

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.04.034

View this article at: <https://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2022.04.034>

## 肠道微生物群落与银屑病炎症细胞因子的相关研究进展

王轩, 胡慧敏 综述 许辉, 李遇梅 审校

(江苏大学附属医院皮肤科, 江苏 镇江 212001)

**[摘要]** 银屑病是一种免疫介导的炎症性皮肤病, 影响着全世界1%~3%的人口。银屑病的发病机制是多因素的, 遗传和环境因素对银屑病均有显著影响。研究表明肠道微生物群落及相关炎症细胞因子与银屑病的发生和发展密切相关。然而银屑病的发病机制, 特别是与肠道微生物群落的相关性, 目前仍不明确。本文就肠道微生物群落紊乱, IL-17A、IL-22、TNF- $\alpha$ 等相关炎症细胞因子与银屑病发病机制的联系作一综述。

**[关键词]** 银屑病; 肠道微生物群落; 细胞因子; 免疫; 治疗

## Correlation between intestinal microbial community and psoriasis related inflammatory cytokines

WANG Xuan, HU Huimin, XU Hui, LI Yumei

(Department of Dermatology, Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang Jiangsu 212001, China)

**Abstract** Psoriasis is an immune-mediated inflammatory skin disease that affects 1%–3% of the world's population. The pathogenesis of psoriasis is multifactorial. Both genetic and environmental factors have significant influence on psoriasis. Recent studies have shown that intestinal microbial community and related inflammatory cytokines are closely related to the occurrence and development of psoriasis. However, the pathogenesis of psoriasis, especially its correlation with intestinal microbial community, is still not fully understood. This review summarizes and analyzes the relationship between intestinal microbial community, IL-17A, IL-22, TNF- $\alpha$  and other inflammatory cytokines and the pathogenesis of psoriasis.

**Keywords** psoriasis; intestinal microbial community; cytokine; immunity; treatment

银屑病是一种常见的全身性慢性炎症性疾病, 以红斑、斑块和鳞屑等临床症状为主要特征<sup>[1]</sup>。其组织学表现为表皮增生, 角质形成细胞

的异常分化, T淋巴细胞、中性粒细胞、巨噬细胞等炎症细胞因子的浸润以及毛细血管的扭曲和扩张等<sup>[2]</sup>。

收稿日期 (Date of reception): 2021-01-03

通信作者 (Corresponding author): 许辉, Email: xuhuiran@sina.com

基金项目 (Foundation item): 江苏省妇幼健康科研项目 (F201717); 江苏省预防医学课题 (Y2018107); 镇江市社会发展项目 (SH2018032); 江苏大学附属医院博士启动基金 (jdfyrc2019003)。This work was supported by the Maternal and Child Health Project of Jiangsu Province (F201717), Jiangsu Provincial Preventive Medicine Project (Y2018107), Zhenjiang Social Development Project (SH2018032), and the Doctoral Foundation of the Affiliated Hospital of Jiangsu University (jdfyrc2019003), China.

银屑病发病与遗传因素密切相关, 具有显著的家族聚集性<sup>[3]</sup>。各种内外环境因素可诱发或者加重银屑病, 包括饮食、细菌感染和抗生素治疗等。同时, 环境因素的变化也在改变人体肠道的微生物群落<sup>[4]</sup>。研究<sup>[3]</sup>表明: 肠道微生物群落的变化可改变宿主的全身炎症反应。Th17、Th1、Th22等炎症细胞及其产生的细胞因子, 如IL-17、IL-22、IL-23、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )等在银屑病的发病机制中起着至关重要的作用<sup>[5]</sup>。然而, 银屑病发病机制与肠道微生物群落的关系尚待进一步研究。本文综述了肠道微生物群落与银屑病相关炎症因子的相关性, 旨在为银屑病的治疗提供新思路。

