

· 宫颈癌影像学专题 ·

DCE-MRI 对宫颈鳞癌同步放化疗疗效的预测研究

余小多, 林蒙, 安菊生, 黄曼妮, 陈雁, 欧阳汉, 周纯武

【摘要】 目的:探讨动态增强 MRI(DCE-MRI)对宫颈鳞癌同步放化疗疗效的预测价值。方法:研究对象选取 2009 年 10 月—2012 年 1 月于我院行同步放化疗、并于治疗前、治疗末(常规治疗结束时)行 DCE-MRI 扫描的 88 例宫颈鳞癌患者。测量治疗前肿瘤及肌层 DCE-MRI 的时间信号强度曲线(TIC)类型及半定量参数,并计算肿瘤与肌层的比值,包括相对正性增强积分(rPEI)、相对最大上升斜率(rMSI)、相对最大下降斜率(rMSD)、增强后 15s、30s、45s 及 60s 的相对信号增强比率(rSER)、相对最大信号增强比率(rSERmax)及肿瘤达峰时间(TTP)。于治疗末依据肿瘤残存情况分为完全缓解(CR)组(56 例)及部分缓解(PR)组(32 例),对组间 DCE-MRI 半定量参数进行统计学比较,并采用受试者工作特征(ROC)曲线分析治疗前参数预测治疗末肿瘤残存的诊断阈值及效能。结果:CR 组治疗前 rPEI、rMSI、rSER₁₅、rSER₃₀ 及 rSER₄₅ 均高于 PR 组,且差异均有统计学意义(P 值分别为 <0.001 、 <0.001 、 0.045 、 <0.001 及 <0.001)。ROC 曲线分析显示以治疗前 rPEI ≤ 0.84 预测肿瘤同步放化疗后残存,其敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值及诊断符合率分别为 75.0%、69.6%、58.5%、83.0% 及 71.6%,曲线下面积(AUC)为 0.785($P < 0.001$)。结论:治疗前 DCE-MRI 半定量参数在一定程度上预测宫颈鳞癌治疗结束时的疗效,有助于临床实施肿瘤个体化精确治疗。

【关键词】 宫颈肿瘤; 磁共振成像; 动态增强扫描; 治疗结果

【中图分类号】 R737.33; R445.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-0313(2014)02-0131-05

A study of DCE-MRI in predicting efficacy of concurrent chemoradiotherapy in cervical squamous cell carcinoma YU Xiaoduo, LIN Meng, AN Ju-sheng, et al. Department of Diagnostic Radiology, Peking Union Medical College, Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100021, P. R. China

【Abstract】 Objective: To assess the value of DCE derived semiquantitative parameters in predicting the efficacy of concurrent chemoradiotherapy in cervical squamous cell carcinoma by using 3.0T DCE-MRI (dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging). **Methods:** Consecutive 88 cases of cervical squamous cell carcinoma with concurrent chemoradiotherapy in our hospital from October 2009 to January 2012 were included in our study. Pretreatment DCE derived TIC (time-signal intensity curve) and relative semiquantitative parameters in both tumor tissue and myometrium, including rPEI (relative positive enhancement integral), rMSI (relative maximum slop of increase), rMSD (relative maximum slop of decrease), rSER (relative signal enhancement ratio) at 15s, 30s, 45s and 60s after contrast agent administration, rSERmax (relative maximum signal enhancement ratio) and TTP (time to peak) were measured and statistically rendered. The patients were divided into CR (complete regression) group and PR (partial regression) group according to the tumor response at the end of routine treatment. Mann-Whitney U test was used to compare the pretreatment DCE parameters between the two groups, and ROC was used to assess the value of the pretreatment DCE parameters in predicting chemoradiotherapy efficacy. **Results:** At the end of routine treatment, there were 52 cases in CR group and 36 cases in PR group. Pretreatment rPEI, rMSI, rSER₁₅, rSER₃₀ and rSER₄₅ of CR group were higher than those of PR group with statistical significant differences ($P < 0.001$, <0.001 , 0.045 , <0.001 and <0.001 , respectively). ROC curve analysis showed when setting pretreatment rPEI threshold at lower than and equal to 0.88 for predicting PR, the specificity, sensitivity, positive predictive value, negative predictive value and accuracy were 75.0%, 69.6%, 58.5%, 83.0% and 71.6% respectively, with area under curve of 0.785 ($P < 0.001$). **Conclusion:** Pretreatment DCE-MRI derived parameters had potential to predict the concurrent chemoradiotherapy efficacy in cervical squamous cell carcinoma, which may help in individualized therapy.

