

コルチゾン及び ACTH のマウスの創傷 治療に及ぼす影響に関する実験的研究

金沢大学医学部第一病理学教室(指導 萩野 昇 教授)

萩 野 昇

(昭和32年2月11日受付)

Experimental Studies on Effects of Cortisone and ACTH on Wound Healing in Mice

Noboru Hagino

*The First Department of Pathology, School of Medicine, Kanazawa University
(Director : Prof. Dr. S. Miyata)*

緒 論

近ごろ、結合組織の生理、病理に関する研究が著しく活潑になつて来た。従来、単に生体の支持又は充填に役立つだけのものとして軽視せられていた所のこの組織に、更に重要な機能的な意味が考えられ出したことも、その理由の一つであるが、内分泌のこれに及ぼす影響が明らかになつた事実も、見逃し得ないその原因と考えられる。省ると、しかし旧くから内分泌腺の異常が、種々の疾病又は体質異常をもたらすことはよく知られている。端太症と脳下垂体、粘液水腫と甲状腺、類官宦症と生殖腺などはその二三の例である。それらは、詮じつめれば、内分泌が広義の結合組織へ何らかの作用を及ぼして、異常の身体発育又は状態をおこさせたものと考えられるものである。ところで、最近、臨床家の注目を浴びて来たものに、副腎皮質のホルモン作用がある。周知の如く、Hench と Kendall がコルチゾンでリウマチの治療に卓効をもたらして以来、その方面への興味は急に高まつて来た。しかしその作用機転にはまだ充分明らかでない点が少ない。さて、そのような臨床経験に伴い次のような事実が知られて来た。Ragan (1950) はいわゆる膠原病の患者に副腎皮質ホルモンの分泌を促すものとせられる ACTH 投与を行つていた際、偶々 biopsy などのため外科手術を加えたところ、その創には Fibroplasia が起こらないという例に遭遇したのである。この事実に立脚して、次のような動物実験が試みられた。即ち

ウサギにコルチゾンを大量に与えて著明に hyperadrenal の状態として、その皮膚に創傷を加え、その治療状態を検する。その所見によつて、5日後、対照ではすでに肉芽の形成が著しいのに反し、処置例ではその形成わるく手術時にみられた創縁の血管はそのまゝに存している。8日目でも同様であつた。但し上皮の発育は認められた。そしてコルチゾン処置動物の局所は Metachromasy を示すこと少なく、線維芽細胞は小、その核は濃染し、毛細管新生に乏しいことを注意している。次にラットの胃壁創傷部の膨張力への抵抗試験が行われた。5mg コルチゾン投与例(体重1kg に対し 20mg に当る)では対照と著変を示さぬが、10mg 例ではその抵抗の差はかなり大きく、創傷部の癒合の不完全なことが証明できたと述べている。

こうした創傷治療又は肉芽形成に及ぼすコルチゾンの影響についての研究は、その後引つづき現在まで、かなり多数の学者によつて追試乃至は攻究せられている。その詳細は後述に譲るが、われわれも亦、その方面につき観察を試みた。というのは、何故にコルチゾン及び ACTH が肉芽形成を抑制するかの機転については、まだ充分明らかでないこと及び、われわれの試みている結合組織標本を以てするこの種観察は、われわれの調査した範囲の文献にはその報告をみないという理由に基づいている。以下その所見を述べ、先人の批判を仰ぐと思う。

実験材料と実験方法

実験動物 15~20g 体重の健康な雑種マウスを使つた。動物の健康の程度は毛並み、体重、運動の活潑なことなどで判断したが、皮膚に咬傷その他異常なきものを用いたことは申すまでもない。その皮下結合組織中には寄生虫 (Filaria) の存することがあり、又遊走細胞殊に好酸球の浸潤の著しいことがある。そのようなものは、実験結果を標本について検する時に至つて、始めて判明する事柄であるが、そのような動物は、実験成績中から除外することが必要である。又標本作製には、まず動物の背部皮膚の一部を、注意深く鉗で毛を切取る。この際皮膚に創傷を作らぬように注意することも大切である。鋭敏に反応する組織反応の加わらないためである。さて創傷を作製するには、小鉗で、皮膚及び皮下組織を、略々円形に切取り、深部の筋層に達する物質欠損を作つた。その創口の大きさは直径 0.5cm 前後にした。そして、創傷を作つたならば、感染を防ぐ意味で、その表面にツエロイヂンを塗布した。同一動物に左右対称に 2 個同様の創傷を作つたものもある。

注射に使用したコルチゾーンは Cortisone acetate (Merck), ACTH は ACTHHR (Aarmour) で、共に市販のものである。後者については溶解後直ちに使用することに注意している。而して注射方法は創傷部位よりなるべく遠隔の後肢筋肉内とし、創傷設置前月より注射開始、観察期間中連日これを継続して行く。その 1 日量は、次表に示す如くで、コルチゾーンについては、1 日量 2.5mg では動物の斃死するもの多く 7 日までの実験に耐えるものが少なかつたので、その半量を使用したものが多い。後者については 1 日量 0.1~0.3mg である。

創傷部については一部は通常の如く切片標本作製して検し、一部はその皮下疎性結合組織における創縁部から小皮標本作製し鉄ヘマトキシリン・ラック染色を施して、夫々、検索に供した。

コルチゾーン使用量

W 群	
日 数	No.
1 日	W. 1 W. 5

2 日	W. 3
3 日	W. 9 W. 6
4 日	W. 10 W. 2
5 日	W. 4 W. 7
6 日	W. 8

C W 群		
日 数	No.	Cortisone 注射総量
1 日	CW. 3	5.0mg
	CW. 8	2.5mg
3 日	CW. 2	10.5mg
	CW. 9	5.0mg
4 日	CW. 4	12.5mg
	CW. 6	12.5mg
5 日	CW. 5	17.5mg
	CW. 7	15.0mg
	CW. 10	7.5mg
6 日	CW. 11	8.2mg

C 群	
No.	Cortisone 注射総量
C. 1	(1 日量) (日数) 2.5mg × 7 = 17.5mg

C W B 群		
日 数	No.	Cortisone 注射総量
3 日	CWB. 1	5.0mg
5 日	CWB. 2	3.8mg

- 〔註〕 W群 : Wunde のみをつくつたもの (10匹)
 CW 群 : Wunde をつくり Cortisone を注射したもの (10匹)
 C 群 : Cortisone のみを注射したもの (1匹)
 CWB 群 : Cortisone を注射し、Wunde の上に他の正常 maus の血液を附着せしめたもの (2匹)

コルチゾン例創口縮小率

$$\text{創口縮小率} = \frac{(\text{死亡時創口の長径}) \times \text{短径}}{(\text{創傷作成時創口の長径}) \times \text{短径}} \times 100\%$$

日	対 照 例			注 射 例				
	No.	創口縮小率(%)		No.	創口縮小率(%)		注射総量	
1	W 1	右 51)	左 24)	WC 3	右 50)	左 75)	5.0mg	
	W 5	右 69)	左 89)		WC 8	右 27)	左 67)	2.5
3	W 6	右 73)	左 69)	WC 2	右 0)	WCB 1 右 35) 左 40) (注射量 5.0mg)	10.0	
	W 9	右 74)	左 70)		WC 9		右 107)	左 88)
4	W 2	右 48)	左 50)	WC 4	右 111)	WC 6	12.5	
	W 10	右 40)	左 (Wunde をつくらず)		右 60)		左 64)	12.5
5	W 4	右 30)	左 17)	WC 5	右 40)	WCB 2 右 28) 左 19) (注射量 3.8mg)	17.5	
	W 7	右 15)	左 53)	WC 7	右 12)		左 67)	15.5
		WC 10	右 83)	左 20)	7.5			
6	W 8	右 19)	左 25)	WC 11	右 42)	左 67)	8.2	

WCB : Cortisone を注射し Wunde に Blood を附したのもの。

ACTH 例 創 口 縮 小 率

日	対 照 例		ACTH 注 射 例				備 考
	No.	創口縮小率(%)	No.	創口縮小率(%)	1日量(mg)	総量(mg)	
3	W 11	右 42)	AW 1	右 56)	0.1	0.3	
		左 24)		左 47)			
3	W 19	右 56)	AW 2	右 49)	0.1	0.3	
		左 33)		左 35)			
3	W 22	右 75)	AW 7	右 67)	0.15	0.4	初日のみ 0.1mg 1回注射
		左 48)		左 60)			
3	W 25	右 50)	AW 8	右 25)	0.15	0.4	同 上
		左 16)		左 56)			
3			AW 13	右 60)	0.3	1.5	前処置 2 日
			左 80)				
3			AW 14	右 48)	0.3	1.5	同 上
			左 63)				
3			AW 19	右 50)	0.3	1.5	同 上
			左 31)				
3			AW 20	右 22)	0.3	1.5	同 上
			左 30)				

5	W 13	右 左	25 38	AW 4	右 左	45 56	0.1	0.7	
5	W 20	右 左	56 57	AW 9	右 左	20 18	0.15	0.7	初日のみ 0.1mg 1回注射
5	W 23	右 左	16 42	AW 10	右 左	38 48	0.15	0.7	同 上
5	W 26	右 左	13 30	AW 15	右 左	50 75	0.3	2.1	前処置 2 日
5				AW 16	右 左	42 64	0.3	2.1	同 上
5				AW 21	右 左	24 38	0.3	2.1	同 上
7	W 21	右 左	27 86	AW 11	右 左	19 50	0.15	1.05	
7	W 24	右 左	6 33	AW 12	右 左	25 80	0.15	1.05	
7	W 27	右 左	3.3 1.4	AW 17	右 左	24 33	0.3	2.7	前処置 2 日
7				AW 18	右 左	13 30	0.3	2.7	同 上
7				AW 22	右 左	20 38	0.3	2.7	同 上
7				AW 23	右 左	25 63	0.3	2.7	同 上

〔註〕 Wは対照例, AW は ACTH 例.