## 1 肠道微生物群落与银屑病

### 1.1 肠道微生物群落概况

微生物群落是人体中无处不在的一个群体, 相当于人体共生的一个“器官”, 负责人类细胞无法实现的功能。这个“器官”的很大一部分位于人体的肠道中, 可以说肠道是微生物群落的一个“自然栖息地”<sup>[6]</sup>。人类肠道中有超过100万亿的微生物, 由细菌、酵母菌和寄生虫等组成。其中, 肠道菌群种类约1 000种, 数量已经超过了人体宿主细胞总数的10倍<sup>[5]</sup>。肠道菌群大多数都是互惠互利共生体, 它们在营养代谢、免疫系统发育、抗定植等方面发挥着不可或缺的作用<sup>[7]</sup>。

近年来, 随着宏基因组学、宏转录组学等技术的不断革新, 人们能够更加深入探索肠道微生物群落与人类健康之间的关系, 特别是揭示肠道菌群在炎症性疾病发病机制中的作用<sup>[8]</sup>。例如, 脆弱拟杆菌表面的多糖A(polysaccharide A, PSA)通过激活FOXP3<sup>+</sup> Treg细胞上的Toll样受体2(Toll-like receptor 2, TLR2), 从而促进Treg细胞的发育并诱导IL-10的分泌。相关的动物实验<sup>[9]</sup>表明: 敲除IL-10基因的小鼠可诱发自身免疫性疾病——炎症性肠病的发生。分节丝状菌是一种定植在回肠末端的肠道共生菌, 通过激活STAT3等信号通路诱导血清淀粉样蛋白A(serum amyloid A, SAA)的产生, 而SAA可促进Th17细胞的增殖和IL-17的分泌。Th17细胞是多种肠道细菌引发机体炎症作用的节点。它的过度激活会导致自身免疫性疾病, 例如类风湿性关节炎、炎症性肠病、自身免疫性脑脊髓炎等<sup>[10]</sup>。肠道菌群的改变可能会引起Th17/Treg等炎症细胞的失衡, 进而诱发或加重多种炎症性疾病<sup>[9]</sup>。

### 1.2 肠道微生物群落失调与银屑病

人体肠道的微生物群落在个体水平上不断变化, 并且肠道微生物和宿主之间是共生还是竞争关系取决于微生物群落的这种动态平衡。所谓“菌群失调”是指微生物组成的改变打破了这种平衡, 从而诱发了疾病的发生或与疾病的进展相关<sup>[11]</sup>。

研究<sup>[12-13]</sup>表明: 银屑病患者肠道菌群的特征是菌群的多样性减少。厚壁菌门的普拉梭菌属、拟杆菌门的副拟杆菌属、粪球菌属、布劳特氏菌属以及肠道共生菌双歧杆菌等在银屑病患者肠道中显著减少。普拉梭菌是大肠中最常见的微生物之一, 它是丁酸的一个重要来源。丁酸是一种短链脂肪酸(short chain fatty acid, SCFA), 为结肠黏膜上皮首选能量来源, 是维持肠道屏障完整性的关键因素, 产丁酸细菌减少可能会破坏银屑病患者肠道黏膜屏障的完整性, 诱发感染加重炎症反应<sup>[14]</sup>。研究<sup>[15]</sup>显示: 在菌属和菌种水平下, 银屑病患者肠道内粪杆菌属、丁酸球菌属、普拉梭菌、E.rectale等多种具有SCFA(丙酸、丁酸等)产生能力的细菌比例降低。并且SCFA在减少氧化应激, 抑制Th17增殖和IL-17A的分泌以及调控Th1/Th2、Th17/Treg的平衡等若干免疫功能中起到不可替代的促进作用<sup>[16]</sup>。G蛋白偶联受体43(G protein-coupled receptor, GPR43)在中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和单核细胞中高表达, SCFA通过激活GPR43参与中性粒细胞的趋化过程<sup>[17-18]</sup>。

## 2 炎症细胞因子与银屑病

### 2.1 IL-17A与银屑病

银屑病皮损中炎症细胞因子与异常角质形成细胞之间的联系是研究银屑病发病机制的重要问题<sup>[19]</sup>。以往多认为银屑病炎症通道中起到主要驱动作用的是产生TNF- $\alpha$ 的Th1细胞, 而最新研究<sup>[20]</sup>指出占有核心地位的是IL-17A和IL-23。IL-17家族的细胞因子主要由Th17细胞产生, 而Th17细胞的扩增和活化则依赖于IL-23的存在<sup>[21]</sup>。近年来, 研究<sup>[22]</sup>表明IL-23/Th17通路在银屑病发病机制中的重要性尤为突出。

