

特集：急速進行性糸球体腎炎

RPGN の治療

平山浩一*¹ 小林正貴*¹ 山縣邦弘*² 小山哲夫*³

はじめに

急速進行性糸球体腎炎 (rapidly progressive glomerulonephritis : RPGN) は WHO により、「急性あるいは潜在性に発症する肉眼的血尿、蛋白尿、貧血、急速に進行する腎不全症候群」と定義されている¹⁾。RPGN は病理学的には、多数の糸球体に細胞性から線維細胞性の半月体の形成を認める壊死性半月体形成性糸球体腎炎が典型像である。しかし、半月体形成性糸球体腎炎以外にも RPGN の臨床経過をたどる疾患もあり、腎炎様の尿所見を伴い、急速な腎機能の悪化により放置すれば末期腎不全まで進行する疾患も臨床的に RPGN として取り扱われる。また、抗好中球細胞質抗体 (antineutrophil cytoplasmic antibody : ANCA)、抗糸球体基底膜 (glomerular basement membrane : GBM) 抗体、抗 DNA 抗体、免疫複合体などの血清学的指標および腎組織所見を加味して、pauci-immune 型 RPGN、抗 GBM 抗体型 RPGN (Goodpasture 症候群を含む)、免疫複合体型 RPGN に大別され、さらに pauci-immune 型は ANCA の対応抗原である myeloperoxidase (MPO) と proteinase-3 (PR3) により、MPO-ANCA 型 RPGN (顕微鏡的多発動脈炎を含む) と PR3-ANCA 型 RPGN (Wegener 肉芽腫症を含む) に病型分類される。本稿では、免疫複合体型 RPGN を除く疾患について概説する。

ANCA 型 RPGN

腎疾患専門医療機関においては、血清学的指標や腎組織学的検討より RPGN の病型診断を行い、重症度や各種合併症を考慮しつつ、それに応じた治療を行う。通常、メチル

プレドニゾロンパルス療法を含めた副腎皮質ステロイド薬や免疫抑制薬、抗血小板薬や抗凝固薬、血漿交換療法などを併用した治療が行われる。

1. 初期治療

米国の National Institute of Health より、ANCA 関連血管炎の導入期治療として、経口副腎皮質ステロイド薬 (oral corticosteroid : OCS) (1 mg/kg/日) + シクロホスファミド (cyclophosphamide : CYC) (2 mg/kg/日) を、また、劇症型には CYC 大量療法 (3~5 mg/kg) を寛解後 1 年間まで継続するという regimen が提唱された。本治療により 75% の患者に完全寛解を得たとの報告⁴⁾ をはじめとし、欧州血管炎研究グループ (European Vasculitis Study Group : EUVAS) などによる ANCA 関連血管炎に対する前向き比較試験の検討⁵⁾ なども含め、一般的な初期治療として OCS と CYC の併用療法が推奨されている。経口副腎皮質ステロイド薬の初期投与量は 1 mg/kg/日 (最大 80 mg/日) で、肺胞出血など重篤な合併症を伴う場合にはメチルプレドニゾロンパルス (methylprednisolone pulse : MP) 療法ないしは血漿交換療法を併用するとされている。CYC 療法に関しては、2 mg/kg 経口投与が主であるが、de Groot らはメタ解析の結果、経静脈的 CYC パルス療法 (intravenous cyclophosphamide : IVCY) は経口 CYC 療法と比較して、寛解率も高く、副作用も少なく有用であるとしている⁶⁾。EUVAS による経口 CYC 療法 (2 mg/kg/日) または IVCY (15 mg/kg × 2~3 週毎) を行う前向き比較検討試験 (試験名称 CYCLOPS : daily oral versus pulse cyclophosphamide for renal vasculitis) が新規発症 160 例を対象として施行され、完全寛解の期間、および死亡や副作用出現頻度に有意差は認められなかった⁷⁾。

このように、海外の検討では、OCS + CYC 併用療法が支持されているが、米国や欧州の RPGN 症例は PR3-ANCA 型 RPGN を多く含んでいることを考慮する必要がある。本邦では、より高齢者に発症する MPO-ANCA 型 RPGN が最

