

CDK4/6 抑制剂联合内分泌治疗 晚期乳腺癌研究进展

董 熠,李祥攀,宋启斌

(武汉大学人民医院肿瘤中心,湖北 武汉 430060)

摘要:近年来,多项研究显示细胞周期蛋白依赖性激酶 4 和 6(CDK4/6)抑制剂对于激素受体阳性晚期乳腺癌患者具有较好的疗效,甚至可改善内分泌耐药问题。相关研究表明 CDK4/6 抑制剂联合内分泌治疗在临床应用中极具前景。

关键词:乳腺癌;细胞周期;周期蛋白依赖性激酶;内分泌治疗

中图分类号:R737.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2017)09-0807-05
doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2017.09.B014

Research Progress on Cyclin-dependent Kinase 4 and 6 Combined with Endocrine Treatment in Breast Cancer

DONG Yi, LI Xiang-pan, SONG Qi-bin

(Cancer Center, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China)

Abstract: Recently, cyclin-dependent kinase 4 and 6(CDK4/6) inhibitors are identified to be useful in breast cancer patients with positive estrogen receptor, and could improve the efficacy of endocrine therapy against HR+ breast cancer. The ongoing studies confirm the benefits and tolerability of CDK 4/6 inhibition, and the combination therapy with endocrine agents may become a new standard for breast cancer.

Subject words: breast cancer; cell cycle; cyclin-dependent kinase; endocrine treatment

乳腺癌内分泌治疗在临床上面临的主要问题是原发性和继发性耐药。即使雌激素受体(estrogen receptor, ER)和孕激素受体(progestogen receptor, PR)均为阳性,也只有约 70%的患者治疗有效,但是这类患者在后期仍会不可避免出现耐药情况。深入认识乳腺癌的生物学特征是寻找有效治疗靶点的基础,近期关于 CDK4/6 抑制剂联合内分泌治疗的相关进展逐渐被报道,并取得显著成果。

1 HR+/HER2-乳腺癌

乳腺癌是激素依赖性肿瘤,长期雌激素刺激会增加乳腺癌复发和转移的风险。据流行病学研究报

道,根据乳腺癌患者激素受体及 HER2 表达情况进行分类,70%的人群为 HR+、HER2⁻[1]。内分泌治疗由于其低毒、高效、经济的特点,成为该类晚期乳腺癌患者标准治疗,目前临床主要用于术后辅助内分泌治疗、复发转移后的治疗及新辅助治疗。其药物主要包括:选择性雌激素受体拮抗剂(他莫西芬);雌激素抑制剂(芳香化酶抑制剂 AI:来曲唑、阿那曲唑、依西美坦);选择性雌激素受体下调剂(氟维司群)。以他莫昔芬为代表的内分泌治疗药物大大降低了激素受体阳性乳腺癌患者的复发率和死亡率。据报道,他莫昔芬辅助治疗可降低乳腺癌 40%复发和 20%及死亡风险,且疗效不依赖于年龄、月经状态、淋巴结转移及既往是否接受化疗;而 AI 替代他莫昔芬 5 年后的内分泌治疗相较于继续使用他莫昔芬者,显著降低绝经后乳腺癌患者的复发风险[2]。FIRST 多中心 III 期随机临床试验[3]中,比较了氟维司群与阿那曲唑一线治疗晚期乳腺癌的疗效;在 79.5%的患

基金项目:国家自然科学基金(81372407);湖北省自然科学基金(2014CFB394);湖北省卫计委项目(WJ2017M027)

通讯作者:宋启斌,主任医师,教授,博士;武汉大学人民医院肿瘤中心主任,湖北省武汉市武昌区张之洞路(原紫阳路)99号(430060);
E-mail:qibinsong@163.com

