



当院における 2 型糖尿病患者に対する SGLT2 阻害薬のヘモグロビン変動に関する検討

医療法人健清会 那珂記念クリニック

遅野井 健／斎藤三代子／遅野井雄介／仲田真依子／大淵健介／加藤 誠

Assessment of the Effect of SGLT2 Inhibitors on Hemoglobin Variability in Japanese Patients with Type 2 Diabetes Mellitus.

Takeshi OSONOI / Miyoko SAITO / Yusuke OSONOI / Maiko NAKATA / Kensuke OFUCHI / Makoto KATOH

Naka Kinen Clinic

抄録

背景：SGLT2 阻害薬は血糖降下薬であるが、多彩な作用があり、その中の 1 つであるヘモグロビン増加は広く知られている。ヘモグロビン増加は貧血治療にも繋がるが、SGLT2 阻害薬によるヘモグロビン増加のプロファイルはほとんど検討されていない。そこで、本研究では 2 型糖尿病患者における日常診療下での SGLT2 阻害薬処方前後でのヘモグロビン変動プロファイルを検討した。

方法：当院で SGLT2 阻害薬の投与開始前および開始後（中央値：14 週間）にヘモグロビン値を測定した 2 型糖尿病患者 406 例について解析した。

結果：SGLT2 阻害薬投与によりヘモグロビン値（平均値 ± 標準誤差）は 0.6 ± 0.8 g/dL 増加した。SGLT2 阻害薬はベースラインのヘモグロビン値が低いほど、ヘモグロビン値が増加する方向性を示した。また、ベースラインの腎機能や HbA1c が低下した患者において、SGLT2 阻害薬の HbA1c 低下効果は減弱していたが、ヘモグロビン増加効果は影響しなかった。

結論：SGLT2 阻害薬によるヘモグロビン増加作用は、血糖降下作用とは独立していた。今後、軽度な腎性貧血（腎機能低下、ヘモグロビン低値）を合併した 2 型糖尿病患者に副次的な効果が期待されると考えられた。

Key words : SGLT2 阻害薬, ヘモグロビン値, 腎性貧血, 2 型糖尿病, HbA1c

緒言

本邦において、SGLT2 阻害薬は 2014 年 4 月より発売され、現在は 6 成分 7 製剤が臨床使用されている。本薬剤は尿糖排泄作用という新しい作用機序を有する 2 型糖尿病治療薬であるが、発売初期に循環動態の変化に基づく副作用として、重症の脱水が 15 例で報告され、さらに、12 例の脳梗塞も報告された¹⁾。脳梗塞は SGLT2 投与後数週間以内に起こ

ることが大部分で、調査された例ではヘマトクリットの著明な上昇を認める場合があり、SGLT2 阻害薬による脱水との関連が疑われた。そのため、「SGLT2 阻害薬の適正使用に関する委員会」は 2 回にわたり recommendation を発表し、適正使用するように注意喚起を行ってきた。

SGLT2 阻害薬のヘマトクリットの上昇は、利尿効果による脱水の懸念も考えられたが、必ずしも脱水だけでは説明できないことが複数報告されてい

る。ダパグリフロジン投与によるエリスロポエチン濃度を検討した研究によると、ダパグリフロジン投与2～4週間後をピークにエリスロポエチン濃度が上昇し、これに一致して網状赤血球濃度が上昇し、その後にヘモグロビンやヘマトクリットが上昇することが示された²⁾。一方、利尿薬のヒドロクロロチアジドではヘモグロビンやヘマトクリットの上昇はみられていない²⁾ことから、SGLT2阻害薬の利尿効果だけでは説明できない。さらに、EMPA-REG OUTCOME試験のサブ解析として、エンパグリフロジンによる心血管死の抑制を媒介した因子を検討し、ヘマトクリットとヘモグロビンの寄与が大きいことが報告された³⁾。日本人の心疾患合併高齢2型糖尿病患者において、SGLT2阻害薬投与によりヘモグロビンおよびヘマトクリットの上昇が認められたが、脱水の指標であるBUN/クレアチニン比および循環血液量の指標である下大静脈径には影響を及ぼさなかったとの報告がある⁴⁾。このように、SGLT2阻害薬のヘモグロビン増加は単純な血液濃縮の結果ではなく、造血効果としての酸素供給能の向上を反映している可能性があり、この作用は虚血性心疾患や心機能低下の病態改善に寄与している可能性が示唆される。

最近、EMPA-REG OUTCOME試験の事後解析において、エンパグリフロジンのHbA1cの低下効果は腎機能低下患者（ベースライン時のeGFR < 60 mL/min/1.73 m²）で減弱するが、ヘモグロビン増加効果はeGFRに依存していなかった⁵⁾。SGLT2阻害薬の腎保護作用が報告され^{6) 7)}、腎保護の一環でヘモグロビンの増加が起こっている可能性も示唆されるが、そのメカニズムは依然として不明のままである。また、ヘモグロビン増加は貧血治療に繋がるが、SGLT2阻害薬によるヘモグロビン増加のプロファイルはほとんど報告されていない。そこで、本研究は2型糖尿病患者における、日常診療下でのSGLT2阻害薬処方前後でのヘモグロビン変動プロファイルを検討することを目的とした。

