Modern Practical Medicine, December 2024, Vol. 36, No. 12

·论 著·

# 虾青素通过调控线粒体自噬改善 HK-2 细胞纤维化

洪梦琪，李新科，赵宇，聂振禹，陈争跃

【摘要】**目的** 探讨虾青素（AST）改善转化生长因子-β1（TGF-β1）诱导的人肾小管上皮细胞（HK-2）纤维化的作用机制。**方法** 将 HK-2 细胞随机分为正常对照组（Control 组）、TGF-β1 组、TGF-β1+20 μg/ml AST 组及 TGF-β1+40 μg/ml AST 组，CCK-8 法检测细胞活力，线粒体膜电位检测试剂盒检测线粒体膜电位水平，实时荧光定量 PCR 测定细胞α平滑肌肌动蛋白（α-SMA）、纤连蛋白（FN）mRNA 的表达水平，Western blot 检测α-SMA、FN、微管相关蛋白轻链 3（LC3）-II/I、P62、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶（PINK1）及帕金蛋白（parkin）蛋白的表达水平。**结果** 与 Control 组相比，TGF-β1 组α-SMA、FN 的 mRNA 及蛋白水平增高，细胞活力及线粒体膜电位显著下降；在加入 20、40 μg/ml 的 AST 后，α-SMA、FN 的 mRNA 及蛋白水平下降，细胞活力及线粒体膜电位显著升高（均 $P < 0.05$）。此外，与 Control 组相比，TGF-β1 组 LC3-II/I、parkin、PINK1 蛋白水平显著升高，P62 蛋白水平显著降低（均 $P < 0.05$）；与 TGF-β1 组相比，TGF-β1+20 μg/ml AST 组及 TGF-β1+40 μg/ml AST 组 LC3-II/1、parkin、PINK1 蛋白水平显著降低，P62 蛋白水平显著升高（均 $P < 0.05$）。**结论** AST 可能通过调节线粒体自噬来改善 TGF-β1 诱导的 HK-2 细胞纤维化。

【关键词】 虾青素；肾小管上皮细胞；线粒体自噬；纤维化
doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2024.12.003
【中图分类号】 R692 【文献标志码】 A 【文章编号】 1671-0800(2024)12-1548-05

**Astaxanthin improves HK-2 cell fibrosis by regulating mitochondrial autophagy**

*HONG Mengqi, LI Xinke, ZHAO Yu, NIE Zhenyu, CHEN Zhengyue (Ningbo Ninth Hospital, Ningbo 315020, Zhejiang, China)*

【**Abstract**】**Objective** To investigate the mechanism of astaxanthin (AST) in improving transforming growth factor β1 (TGF-β1) induced fibrosis in human renal tubular epithelial cells (HK-2). **Methods** HK-2 cells were divided into control group, TGF-β1 group, TGF-β1+20 μg/ml AST group, and TGF-β1+40 μg/ml AST group. Cell viability was assessed by CCK-8, and mitochondrial membrane potential level was detected by mitochondrial membrane potential detection kit. The mRNA expressions of α-smooth muscle actin (α-SMA), fibronectin (FN) were detceted by quantitative real time polymerase chain reaction (qRT-PCR). The protein expressions of α-SMA, FN, microtubule-associated protein light chain 3 (LC3)-II/I, P62, PINK1, and parkin were detected by Western blot. **Results** The mRNA, protein expressions of α-SMA, FN in TGF-β1 group were higher than those of control group; and cell viability, mitochondrial membrane potential level were lower than those of control group (all $P < 0.05$). After treatment with 20 μg/ml or 40 μg/ml AST in the TGF-β1 group; the mRNA, protein expressions of α-SMA, FN were significantly decreased; while cell viability, mitochondrial membrane potential level were significantly increased (all $P < 0.05$). The protein expressions of LC3-II/I, parkin1, and PINK1 were higher than those of control group, and the protein expression of P62 was lower than that of control group (all $P < 0.05$). Compared to the TGF-β1 group, the protein expressions of LC3-II/I, parkin1, and PINK1 were significantly decreased, and the protein expression of P62 was significantly increased in the TGF-β1+20 μg/ml AST group and TGF-β1+40 μg/ml AST group (all $P < 0.05$). **Conclusions** AST can alleviate TGF-β1-induced fibrosis in HK-2 cells by regulating mitophagy.