Treatments of rapidly progressive glomerulonephritis

*¹東京医科大学茨城医療センター腎臓内科、*²筑波大学大学院人間総合科学研究科 腎臓病態分野、*³茨城県立医療大学

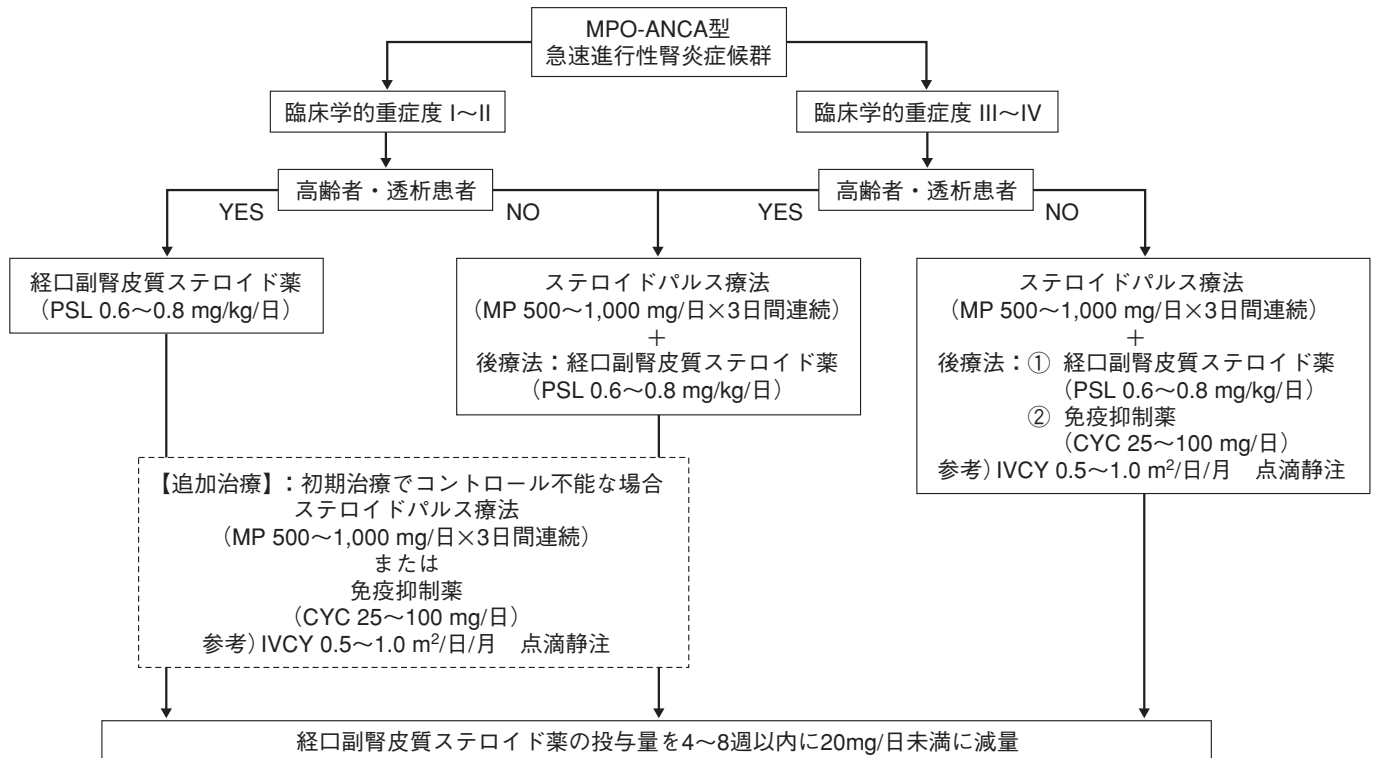


図 1 MPO-ANCA 型 RPGN の治療指針

PSL : prednisolone, MP : methylprednisolone pulse, CYC : cyclophosphamide, IVCY : intravenous cyclophosphamide

も頻度が高いことより、感染症の合併率が高く、生命予後不良となるため、高齢者の免疫抑制療法については慎重にならざるを得ない。本邦の検討では、OCS 0.8 mg/kg/日未満の症例は、それ以上投与した群と比較し、有意に生命予後を改善させ、腎予後も有意に良好であった²⁾。一方、MP療法とそれにCYCを併用した例の比較では、CYC併用例が予後不良の傾向であった。しかし、治療開始時血清クレアチニン値・血清CRP値の高値例や肺病変併発例でCYC併用率が高く、さらにCYC併用例では有意にOCS投与量も多いため、比較背景を揃えた検討を試みると、MP療法例に比べCYC併用例のほうが、腎生存率に有意差はないものの、生存率は有意に良好であった²⁾。