対象と方法

1. 対象および調査期間

2014年4月～2019年3月までに当クリニックを受診し、2型糖尿病と診断され、SGLT2阻害薬を処方した患者で、SGLT2阻害薬開始前および開始

後にヘモグロビン値を測定した2型糖尿病患者を後ろ向きに解析した。対象患者数は406例であった。

2. パラメータ測定時期

SGLT2阻害薬の投与開始前の各パラメータ（ヘモグロビン値、ヘマトクリット値、eGFR、HbA1c、体重、BMI）測定時期はいずれも中央値0週（-16～0週、平均-3.8週）であり、投与開始後の測定時期は中央値14週（8～29週、平均16.3週）であった。

3. 調査項目

性別、年齢、身長、体重、ヘモグロビン値、ヘマトクリット値、赤血球恒数（平均赤血球容積；MCV、平均赤血球血色素濃度；MCHC）HbA1c、BMI、eGFR、糖尿病治療薬剤、鉄剤、エリスロポエチン製剤

4. 評価項目

有効性評価：SGLT2阻害薬投与後の変化量（ヘモグロビン値、HbA1c、BMI、eGFR、体重、ヘマトクリット値）、層別解析（年齢別およびeGFR別でのヘモグロビン値の投与前後の比較、SGLT2阻害薬別でのヘモグロビン値およびHbA1c）、相関関係（ベースライン値のHbA1cとその変化量またはヘモグロビンの変化量およびヘモグロビンのベースライン値とその変化量）

副次評価：二次性多血症のリスク評価、SGLT2阻害薬のヘモグロビン増加機序として赤血球恒数の影響の評価

5. 統計解析

数値は平均値 ± 標準偏差 (SD) で示し、有効性評価は投与前値に対するpaired Student's t-testを用い、有意水準0.05未満を統計学的有意とした。2因子間の関係の強度と方向はピアソンの相関係数rを算出して評価した。

結 果

1. 患者背景

評価を実施した患者のSGLT2阻害薬投与前の患者背景の内訳を図1に示した。性別では男性が65.3% (265/406例) と多く、平均年齢は57.4 ± 11.1歳であった。また、HbA1cが7.7 ± 1.2%，ヘモグロビン値が14.3 ± 1.7 g/dL、BMIが27.7 ± 4.5 kg/m²、eGFRが74.1 ± 20.0 mL/min/1.73 m²であった (図1)。

