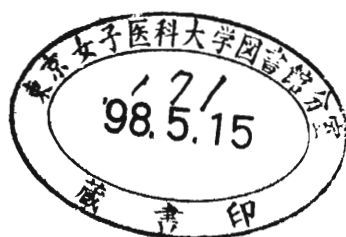


# 肺機能低下と血清サイトカイン値の 関連性に関する疫学的研究

課題番号：08670458

平成  
9年度科学研究費補助金  
基盤研究（C）一般  
研究成果報告書



平成10年3月  
研究代表者 中館俊夫  
(東京女子医科大学助教授)

## I はしがき

わが国を初め多くの先進国では、寿命の延長・人口の高齢化にともなっていわゆる慢性閉塞性肺疾患の死亡率の増加が観察されている。またわが国ではここ10年以上にわたり、肺炎・気管支炎の死亡率がとくに高齢者で急増しており、この背景に肺機能の低下、とくに慢性の気道閉塞性変化が関連している可能性がある。肺機能はQOLにも密接に関連するもので、今後の人口高齢化の進展を考えると、呼吸器に関連した健康状況についての研究が必要になっている。本研究は、予防的介入への応用を考えて、近年進歩の著しい末梢血液中の各種サイトカイン類のレベルと慢性閉塞性呼吸器障害のいわゆる golden standard である一秒量の縦断変化量を中心に、時定数分析などを加えた各種肺機能値の関連を疫学的に研究したものである。

## II 研究組織

研究代表者：中館俊夫

研究分担者：佐藤敏彦

## III 研究経費

平成8年度 1、300千円

平成9年度 600千円

---

計 1、900千円

## IV 研究発表

### 1. 学会誌等

- (1) 中館俊夫. 縦断観察による成人男性の一秒量、努力性肺活量の加齢低下.  
日本胸部疾患学会雑誌 1997;35:954-959.
- (2) Nakadate T. Pre-existing pulmonary fibrosis and subsequent acceleration of FEV1 decline. Excerpta Medica International Congress Series (ICS) 1153: in printing.

### 2. 口頭発表

- (1) 中館俊夫. 縦断観察による肺機能指標の変動と経年変化. 第69回日本産業衛生学会、旭川. 平成8年6月.
- (2) Toshio Nakadate. Relationship between cross-sectional pulmonary function level and longitudinal change in forced expiratory volume in one second. The XIV International Scientific Meeting of the International Epidemiological Association, Nagoya. Aug. 1996.
- (3) Toshio Nakadate. Pre-existing pulmonary fibrosis and subsequent acceleration of FEV1 decline. The 9th International Conference on Occupational Respiratory Diseases. Kyoto. Oct. 1997.
- (4) Toshio Nakadate. Cigarette smoking and accelerated annual loss of forced expiratory volume in one second (FEV1) in healthy male Japanese workers. The 2nd Asian-Pacific Congress of Epidemiology. Jan. 1998.

## V 研究の成果

### 1. 目的

これまで10年以上にわたって肺機能を中心に呼吸器の健康状態を縦断的に追跡している職域のコホートをを用いて、断面的な血清サイトカイン値の多寡が、断面的な肺機能レベルおよび縦断的な肺機能低下の度合いとどの程度相関するのかを疫学的な手法で明らかにし、慢性閉塞性の肺機能障害の高危険群への予防的介入への応用の可能性を検討するための基礎資料を得ることを目的とした。

### 2. 研究方法

#### 2-1 肺機能低下の縦断的観察

##### 2-1-1 対象者

肺機能の加齢にともなう低下を直接測定した対象コホートは、建材、工業用シール材等、一部アスベストを含む天然鉱物繊維を原材料とする工業製品を製造する2工場の従業員である。1985年以降、1987年を除く毎年春季に、これらの工場の全男性従業員に対して努力性スパイログラム検査を行った。1997年度の調査までの間に、2-2に示した基準を満たす「信頼できる」肺機能測定が実施できた年度が3回以上あり、かつそれらの有効な測定でカバーされる有効観察期間が6年以上である328名を対象とした。なお後に述べるサイトカインとの関連の分析はこの中から160名を抽出して行った。

##### 2-1-2 肺機能測定、指標

努力性スパイログラムはローリングシール型スパイロメータ（チェスト社製、CHESTAC65）で測定した。スパイロメータのプラスチック製ベルは10mlに相当する容積変化毎にパルスを発生する角度検出器に接続されている。この信号はパーソナルコンピュータにリアルタイムで入力され、信号発生の数とその間の経過時間から、各時点の流速が計算される。これらの情報に基づいて、通常の肺機能指標は各努力性呼出毎にただちに計算され、モニター上にスパイログラムおよびフローボリューム

曲線とともに表示される。モニター上には3回までの呼出を異なった色で同時に表示できるので、被検者がこれを見ながら努力性呼出の再現性、有効性の向上を図ることが容易である。

スパイロメータの周波数特性は10Hzまで±2%の誤差範囲であった。呼出の開始は、back-extrapolationによって補正を行った。各測定日には、午前と午後の測定開始時と終了時に2リットルのシリンジを用いてキャリブレーションを行って、スパイロメータの精度を確認した。スパイロメータには温度計がとりつけられており、体積として表される肺機能指標に対しては、リアルタイムで通常のBTSPS (Body temperature pressure saturated with water vapor)補正を行った。

努力性呼出は立位で行った。被検者は呼吸を整えた後、室内気の最大吸気を行い、そこでマウスピースを装着してただちにスパイロメータに努力性呼出を行った。このような、いわゆる開放系で測定したので、ノーズクリップは原則として用いなかったが、呼出中に鼻からの呼気漏れが疑われた場合はこれを装着させた。後で述べる有効性、再現性を満たす呼出が3回得られることを目標に、最高7回まで努力性呼出を繰り返した。各呼出の有効性、再現性は、呼出中の様子とスパイログラム、フローボリューム曲線の形状を考慮しながら、肺機能指標の値に基づいて米国胸部協会 (American Thoracic Society) の基準にしたがって判断した。この研究では、有効性、再現性を満たす呼出が2回以上できたものを「信頼できる」結果が得られたものと定義し、解析に用いた。測定誤差を可能な限り少なくするため、全測定を通して、1台の共通のスパイロメータを使い、検者も1人の同一の検者が行った。

肺機能指標として、努力性肺活量(FVC)、一秒量(FEV1)、一秒率(FEV1%)、ピークフロー(PFR)、50%・25%FVC位の最大呼気流速(MEF50、MEF25)、最大中間呼気流速(MEF)を通常の指標として用いた。また肺の時定数に関する指標として、モーメント解析による通過時間指標(MTT, STT)とPermuttらのMu、Sigmaを解析した。Muは肺の時定数分布の平均を推定する指標であり、Sigmaはその標準偏差を推定したものである。複数の有効な呼出のうち、FVCとFEV1の和が最大の呼出の数値を解析に用いた。なお本報告では紙数の関係でこのうち、FVC、FEV1、FEV1%、MMF、Mu、Sigmaを解析した結果を記載した。

上記により各年度で得られた指標値に基づいて、以下の手順で縦断的指標と断面的指標を計算した。図1に示すように、各指標毎に年齢に対する単回帰分析を行

い、その傾きから一年あたりの変化量を求め縦断的指標とした（記号△を肺機能の略号に付記する）。断面的指標としては、1996、1997年の測定値を一つの指標とするとともに、縦断的な観察期間中の平均値をもう一つの指標とした（前者と区別する場合、肺機能の略号の前にmを付記した）。後者は回帰分析で得られた回帰式のちょうど中央値に該当する。

## 2-2 血中サイトカイン濃度の測定

### 2-2-1 対象者

サイトカイン測定の対象者は、前記肺機能追跡研究の対象者のうち1996、1997年に工場に在籍した全従業員約250名である。このうち本研究の解析対象は、肺機能変化量のデータを基に抽出された160名であり、これらの対象者を2年に分けて以下の方法で測定を行った。

### 2-2-2 測定項目と測定方法

血清中のインターロイキン-4、6（以降IL-4、IL-6、IFN- $\gamma$ と略）およびインターフェロン- $\gamma$ 濃度は高感度化学発光ELISA法（CL-ELISA）によって測定した（佐藤敏彦、Tollerud DJ他、Chemiluminescence-ELISA法を用いた血中サイトカインの測定、アレルギー44（7）661-669, 1995）。96穴マイクロプレート（Microlite 1, Dynatech, Chantilly, USA）に各サイトカインに対する抗ヒトサイトカインモノクローナル抗体を適当な濃度に希釈し100  $\mu$ l/wellずつ分注、緩やかな振盪を加えた後、摂氏4度で一晩放置した。翌日、0.1%PBS-Tween 20にて各ウェルを洗浄後、2.5%BSA/0.1%PBS-Tween20を分注し2時間室温で放置してブロッキングを行った。その後、再びプレート洗浄後、標準サンプル用の1%BSA/0.1%PBS-Tween20で希釈した各リコンビナントサイトカイン及び、被検者血清サンプル（1%BSA/0.1%PBS-Tween20にて4倍希釈）をトリプリケイトで分注、緩やかな振盪を加えた後、再び、摂氏4度で一晩放置した。翌日、プレート洗浄後、0.5%BSA/0.1%PBS-Tween20で適当に希釈したビオチン標識されたそれぞれの抗サイトカインモノクローナル抗体を加えた。室温で1時間反応後プレート洗浄し、アルカリフォスファターゼ（ExtraAvidin, Sigma, USA）を加え、再び室温で1時間反応させた。プレ

ート洗浄後、化学発光剤（Lumiphos530, Lumigen, USA）を加え室温で30分反応後、発光強度をマイクロルミノメーター（ML1000, Dynatech, USA）で測定した。

## 2-3 その他の項目

肺機能およびサイトカイン値に関連する要因として、呼吸器症状・既往歴、喫煙等の生活習慣因子、胸部X線写真所見、石綿など鉱物繊維への職業曝露歴を得た。症状、既往症、生活習慣因子は標準化質問票を用いて肺機能に合わせて調査を行った。胸部X線写真は、工場で行われる定期健康診断の際にじん肺健康診断での撮影法に準拠した方法で行った。職業曝露歴は工場の記録を基に調査時点までの累積石綿曝露量を個人毎に算出した。

## 3. 結果

### 3-1 肺機能の予備解析

肺機能検査値は体格により異なるので、個人間の比較を行う上での確な体格補正を行う必要がある。一般的にはいわゆる正常予測式を用いてそのパーセント予測値を算出する方法が利用されるが、この方法では年齢に対する補正も合わせて行われるので、肺機能値の加齢による縦断変化を評価する上では適当ではない。より簡単な方法として、身長<sup>2</sup>のべき乗で肺機能値を除いた形の補正值があるが、べき乗の次数をどの値にするかは研究者によりまちまちである。そこで予備解析として $n=0\sim 4$ の次数を用いた補正值と身長<sup>2</sup>の相関分析を行った。表1に示すように、FVC、FEV1、MMFの各指標では、身長<sup>2</sup>による補正以外では身長と正または負の有意な相関を示したが、2乗で除した場合は有意な関連がなくなり、2乗補正が適当であることが分かった。また、FEV1%、およびモーメント解析による肺時定数分布の指標である $\mu$ 、 $\sigma$ はそのままの値で身長との相関がほとんど認められないので、体格補正は不要であることが示された。以降FVC、FEV1、MMFに対しては身長<sup>2</sup>補正を加えて解析を行い、略号には「/Ht<sup>2</sup>」を加えてそれを明記した。

本研究の肺機能検査の精度管理に関して、以下のように検討を行った。個人毎に蓄積されたデータから1年間隔のデータを抽出し、これに対してConnetらの方法を用いて個人内変動係数を算出し、観察期間の精度のレベルとその変動を検討した。

表2に示すように、FVC、FEV1でその値は2~3%とこれまでの報告に比較してきわめて低い値に維持されており、また観察期間を通して比較的安定していた。このことは、本研究における肺機能検査の精度がきわめて安定し、かつ一定に保たれていたことを示している。

縦断的に観察された肺機能指標値間の相関係数を検討した。1年間隔のデータでは、FVC、FEV1、FEV1%で0.95以上、他の指標でも0.90以上の高い相関を示した。相関の程度は測定間隔が延長するにしたがって低下したが、最長の10年間隔の場合でも、FVC、FEV1、FEV1%で0.90以上、他の指標でも0.80以上と、比較的高い相関を示した。このことは、肺機能指標では自己相関性が極めて高いことを示すものであり、言い換えれば、個体内の変動が極めて小さいことを意味している。したがって、縦断的なデザインによって検出力の高い解析が可能になるものと考えられた。

### 3-2 肺機能指標の分布と関連要因

表3に、各肺機能指標の縦断的指標、断面的指標に関して、平均値、メディアン、標準偏差、最大値、最小値を示した。分布はやや歪んでおり、厳密には正規分布とは言えないが、平均値とメディアンはよく近似しており、その歪みは軽度であると考えられた。

これらの指標に関連する要因を検討した。取り上げた項目は以下の項目である。

年齢

喫煙量

アレルギー現症/既往（鼻・気道）

アレルギー現症/既往（皮膚）

胸部X線所見

石綿累積曝露量

結果の詳細は略するが、多数の指標で年齢と強い関連が認められた。喫煙量も軽度ではあるが有意な関連を示した。またアレルギーでは、鼻・気道のアレルギーは一部の項目で有意な関連を示したが、皮膚アレルギーでは関連が認められなかった。胸部X線写真有所見のものは肺機能低下を示す傾向にあるが、その数はごく少



なかった。また石綿曝露は年齢を考慮すれば有意な関連を示さなかった。したがって、サイトカイン値との関連を検討する上で、年齢と喫煙を調整することが必要であり、一部の項目では鼻・気道のアレルギーを調整する必要があることが示された。

### 3-3 血中サイトカイン濃度の分布

各サイトカイン値のヒストグラムを図2に示した。個人間の変動性はかなり大きく、またその分布は正の方向に大きく歪んでいた。最も度数の大きいカテゴリーの100倍以上の値を示すものも少なからず見られた。歪みの程度はINF- $\gamma$ でとくに強かった。

他の要因との関連性を見ると、今回測定したサイトカインはアレルギー反応や炎症反応に係わると推察されるので、鼻アレルギー、皮膚のアレルギーとの関連を検討したが、問診によるこれら疾患の現症、既往とは強い相関が認められなかった。また持続性のせきやたん、ぜんめいなどの慢性の自覚症状、喫煙習慣などの生活習慣因子でも、特記すべき相関は認められなかった。

### 3-4 肺機能指標と血中サイトカイン濃度の関連

サイトカイン値の分布が前項で示したように著しく歪んでいるので、肺機能指標と血中サイトカイン濃度の関連性の検討は次の2通りで行った。すなわち、解析対象者のうち測定値の高い方から約10%を高値、残りの90%を通常値と見なし、この2群の間で各肺機能指標の多寡を比較する方法と、通常値の90%の対象者について、この範囲ではデータの分布の歪みはかなり縮小されるので、サイトカイン値を通常の数値データとして説明変数として扱い、各肺機能指標を目的変数とする回帰分析を行う方法である。

図3に前者の結果を示した。今回取り上げた全ての肺機能指標に対する、3種のサイトカイン値の影響を平均±標準誤差で示したものである。いずれの比較においてもデータのばらつきに比較して2群の差は小さく、いくつか統計学的には有意な差を示した指標もあったが、少数のはずれ値の影響などによるものがほとんどで特記すべき傾向は認められなかった。また関連要因の中では、IL-6の高値群が年齢が若いものが多く、このことが肺機能指標がIL-6高値群で通常値群よりも良好な値を示す傾向を認めた理由である。

図4に後者の解析結果を示した。サイトカイン値を横軸に肺機能指標を縦軸にとった散布図である。図中に直線が示してあるのは統計学的に有意な関連が認められたものであり、その回帰式をあわせて示した。断面指標は有意な関連を示すものは少なく、サイトカイン測定時点での指標では、IL-6とSigmaの負の有意な相関を、また平均の断面指標では、IL-4が軽度にFEV1と負の相関を示したのみであった。一方縦断指標では幾つかの項目で有意な関連が認められた。INF- $\gamma$ で見られたFVC、FEV1との相関は、外れ値によるものと考えられるが、IL-6とFEV1%およびSigmaとの関連は軽度ながら全体的な傾向であった。

#### 4. 考察

肺機能測定に関しては、表1、2に示したように、精度が高く変動の少ない測定が行われたものと考えられる。これに基づいて得られた縦断的な指標は、実際に加齢変化を良く反映するものと考えられる。この推論は、得られた肺機能指標が年齢のみならず、喫煙量やアレルギーなどと合理的な関連を示したことから裏付けられるものであった。一方血清サイトカイン値は、予想に反して質問票で得られたアレルギーの現症/既往と有意な関連を示すに至らなかった。おそらくこの理由は今回の測定値がかなり広い範囲に分布し、また大きな歪みが認められたことが一因である。ある程度以上の高値を示す対象者をどう扱うか、またその値の変動性がどの程度あるのか、など今後の研究が必要である。

肺機能指標と血清サイトカイン値の関連について、全体的にみると一貫した関連は認められなかったが、いくつかの指標で有意な、また合理的な関連が認められた。とくにIL-6の結果は、IL-6が多いほど一秒率の低下が速く、また肺内時定数の分布の散らばりが速く増加することを意味するものであった。これらの結果は、血清サイトカイン値と肺機能値の変化の何らかの結びつきを示す可能性があり、今後さらに検討する必要があるものと考えられた。

#### VI 今後の展望

血清中のサイトカイン濃度には大きな個人間変動性が認められたが、その変動に関連する要因の分析がまだ不十分であり、もう少しサンプル数を増やしてこの点を検討する必要がある。また肺機能同様、縦断的な観察により個人内変動性を定量

する必要がある。血清サイトカイン値についてはまだ測定結果の報告が多いとは言えない。しかし公衆衛生上での応用の可能性が期待できるものであり、肺機能値、とくに縦断的な変化との関連を今後さらにコホートの追跡を行う予定である。

## VII 図表

表 1 ~ 3

図 1 ~ 4

## VIII 学会誌等の発表

2 編

表1 種々の身長補正回数による肺機能指標補正值と身長の間関係数

	0次補正	1次補正	2次補正	3次補正	4次補正
FVC	0.48	0.27	0.02	-0.23	-0.44
FEV1	0.45	0.25	0.02	-0.22	-0.41
FEV1%	-0.004	-0.44	-0.70	-0.83	-0.89
MMF	0.21	0.10	-0.02	-0.13	-0.24
Mu	0.03	0.11	0.20	0.27	0.34
Sigma	-0.14	-0.25	-0.36	-0.45	-0.52

各セルの数値は、補正回数 $n$ で身長 $n$ 乗し、これで各肺機能値を割った結果と身長の間関係数である。

表2 1年間隔の肺機能指標の個人内変動係数—データのクオリティコントロール

	1985-86	1988-89	1989-90	1990-91	1991-92	1992-93	1993-94	1994-95
FVC/HT2	1.6	1.9	3.1	2.1	2.2	2.3	2.4	2.9
FEV1/HT2	1.7	1.8	3.1	1.9	2.2	2.1	2.3	2.8
MMF/HT2	5.3	6.4	7.1	6.3	6.1	7.0	6.5	6.6
FEV1%	1.4	1.7	1.6	1.7	1.7	1.6	1.5	1.6
exp(Mu)	5.4	5.8	5.9	5.7	6.9	7.6	5.6	5.9
Sigma	15.8	14.0	16.9	15.5	17.2	16.0	14.4	14.9

各セルの数値は、変動係数 (%)

表3 各肺機能指標の記述統計

変数	平均	標準偏差	最大	最小	メディアン
FVC/Ht2	1.37	0.27	2.03	0.42	1.38
FEV1/Ht2	1.16	0.25	1.75	0.42	1.16
FEV1%	85.7	6.2	100.0	70.0	86.2
MMF/Ht2	1.31	0.43	2.36	0.40	1.33
Mu	-0.80	0.26	-0.10	-1.27	-0.81
Sigma	0.99	0.41	1.99	0.12	1.01
mFVC/Ht2	1.37	0.22	1.90	0.55	1.40
mFEV1/Ht2	1.17	0.21	1.77	0.54	1.16
mFEV1%	85.1	5.8	98.0	65.3	84.9
mMMF/Ht2	1.30	0.40	2.48	0.51	1.24
mMu	-0.80	0.27	0.10	-1.25	-0.82
mSigma	1.04	0.40	1.76	0.24	1.09
$\Delta$ FVC/Ht2	-14.1	10.7	13.0	-63.2	-12.0
$\Delta$ FEV1/Ht2	-14.1	8.4	4.0	-56.0	-12.5
$\Delta$ FEV1%	-0.15	0.37	0.86	-1.47	-0.17
$\Delta$ MMF/Ht2	-22.8	22.1	38.0	-108.3	-23.7
$\Delta$ Mu	2.7	15.8	46.0	-32.0	2.5
$\Delta$ Sigma	11.5	36.9	152.0	-84.5	10.1

