel:86-015209395078; E-mail:gswangyu@126.com

智慧^[5]。近年来的研究表明,肉灵芝有效成分包括吡咯喹啉醌、氨基酸、维生素、微量元素等,对高血压、动脉硬化、癌症、风湿病等有一定作用,是一种高蛋白、低脂肪、具有丰富的钙、铁、锌等微量元素的生物体^[6]。Xiong 等^[7]研究表明肉灵芝中的生物活性成分稳定性高且易通过机体血脑屏障,能促进新生神经元的发生,在治疗神经退行性疾病中具有更为广阔的前景。为了进一步探讨 GLAE 的药用和保健作用,本研究运用生物显微技术、彗星电泳、定量 PCR 等技术对 GLAE 的抗衰老作用机制进行了研究。

1 材料与方法

1.1 白肉灵芝水提物制备

取本实验室培养的白肉灵芝,烘干(35 ℃)子实体,提取 DNA 后扩增、电泳检测、条带纯化、测序(上海生物工程有限公司)。鉴定结果表明该样本为白肉灵芝(*Ganoderma leucocontextum*)。根据文献^[7],将白肉灵芝子实体干品粉碎,过筛(60 目)、提取(96 ℃水浴)、离心,收集上清,过滤,滤液冷冻干燥,得到白肉灵芝水提物。

1.2 动物模型建立与给药

50 只健康 SD 大鼠,雌雄各半,许可证号:SCXK(甘)2005-0007,体质量 200~250 g,适应性饲养一周后随机分为 5 组,每组 10 只:对照组、模型组、GLAE 低剂量组、GLAE 中剂量组和 GLAE 高剂量组。模型组和 GLAE 组大鼠采用颈背部皮下注射 D-半乳糖(北京优尼康生物科技,批号 MG05201)溶液 300 mg/kg·bw^[3],同时 GLAE 低、中、高剂量组分别灌胃(50、100 和 200 mg/kg·bw)的 GLAE^[8],对照组每天注射等量的 0.9% 生理盐水,连续处理 7 周。

1.3 组织学观察

采用颈椎脱臼法处死大鼠,用 8% 硫化钠溶液脱毛后立即取大鼠背部正中皮肤修成常规大小,经 4% 多聚甲醛液固定、石蜡包埋切片、染色后,显微镜观察。

1.4 胶原蛋白含量的测定

取背部皮肤的真皮,在培养皿中用无血清 HB-SS 液(Hanks 平衡盐缓冲溶液)冲洗,眼科剪剪碎,然后用弯头吸管反复吹打,0.125% 胰蛋白酶和 0.01% 的 EDTA 室温消化 30 min,终止消化后弃去消化液,收集细胞按照 ELISA 检测试剂盒(ELx800,美国 BioTek 公司)说明书操作,检测 I 型、II 型胶原蛋白的含量。

1.5 彗星电泳检测皮肤细胞 DAN 的损伤

根据文献制片^[9]:第一、二层分别铺琼脂糖和上述制备的细胞悬液。将制备好的载玻片置于 4 ℃ 固定 30 min 后,浸没于 4 ℃ 预冷的裂解液(2.5 M NaCl、100 mM Na₂EDTA、10 mM Tris-HCl pH 10、1% 肌氨酸钠、1% Triton 和 1% DMSO)中裂解 2 h。在 4 ℃ 盛有碱性电泳缓冲液(1 mM EDTA、300 mM NaOH)的电泳槽(DYCPZ 型,北京市六一仪器厂)静置 20 min,使 DNA 解旋,然后在 25 V 电压,300 mA 电流下电泳(DYY-IB 型电泳仪,北京市六一仪器厂)20 min。Tris-HCl 缓冲液(4 ℃)中和至中性,用溴化乙锭(广州化学试剂厂)溶液染色 30 s~1 min,蒸馏水洗涤。在倒置荧光显微镜(DMI3000B,Leica)下用 515~560 nm 的激发光观察单细胞电泳图像,每样做 3 张片子,拍照观察 DNA 损伤细胞(尾长大于头部半径的细胞)。实验结果以彗星率% 表示。

