

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.02.005

· 基础研究 ·

姜黄素对化学诱导大鼠肝癌缺氧模型血管生成的影响

杨传玉^{1,3}, 曾荣耀^{2Δ}, 刘荣亮³, 王小文³, 柯思明³, 刘静³(1. 福建医科大学 研究生院, 福建 福州 353000; 2. 福建医科大学 附属第二医院 急诊科, 福建 泉州 362000; 3. 中国人民解放军第 175 医院 普外科, 福建 漳州 363000)

[摘要] **目的:**探讨姜黄素对二乙基亚硝胺(diethylnitrosamine, DEN)诱发大鼠肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)缺氧后血管形成的影响。**方法:**采用DEN诱发大鼠HCC, 结扎肝动脉并构建大鼠HCC缺氧模型。将HCC模型大鼠按照数字表法随机分为单纯碘化油栓塞组(A组)、碘化油联合姜黄素栓塞组(B组)、碘化油联合肝周包膜组(C组)、碘化油联合姜黄素及肝周包膜组(D组), 每组10只。比较各组大鼠相应治疗后HCC细胞及组织VEGF、微血管密度(microvessel density, MVD)及大鼠中位生存时间(median survival time, MST)。**结果:**B组与D组的VEGF蛋白表达及MVD均比A组显著降低($P<0.01$), 而C组上述指标则与A组无显著变化($P>0.05$)。B、C、D组比A组大鼠MST均显著延长($P<0.05$), D组大鼠的MST高于B、C组($P<0.05$)。**结论:**姜黄素可抑制HCC缺氧大鼠肿瘤血管的生成, 可降低VEGF表达及MVD, 起到延长大鼠生存期的作用。

[关键词] 姜黄素; 大鼠; 肝细胞癌; 缺氧; 血管生成

[中图分类号] R735.7; R730.54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)02-0137-05

Effect of curcumin on angiogenesis of rats with DEN-induced hepatocellular carcinoma under hypoxia

YANG Chuanyu^{1,3}, ZENG Rongyao^{2Δ}, LIU Rongliang³, WANG Xiaowen³, KE Enming³, LIU Jing³(1. Graduate School of Fujian Medical University, Fuzhou 353000, Fujian, China; 2. Department of Emergency, Second Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Quanzhou 362000, Fujian, China; 3. Department of General Surgery, the 175th Hospital of PLA, Zhangzhou 363000, Fujian, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effect of curcumin on angiogenesis in rats with DEN (diethylnitrosamine)-induced HCC (hepatocellular carcinoma) under hypoxia. **Methods:** Rat HCC was induced by DEN, and its hepatic hypoxia model was established by ligating hepatic artery. The rats with established HCC model were randomly divided into four groups according to digital table method: lipiodol embolization group (group A), lipiodol combined with curcumin embolization group (group B), lipiodol combined with peripheral liver capsule group (group C), lipiodol combined with curcumin and peripheral liver capsule group (group D), with 10 rats in each group. VEGF expression in HCC cells and tissues, microvessel density (MVD), and median survival time (MST) of rats in each group were compared. **Results:** VEGF protein expression and microvessel density in group B, D were significantly lower than those in A group ($P<0.01$), while those in C group had no significant difference compared with group A ($P>0.05$). MST in group B, C and D was significantly longer than that in group A ($P<0.05$), and the MST in group D was higher than that in group B and C ($P<0.05$). **Conclusion:** Curcumin can inhibit tumor angiogenesis and decrease VEGF expression and MVD in HCC rats under hypoxia, thus further prolong the survival time of the rats.

