

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.13.035

网络首发 <http://kns.cnki.net/KCMS/detail/50.1097.R.20190328.1339.009.html>(2019-03-29)

PKG II 阻断 EGF/EGFR 通路在骨肉瘤中的研究进展*

毛良浩 综述, 李大鹏[△], 江攀 审校
(江苏大学附属医院骨科, 江苏镇江 212001)

[摘要] cGMP 依赖性蛋白激酶 II (PKG II) 是具有特异性丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶活性的膜结合酶。它可以通过阻断表皮生长因子(EGF)/表皮生长因子受体(EGFR)通路抑制骨肉瘤细胞的增殖、迁移, 诱导凋亡, 抑制 EGFR 下游关键蛋白的表达, 阻断磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(AKT)/雷帕霉素靶蛋白(mTOR)、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)/细胞外信号调节蛋白激酶(ERK)通路, 抑制肿瘤血管的生成, 在骨肉瘤的发展中起着重要作用。因此, PKG II 是治疗骨肉瘤的潜在靶标。该文综述了 PKG II 阻断 EGF/EGFR 通路在骨肉瘤发病机制中的研究进展, 旨在为骨肉瘤的靶向联合治疗提供新的思路。

[关键词] 骨肉瘤; cGMP 依赖性蛋白激酶 II; 表皮生长因子; 细胞增殖

[中图分类号] R738.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2019)13-2301-04

Research development of PKG II blocking EGF/EGFR pathway in osteosarcoma*

MAO Lianghao, LI Dapeng[△], JIANG Pan
(Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of Jiangsu University,
Zhenjiang, Jiangsu 212001, China)

[Abstract] Cyclic guanosine monophosphate (cGMP)-dependent protein kinase II (PKG II) is a membrane-bound enzyme with specific serine/threonine protein kinase activity, which inhibits the proliferation and migration of osteosarcoma cells and induces apoptosis by blocking the epidermal growth factor /epidermal growth factor receptor (EGF/EGFR) pathway. It inhibits the expression of EGFR downstream key proteins, blocks the PI3K/AKT/mTOR and MAPK/ERK signaling pathways, hinders the formation of tumor blood vessels, and plays an important role in the development of osteosarcoma. Therefore, PKG II is a potential target for the treatment of osteosarcoma. This paper reviews the research progress of PKG II blocking EGF/EGFR pathway in the pathogenesis of osteosarcoma, and aims to provide new ideas for the targeted combination therapy of osteosarcoma.

[Key words] osteosarcoma; cyclic GMP-dependent protein kinase type II; epidermal growth factor; cell proliferation

骨肉瘤(osteosarcoma)是最常见的原发性恶性肿瘤, 好发于生长活跃的股骨远端和肱骨近端的干骺端^[1], 耐药、复发和高转移率是治疗骨肉瘤难点所在。自从 20 世纪 80 年代早期引入全身化疗方案以来, 骨肉瘤的预后改善基本停滞, 伴有远处转移尤其是肺转移的骨肉瘤患者 5 年生存率无法进一步提高^[2-3]。

研究发现, cGMP 依赖性蛋白激酶 II (cGMP dependent protein kinase, PKG II) 与多种肿瘤关系密切, 其可抑制神经胶质瘤、前列腺间质癌、乳腺癌、胃癌及人结直肠癌细胞的增殖和迁移, 促进肿瘤细胞凋亡^[4-8]。体外研究发现, 高表达 PKG II 能够明显抑制 MG-63 人骨肉瘤细胞增殖, 表现出抗肿瘤特性^[9]。因此, PKG II 有望成为骨肉瘤等恶性肿瘤治疗的潜在靶

点, 其中 PKG II 通过表皮生长因子(EGF)/表皮生长因子受体(EGFR)通路在骨肉瘤发生、发展中的研究逐渐成为焦点, 本文将综述 PKG II 阻断 EGF/EGFR 通路在骨肉瘤中的研究现状, 为 PKG II 靶向联合治疗骨肉瘤提供理论依据。