1.6 PCR 检测皮肤 MAP3K5、TGF-β1 和 PLOD2 mRNA 表达

取大鼠皮肤在 2 mL 的离心管(加入 1 mL Trizol)中反复研磨,离心(14 000 rpm)10 min,然后按照 PCR 试剂盒说明书进行酚-氯仿抽提 RNA、逆转录反应、实时荧光 PCR 扩增,最后采用 ABI 7 500 软件分析,用 2^{-ΔΔCt} 方法进行相对定量。(引物由上海涵悦生物科技有限公司设计,上海生工生物技术有限公司合成,引物信息见表 1。Taka Ra 公司提供 RNA 抽提试剂盒、反转录试剂、定量 PCR 试剂)。

表 1 目的基因引物序列
Table 1 Primer sequence of target genes

基因 Gene	引物序列 Primer sequence (5'→3')	GenBank 登录号 GenBank accession No.	退火温度 Annealing temperature (°C)
MAP3K5	F:TGAAGTGCCTCAGACTAAG	NM_008580.4	60
	R:GCGACACGAGTAAACAAAG		
TGF-β1	F:AAGGACCTGGCTTGAAGTG	NM_011577.1	60
	R:TGTTGTAGAGGGCAAGGAC		
PLOD2	F:CCTGGGATTCTGACGCCTAC	NM_133211.3	60
	R:GAGACTTGCCCTGGAGGAAC		

1.2.8 数据处理

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS18.0 软件进行单因素方差分析,LSD 法进行组间两两比较,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GLAE 对大鼠皮肤组织结构的影响

对照组大鼠皮肤组织分层清楚、结构完整,真皮

层的胶原纤维排列整齐、分布均匀,皮肤附属器数量较多。模型组大鼠表皮变薄,结构不完整,皮肤附属器减少;真皮和皮下结缔组织被致密、无弹性的纤维化组织所替代,皮肤纤维化严重。GLAE 高剂量组大鼠皮肤组织形态接近对照组,表皮较厚,组织结构完整,皮肤附属器较多(见图 1)。

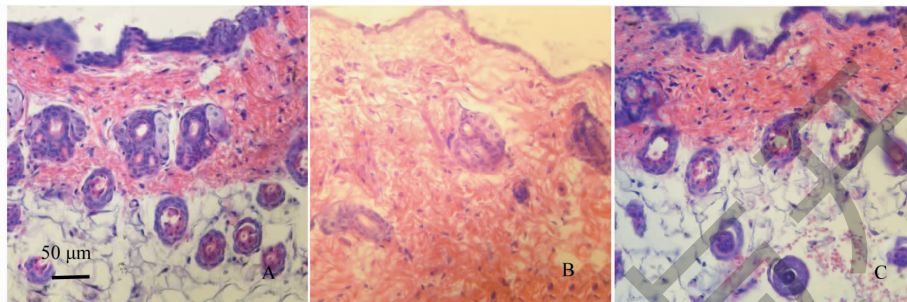


图 1 GLAE 对大鼠皮肤组织病理学影响

Fig. 1 Effect of GLAE on the skin histopathology in rats

注:A. 对照组;B. 模型组;C. GLAE 高剂量组,标尺示 50 μm 。Note:A. control group;B. model group;C. GLAE high-dose group,bar = 50 μm .

2.2 各实验组大鼠皮肤 I、II 型胶原蛋白的含量

与对照组相比,模型组成纤维细胞 I、II 型胶原蛋白含量显著降低($P < 0.01$)。与模型组相比,GLAE 低、中、高剂量组成纤维细胞 I、II 型胶原蛋白含量均呈升高趋势($P < 0.01, P < 0.05$) (见图 2)。

核部分,从而在电泳图上形成彗星状图形,尾部的长短或面积大小代表细胞核 DNA 损伤的程度,正常细胞的细胞核呈圆形(见图 3)。由图 4 可知,各实验组大鼠皮肤细胞的 DNA 均有不同程度断裂,均出现了彗星状图形。与对照组相比,模型组大鼠皮肤细胞 DNA 的彗星率极显著升高($P < 0.01$)。与模型组相比,GLAE 低、中、高剂量组大鼠皮肤的细胞 DNA 彗星率均呈降低趋势($P < 0.05, P < 0.01$)。

