

ステロイド療法が有効と考えられた原発性シェーグレン症候群による間質性腎炎の2例

小松 弘 幸 原 誠一郎 菊池 正雄 松本 充 峰
山田 和 弘 佐藤 祐二 藤元 昭一 江藤 胤 尚

Two cases of interstitial nephritis with primary Sjögren's syndrome
successfully treated by steroid therapy

Hiroyuki KOMATSU, Seichiro HARA, Masao KIKUCHI, Michitaka MATSUMOTO,
Kazuhiro YAMADA, Yuji SATO, Shouichi FUJIMOTO, and Tanenao ETO

First Department of Internal Medicine, Miyazaki Medical College, Miyazaki, Japan

We have experienced two cases of interstitial nephritis with Sjögren's syndrome successfully treated by steroid therapy.

Case 1. A 50-year-old woman was admitted because of rash and arthralgia of the limb. Although her renal function was normal, serum IgG was extremely high and gallium-67 scintigrams indicated abnormal uptake in both kidneys with swelling on CT scans. Renal biopsy specimens showed a patchy dense interstitial infiltration of lymphocytes, monocytes and partly plasma cells with tubular cell atrophy. To suppress an excessive immune reaction, oral prednisolone was administered at a dose of 30 mg/day. Six weeks after inception of the therapy, re-biopsy specimens showed a decrease in interstitial infiltration, particularly plasma cells, and interstitial fibrosis did not progress. After 8 weeks, the serum IgG level was normalized.

Case 2. A 57-year-old woman was found to have renal involvement (serum creatinine level : 2.2 mg/dl) and anemia. Clinical findings suggested primary Sjögren's syndrome with renal tubular acidosis. Renal biopsy specimens showed a moderate to severe interstitial infiltration of inflammatory cells. After inception of steroid therapy (prednisolone 40 mg/day), renal involvement and renal anemia gradually improved. The renal function has been kept stable (serum creatinine level : 1.5 mg/dl) for 9 years by low-dose steroid therapy.

These two cases suggest that steroid therapy plays two important roles : controlling of the acute immune reaction that causes renal fibrosis to progress in case 1, and long-term preservation of the renal function by the continuous use of low-doses in case 2.

Jpn J nephrol 2003 ; 45 : 398-404.

Key words : Sjögren's syndrome, tubulointerstitial nephritis, renal involvement, steroid therapy

はじめに

シェーグレン症候群(Sjögren's syndrome : SS)は中年女性に好発する、主に涙腺、唾液腺などの外分泌腺を標的とする自己免疫疾患であるが、同時に多彩な腺外病変も引き起こす。腎臓も標的臓器の一つであり、最近の報告¹⁾でも

原発性 SS の約 3 割で腎障害を示唆する所見がみられており、SS による腎病変は比較的発症頻度の高い腺外病変と考えられている。原発性 SS の腎病変の主体は尿細管・間質病変であるが、一般に予後良好な病態と考えられ、積極的な治療の適応についてはこれまで一定の見解が得られていない。また、同病変に対してステロイド療法などによる

免疫抑制療法を行う場合でも、その投与方法や投与期間については依然不明な点が多い。

今回われわれは、原発性 SS に対して、早期のステロイド療法が炎症持続による腎間質線維化への進展を抑制し得たと考えられる 1 例、およびステロイド薬の少量長期投与が長期的な腎機能保持に有効と考えられた 1 例をそれぞれ経験した。臨床経過が対照的で、ステロイド療法の適応、開始時期や治療期間を考えるうえで示唆に富む 2 症例と考えられたので、過去のステロイド療法施行例との比較も交え、報告する。

症 例

〔症例 1〕

患 者：50 歳，女性

主 訴：四肢関節痛，皮疹

既往歴：46 歳，十二指腸潰瘍

家族歴：祖父，狭心症。祖母，高血圧。父，脳梗塞

薬剤服用歴：NSAIDs 常用歴，抗リウマチ薬服用歴なし

現病歴：1996 年に口腔内乾燥感，顎下部腫脹が出現し，口唇生検にて SS と診断された。以後，無治療で外来経過観察されていたが，2001 年 6 月頃より感冒症状に続いて四肢関節の腫脹・疼痛と全身性発疹が出現した。発疹は約 1 カ月持続した後に自然消退したが，関節痛の増悪・軽快を繰り返すため，同年 9 月に当院精査入院となった。

