

総説

論文タイトル **Brugada** 症候群と心室中隔欠損を合併した小児における悪性
SCN5A 変異との関係

Association Between Deleterious *SCN5A* Variants and Ventricular Septal Defect in Young
Patients With Brugada Syndrome.

著者・共著名

鈴木啓資^{a,b}, 園田桂子^{c,d}, 草野研吾^e, 堀江稔^d, 大野聖子^{c,d}

Keisuke Suzuki^{a,b}, Keiko Sonoda^{c,d}, Kengo Kusano^e, Minoru Horie^d, Seiko Ohno^{c,d}

所属機関

- a. 仙台市立病院, 循環器内科, Division of Cardiology, Sendai City Hospital, Sendai, Japan
- b. 東北大学加齢医学研究所, 心臓病電子医学 Department of Medical Engineering and Cardiology, Institute of Development Aging and Cancer, Tohoku University, Sendai, Japan
- c. 国立循環器病研究センター, 分子生物学, Department of Bioscience and Genetics, National Cerebral and Cardiovascular Center, Suita, Japan
- d. 滋賀医科大学, 循環器内科, Department of Cardiovascular Medicine, Shiga University of Medical Science, Otsu, Japan
- e. 国立循環器病研究センター, 心臓血管内科, 不整脈科 Department of Cardiovascular Medicine, National Cerebral and Cardiovascular Center, Suita, Japan.

要旨

心室中隔欠損 (VSD) は小児において頻度の高い先天性心疾患である。一方 Brugada 症候群 (BrS) は心室細動や突然死を引き起こす遺伝性疾患で、中年に多く小児では稀である。日本人不整脈コホートでは 20 歳未満で BrS と診断された患者は 36 人おり、うち 5 人 (14%) が VSD を合併していたため、我々は彼らの臨床像や遺伝的背景を検討した。VSD 合併 BrS 患者は、VSD のない群と比較すると早期に BrS と診断されていた (4.0 ± 4.6 yrs vs 11.5 ± 5.1 yrs, $p = 0.004$)。BrS 患者 36 人中 15 例に *SCN5A* 変異を同定したが、VSD を合併した 5 人は全員が *SCN5A* 変異を有しており (R367S, R533*, R893C, W1345C, G1743R)、全て機能喪失型変異であった。VSD 患者で右側胸部誘導の ST 上昇が認められる場合には、BrS を疑い遺伝子検査を含む適切なスクリーニング検査を行う必要がある。

Abstract

OBJECTIVES: This study aimed to investigate the clinical characteristics of young patients with Brugada syndrome (BrS) with ventricular septal defect (VSD) and explore their genetic backgrounds.

BACKGROUND: VSD is the most frequently occurring congenital heart disease among children. In contrast, BrS is a rare hereditary disease that is responsible for ventricular fibrillation and sudden cardiac death. Owing to their low incidence, the genetic background and clinical characteristics of patients with BrS with VSD have not been elucidated yet.

METHODS: This study enrolled 36 individuals who were diagnosed with BrS when they were <20 years of age and performed genetic screening for *SCN5A*. The functional alteration in mutant Na^v channels was confirmed by patch clamp technique.

RESULTS: Among the 36 patients with BrS, 5 had been diagnosed with VSD. This study found 14 heterozygous *SCN5A* variants in 15 unrelated patients. The 5 patients with VSD carried *SCN5A* variants, including R367S, R535*, R893C, W1345C, and G1743R. The 3 missense variants (R893C, W1345C, and G1743R) have been proved to reduce peak Na⁺ current to <10%. A functional analysis of *SCN5A* R367S was performed and the variant was found to be nonfunctional.

CONCLUSIONS: This study identified 5 loss-of-function *SCN5A* variants in 5 young patients with BrS with VSD. The study hypothesizes that altered blood flow in the right ventricular outflow tract leads to fibrosis and electrophysiological changes, predisposing the patients to earlier clinical presentation of BrS. In patients

with VSD and ST-segment elevation in the right precordial leads, BrS should be considered and appropriate screening should be pursued accordingly.

in Press

I. はじめに

Brugada 症候群(Brugada syndrome : BrS)は心室細動(VF)と突然死を引き起こす稀な遺伝性疾患であり, 中年に診断されることが多い. 一方で, 小児 BrS の報告は少なく未だ不明な点が多い¹. 故に, 我々は 3000 人を超える日本人遺伝性不整脈コホートから 20 歳未満の BrS 患者 36 人を選出し, その臨床像を検討したところ, 5 人(14%)が心室中隔欠損症(Ventricular septal defect: VSD)を合併していた. VSD は頻度の高い先天性心疾患であるが, その有病率は出生 1,000 人あたり 2.62 人程度である². 我々のコホートにおける若年 BrS 患者の VSD 合併頻度が高すぎることから, 我々は BrS と VSD に何らかの関連性があるのではないかと考えた. BrS と小児の先天性心疾患との関与についての報告は少なく, その関与については未だ不明な点が多い. 本研究は VSD を有する若年 BrS 患者の臨床的特徴と遺伝的背景を明らかにすることを目的とした.

in Press

II. 研究方法

本研究は 20 歳未満で BrS と診断され, 2005 年 4 月から 2020 年 3 月まで滋賀医科大学もしくは京都大学で遺伝的検査を施行された患者を対象とした. 全ての患者に対し, 変性高速液体クロマトグラフィー検査または次世代シーケンサーを用いて *SCN5A* のスクリーニング検査を施行した. 検出した遺伝子変異はすべてサンガー法によって再確認した.

