·论　著·

血清羧肽酶 N1 和半乳糖凝集素-1 在乳腺癌中的表达及临床意义*

张　媛,白　俊△,曹　菲,孙　超,岳青芳
陕西省人民医院肿瘤内科,陕西西安 710000

摘　要:目的　探讨血清羧肽酶 N1(CPN1)和半乳糖凝集素-1(Gal-1)在乳腺癌中的表达及临床意义。**方法**　选取 2017 年 1 月至 2019 年 1 月该院收治的 64 例乳腺癌患者(乳腺癌组),42 例乳腺良性肿瘤患者(乳腺良性肿瘤组),以及同期 40 例女性体检健康者(健康对照组)为研究对象。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测各组血清 CPN1、Gal-1 的表达水平。采用 Pearson 相关分析血清 CPN1、Gal-1 表达水平之间的相关性。分析血清 CPN1、Gal-1 表达水平与乳腺癌患者临床病理特征的关系。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 CPN1、Gal-1 对乳腺癌的早期诊断价值。**结果**　相比于乳腺良性肿瘤组及健康对照组,乳腺癌组血清 CPN1、Gal-1 表达水平明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。乳腺癌组血清 CPN1、Gal-1 表达水平与临床分期、淋巴结转移及是否为三阴性乳腺癌有关($P<0.05$)。乳腺癌患者血清 CPN1 表达水平与 Gal-1 呈正相关($r=0.486$,$P<0.05$)。ROC 曲线分析显示,血清 CPN1、Gal-1 单项及联合检测诊断乳腺癌的曲线下面积(AUC)分别为 0.708(95%CI:0.490～0.923)、0.725(95%CI:0.458～0.982)及 0.863(95%CI:0.688～0.963),血清 CPN1、Gal-1 联合检测诊断乳腺癌的效能均高于单项指标检测。**结论**　乳腺癌患者血清 CPN1、Gal-1 表达水平升高,CPN1、Gal-1 可作为早期辅助诊断乳腺癌的肿瘤标志物。

关键词:乳腺癌;　羧肽酶 N1;　半乳糖凝集素-1;　诊断价值
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.18.001　　**中图法分类号:**R737.9
文章编号:1673-4130(2022)18-2177-05　　**文献标志码:**A

Expression and clinical significance of serum carboxypeptidase N1 and galectin-1 in breast cancer*

ZHANG Yuan, BAI Jun△, CAO Fei, SUN Chao, YUE Qingfang
Department of Oncology Internal Medicine, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, Shaanxi 710000, *China*

Abstract: Objective　To investigate the expression and clinical significance of serum carboxypeptidase N1 (CPN1) and galectin-1 (Gal-1) in breast cancer. **Methods**　Sixty-four cases of breast cancer patients (breast cancer group), 42 cases of benign breast tumor (benign breast tumor group) in this hospital from January 2017 to January 2019 and 40 female healthy subjects (healthy control group) undergoing physical examination were selected as the research subjects. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the expression levels of serum CPN1 and Gal-1 in each group. The correlation between the expression of serum CPN1 and Gal-1 were analyzed by using the Pearson correlation analysis. The relationship between the expression levels of serum CPN1 and Gal-1 with the clinicopathological characteristics of breast cancer patients were analyzed. The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the value of serum CPN1 and Gal-1 levels in the early diagnosis of breast cancer. **Results**　The expression levels of serum CPN1 and Gal-1 in the breast cancer group were significantly higher than those in the benign breast tumor group and healthy control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The expression levels of serum CPN1 and Gal-1 in the breast cancer group were related to the clinical stage, lymph node metastasis and whether having triple negative breast cancer ($P<0.05$). The serum CPN1 expression level was positively correlated with Gal-1 in the patients with breast cancer ($r=0.486$, $P<0.05$). The ROC curve analysis showed that the area under the curve (AUC) of serum CPN1, Gal-1 and their combined detection for diagnosing breast cancer were 0.708 (95%CI: 0.490－0.923), 0.725 (95%CI: 0.458 －0.982) and 0.836 (95%CI: 0.688－0.963) re-

* **基金项目:**陕西省自然科学基金项目(2021JQ-919)。
作者简介:张媛,女,主治医师,主要从事乳腺癌方向的研究。　△ **通信作者**,E-mail:edgemen@163.com。
网络首发　https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.r.20220720.1534.002.html(2022-07-22)

spectively. The diagnostic efficiency of serum CPN1 and Gal-1 combined detection in the diagnosis of breast cancer was significantly higher than that of single index detection. **Conclusion**　The expression levels of serum CPN1 and Gal-1 are elevated in the patients with breast cancer. The CPN1 and Gal-1 could be used as the auxiliary tumor markers for early diagnosis of breast cancer.