1 PKG II

1.1 结构及表达 PKG 属于丝氨酸/苏氨酸激酶家族, 已被发现将近 50 年, 然而其调控细胞生长和凋亡方面功能近些年才被人们揭示。PKG 拥有 3 种不同亚型, 包括 PKG I α 、PKG I β 和 PKG II, 广泛分布于哺乳动物细胞中, 其中 PKG II 是一种在真核细胞中发现的膜结合酶, 广泛分布于脑、肾、软骨和肠道中。研究发现, PKG II 在肿瘤中的表达水平明显低于正常组

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81601931); 江苏省青年医学重点人才项目(QNRC2016844); 江苏省镇江市重点研发社会发展项目(SH2018036)。 作者简介: 毛良浩(1994—), 在读硕士, 主要从事骨肉瘤的诊断和治疗研究。 [△] 通信作者, E-mail: lidapeng706@163.com。

织,表明 PKG II 可能是一种潜在的抗癌因子^[10]。

1.2 活化与功能 PKG II 的活化依赖于环磷酸鸟嘌呤核苷激活,进而才能够作用于特定的下游底物,发挥在肠道分泌、骨骼生长、肾素分泌、学习记忆等方面的作用。近来有研究表明,PKG II 激活剂 8-pCPT-cGMP 是通过高选择性地与 A 位点具有更大的 $\beta 5/\beta 6$ 口袋结构的 PKG II 结合进而发挥相应功能^[11]。此外,PKG II 可阻断 EGF/EGFR 通路,从而抑制其下游丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)/细胞外信号调节蛋白激酶(ERK)和磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B (AKT)介导的致癌作用。

2 EGFR

EGFR 是由原癌基因表达的跨膜糖蛋白。家族包括 EGFR、C-erbB-2 (HER-2)、C-erbB-3 (HER-3)、C-erbB-4 (HER-4),均位于细胞膜上。研究发现,EGFR 的过表达和突变与多种肿瘤的发生、发展关系密切,而 PKG II 对 EGFR 的活化表达具有抑制作用,发挥潜在抗癌作用^[12]。

EGFR 作为一种酪氨酸激酶,通过作用于下游相关信号通路,发挥调节细胞增殖迁移、侵袭和凋亡等功能^[13]。野生型的 EGFR 通过与配体表皮的生长因子、转化生长因子 α 等因子结合而被激活,诱导多种基因表达。EGFR 参与肿瘤细胞增殖、黏附、血管形成、转移等过程,在多种肿瘤如结肠癌、肺癌、乳腺癌、神经胶质瘤中高水平表达,目前已成为靶向抗肿瘤研究中最受关注的靶点之一。研究发现,骨肉瘤中 EGFR 的表达水平与其恶性程度有关,提示 EGFR 可能参与骨肉瘤的发病机制,可作为预后指标^[14]。

3 PKG II 阻断 EGF/EGFR 通路在骨肉瘤中的生物学作用

3.1 抑制骨肉瘤细胞的增殖、迁移 体内研究发现,骨肉瘤组织中 EGFR 阳性率与其生物学行为密切相关,提示 EGFR 可能具有刺激介导肿瘤形成和进展的关键特性,它在肿瘤增殖和迁移中起重要作用^[14]。其他研究发现 EGFR 及其配体参与激活 PI3K/AKT 通路及一种致癌转化关键分子雷帕霉素靶蛋白(mTOR),促进肿瘤细胞的生长和增殖,而增加 PKG II 表达水平,可间接抑制 EGFR,从而抑制骨肉瘤细胞的增殖^[15-16]。体外实验表明,EGFR 可以刺激 ERK、AKT 磷酸化,促进 MG-63 细胞的增殖和迁移。而经过 M8-pCPT-cGMP 刺激活化的 PKG II 能够明显抑制 EGFR 的活化和骨肉瘤细胞增殖、迁移及相关信号级联反应^[9]。以上研究表明,PKG II 阻断 EGF/EGFR 通路在抑制骨肉瘤细胞的增殖、迁移方面起重要作用。

3.2 诱导骨肉瘤细胞的凋亡 EGFR 可促进下游 MAPK/ERK 及 PI3K/AKT/mTOR 信号通路,刺激骨肉瘤细胞的增殖和分化,抑制凋亡^[15],而增加突变的 EGFR 或其配体,可以进一步促进 EGFR 自身的持