1. 注射液に生理的食塩水 1cc 中 ACTH (ACTHAR) 0.3mg 宛含有する如く調製す。但し AW 15~23 の場合にては 0.5mg/cc とす。
2. 注射は AW 1~10迄に作製の前日. AW 11~23 に3日前より1日量を2回に分けて12時間毎にマウス (15~25g) 後肢筋内へ行つた。

検査所見

A 切片標本所見

対照動物

1日目 創面は血液ことに血漿性物質で覆われている。それに接する表皮は壊死に陥つている。創縁部には多核白血球多数に集簇して組織全体は腫脹、粗、血管充盈つよし。線維芽細胞の新生は切片標本では明瞭でない。又、好銀線維の新生増加は認められない。過沃度酸 Schiff 染色 (PAS) 物質は創縁部でやや豊富の観あり。

3日目 創面は凝固した血液、漿液を以て覆われている。痂皮形成である。これに接する創縁部には多核白血球の集簇著し、而してその部には多少の線維素の析出も認められる。創縁より創底部に向つて数層の表

皮細胞が舌状突起をなして伸展している。而して創の周縁では線維芽細胞の著しい増生が認められ、その細胞間には好銀線維網が認められる。しかしその新生増加は著明でない。

5日目 創内に痂皮が認められるがその量は少ない。その下層にはすでに表皮の被覆が、多くの例では行われている。しかしこのような表皮下において、なお多核白血球、線維素の存在あり、滲出機転の全く終息又は吸収が終つていないことを思わす。しかも深部の創縁はまだ肉芽を以て充填せられていない場合もある。しかし創縁及び底部は粗疎な水腫状の組織よりなり豊富な線維芽細胞の増生と好銀線維の新生とが認められる。即ち健全な肉芽組織の形成が認められる。

7日目 創傷による欠損部の深さは著しく浅くなり創面にはわずかに痂皮が存しその下には表皮の被覆はすでに成立し、その下層と創縁部には豊富な肉芽形成が認められ、好銀線維も密網状に形成せられている。

コルチゾーン例

1日目 注射例、対照例共に大差なく創傷に接して多核白血球、単核の浸潤、滲出液の組織内への浸淫が認められる。但し CW. 8 では多核白血球の浸潤は少なく、創傷は皮下に Unterminieren してその周辺は壊死になつている。

3日目 対照群では浸潤細胞は一般に減少し、線維細胞の軽度の増殖が認められるのに対して、注射例では創傷の周辺に滲出液が浸淫し細胞反応は極めて少ない。浸潤細胞は大部分崩壊している。線維細胞も核の退行変性を示すもの多く、胞体は小空胞状を呈しているものが認められる。膠原線維は浸潤している。又組織が壊死に陥つている部分がある。

4日目 対照例では線維細胞の増殖が目立つている。組織球も増殖して創傷の表層には表皮の再生がみられるのに対して、注射例では創傷に接して崩壊した浸潤細胞の集在あり、組織は強く滲出液の浸淫を蒙り、真皮、皮下組織、筋層は壊死に陥つている。周辺の部においても細胞成分に乏しく、線維細胞は崩壊の像を呈している。膠原線維は膨潤している。線維の新生、表皮の再生はない。

5日目 対照例では創傷の周辺に肉芽組織の増殖著明、線維細胞の増殖、毛細管の新生、細線維の増生が認められるのに対し、注射例では創傷の周辺の細胞反応なく、肉芽組織の形成は全く認められない。線維細胞の核は大部分退行変性の像を示している。線維の増生はない。

6日目 対照例では創傷の表面は新生した表皮で覆われ、著明な肉芽組織の増生が認められるのに対して、注射例では、細胞反応なく、線維細胞は崩壊の像を呈している。表皮の再生は認められない。

PAS 染色

4日以後の例において対照例と注射例では差が認められる。即ち、注射例では対照例に比して真皮層の膠原線維は一般に瀰漫性に濃染し、基礎膜も亦同様濃染する。

C₁ においては、基礎膜は常に比して淡染、膠原線維は所々濃染する。しかし、注射例 (CW群) に比して程度は弱い。よつて、CW 群の反応強陽性の物質は

恐らく大部分は滲出液に由来するものであると思われる。(C₁ の所見から、コルチゾーンの注射によつて、基質の重合度が少しく低下するという事も考え得る)。

ACTH 例

3日目 創内には線維素、破壊した多核白血球を混じた痂皮が存し、創縁には均質性線維素が膜状に沈着してその縁並びに底を覆うている。創縁には表皮細胞が舌状をなして、創底に向つて進展せんとする傾向を示している。創底及び縁では組織粗疎化し、線維は互に疎開して、その間に多数白血球、単核細胞の浸潤が存する。而して線維芽細胞の増生は著明、一方血管拡張し一部赤血球の滲出を認めしめる。

5日目 創面に痂皮を附している。創縁には線維素膜なお存す。表皮の増生は一そう進展している。局所の組織はやや緻密化し、細胞に富む。多核白血球の遊走はやや減じているが、赤血球の滲出は認められない。血管の充盈は著しい。而して線維芽細胞の増生は一そう盛んである。

7日目 創内の痂皮、創縁の線維素膜はなお認められる。表皮細胞の増殖、再生は一そう進展しているが、まだ全創面を覆うには至つていない。創縁並びに底部の線維芽細胞の増殖は一そう盛んで、豊富な肉芽が形成せられている。対照に比べて、この肉芽形成はむしろ優れているくらいに見える。

以上の切片標本所見はすでに先人の記載している所に、特に知見を加えたものではない。われわれは、従来試みていない小皮標本による観察によつて、上述の変化を、さらに詳細に検索せんとするものである。

B 小皮標本所見

創傷の治癒過程の一般的なことがらは、日常行われる外科手術の場合を通して、すでに充分周知のことと考えられる。しかしながら、その現象の根本の問題である組織細胞の再生又は新生については、ただ現象としては一応判つているようであるが、その本態については、全く未知の問題に属する。しかし此処ではそのような問題に触れるわけではない。まず無処置動物における創傷治癒過程が吟味せられなければならない。宮田はマウスの背部皮膚に筋層に達する切創を加え、その創縁部の疎性結合組織を小皮標本として検索して、次のような所見を得た。即ち局所の組織には多少の壊死と出血を来たすことは当然であるが、すでに30分後には、その部の様相は通常の疎性結合組織のそれ

とは、全く一変し、基だ細胞が豊富となる。その細胞は線維細胞、組織球及び単核円形細胞であるが、就中線維細胞の有糸分裂像が多数に認められ、その結果線維芽細胞の形成がみられるようになる。しかしそれより少しおくれ、血管より多数の多核白血球の遊出がおこる。この際、細胞成分と共に液状物も亦滲出し、局所は水腫状を呈する。6時間より24時間の間がその最盛期に当り、この時期では、新生した線維芽細胞には空胞形成現われ、胞体はやや収縮状態を呈し、核分割は認められない。しかし24時間をすぎ、滲出物の消退につれ、線維芽細胞の新生は基だ活潑となり、局所に肉芽組織の発生をみるに至る。

対照動物

24時間目 局所の組織はかなり水腫状、疎粗で、基質には液状物の浸漬がある。多核白血球は多数に遊走している、その間に少数の単核円形細胞が混在する。赤白血球の滲出も少なくない。線維素の沈着を創縁部に認める。線維芽細胞の排列はやや疎で、胞体は細長型を示し、その胞体内にかなりの数の小空胞が認められる。組織球は中又は小型、その胞体にも亦空胞が認められる。而して線維芽細胞の分裂像は少ない。間質には線維の新生はみられない。

3日目 創部の組織は Sulzig 水腫状で一般の疎性結合織の部に比べ、明らかに腫脹している。その部からの小皮標本の作製は、組織の粘性強く、ために比較的容易である。その部は細胞に富む、その主要なものは線維芽細胞と組織球である。前者は胞体豊富で、宮田のいわゆる帆型、翼状、突起を有するが少ない。又胞体内には多少の空胞はあるが、著しいものではない。核分割像はかなり認められる。組織球、胞体はかなり豊富、空胞を少数にみる。増生像は少なくない。その他少数の多核白血球、単核円形細胞が存する。間質には基質豊富、線維は極めて繊細なものが多くである。要するに全体として、細胞の排列はまだ疎である所の、肉芽組織の初期像として理解せられる。

5日～6日目 互に密集相接して存する線維芽細胞の群在が目立つ。その形態は帆型、翼状型、及び突起型で、胞体にはわずかに空胞を認めるが概してこれを欠き、相互に合胞体を作るものもある。核分割像も亦少なくない。その他には組織球、単核円形細胞も認められる。而して間質には、繊細な線維は豊富に形成せられている。組織全体は粘稠性で腫脹している。

コルチゾーン例

24時間目（コルチゾーン注射開始後48時間）

一般の皮下結合織 やや水腫状を呈し粗疎の観を呈し、線維の排列も疎、通常結合織中に存する各種細胞の他に特殊なもの出現はみられない。ただ単核遊離細胞がやや多い傾向を認める。線維細胞は胞体大体帆型に近く、広いが、その胞体中に大小の空胞がかなり多数に認められ、原形質は薄い。その核には核小体が多数に小塊状に分散している。核分割はない。数量的に増加の傾向をみない。組織球はこれに対して数量的に増加し殊に創傷附近において、多数に群在する。その胞体も著大となり、線維細胞はその蔭に隠されて目立たなくなっている。核には陥凹、時に2核のものも存し、胞体は連結して合胞体形成も少なくない。明らかに増生像である。而してその胞体中に大小の空胞存し、胞体は網目状を呈するものすらある。遊離単核細胞にもかなり空胞化を示している。要するに、固着結合織細胞の空胞化と組織球の増生が認められる。

創縁部 創縁には線維素、赤白血球の溢出、組織の破壊により生じた顆粒状物並びに多少の漿液性液状物存し、それに混つてかなり多くの多核白血球集簇をみる。この細胞は空胞形成等の異常所見を認めしめない。而して、かかる創縁に近い部分は、前記一般の部に比し、明らかに細胞成分に富んでいる。その増加した細胞は、線維細胞と組織球であつて、殊に後者は豊富である。此処に認められる線維細胞は、原形質肉厚の観を呈し、核小体粗大、線維芽細胞の形態を示すが、その胞体内には細小な空胞が多数に存する。組織球又胞体腫大し、全胞体は大小の空胞によつて占められて泡沫細胞化している。少数に単核遊離細胞存し、その胞体内も空胞化が認められる。

要するに肉芽形成は開始されているが著明な細胞増生なく、各種固着細胞の空胞化は著明、一般層に比して更に高度に認められる。

48時間目（注射後72時間）

一般の結合織 細胞成分にやや乏しくなる。全体として菲薄透明である。線維細胞は核に著変はないが胞体は狭小となり、核の周囲に薄い布片状に附着しているものすらある。胞体内の空胞は認められる。組織球もやや減少しているが、胞体大、高度に空胞化し、核はピクノーゼを示す。時に胞体の萎縮、崩壊がみられる。組織肥胖細胞は数やや減少、胞体小、その顆粒周辺に散乱して胞体崩壊を示すものがみられる。