記号、単位はは図3、4を参照のこと

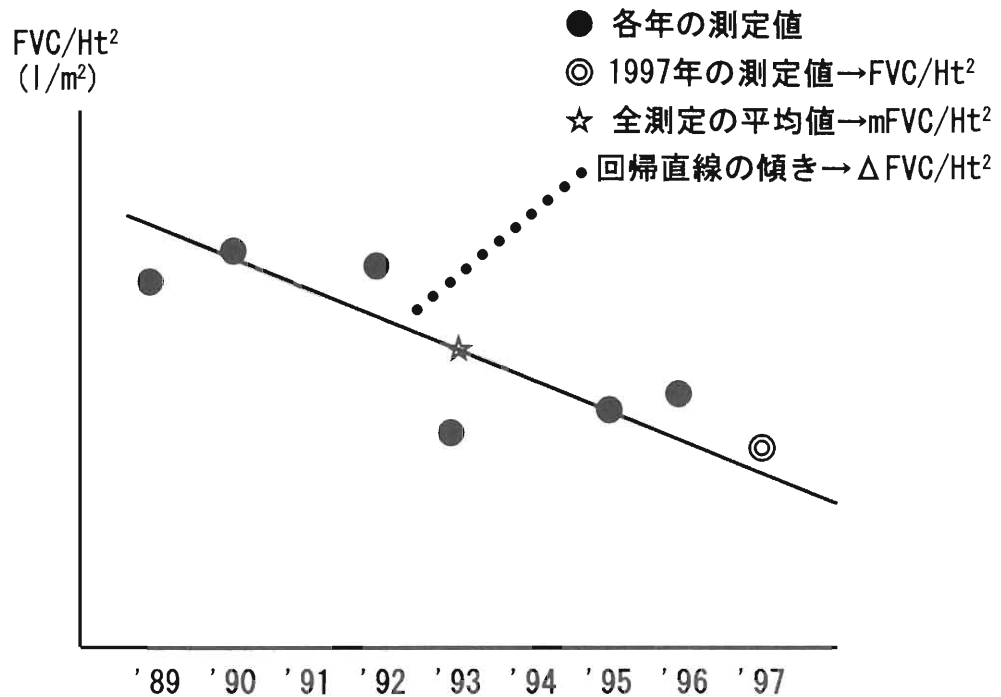


図1 肺機能指標の定義（身長二乗補正後の努力性肺活量FVC/Ht<sup>2</sup>を例として）  
 断面指標1：最新時点のデータ（この場合1997）→そのままの略号  
 2：観察期間の平均値→始めにmを付加した略号  
 縦断指標：観察期間の回帰直線の傾き→始めにΔを付加した略号

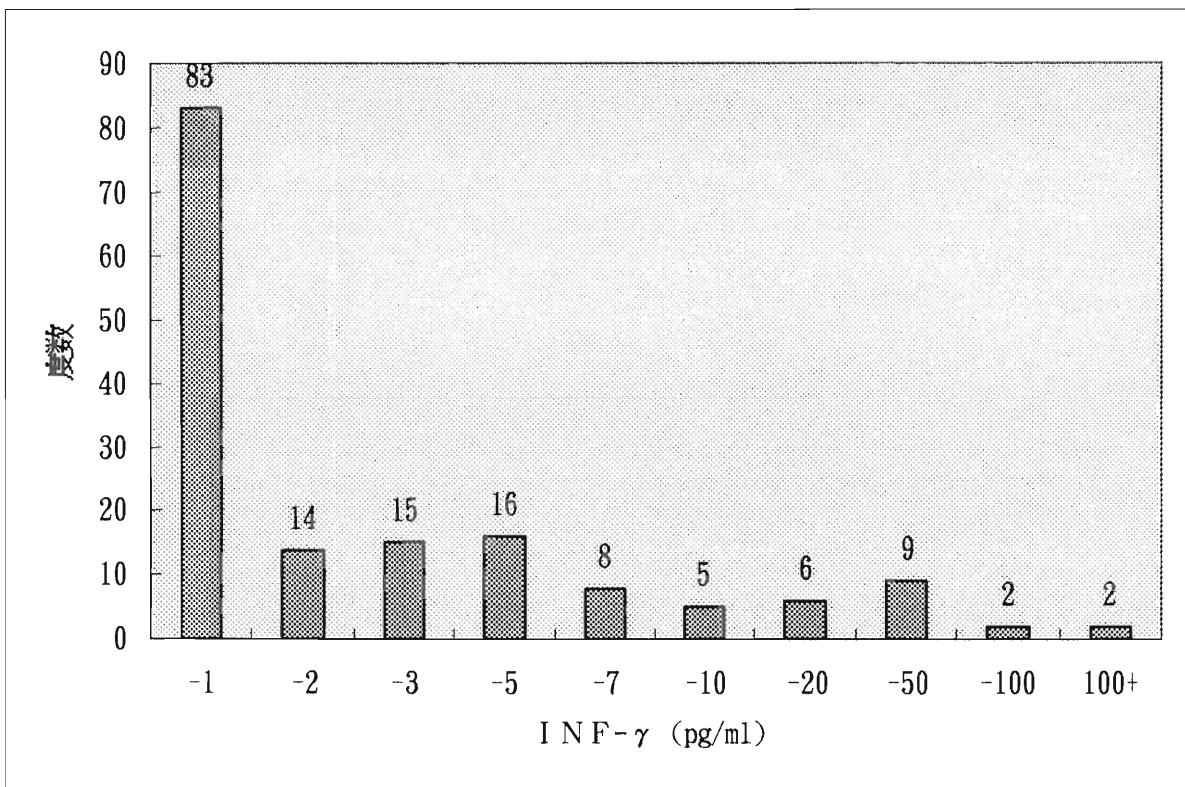


図2 血清サイトカイン値のヒストグラム

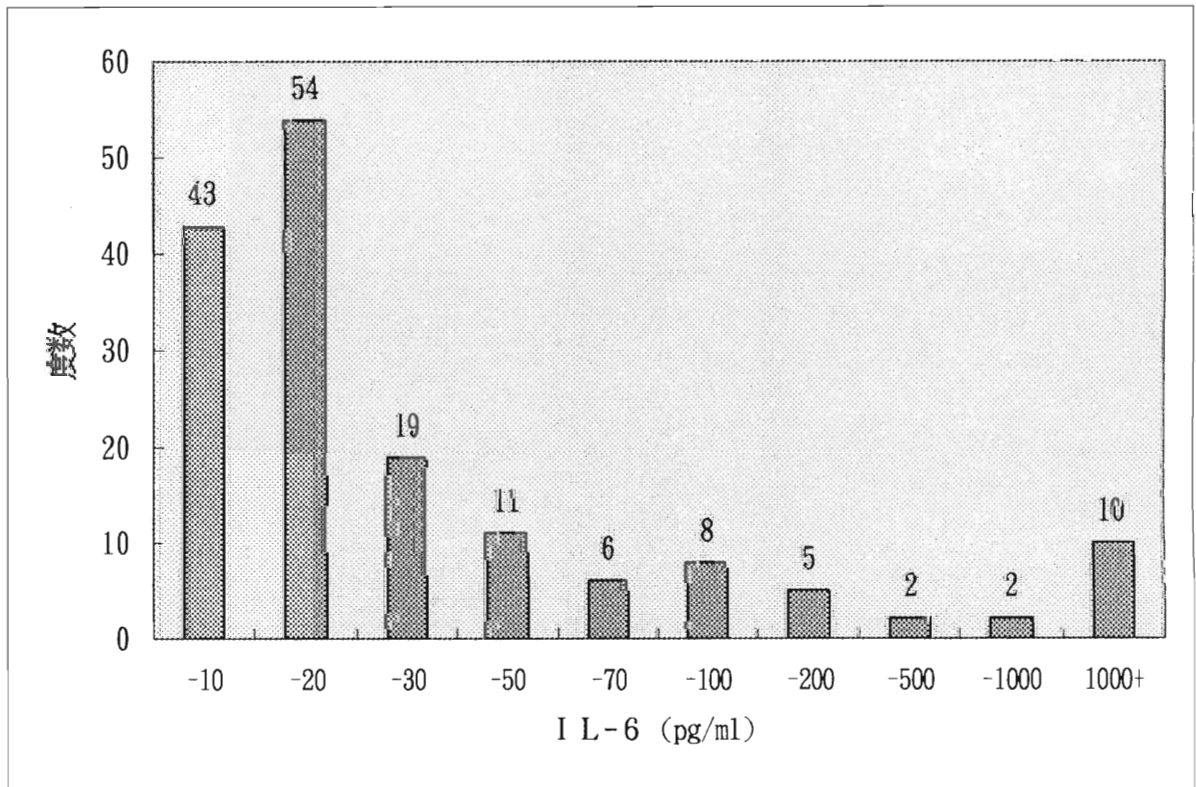
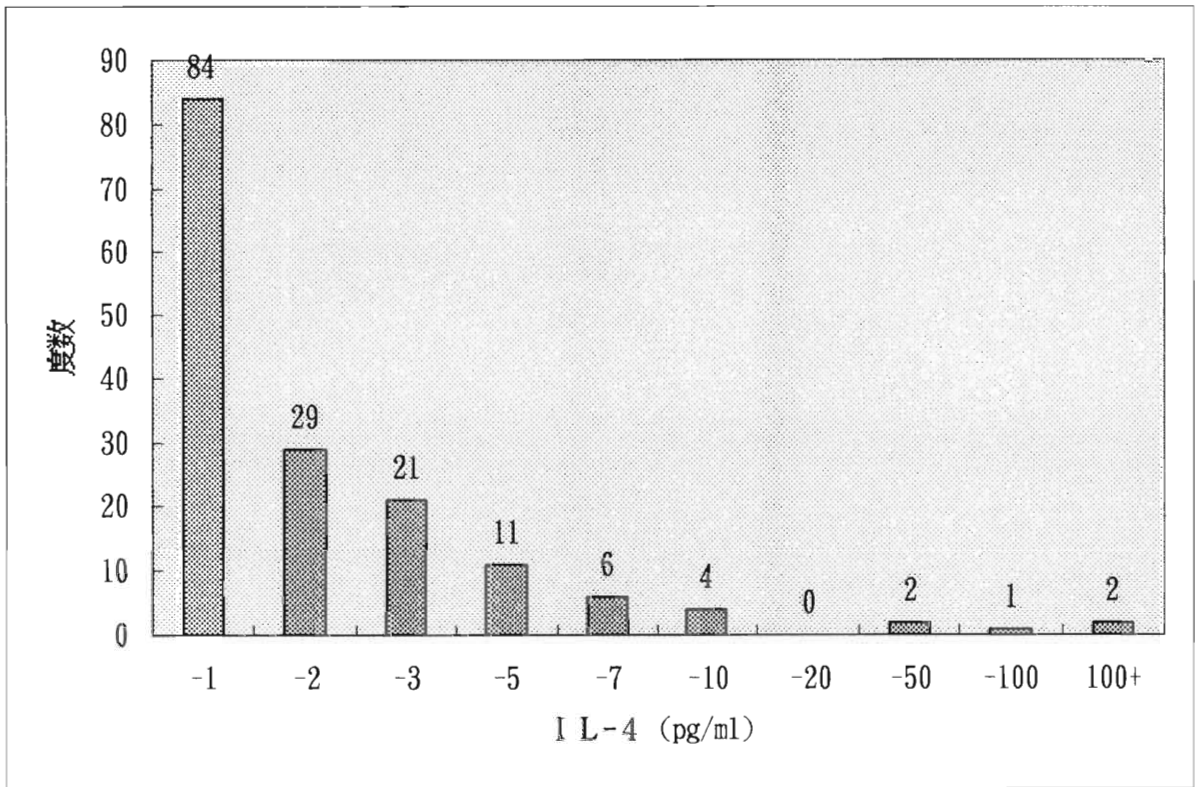


図2 血清サイトカイン値のヒストグラム (続き)



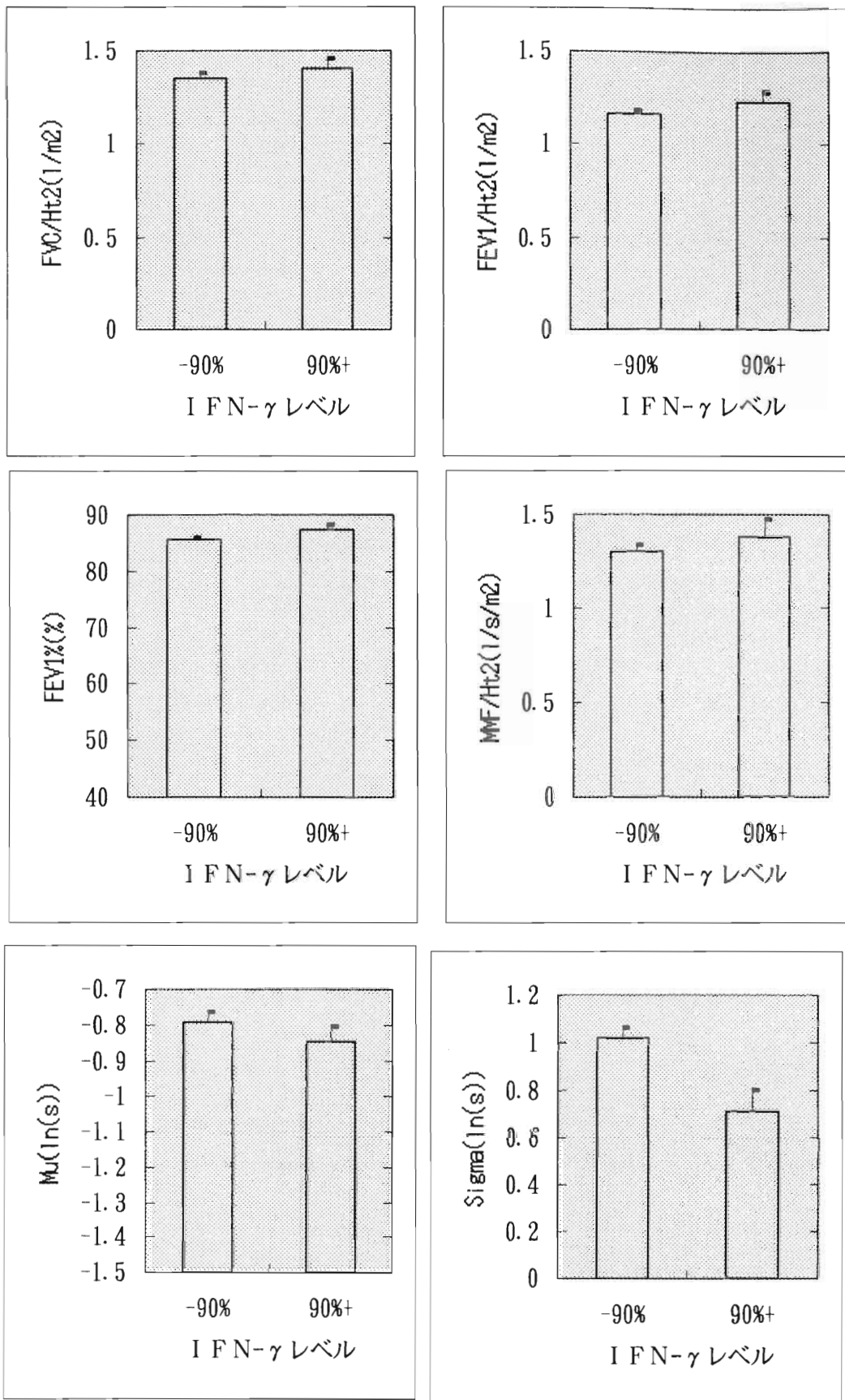


図3 サイトカイン高値群と通常値群の肺機能指標比較 (平均±標準誤差)

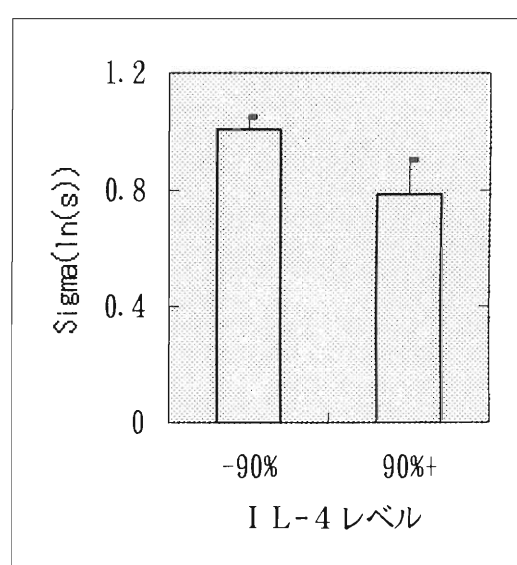
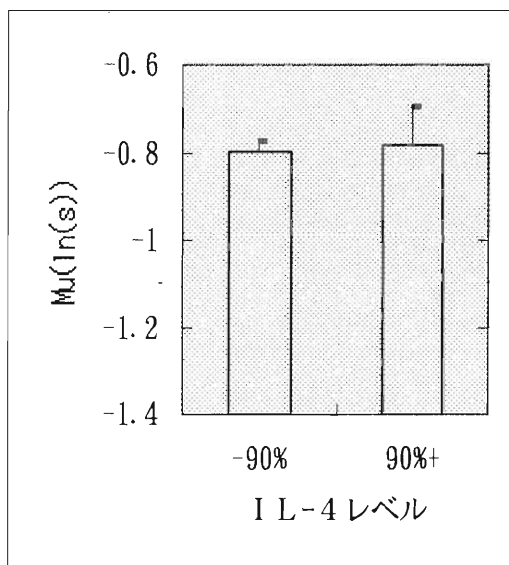
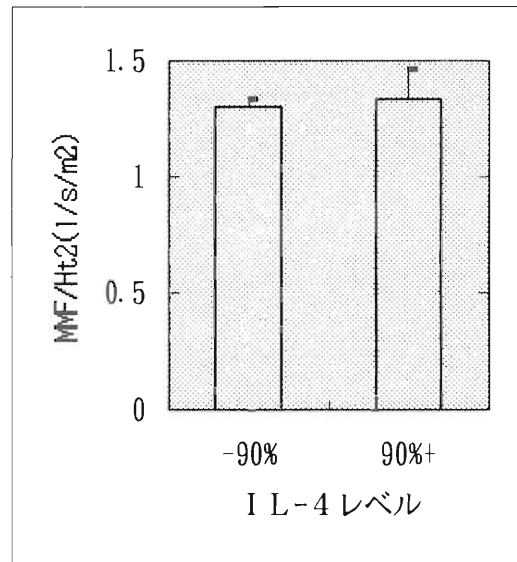
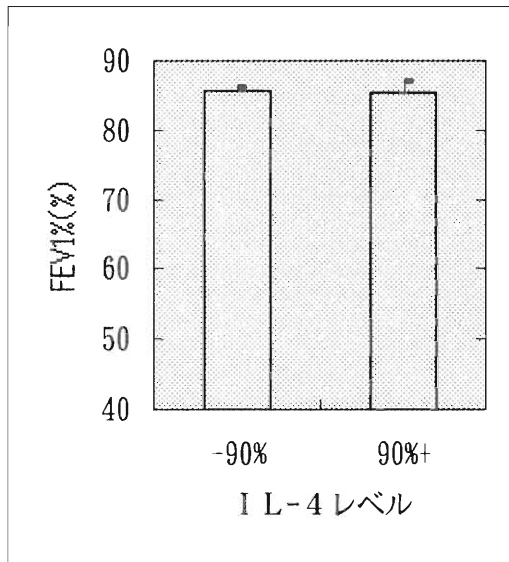
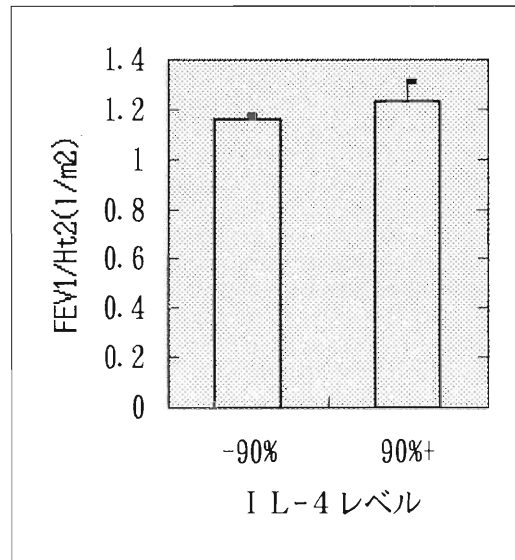
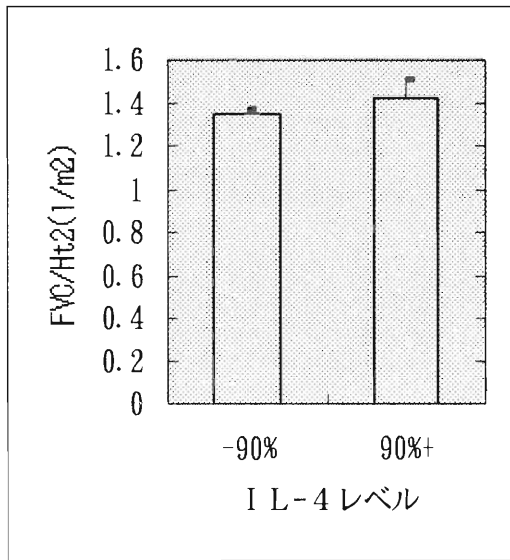