续活化并促进肿瘤细胞增殖、分化。PKG II 发挥作用有赖于 cGMP 或 cGMP 类似物的激活。近来,有研究已经证实了在真核细胞中存在环核苷酸 cCMP 和 cUMP,它们可以激活 PKG II,使其以环核苷酸依赖性方式磷酸化特定的下游信号蛋白抑制肿瘤细胞的增殖、分化,诱导肿瘤细胞的凋亡^[17-19]。另有研究发现,用 PKG II cDNA 感染的 MG-63 细胞,经过 8-pCPT-cGMP 活化后的 PKG II,能够明显逆转 EGFR 上述作用,从而诱导骨肉瘤细胞的凋亡^[9],这也进一步证明了 PKG II 可以通过阻断 EGFR 相关通路诱导骨肉瘤细胞的凋亡,有望发挥抗肿瘤作用。

3.3 抑制 EGF 诱导的 EGFR 相关蛋白及其下游信号通路 研究发现,用 PKG II 转染 MG-63 人骨肉瘤细胞可以降低 EGFR 的表达^[15],进而抑制 EGFR 下游的 PI3K/AKT 和 ERK 途径的激活^[20]。KOUS-TAS 等^[21]发现 PI3K/AKT/mTOR 途径是 EGFR 的下游,其活化可促进肿瘤细胞生长并抑制凋亡。研究发现 AKT 作为 EGFR 下游和 mTOR 上游关键因子,参与调节癌细胞代谢和存活,PKG II 可通过阻断 EGF/EGFR 触发的 PI3K/AKT 和 MAPK/ERK 介导的途径来抑制癌细胞的活化,提示 PKG II 可能是一种潜在的抗癌因子,有可能成为新型潜在的 EGFR 抑制剂^[22]。

然而,PKG II 究竟如何作用于 EGFR,是通过直接磷酸化抑制 EGFR 核转位,还是通过某种中间通路尚不明确,其次 EGFR 的作用靶点及其下游介导的多种蛋白表达和功能仍有待进一步研究。

3.4 抑制肿瘤血管的生成 骨肉瘤是富含血管的实体瘤,肿瘤血管的生成在其生长、侵袭和转移过程中起到关键作用,因此,抑制肿瘤血管的生成具有相关治疗前景^[23]。研究发现,血管内皮生长因子(VEGF)可促进血管内皮细胞生成、刺激肿瘤血管形成、增加微血管通透性等功能,是肿瘤血管生成过程中最重要的传导途径之一^[24]。CASCIO 等^[25]发现 EGF 与 EGFR 结合,通过 EGF/PI3K/STAT3 信号传导途径上调两种促血管生成因子 VEGF 和瘦素的表达,从而促进肿瘤血管生成。MINDER 等^[26]发现 EGFR 可调节肿瘤微环境并诱导 VEGF 和白细胞介素(IL)-8 的持续生成,而 IL-8 介导的嗜中性粒细胞可以释放基质金属蛋白酶(MMP)-9,进一步促进 VEGF 的持续释放及其介导的内皮细胞形成血管效应。最近,研究发现 PKG II 与 L-精氨酸(L-Arg)联合可以通过阻断 EGFR 相关通路的激活来抑制血管生成^[27]。因此,PKG II 可以通过阻断 EGF/EGFR 下游相关通路,抑制肿瘤血管生成,但目前针对骨肉瘤的血管靶向治疗效果并不理想,PKG II/EGFR 相关研究可能提供新的有效靶点,尚待进一步研究明确相关机制。

4 PKG II/EGFR 与肿瘤的相关研究

研究表明,PKG II 阻断 EGF-EGFR 轴和下游

MAPK、PI3K 和 PLC, 逆转 EGF 诱导的 FUBP1 上调和 MarvelD3 的下调, 在胃癌中发挥抗癌作用^[28]。在神经胶质瘤细胞研究中, cGMP 激活的 PKG II 可磷酸化 SOX9、VASP 并抑制 AKT 磷酸化, 使得肿瘤细胞以 cGMP 依赖性方式停滞于 G₁ 期, 从而对神经胶质瘤细胞增殖活动起到抑制作用^[4]。此外, 研究发现 PKG II 可以通过 MAPK/JNK 通路促进乳腺癌细胞的凋亡^[6], 发挥抗肿瘤作用。