【Key words】 Uterine cervical neoplasms; Magnetic resonance imaging; Dynamic contrast-enhanced scan; Treatment outcome

宫颈癌是女性常见的恶性肿瘤之一,严重威胁广

大妇女的生命与健康。同步放化疗是中晚期患者的首选治疗方法,其疗效与患者远期生存率密切相关^[1-2]。肿瘤的放疗敏感性是决定疗效及预后的重要因素,其与肿瘤内血供及氧含量密切相关。动态增强 MRI (dynamic contrast enhanced magnetic resonance imaging, DCE-MRI) 是一种微创的 MR 功能成像技术,通

作者单位:100021 北京,北京协和医学院中国医学科学院肿瘤医院影像诊断科(余小多、林蒙、陈雁、欧阳汉、周纯武),妇瘤科(安菊生、黄曼妮)

作者简介:余小多(1980—),女,陕西汉中,人,博士,主治医师,主要从事肿瘤 MRI 诊断工作。

通讯作者:周纯武, E-mail: cjr.zhouchunwu@vip.163.com

基金项目:北京希望马拉松专项基金资助(LC2010B32)

过组织时间-信号强度曲线 (time-signal intensity curve, TIC) 及数学模型进行半定量及定量的计算, 反映血流灌注特征, 并间接反映组织缺血、乏氧情况。本研究对治疗前宫颈鳞癌 DCE-MRI 半定量参数与同步放化疗疗效进行分析, 拟探讨 DCE-MRI 对同步放化疗敏感性的预测价值, 为临床个体化的精确治疗提供新的依据。

材料与方 法

1、研究对象

患者入组: 2009 年 10 月—2012 年 1 月在我院行同步放化疗、并于治疗前、治疗末 (常规治疗结束时) 均行 DCE-MRI 的 88 例宫颈鳞癌患者。就诊前均未做过任何肿瘤相关治疗。年龄 30~75 岁, 中位年龄 57 岁。治疗前肿瘤最大径为 2.8~9.1 cm, 平均值为 (4.9 ± 1.5) cm。

所有病例均于 MRI 检查前 1 周或检查后行宫颈肿物活检, 病理结果均为鳞癌, 其中高分化 3 例, 中分化 36 例, 低分化 31 例, 因活检组织太少未判断分化者 18 例。

同步放化疗: 盆腔外加腔内照射总剂量: 治疗末 A 点 80~90 Gy, B 点 55~60 Gy。在盆腔外照射期间每周应用顺铂 40 mg/m^2 化疗一次。

2. MRI 扫描及相关参数

MRI 扫描: 先行常规 MRI 平扫, 无增强扫描禁忌症者于平扫结束后立即或第 2 天行 DCE-MRI。采用 3.0 T MR 扫描仪 (Signa Excite HDx), 8 通道体部相控阵线圈。患者检查前 10 min 肌注丁溴东莨菪碱 20 mg, 阴道内放置阴道栓, 仰卧位, 扫描范围包全盆腔。

DCE-MRI: 经手背静脉穿刺, 高压注射器注入 Gd-DTPA, 剂量为 0.2 mmol/kg , 注射流率为 2 ml/s 。采用 3D 矢状面肝脏加速容积采集序列 (liver acquisition with volume acceleration-extended volume, LA-VA-XV), 每期 15 s, 每期 40 层, 共扫描 15 期。MRI 增强延迟扫描: 采用 LAVA-XV 序列, 横轴面及冠状面扫描。