**基金项目：** 宁波市卫生健康科技计划项目（2023Y40）；浙江省医药卫生科技计划项目（2024KY1607）；宁波市科技计划项目（2021J024）

**作者单位：** 315020 宁波，宁波市第九医院（洪梦琪、李新科）；宁波市鄞州区第二医院（赵宇、聂振禹、陈争跃）
**通信作者：** 陈争跃，Email：15888025580@139.com

【Key words】 Astaxanthin; Renal tubular epithelial cells; Mitophagy; Fibrosis
*[Modern Practical Medicine,2024,36(12):1548-1552]*

慢性肾脏病（chronic kidney disease，CKD）已成为全球范围内备受关注的公共卫生挑战[1]。目前临床上尚缺少防治 CKD 发生的有效药物，因此探索 CKD 的发病机制、寻找新型治疗靶点具有重要的临床意义。线粒体自噬是细胞借助自噬途径对线粒体进行选择性清除的过程，其对保持线粒体的稳态和功能起重要的作用[2-4]。肾小管上皮细胞是体内含线粒体最丰富的细胞之一[5-6]。已有研究证实线粒体质量控制失调（包括线粒体裂变、融合和自噬等过程）在驱动肾纤维化进展方面的重要性[7]。

虾青素（astaxanthin，AST）是一种酮式类胡萝卜素，广泛存在于多种微生物和海洋动物中[8]，可以通过一种独立于其抗氧化功能的新型机制来调节线粒体功能[9]。AST 已被用于治疗多种慢性疾病[10-12]。有研究发现 AST 可以通过线粒体介导通路减轻肺纤维化[13]。另有研究发现 AST 可以通过自噬通路缓解肝纤维化[14]。但是 AST 是否能改善肾纤维化仍鲜有报道。本研究通过构建转化生长因子-β1（TGF-β1）诱导的人肾小管上皮细胞（HK-2）纤维化，探讨 AST 对肾纤维化的影响及其潜在的作用机制，现报道如下。

## 1　材料与方法

1.1　材料　HK-2 细胞购于武汉普诺赛生命科技有限公司，AST 购于北京索莱宝科技有限公司，TGF-β1 诱导剂购于美国 peprotech 公司，MEM 培养基购于武汉普诺赛生命科技有限公司，0.25%EDTA-胰蛋白酶、胎牛血清购于美国 Gibco 公司，兔抗人α平滑肌肌动蛋白（α-SMA）抗体、兔抗人纤连蛋白（FN）抗体、兔抗人微管相关蛋白轻链 3（LC3）抗体、兔抗人 P62、兔抗人丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶（PINK1）抗体、兔抗人帕金蛋白（parkin）抗体购于美国 Abcam 公司，荧光标记的羊抗兔二抗购于美国 Earthox 公司，倒置免疫荧光显微镜购于日本 Nikon 公司，酶标仪购于美国 Thermofisher 公司，反转录仪、荧光定量 PCR 仪购于北京东胜创新生物科技有限公司。

1.2　方法

1.2.1　细胞培养及分组　利用细胞复苏、传代、冻存等技术培养 HK-2 细胞后，将其置于含 10%胎牛血清的 MEM 培养基中，于 37 ℃、5%$CO_2$ 恒温培养箱中培养；取生长良好、对数生长期的细胞（融合 60%～80%），将其分为正常对照组（Control 组）、TGF-β1 组（TGF-β1 诱导剂 10 ng/ml 处理 24 h）、TGF-β1+AST 20 μg/ml 组（TGF-β1 诱导剂 10 ng/ml+20 μg/ml AST 处理 24 h）、TGF-β1+AST 40 μg/ml 组（TGF-β1 诱导剂 10 ng/ml+40 μg/ml AST 处理 24 h）。

1.2.2　CCK-8 法检测细胞活力　将各组 HK-2 细胞接种于 96 孔板，培养过夜后除去旧培养液，每孔加入 CCK-8 试剂 20 μl，继续孵育 2 h，用多功能酶标仪检测各孔细胞吸光度值，波长设置为 450 nm，按公式计算 HK-2 细胞相对活力：相对活力（%）=（实验组 A–空白组 A）/（对照组 A–空白组 A）×100%。

