

不同葡萄糖浓度对非小细胞肺癌¹⁸F-FDG 摄取的影响

景山 李亚明 李雪娜 崔燕 杜补林 陈松

中国医科大学附属第一医院核医学科, 沈阳 110001

通信作者: 李亚明, Email: ymli2001@163.com

【摘要】 目的 探讨不同葡萄糖浓度对非小细胞肺癌(NSCLC)¹⁸F-FDG 摄取及葡萄糖转运蛋白(Glut)-1、Glut-3 表达的影响。方法 采用 NSCLC 细胞株 A549 细胞作为研究对象, 配制葡萄糖浓度分别为 3.9、5.0、6.1、8.3 和 11.1 mmol/L 的 DMEM 培养基, 将 A549 细胞在不同葡萄糖浓度培养基中培养 24 h。每组加入 3.7×10^4 Bq 的¹⁸F-FDG, 1 h 后用 γ 计数器分别测量各组细胞的放射性计数, 并用 Western blot 检测各组细胞 Glut-1、Glut-3 表达情况。多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 Bonferroni 法, 相关性分析采用 Pearson 相关分析。结果 葡萄糖浓度 3.9、5.0、6.1、8.3 和 11.1 mmol/L 组 A549 细胞¹⁸F-FDG 摄取率分别为 $(4.89 \pm 0.83)\%$ 、 $(4.07 \pm 0.23)\%$ 、 $(3.66 \pm 0.29)\%$ 、 $(3.34 \pm 0.16)\%$ 和 $(3.29 \pm 0.24)\%$, 差异有统计学意义 ($F = 7.05$, $P = 0.006$); 与 3.9 mmol/L 组相比, 8.3、11.1 mmol/L 组¹⁸F-FDG 摄取率降低, 差异均有统计学意义 (P 值: 0.013、0.010), 余各组间¹⁸F-FDG 摄取率差异均无统计学意义 (P 值: 0.057~0.999)。各组 Glut-1 和 Glut-3 的相对表达量分别为 1.17 ± 0.10 、 1.00 ± 0.00 、 0.84 ± 0.07 、 0.70 ± 0.18 、 0.61 ± 0.16 和 1.14 ± 0.05 、 1.00 ± 0.00 、 0.86 ± 0.12 、 0.71 ± 0.05 、 0.40 ± 0.06 , 差异均有统计学意义 (F 值: 10.26、51.94, P 值: 0.001, < 0.001)。¹⁸F-FDG 摄取率与 Glut-1、Glut-3 的表达呈正相关 (r 值: 0.775、0.744, 均 $P = 0.001$)。结论 当葡萄糖浓度为 3.9~11.1 mmol/L 时, 其变化会影响 A549 细胞¹⁸F-FDG 摄取以及 Glut-1、Glut-3 的表达, 且¹⁸F-FDG 摄取率与 Glut-1、Glut-3 的表达具有相关性。

【关键词】 癌, 非小细胞肺; 葡萄糖; 氟脱氧葡萄糖 F18; 葡萄糖转运体 1 型; 葡萄糖转运体 3 型; 肿瘤细胞, 培养的

基金项目: 国家自然科学基金 (81771868)

DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20201207-00438

Effect of different glucose concentrations on the uptake of ¹⁸F-FDG in non-small cell lung cancer

Jing Shan, Li Yaming, Li Xuena, Cui Yan, Du Bulin, Chen Song

Department of Nuclear Medicine, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China