3. 初诊临床分期及治疗末肿瘤评价

MRI 检查由未知临床结果的两名影像诊断医师 (从事影像诊断工作分别为 12 年及 28 年) 共同进行评价。疗前分期: 按照 2009 年国际妇产科联盟 (FIGO) 标准^[3], I B2 期 7 例, II A 期 1 例, II B 期 54 例, III B 期 24 例, IV B 期 2 例。

治疗末由影像、临床查体及随访 3 个月的临床结果综合判断肿瘤残存情况, 由影像诊断科与妇瘤科医师共同讨论取得一致意见。按照治疗末肿瘤缓解情况, 参考实体瘤疗效评价标准 (response evaluation

criteria in solid tumors, RECIST)^[4] 将本组病例分为完全缓解 (complete regression, CR) 组 (共 56 例) 及部分缓解 (partial regression, PR) 组 (共 32 例)。

4. 数据后处理

将所有动态增强扫描数据输入 ADW4.4 工作站, 采用 Functool 软件进行分析。

ROI 勾画: 于肿瘤最大矢状面勾画整个肿瘤范围作为肿瘤 ROI, 治疗末如肿瘤完全消失则放置在原肿瘤区域的宫颈基质内。肌层 ROI 放置在宫底部 (圆形或椭圆形, 面积为 $30 \sim 50 \text{ mm}^2$), 避开局部平滑肌瘤及腺肌症, 如无法避开则放置在邻近正常肌层。

TIC: 根据峰值及延迟期信号下降情况, 参考文献^[5-6] 提出的曲线分类方法, 分为 4 型: I 型 (速升速降型), 动脉期 (注射对比剂后 1 min 内) 达峰, 静脉期及延迟期对比剂迅速流出, 廓清率 $\geq 10\%$; II 型 (速升平台型), 动脉期达峰, 静脉期及延迟期对比剂缓慢流出, 廓清率 $< 10\%$; III 型 (缓升平台型), 静脉期或延迟期达峰, 其后对比剂缓慢流出; IV 型 (持续上升型), 渐进性持续强化, 扫描时相内无明确峰值。

DCE-MRI 半定量参数: 软件自动得出正性增强积分 (positive enhancement integral, PEI)、最大上升斜率 (maximum slope of increase, MSI)、最大下降斜率 (maximum slope of decrease, MSD)、信号增强比率 (signal enhancement ratio, SER) (选取动脉期 15s、30s、45s 及 60s 的 SER 及最大 SER)、达峰时间 (time to peak, TTP)。

基于不同年龄、血管状态导致的个体血流灌注的差异, 本研究采用最大矢状面宫体肌层作为参考, 计算以上参数的相对比值, 如相对正性增强积分 ($r\text{PEI} = \text{肿瘤 PEI} / \text{肌层 PEI}$), 依此类推得到相对最大上升斜率 ($r\text{MSI}$)、相对最大下降斜率 ($r\text{MSD}$) 及相对信号增强比率 ($r\text{SER}$)。由于宫体肌层 TIC 几乎均表现为持续上升型, TTP 为最后一期 (225 s), 肿瘤 TTP 的相对值与绝对值的意义相同, 所以肿瘤 TTP 采用绝对值进行分析。

5. 统计学分析

所有数据采用 SPSS 17.0 进行统计学分析。首先采用 Kolmogorov-Smirnov Test 对所有数据进行正态分布检验。其中 $r\text{MSI}$ 数据符合正态分布, 采用独立样本 t 检验分析, 其他参数均不符合正态分布, 采用非参数检验 Mann-Whitney U 法分析。对有统计学意义的参数进行受试者工作特征 (ROC) 曲线分析。 $P < 0.05$ 、双侧 $\alpha = 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 治疗前 MRI 表现

