·论著·

利多卡因调节RhoA/ROCK信号通路对缺血性脑卒中大鼠的神经保护作用

丁迪卿，李菁，彭生，杨路宗
上海中医药大学附属龙华医院麻醉科，上海 200032
通讯作者：李菁，E-mail：49732880@qq.com

【摘要】 **目的** 探讨利多卡因调节RhoA/ROCK信号通路对缺血性脑卒中（IS）大鼠神经保护作用。**方法** 通过线栓法建立模型IS大鼠，随机分为模型组、利多卡因低（利多卡因-L，5 mg/kg）、中（利多卡因-M，10 mg/kg）、高剂量（利多卡因-H，20 mg/kg）组以及利多卡因-H+溶血磷脂酸（LPA）（20 mg/kg利多卡因+50 μmoL/L LPA）组，以仅分离但不插尼龙线的大鼠为假手术组；干预结束后，对大鼠进行神经功能评分、脑梗死体积、脑含水量测定；分离脑组织，观察神经元变化、神经细胞凋亡以及RhoA、ROCK蛋白表达。**结果** 与假手术组相比，模型组大鼠Zea-Longa评分（3.28±0.33、0.14±0.02）、脑梗死体积（38.09±3.81、0.00±0.00）、含水量（84.11±2.39、62.95±0.65）、神经细胞凋亡率（39.51±3.96、5.14±0.52）、RhoA（1.16±0.12、0.24±0.03）、ROCK蛋白（2.15±0.22、0.77±0.08）表达增加（$P<0.05$）；与模型组相比，利多卡因组大鼠Zea-Longa评分（2.37±0.24、1.52±0.16、0.87±0.09）、脑梗死体积（27.42±2.76、16.64±1.68、8.22±0.83）、含水量（75.24±1.46、68.34±1.02、63.15±0.86）、神经细胞凋亡率（27.08±2.71、18.84±1.89、9.47±0.95）、RhoA（0.78±0.08、0.52±0.06、0.26±0.03）、ROCK蛋白（1.66±0.17、1.24±0.13、0.86±0.09）表达显著降低，组间差异有统计学意义（$P<0.05$）；LPA逆转了利多卡因-H对IS大鼠的保护作用。**结论** 利多卡因通过抑制RhoA/ROCK信号通路对IS大鼠发挥神经保护作用。

【关键词】 利多卡因； 缺血性脑卒中； Ras基因同源物A/Rho激酶； 神经保护； 动物模型
基金项目：上海市卫生健康委员会科研项目（202240159）
DOI:10.20021/j.cnki.1671-0770. 2024.05.06

Neuroprotective effect of lidocaine on ischemic stroke rats by regulating the RhoA/ROCK signaling pathway

DING Di-qing, LI Jing, PENG Sheng, YANG Lu-zong
Department of Anesthesiology, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China
Corresponding author, LI Jing, E-mail: 49732880@qq.com

【**Abstract**】 **Objective** To investigate the neuroprotective effect of lidocaine on ischemic stroke (IS) rats by regulating the RhoA/ROCK signaling pathway. **Methods** A model of IS rats was established by thread occlusion method and randomly separated into model group, lidocaine low (lidocaine-L, 5 mg/kg), medium (lidocaine-M, 10 mg/kg), high-dose (lidocaine-H, 20 mg/kg) groups, and lidocaine-H+Lysophosphatidic acid (LPA) (20 mg/kg lidocaine+50 μmoL/L LPA) group, rats that were separated but not inserted with nylon thread were in the sham operation group, after the intervention, the neurological function score, cerebral infarction volume, and brain water content of the rats were measured; brain tissue was isolated, and changes in neurons, neuronal apoptosis, and expression of RhoA and ROCK proteins were observed. **Results** Compared to the sham group, Zea-Longa score (3.28±0.33, 0.14±0.02), cerebral infarction volume (38.09±3.81, 0.00±0.00), water content (84.11±2.39, 62.95±0.65), apoptosis rate (39.51±3.96, 5.14±0.5) in model group 2), RhoA (1.16±0.12, 0.24±0.03), ROCK protein (2.15±0.22, 0.77±0.08) were increased ($P<0.05$); Compared to the model group, Zea-Longa score (2.37±0.24, 1.52±

中国知网 https://www.cnki.net

0.16, 0.87±0.09), cerebral infarction volume (27.42±2.76, 16.64±1.68, 8.22±0.83), water content (75.24±1.46, 68.34±1.02, 63.15) in lidocaine group ±0.86), neuronal apoptosis rate (27.08±2.71, 18.84±1.89, 9.47±0.95), RhoA (0.78±0.08, 0.52±0.06, 0.26±0.03), ROCK protein (1.66±0.17, 1.24±0.13, 0.86±0.09) The expression was significantly decreased and there were differences between groups (P<0.05); LPA reversed the protective effect of lidocaine-H on IS rats. **Conclusion** Lidocaine exerts neuroprotective effects on IS rats by inhibiting the RhoA/ROCK signaling pathway.