IL-17A能够改变与先天免疫防御相关基因的表达, 从而影响机体的先天免疫系统<sup>[23]</sup>。IL-17A可上调角质形成细胞和成纤维细胞中炎症相关基因的表达, 产生大量的炎症细胞因子和趋化因子, 从而将髓系树突状细胞、Th17细胞和中性粒细胞募集到病变部位<sup>[24]</sup>。IL-17A还可以诱导角

质形成细胞产生抗菌肽, 促进血管生成。有趣的是, 高水平的抗菌肽和血管增生是银屑病皮损的典型特征<sup>[22]</sup>。

## 2.2 IL-22与银屑病

IL-22是IL-23/Th17轴主要的下游效应因子, 是导致银屑病许多重要病理特征的关键因子<sup>[18]</sup>。IL-22是一种属于IL-10家族的细胞因子, 主要由活化的Th17细胞和Th22细胞产生。IL-22通过异二聚体受体IL-22R/IL-10R2发挥作用, IL-22R在多种上皮细胞中表达, 而在免疫细胞中不表达。因此, IL-22被认为是免疫细胞和上皮细胞之间的重要枢纽<sup>[25]</sup>。

IL-22能够促进角质形成细胞的增殖和迁移, 抑制角质形成细胞的终末分化, 从而导致表皮增生和角化不全<sup>[26]</sup>。其机制可能与IL-22激活JNK信号通路, 下调Cx43的表达, 降低细胞间隙连接通讯(gap junctional inter-cellular communication, GJIC)相关<sup>[27]</sup>。IL-22还可以与其他细胞因子如TNF- $\alpha$ 、IL-17、IL-19、IL-20、IFN- $\gamma$ 和IL-1产生协同作用, 形成一个细胞因子网络, 增强和放大炎症反应过程<sup>[26]</sup>。此外, IL-22诱导许多银屑病标志性基因的表达, 如银屑病标志性基因(S100A7)<sup>[28]</sup>。

## 2.3 TNF- $\alpha$ 与银屑病

TNF- $\alpha$ 由中性粒细胞、活化的淋巴细胞、血管内皮细胞、单核吞噬细胞、NK细胞以及其他细胞产生, 属于一种多效细胞因子<sup>[29]</sup>。

TNF- $\alpha$ 可诱导刺激T细胞和角质形成细胞分泌IL-1、IL-6、IL-8和核转录因子- $\kappa$ B(nuclear transcription factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)等炎症细胞因子而发挥作用。同时TNF- $\alpha$ 和IL-17可产生协同作用刺激角质形成细胞, 这在很大程度上提升了免疫效应<sup>[2]</sup>。

# 3 肠道微生物群落与银屑病的治疗

## 3.1 生物制剂与肠道微生物群落

生物制剂是一种有效的免疫调节剂, 可以明确地针对免疫系统中的“罪魁祸首”, 如IL-17、IL-22、IL-12、IL-23、TNF- $\alpha$ 、T细胞受体等<sup>[30]</sup>。最新研究<sup>[31]</sup>发现: 银屑病患者在治疗后, 其肠道微生物群落构成发生了显著性改变。例如银屑病患者经苏金单抗治疗后, 肠道中变形杆菌门相对丰度明显增加, 而拟杆菌门和厚壁菌门显著减少<sup>[4]</sup>。经优特克单抗治疗后肠道微生物群落组成没有明显变

化, 只有粪球菌属在治疗6个月后显著增加, 该肠道微生物可产生一种称为丁酸的抗炎物质<sup>[32]</sup>。

虽然我们不清楚具体的生物治疗是以何种方式改变肠道微生物组的组成, 以及肠道微生物群落的改变在治疗中的作用, 但有研究<sup>[4]</sup>发现IL-17、IL-23等是治疗银屑病的有效治疗靶点。特定的免疫靶向治疗, 为银屑病患者带来了新希望。