図3 続き

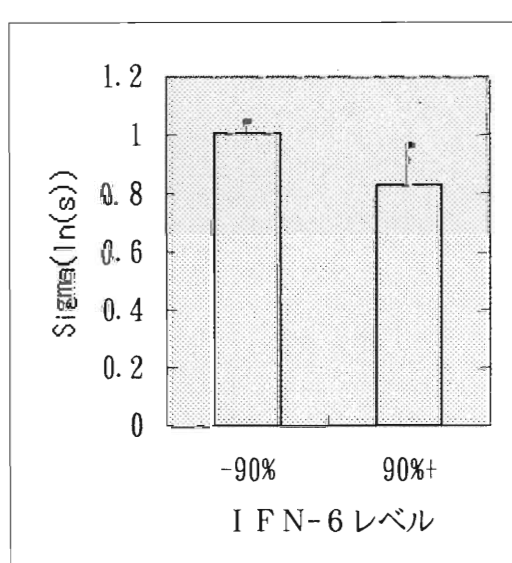
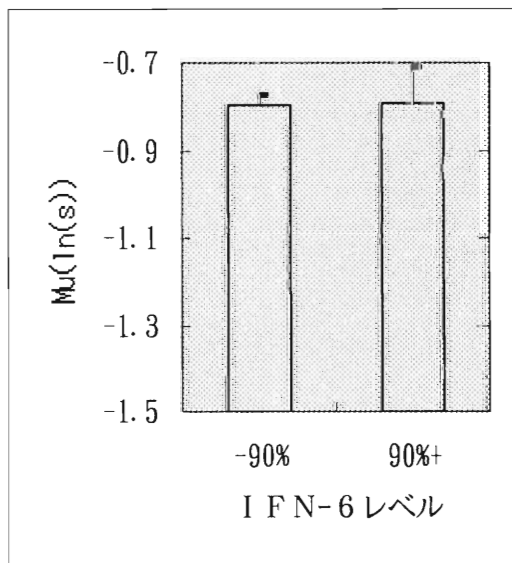
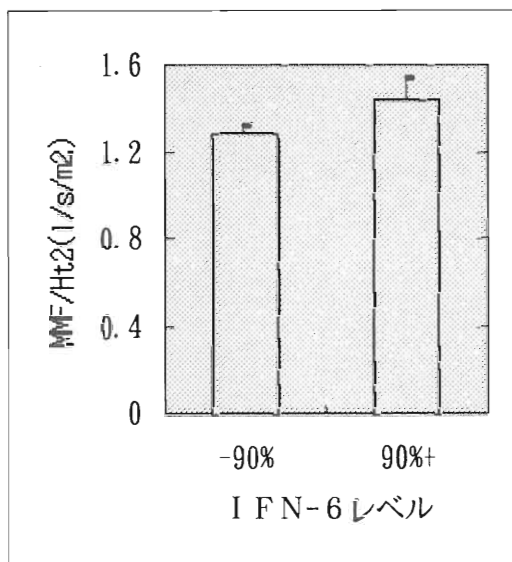
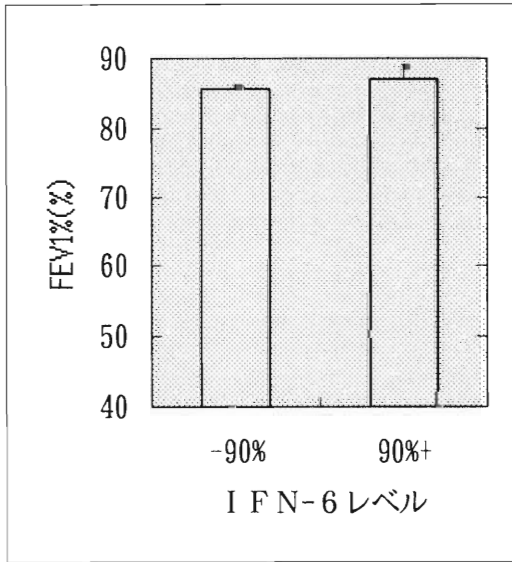
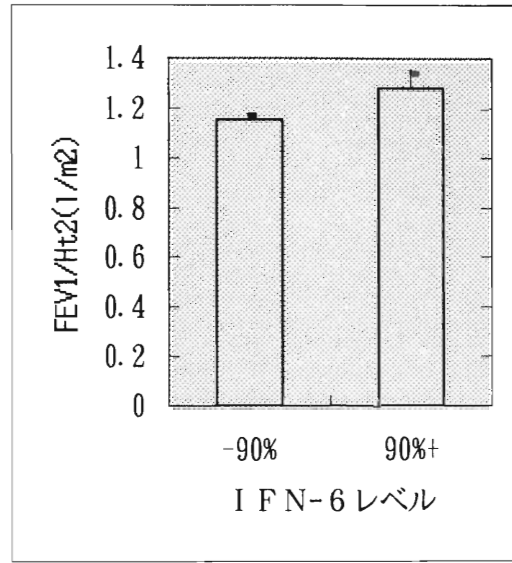
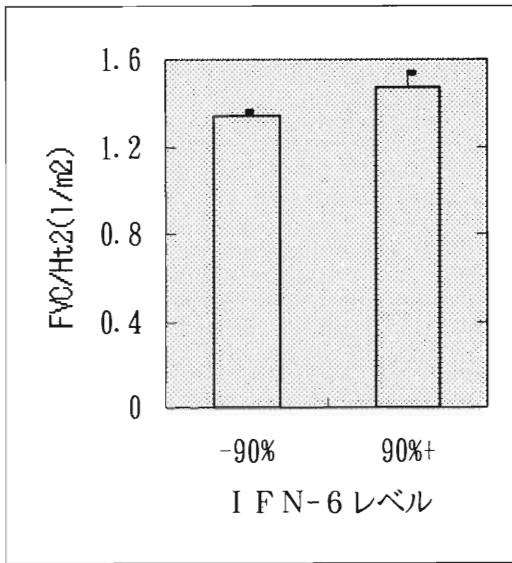


図3 続き

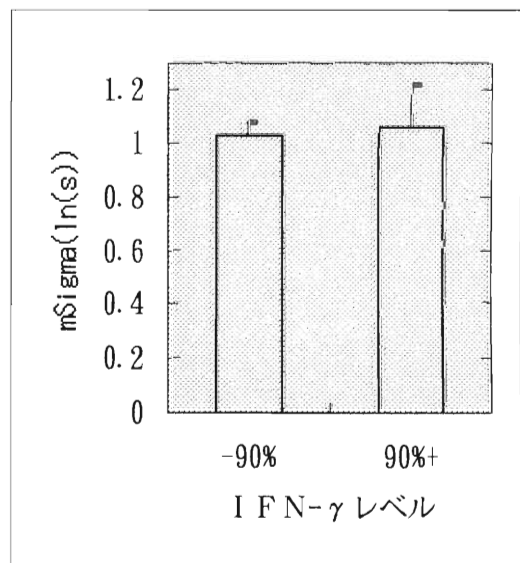
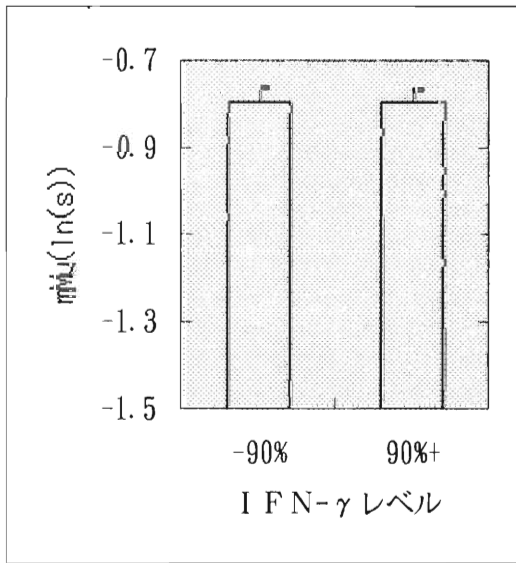
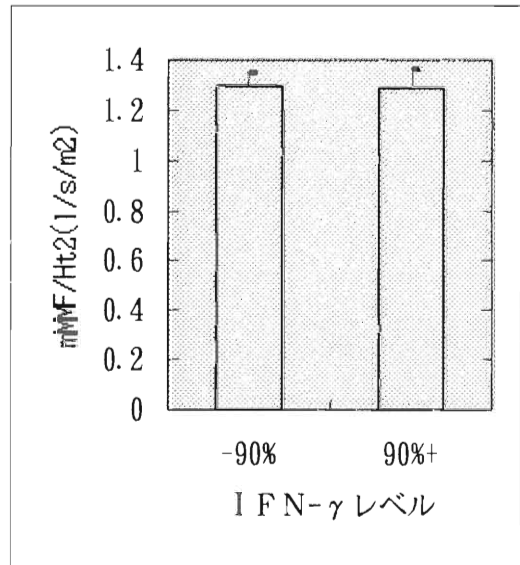
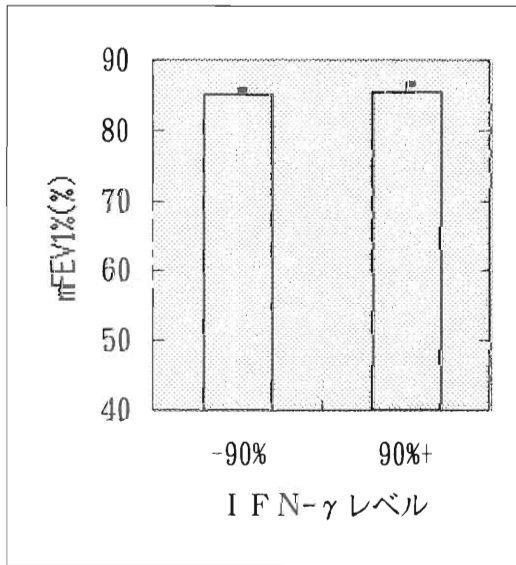
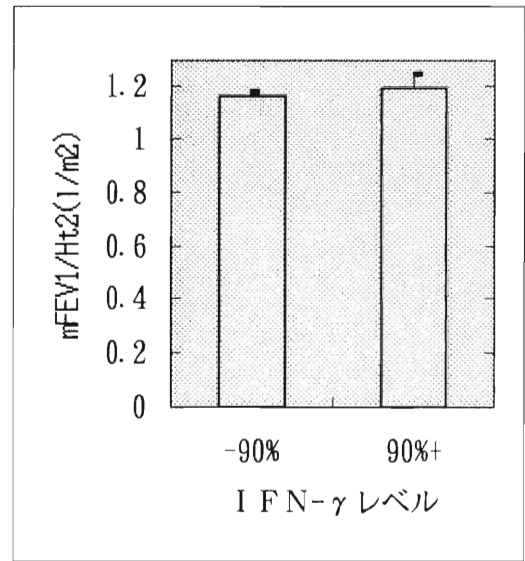
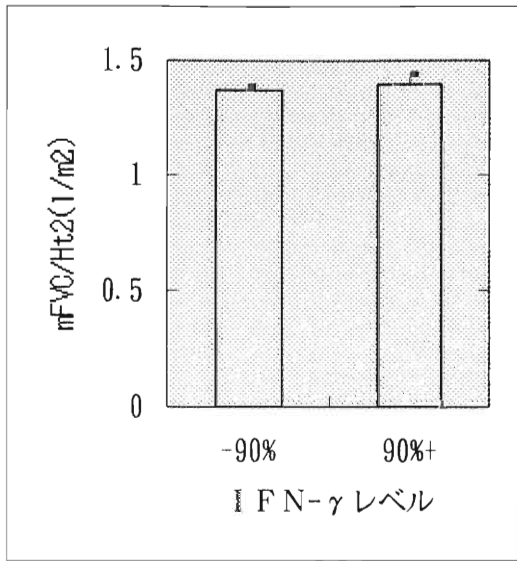


図3 続き

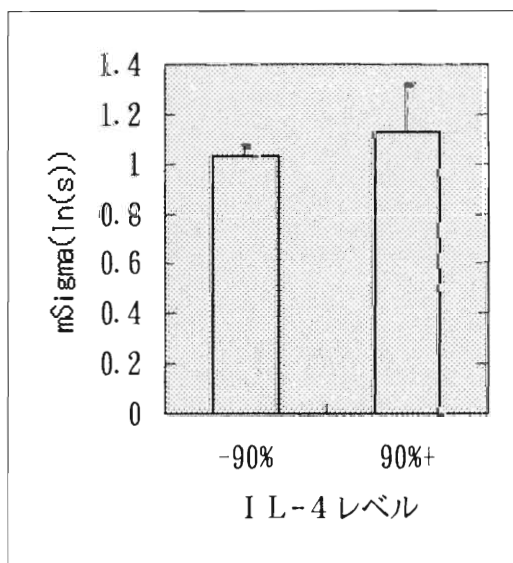
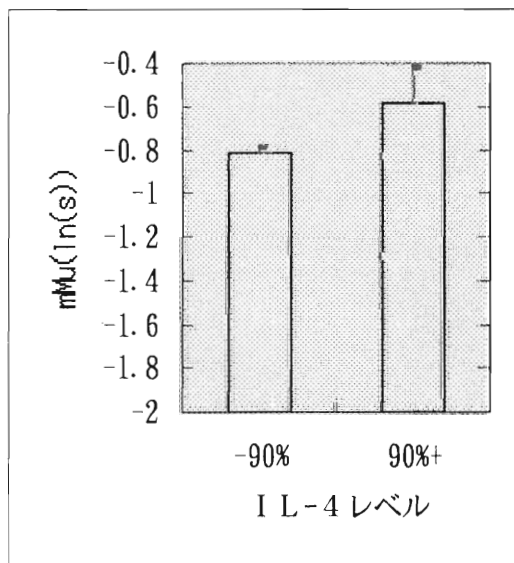
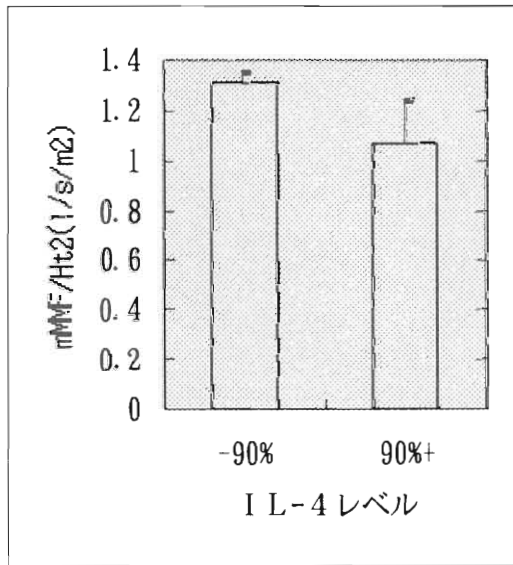
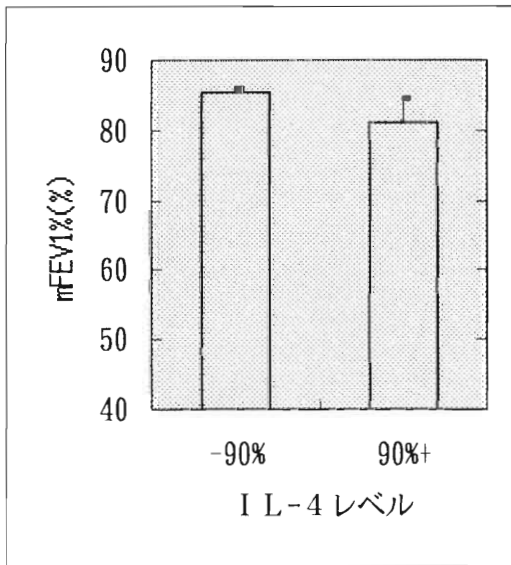
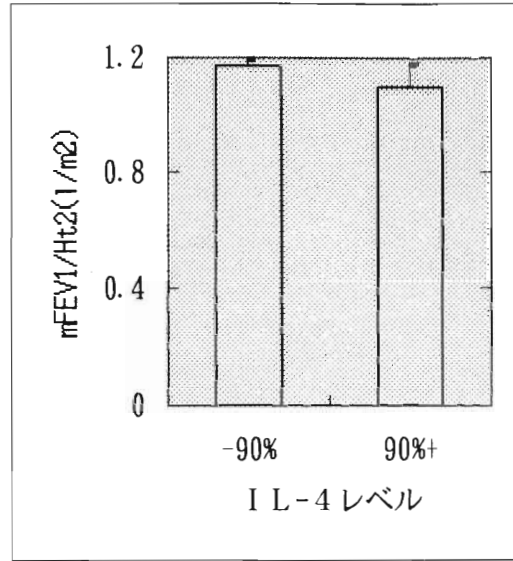
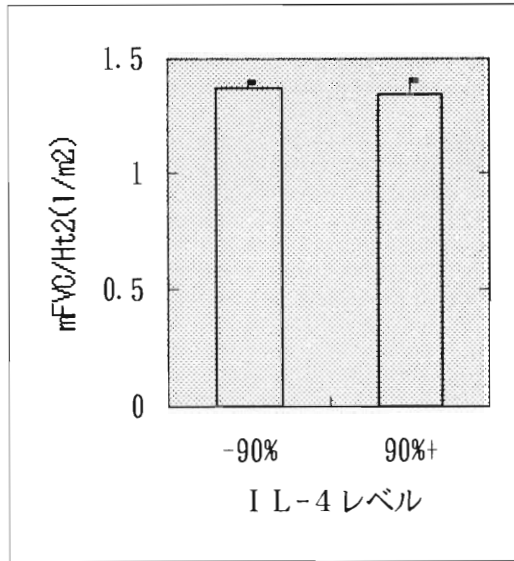


