

• 论 著 •

血清 PDPK1 水平与绝经后髋部骨折患者早期骨密度和骨转化标志物变化的关系*

张 岩, 吴多艺, 张志伟, 叶宝飞
海南省中医院骨一科, 海南海口 570000

摘 要:**目的** 探讨绝经后髋部骨折患者血清 3'-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1(PDPK1)水平与早期骨密度(BMD)和骨转化标志物变化的关系。**方法** 2017 年 1 月至 2020 年 6 月共纳入了 261 例 55 岁以上绝经后骨质疏松性髋部骨折患者作为骨折组,106 例年龄匹配的无骨折绝经女性作为对照组。对照组于体检当天,骨折组于骨折后 2、4、7、10、14、30、365 d 检测血清 PDPK1、I 型前胶原氨基端原肽(PINP)、I 型胶原蛋白的 β -异构化羧基端肽(β -CTX)水平。**结果** 骨折患者血清 PDPK1 基线(骨折后 2 d)水平明显高于对照组($P<0.05$)。在整个队列中,血清 PDPK1 基线水平与 β -CTX($r=0.403, P=0.008$)和 PINP($r=0.236, P=0.042$)呈正相关,而与股骨颈 BMD 呈负相关($r=-0.529, P<0.001$)。经多元线性回归分析发现,血清 PDPK1 基线水平是影响股骨颈 BMD 的独立危险因素($\beta=-0.390, t=-2.302, P=0.004$)。骨折后 7 d 时血清 PDPK1 水平达到峰值,随后逐渐下降($F=8.351, P<0.05$)。Pearson 相关分析结果显示,骨折 7 d 时血清 PDPK1 水平变化百分比与 β -CTX、PINP 变化百分比呈正相关($r=0.396, P=0.002; r=0.180, P=0.033$),且在整个研究期间,血清 PDPK1 水平变化百分比与 β -CTX 变化百分比呈正相关($r=0.293, P=0.019$)。**结论** 在绝经后骨质疏松性髋部骨折的患者中,基线和愈合早期血清 PDPK1 水平较高,与骨转化标志物 PINP、 β -CTX 变化趋势基本一致,且血清 PDPK1 水平是影响股骨颈 BMD 的独立危险因素。

关键词: 绝经; 骨折修复; 髋部骨折; 骨转化标志物; 3'-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.18.018

中图法分类号:R446.1

文章编号:1673-4130(2022)18-2264-05

文献标志码:A

Relationship between serum PDPK1 level with changes of bone mineral density at early stage and bone turnover markers in postmenopausal women with hip fracture*

ZHANG Yan, WU Duoyi, ZHANG Zhiwei, YE Baofei

First Department of Orthopedics, Hainan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Haikou, Hainan 570000, China

Abstract:**Objective** To investigate the relationship between serum 3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1 (PDPK1) level with the changes of bone mineral density (BMD) at early age and bone turnover markers in postmenopausal women with hip fracture. **Methods** A total of 261 postmenopausal women patients with osteoporotic hip fractures aged ≥ 55 years in this hospital from January 2017 to June 2020 served as the fracture group and 106 age-matched women without fractures served as the control group. Serum PDPK1, type I procollagen N-terminal peptide (PINP) and β -isomeric carboxy-terminal peptide of type I collagen (β -CTX) levels were measured on 2, 4, 7, 10, 14, 30, 365 d after fracture in the fracture group and on the physical examination day in the control group. **Results** The serum PDPK1 baseline level (2 d after fracture) in the patients with fracture was significantly higher than that in the control group ($P<0.05$). In the whole queue, the baseline level of serum PDPK1 was positively correlated with β -CTX ($r=0.403, P=0.008$) and PINP ($r=0.236, P=0.042$), but negatively correlated with femoral neck BMD ($r=-0.529, P<0.001$). The multiple linear regression analysis showed that serum PDPK1 baseline level was an independent risk factor affecting femoral neck BMD ($\beta=-0.390, t=-2.302, P=0.004$). The serum PDPK1 level reached its peak on 7 d after fracture, and then decreased gradually ($F=8.351, P<0.05$). The Pearson correlation analysis re-