【**Key words**】 lidocaine; Ischemic stroke; RhoA/ROCK; Neuroprotection; Animal model

中风是一种在世界范围内具有高发病率和死亡率的脑血管疾病，缺血性脑卒中（Ischemic stroke，IS）主要由脑动脉闭塞引起的中风占中风的90%[1]。溶栓疗法和血栓切除术是目前缺血性卒中的主要治疗方法，然而治疗的有效性受到狭窄治疗窗的限制[2]。因此寻找更有效的中风治疗方案是临床的首要任务。缺血性中风可导致神经血管单元损伤、神经细胞死亡，从而导致严重的神经症状，因此神经保护是抗缺血性中风药物开发的热门方向[3-4]。利多卡因是一种钠通道阻滞剂，用作局部麻醉剂及抗心律失常药物，有研究显示利多卡因具有神经保护作用，但其潜在机制仍有待阐明[5]。Ras基因同源物A（Rashomologous A，RhoA）属于小GTP酶家族，广泛分布于细胞质中，当被激活时可从细胞质进入到细胞膜，RhoA控制大量下游效应器的活动，如Rho激酶（Rho kinase，ROCK），是缺血性中风后神经元死亡和轴突变性和再生的原因[6]，但利多卡因能否通过该机制影响缺血性中风后的神经保护作用尚未报道，因此本研究旨在探讨利多卡因IS大鼠神经保护作用的作用及相关机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 6周雄性Sprague-Dawley大鼠（体质量190~220 g）购自广东莱迪生物医药研究院有限公司（SCXK（粤）2022-0064），根据动物设施指南对动物进行护理，大鼠在标准条件下（12/12 h光照/黑暗循环，湿度、温度分别为65%±5%、22℃~25℃），所有大鼠自由获取食物和水，该研究已获得动物伦理和使用委员会的批准。

1.1.2 主要试剂 RhoA/ROCK信号通路激活剂-溶血磷脂酸（Lysophosphatidic acid，LPA）（中国南京博研生物）；利多卡因（宜昌永诺药业），尼氏染色液、二喹啉甲酸（Bicinchoninic acid，BCA）试剂盒（碧云天），氯化三苯基四氮唑溶液（2，3，5-triphenyl tetrazolium chloride，TTC）溶液（美国Thermo），TUNEL试剂盒（上海生工生物），RhoA、ROCK一抗（Abcam），等。

1.2 方法

1.2.1 IS大鼠模型的制备及干预 随机选取65只大鼠通过线栓法建立IS大鼠模型[7]：将麻醉大鼠于皮肤正中进行切口，分离左侧颈总动脉、颈内、外动脉，在结扎并切断大脑中动脉后，将标准尼龙缝合线插入左侧颈外动脉，并进一步进入颈内动脉，直到有轻度阻力的感觉，表明大脑中动脉的起点被堵塞，固定2 h后，抽出尼龙缝合线，缝合伤口。次日对造模大鼠进行Zea-Longa评分，评分满足1~3分标志着IS大鼠构建成功，及时补充足量的大鼠进行造模。将60只大鼠随机分为模型组、利多卡因低（利多卡因-L）、中（利多卡因-M）、高剂量（利多卡因-H）组以及利多卡因-H+LPA组，并以仅分离但不插尼龙线的12只大鼠为假手术组。假手术组、模型组分别腹腔注射生理盐水干预；利多卡因-L组、M组、H组分别腹腔注射5 mg/kg、10 mg/kg、20 mg/kg利多卡因进行干预[8]；利多卡因-H+LPA组在20 mg/kg利多卡因基础上，以50 μmoL/L LPA腹腔注射干预[9]，每组每天1次，连续2周。

