

# 実験的結核症に対するコルチコステロイドの影響

## 第 IV 編 抗結核剤との併用効果について

青 木 正 和

結核予防会結核研究所 (所長 隈部英雄)

受 付 昭 和 35 年 11 月 24 日

### I 緒 言

前編までに実験的結核症に対する cortisone 単独投与の影響について述べてきたが、本編では SM との併用効果についての成績を報告する。併用実験の報告もすでに多くみられているが、あるいは抗結核剤と併用しても cortisone による悪化は防げなかつたといひ、また、あるいは抗結核剤の効果の増強をみたともいわれ、その成績は一致をみていない。cortisone 単独投与実験のさいに述べたように、動物の種の差にもとづく cortisone 感受性の相違や実験条件の差によるものと考えられる。本編では cortisone の影響の現われにくい海狸と、著明な影響のみられる家兎の 2 動物を実験動物とし、組織学的観察とともに細菌学的検索もあわせて行って成績の検討を試みた。

### II 第 I 実験

#### 1) 実験方法

使用動物、感染方法などは第 II 編実験 I と同様であるが、その大要を述べると次のごとくである。体重 300 g 前後の健康雄性海狸 20 頭を用い、強毒人型菌清 H<sub>1</sub> 株 0.01 mg を右下腹部皮下に接種し、次の 4 群に分けた。  
〔A<sub>1</sub> 群〕 SM 群 5 頭、感染第 4 週より SM 10 mg を投与し 3 週間継続後剖検した。SM は dihydrostreptomycin (科研) を用い、その 10 mg を 0.25 cc 中に含有せしめて腹部皮下に注射した。

〔B<sub>1</sub> 群〕 prednisolone + SM 群 5 頭、prednisolone 0.5 mg と SM 10 mg を同じく感染第 4 週より併用投与し、3 週間投与後剖検した。prednisolone は前編単独投与実験と同量である。

〔A<sub>2</sub> 群〕 SM 群 5 頭、感染第 7 週より 5 週間 SM 10 mg を投与して剖検した。

〔B<sub>2</sub> 群〕 prednisolone + SM 群 5 頭、同じく感染第 7 週より治療を開始し 5 週間継続後剖検した。

なお、A<sub>1</sub>、B<sub>1</sub> 群の治療開始時対照として第 3 週の終りに 3 頭を剖検し、A<sub>2</sub>、B<sub>2</sub> 群の対照として第 6 週の終りに 8 頭を剖検した。これら対照群の剖検時肉眼的所見は表 1 に示したが精しい記載は省略する。第 II

編第 I 実験の第 6 週剖検群が A<sub>2</sub>、B<sub>2</sub> 群の治療開始時対照群にあたる。

観察方法も単独投与実験と同じく、毎週体重測定、感染局所の観察などを行い、剖検時には肉眼的観察、組織学的観察ならびに肺、肝の臓器内結核菌の定量培養を行った。

#### 2) 実験成績

i) 経過の観察および体重の変動：接種局所は第 2 週より潰瘍の形成をみはじめ、第 4 週治療開始時には 10 × 10 mm 程度の潰瘍をみ、所属リンパ腺は大豆大の腫脹をみた。治療開始後、併用群では SM 群より潰瘍の縮小清浄化がややよい傾向であつた。両群とも順調な体重の増加がみられ、実験中死亡した動物はみられなかつた。第 7 週治療開始群では治療第 3 週ごろより局所は痂皮形成ないし痂痕治を當み A<sub>2</sub>、B<sub>2</sub> 群間では治癒経過にほとんど差をみなかつた。A<sub>2</sub> 群で治療第 1 週に 1 頭、第 3 週に 2 頭の死亡 (非結核性) をみたが、他は比較的順調に体重の増加をみた。

ii) 剖検時肉眼的所見：各群の肉眼的所見の大要は表 1 および図 1 にみるごとくである。A<sub>1</sub> 群では感染局所は 1 例で小さい潰瘍をみ、2 例で痂皮形成をみたほかは痂痕性であつたが、B<sub>1</sub> 群では全例痂痕性であつた。両群とも局所リンパ腺の腫脹を除けば、リンパ腺および内臓病変はきわめて軽度であり、ヒストグラムでも両群間に差を認めない。