創縁部 かなり細胞に富み、線維芽細胞、組織球、

単核遊離細胞，少数の多核白血球集在す。しかしその前3者の胞体には空胞形成著明である。

3日目（注射後4日）

一般の部 結合織一般に菲薄，水様透明。細胞かなり少なし。やや水腫状。線維細胞，胞体小，胞体内空胞形成著明，殊に大きな空胞の出現あり。しかし核には著変はない。組織球は視野で最も目立ち，その数は比較的多く，胞体著大，輪割明瞭，胞体内に小空胞充満し，泡沫状を呈し，核は縮小，濃染している。時に胞体が崩壊しているものがある。単核小型細胞かなり認められ，その胞体又空胞を含んでいる。肥胖細胞の胞体崩壊，顆粒散乱しているものが少なくない。

創縁部 創口部には凝血状物塊状をなして存し，これに接する創縁部は一般部に比べ明らかに細胞に富んでいる。しかしコルチゾーンを使用しない対照に比べれば遙かにその数は少なく粗に排列している。基質の水腫状腫脹も亦軽度である。而してその部に出現している細胞種には著変はないが，その胞体萎縮，崩壊，空胞形成が著明である。従つて通常創傷部に認められるような線維芽細胞の合胞体像はなく，互に遊離化して散在している。線維芽細胞の突起も亦短縮している。核は一般に濃縮の傾向を示し，明らかに分割像は認め得なかつた。

5日目（注射後6日）

一般結合織 甚だ菲薄，水様透明化し，容易に乾燥するため標本作製困難となる。一見組織は細胞成分乏しく荒廃した観を呈している。細胞はすべて萎小化する。線維細胞は核やや縮小しその周りに布片状に薄い胞体が附いているにすぎず，個有の広い又は突起を有する胞体を失つている。まだ多少の空胞を有するものもある。組織球は又数少なく，その胞体，核共に縮小し，空胞を有するものあり。又崩体の崩壊も認められる。肥胖細胞も縮小し，胞体崩壊像を認める。

創縁部 上記に対し創縁部は明らかに細胞豊富である。即ち肉芽を形成している。しかしその細胞の排列は粗であり，殊に線維芽細胞は比較的少なく，その形態は萎縮性で，互に合胞体を形成していない。胞体内には空胞の形成著しい。組織球はその数比較的多く，胞体大小空胞を充している。遊離単核細胞も少なくなく空胞を含む。散在性に存する多核白血球には空胞はない。

6日目（注射開始後7日）

一般の部 高度に萎縮性となり菲薄透明の度を加え

ている。線維細胞萎小し，核，胞体共に小となり，殊に胞体は極めて菲薄，わずかに核の周辺に小膜状に残存するもの，又薄膜状で大空胞を有するものあり。組織球も形態縮小し数少なく，かかる萎縮したものでは空胞は著明でない。胞体内に肥胖細胞より出た顆粒を貪喰しているもののあるのが特異である。一方肥胖細胞は明らかに目立ち，胞体は必ずしも縮小せず，各所に群在し，その顆粒の散乱も著明，それが附近の組織球内に上述の如く含有せられているものが少なくない。

創縁部 一般部に比し細胞成分豊富，線維芽細胞はかなり多い。しかしその胞体は常に比し小，突起状であるが短く，その先端は鈍化している。原形質は菲薄，空胞を含む。核は線維芽細胞固有の腫大したものもあるが屢々萎小し濃染している。それらの排列はかなり粗である。要するに線維芽細胞は，萎縮変性化しているものと，比較的健常に近いものとが並存している。組織球はかなり多い。一般に著しく胞体膨大し，中に空胞形成，更に崩壊に近いものが多い。本例には又多核白血球の出現が目立つ。又肥胖細胞も局所にかなり多く，その胞体は大きい。

ACTH 例

3日目 一般の部では線維細胞はやや萎縮形を呈している。組織球の数，形態には著変はない。殊にコルチゾーン例でみるような特異な変化はみえない。局所，組織は水腫状かなり腫脹し基質豊富，中に繊細な線維がかなり大量に認められる。細胞も多く，その排列はやや粗であるが，主な成分は定型的線維芽細胞である。組織球，単核円形細胞及び少数の多核白血球が認められる。これらの細胞の性状において，対照と比べて異常は認められない。

5日目 一般の部，線維芽細胞細長型，空胞を有するがコルチゾーン例の如き萎縮像はない。組織球，群在し，数やや多し。胞体中等大小空胞を有するが，コ例の如きものではない。局所，定型的な肉芽形成をみる。その性状は対照例と著しい差異はなく，細胞成分の豊富さにおいては，むしろこれを凌ぐ程度である。線維芽細胞，組織球の空胞化も正常例と同程度である。

7日目 一般の部位では線維細胞やや萎縮型，組織球，散在性，著変なし。局所は細胞に富んだ肉芽化す。而して間質には細線維かなり豊富で線維芽細胞は互に合胞体をつくつて密在している。その胞体には空

胞化は少ない。核分割は多い。要するに肉芽形成は極

めて活潑に行われていることが覗かれる。

所見総括と考按

マウスの背部皮膚に直径 0.5cm の円形切除創をつくり、その治癒過程に及ぼすコルチゾーン及 ACTH の影響を検したのであつたが、その所見を簡約すると、次のようになる。上に表示したように、コルチゾーン例では、創口の縮小率は、明らかに対照動物に比べて、少ない。換言すれば、その治癒は悪い。但しこの実験は、創傷を加えてから 7 日目までの観察であり、その後の経過については述べられていない。その理由はコルチゾーン連日 1mg 注射は、実験動物の消瘦を来し、多くは 5~6 日目に死亡するため、長期に亘ることができないためである。一方 ACTH 例の動物では、創口の縮小率は決して対照例に比べて、悪くない。時によい場合すらあつて、その数値だけからみては、一定の結論を出すことはむづかしい。

ところでその創傷部の組織化学的变化は如何。

対照例ではこの観察期間、即ち創傷形成後 1 日乃至 7 日の間には、肉芽の形成とその老熟化の初期像が認められるのに対して、コルチゾーン例においては、創傷形成後 24 時間を経た局所には、わずかながら線維芽細胞の新生が認められる。がその後はその形成は極めて微弱であつて、而かも新生細胞は空胞変性を示して崩壊、又は強い萎縮に陥つて行く。そのような変性を示す細胞は線維芽細胞、組織球、単核円形細胞である。局所に遊走して来ている多核白血球には空胞形成は認められない。一方組織球細胞には胞体崩壊につれ、その固有の顆粒が散乱して行くものがある。而してそのような創縁部は粘着性乏しく腫脹も亦軽度である。固有の基質の形成が少ないことを意味する。当然線維の形成は殆んどない。

ところで、このようなコルチゾーン処置動物は、前述のように、体重の減少甚だしく、長期実験は不能である。その羸瘦しつつある動物の一般の皮下疎性結合組織の所見は注目し得る。末期に至ると、その固有細胞成分は壊滅に類し、組織全体が一様に荒廃に帰するのであるが、初期には線維細胞はその胞体に空胞現われ次いで萎縮し、核も亦縮小を来す。一方組織球は、増加、群在性をなし、胞体著しく腫大し、小空胞を多数に擁し、萎小した線維細胞に比べて、甚だしくこの細胞の存在が一見目立つ。しかし末期に至ると、これも亦萎縮に陥り、前述の如く、全体が甚だ細胞成

分に乏しい萎縮、荒廃状態になつてしまう。その際基質減少、粘稠性は少ない。電子顕微鏡の検査により線維の固有の形態には著変のないことを附記する。(住田、電顕所見)

次に同様コルチゾーン投与を行つて、その創傷部に対照動物の尾部から出血させて、その血液を 1 滴塗布した WCB マウスでは、創口の縮小率は、対照動物よりは劣るが、コルチゾーン投与のみのものに比べて、かなり高い。受傷後 48 時間後を観察するに、一般の疎性結合組織の変化は前述コルチゾーン例と同様に荒廃に類しているが、創縁部において線維芽細胞新生はかなりの程度に認められる。もちろんその排列は粗であり、胞体は対照に比べれば細長ではあるが、コルチゾーン投与のみの例に比べると空胞化は軽度である。即ち創口に正常動物の血液塗布は、コルチゾーンの抑制作用にかなり打消すように働くことがわかる。なお前述のコルチゾーン投与実験は、創傷作製前 1 日~2 日前から連日 1mg のコルチゾーンを与えて行くのであるが、創傷作製 48 時間から同様コルチゾーン投与を開始したものを受傷後 5 日目、7 日目に屠殺して検したところでは、肉芽形成は相当に認められるが、その細胞の変性はかなり強く、コルチゾーンの影響は証明できた。

次に ACTH の影響を検する実験では予期に反して、肉芽形成の抑制はみられなかつた。

以上の実験成績について、諸家の同様乃至類似の研究報告と比較しながら二三の考察を加えてみよう。緒論で述べたように Ragan らがコルチゾーン、ACTH の肉芽形成への特異な抑制作用に注意したのは 1949 年のことであるが、その後数年間に係らずこの種の観察又は追試実験は相当多数行われた。われわれが渉猟した文献だけでも 40 篇を数えることができた。その各個について此処で論評することを避けるが、その中重要と思われる所見乃至論点については、その時々引用を加えることとする。まず第一に、この種実験に用いられた動物の種類と、使用物質の有効量との関係を考察する必要がある。Ragan は最初ウサギを用い、1 日 25mg コルチゾーン投与によつて肉芽形成抑制を認めている。

Bangham はしかし 7.5mg でウサギ創傷治癒抑制

をみた。Sisson 及び Handfield はウサギに骨折をおこさせ 20mg, 10mg のコルチゾーン投与によつてその治癒（骨腹の仮骨形成）の不良であることを述べている。次に最も多く対照動物として撰ばれているラッテでは如何。

