

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.05.004

## 急性带状疱疹患者 Treg 和 IL-35 水平与带状疱疹后遗神经痛的相关性分析\*

刘 洁<sup>1</sup>, 伍严安<sup>4</sup>, 林妙春<sup>2</sup>, 李雪丽<sup>3</sup>, 朱婵虹<sup>1</sup>福建医科大学附属闽东医院:1. 检验科;2. 中心实验室;3. 皮肤科, 福建宁德 355000;  
4. 福建医科大学省立临床医学院/福建省立医院检验科, 福建福州 350000

**摘要:**目的 分析急性带状疱疹(AHZ)患者外周血中调节性 T 细胞(Treg)和白细胞介素(IL)-35 水平与带状疱疹后遗神经痛(PHN)之间的关系。方法 选取 2017 年 11 月至 2018 年 10 月在福建医科大学附属闽东医院就诊的 68 例 AHZ 患者作为观察组,并选择同期 20 例体检健康者作为对照组。3 个月随访,根据是否出现 PHN 将患者分为 PHN 组和无 PHN 组。检测各组外周血 CD4<sup>+</sup>T 细胞和 Treg 的水平,单个核细胞中 IL-35[EB 病毒诱导基因 3(EBI3)和 P35]mRNA 的相对表达水平,以及血清 IL-35 水平,分析上述指标在不同组别中的差异。结果 与对照组比较,观察组 CD4<sup>+</sup>T 细胞水平下降,Treg 水平升高,差异均有统计学意义( $P < 0.001$ )。PHN 组的 CD4<sup>+</sup>T 细胞水平低于无 PHN 组,而 Treg 水平高于无 PHN 组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与对照组相比,观察组 EBI3 mRNA 的相对表达水平降低( $P < 0.05$ ),而 P35 mRNA 相对表达水平 2 组差异无统计学意义( $P = 0.096$ )。PHN 组与无 PHN 组 IL-35(EBI3 和 P35)mRNA 相对表达水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。观察组血清 IL-35 水平低于对照组( $P < 0.01$ ),而 PHN 组与无 PHN 组 IL-35 水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 在急性带状疱疹中 Treg 参与负向调节 T 细胞亚群,与 PHN 的发生有关;而 IL-35 可能不参与 Treg 的细胞免疫抑制过程。

**关键词:**急性带状疱疹; 带状疱疹后遗神经痛; 调节性 T 细胞; 白细胞介素-35

**中图分类号:**R752.1+2

**文献标志码:**A

**文章编号:**1672-9455(2021)05-0589-05

### Analysis of the correlation between the levels of Treg and IL-35 in patients with acute herpes zoster and postherpetic neuralgia\*

LIU Jie<sup>1</sup>, WU Yan'an<sup>4</sup>, LIN Miaochun<sup>2</sup>, LI Xueli<sup>3</sup>, ZHU Chanhong<sup>1</sup>

1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Central Laboratory;

3. Department of Dermatology, Mindong Hospital Affiliated to Fujian Medical University, Ningde, Fujian 355000, China; 4. Provincial Clinical College of Fujian Medical University/

Department of Clinical Laboratory, Fujian Provincial Hospital, Fuzhou, Fujian 350000, China

**Abstract: Objective** To analyze the relationship between the levels of regulatory T cells (Treg) and interleukin-35(IL-35) in the peripheral blood of patients with acute herpes zoster (AHZ) and postherpetic neuralgia (PHN). **Methods** A total of 68 patients with AHZ who were treated in Mindong Hospital Affiliated to Fujian Medical University from November 2017 to October 2018 were selected as the observation group, and 20 healthy people with physical examination during the same period were selected as the control group. Three months later, the patients were followed up and divided into PHN group and non-PHN group according to whether PHN appeared or not. The levels of CD4<sup>+</sup> T cells and Treg in peripheral blood, the relative expression levels of interleukin (IL)-35[Epstein Barr virus-induced gene 3 (EBI3) and P35] mRNA in mononuclear cells, and the level of serum IL-35 were detected, the difference of the above indicators in different groups were analyzed. **Results** Compared with the control group, the level of CD4<sup>+</sup> T cells decreased and the level of Treg increased in the observation group ( $P < 0.001$ ). The level of CD4<sup>+</sup> T cells in the PHN group was lower than that of the non-PHN group, while the level of Treg was higher than that of the non-PHN group ( $P < 0.05$ ).