図3 続き

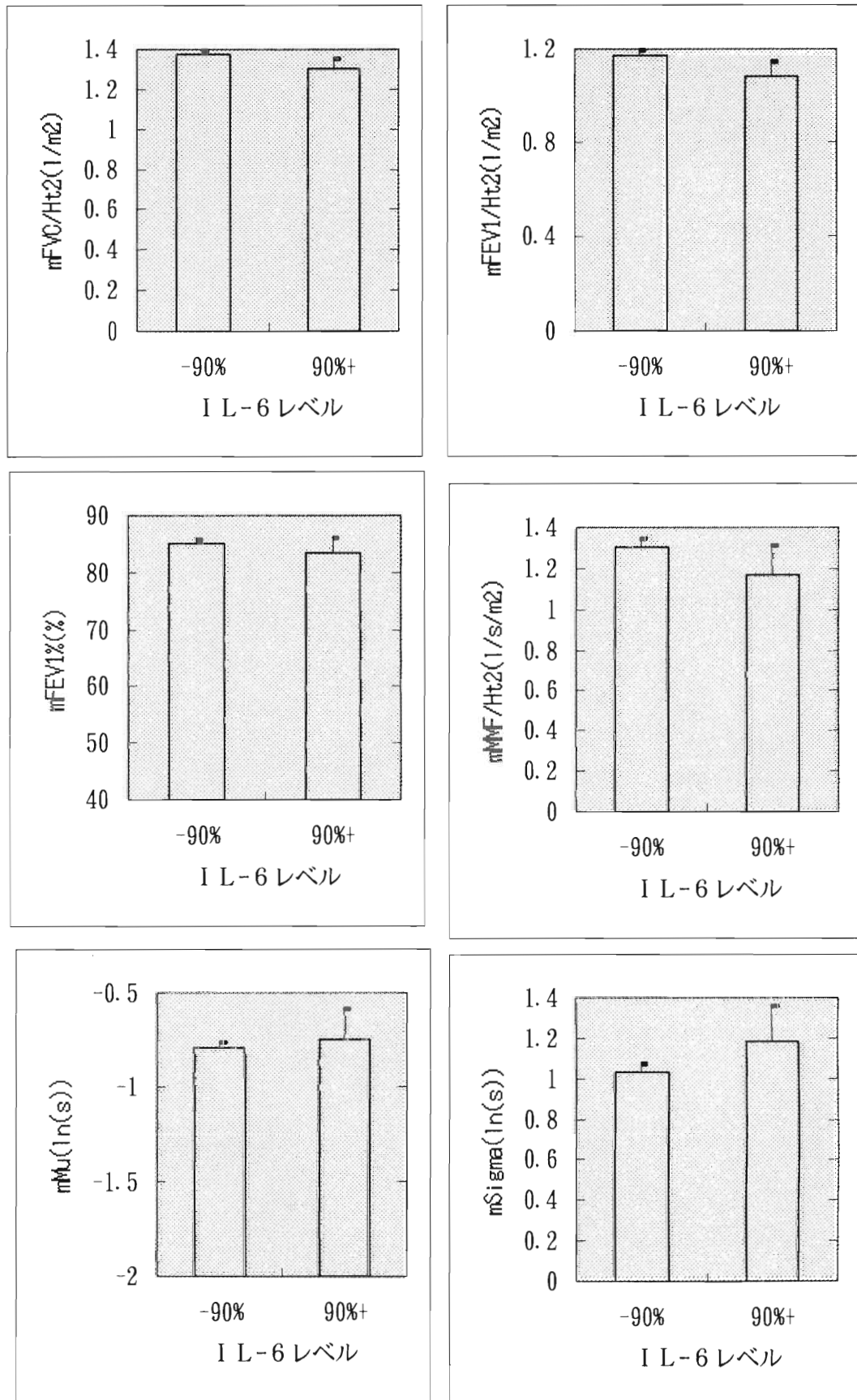


図3 続き

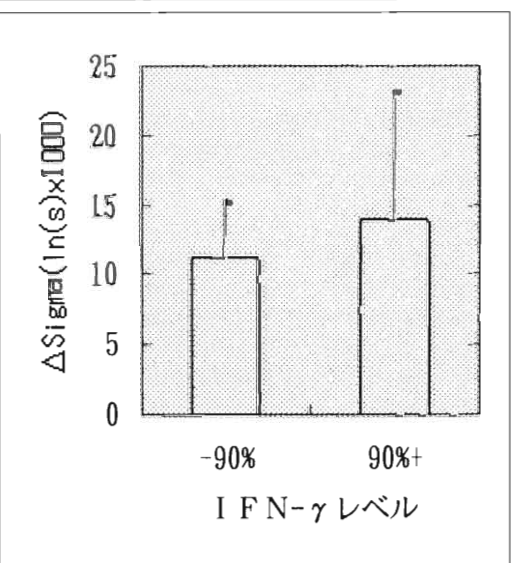
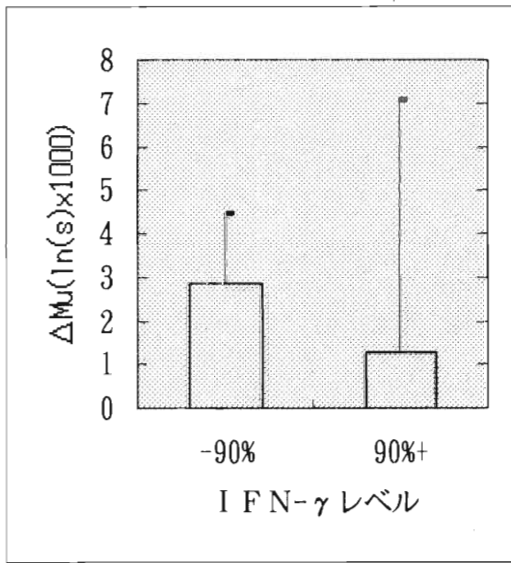
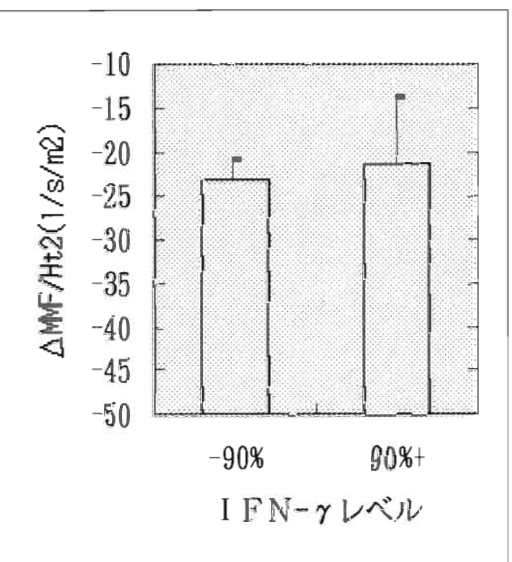
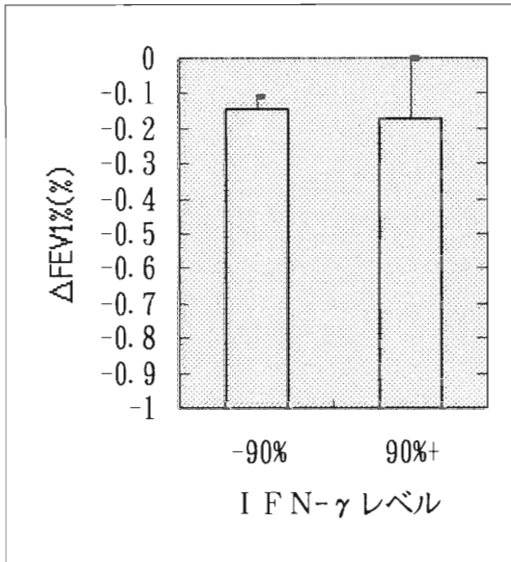
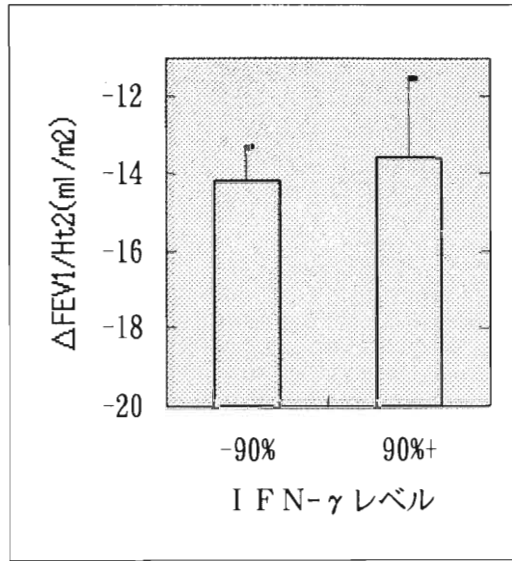
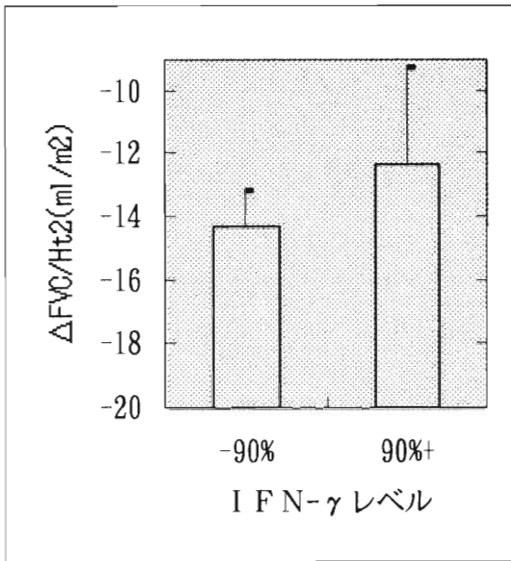


図3 続き

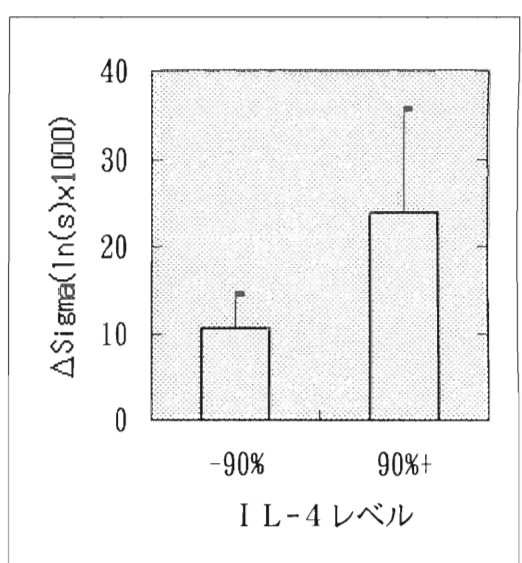
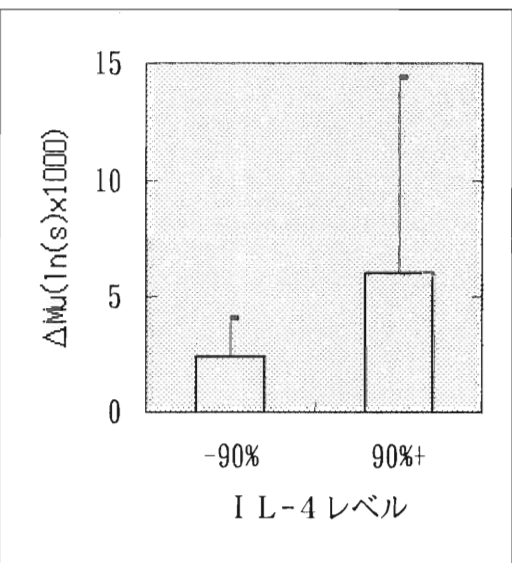
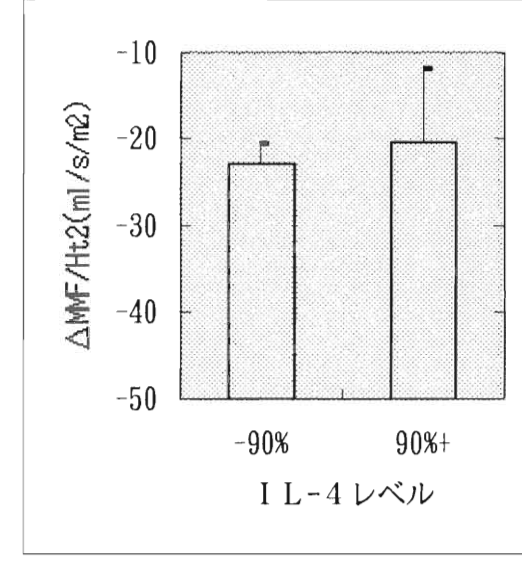
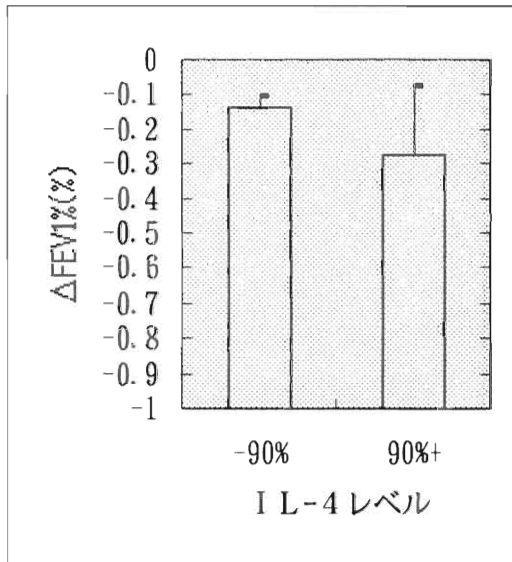
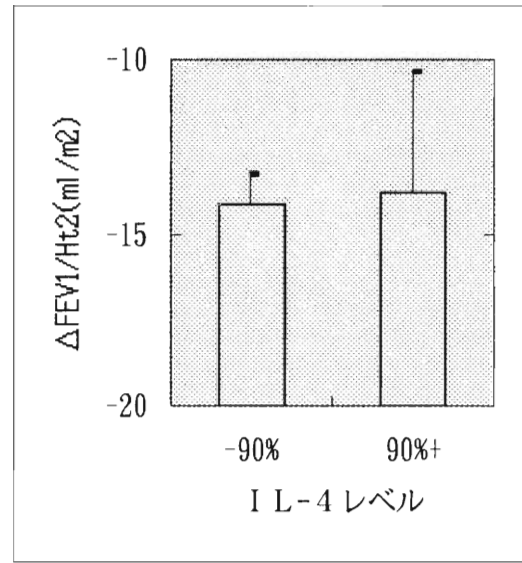
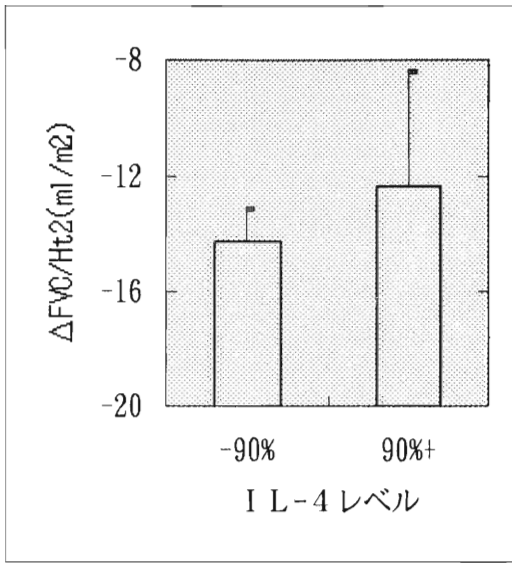


図3 続き



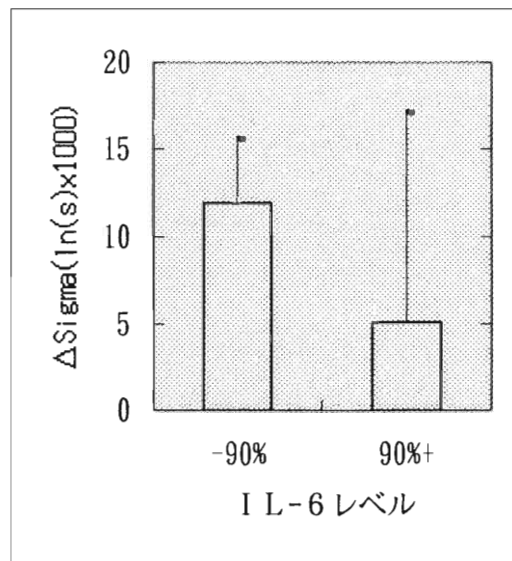
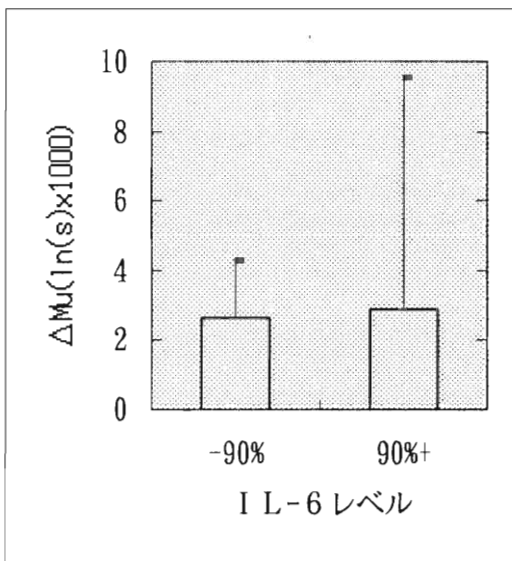
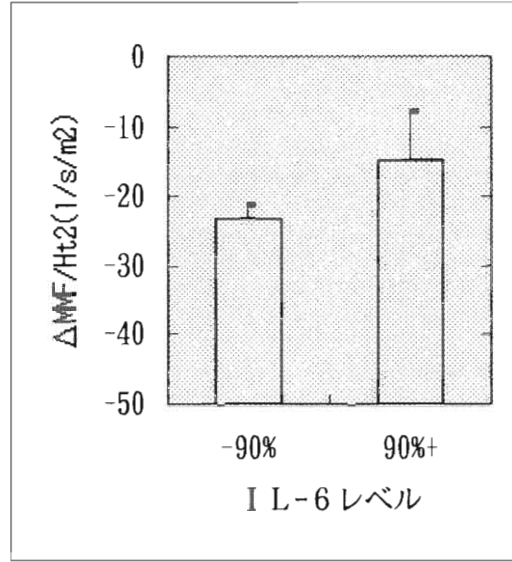
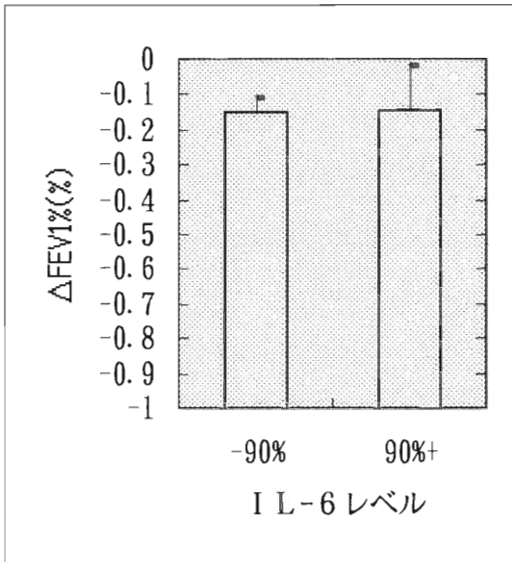
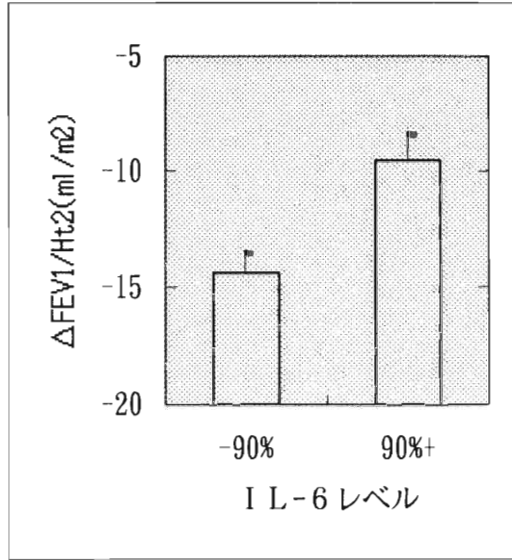
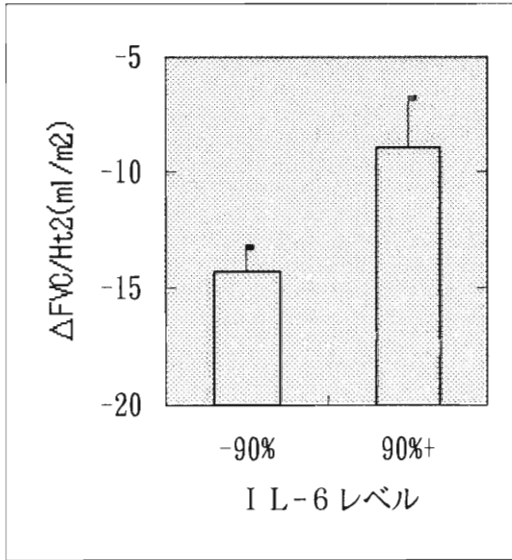


図3 続き

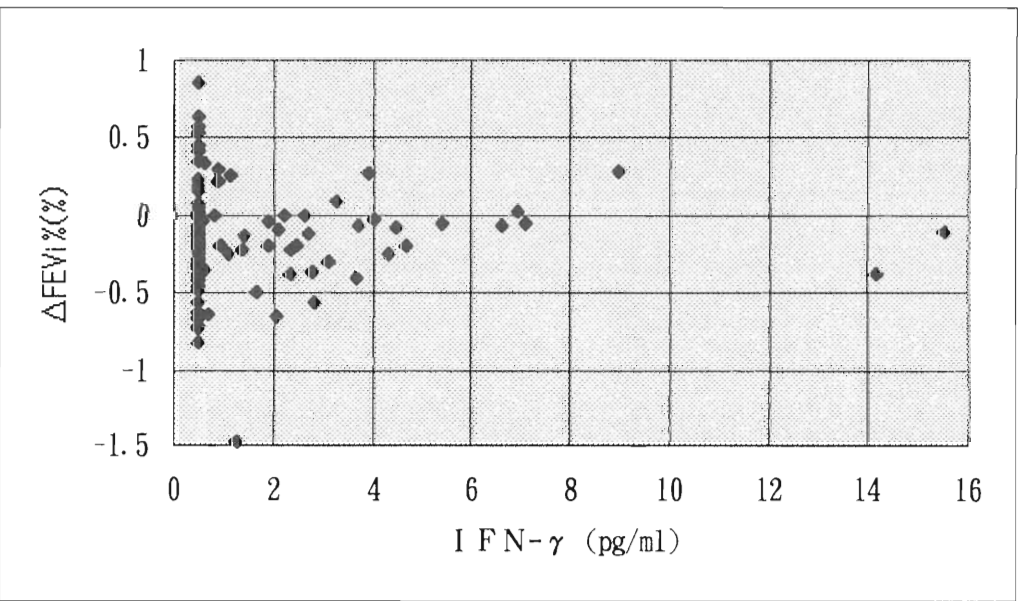
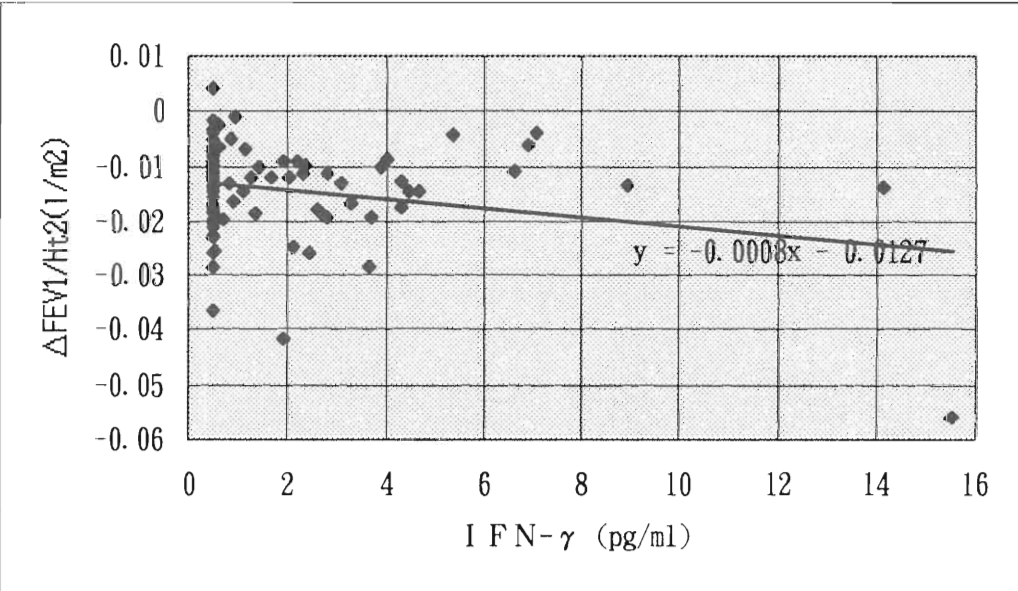
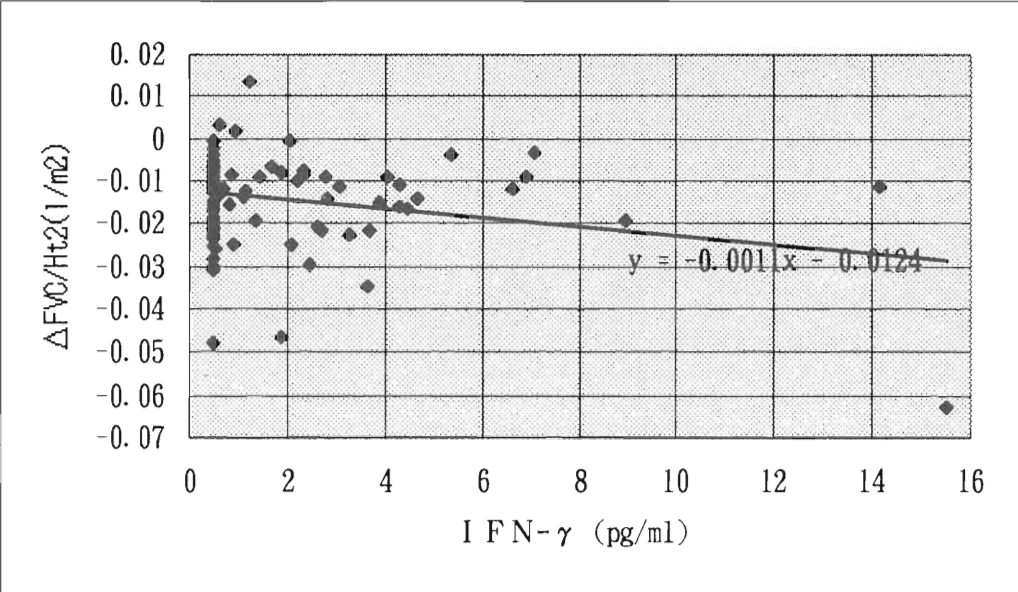