1.2.3　线粒体膜电位检测　将各组 HK-2 细胞置于底部铺有细胞爬片的 6 孔板中，进行干预，24 h 后去除培养液并用 PBS 洗涤细胞，加入 JC-1 工作液 2 ml，在培养箱中孵育 30 min，用新鲜培养液洗涤 2 次，PBS 清洗 1 次。荧光显微镜下进行观察并拍照。健康细胞线粒体膜电位维持稳定，细胞内富集 JC-1 聚集体，表现为强烈的绿色与红色荧光叠加信号；受损细胞线粒体膜电位下降，导致 JC-1 聚集体数量减少，荧光信号转变为以绿色为主，红色减弱[15]。

1.2.4　实时荧光定量 PCR（qRT-PCR）　使用 Trizol 试剂从各组 HK-2 细胞中提取总 RNA，并测定 RNA 浓度。随后通过 GoScript 逆转录酶系统试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA。接着，采用 GoTaq 两步法 RT-qPCR 系统试剂盒对 cDNA 产物进行 PCR 扩增。PCR 反应条件：95 ℃ 10 s，95 ℃ 30 s，60 ℃ 60 s，72 ℃ 60 s，共 40 个循环，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析实时 PCR 结果数据。引物序列见表 1。使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法测定相对

表 1　引物序列

| 引物名称 | 引物序列（5’→3’） |
|---|---|
| α-SMA | 正向：CGGACAGCGCCAAGTGAAG |
| | 反向：TTGTGTCTAGTTTCTGGGCGG |
| FN | 正向：GCGCCGGCTGTGCTGCACAGG |
| | 反向：GCCTGGGGACAGCGGTGCCC |
| β-actin | 正向：CACGAAACTACCTTCAACTCC |
| | 反向：CATACTCCTGCTTGCTGATC |

mRNA 水平，β-actin 基因作为内参基因。

1.2.5 Western Blot 实验 使用 RIPA 裂解液裂解各组 HK-2 细胞，收集细胞总蛋白，并进行 BCA 定量分析。通过 SDS-PAGE 凝胶电泳实现蛋白的分离并将其转移至 PDVF 膜表面。随后，使用 5%脱脂牛奶对膜进行 1 h 的封闭处理。封闭完成后，用 TBST 缓冲液对膜进行洗涤，每次洗涤持续 10 min，重复 3 次，将目的条带分别放入盛有α-SMA 抗体（1∶1 000）、FN 抗体（1∶1 000）、LC3-II/I 抗体（1∶500）、P62 抗体（1∶1 000）、PINK1 抗体（1∶1 000）、parkin（1∶1 000）及 GAPDH 抗体（1∶10 000）的溶液中，4 ℃摇床过夜；再 TBST 洗膜 10 min，重复 3 次，室温孵育 IgG 二抗（1∶10 000）1 h，TBST 洗膜 10 min，重复 3 次，用化学发光液覆盖。使用成像仪曝光进行拍照，运用 Image J 工具对蛋白图像进行灰度值量化分析。

1.3 统计方法 采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析，计量数据以均数±标准差表示，两组比较用独立样本 $t$ 检验；多组比较用单因素方差分析。图形绘制由 GraphPad Prism 8 软件完成。$P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

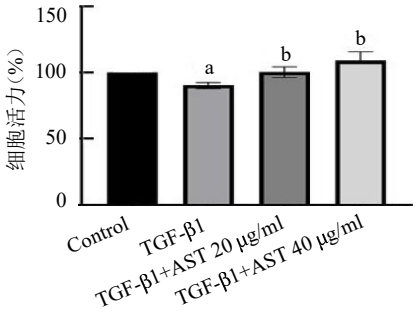
## 2 结果

2.1 各组 HK-2 细胞活力比较 与 Control 组相比，TGF-β1 组 HK-2 细胞的活力下降（$P < 0.05$）；与 TGF-β1 组相比，TGF-β1+AST 20 μg/ml 组、TGF-β1+AST 40 μg/ml 组细胞活力增强（均 $P < 0.05$），见图 1。

