

• 论 著 •

智能识别鉴定 M 蛋白分型

王仁浩¹, 谢 婧², 管仲斌¹, 谢松业^{1△}

(1. 上海兰卫医学检验所股份有限公司医学检验科, 上海 200335;

2. 澳大利亚阿德莱德大学, 澳大利亚南澳大利亚州阿德莱德 5005)

摘要:**目的** 计算机能做到与医学检验专家一样, 智能快速准确地识别 M 蛋白的成分并鉴定出是哪一类型的 M 蛋白病。**方法** 采集免疫固定电泳后的样本图片, 经电脑扫描后转换形成一维数据, 为了便于智能化鉴定 M 蛋白成分, 先在其中血清蛋白电泳中找到 M 蛋白带, 再根据其他 5 个不同组分的图像信息进行综合匹配处理。为了便于参数传递, 将电泳峰值数据标准化纠正, 以免不同因素引起偏差干扰。**结果** 如果待测患者的峰值(除清蛋白)比相应正常质控品峰值大, 且峰高与峰宽之比大于 4 : 1 即找到 M 蛋白带, 根据是否有 M 蛋白带和健康人的免疫固定电泳 6 组的一维数据的峰高与峰宽的阈值范围来判断患者血清免疫固定电泳某组分峰值特征是否有意义, 即患有 M 蛋白血症。**结论** 采用计算机编程可对免疫固定电泳图谱中血清蛋白电泳及各组分实现自动识别、分类、综合分析, 给出正确鉴别结果, 与传统方法比较无差异, 可为临床医生鉴别诊断提供科学依据。

关键词:智能; M 蛋白分型; 免疫固定电泳

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.21.027

中图法分类号:R733.3;R730.45

文章编号:1673-4130(2020)21-2676-05

文献标识码:A

Intelligent recognition and identification of M protein typing

WANG Renhao¹, XIE Jing², GUAN Zhongbin¹, XIE Songye^{1△}

(1. Department of Medical Laboratory, Shanghai Labway Clinical Laboratory Co., Ltd., Shanghai 200335, China; 2. University of Adelaide, Adelaide, South Australia 5005, Australia)

Abstract:**Objective** As the same with medical laboratory experts, computers can also recognize the components of M protein quickly and accurately, and identify which type of M protein had caused disease. **Methods** The sample pictures of immunofixation electrophoresis were scanned and transformed into one-dimensional data. In order to facilitate the intelligent identification of M protein components, the band of M protein in the serum protein electrophoresis was found out first, and then comprehensive matching processing based on the image information of the 5 different components from the M protein was performed. In order to facilitate the parameter transfer, the electrophoretic peak data were standardized and corrected to avoid the interference of different factors. **Results** If the peak (except albumin) of the patient under test was larger than the peak of the corresponding normal quality control, and the ratio of the peak height to the peak width was greater than 4 : 1, it was indicate that the M protein band was found out. According to the threshold range of peak height and peak width of 6 groups of one-dimensional data of M protein and immunofixation electrophoresis of healthy people, it could be judged whether the peak characteristics of a component in serum immunofixation electrophoresis of patients were meaningful, that if they had M protein. **Conclusion** The correct identification results can be provided by computer programming through automatically identifying, classifying and comprehensively analyzing the serum protein electrophoresis maps. There is no significant difference compared with the traditional method. The base for clinical differential diagnosis can also be provided by this method.

Key words:intelligent; M protein; typing; immunofixation electrophoresis

M 蛋白分型种类多, 诊断方法除流式细胞外^[1-2], 血清蛋白电泳及免疫学方法已成为确诊 M 蛋白血症

作者简介:王仁浩,男,主管技师,主要从事临床免疫和生化方法学研究。△ 通信作者,E-mail:13671692739@139.com。

本文引用格式:王仁浩,谢婧,管仲斌,等.智能识别鉴定 M 蛋白分型[J].国际检验医学杂志,2020,41(21):2676-2679.

