

DOI:10.13350/j.cjpb.230211

• 论著 •

基于 GEO 数据库尘螨过敏发病机制的研究*

陈明明¹, 张紫涵¹, 黄海溶¹, 龙文芳¹, 曹文婷¹, 杜冠魁², 张荣光^{1**}

(1. 海南医学院公共卫生与全健康国际学院和第一附属医院, 海南海口 571000; 2. 海南医学院基础医学与生命科学学院)

【摘要】 **目的** 通过对尘螨过敏人群呼吸道上皮细胞基因芯片的生物信息学分析, 获得尘螨过敏的生物标志物。 **方法** 从美国国立生物技术信息中心(NCBI)公共基因表达数据平台(GEO)下载 GSE9150 mRNA 基因芯片数据集, 对呼吸道上皮细胞样本进行分析。样本来源包括过敏人群上皮细胞 10 例(5 例暴露于尘螨, 5 例暴露于生理盐水)和健康人群上皮细胞 10 例(5 例暴露于尘螨, 5 例暴露于生理盐水)。采用 R 语言“limma”函数包筛选差异表达基因(DEGs), 设定阈值 logFC 绝对值 ≥ 1 且 $P < 0.05$ 。用 DAVID 数据库对靶基因进行基因本体(GO)功能分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)信号通路分析, 及应用 STRING 数据库构建蛋白质相互作用网络, 再以 Cytoscape 对模块中的基因共表达关系进行可视化并筛选关键基因。 **结果** 暴露于尘螨的健康组和过敏组共筛选出 1 247 个 DEGs, GO 分析显示 DEGs 生物学功能主要涉及炎症细胞活化、细胞交流和糖基化等。KEGG 信号通路分析表明: NOD 样受体信号通路、Toll 样受体信号通路、TGF- β 信号通路、IL-17 信号通路、Th1 和 Th2 细胞分化有关。基于蛋白质相互作用网络筛选出 10 个关键基因 RSAD2/ISG15/IFIT1/OASL/MX1/IFIT3/OAS3/IFIH1/IFI44/DDX58。 **结论** 通过生物信息学筛选发现了有关尘螨过敏患者与健康人群之间的 DEGs, 并通过 PPI 网络获得 10 个 hub 基因, 为尘螨过敏机制与防治研究提供了新思路。

【关键词】 尘螨; 过敏; 基因表达; 蛋白质相互作用网络; 生物信息学

【中图分类号】 R384.4

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2023)02-0180-05

[*Journal of Pathogen Biology*. 2023 Feb;18(2):180-184.]

A study on pathogenesis of house dust mite allergy based on GEO database

CHEN Ming-ming¹, ZHANG Zi-han¹, HUANG Hai-rong¹, LONG Wen-fang¹, CAO Wen-ting¹, DU Guan-kui², ZHANG Rong-guang¹ (1. *The First Affiliated Hospital and International School of Public Health and One Health, Hainan Medical University, HaiKou 571000*; 2. *School of Basic Medicine and Life Sciences*)^{**}

【Abstract】 **Objective** To obtain biomarkers of dust mite allergy by performing bioinformatics analysis on gene chips of respiratory epithelial cells in dust mites allergic population. **Methods** The GSE9150 mRNA gene microarray database was downloaded from the National Center for Biotechnology Information (NCBI) 's Gene Expression Database (GEO) to analysis respiratory epithelial cell samples. The sample sources included 10 epithelial cells from the allergic population(5 exposed to dust mites and 5 exposed to saline) and 10 epithelial cells from healthy people(5 exposed to dust mites and 5 exposed to saline). Differentially expressed genes (DEGs) were screened using the R “limma” function package, and the threshold of logFC absolute value was set at ≥ 1 and $P < 0.05$. The target genes were perform gene ontology(GO) function analysis and kyoto encyclopedia of genes and genomes(KEGG) signaling pathways by DAVID database, and then the STRING database was used to construct protein interaction networks. Finally, Cytoscape visualized the gene co-expression relationships in the module and screen key genes. **Results** A total of 1247 DEGs were screened in the healthy and allergic groups exposed to dust mites. GO analysis revealed that the biological functions of DEGs were mainly involved in inflammatory cell activation, cellular communication, and glycosylation. Among the KEGG signaling pathways indicated the NOD-like receptor signaling pathway, TGF- β signaling pathway, IL-17 signaling pathway, Th1 and Th2 cell differentiation. Ten key genes were screened based on protein interaction network: RSAD2/ISG15/IFIT1/OASL/MX1/IFIT3/OAS3/IFIH1/IFI44/ DDX58. **Conclusion** The bioinformatics screening identified DEGs about dust mite allergy between patients and healthy population, and 10 hub genes were obtained through the PPI network, thus providing new insight for dust-mite allergy mechanism and prevention research.