## 3.2 抗生素与肠道微生物群落

中性粒细胞的过度活化是银屑病最重要的组织学特征之一。大环内酯类抗生素可抑制IL-6、IL-8和TNF- $\alpha$ 等许多炎症细胞因子的产生, 从而降低中性粒细胞的活性, 其机制可能与抑制NF- $\kappa$ B或活化蛋白-1(activator protein-1, AP-1)有关<sup>[26]</sup>。研究<sup>[33]</sup>发现: 成年银屑病小鼠经广谱抗生素治疗后症状明显改善, 同时肠道菌群多样性发生了改变, 小鼠肠道的乳酸杆菌目大幅度增加, 红螺菌目和梭菌目显著减少。此外, 与对照组小鼠相比, 在无菌和广谱抗生素处理咪喹莫特诱导的银屑病样小鼠中, 其体内Th17受到明显抑制, 且皮损处的IL-17和IL-22也明显降低<sup>[34-35]</sup>。

抗生素治疗银屑病一直存在很大的争议。一方面, 抗生素在免疫抑制、抗炎和免疫调节等方面发挥着积极的作用; 另一方面, 长期使用抗生素造成的肠道菌群失调, 可能会起到反作用, 使银屑病患者的病情加重<sup>[34]</sup>。因此抗生素治疗银屑病与肠道菌群紊乱之间的问题需要更多的基础及临床研究来验证。

## 3.3 益生菌/益生元与肠道微生物群落

给予益生菌和益生元补充剂是一种前景十分广阔的治疗方式<sup>[11]</sup>。益生菌和益生元对皮肤具有免疫调节作用, 可通过减少皮肤细菌负荷和对抗侵略性共生以增强其屏障功能<sup>[36]</sup>。

研究<sup>[37]</sup>发现: 银屑病患者口服婴儿双歧杆菌8周, C反应蛋白和TNF- $\alpha$ 水平可显著降低。在咪喹莫特诱导的银屑病小鼠模型中, 戊糖乳杆菌GMNL-77(作为益生菌)处理的小鼠皮损处的红斑、鳞屑显著减少。其机制可能是戊糖乳杆菌抑制TNF- $\alpha$ 、IL-6以及IL-23/Th17轴中的促炎细胞因子的表达<sup>[38]</sup>。肠道微生物群通过对益生元的发酵产生SCFA, SCFA可以改善肠道的功能和完整性, 调节免疫系统和炎症反应<sup>[39]</sup>。这些结果进一步巩固了肠道微生物群和皮肤之间直接联系的观点, 暗示着“人工”微生物群可以调节“天然”微生物群, 从而达到治疗的目的。

## 4 结语

综上所述, 微生物群落紊乱和IL-17、IL-23、IL22、TNF- $\alpha$ 等炎症细胞因子对于银屑病的发生发展都起着重要的作用。然而, 三者之间的具体机制目前仍不明确, 尚待进一步研究。以往我们在银屑病的治疗过程中多采用对症治疗、综合治疗的方法。现阶段, 改变人体内的微生物群落和/或炎症细胞因子, 其效果是值得期待的。希望未来有研究能够解开银屑病与肠道微生物群落及相关炎症细胞因子之间的谜团, 实现对对症治疗到对因治疗的转变, 为银屑病的治疗提供更多的参考与指导。