入院時現症：身長 149 cm，体重 56 kg，血圧 120/70 mmHg，脈拍 72/分，整，体温 36.8℃。左眼瞼結膜は充血し，口腔内は乾燥，義歯を多数認め，両顎下腺の腫脹あり。呼吸音は清で肝脾腫，下腿浮腫はなし。入院時には，皮疹および四肢関節の腫脹・疼痛はなかった。

入院時検査所見 (Table 1)：尿所見は尿蛋白陰性で，N-acetyl-glucosaminidase (NAG)， β_2 -microglobulin (β_2 -MG) も基準値内であり，血液検査上も腎機能は正常であった。一方，血清総蛋白 11.2 g/dl (γ -globulin 分画 54.5%)，血清 IgG 6,120 mg/dl と著明な高 IgG 血症を呈し，可溶性インターロイキン-2 レセプター (sIL-2R) も 2,130 U/ml と上昇していた。また，血清補体値の低下，免疫複合体の高値もみられたが，クリオグロブリンは陰性であった。抗核抗体，リウマチ因子は陽性であったが，臨床所見上は SLE や RA の診断基準を満たさなかった。動脈血ガス検査では代謝性アシドーシスは認めなかった。

画像検査所見：血清 IgG および sIL-2R 高値などから，SS に伴う悪性リンパ腫の発症も念頭に置き，各種画像検査を施行した。その結果， ^{67}Ga シンチグラフィにてリンパ節への明らかな異常集積はなかったが，両側耳下腺と両側腎に集積亢進像が見られた (Fig. 1)。また，腹部造影 CT でも両側ともに著明に腫大した腎臓を認めた。

腎生検所見： ^{67}Ga シンチグラフィおよび造影 CT 所見から，SS による腎病変の可能性を考え腎生検を施行した。光顕像では，採取された 18 個の糸球体はほぼ正常所見で

Table 1. Laboratory findings on admission (Case 1)

Urinalysis		Blood chemistry		CRP	0.4 mg/dl
pH	5.0	TP	11.2 g/dl	IgG	6,120 mg/dl
occult blood	(-)	Alb	3.6 g/dl	IgA	94 mg/dl
protein	(-)	T-Cho	213 mg/dl	IgM	238 mg/dl
U-NAG	2.3 U/l	BUN	10.2 mg/dl	C3	38 mg/dl
U- β_2 MG	241 ng/ml	Cr	0.7 mg/dl	C4	2 mg/dl
Ccr	85.5 ml/min	UA	5.5 mg/dl	CH 50	5 U/ml
		Na	138 mEq/l	RAHA	$\times 1,280$
		K	3.7 mEq/l	ANA	$\times 1,280$
Peripheral blood		Cl	87 mEq/l	Anti SS-A Ab	(-)
WBC	4,800/ μ l	Ca	8.7 mg/dl	Anti SS-B Ab	(-)
RBC	395×10^4 / μ l	AST	16 IU/l	CIC (C _{iq})	7.9 μ g/ml
Hb	12.1 g/dl	ALT	5 IU/l	cryoglobulin	(-)
Ht	36.2 %	LDH	202 IU/l	sIL-2 R	2,130 U/ml
Plt	30.4×10^4 / μ l	γ -GT	20 IU/l		
Coagulation test		ALP	190 IU/l	Arterial blood gas (room air)	
PT	13.3 sec.			pH	7.45
APTT	24.9 sec.	Serological test		PCO ₂	37 Torr
		ESR	127 mm/hr	PO ₂	102 Torr
				HCO ₃ ⁻	24.9 mmol/l