* 基金项目:海南省高等学校科学研究项目(Hnky2018-50)。

作者简介:张岩,男,主治医师,主要从事脊柱外科疾病诊疗研究。

sults showed that percentage of serum PDPK1 level change on 7 d after fracture was positively correlated with the percentage of β -CTX and PINP levels change ($r=0.396, P=0.002; r=0.180, P=0.033$), moreover during the whole study period, the percentage of serum PDPK1 level change was positively correlated with the percentage of β -CTX change ($r=0.293, P=0.019$). **Conclusion** In postmenopausal women patients with hip fracture, serum PDPK1 level is higher at baseline and early healing stage, which is basically consistent with the change trend of bone turnover marker PINP and β -CTX, moreover serum PDPK1 level is an independent risk factor affecting femoral neck BMD.

Key words: postmenopausal women; fracture repair; hip fracture; bone turnover markers; 3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1

绝经后女性发生的髋部骨折是常见的骨骼肌肉疾病, 尽管针对髋部骨折的治疗方法有所改进, 但是仍有 10% 左右的患者表现出骨修复不足, 导致骨折延迟愈合或无法愈合^[1]。骨折愈合是一个复杂的过程, 潜在的细胞和分子机制仍然未知。骨折愈合的核心是骨重建过程, 包括破骨细胞性骨吸收和成骨细胞性骨形成^[2]。维持破骨细胞和成骨细胞活动之间的动态平衡对于骨修复是必要的^[3]。3'-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1 (PDPK1) 是存在于破骨细胞中的一种丝氨酸/苏氨酸激酶和磷酸肌醇-3-激酶 (PI3K)-蛋白激酶 B (Akt) 信号级联的关键调节因子, 其特异性缺失会抑制核因子- κ B 受体活化因子配体 (RANKL) 诱导的破骨细胞形成和骨吸收^[4-5]。鉴于破骨细胞在骨折修复中的重要性, 笔者推测破骨细胞中 PDPK1 的表达缺失将改变骨折的愈合过程。本研究旨在分析血清 PDPK1 水平与绝经后髋部骨折患者骨质丢失、骨转化标志物血清 I 型前胶原氨基端原肽 (PINP) 和 I 型胶原蛋白的 β -异构化羧基端肽 (β -CTX) 之间的关系, 进而探讨血清 PDPK1 作为监测药物或康复运动干预后骨折愈合效果指标的可能性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究为一项针对 55 岁以上绝经后骨质疏松性髋部骨折患者的纵向病例对照研究, 已获得本院医学伦理委员会的批准。从 2017 年 1 月至 2020 年 6 月连续调查了 261 例因轻微创伤性髋部骨折就诊的绝经后女性患者 (骨折组), 年龄 55~89 岁, 绝经超过 1 年。轻微创伤被定义为髋关节受到的机械冲击相当于或小于从站立高度坠落^[6]。所有患者均签署了书面知情同意书。排除标准为病理性骨折或高能创伤性骨折。对于骨折延迟愈合病例, 暂不纳入本研究。在随访过程中, 57 例患者个人原因或不明原因失访, 21 例骨折延迟愈合, 53 例在随访期间因合并脑梗死、冠心病、糖尿病等服用其他可能影响待测指标或骨代谢的药物, 1 例患者诊断出恶性肿瘤, 1 例患者死亡, 最终 128 例患者完成了为期 1 年的随访。另选取 106 例年龄匹配、无低能创伤性骨折 (现有证

据或疾病史)、无脑卒中病史的于本院进行体检的绝经女性作为对照组。两组研究对象均排除了可能影响骨代谢的疾病, 如转移性骨癌、原发性甲状旁腺功能亢进、甲状腺功能亢进、多发性骨髓瘤、骨软化症、肾功能不全。