Meier, Schuler 及び Desaulles は綿片にコルチゾーン液を浸漬させ、これをラッテの体内に挿入し、その周辺におこる肉芽形成の抑制をみた。Braccini, Taylor, Dittmar 及び Porter, Baker 及び Whitacker, Bagham, Alrich 及び Barclay はそれぞれラッテの創傷治癒実験でいずれもその肉芽抑制乃至治癒の遅滞をみた。又 Lattes, Blunt, Jessar, Vaillaicourt 及び Ragan, Taubenhaus, Taylor 及び Morton, Shapiro, Taylor 及び Taubenhaus, はラッテのテルペンチン膿瘍の肉芽形成をコルチゾーン投与が抑制する事実、Baker はコルチゾーンの球をラッテの眼瞼に挿入してその周囲の Makrophagen の被囊の薄いことをみている。これらはいずれも、ラッテにおいてもコルチゾーンの特異な作用が認められることを示すものである。そのコルチゾーン使用量は1日 2.5mg (Bangham) 6mg (Alrich 等), 5mg (Taylor等), 15mg (Lattes 等), と一様ではない。その量の差異が実験結果に如何に作用するかについては後述するつもりである。モルモットを対照動物とした実験についてみるに、モルモットを用いて、その実験的結核症に及ぼすコルチゾーンの影響を検した研究、(Spain, 及び Molomut, Winner, 及び Evans), 又 Vitamin C 欠乏との関係を調査した研究もある。その中で Bangham はモルモットに1日 2.5mg のコルチゾーン投与で創傷治癒に影響をみないと報じている。次に犬については Cole, Orbison, Halden, Hancock, 及び Lindsay が皮膚創傷へのコルチゾーンの影響を検している。体重 1kg 当り 2.5mg 量を与えて、4例中1日に1週後に線維芽細胞の増生に抑制をみたが10日後では対照との間に差異をみないと述べた。最後にマウスについての実験報告を渉獵するに、比較的これを取扱つたものが少なく、(Curren, Spain一派) われわれの実験はこれを対照としている。Curren の研究は、モルモットとマウスとの腹腔に石英粉を注入し、これに対する組織反応に及ぼすコルチゾーンの影響を検したものである。而してマウスの創傷治癒を対照として詳細な研究を試みたものは、Spain らであるが、そのコルチゾーン使用量は創傷を加える48時間前より1日量 1mg 及

び 2.5mg 宛連日注射し、その影響を検している。われわれの実験は同様2日前より1日量 1~1.25mg を下肢筋内に注射したものである。ところで、以上の報告によつて、コルチゾーンの肉芽形成抑制はいずれの動物においても認められたことは、極めて当然のことであるが、その程度乃至状態は常に同一とはいえない。又時には不著明であつたという報告もないではない。各自の実験結果を相互に比較することは、その実験の条件、使用物質の効力の不定などから充分割引して考察すべきものであるが、使用量の面から、一応検討を要するわけである。すでにこの問題については Ragan は次のように述べている。即ち彼等の実験でコルチゾーンの肉芽抑制現象を認め得たその使用量は、ウサギでは体重 1kg に対し 10mg, ラッテでは同様 1kg に対し 20mg, 次に Spain がマウスでの実験では 1kg 体重に対して 100mg を夫々用いた。而して Spain 及び Molomut はマウスにおいて 0.025mg 量のコルチゾーンでその効果が現われたことを証明し、これは人体において、体重 50kg に対し 100mg に妥当するといつている。従つてわれわれの実験を含めて上述諸家の動物試験は人体臨床上の使用量との比較では甚だ大量を使用せられているわけであることを、まず注意して置かねばならない。

次にその使用方法を考慮する必要がある。多くの著者は動物に種々の操作を加える数日前より主として筋肉内にコルチゾーン注射を始め、連日、実験中これを継続する方法を取つている。われわれも亦この方法を撰んだ。けだし本物質の作用が全身中に十分顕現し、而かもそれが持続することをねらつたものに他ならぬ。一方本物質を局所に直接注入して (Selye, 宮田) その効果をみたものもある。もちろんこの場合には濃厚な状態で直接局所に作用するわけである。いま一つ附言すべきは、予じめ副腎剔出を行つておいて、本物質を投与してその効果を検した研究がある。その場合も、非剔出コルチゾーン投与の対照動物と同様にその作用が認められている。以上の事実からコルチゾーンの作用機転は、少なくとも副腎を介して行われるのではなく、むしろ本物質の結合組織への直接作用と考えられるのである。

以上コルチゾーンの使用量と投与方法についての吟味を経た上で、その結合組織に及ぼす影響、殊に肉芽抑制の現象について考えてみることにする。先人の報告をみる時、その多くは著明な抑制を認めたと述べて

いるに係らず, **Bangham, Wolbach** 及び **Maddock, Cole, Orbison, Holden, Hancock,** 及び **Lindsay, Clawson,** は対照と差異がないという否定的な結果を報告している。その各個についてその原因を追及する暇はないが, **Bangham** の場合の如きは, ラッテに1日量 2.5mg, ウサギに 7.5mg, **Cole** は犬に体重 1kg に 2mg 夫々投与しており, 上述慣用量に比べてその量は少ない。その故に対照との間にその効果の差異を認めなかつたものと思われる。われわれの実験はその間に伍して, 著明な抑制作用が認められたことはいうまでもない。然らばその形態学的所見は如何。いつたいコルチゾーンは結合組織の肉芽形成を単に遅延 (delay) せしめるのか, **Hemmung** 抑圧 (depress) するのか, それとも抑制 (inhibit) するのであろうか。妨害 (interfere) という表現も用いられている。これらの表現用語を人々は存外無関心に使用しているのではないか。而かもその検査所見を記したところを検討しても, その点は明瞭でないものが多いのである。そしていわゆる抑制は単に量的に肉芽形成が減少又は軽度にししかおこらないのであるか, それとも質的にも変化しているのであるか。その点にも疑問がある。われわれの研究と同様にマウスの皮膚創傷を対照とした **Spain** 及び **Molmut** の所見の記載では, 次の如く述べられている。手術後24時間ではコルチゾーン動物の創傷部には殆んど完全に滲出物と線維素を欠き, 細胞成分は著しく減少している。時の経過と共に毛細管新生はなく, 線維芽細胞の増生乏しく, 基質の存在も不著明である。実験最終期である5日目にも, 線維芽細胞の集簇は乏しい。但し上皮の形成はよく行われている。それらの状態はビタミンC欠乏の時のものに多くの点では相似しており, トルイデン青により染着する基質が欠除している。この所見は明らかに肉芽形成の抑制を物語っており, 大体の点では一応われわれの得たとすると矛盾しない。次に **Barber** 及び **Notacker** の記載を省るに, モルモットの角膜創傷治癒を対照としているが, 線維芽細胞の出現が対照に比べて遅延し, 膠原物質の成熟が遅延すると称し, その観点に立てば, 遅延という概念を以て現象を説明しているわけである。ところでわれわれの所見は, 前述の如く, 24時間, 3日, 5日, 7日に亘っているが, その要点を再録すれば次の如くである。その切片標本での結果は **Spain** 等の述べたところと大差はないが, 小皮標本のそれは, われわれの報告と比較すべきものはないのであること

を強調しておかなければならない。

この小皮標本は切片標本に比べ創縁部及び一般の疎性結合織を視野の下に広く持来し得, 極端にいえばその局所の全貌を捉えることさえでき, 従つて切片では認められない程度の細胞の増加も, 極めて明瞭に観察できるのが特徴の一つである。従つて切片では認むべき細胞の増加なしと思われるところにも, 相当変化が記載できるのは当然である。それによれば24時間例の局所では, 対照に比べればより軽度ではあるが, 線維芽細胞の新生, 殊に組織球の増生が認められる。換言すれば肉芽形成は確実に開始せられている。そして以下時期を追つて観察するに, 無処置部位と創縁部とは固着細胞成分の豊富さにおいて明らかに区別でき後者に多い。而かもその増加した細胞は通常の線維細胞ではなく, 線維芽細胞 (宮田) の特徴を備えていた。但しこの事実はコルチゾーン作用のなす不著明さを物語るものとすればそれまでのことであることは一応考慮の中に入れる要はある。しかし此処で強調したいことは, その線維芽細胞の形態学的変化についてである。コルチゾーン投与動物のテルペンチン油膿瘍周囲の肉芽組織について, **Shapiro, Taylor,** 及び **Taubenhaus** はその線維芽細胞は小型, 扁平で分枝乃至突起少なく, 幼若な毛細管の芽に対して並行性排列を示す特有の傾向を示さないと記している。われわれの所見中, 線維芽細胞の示す形態学的変化が目目せられる。即ちその胞体内の空胞形成である。由来この種細胞には多少に係らず空胞は存するものであるが, 特にこの実験例では胞体内に大小の空胞が多数に出現し, 対照例ではその胞体は広い帆又は翼状をなしているのに対し, 遙かに小, 萎縮型を示しているのをみる。従つて, 互に合胞体を示す緻密な細胞集団はおこらず, かかる小型の細胞が局所に散在するにすぎない。核分割像に接することも稀である。この状態は, 単なる発育の抑制又は遅延という表現で示すには十分でなく, 線維芽細胞の空胞変性と名付けるものであることを意味するものと理解せられる所見である。因みに文献を省るに, 線維芽細胞の組織培養に及ぼすコルチゾーンの影響を検索した研究 (**Kaufmann, Mason** 及び **Kinney**) ではその発育は抑制せられ, **Meier** は **Mitose** の数減少すといひ, その濃度高き程, その抑制の度も著しかつたと述べ又, **Baldbridge, Kligman, Lipnik** 及び **Pillsburg** はその細胞の遊出悪かつたと記している。要するにわれわれの実験では, コルチゾーンによつて

肉芽形成に当つて主役をつとめる線維芽細胞の形成は、先人の述べる如く、明らかに不良であるが、それは単に量的であるのみならず、一方質的にその細胞の萎縮型であること、更にこれに空胞化の出現することを認めたのであつた。

次に結合組織の常在成分であつて、肉芽組織においては異常処理に重要な役目を有すると考えられる組織球又は大貪喰細胞の態度に留意する。対照例においてはその創縁肉芽組織中には比較的大型、胞体の輪劃明確、線維芽細胞に比べて濃染、やや顆粒状を呈する細胞がそれである。創傷部位には正常組織に比しかなり多数に存し、滲出した赤血球を屢々貪喰しているのが認められる。然るにコルチゾーン動物では、初期(24時間)では本細胞の存在が著しく目立つ。而かも対照例に比べて、その数多く、胞体は著しく腫大し、大小の空胞によつて占められているのがみられる。しかしこのような細胞は時を経るに従い、空胞の増大により一見泡沫細胞の状を示し、最後には胞体が崩壊し去るものをみる。このような組織球(大貪喰細胞)の空胞化については、Baker, Alrich, Carter 及び Lehman, も既に記載している所である。しかしわれわれの小皮標本による観察で、最も明確にこれを捉え得ることは注目されてよい所である。

第三の肉芽中に出現する細胞と考えられるものに小型単核細胞がある。一般正常動物の皮膚創傷部にはすでに30分後に出現しており、その由来はまだ明言できぬが、血液細胞殊にその単核性のものは考えにくく、むしろ組織球性のもと思われる。コルチゾーン動物の創傷部にも少数ながらその出現をみる。本細胞にも亦2~3の小空胞が認められるのが注意せられる。

第四に肉芽中に認められる細胞種として多核白血球を挙げられる。結合組織内に現われるこの細胞は血液よりの遊出による、客員細胞と考えられる。一部には線維細胞の変態により組織内で発生するという説が行われているけれども、われわれはそれを認容できない。創傷部において24時間目には最も多数に現われその後次第に減少する。その時期には当然他の血液成分即ち血漿も組織を浸漬している、即ち本細胞は滲出現象の一表現と考えられなければならない。Spain によればコルチゾーン物質の局所には24時間目には殆んど全く滲出現象をみないと述べているが、われわれの所見とは異なる点である。この多核白血球にはしかし上述のような空胞形成が認められないことは注目に価す

