

## 研究论著

DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2023.03.006

# 卵巢癌组织中 TTF-1、CyclinD1 的表达及其与淋巴管生成关系的研究

张鑫 严倩文 王路祎

**【摘要】** 目的 探讨甲状腺转录因子 1 (TTF-1) 和细胞周期蛋白 D1 (CyclinD1) 在卵巢癌组织中的表达情况, 分析其与淋巴管生成的关系。方法 收集 60 例卵巢癌组织样本和 20 例经病理检查证实的正常卵巢组织。制备组织切片进行 TTF-1、CyclinD1 和 D2-40 免疫组织化学 (免疫组化) 染色, 基于半定量积分法评价 TTF-1、CyclinD1 染色结果。依据 Weidner 评价方法评估 D2-40 染色结果, 计算淋巴管密度 (LVD)。结果 TTF-1 和 CyclinD1 的阳性表达率在卵巢癌组织中分别为 58% 和 83%, 均高于其在正常卵巢组织中的 5% 和 10% ( $P$  均  $< 0.001$ )。病理分期 III ~ IV 期、淋巴结转移阳性、腹膜转移阳性、T3~T4 期、N1 期和 M1 期的卵巢癌组织中 TTF-1 及 CyclinD1 的阳性表达率较高 ( $P$  均  $< 0.05$ ); 患者年龄、组织学类型与卵巢癌组织中 TTF-1 及 CyclinD1 的阳性表达率无关 ( $P$  均  $> 0.05$ )。病理分期 III ~ IV 期、淋巴结转移阳性、腹膜转移阳性的卵巢癌组织 LVD 较高 ( $P$  均  $< 0.05$ )。卵巢癌组织中 TTF-1、CyclinD1 阳性表达者的 LVD 均高于阴性表达者 ( $P$  均  $< 0.05$ )。结论 TTF-1 与 CyclinD1 在卵巢癌组织中呈现高表达。卵巢癌病情较重、出现淋巴管生成和转移者的 TTF-1 和 CyclinD1 表达较高。TTF-1 和 CyclinD1 可作为卵巢癌干预的潜在新靶点。

**【关键词】** 卵巢癌; 甲状腺转录因子 1; 细胞周期蛋白 D1; 淋巴管密度; 淋巴管生成

**Expression levels of TTF-1 and CyclinD1 and their relationship with lymphangiogenesis in ovarian cancer** Zhang Xin, Yan Qianwen, Wang Luyi. Department of Pathology, the First People's Hospital of Foshan, Foshan 528000, China  
Corresponding author, Zhang Xin, E-mail: 249919490@qq.com

**【Abstract】** **Objective** To investigate the expression levels of thyroid transcription factor-1 (TTF-1) and CyclinD1 in ovarian cancer and analyze their relationship with lymphangiogenesis. **Methods** The ovarian cancer tissue samples were collected from 60 patients with ovarian cancer and corresponding ovarian tissue samples from 20 patients pathologically diagnosed with benign ovarian tumors and normal ovarian tissue were collected as the control group. Tissue sections were prepared for immunohistochemical staining of TTF-1, CyclinD1 and D2-40. The staining results of TTF-1 and CyclinD1 were evaluated based on semi-quantitative integration method. D2-40 staining results were assessed according to Weidner evaluation method. Lymphatic vessel density (LVD) was calculated. **Results** The positive expression rates of TTF-1 and CyclinD1 were 58% and 83% in the ovarian cancer tissues, which were higher than 5% and 10% in the normal cancer tissues (all  $P < 0.001$ ), respectively. The positive expression rates of TTF-1 and CyclinD1 were significantly increased in the ovarian cancer tissues with pathological stage III-IV, lymph node metastasis, peritoneal metastasis, T3-T4 stage, N1 stage and M1 stage (all  $P < 0.05$ ). Age and histological type were not correlated with the positive expression rates of TTF-1 and CyclinD1 (all  $P > 0.05$ ). The LVD of ovarian cancer tissues with pathological stage III-IV, lymph node metastasis and peritoneal metastasis was significantly increased (all  $P < 0.05$ ). The LVD of ovarian cancer tissues with positive expression of TTF-1 and CyclinD1 was significantly higher than that of ovarian cancer tissues with negative expression (both  $P < 0.05$ ). **Conclusions** TTF-1 and CyclinD1 are highly expressed in ovarian cancer tissues. Patients with severe ovarian cancer, lymphangiogenesis and metastasis have high expression of TTF-1 and CyclinD1, which may be potential new targets for ovarian cancer interventions.