收稿日期:2017-01-11; **修回日期:**2017-02-25

者治疗终止时开始随访分析, 氟维司群组和阿那曲唑组的中位进展时间分别为 23.4 个月和 13.1 个月, 氟维司群组的疾病进展风险下降了 34% (OR=0.66, 95%CI:0.47~0.92, P=0.01)。长期随访的研究数据证实在 ER 阳性晚期乳腺癌患者中, 氟维司群 500mg 组的中位进展时间优于阿那曲唑组; 约 65% 患者死亡后通过未经校正的 Log-rank 检验评估总生存期(OS), 并回顾不同亚组间的治疗效应, 氟维司群 500mg 组 vs 阿那曲唑组 OS 的 RR 为 0.70 (95%CI:0.50~0.98; P=0.04), 中位 OS 分别为 54.1 个月和 8.4 个月; 亚组分析显示, 组间治疗效果大致相当且未观察到新的安全问题; 但是本研究总生存分析存在一定局限: OS 分析是在疾病进展时分析后增加的, 原方案并无计划; 并非所有患者都进入了新增的 OS 随访^[4]。更大规模的前瞻性 III 期 FALCON 研究^[5], 比较了氟维司群 500mg 与阿那曲唑用于绝经后激素受体阳性晚期乳腺癌一线内分泌治疗的疗效和安全性, 共纳入了 462 例 HR+、HER2-局晚期或转移性乳腺癌患者, 结果显示, 中位随访 25 个月, 氟维司群能够显著性改善患者无进展生存期(PFS), 分别为 16.6 个月和 13.8 个月 (HR=0.797, 95%CI:0.637~0.999, P=0.0486); 氟维司群一线治疗的客观缓解率 (ORR) 达到 46.1%, 临床获益率 (CBR) 达到 78.3%; FALCON 研究根据 II 期研究 (FIRST) 的结果, 选择了未经过内分泌治疗的人群, 最少的获得性耐药突变, 更有利于直接对比两种药物的疗效, 使得该类人群比较的结果对临床实践具有指导价值。

尽管内分泌治疗不断发展并完善, 但是仍有相当部分患者在治疗后会出现内分泌抵抗和疾病进展, 因此延长或重建内分泌治疗敏感性是重要的治疗方向^[6]。过去 20 年间, 内分泌治疗耐受的分子机制逐渐被报道, 而各种联合内分泌治疗的临床试验也层出不穷。一项多中心、随机双盲临床试验, 对 1112 例局部晚期或已经转移的乳腺患者随机分组; 其中 550 例接受来曲唑加替西罗莫司治疗, 553 例接受来曲唑加安慰剂治疗; 中位随访时间 9.5 个月 (0~27.2 个月)。来曲唑联合替西罗莫司组患者发生更多的 3~4 级不良事件 (37% vs 24%)。在整体人群中并没有改善 PFS (中位时间 9 个月, RR=0.90, 95%CI:0.76~1.07, P=0.25), 既往接受过辅助内分泌治疗的 40% 患者同样也没有获益^[7]。

2 CDK4/6 抑制剂

乳腺癌细胞 ER 旁路的激活是导致内分泌耐药的重要原因。内分泌联合靶向治疗或可提高疗效, 并降低内分泌治疗耐药的发生率。细胞周期蛋白依赖性激酶 4 (cyclin-dependent kinase 4, CDK4) 是细胞从 G₁ 到 S 期的主要调节因子, 细胞周期蛋白 D (cyclin D) 结合并激活 CDK4/6, 形成的 cyclin D-CDK4/6 复合物可磷酸化视网膜母细胞瘤基因 (Retinoblastoma, Rb) 及其他 Rb 家族成员, 继而释放转录因子 E2F, 促进细胞周期相关基因的转录, 使细胞进入 S 期^[8]。ER 信号通路激活 cyclin D-CDK4-Rb 轴, 促进细胞从 G₁ 期进入 S 期, 使得选择性雌激素受体拮抗剂、雌激素抑制剂或是 AI 成为治疗的可能; MAPK/ERK 和 PI3K/Akt 信号转导通路作为细胞内最重要的促增殖和抗凋亡通路, 通过影响下游细胞周期调节蛋白、凋亡相关蛋白等效应分子的活性, 在调控细胞增殖及周期方面起到重要作用, 比如影响 cyclin D1 和其他 cyclins 的转录; 因此通过 CDK4/6 抑制剂或联合其他药物阻断相关通路, 从而抑制细胞增殖成为治疗的新方向^[9]。尽管机制未明, 临床上发现大约 20% 的患者接受内分泌治疗后会出现 ER 丢失, 继而导致内分泌治疗疗效欠佳, 但是乳腺癌内分泌治疗耐药的机制尚未完全阐明, 但 ER 功能相关的分子信号传导途径及相关辅助因子的相互作用、ER 基因的突变及相关基因的多态性、肿瘤微环境的改变等都是导致耐药发生的重要因素; 针对信号传导途径关键因子的新药的开发生可能成为 ER 耐药的乳腺癌患者最有前景的疗法^[10]。Miller 等^[11] 研究发现 ER-CDK4-E2F 轴参与内分泌耐药, E2F 的活性增高预示着对 AI 治疗反应较差, siRNA 筛选发现, E2F 活化剂 CDK4 是激素非依赖型细胞生长所必须的。上述研究提示 CDK4/6 可能是逆转 ER 阳性乳腺癌患者内分泌耐药的潜在治疗靶点。