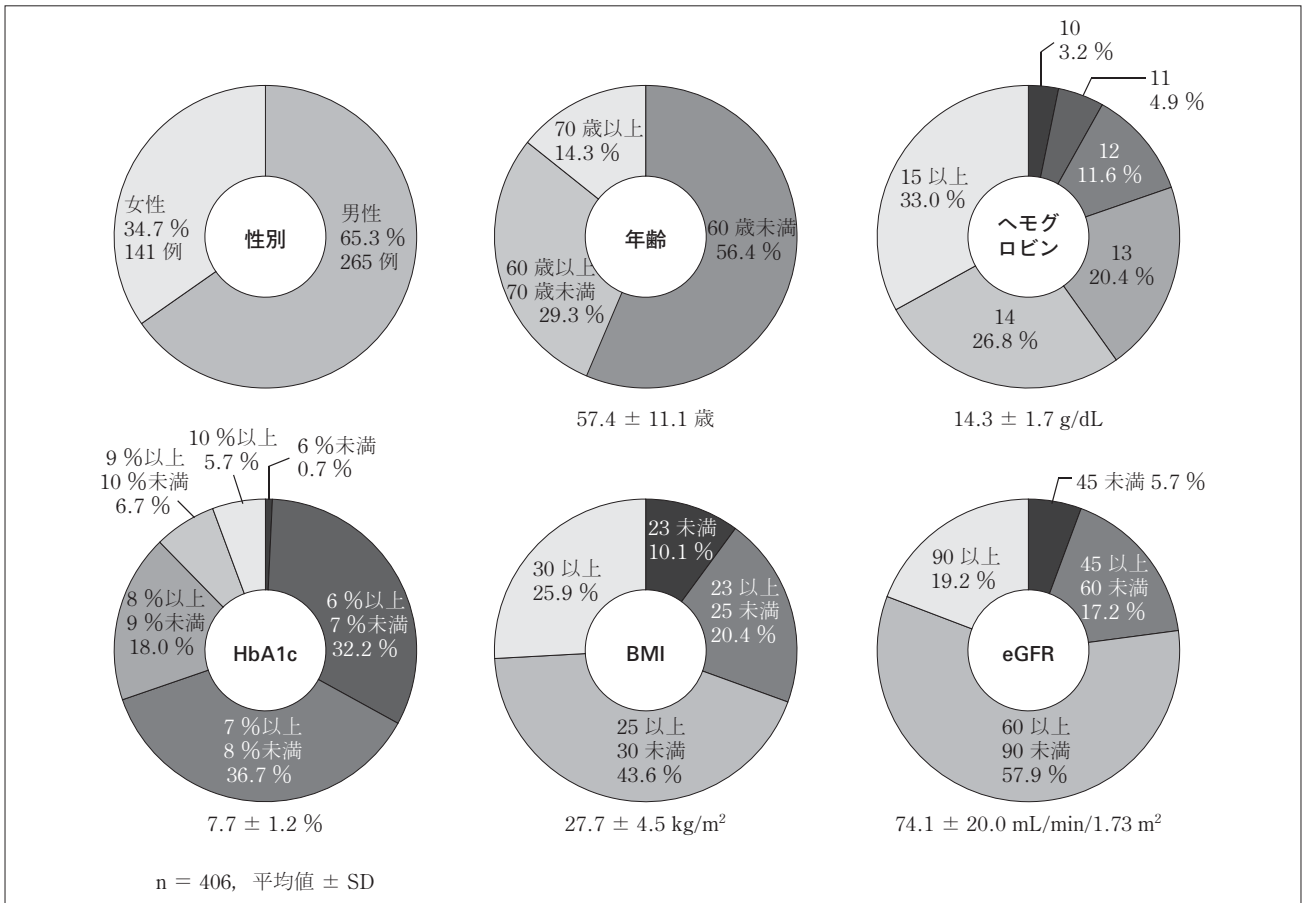


図1 患者背景

表1 SGLT2阻害薬投与による測定パラメータの変化

測定パラメータ	投与前	投与後	P値
ヘモグロビン値 (g/dL)	14.3 ± 1.7	14.9 ± 1.6	<0.01
ヘマトクリット値 (%)	42.0 ± 4.3	44.2 ± 4.2	<0.01
eGFR (mL/min/1.73 m ²)	74.1 ± 20.0	71.3 ± 19.9	<0.01
HbA1c (%)	7.7 ± 1.2	7.3 ± 1.0	<0.01
体重 (kg)	74.6 ± 15.0	72.9 ± 14.8	<0.01
BMI (kg/m ²)	27.7 ± 4.5	27.0 ± 4.5	<0.01

n = 406, 平均値 ± SD

SGLT2阻害薬投与期間：中央値14週間

投与前後の2群の比較はpaired Student's t-testを行った。

また、患者一人当たりの平均処方数は2.4±0.9剤であり、他の糖尿病治療薬処方率はビッグアナイド64.8%、α-グルコシダーゼ阻害薬63.3%、DPP-4阻害薬26.4%、GLP-1作動薬14.0%、インスリン4.4%であった。鉄剤の処方率は3.4%であり、エリスロポエチン製剤の処方率はなかった。

2. 有効性評価

1) SGLT2阻害薬投与全症例での有効性

SGLT2阻害薬投与した患者の投与前後の測定パラメータを表1に示した。SGLT2阻害薬投与後14週間（中央値）での有効性を解析した患者406例において、ヘモグロビン値およびヘマトクリット値の有意な増加が、eGFR、HbA1c、体重およびBMIの有意な減少が認められた。

