

## · 综述 ·

## 肠道菌群及其代谢产物与心血管疾病关系的研究进展

陈超,胡龙刚,安毅

(青岛大学附属医院内科,山东 青岛 266000)

**[摘要]** 心血管疾病(CVD)发生的核心机制动脉粥样硬化及 CVD 的独立危险因素血脂异常、肥胖、糖尿病、高血压、吸烟、心理社会因素、饮食、酗酒和少体力活动均与肠道菌群密切相关。本文对肠道菌群及其代谢产物在代谢、炎症、免疫等方面与 CVD 的关系进行综述,为 CVD 诊治提供参考依据。

**[关键词]** 胃肠道微生物组;心血管疾病;动脉粥样硬化;危险因素

**[中图分类号]** R378.2;R543.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2096-5532(2023)06-0937-04

**doi:**10.11712/jms.2096-5532.2023.59.182

**[开放科学(资源服务)标识码(OSID)]**



**[网络出版]** <https://link.cnki.net/urlid/37.1517.R.20231221.0858.001>;

2023-12-22 10:13:42

**RESEARCH ADVANCES IN THE RELATIONSHIP OF GUT MICROBIOTA AND THEIR METABOLITES WITH CARDIOVASCULAR DISEASES** CHEN Chao, HU Longgang, AN Yi (Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266000, China)

**[ABSTRACT]** The core mechanism of cardiovascular diseases (CVDs), atherosclerosis, and the independent risk factors for CVDs, dyslipidemia, obesity, diabetes, high blood pressure, smoking, psychosocial factors, diet, alcohol, and reduced physical activity, are closely associated with gut microbiota. This article reviews the relationship of gut microbiota and their metabolites with CVDs in terms of metabolism, inflammation, and immunity.

**[KEY WORDS]** gastrointestinal microbiome; cardiovascular disease; atherosclerosis; risk factors

肠道微生物群落在机体新陈代谢过程中发挥着不可替代的作用。心血管疾病(CVD)的危险因素包括年龄、吸烟、糖尿病以及高血压等,但这些因素并不能完全解释 CVD 发病率的持续增长。肠道菌群目前是心血管领域研究的热点,相关研究表明肠道菌群及其代谢产物与 CVD 存在密不可分的关系。调节肠道微生物群或其代谢物有望成为治疗 CVD 的新靶点。本文对肠道菌群及其代谢产物在代谢、炎症以及免疫等方面与 CVD 的关系进行综述,为 CVD 诊治提供参考依据。

## 1 肠道微生物群

人体肠道内大约有 1 000 亿个细菌细胞,1 000 多种微生物群种,人体肠道菌群的基因含量可能比宿主高出至少 100 倍,肠道微生物群与人体交互之下可执行众多功能,如调节肠道发育和黏膜屏障功能、控制营养物质摄取和代谢、促进免疫组织成熟和防止病原微生物繁殖等<sup>[1]</sup>。虽然肠道微生物的群种存在着个体差异,但是个体中的核心群种总是处于动态平衡,在健康个体中,拟杆菌属和厚壁菌属占了总菌种的 90% 以上,而在某些消化系统疾病或者 CVD 病人中肠道菌群存在菌群失调的情况,表明肠道菌群可能是人类疾病的潜在危险因素<sup>[2]</sup>。肠道菌群及其代谢产物与 CVD 存在密不可分的关系。