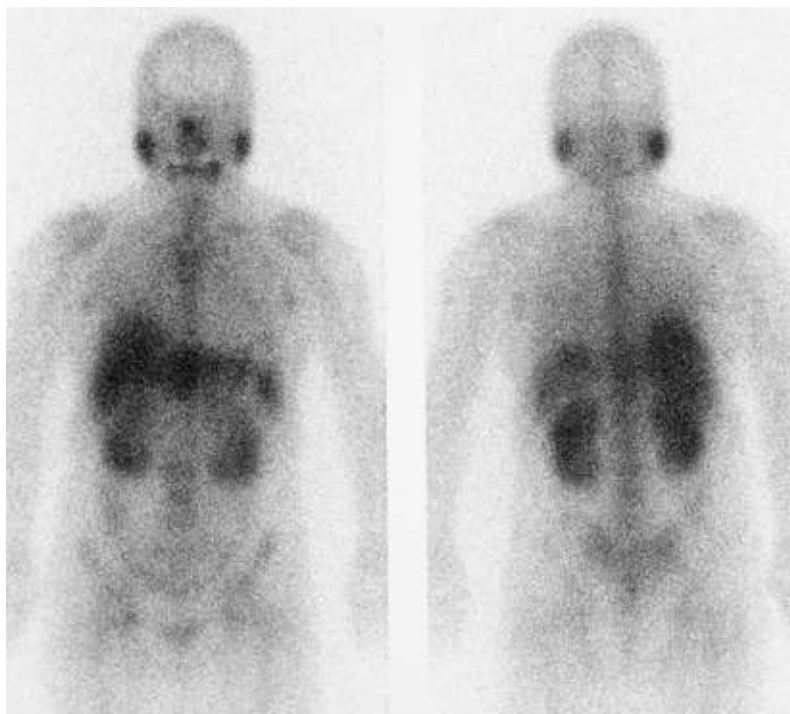


Fig. 1. Gallium-67 scintigram (Case 1)

あったが、間質に patchy, dense な炎症細胞の浸潤を認め、尿細管の萎縮・消失や間質の浮腫性変化も呈していた。炎症細胞は単球、リンパ球が主体であったが、一部に形質細胞の浸潤も見られた (Fig. 2a, b)。蛍光抗体法では、免疫グロブリンや補体の沈着は糸球体・尿細管ともに認めなかった。

臨床経過 (Fig. 3)：腎機能および尿所見は正常であったが、腎生検像では炎症細胞浸潤の強い間質性腎炎を呈していたため、免疫抑制療法として prednisolone (以下、PSL) 30 mg/日の内服を開始した。治療開始後より血清総蛋白、IgG は減少傾向となり、開始 6 週後には血清補体値も基準値下限まで改善し、8 週後には血清 IgG もほぼ正常化した。この間、腎機能は正常で、尿中 NAG や β_2 -MG の上昇、尿細管性アシドーシス (renal tubular acidosis: RTA) の出現もみられなかった。治療開始 6 週後の再腎生検では、間質の炎症細胞は著明に減少し、間質線維化も治療前と同程度であった (Fig. 2c)。退院後もステロイド薬は漸減しながら継続しており、治療開始 1 年後の時点で PSL 15 mg/日内服し、腎機能、尿所見とも正常である。

〔症例 2〕

患者：57 歳，女性

主訴：口腔内乾燥感，流涙減少

既往歴：40 歳，子宮筋腫摘出術

家族歴：母，心疾患

薬剤服用歴：NSAIDs 常用歴，抗リウマチ薬服用歴なし

現病歴：36 歳時より，慢性甲状腺炎にて内服加療継続中であった。1986 年 (51 歳) 頃より口腔内乾燥感，流涙減少に伴う眼の乾燥感を自覚するようになり，対症療法にて経過観察されていた。1992 年 4 月の検診にて腎機能障害 (血清クレアチニン値 1.8 mg/dl)，高 γ グロブリン血症，貧血を指摘され，改善傾向がないため同年 12 月に当院精査入院となった。

入院時現症：身長 146 cm，体重 42.5 kg，血圧 102/68 mmHg，脈拍 80/分，整，体温 36.1 °C。両眼の乾燥性角結膜炎を認め，口腔内は乾燥していた。頸部ではびまん性に腫大した甲状腺を触知したが，リンパ節の腫脹は認めなかった。また，肝脾腫や下腿浮腫，皮疹，四肢関節の腫脹・疼痛もみられなかった。

