

III 型干扰素的抗肿瘤作用 *

李 威 吴 昊 张 彤[△]

(首都医科大学附属北京佑安医院感染科 北京 100069)

摘要 III 型干扰素(IFN λ s)是干扰素家族中最新的一组成员。他们的很多生物学活性与临床上应用广泛的 IFN α / β 十分相似,但是他们所结合的受体与 IFN α / β 迥异。III 型干扰素的毒副作用显著小于 IFN α / β , 且抗肿瘤作用明显。本文回顾了近年来对 III 型干扰素抗肿瘤功能研究的最新进展。

关键词 III 型干扰素; 干扰素 lambda; 抗肿瘤

中图分类号 R979.1 R978 **文献标识码** A **文章编号** :1673-6273(2012)17-3370-04

The Anti-tumor Effects of Type III Interferons*

LI Wei, WU Hao, ZHANG Tong[△]

(Department of Infectious Diseases, You'An Hospital, Capital Medical University, Beijing, 100069, China)

ABSTRACT: Type III interferons (IFN λ s) are the latest members of interferon family and share many biological activities with IFN α / β , but conduct signals through distinct receptor complexes. They have less severe side effects than IFN α / β and possess potent anti-tumor effects. Here we review the latest advances of studies upon the anti-tumor potentials of type III interferons.

Key words: Type III Interferon; Interferon lambda; Anti-tumor activity

Chinese Library Classification(CLC): R979.1, R978 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)17-3370-04

前言

目前已知的干扰素一共有 3 型。在人类 I 型包括 IFN α 、IFN β 、IFN κ 、IFN ϵ 等 IFN ω II 型只有 IFN γ III 型干扰素(IFN λ s)于 2003 年被两个独立的研究组同时发现,包括 IFN λ 1、IFN λ 2 和 IFN λ 3 又称为 IL29、IL28A 和 IL28B^[1-3]。IFN λ s 的氨基酸序列与 I 型干扰素的相似性约为 12%,而与 IL10 细胞因子家族约为 15%。在蛋白质结构和氨基酸序列方面,IFN λ s 更接近 IL10 家族,但是其抗病毒活性和诱导干扰素刺激基因(ISGs)表达的能力决定其归属于干扰素家族^[4,5]。与 I 型干扰素相似,III 型干扰素的生物学效应除了抗病毒和免疫调节外,也具有抗肿瘤活性。IFN λ s 的研究已经进入 II 期临床试验,其在抗病毒和抗肿瘤方面的应用前景十分广阔。

1 IFN λ 反应性具有细胞特异性

I 型和 III 型干扰素在生物学活性方面十分相似,看上去两个系统在抗病毒方面有些重复多余了。但是除了结构上的差异外,两型干扰素的受体的分布也具明显不同。IFN α R1 和 IFN α R2 几乎分布于所有类型的细胞。这种广泛分布使得 IFN α / β 在发挥治疗作用的同时,也产生了很多严重的毒副反应,从而限制了其临床应用^[6]。同时,IFN α 也损伤免疫细胞,严重的毒副作用经常使医生不得不终止治疗。

Witte 在 2009 年的研究中检测了 IFN λ R1 mRNA 在不同人体组织和细胞内表达的水平。结果显示,IFN λ R1 mRNA 在

肺、心、肝和前列腺组织中表达水平较高,在中枢神经系统、骨髓、睾丸、子宫和骨骼肌中表达较低。在皮肤中,角质细胞和黑色素细胞表达 IFN λ R1 的水平较高并对 IFN λ 刺激反应良好(STAT1、STAT3 激活及主要组织相容性复合体 I 类分子(MHC I)上调)。成纤维细胞和内皮细胞对 IFN λ 刺激没有反应。幼稚 B 和 T 细胞大量表达 IFN λ R1 mRNA,但对 IFN λ 刺激反应很弱,这可能与 IFN λ R1 剪接变体(sIFN λ R1)有关。这种剪接变体缺少一个编码膜段受体的外显子,基因表达终止于缺失序列。对 IFN λ 反应差的细胞中,sIFN λ R1 与 IFN λ R1 的 mRNA 比例明显升高,提示这种剪接变体可能竞争性抑制 IFN λ 信号^[7]。为验证这种可能性,有人用 HepG2 细胞分泌的 sIFN λ R1 与 IFN λ 一起孵育,发现 sIFN λ R1 与 IFN λ 可以结合。另外,人单核细胞和 NK 细胞(自然杀伤细胞)均表达 IFN λ R1 mRNA,但对 IFN λ 刺激均无反应^[8]。更有意思的是,虽然 IFN λ 不能激活单核细胞内 STAT 或促进 MHC I 类分子表达,但可促进其分泌 IL6、IL8 和 IL10^[9]。IFN λ 也可以促进 T 细胞分泌 IFN γ 并抑制 IL13 合成^[10]。因此,IFN λ 调控的细胞因子分泌可能不依赖于 STAT 蛋白。此外,由单核细胞分化来的树突状细胞对 IFN λ 刺激有反应,IFN λ 还可以促进调节性 T 细胞的增殖^[11]。