2.2 各组 HK-2 细胞纤维化比较 与 Control 组相比，TGF-β1 组纤维化因子α-SMA、FN 的 mRNA 及蛋白水平显著增高（均 $P < 0.05$）；与 TGF-β1 组相比，TGF-β1+AST 20 μg/ml 组、TGF-β1+AST 40 μg/ml 组α-SMA、FN 的 mRNA 及蛋白水平显著降低（均 $P < 0.05$），见图 2。

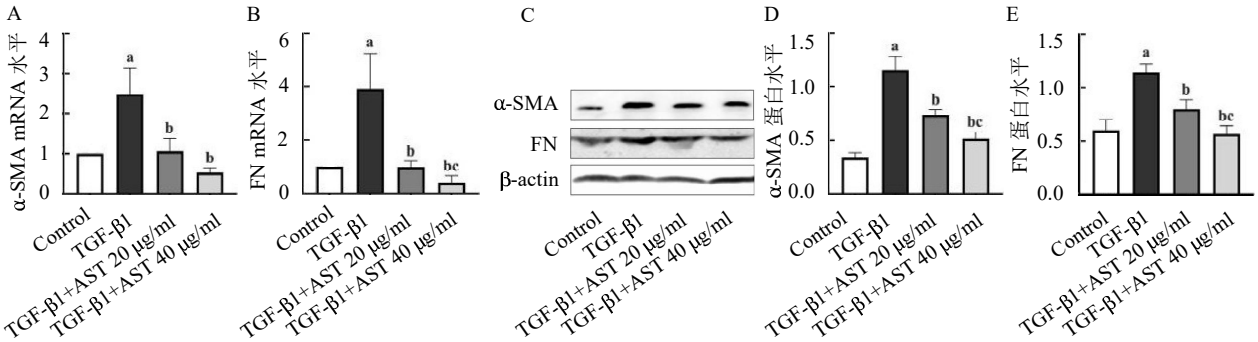
2.3 各组 HK-2 细胞线粒体膜电位比较 与 Control 组相比，TGF-β1 组线粒体膜电位显著降低（$P < 0.05$）；与 TGF-β1 组相比，TGF-β1+ AST 20 μg/ml 组、TGF-β1+AST 40 μg/ml 组线粒体膜电位显著升高（均 $P < 0.05$）；与 TGF-β1+AST 20 μg/ml 组相比，TGF-β1+AST 40 μg/ml 线粒体膜电位显著升高（$P < 0.05$），见图 3。

2.4 各组 HK-2 细胞自噬相关蛋白比较 与 Control 组相比，TGF-β1 组 LC3-II/I、parkin、PINK1 蛋白水平显著升高（$P < 0.05$），而 P62 蛋白水平显著降低（$P < 0.05$）；与 TGF-β1 组相比，TGF-β1+AST 20 μg/ml 组、TGF-β1+AST 40 μg/ml 组 LC3-II/1、parkin、PINK1 蛋白水平显著降低（$P < 0.05$），而 P62 蛋白水平显著升高（$P < 0.05$）；与 TGF-β1+AST 20 μg/ml 组相比，TGF-β1+AST 40 μg/ml 组 P62 蛋白水平升高（$P < 0.05$），见封三图 1。