的重要手段^[3-4],其中血清免疫固定电泳对多发性骨髓瘤(MM)患者血清中的单克隆免疫球蛋白(Ig)进行分型鉴定具有高特异性和高灵敏度^[5]。虽然免疫固定电泳图谱简单,但在目前临床医学检验中对 M 蛋白的分型、判断、识别均是通过人工肉眼观察,易产生主观判断误差及漏判。本文采用计算机智能鉴定免疫固定电泳 M 蛋白成分主要的思考方法是先找到 M 蛋白带,再根据其他 5 个不同组分的图像信息进行综合匹配处理。根据健康人的免疫固定电泳 6 组的一维数据的峰高与峰宽的阈值范围来判断患者血清免疫固定电泳某组分峰值特征是否有意义,即患有 M 蛋白血症。最后,鉴别出不同类型的 M 蛋白,并给出结果。这样大大提高了 M 蛋白血症的筛查效率,减少了人为误差,为临床诊治和预后提供了科学依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 标本采集:15 例免疫固定电泳(书)示范图片^[6],35 例 M 蛋白血症标本中包括 20 例不同类型 M 蛋白血症患者和 15 例健康人。标本由上海交通大学附属第一人民医院实验室提供。

1.2 仪器与试剂 (1)试剂:美国 Helena 公司提供,试剂批号:3415 和 3416 和 3417;(2)仪器设备:全自动快速电泳分析仪由美国 Helena 公司提供,为 SPIFE 3000 型或 SPIFE4000 型;(3)参数设置和操作步骤:详见 REP 电泳仪操作规程;(4)扫描仪:Canon KEW36823。

1.3 方法

1.3.1 免疫固定电泳测定 方法学原理:免疫固定电泳将血清或其他标本在琼脂(醋酸纤维素)平板上做区带电泳,然后在其上加入已知相应单价抗血清,当抗体与其区带中的单克隆 Ig 结合后,便形成抗原抗体复合物沉淀(固定)下来。通过漂洗和染色,呈现浓而狭窄的着色区带,即可判断单克隆 Ig 的轻链和重链类型。一般免疫固定电泳鉴定 M 蛋白成分主要由 6 个组分组成:(1)蛋白电泳;(2)IgG;(3)IgA;(4)IgM;(5)免疫球蛋白 κ 链;(6)免疫球蛋白 λ 链。第 1 组分为总的血清蛋白成分,第 2~4 组分为“重链”(其实免疫球蛋白是由 2 条重链和 2 条轻链组成),第 5~6 组分为轻链,共由 6 个组分的电泳带组成。健康人免疫固定电泳中的蛋白电泳只出现清蛋白等 5 种蛋白成分,不出现 M 蛋白成分区带,且 IgG、IgA、IgM 及 κ 链和 λ 链电泳带颜色较浅,扫描后一般峰宽大于峰高。采用不同的颜色把 3 幅峰形电泳图合并为一张电泳图,便于直观显示给医生,为诊断疾病提供合理的依据。

1.3.2 设计思路 首先,把 6 幅图像经过扫描转换

成数据信息。其次,将二维数据转换成一维数据,为了便于智能化鉴定 M 蛋白成分,采用不同的颜色把 6 幅电泳图数据信息绘制成一张电泳图,先在其中血清蛋白电泳中找到 M 蛋白带,再根据其他 5 个不同组分的图像信息进行综合匹配处理。为了便于参数传递,根据健康人的免疫固定电泳 6 组的一维数据的峰高与峰宽阈值范围来判断患者血清免疫固定电泳某组分峰值特征是否有意义,即是否患有 M 蛋白血症。最后鉴别出不同类型的 M 蛋白,并给出结果。免疫固定电泳智能化鉴定 M 蛋白成分的电泳流程见图 1。智能化鉴定免疫固定电泳 M 蛋白成分电泳特点,(1)正常:若蛋白电泳没有找到 M 蛋白带,而且重链和轻链峰值特征全部无意义输出正常;(2)正常? 建议复做:仅仅蛋白电泳峰值有意义其余峰值无意义输出“正常? 建议复做”;(3)游离 κ 、 λ 型轻链病:若蛋白电泳出现 M 蛋白,重链峰值特征无意义且 κ 和 λ 型轻链同时有特征性意义时输出游离 κ 、 λ 型轻链病;(4)游离 κ 型合并 κ 型 IgA 单克隆免疫球蛋白病:当 κ 或 λ 有 2 个有意义峰值 a 和 b 时,若 IgA 有一个有意义的峰值 c,a 与 c 横坐标相同,b 与 c 坐标不同,则输出游离 κ 型合并 κ 型 IgA 单克隆免疫球蛋白病;(5)游离 κ 型轻链病:若 κ 或 λ 有特征意义峰值,并且重链峰值全部无特征意义,则输出“游离 κ 型轻链病”;(6) κ 型 IgA 单克隆免疫球蛋白病:若蛋白电泳出现 M 蛋白带, κ 或 λ 峰值有价值,同时存在有价值的 IgA 或 IgM 或 IgG,并且前一组峰值横坐标与后一组峰值横坐标相符,则输出 κ 型 IgA 单克隆免疫球蛋白病;(7) κ 型 IgA 单克隆免疫球蛋白病(?):若蛋白电泳出现 M 蛋白带, κ 或 λ 有价值峰值,同时存在有价值的 IgA 或 IgM 或 IgG,但前一组峰值横坐标与后一组峰值横坐标不相符,则输出 κ 型 IgA 单克隆免疫球蛋白病(?);(8)多克隆病: κ 或 λ 有价值,同时 IgA 或 IgM 或 IgG 为有价值宽峰(波高>100 同时波宽>波高),其中峰值“有意义”指峰高大于峰宽 4:1。重链指 IgG、IgA、IgM,轻链指 κ 型、 λ 型。