治疗前 DCE-MRI 动脉期信号略高于或等于子宫肌层,至延迟期大部分信号低于子宫肌层($n=86$)、少部分信号与子宫肌层相仿($n=2$)。

2. 治疗末肿瘤情况

PR 组:残留肿瘤 DCE-MRI 动脉期明显强化,延迟期信号低于肌层者 15 例;动脉期强化不明显,延迟期信号明显低于肌层者 17 例。

CR 组:原肿瘤所在区域 DCE-MRI 动脉期均未见明确强化,延迟期与肌层信号相仿。

3. DCE-MRI 半定量参数对疗效的预测

CR 组及 PR 组治疗前肿瘤 TIC 类型。CR 组: I 型(速升速降型)21 例, II 型(速升平台型)30 例, III 型(缓升平台型)5 例, IV 型(持续上升型)0 例。PR 组: I 型(速升速降型)7 例, II 型(速升平台型)17 例, III 型(缓升平台型)7 例, IV 型(持续上升型)1 例。

CR 组(图 1)及 PR 组(图 2)治疗前肿瘤 DCE-MRI 半定量参数及比较如表 1。

结果显示:CR 组治疗前肿瘤的 rPEI、rMSI、

表 1 CR 及 PR 组治疗前肿瘤半定量参数及组间比较

参数	CR($n=56$)	PR($n=32$)	P 值	Z/t 值	AUC
rPEI	1.19 ± 0.48	0.81 ± 0.43	<0.001	-4.793	0.785
rMSI	1.02 ± 0.33	0.78 ± 0.24	<0.001	-3.903	0.715
rMSD	1.08 ± 0.40	1.05 ± 0.41	0.289	-1.060	—
rSER ₁₅	17.14 ± 8.37	8.35 ± 3.47	0.045	-2.006	0.625
rSER ₃₀	3.12 ± 1.03	1.38 ± 0.55	<0.001	-3.701	0.731
rSER ₄₅	1.20 ± 0.54	0.95 ± 0.44	<0.001	-3.628	0.727
rSER ₆₀	0.94 ± 0.44	1.11 ± 0.89	0.170	-1.371	—
rSER _{max}	0.75 ± 0.25	0.69 ± 0.23	0.227	-1.209	—
TTP(s)	50.31 ± 17.64	57.63 ± 21.30	0.215	-1.241	—

注:AUC(area under curve)为 ROC 曲线下面积。

rSER₁₅、rSER₃₀ 及 rSER₄₅ 均高于 PR 组,且差异均有统计学意义(P 值分别为 <0.001 、 <0.001 、0.045、 <0.001 及 <0.001)。

ROC 曲线分析显示:以治疗前 rPEI ≤ 0.84 预测肿瘤放疗后残存,其敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值及诊断符合率分别为 75.0%、69.6%、58.5%、83.0% 及 71.6%,AUC 为 0.785($P < 0.001$,图 3)。

讨论

影响宫颈癌同步放化疗疗效的主要因素包括肿瘤大小、放疗敏感性、照射方式、临床分期等。其中,肿瘤的放疗敏感性是决定疗效及预后的重要因素。而肿瘤细胞对放疗的敏感性与肿瘤内血供及氧含量密切相关,乏血供的肿瘤组织较易继发缺血、坏死等改变,组织内氧含量较低,易出现放疗抗拒,而血供丰富的肿瘤组织氧含量较高,对放疗更为敏感。对放疗敏感性的准确预测,可以为肿瘤患者的个体化治疗方案提供有价值的信息,如对放疗不敏感的肿瘤,可采用药物增敏或增加放疗剂量,而对放疗敏感的肿瘤可减低放疗剂量,以尽可能地保护周围器官及功能。