【Key words】 House dust mite; allergy; gene expression; protein interaction network; bioinformatics

* **【基金项目】** 国家自然科学基金项目(No. 82160634); 海南省自然科学基金创新科研团队项目(No. 820CXTD438)。

** **【通讯作者】** 张荣光, E-mail: zrg@zzu.edu.cn

【作者简介】 陈明明(1998-), 女, 浙江瑞安人, 硕士研究生, 主要从事分子流行病学研究。E-mail: 914453501@qq.com

尘螨(House Dust Mites, HDM)是环境中普遍存在的重要过敏原之一,主要附着在室内灰尘和床单、床垫、衣物等物品,以人类或动物脱落的皮屑为食,可诱发过敏性皮炎、过敏性哮喘和过敏性鼻炎等变态反应性疾病^[1-2]。据报道,近85%的过敏性疾病患者对HDM过敏^[3]。Beutner等^[4]报道吸入尘螨的致敏率在近20年显著增加,已从37.8%升至50.1%。彭晓林等^[5]报道天津地区屋尘螨致过敏性鼻炎发病率为55.4%。同时,由于虾与屋尘螨具有共同抗原表位,二者导致的过敏常发生于同一患者^[6]。HDM过敏源可在人类的肠道中发现,能诱发局部炎症和增加肠道上皮通透性,从而加剧消化道对食物的过敏^[7]。因此,探讨尘螨过敏潜在发病机制对过敏性疾病的防治具有重要意义。

本研究应用生物信息学方法分析尘螨过敏病例和健康正常人群的呼吸道上皮细胞样本中基因表达谱的差异性,旨在探讨尘螨对过敏人群上皮细胞基因表达的影响以及可能的作用机制,为该病防治提供线索。

材料与方法

1 数据来源

以 GPL570 [HG-U133_Plus_2] Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array 为平台,从 GEO 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 下载来源于包含尘螨过敏人群和健康人群的呼吸道上皮细胞的基因芯片数据集 GSE9150。本数据集由阿姆斯特丹大学学术医学中心实验室测序并上传至 GEO 数据库的公共芯片。GSE9150 芯片数据集包括:过敏人群上皮细胞 10 例(5 例暴露于尘螨,5 例暴露于生理盐水)和健康人群上皮细胞 10 例(5 例暴露于尘螨,5 例暴露于生理盐水)。

2 差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs) 筛选

应用 R 语言对芯片 GSE9150 进行分析,读取下载矩阵文件,通过 PCA 图查看样本分组间聚类情况。应用 limma 软件包对尘螨过敏组和健康组进行差异分析,从而获取 DEGs。筛选标准为 \log_2 基因表达差异倍数 (fold change, FC) 绝对值 ≥ 1 , $P < 0.05$ 。用 “ggplot2” R 语言软件包绘制火山图。

3 DEGs 的基因本体论 (gene ontology, GO)、京都基因和基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 分析

应用在线数据库 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>) 提供分析所需的 GO 功能富集数据,分别按照生物途径 (biological process, BP)、细胞定位 (cellular component, GC)、分子功能 (molecular function, MF)

对基因进行注释和分类;采用 KEGG 分析,探索可能涉及的生物学通路。GO 和 KEGG 筛选条件为 $P < 0.05$ 。根据分析结果,应用 “ggplot2” R 语言包绘制气泡图。

4 DEGs 的蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络构建和关键基因筛选

应用在线分析工具 STRING (<https://string-db.org/>) 呈现和评估 PPI 网络^[8]。将本研究筛选出的差异表达基因导入 STRING,利用 STRING 分析工具,分析这些 DEGs 之间的潜在联系。筛选条件设置:置信度 ≥ 0.15 , 互作最大值 = 0。将 STRING 的计算结果导入 Cytoscape (版本 3.7.2)^[9],应用分子复合物聚类算法 (molecule complex detection, MCODE) 插件进行聚类分析,挖掘 PPI 网络中连接最为紧密的簇,以默认参数为筛选参数。此外,应用 cytoHubba 插件筛选出 PPI 网络中处于关键位置的前 10 个基因。