MPO-ANCA型RPGNにおける免疫抑制療法は、高度炎症所見や肺病変を併発した予後不良例には生命予後改善の可能性はあるが、高齢者や日和見感染をきたしやすい症例、治療開始時すでに高度腎機能障害を伴う症例には注意すべきであるということを考慮して、「RPGN診療指針」(図1, 2)が作成されている²⁾。「進行性腎障害に関する調査研究」による再調査では、MPO-ANCA型RPGN 612例における平均OCS投与量は、1998年以前は0.84 mg/kg/日であったが、1999~2001年では0.75 mg/kg/日、2002年以降では

0.71 mg/kg/日と有意に減少していることが判明した³⁾。

2. 重症・劇症型ないし治療抵抗性症例に対する治療

肺胞出血など重篤な合併症を伴う場合には、前述のごとくMP療法ないしは血漿交換療法を併用することが一般的とされている。1970年代後半からMP療法が施行されるようになり、MP療法では腎機能改善度が良好で、透析離脱率も良好、有意に腎機能改善が認められたとの報告など、その有効性が示唆されている。

抗GBM抗体型RPGNにおける初期治療として有用である血漿交換療法もANCA関連血管炎に対して試みられている。本邦MPO-ANCA型RPGNで治療開始時に肺出血を合併していた79例についての解析では、21例にアフエレス療法が施行されていたものの、アフエレス療法施行の有無による最終予後には差がなかった。また、肺胞出血に高度腎機能障害(治療開始時血清クレアチニン6.0 mg/dL以上)例においてもアフエレス施行例のほうが若干予後不良であったが、治療開始時CRP 6.0 mg/dL以上の高度炎症を伴う症例でのみ、アフエレス療法施行による若干の生命予後改善が認められた⁸⁾。