## 参考文献

- Green LJ, Yamauchi PS, Kircik LH. Comparison of the safety and efficacy of tumor necrosis factor inhibitors and interleukin-17 inhibitors in patients with psoriasis[J]. *J Drugs Dermatol*, 2019, 18: 776-788.
- Atabati H, Esmaeili S, Saburi E, et al. Probiotics with ameliorating effects on the severity of skin inflammation in psoriasis: Evidence from experimental and clinical studies[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235: 8925-8937.
- Stehlikova Z, Kostovcikova K, Kverka M, et al. Crucial role of microbiota in experimental psoriasis revealed by a gnotobiotic mouse model[J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 236.
- Yeh NL, Hsu CY, Tsai TF, et al. Gut microbiome in psoriasis is perturbed differently during secukinumab and ustekinumab therapy and associated with response to treatment[J]. *Clin Drug Investig*, 2019, 39(12): 1195-1203.
- Tan L, Zhao S, Zhu W, et al. The Akkermansia muciniphila is a gut microbiota signature in psoriasis[J]. *Exp Dermatol*, 2018, 27(2): 144-149.
- Moya A, Ferrer M. Functional redundancy-induced stability of gut microbiota subjected to disturbance[J]. *Trends Microbiol*, 2016, 24(5): 402-413.
- Zhu G, Ma F, Wang G, et al. Bifidobacterial attenuate the development of metabolic disorders, with inter- and intra-species differences[J]. *Food Funct*, 2018, 9(6): 3509-3522.
- Wang X, Li Y, Wu L, et al. Dysregulation of the gut-brain-skin axis and key overlapping inflammatory and immune mechanisms of psoriasis and depression[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 137: 111065.
- Skelly AN, Sato Y, Kearney S, et al. Mining the microbiota for microbial and metabolite-based immunotherapies[J]. *Nat Rev Immunol*, 2019, 19: 305-323.
- Sano T, Huang W, Hall JA, et al. An IL-23R/IL-22 circuit regulates epithelial serum amyloid A to promote local effector Th17 responses[J]. *Cell*, 2016, 164(1/2): 324.
- Visser MJE, Kell DB, Pretorius E. Bacterial dysbiosis and translocation in psoriasis vulgaris[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2019, 9: 7.
- Omenetti S, Pizarro TT. The Treg/Th17 Axis: a dynamic balance regulated by the gut microbiome[J]. *Front Immunol*, 2015, 6: 639.
- 王丽玮, 段志敏, 童建波, 等. 银屑病患者肠道菌群多样性分析: 单中心前瞻性研究[J]. *协和医学杂志*, 2019, 10(3): 223-230. WANG Liwei, DUAN Zhimin, TONG Jianbo, et al. Analysis of intestinal flora diversity in patients with psoriasis: a prospective single-center study[J]. *Medical Journal of Peking Union Medical College Hospital*, 2019, 10(3): 223-230.
- Belizário JE, Faintuch J, Garay-Malpartida M, et al. Gut microbiome dysbiosis and immunometabolism: new frontiers for treatment of metabolic diseases[J]. *Mediators Inflamm*, 2018, 2018: 2037838.
- 涂晨, 王爽, 刘彦婷, 等. 银屑病患者肠道菌群多样性与表型分析[J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2021, Epub ahead of print. doi: 10.13735/j.cjdv.1001-7089.202010034. TU Chen, WANG Shuang, LIU Yanting, et al. Intestinal microflora diversity and phenotype analysis in patients with psoriasis[J]. *The Chinese Journal of Dermatovenereology*, 2021, Epub ahead of print. doi: 10.13735/j.cjdv.1001-7089.202010034.
- Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation[J]. *Cell*, 2014, 157(1): 121-141.
- Vinolo MA, Ferguson GJ, Kulkarni S, et al. SCFAs induce mouse neutrophil chemotaxis through the GPR43 receptor[J]. *PLoS One*, 2011, 6(6): e21205.
- Lim K, Hyun YM, Lambert-Emo K, et al. Neutrophil trails guide influenza-specific CD8<sup>+</sup>T cells in the airways[J]. *Science*, 2015, 349(6252): aaa4352.
- Girolomoni G, Mrowietz U, Paul C. Psoriasis: rationale for targeting interleukin-17[J]. *Br J Dermatol*, 2012, 167(4): 717-724.
- Jiang Y, Wang W, Zheng X, et al. Immune regulation of TNFAIP3 in psoriasis through its association with Th1 and Th17 cell differentiation and p38 activation[J]. *J Immunol Res*, 2020, 2020: 5980190.
- Lønnberg AS, Zachariae C, Skov L. Targeting of interleukin-17 in the treatment of psoriasis[J]. *Clin Cosmet Investig Dermatol*, 2014, 7: 251-259.
- Res PC, Piskin G, de Boer OJ, et al. Overrepresentation of IL-17a and IL-22 producing CD8 T cells in lesional skin suggests their involvement in the pathogenesis of psoriasis[J]. *PLoS One*, 2010, 5(11): e14108.
- Tu J, Yin Z, Guo J, et al. Acitretin inhibits IL-17a-induced IL-36 expression in keratinocytes by down-regulating I $\kappa$ B $\zeta$ [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 79: 106045.
- Bernardini N, Skroza N, Tolino E, et al. IL-17 and its role in