1.2 方法

1.2.1 标本采集及资料收集 骨折组患者分别于骨折后 2、4、7、10、14、30、365 d 时 (以 2 d 为基线) 采集血液标本。对照组研究对象在体检当天采集血液标本。两组均空腹采集静脉血标本, 立即离心, 并在 -80 °C 保存, 之后进行 ELISA。PINP (骨形成标记物) 和 β -CTX (骨吸收标记物) 通过 Cobas 6000 型全自动电化学发光系统 (德国罗氏诊断公司) 进行检测。PDPK1 使用 ELISA 试剂盒 (中国武汉 USCN Life Science 公司) 测定。按说明书分析 100 μ L 的等分标本。收集两组人口学、人体测量学, 以及相关临床合并症、并发症、实验室数据。

1.2.2 骨密度 (BMD) 测量^[7] 骨折组患者于骨折后 1 周内测量 BMD。采用 DXA 型双能 X 线骨密度仪 (美国 GE Lunar 公司) 测量腰椎 (L₂-L₄) 和股骨颈的 BMD (在未受骨折影响的一侧测量 BMD)。BMD 分析仪间和分析仪内的变异系数 < 3%。在进行 BMD 扫描时, 还测量了体质量和身高。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行统计分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验, 偏态分布的计量资料以 $M (P_{25} \sim P_{75})$ 表示, 组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。计数资料以例数或率表示, 组间比较采用 χ^2 检验。采用重复测量方差分析对血清 PDPK1 水平变化进行检验。采用 Pearson 或 Spearman 相关分析变量之间的相关性。使用多元线性回归分析影响股骨颈 BMD 的危险因素, 并根据年龄和绝经后时间 (TSM) 等进行了校正。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较 入组时, 骨折组和对照组研究对象的一般资料见表 1。两组年龄、TSM、体质

量指数(BMI)、估算的肾小球滤过率(eGFR)、合并症发生情况比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。骨折组患者血清 PDPK1 水平高于对照组($P<0.05$),而

腰椎 BMD 和股骨颈 BMD 均低于对照组($P<0.05$)。骨折组患者血清 β -CTX 和 PINP 水平高于对照组,但差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 两组一般资料比较[$M(P_{25}\sim P_{75})$ 或 $\bar{x}\pm s$ 或 $n(\%)$]

项目	对照组($n=106$)	骨折组($n=261$)	$Z/\chi^2/t$	P
年龄(岁)	66(59~83)	68(60~84)	-1.411	0.090
TSM(年)	23(9~37)	27(16~42)	-0.972	0.349
BMI(kg/m ²)	23.41 $\pm$ 3.20	22.79 $\pm$ 2.86	1.818	0.070
eGFR[mL/(min $\cdot$ 1.73 m ²)]	86.50(73.50~112.95)	81.98(69.50~105.23)	-1.279	0.103
β -CTX(ng/mL)	0.34(0.19~0.44)	0.37(0.20~0.53)	-1.563	0.062
PINP(ng/mL)	46.47(29.14~65.39)	52.00(34.48~77.85)	-1.230	0.111
PDPK1(ng/mL)	26.87(13.71~43.58)	42.51(28.77~79.70)	-8.055	<0.001
股骨颈 BMD(mg/cm ²)	996.50(901.05~1 291.77)	815.45(691.20~1 077.35)	-2.992	0.045
腰椎 BMD(mg/cm ²)	795.06(651.22~1 007.45)	679.76(566.53~915.05)	-3.430	0.006
合并症				
糖尿病	21(19.81)	50(19.16)	0.245	0.621
高血压	64(60.38)	161(61.69)	0.054	0.816
高胆固醇血症	48(45.28)	102(39.08)	1.200	0.273
心肌梗死	18(16.98)	65(24.90)	2.704	0.100
脑血管疾病	17(16.04)	59(22.61)	1.980	0.159
慢性阻塞性肺疾病	8(7.55)	33(12.64)	1.973	0.160