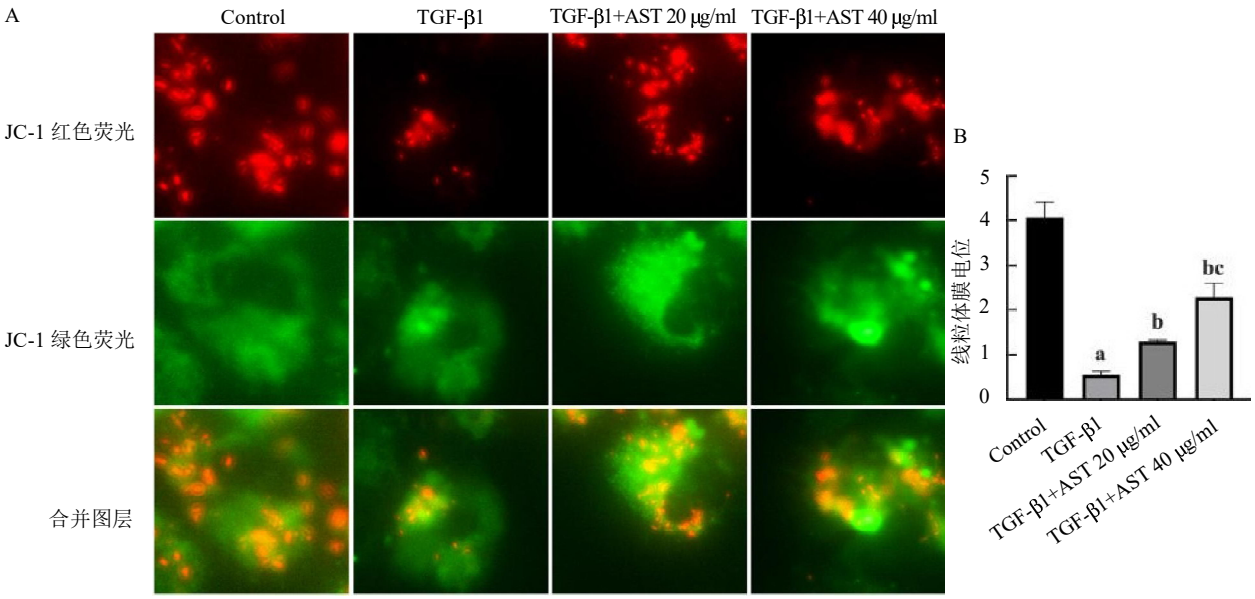

注：HK-2 为人肾小管上皮细胞，AST 为虾青素，TGF-β1 为转化生长因子-β1。与 Control 组相比，a$t$=7.08，$P < 0.05$；与 TGF-β1 组相比，b$t$=3.52、4.68，均 $P < 0.05$

**图 1** CCK-8 检测 HK-2 细胞的活力




注：A ～ B 为 RT-qPCR 检测各组 HK-2 细胞α-SMA、FN mRNA 表达水平，C ～ D 为 Western 印迹法检测各组 HK-2 细胞α-SMA、FN 蛋白表达水平。AST 为虾青素，TGF-β1 为转化生长因子-β1，HK-2 为人肾小管上皮细胞，α-SMA 为α平滑肌肌动蛋白，FN 为纤连蛋白。与 Control 组相比，a$t$≥3.38，均 $P < 0.05$；与 TGF-β1 组相比，b$t$≥3.52，均 $P < 0.05$；与 TGF-β1+AST 20 μg/ml 组相比，c$t$≥2.88，均 $P < 0.05$

**图 2** AST 对 TGF-β1 诱导的 HK-2 纤维化的影响




注：A 为免疫荧光检测 HK-2 细胞的线粒体膜电位水平，B 为线粒体膜电位水平的半定量分析。HK-2 为人肾小管上皮细胞，AST 为虾青素，TGF-β1 为转化生长因子-β1。与 Control 组相比，a$t$=16.68，$P$ ＜ 0.05；与 TGF-β1 组相比，b$t$=14.13、9.151，均 $P$ ＜ 0.05；与 TGF-β1+AST 20 μg/ml 组相比，c$t$=5.32，$P$ ＜ 0.05

**图 3**　免疫荧光检测 HK-2 的线粒体膜电位水平及其半定量分析

## 3　讨论

肾纤维化是 CKD 终末期阶段常见表现。TGF-β1 是参与肾纤维化的主要因子，其过表达会导致肾脏纤维化[16]。近年来，研究发现 AST 可以改善器官纤维化，是一种治疗纤维化非常有前景的天然物质[17]。本研究发现 TGF-β1 诱导的 HK-2 细胞活力下降，纤维化因子α-SMA 和 FN 的 mRNA 及蛋白水平显著升高，而在 20 及 40 μg/ml AST 干预后，HK-2 细胞活性增加，α-SMA 和 FN 的 mRNA 及蛋白水平显著降低。这表明 AST 可以改善 TGF-β1 诱导的 HK-2 细胞纤维化。