入院時検査所見 (Table 2)：尿所見では軽度の蛋白尿 (0.3 g/日) があり，尿中 β_2 -MG が上昇していた。血液検査では正球性正色素性貧血があり，腎機能は血清クレアチニン 2.2 mg/dl，Ccr 24.0 ml/min と低下していた。また，血清総蛋白の増加，高 IgG 血症を呈していたが，血中 M 蛋白や尿中 Bence Jones 蛋白は陰性であった。抗 SS-A 抗体および抗 SS-B 抗体陽性に加え抗核抗体，リウマチ因子も陽

a|b
c|

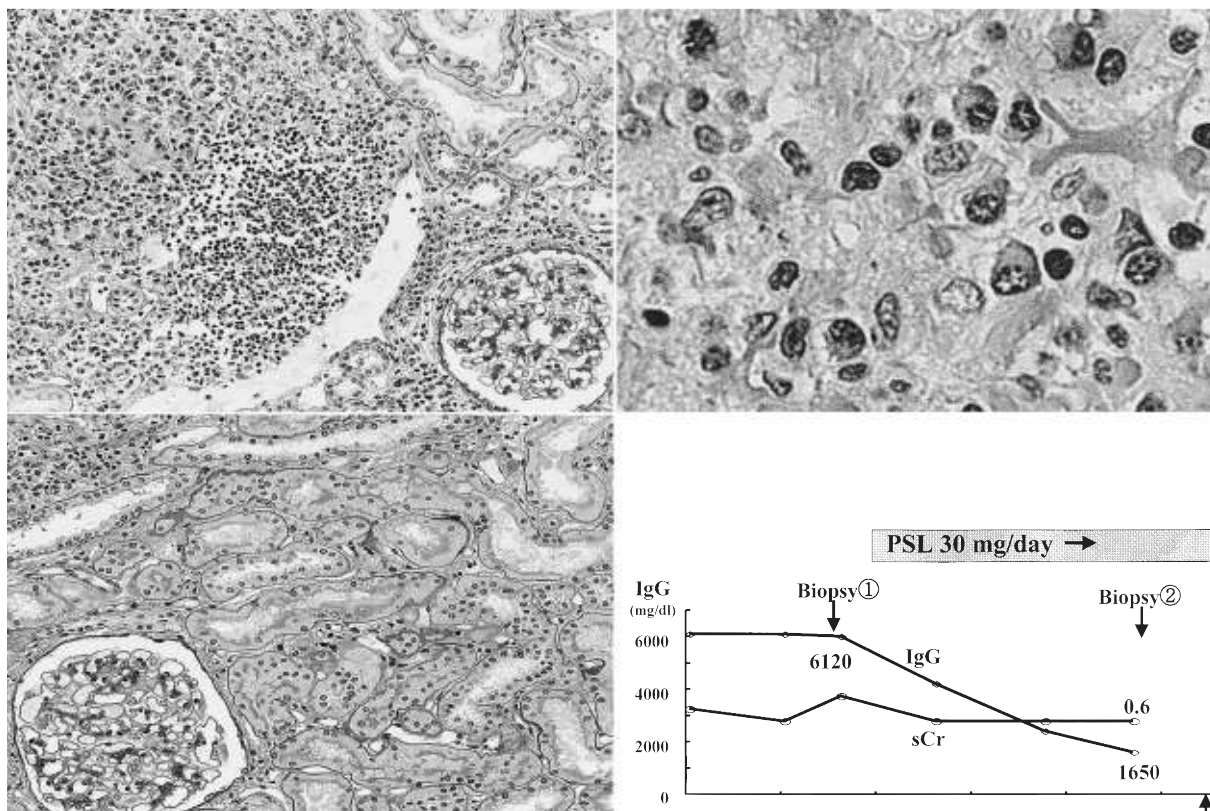


Fig. 2. Renal biopsy (Case 1)

- a : Before steroid therapy (PAS stain)
 b : Before steroid therapy (PAS stain)
 c : 6 weeks after inception of steroid therapy (PAS stain)