2.2 骨折组患者血清 PDPK1 基线水平与 BMD、骨转化标志物的关系 骨折组患者血清 PDPK1 基线水平与股骨颈 BMD 呈负相关($r=-0.529, P<0.05$),而与 β -CTX($r=0.403, P<0.05$)和 PINP($r=0.236, P<0.05$)呈正相关。见表 2。

表 2 患者骨折的潜在危险因素与血清 PDPK1 水平之间的相关性

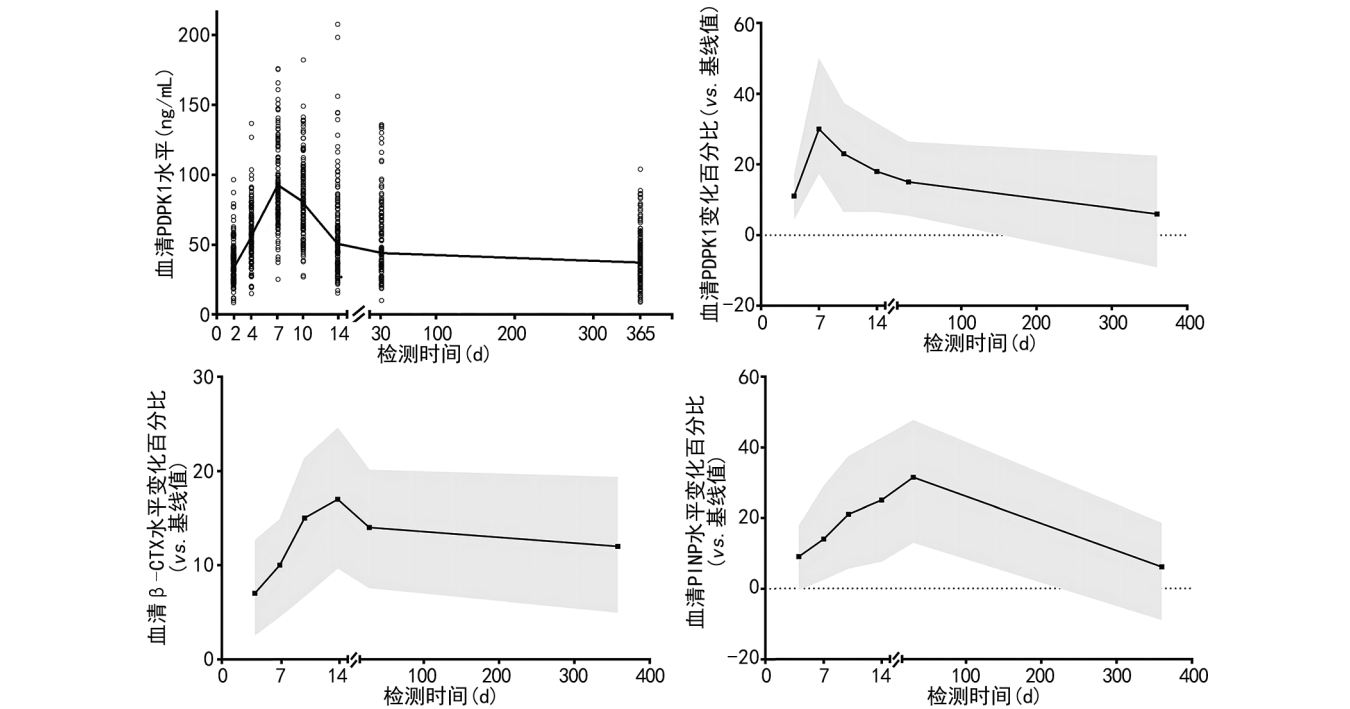
项目	PDPK1	
	r	P
年龄	-0.149	0.261
TSM	-0.099	0.417
BMI	-0.280	0.077
eGFR	0.034	0.084
PINP	0.236	0.042
β -CTX	0.403	0.008
股骨颈 BMD	-0.529	<0.001
腰椎 BMD	0.170	0.166

