

TLR2/TLR4-NF- κ B 信号通路在痛风中的研究进展

白冬雪, 李靖(综述), 马利锋(审校)

基金项目: 青藏高原相关疾病分子机制与干预研究重点实验室开发项目(编号:KF2022002); 西藏民族大学医学院国家自然科学基金基金项目(编号:XZMU-M2022N03)

作者单位: 712082 咸阳, 西藏民族大学环境与疾病相关基因研究高校重点实验室

作者简介: 白冬雪, 在读硕士研究生, 研究方向: 环境与疾病相关研究。E-mail: 2206248771@qq.com

通信作者: 马利锋, 理学硕士, 副教授, 研究方向: 环境与疾病相关研究。E-mail: xzmymf2@163.com

[摘要] 痛风是由于尿酸浓度升高, 尿酸钠晶体在关节、肌腱和周围组织中沉积, 从而导致炎症性关节炎间歇性发作。Toll 样受体是先天免疫系统中模式识别受体的一种。痛风性关节炎是由于过饱和的尿酸钠晶体在血液中析出, 并与巨噬细胞产生作用, 导致中性粒细胞的趋化、聚集, 从而激活 TLR2/TLR4-NF- κ B 信号通路, 释放 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等炎症因子和蛋白酶, 导致痛风性关节炎的发生、发展。该文以痛风及 TLR2/TLR4-NF- κ B 信号通路为主线, 综述了 TLR2/TLR4-NF- κ B 信号通路与痛风的相关性以及以该信号通路为靶点的治疗方法。

[关键词] 痛风; 尿酸钠晶体; 炎症; TLR2/TLR4-NF- κ B 信号通路

[中图分类号] R 363.2⁺1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2023)10-1096-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2023.10.23

Research progress of TLR2/TLR4-NF- κ B signaling pathway in gout BAI Dong-xue, LI Jing, MA Li-feng. Key University Laboratory of Environment and Disease-Related Gene Research, Xizang Minzu University, Xianyang 712082, China

[Abstract] Gout is caused by the increase of blood uric acid concentration and the deposition of sodium urate crystals in joints, tendons and surrounding tissues, which leads to intermittent attacks of inflammatory joint disease. Toll-like receptor (TLR) is one of the pattern-recognition receptors (PRRs) in the innate immune system. It has been proved that gouty arthritis is caused by oversaturated monosodium urate (MSU) crystals precipitating in the blood and interacting with macrophages, which leads to the chemotaxis and aggregation of neutrophils, thus activating TLR2/TLR4-nuclear factor (NF)- κ B signaling pathway and releasing inflammatory factors such as interleukin (IL)-1 β , IL-6 and tumor necrosis factor- α (TNF- α), and proteases, leading to the occurrence and development of gouty arthritis. Taking gout and TLR2/TLR4-NF- κ B signaling pathway as the main clue, this paper reviews the correlation between TLR2/TLR4-NF- κ B signaling pathway and gout, and the treatment methods targeted by TLR2/TLR4-NF- κ B signaling pathway.

[Key words] Gout; Monosodium urate crystals; Inflammation; TLR2/TLR4-NF- κ B signaling pathway

痛风是由于尿酸浓度升高, 尿酸钠 (monosodium urate, MSU) 晶体沉积在关节、肌腱及其周围软组织中, 从而导致炎症性关节炎间歇性发作^[1]。如不及时治疗, 可能导致不可逆的关节损伤、慢性炎症及关节畸形。除了改变饮食和生活方式外, 痛风的药物治疗还包括抗炎和降低尿酸盐的药物。该病有显著的性别差异, 女性发病率显著低于男性^[1]。痛风在全世界的发病率呈升高趋势。据国外文献统计, 痛风患病率为 2.7% ~ 6.7%^[2], 2010—2017 年我国痛风患病率约为 1.1%^[3]。痛风急性发作期的一系列临床表现, 是由沉积的 MSU 晶体的先天免疫反应引起的。Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 是模