る点である。即ちコルチゾーンの影響は結合組織自体の細胞にはいわゆる空胞変性を来たすに對し、血液細胞にはそのような影響がおこらないことを意味するのである。

滲出現象に先立つ局所の血行障碍は生体観察によらなければ明確に観察できないので、われわれは、此処にこれに言及できぬが、Ebert 及び Barclay はウサギ耳翼の有窓窓室を用いてその血液変化を生体観察し、コルチゾーンのこれに及ぼす影響を検している。コルチゾーン投与を行つた正常動物の場合、血清及び結核感染による炎症時の場合をみた結果、血管壁内皮の保全が増強せられる結果、白血球の滲出は減少し、滲出液も減退すると述べている。この結果から見れば、コルチゾーン例では滲出、多核白血球の遊出は軽度ということになり得る。

第五に取上げなければならないものは組織肥胖細胞である。本細胞は結合組織殊に疎性結合組織の常在成分の一つと考えられるが、その機能について現在まで知られるところは比較的少ないものである。ヘパリン乃至その前段階物質を生産し、結合組織の形成に与るといふ考えが支配的である他、最近 Benditt はヒスタミンを生産するという説を出している。ところで正常の創傷部肉芽組織を検するに、この細胞にも多少の新生が覗われる、そして比較的小型の本細胞が所々に散在しているのが認められる。然るにコルチゾーン例の同様部及び肉芽と関係のない一般の部にも認められる所見として、本細胞の胞体は崩壊を来たし、その固有のメタクロマジーを示す顆粒は周囲の組織内にかなり広く散乱し、その染色性を失つている状態が注意せられる。このような所見は種々の場合の疎性結合組織を観察すると、コルチゾーン例のみに固有の変化とはもちろん看做し得ないものであるが、特に本例において極めて高度にそのような変化が発現することを認めるのである。この所見は、しかしすでに Asboe-Hansen も報告しているところであつて、その結果同氏、Cavallero 及び Brancchini は人、ウサギ、マウス、ラッテ、モルモットにおいて、コルチゾーン、ACTH 注射の場合、皮膚組織内の肥胖細胞の顆粒消失、空胞形成細胞数の減少とを認めると報じている。われわれの場合、果して細胞数の減少がおこるか否かは断定し難い。何とならば、元來本細胞は、所々に10数個乃至数10個群在して存する傾向を示し、結合組織内の絶対数を知ることが難いからである。ただ前

述べたような小型細胞の出現、恐らく幼若細胞の増生像は少ない。而かもこのような変性崩壊が存する以上、減少を推定し得ることは考えられるところである。

以上を以て肉芽形成に参加する細胞についての考察を終るが、諸家の記載には、コルチゾーン例肉芽には毛細管の形成の不良なことを述べられている。しかしわれわれの観察材料であるマウス皮下疎性結合組織には血管の存在部位は局限せられており、一般の部分にはない。従つてその部の欠損、補填に際して直接その部分が障碍されない以上この血管の新生を認め得ない。従つて此処に本問題に言及すべき材料を有していない。

結合組織の成分として重要な間質、即ちその線維と基質の状態次に取上げなければならない。その一般的な事項については此処に再説しない(宮田参照)。コルチゾーン投与動物(ラット)の胃壁縫合創が内圧によつて容易に開離するという実験は Ragan によつて示されている。即ち対照動物では平均 111mmHg の圧力を要するのに対して、コルチゾーン動物においては、10mg 投与例では 75mm, 5mg 投与例では 95mm Hg で夫々開離するのを見た。この事実はコルチゾーン投与によつて縫合創の癒合の不全を意味するものであつたことはいふまでもない。が直接には、その部に結合織の間質、殊に線維、基質の形成が伴われないことに基つくと考えられる。然らば果して、上述皮膚創傷部においては如何であろうか、しかしコルチゾーン作用の実験は、創傷治癒又は肉芽形成の初期の24時間から1週目程度の過程についてのみ行われており、事実この時期では一般に線維形成を徹底的に追及できるとは限らない。殊に切片標本の通常 H-E 染色の如きものではこれを証明するのは困難であることはいふまでもない。その故か、文献を渉猟しても、突込んでこの点に触れたものは少ない。前述 Barber 及び Notacker はモルモット角膜損傷では、膠原線維の成熟が遷延する旨記している。が比較的これに重点を置いた観察は Curran の研究である。その実験は、マウス、モルモットの腹腔に石英粉を注入し、その器質化に及ぼすコルチゾーンの影響を検索したものである。コルチゾーンは石英粉の貪喰を著しく遅延する、粉末は腹腔内に対照に比べてより分散性に沈着し、それを巡る線維形成も従つて瀰漫性である。而して最初の結合織線維出現の時期は遅延していない。又酸性性粘多

糖類の形成は抑制せられないと記載している。

切片標本の所見では手術後3日例では、対照例においてまだ線維形成は著明でないが、5日、6日、7日例では新生した肉芽組織中に細い好銀線維の出現が認められるのに対して、コルチゾーン例では、上述の如く肉芽形成不良に伴つて、そのような線維の増生はみられない。小皮標本所見においても、対照例では3日例より以後次第に線維芽細胞の間に微細な線維網が出現し、漸次増加するのが認められるのに対して、コルチゾーン例では萎縮、空胞化した細胞が粗開しており、その間に既存の線維の他に、特に微細な線維の増加はみえない。要するにコルチゾーン投与動物では創縁部において、線維の形成は著しく阻害せられておるとみられる。しかし全く欠如するものかどうかは、容易に決定し難い。何となれば既存の線維がそこに残存しており、どれだけが生に属するかが不明なためである。附言すべきは、電子顕微鏡下にこのようなコルチゾーン投与動物の結合織を検したところ(住田)、膠原線維固有の横紋構造及び著者のいわゆる微細線維(幅 1000 Å 前後)の太さには変化が認められなかった。

以上線維に関連して言及を要するものは、結合織基質についてである。その一般性については詳説することを避ける。一般の創縁部肉芽組織の部分は著明に腫脹し水腫状を呈している。その腫脹は細胞成分の豊富なためと滲出液の浸漬によるものであるが、更に粘稠な基質性物質の豊富に存在するためと考えられる。菊野は基質からみた創傷治癒の過程について次のように述べている。第1期は局所結合織基質(Hyaluron酸, Mucoitin 硫酸等を主体とした Cytol 物質)の Depolymerisation (浮腫)第2期は幼若線維芽細胞の著明な Cytol 物質(前膠原物質)の生産、結合織基質の増加、貯蔵、両者の重合に基づく繊細な線維形成、第3期、重合進行に比例する線維化進行、反応基減少に伴う染色性の低下、代つて Van Gieson 染色性の出現、Hyaluronidase 効果の存続、第4期、鞏固な線維形成。この記述ではまだ充分開明せられていない線維と基質との関係、殊に線維形成における基質の意義を一応説明せんとしている。われわれはこの問題に此処で深入りすることを避けるが、ただ創傷局所で基質の多糖類に解重合、再重合、その豊富化が現われることを指摘するに止めておく。ところでコルチゾーンの投与がどの成分に向つて如何なる影響を来たすであろう

か、Curran の研究(前出)所見では腹腔内異物周囲の肉芽形成に当つて酸性ムコ多糖類の形成は、コルチゾーン投与動物でも何ら抑制せられないと報じているに対し、Spain のマウス皮膚創傷試験の記載には、基質の存在認め難く、トルイジン青で Metachromasie を示す物質を欠く点は、Vitamin C 欠除動物の場合と酷似していると述べている。更に Lattes, Jesser, Meyer, 及び Ragan コルチゾーンの炎症及び修復抑制現象の本態はまだ憶測の域を脱しないが、コルチゾーンによつて修復作用を促し又は完遂せしめるに必要な化学物質を、障碍せられた組織が放出しないのではないか、而してその物質はムコ多糖類性のものであらうと述べている。われわれの小皮標本作製にあたり、コルチゾーン例の局所は対照同様にかなり著しく腫脹し、水腫状を呈しているが、粘着性は対照に比してやや少ない。おそらく基質成分の増加よりも滲出液に浸漬されているためと思われる。通常の染色性によつて滲出液と固有基質とを区別することはできない。PAS 染色によつても、必ずしも容易ではない。局所を切片標本として PAS 染色を施してみると、創縁部、殊に真皮層のそれはかなり強く赤染している。この事実より直ちに基質豊富と結論づけるわけには行かない。その理由は、酸性ムコ多糖類の PAS 陽性度は、その重合度の如何に左右せられる点が多い(Persson)からである。Persson によると、完全に解重合したヒアルロン酸は PAS に強く反応すると述べている。この説を根拠とすればコルチゾーン動物の局所では解重合せられた局所が存するのではあるまいか。本問題については更に検索を重ねなければならない。要するに対照に比べて基質形成の多寡についてはまだ結論的なことはこの実験ではいえない。ただ注目すべき所見としては、前述空胞変性に陥つた細胞、殊に組織球の空胞には、PAS 陽性物質が大量に証明せられる事実である。この細胞が酸性ムコ多糖類の産生に与るといふ証明は現在のところ、行われていない。周囲より摂取するものという考えの方が、本細胞の性格から押して有力である。本細胞に摂取せられた本物質は、その空胞内で分解せられて行く可能性がある。ともあれ、この所見は新しい知見として注目せられてよいであらう。

基質に関連して次に考慮すべきものは、組織肥胖細胞である。その顆粒は PAS に強陽性を示す。そして基質の酸性ムコ多糖類の形成に参与するとは一部の学者の主張するところである。この細胞の減少、崩壊が

認められるという前述の事実を此処に想起するならば、恐らくコルチゾーン投与動物においては、基質形成において何らかの欠陥があるものと信ぜられるのである。而して基質と線維とは相互に全然無関係の物質とは考えられない(小野田)。線維形成の不良なことは前に述べた。