评估肿瘤乏氧状态是预测其放疗敏感性的主要手段^[7-8]。与其他方法相比,采用 DCE-MRI、DWI、MRS、PET 或 PET/CT 等影像学方法具有技术成熟,操作简便、损伤小,重复性好的优势,而其中 DCE-MRI 参数与肿瘤的氧分压的关系更为明确。有学者^[9-10]的研究表明 DCE-MRI 的最大相

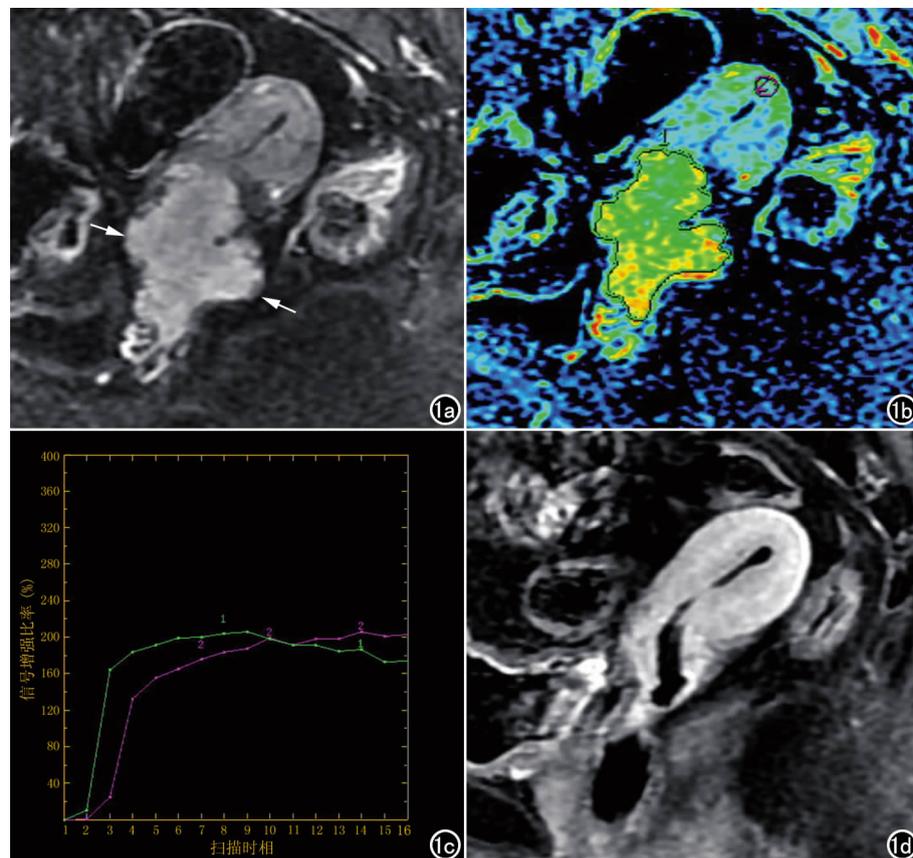


图 1 女,59 岁,不规则阴道出血 1 年,低分化鳞癌,FIGO 分期为 III B 期,治疗末肿瘤 CR。a) 治疗前矢状面 DCE-MRI 动脉期肿瘤最大层面示宫颈部不规则较大肿块(箭),明显强化,侵犯宫颈基质全层,向下侵犯阴道上段,向上侵犯宫体下段; b) PEI 图示 rPEI=1.35; c) 治疗前肿瘤 TIC 示肿瘤呈缓升平台型(曲线 1),肌层呈持续上升型(曲线 2),rSER₁₅=10.0,rSER₃₀=5.79,rSER₄₅=1.40,各参数值较高; d) 治疗末矢状面 DCE-MRI 延迟期正中层面示宫颈肿瘤物完全消退,局部基质信号均匀,信号与肌层相仿。