Key words: breast cancer;　carboxypeptidase N1;　galectin-1;　diagnostic value

乳腺癌是女性常见的恶性肿瘤，全球每年新发病例达 226 万例，死亡例数达 68 万例[1]。乳腺癌的发生与遗传因素、环境因素及激素水平等有关[2]。目前乳腺癌发生的生物学机制尚不清楚，无有效的针对性防治措施，寻找乳腺癌血清肿瘤标志物有助于该病的早期诊断和早期治疗，改善乳腺癌患者预后[3]。目前临床上常用的肿瘤标志物包括糖类抗原(CA)153、癌胚抗原(CEA)及 CA125 等，但由于其在一些感染性疾病中水平也会升高，导致特异性不佳[4]。羧肽酶 N1(CPN1)是一种血浆金属蛋白酶，属于肽酶 M14 家族成员，据报道，CPN1 作为一种酶，参与循环中基质细胞衍生因子-1α 的 C 端裂解，对造血系统、心血管功能和血管生成至关重要[5-6]。近年的研究发现，乳腺癌组织中 CPN1 表达升高，其表达水平能够反映患者临床预后情况，是一种新的肿瘤标志物[7]。半乳糖凝集素-1(Gal-1)为一种凝集素蛋白，编码基因定位于人类 22q12 染色体，是一种同源二聚体蛋白，包含两个 β-半乳糖苷结合位点。研究表明，Gal-1 可以与 H 型三磷酸鸟苷酶相互作用，促进细胞增殖和有丝分裂，参与细胞聚集、增殖、肿瘤诱导的血管生成和转移等生物学过程[8]。近年来发现，Gal-1 在宫颈癌[9]、肾癌[10]等肿瘤组织中表达异常升高，并促进肿瘤的恶性进展。本研究通过检测血清 CPN1、Gal-1 在乳腺癌中的表达，探讨以上指标在乳腺癌中的临床意义。

1　资料与方法

1.1　一般资料　以 2017 年 1 月至 2019 年 1 月本院收治的 64 例乳腺癌患者为研究对象(乳腺癌组)：年龄 33～71 岁，平均(53.20±6.10)岁；临床分期：Ⅰ～Ⅱ期 34 例，Ⅲ～Ⅳ期 30 例；肿瘤最大径：≥2 cm 35 例，<2 cm 29 例；组织分化程度：高分化 19 例，中低分化 45 例；淋巴结转移：转移 42 例，无转移 22 例。乳腺癌组纳入标准：(1)乳腺癌经病理学检查确诊。(2)初次诊治。(3)患者一般状况良好。排除标准：(1)合并其他器官恶性肿瘤。(2)合并严重的心、肺衰竭。(3)合并乳腺炎等良性疾病。将同期收治的 42 例乳腺良性肿瘤患者作为乳腺良性肿瘤组，将同期在本院体检的 40 例体检健康者作为健康对照组。乳腺良性肿瘤组：年龄 34～71 岁，平均(54.60±5.20)岁；均为乳腺纤维腺瘤。健康对照组：年龄 32～73 岁，平均(56.30±6.40)岁。各组年龄比较，差异均无统计学意义($P>0.05$)，具有可比性。所有研究对象对本研究知情同意并签署知情同意书。本研究经本院医学伦理委员会审核通过(审批号：SX20160814012)。

1.2　方法　取各组研究对象清晨空腹静脉血 4 mL，2 500 r/min 离心 15 min，取上层血清置于离心管，于 −20 ℃保存。CPN1 试剂盒购自上海瑞番公司，Gal-1 试剂盒购自上海研启公司。酶联免疫吸附试验(ELISA)严格按说明书进行：设置标准品孔和样本孔，标准品孔加入呈梯度浓度的标准品，样本孔加入样本，加入辣根过氧化物酶标记的抗体室温孵育 1 h，加洗涤液洗涤 5 次，加入底物液 A、B 后室温避光孵育 15 min，加终止液后测量 450 nm 波长处的 A 值。以不同稀释倍数标准品的浓度作为横坐标，以标准品 450 nm 处的 A 值为纵坐标，绘制标准曲线。将检测样品 A_{450} 值代入曲线，计算对应的样品实际浓度。