**【Key words】** Ovarian cancer; Thyroid transcription factor 1; CyclinD1; Lymphatic vessel density; Lymphangiogenesis

卵巢癌是女性生殖系统的三大恶性肿瘤之一, 流行病学数据显示我国每年新发卵巢癌患者约 5.2

万例, 因卵巢癌死亡的患者约 2.2 万例, 是病死率最高的妇科恶性肿瘤<sup>[1,2]</sup>。由于肿瘤复发和转移以

及化学治疗(化疗)耐药等原因,卵巢癌的5年生存率仅约30%,许多患者在就诊时已经出现了腹膜转移<sup>[3]</sup>。因此,探索有效的基因生物标志物以帮助早期发现肿瘤转移,对于提高治疗效果、改善卵巢癌患者预后尤为重要。甲状腺转录因子1(TTF-1)也称为NKX同源框-1(NKX2-1),位于人类染色体14q13.3,是由3个外显子和2个内含子组成的、单基因编码的、含有一个同源结构域的转录因子<sup>[4]</sup>。细胞周期蛋白D1(CyclinD1)基因定位于人染色体11q13,是细胞周期素家族中最主要的成员之一,对细胞周期起正向调控作用<sup>[5]</sup>。文献报道,TTF-1在肺癌的发生、发展中发挥重要作用,CyclinD1则在肺癌、食管癌等恶性肿瘤中呈过表达,但关于这两个基因对卵巢癌影响的研究很有限,作用机制尚未阐明<sup>[6,7]</sup>。本研究拟通过分析卵巢癌组织中TTF-1、CyclinD1蛋白的表达及其与临床分期、淋巴管密度(LVD)等指标之间的关联,探讨其与临床病理特征和淋巴管转移间的相关性,为早期诊断卵巢癌转移和开展治疗提供参考。

## 材料与方法

### 一、标本来源

本研究的标本来自2018年1月至2020年12月在本院就诊的60例卵巢癌患者,患者年龄为(48.7±9.5)岁。另收集20例经病理检查证实的正常卵巢组织作为对照,患者年龄为(46.8±9.1)岁。2组标本来源患者的年龄比较差异无统计学意义( $t = 0.780, P = 0.438$ )。本研究方案通过医院伦理委员会批准(批件号:L[2022]第18号),患者均已签署知情同意书。

### 二、纳入与排除标准

卵巢癌患者纳入标准:①年龄≥18岁;②接受手术治疗,病理结果证实为卵巢癌;③手术前未经任何治疗;④患者依从性佳,按期复查,随访资料完整。对照者纳入标准:①年龄≥18岁;②因卵巢占位、子宫肌瘤、功能性子宫出血接受卵巢切除治疗,病理结果证实为良性卵巢肿瘤或正常卵巢组织;③患者依从性佳,按期复查,随访资料完整。排除标准:①患有难以控制的糖尿病、肝肾功能不全、心血管疾病、脑血管疾病、血液系统疾病、自身免疫性疾病等全身性疾病;②孕产妇或患有其他严重精神或心理疾病。

### 三、主要试剂与材料

鼠抗人TTF-1、CyclinD1、D2-40单克隆抗体均购自北京中杉科技有限公司,辣根过氧化物酶标记IgG-HRP购自北京福盛科技有限公司,Dako REALTM免疫组织化学(免疫组化)染色试剂盒购自基因科技(上海)有限公司,磷酸盐缓冲液(PBS)购自上海金桥生物科技有限公司。