EUVASによる血清クレアチニン値500 μmol/L(5.7 mg/dL)以上の高度腎障害151症例に対する、OCS+CYC療法

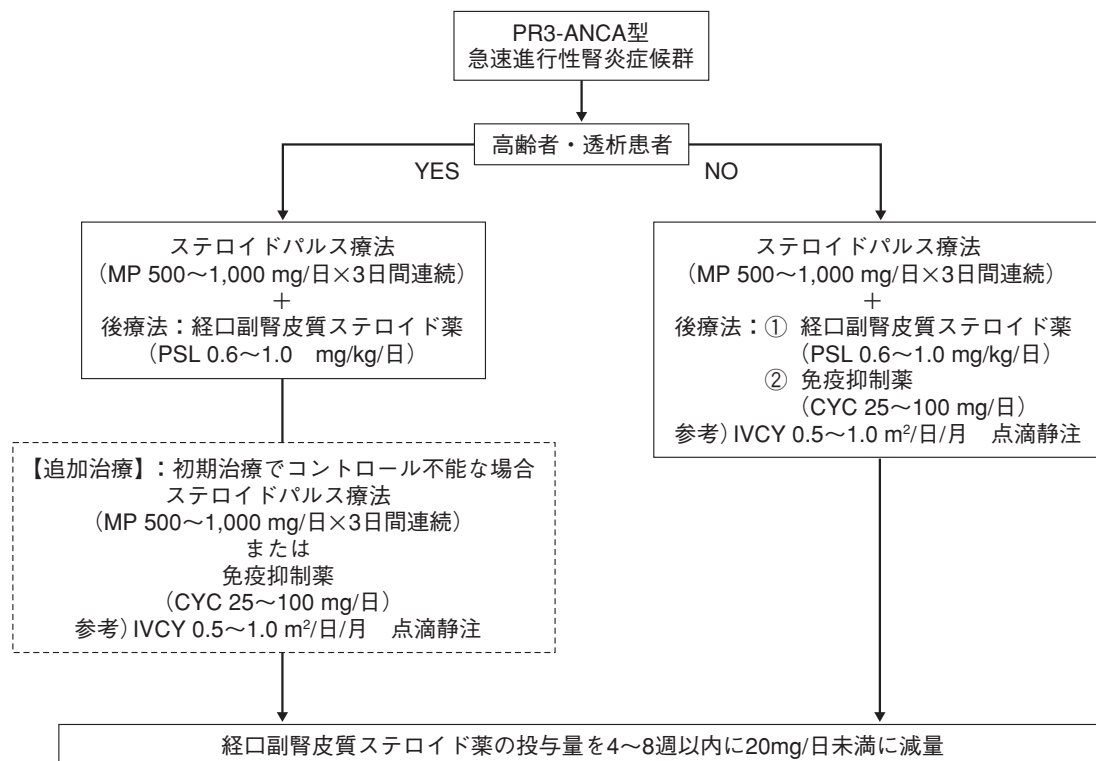


図 2 PR3-ANCA 型 RPGN の治療指針

に加え、MP 療法(15 mg/kg/日×3 日間)または血漿交換療法(60 mL/kg/回×7 回)を行う前向き比較検討試験(試験名称 MEPEX: methylprednisolone or plasma exchange for severe renal vasculitis)では⁹⁾、3 カ月後の生存率または腎生存率は血漿交換療法群のほうが良好(69% vs. 49%)であったが、全体の 2/3 の症例が透析導入となり、全体の 25% の症例が治療法の種類に関連なく死亡したとの結果であった。

3. 維持療法

維持療法における比較検討試験としては、EUVAS による CYC とアザチオプリン(azathioprine: AZA)との前向き比較検討試験(試験名称 CYCAZAREM: cyclophosphamide versus azathioprine for remission in generalized vasculitis)があり、OCS(60 mg/日)+CYC(2 mg/kg/日)併用初期治療により寛解した 144 症例に対して、治療 3 カ月後に CYC(1.5 mg/kg/日)継続群と AZA(2 mg/kg/日)に変更した群とで比較したものである。CYC 継続群と AZA 変更群との間に再発率に有意差はなく(11% vs. 10%; $p=0.94$)、その安全性から AZA の有用性が報告されている¹⁰⁾。

本邦 MPO-ANCA 型 RPGN における初期治療終了後の維持 OCS 投与量については、「RPGN 治療指針」では 20 mg/日未満とした場合の生存率は 94.4%で、20~30 mg/日

では 83.3%、30 mg/日以上では 50.0%と、20 mg/日未満とすることがその後の生命予後を有意に改善させるとしている²⁾。そのため、疾患活動性がコントロールされていれば、可能な限り速やかに OCS を 20 mg/日未満まで漸減し、ANCA 抗体価の高値が持続する場合には CYC 25~100 mg/日の併用を考慮するとしている。

4. その他の治療法

1) 他の免疫抑制薬

その他の免疫抑制薬としてメソトレキセート(methotrexate: MTX)やデオキシスパーガリンが寛解導入に有用であるとの報告もあり、EUVAS による MTX 治療群(MTX 15~20 mg/週)と CYC 治療群(CYC 2 mg/kg/日)との前向き比較検討試験(試験名称 NORAM: methotrexate versus cyclophosphamide for early systemic disease)では¹¹⁾、治療開始 6 カ月後、MTX 治療群では再発率は高い(69% vs. 42%)ものの、寛解導入率は同等(83% vs. 84%)であり、また、発症時の障害臓器数が多い例や肺病変合併例では寛解持続期間が長いと報告している。

また、ミコフェノール酸モフェチル(mycophenolate mofetil: MMF)の CYC 療法抵抗性の際の寛解導入補助薬としての有用性や、維持療法に対する再発減少効果などの有用性が報告されている¹²⁾。現在、EUVAS により、OCS+CYC

