

症例報告

β遮断薬および renin–angiotensin–aldosterone 系拮抗薬によって steroid 療法から離脱し得た Fontan 手術後タンパク漏出性腸症の 2 自験例

小林 智恵¹⁾, 朴 仁三¹⁾, 嘉川 忠博¹⁾, 上田 知実¹⁾, 中本 祐樹¹⁾, 稲毛 章郎¹⁾, 吉敷 香菜子¹⁾, 佐藤 正規¹⁾, 高橋 幸宏²⁾, 安藤 誠²⁾, 和田 直樹²⁾

¹⁾榊原記念病院小児循環器科

²⁾榊原記念病院小児循環器外科

Protein-losing Enteropathy after a Fontan Operation Resolved by Beta-blockers and Renin–Angiotensin–Aldosterone System Blockers Following Steroid Therapy: Two Consecutive Cases

Chie Kobayashi¹⁾, In-Sam Park¹⁾, Tadahiro Yoshikawa¹⁾, Tomomi Uyeda¹⁾, Yuki Nakamoto¹⁾, Akio Inage¹⁾, Kanako Kishiki¹⁾, Masaki Satou¹⁾, Yukihiro Takahashi²⁾, Makoto Ando²⁾, and Naoki Wada²⁾

¹⁾Department of Pediatric Cardiology, Sakakibara Heart Institute, Tokyo, Japan

²⁾Department of Pediatric Cardiovascular Surgery, Sakakibara Heart Institute, Tokyo, Japan

Due to the lack of a ventricle to pump blood to the pulmonic circuit, Fontan circulation induces high central venous pressure and low cardiac output. This may lead to the onset of protein-losing enteropathy (PLE). We report on two patients with PLE after Fontan type operation who were treated successfully with Beta-blockers and Renin–Angiotensin–Aldosterone System Blockers following steroids. Both patients had right isomerism, a functionally single ventricle, and post-operative fenestrated total cavopulmonary connection. They developed PLE after fenestration closure. We initially used prednisolone (PSL) to improve PLE and performed cardiac catheterization when protein loss ceased. Based on hemodynamic data, we administered four agents and increased their doses: a beta blocker, an angiotensin-converting enzyme inhibitor, an angiotensin II receptor blocker, and spironolactone. The PSL dose was tapered gradually over 7–8 months. On remission by PSL, both cases showed reduced cardiac index (CI) and right ventricular ejection function (RVEF), and increased systemic vascular resistance (SVR) and ratio of the right ventricular end-diastolic pressure to CI (RVEDP/CI). When PSL was discontinued, both cases showed reduced SVR and RVEDP/CI and improved CI and RVEF. Concomitant administration of a sympathetic blocking agent and renin–angiotensin–aldosterone system inhibitors may be a treatment option for PLE after a Fontan operation. Increased SVR may occur as a reaction to low cardiac output, and it may cause dysfunction of the systemic ventricle and further low cardiac output. These sequences may be a cause of PLE.

Keywords: Fontan operation, protein-losing enteropathy, beta blocker, angiotensin-converting enzyme inhibitor, angiotensin II receptor blocker