### 四、免疫组化染色

组织标本经10%甲醛溶液固定后,石蜡包埋,以5 μm厚进行连续切片,制备成组织切片。将切片置于烘箱内烘烤1 h后,再经脱蜡及水化,0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>孵育30 min, PBS冲洗5 min,共3次。加柠檬酸抗原修复液,加热10 min去除内源性过氧化物酶,自然冷却至室温。加入一抗(1:100 TTF-1或1:200 CyclinD1或1:200 D2-40),4℃孵育过夜, PBS冲洗5 min,共3次,加入生物素标记的二抗,室温孵育20 min, PBS冲洗后DAB显色,苏木素复染,中性树胶封片。

### 五、染色结果评价

由2名具有副主任医师或以上职称的病理科医师基于双盲原则对所有染色切片按半定量积分法进行评价:首先在400倍光镜下,随机选取10个视野分析阳性细胞百分比,视野内的阳性细胞百分比≥70%为3分,30%≤阳性细胞百分比<70%为2分,5%≤阳性细胞百分比<30%为1分,阳性细胞百分比<5%为0分;然后评价染色强度,胞浆或核膜呈棕褐色为3分,呈棕黄色为2分,呈浅黄色为1分,仅细胞核呈蓝色为0分。把阳性细胞百分比评分与阳性细胞染色强度评分相加获得总分,总分在0~3分为阴性,4~6分为阳性。

### 六、LVD测定

由2名具有副主任医师或以上职称的病理科医师基于双盲原则对所有切片进行评估。依据Weidner的评价方法,首先在低倍镜下寻找肿瘤细胞周围的D2-40阳性淋巴管密集区域(热区),然后在200倍光镜下,随机选取5个视野,计数淋巴管数量,最后计算平均值,作为LVD<sup>[8]</sup>。

### 七、统计学处理

使用SPSS 22.0进行数据分析。计量资料经Shapiro-Wilk检验均符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,



两组间比较采用  $t$  检验, 多组间比较采用方差分析, 进一步两两比较采用 LSD- $t$  检验。计数资料以例 (%) 表示, 组间比较采用  $\chi^2$  检验或 Fisher 确切概率法。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