式识别受体 (pattern-recognition receptors, PRRs), 是先天免疫系统的一种。有研究表明, 痛风性关节炎是由于过饱和的 MSU 晶体在血液中析出, 并与巨噬细胞产生作用, 诱导中性粒细胞聚集、趋化, 大量中性粒细胞进入滑膜和关节液, 吞噬 MSU 晶体后引起脱颗粒、溶酶体和细胞膜的溶解、白细胞募集以及炎症介质的进一步释放, 激活 TLR2/TLR4-NF- κ B 信号通路, 形成了正反馈循环, 使炎症级联放大^[4]。本文以痛风及 TLR2/TLR4-NF- κ B 信号通路为主线, 综述了 TLR2/TLR4-NF- κ B 信号通路与痛风的相关性以及以此信号通路为靶点的治疗方法。

1 痛风的发病机制

痛风的主要病因包括尿酸的产生增加或排泄减少,产生增加主要是由遗传原因或与嘌呤代谢有关的酶缺陷引起;排泄减少主要与已发现的几种尿酸转运体有关,如尿酸转运体通道、尿阴离子交换器和有机阴离子家族成员^[5]。此外,痛风的发生常与其他疾病相关,如高血压、肥胖、心血管疾病、糖尿病、血脂异常、慢性肾脏疾病^[1]。当血清尿酸水平超过一定浓度,尿酸就会析出并形成 MSU 结晶在关节等部位沉积,从而导致关节周围的炎症反应,最终导致痛风急性发作^[6]。痛风发病机制主要是两种:一是通过 TLR2/TLR4-NF- κ B 信号通路,二是通过调控 NOD 样受体家族 pyrin 结构域 3(NOD-like receptor family pyrin domain containing 3, NLRP3) 炎症小体组装机理。MSU 晶体是一种损伤相关分子,目前大多研究发现痛风发作可能与 MSU 晶体沉积关节刺激机体免疫系统而导致的炎症反应密切相关^[7]。TLR2/TLR4-NF- κ B 信号通路是目前研究较多的。此通路调控白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等炎症因子的产生,并在痛风发病过程中起重要作用。

2 TLRs

2.1 TLRs 的定义、结构、功能 TLRs 是 PRRs 家族,在发生感染和细胞损伤的免疫反应中发挥核心作用。它们最先在果蝇中被发现,目前 TLRs 在人类中发现有 10 种(TLR1 ~ TLR10),小鼠中发现有 12 种(TLR1 ~ TLR9 和 TLR11、TLR12、TLR13)^[8]。TLRs 是一种 I 型跨膜蛋白,其结构由胞外区、跨膜区、胞浆区三个部分组成。胞外区含有富含亮氨酸的重复序列,具有马蹄形结构,可识别各种配体;胞浆区为 Toll-IL-1 受体结构域(Toll-IL-1 receptor domain, TIR),可激活下游信号通路^[9]。TLRs 存在于所有先天免疫细胞上,如巨噬细胞、中性粒细胞、自然杀伤细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞等,TLRs 能够识别外部病原体上的病原相关分子模式和内部损伤相关分子模式^[10]。几乎所有生物都编码不同的 TLRs,TLR1、TLR2、TLR4、TLR5、TLR6、TLR11 表达于细胞膜上,主要识别脂质、脂蛋白等微生物膜成分,如 TLR4 主要识别脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)并在质膜上转导 LPS 信号,它检测微生物细胞表面成分;TLR5 可识别鞭毛蛋白;TLR1、TLR2 和 TLR6 检测细菌脂蛋白;TLR3、TLR7、TLR8 和 TLR9 位于细胞质中,仅在内质网、溶酶体和内溶酶体等细胞内小泡中表达,具有识别微生物核酸,如 TLR3 特异性检测双链 RNA(dsRNA)等核酸,TLR7 和 TLR8 可识别单链 RNA;TLR9 是含有双链 DNA 的未甲基化

寡核苷酸,而 TLR13 识别细菌核糖体 RNA^[11-12]。TLRs 通过与其配体的作用而被激活,产生炎症细胞因子、趋化因子等。此外,TLRs 参与抗原呈递细胞的成熟和分化,从而将先天免疫反应和获得性免疫反应联系起来。已报道 TLRs 基因在免疫组织(如脾、胸腺、淋巴结)和非免疫组织(骨骼肌、脑、肺、肠和胰腺等)以及所有天然免疫细胞和获得性免疫细胞上表达^[13]。