1.2.2 神经功能评分 以Zea-Longa评分标准[10]进行评估各组大鼠神经功能。

1.2.3 脑梗死体积测定 随机选取4只大鼠，麻醉并对大鼠实施安乐死，取出大脑深度麻醉后，迅速取出大脑，并切成2 mm厚的切片。然后将切片置于24孔板中，然后在37℃下在含2% TTC溶液中孵育20 min，使用Image J软件测量脑梗死体积。

1.2.4 脑含水量测定 TTC染色后，将脑切片的梗塞侧分离，电子天平称取湿重，然后在100℃的烘

中国知网 https://www.cnki.net

箱中干燥，直到其重量在1 h内无变化，称取干重，脑含水量(%)=(湿重-干重)/湿重×100%。

1.2.5 尼氏、TUNEL染色观察神经元变化及神经细胞凋亡 麻醉剩余大鼠，经心灌注0.9%冷肝素化盐水，并用4%多聚甲醛固定部分脑组织，石蜡包埋，并以4 μm的厚度切片用于尼氏染色、TUNEL染色以观察神经元变化及细胞凋亡。

1.2.6 Western blot检测脑组织中RhoA、ROCK蛋白表达 使用BCA蛋白检测试剂测量蛋白浓度前，先进行组织提取总蛋白；在电泳转移到PVDF膜之前，使用12% SDS-PAGE凝胶分离蛋白样品，在室温下膜封闭2 h，然后在4℃下RhoA、ROCK一抗孵育过夜。次日，将膜在室温下与辣根过氧化物酶偶联的第二抗体孵育2 h，并用增强的ECL系统检测，图像分析系统扫描并定量分析蛋白表达。

1.3 统计学方法

实验数据采用SPSS 27.0软件分析。正态分布的计量资料结果以以均值±标准差（Mean±SD）表示，单因素方差分析用于多组间比较，以SNK-q检验进一步两两比较。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 利多卡因对各组大鼠Zea-Longa评分的影响

与假手术组相比，模型组大鼠Zea-Longa评分显著增加($P<0.05$)；与模型组相比，利多卡因-L组、M组、H组大鼠Zea-Longa评分显著降低，组间差异有统计学意义($P<0.05$)；与利多卡因-H组相比，利多卡因-H+LPA组大鼠Zea-Longa评分显著增加($P<0.05$，表1)。

表1 各组大鼠Zea-Longa评分的比较(分，Mean±SD)

组别	n	评分
假手术组	12	0.14±0.02
模型组	12	3.28±0.33*
利多卡因-L组	12	2.37±0.24$^{\#}$
利多卡因-M组	12	1.52±0.16$^{\#\triangle}$
利多卡因-H组	12	0.87±0.09$^{\#\triangle\blacktriangle}$
利多卡因-H+LPA组	12	2.11±0.22$^{\&}$
F值		362.426
P值		0.000

注：与假手术组比较，$^{*}P<0.05$；与模型组比较，$^{\#}P<0.05$；与利多卡因-L组比较，$^{\triangle}P<0.05$；与利多卡因-M组比较，$^{\blacktriangle}P<0.05$；与利多卡因-H组比较，$^{\&}P<0.05$

2.2 利多卡因对各组大鼠脑梗死体积和脑含水量的影响

与假手术组相比，模型组大鼠脑梗死体积、含水量显著增加($P<0.05$)；与模型组相比，利多卡因-L组、M组、H组大鼠脑梗死体积、含水量显著降低，组间差异有统计学意义($P<0.05$)；与利多卡因-H组相比，利多卡因-H+LPA组大鼠脑梗死体积、含水量显著增加($P<0.05$，表2)。

表2 各组大鼠脑梗死体积和含水量的比较(Mean±SD)

组别	n	脑梗死体积(mm^3)	脑含水量(%)
假手术组	4	0.00±0.00	62.95±0.65
模型组	4	38.09±3.81*	84.11±2.39*
利多卡因-L组	4	27.42±2.76$^{\#}$	75.24±1.46$^{\#}$
利多卡因-M组	4	16.64±1.68$^{\#\triangle}$	68.34±1.02$^{\#\triangle}$
利多卡因-H组	4	8.22±0.83$^{\#\triangle\blacktriangle}$	63.15±0.86$^{\#\triangle\blacktriangle}$
利多卡因-H+LPA组	4	26.85±2.69$^{\&}$	79.01±1.75$^{\&}$
F值		142.768	139.072
P值		0.000	0.000