[Key words] curcumin; rat; hepatocellular carcinoma; hypoxia; angiogenesis

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(2): 137-141. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.02.005]

[基金项目] 福建省自然科学基金资助项目(No. 2017J01164); 漳州市科技拥军项目(No. ZZ2016KD06); 南京军区医学科技创新项目(No. 11MA082)。Project supported by the Natural Science Foundation of Fujian Province (No.2017J01164), the Science and Technology Supporting Army Program of Zhangzhou City (No.ZZ2016KD06), and the Medical Science and Technology Innovation of Nanjing Military Region (No.11MA082)

[作者简介] 杨传玉(1989-), 男, 硕士生, 主要从事肝胆胰脾肿瘤综合治疗的研究, E-mail: 985617498@qq.com; 曾荣耀(1989-), 男, 硕士生, 主要从事肝胆胰脾肿瘤综合治疗的研究, E-mail: 369788186@qq.com。Δ共同第一作者

[通信作者] 刘静(LIU Jing, corresponding author), 博士, 主任医师, 硕士生导师, 主要从事肝胆胰脾肿瘤综合治疗的研究, E-mail: liujdoctor@126.com)

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是全世界最常见恶性肿瘤之一,临床发病率与病死率均居前列,近年来其发病率与病死率均在逐年攀升^[1]。最新统计数据^[2]显示,全球每年因HCC死亡患者多达75万,而中国占总死亡人数的50%以上。肝动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)是中晚期HCC非手术治疗的重要方案,然而TACE也有其缺点和局限性,该治疗不属于HCC的根治性治疗手段,TACE后部分HCC组织与周围组织粘连形成侧枝血供,另外残留肿瘤内局部缺血缺氧促使肿瘤细胞大量分泌可上调VEGF表达的细胞因子,从而使HCC细胞增殖、血管大量增生,最终使得肿瘤复发转移^[3]。因此,如何抑制HCC缺血缺氧后血管形成是现今治疗的难点与热点。有研究^[4]显示,姜黄素具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等广泛药理作用,并已被列为第3代癌化学预防药物,其抗肿瘤、抑制血管生成作用其颇受关注。本研究主要探讨姜黄素对大鼠原发性HCC缺血缺氧后血管生成的影响。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

姜黄素购自美国Sigma公司,碘化油购自法国Guerbet公司,抗VEGF抗体免疫试剂盒与抗CD34抗体免疫试剂盒是上海生工生物科技公司产品,二乙基亚硝胺(diethylnitrosamine, DEN)购自美国Sigma公司,兔抗大鼠HIF- α 单克隆抗体购自美国Santa Cruz公司,术后防粘连隔离膜(百菲米)购自北京百利康生化有限公司,PMSF购自上海生工生物科技公司,Triton x-100购自上海宝曼生物科技公司,ECL试剂盒购买自碧云天生物技术公司。

1.2 实验动物及分组

雄性SD大鼠40只,SPF级,4~6周龄,体质量(200 \pm 20)g,购自福州吴氏动物实验基地,实验动物合格证号:2007000564052。按照随机数字表法将大鼠分为单纯碘化油栓塞组(A组)、碘化油联合姜黄素栓塞组(B组)、碘化油联合肝周包膜组(C组)、碘化油联合姜黄素及肝周包膜组(D组),每组10只。分笼饲养,给予正常饮食和饮水。实验室温度维持在25 $^{\circ}$ C,大鼠喂养1周适应环境。

1.3 构建HCC模型及HCC缺氧模型

实验大鼠建模前均禁食、禁水10 h。采用间断给予小剂量DEN诱发大鼠HCC模型,4组大鼠按体质量20 mg/kg给予0.2% DEN腹腔注射,同时每周按照1.5~2.0 ml/d DEN灌胃3次,持续4周后停药。然后饮用生理盐水2周,自第7周后给予0.01% DEN,共饮用4周,第11周开始给予0.02% DEN饮用3周,第14周后停药^[5]。第17周开腹取肝肿瘤组织行病理检

查以证实造模HCC成功。HCC模型建立成功后再予以结扎肝动脉构建大鼠HCC缺氧模型。缺氧HCC模型构造成功后,同样开腹手术方法下,在肝门静脉内放置外口直接固定在大鼠体表的给药导管,以及在相关组大鼠肝脏周围放置术后防粘连隔离膜^[6],手术过程中各项操作保证严格的无菌要求,手术结束后做好保温、抗感染、足量营养供应等预防与治疗措施。