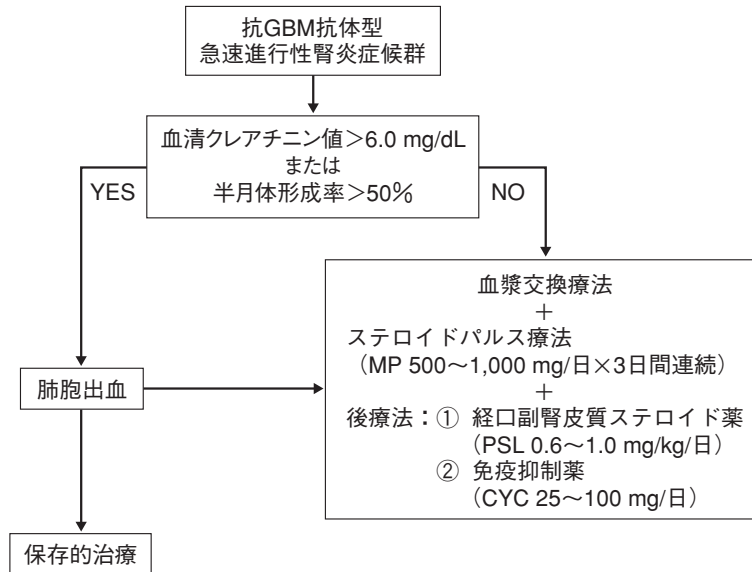


図 3 抗 GBM 抗体型 RPGN の治療指針

併用初期治療により寛解した症例に対して、MMF 治療群 (MMF 2 g/日) と AZA 治療群 (AZA 2 mg/kg/日) との前向き比較検討試験 (試験名称 IMPROVE: international mycophenolate mofetil protocol to reduce outbreaks of vasculitis) が進行中である⁵⁾。本邦では AZA, MMF と比較して、同様のプリン代謝拮抗薬であるミゾリビンが使用されることが多く、われわれはパイロット試験ではあるが、OCS+CYC 併用初期治療により寛解後、ANCA titer が再上昇した際のミゾリビンの再発予防効果を報告している¹³⁾。

2) 大量γグロブリン療法

重症・劇症型ないし治療抵抗性症例に対する治療として、大量γグロブリン療法の有用性が報告されており、従来治療に加えて用いた群ではプラセボ群と比較して改善傾向 (82% vs. 35%) を認めている¹⁴⁾。大量γグロブリン療法は Fc レセプターを介して免疫抑制に関与するのみならず、感染症に対する治療としても有効であり、特に感染症を伴う活動性の高い ANCA 関連血管炎に対する効果が期待される。現在、本邦では大量γグロブリン療法 (NPB-01) のプラセボ対照無作為化二重盲検比較試験 (前期第 II 相探索試験) が進行中である。

3) 生物学的分子標的治療薬

EUVAS による抗胸腺細胞グロブリンによる前向き試験 (試験名称 SOLUTION: anti-thymocyte globulin for refractory vasculitis) においては、従来治療法に抵抗性の 15 例中 13 例に抗胸腺細胞グロブリンが有効であったと報告されている¹⁵⁾。ANCA 関連血管炎 32 例 (急性期 16 例, 治療抵抗性 16 例) に対する抗 TNF-α 抗体 (インフリキシマブ) に

よる前向き試験では、88% の症例が平均 6.4 週で寛解に至ったと報告されている一方、21% の症例で重篤な感染症を併発したとしている¹⁶⁾。また、Wegener 肉芽腫症 174 例に対する可溶性 TNF-α 受容体 p75 (etanercept) による前向き試験 (試験名称 WGET: Wegener's granulomatosis etanercept trial) が施行され、72% の症例が寛解に至ったが、試験期間中寛解を維持していたのは 49.4% にすぎず、また、寛解率、再燃率とも通常治療のみの群との有意差は得られず、etanercept 群では 6 例に固形腫瘍が発症したとしている¹⁷⁾。その他、抗 T 細胞モノクローナル抗体: 低用量抗 CD4 抗体 + 抗 CD52 抗体 (alemtuzumab), 抗 CD20 抗体 (リツキシマブ) などの有用性が報告されているが、少数例の報告であり、これらも含め、生物学的分子標的治療薬の有用性に関してはより詳細な検討が必要になるものと思われる。

抗 GBM 抗体型 RPGN

治療は、安静・生活制限などの一般的療法、腎機能に応じた食事療法 (たんぱく質制限と塩分制限, 必要ならカリウム制限や水分制限), 腎機能障害の程度ならびに肺疾患の有無により、原疾患に対する治療 (図 3) と対症療法 (腎不全に対する透析療法や肺病変に対する酸素投与など) が施行される。

1. 初期治療

1970 年代には腎摘やさまざまな程度の免疫抑制薬の投与が行われたが、47% の症例が 1 年以内に死亡し、生存例でも 40% が腎死に至り、きわめて予後不良であった¹⁸⁾。そ