Corresponding author: Li Yaming, Email: ymli2001@163.com

【Abstract】 **Objective** To explore the effect of different glucose concentrations on the uptake of ¹⁸F-FDG and the expression of glucose transport protein (Glut)-1 and Glut-3 in non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** NSCLC cell line A549 cells were cultured in DMEM medium with glucose concentrations of 3.9, 5.0, 6.1, 8.3 and 11.1 mmol/L respectively for 24 h. Then 3.7×10^4 Bq ¹⁸F-FDG was added into each group and γ counter was used to measure the radioactivity count 1 h later. Western blot was used to examine the expression of Glut-1 and Glut-3. One-way analysis of variance and Bonferroni test were used for data analysis. The correlation was analyzed by Pearson correlation analysis. **Results** The ¹⁸F-FDG uptake rates in 3.9, 5.0, 6.1, 8.3 and 11.1 mmol/L groups were $(4.89 \pm 0.83)\%$, $(4.07 \pm 0.23)\%$, $(3.66 \pm 0.29)\%$, $(3.34 \pm 0.16)\%$ and $(3.29 \pm 0.24)\%$, respectively ($F = 7.05$, $P = 0.006$). Compared with 3.9 mmol/L group, the ¹⁸F-FDG uptake rates in 8.3 and 11.1 mmol/L groups were reduced and differences were statistically significant (P values: 0.013, 0.010), while there were no statistical differences between the other groups (P values: 0.057~0.999). The relative expressions of Glut-1 and Glut-3 in each group were 1.17 ± 0.10 , 1.00 ± 0.00 , 0.84 ± 0.07 , 0.70 ± 0.18 , 0.61 ± 0.16 , and 1.14 ± 0.05 , 1.00 ± 0.00 , 0.86 ± 0.12 , 0.71 ± 0.05 , 0.40 ± 0.06 , respectively (F values: 10.26 and 51.94, P values: 0.001, < 0.001). Moreover, the ¹⁸F-FDG uptake rates were positively correlated with the expression of Glut-1 and Glut-3 (r values: 0.775 and 0.744, both $P = 0.001$). **Conclusions** When the glucose concentration fluctuates within 3.9~11.1 mmol/L, the change of glucose will affect the ¹⁸F-FDG uptake rate and the expression of Glut-1 and Glut-3 in A549 cells. Moreover, the ¹⁸F-FDG uptake rate is related to the expressions of Glut-1 and Glut-3.

【Key words】 Carcinoma, non-small-cell lung; Glucose; Fluorodeoxyglucose F18; Glucose transporter type 1; Glucose transporter type 3; Tumor cells, cultured

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81771868)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20201207-00438

肺癌是目前发病率最高的肿瘤^[1],其中以非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)最常见,占全部肺癌的 80%~85%^[2]。¹⁸F-FDG PET/CT 显像不仅可以用于 NSCLC 的诊断,近年来其在疗效评价方面的应用也得到了认可^[3]。SUV 是 PET/CT 的重要定量指标,其大小受患者血糖水平的影响。正常人空腹血糖为 3.9~6.1 mmol/L,多数指南要求行¹⁸F-FDG PET/CT 显像前的血糖控制在 11.1 mmol/L 以下,因为血糖大于 11.1 mmol/L 会导致¹⁸F-FDG 在体内分布异常,使肿瘤的检出率降低^[4];而有些指南,如欧洲核医学会指南建议患者血糖最好控制在 8.3 mmol/L 以下,甚至控制在 4~7 mmol/L 再行¹⁸F-FDG PET/CT 显像^[5]。目前,患者血糖低于 11.1 mmol/L 是否会对肺癌细胞¹⁸F-FDG 摄取产生影响还没有一致的结论,且目前研究多为临床研究,缺乏体外实验的支持。本研究通过改变 A549 细胞所在培养基的葡萄糖浓度,探究不同血糖水平是否会影响 NSCLC 细胞¹⁸F-FDG 摄取及葡萄糖转运蛋白(glucose transport protein, Glut)-1、Glut-3 的表达,进而影响 NSCLC 的诊断及疗效评价结果。

材料与方法

1. 细胞株、仪器及试剂。NSCLC 细胞株 A549 细胞购于中国科学院上海生科院细胞资源中心。¹⁸F-FDG 由中国医科大学附属第一医院核医学科制备(放化纯>95%);DMEM 高糖培养基、DMEM 无糖培养基购自天津市灏洋生物制品科技有限责任公司;体积分数 10% 胎牛血清购自美国 Clark Bioscience 公司;二甲基亚砜购自美国 Sigma 公司;Glut-1 抗体、Glut-3 抗体购自英国 Abcam 公司,甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体购自美国 Proteintech 公司,羊抗鼠二抗、羊抗兔二抗购自北京中杉金桥生物技术有限公司;BCA 蛋白定量试剂盒、聚丙烯酰胺凝胶电泳试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司; γ 计数器购自安徽中科中佳科学仪器有限公司。