**[收稿日期]** 2021-07-19; **[修订日期]** 2023-06-23

**[基金项目]** 山东省重点研发计划项目(2017GSF18174)

**[第一作者]** 陈超(1994-),男,硕士研究生。

**[通信作者]** 安毅(1965-),男,博士,主任医师。E-mail: anyqingdao@hotmail.com。

## 2 肠道微生物群及其代谢物与动脉粥样硬化

### 2.1 肠道生态失调引起的慢性炎症反应

肠道菌群可以通过改变肠道黏膜通透性,调节脂肪代谢和慢性炎症反应影响其他器官的一系列复杂反应,进而影响动脉粥样硬化形成<sup>[3]</sup>。

肠道黏膜屏障功能紊乱及微生物群产生内毒素是心血管代谢疾病的病理生理机制之一<sup>[4]</sup>。肠道菌群产生血浆内毒素水平的高低与 CVD 的发生具有密切关系,血浆内毒素与机体巨噬细胞表面的 toll 样受体结合以及细菌移位可导致机体慢性炎症的发生,高水平的血浆内毒素对动脉粥样硬化进程可以产生一定的影响<sup>[4]</sup>。动脉粥样硬化与免疫应答也存在一定的关系,肠道菌群可以产生特异性的免疫 T 细胞,比如调节性 T 细胞(Foxp3<sup>+</sup> Tregs),对机体免疫系统起到调节作用,且还可以通过产生一种短链脂肪酸(丁酸盐)发挥诱导 Foxp3<sup>+</sup> Tregs 生成的作用<sup>[5]</sup>。TAKEDAM 等<sup>[6]</sup>研究发现,在小鼠实验中,口服 CD3 抗体或维生素 D3 可通过调节小鼠的睾丸免疫系统促进调节 T 细胞的表达,从而抑制动脉粥样硬化的进展。且与健康对照组相比,CVD 组的调节 T 细胞含量和调节 T 细胞/效应 T 细胞比值降低。可以推断,通过调节肠道菌群,诱导特异性免疫细胞分化,进而预防炎症性疾病动脉粥样硬化,或许将成为治疗 CVD 的新靶点。

### 2.2 三甲胺-N-氧化物(TMAO)与动脉粥样硬化

脂质代谢紊乱在动脉粥样硬化和 CVD 的发展中起着至关重要的作用。有研究显示,肠道微生物的代谢物 TMAO

在宿主的脂质代谢过程中起关键作用,肠道微生物群通过代谢机体的磷脂酰胆碱、胆碱和肉碱而产生三甲胺,在肝脏肝黄素单氧合酶氧化作用下生成 TMAO 并释放到血浆<sup>[7]</sup>。产生的 TMAO 可以抑制胆固醇的逆向运输,导致胆固醇在细胞内堆积,引起高胆固醇血症,内皮细胞产生的巨噬细胞吞噬氧化胆固醇形成泡沫细胞;同时,TMAO 使血小板反应性增高,血小板聚集,从而导致动脉粥样硬化斑块的形成。KOETH 等<sup>[8]</sup>研究结果显示,L-肉碱的摄入量与 CVD 相关。相比于对照组,高 L-肉碱喂养的 *Apoe*<sup>-/-</sup> 小鼠血浆 TMAO 水平增高,主动脉根部动脉粥样硬化斑块负荷明显加重。然而,饮食习惯可以影响 L-肉碱代谢产生 TMAO,素食者 L-肉碱摄入量较低,血浆 TMAO 水平也偏低,动脉粥样硬化斑块负荷较低<sup>[9]</sup>。

因此,通过改变饮食习惯调节 TMAO 水平,可能是逆转动脉粥样硬化进程的 strategy 之一。一项队列研究发现,心血管不良事件(MACE)发生率高的病人血浆 TMAO 的基线水平显著高于健康者,血浆 TMAO 水平升高可能与 MACE 发生率有关,调节肠道菌群,降低血浆 TMAO 水平,可能会降低 MACE 发生率<sup>[10]</sup>。

### 2.3 内源性大麻素系统(ECSs)与动脉粥样硬化

ECSs 是人体内在的一种信号传导系统,在中枢和周围神经系统以及机体器官中执行着多种生理功能。主要包括花生酰基甘油和花生四烯乙醇胺两种内源性大麻素,它们可与 G 蛋白偶联膜受体大麻素受体 1(CB1)和大麻素受体 2(CB2)结合产生一系列反应。ECSs 可以抑制中性粒细胞浸润进而抑制炎症反应且可以通过激活 CB1 和 CB2 而提高心脏信号通路的活性,进而调节血管壁内发生的免疫和炎症反应,延缓动脉粥样硬化进程<sup>[4,11]</sup>。MUCCIOLI 等<sup>[12]</sup>研究表明,肠道微生物群对 ECSs 系统有调控作用,并证明脂多糖(LPS)是 ECS 合成的有效催化剂,肠道微生物群可通过 LPS 调节肠道黏膜通透性和炎症反应,刺激 ECSs 合成,进而发挥心脏保护作用。有研究显示,益生菌可以通过调节肠道微生物群,进而降低肠道和脂肪组织对 ECSs 系统的敏感性,改善肠道黏膜屏障功能,稳定脂肪组织生成<sup>[13]</sup>。