TGF-β1 长时间过度表达可以提高单磷酸腺苷活化蛋白激酶α的活性，然后通过泛素依赖型途径激活线粒体自噬[18]。线粒体自噬是细胞利用自我降解机制来清除受损或过多线粒体的过程，其对于维持整个线粒体网络功能完整性和细胞存活至关重要。适当的线粒体自噬可以保护细胞免受应激引起的死亡，但过度的自噬会增加细胞凋亡水平[19]。已知线粒体自噬的调控机制与 PINK1/parkin 通路有关[20]。PINK1 是一种存在于线粒体膜上的蛋白，可以感知线粒体受损，并被招募到受损的线粒体上激活下游的 E3 泛素连接酶 PRKN 和泛素酶。其形成的复合物有助于通过溶酶体清除受损的线粒体来确保线粒体质量控制和细胞内稳态的维持[21]。PINK1/parkin 通过阻止 LC3-II 的积累，从而抑制线粒体自噬。P62 也是预测线粒体自噬的一个重要标志，P62 水平下降表明线粒体自噬被激活[22-23]。已有研究发现，高糖培养会导致 HK-2 细胞的 PINKl、LC3-II 水平下降，P62 水平升高[24]。另一项研究发现，PINK1/parkin 介导的线粒体自噬途径参与了高脂加重对比剂所致 HK-2 细胞的损伤[25]。国外研究报道，AST 可以直接影响线粒体，维持线粒体的完整性[26]。因此，推测 AST 可能通过调控线粒体自噬改善 HK-2 细胞纤维化。本研究结果显示，在 20、40 μg/ml 的 AST 处理后，TGF-β1 诱导的 HK-2 细胞线粒体膜电位水平显著升高，并且随着 AST 浓度增加，线粒体膜电位表达水平更高。此外，AST 处理显著上调 TGF-β1 诱导的 HK-2 细胞中 P62 蛋白水平，下调 LC3-II/I、PINK1 和 parkin 蛋白水平。这表明 AST 可能通过抑制线粒体自噬来改善 TGF-β1 诱导的 HK-2 细胞纤维化。但本研究存在一定的局限性：首先，本研究只在体外试验中初步验证，需结合体内试验及临床试验验证 AST 是否可以通过抑制线粒体自噬改善肾纤维化。其次，本研究未详细阐明 AST 的药物作用机制及不同 AST 浓度对线粒体自噬的影响。

综上所述，AST 可通过下调线粒体自噬减轻 TGF-β1 诱导的 HK-2 细胞的纤维化。这为 AST 在肾纤维化治疗领域的潜在应用提供了有价值的线索和证据。

**利益冲突** 所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明** 洪梦琪、陈争跃：实验操作、论文撰写；洪梦琪、陈争跃、赵宇：数据整理、统计学分析；李新科：研究指导；聂振禹：论文修改；洪梦琪、陈争跃、赵宇、聂振禹：经费支持

## 参 考 文 献

[1] AIRG-E, EKPF, ALCER, et al. CKD: The burden of disease invisible to research funders[J]. Nefrologia, 2022, 42(1): 65-84.

[2] FISCHER F, HAMANN A, OSIEWACZ H D. Mitochondrial quality control: An integrated network of pathways[J]. Trends Biochem Sci, 2012, 37(7): 284-292.

[3] CIVELEK M, MEHRKENS J F, CARSTENS N M, et al. Inhibition of mitophagy decreases survival of Caenorhabditis elegans by increasing protein aggregation[J]. Mol Cell Biochem, 2019, 452 (1/2): 123-131.

[4] SUN D, LI H M, DU Y K, et al. Metformin modulates mitochondrial autophagy in renal tubular epithelial injury induced by high glucose via the Keap1/Nrf2 pathway[J]. Mol Cell Biochem, 2024, 479(9): 2483-2496.

[5] ZHAO C Y, CHEN Z Y, QI J, et al. Drp1-dependent mitophagy protects against cisplatin-induced apoptosis of renal tubular epithelial cells by improving mitochondrial function[J]. Oncotarget, 2017, 8 (13): 20988-21000.

[6] XIAO L, XU X X, ZHANG F, et al. The mitochondria-targeted antioxidant MitoQ ameliorated tubular injury mediated by mitophagy in diabetic kidney disease via Nrf2/PINK1[J]. Redox Biol, 2017, 11: 297-311.

[7] TANG C Y, CAI J, YIN X M, et al. Mitochondrial quality control in kidney injury and repair[J]. Nat Rev Nephrol, 2021, 17(5): 299-318.