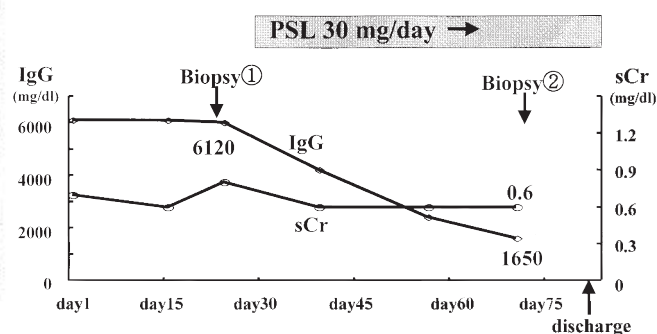


Fig. 3. Clinical course (Case 1)

Table 2. Laboratory findings on admission (Case 2)

Urinalysis		Blood chemistry		CRP	0.1 mg/dl
pH	5.0	TP	9.2 g/dl	IgG	3,870 mg/dl
occult blood	(-)	Alb	3.8 g/dl	IgA	406 mg/dl
protein	0.3 g/day	T-Cho	132 mg/dl	IgM	131 mg/dl
U-NAG	4.0 U/l	BUN	39.9 mg/dl	C 3	77 mg/dl
U-β ₂ MG	9,473 ng/ml	Cr	2.2 mg/dl	C 4	16 mg/dl
Ccr	24.0 ml/min	UA	5.4 mg/dl	CH 50	48 U/ml
Peripheral blood		Na	137 mEq/l	RAHA	× 1,280
		K	5.2 mEq/l	ANA	× 1,280
		Cl	111 mEq/l	Anti SS-A Ab	× 256
		Ca	8.5 mg/dl	Anti SS-B Ab	× 32
		AST	20 IU/l	renin	5.27 ng/ml/hr
		ALT	17 IU/l	aldosterone	335 pg/ml
		LDH	264 IU/l	Arterial blood gas (room air)	
		γ-GT	8 IU/l		
Coagulation test		ALP	184 IU/l		
		Serological test		pH	7.30
				PCO ₂	33 Torr
PT	11.7 sec.	ESR		PO ₂	103 Torr
APTT	35.4 sec.			HCO ₃ ⁻	16.6 mmol/l

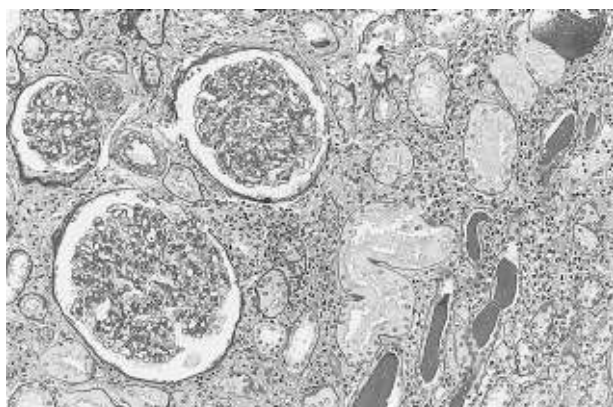


Fig. 4. Renal biopsy (Case 2)
Before steroid therapy (PAS stain)

性であったが、抗 DNA 抗体は陰性で、他の所見からも SLE や RA の存在は否定的であった。動脈血ガス検査では、腎機能は低下していたものの anion gap 正常の代謝性アシドーシスを認めた。高 K 血症については、低レニン低アルドステロン血症の合併は認められなかった。

腎生検所見 (Fig. 4): 光顕像では糸球体はほぼ正常所見で、膜性増殖性糸球体腎炎 (MPGN) のような糸球体病変も認めなかった。間質にはびまん性に炎症細胞の浸潤が見られ、尿細管の萎縮が目立った。また、間質病変の強い部位では、糸球体の荒廃像が散見された。

