Einflüsse des Cortisons auf die Vitalfärbung der fibrohistiocyitären Zellgemeinschaft und auf die Farbstoffausscheidung der Niere.

コルチゾンが線組細胞系の生染と腎の染料排泄に及ぼす影響.

Kyohei FUJISAWA 藤 沢 享 平.

[Eingegangen am 29. August 1955.]

Nach den bisherigen Untersuchungen von Autoren wirkt Cortison gewöhnlich hemmend auf die Entwicklung und Funktion verschiedener mesenchymaler Zellen. So kommt es z. B. zu einer Schrumpfung des Lymphgewebes und einer Verminderung der Lymphocyten in der Blutbahn, wenn das Cortison in den Tierkörper injiziert wird. ŌNO und ADACHI (1952) injizierten Hormone aus der Nebennierenrinde in die Unterhaut von Ratten und bemerkten die Degeneration und den Untergang der Plasmazellen in den mesenterialen Lymphknötchen. Nach der Beobachtung von KAUFMAN u. a. (1953) wird auch in vitro, d. h. in einem gläsernen Gefäß, die Wanderungsgeschwindigkeit der Fibrocyten aus dem Herzen des Hühnerembryos durch Cortisonzusatz herabgesetzt. Über die hemmende Wirkung von Cortison auf die Phagocytose gibt es z. B. eine Untersuchung von CLAWSON und NERENBERG (1953), wonach die KUPFFERzellen der Leber und die anderen Retikuloendothelien der Ratte nach der Einverleibung von Cortison intravenös injizierte Streptokokken weniger aktiv aufnehmen. BJORNEBOE u. a. (1951) injizierten eine Vakzine aus Pneumokokken in die Vene des Kaninchens und bei einigen Versuchen zugleich Cortison in den Muskel. In dem letzteren Fall wurden in der Milz Plasmazellen, Monocyten usw. in weniger Zahl vorgefunden. Neuerdings führte BAKER (1954) Pillen von Cortison durch den konjunktivalen Sack in das Gewebe der Augenhöhle der Ratte hinein und konstatierte nach 10—12 Tagen, daß das Erscheinen von Fibrocyten, Makrophagen, Riesenzellen usw. in der Umgebung der Pillen sehr gehemmt worden war.

Ich selbst (1954) habe auch eine inaktivierende Wirkung des Cortisons auf die fibrohistiocytaire Zellgemeinschaft beobachtet. Eine der merklichen Fähigkeiten der Zellgemeinschaft ist, daß die dazu gehörenden Fibrohistiocyten und Histiocyten saure Farbstoffe und somit auch vielleicht Viren aufspeichern und die Fibrohistiocyten, Monocyten usw. Bazillen und grobe Körperchen phagocytieren. In vorliegender Arbeit untersuchte ich an Mäusen nach Einverleibung von Farbstoff und Cortison die Färbungsstärke der umstehenden Seite der Haut wie TOMINAGA (1944) und die durch

die Niere ausgeschiedene Farbstoffmenge wie SATOMI (1953).

I. Material und Methode.

Es wurden Experimente an 163 reifen Mäusen gemacht. Die Cortisonlösung wurde so bereitet, daß man 0.1 cc Corton von MERCK mit 0.2 cc destilliertem Wasser verdünnte. In der Zeit von 24 und 48 Stunden nach der Einverleibung von 0.1 cc Cortisonlösung in die Unterhaut der Bauchgend wurde 0.1 cc von 1%iger Trypanblaulösung, die mit 0.4%iger Kochsalzlösung hergestellt war, in die Vene des Schwanzes eingeführt. Zu bemerken ist hierbei, daß in meinem früheren Versuch bei Mäusen (1954) die Wirkung der gleichen Menge von Cortison auf die Bindegewebszellen nach 24 Stunden am stärksten zutage trat.

Die Haut wurde samt dem Unterhautgewebe abgezogen und in einer gleichmäßigen Spannung mit der umstehenden Seite nach oben auf einem Blatt ausgebreitet. Man bezeichnete die Stärke der blauen Färbung der Haut mit $-$, $\pm$, $+$, $++$ bzw. $+++$.