A<sub>2</sub>、B<sub>2</sub> 群でも両群間に肉眼的に差を見出せなかつた。

#### iii) 組織学的所見

〔A<sub>1</sub> 群〕 感染局所：5 例中 2 例では組織学的に浅い潰瘍をみ、他の 3 例でも上皮の再生は不完全であり、限局性萎縮性の結核結節をかなり認める。

局所リンパ腺：膠原線維および増殖性結核性肉芽によつて囲まれた、あまり大きくない膿瘍よりなる。

門脈腺および気管腺：結核結節をわずかに認める。格子線維の増殖は著明でない。肺にはほとんど結節を認めず、肝および脾では小さい繁殖性結節をわずかに認めるのみである。

〔B<sub>1</sub> 群〕 感染局所：潰瘍をみる例はなく、上皮再生

表1〔実験I〕肉眼的所見

実験群	海狼番号	局所の変化	リンパ腺									内臓						
			右膝腓腺	右鼠蹊腺	左膝腓腺	左鼠蹊腺	右腋窩腺	左腋窩腺	後胸骨腺	後腹膜腺	門脈腺	気管腺	肺臓	肝臓	脾臓	脾重量	腎臓	
治療前	11	G	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	0.9	-
	12	G	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.8	-
	13	G	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.9	-
(A <sub>1</sub> ) SM単群	41	N	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.5	-
	42	N	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4	-
	43	K	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	0.7	-
	44	G	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	0.8	-
	45	K	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	0.6	-
(B <sub>1</sub> ) SM + プロロニ	31	N	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	1.1	-
	32	N	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	-
	33	N	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	0.6	-
	34	N	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	0.5	-
	35	N	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.7	-
治療前対照	14	G	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	1.3	-
	15	G	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	1.1	-
	16	G	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	0.9	-
	17	G	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	1.9	-
	18	G	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	1.1	-
(A <sub>2</sub> ) SM群	56	N	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	0.9	-
	57	N	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	1.1	-
(B <sub>2</sub> ) SM + プロロニ群	71	N	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	1.0	-
	72	N	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.9	-
	73	N	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	0.9	-
	74	N	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	1.2	-
	75	N	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	1.0	-

の不完全なものを5例中1例にみるのみである。結節もSM群より少なく、より小さいものが多く、類上皮細胞の萎縮の度が強い感じである。細胞浸潤の限局化もよい。

局所リンパ腺：SM群よりやや小さく、膿瘍周辺の肉芽も少ない。

気管および門脈腺：よく限局された結節をわずかにみるのみである。格子線維はほとんどみられない。

肺にはほとんど結節をみない。肝、脾の結節もA<sub>1</sub>群よりさらに少なく、繁殖性結核結節をわずかにみるのみである。

〔A<sub>2</sub>群〕感染局所：1例では上皮再生不完全で真皮には限局化された増殖性結節をかなり多数認め、他の1例では真皮にわずかの結節を認めるのみである。

局所リンパ腺：ほとんど全体が膿瘍で占められ、周辺には格子線維および膠原線維の増殖を伴う肉芽を認め

る。

気管および門脈腺：膠原化傾向をもつ増殖性結核結節を認める。

肺：1例ではかなり大きい結節を認めるが、他例では結節をみない。肝および脾では貧弱な結節をわずかにみるのみである。

〔B<sub>2</sub>群〕感染局所：いずれも上皮は完全に再生され、真皮にも萎縮性の小さい結節をみるのみで、SM群の1例でみたとき多数の結節をもつ例はみられなかった。