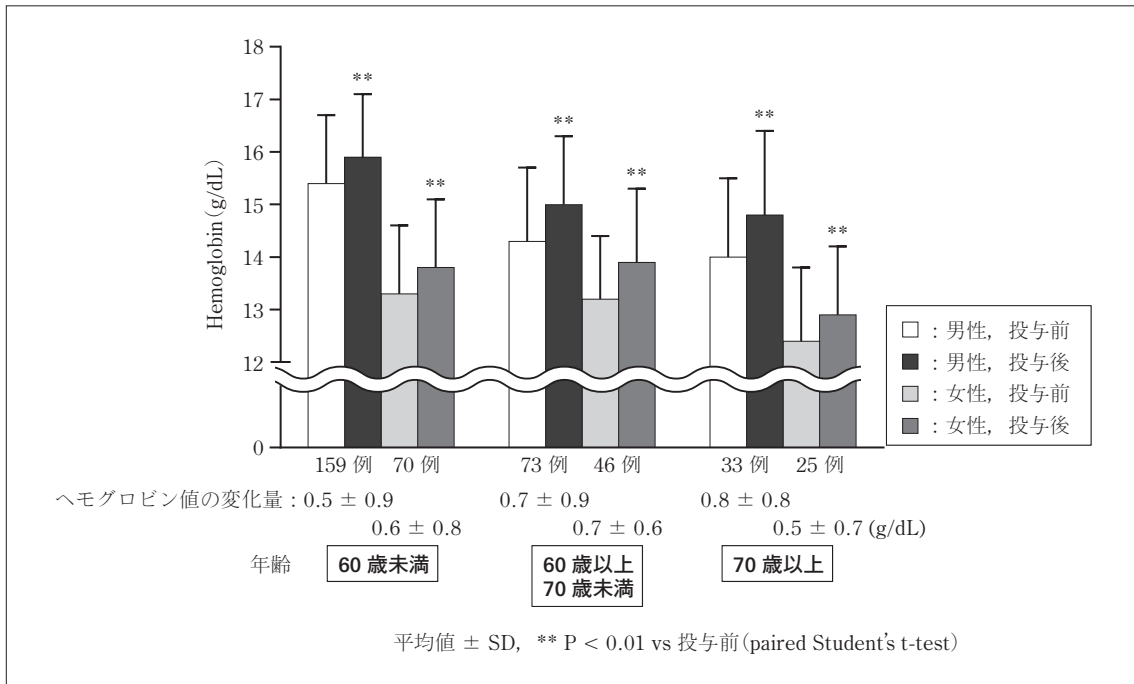


図2 年齢別でのSGLT2阻害薬投与によるヘモグロビン値の変化

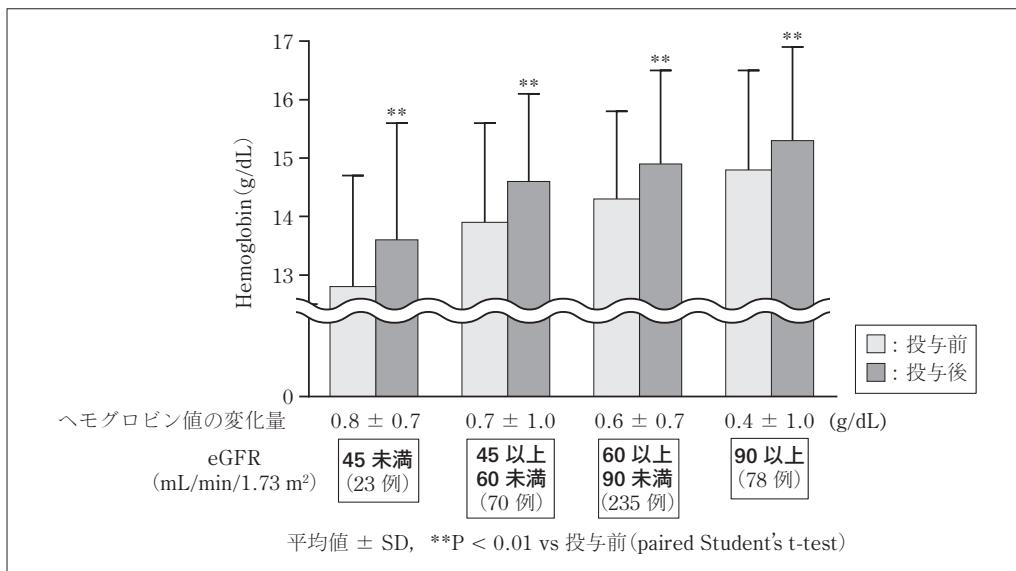


図3 eGFR別のSGLT2阻害薬投与によるヘモグロビン値の変化量

2) 年齢別でのSGLT2阻害薬投与によるヘモグロビン値の変化

全症例において、60歳未満、60歳以上70歳未満、70歳以上の3分位とし、また男女別にもSGLT2阻害薬投与によるヘモグロビン値の変化を検討し、図2に示した。ヘモグロビン値は加齢とともに男女とも低下したが、女性のヘモグロビン値は男性のそれよりもいずれの分位でも有意に低値を示した (いずれも P < 0.01)。SGLT2阻害薬はい

ずれの年齢区分においてもヘモグロビン値を有意に増加させ、その増加に男女差はなかった。

3) eGFR別のSGLT2阻害薬投与によるヘモグロビン値の変化ならびにベースラインの腎機能およびHbA1cとの関係

全症例において、SGLT2阻害薬投与前のeGFR (mL/min/1.73 m²) で45未満、45以上60未満、60以上90未満、90以上の4分位として、SGLT2阻害薬投与によるヘモグロビン値の変化を検討し、