此処において、当然問題となるのは Vitamin C 欠乏、壊血病の場合との比較乃至関係である。Spain はコルチゾーンの創傷治癒に及ぼす効果は、多くの点において Vitamin C の抑制にみられるものと似ている。就中トルイジン青によつてメタクロマジーを示す基質の欠除がそれである。しかし、この実験動物に、毎日 10mg のアスコルビン酸を与えたが、その効果はみられなかつた旨記している。又 Barber 及び Notacker の検索では次の如く述べられている。即ちモルモットにおける壊血病の症状は連日 10mg コルチゾーン注射によつて、わずかに遷延するが形態上では変化はない。又角膜の創傷部に現われる好酸球の浸潤は、通常手術後24時間に認められるのであるが、コルチゾーン例でも Vitamin C 欠乏例でも共に減退している。但しコルチゾーン例ではより著明である。壊血病動物に対しコルチゾーン投与を行つたが、Vitamin C 欠乏のために現われる変化は、改変せしめ得なかつた。即ち線維芽細胞増生の一定の昂進がみられたというのである。この Spain と Barber 等の実験を総合すると、コルチゾーンと Vitamin C の創傷治癒に及ぼす作用は互に相異なるものようである。武藤は Vitamin C 欠乏症のモルモットについて検索し、支柱組織の細胞間質の形成、成熟及び維持が障碍されることを強調し、同時に歯芽細胞、骨芽細胞、軟骨芽細胞、線維芽細胞の發育阻止と機能低下が随伴する。その結果、肉芽性炎等で硝子様物質が出現するが、これは機能低下した芽細胞の特殊な生産物とみなしている。この観察に従えば、コルチゾーンの場合とは同一の現象とは考えられない。本問題については更に検討を要する。

此処で一言上皮細胞の状態について触れておく。上述の如く、皮膚創傷の治癒がコルチゾーン投与により不良となるのは、結合組織の再生が阻害せられるためであることは上述の通りであるが、然らば表皮の再生に関しては如何であらうか。マウス皮膚切除手術の治癒を施した Spain 等の実験では、コルチゾーン投与群において、第5日目にはすでに、ある例では上皮形成が完成していた。但し線維芽細胞の集合はなく、直

接脂肪組織の表面を覆っているような所見をみている。又 Williams はラッテ、ウサギ、モルモットの胃の人工的潰瘍の治癒実験において、上皮細胞の増殖にはコルチゾーンは何らの影響なしと述べている。しかし Liebegott によれば Heilmeyer 並びに R. Meier は休止期及び増生期の外胚葉性上皮にはコルチゾーンは抑制的に作用するが、Studer は内胚葉性上皮（小腸粘膜上皮、甲状腺）ではその Mitose の上に影響なしといっている。われわれの実験では、マウス皮膚切除のあと、7日までに完全に表皮で創縁の被覆せられた例はない。しかし多少の表皮細胞の増生は認められる。上皮細胞には空胞化の如き退行性変化は認められない。けだし上皮は支持組織のないところでは増生を完全に営み得ない。従つて肉芽形成のないところでは基礎膜もできない以上、当然その再生は不完全なものとなる。コルチゾーンは直接上皮細胞に作用しないとしても、その再生には多少の抑制は現われると思われる。ただ、上記 Liebegott の所説については、此処に立入つて検討するための材料を有しない。此処では上皮はコルチゾーンの直接影響を蒙らない組織という推測を下すに止めておく次第である。

以上で創傷部位即ち肉芽性結合組織へのコルチゾーンの影響を検討したわけであつたが、次に通常の結合組織へのそれをも併せて考察を加えたい。文献を渉猟するに Baker はラッテに経済的に副腎皮質分泌液（コルチゾーン 0.1mg に当る）を作用させた局所の皮膚は均質化と膠原線維消失のため菲薄化を來す。弾力線維、基礎膜は変化しない。線維芽細胞は退行性変化を示して減少する。毛髪の發育は静止を來すと記載している。又 Heni もこれと略々同様の所見をコルチゾーンの局所適用によつて認められる旨を述べて、コルチゾーンは特別な刺激下の結合組織のみならずこのようないわば静止期のそれにも作用を來すことを注意している。ところで、われわれの所見を述べるわけであるが、その対照は、マウス皮下疎性結合組織であつて、真皮層ではないから、上述の報告とは直ちに一致しないことを予め指摘しなければならぬ。然るに、注射開始以後1週間前後の観察であるに係らず、そこに著明な萎縮、荒廃がおこるのを見る。末期に至ると、疎性結合組織は固有の細胞は甚だしく減少し、基質も亦減少し粘着性を失つて、一見荒廃という概念がこれによく適合する状を示している。動物の体重は減少し、著しく羸瘦を來す理由の一つは、この点に求

められるものと思われる。

此処で問題となるのは、このようなコルチゾーンの使用機転についてである。まず第一に、その作用は、本物質の結合組織への直接作用か、それとも間接作用か。他の内分泌腺との関連はないか。又神経、血液を介する要素がないか。われわれはそのすべてを解明するに至っていないが、文献を参照しつつ次のような見解に到達している。Heni によれば、健常並びに副腎剔出動物にコルチゾーン投与を行う時は、肝臓のグリコーゲン含有を高め、血糖上昇し、Nの排泄増加すると共に、蛋白質分解を盛んにする。体内の蛋白含有は減少する。即ちその異化を盛んにするという。即ちその表現として結合組織の萎縮がおこると考えられる。このような事実を基とすれば、その作用は全身的であつて、局所の肉芽形成の抑制は、その部分的現象と理解できよう。しかし一方炎症巣乃至肉芽創に直接コルチゾーンを適用して、その肉芽形成をみるに、対照に比しその著明な抑制が認められる事実よりみれば、直接作用が立証できる。全身作用は、これが血流又は体液を介して広く全身各部に浸淫したものであるとみるべきであろう。而して肉芽組織において特に明瞭に認められることは、その部においての物質代謝殊に形成作用が昂進しているところの組織であるため、一そうかかる表現が著明となるためと考えるのが妥当であろう。Menkin はコルチゾーンが炎症巣に大量に集中するという。而してそれらの作用にあつて神経の切断、血管結紮による無血が何ら影響をみなかつたという Shapiro 等の実験よりみれば、一そうコルチゾーンの結合組織への直接作用という考えは正しいようである。組織培養において、線維芽細胞の發育がコルチゾーンで抑制せられるという実験も亦これを裏書きするものと解してよいであろう。ただ此処でまだ充分解明できない事実は、Spain 等の実験である。コルチゾーン処置動物の皮膚切除創に、対照である無処置動物の尾部より採取した血液を塗布しておく、その創部の肉芽形成が促進せられ、創傷口の縮小も著しいことをみたものである。われわれも、これを追試して略々同様の結果に到達している。Spain 等はこの事柄の説明を次のように行つた。コルチゾーンは、流血中から創部に供給せられるところの、肉芽形成に必要な何かを妨害するらしい。その物質の一つは線維素原 Fibrinogen であろう。本実験で肉芽形成の促進をみる場合創部にこれを追加し得たためであつたと記述し

ている。われわれはこの見解の当否を充分批判する段階に、まだ達してはいない。上述のわれわれの所見では、コルチゾーン動物の創縁には、対照に比べ痂皮の量はやや少ないような傾向はあるが、これだけで肉芽形成を左右するとは考えられない。更に根本的な問題に迫つて、創傷部において線維芽細胞の新生乃至増生を促す根本的な契機は何かという点が残っている。将来の研究に俟つ次第である。

ACTH の創傷治癒乃至肉芽形成に及ぼす影響について。

既述したように、Ragan が臨床経験として、ACTH 治療中の Cushing 病の患者において、手術創の治癒が不良であつたことがまず問題となつて、コルチゾーン実験が始まつたわけである。そしてコルチゾーンについての著明な効果は明確に指摘できたわけであるが、ACTH についてのそうした結果はまだ出ていないようである。そしてこれに関する報告も亦比較的小さい。内藤、堀江、及び秋山は ACTH 投与の動物では創傷の組織学的検索で、表皮形成悪く、結合織少なく、その肉芽形成はコルチゾーンに比べても最悪であつたと報告しているが、大谷は同様動物において、コルチゾーンでは創傷治癒は遅延したが、ACTH 例にはかかる作用が認められたかつたと述べている。しかし Alrich, Carte, 及び Lehman はラットを用い、手術前 3 日前から 6 時間毎に ACTH 筋肉内注射開始、観察中これを継続し、1 日量夫々 2.0mg 及び 4.0mg として、これに創傷を加えて、その治癒過程を検したところでは、コルチゾーン同様、その治癒の遅延が認められたと述べている。但しコルチゾーン例の如き細胞の空胞化については記載はない。われわれは、上述の如く、マウスを以て、これと同様の実験を試みた。術前 2 日前より 1 日量 0.1~0.3mg を投与し、全経過中これを継続、7 日目までの創傷治癒の状態、殊に肉芽形成を切片並びに小皮標本について検したのであつたが、良好な肉芽形成がおこつており、新生した線維

芽細胞の形態にも何ら異常が見出されなかつた。要するに、コルチゾーンの影響のような意味の変化も発見できなかった。この実験は 3 回繰返したが、常に同様であつた。又 ACTH の市販品を溶解直後に使用して、その力価の低下しないことを留意したものであつたことを申しそえておく。そこでいわば予期に反した結果を得たことに対する考察として、次のことが考えられる。臨床上 ACTH はコルチゾーンと同様の効能をもたらすものとして使用せられているようであるが、いうまでもなく ACTH はコルチゾーンに対しては上位ホルモンである。これによつて、間接に副腎皮質の機能に影響を及ぼすものであることはいうまでもない。而して ACTH 投与によつて副腎皮質を賦活するとしても、そこからコルチゾーンのみを過量に生産せしめるものとは限らない。他の物質例えば DOCA の生産も促し得ないとは断言できない。DOCA は肉芽形成を盛んにする (高田未発表)。この点につきすでに György, Dempsy も ACTH は数種の Steroids の生産を促すであろうといつている。本論を離脱するが Selye の Stress 説に現われる図式はあまりに劃一的なものと思わざるを得ない。そして更に推論を進めるならば、すでに変調を来たしている副腎皮質に対しては、ACTH の作用によつて一方的な皮質ホルモン分泌が促進されるかも知れない。即ち臨床上、リウマチ患者の如き場合がそれであろう。これに反しわれわれの実験動物は、正常副腎機能を有するものであつたのではないか。このような説明はもちろん単なる推論で、実験的根拠をもたないことはいうまでもない。ともあれ、臨床的に同じ意味で使用せられていると思われるコルチゾーンと ACTH は、決して同一水準において取扱い得ないことを此処に注意しておく必要がある。要するに、われわれの実験において、ACTH 投与によつては、予期に反し、コルチゾーン例の如き肉芽形成阻止を証明できなかったのである。

結 論

マウスの皮膚に直径 3mm の円形切除創を作り、その初期の治癒過程をコルチゾーン及び ACTH 投与例と対照動物とについて 24 時間より 7 日までに亘つて観察した。その主な結論は次のようであつた。