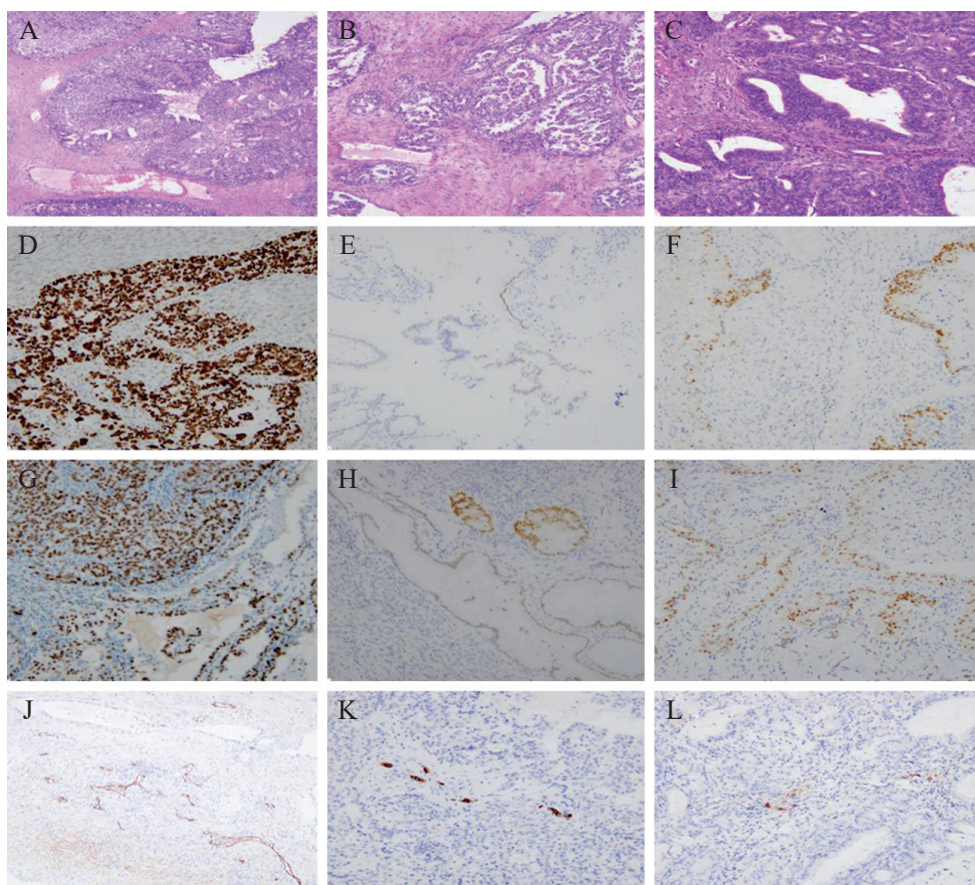
## 结 果

### 一、60 例卵巢癌患者的临床病理特征

60 例卵巢癌患者中, 根据国际妇产科联盟 (FIGO) 手术病理分期标准 I 期 11 例、II 期 9 例、III 期 35 例、IV 期 5 例; 根据术后病理学检查结果, 浆液性腺癌 31 例、黏液性腺癌 17 例、子宫内膜样癌 12 例; 高分化癌 22 例、低分化癌 38 例; 淋巴结转移阳性 35 例、阴性 25 例; 腹膜转移阳性 20 例、阴性 40 例。

### 二、卵巢癌组织与正常卵巢组织的 TTF-1、CyclinD1 和 D2-40 表达情况

TTF-1 阳性呈棕黄色细颗粒, 主要表达于细胞的胞浆及基质血管内皮内, 阳性细胞呈局灶性或弥漫性分布。在 60 例卵巢癌组织中, TTF-1 的阳性表达率为 58% (35/60); 在 20 例正常卵巢组织中, TTF-1 阳性表达率为 5% (1/20), 组间比较差异有统计学意义 ( $P < 0.001$ )。CyclinD1 阳性呈棕黄色或棕褐色颗粒, 主要表达于细胞质及细胞膜, 呈弥漫性分布。在 60 例卵巢癌组织中, CyclinD1 的阳性表达率为 83% (50/60); 在 20 例正常卵巢组织中, CyclinD1 阳性表达率为 10% (2/20), 组间比较差异有统计学意义 ( $P < 0.001$ )。D2-40 阳性呈棕黄色细颗粒, 在卵巢癌组织中均有表达, 主要表达于淋巴内皮细胞的胞质内, 无管腔的淋巴管多于有管腔淋巴管, 在肿瘤细胞的细胞质中偶见 D2-40 表达。见图 1。



注: A 为浆液性癌; B 为黏液腺癌; C 为子宫内膜样癌; D 为在浆液性癌中 TTF-1 染色阳性; E 为在黏液腺癌中 TTF-1 染色阴性; F 为在子宫内膜样癌中 TTF-1 染色阳性; G 为在浆液性癌中 CyclinD1 染色阳性; H 为在黏液腺癌中 CyclinD1 染色阳性; I 为在子宫内膜样癌中 CyclinD1 染色阳性; J 为在浆液性癌中 D2-40 染色阳性; K 为在黏液腺癌中 D2-40 染色阳性; L 为在子宫内膜样癌中 D2-40 染色阳性; A~C 为 HE 染色 ( $\times 200$ ); D~L 为免疫组化染色 ( $\times 200$ )。

图 1 卵巢癌组织的病理检查结果

### 三、TTF-1、CyclinD1 与卵巢癌临床病理指标的关联

病理分期Ⅲ~Ⅳ期、淋巴结转移阳性、腹膜转移阳性、T3~T4期、N1期和M1期的卵巢癌组织中的TTF-1及CyclinD1的阳性表达率均较高( $P$ 均 $<0.05$ );而与患者年龄、组织学类型无关( $P$ 均 $>0.05$ )。见表1。