2015年2月13日受付, 2016年6月7日受理

著者連絡先: 〒183-0003 東京都府中市朝日町 3-16-1 榊原記念病院小児循環器科 小林智恵

doi: 10.9794/jspccs.32.344

Fontan 循環における肺循環へ血液を拍出する心室を欠く特殊性による中心静脈圧 (CVP) の上昇、心拍出量低下はタンパク漏出性腸症 (PLE) の発症要因と考えられている。我々は開窓部閉塞を契機に PLE を発症し、prednisolone (PSL) による寛解後、直ちに血行動態を評価し血管拡張療法を強化したところ、寛解を維持したまま PSL を中止し得た 2 症例を経験したので報告する。2 症例とも PLE 寛解直後のカテーテル検査で心係数 (CI) と右室駆出率 (RVEF) の低下、体血管抵抗 (SVR) と右室の拡張能を表すと考えられる右室拡張末期圧 (RVEDP)/CI の上昇が認められた。右室拡張障害の改善を主目的として β 遮断薬 (BB)、アンギオテンシン変換酵素阻害薬 (ACEi)、アンギオテンシン II 受容体拮抗薬 (ARB)、spironolactone (SPL) の併用療法を強化したところ、PSL 中止時には SVR, RVEDP/CI は低下し CI, RVEF は改善していた。PLE 発症には心拍出量低下への反応である SVR 上昇と、それによる体循環心室機能低下が関与するものと推測された。また、交感神経系抑制薬と renin-angiotensin-aldosterone (RAA) 系抑制薬の併用療法は、Fontan 手術後に発症する PLE 治療の一選択肢と考えられた。

はじめに

Fontan 循環は肺循環に血液を駆出する心室を欠くため、CVP は肺動脈圧と同等になり体循環心室にかかる前負荷は二心室心に比して少ない¹⁾。PLE は Fontan 術後合併症の一つで原因不明で確立された治療法はなく生命予後も不良である²⁾。今回、開窓部 (Fenestration) の閉鎖を契機として発症した 2 例の PLE に対して BB, ACEi, ARB と SPL からなる併用療法を施行し、steroid 療法から離脱し得たので報告する。

症 例

症例 1

症例は 4 歳 4 ヶ月、男児。診断は右側相同、完全型房室中隔欠損、左室低形成、両大血管右室起始、単心房、肺動脈狭窄、下心臓型総肺静脈還流異常、右胸心。日齢 21 に総肺静脈還流異常修復術、1 ヶ月時に左 Blalock-Taussig 手術を施行した。8 ヶ月時に両方向性 Glenn 手術を施行したが、この時左横隔神経麻痺を合併した。2 歳時に施行した心臓カテーテル検査 (心カテ) で平均肺動脈圧 (mPAP) は 18 mmHg、平均単心房圧 7 mmHg、肺血管抵抗 (PVR) は 4.1 Wood Units (WU)·m² と高値であったが、横隔神経麻痺が改善傾向であったため横隔膜縫縮術を行わずに 2 歳 2 ヶ月時に fenestrated total cavopulmonary connection 手術 (f-TCPC) を施行。退院後の経過観察中に経皮的酸素飽和度が上昇し、術後 11 ヶ月で施行した心カテで開窓部の自然閉鎖を確認した。この時の CVP は 13~15 mmHg と比較的高かったが、房室弁逆流 (CAVVR) は軽度で心拍出量は保たれており開窓部の自然閉鎖に対する処置は行わずに経過観察とし

た (Table 1)。f-TCPC から 2 年 1 ヶ月、術後心カテから 1 年 2 ヶ月後に全身浮腫と腹部膨満を主訴に来院した (Fig. 1)。入院時の血清総タンパク質 3.5 g/dL、血清アルブミン値は 2.3 g/dL と低値で、^{99m}Tc 標識ヒト血清アルブミンを用いたシンチグラムで核種の腸管内漏出が認められ PLE と診断。同日から PSL (2 mg/kg/day) とアルブミン製剤の投与を開始した。入院時の心臓超音波検査では CAVVR が 1 年前の軽度から中等度へと増加していたため enalapril, carvedilol を増量し、入院中に喘息様気管支炎に罹患したため、carvedilol を bisoprolol に変更した。

PSL に対する反応は良好で、補充なしで血清アルブミン値を維持できるようになった後に心カテを施行した (Table 1)。術後 11 ヶ月時と比べて mPAP, PVR に変化はなかった。CAVVR は軽度から中等度へ増加し RVEDP は 5 から 8 mmHg、SVR は 10.8 から 18.5 WU·m² と上昇し、CI は 3.6 から 2.7 L/min/m² へと減少していた。パルスドプラ法で測定した右室流入路の拡張早期波/心房収縮期波 (E/A) は 0.45/0.60 m/s で軽度拡張障害パターンを示していた。このため右室機能、特に拡張能低下の PLE 発症への関与を考え、新たに losartan potassium と SPL を開始し ACEi, ARB, SPL および BB の増量と PSL 減量を並行して行った。