结果

1 尘螨过敏相关差异表达基因的筛选

经纳入条件的筛选,本研究纳入来源于芯片数据集 GSE9150 的尘螨过敏人群 5 例(病例年龄 19~55 岁,经过敏皮肤过敏原测试,仅为尘螨过敏的患者且在 4 周前未接受抗过敏治疗)和正常人群 5 例(病例年龄 21~33 岁,且无吸烟史)。对该芯片数据进行 PCA 主成分分析,并用散点图展示。散点图中每一个点代表一个样本。PCA 聚类图中两组样本散点分开,表明组间差异显著(图 1)。基于前述筛选条件,共筛选出 1247 个差异基因,在火山图中将差异表达基因用不同颜色显示(图 2)。图 3 所示热图代表上调差异基因最大的 20 个基因和下调差异最大的 20 个基因 (group1 健康组, group2 过敏组)。

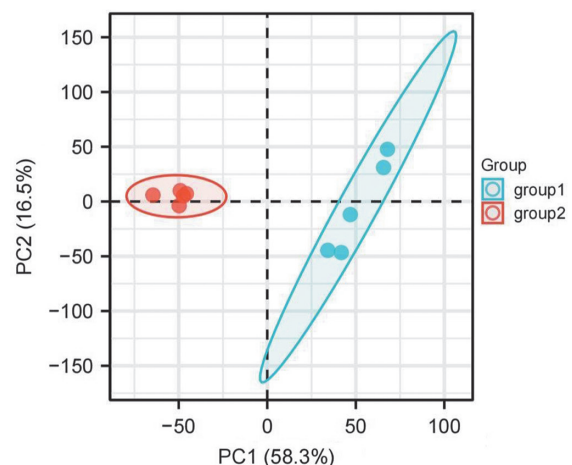


图 1 芯片数据集 GSE9150 的 PCA 分析
Fig. 1 PCA analysis plot of GSE9150 gene chip, Red and blue spots represent samples from Normal group and HDM allergy group

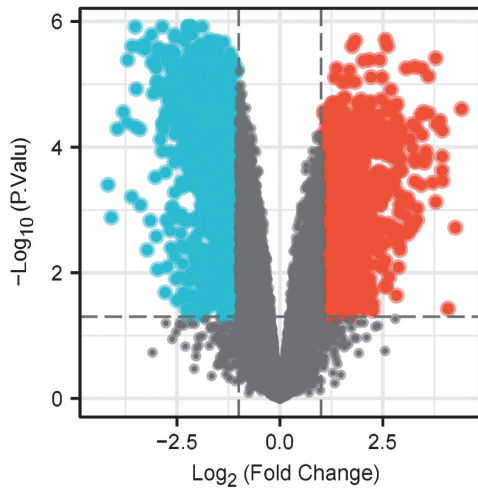


图 2 差异表达基因火山图
Fig. 2 Volcano map of DEGs

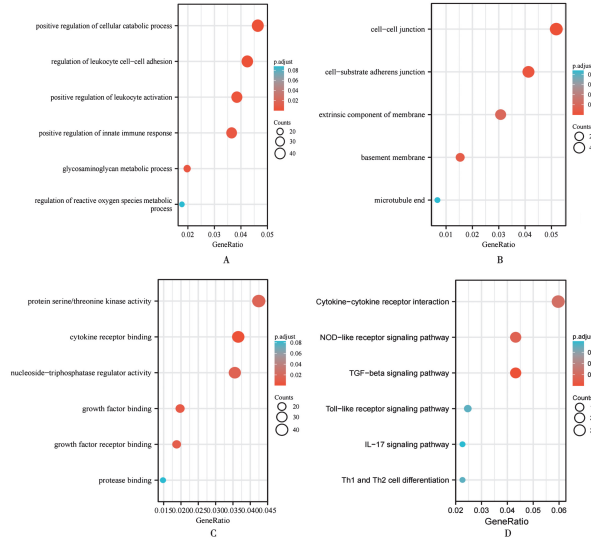


图 4 生物过程(A)、细胞组分(B)、分子功能(C)的富集信息
以及相关细胞通路分析(D)