局所リンパ腺：SM群とほぼ同様であるが、線維形成はやや弱い。

気管および門脈腺：結節はA<sub>2</sub>群よりやや少なく、格子線維の増殖も弱い。

肺：きわめて貧弱な結節をわずかに認めるのみである。

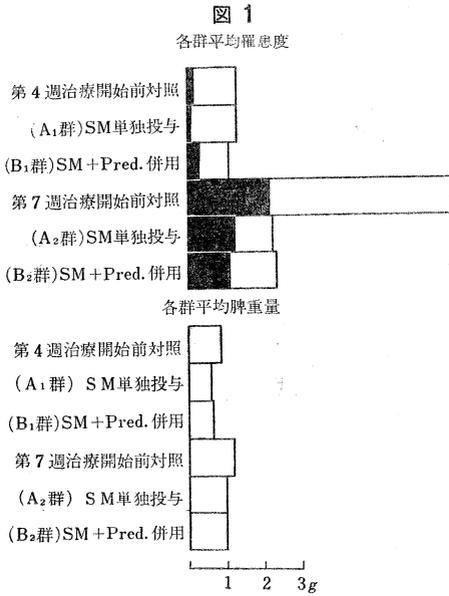


表 2 [実験 I] 臓器内結核菌定量培養成績

(A <sub>1</sub> ) SM 単独群			(B <sub>1</sub> ) 併用群			(A <sub>2</sub> ) SM 単独群			(B <sub>2</sub> ) 併用群		
動物番号	肺	肝	動物番号	肺	肝	動物番号	肺	肝	動物番号	肺	肝
41	0.6×10	0.3×10	31	0	0	56	0.3	0	71	0	0.3
42	0	1×10	32	0	0.3×10	57	0	0	72	0	1
43	0	0	33	0	0				73	0	3
44	0	0.5×10	34	0	0				74	3	1
45	0	0	35	0	1.5×0				75	1	0

をみはじめ、治療の経過には両群間にはほとんど差をみなかったが、局所リンパ腺の縮小は併用群でやや著明であった。体重は両群とも順調に増加をみた。

剖検時の肉眼的所見は表 3 および図 2 のごとく著しい病巣の治癒をみ、とくに併用群ではほとんど病変をみることができなかった。組織学的にも併用群の方が病変少なく、感染局所では上皮再生はよく、真皮の結核結節は少なかった。局所リンパ腺も併用群ではほとんど腫脹をみず、組織学的にも萎縮性の結節をみるのみであった。他のリンパ腺および内臓には病変を認めなかった。

なお臓器内結核菌の定量培養では、肺および肝で両群とも全例結核菌陰性であった。

#### IV 第 III 実験

##### 1) 実験方法

感染方法などは第 III 編の家兎での実験と同様である。すなわち、健康雄性家兎 6 羽に牛型 Ravenel 株結核菌 0.01 mg を静脈内に接種し、3 週間放置ののち第 4 週より次の 2 群に分けて治療を行った。

〔SM 群〕 3羽、硫酸ジヒドロストربتマイシン 60

肝および脾では結節はほとんど認められない。

v) 臓器内結核菌定量培養成績：肺および肝の臓器内結核菌定量培養成績は表 2 のごとくである。4 群ともわずかの結核菌をみるのみで、各群間に差は見出されなかった。

#### III 第 II 実験

海猿 8 頭を用い cortisone 投与量を増加して同様の実験を試みた。実験方法は第 II 編第 II 実験と同じで、人型結核菌清 H<sub>1</sub> 株 0.01 mg を右下腹部皮下に接種して感染せしめた。感染第 4 週より治療を行い、SM 10 mg 投与群および cortisone 10 mg + SM 10 mg 併用群の 2 群について観察した。

当実験は治療実験としては全例感染度が弱すぎ、また得られた成績は第 I 実験とほぼ同様であったので簡単に報告するにとどめる。

すなわち、両群とも治療第 3 週より局所潰瘍の治癒

mg を連日投与し、3 週間継続後剖検した。

〔cortisone + SM 群〕 3 羽、同じく第 4 週より SM 60 mg および cortisone 10 mg を連日投与し、治療 3 週ののちに剖検した。cortisone 量は第 III 編の cortisone 単独投与実験と同量である。

観察方法も第 III 編に述べたと同様で、毎週体重測定、全身状態の観察を行い、剖検時には肉眼的所見および組織学的所見の観察とともに、肺、肝、脾の臓器内結核菌の定量培養を行った。なお治療開始時対照群はつくらなかったが、第 III 編で述べた感染後 30 日剖検群をその参考にした。

##### 2) 実験成績

i) 経過の観察および体重の変動：SM 群、併用群とも実験中死亡した動物はみなかった。また、実験経過中一般状態の異常をみた動物もなかった。体重は併用群でわずかの減少傾向をみた。

ii) 剖検時肉眼的所見：剖検時の肉眼的所見の概要は図 3 のごとくである。

〔SM 群〕 肺には粟粒大より大豆大までの中心乾酪化した病巣が撒布し、脾、肝にも小病巣の撒布をみる。脾

表3 [実験II] 肉眼的所見

実験群	海猿番号	局所の変化	リンパ腺									内臓					
			右膝壁腺	右鼠蹊腺	左膝壁腺	左鼠蹊腺	右腋窩腺	左腋窩腺	後胸骨腺	後腹膜腺	門脈腺	気管腺	肺臓	肝臓	脾臓	脾重量	腎臓
SM群	3	N	⊕	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	1.0	-
	8	N	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.7	-
	16	N	⊕	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	0.6	-
	27	N	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.8	-
併用群	4	N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	-
	7	N	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3	-
	18	N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4	-
	23	N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.8	-