2.3 各实验组大鼠皮肤细胞的 DNA 损伤

彗星电泳又称单细胞凝胶电泳,若细胞核 DNA 断裂成片段,在电泳条件下,其移动的速度快于细胞

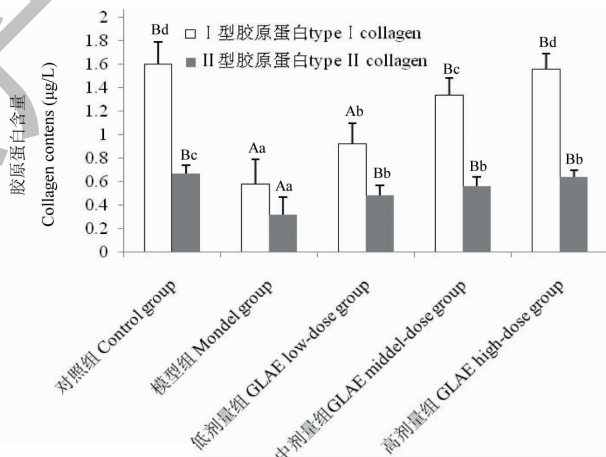


图 2 GLAE 对大鼠皮肤 I、II 型胶原蛋白含量的影响

Fig. 2 Effects of GLAE on contents of skin type I and type II collagen in rats

注:同列数据肩标不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$);肩标不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$);肩标相同字母或无字母标注表示差异不显著($P > 0.05$)。Note:In the same column,values with different small letter superscripts mean significant difference ($P < 0.05$);And with different capital letter superscripts mean extremely significant difference ($P < 0.01$);While with the same or no letter superscripts mean no significant difference ($P > 0.05$).

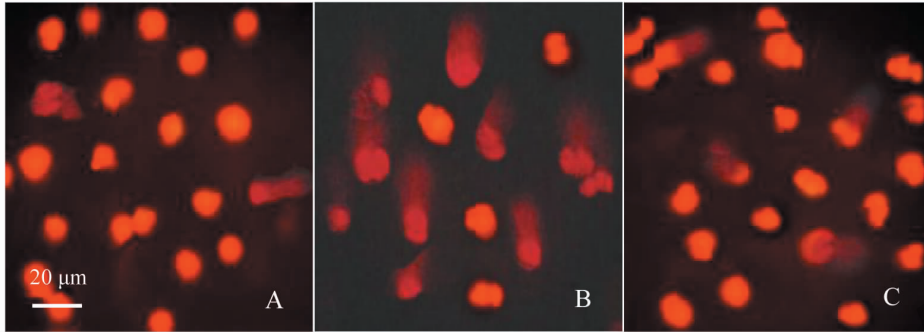


图3 各实验组大鼠皮肤细胞 DNA 的彗星电泳图

Fig. 3 Comet electrophoretogram of skin cell in each experimental group

注: A. 对照组; B. 模型组; C. GLAE 高剂量组, 标尺示 20 μm 。Note: A. control group; B. model group; C. GLAE high-dose group, bar = 20 μm .

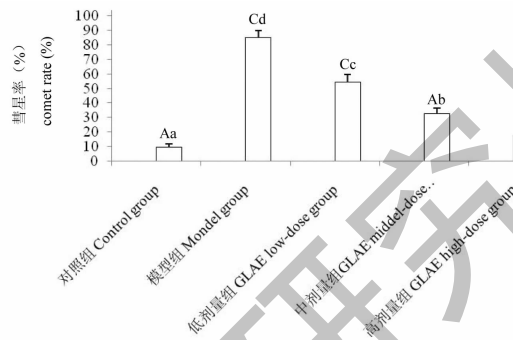


图4 GLAE 对大鼠皮肤细胞 DNA 损伤的影响

Fig. 4 Effect of GLAE on skin cell DNA damage of rats

注: 同列数据肩标不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$); 肩标不同大写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$); 肩标相同字母或无字母标注表示差异不显著 ($P > 0.05$)。Note: In the same column, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P < 0.05$); And with different capital letter superscripts mean extremely significant difference ($P < 0.01$); While with the same or no letter superscripts mean no significant difference ($P > 0.05$).