## 3 肠道微生物群及代谢产物与 CVD 危险因素的关系

### 3.1 肥胖

LEY 等<sup>[14]</sup>发现,在肥胖人群中肠道微生物群中厚壁菌属比例增加,拟杆菌属比例减少。TUMBAUGH 等<sup>[15]</sup>将肥胖大鼠的肠道菌群移植到无菌小鼠,无菌小鼠的各项肥胖指标发生明显变化;而将体型瘦小小鼠的肠道菌群移植给无菌大鼠,无菌大鼠未发现明显异常,说明微生物群的变化可能是导致肥胖的原因之一。一项荟萃分析发现,在健康个体中,血浆 TMAO 浓度与体质量指数升高之间存在剂量反应关系,体质量指数偏高病人的 TMAO 水平相对较高<sup>[16]</sup>。说明肠道微生物菌群与肥胖存在密切关系。

### 3.2 2 型糖尿病

有研究发现糖尿病病人中的梭菌目数量较健康人群明

显减少,表明肠道微生物群在 2 型糖尿病中具有重要的诊断和临床价值<sup>[17-18]</sup>。PEDERSON 等<sup>[18]</sup>的研究还证明,普氏菌属和拟杆菌属介导了支链氨基酸的生物合成和胰岛素抵抗之间的关系,并且普氏菌属使支链氨基酸浓度增加,导致了胰岛素抵抗。一项纵向队列研究显示,经多变量调整后,适量水平的 TMAO 浓度与糖尿病前期患病率增加有一定的相关性<sup>[19]</sup>。

### 3.3 血脂异常

有研究表明,将高胆固醇血症病人的粪便移植到受体小鼠体内,受体小鼠体内胆固醇水平升高,而且受体小鼠的表型与肠道中变形杆菌、拟杆菌和巴恩斯菌等相关<sup>[20]</sup>。WASHLSTRÖM 等<sup>[21]</sup>发现肠道微生物群还参与胆汁酸代谢过程,初级胆汁酸是通过肝脏内胆固醇的氧化合成的,并被分泌到肠内,在肠道微生物作用下代谢为次级胆汁酸。大约 95% 的胆汁酸在肠道中被重新吸收,5% 的胆汁酸在粪便中流失,说明肠道微生物在脂质代谢过程中起着举足轻重的作用。

### 3.4 高血压

LI 等<sup>[22]</sup>研究发现,在未接受治疗的高血压病人中,乳球菌和拟杆菌丰度与收缩压和舒张压呈正相关。YANG 等<sup>[23]</sup>发现在自发性高血压大鼠模型和高血压病人中,肠道微生物群菌种比例发生了显著的变化。有研究显示,肠道微生物群可以通过代谢生成的短链脂肪酸与短链脂肪酸受体 41(GPR41)、短链脂肪酸受体 43、短链脂肪酸受体 109A、嗅觉受体 78(Olf78)结合,其中,Olf78 可升高肾素水平,引起血压升高,而 GPR41 对其有拮抗作用<sup>[24]</sup>。

### 3.5 吸烟

吸烟不仅影响人体的器官和组织,也会影响肠道微生物菌群变化<sup>[25]</sup>。SU 等<sup>[26]</sup>在一项排除了自身疾病、药物和环境等影响因素的研究中发现,与从未吸烟的人群相比,吸烟人群的肠道菌群中拟杆菌属比例升高,厚壁菌属比例降低,且厚壁菌属/拟杆菌属比值降低,而既往吸烟与从未吸烟者肠道菌群比例则无明显改变。可以推断,戒烟可能会使失调的肠道菌群恢复动态平衡,进而间接减少肠道菌群对动脉粥样硬化的影响。