1. 手術 1 日前から連日 0.1mg のコルチゾーンを投与した動物においては、その創傷治癒は対照に比べ

て、明らかに不良で、従つて傷口縮小率も亦低い。

2. コルチゾーン投与動物の創傷部には肉芽形成をみるのが少ない。小皮標本によると、創縁部には少数の線維芽細胞の新生をみるが、その細胞は萎縮性に空胞変性に陥つている。同様に局所の組織球、単核細胞も空胞変性を示す。しかし血管より遊出した多核白

血球にはそのような変性像をみられなかつた。

3. コルチゾーン投与動物の創縁部には、好銀線維の形成、基質の産生も対照に比べて甚だしく劣つていた。

4. 創傷部以外の一般の皮下疎性結合織はコルチゾーン連続投与によつて、初期には組織球の肥大、増生を認めしめるが、末期には萎縮荒廢に陥る。

5. ACTH を手術前日より連日 0.1~0.3mg 投与したもののにおいては、創傷の治癒状態には対照と差違を

認めなかつた。創縁部には著明な線維芽細胞の増生が認められ、その形態にも健常のものに比べて著変はなかつた。

6. コルチゾーンの過量投与による創傷部肉芽の抑制作用は、本物質の結合織に対する毒作用に基づくものであろう。しかし ACTH によつて同様効果を挙げ得なかつた事実は、この2種のホルモン剤を同一水準に置き得ないことを意味するようである。

文 献

- 1) **Alrich, Carter, a. Lehmann** : Ann. Surg. 133 : 783 (Abs. in Excerpta Sect. V 12 : 258, 1952) 2) **Asboe-Hansen** : Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 80 : 677, (1952).
 3) **Auerbach** : Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 81 : 294, (1952). 4) **Antopol, Quittner, a. Saphra** : Am. J. of Path. 29 : 599, (1953). 5) **Baker a. Whitacker** : Endocrinology 9 : 129 (Abs. in Excerpta Sect. V 9 : 129, 1951) (1951). 6) **Baldrige, Kligmann, Lipnik, a. Pillsbury** : Arch. of Path. 51 : 593, (1951). 7) **Bangham** : Brit. J. of exp. Path. 32, No. 2 (Abs. in Excerpta Sect. V 5 No. 2, 1951) (1951).
 8) **Barber a. Nothacker** : Arch. of Path. 54 : 343, (1952). 9) **Benditt** : Am. J. of Path. 30 : 615, (1954). 10) **Branccini** : Biol. lat. (Milano) 4 : 603 (Abs. in Excerpta Sect. V 5 : 830, 1951) (1951).
 11) **Cavallero a. Prancini** : Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 78 : 41, (1951). 12) **Clawson** : Arch. of Path. 56 : 268, (1953).
 13) **Cole, Orbison, Holden, Hancock, a. Lindsay** : Surg. Gynec. Obstet. 93, No. 3 (Abs. in Excerpta Sect. V 5 : 596, 1952) (1951).
 14) **Curran** : J. Path. a. Bact. 66 : 271, (1953). 15) **Ebert a. Barclay** : Ann. Int. Med. 37 : 506 (Abs. in Berichte üb. allg. Path. 16 : 147, 1953) (1952). 16) **Fassbender** : Verh. Dtsch. Path. Gesel. 32 : 215, (1951). 17) **Hench, Slocumb, Polley, a. Kendall** : J. A. M. A. 144 : 1327, (1950).
 18) **Heni** : Med. Klin. 47 : 669, (1952).
 19) **Hunt a. Blanchard** : Ann. Rheumat. 10 : 337 (Abs. in Ber. üb. allg. Path. 13 : 32, 1952) (1951). 20) **Kaufman, Mason, a. Kinney** : Am. J. of Path. 29 : 761, (1953).
 21) **菊野亨** : 十全医学会雑誌, 57 : 102 (1955).
 22) **Lattes, Blunt, Rose, Jessar, Vaillancourt, a. Ragan** : Am. J. of Path. 29 : 1, (1953). 23) **Lattes, Jessar, Meyer, a. Ragan** : Am. J. of Path. 24 : 598, (1953).
 24) **Liebegott** : Verh. Dtsch. Path. Gesel. 36 : 21, (1953). 25) **Meier, Schuler, a. Desaulles** : Experientia 6 : 469 (Abs. in Excerpta Sect. V 5 : 336, 1952,) (1950).
 26) **Menkin** : Brit. J. of Exp. Path. 34 : 412 (Abs. in Ber. üb. allg. Path. 21 : 260, 1954) (1953). 27) **宮田栄** : 日病会誌, 42巻総会号, 24 (1953). 28) **武藤知信** : ビタミンC欠乏症に於ける支柱組織の病理形態学的研究, (未発表), 29) **内藤・堀江・秋山** : 日本内分泌会誌, 29 : 84, (1953).
 30) **Norcross et al** : Ann. Int. Med. 36 : 751, (1952). 31) **大谷守** : 日本内分泌会誌, 29 : 84 (1953). 32) **Persson** : Acta Soc. Med. Upsaliensis [Upsala Läk. för Forch] 58 Suppl. 2 (Abs. in Ber. üb. allg. Path. 20 : 253, 1954) (1953). 33) **Pirani, Stepto, a. Sutherland** : J. Exp. Med. 93 : 217 (1952). 34) **Plotz, Howes, Blunt, Meyer, a. Ragan** : Arch. of Dermat. a. Syphil. 61 : 919, (1950). 35) **Poumean-Delille** : C. r. Soc. Biol. 145 : 577 (Abs. in

- Ber. üb. allg. Path. 12 : 268, 1952) (1951).
- 36) **Portugal, Lima, Rocha, Azulay, a. Silva** : Int. Arch. of Allergy 2 : 274 (Abs. in Excerpta Sect. V 6 : 162, 1953) (1951).
- 37) **Ragan** : Tr. of Conf. on Connective Tissue. New York (1950). 38) **Schober** : Zt. f. Krebsf. 59 : 28 (1953). 39) **Selye** : Stress. Montreal (1950). 40) **Selye** : J. A. M. A. 152 : 1207 (1953).
- 41) **Shapiro et al** : Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 76 : 854, (1951). 42) **Siebenmann** : Schweiz. Zt. f. Path. u. Bakt. 15 : 174 (Abs. in Am. J. Clin. Path. 22 : 998, 1952) (1952).
- 43) **Sissons a. Hadfield** : Brit. J. of Surg. 39 : 172 (Abs. in Ber. üb. allg. Path. 12 : 257, 1952) (1951). 44) **Sokoloff, Sharp, a. Kaufmann** : Arch. Int. Med. 88 : 627 (Abs. in Excerpta Sect. V 6 : 148, 1953) (1951). 45) **Spain, Molomut, a. Haber** : Science 112 : 2908, (1950).
- 46) **Spain, Molomut, a. Haber** : Am. J. of Path. 26 : 710 (1950). 47) **Spain a. Molomut** : Am. Rev. Tbc. 62 : 337, (1950).
- 48) **Spain. a. Molomut** : Am. J. of Path. 27 : 755, (1951). 49) **Sain a. Molomut** : Am. J. Clin. Path. 22 : 944, (1952). 50) **Spain, Molomut, a. Haber** : J. Lab. a. Clin. Med. 39 : 389 (Abs. in Ber. üb. allg. Path. 15 : 12, 1953) (1952).
- 51) **佐田行夫** : 結合織の電子顕微鏡的研究, (未発表). 52) **Taubenhaus, Taylor, a. Morton** : Endocrinology 51 : 183 (Abs. in Ber. üb. allg. Path. 17 : 167, 1953) (1952).
- 53) **Taubenhaus** : Rev. Canad. Biol. 12 : 199 (Abs. in Excerpta Sect. V 7 : 325, 1954) (1953). 54) **Taylor, Dittmer, a. Porter** : Surgery 31 : 683 (Abs. in Ber. üb. allg. Path. 15 : 224, 1953) (1952).
- 55) **Thomas a. Good** : J. Exp. Med. 95 : 409, (1952). 56) **Tilltson** : Arch. of Path. 52 : 119, (1951). 57) **Ungar** : Lancet 2/6738 (1952). 58) **Williams** : J. Path. a. Bact. 67 : 259 (1954). 59) **Winner a. Evans** : Tubercle 33 : 239 (Abs. in Ber. üb. allg. Path. 16 : 151, 1953). (1952).

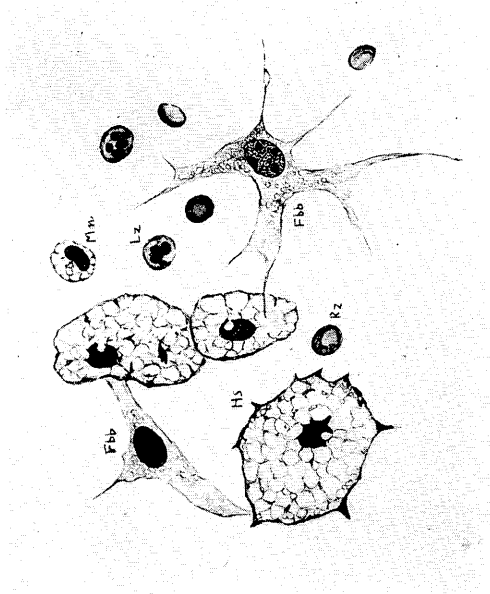
附 図 説 明

- 第1図 コルチゾーン注射48時間目皮下疎性結合織一般の部 小皮標本（以下同じ）細胞の空胞化。
Fb 線維細胞 Fbb 線維芽細胞
Hs 組織球 Mn 単核細胞
Lz 好中球 Rz 赤血球（以下同じ）
- 第2図 コルチゾーン注射例 創縁部 24時間 細胞の空胞化，好中球には空胞形成なし。
- 第3図 対照例 創縁部 3日目 健全な肉芽組織中の線維芽細胞とその核分割（Fbb）
- 第4図 コルチゾーン例 創縁部 3日目 細胞の空胞化，萎縮，好中球には著変なし。
- 第5図 ACTH 例 創縁部 3日目 肉芽組織の細胞著変なし。
- 第6図 対照例 創縁部 7日目 健全な肉芽組織の細胞。
- 第7図 コルチゾーン例 創縁部 6日目 各種細胞の著明な萎縮と空胞化
- 第8図 ACTH 例 創縁部 7日目 肉芽組織の線維芽細胞の増生。
- 第9図 対照例 創縁部 5日目 切片標本 H-E 染色。肉芽組織が著明に認められる。
- 第10図 コルチゾーン例 創縁部 5日目 切片標本 H-E 染色。創縁には肉芽は殆ど欠除し，皮膚は萎縮性。
- 第11図 ACTH 例 創縁部 5日目 切片標本 H-E 染色。肉芽組織の形成は著明である。
- 第12図 コルチゾーン注射 6日目 皮下疎性結合織 小皮標本 鉄ヘマトキシリン・ラック染色（以下同じ）。固着細胞は萎縮，変性著しい。
- 第13図 対照例 創縁部 24時間目 小皮標本 線維芽細胞の新生，単核細胞豊富。
- 第14図 コルチゾーン例 創縁部 24時間目 小皮標本 細胞成分に乏しく，その空胞化認めらる。
- 第15図 対照例 創縁部 3日目 小皮標本 健全な肉芽組織で線維芽細胞の著しい増生を示す。赤血球の溢血あり。
- 第16図 コルチゾーンの例 創縁部 3日目 小皮標本 細胞成分に乏しく，その空胞化，萎縮は著しい。
- 第17図 対照例 創縁部 7日目 小皮標本 健全な肉芽組織。
- 第18図 コルチゾーン例 創縁部 6日目 小皮標本 細胞成分に乏しく萎縮性。
- 第19図 ACTH 例 創縁部 7日目 小皮標本 肉芽組織の細胞は豊富で著変はない。
- 第20図 コルチゾーン例 5日目 但し創口に対照例の血液を塗抹したもの。小皮標本 線維芽細胞の軽度の増生あり，空胞化は少ない。