Die mit dem Harn ausgeschiedenen Farbstoffmenge wurde folgenderweise bestimmt. Sofort nach der intravenösen Injektion mit Trypanblau brachte man die Maus in ein Becherglas, auf dessen Boden ein Filtrierpapier gelegt war, und bewachte sie Tag und Nacht, um nach jedem Urinlassen das Filtrierpapier zu wechseln.

Zuvor tröpfelte man mit einer Pipette 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 und 0.5 cc von Trypanblaulösung von beliebiger Konzentration auf ein Filtrierpapier und bemaß ihre Ausbreitung. Aus der Farbstoffverbreitung konnte man umgekehrt die ungefährere Flüssigkeitsmenge bestimmen. Die Konzentration von Trypanblau in dem auf dem Filtrierpapier gelassenen Harn wurde im Vergleich mit einer Farbenskala ermittelt. Die Farbenskala wurde so bereitet, daß man einen Streifen Filtrierpapier mit einer 0.001-, 0.002-, 0.003, 0.004-, 0.005-, 0.006, 0.007-, 0.008, 0.009-, 0.01-, 0.02-, 0.05-, 0.008- bzw. 0.1%ige Trypanblaulösung färbte. Die Farbstoffmenge im Harn wurde aus der oben bestimmten Harnmenge und Farbstoffkonzentration berechnet.

Der gelassene Harn färbte sich anfänglich rötlich, aber bald immer stärker blau, um schließlich praktisch ganz blau zu werden.

II. Resultate der Experimente und Auswertung.

a) *Färbung der Haut.*

Wenn man Trypanblau 24 Stunden nach der subkutanen Einverleibung von Cortison intravenös injiziert, so wird die umstehenden Fläche der Haut nach 8 Stunden viel schwächer gefärbt als beim Kontrolltier (Abb. 1). Diese schwächere Färbung, läßt sich nach weiteren 24 Stunden noch deutlich erkennen (Tabelle 1). Aber nach Ablauf von 2 Tagen unter-

Abb. 1. A. Umstehende Fläche der Haut. 8 Stunden nach einer Trypanblauinjektion in die Vene der Maus, die zuvor eine subkutane Einverleibung von Cortison in der Bauchgegend erhalten hat. B. Kontrolltier, dem nur Trypanblau intravenös injiziert wurde.

Tabelle 1. Färbung der umstehenden Seite der Haut der mit Trypanblau injizierten Mäuse, die 24 Stunden vor der Farbstoffinjektion eine Cortisoneinverleibung erhalten haben.

	Zeitablauf nach der intravenösen Trypanblauinjektion					
	8 Std	1 T	2 T	3 T	5 T	7 T
Cortisonmaus	±	+	++	++	±	±
Kontrollmaus (ohne Cortisoneinverleibung)	+	++	++	+	±	±

Abb. 2. Auf das Filtrierpapier abgelassene Harne. a, b, f und h von den mit Trypanblau injizierten Mäusen, die 24 Stunden vorher eine Cortisoneinverleibung erhalten haben. i Von einem Tier, dem 48 Stunden vorher Cortison einverleibt worden ist. Die Zahlen zeigen den Zeitablauf (Stunden und Minuten). Die linke Reihe der Harne wurde aus dem Cortisontier und die rechte aus dem Kontrolltier gewonnen.

scheidet sich die Färbung fast nicht mehr von der zur Kontrolle vorgenommenen Färbung.

Injiziert man aber Trypanblau 48 Stunden nach der Cortisoneinverleibung, so tritt der Färbungsunterschied zwischen Versuchs- und Kontrolltieren regelmäßig in geringerem Grad zutage.

b) *Ausscheidung von Trypanblau mit dem Harn.*

Wenn die intravenöse Trypanblauinjektion 24 Stunden nach einer subkutanen Einverleibung von Cortison vorgenommen wird, so wird mehr Farbstoff ausgeschieden als nach einer bloßen Farbstoffinjektion. Die Farbstoffausscheidung erreicht nach 8 Stunden ihren Höhepunkt (Tabelle 2; Abb. 2 u. 3). Aber nach 24 Stunden wird der Unterschied zwischen dem Cortisoninjizierten und normalen Tiere kaum bemerkbar. Bei noch größeren Zeitabständen wird der Farbstoff eher beim Normaltiere in größerem Maße ausgeschieden, bis schließlich nach 3 Tagen der Unterschied der Farbstoffausscheidung zwischen den beiden Tieren wieder unbemerkbar wird (Abb. 2 a, b, f, h; Abb. 3).