在小鼠中,对 IFN λ 刺激反应较高的组织包括胃、小肠和肺,反应较差的包括中枢神经系统和脾脏。在体外培养中,IFN λ 可促进 NK 细胞增殖,但不增强 NK 细胞的杀伤能力^[12]。小鼠中多种组织上皮细胞,比如肾和脑的上皮细胞,均表达 IFN λ R1 mRNA^[13]。这说明 IFN λ 在病毒感染中对于暴露的上皮表面有

* 基金项目 北京市属高等学校人才强教计划资助项目(PHR201007112);艾滋病研究北京市重点实验室(BZ0089)

作者简介 李威(1977-)男,博士,从事感染性疾病临床及基础研究

[△]通讯作者 张彤 电话 010-63093963 E-mail zhangtong1278@gmail.com

(收稿日期 2011-11-24 接受日期 2011-12-18)

重要的保护作用。更重要的是,以上结果显示,免疫细胞不是 IFN λ 的靶细胞,因此,在 IFN α 治疗中出现的严重毒副作用在 IFN λ 治疗中可能不存在或非常轻微。

2 IFN λ 的抗增殖作用

IFN α 一直在临床上用于黑色素瘤、肾细胞癌和慢性粒细胞性白血病等恶性肿瘤的治疗^[14-16]。然而,很多患者无法完成疗程,主要是因为耐药或是出现严重毒副作用^[6]。很多研究显示,I型干扰素在正常细胞、肿瘤细胞或细胞系中具有抗增殖作用^[17]。由于I型和III型干扰素共用信号通路,很多研究者开始研究III型干扰素的抗肿瘤潜力,并与I型干扰素相比较。

IFN λ 可以在多种肿瘤细胞中激活信号通路,其中包括神经内分泌肿瘤^[18]、食管癌^[19]、大肠/小肠癌^[20]、肝癌^[21-23]、肺癌^[24]、Burkitt's 淋巴瘤^[25]和黑色素瘤^[8]。表1详细列举了对IFN λ 有反应的肿瘤细胞和细胞系。在HaCat角质细胞系中,IFN λ 对STAT1和STAT2激活程度比IFN α 较强^[26]。IFN α 诱导的ISGs(干扰素刺激基因)表达出现较早、下降较快,不促进凋亡,而IFN λ 诱导的ISGs表达峰值出现较晚但更为持久,并激活Caspase3和Caspase7,促进凋亡。可能由于STAT持续激活而导致凋亡。在HaCat细胞中,IFN λ 诱导的凋亡可以被Caspase抑制剂Z-VAD-FMK抑制,说明Caspase在其中的重要意义。同时用IFN α 和IFN λ 刺激HaCat细胞在抗增殖方面有叠加效果,说明这两种干扰素受体并不互相竞争JAK和STAT蛋白,或者他们都有其它旁路信号通道。2008年我们的研究在HT29人大肠癌细胞中也证明IFN λ 可诱导凋亡^[27]。在复合受体IL10R1/IFN λ R1模型中,IFN λ 信号在刺激早期抑制细胞增殖,随后促进凋亡。细胞周期停滞在G0期,Caspase3、Caspase8和Caspase9也被激活。Z-VAD-FMK抑制Caspase3和Caspase8,但是不能抑制IFN λ 信号诱导的凋亡。这说明存在其它不依赖Caspase的凋亡通路。STAT1激活的程度随IFN λ 信号的增强而增强。HT29细胞表达IFN λ R1的水平较低,在IFN λ 刺激下可上调MHC I类分子,但无增殖抑制作用。这些结果显示,IFN λ 受体表达水平对抑制增殖和/或诱导凋亡具有决定性作用。