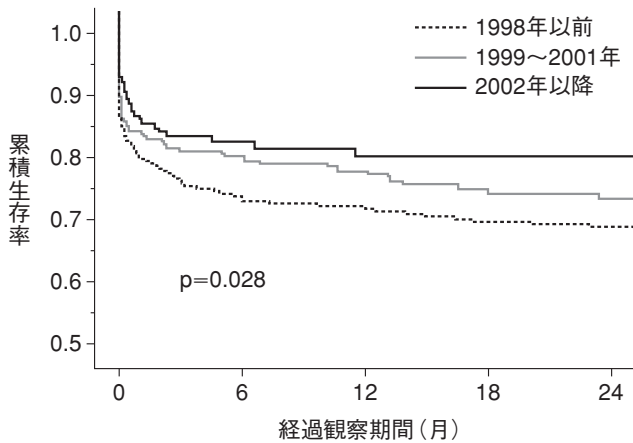


図 4 本邦 RPGN における発症年度別腎生存予後

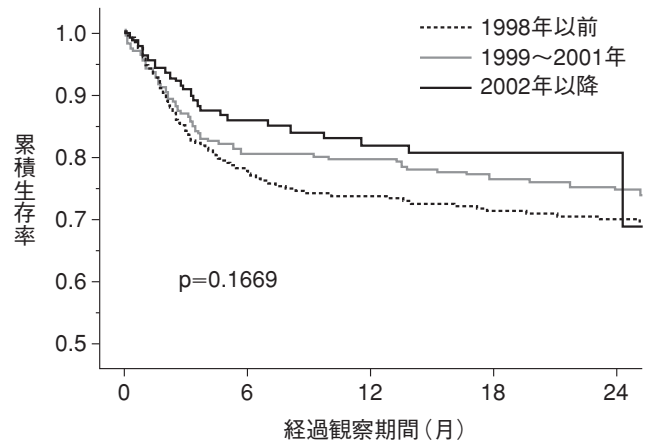


図 5 本邦 RPGN における発症年度別生命予後

の後、OCS や CYC などの免疫抑制療法が行われ、さらに抗 GBM 抗体の積極的除去のために血漿交換療法も行われた結果、治療成績の向上をみている。特に肺出血の合併例に対しては、血漿交換療法や OCS 療法の施行により肺出血は速やかに消失することが多く、本疾患の生命予後は著明に改善したが、腎機能予後はいまだ不良である。

Goodpasture 症候群に対しては、流血中の抗 GBM 抗体の除去および抗体産生抑制が治療の主体と言える。1976 年に Lockwood らにより、経口副腎皮質ホルモン大量療法、免疫抑制薬 (CYC) と血漿交換療法の併用療法の有効性が報告され¹⁹⁾、以降、施設間により多少の違いはあるものの、この 3 療法を併用し治療が行われている。

1) 血漿交換療法

流血中の抗 GBM 抗体の除去目的にて、後述の免疫抑制療法と併せて積極的に施行する。血漿交換療法は肺病変の約 90%、腎病変の約 40% に有効であるとされている²⁰⁾。Lockwood らは、5% アルブミンを置換液として、4L/回の血漿交換を連日 2 週間ないしは血清抗 GBM 抗体価が正常化するまで施行する、ただし肺出血合併例では 5% アルブミンで置換した後に新鮮凍結血漿 300~400 mL を毎回最後に使用するというプロトコルを用いている¹⁹⁾。

その他の方法として、二重濾過血漿交換療法や protein A カラムによる免疫吸着療法²¹⁾の有用性も報告されている。しかしながら、本邦ではいまだ保険適用には至っていない。

2) 副腎皮質ホルモン薬

通常、OCS 大量療法 (PSL 40~60 mg/日) を行い、経過をみながら投与量を漸減する。重度の症例に対しては、副腎皮質ホルモンパルス療法 (MP 1,000 mg/日×3 日間連日) を数クール施行する。

3) 免疫抑制薬

OCS 療法のみでは効果が不十分なしは OCS 投与量の漸減困難な症例は稀ではなく、その場合は免疫抑制薬の併用を行うことが多い。通常、CYC 1~2 mg/体重 kg/日、ないしは AZA 50~100 mg/日を投与する。

4) その他

抗凝固薬 (ヘパリン、ワーファリン) や抗血小板薬 (ジピリダモール、塩酸ジラゼブなど) も糸球体腎炎の治療には有用であるが、肺出血の増悪をもたらす危険性もあるため、慎重に投与する必要がある。