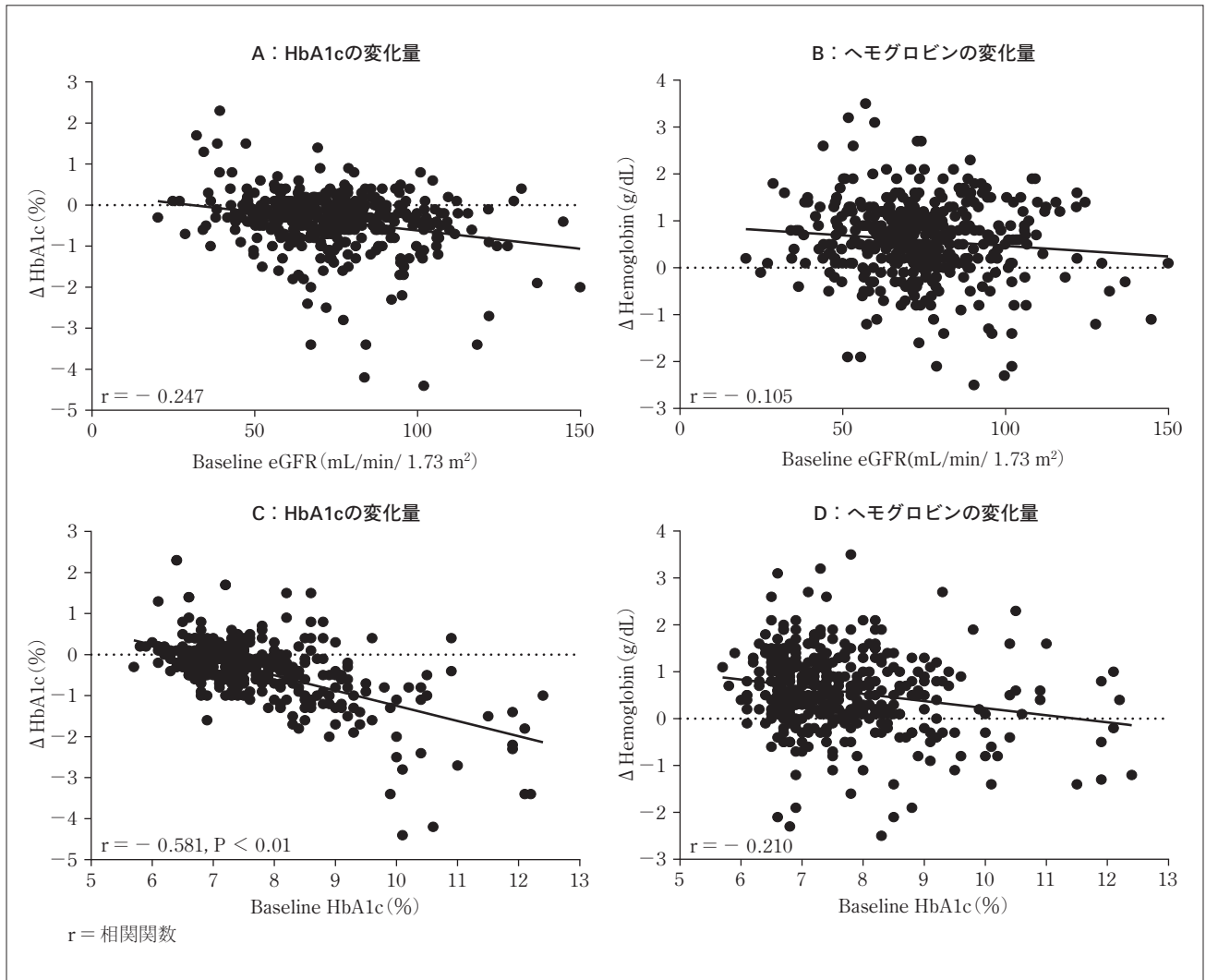


図4 SGLT2 阻害薬投与後の eGFR のベースライン値と HbA1c (A) およびヘモグロビン値 (B) の変化量および HbA1c のベースライン値と SGLT2 阻害薬投与後の HbA1c (C) およびヘモグロビン値 (D) の変化量との関係

図3に示した。ヘモグロビン値は eGFR が小さくなるにつれ、低値を示したが、SGLT2 阻害薬はいずれの GRF 区分においてもヘモグロビン値を有意に増加させ、その増加は eGFR が小さいほど大きくなった。

一方、SGLT2 阻害薬の HbA1c 低下効果はベースライン時の腎機能 (eGFR) が低いほど減弱する傾向を示したが (図4A)、SGLT2 阻害薬のヘモグロビン増加効果はベースライン時の腎機能には影響なく、腎機能低下例でも認められた (図4B)。

さらに、SGLT2 阻害薬投与後の HbA1c およびヘモグロビン値の変化量とベースラインの HbA1c との関係を検討した結果、SGLT2 阻害薬の HbA1c 低下効果はベースライン時の HbA1c 値が高いほど増強し、有意な負の相関がみられたが (図4C)、

SGLT2 阻害薬のヘモグロビン増加効果はベースライン時の HbA1c 値には影響なく、HbA1c 低値例でも認められた (図4D)。

4) SGLT2 阻害薬別のヘモグロビンおよび HbA1c の作用比較

SGLT2 阻害薬の薬剤別のヘモグロビンおよび HbA1c を表2に示した。ヘモグロビンおよび HbA1c の各ベースライン値および変化量に対して、薬剤間に明確な違いはなかった。

一方、SGLT2 阻害薬投与後のヘモグロビンのベースライン値と変化量との関係を図5に示した。SGLT2 阻害薬の全症例において、ベースラインのヘモグロビン値が低いほど、SGLT2 阻害薬投与によるヘモグロビン値は増加する傾向がみられた (図5の回帰直線)。SGLT2 阻害薬の薬剤別に解析

表2 SGLT2阻害薬別のヘモグロビンおよびHbA1cの作用比較

薬剤	例数	ヘモグロビン値 (g/mL)			HbA1c 値 (g/mL)		
		投与前	投与後	変化量	投与前	投与後	変化量
SGLT2 阻害薬	406	14.3 ± 1.7	14.9 ± 1.6	0.6 ± 0.8	7.6 ± 1.2	7.3 ± 0.9	-0.4 ± 0.7
カナグリフロジン	123	14.2 ± 1.8	14.8 ± 1.7	0.6 ± 0.9	7.6 ± 1.2	7.3 ± 1.1	-0.3 ± 0.8
イプラグリフロジン	97	14.3 ± 1.4	14.9 ± 1.3	0.6 ± 0.8	7.4 ± 1.0	7.1 ± 0.7	-0.4 ± 0.7
ダバグリフロジン	84	14.2 ± 1.5	14.7 ± 1.5	0.5 ± 0.9	7.8 ± 1.3	7.4 ± 1.1	-0.3 ± 0.8
ルセオグリフロジン	46	14.5 ± 1.7	15.3 ± 1.8	0.7 ± 0.7	7.3 ± 0.7	6.9 ± 0.6	-0.4 ± 0.4
エンパグリフロジン	28	14.3 ± 2.1	14.8 ± 2.5	0.4 ± 0.7	8.3 ± 1.1	7.7 ± 0.9	-0.6 ± 0.9
トホグリフロジン	28	14.2 ± 1.6	14.7 ± 1.5	0.5 ± 0.9	8.0 ± 1.4	7.4 ± 0.9	-0.6 ± 0.8