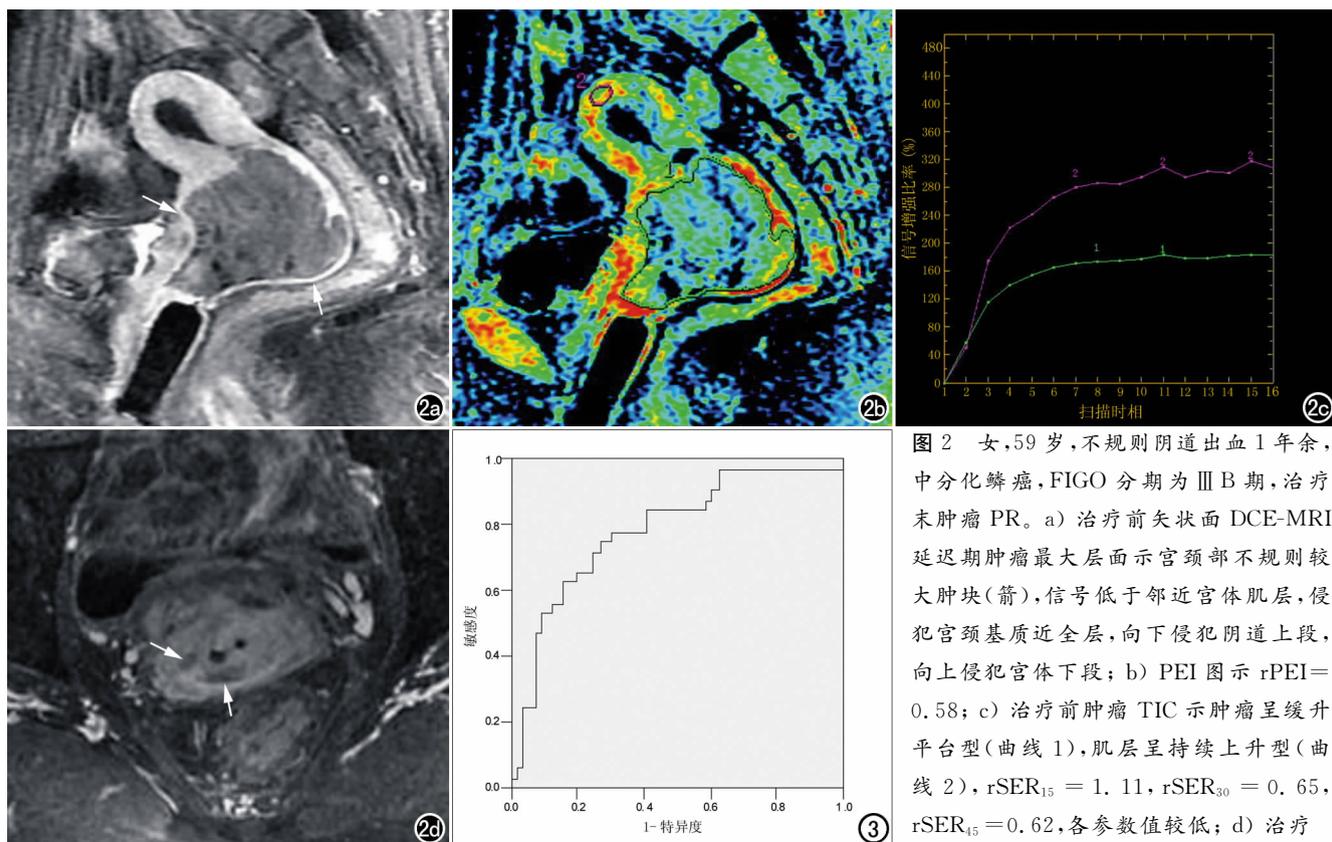


图2 女,59岁,不规则阴道出血1年余,中分化鳞癌,FIGO分期为ⅢB期,治疗未肿瘤PR。a) 治疗前矢状面DCE-MRI延迟期肿瘤最大层面示宫颈部不规则较大肿块(箭),信号低于邻近宫体肌层,侵犯宫颈基质近全层,向下侵犯阴道上段,向上侵犯宫体下段; b) PEI图示rPEI=0.58; c) 治疗前肿瘤TIC示肿瘤呈缓升平台型(曲线1),肌层呈持续上升型(曲线2),rSER₁₅=1.11,rSER₃₀=0.65,rSER₄₅=0.62,各参数值较低; d) 治疗