臨床経過 (Fig. 5): 抗 SS-A および抗 SS-B 抗体陽性、Schirmer テストおよびローズベンガル染色テスト陽性、唾液腺造影での点状・斑状陰影所見から SS と診断した。腎生検で間質性腎炎を呈し、臨床所見から RTA の合併も考えられたため、重炭酸ナトリウム投与と同時にステロイド療法 (PSL 40 mg/日 内服) を開始した。治療開始後より血清 IgG は漸減し、開始 8 週後には 1,400 mg/dl と正常化した。RTA も速やかに改善傾向を示し、治療開始 2 週後には pH 7.42, HCO_3^- 24.9 mmol/l と正常化した。これに伴い、血清 K 値も 4.0 mEq/l 前後まで低下し、再上昇はみられなかった。また、血中エリスロポイエチン低値の所見から、貧血の原因として腎間質障害による腎性貧血を疑っていたが、治療後は基準値まで改善した。PSL 漸減中も腎機能は緩徐な改善傾向にあったため、治療開始約 2 年後に PSL を一時中止した。しかし、中止後に腎機能が再増悪傾向を示したことから、40 mg 隔日 内服にてステロイド療法を再開した。以後、外来にて PSL の少量 (7.5 mg 隔日) 投与を継続中であるが、治療開始 9 年後の時点で血清クレアチニン 1.5 mg/dl と腎機能は比較的良好に保持されている。

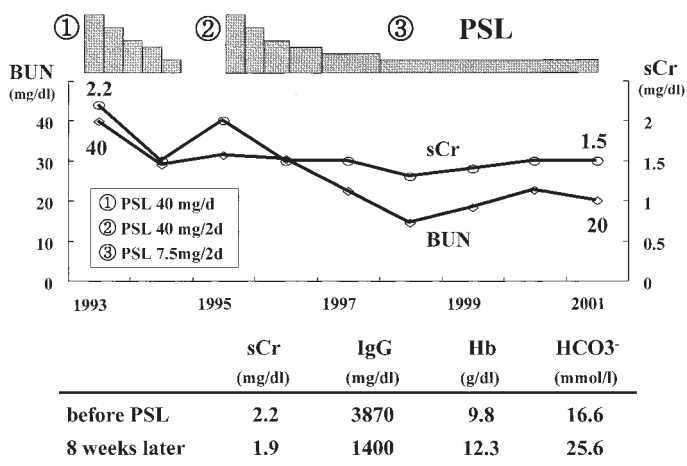


Fig. 5. Clinical course (Case 2)

考 察

SS の腎病変のうち、一般に治療対象とされる病態には、糸球体腎炎、RTA や腎石灰化症がある。糸球体腎炎の発症頻度は約 3 % 程度と稀で、膜性腎症や膜性増殖性糸球体腎炎を認めることが多く、治療はステロイド薬や他の免疫抑制療法が適応となる。また、RTA ではアシドーシスの補正が重要であり、低 K 血症に注意しつつ、炭酸水素ナトリウムなどのアルカリ製剤が投与される。特に SS で多い遠位型の場合は、腎結石や腎石灰化の予防効果のある Shohl 液 (クエン酸 K) も有効である^{2,3)}。これに対し、間質性腎炎では、腎生検像、画像所見や腎機能などから活動性が強いと判断される場合にステロイド療法が選択されることが多い。しかし、どの程度の活動性に対してステロイド療法を開始すべきか、また、その投与方法、投与期間をどうすべきかについては、十分な検討がなされていない。

これまでに報告された SS の間質性腎炎に対するステロイド療法例の臨床的特徴と治療内容を、今回の症例とともに Table 3 に示した。発症経過は腎機能・尿所見正常例 (症例 1)、緩徐な腎機能低下例 (El-Mallakh ら⁴⁾, Saeki ら⁷⁾, 症例 2)、数カ月での急速な腎機能低下例 (Rosenberg ら⁵⁾, Cacoub ら⁶⁾) と様々であり、治療前の血清クレアチニン値や尿蛋白量も症例間に差がみられた。

一方、全体に共通した特徴として、血清 IgG 値が高く、症例 1 を除いた全症例で RTA を合併していた。Pertovaara ら⁸⁾ は、SS 患者 78 例について腎障害出現の予測因子を検討した結果、高 γ グロブリン血症が RTA 発症・進展の危険因子であったと報告している。症例 1 では RTA は発症していなかったが、血清 IgG 値は 6,120 mg/dl と著明に高値であった。本症例の腎機能や尿所見は腎生検時には

Table 3. Cases of steroid therapy for interstitial nephritis with Sjögren's syndrome

