

血糖监测技术的发展历程和研究进展

张子成, 唐伟

南京医科大学附属老年医院内分泌科, 江苏 南京 210024

摘要: 血糖监测是糖尿病诊治的重要组成部分,通过不同酶法、光学法,以及不同生物样本和相关指标(糖化血红蛋白、糖化白蛋白及1,5-脱水葡萄糖醇),可获得糖代谢参数,用于筛查诊断和评估病情。近年来,随着可穿戴设备研制、数字化和无创技术的发展,为血糖信息化管理提供了助力。本文就不同血糖监测技术发展和最新研究成果进行综述。

关键词: 糖尿病; 血糖; 动态血糖监测; 无创; 信息化

中图分类号: R587.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2022)07-0972-04

Development and research progress of blood glucose monitoring technology

ZHANG Zi-cheng, TANG Wei

Department of Endocrinology, Geriatrics Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 210024, China

Corresponding author: TANG Wei, E-mail: drtangwei@njmu.edu.cn

Abstract: Blood glucose monitoring is an important part of the diagnosis and treatment of diabetes. Through different enzymatic methods, optical methods, and different biological samples and related indicators (glycated hemoglobin, glycated albumin and 1,5-anhydroglucitol), glucose metabolism parameters can be obtained for screening diagnosis and assessment of conditions. In recent years, with the development of wearable device development, digitalization and non-invasive technology, it has provided assistance for blood glucose information management. In this paper, the development of different blood glucose monitoring techniques and the latest research results are reviewed.

Keywords: Diabetes; Blood glucose; Continuous blood glucose monitoring; Non-invasive; Informatization

Fund program: Scientific Research Project of Jiangsu Commission of Health(BJ19027)

国际糖尿病联盟(International Diabetes Federation, IDF)调查显示,至2021年,全球糖尿病患者人数达到5.37亿人,中国糖尿病患者高达1.4亿。血糖监测是糖尿病的筛查诊断、病情评估、疗效判断、降糖方案制定和调整的重要依据。近年来,血糖监测技术得到快速发展,为糖尿病管理提供了重要工具。

1 血糖检测方法

1.1 酶学检测方法 传统的血糖检测方法主要包括葡萄糖氧化酶法和葡萄糖脱氢酶法,基于电化学或生物传感器,可以检测反应过程中的耗氧量、反应产物的生成量及电极间电子转移量,间接计算出葡萄糖含量。1928年, Muller首次在细菌中发现了葡萄糖氧化酶,该法现成为血糖检测原理的基础。1956年, Alfred等研究出基于葡萄糖氧化酶的尿糖试纸(Clinistix)。次年, Kohn发现 Clinistix也可用于检测血糖。1965年,世界上首款血糖检测专用试纸(Dextrostix)以及首款血糖仪(Reflectance Meter)问世。随后,各种基于电化学或生物传

感器的血糖仪相继被研发出来。

1.2 光学检测方法 光学原理可被运用于无创血糖监测,包括红外光谱法、偏振光旋光法、拉曼光谱法、荧光光谱法及光学相干断层成像法。人体不同组织成分对光的吸收与光的波长相关。(1) 红外光谱法:近红外光(Near-Infrared, NIR, 波长为750~2500 nm)和中红外光(Mid-Infrared, MIR, 波长为2500~25000 nm)用于检测葡萄糖具有良好的可行性。NIR相较于MIR更容易穿透人体皮肤,但受到干扰程度较大、吸收峰较宽且信息不易提取。OptiScan Biomedical公司研发了一款基于中红外光谱法的血糖仪 OptiScanner 5000,可以准确测量重症患者血糖值^[1]。(2) 偏振光旋光法:当偏振光照射葡萄糖溶液时,透射光与原入射光会形成一个偏转角,偏转角的大小与葡萄糖的浓度相关。1982年, Rabinovich等首次提出使用旋光法检测眼球房水中的葡萄糖浓度,用以估算血糖浓度。偏振光旋光法的局限性在于眼球运动会造成角膜双折射的动态变化,从而影响检测的精度。血液中存在旋光特性的物质

DOI: 10.13429/j.cnki.cjcr.2022.07.017

基金项目:江苏省卫生健康委员会科研项目(BJ19027)