[8] HIGUERA-CIAPARA I, FELIX-VALENZUELA L, GOYCOOLEA F M. Astaxanthin: A review of its chemistry and applications[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2006, 46(2): 185-196.

[9] TRIPATHI D N, JENA G B. Astaxanthin intervention ameliorates cyclophosphamide-induced oxidative stress, DNA damage and early hepatocarcinogenesis in rat: Role of Nrf2, p53, p38 and phase-II enzymes[J]. Mutat Res Toxicol Environ Mutagen, 2010, 696(1): 69-80.

[10] RAO A R, SARADA R, BASKARAN V, et al. Antioxidant activity of Botryococcus braunii extract elucidated in vitro models[J]. J Agri c Food Chem, 2006, 54(13): 4593-4599.

[11] CHAN K C, PEN P J, YIN M C. Anticoagulatory and antiinflammatory effects of astaxanthin in diabetic rats[J]. J Food Sci, 2012, 77(2): H76-H80.

[12] AUGUSTI P R, CONTERATO G M, SOMACAL S, et al. Effect of astaxanthin on kidney function impairment and oxidative stress induced by mercuric chloride in rats[J]. Food Chem Toxicol, 2008, 46(1): 212-219.

[13] CHEN H B, WANG J, LI R R, et al. Astaxanthin attenuates pulmonary fibrosis through lncITPF and mitochondria-mediated signal pathways[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(17): 10245-10250.

[14] SHEN M, CHEN K, LU J, et al. Protective effect of astaxanthin on liver fibrosis through modulation of TGF-β1 expression and autophagy[J]. Mediators Inflamm, 2014, 2014: 954502.

[15] 曹健,董钦鹏,曾炼,等.褪黑素调控自噬及铁死亡增强胰腺癌细胞 PANC-1 对吉西他滨的化疗敏感性[J].医药导报,2024,43(4): 502-510.

[16] 王欣茹,郭兆安.线粒体自噬对肾小管间质纤维化的影响[J].中国中西医结合肾病杂志,2024,25(2):156-158.

[17] HONG M Q, NIE Z Y, CHEN Z Y, et al. Astaxanthin attenuates diabetic kidney injury through upregulation of autophagy in podocytes and pathological crosstalk with mesangial cells[J]. Ren Fail, 2024, 46(2): 2378999.

[18] 朴艺花. TGF-β1-TAK1-AMPKα激活 PINK1-Parkin 通路介导线粒体自噬调控气道平滑肌细胞增殖及对哮喘气道重构的影响[D].延吉:延边大学,2021.

[19] BIAN C C, YUAN X T, ZENG C H, et al. Docosahexaenoic acid (DHA) inhibits abdominal fat accumulation by promoting adipocyte apoptosis through PPARγ-LC3-BNIP3 pathway-mediated mitophagy[J]. Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids, 2024, 1869(1): 159425.

[20] YOBOUE E D, VALENTE E M. PINK1 and Parkin: The odd couple[J]. Neurosci Res, 2020, 159: 25-33.

[21] HAN R, LIU Y T, LI S H, et al. PINK1-PRKN mediated mitophagy: Differences between in vitro and in vivo models[J]. Autophagy, 2023, 19(5): 1396-1405.

[22] GAO H B, XIAN G P, ZHONG G H, et al. Alleviation of doxorubicin-induced cardiomyocyte death through miR-147-y-mediated mitophagy[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2022, 609: 176-182.

[23] EIYAMA A, OKAMOTO K. PINK1/Parkin-mediated mitophagy in mammalian cells[J]. Curr Opin Cell Biol, 2015, 33: 95-101.

[24] 刘蕾.TIPE1 通过抑制 PHB2 介导的线粒体自噬调控糖尿病肾病进展的作用及机制研究[D].济南:山东大学,2022.

[25] 杨雪雁. 线粒体自噬在氧化低密度脂蛋白加重对比剂所致肾小管上皮细胞损伤中的作用[D].济南:天津医科大学,2020.

[26] NISHIDA Y, NAWAZ A, HECHT K, et al. Astaxanthin as a novel mitochondrial regulator: A new aspect of carotenoids, beyond antioxidants[J]. Nutrients, 2021, 14(1): 107.

**收稿日期：2024-07-16**

**（本文编辑：孙海儿）**