同定した *SCN5A* 変異の機能解析は, 変異型プラスミドを一過性に HEK 細胞へトランスフェクションし, ホールセルパッチクランプ法を用いて評価した.

III. 結果

20歳未満で診断された36人のBrS患者のうち、VSDを合併していた患者は5人(14%)であった。36人の遺伝子検査を施行し、14個のSCN5A変異を15例の患者(42%)に同定した。VSD合併BrS患者は、5例全員がSCN5A変異を有していた(p.R367S, p.R533*, p.R893C, p.W1345C, p.G1743R)。心臓ナトリウムチャンネル α サブユニット(Nav1.5)における各々の変異の位置を図1に提示する。

次に、同定した5つのSCN5A変異の機能変化を検討した。p.R893C, p.W1345C, p.G1743Rに関しては、過去の報告でナトリウム電流が10%未満に低下することが既に報告されている⁴⁻⁶。p.R533*はナンセンス変異であり、Nonsense-mediated mRNA decayによりNav1.5生成が大幅に減少すると予想された。p.R367Sの機能変化は不明であったため、我々は変異型Nav1.5を作成し、ホールセルパッチクランプ法を用いて機能解析を行った。結果を図3に示す。p.R367Sはナトリウム電流が無く、機能喪失を呈することが分かった。以上のことから5つの変異はすべて機能喪失型変異であった。

続いて、VSD合併BrS患者の臨床的特徴を検討した。各症例の臨床像を表1にまとめ、家系図を図3に、12誘導心電図を図4に提示した。各症例の詳細を以下に記載する。

- ① 症例1(SCN5A p.R367S)：生後1か月時に膜様部VSDと診断された男児(II-2)。Qp/Qsが2を超えていたため、2歳時にVSD閉鎖術が施行された。術前検査でtype1 BrS型心電図が認められ、術中に採取された右室流出路組織で貫壁性の線維化が認められた(図5)。発端者の父(I-1)は同じSCN5A変異保

持者で、症状は無く安静時 12 誘導心電図も異常を認めなかったが、ナトリウムチャンネル阻害薬投与により type 3 BrS 心電図を呈した。

② 症例 2(SCN5A p.R533*): 出生時に膜様部 VSD が指摘された男児(III-2)。

Qp/Qs が 2.2 となった 4 歳時に VSD 閉鎖術を施行された。12 歳で初めて type 1 BrS 型心電図を認められた。家族スクリーニングで父(II-1)と兄(III-1)にも同じ SCN5A 変異が同定された。父(II-1)は精査後に BrS・洞不全症候群・心房粗動と診断され、39 歳時に植え込み型除細動器(ICD)を移植された。兄(III-1)は 19 歳まで上位肋間でも正常心電図であったが、その後の経過は不明である。

③ 症例 3(SCN5A p.R893C): 2 歳時に膜様部 VSD を指摘されその後自然閉鎖した男児(IV-2)。7 歳時に type 1 BrS 心電図が記録された。同じ SCN5A 変異を母(III-2)、弟(IV-3)、母方叔父(III-3)に同定した。母は type 3 BrS 心電図を呈したが BrS 確定診断に至らなかった。母方叔父は type 1 BrS 心電図を認め無症候性 BrS と診断された。弟(IV-3)は生後 1 か月で VSD と診断されたが BrS 心電図は認められず、2 ヶ月時に VSD 閉鎖術を施行された。弟(IV-3)は 4 歳まで BrS 心電図を認めていない。

④ 症例 4 (SCN5A p.W1435C): 生後 8 ヶ月時に肺高血圧症を呈したため VSD 閉鎖術が施行された男児(II-3)。2 歳頃から右胸部誘導で軽度の ST 上昇が認められるようになり、4 歳時に施行されたナトリウムチャンネル阻害薬負荷試験で type 1 BrS 型心電図が記録された。発端者(II-3)には何度か失神前駆症状があったが、それが心原性かどうかは不明であった。家族スクリーニングで同じ SCN5A 変異を母(I-2)と姉(II-2)に同定した。母(I-2)は無症状であったが、

安静時 12 誘導心電図で PQ 時間延長と不完全右脚ブロックを呈した。姉(II-2)の心電図は正常範囲であった。なお、家族へのナトリウムチャンネル阻害薬負荷試験は施行していない。以上から母(I-2)と姉(II-2)は BrS の診断には至らなかった。