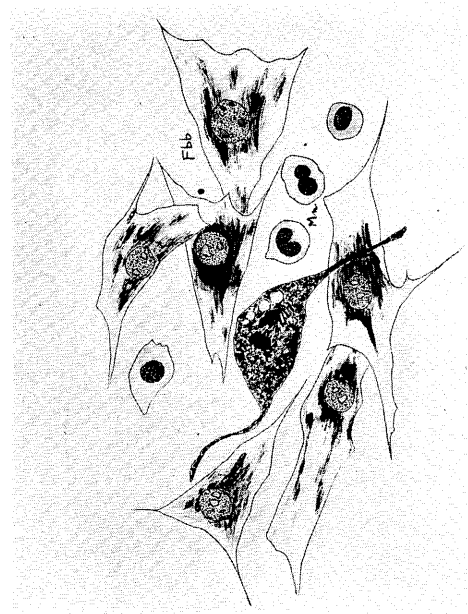
菘野論文 附圖 (1)



第 1 圖



第 2 圖



第 3 圖



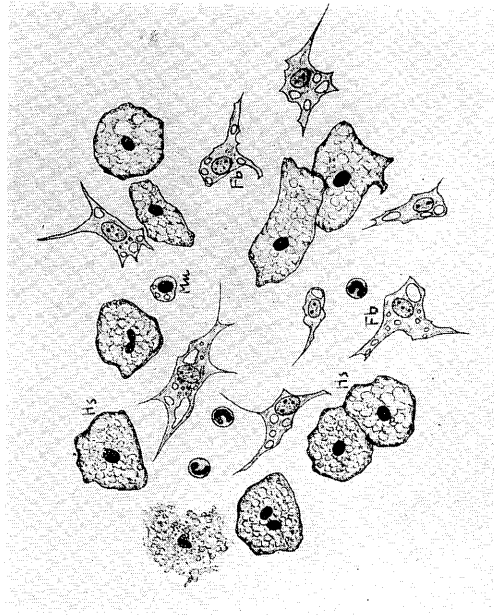
第 4 圖



第 5 圖



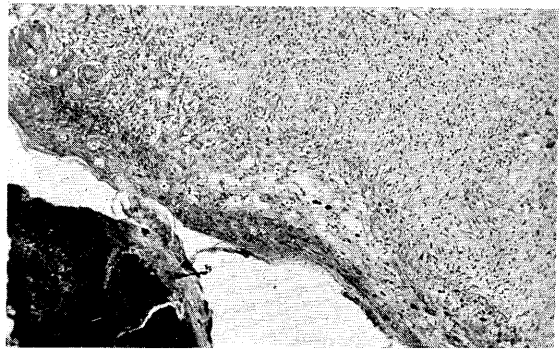
第 6 圖



第 7 圖



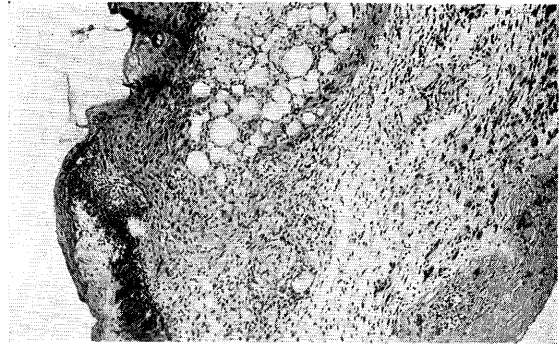
第 8 圖



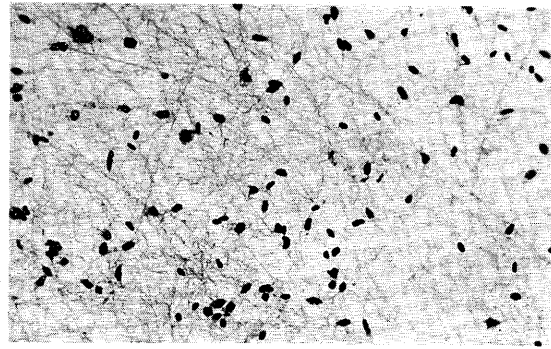
第 9 圖



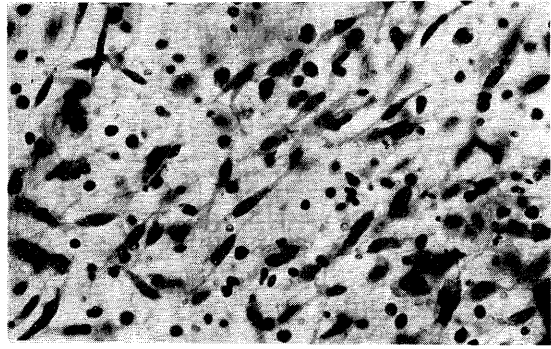
第 10 圖



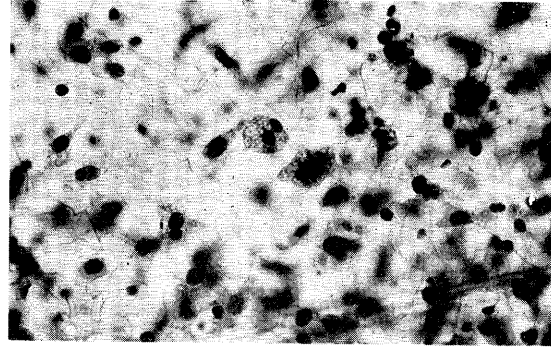
第 11 圖



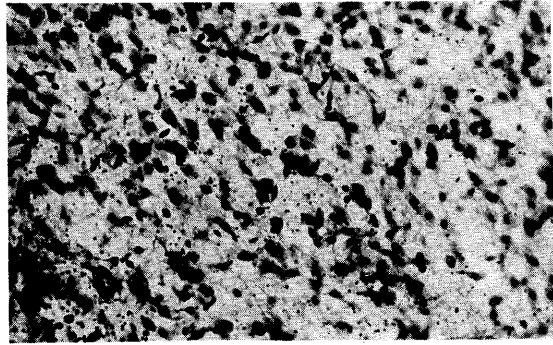
第 12 圖



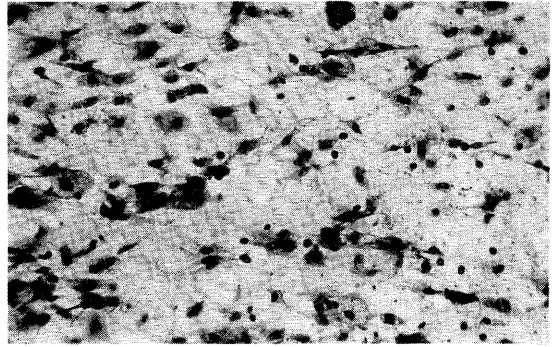
第 13 圖



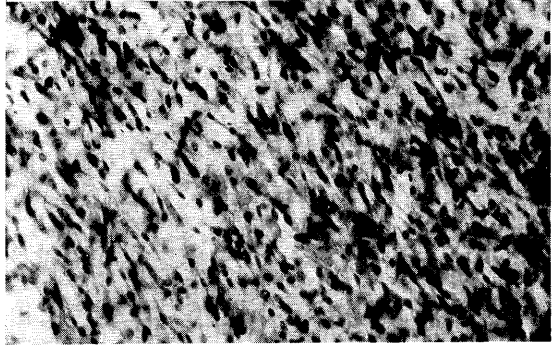
第 14 圖



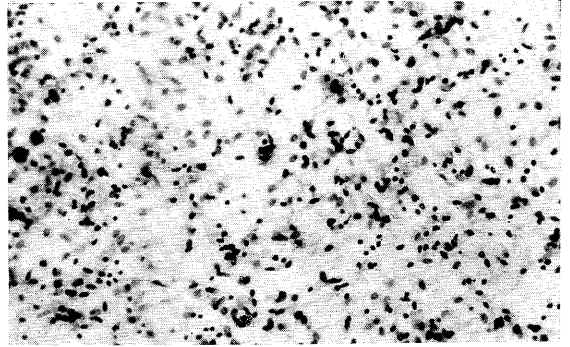
第 15 圖



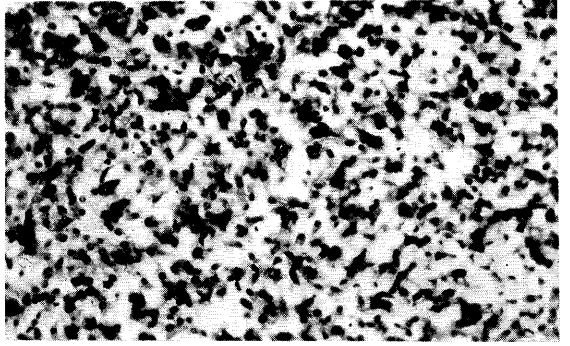
第 16 圖



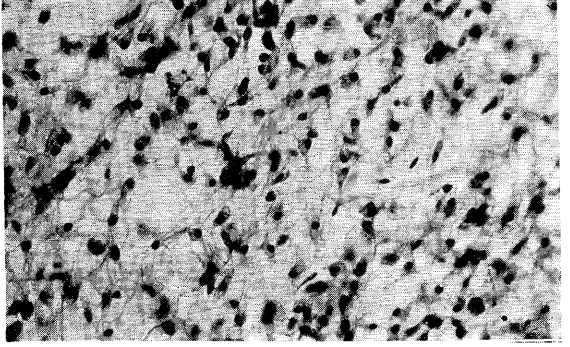
第 17 圖



第 18 圖



第 19 圖



第 20 圖