2.4 各实验组大鼠皮肤组织 MAP3K5、TGF- β 1 和 PLOD2 mRNA 表达

由表 2 可知, 与对照组相比, 模型组大鼠皮肤组织 MAP3K5 和 TGF- β 1 mRNA 表达量极显著下降, PLOD2 mRNA 表达量极显著升高 ($P < 0.01$); 与模

型组比较, GLAE 低、中、高剂量组大鼠皮肤组织 MAP3K5 和 TGF- β 1 mRNA 表达量显著升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), PLOD2 mRNA 表达量呈降低趋势 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

表 2 GLAE 对大鼠皮肤组织 MAP3K5、TGF- β 1 和 PLOD2 mRNA 表达的影响

Table 2 Effect of GLAE on expressions of MAP3K5, TGF- β 1 and PLOD2 mRNA in skin tissue

组别 Group	MAP3K5	TGF- β 1	PLOD2
对照组 Control	5.15 \pm 0.18 ^{Bd}	6.59 \pm 0.15 ^{Bd}	1.16 \pm 0.16 ^{Bd}
模型组 Model	2.77 \pm 0.39 ^{Aa}	2.01 \pm 0.22 ^{Aa}	4.46 \pm 0.34 ^{Aa}
GLAE 低剂量组 GLAE low-dose	3.59 \pm 0.23 ^{Ab}	4.42 \pm 0.44 ^{Bb}	3.81 \pm 0.25 ^{Aa}
GLAE 中剂量组 GLAE middle-dose	4.75 \pm 0.24 ^{Bc}	5.51 \pm 0.18 ^{Bc}	3.02 \pm 0.30 ^{Ab}
GLAE 高剂量组 GLAE high-dose	5.03 \pm 0.21 ^{Bd}	6.23 \pm 0.34 ^{Bd}	1.58 \pm 0.23 ^{Bd}

注: 同列数据肩标不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$); 肩标不同大写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$); 肩标相同字母或无字母标注表示差异不显著 ($P > 0.05$)。

Note: In the same column, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P < 0.05$); And with different capital letter superscripts mean extremely significant difference ($P < 0.01$); While with the same or no letter superscripts mean no significant difference ($P > 0.05$).

3 讨论

皮肤衰老时表现出表皮变薄、胶原纤维排列紊乱、细胞结构异常等明显的形态学变化^[10,11]。人体皮肤细胞外基质的主要成分是胶原蛋白,其中的 I、II 型胶原蛋白交织成网,支撑起整个皮肤,而当胶原蛋白含量降低时,皮肤的弹力明显下降^[12]。本实验结果显示,模型组大鼠皮肤的各层组织间层次不清楚,表皮变薄, I、II 型胶原蛋白的含量降低, DNA 损伤加剧。而经 GLAE 作用后,大鼠皮肤结构完整,表皮增厚,真皮内胶原纤维增多,排列比较紧密、整齐, DNA 损伤程度明显降低,这表明 GLAE 对衰老大鼠皮肤组织的损伤有明显的保护作用。

在生理状态下,细胞凋亡在调节机体生长发育及维持机体细胞平衡中起到了重要的调控作用,确保细胞达到最佳平衡的状态。在病理条件下,细胞凋亡会引起机体结构发生退行性改变,引发许多老年性疾病,即与皮肤衰老存在一定的关联性^[13]。MAP3K5 基因是氧化应激诱导的细胞凋亡必需基因,参与调节炎症反应,也可作为抑癌基因发挥促凋亡作用^[14,15]。MAP3K5 基因在皮肤中表达下调,皮肤细胞凋亡明显加剧,导致皮肤病理改变^[1]。因而,MAP3K5 基因可能是抑制细胞凋亡、抗皮肤衰老的基因之一。转化生长因子- β 1 (TGF- β 1) 是一种多效性、多功能性的高效生长分化因子,可以通过抑制胶原酶的活性来抑制基质降解,促进胶原合成^[16]。研究表明, TGF- β 1 能促进成纤维细胞等间充质起源细胞增殖、抑制细胞凋亡及促进细胞外基质的合成^[17]。在体外实验中发现,血管内皮细胞生长因子、角质形成细胞生长因子和胰岛素样生长因子的水平与外源性的 TGF- β 1 呈正向关系^[18],成纤维细胞增殖活性率提高, I、II 型胶原蛋白含量及其 mRNA 的表达增加,促进真皮内结构的恢复和重建^[19]。本实验结果显示,模型组大鼠皮肤中基因 MAP3K5 表达显著降低,经 GLAE 作用后,衰老大鼠皮肤组织中基因 MAP3K5、TGF- β 1 表达量显著增加,提示 GLAE 可通过上调 MAP3K5 和 TGF- β 1 基因的表达来抑制细胞凋亡和基质降解,促进成纤维细胞增殖和胶原蛋白合成,从而发挥延缓皮肤衰老的作用。