2. 肿瘤细胞¹⁸F-FDG 摄取率的检测。将无糖、高糖 DMEM 培养基按不同体积混合后加入体积分数 10% 胎牛血清,配制出葡萄糖浓度分别为 3.9、5.0、6.1、8.3 和 11.1 mmol/L 的 DMEM 培养基。在 6 孔细胞培养板中每孔接种 1.0×10^6 个细胞,使各组细胞在不同葡萄糖浓度培养基下生长 24 h。向每孔中

加入 3.7×10^4 Bq、体积为 50 μ l 的¹⁸F-FDG,1 h 后采用 γ 计数器分别测量每孔上清培养液(F)和细胞(B)摄取的放射性计数,计算各组细胞的¹⁸F-FDG 摄取率 = $B / (B + F) \times 100\%$ 。实验重复 3 次。

3. Western blot 检测 Glut-1、Glut-3 的表达。将在不同葡萄糖浓度培养基下生长 24 h 的 A549 细胞裂解并提取蛋白质,按照 BCA 蛋白定量试剂盒的说明书进行蛋白质定量。将蛋白质变性后上样、电泳,并于 Trans-Blot Turbo 快速转印仪(美国 Bio-Rad 公司)中转印 7 min(电压 25 V)。将转印后的聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜(美国 Bio-Rad 公司)在质量分数 5% 脱脂奶粉中封闭 1.5 h,然后分别放在 Glut-1(1:5 000 稀释)、Glut-3(1:8 000 稀释)、GAPDH(1:2 000 稀释)一抗中 4 $^{\circ}$ C 温育过夜。次日分别在相应的二抗中 37 $^{\circ}$ C 温育 1.5 h。用电化学发光(electrochemiluminescence, ECL)液(美国 Bio-Rad 公司)PVDF 膜曝光,并用 Image Lab 软件(美国 Bio-Rad 公司)分析目的蛋白质及内参蛋白 GAPDH 条带灰度,以葡萄糖浓度 5.0 mmol/L 组的表达量作为参照,计算其他组蛋白质的相对表达量。实验重复 3 次。

4. 统计学处理。使用 IBM SPSS 21.0 软件分析数据。符合正态分布的定量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 Bonferroni 法;相关性分析采用 Pearson 相关分析。 $P < 0.05$ 为差异或相关性有统计学意义。

结 果

1. 葡萄糖浓度对¹⁸F-FDG 摄取率的影响。葡萄糖浓度为 3.9、5.0、6.1、8.3 和 11.1 mmol/L 组的 A549 细胞的¹⁸F-FDG 摄取率见表 1,不同葡萄糖浓度下 A549 细胞¹⁸F-FDG 摄取率的差异有统计学意义($F = 7.05$, $P = 0.006$)。其中,与 3.9 mmol/L 组相比,8.3 和 11.1 mmol/L 组¹⁸F-FDG 摄取率差异有统计学意义(P 值:0.013、0.010),余各组间差异均无统计学意义(P 值:0.057~0.999)。另外,与 3.9 mmol/L 组相比,8.3 及 11.1 mmol/L 组的¹⁸F-FDG 摄取下降率分别为 $(30.75 \pm 9.81)\%$ 和 $(31.79 \pm 10.74)\%$,均超过 30%。

2. 葡萄糖浓度对 Glut-1、Glut-3 表达的影响。葡萄糖浓度为 3.9、5.0、6.1、8.3 和 11.1 mmol/L 组的 Glut-1 的相对表达量见表 1,差异有统计学意义($F = 10.26$, $P = 0.001$)。其中,与 3.9 mmol/L 组相比,8.3、