1.3　统计学处理　采用 SPSS21.0 软件处理数据。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示，3 组间比较行 F 检验，组间两两比较行 LSD-t 检验，两组间比较行独立样本 t 检验。相关性分析采用 Pearson 相关。采用受试者工作特征(ROC)曲线评价血清 CPN1、Gal-1 对乳腺癌的诊断效能。采用 Logistic 回归建立血清 CPN1、Gal-1 联合检测的诊断模型。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　　果

2.1　各组血清 CPN1、Gal-1 表达水平比较　各组血清 CPN1、Gal-1 表达水平差异有统计学意义($P<0.05$)。相比于乳腺良性肿瘤组及健康对照组，乳腺癌组血清 CPN1、Gal-1 表达水平明显升高，差异有统计学意义($P<0.05$)；健康对照组与乳腺良性肿瘤组血清 CPN1、Gal-1 表达水平比较，差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1　**各组血清 CPN1、Gal-1 表达水平比较**($\bar{x}\pm s$，ng/L)

组别	n	CPN1	Gal-1
乳腺癌组	64	120.23 ± 30.55^{ab}	2.23 ± 0.53^{ab}
乳腺良性肿瘤组	42	63.61±22.44	1.58±0.42
健康对照组	40	61.56±20.42	1.56±0.41
F		74.528	29.651
P		<0.001	<0.001

注：与健康对照组比较，$^{a}P<0.05$；与乳腺良性肿瘤组比较，$^{b}P<0.05$。

2.2　乳腺癌组血清 CPN1、Gal-1 表达水平与临床病理特征的关系　乳腺癌组血清 CPN1、Gal-1 表达水平与临床分期、淋巴结转移及是否为三阴性乳腺癌有关($P<0.05$),与年龄、分化程度、肿瘤最大径无关($P>0.05$)。临床分期为Ⅲ～Ⅳ期、有淋巴结转移及三阴性乳腺癌患者的血清 CPN1、Gal-1 表达水平高于Ⅰ～Ⅱ期、无淋巴结转移及非三阴性乳腺癌患者($P<0.05$)。见表 2。

表 2　血清 CPN1、Gal-1 表达水平与临床病理特征的关系($\bar{x}\pm s$,ng/L)

临床病理特征	n	CPN1			Gal-1		
		水平	t	P	水平	t	P
年龄(岁)							
<60	41	118.53±28.17	0.622	0.536	2.14±0.50	1.825	0.073
≥60	23	123.26±30.98			2.39±0.57		
肿瘤最大径(cm)			0.519	0.605		1.468	0.147
≥2	35	120.23±30.55			2.32±0.51		
<2	29	116.12±32.66			2.12±0.58		
分化程度							
高分化	19	115.34±32.18	0.857	0.395	2.04±0.67	1.863	0.067
中低分化	45	122.29±28.54			2.31±0.46		
临床分期							
Ⅰ～Ⅱ期	34	110.56±29.66	2.644	0.010	1.81±0.43	7.257	<0.001
Ⅲ～Ⅳ期	30	131.19±32.75			2.71±0.56		
淋巴结转移							
有	42	128.33±28.51	2.932	0.005	2.49±0.55	5.540	<0.001
无	22	104.76±34.18			1.73±0.46		
三阴性乳腺癌							
是	21	137.23±34.85	3.093	0.003	2.63±0.66	4.049	<0.001
否	43	111.93±28.51			2.03±0.50		

2.3　乳腺癌组血清 CPN1、Gal-1 表达水平之间的相关性　Pearson 相关分析结果显示,乳腺癌患者血清 CPN1 表达水平与 Gal-1 呈正相关($r=0.486$,$P<0.001$)。见图 1。