1.3.3 实验过程 (1)利用按键精灵电脑软件把 50 幅免疫固定电泳图片按图中不同深浅的蓝色条带转化为数据信息,再将二维数据转化为一维数据。根据 M 蛋白与蛋白电泳对应的位置、区带深浅、宽窄的不同即峰值数据的位置和大小及左右峰谷的长度,确立峰高度与峰宽度的比例范围,血清 M 蛋白在蛋白电泳中可在 α_2 至 γ 区形成浓度高的区带,扫描图中可见基底较窄,高而尖锐的峰,在 γ 区蛋白峰高大于峰宽,在 β 区和 α_2 区也是如此,以此参数来判断 M 蛋白的真伪,大大减少了肉眼判断的误差,见图 2。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据分析处理。智能和传统两种方法鉴定 M 蛋白成分的差异采用 χ^2 检验进行比较,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

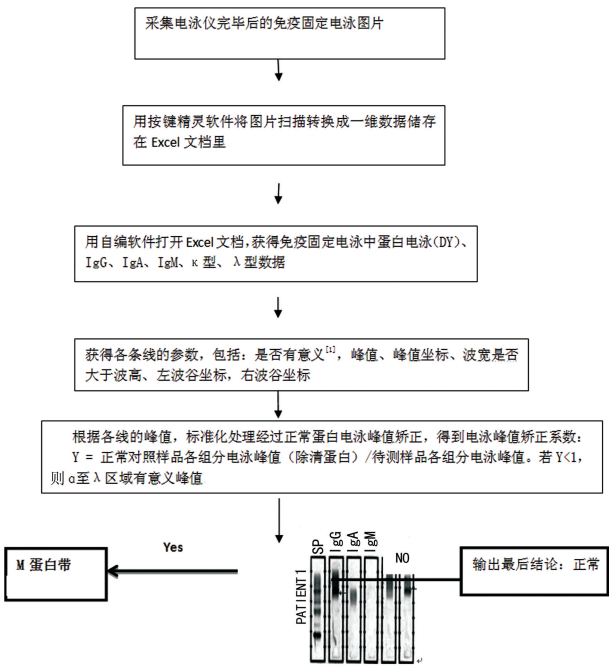
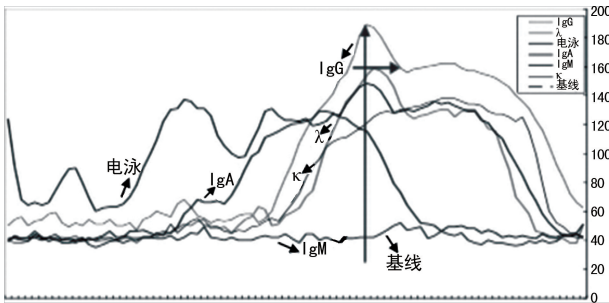