3 CDK4/6 联合内分泌治疗

CDK4/6 抑制剂的问世使得 ER+/HER2-晚期乳腺癌的内分泌治疗再一次引起广泛关注, 首次将 HR+、HER2-晚期乳腺癌患者的 PFS 延长至 2 年以上。目前 CDK4/6 抑制剂主要有 Palbociclib、Ribo-

ciclib、Abemaciclib 等。

3.1 Palbociclib

Palbociclib 是一种实验性、口服、靶向性制剂,能够选择性抑制 CDK4 和 CDK6,恢复细胞周期控制,阻断肿瘤细胞增殖。Finn 等^[12]探究了不同亚型的乳腺癌细胞株对 Palbociclib 的敏感性,发现 ER+ 细胞株敏感性最高,并且 Palbociclib 与他莫昔芬联合使用具有协同效应;在他莫昔芬耐药的 MCF-7 细胞株中,Palbociclib 可导致细胞周期停滞,从而部分恢复细胞对他莫昔芬的敏感性。美国食品和药品监督管理局(FDA)于 2013 年授予 Palbociclib 治疗晚期或转移性 ER+/HER2-乳腺癌的突破性疗法认定。PALOMA1^[13]是一项 II 期临床试验,比较了 Palbociclib 联合来曲唑较来曲唑单药一线治疗 ER+、HER2-晚期乳腺癌患者的疗效及安全性。结果显示,在无疾病进展生存期上,联合用药组显著优于单药治疗组(20.2 个月 vs 10.2 个月,HR=0.488,P=0.0004);虽然联合组药物不良反应发生率要高于来曲唑单药组,其中分别有 13%和 2%的患者因药物不良反应而终止治疗,但是入组患者均出现例如粒性发热或粒性感染等严重不良反应。由于在该项 II 期临床试验中的显著疗效,2015 年 FDA 批准了 Palbociclib 联合来曲唑用于绝经后 HR+、HER2-晚期乳腺癌的一线治疗。该研究结果在 PALOMA2 中也得到进一步证实。随后 PALOMA3^[14] III 期临床试验显示,在 521 例既往接受过内分泌治疗,出现进展或复发的激素受体阳性患者中,CDK4/6 抑制剂联合氟维司群可起到二线治疗作用。Palbociclib 联合氟维司群相较于氟维司群单用组显著延长中位 PFS 期(9.2 个月 vs 3.8 个月,HR=0.42,P<0.001)。而 FDA 根据 PALOMA3 研究批准 Palbociclib 联合氟维司群用于既往内分泌治疗失败的 ER+/HER2-绝经后晚期乳腺癌。关于 Palbociclib 联合来曲唑治疗晚期乳腺癌的一项 666 例随机双盲试验^[15]显示,联合用药组 PFS 达到 24.8 个月,相较于安慰剂联合来曲唑的 14.5 个月有统计学差异;联合用药组最常见的不良反应为中性粒减少,3~4 级发生率为 66.4%,虽然较安慰剂组的 1.4%高,但是粒性发热在两组间并未见显著性差异。该研究表明,尽管骨髓抑制情况较高,但是 Palbociclib 联合来曲唑相较于来曲唑单药可显著性延长晚期 ER+、HER2-乳腺癌患者 PFS。