診断から 7 ヶ月後に PSL を中止し得たが、その 12 ヶ月後にマイコプラズマ肺炎罹患を契機に PLE が再燃した。PSL を 1 mg/kg/day で再開したところ直ちに低タンパク血症は消失し PSL は 3 ヶ月かけて漸減中止した。この際のパルスドプラ法で右室流入路の E/A は 0.55/0.4 m/s で、PLE 発症時と波高は逆転していた。再燃時の PSL 中止から 1 年 9 ヶ月経過した時点で心カテを施行した。PLE 発症直後と比較して CVP に変化はないが、肺動脈楔入圧 (PAWP) は 8 から 10 mmHg、RVEDP も 8 から 9 mmHg に上昇、RVEF

Table 1 Hemodynamic data at cardiac catheterization for cases 1 and 2

| | Case 1 | | | Case 2 | | |
|---|------------------------|---------------------|--|------------------------|---------------------|---------------------|
| | 11 months after f-TCPC | PLE resolved by PSL | 1 year and 9 months after stopping PSL | Before fenest. closure | PLE resolved by PSL | Before stopping PSL |
| CVP (mmHg) | 15 | 13 | 13 | 11 | 14 | 7 |
| mPAP (mmHg) | 13 | 13 | 12 | 10 | 13 | 7 |
| PAWP (mmHg) | 9 | 8 | 10 | 7 | 8 | 3 |
| RVP (mmHg) | 67/edp5 | 77/edp8 | 71/edp9 | 70/edp6 | 87/edp9 | 64/edp3 |
| EF (%) | 58 | 56 | 68 | 51 | 42 | 53 |
| CI (L/min/m ²) | 3.6 | 2.7 | 4.0 | 4.2 | 2.8 | 3.3 |
| SVR (unit·m ²) | 10.8 | 18.5 | 9.0 | 11.6 | 20.7 | 10.6 |
| PVR (unit·m ²) | 1.6 | 1.6 | 0.5 | 0.8 | 1.8 | 1.5 |
| CAVVR | Mild | Moderate | Moderate | Mild | Moderate | Mild |
| RVEDP/CI (mmHg/(L/min/m ²)) | 1.4 | 3.0 | 2.3 | 1.4 | 3.2 | 0.9 |

CVP: central venous pressure, mPAP: mean pulmonary artery pressure, PAWP: pulmonary artery wedge pressure, RVP: right ventricular pressure, EF: right ventricular ejection fraction, CI: cardiac index, SVR: systemic vascular resistance, PVR: pulmonary vascular resistance, CAVVR: the severity of common atrioventricular valve regurgitation, RVEDP: right ventricular end-diastolic pressure, edp: end-diastolic pressure.