注：与假手术组比较，$^{*}P<0.05$；与模型组比较，$^{\#}P<0.05$；与利多卡因-L组比较，$^{\triangle}P<0.05$；与利多卡因-M组比较，$^{\blacktriangle}P<0.05$；与利多卡因-H组比较，$^{\&}P<0.05$

2.3 利多卡因对各组大鼠海马神经元的影响

假手术组大鼠海马区神经元数量较多，排列有序且形态饱满；模型组神经元数量减少，结构萎缩；利多卡因-L组、M组、H组神经元结构及数量较模型组改善，但利多卡因-H+LPA组较较利多卡因-H组神经元结构异常、数量减少(图1)。

2.4 利多卡因对各组大鼠神经细胞凋亡变化的影响

与假手术组相比，模型组大鼠神经细胞凋亡率显著增加($P<0.05$)；与模型组相比，利多卡因-L组、M组、H组大鼠神经细胞凋亡率显著降低，组间差异有统计学意义($P<0.05$)；与利多卡因-H组相比，利多卡因-H+LPA组大鼠神经细胞凋亡率显著增加($P<0.05$，见图2、表3)。

2.5 利多卡因对各组大鼠RhoA、ROCK蛋白表达的影响

与假手术组相比，模型组大鼠RhoA、ROCK蛋白表达显著增加($P<0.05$)；与模型组相比，利多卡因-L组、M组、H组大鼠RhoA、ROCK蛋白表达显著降低，组间差异有统计学意义($P<0.05$)；与利多

中国知网 https://www.cnki.net

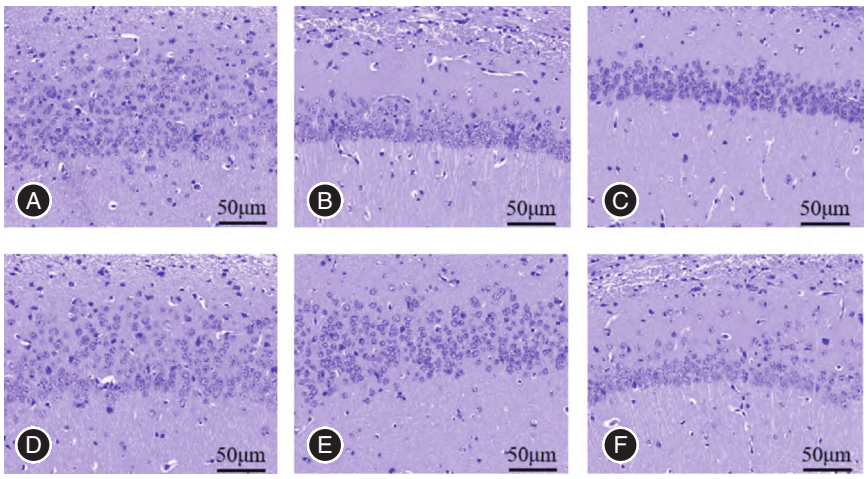

图 1　利多卡因对各组大鼠海马神经元的影响（尼氏染色，×200）　A. 假手术组；B. 模型组；C. 利多卡因-L 组；D. 利多卡因-M 组；E. 利多卡因-H 组；F. 利多卡因-H+LPA 组