表 1 不同葡萄糖浓度组间的¹⁸F-FDG 细胞摄取率及 Glut 表达的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	细胞摄取率(%)	Glut-1 表达	Glut-3 表达
3.9 mmol/L 组	4.89±0.83	1.17±0.10	1.14±0.05
5.0 mmol/L 组	4.07±0.23	1.00±0.00	1.00±0.00
6.1 mmol/L 组	3.66±0.29	0.84±0.07	0.86±0.12 ^a
8.3 mmol/L 组	3.34±0.16 ^a	0.70±0.18 ^a	0.71±0.05 ^{ab}
11.1 mmol/L 组	3.29±0.24 ^a	0.61±0.16 ^{ab}	0.40±0.06 ^{abcd}
<i>F</i> 值	7.05	10.26	51.94
<i>P</i> 值	0.006	0.001	<0.001

注:^a与 3.9 mmol/L 组比较,差异有统计学意义;^b与 5.0 mmol/L 组比较,差异有统计学意义;^c与 6.1 mmol/L 组比较,差异有统计学意义;^d与 8.3 mmol/L 组比较,差异有统计学意义;Glut 为葡萄糖转运蛋白

11.1 mmol/L 组 Glut-1 表达差异均有统计学意义(P 值:0.009、0.002);与 5.0 mmol/L 组相比,11.1 mmol/L 组的 Glut-1 的表达差异有统计学意义($P=0.027$);余组间 Glut-1 的表达差异均无统计学意义(P 值:0.081~0.999)。各组 Glut-3 的相对表达量亦见表 1,差异有统计学意义($F=51.94, P<0.001$)。其中,与 3.9 mmol/L 组相比,6.1、8.3 和 11.1 mmol/L 组的 Glut-3 的表达差异有统计学意义(P 值:0.006、<0.001、<0.001);与 5.0 mmol/L 组相比,8.3、11.1 mmol/L 组 Glut-3 的表达差异有统计学意义(P 值:0.004、<0.001);与 6.1 mmol/L 及 8.3 mmol/L 组相比,11.1 mmol/L 组 Glut-3 的表达差异有统计学意义(P 值:<0.001、0.003);余各组间 Glut-3 的表达差异均无统计学意义(P 值:0.198~0.333)。

3. ¹⁸F-FDG 摄取率与 Glut-1、Glut-3 相关性分析。A549 细胞 Glut-1、Glut-3 的表达均与¹⁸F-FDG 摄取率呈正相关(r 值:0.775、0.744,均 $P=0.001$)。

讨 论

¹⁸F-FDG 作为葡萄糖的类似物,与血液中的葡萄糖存在竞争性抑制,故血糖高可导致¹⁸F-FDG 摄取减低^[6]。有些研究认为,患者血糖水平小于 11.1 mmol/L 时,血糖水平对肺癌患者的 SUV 不会产生影响^[7];但有些研究却认为血糖水平大于 7.0 mmol/L 就会使肺癌的误诊率大大增加^[8]。利用经血糖水平校正的 SUV_{max} (glucose corrected SUV_{max} , GC- SUV_{max}) 作为 SUV_{max} 的校正值,可以更好地避免血糖对肿瘤¹⁸F-FDG 摄取的影响^[9]。

本研究结果显示,当葡萄糖浓度为 3.9~11.1 mmol/L 时,随着葡萄糖浓度升高,¹⁸F-FDG 摄取率不断下降;当葡萄糖浓度有较大幅度升高时,会显著影响 A549 细胞的¹⁸F-FDG 摄取率。PET/CT 可用¹⁸F-

FDG 摄取的变化率来评价肿瘤患者的治疗效果,欧洲癌症研究和治疗组织 (European Organization for Research and Treatment of Cancer, EORTC) PET 反应标准认为,当¹⁸F-FDG 摄取下降率大于 25% 时,可认为治疗有效^[10]。而实体瘤疗效 PET 评价标准 (PET response criteria in solid tumors, PERCIST) 则以¹⁸F-FDG 摄取变化率是否超过 30% 作为判断肿瘤反应和进展的标准^[11]。本实验中,与葡萄糖浓度 3.9 mmol/L 组相比,葡萄糖浓度 8.3 及 11.1 mmol/L 组的¹⁸F-FDG 摄取下降率分别为 (30.75±9.81)% 和 (31.79±10.74)%,均超过 30%。因此,血糖水平可能会对治疗前后患者肿瘤的 SUV 产生较大的影响,从而影响疗效评价结果;这提示即使患者血糖水平小于 11.1 mmol/L 也需进行血糖校正,从而帮助临床更加真实准确地进行疾病诊断及疗效评估。