近期的研究显示,在一系列人食管癌细胞系中,T.Tn细胞系在IFN λ 刺激下出现凋亡,而I型干扰素既不能抑制增殖,也不能促进凋亡^[19]。在T.Tn细胞中,p21Waf1/Cip1表达水平很高,大部分细胞都保持在G0/G1期。在IFN λ 刺激下,p21Waf1/Cip1水平下调,细胞出现凋亡。

Guenterberg等筛查了8种人黑色素瘤细胞系,结果只有一种不表达IFNLR1 mRNA^[8]。IFN λ 对这些细胞没有抗增殖作用,仅在F0黑色素细胞中,出现浓度依赖性凋亡。与其他化疗药物合用可增强IFN λ 的抗增殖和诱导凋亡作用,例如,IFN λ 与蛋白酶体抑制剂Bortezomib联合刺激F0黑色素细胞,对死亡细胞具有协同作用,与IFN α 和Bortezomib合用的效果相似^[28]。IFN λ 与5-FU或cisplatin合用可显著抑制食管癌细胞系的生长^[19]。

3 IFN λ 的抗肿瘤作用

为检测IFN λ 在体内的抗肿瘤能力,Sato等先将IFN λ 2

cDNA转染B16/F0鼠黑色素瘤细胞,导致细胞生长抑制、Caspase3和Caspase7高表达,p21上调和Rb(Ser780)磷酸化下降。转染后高表达IFN λ 的B16/F0细胞注射到C57BL/6小鼠后没有形成肺转移。肺部组织切片显示,IFN λ 的抗肿瘤功能主要依靠NK细胞活性^[29]。Lasfar等将分泌mIFN λ 2(小鼠IFN λ 2)的黑色素瘤细胞经皮下注射到小鼠体内,与原始黑色素瘤细胞比较,肿瘤的细胞数量和生长速度均下降。IFN λ 也具有间接抗肿瘤作用。表达mIFN λ 2的质粒转染对IFN λ 没有反应的B16细胞克隆,然后经皮下注射于小鼠。结果显示,这组肿瘤细胞的生长受到抑制^[30]。在另一项研究中,Numasaki等通过质粒转导使鼠MCA205纤维肉瘤细胞分泌mIFN λ 2。MCA205细胞虽然表达IFN λ 受体,但没有出现MHC I类分子上调。与转染空质粒的细胞相比,经皮下注射分泌IFN λ 2的MCA205细胞(MCA205IL28)的小鼠中肿瘤细胞的生长受到抑制。经静脉注射这些细胞则可控制肺转移的程度。而且,低强度的放射线照射后,这些抑制作用全部消失。这说明免疫细胞在IFN λ 的抗肿瘤作用中具有不可或缺的作用。以中和抗体清除特定免疫细胞的实验指出,NK细胞、CD8T细胞和中性粒细胞对IFN λ 的肿瘤抑制作用非常重要。IFN λ 2刺激可以增加NK细胞的总数,尤其是当IL12存在的情况下。这些结果是否也适用于人体还有待进一步的验证。注射MCA205IL28细胞的小鼠的脾脏细胞在mIFN λ 2体外刺激下,分泌的IFN γ 量有所增加。如果将MCA205IL28细胞注射IFN γ 缺陷小鼠,IFN λ 的抗肿瘤作用完全消失,说明IFN γ 在其中的重要性^[12]。

4 IFN λ 的临床应用

在一些研究中,IFN λ 的抗肿瘤效果不如IFN α /β。但是,通过与其他药物联合使用,IFN λ 可达到叠加或协同的抗肿瘤作用。例如,IFN λ 联合5-FU或CDDP(Cisplatin)在治疗食管癌中具有叠加效果^[19]。IFN λ 联合Bortezomib或Temozolomide在治疗黑色素瘤中具有协同效果^[8]。