2.2 TLR2/TLR4-NF- κ B 信号转导通路 TLR2/TLR4 在被如 CD14、LPS 和 MD2 等配体激活后,TLR2/TLR4 的细胞质 TIR 结构域募集信号转导接头的 MyD88 形成复合物,激活下游各种激酶 IRAK4、IRAK1,进而导致 TNF 受体相关因子 6(TNF receptor associated factor 6, TRAF6)被募集和激活,激活 kappa B 抑制因子激酶复合物(inhibitor of kappa B kinase, IKK) α 、IKK β 、IKK γ 。TLR4 还通过非 MyD88 依赖途径,募集 TRAM 和 TRIF 形成复合物,激活 TRAF3,进而激活 IKK ϵ 、TANK 结合激酶 1。两者最终导致 NF- κ B 被激活,启动前炎症 IL-1 β 的表达。产生炎症级联反应,生成如 TNF- α 、IL-1 β 等细胞炎症因子^[14-15]。

3 TLR2/TLR4-NF- κ B 信号转导通路与痛风的相关性

3.1 TLR2/TLR4-NF- κ B 信号转导通路相关基因的研究 在痛风的发病过程中,虽然痛风的许多炎症介质已被识别,但仅有 13 个等位基因与统计学上有显著的遗传关联^[4],其中与 TLR2/TLR4-NF- κ B 信号转导通路相关的基因主要包括 TLR4、分化簇 14(cluster of differentiation 14, CD14)、IL-1 β 、TNF- α 。

3.1.1 TLR4 TLR4 是一种 PRRs,其基因高度多态,与自身免疫及自身炎症有关。TLR4 基因 rs2149356T > G 单核苷酸多态性可能与我国汉族人群原发性痛风发病相关,TT 基因型是痛风发病的危险因素,可能参与调节 TLR4-IL-1 β 信号通路以及免疫、炎症、脂质代谢^[16-17]。TLR4 已被证明在痛风小鼠模型对 MSU 晶体的炎症反应中是必要因素^[18]。研究表明,在服用抗 TLR4 抗体时,血清 IL-1 β 在发作期间降低,表明 TLR4 是未来痛风疗法发展的合理靶点^[19]。

3.1.2 CD14 CD14 是痛风炎症的重要介质 TLR2 和 TLR4 的共同受体。体外研究表明,sCD14 可与 MSU 晶体结合;CD14 阴性细胞仍可吞噬 MSU 晶体,但产生的炎症细胞因子 IL-1 β 减少约 90%,有力地支持了 CD14 在痛风炎症中的作用^[20]。CD14 中功能基因变异的获得增加了 TLR4 介导的信号对 MSU 晶体的反应,而功能变异的缺失减少了 IL-1 β 的诱导和白细胞的渗透。因此,CD14 在痛风中可能具有促炎作用^[20]。但一项研究表明,与健康对照组相比,痛风患者的膜

结合 CD14 和 sCD14 均减少,将 MSU 晶体应用于外周血单核细胞 CD14 的表达也减少^[21]。这可能表明 CD14 在痛风的自发缓解中起重要作用。

3.1.3 IL-1 β IL-1 β 被认为是痛风炎症的中枢,可通过刺激促炎细胞因子、趋化因子 8 和 IL-6 释放以及内皮细胞上黏附分子的上调而加剧痛风相关的炎症,导致中性粒细胞和单核细胞等重新聚集到 MSU 晶体沉积部位^[22],中性粒细胞募集后,炎症的正反馈循环随之而来。据报道,MSU 晶体存在下的脂肪酸在与 TLR2 结合后诱导大量 IL-1 β 的释放,通过动物模型研究证实了游离脂肪酸和 MSU 在诱导小鼠 IL-1 β 产生和 MSU 结晶性炎症反应中的协同作用^[23]。MSU 晶体还可以刺激 C5a 补体蛋白的产生,进而通过产生活性氧和激活炎症小体来刺激 IL-1 β 的产生^[24]。对抑制 IL-1 β 作为痛风的治疗进行了几项临床试验。Schlesinger 等^[25]发现,卡那单抗是一种人类抗 IL-1 β 的单抗,降低了痛风性关节炎急性发作的风险。欧洲药品管理局认为卡那单抗可用于痛风频繁发作且对秋水仙碱、非甾体抗炎药、口服和注射皮质类固醇有禁忌证的患者^[26]。对 IL-1 受体拮抗剂阿那白滞素进行了临床研究,结果显示其对急性痛风发作的疗效不逊于通常的治疗方法^[27]。