- ⑤ 症例 5(SCN5A p.G1743R): 生後 2 か月時に肺高血圧症(Qp/Qs = 4.2)を呈したため VSD 閉鎖術を施行された女兒(II-2)。9 ヶ月時に type 1 BrS 型心電図が認められ、その 2 年後に心室頻拍が頻発し入院、低体温療法を要した。心室性不整脈はキニジン投与により抑制されたため、ICD は移植されなかった。家族スクリーニングにより父(I-1)と兄(II-1)も同じ SCN5A 変異を有していることが分かった。父(I-1)は 26 歳時に既に BrS と診断され、めまいがあり電気生理学的検査で VF が誘発されたため ICD を移植されていた。兄(II-1)は 5 歳時に自然発生の type 1 BrS 心電図が記録され BrS と診断、キニジン投与を開始された。父(I-1)は 36 歳まで、兄(II-1)は 17 歳まで心イベントなく経過している。

最後に、VSD 合併 BrS 患者 5 人と残りの集団の臨床像を比較した(表 2)。VSD 合併 BrS 患者の方が早期に BrS と診断されており(4.0 ± 4.1 vs 11.5 ± 5.1 years of age, $P = 0.004$)、加えて SCN5A の変異同定率が有意に高かった(100% vs. 32%, $P = 0.008$)。自然発生 BrS 心電図の頻度、加算平均心電図の陽性率、電気生理学的検査での VF の誘発率は、両群間で有意差を認めなかった。

IV. 考察

本研究において、我々は 20 歳未満で BrS と診断された 36 人のうち 5 人 (14%) が VSD を合併しており、さらに 5 人とも機能喪失型の *SCN5A* 変異を有していることを発見した。VSD は比較的多い先天性心疾患ではあるが、有病率は出生 1,000 人あたり 2.62 人程度あり、本研究対象における VSD の合併率が異様に高いことが分かる。BrS は 30-40 代の中年男性に多く⁷、小児期に診断されることは少ない⁸。稀な小児 BrS でさらに先天性心疾患を合併した症例となると数は少なく、VSD と BrS の合併例は過去に 2 例しか報告がなかった^{9,10}。今回の我々の報告は、VSD と BrS の合併症例としては最多であり、遺伝子変異のもたらず機能変化を含めて遺伝的背景を検討した初めての報告である。

興味深いことに本研究の VSD と BrS を合併した発端者は、全例で *SCN5A* のヘテロ接合型変異有していた。*SCN5A* が VSD の形成へ関与するという報告が過去にないことから、我々は図 6 に示すような仮説を立てた。VSD を介したシャント血流が右室流出路へ負荷をかけ¹¹、心筋の線維化を促進させる。症例 1 の右室流出路の組織所見で認められた心筋間質の線維化は、この仮説と一致する。右室流出路心筋の線維化は BrS のメカニズムの一つであると考えられている¹²。¹³ VSD 自体が BrS の原因になりえそうであるが、本研究において *SCN5A* 変異のない若年 BrS 患者には VSD 合併症例がない。以上から、機能喪失型の *SCN5A* 変異保持者という BrS になりやすい要素を有した患者において、VSD による血流変化が右室流出路の線維化を促進することにより、より若年で type1 BrS 心電図が出現するのではないか、と考えた(図 6)。これはあくまでも仮説であり、より大規模なコホートでの検証が必要である。

V. 結語

我々は 5 人の VSD を合併した若年 BrS 症例に、機能喪失型の SCN5A 変異を同定した。右室流出路の血流変化が心筋の線維化と電気生理学的変化をもたらす、BrS 心電図の顕在化を促進した可能性がある。右前胸部誘導の ST 上昇を伴う VSD 症例に対し、適切なスクリーニング検査と遺伝子解析を行うことで、より迅速に BrS と診断できるようになるだろう。

VI. さいごに

実臨床においては、先天性心疾患のある患者は心室内伝導障害や ST-T 異常を呈する 경우가多く、BrS の診断は容易とは言い難い。膜様部 VSD は外科的に閉鎖することで刺激伝導系に変化を生じることがあり、その結果右脚ブロック波形の心電図となり、ST の評価に影響を来す可能性もある。VSD 患者で右側胸部誘導の ST 上昇を認めた際には、若年 BrS の可能性があることを想起し、家族検索や遺伝子検査などの精査を施行していただきたい。

付記

本稿は、第 27 回日本不整脈心電学会学術大会学術奨励賞を受賞した論文をもとに総説としてまとめたものである。なお、図表に関しては、受賞論文より一部改変し、転載させて頂いた。

受賞論文

Suzuki K, Sonoda K, Aoki H, Nakamura Y, Watanabe S, Yoshida Y, Hoshino K, Ozawa J, Imamura T, Aiba T, Kato K, Makiyama T, Kusano K, Horie M, Ohno S. Association Between Deleterious *SCN5A* Variants and Ventricular Septal Defect in Young Patients With Brugada Syndrome. *JACC Clin Electrophysiol*. 2022 Mar;8(3):297-305. doi: 10.1016/j.jacep.2022.01.007. Epub 2022 Feb 23. PMID: 35331424.