通信作者:唐伟, E-mail: drtangwei@njmu.edu.cn

出版日期:2022-07-20

也会影响测量值的准确性,眼角房水的葡萄糖值还存在滞后性,目前暂无运用偏振光旋光法进行血糖监测的成熟产品。(3)拉曼光谱法:光透过介质后散射光的频率与入射光不同,并且频率的变化取决于介质的性质,这一现象称为拉曼散射现象。Enejder 等研究报道了使用拉曼光谱法进行血糖检测具有可行性。美国 C8 Medisensors 公司研发了一款运用拉曼光谱法的血糖仪,该款血糖仪于 2012 年获得欧盟 CE 认证,并在欧洲上市。(4)荧光光谱法:室温下,葡萄糖分子通过激发光进行激发后,会跃迁至激发态,再经过弛豫过程发出荧光,通过收集荧光信号检测葡萄糖浓度。美国 Senseonics 公司研发的持续葡萄糖监测系统 Eversense,该设备由一个植入式荧光传感器、一个便携式信号发射器及一个应用程序组成,于 2019 年被美国食品药品监督管理局(FDA)批准上市。(5)光学相干断层成像法:1991 年,Huang 等开发了光学相干断层成像法(OCT),以类似超声波脉冲回波成像的方式生成内部组织结构的光散射二维图像。OCT 检测血糖浓度依赖于葡萄糖浓度的差异会导致不同的真皮组织散射系数这一现象,优势在于灵敏度及分辨率高,而劣势在于易受到温度及运动的影响^[2]。Gabbay 等^[3]在糖尿病患者中测试了一种基于 OCT 的无创、连续的血糖监测设备(Sentris-100, GlucoLight, Bethlehem, PA),结果显示其具有良好的准确性。

2 不同生物样本中的葡萄糖检测

2.1 血糖检测 血糖检测主要有静脉血糖检测及毛细血糖检测以两种方式,静脉血浆通常作为生化检测的样本,而毛细血管全血用于血糖仪检测。静脉血糖检测准确性高,作为诊断糖尿病的金标准,但采血不便、所需血样较多。根据场景不同,毛细血糖测定分为医院内床旁检测(POCT)和患者自测(SMBG),后者适用于糖尿病患者的自我管理和日常评估,获得国内外相关指南的一致推荐^[4-5]。需要注意的是,因采用全血样本,红细胞压积会对毛细血糖检测结果产生影响,红细胞压积越高测量值越低。另外,空腹时全血血糖较静脉血糖低 12%左右,餐后或食糖后血糖数值较接近。虽然毛细血糖检测技术成熟,但由于针刺带来的疼痛和相对繁琐的操作,影响了患者的依从性。目前,无创的非血液样本葡萄糖监测技术正在被不断研究。

2.2 组织间液葡萄糖检测 皮下组织间液的葡萄糖与血糖浓度高度相关,持续葡萄糖监测系统(continuous glucose monitoring, CGM)能够较好地反映血糖水平和波动规律。血浆与组织间液通过毛细血管进行液体交换,毛细血管的渗透作用允许水和小分子物质在两种流体间进行交换。由于存在溶质交换过程,以及 CGM 检测设备存在响应时间,导致血糖浓度与组织间液浓度之间存在滞后性(5~10 min)。

2.3 唾液葡萄糖检测 糖尿病患者相较于正常人群唾液葡萄糖浓度明显升高^[6],在受到或未受到食物刺激时,唾液的成分及分泌唾液的流速不一致,需要对唾液成分和流速进行标准化测量。2017 年纽卡斯尔大学团队研发出一种唾液葡萄糖检测设备并申请了专利,于 2020 年提交了 FDA 审查申请,并于

2021 年向美国 FDA 提交了突破性器械项目申请。不同报道显示,糖尿病患者血糖浓度与唾液葡萄糖浓度之间相关性存在差异,仍需要进一步研究。

2.4 汗液葡萄糖检测 汗腺分布于全身,并且分泌汗液足够迅速,汗液葡萄糖浓度可以间接反映血糖水平,这是使用汗液进行无创血糖监测的优势。然而,这种方式的缺陷在于,汗液的 pH 值及温度差异性大,会降低测量结果的准确性^[7]。Wiorek 等^[8]研制出用于测量汗液葡萄糖浓度的皮肤贴片,该设备包含了 pH 电位电极及温度传感器,并对测量值进行 pH 及温度的校正,试验显示在不同血糖水平下汗液糖浓度及血糖浓度相关性良好。