赖氨酸羟化酶(lysyl hydroxylase, LH)与胶原蛋白的形成及稳定有着密切的关系。LH 的主要功能是催化胶原蛋白分子中的赖氨酸羟化成羟赖氨酸,把胶原蛋白分子共价交链形成稳定物,大量的胶原

蛋白无法降解,过度堆积在机体组织中,从而使皮肤松弛、组织纤维化等衰老表现^[20]。LH 家族中的 LH1、LH2、LH3 是分别由 PLOD1、PLOD2、PLOD3 编码的,其中的 PLOD2 表达量增加时, LH2 活性增强,从而促使胶原纤维过度堆积聚集^[21]。本研究结果表明,模型大鼠皮肤组织中 PLOD2 基因表达显著增加,而经 GLAE 作用后,其表达显著下降,说明 GLAE 可通过下调 PLOD2 的表达,降低 LH2 的活性,减少胶原蛋白在皮肤组织的堆积,在增加皮肤弹性和减少皮肤皱纹形成方面有重要作用。

综上所述, GLAE 对衰老大鼠皮肤组织的损伤有明显的保护作用,这种作用可能与增加胶原蛋白含量、抑制皮肤细胞 DNA 损伤、调节 MAP3K5、TGF- β 1 和 PLOD2 基因的表达有关。对于肉灵芝中有效生物成分的药用价值,目前无完备的科学解释,还需大量的药理验证。

参考文献

- 1 Wu C. The Effect of codonopsis pilosula polysaccharide on skin antioxidation and gene expression profile of the aged mice induced by D-galactose [D]. Lanzhou: Gansu College of Chinese Medicine (甘肃中医学院), 2014.
- 2 Wang Y. Anti-aging action of five Gansu genuine traditional Chinese medicines on the skin of aging model mice [J]. J Gansu Agric Univ (甘肃农业大学学报), 2016, 51: 11-16.
- 3 Song J, Pang YY, Gao L, et al. Effects of Scutellaria baicalensis Georgi flowers on D-galactose induced aging in rats based on serum metabolomics [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2019, 54: 533-539.
- 4 Liu Y, Hong L. Experimental study progress on skin anti-aging [J]. J Strait Pharm (海峡药学), 2010, 22: 10-12.
- 5 Li HY, Huang JH, Feng JW, et al. The research progress of Tai Sui [J]. Fam Prod Proces (农产品加工), 2015: 73-76.
- 6 Zhu CY, Bai TT, Jiang QS, et al. Biological components of Tai Sui [J]. J Microbiol (微生物学杂志), 2011, 31: 1-5.
- 7 Xiong C, Chen C, Chen Z, et al. Potentiation of neurotogenic activity of Ganoderma leucocontextum on rat pheochromocytoma cells [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2016, 28: 1135-1138.
- 8 Xu MH, Xue XH, Xu YS, et al. Protective effect of Ganoderma Lucidum extract alcoholic liver injury in mice [J]. J Xiangnan Univ: Med Sci (湘南学院学报:医学版), 2019, 21: 17-20.
- 9 Zhou YX, Li MJ, Zhong WH, et al. Detection of DNA damages of brain cells in young male mice induced by bisphenol A