利益相反

本研究における利益相反はございません。

in Press

表 1. 心室中隔欠損合併の Brugada 症候群患者の臨床的特徴

| 症例 番号 | SCN5A 変 異 | 性 別 | 症状 | Type 1 Brugada 心電図が確認 された年齢 | Type 1 Brugada 心電 図の確認法 | 心室中隔欠 損と診断さ れた年齢 | 心室中隔欠 損が閉鎖さ れた年齢 | 心室中 隔欠損 の位置 | 心室中隔 欠損孔の 大きさ |
|----------|-----------------------|--------|-------------|-----------------------------------|-------------------------------|------------------------|------------------------|-------------------|---------------------|
| 1 | c.1099c>A p.R367S | 男 | なし | 2 歳 (術前) | 自然発生 | 1 か月 | 2 歳 | 膜様部 | 7.7mm |
| 2 | c.1603C>T p.R535* | 男 | なし | 12 歳 | 自然発生 | 1 日 | 4 歳 | 膜様部 | 8 mm |
| 3 | c.2677C>T p.R893C | 男 | なし | 2 歳 | 自然発生 | 2 歳 | 自然閉鎖 | 膜様部 | 8 mm |
| 4 | c.4035G>T p.W1345C | 男 | 前失神 | 4 歳 | Na チャネル 阻害薬負荷 | 7 か月未満 | 8 か月 | 膜様部 | 8mm |
| 5 | c.5227G>A p.G1743R | 女 | 失神, 心室頻拍 | 2 歳 | 自然発生 | 2 か月 | 2 か月 | 膜様部 | 7.2 mm |

表 2. 心室中隔欠損合併 Brugada 症候群患者と心室中隔欠損を有さない Brugada 症候群患者の臨床像の比較

| | 総数 (n = 36) | BrS with VSD (n = 5) | BrS without VSD (n = 31) | P 値 |
|----------------------------|----------------|----------------------------|--------------------------------|-------|
| 発端者 | 33 (91.7) | 4 (80.0) | 29 (93.5) | 0.37 |
| 男性 | 28 (77.8) | 4 (80.0) | 24 (77.4) | 1 |
| BrS と診断された年齢 | 10.5 ± 5.6 | 4.0 ± 4.6 | 11.5 ± 5.1 | 0.004 |
| 失神 | 10 (28.6) | 1 (20.0) | 9 (30.0) | 1 |
| 不整脈 | | | | |
| 心室細動 | 4 (11.4) | 0 (0.0) | 9 (30.0) | 1 |
| 心室頻拍 | 4 (11.1) | 1 (20.0) | 9 (30.0) | 1 |
| 心房性頻脈性不整脈 | 2 (5.6) | 1 (20.0) | 9 (30.0) | 1 |
| 洞不全症候群 | 5 (14.3) | 0 (0.0) | 5 (16.7) | 1 |
| 房室ブロック | 2 (5.7) | 0 (0.0) | 4 (12.9) | 1 |
| 心房中隔欠損症 | 4 (11.1) | 0 (0.0) | 4 (12.9) | 1 |
| Type 1 Brugada 心電図が確認された状況 | | | | |
| 自然発生 | 20 (58.3) | 4 (80.0) | 16 (51.6) | 0.355 |
| I 群抗不整脈薬誘発 | 6 (16.7) | 1 (20.0) | 5 (16.1) | 1 |
| 発熱 | 4 (11.4) | 0 (0.0) | 4 (12.9) | 1 |
| その他※ | 6 (16.7) | 0 (0.0) | 6 (19.4) | 1 |

| | | | | |
|------------------|--------------|-----------|-------------|-------|
| 加算平均心電図陽性 | 11/18 (61.1) | 2/2 (100) | 9/16 (56.2) | 0.497 |
| 電気生理学的検査での心室細動誘発 | 11/18 (61.1) | 2/2 (100) | 9/16 (56.2) | 0.497 |
| 家族歴 | | | | |
| 突然死 | 8 (22.9) | 2 (40.0) | 6 (20.0) | 0.568 |
| 徐脈 | 6 (17.1) | 2 (40.0) | 4 (13.3) | 0.195 |
| VSD | 2 (12.5) | 1 (20.0) | 1 (9.1) | 1 |
| SCN5A 変異 | 15 (41.7) | 5 (100.0) | 10 (32.3) | 0.008 |

値は数(%), 平均値 ± 標準偏差, または陽性者の数/総数(陽性者の%)で表示している.

※その他の内訳は, 3 例が運動負荷の回復期, 1 例が心房細動に対しフレカイニド投与後, 1 例が食後, 1 例は不明であった

BrS = Brugada 症候群, VSD = 心室中隔欠損症.

図 1. 心臓ナトリウムチャンネル α サブユニット(Nav1.5)における *SCN5A* 変異の位置

BrS と VSD の合併症例で同定された 5 つの *SCN5A* 変異について, Nav1.5 における位置を示した.