### 3.6 饮食

饮食和能量摄入可以显著影响肠道微生物群<sup>[27]</sup>。西方饮食、素食饮食、无麸质饮食及地中海饮食已被证明会影响肠道微生物群的多样性<sup>[28]</sup>。地中海饮食中的肠道微生物群中乳酸菌、双歧杆菌和普氏杆菌含量较高,这些菌群与预防肥胖和改善血脂水平密切相关,且降低了可诱发炎症的梭状芽胞杆菌的数量<sup>[29]</sup>。DANIEL 等<sup>[30]</sup>在一项荟萃分析中发现,纤维摄入量与肠道梭状芽胞杆菌相关,高纤维饮食样本中的梭状芽胞杆菌比例升高。

### 3.7 心理社会因素

有研究发现,具有心理问题的病人肠道菌群中,放线菌属数量较高,厚壁菌属、毛螺菌属、粪杆菌属数量较低<sup>[31]</sup>。心理问题可能对肠道菌群种类和数量产生影响。

4 调节肠道微生物群作为 CVD 诊治新靶点

4.1 粪便微生物移植(FMT)与益生菌

FMT 与益生菌治疗是将利于机体代谢的肠道微生物(如双歧杆菌、乳酸杆菌等)移植至宿主体内,从而调节宿主肠道微生物群比例进而改善宿主代谢,对心血管系统疾病起到治疗作用。LI 等<sup>[32]</sup>在 *ApoE*<sup>-/-</sup> 小鼠实验研究中发现,嗜黏蛋白阿克曼菌可以通过减少炎症细胞浸润、抑制促炎细胞因子和趋化因子的表达来抑制慢性炎症及动脉粥样硬化进程。还有研究表明,益生菌可以产生维生素 K、B2 和短链脂肪酸等调节肠上皮屏障通透性,与宿主微生物群落及 toll 样受体相互作用,调节机体炎症反应和动脉粥样硬化进程,进而降低血脂水平和心血管风险;且补充多种益生菌菌株比单一菌株更有用<sup>[33]</sup>。FMT 和益生菌是治疗 CVD 的潜在有效治疗方法。

4.2 益生元

世界卫生组织将益生元定义为可选择性刺激肠道菌群活性的一种不可消化食物元素<sup>[34]</sup>。BINDELS 等<sup>[35]</sup>报道,益生元(包括菊粉、低聚果糖、半乳糖、人乳低聚糖)可以选择性刺激双歧杆菌和乳酸杆菌生长,从而提高有利微生物丰度。益生元还可以调节脂质代谢<sup>[36]</sup>。经过低聚果糖喂养的动物中三酰甘油水平和脂肪组织明显减少,且短链低聚果糖处理还可改善血脂代谢和高胰岛素血症<sup>[37]</sup>。益生元将成为 CVD 治疗的靶向治疗措施。

4.3 ECSs 调节剂和血栓性微血管病(TMA)抑制剂

如前所述,对于血管内皮发生的免疫和炎症反应的调节是 ECSs 在发挥心脏保护作用的重要机制。且 ECSs 失调也会促进动脉粥样硬化进程。因此考虑到 ECSs 的双刃剑作用,通过 ECSs 调节剂对 ECSs 进行调节,使其发挥延缓动脉粥样硬化作用而去其弊端,可能是一种新型干预措施。骨化三醇抑制剂如 3,3-二甲基-1-丁醇作为一种 TMA 形成的抑制剂,可以通过抑制 TMAO 生成来减少动脉粥样硬化病变,并且只会对与 TMA、TMAO 和动脉粥样硬化相关的肠道菌群比例产生影响,且并无明显不良反应<sup>[38]</sup>。

综上所述,本文对肠道菌群及其代谢产物与 CVD 相关危险因素的关系进行综述,表明肠道菌群与 CVD 发病机制存在着直接和间接的关系。通过对肠道菌群的调节来预防和治疗 CVD 将会成为近些年的热点,且将成为预防和治疗 CVD 的靶向治疗措施之一。

[参考文献]

[1] 周志宏,高雯.肠道菌群及代谢物与冠状动脉粥样硬化性心脏病关系的研究进展[J].中国心血管杂志,2018,23(2):177-179.

[2] SEBASTIÁN DOMINGO J J, SÁNCHEZ SÁNCHEZ C. From the intestinal flora to the microbiome[J]. Revista Española De Enfermedades Digestivas, 2018,110(1):51-56.