Authors	Age/ Sex	U-pro (g/day)	sCr (mg/dl)	slgG (mg/dl)	Anti SS-A/ SS-B Ab	RTA	Initial steroid therapy		Outcome		
							pulse	oral PSL	follow-up	oral PSL	sCr
El-Mallakh et al.	63/F	<0.1	1.2	3,300	(+)/(+)	(+)	(-)	30 mg/2 d	8 years	7.5 mg/d	Ccr 69ml/min
Rosenberg et al.	15/F	300 (mg/dl)	3.8	ND	(-)/(-)	(+)	3 times	(-)	2 years	(-)	0.6
Cacoub et al.	56/M	3.6	7.4	3,440	(-)/(-)	(+)	1 time	1 mg/kg/d	9 months	10 mg/d	1.7
Saeki et al.	22/F	ND	1.5	4,199	(+)/(+)	(+)	3 times	30 mg/d	8 months	5~7.5 mg/d	1
Present case 1	50/F	<0.1	0.7	6,120	(-)/(-)	(-)	(-)	30 mg/d	1 year	15 mg/d	0.7
Present case 2	57/F	0.3	2.2	3,870	(+)/(+)	(+)	(-)	40 mg/d	9 years	7.5 mg/2 d	1.5

*ND : not determined

正常であったが、生検組織像では一部に尿細管への細胞浸潤や萎縮を認めており、このまま免疫抑制療法を行わなければ、RTA の発症、腎機能障害へと進展していた可能性が予測される。したがって、本症例のように腎機能障害や RTA がなくても、血清 IgG 値や組織所見を判断指標としてステロイド療法を開始したことは妥当であったと考える。

ステロイド薬による治療方法は、今回のように内服療法のみの場合やステロイドパルス療法を併用したもの、あるいはパルス単独のものと、投与方法、初期投与量、また治療期間も様々であった。しかし、治療前の罹病期間や重症度の違うすべての症例で腎機能は改善または長期間保持されていた。

SS の間質性腎炎に対してステロイド療法が有効と考えられる理論的背景には、腎間質へのリンパ球・単球の浸潤や尿細管への免疫複合体の沈着という病態が想定される。Matsumura ら⁹⁾ は、SS による間質性腎炎 8 例の腎生検標本を用いて免疫学的検討を行った結果、間質浸潤細胞の CD4/CD8 比は他の間質性腎炎例より有意に高く、間質障害には CD4 陽性 T 細胞を主体とした delayed-type hypersensitivity reaction が関与している可能性を示した。また菅井¹⁰⁾ は、SS の病変進展機序として、抗原認識により活性化された T リンパ球が CD40L-CD40 分子の相互作用を通じて B リンパ球の分化や免疫グロブリンのクラススイッチを促進し、徐々に B リンパ球の浸潤が増加することを示している。

症例 1 の初回生検組織像では、腎間質へのリンパ球を主体とした細胞浸潤像の中に形質細胞も多数見られた。Matsumura らの検討⁹⁾ では、腎間質への CD19 陽性細胞 (B リンパ球) の浸潤はわずかであったが、pseudolymphoma を呈するようなリンパ増殖性変化の非常に強い一部の SS では、症例 1 のように B リンパ球の増殖が目立つ場合があ

るとしている。そして、これら一連のリンパ増殖性反応には、インターロイキン-2 を中心としたサイトカインの発現亢進が関与している。この腎間質を免疫応答の場としたリンパ増殖性反応が持続すれば、炎症細胞は間質から尿細管へと波及し、尿細管閉塞・壊死による腎機能障害へと進展する可能性がある。事実、Table 3 に示した過去の報告例でも、すべての腎組織所見で形質細胞の浸潤が目立つ高度の間質性腎炎像を呈しており、腎機能障害を伴っていた。

以上より、ステロイド療法はサイトカインの産生や B および T リンパ球の活性化を抑制することで、SS が引き起こす過剰な自己免疫反応の悪循環を絶ち、腎間質への炎症細胞の浸潤を減少させると考えられる。実際、症例 1 の治療前の血液検査では、非常に強い免疫活性化状態を反映して、血清補体値の低下、血中免疫複合体や sIL-2R の上昇がみられたが、ステロイド療法開始後には速やかに改善傾向を示し、治療開始後の再生検組織像でもリンパ球、特に形質細胞の著明な減少がみられた。したがって、前述の病変進展機序を考慮すると、高 IgG 血症を呈し、形質細胞の浸潤が目立つ間質性腎炎例では、症例 1 のように腎機能・尿所見は正常であっても、早期より積極的にステロイド療法を開始すべきであると考えられた。