2. 進行症例に対する治療

血清クレアチニン値が 600 $\mu\text{mol/L}$ (6.8 mg/dL) 以上の症例においては、免疫抑制療法と血漿交換療法の併用療法による腎機能改善症例は 8.5% であり、血清クレアチニン値がそれ以下の症例の 76.1% と比較して、無効例がきわめて多い²²⁾。したがって、臨床的に高度の腎機能障害を有する例や乏尿ないし無尿の症例の腎予後はきわめて不良であり、腎機能の改善は認められないことが多いため、危険を伴う積極的な治療は控えることが望ましいとされている²³⁾。また本邦では、抗 GBM 抗体型 RPGN が諸外国に比べ少なく、本邦の Goodpasture 症候群を含めた抗 GBM 抗体型 RPGN 44 例の検討では、発症年齢が 50 歳代と高いうえ、初診時腎機能は平均血清クレアチニン値 7.1 mg/dL、腎組織所見でも半月体形成率 77.6% と治療への反応性は望めない症例がほとんどであった²⁴⁾。血漿交換療法の施行率は 55.6% であったが、血漿交換療法施行・非施行例の間で、腎生存率、生存率とも有意差はなかった²⁴⁾。また、OCS と免疫抑制薬の併用は血漿交換療法の有無にかかわらず、感染症などの危険を高め、生命予後不良であった²⁴⁾。

おわりに

RPGN では、発症早期に積極的な治療を行うことが重要である。しかし、RPGN の発症例は高齢者が多く、免疫抑制療法などによる日和見感染での死亡例も少なくないので、生命・腎予後を考慮しながら治療方針を立てることが重要である。2002 年に「急速進行性腎炎症候群の診療指針」が作成・公表され、RPGN における生命予後ならびに腎生存予後は、1998 年以前と比較し、1999～2001 年、および 2002 年以降では改善傾向となっていることが判明した(図 4, 5)³⁾。しかしながら、感染症による死亡比率は、1998 年以前は 49.1%, 1999～2001 年では 34.7%, 2002 年以降でも 63.6%と改善傾向になく³⁾、感染症対策が今後の重要な課題の一つであると思われる。また、抗 GBM 抗体型 RPGN における生命予後ならびに腎生存予後ともに著変がない点も課題となっている。

現在、本邦では、厚生労働省特定疾患対策研究事業「進行性腎障害に関する調査研究」・「難治性血管炎に関する調査研究」・「免疫疾患の合併症とその治療法に関する調査研究」の 3 班合同による Japanese Study group for MPO-ANCA-associated vasculitis (JMAAV) が進行中であり、また、世界的には EUVAS を中心に多くの前向き比較検討試験が行われている。今後、より多くのエビデンスが集積され、また、より良い治療ガイドラインが作成・改訂されることと思われる。