図2 [実験II] 各群平均罹患度

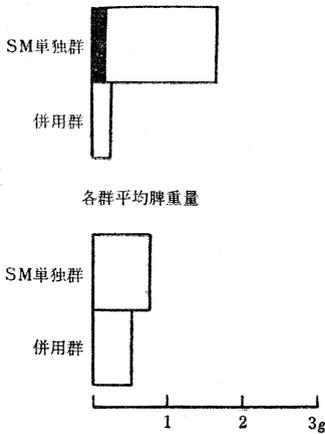
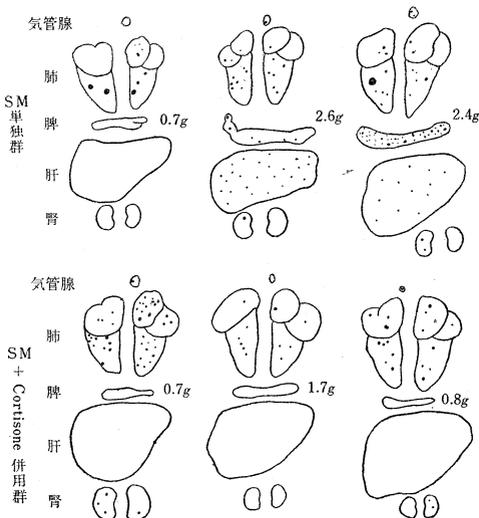


図3



の平均重量は 1.9 g である。腎にも 2 羽で病巣を認めた。副腎の平均重量は 530 mg である。

[併用群] 肺の罹患度は SM 群と著差ないが、脾では 2 羽で各 1 コの結節をみるのみであり、平均重量も 1.06 g で SM 群より軽い。肝では肉眼的に結節を認めない。腎では 2 羽で病巣を認めた。副腎の平均重量は 400 mg であった。

iii) 組織学的所見

[SM 群] 肺：中心に壊死をもつ比較的大きい定型的結核結節が少数認められる。格子線維の増殖は軽度である。結核菌はほとんど見出されない。

肝：主として小葉間結合織内にわずかの壊死を伴う結核結節を少数認める。格子線維はわずかに増殖をみる。

脾：リンパ濾胞に壊死をもつ結核結節を少数認める。

腎：異常を認めない。

気管腺：壊死を伴う増殖性結核結節が認められる。

[併用群] 肺：SM 群とほぼ同様であるが、壊死は SM 群より強く、かつ、大きく、ここに結核菌もやや多く見出される。

肝：定型的結核結節は全く認められず、萎縮した類上皮細胞集団をきわめてわずかにみるのみである。

脾：壊死を伴う結核結節を認めるが SM 群より少ない。壊死の大きさは SM 群とほぼ同程度であり、限局化が劣るということもない。結核菌はやや多くみられる。

腎：皮質に繁殖性結核結節を 1 コみるのみである。

気管腺：SM 群とほぼ同様であるが、格子線維の増殖はやや弱く、結核結節もやや少ない。

iv) 臓器内結核菌定量培養成績：肺、肝および脾の臓器内結核菌の定量培養の成績は表 4 および図 4 のごとくである。肝では両群にほとんど差をみず、併用群でやや少ない傾向すらみられるが、肺および脾では併用群で菌数が多かった。

V 総括および考察

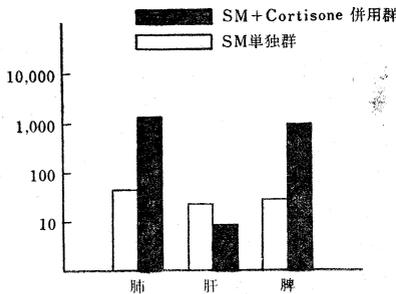
cortisone による実験的結核症の悪化が、抗生剤との

表4 臓器内結核菌定量培養成績

動物番号	SM 単独群			動物番号	SM+cortisone 併用群		
	肺	肝	脾		肺	肝	脾
4	36	0	0	7	800	0	2,400
5	3	216	690	8	1,800	12.6	3,000
6	1,040	40	2,200	9	2,000	40	156