2.5 泪液葡萄糖检测 有研究发现,泪液中的葡萄糖与血糖浓度存在相关性^[9],通过泪液进行无创血糖监测是可行的。该方法的局限性在于,当受到不同外部刺激时,泪液的成分差异较大。NovioSense 公司设计了一款基于泪液的无创血糖监测装置,该装置为长条形,长度<2 cm,直径<1.5 mm,可以弯曲并良好地放置于下眼睑处。目前,该设备通过了二期临床试验,初步结果显示该设备有良好的准确性^[10]。

3 葡萄糖相关指标

3.1 糖化血红蛋白(HbA1c) HbA1c 是由血红蛋白 β 末端缬氨酸糖基化形成,红细胞的寿命一般为 120 d,所以其能反映患者近 2~3 月的血糖均值。国内外指南均建议将标准化后的 HbA1c 作为糖尿病诊断的工具,糖尿病诊断切点为 6.5%^[5, 11]。1968 年 Rahbar 等首次发现,糖尿病患者血液中的 HbA1c 显著升高。1975 年 Koenig 等发现血清 HbA1c 与血糖控制水平相关。20 世纪 90 年代,糖尿病控制与并发症研究(DCCT)^[12]与英国糖尿病前瞻性研究(UKPDS)^[13]表明,血糖强化治疗降低 HbA1c 有助于延缓糖尿病微血管并发症的发生与进展。

HbA1c 的检测方法包括高效液相色谱法、免疫法、电泳法及酶法,其中 HbA1c 快速检测设备采用亲和层析色谱法和免疫法。但是不同的 HbA1c 检测方法获得的数值存在较大差异。因此, HbA1c 设备需完成国家 HbA1c 标准化计划(NGSP)和国际临床化学和实验室医学联盟(IFCC)的认证。血液中的某些物质(胆红素、三酰甘油等)、某些疾病状态(慢性肝病、血红蛋白病、红细胞增多症等)、某些药物(大剂量阿司匹林、促红细胞生成素、维生素 B12 及铁剂等)及妊娠状态都会对 HbA1c 的检测值产生影响,此外 HbA1c 还存在种族差异^[14]。Bao 等^[15]研究发现, HbA1c 切点为 6.3%时诊断糖尿病的敏感性高于 6.5%。Huang 等^[16]报道, HbA1c 切点为 6.25%时是糖尿病最佳诊断阈值。上述研究显示,中国人群诊断切点或应低于西方人群,但仍需更大样本人群研究加以证明。

3.2 糖化白蛋白(GA) GA 是血清白蛋白非酶促糖基化的产物,半衰期约为 14~20 d,可反映近 2~3 周的血糖水平。Bellia 等^[17]提出,血清 GA 正常值上限为 14.5%。2009 年上海市糖尿病研究所建立了成人 GA 参考范围为 10.8%~17.1%^[18],中国人群的糖尿病诊断最佳切点为 17.1%^[19]。周翔海等^[20]研究认为,中国成人 GA 参考范围为 11.9%~

16.9%。GA 的局限性在于某些疾病状态会影响其准确性:在肾病综合征、甲状腺功能亢进、高三酰甘油或高尿酸血症等加速白蛋白分解代谢情况下,GA 水平将降低;在肝硬化或甲状腺功能减退等减慢白蛋白分解代谢情况下,GA 水平将升高。