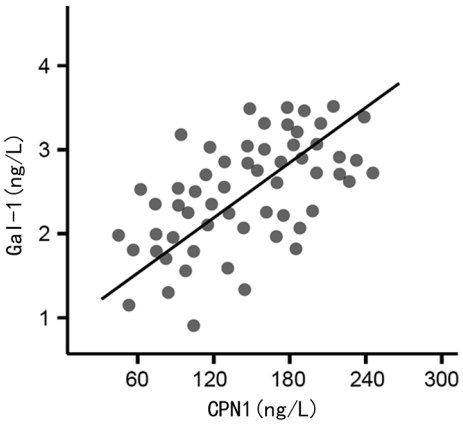

图 1　乳腺癌组血清 CPN1、Gal-1 表达水平相关性的散点图

2.4　血清 CPN1、Gal-1 对乳腺癌的诊断效能　ROC 曲线分析结果显示,血清 CPN1、Gal-1 单独及联合检测时,诊断乳腺癌的曲线下面积(AUC)分别为 0.708(95%CI:0.490～0.923)、0.725(95%CI:0.458～0.982、0.836(95%CI:0.688～0.963),其中联合诊断效能更高,AUC 及灵敏度、特异度均较各指标单独诊断有明显提升。见图 2、表 3。

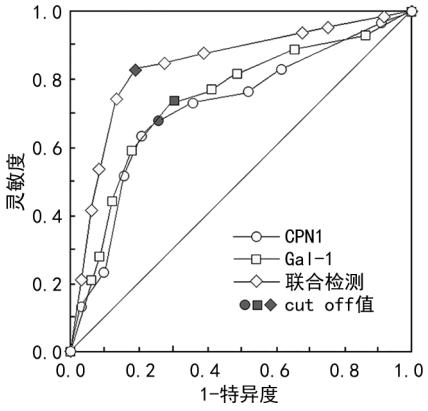

图 2　血清 CPN1、Gal-1 单项及联合检测诊断乳腺癌的 ROC 曲线

表 3　血清 CPN1、Gal-1 单项及联合检测对乳腺癌的诊断效能

项目	cut off 值	约登指数	灵敏度	特异度	AUC	95%*CI*
CPN1	100 ng/L	0.426	0.688	0.738	0.708	0.490～0.923
Gal-1	2 ng/L	0.424	0.734	0.690	0.725	0.458～0.982
联合检测	—	0.638	0.828	0.810	0.836	0.688～0.963

注：—表示无数据。

3　讨　　论

近年来，乳腺癌的发病率呈逐年升高的趋势，目前乳腺癌已成为全球女性第一大癌症[11]。乳腺癌的治疗包括手术治疗、内分泌治疗及化疗等，但由于个体差异性较大，不同患者的预后差异较大[12]。深入研究乳腺癌的发生机制，寻找乳腺癌早期诊断及病情判断的肿瘤标志物具有重要意义。乳腺癌患者的血清肿瘤标志物需具有价格低廉、标本易取等优点，这将有利于乳腺癌的早期筛查、预后预测及治疗效果监测。乳腺癌的发生、发展与调控细胞增殖、凋亡及转移的基因突变有关，例如错配修复基因 BRCA1 等的突变可导致乳腺癌的发生[13]。

羧肽酶 N(CPN)也称为精氨酸/赖氨酸羧肽酶或激肽酶Ⅰ，是锌金属蛋白酶家族的成员。CPN 是由两个相同的催化亚基 CPN1 和两个调节亚基 CPN2 组成的四聚体，其中 CPN1 是主要功能亚基[14]。已有研究报道，乳腺癌组织中 CPN1 表达水平升高与患者不良预后有关，能够判断化疗的疗效[7]。然而，CPN1 在乳腺癌患者血清中的表达情况尚不清楚。本研究中，乳腺癌患者血清 CPN1 表达水平显著升高，提示乳腺癌中 CPN1 表达上调。目前其表达上调的机制尚不清楚，可能与微小 RNA 对其的表达调控有关。研究发现，miRNA-409-3p 能够通过抑制核转录因子 LMO4 的表达，进而抑制 LMO4 的靶基因 CPN1 的表达[15]，因此，乳腺癌中 CPN1 的表达水平升高可能与肿瘤中 miRNA-409-3p 表达下调有关[16]，但具体作用机制有待深入研究。