3.1.4 TNF- α TNF- α 是一种被广泛研究的促炎细胞因子,痛风患者血清 TNF- α 升高,MSU 晶体刺激单核细胞产生 TNF- α ,TNF- α 通过其受体促进天冬氨酸蛋白水解酶 1 的激活,导致 NLRP3 炎症体的激活,从而导致痛风加重,TNF- α 还促进 pro-IL-1 β 的合成,从而产生 IL-1 β ^[28-29]。研究表明,rs1800630 的 A 变异与 TNF- α 和血清 TNF- α 水平降低相关^[30]。这可能表明局部和全身 TNF- α 表达的影响存在重要差异。目前已开发出几种 TNF- α 抑制剂。可用的拮抗剂包括:依那西普,一种与 IgG 的 Fc 部分偶联的重组人 TNF-R2 可溶性融合蛋白;英夫利西单抗,一种抗 TNF 人鼠嵌合 IgG1 单克隆抗体;阿达木单抗和戈利木单抗,人抗 TNF- α 单克隆抗体;培塞利珠单抗,人源化抗 TNF- α 抗体的 Fab' 片段^[31]。有研究表明,依那西普可能对其他抗炎药无效的痛风性炎症有效^[32]。有病例报道显示英夫利西单抗成功治疗痛风^[33]。

3.2 以 TLR2/TLR4-NF- κ B 信号转导通路为痛风治疗靶点的研究 痛风是人类最常见的自身炎症性关节炎之一,传统的痛风治疗策略药物数量有限,且有许多与之相关的副作用,因此,需要开发更安全、有效的药物。Holzinger 等^[34]的一项研究表明,痛风中高表达的骨髓相关蛋白-8(myeloid-related protein-8,MRP-8)

和 MRP-14 是 MSU 晶体诱导的体外和体内 IL-1 β 分泌的增强剂,这些由活化的吞噬细胞释放的内源性 TLR4 配体可导致痛风炎症的持续。He 等^[35]的一项研究表明,抑制 TLR4 可以增强髓系细胞表达的触发受体 1 抑制剂在 MSU 晶体诱导的炎症中的作用,而髓系细胞表达的触发受体 1 可以加速 MSU 晶体诱导的急性炎症,抑制髓系细胞表达的触发受体 1 可能为缓解急性痛风性关节炎提供一种新治疗策略。另一项研究表明,规律、适度的体力活动可以产生可量化的抗炎作用,能够通过降低循环中性粒细胞上的 TLR2 表达和抑制全身 CXCL1 来部分减轻由关节内 MSU 晶体诱导的病理反应^[36]。Rossato 等^[18]的一项研究表明,MSU 可能激活 TLR4 以诱导巨噬细胞释放 IL-1 β ,在急性痛风发作期间引发伤害感受和炎症。Huang 等^[37]的研究表明,MSU 晶体刺激 HSP60 表达,从而加速 TLRs/MyD88/NF- κ B 信号通路并加剧线粒体功能障碍。

4 结语

随着痛风患病率的升高,有效的治疗策略变得越来越重要。现有研究表明,痛风性关节炎关节内析出的 MSU 晶体通过 TLR2/TLR4-NF- κ B 信号通路,合成前 IL-1 β 和其他炎症体成分,此为痛风性关节炎发病的主要途径之一。随着对痛风的研究不断深入,痛风发病机制的逐渐明确,痛风性关节炎的治疗新药不断被研究。目前,虽已证实 TLR2/TLR4-NF- κ B 信号通路在痛风的发病过程中起重要作用,但针对该通路为靶点治疗痛风的药物研究较少,因此,新的治疗靶点的研究有较好前景。