3.3 1,5-脱水葡萄糖醇(1,5-AG) 1,5-AG 是葡萄糖第 1 位醛基被还原后的多元醇。在肾小管中,钠-葡萄糖共转运体(SGLT)-4 参与 1,5-AG、葡萄糖、甘露糖及果糖的代谢,99%的 1,5-AG 被 SGLT-4 转运重吸收。健康人每天大约有 180 g 葡萄糖经肾小球排出,并在肾脏中由 SGLT-2 及 SGLT-1 重吸收。糖尿病患者葡萄糖经尿排泄增多且超过 SGLT-2 及 SGLT-1 的转运能力,大量尿糖经下游的 SGLT4 重吸收,竞争性抑制 1,5-AG 的重吸收,导致 1,5-AG 排出增多。因此,血清 1,5-AG 是反映尿糖排泄程度的指标,当血糖升高时血清 1,5-AG 呈降低趋势。Selvin 等^[21]调查 1 799 名健康人,1,5-AG 的 2.5%至 97.5%区间为 8.4~28.7 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。贾伟平团队使用 1,5-AG 和空腹血糖进行糖尿病筛查,1,5-AG 的诊断切点为 15.9 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ^[22]。血清 1,5-AG 主要反映餐后血糖,饮食中碳水化合物的种类及数量会影响成人血清 1,5-AG 的浓度^[23]。

4 动态血糖监测(CGM)

根据工作特点,CGM 分为三种类型。(1)实时动态血糖监测(rtCGM):rtCGM 检测人体组织液中的葡萄糖浓度,提供近乎实时的葡萄糖浓度数据;(2)回顾式动态血糖监测(iCGM):iCGM 佩戴结束后,存储在 iCGM 中血糖数据才能被读取,并用于回顾性分析;(3)扫描式动态血糖监测(FGM):通过扫描佩戴的传感器以获得血糖数据。大部分 rtCGM 和 iCGM 需要进行毛细血管血糖检测对 CGM 进行参比校正,FGM 和部分 rtCGM 则无需校正。美敦力公司的 Guardian Connect 通过独特算法,能够预测 10~60 min 后的高、低血糖事件。

2019 年,美国糖尿病协会(ADA)发表的糖尿病诊疗标准^[24]推荐在临床实践中使用目标范围内时间(TIR)、高于目标范围内时间(TAR)和低于目标范围内时间(TBR)作为 CGM 数据的重要参数。TIR 为目标血糖范围的读数为占每日血糖总读数的百分比以及每日处于目标血糖范围的时间,TIR 设定的目标血糖范围一般为 70~180 mg/dl (3.9~10 mmol/L),并且非老年及非高风险的 1 型及 2 型糖尿病患者 TIR>70%,即总时长>16 小时 48 分钟。Beck 等^[25]发现,TIR 每降低 10%,糖尿病视网膜病变风险增加 64%,微量白蛋白尿发生率增加 40%。Lu 等^[26]研究证实,低 TIR 与 2 型糖尿病患者全因死亡率及心血管死亡率风险增加有关。Prentice 等^[27]研究显示,较低的 TIR 与老年糖尿病患者死亡率增加相关。

5 信息化血糖监测技术

普通血糖仪可以记录血糖数值和检测时间,但不能将数据上传至计算机,无法追踪既往血糖数据,降低了糖尿病管理效率。部分患者使用血糖日志,但可能会出现血糖值记录错误、血糖值未记录以及同一血糖值重复记录。信息化血糖监测系统由联网血糖仪、血糖数据接收终端和血糖数据管理

系统构成,使用联网血糖仪对患者进行床旁检测,血糖数值实时发送至接收终端,通过无线连接方式(WiFi 或蓝牙等)上传至数据管理系统,再由血糖管理系统与医院信息系统进行信息交互^[28-31]。住院患者信息化血糖管理主要基于电子病历系统和联网血糖仪,在临床上有着独特的作用。Okura 等^[28]运用由联网血糖仪、iPod 和电子病历系统组成的信息化管理系统进行研究,发现该系统可以减少血糖测量的漏测次数并减少血糖数据记录错误。Teramoto 等^[29]使用基于平板电脑的信息化管理系统进行研究,发现信息化系统可以提高临床操作效率和安全性。Kyi 等^[30]的前瞻性研究发现,信息化血糖管理系统减少了医务人员的临床惰性和对不良血糖的反应,并减少了患者高血糖的发生频次。Zhu 等^[31]研究发现,信息化血糖监测系统可以提高患者的依从性、改善血糖波动、降低医院感染的发生率、缩短住院时间、降低住院费用。

信息化管理相比于传统手工记录血糖值具有以下优点:

- (1)及时获得血糖信息,有助于了解患者的血糖控制情况;
- (2)彻底解决“信息孤岛”问题,显著提高血糖管理效率;
- (3)获得高血糖、低血糖预警,有助于降低不良血糖事件发生风险;
- (4)实现血糖数据共享和关联分析,有助于进行临床质控和科学研究。

6 小结与展望

非侵入性检测技术、可穿戴设备及血糖数据信息化管理是未来发展的重要方向。利用光学、组织间液、唾液、汗液及泪液的无创血糖监测技术正不断被优化提升。一些汗液检测设备校正了温度、pH 等影响因素,大幅提高了准确性。CGM 作为微创可穿戴设备被越来越多的应用,实时血糖监测及独特的高低血糖预测给患者带来临床效益,但较高的耗材价格以及佩戴舒适性降低了普及率和患者依从性。CGM+智能算法+胰岛素的闭环胰岛素给药系统也是研究热点之一,并开展了大量上市前研究。无创、精准、高效、智能化的血糖监测技术日新月异,5G 通讯和医疗物联网(mLoT)技术更加广泛地应用,将为实现院内-院外、门诊-病房、医院-社区-家庭的糖尿病一体化管理带来更大的帮助。

利益冲突 无

参考文献

- [1] Barassi A, Umbrello M, Ghilardi F, et al. Evaluation of the performance of a new OptiScanner 5 000 system for an intermittent glucose monitoring[J]. Clin Chimica Acta, 2015, 438: 252-254.
- [2] Villena Gonzales W, Mobashsher AT, Abbosh A. The progress of glucose monitoring-A review of invasive to minimally and non-invasive techniques, devices and sensors[J]. Sensors (Basel), 2019, 19(4): 800.
- [3] Gabbay RA, Sivarajah S. Optical coherence tomography-based continuous noninvasive glucose monitoring in patients with diabetes[J]. Diabetes Technol Ther, 2008, 10(3): 188-193.
- [4] American Diabetes Association. 7. Diabetes Technology: Standards of Medical Care in Diabetes-2021[J]. Diabetes Care, 2021, 44