図 1

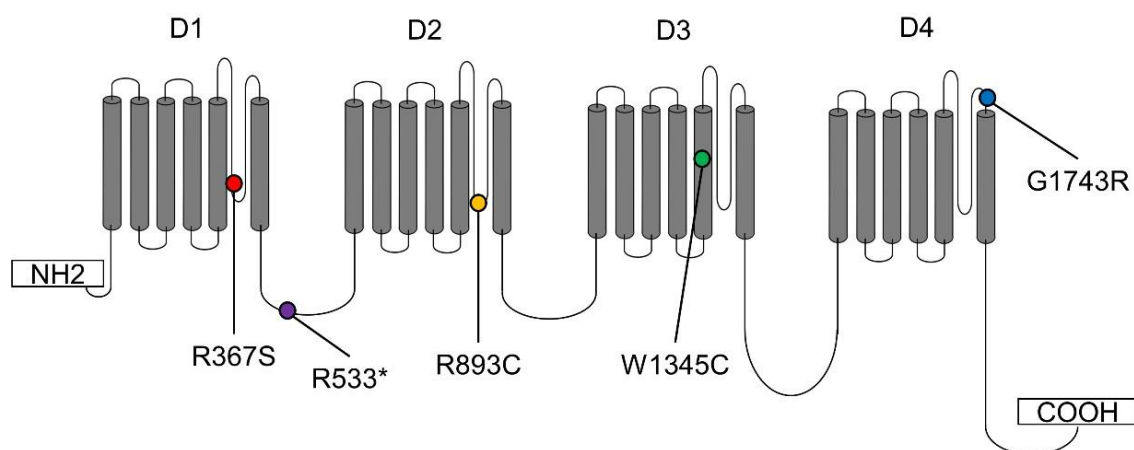


図 2. 図 2. *SCN5A* R367S の電気生理学的評価

ホールセルパッチクランプ法で測定したナトリウム電流波形. 上図は野生型心臓ナトリウムチャンネル α サブユニット(Nav1.5),下図は R367S を導入した変異型 Nav1.5.R367S では電流が無く, 機能しないチャンネルであることが分かる.

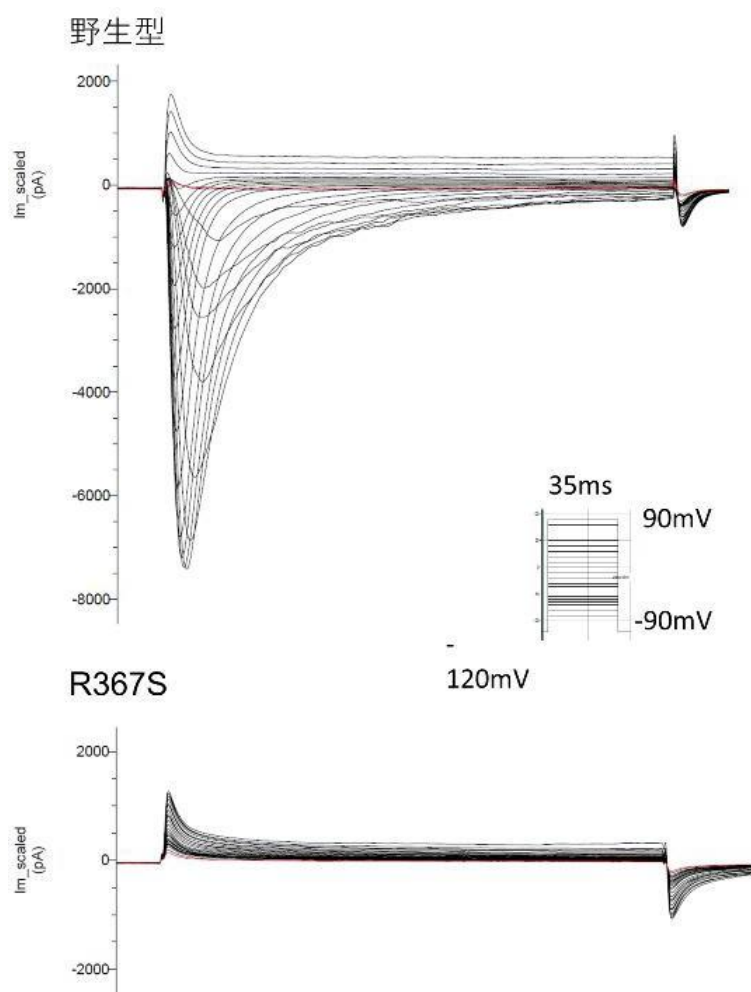


図 3.心室中隔欠損と Brugada 症候群を合併した症例の家系図

A, 症例 1; B, 症例 2; C, 症例 3; D, 症例 4; E, 症例 5

黒矢印は発端者, +は *SCN5A* 変異保持者, -は *SCN5A* 変異非保持者を示す.