参考文献

- [1] Dalbeth N, Merriman TR, Stamp LK. Gout[J]. Lancet, 2016,388(10055):2039-2052.
- [2] Dalbeth N, Gosling AL, Gaffo A, et al. Gout[J]. Lancet, 2021,397(10287):1843-1855.
- [3] Pascart T, Lioté F. Gout: state of the art after a decade of developments[J]. Rheumatology (Oxford), 2019,58(1):27-44.
- [4] Bodofsky S, Merriman TR, Thomas TJ, et al. Advances in our understanding of gout as an auto-inflammatory disease[J]. Semin Arthritis Rheum, 2020,50(5):1089-1100.
- [5] Wang X, Wang YG. Progress in treatment of gout using Chinese and Western medicine[J]. Chin J Integr Med, 2020,26(1):8-13.
- [6] 谢蓓蓓,苏厚恒. MSU 晶体介导的痛风性关节炎的炎症机制[J]. 中华临床医师杂志(电子版),2013,7(16):102-104.
- [7] 蒋莉,周京国,青玉凤,等. Toll 样受体 2 和 Toll 样受体 4 及其信号通路在原发性痛风性关节炎发病机制中作用的研究[J]. 中华风湿病学杂志,2011,15(5):300-304.
- [8] Kawai T, Akira S. Toll-like receptors and their crosstalk with other