有研究表明,慢性低血糖患者 Glut-1、Glut-3 表达增加,而慢性高血糖患者 Glut-1、Glut-3 表达下调,提示这可能是机体预防细胞损伤的适应性反应^[12]。在体外培养中,培养液葡萄糖浓度升高也同样可以降低细胞 Glut-1 及 Glut-3 的表达^[13-14],一方面是 Glut 从细胞内的贮存囊泡向细胞膜的转位及 Glut 内在活性的改变,另一方面也可以通过调控 Glut 的信使 RNA (message RNA, mRNA) 及蛋白质的合成;且培养液中葡萄糖的浓度与 Glut 蛋白或 mRNA 的表达呈负相关^[14]。Glut-1、Glut-3 可介导肿瘤组织对葡萄糖及¹⁸F-FDG 的摄取。肿瘤细胞中 Glut-1、Glut-3 表达增高^[15]。Kaira 等^[16]认为肺癌患者的 SUV 与 Glut-1、Glut-3 的表达量密切相关。有研究表明,在 A549 细胞中,细胞¹⁸F-FDG 摄取率与 Glut-1、Glut-3 的表达呈正相关^[17],这与本研究的结果相一致。但本研究结果只是表明细胞¹⁸F-FDG 摄取率与 Glut 的表达间有一定的相关性,并不能说明当培养基葡萄糖浓度升高时,A549 细胞膜上的 Glut 表达降低是影响细胞¹⁸F-FDG 摄取率的主要原因,引起¹⁸F-FDG 摄取降低主要的原因仍为葡萄糖升高而导致的竞争性抑制作用。

本研究还有许多不足之处。首先,研究对象为单一的 NSCLC 细胞株 A549 细胞,不能代表所有肿瘤细胞的生物学特征。其次,本研究细胞培养时间短(24 h),仅可反映短期血糖波动对¹⁸F-FDG 摄取率的影响,不适用于长期血糖升高的患者。最后,血糖水平变化会导致体内其他影响 SUV 的因素也发生变化,实验的结果应用于临床有一定的局限性。

综上,本研究比较了不同葡萄糖浓度下 A549

细胞¹⁸F-FDG 摄取和 Glut-1、Glut-3 的表达情况,对 NSCLC 患者¹⁸F-FDG PET 显像前后血糖水平变化给 SUV 带来的细微影响及血糖水平的校正有一定的指导意义,可以帮助临床更加真实准确地判断疗效评价结果。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 景山:研究实施、论文撰写;李亚明:研究指导、论文修改、经费支持;李雪娜、杜补林:研究指导;崔燕:研究指导、论文修改;陈松:研究指导、统计分析

参 考 文 献

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424. DOI:10.3322/caac.21492.
- [2] Wei S, Tian J, Song X, et al. Causes of death and competing risk analysis of the associated factors for non-small cell lung cancer using the Surveillance, Epidemiology, and End Results database[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2018, 144(1): 145-155. DOI:10.1007/s00432-017-2522-3.
- [3] Seki S, Fujisawa Y, Yui M, et al. Dynamic contrast-enhanced area-detector CT vs dynamic contrast-enhanced perfusion MRI vs FDG-PET/CT: comparison of utility for quantitative therapeutic outcome prediction for NSCLC patients undergoing chemoradiotherapy[J]. Magn Reson Med Sci, 2020, 19(1): 29-39. DOI:10.2463/mrms.mp.2018-0158.
- [4] Rosica D, Cheng SC, Hudson M, et al. Effects of hyperglycemia on fluorine-18-fluorodeoxyglucose biodistribution in a large oncology clinical practice[J]. Nucl Med Commun, 2018, 39(5): 417-422. DOI:10.1097/MNM.0000000000000829.
- [5] Boellaard R, Delgado-Bolton R, Oyen WJ, et al. FDG PET/CT: EANM procedure guidelines for tumour imaging; version 2.0[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2015, 42(2): 328-354. DOI:10.1007/s00259-014-2961-x.
- [6] Diederichs CG, Staib L, Glatting G, et al. FDG PET: elevated plasma glucose reduces both uptake and detection rate of pancreatic malignancies[J]. J Nucl Med, 1998, 39(6): 1030-1033.
- [7] Eskian M, Alavi A, Khorasanizadeh M, et al. Effect of blood glucose level on standardized uptake value (SUV) in ¹⁸F-FDG PET-scan: a systematic review and meta-analysis of 20,807 individual SUV measurements[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2019, 46(1): 224-237. DOI:10.1007/s00259-018-4194-x.
- [8] Lu T, Zhan C, Huang Y, et al. Small pulmonary granuloma is often misdiagnosed as lung cancer by positron emission tomography/