ICD, 植込み型除細動器; PM, ペースメーカー

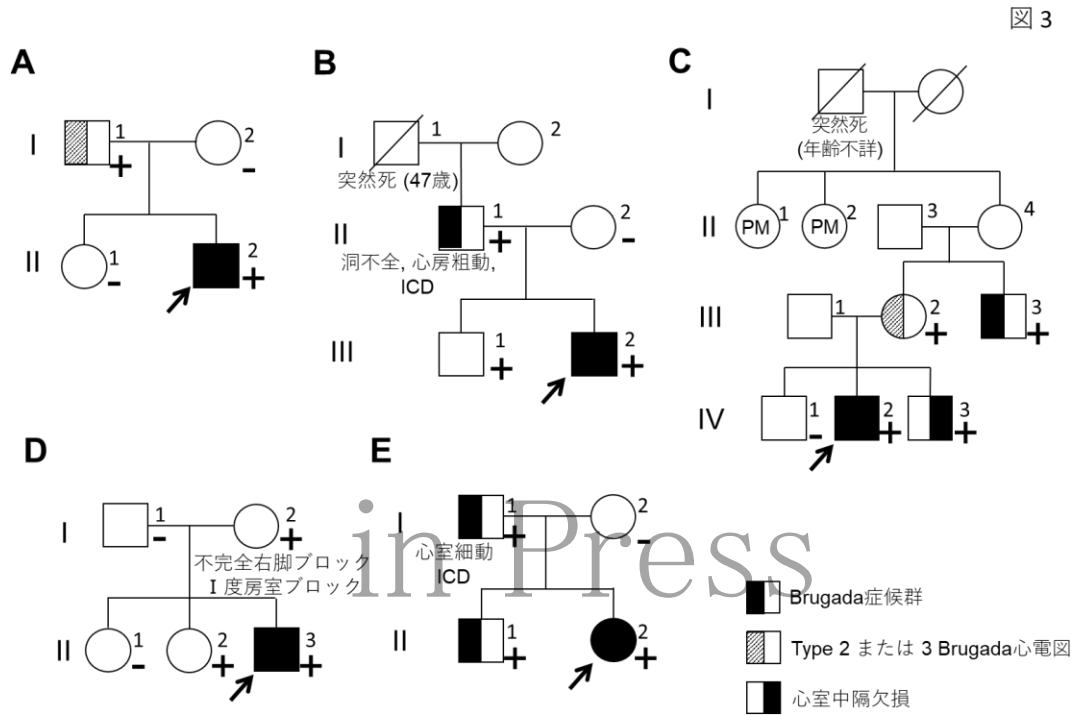


図 4. 心室中隔欠損と Brugada 症候群を合併した症例の 12 誘導心電図

A, 症例 1 の安静時 12 誘導心電図. 心拍数 89bpm.

B, 症例 2 の 22 歳時の安静時 12 誘導心電図(初回の Type 1 BrS 心電図は紛失).

右側の右前胸部誘導心電図は第 3 肋間で記録. 心拍数 68bpm.

C, 症例 3 の安静時 12 誘導心電図. 心拍数 92bpm.

D, 症例 4 のナトリウムチャンネル阻害薬負荷試験時の 12 誘導心電図. 心拍数 78bpm.

E, 症例 5 の安静時 12 誘導心電図. 心拍数 100bpm.