各臓器 10mg 中の生菌数

図4 各群平均臓器内結核菌数



併用によって防止できるか否か、さらに、その治癒が促進されるか否かは、とくに臨床的立場から強い関心もたれ、現在までも多くの文献がみられている。Spain<sup>1)</sup>、Karlson<sup>2)</sup>、Bloch<sup>3)</sup>、Molomut<sup>4)</sup>、Cummings<sup>5)</sup>らは併用群の方がSM単独群より悪かつたといひ、高橋<sup>6)</sup>、山口<sup>7)</sup>、Karlsonの別の報告<sup>8)</sup>は両群に差がみられないといひ、McCune<sup>9)</sup>、徳久<sup>10)</sup>らは臓器内結核菌の定量培養でINH単独群と差をみなかつたと報告しており、さらに、Morgan<sup>11)</sup>、Bacos<sup>12)</sup>、Schmelz<sup>13)</sup>らは少なくとも悪化は防がれ、むしろ併用群で治癒が促進されたと述べている。

このような不一致の理由は、実験条件の相違と、判定方法の困難さによつてゐる。海狸を実験動物とした第I実験および第II実験では、cortisone 6 mg/kg または 25 mg/kg と SM 10 mg の併用群は、SM 10 mg 単独群と比較して、体重の変動、肉眼的剖検所見、肺および肝の臓器内結核菌の定量培養成績ではSM単独群とcortisone併用群との間に差がみられず、組織学的には感染局所で併用群において結核性肉芽ないし結節が少なく、肝、脾でも同様で、併用群でやや良効を得る傾向であつた。家兎を実験動物とした第III実験ではこの傾向はさらに著しく、肝、脾では肉眼的剖検所見においても併用群で良効がみられたが、肺および腎などでは差がみられず、結核菌定量培養成績では逆に肺および脾では併用群が劣る成績であつた。混乱をさけるため、この成績を整理してみると次のごとくである。すなわち、

組織学的に併用群の方が良効をみた器官

海狸の感染局所、肝、脾、リンパ腺

家兎の肝、脾、リンパ腺  
 組織学的に両群にほとんど差をみない器官  
 海狸の肺、家兎の肺、腎  
 細菌学的に併用群の方が良効をみた器官  
 家兎の肝  
 細菌学的に両群にほとんど差をみない器官  
 海狸の肺、肝  
 細菌学的に併用群の方が劣つていた器官  
 家兎の肺、脾

cortisone と抗生物質併用療法の成績に影響を及ぼす因子の1つとして、抗生物質の臓器内濃度分布の相違が考えられよう。Karlson<sup>8)</sup>は海狸の実験的結核症についての検討で、cortisone 2 mg と SM 2 mg の併用では併用群がはるかに悪かつたが、SMを6 mg とすると、両群に差がなかつたと報告しているが、器官による抗生剤濃度分布に差があれば、臓器によつて併用で良効をみる器官と、逆に悪化をみる器官があつてもよいと考えられる。しかし、腎ではSM濃度は高いといわれており<sup>14)</sup>、腎で併用効果がみられない上述の成績は、SM濃度分布の相違によつて説明することはできない。

一方、Morgan<sup>11)</sup>が述べているように、併用療法でもcortisone投与量が大量(家兎で20 mg 10日、10 mg 10日、5 mg 10日間投与、SMは60 mg ないし30 mg)のときは抗生剤単独群より劣つた成績が得られるという。器官による併用効果の相違も、器官によるcortisone濃度または感性の差によることも考えられないではない。

しかし、上述の成績を検討すると、併用効果の著明であつた肝は、治療開始時にほとんど壊死のない結節のみをもつ器官であり、両群にほとんど差をみなかつた肺は、治療開始時に比較的大きい壊死を伴う結核結節をみる器官であることが明らかとなる。脾には治療開始時に壊死を伴う結節も認められるが、壊死のない結核結節も多数みられている。感染局所も、主な変化はほとんど壊死のない結核性肉芽であつた。壊死のない結核結節ではSMによつて結核菌が影響を受ける一方、cortisoneによつて細胞浸潤の消退が促進され、併用群の方が良効をみたものと考えられるのである。第III編までに述べてきたように、cortisone単独投与で細胞浸潤の減弱がみられたことからこのことは支持されよう。

cortisoneによる炎症反応ないし肉芽組織の減弱は、起炎菌の減少によるものではなく、かえつて菌は著明な増殖をみることは、前編までに述べてきた通りである。このことは、抗生剤との併用療法においても、組織学的成績と細菌学的成績の不一致という点にもみられる。すなわち、海狸での実験では臓器内結核菌定量培養成績で両群に差をみなかつたが、家兎においては、肺では併用群とSM単独群で組織学的にほとんど差をみなかつたの