末横轴面DCE-MRI延迟期示宫颈部少许肿瘤残留(箭),形态不规则,信号低于宫体肌层。图3 治疗前rPEI预测肿瘤放疗后残存的ROC曲线。

对信号强度与平均氧分压呈正相关($r=0.72, P<0.001$),与乏氧细胞比例($pO_2<5\text{ mmHg}$)呈负相关($r=-0.77, P<0.0001$)。因此,DCE-MRI能够反映血流灌注及组织氧合状态,进而评估肿瘤对放化疗敏感性并预测疗效。

目前,采用DCE-MRI对宫颈癌同步放化疗疗效预测研究多为小样本病例研究,所采用的血流灌注参数及结果亦不完全一致。Yamashita等^[11]对放疗的宫颈癌的研究显示动脉期显示强化明显的区域对放疗更为敏感。Zahra等^[12]研究显示宫颈癌治疗前的半定量参数包括达峰时间、平均斜率、最大强化斜率以及廓清率能够为肿瘤放疗疗效的预测提供有价值的信息。而曹崑等^[13]的研究结果显示:不均匀强化的宫颈肿瘤组织中低强化区的PEI值在放疗后肿瘤残留组和无残留组间差异有统计学意义,其中无残留组的PEI值显著高于有残留组;另外,宫颈癌治疗前高强度区MSI与治疗后肿瘤体积消退率呈负相关性($r=-0.723$)。而Boss等^[14]的研究结果显示初始强化时间延长、达峰较缓的肿瘤其放疗效果越好。对于既往研究结果的差异,其原因尚不十分清楚,有待于大样本进一步研究。

肿瘤组织具有不均质性生长的特点,其内部可由不同分化程度的肿瘤细胞、间质、血管等成分组成,可

继发出血、坏死、囊变等改变,因此肿瘤内部不同区域的血流灌注特征可能存在较大差异。Yamashita等^[11]分别对26例宫颈癌的手术病理对照研究显示,动态增强显示强化明显的区域,提示局部血供丰富,微循环灌注较高,含氧量丰富、病理上主要由丰富的癌细胞构成,而灌注低的区域病理上为纤维组织内散在癌细胞构成。本研究以最大矢状面的整个肿瘤范围勾画ROI,获得DCE-MRI半定量参数能够反映肿瘤血流灌注的平均特征,其结果显示CR组治疗前肿瘤的rPEI、rMSI、rSER₁₅、rSER₃₀、rSER₄₅均高于PR组,提示治疗前肿瘤的DCE-MRI半定量参数可以预测最终同步放化疗的疗效。同时,本研究对以上存在统计学意义的参数进行ROC曲线分析,结果显示治疗前肿瘤rPEI预测价值最高,其AUC为0.785。

PEI:代表扫描总时相内TIC下面积总和,反映微血管的相对血容量。本研究88例患者中,CR组的治疗前rPEI明显高于PR组,提示肿瘤PEI越高,其血容量越丰富,含氧量高,对放疗更敏感,疗效越好。

MSI:是上升最陡峭段的斜率,代表微血管血液流入速度的快慢,是反映血流量的直接指标。微血管越丰富,流速越快,MSI值越高。本组研究中,CR组的治疗前rMSI明显高于PR组,提示肿瘤MSI越高意味着微血管血液流入速度越快,反映血流越丰富,肿瘤

氧含量越高,放疗敏感性相应也高。

SER:是增强后某一时间点的相对增强率。本研究选择 15~60 s 之间 4 个时相的 SER,主要反映动脉期的微血管血容量。本组研究显示 CR 组治疗前 rSER₁₅、rSER₃₀、rSER₄₅ 均不同程度地高于 PR 组,提示肿瘤动脉期的相对增强比率越高,动脉期血供越丰富,含氧区比例高,放疗敏感性越高,疗效越好。