\* 基金项目:福建省宁德市科技计划项目(20160187)。

作者简介:刘洁,女,副主任技师,主要从事分子生物学方面的研究。

本文引用格式:刘洁,伍严安,林妙春,等.急性带状疱疹患者 Treg 和 IL-35 水平与带状疱疹后遗神经痛的相关性分析[J].检验医学与临床,2021,18(5):589-592.

Compared with the control group, the relative expression level of EB13 mRNA in the observation group was decreased ( $P < 0.05$ ), but there was no statistically significant difference in the relative expression level of P35 mRNA ( $P = 0.096$ ). There was no statistically significant difference in the relative expression level of IL-35 (EB13 and P35) mRNA between PHN group and non PHN group ( $P > 0.05$ ). The level of serum IL-35 in the observation group was lower than that in the control group ( $P < 0.01$ ), but there was no significant difference in IL-35 level between the PHN group and the non-PHN group ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** In acute herpes zoster, Treg participate in the negative regulation of T cell subsets, which is related to the occurrence of postherpetic neuralgia, while IL-35 may not participate in the cellular immunosuppressive course of Treg.

**Key words:** acute herpes zoster; postherpetic neuralgia; regulatory T Cells; interleukin-35

水痘-带状疱疹病毒(VZV)感染人体后,机体特异性细胞免疫紊乱所造成的细胞因子分泌异常可能与带状疱疹后遗神经痛(PHN)的发生发展密切相关<sup>[1-2]</sup>。调节性 T 细胞(Treg)是一类具有免疫抑制功能的 T 细胞亚群,抑制效应性 T 细胞的增殖及分化<sup>[3]</sup>。急性带状疱疹(AHZ)患者外周血中 Treg 的比例明显升高,且比例越高的患者越容易形成 PHN,可见 Treg 的活跃度与 PHN 关系密切。虽然 Treg 分泌多种细胞因子[如:转化生长因子-β、白细胞介素(IL)-10],但没有证据表明上述因子与 PHN 直接相关。若能寻找到关键因子,则对 PHN 的预防和临床治疗具有重要意义。

近年来发现 IL-35 是 IL-12 家族的新成员,一种主要由 Treg 分泌的新型抑制性细胞因子,由 P35 亚基和 EB 病毒诱导基因 3(EBI3)组成的异源二聚体<sup>[4]</sup>。IL-35 是 Treg 发挥其最大抑制效应所需的一种细胞因子,参与多种自身免疫性疾病和感染性疾病的病理过程,但目前 IL-35 与带状疱疹的相关研究报道少见。本研究拟通过检测 AHZ 患者外周血中 Treg 及 IL-35 的表达情况,探讨 Treg 及 IL-35 水平与 PHN 之间的关系,为将来的临床干预提供一定思路。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2017 年 11 月至 2018 年 10 月在福建医科大学附属闽东医院就诊的 76 例 AHZ 患者及 20 例体检健康者分别纳为观察组、对照组。观察组中 8 例患者失访,最终 68 例患者进行统计学分析,其中男 35 例、女 33 例,平均年龄(59.50±16.81)岁;对照组男 9 例,女 11 例,平均年龄(59.80±11.07)岁。2 组在性别比例、年龄分布上比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性。纳入标准:患者均符合《中国临床皮肤病学》<sup>[5]</sup>中 AHZ 的诊断标准;发疹至就诊时间≤7 d;VZV IgG 抗体阳性。排除标准:皮疹不伴疼痛者;合并自身免疫性疾病者;近 3 个月内使用过免疫抑制药物、激素或生物制剂者;严重感染的患者;妊娠及哺乳期妇女;肿瘤患者。