1.4 给药方法

A组经肝门静脉插管缓慢给予碘化油1 ml/d栓塞治疗,共7 d;B组同样方法输注姜黄素碘化油(5 mg/kg)乳剂1 ml/d栓塞治疗,共7 d;C组肝周放置防粘连隔膜加相同剂量及给药频率的碘化油栓塞治疗;D组肝周放膜加同样方法的姜黄素碘化油(5 mg/kg)乳剂栓塞治疗。

1.5 Western blotting 检测大鼠HCC组织中VEGF蛋白的表达水平

均于栓塞术后2周采集HCC组织标本(动物不处死),在乙醚麻醉下,开腹切取50 mg HCC组织,用眼科剪剪切成约1~2 mm³大小,然后加入10倍量胰酶,37 $^{\circ}$ C培养箱内消化10 min,最后用5 ml DMEM完全培养基终止消化,1 000 \times g离心5 min,PBS洗涤,收集即得到HCC组织单细胞悬液,相同方法再离心,弃上清即得到HCC细胞。然后加PMSF作用10 min,4 $^{\circ}$ C条件下1 200 \times g离心5 min,弃上清,加适量细胞裂解液,放于4 $^{\circ}$ C冰箱裂解30 min,最后12 000 \times g离心15 min,收集上清,即总蛋白提取物,-20 $^{\circ}$ C冰箱保存。然后采用Western blotting检测VEGF蛋白的表达及凝胶图像处理系统对蛋白灰度值分析。

1.6 免疫组化染色检测HCC组织VEGF蛋白与微血管密度(microvessel density, MVD)

采用两步法对HCC肿瘤中央及周围组织进行免疫组化染色,一抗为兔抗大鼠VEGF多克隆抗体/兔抗大鼠CD34多克隆抗体,按1:50比例稀释,磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗为组化染色阴性对照。采用CIAS-1000细胞图像分析系统对HCC组织细胞内的染色强程度和细胞数量进行综合判断。MVD的计数参考Weidner免疫组化的MVD计数方法^[7],即在40倍视野下观察整张切片,然后选取5处微血管最丰富的区域,最后再转到200倍视野下进行计数并取平均值。

1.7 统计学处理

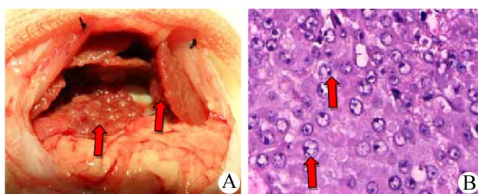
应用SPSS 19.0软件学统计,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间的两两比较采用LSD-*t*检验。统计各组HCC缺氧大鼠自栓塞术后至死亡的中位存活时间,采用Kaplan-Meier法进行生存分析。以 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 表

示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 成功制备大鼠HCC模型

40只雄性SD大鼠进行建模,其中2只大鼠构建模型过程中死亡,包括早期发生肺部感染死亡1只和肿瘤破裂出血死亡1只。剩余38只大鼠诱癌成功36只,建模成功率为94.73%(36/38)。肉眼可见HCC模型肝脏表面明显粗糙,全肝遍布大小不等的灰白色癌结节,并且可见肝脏边缘与胃、十二指肠等邻近器官广泛粘连(图1A)。显微镜下显示,HCC细胞形态呈巢状、类圆形等不规则形态,核质比明显高于正常细胞,细胞呈浸润性生长,细胞界限不清楚,淡红染色(图1B)。



A: General view of liver in 14-week old HCC rat;
B: Pathological morphology of HCC in 14-week old rat($\times 400$)

图1 建模成功鼠HCC组织病理学形态

Fig. 1 Histopathological morphology of HCC rat's tissues

2.2 联用姜黄素能降低HCC组织和细胞内VEGF蛋白的表达水平

Western blotting检测结果(图2)显示,A组与C组HCC组织和细胞内细胞内VEGF蛋白水平无明显差异($P>0.05$);而B、D组HCC组织和细胞内细胞内VEGF蛋白表达水平均明显低于A组($P<0.05$)。免疫组化检测结果(图3)显示,A组与C组细胞内VEGF蛋白水平无明显差异($P>0.05$);而B、D组细胞内VEGF蛋白表达水平均明显低于A组($P<0.05$)。