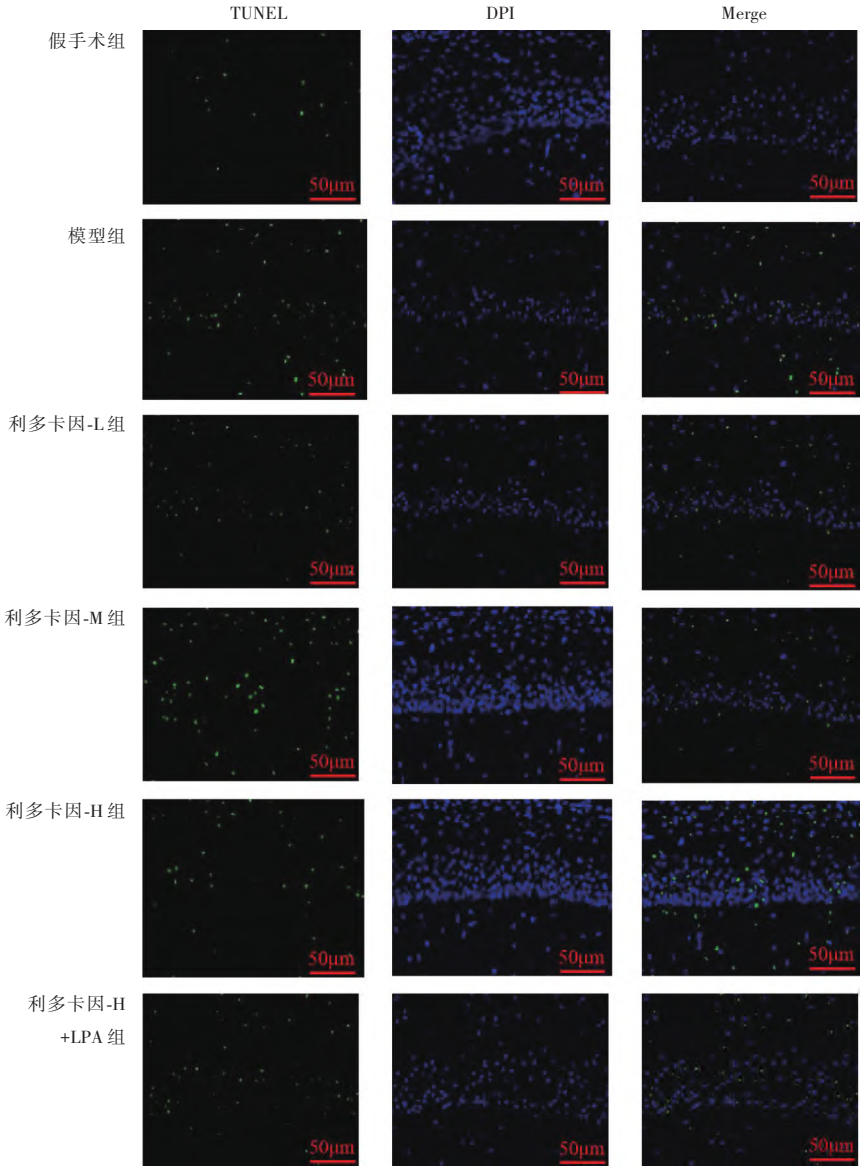

图 2　利多卡因对各组大鼠神经细胞凋亡的影响（TUNEL 染色，×200）

中国知网　https://www.cnki.net

表3 各组大鼠神经细胞凋亡率比较(%,Mean±SD)

组别	n	凋亡率
假手术组	8	5.14±0.52
模型组	8	39.51±3.96*
利多卡因-L组	8	27.08±2.71#
利多卡因-M组	8	18.84±1.89#△
利多卡因-H组	8	9.47±0.95#△▲
利多卡因-H+LPA组	8	26.24±2.65☆
F值		219.677
P值		0.000

注:*与假手术组比较,*P<0.05;#与模型组比较,#P<0.05;△与利多卡因-L组比较,△P<0.05;▲与利多卡因-M组比较,▲P<0.05;☆与利多卡因-H组比较,☆P<0.05

卡因-H组相比,利多卡因-H+LPA组大鼠RhoA、ROCK蛋白表达显著增加(P<0.05,图3)。

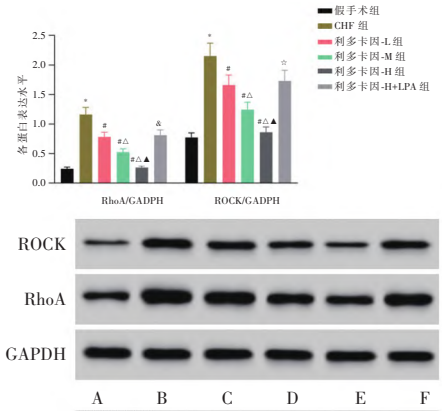

图3 利多卡因对各组大鼠RhoA、ROCK蛋白表达的影响(n=8) A.假手术组;B.模型组;C.利多卡因-L组;D.利多卡因-M组;E.利多卡因-H组;F.利多卡因-H+LPA组。*与假手术组比较,*P<0.05;#与模型组比较,#P<0.05;△与利多卡因-L组比较,△P<0.05;▲与利多卡因-M组比较,▲P<0.05;☆与利多卡因-H组比较,☆P<0.05