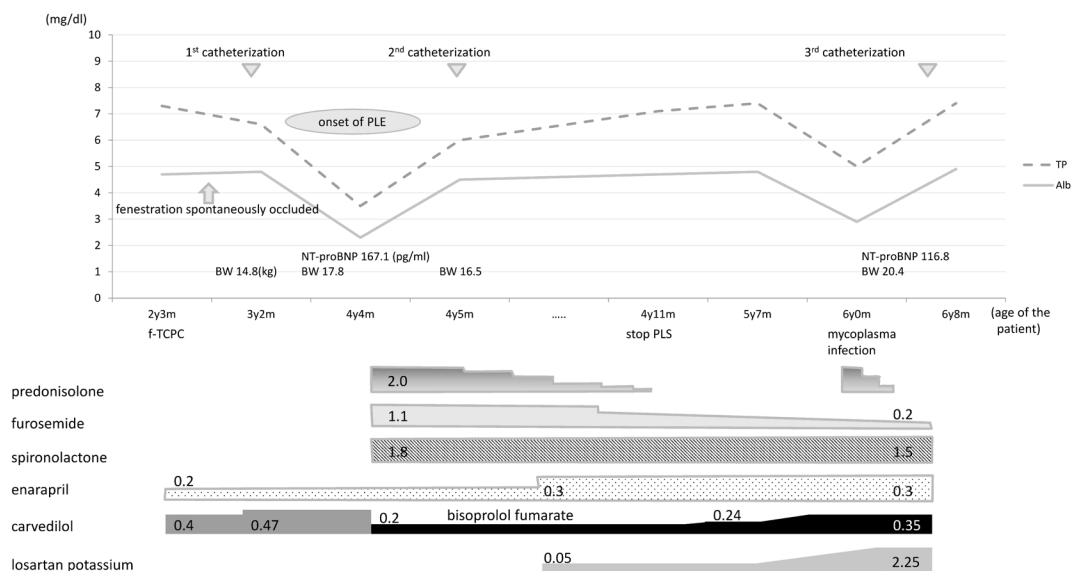


Fig. 1 Clinical course of case 1

PLE: protein-losing enteropathy; TP: total protein; Alb: albumin; NT-proBNP: N-terminal pro-brain natriuretic peptide; BW: body weight. Polygons depict changes in the amount of the agents used (in mg by body weight [kg] per day).

は56が68%, CIは2.7から4.0L/min/m²へと著明に増加していた。SVRは18.5から9.0WU·m²に低下していた (Table 1)。RVEDP/CIはPLE発症に伴い1.4から3.0へと上昇し、PSL中止後には2.3mmHg/L/min/m²に低下していた。

症例 2

2歳9ヶ月, 男児。診断は右側相同, 右室性単心室, 両大血管右室起始, 単心房, 共通房室弁, 肺動脈狭窄, 下心臓型総肺静脈還流異常。日齢14に総肺

静脈還流異常修復術ならびに肺動脈絞扼術, 7ヶ月時には両方向性 Glenn 手術兼共通房室弁形成術を施行した。術後心房頻拍が出現し flecainide, bisoprolol を開始した。1歳5ヶ月時の心カテで mPAP が16ないし17mmHg, 平均単心房圧9mmHg, RVEDP 12mmHg と低リスクとは言えないが f-TCPC を予定した。なお, 主肺動脈経由の付加肺血流があるため左右肺動脈の酸素飽和度が異なり, PVR 測定はできなかった。f-TCPC に先立ち房室弁輪縮部起源の心房頻拍に対し高周波電気焼灼術を, 体肺側副動脈にコ

イル塞栓術を施行した。1歳9ヶ月時にf-TCPCを施行、術後6ヶ月で行った心カテでCVP 11mmHg, CI 4.2L/min/m², PVR 0.8WU·m², RVEFは51%であった (Table 1)。開窓部の試験的な閉鎖によって、CVPは15mmHgに留まり98%まで動脈血酸素飽和度が上昇した。このため術後8ヶ月時に左肺動脈中下葉枝の狭窄に対する経皮的バルーン拡大術とFlipper coilにて開窓部閉鎖術を行う方針とした。経皮的バルーン肺動脈拡大術により狭窄部は直径3.6mmから4.9mmに拡大し、開窓部閉鎖術では施術後も少量の短絡が残存、SaO₂は84%から91%への上昇に留まった。開窓部閉鎖2ヶ月後、浮腫と著明な低タンパク、低アルブ

ミン血症を認めたため入院とした (Fig. 2)。

^{99m}Tc 標識ヒト血清アルブミンを用いたシンチグラムで腸管への蛋白漏出を確認し PLE と診断、PSL 2mg/kg/day とアルブミン投与を開始した。