2.3 联用姜黄素能降低HCC组织MVD值

免疫组化检测MVD值(CD34的表达)结果(图4)显示,B、D组MVD均明显低于A组($P<0.05$),而C组较A组MVD值降低不明显($P>0.05$)。

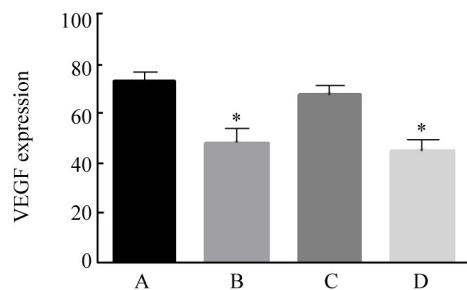
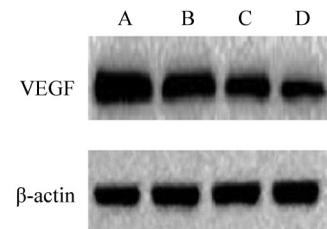
2.4 联合姜黄素及肝周包膜能明显提高HCC大鼠中位生存时间(median survival time, MST)

Kaplan-Meier法生存结果显示,B、C组HCC大鼠MST较A组明显升高[(22.31 \pm 2.15)、(22.00 \pm 2.56) vs (17.00 \pm 2.16) d, $P<0.05$],D组升高更明显[(28.85 \pm 3.47) vs (17.00 \pm 2.16) d, $P<0.01$]。

3 讨论

原发性HCC是指肝细胞或肝内胆管细胞发生的

癌,其病死率在消化系统恶性肿瘤中高居第3位^[8]。HCC早期症状隐匿,常是健康体检时被发现,该期手术治疗是首选,一旦出现典型临床症状,往往已是中、晚期,此期受肿瘤大小、部位及肝功能等因素影响,仅有20%~30%的患者尚有手术机会^[9]。TACE因创伤小、效果较理想,已成为中晚期HCC首选的非手术治疗方法。然而TACE术后残留肿瘤组织内会营造局部缺氧缺血微环境的微环境,其与肿瘤增殖、转移及复发均具有密不可分的关系^[10]。姜黄素是从姜科植物姜黄中提取的一种天然色素,具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抗病毒及保肝利胆等多种药理作用^[11]。而最近研究^[12]表明,姜黄素对卵巢癌有抗血管生成作用,姜黄素可以抑制缺氧诱导因子在IGF-1R信号通路中表达,从而下调VEGF的表达,最终减少肿瘤血管生成。



* $P<0.05$ vs group A

A: Lipiodol embolism group; B: Lipiodol combined with curcumin embolization group; C: Lipiodol combined with peripheral liver capsule group; D: Lipiodol combined with curcumin and peripheral liver capsule group