IFN α 最初治疗丙型肝炎和其他一些疾病时,主要问题是半衰期短,从体内清除速度太快^[31]。医生通过提高IFN α 浓度来解决这一问题,而高浓度IFN α 治疗会导致严重的毒副作用,如发热、疲劳、流感样症状、骨髓抑制和抑郁。后来,长效的Peg-IFN α 的出现使其半衰期和清除速度都大幅改善。基于前车之鉴,Peg-IFN λ 1应运而生。目前,用于治疗丙型肝炎的Peg-IFN λ 1正处于II期临床试验阶段^[32]。之前的动物实验和2项I期临床试验进展顺利,在与Peg-IFN α 相同的抗病毒活性的浓度下,IFN λ 1的毒副作用非常小。唯一观测到的副作用是肝转氨酶升高,在停药后可恢复正常。所有这些结果显示,IFN λ 在治疗中副作用小,可能成为IFN α 的替代药物。

5 强化 IFN λ 的抗肿瘤作用

如前所述,IFN λ 家族有3个成员。从被发现开始,IFN λ 1一直被认为抗病毒能力最强。然而研究显示,IFN λ 3的抗病毒能力比IFN λ 1强2倍,而IFN λ 2最弱^[33]。这个结果出乎人们的预料,因为IFN λ 3与IFN λ 2相似性高达96%。3种IFN λ 在抑制增殖和抗肿瘤方面的比较目前还是空白。相信这种比较将会告诉我们哪种IFN λ 在治疗肿瘤上最有效。

IFN λ 在治疗肿瘤方面的一个优势是其受体表达非常局限。与 I 型干扰素相比, IFN λ 信号目标性强, 不会造成如 IFN α / β 那样严重的副作用。如何增强 IFN λ 的抗肿瘤能力是目前研究的一个热点。一种方法是应用定位突变或噬菌体展示来加强或延长信号的表达。另一种方法是联合低浓度 IFN α / β 或

IFN γ 。这些 I 型或 II 型干扰素可以加强 IFN λ 信号^[26,27]。第三种方法是提高 IFN λ R1 在肿瘤细胞表面的表达, 从而激活 STAT 并诱导 ISGs 表达。不过目前尚不清楚 IFN λ R1 如何被调控、何种转录因子参与其中。

表 1 对 IFN λ 刺激有反应的人细胞系
Table 1 Human cell lines response to IFN stimulation

肿瘤 Tumor	细胞系 Cells lines	参考文献 References
膀胱癌 Bladder cancer	T24/83	Meager 2005 ^[24]
Burkitt's 淋巴瘤 Burkitt's lymphoma	Raji	Zhou2007 ^[25]
宫颈癌 Cervical carcinoma	HeLa S3	Kotenko2003 ^[2]
直肠癌 Rectal or colon cancer	HT29, SW480, HCT116	Li2008, Brand2005, Kotenko2003 ^[27,20,2]
成胶质细胞瘤 Cervical carcinoma	LN229, LN319	Meager2005 ^[24]
肝细胞癌 HCC	HepG2, Huh-7, PEB8	Ank2006, Marcello2006 ^[21,23]
角质细胞癌 Keratinocytes cancer	HaCaT	Maher2008 ^[26]
喉癌 Laryngocarcinoma	Hep2C	Meager2005 ^[24]
肺癌 Lung cancer	A549	Kotenko2003 ^[2]
黑色素瘤 Melanoma	1106MEL, A375, F01	Gunterberg2010 ^[8]
食管癌 Cancer of the esophagus	T.Tn, TE2, TE4, TE10 TE12, YES2, YES4, YES5	Li2010 ^[19]
骨肉瘤 Osteosarcoma	MG63	Meager2005 ^[24]
胰腺癌 Pancreatic cancer	BON1	Zitzmann2006 ^[18]

6 前景展望

IFN λ 是干扰素家族最新的成员, 关于这组新成员还有很多未知的方面有待研究。不过从他们被发现伊始, 他们在临床应用上的潜力就得到重视, 对其研究的速度远远高于早年对 IFN α 的研究。两个 I 期临床试验结果喜人, 患者对 IFN λ 的耐受良好, 比 IFN α / β 的副作用显著减少。针对丙型肝炎治疗的 II 期临床试验正在进行中^[32]。如果得到的结果支持其临床使用, 那么下一步就应该是研究 IFN λ 在抗肿瘤方面的效果了。

参考文献(References)