3.2 Ribociclib

Ribociclib 也属于周期蛋白依赖性激酶抑制剂,可靶向抑制 D1/CDK4 和 D3/CDK6 细胞周期,因此具有潜在的抗肿瘤活性。Infante 等^[16]在 I 期临床试验中证实了 Ribociclib 的安全性及疗效,对入组患者穿刺组织检查发现,Ki67 表达的下降也反映了其抗肿瘤活性,甚至有 3 例患者获得部分缓解,43 例达到稳定状态。Curigliano 等^[17]对 14 例 HR+/HER2-早期乳腺癌患者随机分组,分别予以来曲唑单药治疗、来曲唑分别联合两种剂量的 Ribociclib(400mg/d,600mg/d),治疗 14d 后,手术切除病灶以评估治疗后增殖指数 Ki67 的变化及药物安全性;结果发现 Ki67 阳性细胞平均减少率分别为 69%、96%、92%;而联合用药组中 RB 磷酸化水平也有所下降,患者对联合用药耐受性良好,该研究表明,Ribociclib 与来曲唑没有药物间相互作用,并且联合用药也许可以降低 Ki67 的表达。一项随机、双盲、安慰剂对照的 III 期临床研究^[18],将 668 例 ER+/HER2-的晚期绝经后乳腺癌患者,随机分配进 Ribociclib+来曲唑治疗或来曲唑+安慰剂治疗,观察其疗效与安全性。研究的主要终点是 PFS,次要终点包括 OS、总缓解率(ORR)、临床获益率(CBR)和安全性。在 Ribociclib+来曲唑组,主要终点 PFS 与单药来曲唑相比有较大提升(HR=0.56,95%CI:0.43~0.72;P=3.29×10⁻⁶)。Ribociclib 与安慰剂组 ORR 分别为 52.7%和 37.1%(P<0.001)。两干预组的严重不良事件发生率均小于 5%,但 3~4 级不良事件在 Ribociclib+来曲唑治疗中更为常见,分别为中性粒细胞减低(Ribociclib 59% vs 安慰剂 1%)、白细胞减少(21% vs 1%)、ALT 升高(9% vs 1%)、淋巴细胞减少(7% vs 1%)、AST 升高(6% vs 1%)、高血压(10% vs 11%)。由于该研究中死亡人数过少,OS 数据不成熟,因此目前还不能就 Ribociclib 对总生存影响进行可靠的分析。Ribociclib 在疗效上的优势,提示将 Ribociclib 和其他信号通路抑制剂联合应用,或许能使其他乳腺癌亚型的治疗获益。

3.3 Abemaciclib

根据 I 期乳腺癌临床试验(JPBA)结果,FDA 在 2015 年批准 CDK4/6 抑制剂 Abemaciclib 适用于 HR+、HER2-晚期或复发乳腺癌。Patnaik 等^[19]对包括乳腺癌在内的 225 例实体瘤患者予以 Abemaciclib

治疗,以评价其疗效及安全性,在下次给药前,活组织检测发现 Abemaciclib 可部分逆转 Rb 磷酸化及拓扑异构酶 II- α 的表达,在 36 例 HR+乳腺癌患者中,ORR 达 31%,61% 的患者达到至少 6 个月的缓解或稳定状态;相较于其他两种 CDK4/6 抑制剂,乏力是 Abemaciclib 最常见的药物不良反应,并呈现剂量依赖性,研究数据表明 Abemaciclib 在治疗 ER+乳腺癌患者中的潜力。为了进一步验证 Abemaciclib 单药治疗的疗效及安全性,II 期 MONARCH 试验^[20] 纳入 132 例局部晚期或转移的 ER+乳腺癌患者,既往接受过内分泌治疗及 1~2 线化疗。予以 Abemaciclib 口服直到疾病进展。中期随访结果显示,中位相对剂量强度为 89.2%,ORR 为 19.7%,临床获益率(CR+PR+SD \geq 6 个月)为 42.4%,中位 PFS 为 6 个月(95%CI:4.2~7.5)。最常见的毒副反应为腹泻、乏力、恶心,无 4 级不良反应发生,腹泻经常规治疗可控制,实验室指标异常包括 98.5% 的肌酐升高,但均为 1~2 级,中性粒细胞减少占 87.75%,3 级为 27.7%,4 级为 4.6%,因不良反应停止治疗的占 7.6%,说明了 Abemaciclib 单药治疗多线治疗进展后的难治性 ER+/HER2-转移性乳腺癌仍获得了较好的疗效,耐受性较好。目前 Abemaciclib 与内分泌药物联合的 III 期临床研究 MONARCH 2 及 MONARCH 3 正在进行中,MONARCH 3 是 Abemaciclib 联合非甾体芳香酶抑制剂用于 HR+、HER2-、局部区域性复发或转移性乳腺癌的一项 III 期研究,也期待该系列研究能够带来新的希望。