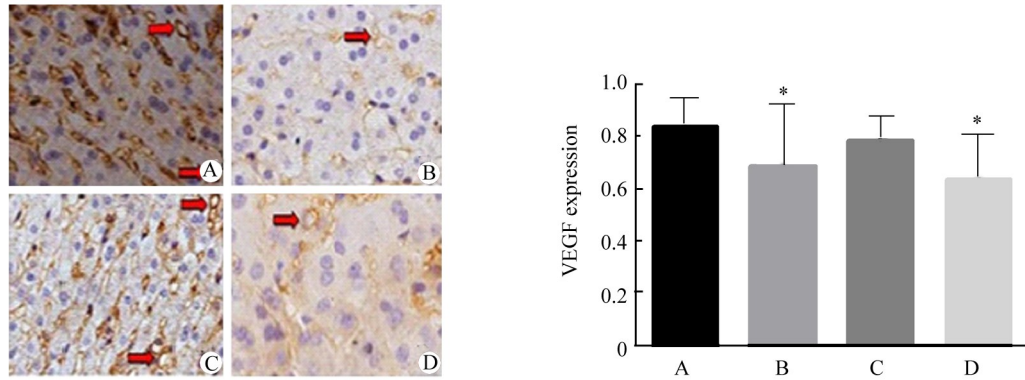
图2 Western blotting检测各组HCC细胞VEGF蛋白的表达水平

Fig. 2 Expression of VEGF protein in HCC cells detected by Western blotting

肿瘤组织快速增殖时氧供显著低于实际生长所需就会营造局部缺氧微环境^[13]。缺氧是实体肿瘤的固有特征之一,缺氧肿瘤细胞仍能不断增殖、浸润,在这个过程中起核心作用就是缺氧诱导因子1(hypoxia-induced factor 1, HIF-1)^[14]。HIF-1是肿瘤缺氧条件下维持氧自稳平衡的核心调控因子,HIF-1 α 是主要的功能调节亚基,其在正常氧分压下可被迅速降

解。当环境中的氧浓度急剧下降时, HIF-1 α 降解减少并在细胞内积聚及活性表达。HIF-1 α 表达增强可对靶基因的转录活性和蛋白表达产生影响, 特别是增加 VEGF 的表达。VEGF 已被证实微血管形成中居核心主导地位^[15]。有研究^[16]表明, VEGF、HIF-1 α 的表达与肿瘤微血管生成具有显著正相关性。本研究显示, B 组及 D 组 HCC 细胞内 VEGF 的表达均低于 A

组, A 组 HCC 组织 VEGF 呈高表达, C 组 VEGF 表达降低, B 组以及 D 组 HCC 组织 VEGF 表达均明显降低。HCC 组织免疫组化结果显示, 肝周包膜不能明显下调原发性 HCC 缺氧模型大鼠 VEGF 表达, 而姜黄素可明显下调原发性 HCC 缺氧模型大鼠 VEGF 表达, 抑制细胞增殖分化, 诱导细胞凋亡。

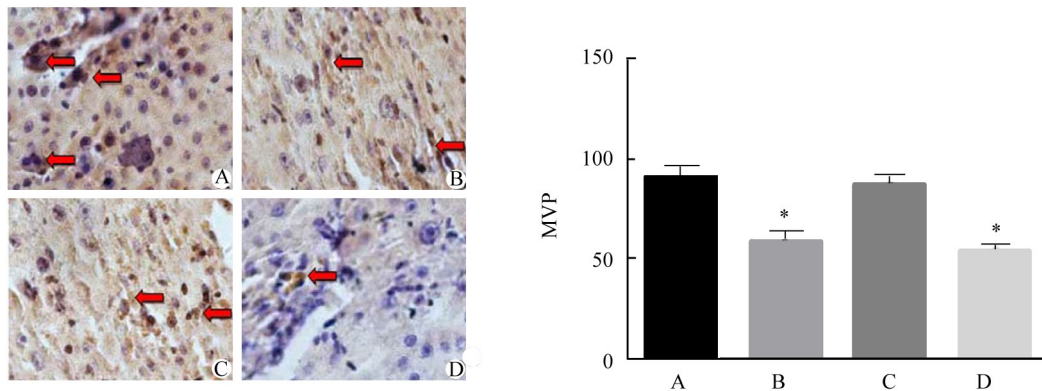


* $P < 0.05$ vs group A

A: Lipiodol embolism group; B: Lipiodol combined with curcumin embolization group; C: Lipiodol combined with peripheral liver capsule group; D: Lipiodol combined with curcumin and peripheral liver capsule group

图3 免疫组化法检测各组 HCC 组织中 VEGF 蛋白的表达($\times 200$)

Fig.3 Expression of VEGF protein in HCC tissues of each group by immunohistochemistry assay($\times 200$)



* $P < 0.05$ vs A group

A: Lipiodol embolism group; B: Lipiodol combined with curcumin embolization group;