## 1.2 方法

**1.2.1 标本收集及处理** 采集外周静脉血 7 mL。其中血清管 3 mL 以 3 000 r/min 离心 10 min,分离出血清于-80 °C 条件下保存;另外两管各 2 mL 使用 EDTA 抗凝,12 h 内分别进行流式细胞学及分子生物学检测。

**1.2.2 外周血 CD4<sup>+</sup> T 细胞、Treg 检测** 抗凝全血 200 μL,分别加入 5 μL CD3-PE-Cy7 抗体、10 μL CD4-FITC 抗体和 10 μL CD25-APC 抗体(美国 BD 公司),避光孵育 30 min;加入 2 mL 的溶血素,避光孵育 10 min;磷酸盐缓冲液(PBS)清洗 2 次;加入 1 mL 破膜固定液,4 °C 避光孵育 40 min;破膜洗涤后,加入 100 μL 破膜洗液和 10 μL FoxP3-PE 重悬细胞(美国 BD 公司),4 °C 避光孵育 40 min,洗涤 2 次后,PBS 重悬细胞,采用 FACS Caliber 流式细胞仪(美国 BD 公司)分析 CD4<sup>+</sup> T 细胞、Treg。

**1.2.3 外周血单个核细胞(PBMC)中 IL-35(EBI3 和 p35)mRNA 表达水平的检测** 分离 PBMC,采用 Trizol 法提取 RNA,按照反转录试剂盒说明书(北京康为世纪生物科技有限公司)进行反转录反应,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参进行实时荧光定量 PCR 扩增,分析 EBI3 mRNA 及 P35 mRNA 的相对表达水平。引物(上海生工生物股份有限公司)序列见表 1,总反应体系 25 μL,反应条件:95 °C 10 min,95 °C 15 s,60 °C 60 s,共 40 个循环。通过 ΔCt 比较各组目的基因的相对表达水平(ΔCt = 目的基因 Ct - 内参基因 Ct)。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列

目的基因	引物序列(5'-3')	引物大小(bp)
EBI3	TCCCAGAGATCTTCTCACTGAAGTA	111
	GCACAGCCCTGAGGATGA	
P35	AGGAATGTTCCCATGCCTTCA	170
	CCAATGGTAAACAGGCCTCCAC	
GAPDH	GCACCGTCAAGGCTGAGAAC	138
	TGGTGAAGACGCCAGTGGGA	

**1.2.4 血清 IL-35 水平测定** 采用 ELISA 试剂盒

(武汉 USCN 生物科技有限公司)测定血清中 IL-35 的含量,所有步骤按说明书进行。

**1.2.5 随访** 3 个月后对患者进行电话随访,采用数字评分法(NRS)对疼痛进行评估。以带状疱疹侵犯区域是否存在疼痛(NRS $\geq$ 1 分)为标准来判断是否出现 PHN,根据随访结果将所有患者分为 PHN 组和无 PHN 组。

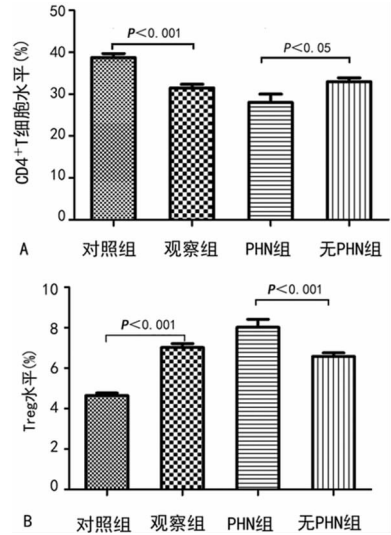
**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 20.0 软件对数据进行统计分析。计数资料以频数、率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验;正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用  $t$ ;检验采用 Pearson 相关进行相关性分析。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 PHN 的发生率** 经随访,68 例 AHZ 患者中有 21 例出现 PHN,PHN 的发生率为 30.88%。