### 四、LVD 与卵巢癌临床病理指标的关联

卵巢癌组织中,病理分期Ⅲ~Ⅳ期、淋巴结转移阳性、腹膜转移阳性、T3~T4期、N1期和M1期的卵巢癌组织LVD均较高( $P$ 均 $<0.05$ )。年龄、组织学类型与卵巢癌组织LVD无关( $P$ 均 $>0.05$ )。见表2。

### 五、卵巢癌组织中 TTF-1、CyclinD1 表达与 LVD 的关联

阳性表达TTF-1、CyclinD1的卵巢癌组织中的LVD均高于阴性表达TTF-1、CyclinD1的卵巢癌组

织( $P$ 均 $<0.05$ )。见表3。

## 讨 论

作为临床常见的妇科肿瘤之一,卵巢癌的病死率呈逐年上升趋势,越来越受到临床医师的关注。从解剖学上来讲,卵巢位于盆腔深部,因为疾病早期症状难以显现,而且缺乏特异性的筛查指标,导致许多患者错过了最佳治疗时期<sup>[9]</sup>。此外,肿瘤细胞容易发生淋巴结转移,使复发率较高,晚期治疗预后不佳。国内外研究报道,多种细胞因子、生长因子参与了肿瘤淋巴系统转移的调控,诱导新生淋巴管生成<sup>[10-11]</sup>。

既往研究已证实,TTF-1常表达于甲状腺和肺起源的肿瘤,并显示出致癌及抑癌的双重调节功能<sup>[12]</sup>。有学者报道TTF-1可通过诱导血管生成来促进肺腺癌的进展,然而另有学者发现TTF-1对肝脏肿瘤血管生成发挥抑制作用<sup>[13-14]</sup>。美国学者进行的一项对肺癌组织的研究发现,TTF-1与淋巴结转

表1 TTF-1、CyclinD1 与卵巢癌临床病理指标的关系 [例(%)]

指 标	例数	TTF-1			CyclinD1		
		阳性	$\chi^2$ 值	$P$ 值	阳性	$\chi^2$ 值	$P$ 值
年龄			0.049	0.825		0.343	0.558
≤50岁	35	20(57)			30(86)		
>50岁	25	15(60)			20(80)		
组织学类型			0.002	0.965		0.334	0.563
浆液型	31	18(58)			25(81)		
非浆液型	29	17(59)			25(86)		
病理分期			4.419	0.042		7.260	0.007
I~II期	20	8(40)			13(65)		
III~IV期	40	27(68)			37(93)		
淋巴结转移			25.910	<0.001		—	0.012 <sup>a</sup>
阳性	35	30(86)			33(94)		
阴性	25	5(20)			17(68)		
腹膜转移			—	<0.001 <sup>a</sup>		—	0.023 <sup>a</sup>
阳性	20	19(95)			20(100)		
阴性	40	16(40)			30(75)		
T分期			8.389	0.015		16.799	<0.001
T1期	5	1(20)			2(40)		
T2期	10	3(30)			6(60)		
T3~T4期	45	31(69)			42(93)		
N分期			25.910	<0.001		5.591	0.018
N0期	25	5(20)			17(68)		
N1期	35	30(86)			33(94)		
M分期			—	<0.001 <sup>a</sup>		—	0.040 <sup>a</sup>
M0期	36	13(36)			27(75)		
M1期	24	22(92)			23(96)		