Fig. 4 Functional and signaling pathway analysis, including biological process(A), cellular component(B), molecular function(C) and KEGG pathway(D)

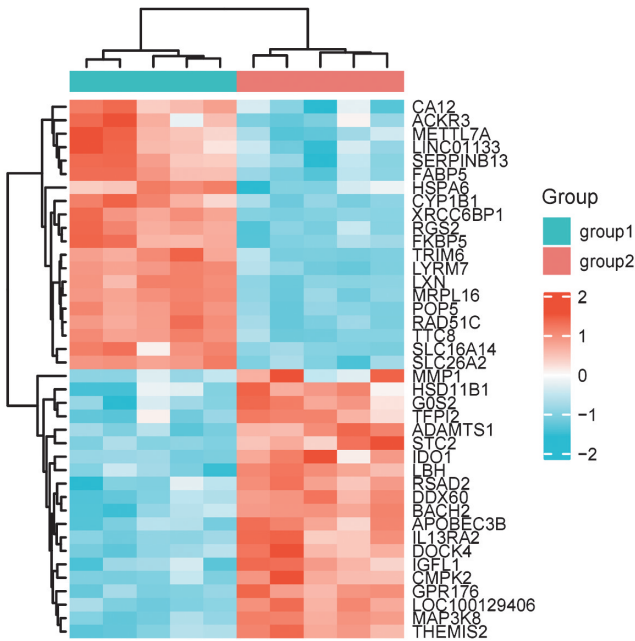


图 3 热图
Fig. 3 Heatmap of GSE9150 gene chip

2 差异基因的 GO 分析和 KEGG 通路分析

应用 DAVID 在线数据库,对筛选得到的所有 DEGs 进行 GO 和 KEGG 信号通路富集分析。结果发现,根据差异基因得到的“生物过程”主要涉及炎症细胞活化、细胞交流和糖基化等(图 4A);在“细胞组分”分析方面,差异基因表达产物主要分布于细胞外基质、细胞膜和细胞核区域(图 4B);在“分子功能”方面,差异基因主要与生长因子及其受体、细胞因子、丝氨酸和苏氨酸激酶有关(图 4C)。KEGG 信号通路分析显示(图 4D),差异基因富集于 NOD 样受体信号通路、Toll 样受体信号通路、TGF- β 信号通路、IL-17 信号通路、Th1 和 Th2 细胞分化等生物过程,而这些过程与过敏反应关系密切,可能参与该病的发病机制。

3 PPI 网络和 Hub 基因

利用 STRING 数据库构建 PPI 网络,并将结果数据导入 Cytoscape 软件,对蛋白互作网络进行可视化分析与筛选。利用 MCODE 插件分析,以默认参数 Node Score Cutoff 为 0.2、K-core 为 2、Max. Depth 为 100 进行聚类分析,得分最高的 1 组集簇含 29 个节点,得分 24(图 5)。采用 CytoHubba 插件共得到 10 个 Hub 基因:RSAD2、ISG15、IFIT1、OASL、MX1、IFIT3、OAS3、IFIH1、IFI44、DDX58(图 6)。

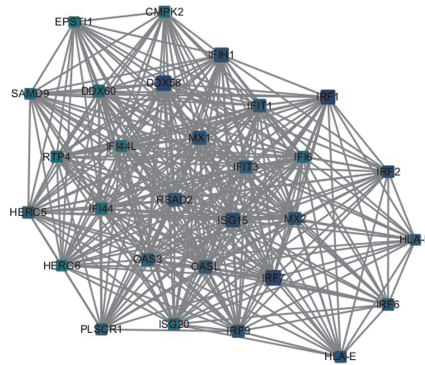


图 5 MCODE 插件分析得分高的集簇
Fig. 5 The cluster module is obtained by MCODE

讨论

尘螨变应原通过 IgE 介导过敏性疾病的发生。呼吸道上皮是人体抵抗环境中过敏原、病毒等危害的第一道防线。在蠕虫感染中,上皮细胞通过模式识别受体结合相关配体并活化,分泌 IL-25、IL-33 促进 Th2 型细胞因子 IL-4、IL-5 和 IL-13 产生,造成机体 Th1/Th2 失衡,并偏向 Th2 型反应^[10]。Th2 型细