平均値 ± SD

SGLT2 阻害薬投与期間：中央値 14 週間

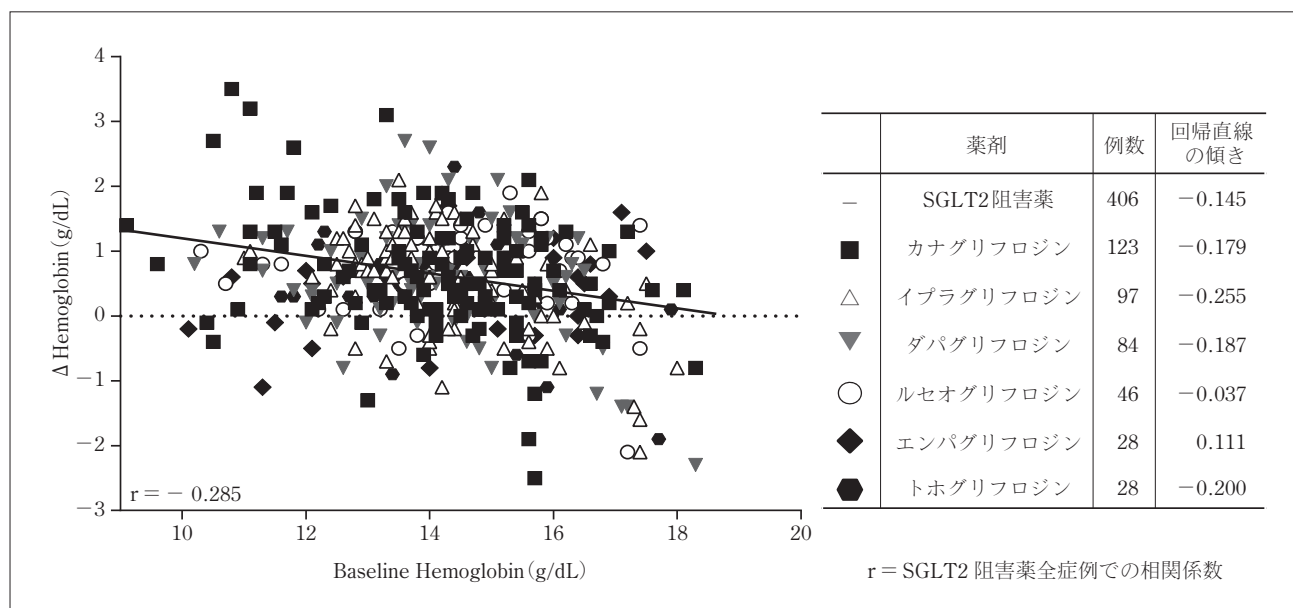


図5 SGLT2 阻害薬投与後のヘモグロビン値の変化量とヘモグロビンのベースライン値との関係

すると、回帰直線の負の傾きが大きい薬剤（カナグリフロジン、イプラグリフロジン、ダバグリフロジン、トホグリフロジン）と小さい薬剤（ルセオグリフロジン、エンパグリフロジン）に大別された。

3. 副次評価

1) 高ヘモグロビン症例 (> 15 g/dL) での SGLT2 阻害薬投与によるヘモグロビン値の変化

高ヘモグロビン症例患者において、SGLT2 阻害薬投与によりヘモグロビンがさらに増加すると、薬剤による二次性多血症のリスクが生じる可能性がある。そこで、ヘモグロビン > 15 g/dL の症例（男性：127 例，女性：7 例）において、SGLT2 阻害薬投与によるヘモグロビン値の変化を解析し、図6に示した。ヘモグロビン値において、男性で > 18

g/dL，成人女性で > 16 g/dL を多血症の基準とすると、SGLT2 阻害薬投与後にヘモグロビン > 18 g/dL の男性は 5 例（いずれも Hb < 19 g/dL），Hb > 16 g/dL の女性は 1 例（16.1 g/dL）であった。

2) SGLT2 阻害薬投与後のヘモグロビン値の変化量とベースラインの平均赤血球容積 (MCV) との関係

SGLT2 阻害薬のヘモグロビン増加効果の作用機序の一環として、ベースラインの MCV の影響を検討し、図7に示した。SGLT2 阻害薬は MCV が大きいほどヘモグロビン増加効果の大きい傾向がみられ、特に大球性貧血 (MCV > 100 fL, 30 < MCHC < 36 %) に分類される症例 (9 例) のヘモグロビン値をいずれも増加させた。なお、SGLT2 阻害薬