4 总结与展望

从 70 年代他莫昔芬的问世到现在,内分泌治疗在乳腺癌治疗中扮演着举足轻重的作用,虽然内分泌治疗时限问题、一线内分泌治疗耐药后的治疗策略给临床医师带来困扰,但是随着耐药机制的逐渐发现,相应的应对措施也不断更新。根据以上相关研究,CDK4/6 抑制剂作为一种新型的分子靶向药物,在乳腺癌中的研究极具前景,尤其是对于 ER+晚期乳腺癌患者而言,联合内分泌治疗可给该类患者带来生存获益,虽然相关临床试验数据在疗效上显著性优于单纯内分泌治疗,但是同时,相应的药物不良反应发生率也显著性增加,这也是临床上需要慎重

对待的问题。众所周知,乳腺癌是一种高度异质性肿瘤,是否需要选择更能从 CDK4/6 抑制剂中获益的人群,还需研究者深入研究,从而达到个体治疗及精准治疗的目的。

参考文献:

- [1] Howlader N,Altekruse SF,Li CI,et al. US incidence of breast cancer subtypes defined by joint hormone receptor and HER2 status [J]. J Natl Cancer Inst,2014,106(5):pii: dju055.
- [2] Tryfonidis K,Zardavas D,Katzenellenbogen BS,et al. Endocrine treatment in breast cancer:cure,resistance and beyond[J]. Cancer Treat Rev,2016,50:68-81.
- [3] Robertson JF,Lindemann JP,Llombart-Cussac A,et al. Fulvestrant 500mg versus anastrozole 1mg for the first-line treatment of advanced breast cancer:follow-up analysis from the randomized 'FIRST' study[J]. Breast Cancer Res Treat,2012,136(2):503-511.
- [4] Ellis MJ,Llombart-Cussac A,Feltl D,et al. Fulvestrant 500mg versus anastrozole 1mg for the first-line treatment of advanced breast cancer:overall survival analysis from the phase II FIRST Study [J]. J Clin Oncol,2015,33(32): 3781-3787.
- [5] Robertson JF,Bondarenko IM,Trishkina E,et al. Fulvestrant 500mg versus anastrozole 1 mg for hormone receptor-positive advanced breast cancer(FALCON):an international,randomised,double-blind,phase 3 trial [J]. Lancet,2017,388(10063):2997-3005.
- [6] Mayer EL. Targeting breast cancer with CDK inhibitors[J]. Curr Oncol Rep,2015,17(5):443.
- [7] Wolff AC,Lazar AA,Bondarenko I,et al. Randomized phase III placebo-controlled trial of letrozole plus oral temsirolimus as first-line endocrine therapy in postmenopausal women with locally advanced or metastatic breast cancer[J]. J Clin Oncol,2013,31(2):195-202.
- [8] Dickson MA. Molecular pathways:CDK4 inhibitors for cancer therapy[J]. Clin Cancer Res,2014,20(13):3379-3383.
- [9] Lim JS,Turner NC,Yap TA. CDK4/6 inhibitors:promising opportunities beyond breast cancer [J]. Cancer Discov,2016,6(7):697-699.
- [10] Osborne C K,Schiff R. Mechanisms of endocrine resistance in breast cancer[J]. Annu Rev Med,2011,62:233-247.
- [11] Miller TW,Balko JM,Fox EM,et al. ERalpha-dependent E2F transcription can mediate resistance to estrogen deprivation in human breast cancer[J]. Cancer Discov,2011,1(4):338-351.