3 讨 论

中风包括脑血管阻塞引起的缺血性中风和脑血管破裂出血性中风,是一种导致严重神经功能缺损的急症,而缺血性中风每年有一千多万新发中风病例[11-12]。目前缺血性卒中最有效的治疗方法仍然是溶栓治疗,但只有少数患者在卒中发作后的4 h至6 h接受了有效的溶栓治疗[13]。因此寻找有效的治疗药物至关重要。

研究表明许多麻醉药物在脑缺血中风中发挥神经保护作用,如咪达唑仑、异氟烷等[14-15]。利多卡因是一种广泛使用的局部麻醉剂,对心肺疾病的患者的认知功能可进行有效改善[16]。此外,利多卡因在缺氧、局部缺血、术后认知功能障碍和神经内分泌疾病中也发挥保护作用[17]。Jiang等[18]研究发现利多卡因通过调节NF-κB p65和p38 MAPK信号通路对脑缺血再灌注损伤大鼠具有保护作用,为缺血再灌注损伤的治疗提供了候选药物。本研究通过动脉阻塞法建立IS大鼠模型,结果发现模型大鼠Zea-Longa评分显著提高,并伴随神经功能缺损症状如精神萎靡、行走向对侧歪倒或转圈,同时还发现大鼠脑梗死体积、脑含水量明显增加,与江海洋等[10]结果相吻合,进一步说明大鼠造模成功。研究结果模型大鼠神经细胞凋亡增加,神经元数量减少,结构萎缩,而先前研究表明细胞凋亡是脑缺血损伤机制中引发神经损伤的重要指标[19],提示IS大鼠伴随神经功能损伤。但经利多卡因干预后,大鼠Zea-Longa评分降低,神经元结构及数量得到改善,脑梗死体积、脑含水量、神经细胞凋亡率现在降低,表明利多卡因可减轻IS大鼠神经损伤。

RhoA/ROCK信号通路能够调节多种生物过程,如基因转录、周期进程、细胞间粘附、神经元存活与死亡等,异常的RhoA/ROCK信号传导被广泛认为与人类大量疾病如糖尿病性肾病、脑损伤等的发生有关[20]。研究显示,RhoA/ROCK通路在中风中起着至关重要的作用,上调其表达可促进神经炎症、神经元凋亡、星形胶质细胞增生与血脑屏障功能障碍,抑制其表达是一种有前途的治疗方法[21]。Zhao等[22]证明在脑缺血/再灌注损伤中,下调RhoA、ROCK蛋白表达可发挥显著神经保护作用。本研究结果显示模型组大鼠脑组织中RhoA、ROCK蛋白表达上调,提示RhoA/ROCK信号通路激活与IS的发生息息相关。但经利多卡因干预后,RhoA、ROCK蛋白表达被抑制,大鼠神经损伤得到改善,推测利多卡因通过抑制RhoA/ROCK信号通路实现IS大鼠的神经保护。为进一步验证实验结论,以RhoA激活剂-LPA进行干预,结果发现LPA逆转了利多卡因对IS大鼠的神经保护作用,表明利多卡因对IS大鼠的神经保护,与抑制RhoA/ROCK信号通路有关。

综上所述,利多卡因通过抑制RhoA/ROCK信号通路减轻IS大鼠脑梗死及脑含水量,抑制神经

中国知网 https://www.cnki.net

元凋亡，进而发挥神经保护作用，为IS治疗提供理论依据，但该机制是否涉及其他机制仍需探讨。

作者贡献声明 丁迪卿、李菁负责实验设计、实验实施、文章撰写；彭生、杨路宗负责实验实施、数据收集、统计学分析

利益冲突声明 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

[1] Feng SQ, Aa N, Geng JL, et al. Pharmacokinetic and metabolomic analyses of the neuroprotective effects of salvianolic acid A in a rat ischemic stroke model[J]. Acta Pharmacol Sin, 2017, 38(11):1435-1444.

[2] Pan Y, Jiao Q, Wei W, et al. Emerging role of LncRNAs in ischemic stroke-novel insights into the regulation of inflammation[J]. J Inflamm Res, 2021, 14(1):4467-4483.

[3] Liu Q, Jin Z, Xu Z, et al. Antioxidant effects of ginkgolides and bilobalide against cerebral ischemia injury by activating the Akt/Nrf2 pathway in vitro and in vivo[J]. Cell Stress Chaperones, 2019, 24(2):441-452.