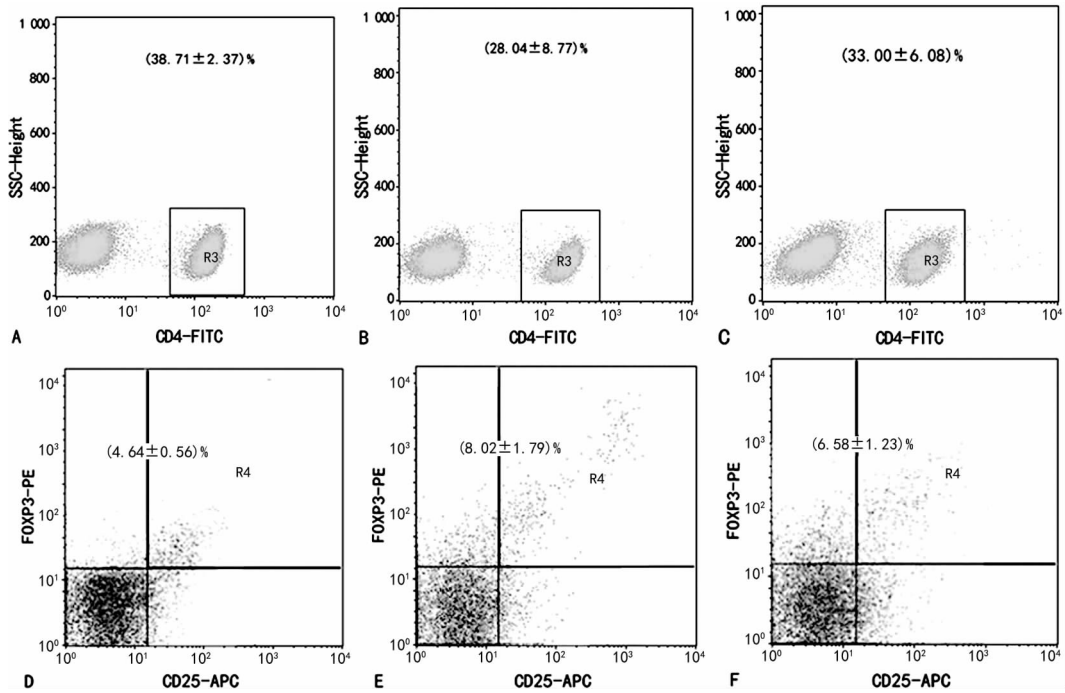
**2.2 外周血 CD4<sup>+</sup>T 细胞和 Treg 水平比较** 与对照组比较,观察组 CD4<sup>+</sup>T 细胞水平降低( $t = 5.440, P < 0.001$ ),Treg 水平升高( $t = 6.656, P < 0.001$ )。根据 3 个月后的随访结果,将观察组分为 PHN 组和无 PHN 组。

PHN 组,2 组比较,PHN 组 CD4<sup>+</sup>T 细胞水平低于无 PHN 组( $t = 2.300, P < 0.05$ ),Treg 水平高于无 PHN 组( $t = 3.856, P < 0.001$ )。见图 1、2。



注:A 为各组 CD4<sup>+</sup>T 细胞水平比较;B 为各组 Treg 水平比较。

图 1 各组 CD4<sup>+</sup>T 细胞 Treg 水平比较



注:A、B、C 分别为对照组、PHN 组、无 PHN 组 CD4<sup>+</sup>T 细胞流式细胞术检测图;D、E、F 分别为对照组、PHN 组、无 PHN 组 Treg 流式细胞术检测图。

图 2 CD4<sup>+</sup>T 细胞及 Treg 流式细胞术检测结果

**2.3 CD4<sup>+</sup>T 细胞水平和 Treg 的相关性** 采用 Pearson 相关系数分析显示,CD4<sup>+</sup>T 细胞水平和 Treg 呈负相关( $r = -0.640, P < 0.001$ )。见图 3。