大量研究表明, PKG II /EGFR 途径与抗肿瘤作用密切相关, 这使得针对 PKG II /EGFR 的抗肿瘤研究非常重要。

5 PKG II /EGFR 作为靶点相关抗肿瘤研究

靶向性是肿瘤治疗的关键所在, 研究表明, 舒林酸、硫化舒林酸能够通过抑制 5 型磷酸二酯酶 (PDE5) 活性, 增加细胞内 cGMP 水平从而激活 cGMP/PKG 途径抑制 Wnt/ β -catenin 途径, 进而得以选择性抑制结肠肿瘤细胞生长^[29]。研究发现 YC-1 作为一种可溶性鸟苷酸环化酶 (sGC) 激活剂, 可激活 cGMP/PKG 途径, 增加 PKG II 表达水平, 抑制 EGFR 和 β -连环蛋白介导的信号传导途径, 而后两者都与头颈部鳞状细胞癌 (HNSCC) 细胞存活和化疗耐药有关, 增强顺铂在 HNSCC 细胞中的作用^[30]。Physalogenin (PG) 是从酸浆中分离出来的新型抗癌中药活性成分, 可通过 EGFR/mTOR 信号通路诱导细胞凋亡并抑制人骨肉瘤细胞中的自噬流, 此外, PG 还通过线粒体途径诱导细胞凋亡并通过溶酶体功能障碍阻止自噬流, EGFR/AKT/mTOR 也参与了这一过程^[16]。EGFR 靶向抑制剂主要是针对 EGFR 的单克隆抗体和酪氨酸激酶抑制剂, 随着肿瘤免疫治疗研究变得越来越热, 嵌合抗原受体 (CAR) T 细胞即经过遗传修饰的 T 细胞, 能够消除表达突变 EGFRv III 的肿瘤细胞, 增加对肿瘤抗原的反应性, 已用于治疗胶质细胞瘤等肿瘤^[31-32]。因此, PKG II /EGFR 有望成为抗骨肉瘤的潜在靶点, 可进一步研究其在肿瘤发生、发展中的作用机制。

6 展 望

综上所述, PKG II 能够阻断 EGF/EGFR 通路抑制骨肉瘤细胞的增殖、迁移, 诱导凋亡, 抑制骨肉瘤血管的生成, 阻断 EGFR 下游相关通路, 发挥抗肿瘤作用, 有助于进一步揭示骨肉瘤等恶性肿瘤发生、发展的分子机制。但目前仍有诸多问题待解决: (1) PKG II 抗癌机制尚不十分明确, PKG II 是否通过某种信号通路抑制 EGFR 发挥抗肿瘤作用, 以及是否存在某种未知的 PKG II 抗肿瘤新靶点; (2) EGFR 目前虽在肿瘤中研究较多, 并已应用于临床治疗, 但在骨肉瘤治疗中是否有效, 仍停留于细胞阶段, 暂无相关临床应用; (3) 由于肿瘤发病机制十分复杂, 单一靶点方式不足以有效抗肿瘤, 因此可进一步研究骨肉瘤的作用机制, 为 PKG II /EGFR 等多靶点联合治疗的临床