図4 続き

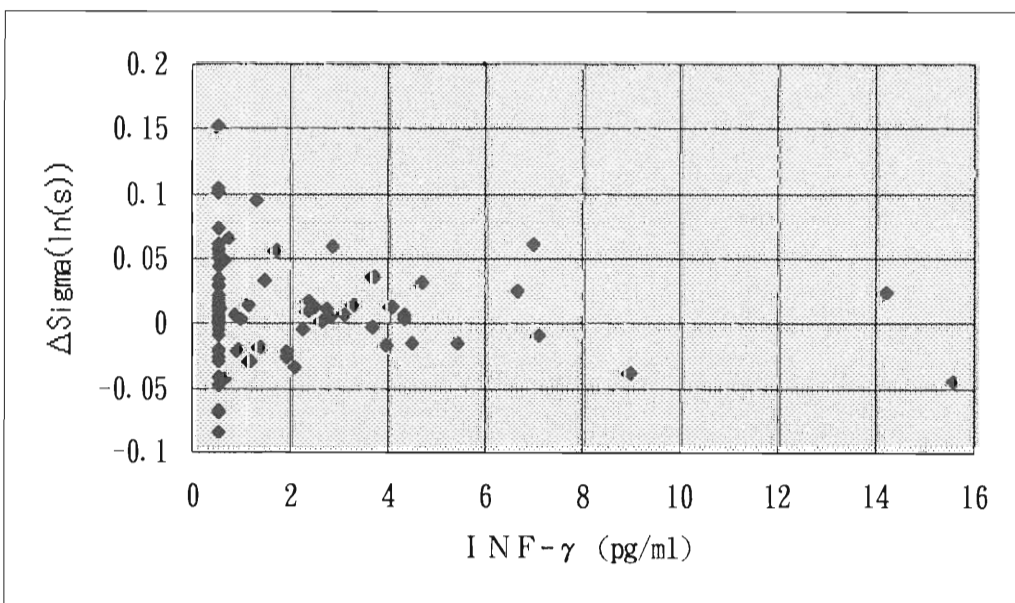
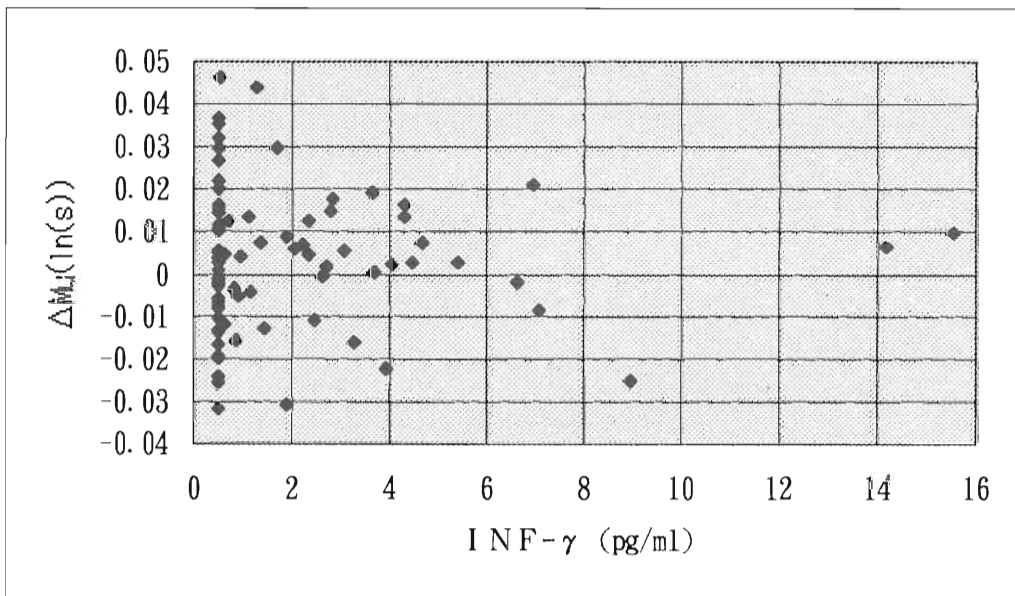
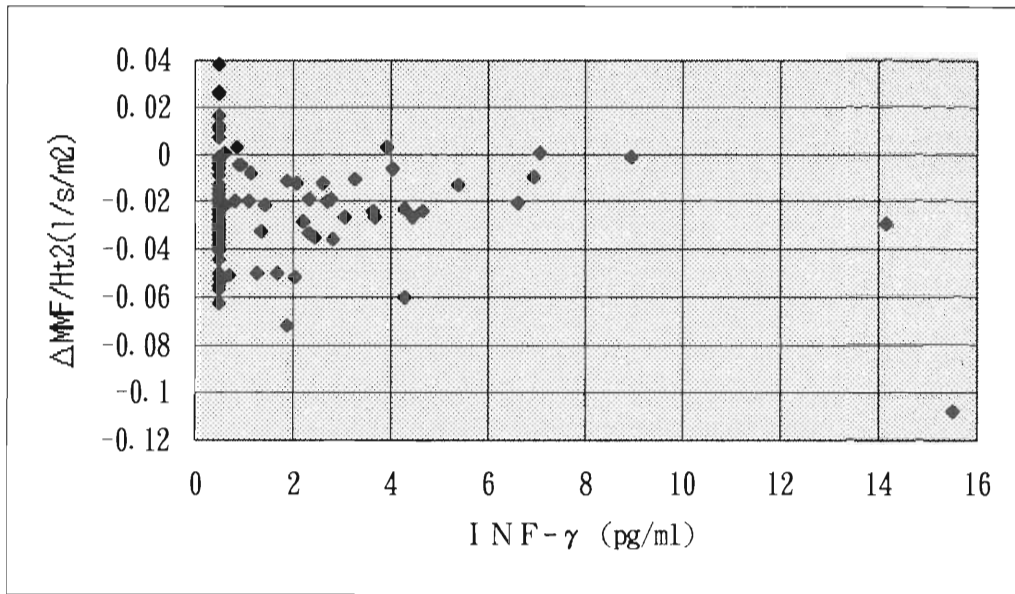


図4 続き

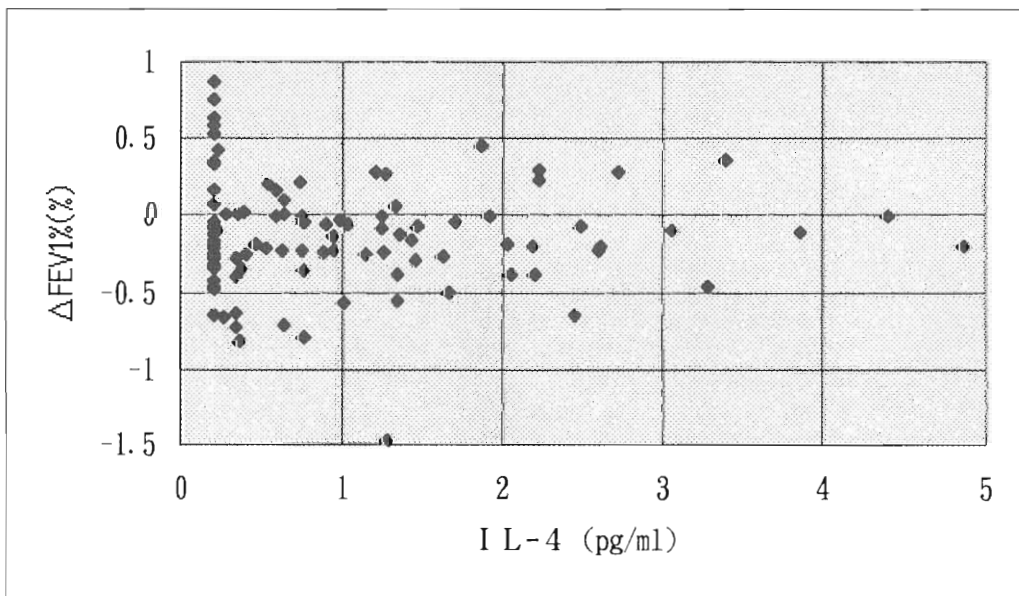
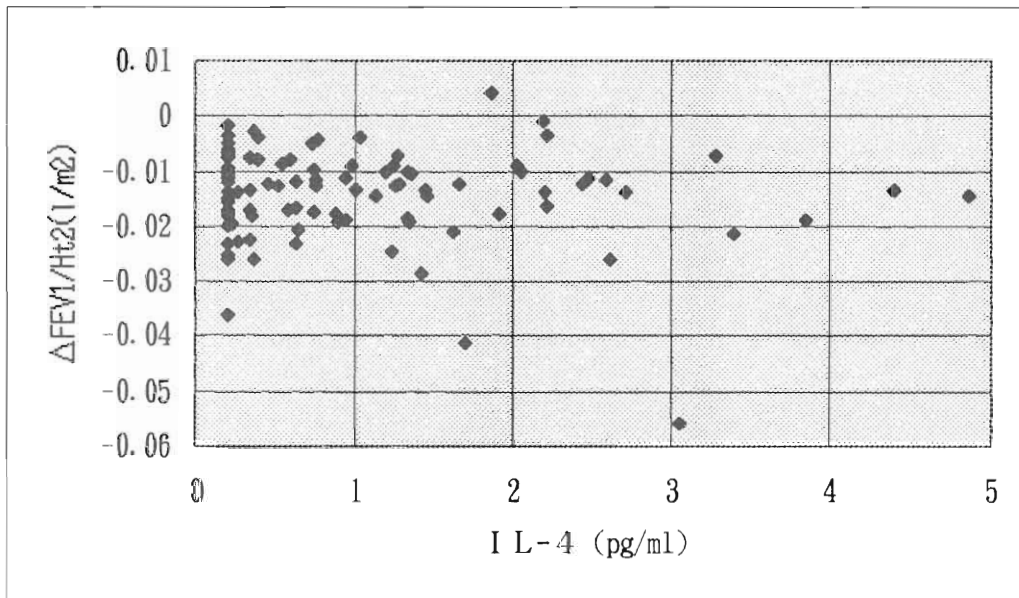
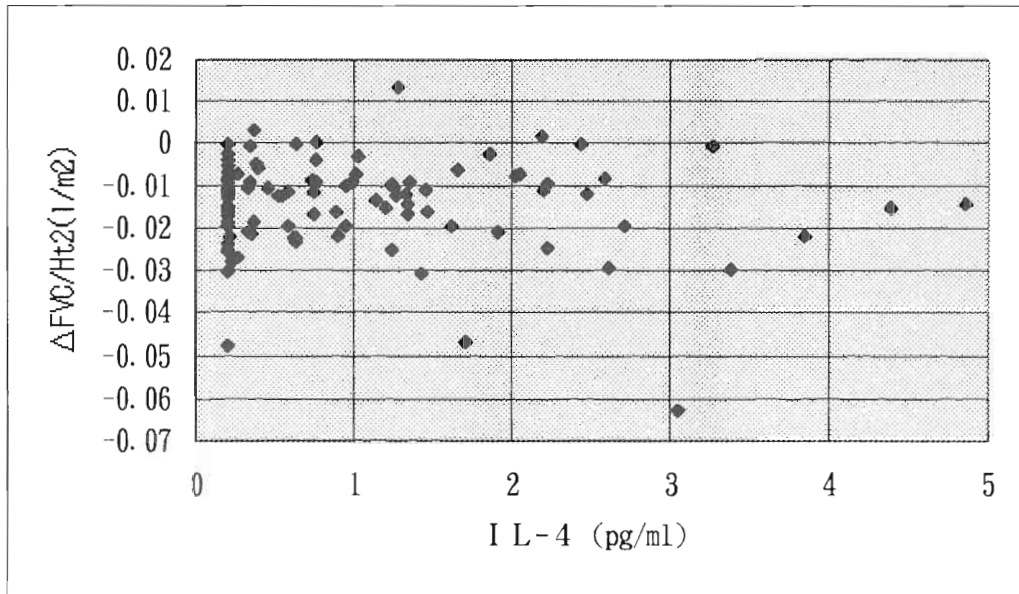


図4 続き

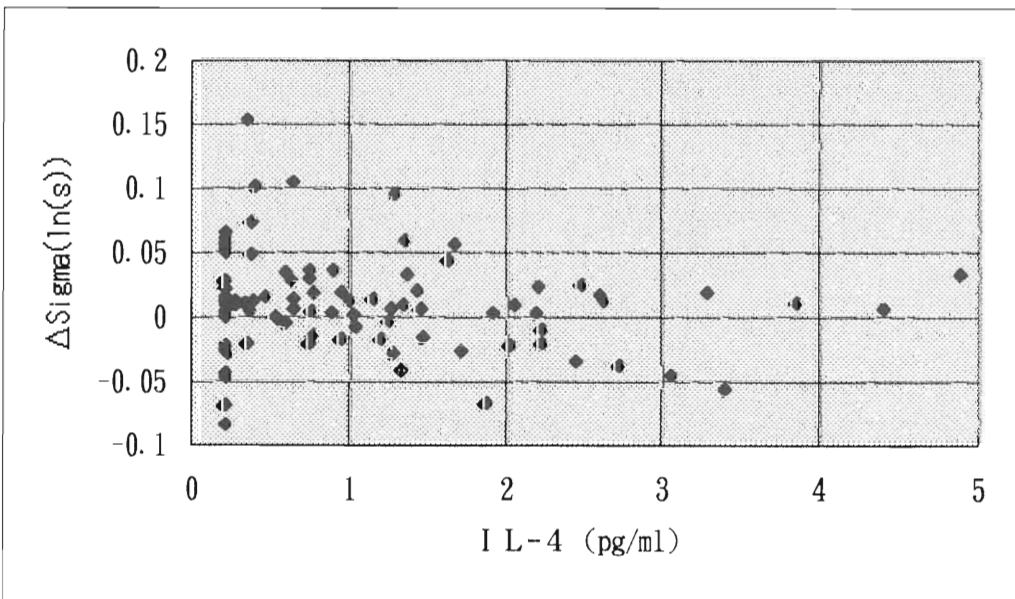
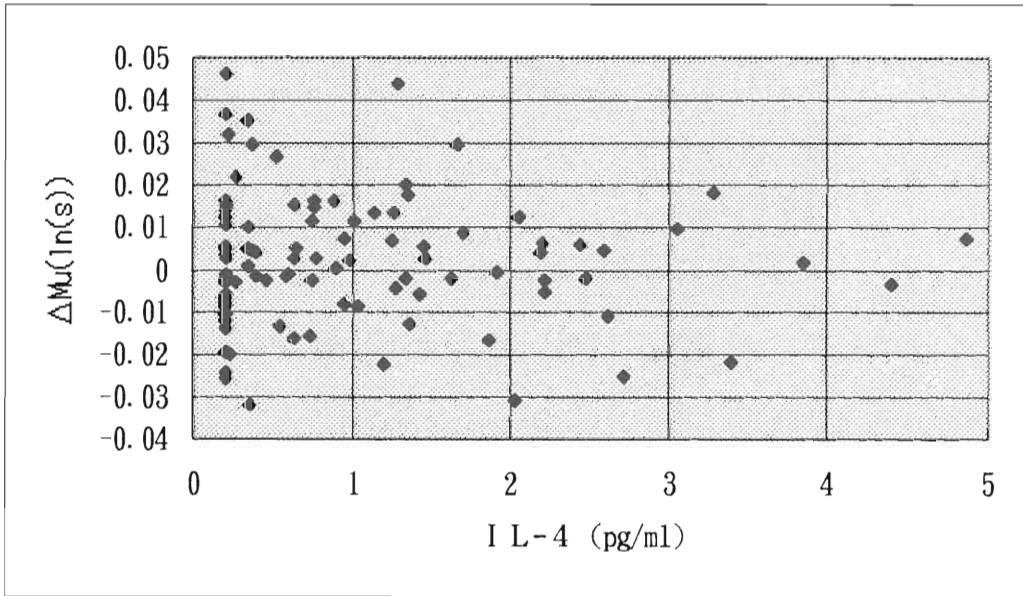
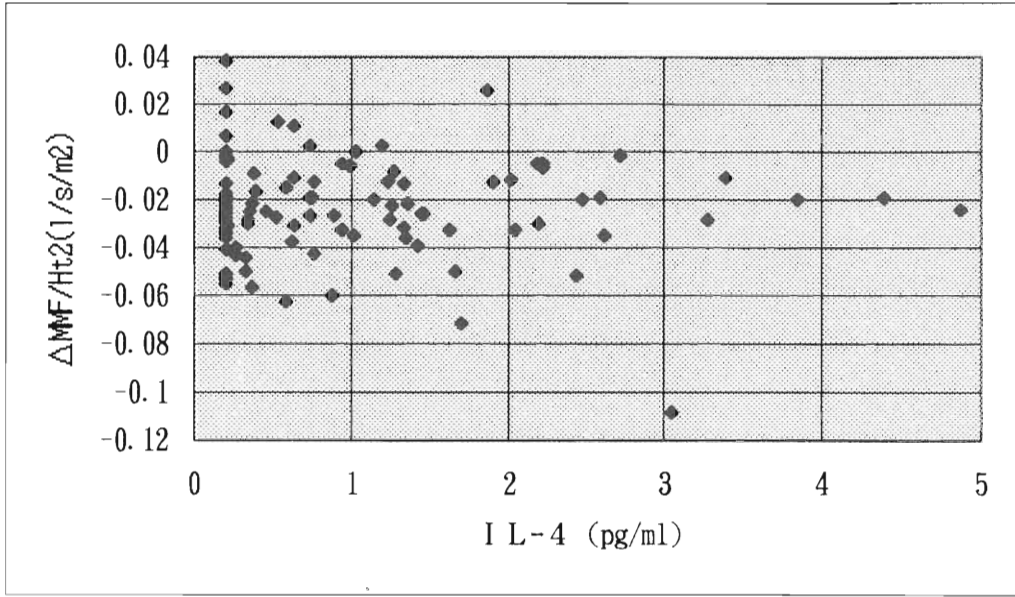


図4 続き

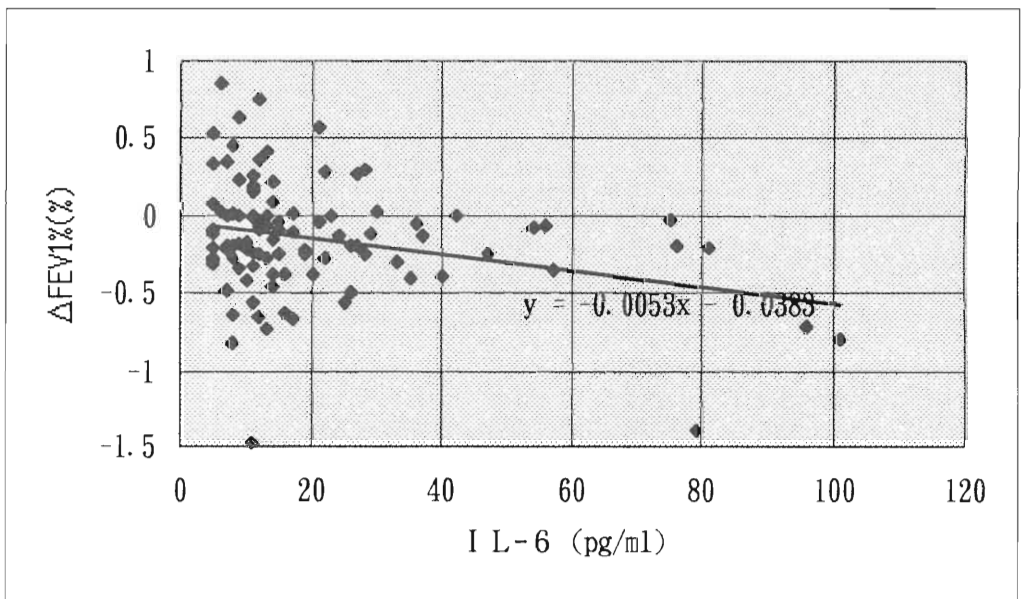
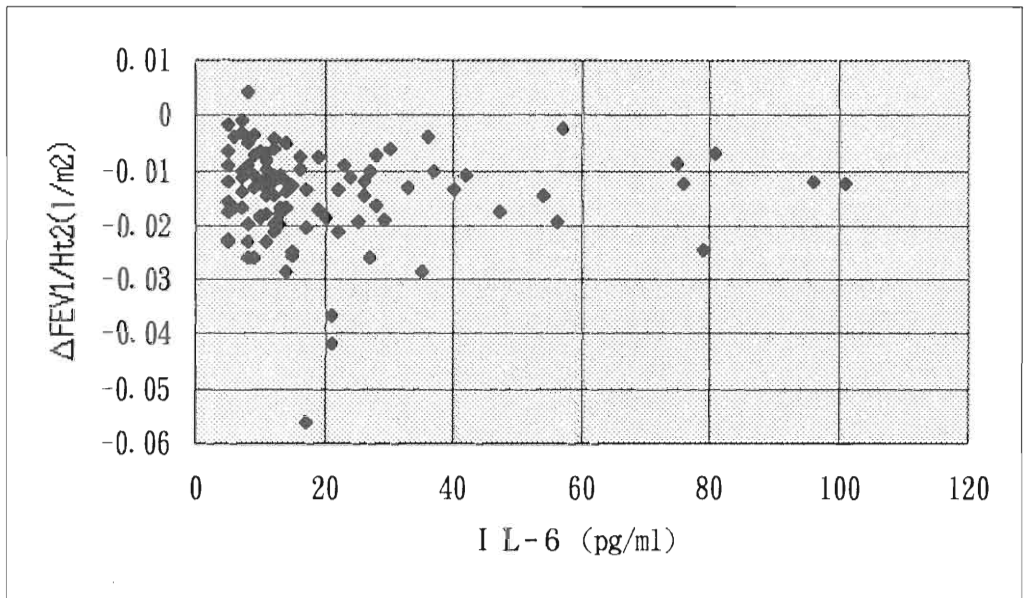
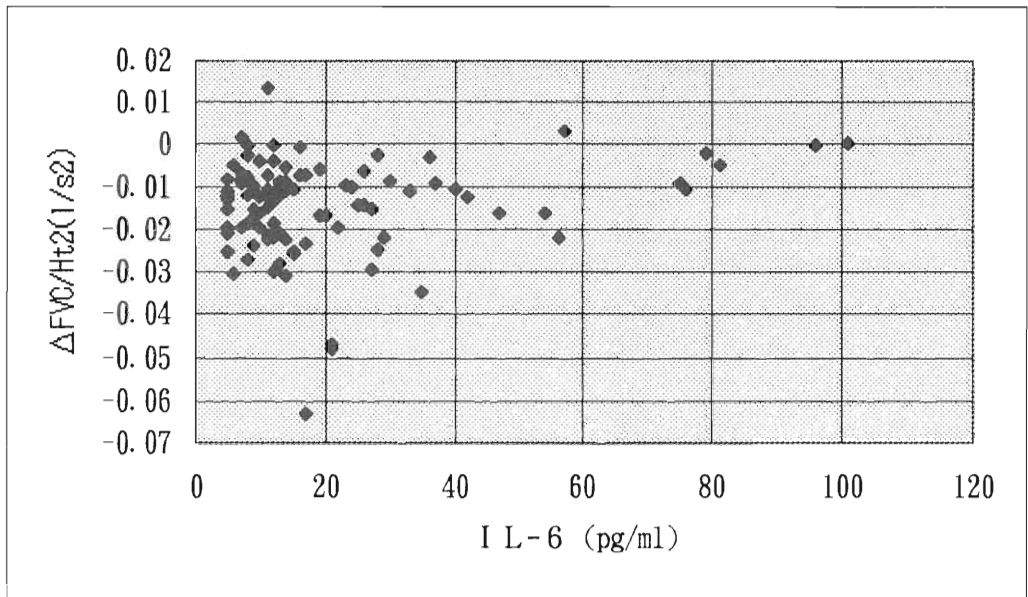