注:<sup>a</sup>Fisher确切概率法。

表2 LVD与卵巢癌临床病理指标的关系

单位:个/200倍视野

指标	例数	LVD	t/F值	P值
年龄			0.542	0.590
≤50岁	35	10.92 ± 3.57		
>50岁	25	11.45 ± 3.91		
组织学类型			0.275	0.784
浆液型	31	11.13 ± 4.02		
非浆液型	29	10.85 ± 3.96		
病理分期			5.672	<0.001
I~II期	20	9.63 ± 3.18		
III~IV期	40	15.24 ± 3.85		
淋巴结转移			6.155	<0.001
阳性	35	16.05 ± 4.82		
阴性	25	9.72 ± 3.13		
腹膜转移			4.933	<0.001
阳性	20	15.81 ± 4.05		
阴性	40	10.46 ± 3.92		
T分期			10.039	0.005
T1期	5	6.78 ± 2.53 <sup>a</sup>		
T2期	10	9.65 ± 3.07 <sup>a</sup>		
T3~T4期	45	12.52 ± 3.14		
N分期			6.161	<0.001
N0期	25	9.72 ± 3.13		
N1期	35	16.05 ± 4.82		
M分期			5.765	<0.001
M0期	36	8.91 ± 2.85		
M1期	24	13.82 ± 3.75		

注:与T3~T4期比较,<sup>a</sup>P<0.05。

表3 卵巢癌组织中TTF-1、CyclinD1与LVD的关系

单位:个/200倍视野

指标	例数	LVD	t值	P值
TTF-1			6.161	<0.001
阳性	35	16.05 ± 4.82		
阴性	25	9.72 ± 3.13		
CyclinD1			15.028	<0.001
阳性	50	27.03 ± 3.63		
阴性	10	8.52 ± 3.12		

移密切相关,可作为肺癌淋巴结转移的重要预测指标<sup>[15]</sup>。本研究中,TTF-1在卵巢癌组织中呈现高表达,阳性表达率为58%,并且在高级别病理分级和分期的组织中阳性表达率更高,在淋巴结转移和腹膜转移的组织中阳性表达率也较高,提示TTF-1是卵巢癌病情进展的促进因素。

CyclinD1是一种细胞周期调控蛋白,在正常细胞中于G1期产生,通过依赖或不依赖细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK)途径参与细胞周期G1/S转化的调控<sup>[16]</sup>。多项研究报道,在肿瘤细胞中,翻译后蛋白稳定等多种机制可促进CyclinD1高表达,导致致癌因子与其发生相互作用,使细胞周期紊

乱,更多的细胞进入细胞增殖周期,造成失控性生长,最终引起恶性肿瘤进展<sup>[17-18]</sup>。有学者报道,CyclinD1在乳腺癌组织中的表达水平高于正常乳腺组织,并通过干预细胞增殖、侵袭和凋亡等生物学过程,促进肿瘤进展<sup>[19]</sup>。本研究显示,CyclinD1在乳腺癌组织中的阳性表达率高达83%,且阳性表达率随着淋巴结转移、腹膜转移而增加,与既往研究结果相符。

肿瘤的淋巴转移包括淋巴浸润、局部淋巴管扩张、新生淋巴管生成、局部淋巴结转移和远处淋巴结转移等多个过程,其中以LVD升高为表现的新生淋巴管增加是促进肿瘤转移的重要机制<sup>[20]</sup>。



本研究中采用了经典的 D2-40 免疫组化染色来评价淋巴管数量的变化,结果显示病理分期 III ~ IV 期、淋巴结转移、腹膜转移、T3~T4 期、N1 期和 M1 期的卵巢癌组织的 LVD 明显增加,符合恶性肿瘤的淋巴转移和进展机制。此外,阳性表达 TTF-1、CyclinD1 的卵巢癌组织中 LVD 高于阴性组织,表明 TTF-1、CyclinD1 在卵巢癌的淋巴管生成和转移过程中发挥了重要作用。

综上所述,TTF-1 与 CyclinD1 在卵巢癌组织中呈现为高表达,促进了卵巢癌病情进展、淋巴管生成和转移,可作为卵巢癌干预的潜在新靶点。TTF-1、CyclinD1 在恶性肿瘤转移过程中的作用机制还需要将来进一步深入研究,这有可能成为新型治疗手段的研发方向。