**2.4 PBMC 中 IL-35(EBI3 和 P35)mRNA 的相对表达水平比较** 与对照组相比,观察组 EBI3 mRNA 的相对表达水平降低( $t = 2.521, P < 0.05$ ),P35 mRNA 相对表达水平差异无统计学意义( $t = 1.725, P =$

0.096)。PHN 组与无 PHN 组之间 IL-35(EBI3 和 P35)mRNA 表达水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见图 4。

**2.5 血清 IL-35 水平比较** 观察组 IL-35 水平 [(55.17 ± 17.84) pg/mL] 低于对照组 [(68.69 ± 19.78) pg/mL],差异有统计学意义( $t = 2.820, P < 0.01$ ),而 PHN 组 IL-35 水平 [(52.28 ± 15.31)

pg/mL]与无 PHN 组[(57.04±18.48)pg/mL]比较, 差异无统计学意义( $t=1.016, P>0.05$ )。

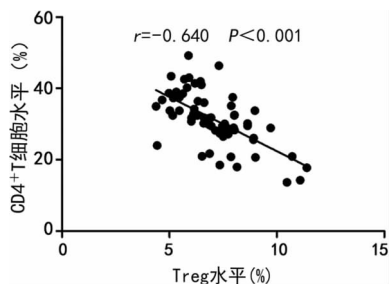
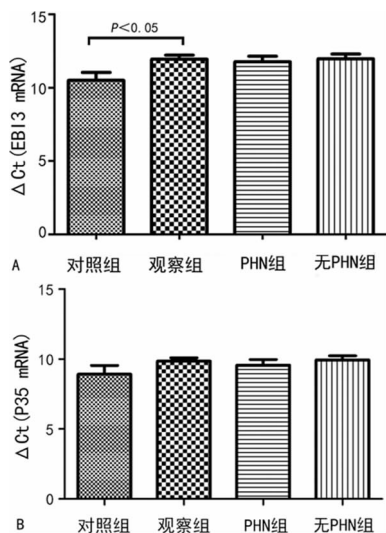


图3 AHZ患者外周血CD4<sup>+</sup>T细胞与Treg水平的相关性



注:A为4组的EBI3 mRNA的 $\Delta Ct$ ;B为4组的P35 mRNA的 $\Delta Ct$ 。 $\Delta Ct$ 越高说明目的基因的Ct值越大,而Ct值越大mRNA的相对表达水平就越低。

图4 各组IL-35(EBI3和P35)mRNA的相对表达水平比较

### 3 讨论

带状疱疹多见于老年人和免疫功能低下的人群,既往的研究发现,带状疱疹患者外周血CD4<sup>+</sup>T细胞水平下降,CD8<sup>+</sup>T细胞水平升高,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>T的比例降低,且T细胞功能亦发生改变<sup>[6-8]</sup>,可见机体免疫功能异常导致的T细胞亚群失衡与带状疱疹的发生密切相关。本研究中,68例观察组患者中有21例出现了PHN,发生率为30.88%。与对照组相比,观察组CD4<sup>+</sup>T细胞水平降低,PHN组CD4<sup>+</sup>T细胞水平也低于无PHN组,这与之前学者的研究结论相符。VZV活化后机体免疫系统的负向调控机制可能通过某种途径被激活,针对VZV的特异性细胞免疫应答被抑制,其抑制程度越重越容易形成PHN。

本研究显示,观察组CD4<sup>+</sup>T细胞水平下降而Treg水平升高,二者呈负相关,这与XING等<sup>[9]</sup>的报道一致。笔者推测AHZ患者CD4<sup>+</sup>T细胞介导的宿主抗病毒免疫应答受抑制可能与外周血中激活的

Treg有关,机体病毒清除能力下降,持续性的病毒血症,神经系统被VZV不断攻击,从而引发神经炎症反应,在各种炎症因子的刺激下,最终导致PHN的发生。目前仍不清楚在AHZ患者中Treg是如何负向调节免疫系统功能。