図4 続き

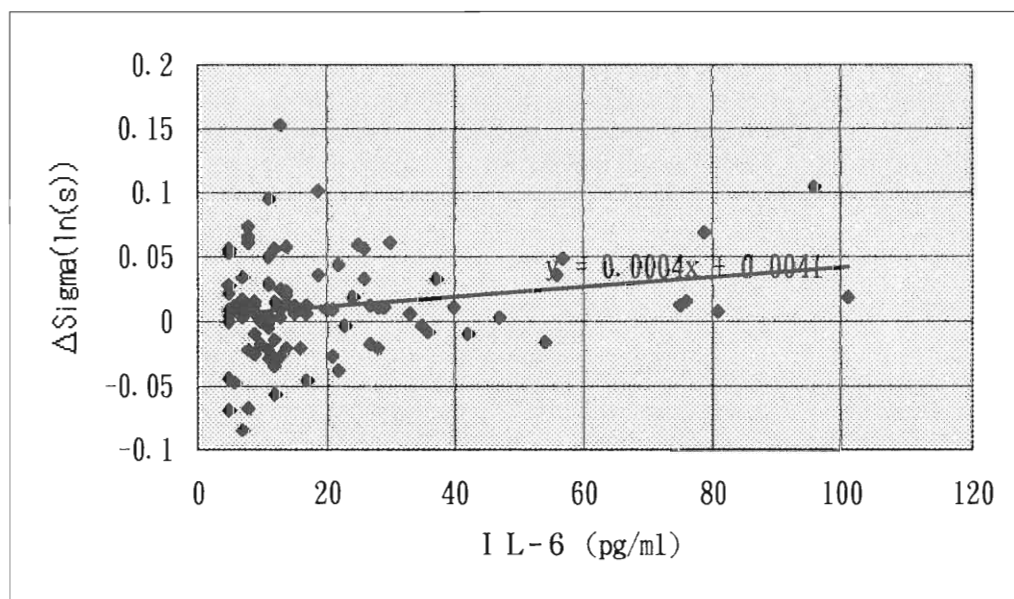
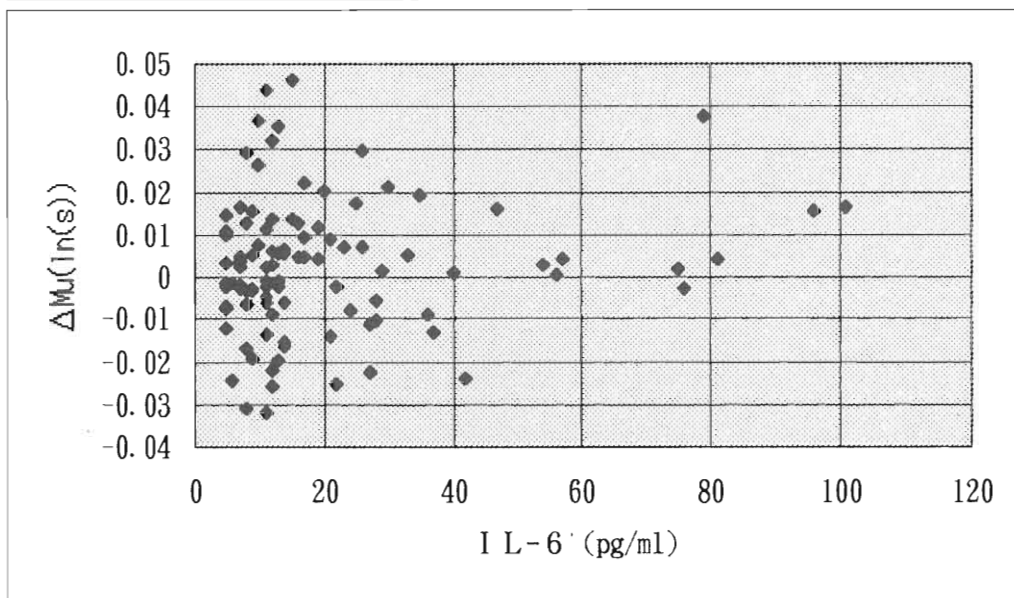
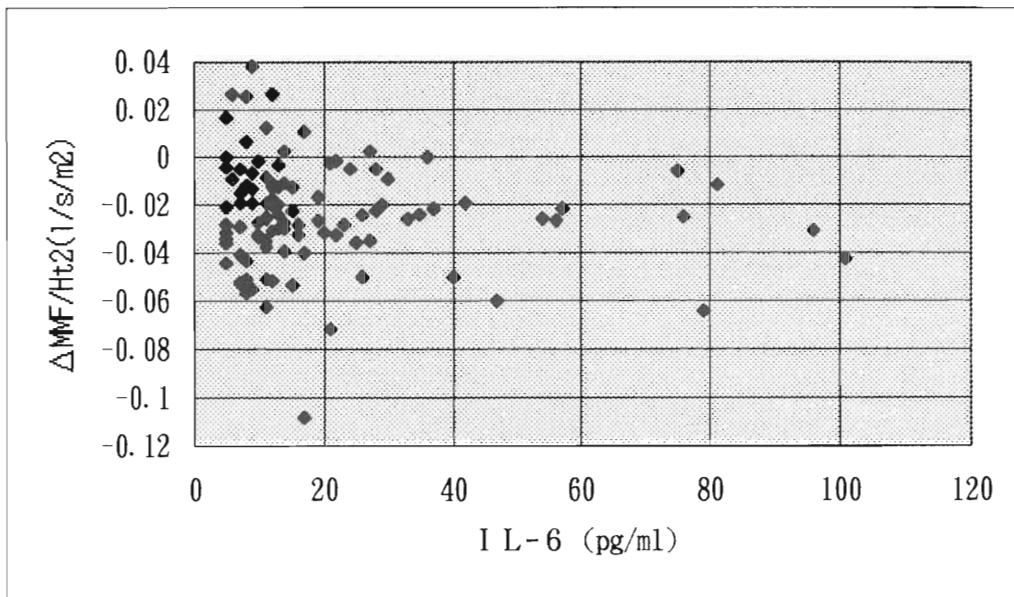


図4 続き

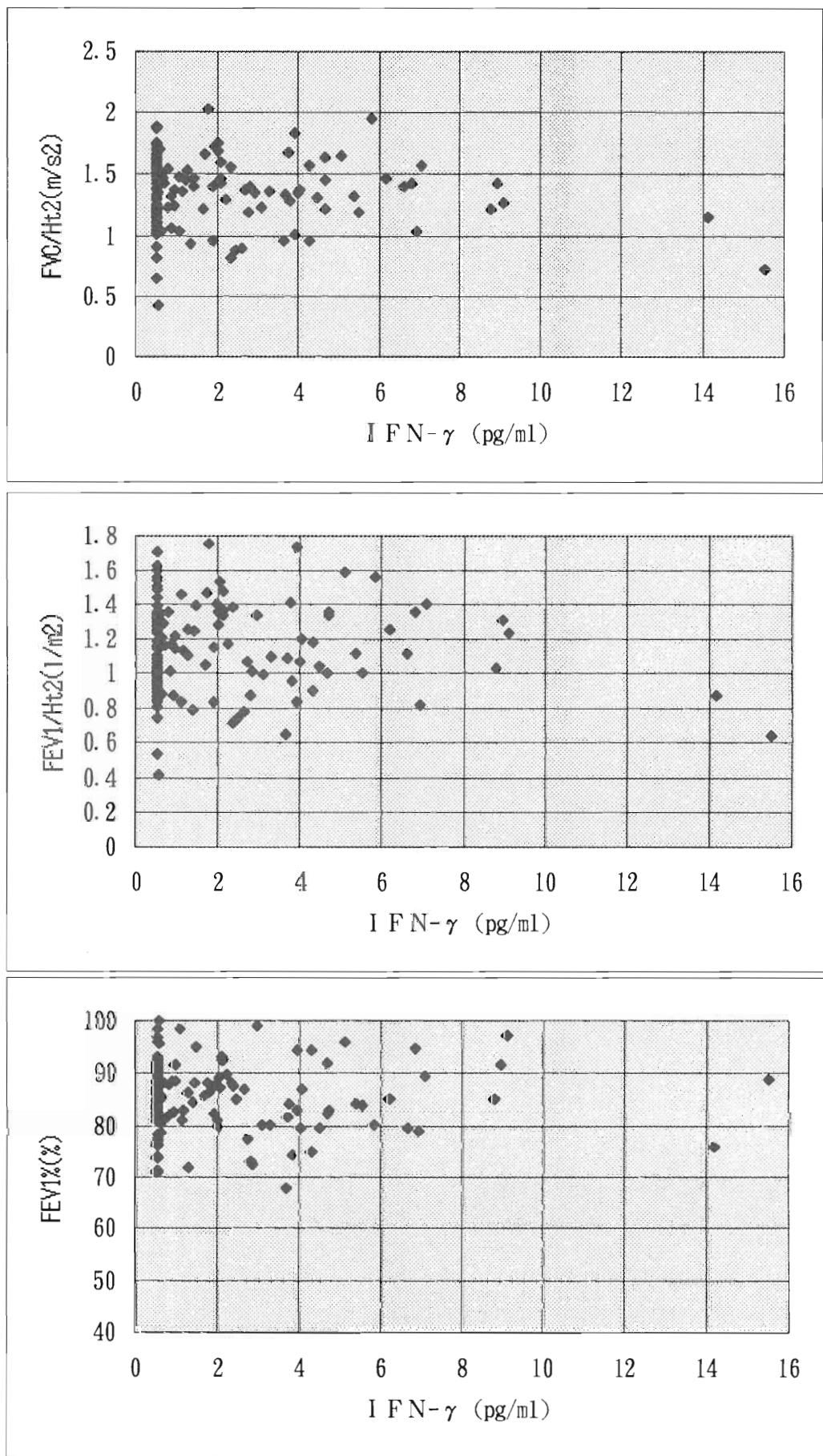


図4 サイトカイン値と肺機能指標の散布図



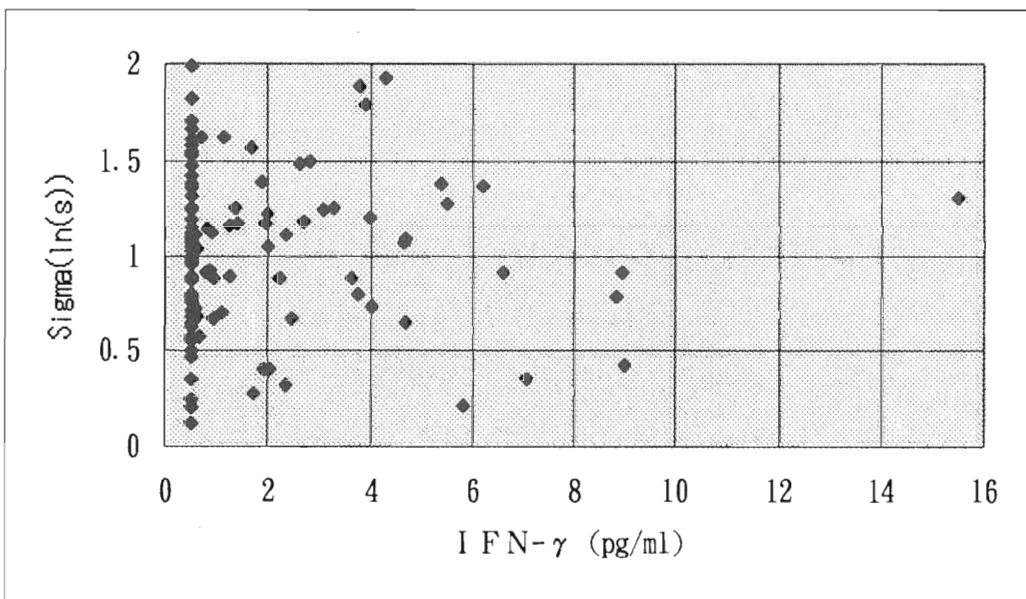
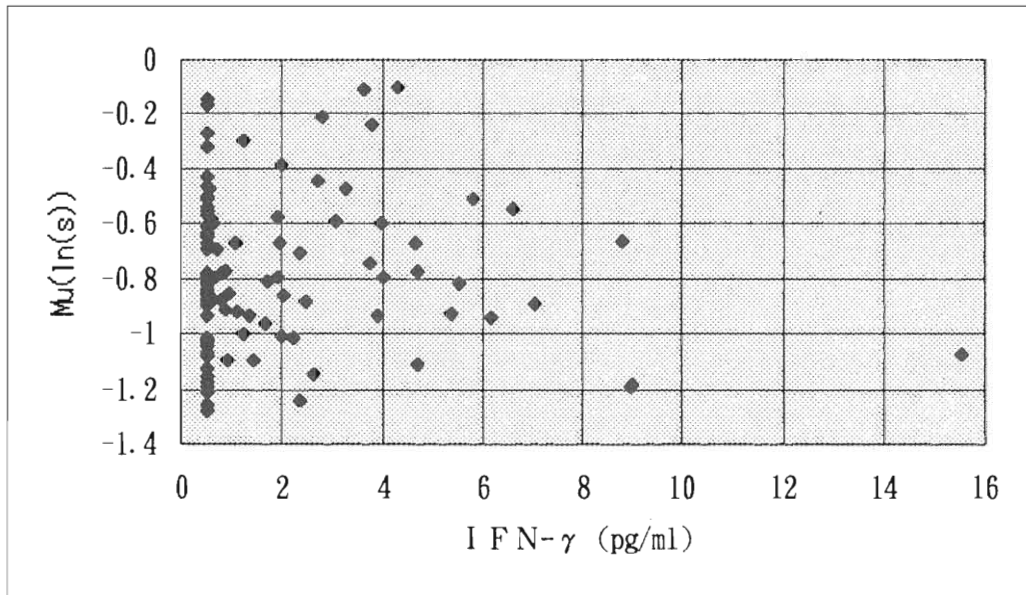
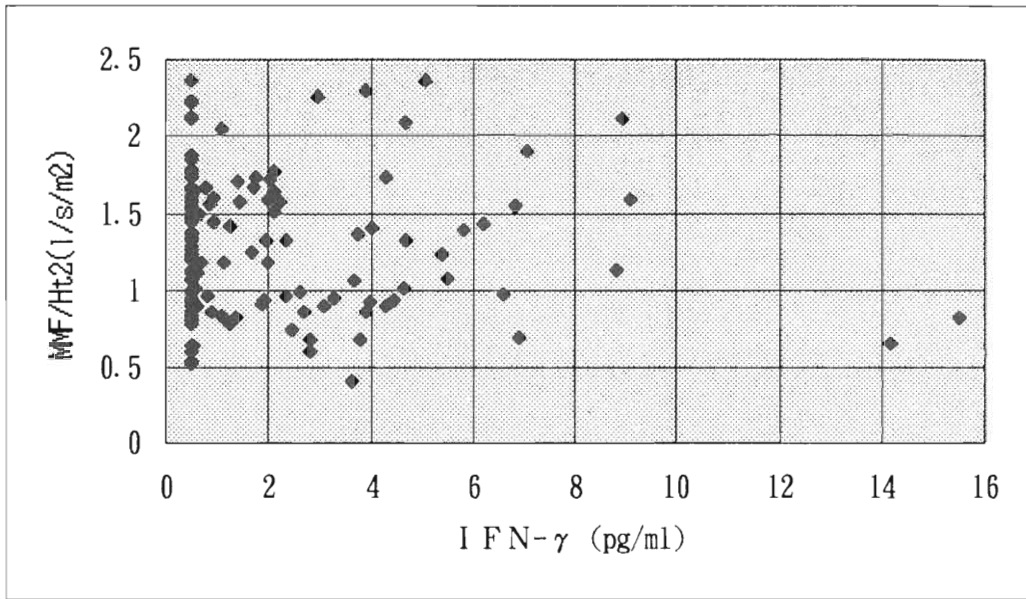


図4 続き

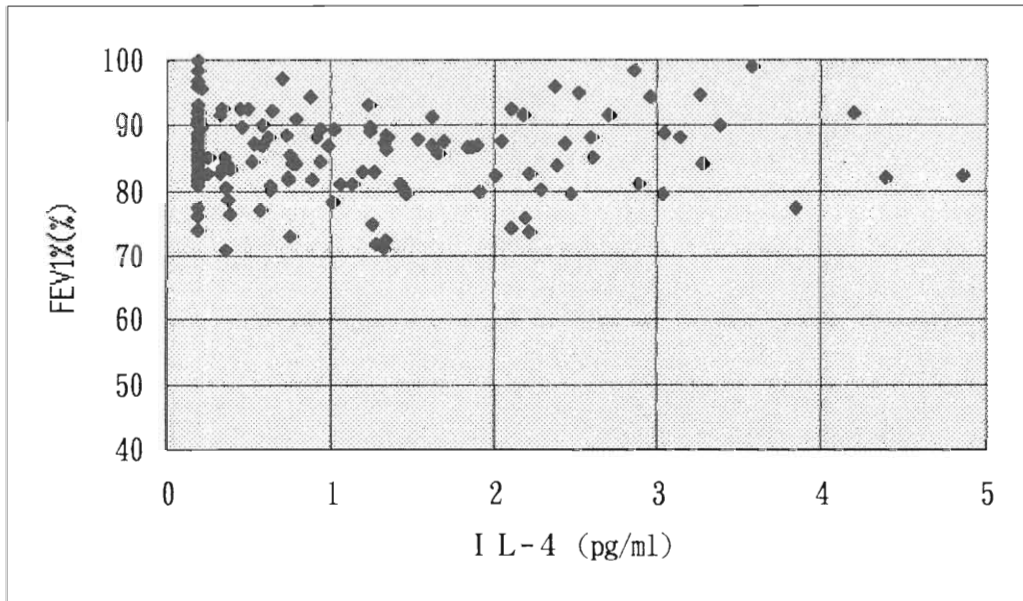
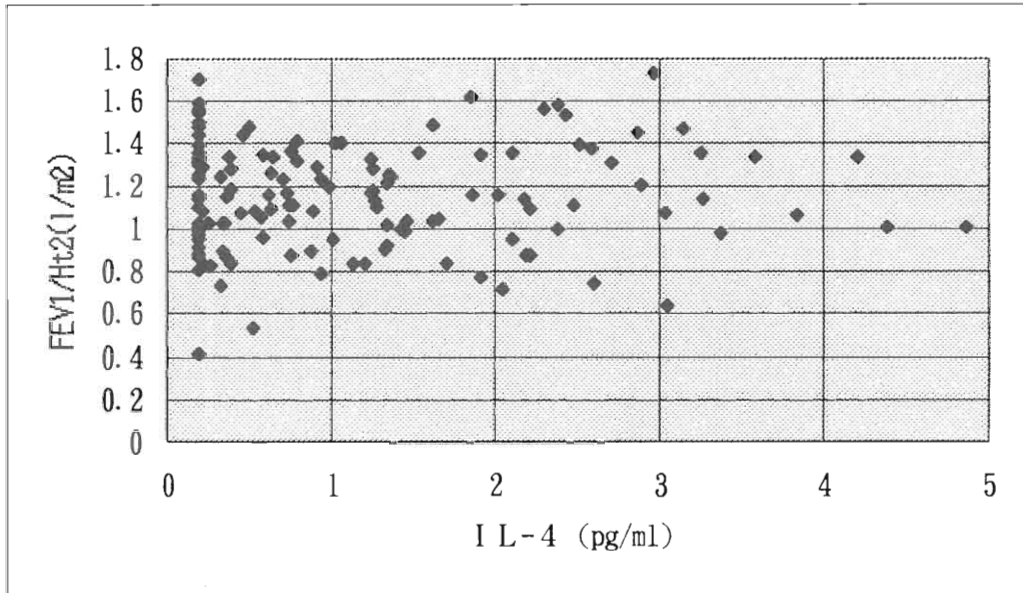
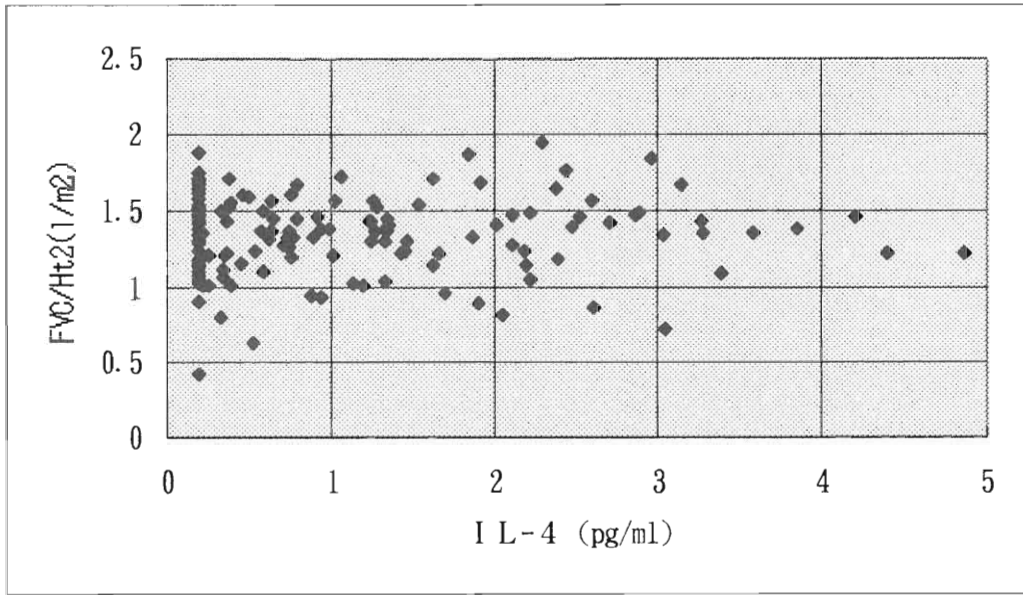