胞因子分泌增加将启动过敏反应机制,包括嗜酸性炎症、免疫球蛋白 IgG 转变为 IgE、刺激 B 细胞增殖分化、杯状细胞化生和以及粘液分泌增加^[11]。

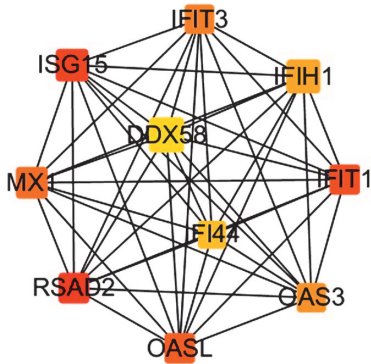


图 6 应用 cytoHubba 插件筛选 PPI 网络中 10 个处于关键位置的基因
Fig. 6 The top 10 hub genes in the PPI network selected by cytoHubba

本研究对暴露于尘螨的过敏人群和健康人群的上皮细胞样本基因表达谱进行分析。通过 KEGG 分析发现差异表达基因主要与 NOD 样受体信号通路、Toll 样受体信号通路、TGF- β 信号通路、IL-17 信号通路、Th1 和 Th2 细胞分化有关。早期研究表明,NOD 样受体在 HDM 诱导的过敏性气道炎症病变中不可或缺,该受体信号通路表达增加可诱导气道中 Th2 细胞因子水平升高,免疫细胞浸润增强,尤其是嗜酸性粒细胞增多,以促进 Th2 型过敏哮喘发生发展^[12]。Toll 样受体在气道上皮细胞上表达,其通过结合 HDM 脂多糖(LPS)促进 IL-1 α 的释放,IL-1 α 以自分泌方式靶向作用于上皮细胞,促进 GM-CSF 和 IL-33 释放,从而招募树突状细胞以促使 Th0 向 Th2 方向极化,诱导 B 细胞产生大量抗尘螨过敏原的 IgE 抗体。IgE 抗体与 Fc 受体结合,激活效应细胞,并将其募集到炎症部位,导致机体致敏和过敏反应^[13-14]。上皮细胞在应激或损伤时 TGF- β 表达增多^[15]。Th1 和 Th2 细胞分化在过敏的发病机制中的作用较为明确,常用作过敏性疾病的治疗靶标^[16]。通过 IL-17 信号通路,Th17 细胞分泌的 IL-17 以活化上皮细胞分泌大量 G-CSF 和 GM-CSF,促进中性粒细胞的聚集与增殖,从而加剧过敏症状^[17]。

通过构建 PPI 网络获得了 10 个 Hub 基因:RSAD2、ISG15、IFIT1、OASL、MX1、IFIT3、OAS3、IFIH1、IFI44、DDX58。I 型干扰素相关(Interferon- α/β) 诱导基因是 ISG15、IFIT1、MX1、IFIT3 和 IFI44。研究发现 I 型干扰素可诱导 Treg 细胞的增殖^[18],分泌 IL-10、IFN- γ 、TGF- β 、IL-5 等细胞因子,从而使免疫反应趋向 Th1 型分化^[19-20]。儿童过敏性疾病研究发现,哮喘患儿 IFN- α 、IFN- β 、IFN- λ 1 和 IFN-

λ 2/3 表达水平显著下降且相应诱导基因下调^[21-22]。Kirstin 等^[23]报道,相对于哮喘患者,健康人群 MX1、IFI44 基因表达显著增加。然而,关于 I 型干扰素抑制过敏反应的机制仍存在争议^[24-25]。DDX58 隶属于经典 ATP 依赖性解旋酶家族^[26],主要发挥对 RNA 加工修饰和代谢相关调控作用。DDX58 可强化 IFN- γ 效应信号通路 JAK1-STAT1 的磷酸化活化,以增加 IFN- γ 的表达^[27]。因此,细胞因子的变化影响 Th1 与 Th2 细胞比势,导致免疫失衡^[28]。研究发现 1 型糖尿病患者过敏性疾病患病率较低,因 IFIH1 基因包含许多单核苷酸多态性(SNP)^[29],而非同义单核苷酸(nsSNP)与 1 型糖尿病患者免疫性疾病发展的风险呈正相关^[30]。目前,关于 READ2、OASL、OAS3 在过敏性疾病中的作用尚不清楚,有待进一步的生物实验验证。