IL-35是最新发现的调控Th17/Treg分化的重要细胞因子,它是Treg的功能执行者,可诱导表达IL-35的Treg(iTr35)生成,促进Treg的增殖,同时抑制效应性T细胞和Th17细胞的分化。据报道IL-35不同程度地参与了胰腺癌<sup>[10]</sup>、炎症性肠病<sup>[11]</sup>、I型糖尿病<sup>[12]</sup>、系统性硬化症<sup>[13]</sup>、类风湿性关节炎<sup>[14]</sup>及乙型肝炎<sup>[15]</sup>的发病。在国内外IL-35已逐渐被运用于临床疾病的研究,而对于IL-35与神经病理性疼痛的关系,及其在AHZ和PHN之间关系的相关研究较少。本研究发现,AHZ患者外周血PBMC中EBI3 mRNA相对表达水平和血清IL-35的水平低于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );尽管观察组P35 mRNA的相对表达水平与对照组差异无统计学意义( $P>0.05$ ),但它与血清IL-35的变化是一致的,都出现下降趋势。这些结果与VZV感染后Treg的变化情况不一致。理论上IL-35主要由Treg分泌,IL-35的表达水平应该与Treg的功能变化同步,但本研究却发现并非如此,推测可能的原因有:Treg确实参与AHZ和PHN的发病过程,但在带状疱疹的病程中,IL-35可能并不是Treg发挥抑制细胞免疫功能的主要执行者,或者它并不参与抑制细胞免疫的过程;抑或是本研究样本量较少,无法准确获得IL-35在疾病过程中的实际变化情况。

综上所述,在急性带状疱疹中Treg参与负向调节T细胞亚群,与PHN的发生有关;而IL-35可能不参与Treg的细胞免疫抑制过程,需要将来进一步研究阐明。

### 参考文献

[1] NAKAMURA Y, MIYAGAWA F, OKAZAKI A, et al. Clinical and immunologic features of recurrent herpes zoster(HZ)[J]. J Am Acad Dermatol, 2016, 75(5): 950-956.

[2] JAROSINSKI K W, CARPENTER J E, BUCKINGHAM E M, et al. Cellular stress response to varicella-zoster virus infection of human skin includes highly elevated interleukin-6 expression[J]. Open Forum Infect Dis, 2018, 5(6): ofy118.

[3] SUVAS S, KUMARAGURU U, PACK C D, et al. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T cells regulate virus-specific primary and memory CD8<sup>+</sup>T cell responses[J]. J Exp Med, 2003, 198(6): 889-901.

施精准对症治疗,正确评估疗效和预后,促进患者早日康复。

### 参考文献

[1] WANG C, HORBY P W, FREDERICK G H, et al. A novel coronavirus outbreak of global health concern [J]. *Lancet*, 2020, 395(10223): 470-473.

[2] LAI C C, SHIH T P, KO W C, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): the epidemic and the challenges [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2020, 55(3): 105924.

[3] TU Y F, CHIEN C S, YARMISHYN A A, et al. A review of SARS-CoV-2 and the ongoing clinical trials [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(7): 2657.

[4] ZHENG J. SARS-CoV-2: an emerging coronavirus that causes a global threat [J]. *Int J Biol Sci*, 2020, 16(10): 1678-1685.

[5] ZHU N, ZHANG D Y, WANG W L, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019 [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(8): 727-733.

[6] CONNORS J M, LEVY J H. COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation [J]. *Blood*, 2020, 135(23): 2033-2040.

[7] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 中华人民共和国国家中医药管理局. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版) [EB/OL]. (2020-03-04) [2020-04-30]. [http://www.gov.cn:8080/zhengce/zhengceku/2020-03/04/content\\_5486705.htm](http://www.gov.cn:8080/zhengce/zhengceku/2020-03/04/content_5486705.htm).

[8] CHAN J F, KOH K H, ZHU Z, et al. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2020, 9(1): 221-236.