Injiziert man Trypanblau nicht 24 Stunden, sondern 48 Stunden nach dem Cortison, so erfolgt die Farbstoffausscheidung in gleichem Maße

Abb. 3. Übergang von Trypanblau in den Harn, — bei der Maus, die 24 Stunden vor der intravenösen Trypanblauinjektion eine subkutane Cortisoneinverleibung erhalten hat. ---- bei dem Kontrolltier.

Tabelle 2. Die mit dem Harn ausgeschiedene Trypanblaumenge bei Mäusen, die 24 Stunden vor der Farbstoffinjektion eine Cortisoneinverleibung erhalten haben (mg/1000). Die Kontrolltiere haben keine Cortisoneinverleibung erhalten.

		Zeitablauf nach der intravenösen Trypanblauinjektion (Std)								
		8	16	24	32	40	48	56	64	72
a	13 g Gewicht	1.4	1.0	0.7	0.4	0.4	0.3	0.2	0.2	0.1
	Kontrolle	1.3	0.8	0.4	0.6	0.5	0.3	0.3	0.2	0.1
b	14 g Gewicht	1.4	0.6	0.5	0.5	0.5	0.4	0.2	0.2	0.1
	Kontrolle	1.1	0.7	0.6	0.6	0.4	0.4	0.3	0.2	0.1
c	14.5 g Gewicht	1.7	0.7	0.5	0.4	0.3	0.3	0.3	0.1	0.1
	Kontrolle	1.4	1.0	0.8	0.6	0.3	0.5	0.3	0.3	0.2
d	17 g Gewicht	1.3	0.7	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2
	Kontrolle	0.9	0.4	0.6	0.5	0.6	0.3	0.5	0.3	0.2
e	14 g Gewicht	1.2	0.7	0.4	0.5	0.2	0.2	0.1	0.0	0.1
	Kontrolle	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.4	0.2	0.1	0.1
f	22 g Gewicht	1.6	0.8	0.6	0.6	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1
	Kontrolle	1.3	0.5	0.5	0.7	0.5	0.3	0.4	0.3	0.1
g	14 g Gewicht	1.5	1.1	0.7	0.4	0.2	0.2	0.2	0.1	0.0
	Kontrolle	1.0	0.6	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.2	0.2
h	15 g Gewicht	1.8	0.9	0.6	0.3	0.3	0.2	0.1	0.1	0.1
	Kontrolle	1.5	0.7	0.7	0.4	0.4	0.6	0.3	0.2	0.2
Mittelwert		1.51	0.81	0.55	0.42	0.31	0.28	0.20	0.14	0.10
		1.11	0.66	0.59	0.51	0.43	0.40	0.31	0.21	0.14

Tabelle 3. Die mit dem Harn ausgeschiedene Trypanblaumenge bei Mäusen, die 48 Stunden vor der Farbstoffinjektion eine Cortisoneinverleibung erhalten haben (mg/1000).

		Zeitablauf nach der intravenösen Trypanblauinjektion (Std)								
		8	16	24	32	40	48	56	64	72
i	13 g Gewicht	0.9	0.8	0.6	0.4	0.3	0.2	0.1	0.1	0.1
	Kontrolle	0.8	0.7	0.6	0.4	0.3	0.2	0.1	0.1	0.0
j	15 g Gewicht	1.2	0.6	0.6	0.5	0.3	0.3	0.1	0.1	0.0
	Kontrolle	1.0	0.6	0.6	0.5	0.3	0.2	0.1	0.1	0.1

wie bei dem Tiere ohne vorhergegangene Cortisoneinverleibung (Tabelle 3; Abb. 2 i).