2.3 多元线性回归分析 进一步校正年龄、TSM、BMI 等混杂因素后,经多元线性回归分析发现,血清 PDPK1($\beta=-0.390, t=-2.302, P=0.004$)和 β -CTX($\beta=-0.503, t=-2.879, P=0.001$)基线水平是影响股骨颈 BMD 的独立危险因素。此外血清 β -

CTX 基线水平也是影响腰椎 BMD 的独立危险因素($\beta=-0.366, t=-2.040, P=0.012$)。

2.4 骨折患者血清 PDPK1 水平动态监测 128 例(49.04%)患者随访 1 年以上,其余 133 例患者失访或被排除。在骨折后 7 d 时,患者血清 PDPK1 水平达到峰值,随后逐渐下降。经重复测量方差分析,骨折患者血清 PDPK1 水平随时间变化趋势的差异有统计学意义($F=8.351, P<0.05$)。在骨折后 4、7、10、14、30 d 时观测到 PDPK1 水平显著高于基线值($P<0.05$),在 365 d 时血清 PDPK1 水平较基线值略有升高,但差异无统计学意义($P>0.05$)。此外,1 年随访期间,骨折患者血清 β -CTX、PINP 水平亦出现短暂升高,分别在 14 d 和 30 d 时达到峰值,随后稳步下降($F=4.790、3.789, P<0.05$)。见图 1。

2.5 骨折患者血清 PDPK1 水平动态变化与 β -CTX、PINP 变化的关系 经 Pearson 相关分析,骨折 7 d 时患者血清 PDPK1 水平变化百分比与 β -CTX、PINP 变化百分比呈正相关($r=0.396, P=0.002; r=0.180, P=0.033$),但是在 7 d 后未观察到血清 PDPK1 水平变化百分比与 PINP 变化百分比之间的关系。在整个研究期间,血清 PDPK1 水平变化百分比与 β -CTX 变化百分比均呈正相关($r=0.293, P=0.019$)。



注:A 为血清 PDPK1 水平变化趋势;B 为不同时间点血清 PDPK1 水平较基线值的变化百分比;C 为不同时间点血清 β -CTX 水平较基线值的变化百分比;D 为不同时间点血清 PINP 水平较基线值的变化百分比。

图 1 血清 PDPK1、 β -CTX、PINP 水平动态变化曲线

3 讨 论

本研究侧重于分析 55 岁以上绝经后骨质疏松性髌部骨折的患者和匹配的对照者血清 PDPK1 水平的分布情况以及随访 1 年血清 PDPK1 水平的动态变化。结果显示,血清 PDPK1 水平升高与股骨颈 BMD 降低有关,在愈合阶段随着骨形成标志物 PINP 和骨吸收标志物 β -CTX 水平持续增加,PDPK1 水平亦同步升高。这表明骨形成和骨吸收之间的相对不平衡与骨质疏松性髌部骨折患者高 PDPK1 水平有关,反映了愈合过程中早期骨膜内骨化形成^[2]。

骨折愈合是一个复杂的骨质再生过程^[8],可分为早期炎症反应期、软骨内成骨和硬性骨痂形成中期、骨重建晚期 3 种相互重叠的生物学阶段,而各个阶段有不同类型细胞发挥作用^[9-14],破骨细胞介导的骨/软骨吸收和成骨细胞介导的骨形成过程对于骨折修复的速度和质量有重要影响。骨形成标志物反映了骨形成细胞(主要是成骨细胞)的酶活性,它们是骨形成过程中基质成分分解时释放的多余产物,其中 PINP 是较敏感的骨形成标志物之一^[12]。骨吸收标志物,如 β -CTX 是骨组织沉积的产物^[13]。有研究已经证实,PINP 和 β -CTX 能够反映成骨细胞和破骨细胞的活性,且其变化早于 BMD^[14]。因此,血清 PINP 和 β -CTX 水平在一定程度上反映了骨质疏松性骨折患者的愈合速度^[15]。本研究发现,患者在愈合阶段,血清 PINP、 β -CTX、PDPK1 水平同步升高。尤其是在骨折后第 1 周持续增加,并且在随访 1 年内仍保持高水平,这表明 PDPK1 的释放不仅取决于髌部骨折本身,