本研究存在以下不足:首先,本研究疗效评价以治疗结束时 MRI 诊断及临床查体为主,未进行病理学检查;其次,由于随诊观察时间较短,对于 DCE-MRI 与宫颈鳞癌放疗长期疗效和预后的相关性仍需要进一步研究;最后,本研究仅对 DCE-MRI 半定量参数与宫颈鳞癌放疗疗效进行分析,未考虑其他临床相关因素对结果的影响。

乏氧决定放疗疗效。DCE-MRI 可反映血流灌注,间接反映肿瘤氧含量,通过治疗前半定量参数及治疗中的变化情况,在一定程度上可预测肿瘤同步放疗结束时的疗效,有助于临床对肿瘤疗效提前预判及实施肿瘤个体化的精确治疗。

参考文献:

[1] 孙健衡,蔡树模,高永良. 妇科肿瘤学[M]. 北京:北京大学医学出版社,2011,11(1):509-510.

[2] Chen CC, Lin JC, Jan JS, et al. Definitive intensity-modulated radiation therapy with concurrent chemotherapy for patients with locally advanced cervical cancer[J]. *Gynecol Oncol*, 2011, 122(1):9-13.

[3] Pecorelli S. Revised FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix, and endometrium[J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2009, 105(2):103-104.

[4] Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1)[J]. *Eur J Cancer*, 2009, 45(2):228-247.

[5] Petralia G, Bonello L, Priolo F, et al. Breast MR with special focus on DW-MRI and DCE-MRI[J]. *Cancer Imaging*, 2011, 11:76-90. doi:10.1102/1470-7330.2011.0014.

[6] El Khouli RH, Macura KJ, Kamel IR, et al. 3T dynamic contrast-enhanced MRI of the breast: pharmacokinetic parameters versus conventional kinetic curve analysis[J]. *AJR*, 2011, 197(6):1498-1505.

[7] Quon H, Brizel DM. Predictive and prognostic role of functional imaging of head and neck squamous cell carcinomas[J]. *Semin Radiat Oncol*, 2012, 22(3):220-232.

[8] 张妍,王峻,王晞星. MR 扩散加权成像在恶性肿瘤疗效预测与评价中的研究进展[J]. *中华放射学杂志*, 2013, 47(7):666-668.

[9] Lyng H, Vorren AO, Sundfor K, et al. Assessment of tumor oxygenation in human cervical carcinoma by use of dynamic gad-dtpa-enhanced MR imaging[J]. *J Magn Reson Imaging*, 2001, 14(6):750-756.

[10] Cooper RA, Carrington BM, Lancaster JA, et al. Tumour oxygenation levels correlate with dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging parameters in carcinoma of the cervix[J]. *Radiat Oncol*, 2000, 57(1):53-59.

[11] Yamashita Y, Baba T, Baba Y, et al. Dynamic contrast-enhanced mr imaging of uterine cervical cancer: pharmacokinetic analysis with histopathologic correlation and its importance in predicting the outcome of radiation therapy[J]. *Radiology*, 2000, 216(3):803-809.

[12] Zahra MA, Tan LT, Priest AN, et al. Semiquantitative and quantitative dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging measurements predict radiation response in cervix cancer[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2009, 74(3):766-773.

[13] 曹崑,张晓鹏,李洁. MR 动态增强成像对宫颈癌放疗后短期治疗效果的预测作用研究[J]. *中华放射学杂志*, 2009, 43(11):1160-1164.

[14] Boss EA, Massuger LF, Pop LA, et al. Post-radiotherapy contrast enhancement changes in fast dynamic MRI of cervical carcinoma[J]. *J Magn Reson Imaging*, 2001, 13(4):600-606.

(收稿日期:2013-12-20 修回日期:2014-01-14)