此外，本研究发现，乳腺癌患者血清中 CPN1 表达水平与临床分期、淋巴结转移及是否为三阴性乳腺癌有关，表明 CPN1 参与乳腺癌的进展。一项体外细胞实验表明，CPN1 在乳腺癌细胞中表达升高能够促进肿瘤细胞的侵袭和迁移，而降低 CPN1 表达后，肿瘤细胞的迁移和侵袭能力显著受到抑制[17]。有研究报道，CPN1 在几种特定类型的乳腺癌中表达水平升高，与健康对照者和其他非三阴性乳腺癌患者相比，三阴性乳腺癌患者 CPN1 mRNA 表达水平更高[18]，与本研究结果一致。有研究还显示，高 CPN1 表达水平的乳腺癌患者总体生存时间较短，预后较差[18]。因此，血清 CPN1 可能是辅助诊断乳腺癌新的肿瘤标志物。

Gal-1 属于半乳糖苷结合蛋白家族成员，进化较为保守，能够识别 β-半乳糖苷，通过与细胞表面糖偶联蛋白或脂质结合，介导细胞-细胞之间或细胞-细胞外成分之间的信号传递。研究表明，Gal-1 在肺癌、肝癌等多种恶性肿瘤中表达上调，通过参与免疫抑制、促血管生成和促进肿瘤转移，发挥促进肿瘤进展的作用[19]。本研究中，乳腺癌组患者血清 Gal-1 表达水平明显高于健康对照组和乳腺良性肿瘤组，提示 Gal-1 可能参与乳腺癌的发生。研究表明，乳腺癌组织中 Gal-1 表达水平升高，其通过结合 E-选择素，促进肿瘤细胞的侵袭和转移[20]。本研究发现，乳腺癌组血清 Gal-1 的表达水平与临床分期及淋巴结转移等有关，提示血清 Gal-1 的高表达促进了乳腺癌的进展。研究报道，肿瘤中 Gal-1 的表达能够促进 1-磷酸鞘氨醇受体 1 的表达，促进肿瘤细胞上皮间质转化，使间质性标志物如 N-钙黏素表达增加，进而促进肿瘤的远处转移[21]。还有研究发现，Gal-1 能够激活肿瘤细胞中丝裂原活化蛋白激酶信号通路，促进 p38 的磷酸化，进而促进肿瘤细胞的恶性增殖及转移[22]。本研究进一步分析发现，血清 CPN1 表达水平与 Gal-1 呈正相关($P<0.05$)。研究发现，Gal-1 能够通过促进肿瘤细胞分泌血管内皮细胞生长因子，促进肿瘤血管新生，而血管内皮细胞生长因子能够促进 CPN1 的表达[5,23]。因此，CPN1 与 Gal-1 在乳腺癌中可能发挥协同促癌的作用。

理想的乳腺癌肿瘤标志物具有灵敏度高，器官特异性强等优点。研究表明，恶性肿瘤中的 CPN1、Gal-1 能够分泌到血清中，导致其血清水平升高，检测以上指标不仅有利于疾病的早期诊断，还可判断疾病的严重程度[18,24]。本研究中 ROC 曲线分析发现，血清 CPN1、Gal-1 联合检测对乳腺癌具有较高的诊断效能，并且灵敏度和特异度较高，提示联合检测有助于乳腺癌的早期诊断。

综上所述，乳腺癌患者血清 CPN1、Gal-1 表达水平升高，血清 CPN1、Gal-1 表达水平与临床分期及淋巴结转移等有关，二者的高表达可能促进了乳腺癌的进展。联合检测血清 CPN1、Gal-1 水平对乳腺癌具有较高的诊断价值，是新的、非侵入性早期诊断方法。然而，本研究为单中心回顾性研究，样本量有限，可能存在一定的误差，有待后续进行深入研究。

参考文献

[1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and

mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin,2021,71(3):209-249.

[2] COUGHLIN S S. Social determinants of breast cancer risk,stage,and survival[J]. Breast Cancer Res Treat,2019,177(3):537-548.

[3] 于秀艳,田春迎,张晓伟,等. 血清 SBEM、hMAM 和 CEACAM19 水平在乳腺癌早期诊断中的临床意义[J]. 吉林大学学报(医学版),2021,47(6):1518-1525.

[4] 黄芬. 血清碱性磷酸酶、乳酸脱氢酶对乳腺癌患者生存预后的评估价值[J]. 实用癌症杂志,2019,34(6):905-907.

[5] WU T Y,WANG Y S,Y C S,et al. Fine-tune regulation of carboxypeptidase N1 controls vascular patterning during zebrafish development[J]. Sci Rep,2017,7(1):1852.