- by comet assay [J]. *Asian J Ecotoxicol* (生态毒理学报), 2016, 11:666-671.
- 10 Chen J, Li Y, Zhu Q, et al. Anti-skin-aging effect of epigallocatechin gallate by regulating epidermal growth factor receptor pathway on aging mouse model induced by d-Galactose [J]. *Mech Ageing Dev*, 2017, 164:1-7.
- 11 Yang XK. The establishment of acute aging model in mice and the study on its mechanism [J]. *Chin J Gerontol* (中国老年学杂志), 2009, 29:322-325.
- 12 Silva LA, Ferraz Carbonel AA, de Moraes ARB, et al. Collagen concentration on the facial skin of postmenopausal women after topical treatment with estradiol and genistein; a randomized double-blind controlled trial [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2017, 33:845-848.
- 13 Cerella C, Grandjenette C, Dicato M, et al. Roles of apoptosis and cellular senescence in cancer and aging [J]. *Curr Drug Targets*, 2016, 17:405-415.
- 14 Naik MU, Chen X, Bachman B, et al. Evaluation of two structurally distinct novel inhibitors of apoptosis signal-regulating kinase 1 (MAP3K5), as potent anti-platelet agents [J]. *Blood*, 2016, 128:3833-3844.
- 15 Stark MS, Woods SL, Gartside MG, et al. Frequent somatic mutations in MAP3K5 and MAP3K9 in metastatic melanoma identified by exome sequencing [J]. *Nat Genet*, 2011, 44:165-169.
- 16 Zhen G, Wen C, Jia X, et al. Inhibition of TGF- β signaling in mesenchymal stem cells of subchondral bone attenuates osteoarthritis [J]. *Nat Med*, 2013, 19:704-712.
- 17 Lin L, Wang Y, Liu W, et al. BAMBI inhibits skin fibrosis in keloid through suppressing TGF- β 1-induced hypernomic fibroblast cell proliferation and excessive accumulation of collagen I [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8:13227-13234.
- 18 Wang JH, Liu Y, Lu KH, et al. Effects of transforming growth factor beta 1 on the secretion of insulin-like growth factor 1, keratinocyte growth factor, and vascular endothelial cell growth factor from skin fibroblasts following ultraviolet irradiation *in vitro* [J]. *J Clin Rehabil Tissue Eng Res* (中国组织工程研究与临床康复), 2009, 13:3907-3910.
- 19 He TY, Quan TH, Shao Y, et al. Oxidative exposure impairs TGF- β pathway via reduction of type II receptor and SMAD3 in human skin fibroblasts [J]. *AGE*, 2014, 36:1079-1094.
- 20 Xu YY. The role and mechanism studies of lysine hydroxylase PLOD2 in hypoxia-induced glioma migration and invasion [D]. Jinan: Shandong University (山东大学), 2017.
- 21 Zhu CH, Luo ZJ. PLOD2 is involved in human skin fibrosis [J]. *Basic Clin Med* (基础医学与临床), 2010, 30:159-162.

《天然产物研究与开发》青年编委会

青年编委 (以姓氏笔划为序)

Members

王红兵	戈惠明	尹文兵	尹 胜	吕兆林	刘相国
WANG Hongbing	GE Huiming	YIN Wenbing	YIN Sheng	LV Zhaolin	LIU Xiangguo
孙昊鹏	孙桂波	李良成	李国友	邱 莉	汪海波
SUN Haopeng	SUN Guibo	LI Liangcheng	LI Guoyou	QIU Li	WANG Haibo
沐万孟	张炳火	陈益华	林昌俊	欧阳杰	易华西
MU Wanneng	ZHANG Binghuo	CHEN Yihua	LIN Changjun	OU Yangjie	YI Huaxi
罗应刚	周 文	胡友财	袁 涛	夏永刚	高慧敏
LUO Yinggang	ZHOU Wen	HU Youcai	YUAN Tao	XIA Yonggang	GAO Huimin
唐金山	黄胜雄	韩秀珍	韩淑燕	曾克武	蓝蔚青
TANG Jinshan	HUANG Shengxiong	HAN Xiuzhen	HAN Shuyan	ZENG Kewu	LAN Weiqing
廖晨钟	薛永波				
LIAO Chenzhong	XUE Yongbo				