- [1] Samarajiwa SA, Wilson W, Hertzog PJ. Type I interferons: Genetics and structure, in: Meager A. The Interferon [M]. Weinheim: Wiley-VCH, 2006: 3-34
- [2] Kotenko SV, Gallagher G, Baurin VV, et al. IFN-lambdas mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex [J]. Nat Immunol, 2003, 4:69-77
- [3] Sheppard P, Kindsvogel W, Xu W, et al. IL-28, IL-29 and their class II cytokine receptor IL-28R [J]. 2003. Nat Immunol, 2009, 4:63-68
- [4] Fox BA, Sheppard PO, O'Hara PJ. The role of genomic data in the discovery, annotation and evolutionary interpretation of the interferon-lambda family [J]. PLoS ONE, 2009, 4:4933
- [5] Gad HH, Dellgren C, Hamming OJ, et al. Interferon-lambda is functionally an interferon but structurally related to the interleukin-10 family [J]. J Biol Chem, 2009, 284:20869-20875
- [6] Pestka S. The interferons: 50 years after their discovery, there is much more to learn [J]. J Biol Chem, 2009, 282:20047-20051
- [7] Witte K, Gruetz G, Volk HD, et al. Despite IFN-lambda receptor expression, blood immune cells, but not keratinocytes or melanocytes, have an impaired response to type III interferons: implications for therapeutic applications of these cytokines [J]. Genes Immun, 2009, 10:702-714
- [8] Gunterberg KD, Grignol VP, Raig ET, et al. 2010. Interleukin-29 binds to melanoma cells inducing Jak-STAT signal transduction and apoptosis [J]. Mol Cancer Ther, 2007, 9:510-520
- [9] Jordan WJ, Eskdale J, Boniotti M, et al. 2007. Modulation of the human cytokine response by interferon lambda-1 (IFN-lambda1/IL-29) [J]. Genes, 2007, Immun 8: 13-20
- [10] Jordan WJ, Eskdale J, Srinivas S, et al. Human interferon lambda-1 (IFN-lambda1/IL-29) modulates the Th1/Th2 response [J]. Genes Immun, 2007, 8:254-261
- [11] Mennechet FJ, Uze G. Interferon-lambda-treated dendritic cells specifically induce proliferation of FOXP3-expressing suppressor T cells [J]. Blood, 2006, 107:4417-4423
- [12] Numasaki M, Tagawa M, Iwata F, et al. IL-28 elicits antitumor responses against murine fibrosarcoma [J]. J Immunol, 2007, 178:5086-5098
- [13] Sommereyns C, Paul S, Staeheli P, et al. IFN-lambda is expressed in a tissue-dependent fashion and primarily acts on epithelial cells in vivo [J]. PLoS Pathog, 2008, 4:1000017
- [14] Kirkwood JM, Tarhini AA, Panelli MC, et al. Next generation of