[6] DAVIS D A,SINGER K E,DE LA LUZ S M,et al. Identification of carboxypeptidase N as an enzyme responsible for C-terminal cleavage of stromal cell-derived factor-1alpha in the circulation[J]. Blood,2005,105(12):4561-4568.

[7] CUI R,WANG C,LI T,et al. Carboxypeptidase N1 is anticipated to be a synergy metrics for chemotherapy effectiveness and prognostic significance in invasive breast cancer[J]. Cancer Cell Int,2021,21(1):571.

[8] BLAZEVITS O,MIDEKSA Y G,SOLMAN M,et al. Galectin-1 dimers can scaffold Raf-effectors to increase H-ras nanoclustering[J]. Sci Rep,2016,6(4):24165.

[9] WU H,SONG S,YAN A,et al. RACK1 promotes the invasive activities and lymph node metastasis of cervical cancer via galectin-1[J]. Cancer Lett,2020,469(4):287-300.

[10] ABOULHAGAG N A,EL-DEEK H,SHERIF M F. Expression of galectin-1 and galectin-3 in renal cell carcinoma; immunohistochemical study[J]. Ann Diagn Pathol,2018,36(6):31-37.

[11] COUGHLIN S S. Epidemiology of breast cancer in women [J]. Adv Exp Med Biol,2019,1152(1):9-29.

[12] 喻兰雅,寇晓梅,柯永莉,等. 乳腺癌组织表皮生长因子受体、细胞角蛋白 5/6、上皮钙黏蛋白表达与预后的关系研究[J]. 现代生物医学进展,2021,21(16):3079-3083.

[13] ROBSON M E,TUNG N,CONTE P,et al. Olympiad final overall survival and tolerability results:Olaparib versus chemotherapy treatment of physician's choice in patients with a germline BRCA mutation and HER2-negative metastatic breast cancer[J]. Ann Oncol,2019,30(4):558-566.

[14] LEUNG L,MORSER J. Carboxypeptidase B2 and carboxypeptidase N in the crosstalk between coagulation,thrombosis,inflammation,and innate immunity[J]. J Thromb Haemost,2018,14(1):99-110.

[15] DIAZ J L,SITHTHANANDAN V B,LU V,et al. An evolutionarily acquired microRNA shapes development of mammalian cortical projections[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2020,117(46):29113-29122.

[16] ZHANG G,LIU Z,XU H,et al. miR-409-3p suppresses breast cancer cell growth and invasion by targeting Akt1 [J]. Biochem Biophys Res Commun,2016,469(2):189-195.

[17] CUI R,ZHANG P,LI Y. Role of carboxypeptidase N invasion and migration in breast cancer[J]. Anticancer Agents Med Chem,2016,16(9):1198-1202.

[18] CUI R,WANG C,ZHAO Q,et al. Serum carboxypeptidase N1 serves as a potential biomarker complementing CA15-3 for breast cancer[J]. Anticancer Agents Med Chem,2020,20(17):2053-2065.

[19] WU R,WU T,WANG K,et al. Prognostic significance of galectin-1 expression in patients with cancer:a meta-analysis[J]. Cancer Cell Int,2018,18(5):108.

[20] REYNOLDS N M,MOHAMMADALIPOUR A,HALL C R,et al. Galectin-1 influences breast cancer cell adhesion to E-selectin via ligand intermediaries[J]. Cell Mol Bioeng,2018,11(1):37-52.

[21] YOU X,WANG Y,WU J,et al. Galectin-1 promotes metastasis in gastric cancer through a sphingosine-1-phosphate receptor 1-dependent mechanism[J]. Cell Physiol Biochem,2018,51(1):11-30.

[22] ZHU J,ZHENG Y,ZHANG H,et al. Galectin-1 induces metastasis and epithelial-mesenchymal transition (EMT) in human ovarian cancer cells via activation of the MAPK JNK/p38 signalling pathway[J]. Am J Transl Res,2019,11(6):3862-3878.

[23] WU D,KANDA A,LIU Y,et al. Galectin-1 promotes choroidal neovascularization and subretinal fibrosis mediated via epithelial-mesenchymal transition[J]. FASEB J,2019,33(2):2498-2513.

[24] NANAMI T,HOSHINO I,SHIRATORI F,et al. Prevalence of serum galectin-1 autoantibodies in seven types of cancer:a potential biomarker[J]. Mol Clin Oncol,2021,15(3):179.

(收稿日期:2021-12-12　修回日期:2022-04-27)