[3] LI D Y, WILSON TANG W H. Gut microbiota and athero-

sclerosis[J]. Current Atherosclerosis Reports, 2017,19(10):39.

[4] MOLUDI J, ALIZADEH M, LOTFI YAGIN N, et al. New insights on atherosclerosis: a cross-talk between endocannabinoid systems with gut microbiota[J]. Journal of Cardiovascular and Thoracic Research, 2018,10(3):129-137.

[5] JIN M C, QIAN Z Y, YIN J Y, et al. The role of intestinal microbiota in cardiovascular disease[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2019,23(4):2343-2350.

[6] TAKEDA M, YAMASHITA T, SASAKI N, et al. Oral administration of an active form of vitamin D3 (calcitriol) decreases atherosclerosis in mice by inducing regulatory T cells and immature dendritic cells with tolerogenic functions[J]. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 2010,30(12):2495-2503.

[7] UFNAL M, ZADLO A, OSTASZEWSKI R. TMAO: a small molecule of great expectations[J]. Nutrition, 2015,31(11-12):1317-1323.

[8] KOETH R A, LEVISON B S, CULLEY M K, et al.  $\gamma$ -butyrobetaine is a proatherogenic intermediate in gut microbial metabolism of L-carnitine to TMAO[J]. Cell Metabolism, 2014,20(5):799-812.

[9] 张茂山,王玉,杜令.肠道菌群与动脉粥样硬化关系研究进展[J].现代医药卫生,2016,32(19):3014-3016.

[10] HAZEN S L, BROWN J M. Eggs as a dietary source for gut microbial production of trimethylamine-N-oxide [J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2014,100(3):741-743.

[11] TUMA R F, STEFFENS S. Targeting the endocannabinoid system to limit myocardial and cerebral ischemic and reperfusion injury[J]. Current Pharmaceutical Biotechnology, 2012,13(1):46-58.

[12] MUCCIOLI G G, NASLAIN D, BÄCKHED F, et al. The endocannabinoid system links gut microbiota to adipogenesis[J]. Molecular Systems Biology, 2010,6:392.

[13] DEWALD O, DUERR G D. The role for the endocannabinoid system in cardioprotection and myocardial adaptation [M]//Cannabinoids in Health and Disease. InTech, 2016.

[14] LEY R E, TURNBAUGH P J, KLEIN S, et al. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity[J]. Nature, 2006,444(7122):1022-1023.

[15] TURNBAUGH P J, LEY R E, MAHOWALD M A, et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest[J]. Nature, 2006,444(7122):1027-1031.

[16] SCHIATTARELLA G G, SANNINO A, TOSCANO E, et al. Gut microbe-generated metabolite trimethylamine-N-oxide as cardiovascular risk biomarker: a systematic review and dose-response meta-analysis [J]. European Heart Journal, 2017,38(39):2948-2956.

[17] KARLSSON F H, TREMAROLI V, NOOKAEW I, et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control[J]. Nature, 2013,498(7452):99-