図4 続き

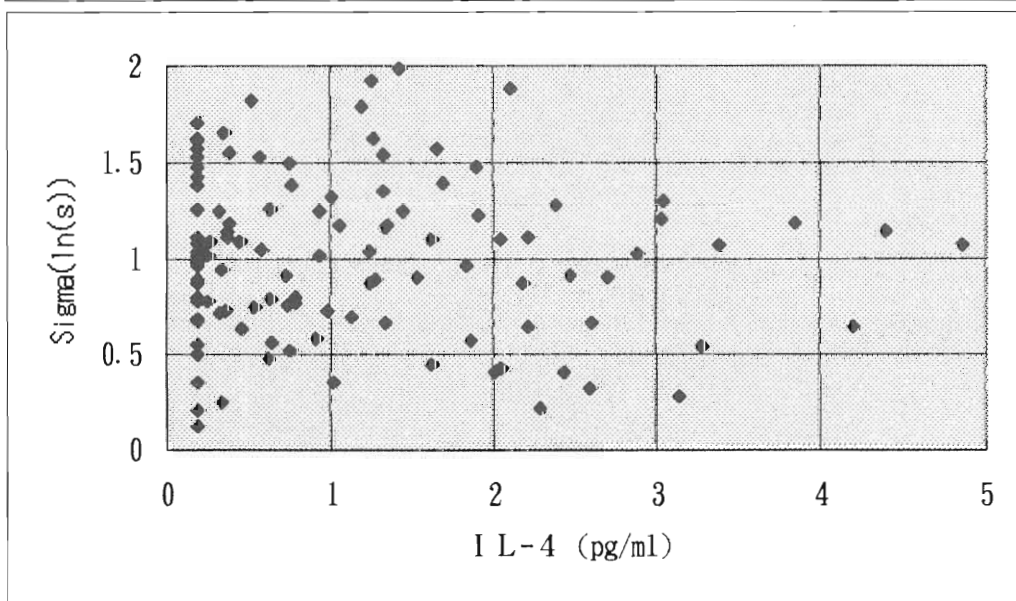
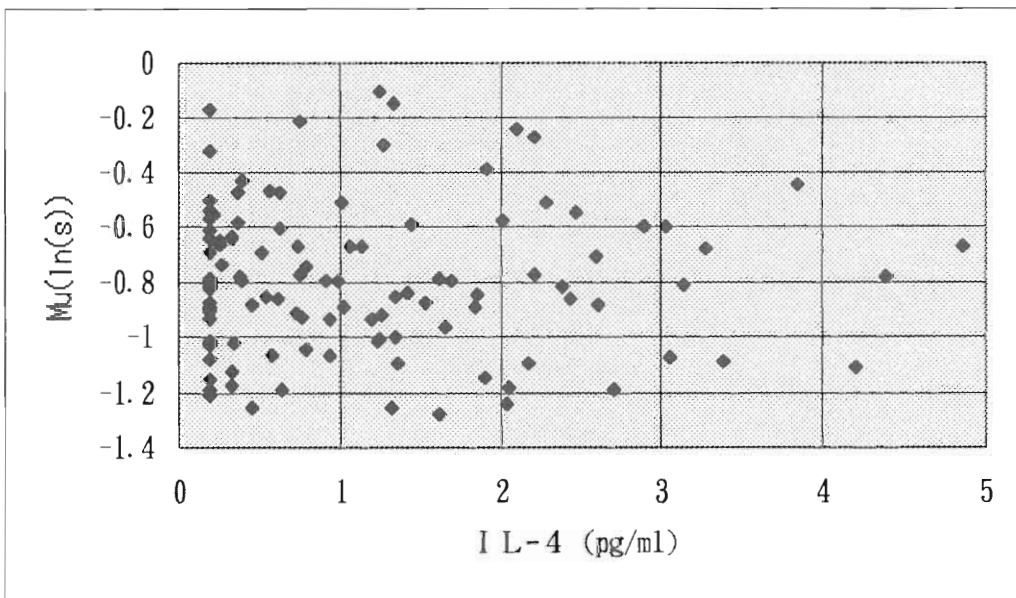
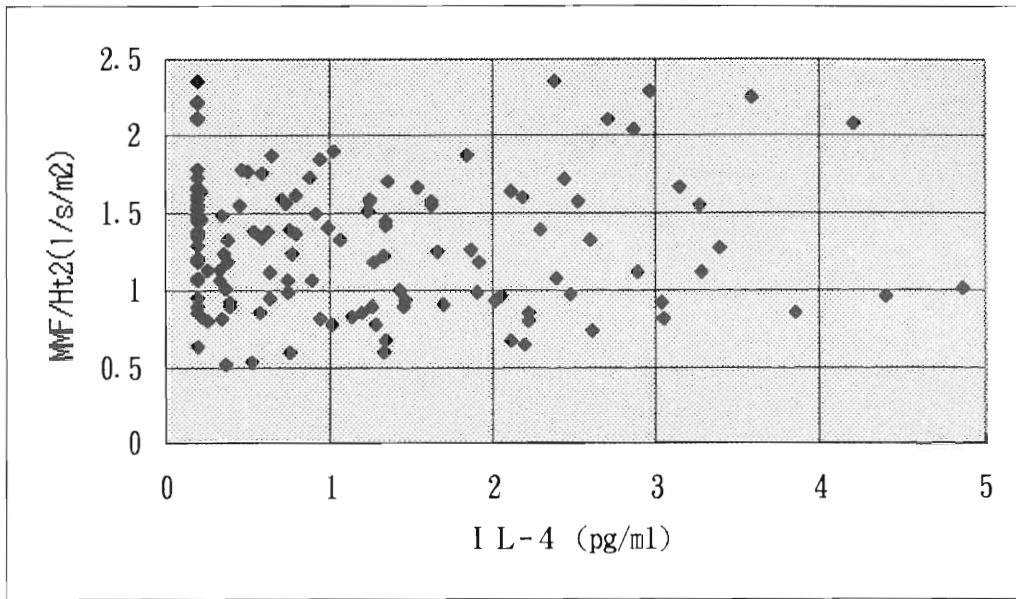


図4 続き

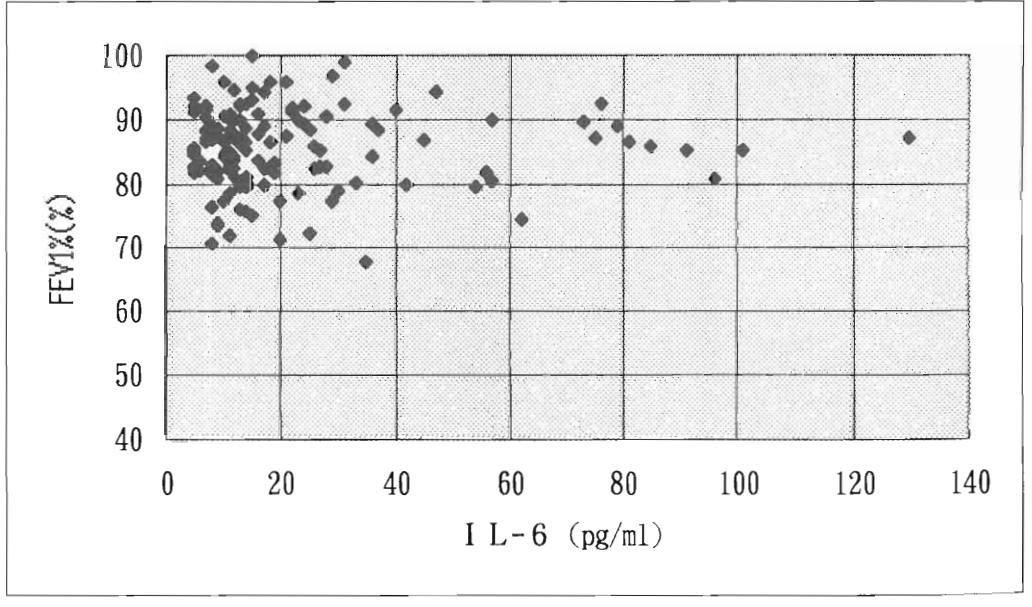
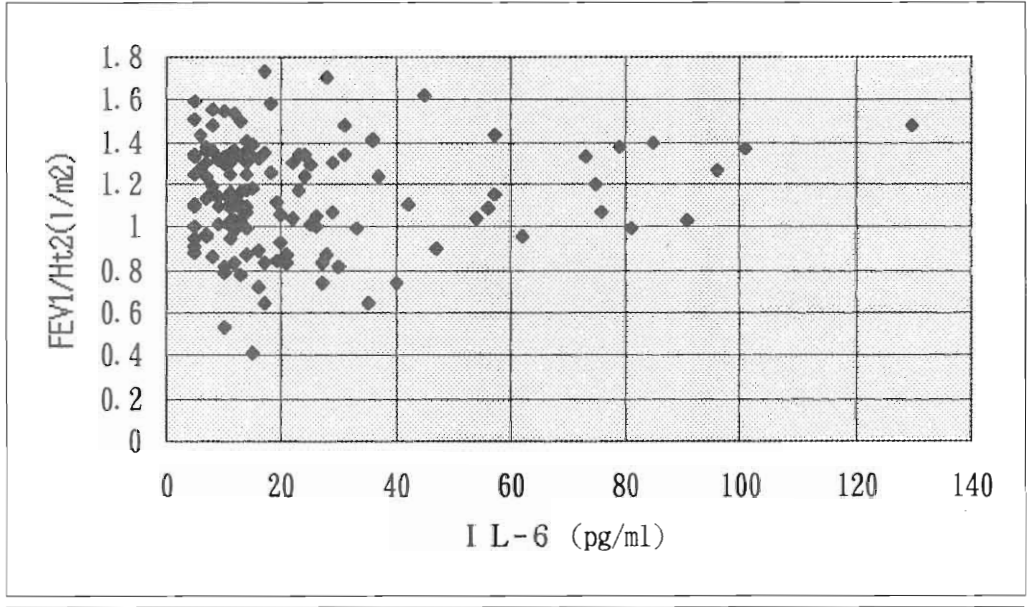
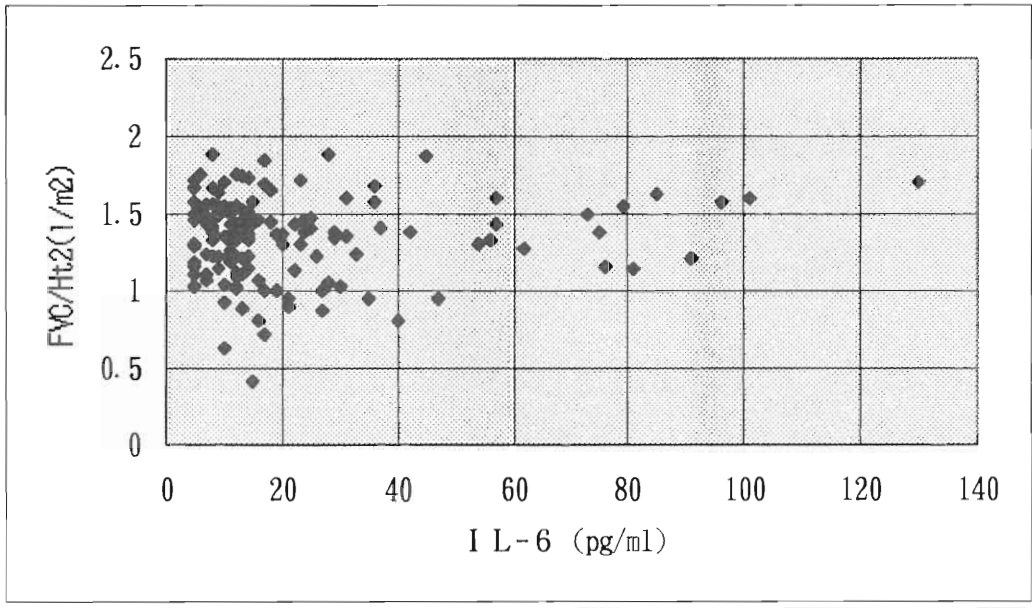


図4 続き

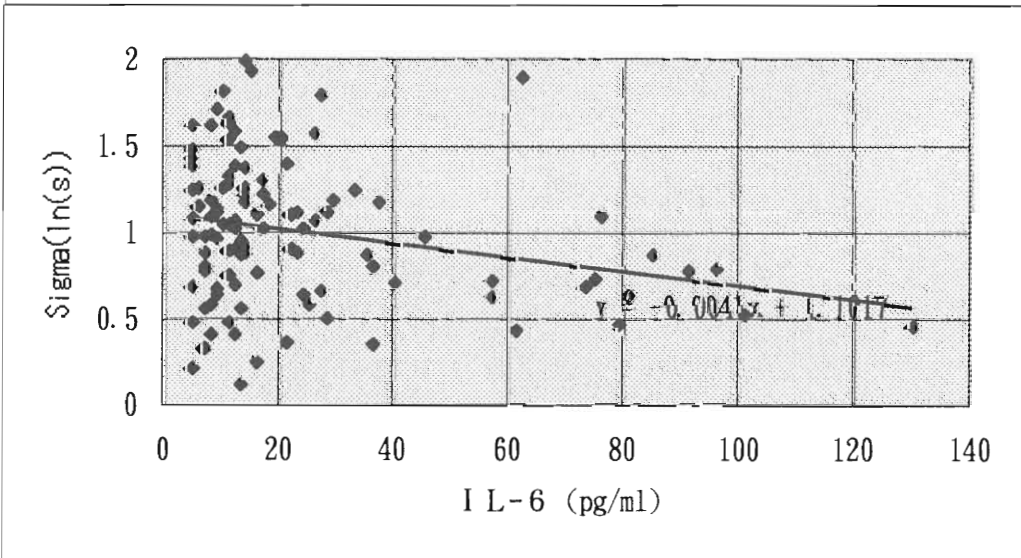
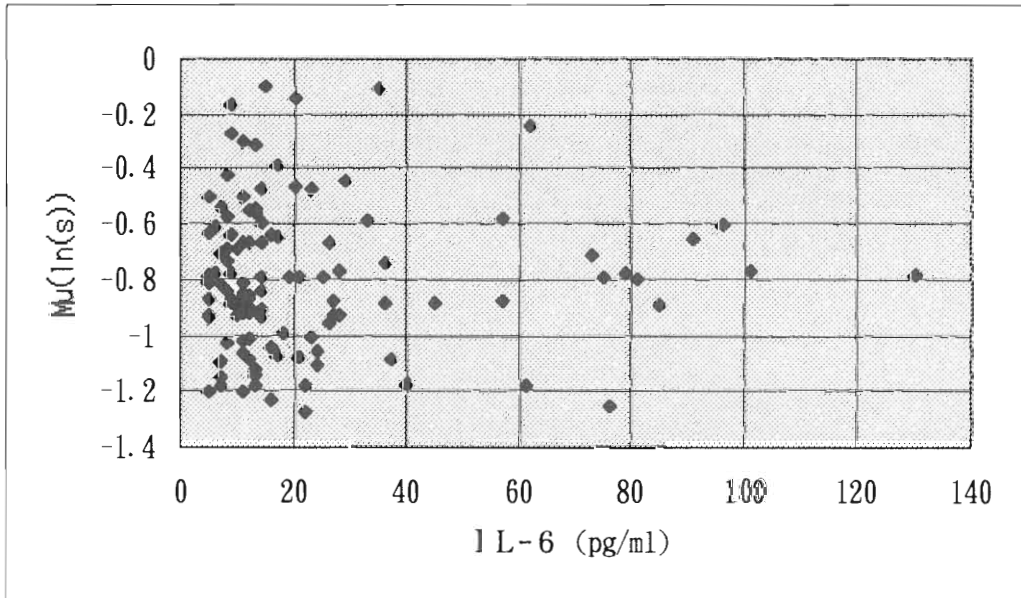
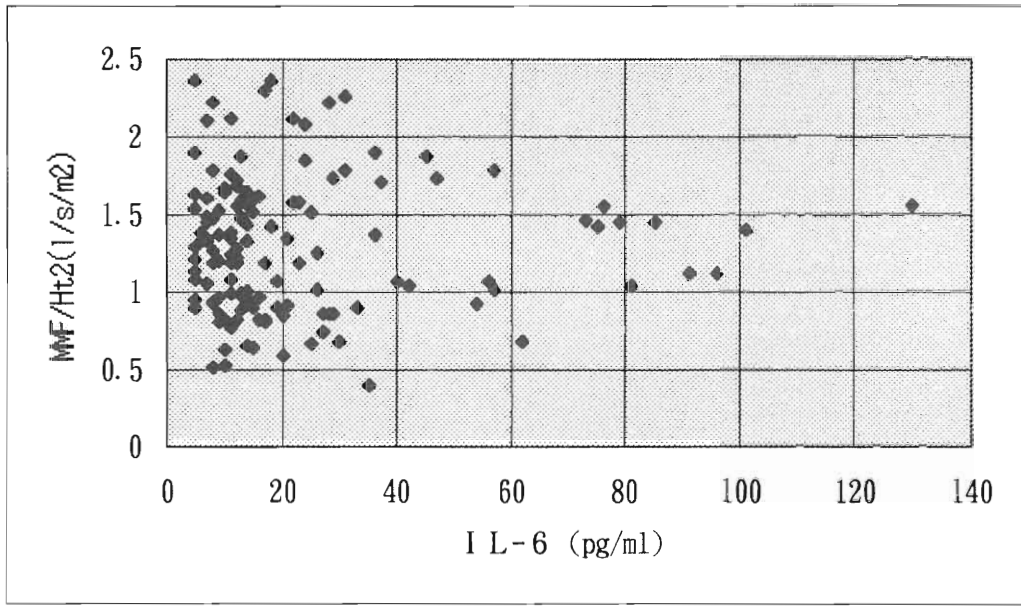


図4 続き

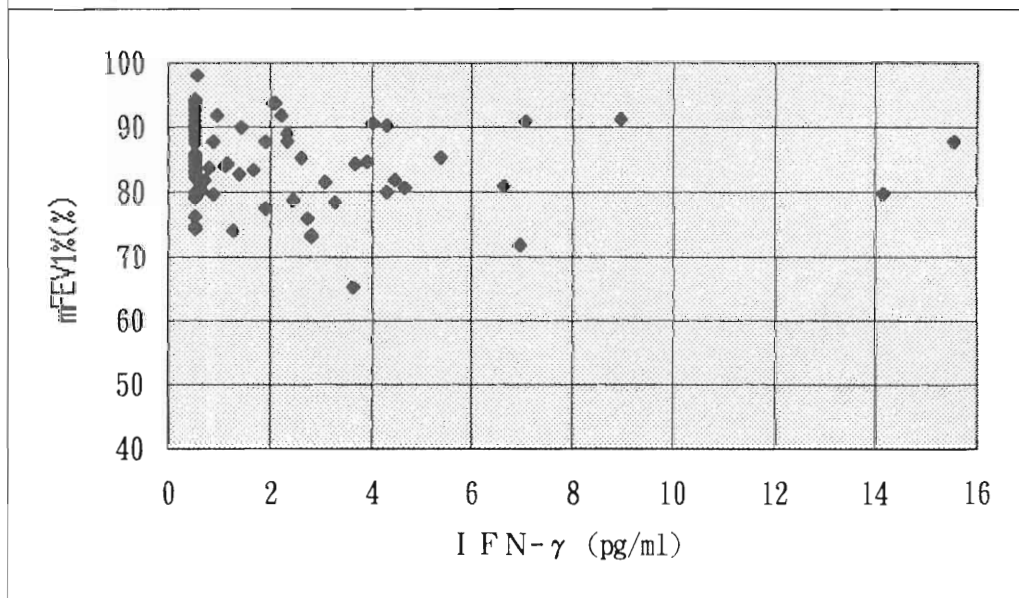
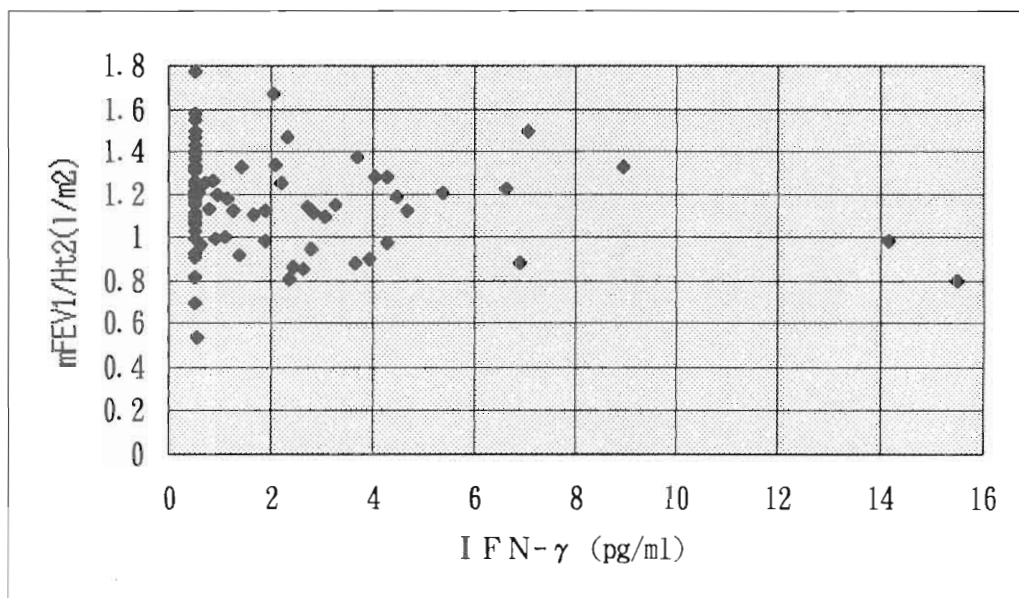
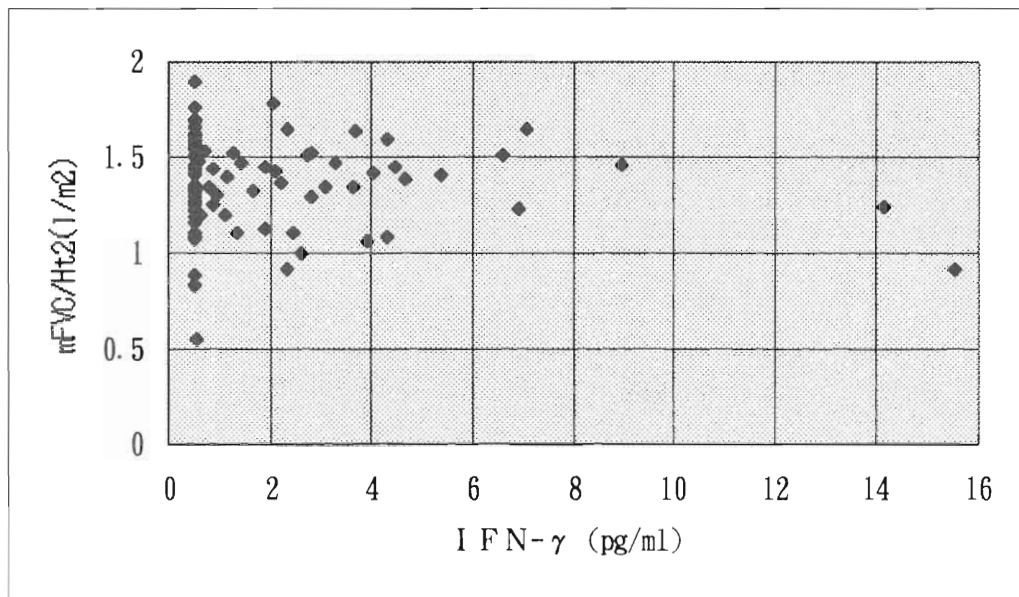