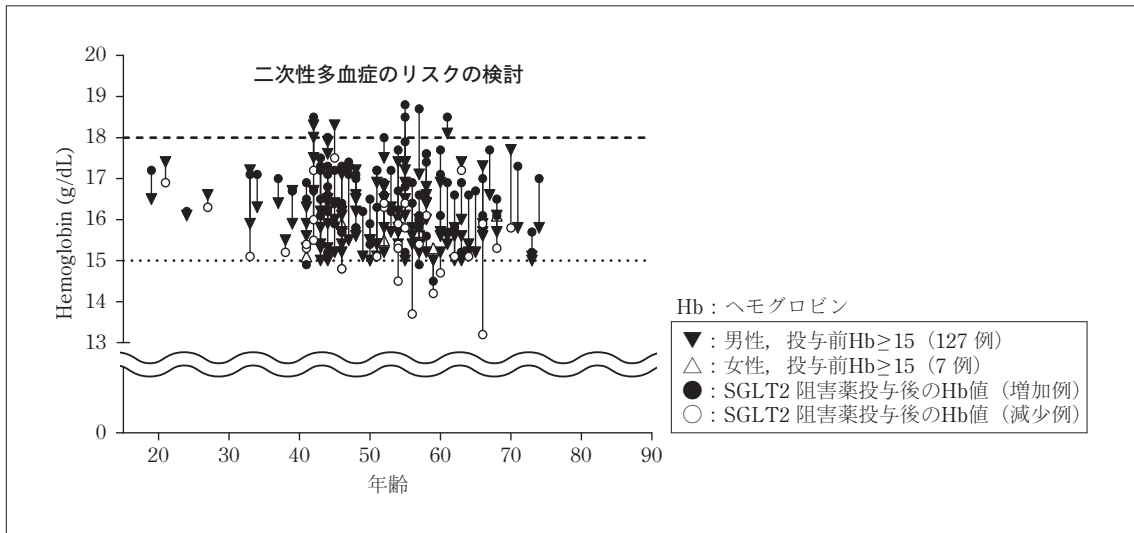


図6 高ヘモグロビン症例（ヘモグロビン 15 g/dL 以上）での SGLT2 阻害薬投与によるヘモグロビン値の変化

は MCV には影響を及ぼさなかった（投与前：90.4 ± 5.2 fL，投与後：90.7 ± 5.4 fL，n = 406）。

考 察

本研究において、SGLT2 阻害薬のヘモグロビン増加のプロファイルは、主薬効である HbA1c 低下効果とは一致しないこと、尿糖排泄が減少する腎機能低下症例（GFR 区分：G3b）にも有効であること、ベースライン時のヘモグロビン低値あるいは HbA1c 低値の症例でも増加することを見出した。

SGLT2 阻害薬の HbA1c 低下効果は、その作用機序から腎機能低下に伴い減弱することが知られている。本研究では、SGLT2 阻害薬のヘモグロビン増加効果は腎機能低下患者でも認められ、HbA1c 低下効果とは一致しなかった。このことは、EMPA-REG OUTCOME 試験の事後解析での腎機能別の HbA1c 低下効果とヘモグロビン増加効果の関係とも一致していた⁵⁾。また、腎機能が低下するほどベースライン時のヘモグロビン値は低値を示し、またベースライン時のヘモグロビン値が低値の方が SGLT2 阻害薬のヘモグロビン増加効果は大きい傾向がみられた。したがって、SGLT2 阻害薬のヘモグロビン増加効果は腎性貧血を合併した 2 型糖尿病患者への有効性も期待できる可能性を秘めている。最近、SGLT2 阻害薬とテストステロンを併用するとヘモグロビン増加が増強するとの報告があった⁸⁾。2 型糖尿病や肥満ではテストステロン濃度が正常以下となる性腺機能低下症の合併が増加し、テ

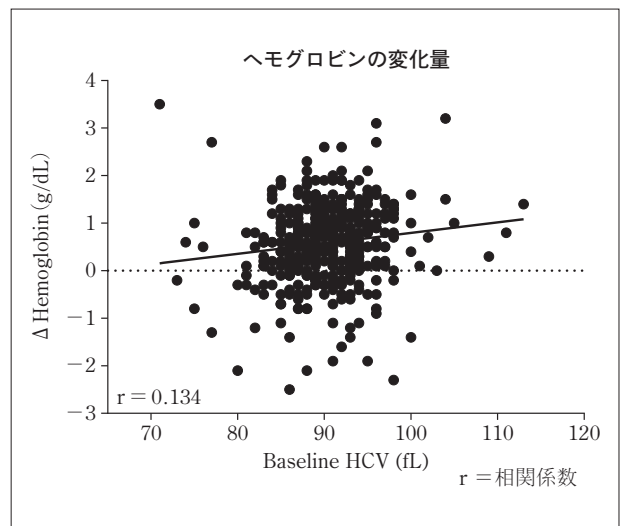


図7 SGLT2 阻害薬投与後のヘモグロビン値の変化量と平均赤血球容積（MCV）のベースライン値との関係

ストステロン補充療法を行うが、最も一般的な副作用の 1 つとして、多血症が知られている。本研究ではエリスロポエチン製剤への追加投与症例はなかったが、SGLT2 阻害薬はエリスロポエチン製剤や低酸素誘導因子プロリン水酸化酵素（HIF-PH）阻害薬への追加投与によるヘモグロビンの増強効果についても今後、検討する必要がある。

このように、SGLT2 阻害薬のヘモグロビン増加のプロファイルは腎性貧血治療の一助としての可能性が期待されるが、本研究では腎性貧血と診断される患者は含まれていないため、前向き研究で検証する必要がある。最近、ダパグリフロジンを 12 週間

投与された2型糖尿病患者において、ヘモグロビンやヘマトクリットの増加だけでなく、鉄利用の改善(ヘプシジンの減少、フェリチンの減少、トランスフェリンの増加)が認められた⁹⁾。このことは、種々の貧血に対して改善効果が期待される。実際、本研究において、SGLT2阻害薬は大球性貧血(MCV > 100 fL, 30 < MCHC < 36%)に分類される症例のヘモグロビンも増加させた。