- 103.
- [18] PEDERSEN H K, GUDMUNSDOTTIR V, NIELSEN H B, et al. Human gut microbes impact host serum metabolome and insulin sensitivity[J]. *Nature*, 2016,535(7612):376-381.
- [19] ROY S, YUZEFPOLSKAYA M, NANDAKUMAR R, et al. Plasma Trimethylamine-N-oxide and impaired glucose regulation: results from The Oral Infections, Glucose Intolerance and Insulin Resistance Study (ORIGINS) [J]. *PLoS One*, 2020,15(1): e0227482.
- [20] ROY T L, LÉCUYER E, CHASSAING B, et al. The intestinal microbiota regulates host cholesterol homeostasis[J]. *BMC Biology*, 2019,17(1):94.
- [21] WAHLSTRÖM A, SAYIN S, MARSCHALL H U, et al. Intestinal crosstalk between bile acids and microbiota and its impact on host metabolism[J]. *Cell Metabolism*, 2016,24(1): 41-50.
- [22] MA J L, LI H K. The role of gut microbiota in atherosclerosis and hypertension [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2018, 9: 1082.
- [23] YANG T, SANTISTEBAN M M, RODRIGUEZ V, et al. Gut dysbiosis is linked to hypertension [J]. *Hypertension*, 2015,65(6):1331-1340.
- [24] SIVAPRAKASAM S, PRASAD P D, SINGH N. Benefits of short-chain fatty acids and their receptors in inflammation and carcinogenesis[J]. *Pharmacology & Therapeutics*, 2016,164: 144-151.
- [25] ALLAIS L, KERCKHOF F M, VERSCHUERE S, et al. Chronic cigarette smoke exposure induces microbial and inflammatory shifts and mucin changes in the murine gut[J]. *Environmental Microbiology*, 2016,18(5):1352-1363.
- [26] LEE S H, YUN Y, KIM S J, et al. Association between cigarette smoking status and composition of gut microbiota: population-based cross-sectional study[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2018,7(9):282.
- [27] ROSENBAUM M, KNIGHT R, LEIBEL R L. The gut microbiota in human energy homeostasis and obesity[J]. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 2015,26(9):493-501.
- [28] LAZAR V, DITU L M, PIRCALABIORU G G, et al. Gut microbiota, host organism, and diet triologue in diabetes and obesity[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2019,6:21.
- [29] GARCIA-MANTRANA I, SELMA-ROYO M, ALCANTARA C, et al. Shifts on gut microbiota associated to Mediterranean diet adherence and specific dietary intakes on general adult population[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018,9:890.
- [30] LIN D, PETERS B A, FRIEDLANDER C, et al. Association of dietary fibre intake and gut microbiota in adults[J]. *British Journal of Nutrition*, 2018,120(9):1014-1022.
- [31] VINDEGAARD N, SPEYER H, NORDENTOFT M, et al. Gut microbial changes of patients with psychotic and affective disorders: a systematic review[J]. *Schizophrenia Research*, 2021,234:1-10.
- [32] LI J, LIN S Q, VANHOUTTE P M, et al. Akkermansia muciniphila protects against atherosclerosis by preventing metabolic endotoxemia-induced inflammation in Apoe<sup>-/-</sup> mice[J]. *Circulation*, 2016,133(24):2434-2446.
- [33] EBEL B, LEMETAIS G, BENEY L, et al. Impact of probiotics on risk factors for cardiovascular diseases. A review[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2014,54(2): 175-189.
- [34] LINARES D M, ROSS P, STANTON C. Beneficial Microbes: the pharmacy in the gut[J]. *Bioengineered*, 2016,7(1):11-20.
- [35] BINDELS L B, DELZENNE N M, CANI P D, et al. Towards a more comprehensive concept for prebiotics[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2015,12(5):303-310.
- [36] BARENGOLTS E. Gut microbiota, prebiotics, probiotics, and synbiotics in management of obesity and prediabetes: review of randomized controlled trials[J]. *Endocrine Practice: Official Journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists*, 2016, 22(10):1224-1234.
- [37] CLUNY N L, ELLER L K, KEENAN C M, et al. Interactive effects of oligofructose and obesity predisposition on gut hormones and microbiota in diet-induced obese rats[J]. *Obesity*, 2015,23(4):769-778.
- [38] WANG Z N, ROBERTS A B, BUFFA J A, et al. Non-lethal inhibition of gut microbial trimethylamine production for the treatment of atherosclerosis [J]. *Cell*, 2015, 163(7): 1585-1595.

(本文编辑 周晓彬)

## 医学学术论文文题的拟定

文题又称题名、篇名,是论文的总标题。文题是论文的总纲,是最恰当、最简明的词语反映论文中最重要的特定内容的逻辑组合,是医学论文精髓的集中体现。文题是论文的第一信息,有提示论文主题、反映学术价值、吸引读者阅读和提供检索信息等作用。文题的拟定原则要体现论文研究的性质、对象、方法和价值等重要信息。文题拟定的基本要求是具体确切、表达得当,简短精炼、高度概括,概念术语、书写规范,突出创新、力求醒目。文题一般不宜超过 20 个汉字,必要时可以使用副标题和分标题,数字宜用阿拉伯数字,尽可能不用标点符号和非特定词(如“的研究”、“的观察”等)。