文献

- Churg J, Sobin LH. Classification of glomerular disease. In : Churg J, Bernstein J, Glasscock RJ (eds) Renal disease. Classification and atlas of glomerular diseases. 2nd ed, New York/Tokyo : Igaku-Shoin, 1995 : 3-19.
- 急速進行性糸球体腎炎診療指針作成合同委員会. 急速進行性腎炎症候群の診療指針. 日腎会誌 2002 ; 44 : 55-82.
- 小山哲夫, 有村義宏, 木田 寛, 他. RPGN の診療指針の検証 : RPGN 全国アンケート調査結果からの検討. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 「進行性腎障害に関する調査研究」(主任研究者 富野康日己). 平成 16 年度 総括・分担研究報告書. 2005 : 33-51.
- Nachman PH, Hogan SL, Jennette JC, Falk RJ. Treatment response and relapse in antineutrophil cytoplasmic autoantibody-associated microscopic polyangiitis and glomerulonephritis. J Am Soc Nephrol 1996 ; 7 : 33-39.
- The European Vasculitis Study Group (EUVAS). Vasculitis update. <http://www.vasculitis.org/>
- de Groot K, Adu D, Savage CO. The value of pulse cyclophosphamide in ANCA-associated vasculitis : meta-analysis and critical review. Nephrol Dial Transplant 2001 ; 16 : 2018-2027.
- de Groot K, Jayne D. What is new in the therapy of ANCA-associated vasculitides? Clin Nephrol 2005 ; 64 : 480-484.
- Yamagata K, Hirayama K, Mase K, Yamaguchi N, Kobayashi M, Takahashi H, Koyama A. Apheresis for MPO-ANCA-associated RPGN—indications and efficacy : lessons learned from Japan nationwide survey of RPGN. J Clin Apher 2005 ; 20 : 244-251.
- de Lind van Wijngaarden RA, Hauer HA, Wolterbeek R, Jayne DR, Gaskin G, Rasmussen N, Noel LH, Ferrario F, Waldherr R, Hagen EC, Bruijn JA, Bajema IM. Clinical and histologic determinants of renal outcome in ANCA-associated vasculitis : A prospective analysis of 100 patients with severe renal involvement. J Am Soc Nephrol 2006 ; 17 : 2264-2274.
- Jayne D, Rasmussen N, Andrassy K, Bacon P, Tervaert JW, Dadoniene J, Ekstrand A, Gaskin G, Gregorini G, de Groot K, Gross W, Hagen EC, Mirapeix E, Pettersson E, Siegert C, Sinico A, Tesar V, Westman K, Pusey C ; European Vasculitis Study Group. A randomized trial of maintenance therapy for vasculitis associated with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies. N Engl J Med 2003 ; 349 : 36-44.
- de Groot K, Rasmussen N, Bacon PA, Tervaert JW, Feighery C, Gregorini G, Gross WL, Luqmani R, Jayne DR. Randomized trial of cyclophosphamide versus methotrexate for induction of remission in early systemic antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. Arthritis Rheum 2005 ; 52 : 2461-2469.
- Koukoulaki M, Jayne DR. Mycophenolate mofetil in anti-neutrophil cytoplasm antibodies-associated systemic vasculitis. Nephron Clin Pract 2006 ; 102 : c100-107.
- Hirayama K, Kobayashi M, Hashimoto Y, Usui J, Shimizu Y, Hirayama A, Yoh K, Yamagata K, Nagase S, Nagata M, Koyama A. Treatment with the purine synthesis inhibitor mizoribine for ANCA-associated renal vasculitis. Am J Kidney Dis 2004 ; 44 : 57-63.
- Jayne DR, Chapel H, Adu D, Misbah S, O'Donoghue D, Scott D, Lockwood CM. Intravenous immunoglobulin for ANCA-associated systemic vasculitis with persistent disease activity. QJM 2000 ; 93 : 433-439.
- Schmitt WH, Hagen EC, Neumann I, Nowack R, Flores-Suarez LF, van der Woude FJ ; European Vasculitis Study Group. Treatment of refractory Wegener's granulomatosis with antithymocyte globulin (ATG) : an open study in 15 patients. Kidney Int 2004 ; 65 : 1440-1448.
- Booth A, Harper L, Hammad T, Bacon P, Griffith M, Levy J, Savage D, Pusey C, Jayne D. Prospective study of TNF alpha blockade with infliximab in anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated systemic vasculitis. J Am Soc Nephrol 2004 ; 15 : 717-721.
- The Wegener's Granulomatosis Etanercept Trial (WGET) Research Group. Etanercept plus standard therapy for

- Wegener's granulomatosis. *N Engl J Med* 2005 ; 352 : 351-361.
18. Wilson CB, Dixon F. Anti-glomerular basement membrane antibody-induced glomerulonephritis. *Kidney Int* 1973 ; 3 : 74-89.
 19. Lockwood CM, Rees AJ, Pearson TA, et al. Immunosuppression and plasma-exchange in the treatment of Goodpasture's syndrome. *Lancet* 1976 ; 1(7962) : 711-715.
 20. Couser WG. Rapidly progressive glomerulonephritis : Classification, pathogenetic mechanisms, and therapy. *Am J Kidney Dis* 1988 ; 11 : 449-464.
 21. Bygren P, Freiburghaus C, Lindholm T, et al. Goodpasture's syndrome treated with staphylococcal protein A immunosorption. *Lancet* 1985 ; 2(8467) : 1295-1296.
 22. Turner AN, Rees AJ. Anti-glomerular basement membrane antibody disease. In : Brandy HR, Wilcox CS (eds) *Therapy in Nephrology and Hypertension : A Companion to Brenner and Rector's The Kidney*, Philadelphia/Toronto/Montreal/Sydney/Tokyo : WB Saunders, 1998 : 152-157.
 23. Flores JC, Taube D, Savage COS, et al. Clinical and immunological evolution of oligoanuric anti-GBM nephritis treated by haemodialysis. *Lancet* 1986 ; 1(8471) : 5-8.
 24. Hirayama K, Yamagata K, Kobayashi M, Koyama A. Anti-glomerular basement membrane antibody disease in Japan : part of the nationwide rapidly progressive glomerulonephritis survey in Japan. *Clin Exp Nephrol* 2008 ; 12 : 339-347.