转化提供新的思路和理论依据。

参考文献

- [1] KANG S, LEE J, PARK J, et al. Staged lengthening and reconstruction for children with a leg-length discrepancy after excision of an osteosarcoma around the knee [J]. *Bone Joint J*, 2017, 99(3): 401-408.
- [2] BEHJATI S, TARPEY P, HAASE K, et al. Recurrent mutation of IGF signalling genes and distinct patterns of genomic rearrangement in osteosarcoma [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 15936.
- [3] LUETKE A, MEYERS P A, LEWIS I, et al. Osteosarcoma treatment-Where do we stand? A state of the art review [J]. *Cancer Treat Rev*, 2014, 40(4): 523-532.
- [4] SWARTLING F J, FERLETTA M, KASTEMAR M, et al. Cyclic GMP-dependent protein kinase II inhibits cell proliferation, Sox9 expression and Akt phosphorylation in human glioma cell lines [J]. *Oncogene*, 2009, 28(35): 3121-3131.
- [5] ZHOU L, HOSOHATA K, GAO S, et al. cGMP-dependent protein kinase I β interacts with p44/WDR77 to regulate androgen receptor-driven gene expression [J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e63119.
- [6] LAN T, CHEN Y, SANG J, et al. Type II cGMP-dependent protein kinase inhibits EGF-induced MAPK/JNK signal transduction in breast cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2012, 27(6): 2039-2044.
- [7] WU Y, YUAN M, SU W, et al. The constitutively active PKGII mutant effectively inhibits gastric cancer development via a blockade of EGF/EGFR-associated signalling cascades [J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2018, 10: 1758834017751635.
- [8] 金旭, 杨为民, 杨之斌. cGMP 依赖性蛋白激酶在结直肠肿瘤中的研究现状 [J]. *现代肿瘤医学*, 2016, 24(13): 2163-2166.
- [9] LI D, HUA Y, JIANG L, et al. Cyclic guanosine monophosphate (cGMP)-dependent protein kinase II blocks epidermal growth factor (EGF)/epidermal growth factor receptor (EGFR)-induced biological effects on osteosarcoma cells [J]. *Med Sci Monit*, 2018(24): 1997-2002.
- [10] BIBLI S I, YANG G, ZHOU Z, et al. Role of cGMP in hydrogen sulfide signaling [J]. *Nitric Oxide*, 2015(46): 7-13.
- [11] CAMPBELL J, HENNING P, FRANZ E, et al. Structural basis of analog specificity in PKG I and II [J]. *ACS Chem Biol*, 2017, 12(9): 2388-2398.
- [12] JIANG L, WU M, WU Y, et al. Type II cyclic guanosine monophosphate-dependent protein kinase inhibits epidermal growth factor receptor activation in different cancer cell lines [J]. *Oncol Lett*, 2015, 9(6): 2781-2786.
- [13] JACKSON N M, CERESA B P. Protein kinase G facilitates EGFR-mediated cell death in MDA-MB-468 cells [J]. *Exp Cell Res*, 2016, 346(2): 224-232.
- [14] 杜振广, 肖明明, 景士兵, 等. EGFR 在骨肉瘤中的表达、基因扩增及其临床意义 [J]. *实用骨科杂志*, 2015, 21(4): 328-330, 375.