图 1 智能化鉴定 M 蛋白带流程图



注：基线与 IgM 重合。

图 2 免疫固定电泳 λ 型 IgG 单克隆免疫球蛋白病

2 结果

2.1 把图片生成的数据用自编软件的程序转化为直观的一个峰值图谱,储存在 Excel 文档中。

2.2 按免疫固定电泳的区带位置染色的深浅和峰高与峰宽的比例关系,采用计算机语言编程,智能化鉴定免疫固定电泳 M 蛋白成分,最后鉴别出不同类型的 M 蛋白,并做出结果。

2.2.1 采用免疫固定电泳法用 SPIFE3000 或 4000 型全自动电泳仪获得血清标本的 6 张凝胶电泳图。

2.2.2 扫描 6 张电泳图片,输入计算机。

2.2.3 用按键精灵软件,将 6 张电泳图片扫描转换成一维数据储存在 Excel 文档里。

2.2.4 用自编软件打开步骤 C 获得的 Excel 文档数据,软件可以从中获得免疫固定电泳中蛋白电泳

(DY)、IgG、IgA、IgM、κ 型、λ 型数据。获得各条线的参数,包括:峰值坐标、左波谷坐标、右波谷坐标、波宽是否大于波高峰值、各线峰值;然后根据患者蛋白电泳中 α 至 λ 区域的峰值与标准峰值(健康人)同区域的数据比较大小。如果患者输出的峰值比标准峰值大,则这条线的峰还要进一步判断是否有价值,也就是根据左波谷坐标至右波谷坐标的峰宽是否大于峰高,如果峰高大于峰宽,判断为有价值(含 M 蛋白带),然后进一步按流程鉴定为哪一类型的 M 蛋白。

2.2.5 输出鉴别结果 根据判断 M 蛋白带的理论依据寻找属于哪一类单克隆免疫球蛋白病,并打印报告,包括 κ 和 λ 链的比值。κ 和 λ 链的比值在采用传统免疫固定电泳方法肉眼判断时是无法辨别的,因为肉眼不能判断颜色的深浅确切值,而软件采取的是按键精灵的捕色软件,它可以测出 κ 和 λ 链的颜色深浅具体值,然而 κ 和 λ 链的比值在诊断多发性骨髓瘤是很有价值的。这个结果和免疫散射比浊法测定 κ 和 λ 链的比值具有良好相关性($n=38, r=0.889$),经统计 κ 和 λ 链比值,健康人参考值为 $1.16 \pm 0.2 (n=32)$,所有 M 蛋白血症患者中 κ 型患者 κ 和 λ 的比值明显大于 1.36,而 λ 型患者 κ 和 λ 的比值明显小于 0.96,这个软件可以同时测定 κ 和 λ 链,减少了患者再次测定 κ 和 λ 链所带来的麻烦。

本文提供一种利用鉴定免疫固定电泳 M 蛋白成分的系统,该系统包括以下设备:A 步骤的设备为 SPIFE3000 或 4000 型全自动电泳仪,获得血清标本的 6 张凝胶电泳图;B 步骤的设备为扫描仪:Canon KEW36823,扫描 6 张电泳图片,输入计算机;C 步骤的设备为计算机用按键精灵软件,将 6 张电泳图片扫描转换成一维数据储存在 Excel 文档中;D 步骤的设备为自编软件安装计算机,它可以直接打开步骤 C 获得的 Excel 文档数据,然后进一步按流程鉴定为哪一种类型的 M 蛋白并输出鉴别结果及图像。见图 3~5。

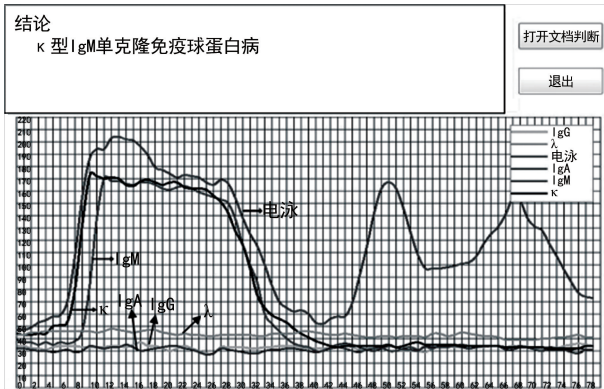


图 3 κ 型 IgM 单克隆免疫球蛋白病

2.3 实验的临床应用 由作者和临床免疫专家^[6]选

出 50 幅免疫固定电泳图像包含血清蛋白电泳图像。选择原则是既满足于常规检查的 M 蛋白类型,又包括很少见的类型和图谱上的特例图像,经扫描成图片后,用按键精灵电脑软件把图片转化为数据。采用计算机编程智能化鉴定免疫固定电泳 M 蛋白成分,通过对 50 幅免疫固定电泳图像和血清蛋白电泳图像的数据分析,评价自动扫描、鉴定的整体性能。