【参考文献】

- [1] Abu KA, Kim E, Joldrichsen M, et al. Insights into mucosal innate immune responses in house dust mite-mediated allergic asthma [J]. *Front Immunol*,2020(11):534501.
- [2] Calder n MA, Linneberg A, Kleine-Tebbe J, et al. Respiratory allergy caused by house dust mites: What do we really know? [J]. *J Allergy Clin Immunol*,2015,136(1):38-48.
- [3] Baba SM, Rasool R, Gull A, et al. Effectiveness of sublingual immunotherapy in the treatment of HDM-induced nasobronchial allergies: A 3-year randomized case-control study from Kashmir [J]. *Front Immunol*,2021(12):723814.
- [4] Beutner C, Werchan B, Forkel S, et al. Sensitization rates to common inhaled allergens in Germany - increase and change patterns over the last 20 years [J]. *J Dtsch Dermatol Ges*,2021,19(1):37-44.
- [5] 彭晓林,孙沛湧,时文杰,等. 天津地区变应性鼻炎患者中尘螨过敏特点分析[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*,2013,27(17):3-6.
- [6] Rosenfield L, Tsoulis MW, Milio K, et al. High rate of house dust mite sensitization in a shrimp allergic southern Ontario population [J]. *Allergy Asthma Clin*,2017,13(1):1-7.
- [7] Tulic MK, Nebot MV, Rekima A, et al. Presence of commensal house dust mite allergen in human gastrointestinal tract: a potential contributor to intestinal barrier dysfunction [J]. *Gut*,2016,65(5):757-66.
- [8] Szklarczyk D, Gable AL, Lyon D, et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets [J]. *Nucleic Acids Res*,2018,47(D1):D607-D613.
- [9] Shannon P. Cytoscape: A Software Environment for Integrated Models of Biomolecular Interaction Networks [J]. *Genome Res*,2003,13(11):2498-504.
- [10] Lin J, Chen D, Guan L, et al. House dust mite exposure enhances immune responses to ovalbumin-induced intestinal allergy [J]. *Sci Rep*,2022,12(1):5216.
- [11] Whetstone C, Ranjbar M, Omer H, et al. The role of airway