### 参 考 文 献

- [1] 国家癌症中心,国家肿瘤质控中心卵巢癌质控专家委员会.中国卵巢癌规范诊疗质量控制指标(2022版).中华肿瘤杂志,2022,44(7):609-614.
- [2] Li Y, Gao Y, Zhang X, et al. Nanoparticles in precision medicine for ovarian cancer: from chemotherapy to immunotherapy. *Int J Pharm*, 2020, 591: 119986.
- [3] Książek K. Where does cellular senescence belong in the pathophysiology of ovarian cancer? *Semin Cancer Biol*, 2022, 81: 14-23.
- [4] Doherty M K, O'Connor E, Hannon D, et al. Absence of thyroid transcription factor-1 expression is associated with poor survival in patients with advanced pulmonary adenocarcinoma treated with pemetrexed-based chemotherapy. *Ir J Med Sci*, 2019, 188(1): 69-74.
- [5] Chatterjee D, Vishwajeet V, Saikia U N, et al. CyclinD1 is useful to differentiate Langerhans cell Histiocytosis from reactive Langerhans cells. *Am J Dermatopathol*, 2019, 41(3): 188-192.
- [6] Zang S, Yin X, Li P. Downregulation of TTF1 in the rat hypothalamic ARC or AVPV nucleus inhibits Kiss1 and GnRH expression, leading to puberty delay. *Reprod Biol Endocrinol*, 2021, 19(1): 30.
- [7] 王艳荣,张秋瓚. CyclinD1 与恶性肿瘤关系的研究进展. 医疗装备, 2022, 35(12): 193-196.
- [8] Weidner N. Angiogenesis as a predictor of clinical outcome in cancer patients. *Hum Pathol*, 2000, 31(4): 403-405.
- [9] 田景琳,马良建,曹安琪,等. 肿瘤干细胞在卵巢癌中的作用及其调控机制研究进展. 兰州大学学报(医学版), 2022, 48(4): 83-88.
- [10] Tanha K, Mottaghi A, Nojomi M, et al. Investigation on factors associated with ovarian cancer: an umbrella review of systematic review and meta-analyses. *J Ovarian Res*, 2021, 14(1): 153.
- [11] 刘铃铃,刘振贤,程虹. 细胞周期蛋白 D1 基因对卵巢癌细胞生物学行为的影响. 中国肿瘤外科杂志, 2022, 14(2): 182-189.
- [12] Oktay E, Oflazoglu U, Varol Y, et al. The prognostic role of thyroid transcription factor-1 in lung adenocarcinoma. *J Cancer Res Ther*, 2020, 16(4): 737-744.
- [13] Phelps C A, Lai S C, Mu D. Roles of thyroid transcription factor 1 in lung cancer biology. *Vitam Horm*, 2018, 106: 517-544.
- [14] Li M, Zheng W, Wei J, et al. Thyroid transcription factor-1 promotes lymph node metastasis by inducing lymphangiogenesis in ovarian carcinoma. *Pathol Res Pract*, 2017, 213(9): 1054-1058.
- [15] Hakim S A, Youssef N S. Diagnostic utility of thyroid transcription factor-1 in ovarian carcinoma and its relationship with clinicopathologic prognostic parameters. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2017, 25(4): 237-243.
- [16] 闫晓红,王伟,袁玥,等. CyclinD1、p27 在非小细胞肺癌中的表达及与临床病理特征、术后复发的关系. 中国现代医学杂志, 2022, 32(5): 86-92.
- [17] Li M, Zheng W, Wang C. CyclinD1 promotes lymph node metastasis by inducing lymphangiogenesis in human ovarian carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol*, 2018, 11(7): 3726-3731.
- [18] Liu J, Tao L L, Yu G Y, et al. Diagnostic significance of CyclinD1 and D2-40 expression for follicular neoplasm of the thyroid. *Pathol Res Pract*, 2022, 229: 153739.
- [19] Ding J, Xu K, Sun S, et al. SOCS1 blocks G1-S transition in hepatocellular carcinoma by reducing the stability of the CyclinD1/CDK4 complex in the nucleus. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(4): 3962-3975.
- [20] Jiang Y, Wang C, Zhou S. Targeting tumor microenvironment in ovarian cancer: premise and promise. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2020, 1873(2): 188361.

(收稿日期: 2022-08-29)

(本文编辑: 林燕薇)