- inflammatory, autoimmune, and oncological skin diseases: State of art[J]. *Int J Dermatol*, 2020, 59(4): 406-411.
25. Liang J, Chen P, Li C, et al. IL-22 down-regulates CX43 expression and decreases gap junctional intercellular communication by activating the JNK pathway in psoriasis[J]. *J Invest Dermatol*, 2019, 139(2): 400-411.
  26. Mashiko S, Bouguermouh S, Rubio M, et al. Human mast cells are major IL-22 producers in patients with psoriasis and atopic dermatitis[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2015, 136: 351-359.e1.
  27. Ouyang W, Wen J. Distinct roles of IL-22 in human psoriasis and inflammatory bowel disease[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2010, 21(6): 435-441.
  28. Boniface K, Bernard FX, Garcia M, et al. IL-22 inhibits epidermal differentiation and induces proinflammatory gene expression and migration of human keratinocytes[J]. *J Immunol*, 2005, 174: 3695-3702.
  29. Wcisło-Dziadecka D, Zbiciak-Nylec M, Brzezińska-Wcisło L, et al. TNF- $\alpha$  in a molecularly targeted therapy of psoriasis and psoriatic arthritis[J]. *Postgrad Med J*, 2016, 92(1085): 172-178.
  30. Salimi S, Yamauchi PS, Thakur R, et al. Interleukin 23p19 inhibitors in chronic plaque psoriasis with focus on mirikizumab: a narrative review[J]. *Dermatol Ther*, 2020, 33(4): e13800.
  31. Loesche MA, Farahi K, Capone K, et al. Longitudinal study of the psoriasis-associated skin microbiome during therapy with ustekinumab in a randomized phase 3b clinical trial[J]. *J Invest Dermatol*, 2018, 138(9): 1973-1981.
  32. Alzolibani AA, Zedan K. Macrolides in chronic inflammatory skin disorders[J]. *Mediators Inflamm*, 2012, 2012: 159354.
  33. Valles-Colomer M, Falony G, Darzi Y, et al. The neuroactive potential of the human gut microbiota in quality of life and depression[J]. *Nat Microbiol*, 2019, 4(4): 623-632.
  34. Zhanvit P, Konkel JE, Jiao X, et al. Antibiotics in neonatal life increase murine susceptibility to experimental psoriasis[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 8424.
  35. Zákostelská Z, Málková J, Klimešová K, et al. Intestinal microbiota promotes psoriasis-like skin inflammation by enhancing TH17 response[J]. *PLoS One*, 2016, 11(7): e0159539.
  36. Benhadou F, Mintoff D, Schnebert B, et al. Psoriasis and microbiota: a systematic review[J]. *Diseases*, 2018, 6(2): 47.
  37. Cheng HY, Ning MX, Chen DK, et al. Interactions between the gut microbiota and the host innate immune response against pathogens[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 607.
  38. Alesa DI, Alshamrani HM, Alzahrani YA, et al. The role of gut microbiome in the pathogenesis of psoriasis and the therapeutic effects of probiotics[J]. *J Family Med Prim Care*, 2019, 8(11): 3496-3503.
  39. Haidmayer A, Bosch P, Lackner A, et al. Effects of probiotic strains on disease activity and enteric permeability in psoriatic arthritis—a pilot open-label study[J]. *Nutrients*, 2020, 12(8): 2337.

本文引用: 王轩, 胡慧敏, 许辉, 李遇梅. 肠道微生物群落与银屑病炎症细胞因子的相关研究进展[J]. *临床与病理杂志*, 2022, 42(4): 985-989. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.04.034

**Cite this article as:** WANG Xuan, HU Huimin, XU Hui, LI Yumei. Correlation between intestinal microbial community and psoriasis related inflammatory cytokines[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2022, 42(4): 985-989. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.04.034