- epithelial cell alarmins in asthma [J]. *Cells*,2022,11(7):2-26.
- [12] Kool M, Willart MM, Van NM, et al. An unexpected role for uric acid as an inducer of T helper 2 cell immunity to inhaled antigens and inflammatory mediator of allergic asthma [J]. *Immunity*,2011,34(4):527-40.
- [13] Hammad H, Chieppa M, Perros F, et al. House dust mite allergen induces asthma via Toll-like receptor 4 triggering of airway structural cells [J]. *Nat Med*,2009,15(4):410-6.
- [14] Kim G, Hong M, Kashif A, et al. Der f 38 is a novel TLR4-binding allergen related to allergy pathogenesis from *Dermatophagoides farinae* [J]. *Int J Mol*,2021,22(16):110507
- [15] Janulaityte I, Januskevicius A, Kalinauskaitė-Zukauske V, et al. Asthmatic eosinophils promote contractility and migration of airway smooth muscle cells and pulmonary fibroblasts *in vitro* [J]. *Cells*,2021,10(6):1389.
- [16] Zhu X, Wang X, Wang Y, et al. Exosomal long non-coding RNA GAS5 suppresses Th1 differentiation and promotes Th2 differentiation via downregulating EZH2 and T-bet in allergic rhinitis - ScienceDirect [J]. *Mol Immunol*,2020,118(12):30-39.
- [17] Cho KA, Park M, Kim YH, et al. Th17 cell-mediated immune responses promote mast cell proliferation by triggering stem cell factor in keratinocytes [J]. *Biochem Bioph Res Co*,2017,487(4):856-61.
- [18] Levings MK, Sangregorio R, Galbiati F, et al. IFN- α and IL-10 induce the differentiation of human type 1 T regulatory cells [J]. *J Immunol*,2001,166(9):5530-39.
- [19] Rezende RM. Cellular components and mechanisms of oral tolerance induction [J]. *Crit Rev Immunol*,2018,38(3):207-31.
- [20] Sol P, Santamaria P. Re-programming autoreactive T cells into T-regulatory type 1 cells for the treatment of autoimmunity [J]. *Front Immunol*,2021,12(4):e684240.
- [21] Giovannini CL, Marcet B, Moreilhon C, et al. Distinct epithelial gene expression phenotypes in childhood respiratory allergy [J]. *Eur Respir*,2012,39(5):1197-205
- [22] Legaki E, Arsenis C, Taka S, et al. DNA methylation biomarkers in asthma and rhinitis: Are we there yet? [J]. *Clin Transl Allergy*,2022,12(3):e12131.
- [23] Kirstin J, Wirz OF, Willem V, et al. Loss of regulatory capacity in Treg cells following rhinovirus infection [J]. *J Allergy Clin Immun*,2021,148(4):1016-29.
- [24] Tanwar S, Oguz C, Metidji A, et al. Type I IFN signaling in T regulatory cells modulates chemokine production and myeloid derived suppressor cells trafficking during EAE [J]. *J Autoimmun*,2020,115:e102525.
- [25] Yoon, Seok, Roh, et al. Toll-like receptor-7 (TLR7) signaling promotes non-alcoholic steatohepatitis by inhibiting regulatory T cells in mice [J]. *AM J Pathol*,2018,188(11):2574-88.
- [26] 王沐. DDX解旋酶家族分子功能的研究进展 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志* 2020,27(10):1162-69.
- [27] Xu XX, Wan H, Nie L, et al. RIG-I: a multifunctional protein beyond a pattern recognition receptor [J]. *Protein Cell*,2017,9(2):8.
- [28] Li Y, Begovich AB. Unraveling the genetics of complex diseases; susceptibility genes for rheumatoid arthritis and psoriasis [J]. *Semin Immunol*,2009,21(6):318-27.
- [29] 常文川,许昱. 变应性鼻炎关键基因的生物信息学分析 [J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*,2020,55(5):7.
- [30] Nejentsev S, Walker N, Riches D, et al. Rare variants of IFIH1, a gene implicated in antiviral responses, protect against type 1 diabetes [J]. *Science*,2009,324(5925):387-89.

【收稿日期】 2022-09-08 【修回日期】 2022-11-26

(上接 179 页)

- [18] Donnelly S, Stack CM, O'Neill SM, et al. Helminth 2-Cys peroxiredoxin drives Th2 responses through a mechanism involving alternatively activated macrophages [J]. *FASEB J*,2008,22(11):4022-4032.
- [19] Jin QW, Zhang NZ, Li WH, et al. *Trichinella spiralis* thioredoxin peroxidase 2 regulates protective Th2 immune response in mice by directly inducing alternatively activated macrophages [J]. *Front Immunol*,2020(11):2015.
- [20] 李丽竹,罗波,周必英. 重要绦虫蛋白质组学研究进展 [J]. *中华地方病学杂志*,2021,40(8):684-688.
- [21] Shi T, Song E, Nie S, et al. Advances in targeted proteomics and applications to biomedical research [J]. *Proteomics*,2016,16(15-16):2160-2182.
- [22] Peterson AC, Russell JD, Bailey DJ, et al. Parallel reaction monitoring for high resolution and high mass accuracy quantitative, targeted proteomics [J]. *Mol Cell Proteomics*,2012,11(11):1475-1488.
- [23] Sobsey CA, Ibrahim S, Richard VR, et al. Targeted and untargeted proteomics approaches in biomarker development [J]. *Proteomics*,2020,20(9):e1900029.
- [24] 尹才. 猪带绦虫硫氧还蛋白过氧化物酶的原核表达及其生物学特性分析 [D]. 兰州:甘肃农业大学,2014.
- [25] 蔡瑞琨. 高免疫原性 T 细胞抗原表位预测方法的研究 [D]. 武汉:华中科技大学,2012.
- [26] Thomas P, Smart TG. HEK293 cell line: a vehicle for the expression of recombinant proteins [J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*,2005,51(3):187-200.
- [27] 李丽竹,周必英. 猪囊尾蚴排泄分泌抗原 LRRC15 蛋白真核表达及抗原表位预测 [J]. *中国血吸虫病防治杂志*,2022,34(3):286-291.

【收稿日期】 2022-10-11 【修回日期】 2022-12-26