C: Lipiodol combined with peripheral liver capsule group; D: Lipiodol combined with curcumin and peripheral liver capsule group

图4 各组 HCC 组织中 CD34 的表达($\times 200$)

Fig.4 Expression of CD34 in HCC tissues of each group($\times 200$)

MVD 在临床上应用于恶性肿瘤组织内微血管新生、侵袭及其预后的评估诊断, 从而可以反映肿瘤的生长转移情况^[17]。本研究结果显示, B、D 组 HCC 组织 MVP 均明显低于 A 组, 因此 HCC 在肝动脉结扎后, 门静脉碘化油栓塞创造的缺氧状态下, 姜黄素能抑制肿瘤新生血管的形成。MVD 值结果与 VEGF 表达结果相一致。

MST 也被称为半数生存期, 即生存率 50% 所对应的生存时间^[18]。本研究显示, B、C、D 组 HCC 大鼠的 MST 均比 A 组明显升高, 特别是 D 组升高最明显, 结合免疫组化及 Western blotting 检测结果可得出, 姜黄素能在降低缺氧模型大鼠 VEGF 表达及减少肿瘤微血管的形成, 起到延长缺氧模型大鼠生存时间的作用。

综上所述,肝动脉结扎联合门静脉置管单纯碘化油栓塞构造的原发性HCC缺氧模型大鼠VEGF表达及MVP较高,而姜黄素可有效降低大鼠模型VEGF表达及MVP,延长大鼠的MST。另外肝周隔绝膜所具有的“生物屏障”及“时差作用”使得残余肝脏与肝周组织器官形成人工隔绝环境,确切机理可能是肝周隔绝膜通过减少术后肝癌组织与周围器官或组织发生粘连,抑制或减少新的血供形成,从而提高治疗效果,使动物生存期延长,但具体机制尚待进一步探索研究。

[参考文献]