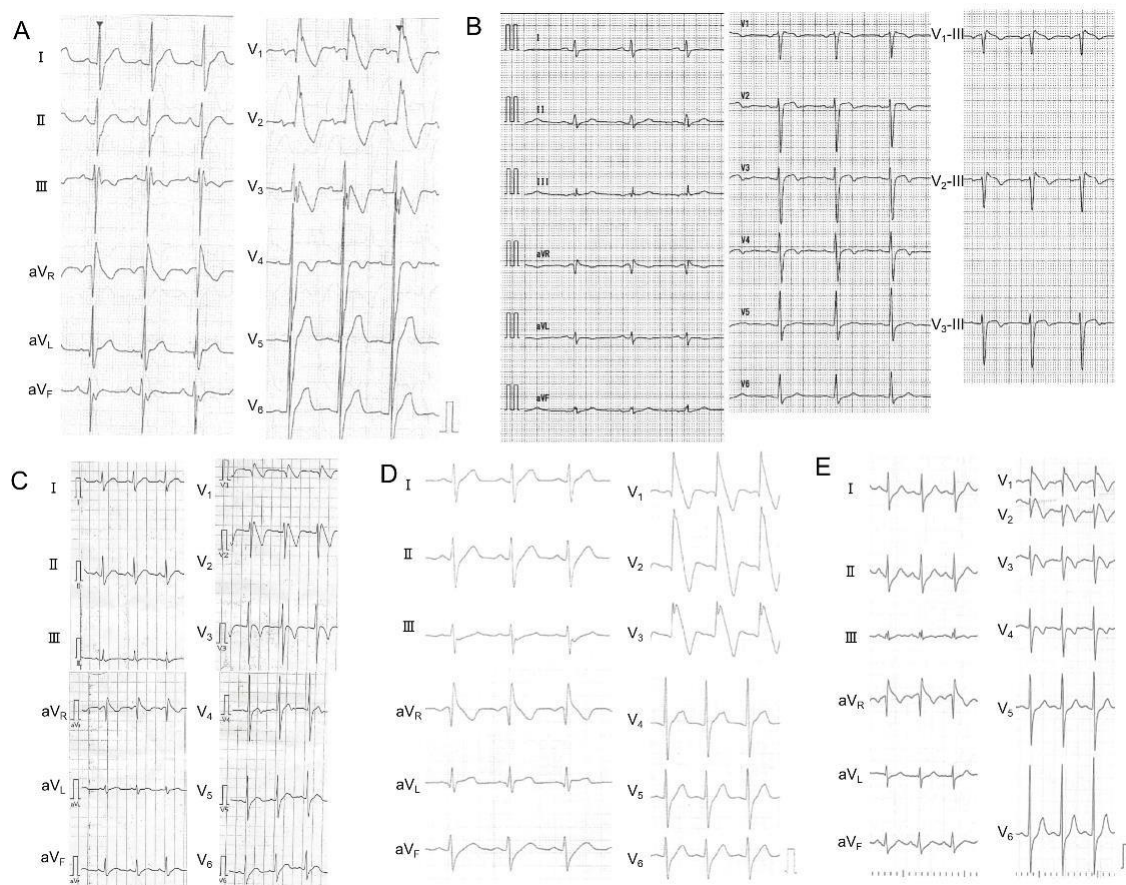


図 5. 症例 1 の心筋生検の病理所見

症例 1 の VSD 手術中に採取された右室流出路心筋の Elastica van Gieson 染色.

黒矢印は線維化を示す. 上図は下図の拡大である.

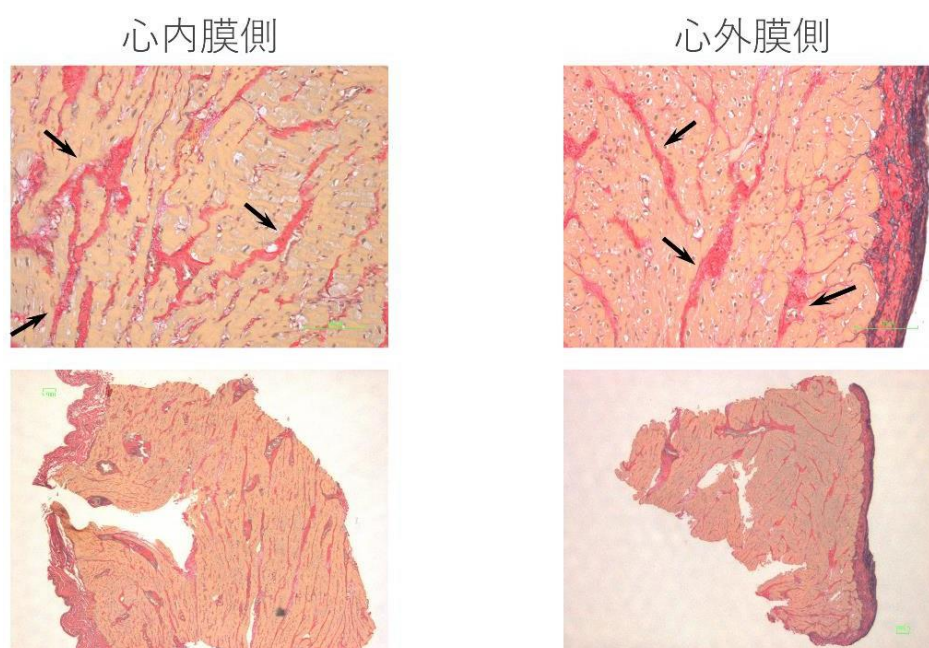
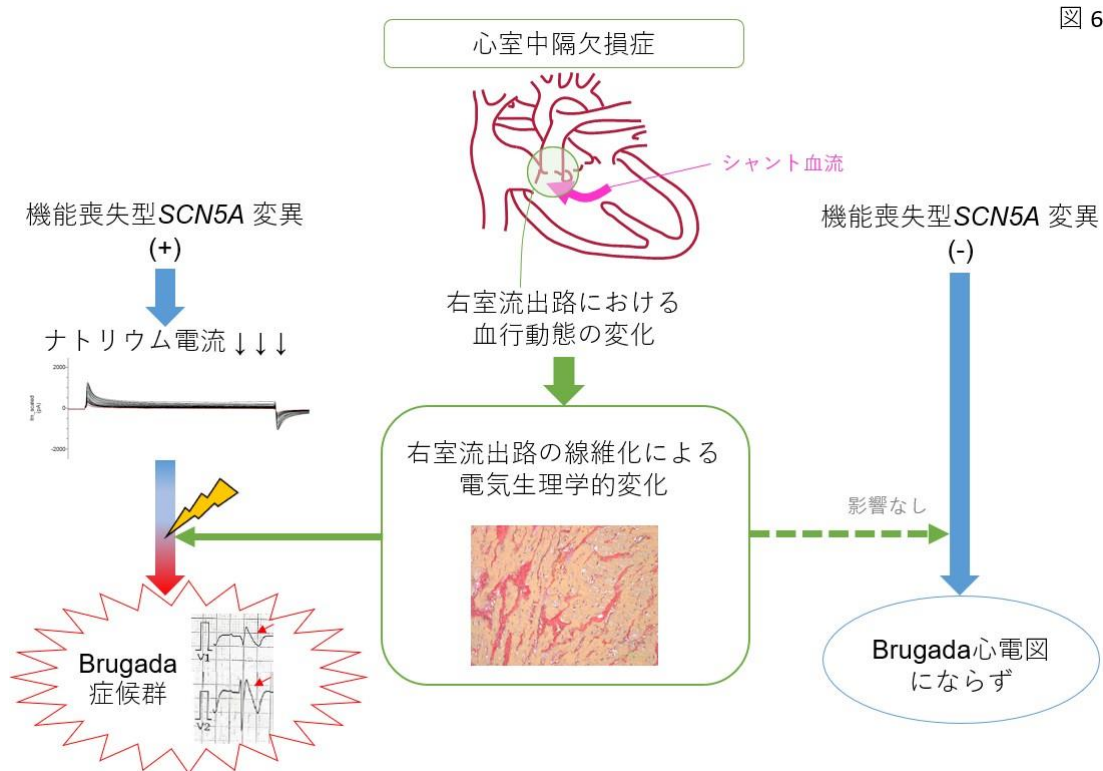