補充なしで正常の血清アルブミン値が維持できる状態になったため、心カテを施行した (Table 1)。開窓部閉鎖前のデータと比べCVPは11から14mmHg, SVRは11.6から20.7WU·m², RVEDPは6から9mmHgへと上昇していた。RVEFは51から42%へ、CIは4.2から2.8L/min/m²へと低下しCAVVRは軽症から中等症へと悪化していた。バルーン拡大術を施行した左肺動脈に再狭窄はなく、残存

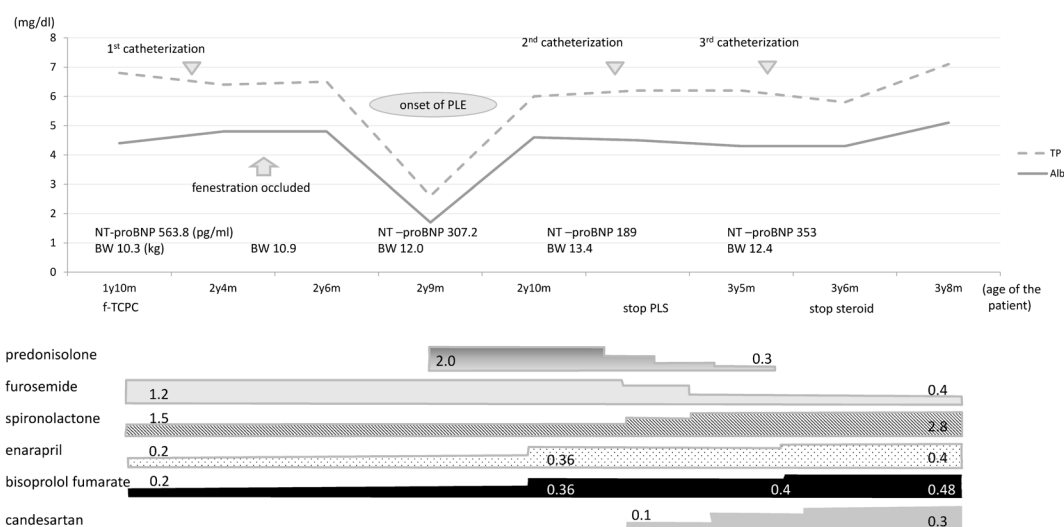


Fig. 2 Clinical course of case 2

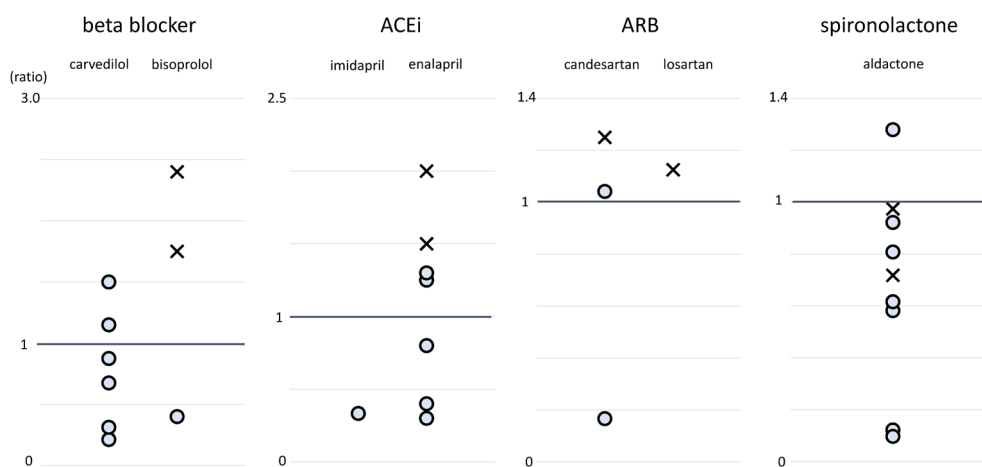


Fig. 3 Therapeutic dosage ratio for the treatment of protein-losing enteropathy

X: cases 1 and 2; O: other protein-losing enteropathy (PLE) patients. These ratios denote the ratio of the therapeutic dosage by patient weight (kg) to maximal therapeutic dose for an adult in Japan per 50kg (i.e., 1=(max dosage for adult)/50kg). Beta blocker (high dosage), ACEi (high dosage), ARB, and spironolactone were administered in both remitted cases.