- [1] KIM D W, TALATI C, KIM R. Hepatocellular carcinoma (HCC): beyond sorafenib-chemotherapy[J]. *J Gastrointest Oncol*, 2017, 8(2): 256-265. DOI:10.21037/jgo.2016.09.07.
- [2] HE L, LIU X, ZHAO Y, et al. Efficacy of nucleot(s)ide analogs therapy in patients with unresectable HBV-related hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis[J]. *Dis Markers*, 2017, 2017: 1-10[2017-11-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5370486/>. DOI:10.1155/2017/7075935.
- [3] TALENFELD A D, SISTA A K, MADOFF D C. Transarterial therapies for primary liver tumors[J]. *Surg Oncol Clin N Am*, 2014, 23(2): 323-351. DOI:10.1016/j.soc.2013.11.002.
- [4] 常远鸿,江梅,刘凯歌,等.姜黄素对缺氧诱导的人原发性肝癌细胞HepG2上皮细胞间充质转化的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2013, 33(8): 1102-1106. DOI:10.7661/CJIM.2013.08.1102.
- [5] 王金娥,姜慧杰.二乙基亚硝胺诱导的大鼠实验性原发性肝细胞癌模型建立及应用[J]. *癌症进展*, 2011, 9(6): 683-687.
- [6] YANG F C, ZHENG S S, JIANG T A. A modified rat model for hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2004, 3(4): 585-587.
- [7] 余剑琴,周清,王汉楚,等. AEG-1在子宫颈癌组织中的表达及与微血管生成的相关性[J]. *中华全科医学*, 2016, 14(5): 796-798, 853. DOI:10.16766/j.cnki.issn.1674-4152.2016.05.034.
- [8] 付承林,赵秀敏,陈灵斌,等. HBV感染型原发性肝癌患者肿瘤微环境中T细胞亚群及VEGF表达水平及临床意义[J]. *中华医院感染学杂志*, 2017, 27(7): 1490-1493. DOI:10.11816/cn.ni.2017-163287.
- [9] 杨薇,杨华升,何秀娟,等. 槲芪散联合经动脉化疗栓塞术治疗原发性肝癌65例临床观察[J]. *首都医科大学学报*, 2009, 30(1): 37-40. DOI:10.3969/j.issn.1006-7795.2009.01.010.
- [10] 秦承东,任正刚,汤钊猷. 缺氧微环境在肿瘤进展中的作用[J]. *肿瘤*, 2016, 36(1): 96-102.
- [11] INANO H, ONODA M, INAFUKU N, et al. Potent preventive action of curcumin on radiation-induced initiation of mammary tumorigenesis in rats[J]. *Carcinogenesis*, 2000, 21(10): 1835-1841. DOI: 10.1093/carcin/21.10.1835.
- [12] GEST C, MIRSHAHI P, LI H, et al. Ovarian cancer: Stat3, RhoA and IGF-IR as therapeutic targets[J]. *Cancer Lett*, 2012, 317(2): 207-217. DOI:10.1016/j.canlet.2011.11.026.
- [13] 王维妮,李斑斑,陈晨,等. 缺氧在肿瘤发病机制中的研究进展[J]. *中华临床医师杂志*, 2015, 9(22): 4197-4201. DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2015.22.034.
- [14] 刘延,李湘斌,杨定华,等. SENP-1和HIF-1 α 在肝细胞肝癌中的表达及临床意义[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2012, 33(4): 465-470.
- [15] PARK Y N, KIM Y B, YANG K M, et al. Increased expression of vascular endothelial growth factor and angiogenesis in the early stage of multistep hepatocarcinogenesis[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2000, 124(7): 1061-1065. DOI:10.1043/0003-9985(2000)124<1061:IEOVEG>2.0.CO;2.
- [16] 张金山,朱宗恒,王钢胜,等. 乳腺癌组织中ING4、HIF-1 α 和HIF-2 α 表达及与肿瘤微血管新生的关系[J]. *安徽医药*, 2017, 21(5): 847-851. DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2017.05.018.
- [17] 陈义钢,顾琛,周宏,等. 转移抑制基因1和微血管密度在胆囊癌中的表达及其临床意义[J]. *中国现代医学杂志*, 2017, 27(7): 46-49.
- [18] 朱楠,鲁东,肖景坤,等. 肝动脉化疗栓塞联合射频消融术治疗中晚期肝癌的疗效[J]. *中国介入影像与治疗学*, 2017, 14(4): 195-199. DOI:10.13929/j.1672-8475.201610032.

[收稿日期] 2017-08-01

[修回日期] 2017-11-18

[本文编辑] 王映红

· 读者·作者·编者·

文稿中计量单位使用的要求

本刊严格执行国务院颁发的《中华人民共和国法定计量单位》,全面贯彻国家标准GB3100-3102-1993《量和单位》的规定,正确使用量和单位的名称和符号。(1)量符号以斜体拉丁和希腊字母表示(pH用正体除外),例如*m*(质量)、*t*(时间)、*c*(浓度)、*V*(体积)、*p*(压力)、*F*(力)等。(2)单位符号一律以正体拉丁或希腊字母表示,例如kg(千克)、m(米)、h(小时)、mol/L(摩尔每升)等。(3)表示人体检验指标的浓度或质量浓度时,一般使用L(升)作为检验组成含量单位的分母。(4)表示用药剂量单位时,不能写成mg/kg/d的形式,应写成mg/(kg·d)或mg·kg⁻¹·d⁻¹的形式。(5)单位符号常见书写错误:长度单位符号A[°](埃)已不用,应写作0.1 nm;时间单位“小时”符号为h(不是hr)、“秒”符号为s(不是sec);转速单位符号为r/min(不是rpm);量浓度单位符号为mol/L(不是M、N,也不是mol/mm³);力的单位“牛顿”符号为N[不是dyn(达因)],kgf(千克力),换算1 dyn=10⁻⁵N;热量单位“焦耳”符号为J[不是cal(卡)、kcal(千卡)],换算1 cal=4.187 J;放射性活度单位符号为Bq[不是Ci(居里)],换算1 Ci=3.7×10¹⁰Bq。

(本刊编辑部)