ただし、サイトカイン産生や活性化リンパ球の抑制が治療根拠であるならば、シクロスポリンをはじめとした他の免疫抑制薬の有効性も十分考えられる。しかし、SS の間質性腎炎に対するこれらの治療報告はほとんどなく、治療効果と副作用の risk-benefit を考えると、現時点では第一選択薬として投与するのは望ましくないと考える。

一方、症例 2 では、症例 1 と比較して間質への炎症細胞浸潤は軽度で形質細胞も目立たなかったが、腎機能はすでに低下していた。しかし、ステロイド療法に反応して腎機能は改善すると同時に、2 年後の治療中止に伴って腎機能

は再増悪傾向を示した。これは、SSの間質性腎炎が持続的な活動性を有し、その抑制には長期的なステロイド維持療法が必要であることを示唆している。

今回の2症例では、いずれもステロイド内服療法のみで良好な治療経過が得られた。しかし、症例1やCacoubら⁶⁾の報告例のような、血清補体値の低下や腎間質での著明なリンパ球集簇像といった免疫活性化状態が前景に立つ病態を含めて、どのような投与方法(内服または静注パルス)や初期投与量が適切かについては今後の課題である。また、症例2やEl-Mallakhら⁴⁾の報告例でみられるステロイド薬の少量長期投与による腎機能保持効果についても、今後より多くの症例での検討が必要と考える。

文 献

1. Bossini N, Savoldi S, Franceschini F, Mombelloni S, Baronio M, Cavazzana I, Viola BF, Valzorio B, Mazzucchelli C, Cattaneo R, Scolari F, Maiorca R. Clinical and morphological features of kidney involvement in primary Sjögren's syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 2001 ; 16 : 2328-36.
2. Vlachoyiannopoulos PG. Therapy of Sjögren's syndrome. New aspects and future directions. *Ann Med Interne* 1998 ; 149 : 49-53.
3. 藤本 隆. シェーグレン症候群の腎障害. 腎と透析 2001 ; 51 : 61-5.
4. El-Mallakh RS, Bryan RK, Masi AT, Kelly CE, Rakowski KJ. Long-term low-dose glucocorticoid therapy associated with remission of overt renal tubular acidosis in Sjögren's syndrome. *Am J Med* 1985 ; 79 : 509-14.
5. Rosenberg AM, Dyck RF, George DH. Intravenous pulse methylprednisolone for the treatment of a child with Sjögren's nephropathy. *J Rheumatol* 1990 ; 17 : 391-4.
6. Cacoub P, Ginsburg C, Tazi Z, Beaufils H, Charlotte F, Davi F, Carde P, Godeau P. Sjögren's syndrome with acute renal failure caused by renal pseudolymphoma. *Am J Kidney Dis* 1996 ; 28 : 762-6.
7. Saeki Y, Ohshima S, Ishida T, Shima Y, Umeshita-Sasai M, Nishioka K, Yamaguchi N, Suemura M. Remission of the renal involvement in a patient with primary Sjögren's syndrome(SS) after pulse high-dose corticosteroid infusion therapy. *Clin Rheumatol* 2001 ; 20 : 225-8.
8. Pertovaara M, Korpela M, Pasternack A. Factors predictive of renal involvement in patients with primary Sjögren's syndrome. *Clin Nephrol* 2001 ; 56 : 10-8.
9. Matsumura R, Kondo Y, Sugiyama T, Sueishi M, Koike T, Takabayashi K, Tomioka H, Yoshida S, Tsuchida H. Immunohistochemical identification of infiltrating mononuclear cells in tubulointerstitial nephritis associated with Sjögren's syndrome. *Clin Nephrol* 1988 ; 30 : 335-40.
10. 菅井 進. Sjögren症候群. 日内会誌 1999 ; 88 : 1896-903.