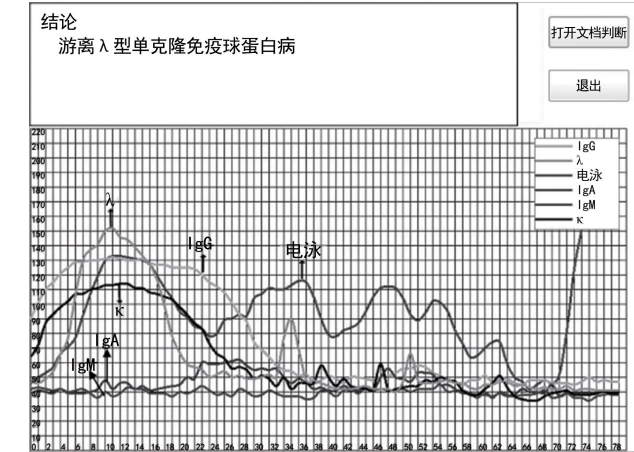


图 4 游离 λ 型单克隆免疫球蛋白病

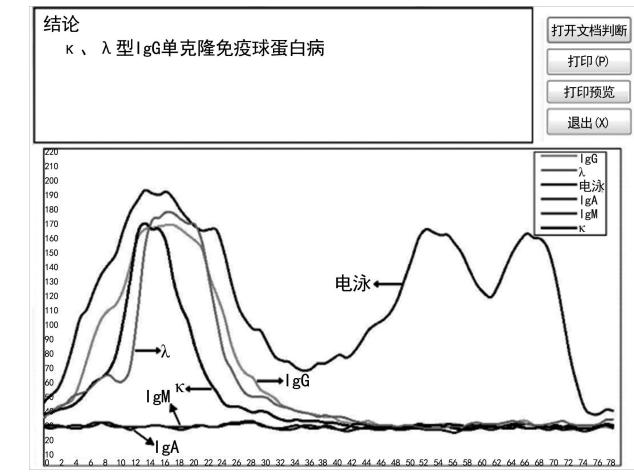


图 5 κ、λ 型 IgG 单克隆免疫球蛋白病

2.3.1 实验结果分析 采用联想电脑 M7150, CPU256M 内存,完成资料标本 50 幅扫描、分析及鉴定,M 蛋白区带 35,正确识别 33(94.3%),其中 M 蛋白 IgG 区带 κ 型 10,正确识别 10(100%),λ 型 5,正确识别 5(100%),κ、λ 混合型 2,正确识别 2(100%);M 蛋白 IgA 区带 κ 型 3,正确识别 3(100%),λ 型+游离 λ 型 1,正确识别 1(100%);M 蛋白 IgM 区带 κ 型 3,正确识别 3(100%),λ 型 1,正确识别 1(100%),κ、λ 混合型 1,正确识别 1(100%),混合型 λ 型 IgM + κ 型 IgG 1,正确识别 1(100%),游离 κ 区带 1,正确识别 1(100%),游离 λ 区带 7,正确识别 7(100%)。正常人区带 15,正确识别 15(100%)。

2.3.2 性能验证 智能和传统两种方法鉴定 M 蛋

白成分差异无统计学意义($P>0.05$)。智能化鉴定 M 蛋白成分方法的正确度为 96.0%,灵敏度为 94.3%,特异度为 100.0%,假阴性率(漏诊率)为 4.0%,假阳性率(误诊率)为 0.0%,阴性似然比为 6, Kappa 值为 0.908,阳性预测值为 100.0%,阴性预测值为 88.0%。