[9] GUAN W J, NI Z Y, HU Y, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(18): 1708-1720.

[10] 曹培明, 李晓旭, 严晓峰, 等. 重庆市 223 例新型冠状病毒肺炎病例的回顾性流行病学分析 [J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2020, 42(3): 10-16.

[11] 卢子龙, 何如愿, 江文洋, 等. COVID-19 患者临床特征及免疫功能分析 [J]. *武汉大学学报(医学版)*, 2020, 41(4): 529-532.

[12] HAN X Y, CAO Y K, JIANG N C, et al. Novel coronavirus pneumonia (COVID-19) progression course in 17 discharged patients: comparison of clinical and thin-section CT features during recovery [J]. *Clin Infect Dis*, 2020, 71(15): 723-731.

[13] HUANG C, WANG Y, LI X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China [J]. *Lancet*, 2020, 395(10223): 497-506.

[14] ZHAO J, YUAN Q, WANG H, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019 [J]. *Clin Infect Dis*, 2020, 71(16): 2027-2034.

[15] 杨岗, 梁燕, 蔡娅菲, 等. 皮炎患者外周血急性时相反应物水平与 IL-6、疾病活动度的相关性分析 [J]. *四川大学学报(医学版)*, 2013, 44(5): 814-817.

(收稿日期: 2020-05-09 修回日期: 2021-01-05)

(上接第 592 页)

[4] SONG M, MA X J. The immunobiology of interleukin-35 and its regulation and gene expression [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2016, 941: 213-225.

[5] 赵辩. 中国临床皮肤病学 [M]. 南京: 江苏凤凰科学技术出版社, 2011: 394-398.

[6] WEINBERG A, CANNIFF J, ROUPHAEL N, et al. Varicella-zoster virus-specific cellular immune responses to the live attenuated zoster vaccine in young and older adults [J]. *J Immunol*, 2017, 199(2): 604-612.

[7] SCHUB D, JANSSEN E, LEYKING S, et al. Altered phenotype and functionality of varicella zoster virus-specific cellular immunity in individuals with active infection [J]. *J Infect Dis*, 2015, 211(4): 600-612.

[8] 安尔丹, 肖旺频, 周宗立, 等. 老年带状疱疹患者急性期 T 细胞亚群变化及其与疱疹相关性疼痛的关系 [J]. *中华老年医学杂志*, 2011, 30(9): 757-759.

[9] XING Q, HU D, SHI F, et al. Role of regulatory T cells in patients with acute herpes zoster and relationship to postherpetic neuralgia [J]. *Arch Dermatol Res*, 2013, 305(8): 715-722.

[10] HUANG C B, LI N, LI Z X, et al. Tumour-derived Interleukin 35 promotes pancreatic ductal adenocarcinoma cell

extravasation and metastasis by inducing ICAM1 expression [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14035.

[11] WANG Y, MAO Y, ZHANG J F, et al. IL-35 recombinant protein reverses inflammatory bowel disease and psoriasis through regulation of inflammatory cytokines and immune cells [J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(2): 1014-1025.

[12] ESPES D, SINGH K, SANDLER S, et al. Increased interleukin-35 levels in patients with type 1 diabetes with remaining C-peptide [J]. *Diabetes Care*, 2017, 40(8): 1090-1095.

[13] YAYLA M E, TORGUTALP M, OKATAN I E, et al. Serum interleukin 35 levels in systemic sclerosis and relationship with clinical features [J]. *J Clin Rheumatol*, 2020, 26(3): 83-86.

[14] SAKKAS LI, MAVROPOULOS A, PERRICONE C, et al. IL-35; a new immunomodulator in autoimmune rheumatic diseases [J]. *Immunol Res*, 2018, 66(3): 305-312.

[15] CHENG S T, YUAN D, LIU Y, et al. Interleukin-35 level is elevated in patients with chronic hepatitis B virus infection [J]. *Int J Med Sci*, 2018, 15(2): 188-194.

(收稿日期: 2020-05-23 修回日期: 2020-11-12)