する体肺側副動脈に対しては可能な限りコイル塞栓術を施行した。パルスドプラ法による右室流入路のE/Aは0.57/0.58 m/sとE波高とA波高はほぼ同等であった。以上からSVR, CAVVRの増加, 右室収縮能低下に加えて拡張能の低下も疑い, f-TCPC術後から内服していたenalapril, bisoprolol, SPLを増量, 新たにcandesartanを開始しPSL漸減の方針とした。PLEの診断から8ヶ月後の心カテでCVP 7 mmHg, PAWP 3 mmHg, RVEDP 3 mmHg, SVRは10.6 WU・m²といずれも低下し, RVEFは53%と改善, CIは治療開始前の2.8から3.3 L/min/m²に増加していたためPSLは中止とした (Table 1)。この時点で施行した心臓超音波検査ではCAVVRは軽症化しており, 右室流入路のE/Aは1.04/0.8 m/sと変化していた。RVEDP/CIはPLE発症前の1.4が発症後に3.2へと上昇し, PSL中止時には0.9 mmHg/L/min/m²へ低下していた。

症例 1, 2 と当院における PLE 非寛解例の投薬量

当院でFontan型手術後のPLEとして治療されている症例は合計10例あったが今回の2例以外に寛解症例はなかった。日本薬局方で定められている各薬剤の一日当たりの成人最大投薬量を体重50 kgで除した値を1とすると, 寛解例1と2におけるsteroid療法中止時の体重1 kgあたりの投薬量はBB, ACEi, ARBの3剤において非寛解例より多かった (Fig. 3)。また, 非寛解例でBB, ACEi, ARB, SPLの4剤もしくはBB, ACEi, ARBの3剤を併用した症例はなかった。

考 察

Fontan手術後にタンパクが腸管内に漏出する原因や機序は未だ詳らかではないが, 高い静脈圧, 低い心拍出量, 腸管膜血管抵抗の上昇, 全身性の炎症反応や腸管におけるheparan sulfateの欠乏などの関与が言われている³⁻⁵⁾。

PLEにおける血漿タンパク濃度の低下は血管内の膠質浸透圧低下をもたらす, 高いCVPと相まって血管から間質への水分漏出を生じる⁶⁾。血管内の水分喪失は循環血液量の減少から, 心拍出量の減少のみならずCVPの低下をもたらす可能性がある。このためPLEの発症要因を検討するためには, 腸管へのタンパク漏出および血管外への水分漏出がない状態で血行動態評価を行う必要があると考え, 迅速なPLE寛解を得るために我々はsteroid療法を選択した。

副腎皮質ホルモンの全身投与は1991年のRothmanの報告から始まり現在でも広くFontan手術後のPLE

治療に用いられている⁷⁾。Steroid療法の問題点の第一は, 長期使用による易感染性, 骨粗鬆症, 高血圧, 中心性肥満などの副作用である。欧米では副作用低減を目的として消化管から吸収されても, 初回通過効果により約90%が肝臓で不活化されるbudesonideを用いたsteroid療法が主体になってきている^{8,9)}。しかし, Fontan手術後のPLEではbudesonideを選択しても副作用の頻度が低いとは言い難い⁹⁾。また, 長期投与によりPLEに対するsteroidの治療効果が減ずることも多く, steroidからの離脱は困難であると言われる^{8,9)}。以上の事実から我々の血管拡張薬併用療法の治療目標は, 主として血行動態の改善により, 副作用の強いsteroidなしにタンパク漏出がないか, 正常な血清タンパク質濃度を保てる状態を維持することとした。