3 讨 论

M 蛋白血症是一种浆细胞异常增生的恶性肿瘤,浸润骨髓和软组织产生 M 球蛋白及多肽,引起骨骼破坏、肾脏病变和贫血,但该病起病缓慢,无症状期长短不定,短至几个月长达十余年,由于症状多样化及个体差异,出现的临床表现繁多和复杂,初发病常常不被发现而多被误诊。亚州人 MM 发病率为 0.5/100 000~1.0/100 000^[7],70 岁以上的老年人发生率为 3%,通过骨髓涂片、组织活检、X 线片来诊断外,其他血清蛋白电泳及免疫学方法已成为确诊 MM 的重要手段,其中血清免疫固定电泳是对 MM 患者血清中的单克隆免疫球蛋白进行分型鉴定,具有高特异度和高灵敏度,也可以识别 M 蛋白双克隆^[8]。目前缺乏标准化鉴别分型方法,临床医学检验中对 M 蛋白的分型、判断、识别都是人工肉眼观察,易产生主观判断误差及漏判。应用计算机模式识别技术,能做到与医学检验专家一样,智能快速、准确地识别细胞^[9]和 DNA 凝胶电泳分子量测量^[10],但未见智能鉴定 M 蛋白的成分。本系统应用电脑扫描模式识别技术,采用可对血清蛋白电泳和免疫固定电泳图谱实现自动识别、分类、综合分析给出正确鉴别结果,该方法可以同时计算出 κ 和 λ 链,因为肉眼不能判断颜色的确切深浅值,然而 κ 和 λ 链的比值诊断 MM 是很有价值的^[11-12]。这个软件可以同时测定 κ 和 λ 链比值,减少了患者再次测定 κ 和 λ 链所带来的麻烦。通过对 50 幅免疫固定电泳图像的数据分析,虽然合并游离轻链判断有漏检,但评价自动扫描整体性能的鉴定及临床应用准确度达 96%,Kappa 值达 0.908,与传统方法比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

4 结 论

计算机能做到与医学检验专家一样,智能快速、准确地识别 M 蛋白的成分,并鉴定出是哪一种类型的 M 蛋白病,提高了检查效率,减少了人为误差,给临床实验室带来了极大的方便,也为临床医生鉴别诊治和预后提供了科学依据。

参考文献

[1] 程薇,李玉龙,黄洲风,等.血清免疫固定电泳分型结合流式细胞术免疫表型分析在诊断多发性骨髓瘤中的作用[J].广东医学,2018,39(2):265-267. (下转第 2688 页)

- [18] 韩冰, 吴翠萍, 赵芯, 等. 数字 PCR 和荧光定量 PCR 诊断急性期布鲁菌病的灵敏度比较初步研究[J]. 传染病信息, 2019, 32(4): 312-316.
- [19] 宋能, 谭杨, 罗凤玲, 等. 微滴数字 PCR 定量检测全血样品中结核分枝杆菌特异 CFP10 基因[J]. 中国生化药物杂志, 2016, 36(2): 10-15.
- [20] 徐万洲, 李娟, 何晓云, 等. 血清 2019 新型冠状病毒 IgM 和 IgG 抗体联合检测在新型冠状病毒感染中的诊断价值[J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(3): 230-233.
- [21] MU D, YAN L, TANG H, et al. A sensitive and accurate quantification method for the detection of hepatitis B virus covalently closed circular DNA by the application of a droplet digital polymerase chain reaction amplification system[J]. Biotechnol Lett, 2015, 37(10): 2063-2073.
- [22] ABACHIN E, CONVERS S, FALQUE S, et al. Comparison of reverse-transcriptase qPCR and droplet digital PCR for the quantification of dengue virus nucleic acid[J]. Biologicals, 2018, 52(1): 49-54.
- [23] 李晓燕, 朱丛中, 郭丽茹, 等. 嵌合人偏肺病毒(hMPV)表位的重组流感病毒免疫保护效果[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2020, 40(1): 11-18.
- [24] WEERAKOON K G, GORDON C A, WILLIAMS G M, et al. Droplet digital PCR diagnosis of human schistosomiasis: parasite cell-free DNA detection in diverse clinical samples[J]. J Infect Dis, 2017, 216(12): 1611-1622.
- [25] JEANNOT E, BECETTE V, CAMPITELLI M, et al. Circulating human papillomavirus DNA detected using droplet digital PCR in the serum of patients diagnosed with early stage human papillomavirus-associated invasive carcinoma[J]. J Pathol Clin Res, 2016, 2(4): 201-209.
- [26] USHIO R, YAMAMOTO M, NAKASHIMA K, et al. Digital PCR assay detection of circulating mycobacterium tuberculosis DNA in pulmonary tuberculosis patient plasma[J]. Tuberculosis, 2016, 99: 47-53.
- [27] 席晓霞. 初生婴儿肠道菌群与母体各部位菌群相关性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2017.
- [28] 郑璐. 微液滴数字 PCR 技术和非分子诊断方法对非中性粒细胞缺乏宿主肺曲霉菌病的临床应用价值研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2019.
- [29] WU X L, LIN H, CHEN S J, et al. Development and application of a reverse transcriptase droplet digital PCR (RT-ddPCR) for sensitive and rapid detection of Japanese encephalitis virus[J]. J Virol Methods, 2017, 248(1): 166-171.
- [30] PHOLWAT S, STROUP S, FOONGLADDA S, et al. Digital PCR to detect and quantify heteroresistance in drug resistant mycobacterium tuberculosis[J]. PLoS One, 2017, 8(2): e57238.
- [31] WHALE A S, BUSHELL C A, GRANT P R, et al. Detection of rare drug resistance mutations by digital PCR in a human influenza A virus model system and clinical samples[J]. J Clin Microbiol, 2016, 54(2): 392-400.
- [32] DOBNIK D, DEMSAR T, HUBER I, et al. Inter-laboratory analysis of selected genetically modified plant reference materials with digital PCR[J]. Anal Bioanal Chem, 2018, 410(1): 211-221.
- [33] KLINE M C, HOLDEN M J, SCOTT C, et al. Standard reference material 2366 for measurement of human cytomegalovirus DNA[J]. J Mol Diagn, 2013, 15(2): 177-185.