computer tomography in diabetic patients[J]. Interact Cardiovasc Thorac Surg, 2019, 28(3): 394-398. DOI:10.1093/icvts/ivy263.

- [9] Konings R, van Gool MH, Bard MP, et al. Prognostic value of pre-operative glucose-corrected maximum standardized uptake value in patients with non-small cell lung cancer after complete surgical resection and 5-year follow-up[J]. Ann Nucl Med, 2016, 30(5): 362-368. DOI:10.1007/s12149-016-1070-2.
- [10] Young H, Baum R, Cremerius U, et al. Measurement of clinical and subclinical tumour response using [¹⁸F]-fluorodeoxyglucose and positron emission tomography: review and 1999 EORTC recommendations. European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) PET Study Group[J]. Eur J Cancer, 1999, 35(13): 1773-1782. DOI:10.1016/s0959-8049(99)00229-4.
- [11] Wahl RL, Jacene H, Kasamon Y, et al. From RECIST to PERCIST: evolving considerations for PET response criteria in solid tumors[J]. J Nucl Med, 2009, 50(Suppl 1): 122S-150S. DOI:10.2967/jnumed.108.057307.
- [12] Leão LL, Tangen G, Barca ML, et al. Does hyperglycemia down-regulate glucose transporters in the brain? [J]. Med Hypotheses, 2020, 139: 109614. DOI:10.1016/j.mehy.2020.109614.
- [13] Shen XH, Han YJ, Yang BC, et al. Hyperglycemia reduces mitochondrial content and glucose transporter expression in mouse embryos developing in vitro[J]. J Reprod Dev, 2009, 55(5): 534-541. DOI:10.1262/jrd.20231.
- [14] 刘志红.葡萄糖转运蛋白[J].肾脏病与透析肾移植杂志, 2000, 9(2): 153-158. DOI:10.3969/j.issn.1006-298X.2000.02.015.
Liu ZH. Glucose transporters [J]. J Nephrol Dialy Transplant, 2000, 9(2): 153-158. DOI:10.3969/j.issn.1006-298X.2000.02.015.
- [15] Sarikaya I, Sarikaya A, Sharma P. Assessing the effect of various blood glucose levels on ¹⁸F-FDG activity in the brain, liver, and blood pool[J]. J Nucl Med Technol, 2019, 47(4): 313-318. DOI:10.2967/jnmt.119.226969.
- [16] Kaira K, Serizawa M, Koh Y, et al. Biological significance of ¹⁸F-FDG uptake on PET in patients with non-small-cell lung cancer[J]. Lung Cancer, 2014, 83(2): 197-204. DOI:10.1016/j.lungcan.2013.11.025.
- [17] 李天然,雷勇,宋斌,等.不同干预条件下肝癌与肺癌细胞摄取 FDG 对照实验研究[J/CD].功能与分子医学影像学(电子版), 2012, 1(3): 165-172.
Li TR, Lei Y, Song B, et al. Experimental study of the different metastatic potential hepatocellular carcinoma cells and lung cancer cell FDG uptake[J/CD]. Funct Mol Med Imaging (Electronic Edition), 2012, 1(3): 165-172.

(收稿日期:2020-12-07)