心カテにおける変化が2症例で同様であったパラメーターはCI, SVR, RVEF, RVEDP/CIであった。尚, RVEDP/CIは一定時間に右室に流入する血流量によってRVEDPがどの程度変化したかを示し右室拡張能を反映するものと考えられ, 低値であれば拡張能良好である。CIとRVEFはPLE発症直後に低下しPSLからの離脱前後に再び上昇, SVRとRVEDP/CIはPLE発症後に上昇しPSL中止前後には低下していた。開窓部の閉塞自体がPLE原因そのものだと考えても, 低心拍出量やCVP上昇がPLE発症要因の一つであるという報告とは矛盾しない^{4,10)}。しかし同時にSVR上昇とRVEF低下, RVEDP/CI上昇など体循環心室の収縮, 拡張機能低下が認められており, 開窓部閉鎖による心拍出量低下に反応した後負荷増大が右室機能低下とさらなる心拍出量低下を招くという悪循環もPLE発症に関与するのかもしれない。逆にいえば血管拡張療法の強化に伴いSVRが低下し右室機能が改善, 心拍出量が増加したことがPLE改善の一因であった可能性が考えられた。

Senzakiら, SzaboらによればFontan循環は体血管床と肺血管床の間に介在すべき肺循環心室を欠いているため, 体循環心室はSVRとPVRに抗して血液を駆出することになり, これが体循環心室の後負荷不整合を生じ, 循環効率の悪化や心室機能低下をもたらす。Fontan循環においては体循環心室のstiffnessが高く, これが心予備能低下の要因であるとも述べている¹¹⁻¹³⁾。さらにOzawaらはPLEの発症と共に体血管抵抗は上昇し, 循環動態を改善させる治療によりPLEが改善すると体血管抵抗も低下するため, 後負荷不整合がPLEの発症に重要な役割を果たすと報告しており, 今回の経験と矛盾しない¹⁴⁾。またFontan

手術後症例においては血中 catecholamine や RAA 系のホルモンレベルが高いとの報告があり¹⁵⁾、今回使用した血管拡張薬がこれら神経内分泌因子と拮抗することのみならず、交感神経興奮で放出が促進される vasopressin や renin, angiotensin II による腸間膜血管抵抗上昇を抑制したことも steroid を中止できた理由かもしれない。

Ringel らは PLE 3 例に対し高用量 SPL の使用経験を報告しているが、最終的には 3 例とも ACEi と SPL の併用療法に移行しており¹⁶⁾、彼らの治療法も RAA 系抑制という面では我々の治療法と共通する。その他 RAA 系抑制薬による心室リモデリング抑制作用や BB の Ca ハンドリング改善作用、心拍数低下作用¹⁷⁾なども右室機能の改善から PLE 寛解に寄与した可能性もあるが、今後の検討が必要である。

PLE 発症時には ACEi, BB, SPL 等が既に投与されていたにも関わらず SVR は上昇し右室機能は低下していた。PSL 中止時に今回の 2 症例に投与されていた SPL 以外の血管拡張薬の投与量は当院のすべての PLE 非寛解例より大量で、4 系統の薬剤の同時投与はこの 2 例のみであった。Fontan 循環における高い SVR を心室機能が改善する程度にまで低下させ、腸管へのタンパク漏出を停止させるのに必要な薬剤の組み合わせや量は不明であるが、比較的大量の血管拡張薬の多剤併用が必要なのかもしれない。

結 論

今回、Fontan 手術後 PLE の 2 症例を交感神経系と RAA 系抑制薬の併用で治療し良好な結果を得た。PLE と診断後ただちに PSL を開始し、PLE の寛解直後心カテによる循環動態の評価を行った。その結果 Fontan 手術後の PLE 発症に SVR 上昇、体循環心室機能低下と心拍出量低下の関与が推測され、BB と RAA 系抑制薬の併用療法は、PLE に有効である可能性も示唆された。しかし、わずか 2 例での経験であり、今後の症例の蓄積が必要と考えられる。