- Suppl 1: S85-S99.
- [5] 中华医学会糖尿病学分会.中国2型糖尿病防治指南(2020年版)[J].国际内分泌代谢杂志, 2021,41(5):482-548.
Diabetes Branch of Chinese Medical Association. Guideline for the prevention and treatment of type 2 diabetes mellitus in China (2020 edition)[J]. Int J Endocrinol Metab, 2021, 41(5): 482-548.
- [6] Vasconcelos ACU, Soares MSM, Almeida PC, et al. Comparative study of the concentration of salivary and blood glucose in type 2 diabetic patients[J]. J Oral Sci, 2010, 52(2): 293-298.
- [7] Gao W, Emaminejad S, Nyein HYY, et al. Fully integrated wearable sensor arrays for multiplexed in situ perspiration analysis [J]. Nature, 2016, 529(7587): 509-514.
- [8] Wiorek A, Parrilla M, Cuartero M, et al. Epidermal patch with glucose biosensor: pH and temperature correction toward more accurate sweat analysis during sport practice [J]. Anal Chem, 2020, 92(14): 10153-10161.
- [9] Aihara M, Kubota N, Minami T, et al. Association between tear and blood glucose concentrations: random intercept model adjusted with confounders in tear samples negative for occult blood[J]. J Diabetes Investig, 2021, 12(2): 266-276.
- [10] Kownacka AE, Vegelyte D, Joosse M, et al. Clinical evidence for use of a noninvasive biosensor for tear glucose as an alternative to painful finger-prick for diabetes management utilizing a biopolymer coating[J]. Biomacromolecules, 2018, 19(11): 4504-4511.
- [11] American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2021 [J]. Diabetes Care, 2021, 44 Suppl 1: S15-S33.
- [12] Diabetes Control and Complications Trial Research Group, Nathan DM, Genuth S, et al. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus[J]. N Engl J Med, 1993, 329(14): 977-986.
- [13] Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33)[J]. Lancet, 1998, 352(9131): 837-853.
- [14] Selvin E. Are there clinical implications of racial differences in HbA1c? A difference, to be a difference, must make a difference [J]. Diabetes Care, 2016, 39(8): 1462-1467.
- [15] Bao YQ, Ma XJ, Li HT, et al. Glycated haemoglobin A1c for diagnosing diabetes in Chinese population: cross sectional epidemiological survey[J]. BMJ, 2010, 340: c2249.
- [16] Huang H, Peng GC, Lin MH, et al. The diagnostic threshold of HbA1c and impact of its use on diabetes prevalence-a population-based survey of 6 898 Han participants from Southern China [J]. Prev Med, 2013, 57(4): 345-350.
- [17] Bellia C, Zaninotto M, Cosma C, et al. Definition of the upper reference limit of glycated albumin in blood donors from Italy [J]. Clin Chem Lab Med, 2017, 56(1): 120-125.
- [18] 周健,李红,杨文英,等.糖化血清白蛋白正常参考值的多中心临床研究[J].中华内科杂志,2009,48(6):469-472.
Zhou J, Li H, Yang WY, et al. A multi-center clinical study of the reference value of serum glycated albumin [J]. Chin J Intern Med, 2009,48(6): 469-472.
- [19] Ma XJ, Pan JM, Bao YQ, et al. Combined assessment of glycated albumin and fasting plasma glucose improves the detection of diabetes in Chinese subjects [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2010, 37(10): 974-979.
- [20] 周翔海,纪立农,张秀英,等.我国正常糖耐量人群糖化白蛋白的参考范围[J].中国糖尿病杂志,2009,17(8):572-575.
Zhou XH, Ji LN, Zhang XY, et al. The reference range of glycated albumin in normal glucose tolerance of Chinese population [J]. Chin J Diabetes, 2009, 17(8): 572-575.
- [21] Selvin E, Warren B, He XT, et al. Establishment of community-based reference intervals for fructosamine, glycated albumin, and 1, 5-anhydroglucitol [J]. Clin Chem, 2018, 64(5): 843-850.
- [22] Ying LW, He XX, Ma XJ, et al. Serum 1, 5-anhydroglucitol when used with fasting plasma glucose improves the efficiency of diabetes screening in a Chinese population [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 11968.
- [23] Juraschek SP, Miller ER 3rd, Appel LJ, et al. Effects of dietary carbohydrate on 1, 5-anhydroglucitol in a population without diabetes: results from the OmniCarb trial [J]. Diabet Med, 2017, 34(10): 1407-1413.
- [24] Battelino T, Danne T, Bergenstal RM, et al. Clinical targets for continuous glucose monitoring data interpretation: recommendations from the international consensus on time in range [J]. Diabetes Care, 2019, 42(8): 1593-1603.
- [25] Beck RW, Bergenstal RM, Riddlesworth TD, et al. Validation of time in range as an outcome measure for diabetes clinical trials [J]. Diabetes Care, 2019, 42(3): 400-405.
- [26] Lu JY, Wang CF, Shen Y, et al. Time in range in relation to all-cause and cardiovascular mortality in patients with type 2 diabetes: a prospective cohort study [J]. Diabetes Care, 2021, 44(2): 549-555.
- [27] Prentice JC, Mohr DC, Zhang LB, et al. Increased hemoglobin A1c time in range reduces adverse health outcomes in older adults with diabetes [J]. Diabetes Care, 2021, 44(8): 1750-1756.
- [28] Okura T, Teramoto K, Koshitani R, et al. A computer-based glucose management system reduces the incidence of forgotten glucose measurements: a retrospective observational study [J]. Diabetes Ther, 2018, 9(3): 1143-1147.
- [29] Teramoto K, Okura T, Kondo H. Evaluation of outcomes using a tablet-based system to support glycemic management workflow operations: a retrospective observational study [J]. J Med Syst, 2020, 44(9): 1-8.
- [30] Kyi M, Wraight PR, Rowan LM, et al. Glucose alert system improves health professional responses to adverse glycaemia and reduces the number of hyperglycaemic episodes in non-critical care inpatients [J]. Diabet Med, 2018, 35(6): 816-823.
- [31] Zhu Y, Yang Y, Yang M, et al. Effect of informatization-based blood glucose team management on the control of hyperglycaemia in noncritical care units [J]. PLoS One, 2020 15(3): e0230115.