可能还与是否存在骨质疏松或骨折愈合过程有关。

XIAO 等^[5]证实 PDPK1 是机械因素影响骨密度和骨再生的重要介质。作为一种新的骨质疏松性骨折调节因子,PDPK1 可能反映骨膜细胞代谢活动对骨折的影响,从而使骨修复处于稳定状态。此外,笔者还观察到髌部骨折后 PDPK1 水平上调,在第 7 天达到峰值,然后在 1 年内恢复到接近基线水平。这些结果表明在祖细胞募集至骨痂期间以及骨骼发育和重塑的早期阶段,PDPK1 参与骨折的早期修复。PDPK1 在骨折患者血清中的水平变化使其有望成为评估预后和监测治疗效果的重要生物标志物。

本研究多元线性回归分析结果表明,PDPK1 基线水平是影响股骨颈 BMD 的独立危险因素,而非影响腰椎 BMD 的危险因素。其可能的解释为 PDPK1 主要表达于骨膜中,而骨膜主要覆盖长骨^[16-17]。在笔者看来,骨膜是贴在骨表面的结缔组织膜,在一定程度上补偿了绝经后骨皮质内骨丢失。随着骨丢失的进展,骨皮质变得更薄,而由于微结构不良,机械应力增加,导致 PDPK1 表达代偿性增加^[18]。因此,可以假设 PDPK1 合成量也可能随着绝经后女性骨质疏松性髌部骨折的发生而增加。这些研究结果表明,PDPK1 可能是诊断骨质疏松性骨折的较好的生物标志物,特别是髌关节^[19]。然而目前的研究也有一些局限性,例如骨折后的用药情况、骨折愈合评估、骨折固定后的体力活动和康复训练量未被考虑。

综上所述,髌部骨折患者在基线和愈合早期具有更高的血清 PDPK1 水平。血清 PDPK1 水平能反映

骨丢失及骨折愈合进展情况,但在发生急性骨折和并发症的情况下,分析时需要更加谨慎。

参考文献

[1] 张立海. 老年骨质疏松骨折的现状和挑战[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2020, 19(7): 481-484.

[2] 冯洋, 陈跃平, 章晓云, 等. 骨生长因子调控骨折愈合机制及在骨再生修复中的作用[J]. 中国组织工程研究, 2018, 23(4): 613-620.

[3] 严伟, 王中汉, 刘贺. 骨重建失衡导致骨质疏松发生的作用机制及其药物治疗策略[J]. 中国组织工程研究, 2020, 25(30): 4866-4874.

[4] AN S, CHO S Y, KANG J, et al. Inhibition of 3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1 (PDK1) can revert cellular senescence in human dermal fibroblasts[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2020, 117(49): 31535-31546.

[5] XIAO D J, ZHOU Q, BI Y G, et al. Deficiency of PDK1 in osteoclasts delays fracture healing and repair[J]. Mol Med Rep, 2020, 22(2): 1536-1546.

[6] 郑博, 蒋涛, 黄佳涌, 等. 我国中老年脆性髌部骨折及桡骨远端骨折骨质疏松诊断标准与 WHO 诊断标准的比较分析[J]. 中国骨质疏松杂志, 2018, 24(10): 1299-1304.

[7] NAPOLI N, CONTE C, PEDONE C, et al. Effect of insulin resistance on BMD and fracture risk in older adults[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2019, 104(8): 3303-3310.

[8] BARRON R L, OSTER G, GRAUER A, et al. Determinants of imminent fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis[J]. Osteoporos Int, 2020, 31(11): 2103-2111.

[9] OZAKI D, KUBOTA R, MAENO T, et al. Association between gut microbiota, bone metabolism, and fracture risk in postmenopausal Japanese women[J]. Osteoporos Int, 2021, 32(1): 145-156.