Früher hat TOMINAGA (1944) darauf aufmerksam gemacht, daß bei der Steigerung des Farbstoffspeicherungsvermögens der fibrohistiocytären Zellgemeinschaft nach dem Bad in gewissen warmen Quellen das im Körper zirkulierende Trypanblau weniger in den Harn übergeht. Bei meinem Versuche wurde dagegen die fibrohistiocytäre Zellgemeinschaft, wie in meiner früheren Arbeit (1954) gezeigt ist, durch Cortison zur Atrophie gebracht. Der im Körper zirkulierende Farbstoff muß dabei mehr in den Harn übergehen, weil er von der fibrohistiocytären Zellgemeinschaft weniger aufgespeichert wird.

Die Dauer der Cortisonwirkung im Tierkörper ist kurz. Wenn man Trypanblau nicht 1 Tag, sondern 2 Tagen nach der Cortisoneinverleibung intravenös injiziert, so tritt zwischen dem Cortison- und Kontrolltiere kein Unterschied der Farbstoffausscheidung mit dem Harn auf.

Nach der Inhalation des Schwefelwasserstoffgases beobachteten SEKI und ITAOKA (1950) eine Atrophie der fibrohistiocytären Zellgemeinschaft, danach folgt rückschlägig eine starke Aktivierung der Zellgemeinschaft. Beim Cortison läßt sich aber eine solche rückschlägige Funktionssteigerung nach der Atrophie nicht konstatieren.

III. Zusammenfassung.

Bei der Maus, die 1—2 Tage vorher eine subkutane Einverleibung von Cortison erhalten hat, speichern die fibrohistiocytäre Zellgemeinschaft in der Haut das intravenös injizierte Trypanblau weniger auf als bei der Maus ohne angehende Cortisoneinverleibung. Die im Harn eintretende Farbstoffmenge ist dementsprechend zunächst bei den Cortisontieren größer.

内 容 自 抄.

二十鼠にトリパン青を静注する 1—2 日前にコルチゾンを腹部皮下に注射しておけば、コルチゾンを注射しておかない場合に比して、皮膚の線組細胞系が染料を多く取る。従って尿への染料移行量は初めコルチジン動物に多いことが見られた。

Literatur.

Baker, B. L.: The connective tissue reaction around implanted pellets of steroid hormones. *Anat. Rec.* 119 (1954). — **Bjorneboe, M., E. Fischell, a. H. Stoerk:** The effect of cortisone and adrenocorticotrophic hormone on the concentration of circulating antibody. *J. exp. Med.* 93 (1951). — **Clawson, B. J. a. S. T. Nerenberg:** The effect of large doses of cortisone upon the ability

of the reticuloendothelial cells to phagocytose streptococci. J. Labor. a. clin. Med. 42 (1953). — **Fujisawa, K.**: Einfluß von Cortison auf die Reaktion der Bindegewebszellen auf die Mäusentyphusbacillen. Arch. hist. jap. 6 (1954). — **Kaufman, N. M.** a. **T. D. Kinney**: The effect of steroids on fibroblast migration in vitro. Amer. J. Path. 29 (1953). — **Ohno, S.** a. **G. Adachi**: Cytotoxic action of hormones of the adrenal cortex on plasmacells. (Jap.) Igaku to Seibutsugaku 23 (1952). — **Satomi, T.**: Einfluß der Inhalation von Schwefelwasserstoff und der intravenösen Einverleibung von Natriumsulfid auf die Vitalfärbung des fibrohistiocyten Systems und die Ausscheidung des Farbstoffes durch Nieren. (Jap. m. dtsh. Zfass.) Arch. hist. jap. 4 (1953). — **Seki, M.** a. **K. Itaoka**: On the changes of the fibrohistiocytic system following the inhalation of sulphur gas. (Jap. m. engl. Zfass.) Arch. hist. jap. 1 (1950). — **Tominaga, T.**: Einfluß der Mineralbäder auf die Vitalfärbung des fibrohistiocyten Systems und die Ausscheidung des Farbstoffes durch Nieren. (Jap.) Jap. J. Balneo-Klimat. 10 (1944).