図 6. 若年 Brugada 症候群における,SCN5A 変異と心室中隔欠損症の関連性についての仮説

心室中隔欠損症 (VSD) があることで, 右室流出路への血行動態の変化が起こり, 心筋線維化をきたす. 機能喪失型 SCN5A 変異という Brugada 症候群になりやすい遺伝的背景のある人では, VSD による右室流出路の線維化亢進により,Brugada 症候群が早期に顕在化した, という仮説を図示している



文献

1. Yamakawa Y., Ishikawa T., Uchino K., et. al.: Prevalence of right bundle-branch block and right precordial ST-segment elevation (Brugada-type electrocardiogram) in Japanese children. *Circ J* 2004; 68: pp. 275-279.
2. van der Linde D., Konings E.E., Slager M.A., et. al.: Birth prevalence of congenital heart disease worldwide: a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* 2011; 58: pp. 2241-2247.
3. Antzelevitch C., Brugada P., Borggreffe M., et. al.: Brugada syndrome: report of the second consensus conference. *Heart Rhythm* 2005; 2: pp. 429-440.
4. Valdivia C.R., Tester D.J., Rok B.A., et. al.: A trafficking defective, Brugada syndrome-causing *SCN5A* mutation rescued by drugs. *Cardiovasc Res* 2004; 62: pp. 53-62.
5. Glazer A.M., Wada Y., Li B., et. al.: High-throughput reclassification of *SCN5A* variants. *Am J Hum Genet* 2020; 107: pp. 111-123.
6. Ishikawa T., Kimoto H., Mishima H., et. al.: Functionally validated *SCN5A* variants allow interpretation of pathogenicity and prediction of lethal events in Brugada syndrome. *Eur Heart J* 2021; 42: pp. 2854-2863.
7. Matsuo K., Akahoshi M., Nakashima E., et. al.: The prevalence, incidence and prognostic value of the Brugada-type electrocardiogram: a population-based study of four decades. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38: pp. 765-770.
8. Minier M., Probst V., Berthome P., et. al.: Age at diagnosis of Brugada syndrome: influence on clinical characteristics and risk of arrhythmia. *Heart Rhythm* 2020; 17: pp. 743-749.
9. Liu X., Zheng J., Fan Z., Rao L.: Case report: an unusual case of Brugada

syndrome combined with a ventricular septal defect: a case report. *Medicine (Baltimore)* 2017; 96:

10. Lee Y.S., Baek J.S., Kim S.Y., et. al.: Childhood Brugada syndrome in two Korean families. *Korean Circ J* 2010; 40: pp. 143-147.
11. Sugimoto M., Kuwata S., Kurishima C., Kim J.H., Iwamoto Y., Senzaki H.: Cardiac biomarkers in children with congenital heart disease. *World J Pediatr* 2015; 11: pp. 309-315.
12. Nademanee K., Raju H., de Noronha S.V., et. al.: Fibrosis, connexin-43, and conduction abnormalities in the Brugada syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2015; 66: pp. 1976-1986.
13. Kusano K.F., Taniyama M., Nakamura K., et. al.: Atrial fibrillation in patients with Brugada syndrome relationships of gene mutation, electrophysiology, and clinical backgrounds. *J Am Coll Cardiol* 2008; 51: pp. 1169-1175.
14. Yamagata K., Horie M., Aiba T., et. al.: Genotype-phenotype correlation of *SCN5A* mutation for the clinical and electrocardiographic characteristics of probands With Brugada syndrome: a Japanese multicenter registry. *Circulation* 2017; 135: pp. 2255-2270.
15. Sonoda K., Ohno S., Ozawa J., et. al.: Copy number variations of *SCN5A* in Brugada syndrome. *Heart Rhythm* 2018; 15: pp. 1179-1188.