(收稿日期: 2020-02-02 修回日期: 2020-06-10)

(上接第 2679 页)

- [2] 唐洁, 梁效功, 薛丽, 等. 多参数流式细胞术在多发性骨髓瘤早期诊断中的应用价值[J]. 中国卫生检验杂志, 2016, 26(2): 236-239.
- [3] 郭晓聪, 徐晓娅, 刘伟平. 血清蛋白电泳和免疫固定电泳对多发性骨髓瘤的诊断价值[J]. 实用医药杂志, 2019, 36(5): 427-429.
- [4] 毕德成. 免疫球蛋白定量和免疫固定电泳对多发性骨髓瘤的临床诊断价值研究[J]. 中外女性健康研究, 2017, 25(12): 55-56.
- [5] 陈云峰, 葛亮, 沈建江. 免疫固定电泳及免疫球蛋白定量在多发性骨髓瘤诊断和分型中的应用[J]. 中国实验诊断学, 2016, 20(11): 881-883.
- [6] 宋鉴清. 电泳技术临床应用——电泳图谱[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2006: 85-91.
- [7] LEE J H, YOON S S, SUH C, et al. Multiple myeloma in Korea: past, present, and future perspectives. experience of the Korean multiple myeloma working party[J]. Int J Hematol, 2010, 92(1): 52-57.
- [8] 杨强, 侯健, 陈文明, 等. 双克隆免疫球蛋白多发性骨髓瘤六例报告并文献复习[J]. 中华血液学杂志, 2016, 37(7): 614-616.
- [9] MANNAA C, NANNIC L, LUMINID A, et al. Artificial intelligence techniques for embryo and oocyte classification[J]. Reprod Biomed Online, 2013, 26(1): 42-49.
- [10] TAYLOR D, POWERS D. Teaching artificial intelligence to read electropherograms[J]. Forensic Sci Int Genet, 2016, 25: 10-18.
- [11] 唐江涛, 李立新, 冯伟华, 等. 免疫固定电泳和血轻链比值诊断以肾脏损伤为首发症状的多发性骨髓瘤的价值[J]. 四川大学学报(医学版), 2016, 47(4): 551-555.
- [12] 吴颖涛, 邹琳, 黄前川, 等. 血清游离轻链及其比值在轻链型多发性骨髓瘤中的应用价值[J]. 华南国防医学杂志, 2019, 33(7): 458-461.

(收稿日期: 2020-02-11 修回日期: 2020-06-17)