- immunotherapy for melanoma[J]. J Clin Oncol, 2008, 26:3445-3455
- [15] McDermott DF. Immunotherapy of metastatic renal cell carcinoma [J]. Cancer, 2009, 115:2298-2305
- [16] Pavlovsky C, Kantarjian H, Cortes JE. 2009. First-line therapy for chronic myeloid leukemia: past, present, and future [J]. Am J Hematol, 2009, 84:287-293
- [17] Chawla-Sarkar M, Lindner DJ, Liu YF, et al. Apoptosis and interferons: role of interferon-stimulated genes as mediators of apoptosis [J]. Apoptosis, 2003, 8:237-249
- [18] Zitzmann K, Brand S, Baehs S, et al. Novel interferon-lambdas induce antiproliferative effects in neuroendocrine tumor cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 344:1334-1341
- [19] Li Q, Kawamura K, Ma G, et al. Interferon-lambda induces G1 phase arrest or apoptosis in oesophageal carcinoma cells and produces anti-tumour effects in combination with anti-cancer agents [J]. Eur J Cancer, 2010, 46:180-190
- [20] Brand S, Beigel F, Olszak T, et al. IL-28A and IL-29 mediate antiproliferative and antiviral signals in intestinal epithelial cells and murine CMV infection increases colonic IL-28A expression [J]. Am J Physiol, 2005, 289:G960-G968
- [21] Ank N, West H, Bartholdy C, et al. Lambda interferon (IFN-lambda), a type III IFN, is induced by viruses and IFNs and displays potent antiviral activity against select virus infections in vivo [J]. J Virol, 2006, 80:4501-4509
- [22] Doyle SE, Schreckhise H, Khuu-Duong K, et al. Interleukin-29 uses a type I interferonlike program to promote antiviral responses in human hepatocytes [J]. Hepatology, 2006, 44:896-906
- [23] Marcello T, Grakoui A, Barba-Spaeth G, et al. Interferons alpha and lambda inhibit hepatitis C virus replication with distinct signal transduction and gene regulation kinetics [J]. Gastroenterology, 2006, 131:1887-1898
- [24] Meager A, Visvalingam K, Dilger P, et al. Biological activity of interleukins-28 and -29: comparison with type I interferons [J]. Cytokine, 2005, 31:109-118
- [25] Zhou Z, Hamming OJ, Ank N, et al. Type III interferon (IFN) induces a type I IFNlike response in a restricted subset of cells through signaling pathways involving both the Jak-STAT pathway and the mitogen-activated protein kinases [J]. J Virol, 2007, 81:7749-7758
- [26] Maher SG, Sheikh F, Scarzello AJ, et al. IFNalpha and IFNlambda differ in their antiproliferative effects and duration of JAK/STAT signaling activity [J]. Cancer Biol Ther, 2008, 7:1109-1115
- [27] Li W, Lewis-Antes A, Huang J, et al. Regulation of apoptosis by type III interferons [J]. Cell Prolif, 2008, 41:960-979
- [28] Lesinski GB, Raig ET, Guenterberg K, et al. IFN-alpha and bortezomib overcome Bcl-2 and Mcl-1 overexpression in melanoma cells by stimulating the extrinsic pathway of apoptosis [J]. Cancer Res, 2008, 68:8351-8360
- [29] Sato A, Ohtsuki M, Hata M, et al. Antitumor activity of IFN-lambda in murine tumor models [J]. J Immunol, 2006, 176:7686-7694
- [30] Lasfar A, Lewis-Antes A, Smirnov SV, et al. Characterization of the mouse IFN-lambda ligand-receptor system: IFN-lambdas exhibit antitumor activity against B16 melanoma [J]. Cancer Res, 2006, 66:4468-4477
- [31] Pedder SC. Pegylation of interferon alfa: structural and pharmacokinetic properties [J]. Semin Liver Dis, 2003, 23 Suppl 1:19-22
- [32] Miller DM, Klucher KM, Freeman JA, et al. Interferon lambda as a potential new therapeutic for hepatitis C [J]. Ann NY Acad Sci, 2009, 1182:80-87
- [33] Dellgren C, Gad HH, Hamming OJ, et al. Human interferon-lambda3 is a potent member of the type III interferon family [J]. Genes Immun, 2009, 10:125-131

(上接第 3369 页)

- [22] Pech M, Hildebrandt B. Hepatic brachytherapy plus regional chemotherapy [J]. Cardiovasc Intervent Radiol, 2010, 32(11):37-45
- [23] Kemeny N. The management of resectable and unresectable liver metastases from colorectal cancer [J]. Curr Opin Oncol, 2010, 22(3):364-373
- [24] Pagani O, Senkus E, Wood W, et al. International guidelines for management of metastatic breast cancer: Can metastatic breast cancer be cured [J]. Natl Cancer Inst, 2010, 102(5):456-463
- [25] Nordlinger B, Sorbye H, Glimelius B, et al. Perioperative chemotherapy with FOLFOX4 and surgery versus surgery alone for resectable liver metastases from colorectal cancer [J]. Lancet, 2008, 371(7):1007-1016
- [26] Adam R, Haller DG, Poston G, et al. Toward optimized front-line therapeutic strategies in patients with metastatic colorectal cancer: an expert review from the International Congress on Anti-Cancer Treatment [J]. Ann Oncol, 2010, 21(8):1579-1584
- [27] Power DG, Kemeny NE. The role of floxuridine in metastatic liver disease [J]. Mol Cancer Ther, 2009, 8(5):1015-1025
- [28] Adam R, Wicherts DA, de Haas RJ, et al. Patients with initially unresectable colorectal liver metastases: is there a possibility of cure [J]. J Clin Oncol, 2009, 27(11):1829-1835