[10] CAMAL R I N, CÍCERO A M, ISSA J P M, et al. Bone fracture healing: perspectives according to molecular basis[J]. J Bone Miner Metab, 2021, 39(3): 311-338.

[11] MARMOR M T, DAILEY H, MARCUCIO R, et al. Biomedical research models in the science of fracture healing: pitfalls & promises[J]. Injury, 2020, 51(10): 2118-2128.

[12] NOVAK S, ROEDER E, SINDER B P, et al. Modulation of Notch1 signaling regulates bone fracture healing[J]. J Orthop Res, 2020, 38(11): 2350-2361.

[13] FOSTER A L, MORIARTY T F, ZALAVRAS C, et al. The influence of biomechanical stability on bone healing and fracture-related infection: the legacy of Stephan Perren[J]. Injury, 2021, 52(1): 43-52.

[14] INOUE S, TAKITO J, NAKAMURA M. Site-specific fracture healing: comparison between diaphysis and metaphysis in the mouse long bone[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(17): 9299.

[15] 陈伟, 李鹏, 万永建, 等. 创伤性骨折延迟愈合患者血清骨转化标志物的表达水平及意义[J]. 东南大学学报(医学版), 2021, 40(2): 225-229.

[16] XIAO D, ZHOU Q, GAO Y, et al. PDK1 is important lipid kinase for RANKL-induced osteoclast formation and function via the regulation of the Akt-GSK3 β -NFATc1 signaling cascade[J]. J Cell Biochem, 2020, 121(11): 4542-4557.

[17] MCMANUS S, BISSON M, CHAMBERLAND R, et al. Autophagy and 3-phosphoinositide-dependent kinase 1 (PDK1)-related kinome in pagetic osteoclasts[J]. J Bone Miner Res, 2016, 31(7): 1334-1343.

[18] BAI Y, ZHANG Q, ZHOU Q, et al. Effects of inhibiting PDK-1 expression in bone marrow mesenchymal stem cells on osteoblast differentiation in vitro[J]. Mol Med Rep, 2021, 23(2): 118.

[19] BAI Y, ZHANG Q, CHEN Q, et al. Conditional knockout of the PDK-1 gene in osteoblasts affects osteoblast differentiation and bone formation[J]. J Cell Physiol, 2021, 236(7): 5432-5445.

(收稿日期: 2021-12-23 修回日期: 2022-04-21)

(上接第 2263 页)

erature review[J]. Gynecol Obstet Invest, 2018, 83(4): 313-328.

[14] JIA L, LIU Y, HAN Y, et al. Differential expression and inhibitory effects of aquaporins on the development of adenomyosis[J]. Mol Med Rep, 2020, 22(5): 3840-3850.

[15] KIKUSHIGE Y, MIYAMOTO T, YUDA J, et al. A TIM-3/Gal-9 autocrine stimulatory loop drives self-renewal of human myeloid leukemia stem cells and leukemic progression[J]. Cell Stem Cell, 2015, 17(3): 341-352.

[16] DONG J, CHENG L, ZHAO M, et al. Tim-3-expressing macrophages are functionally suppressed and expanded in oral squamous cell carcinoma due to virus-induced Gal-9 expression[J]. Tumour Biol, 2017, 39(5): 1010428317701651.

[17] WANG Z, YIN N, ZHANG Z, et al. Upregulation of T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3 (Tim-3) in monocytes/macrophages associates with gastric cancer progression[J]. Immunol Invest, 2017, 46(2): 134-148.

[18] SHAHRABI-FARAHANI M, SHAHBAZI S, MAHDIAN R, et al. K-Ras 4A transcript variant is up-regulated in eutopic endometrium of endometriosis patients during proliferative phase of menstrual cycle[J]. Arch Gynecol Obstet, 2015, 292(1): 225-229.

[19] 温相霞, 陈锦云, 余单, 等. 运动处方对 HIFU 术后子宫腺肌病患者痛经的影响[J]. 重庆医科大学学报, 2019, 44(6): 759-764.

(收稿日期: 2021-12-23 修回日期: 2022-04-28)