に結核菌は併用群で多数みられ、脾では併用群の方が結核結節の数は少なかつたにもかかわらず、結核菌は併用群に多かつた。cortisone と抗生物質併用療法にさいしての、この組織学的成績と細菌学的成績の不一致は、臨床的にはとくに注意さるべき所見であろう。したがって併用療法にさいしては、抗生物質の使用が十分に行わるべきであると考えられる。

なお、併用療法にさいしての cortisone 投与量についての検討、壊死物質の吸収が促進されるか否かの検討など、多くの問題が残されているが、これらについては今後研究を続ける予定である。

#### VI 第四編の結語

海狸および家兎を実験動物に用いて、cortisone と SM との併用療法について検討を加えた。海狸の実験的結核症に対する cortisone 6 mg/kg または 25 mg/kg と SM 10 mg との併用療法は、SM 10 mg 単独投与群と比較して、体重の変動、肉眼的剖検所見、肺および肝の臓器内結核菌の定量培養成績では差がみられない。しかし、組織学的に感染局所で結核性肉芽ないし結節は少なく、肝および脾でも結核結節は少なかつた。

家兎ではこの傾向はさらに著明である。

すなわち、cortisone 5 mg/kg と SM 60 mg の併用群は、SM 単独群に比して、肝および脾では肉眼的剖検所見においても良効を得た。しかし、肺および腎などでは両群に差がみられず、結核菌定量培養成績では肺および脾で併用群は SM 単独群に比し多くの結核菌を認めた。

cortisone と抗生剤の併用療法で良効を得るのは、治療開始時に壊死をみない病変についてであつて、壊死を伴う病変では当実験のごとき短期間の実験では両者の優劣を決定しがたい。

なお、家兎の脾で、肉眼的および組織学的に併用群で良効を得たにもかかわらず細菌学的に結核菌を多く認めたことは注意すべきで、併用療法にさいしては十分な抗

生物質の使用が必要であると考えられる。

稿を終るにあたり当研究にさいして御指導、御校閲を賜わり、終始御鞭撻をいただいた、東大北本治教授、当所隈部英雄所長、岩崎龍郎部長に深く感謝いたします。またいろいろ御援助をいただいた当所平沢彦佐吉、岩井和郎両先生をはじめ諸先生に感謝いたします。なお当所病理研究室石崎政明氏をはじめ牛窪清子氏その他の方々に感謝いたします。

#### 文 献

- 1) Spain, D.M. & Molomut, N. : Am. Rev. Tbc., 62 : 337, 1950.
- 2) Karlson, A.G. et al. : Dis. of Chest, 20 : 469, 1951.
- 3) Bloch, R.G. et al. : J. of Lab. and Clin. Med., 38 : 133, 1951.
- 4) Molomut, N. & Spain, D.M. : Am. Rev. Tbc., 67 : 101, 1953.
- 5) Cummings, M.M. et al. : Am. Rev. Tbc., 65 : 596, 1952.
- 6) 高橋智広 他 : 呼吸器診療, 13 : 669, 昭33.
- 7) 山口与一 : 最新医学, 10 : 1065, 昭30.
- 8) Karlson, A.G. et al. : Proc. Staffmeet. Mayo Clinic, 27 : 465, 1954.
- 9) McCune, R.M. et al. : Trans. 15th Conf. Chem. Tbc., 289, 1956.
- 10) 徳久梯次郎 他 : 日結, 17 : 580, 昭33.
- 11) Morgan, T.E. et al. : J. Bact., 67 : 257, 1954.
- 12) Bacos, J.M. & Smith, D.T. : Am. Rev. Tbc., 67 : 201, 1953.
- 13) Schmelev : Bull. intern. u. against Tbc., 27 : 190, 1957 より.
- 14) 工藤賢治 : 未発表.