- [15] GENG Y D, YANG L, ZHANG C, et al. Blockade of epidermal growth factor receptor/mammalian target of rapamycin pathway by Icariside II results in reduced cell proliferation of osteosarcoma cells[J]. *Food Chem Toxicol*, 2014(73):7-16.
- [16] LIN H, ZHANG C, ZHANG H, et al. Physakengose G induces apoptosis via EGFR/mTOR signaling and inhibits autophagic flux in human osteosarcoma cells[J]. *Phytomedicine*, 2018(42):190-198.
- [17] REHMANN H, WITTINGHOFER A, BOS J L. Capturing cyclic nucleotides in action: snapshots from crystallographic studies[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(1):63-73.
- [18] LORENZ R, BERTINETTI D, HERBERG F W. cAMP-dependent protein kinase and cGMP-dependent protein kinase as cyclic nucleotide effectors[J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2017(238):105-122.
- [19] WU Y, YAO X, ZHU M, et al. PKG II reverses HGF-triggered cellular activities by phosphorylating serine 985 of c-Met in gastric cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(23):34190-34200.
- [20] WANG Q, CAI J, WANG J, et al. MiR-143 inhibits EGFR-signaling-dependent osteosarcoma invasion [J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(12):12743-12748.
- [21] KOUSTAS E, KARAMOUZIS M V, MIHAILIDOU C, et al. Co-targeting of EGFR and autophagy signaling is an emerging treatment strategy in metastatic colorectal cancer[J]. *Cancer Lett*, 2017(396):94-102.
- [22] WANG Y, APPIAH-KUBI K, LAN T, et al. PKG II inhibits PDGF-BB triggered biological activities by phosphorylating PDGFR β in gastric cancer cells[J]. *Cell Biol Int*, 2018, 42(10):1358-1369.
- [23] XIE L, JI T, GUO W. Anti-angiogenesis target therapy for advanced osteosarcoma (Review) [J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(2):625-636.
- [24] QUAN G M, CHOONG P F. Anti-angiogenic therapy for osteosarcoma[J]. *Cancer Metast Rev*, 2006, 25(4):707-713.
- [25] CASCIO S, FERLA R, D'ANDREA A, et al. Expression of angiogenic regulators, VEGF and leptin, is regulated by the EGF/PI3K/STAT3 pathway in colorectal cancer cells [J]. *J Cell Physiol*, 2009, 221(1):189-194.
- [26] MINDER P, ZAJAC E, QUIGLEY J, et al. EGFR regulates the development and microarchitecture of intratumoral angiogenic vasculature capable of sustaining cancer cell intravasation[J]. *Neoplasia*, 2015, 17(8):634-649.
- [27] WU Y, LIU Y, CAI Z, et al. Protein kinases type II (PKG II) combined with l-arginine significantly ameliorated xenograft tumor development: is l-arginine a potential alternative in PKG II activation? [J]. *Med Sci Monit*, 2018(24):736-742.
- [28] QIAN H, TAO Y, JIANG L, et al. PKG II effectively reversed EGF-induced protein expression alterations in human gastric cancer cell lines[J]. *Cell Biol Int*, 2018, 42(4):435-442.
- [29] LI N, XI Y, TINSLEY H N, et al. Sulindac selectively inhibits colon tumor cell growth by activating the cGMP/PKG pathway to suppress Wnt/ β -catenin signaling[J]. *Mol Cancer Ther*, 2013, 12(9):1848-1859.
- [30] TUTTLE T R, TAKIAR V, KUMAR B, et al. Soluble guanylate cyclase stimulators increase sensitivity to cisplatin in head and neck squamous cell carcinoma cells[J]. *Cancer Lett*, 2017(389):33-40.
- [31] JOHNSON L, SCHOLLER J, OHKURI T, et al. Rational development and characterization of humanized anti-EGFR variant III chimeric antigen receptor T cells for glioblastoma[J]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(275):ra222.
- [32] THORNE A H, ZANCA C, FURNARI F. Epidermal growth factor receptor targeting and challenges in glioblastoma[J]. *Neur Oncol*, 2016, 18(7):914-918.

(收稿日期:2018-12-18 修回日期:2019-03-12)

(上接第 2300 页)

- [37] CHUNG H J, YU J G, LEE I A, et al. Intestinal removal of free fatty acids from hosts by Lactobacilli for the treatment of obesity[J]. *FEBS Open Bio*, 2016, 6(1):64-76.
- [38] KIM J, YUN J M, KIM M K, et al. Lactobacillus gasseri BNR17 supplementation reduces the visceral fat accumulation and waist circumference in obese adults: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *J Med Food*, 2018, 21(5):454-461.
- [39] ROUXINOL-DIAS A L, PINTO A R, JANEIRO C, et al. Probiotics for the control of obesity - Its effect on weight change[J]. *Porto Biom J*, 2016, 1(1):12-24.
- [40] 廖镇宇, 黄瑞文, 肖艾青. 双歧杆菌三联活菌胶囊防治低出生体质量早产儿喂养不耐受疗效观察[J]. *儿科药理学杂志*, 2013, 19(3):9-12.
- [41] ATAIEJAFARI A, LARIJANI B, ALAVI M H, et al. Cholesterol-lowering effect of probiotic yogurt in comparison with ordinary yogurt in mildly to moderately hypercholesterolemic subjects[J]. *Ann Nutr Metab*, 2009, 54(1):22-27.
- [42] DELZENNE N, REID G. No causal link between obesity and probiotics [J]. *Nature Rev Microbiol*, 2009, 7(12):901.
- [43] SANTACRUZ A, MARCOS A, WÄRNBERG J, et al. Interplay between weight loss and gut microbiota composition in overweight adolescents[J]. *Obesity*, 2009, 17(10):1906-1915.

(收稿日期:2018-12-29 修回日期:2019-03-18)