[4] Zhang SS, Liu M, Liu DN, et al. Network pharmacology analysis and experimental validation of kaempferol in the treatment of ischemic stroke by inhibiting apoptosis and regulating neuroinflammation involving neutrophils[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(20):12694-12713.

[5] Tamam Y, Yokuş B, Tamam C, et al. The effect of lidocaine on the experimental model of streptozotocin-induced Alzheimer's disease[J]. Noro Psikiyatr Ars, 2023, 60(1):68-72.

[6] Chen Y, Wen J, Chen Z. H2S protects hippocampal neurons against hypoxia-reoxygenation injury by promoting RhoA phosphorylation at Ser188[J]. Cell Death Discov, 2021, 7(1):132-146.

[7] 周弟弥，甘露，陈琳，等. 醉茄素A对缺血性脑卒中大鼠的神经保护作用及其机制[J]. 吉林大学学报：医学版，2021，47(4):919-925.

[8] 陈亚，杜克信，杨磊，等. 利多卡因通过维持血-脑脊液屏障完整对脑缺血再灌注大鼠发挥神经保护作用[J]. 脑与神经疾病杂志，2022，30(8):514-520.

[9] 王静，李敏，何立明，等. 灯盏花乙素调节RhoA/ROCK信号通路对糖尿病肾病大鼠肾组织损伤的影响[J]. 河北医学，2023，29(5):721-726.

[10] 江海洋，陈浩，顾中华. 白藜芦醇保护缺血性脑卒中大鼠神经功能的作用机制研究[J]. 云南中医学院学报，2018，41(3):23-26.

[11] 黄健康，罗兵，舒永伟. 吴茱萸碱调节JAK2/STAT3/CyclinD1对缺血性脑卒中大鼠的神经保护作用[J]. 解剖学研究，2023，45(2):108-113.

[12] Liu M, Xu Z, Wang L, et al. Cottonseed oil alleviates ischemic stroke injury by inhibiting the inflammatory activation of microglia and astrocyte[J]. J Neuroinflammation, 2020, 17(1):270-284.

[13] Guo H, Zhu L, Tang P, et al. Carthamin yellow improves cerebral ischemiareperfusion injury by attenuating inflammation and ferroptosis in rats[J]. Int J Mol Med, 2021, 47(4):52-61.

[14] Yu W, Gao D, Jin W, et al. Propofol prevents oxidative stress by decreasing the ischemic accumulation of succinate in focal cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. Neurochem Res, 2018, 43(2):420-429.

[15] Yu H, Wang X, Kang F, et al. Neuroprotective effects of midazolam on focal cerebral ischemia in rats through anti-apoptotic mechanisms[J]. Int J Mol Med, 2019, 43(1):443-451.

[16] Zeng ZW, Zhang YN, Lin WX, et al. A meta-analysis of pharmacological neuroprotection in noncardiac surgery: focus on statins, lidocaine, ketamine, and magnesium sulfate[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(6):1798-1811.

[17] Lan X, Xu Y. Protective role of lidocaine against cerebral ischemia-reperfusion injury: An *in vitro* study[J]. Exp Ther Med, 2022, 23(1):42-49.

[18] Jiang R, Liao J, Yang MC, et al. Lidocaine mediates the progression of cerebral ischemia/reperfusion injury in rats via inhibiting the activation of NF-κB p65 and p38 MAPK[J]. Ann Transl Med, 2020, 8(8):548-559.

[19] 刘梦珂，郭潇潇，职玲云，等. CDDO-Im对缺血性脑卒中大鼠神经功能损伤修复的影响[J]. 中国病理生理杂志，2022，38(4):651-657.

[20] Xu J, Zhao S, Zhao L, et al. Carvedilol alleviates lipopolysaccharide (LPS)-induced acute lung injury by inhibiting Ras homolog family member A (RhoA)/ROCK activities[J]. Bioengineered, 2022, 13(2):4137-4145.

[21] Kimura T, Horikoshi Y, Kuriyagawa C, et al. Rho/ROCk pathway and noncoding RNAs: Implications in ischemic stroke and spinal cord injury[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(21):11573-11588.

[22] Zhao Y, Xu J. Sanggenon C ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting inflammation and oxidative stress through regulating RhoA-ROCK signaling[J]. Inflammation, 2020, 43(4):1476-1487.

（收稿日期：2023-10-24）

中国知网 https://www.cnki.net