SGLT2阻害薬のヘモグロビン増加機序については、ダパグリフロジン投与2~4週間後の一過性にエリスロポエチン濃度が上昇したとの報告がある²⁾。HIF-PH阻害薬ロキサデュスタットでは投与4時間をピークにエリスロポエチンを生理的範囲内で増加させ、24-48時間以内にベースライン値に戻るとの報告がある¹⁰⁾。したがって、SGLT2阻害薬のエリスロポエチンに対する作用を確認するには日内変動を考慮した評価も必要である。さらに、SGLT2阻害薬は早期に尿量が増加するため、利尿効果による血液濃縮/循環血液量減少の可能性も示唆されているが³⁾、カナグリフロジンを14日間投与しても早期のヘマトクリット値の増加は確認されていない¹¹⁾。一方、非臨床試験において、マウス、ラット、イヌまたはカニクイザルを用いた毒性試験の結果が、SGLT2阻害薬の各申請資料概要書に記載されており、それらではSGLT2阻害薬は高用量および長期観察でもヘモグロビン、ヘマトクリット、赤血球数の増加が認められておらず、むしろ一部には有意な減少が観察されている。このことは、正常動物において、SGLT2阻害薬はヘモグロビン等に対する効果がない可能性も考えられるが、ダパグリフロジンでは肥満ZDF (fa/fa)ラット(雌性、7週齢)に5週間連続経口投与して血漿中グルコース濃度およびHbA1cを有意に低下させた条件でもヘマトクリットには有意な変化が認められていない。このように、SGLT2阻害薬のヘモグロビン増加機序の解明は困難を伴う課題である。

本邦では6種類のSGLT2阻害薬が上市されており、いずれの薬剤でもヘモグロビン増加の程度は変わらなかった。しかしながら、それぞれの薬剤のヘモグロビン変化量をベースラインのヘモグロビン値でプロットして回帰直線を算出すると、より低値のヘモグロビンほど大きく増加する薬剤(カナグリフロジン、イブラグリフロジン、ダパグリフロジン、

トホグリフロジン)とベースライン値にかかわらず、一定の増加を示す薬剤(ルセオフリフロジン、エンパグリフロジン)の2つのフェノタイプに分け得る可能性が示された。SGLT2阻害薬の薬効に特性があることは興味深く、今後Precision Medicineの普及、定着によりSGLT2阻害薬間の使い分けをする時代が来るかもしれない。

SGLT2阻害薬は腎保護作用も見出され、今後、糖尿病性腎症患者や慢性腎臓病患者(CKD)の治療に適応される可能性がある。このような患者では腎性貧血を合併させていることも少なくないので、SGLT2阻害薬のさらなるメリットとして、貧血患者での有効性を今後検討していくことが必要と思われる。

ま と め

現在、非糖尿病患者を含めたSGLT2阻害薬の適応症(心不全、CKD)拡大の臨床試験が進められている。SGLT2阻害薬によるヘモグロビン値増加効果は、血糖降下作用とは独立し、腎性貧血が適応症ターゲットの1つに考えられるが、本研究のプロファイルを鑑みると糖尿病で腎機能低下、ヘモグロビン低値の患者において、副次的効果を期待した使用が有効であると考えられた。

一方、ヘモグロビン高値の糖尿病患者にSGLT2阻害薬を投与する際は、多血症に留意することが必要と思われた。

利 益 相 反

開示すべき利益相反関係にある企業として、アステラス製薬より講演料提供を、田辺三菱製薬、アストラゼネカ、日本イーライリリー、第一三共、サノフィ、興和より研究費提供を受けた。

文 献

- 1) Yabe D, Nishikino R, Kaneko M, et al. Short-term impacts of sodium/glucose co-transporter 2 inhibitors in Japanese clinical practice : considerations for their appropriate use to avoid serious adverse events. *Expert Opin Drug Saf.* 2015; **14** : 795-800.
- 2) Lambers Heerspink HJ, de Zeeuw D, Wie L, Leslie B, List J. Dapagliflozin a glucose-regulating drug with diuretic properties in subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab.* 2013; **15** : 853-862.
- 3) Inzucchi SE, Zinman B, Fitchett D, et al. How does

- empagliflozin reduce cardiovascular mortality? Insights from a mediation analysis of the EMPA-REG OUTCOME trial. *Diabetes Care*. 2018; **41** : 356-363.
- 4) Kambara T, Shibata R, Osanai H, et al. Use of sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors in older patients with type 2 diabetes mellitus. *Geriatr Gerontol Int*. 2018; **18** : 108-114.
 - 5) Wanner C, Lachin JM, Inzucchi SE, et al. Empagliflozin and clinical outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus, established cardiovascular disease, and chronic kidney disease. *Circulation*. 2018; **137** : 119-129.
 - 6) Wanner C, Inzucchi SE, Lachin JM, et al. Empagliflozin and progression of kidney disease in type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2016; **375** : 323-334.
 - 7) Perkovic V, Jardine MJ, Neal B, et al. Canagliflozin and Renal Outcomes in Type 2 Diabetes and Nephropathy. *N Engl J Med*. 2019; **380** : 2295-2306.
 - 8) Motta G, Zavattaro M, Romeo F, et al. Risk of erythrocytosis during concomitant testosterone and SGLT2-inhibitor treatment : a warning from two clinical cases. *J Clin Endocrinol Metab*. 2019; **104** : 819-822.
 - 9) Ghanim H, Hejna JM, Abuaysheh S, et al. Dapagliflozin suppresses plasma hepcidin concentrations. *Diabetes* 2018; **67** (Supplement 1) : 1116-P.
 - 10) Besarab A, Provenzano R, Hertel J, et al. Randomized placebo-controlled dose-ranging and pharmacodynamics study of roxadustat (FG-4592) to treat anemia in nondialysis-dependent chronic kidney disease (NDD-CKD) patients. *Nephrol Dial Transplant* 2015; **30** : 1665-1673.
 - 11) Iijima H, Kifuji T, Maruyama N, Inagaki N. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and safety of canagliflozin in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus. *Adv Ther*. 2015; **32** : 768-782.
-