- [12] Finn RS, Dering J, Conklin D, et al. PD 0332991, a selective cyclin D kinase 4/6 inhibitor, preferentially inhibits proliferation of luminal estrogen receptor-positive human breast cancer cell lines in vitro[J]. Breast Cancer Res, 2009, 11(5):R77.
- [13] Finn RS, Crown JP, Lang I, et al. The cyclin-dependent kinase 4/6 inhibitor palbociclib in combination with letrozole versus letrozole alone as first-line treatment of oestrogen receptor-positive, HER2-negative, advanced breast cancer (PALOMA-1/TRIO-18): a randomised phase 2 study[J]. Lancet Oncol, 2015, 16(1):25-35.
- [14] Turner NC, Huang BC, Cristofanilli M. Palbociclib in hormone-receptor-positive advanced breast cancer[J]. N Engl J Med, 2015, 373(17):1672-1673.
- [15] Finn RS, Martin M, Rugo HS, et al. Palbociclib and letrozole in advanced breast cancer [J]. N Engl J Med, 2016, 375(20):1925-1936.
- [16] Infante JR, Cassier PA, Gerecitano JF, et al. A phase I study of the cyclin-dependent kinase 4/6 inhibitor ribociclib (LEE011) in patients with advanced solid tumors and lymphomas[J]. Clin Cancer Res, 2016, 22(23):5696-5705.
- [17] Curigliano G, Gomez PP, Meric-Bernstam F, et al. Ribociclib plus letrozole in early breast cancer: a presurgical, window-of-opportunity study[J]. Breast, 2016, 28:191-198.
- [18] Burki TK. Ribociclib in HR-positive, HER2-negative breast cancer[J]. Lancet Oncol, 2016, 17(11):e482.
- [19] Patnaik A, Rosen LS, Tolaney SM, et al. Efficacy and safety of abemaciclib, an inhibitor of CDK4 and CDK6, for patients with breast cancer, non-small cell lung cancer, and other solid tumors[J]. Cancer Discov, 2016, 6(7):740-753.
- [20] Barroso-Sousa R, Shapiro GI, Tolaney SM. Clinical development of the CDK4/6 inhibitors ribociclib and abemaciclib in breast cancer[J]. Breast Care(Basel), 2016, 11(3):167-173.

凡临床试验都应在中国临床试验注册中心注册

全球临床试验注册制度由世界各国政府共同决定由 WHO 领导建立。临床试验注册具有伦理和科学的双重意义,目的是为了尊重和珍惜所有试验参与者的贡献,他们的贡献用于改善全社会的医疗保健,因此,任何临床试验都与公共利益相关。公开临床试验的信息,并将其置于公众监督之下是试验研究者的义务和道德责任。临床试验注册不仅能确保追溯每个临床试验的结果,公开在研试验或试验结果信息还有助于减少不必要的重复研究。

中国临床试验注册中心(Chinese Clinical Trial Register, ChiCTR)为国家卫生计生委(原卫生部)下属的国家临床试验注册中心,是世界卫生组织国际临床试验注册协作网一级注册机构(World Health Organization International Clinical Trial Registration Platform Primary Register, WHO ICTRP Primary Register),由中国循证医学中心和四川大学华西医院等于 2005 年 7 月 25 日正式成立并运行。

ChiCTR 的宗旨是联合中国和全球的临床医师、临床流行病学家、统计学家、流行病学家和医疗卫生管理者,严格科学地管理中国临床试验信息,提高其质量,为广大医务工作者、医疗卫生服务消费者和政府卫生政策制定者提供可靠的临床试验证据,让医疗卫生资源更好地服务于中国人民和全人类的健康事业。

所有在人体实施的试验均属于临床试验,都应该先注册后实施。凡已注册临床试验都会被授予 WHO ICTRP 全球统一的唯一注册号。

我国众多医学期刊已和中国临床试验注册中心共同建立了临床试验报告发表机制,正在分步实施优先发表、直到只发表具有全球性唯一的注册号的临床试验报告。

ChiCTR 接受中国地区及全球的临床试验注册申请,还接受获得 WHO ICTRP 认证的二级注册机构输送的注册资料,并向 WHO ICTRP 中央数据库输送注册信息供全球检索。除注册临床试验外,ChiCTR 以中国循证医学中心、循证医学教育部网上合作研究中心、中国 Cochrane 中心、英国 Cochrane 中心、四川大学华西医院国际临床流行病学网华西资源与培训中心为人才和技术支持平台,负责指导临床试验设计、中心随机、论文写作、教育培训,推动提高我国临床试验的质量。

通过 ChiCTR 检索入口网址 www.chictr.org, 公众可方便地查询已注册临床试验信息,并与 WHO 全球检索入口链接,可方便地查询全球已注册临床试验。