- innate receptors in infection and immunity[J]. *Immunity*, 2011,34(5):637-650.
- [9] Lim KH, Staudt LM. Toll-like receptor signaling[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013,5(1):a011247.
- [10] Ghafouri-Fard S, Abak A, Shoorei H, et al. Interaction between non-coding RNAs and Toll-like receptors[J]. *Biomed Pharmacother*,2021,140:111784.
- [11] Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors[J]. *Nat Immunol*, 2010,11(5):373-384.
- [12] Fitzgerald KA, Kagan JC. Toll-like receptors and the control of immunity[J]. *Cell*, 2020,180(6):1044-1066.
- [13] Vázquez-Carballo C, Guerrero-Hue M, García-Caballero C, et al. Toll-like receptors in acute kidney injury[J]. *Int J Mol Sci*, 2021,22(2):816.
- [14] Lim KH, Staudt LM. Toll-like receptor signaling[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013,5(1):a011247.
- [15] 周琦,刘树民,董婉茹.“TLR2/4-NF- κ B”信号转导通路在痛风性关节炎发病中的作用机制[J]. *中国药师*,2016,19(9):1733-1736.
- [16] 青玉凤,周京国,张全波,等. Toll 样受体 4 基因单核苷酸多态性与我国汉族人群原发性痛风性关节炎发病的相关性研究[J]. *中华风湿病学杂志*,2013,17(11):724-728.
- [17] Qing YF, Zhou JG, Zhang QB, et al. Association of TLR4 gene rs2149356 polymorphism with primary gouty arthritis in a case-control study[J]. *PLoS One*, 2013,8(5):e64845.
- [18] Rossato MF, Hoffmeister C, Trevisan G, et al. Monosodium urate crystal interleukin-1 β release is dependent on Toll-like receptor 4 and transient receptor potential V1 activation[J]. *Rheumatology(Oxford)*, 2020,59(1):266.
- [19] Qing YF, Zhang QB, Zhou JG, et al. Changes in Toll-like receptor(TLR)4-NF κ B-IL1 β signaling in male gout patients might be involved in the pathogenesis of primary gouty arthritis[J]. *Rheumatol Int*, 2014,34(2):213-220.
- [20] Scott P, Ma H, Viriyakosol S, et al. Engagement of CD14 mediates the inflammatory potential of monosodium urate crystals[J]. *J Immunol*, 2006,177(9):6370-6378.
- [21] Duan L, Luo J, Fu Q, et al. Decreased expression of CD14 in MSU-mediated inflammation may be associated with spontaneous remission of acute gout[J]. *J Immunol Res*, 2019,2019:7143241.
- [22] Hachicha M, Naccache PH, McColl SR. Inflammatory microcrystals differentially regulate the secretion of macrophage inflammatory protein 1 and interleukin 8 by human neutrophils: a possible mechanism of neutrophil recruitment to sites of inflammation in synovitis[J]. *J Exp Med*, 1995,182(6):2019-2025.
- [23] Joosten LA, Netea MG, Mylona E, et al. Engagement of fatty acids with Toll-like receptor 2 drives interleukin-1 β production via the ASC/caspase 1 pathway in monosodium urate monohydrate crystal-induced gouty arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2010,62(11):3237-3248.
- [24] Khameneh HJ, Ho AW, Laudisi F, et al. C5a regulates IL-1 β production and leukocyte recruitment in a murine model of monosodium urate crystal-induced peritonitis[J]. *Front Pharmacol*, 2017,8:10.
- [25] Schlesinger N, Mysler E, Lin HY, et al. Canakinumab reduces the risk of acute gouty arthritis flares during initiation of allopurinol treatment; results of a double-blind, randomised study[J]. *Ann Rheum Dis*, 2011,70(7):1264-1271.
- [26] So A, Dumusc A, Nasi S. The role of IL-1 in gout: from bench to bedside[J]. *Rheumatology(Oxford)*, 2018,57(suppl_1):i12-i19.
- [27] Janssen CA, Oude Voshaar MAH, Vonkeman HE, et al. Anakinra for the treatment of acute gout flares: a randomized, double-blind, placebo-controlled, active-comparator, non-inferiority trial[J]. *Rheumatology(Oxford)*, 2019. [Epub ahead of print]
- [28] Amaral FA, Bastos LF, Oliveira TH, et al. Transmembrane TNF- α is sufficient for articular inflammation and hypernociception in a mouse model of gout[J]. *Eur J Immunol*, 2016,46(1):204-211.
- [29] Chapman PT, Yarwood H, Harrison AA, et al. Endothelial activation in monosodium urate monohydrate crystal-induced inflammation: in vitro and in vivo studies on the roles of tumor necrosis factor α and interleukin-1[J]. *Arthritis Rheum*, 1997,40(5):955-965.
- [30] Skoog T, van't Hooft FM, Kallin B, et al. A common functional polymorphism(C \rightarrow A substitution at position -863) in the promoter region of the tumour necrosis factor- α (TNF- α) gene associated with reduced circulating levels of TNF- α [J]. *Hum Mol Genet*, 1999,8(8):1443-1449.
- [31] Szondy Z, Pallai A. Transmembrane TNF-alpha reverse signaling leading to TGF-beta production is selectively activated by TNF targeting molecules; Therapeutic implications[J]. *Pharmacol Res*, 2017,115:124-132.
- [32] Tausche AK, Richter K, Grässler A, et al. Severe gouty arthritis refractory to anti-inflammatory drugs: treatment with anti-tumour necrosis factor α as a new therapeutic option[J]. *Ann Rheum Dis*, 2004,63(10):1351-1352.
- [33] Fiehn C, Zeier M. Successful treatment of chronic tophaceous gout with infliximab(Remicade)[J]. *Rheumatol Int*, 2006,26(3):274-276.
- [34] Holzinger D, Nippe N, Vogl T, et al. Myeloid-related proteins 8 and 14 contribute to monosodium urate monohydrate crystal-induced inflammation in gout[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2014,66(5):1327-1339.
- [35] He Y, Yang Q, Wang X, et al. Inhibition of triggering receptor expressed on myeloid cell-1 alleviates acute gouty inflammation[J]. *Mediators Inflamm*, 2019,2019:5647074.
- [36] Jablonski K, Young NA, Henry C, et al. Physical activity prevents acute inflammation in a gout model by downregulation of TLR2 on circulating neutrophils as well as inhibition of serum CXCL1 and is associated with decreased pain and inflammation in gout patients[J]. *PLoS One*, 2020,15(10):e0237520.
- [37] Huang Q, Gao W, Mu H, et al. HSP60 regulates monosodium urate crystal-induced inflammation by activating the TLR4-NF- κ B-MyD88 signaling pathway and disrupting mitochondrial function[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020,2020:8706898.

[收稿日期 2022-08-10][本文编辑 韦颖]

本文引用格式

白冬雪,李靖,马利锋. TLR2/TLR4-NF- κ B 信号通路在痛风中的研究进展[J]. *中国临床新医学*,2023,16(10):1096-1099.