利益相反

本論文について、開示すべき利益相反 (COI) はない。

引用文献

1) Gewillig M, Brown SC, Eyskens B, et al: The Fontan circulation: Who controls cardiac output? *Interact Cardiovasc*

Thorac Surg 2010; **10**: 428–433

2) John AS, Johnson JA, Munziba K, et al: Clinical outcome and improved survival in patients with PLE after the Fontan operation. *J Am Coll Cardiol* 2014; **64**: 54–62

3) Ostrow AM, Freeze H, Rychik J, et al: Protein-losing enteropathy after Fontan operation: investigations into possible pathophysiologic mechanisms. *Ann Thorac Surg* 2006; **82**: 695–700

4) Rychik J: Protein-losing enteropathy after Fontan operation. *Congenit Heart Dis* 2007; **2**: 288–300

5) Rychik J, Song G: Relation of mesenteric vascular resistance after Fontan operation and protein-losing enteropathy. *Am J Cardiol* 2002; **90**: 672–674

6) Guyton AC, Hall JE: The microcirculation and lymphatic system: capillary fluid exchange, interstitial fluid, and lymph flow, in Guyton AC, Hall JE (ed): *Textbook of Medical Physiology*, 12th ed. Philadelphia, Saunders 2011, pp. 177–186

7) Rothman A, Snyder J: Protein-losing enteropathy following the Fontan operation: resolution with prednisone therapy. *Am Heart J* 1991; **121**: 618–619

8) John AS, Driscoll DJ, Warnes CA, et al: The use of oral budesonide in adolescents and adults with protein-losing enteropathy after the Fontan operation. *Ann Thorac Surg* 2011; **92**: 1451–1456

9) Schumacher KR, Cools M, Goldstein BH, et al: Oral budesonide treatment for protein-losing enteropathy in Fontan-palliated patients. *Pediatr Cardiol* 2011; **32**: 966–971

10) Ohuchi H, Yasuda K, Miyazaki A, et al: Haemodynamic characteristics before and after the onset of protein losing enteropathy in patients after the Fontan operation. *Eur J Cardiothorac Surg* 2013; **43**: e49–e57

11) Senzaki H, Masutani S, Kobayashi J, et al: Ventricular afterload and ventricular work in Fontan circulation: Comparison with normal two-ventricle circulation and single-ventricle circulation with Blalock-Taussig shunts. *Circulation* 2002; **105**: 2885–2892

12) Szabo G, Buhmann V, Graf A, et al: Ventricular energetics after the Fontan operation: Contractility-afterload mismatch. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003; **125**: 1061–1069

13) Senzaki H, Masutani S, Ishido H, et al: Cardiac rest and reserve function in patients with Fontan circulation. *J Am Coll Cardiol* 2006; **47**: 2528–2535

14) Ozawa H, Ueno T, Iwai S, et al: Contractility-afterload mismatch in patients with protein-losing enteropathy after the Fontan operation. *Pediatr Cardiol* 2014; **35**: 1225–1231

15) Inai K, Nakanishi T, Nakazawa M: Clinical correlation and prognostic predictive value of neurohumoral factors in patients late after the Fontan operation. *Am Heart J* 2005; **150**: 588–594

16) Ringel RE, Peddy SB: Effect of high-dose spironolactone on protein-losing enteropathy in patients with Fontan palliation of complex congenital heart disease. *Am J Cardiol* 2003; **91**: 1031–1032, A9

17) Bonow RO, Udelson JE: Left ventricular diastolic dysfunction as a cause of congestive heart failure: mechanisms and management. *Ann Intern Med* 1992; **117**: 502–510