図4 続き

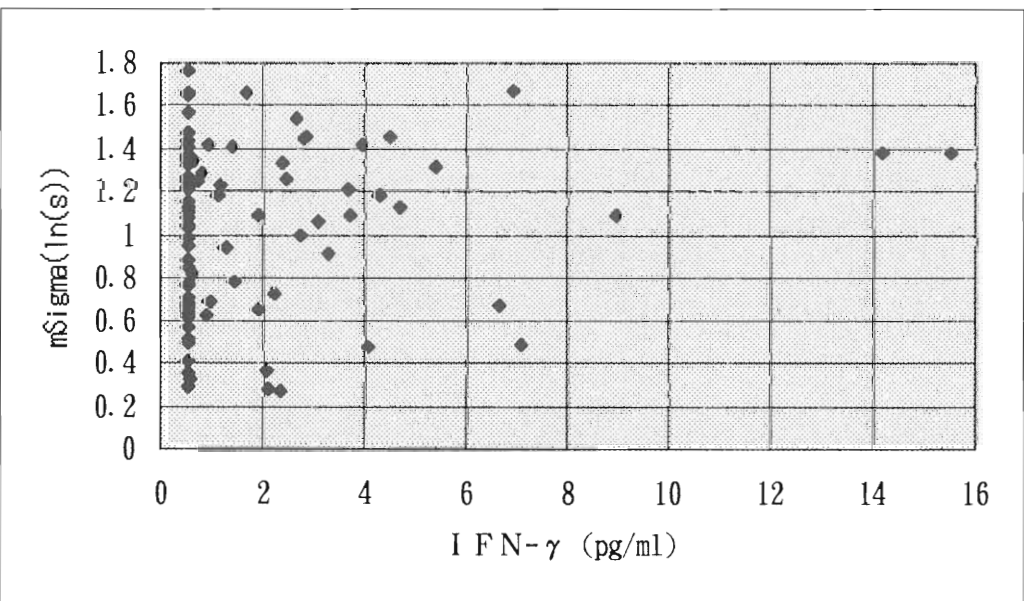
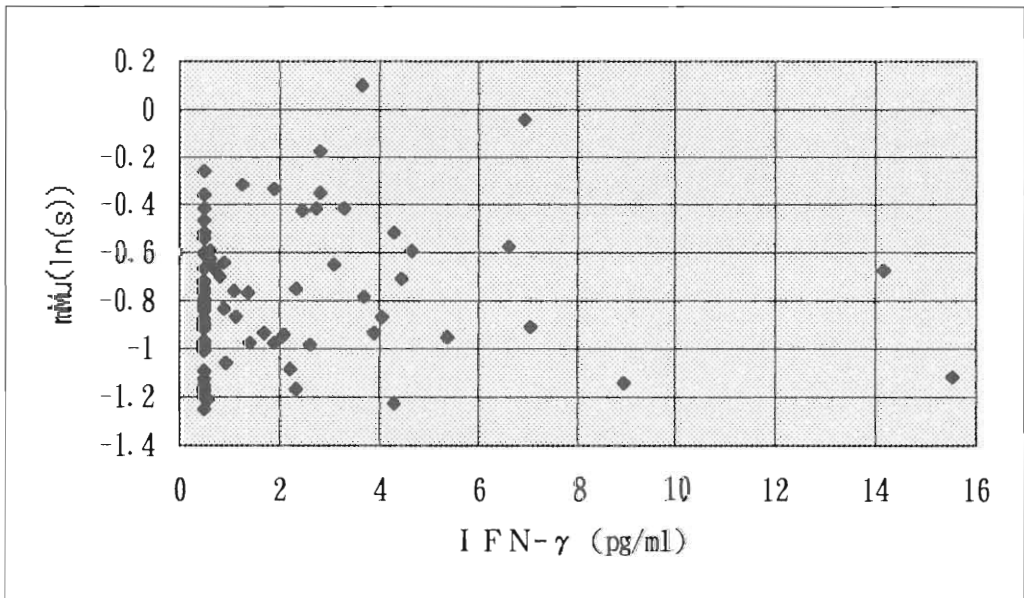
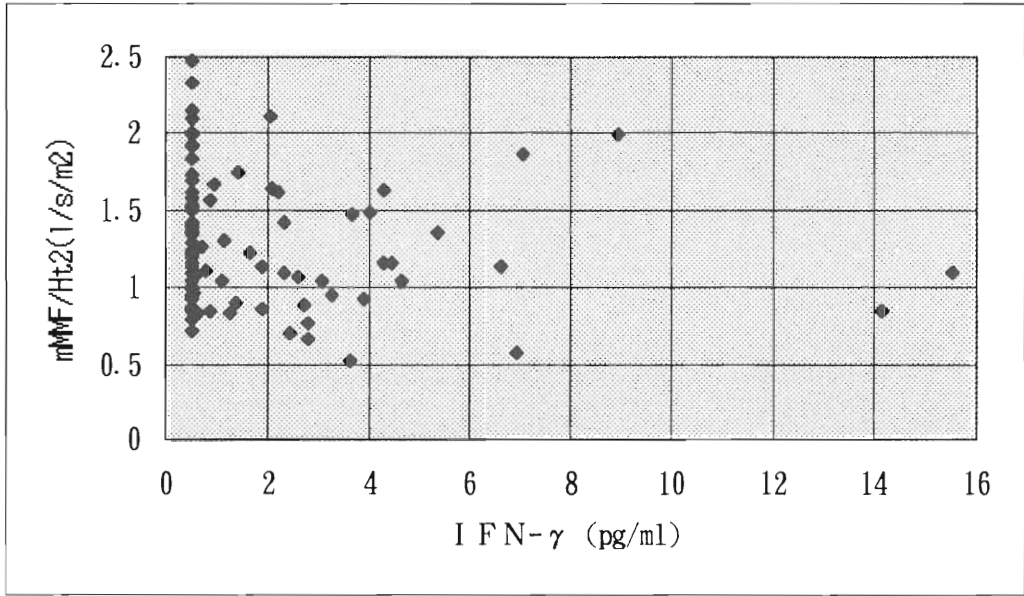


図4 続き

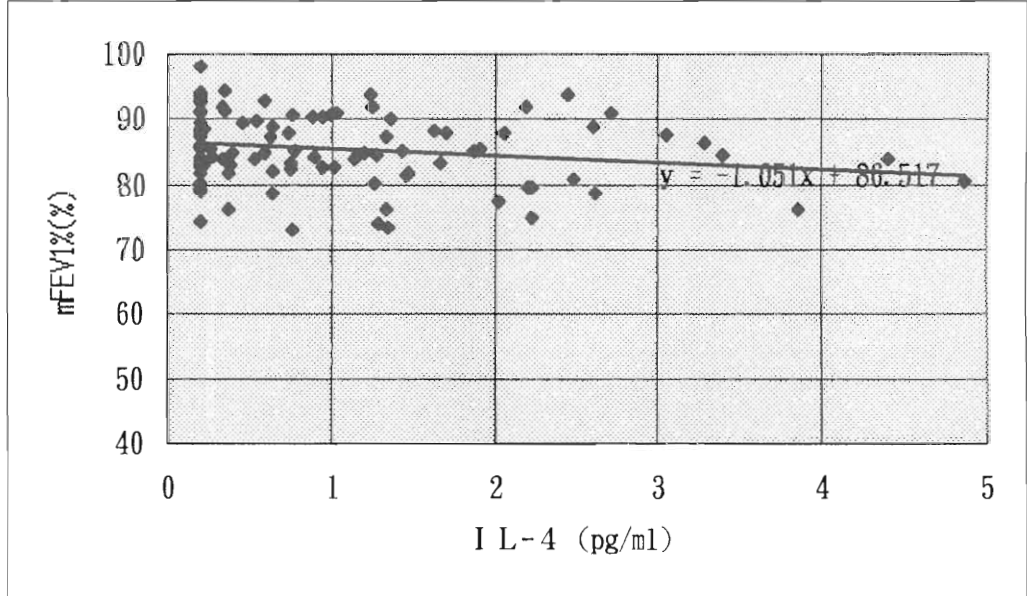
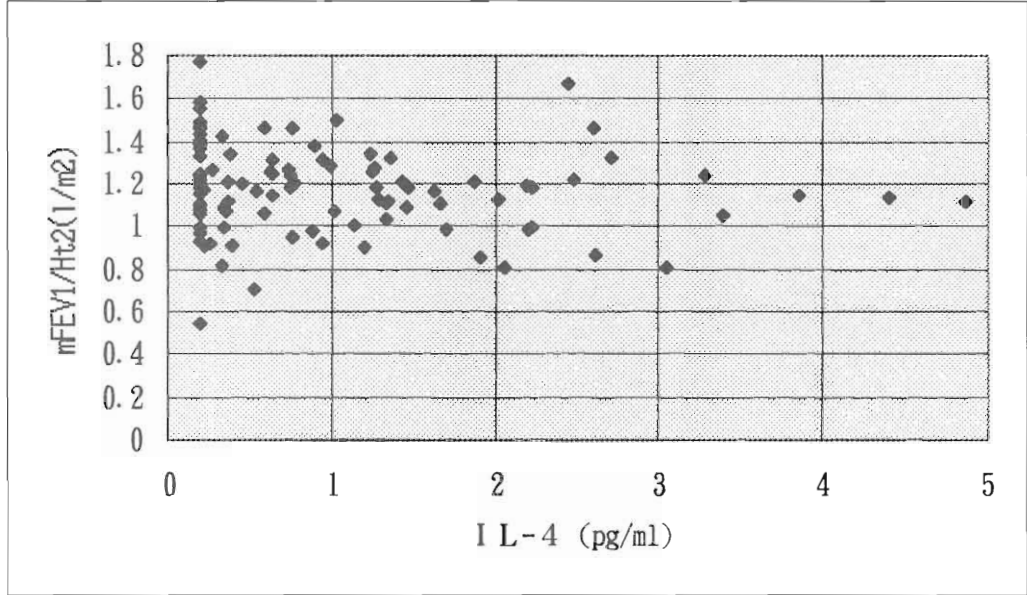
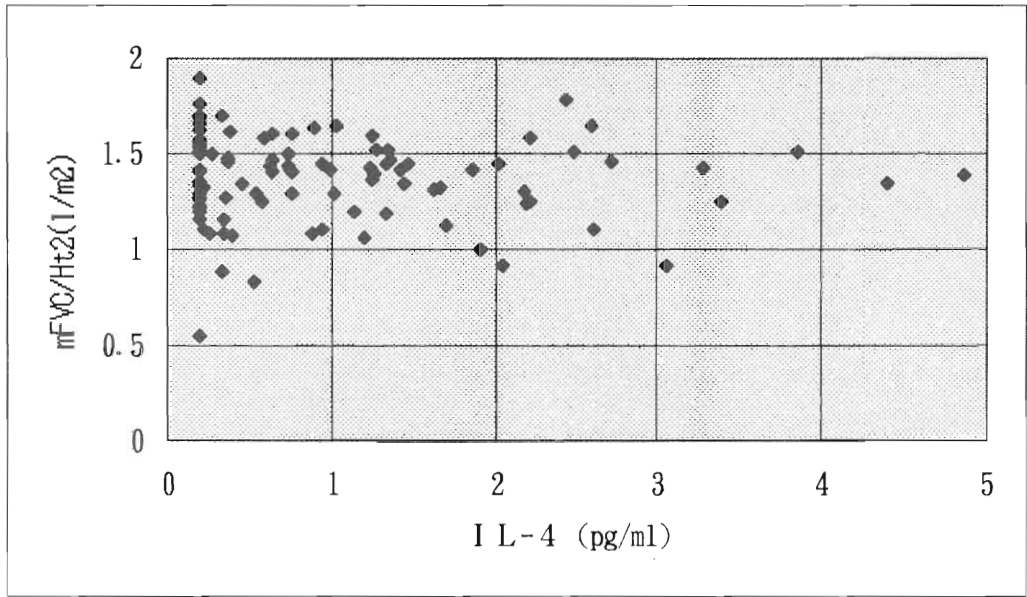


図4 続き



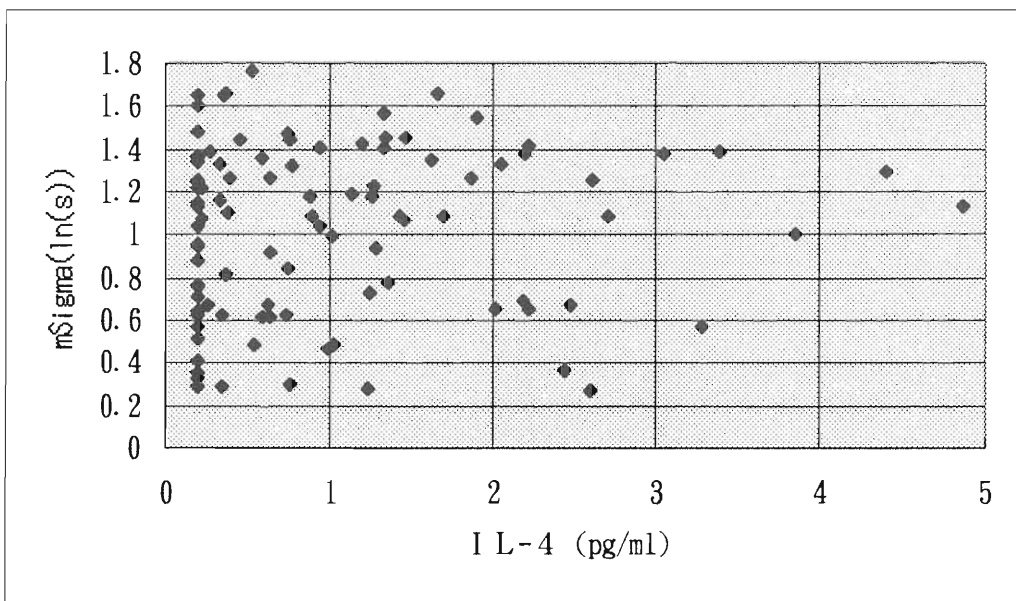
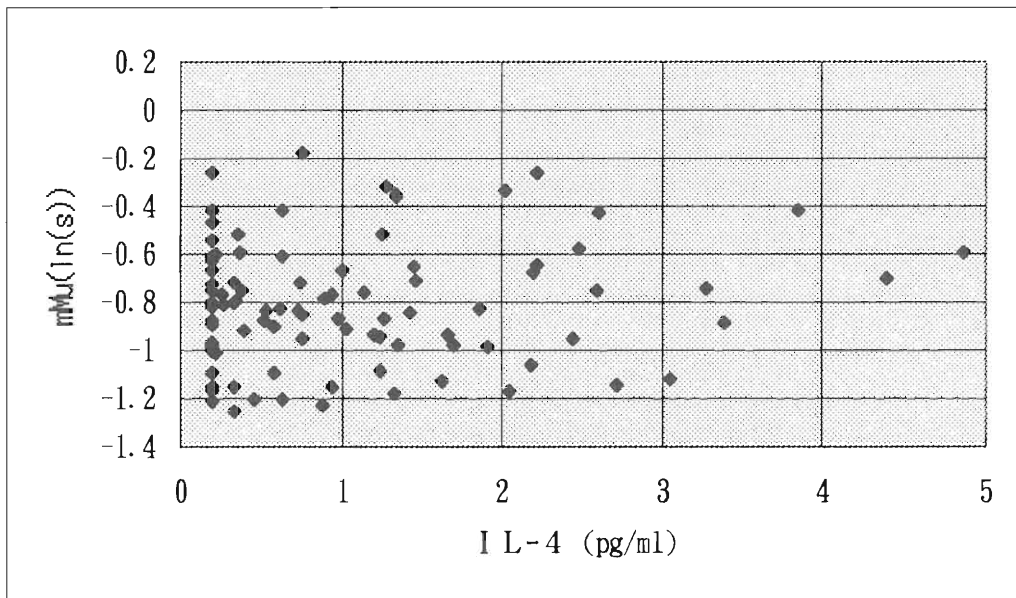
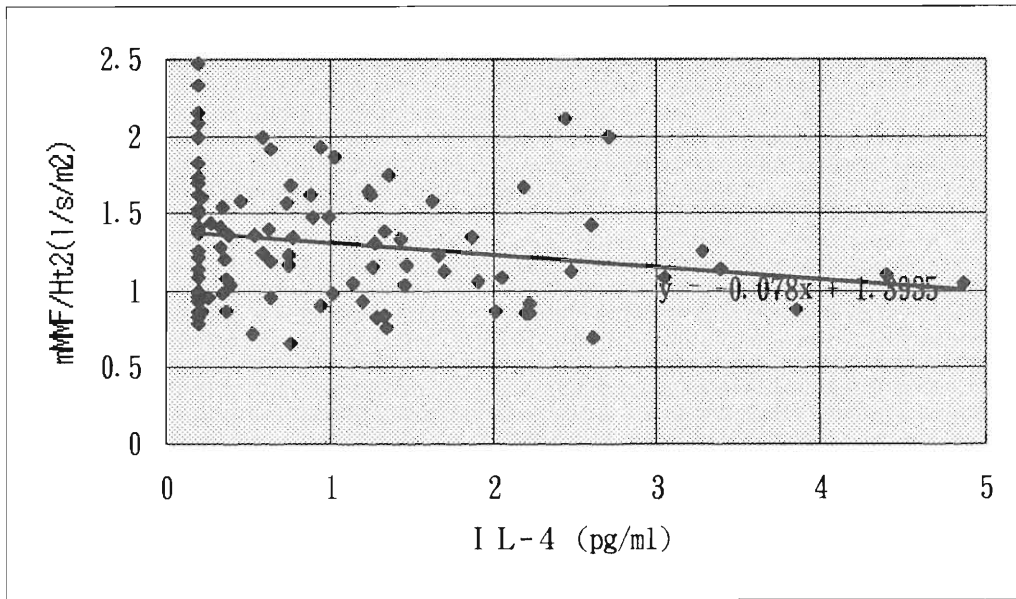


図4 続き

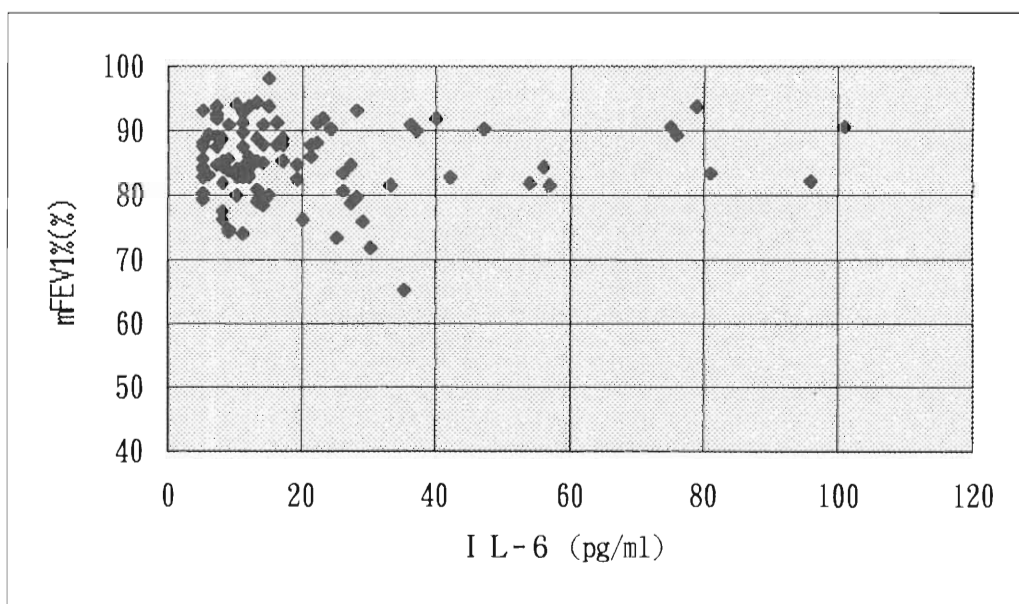
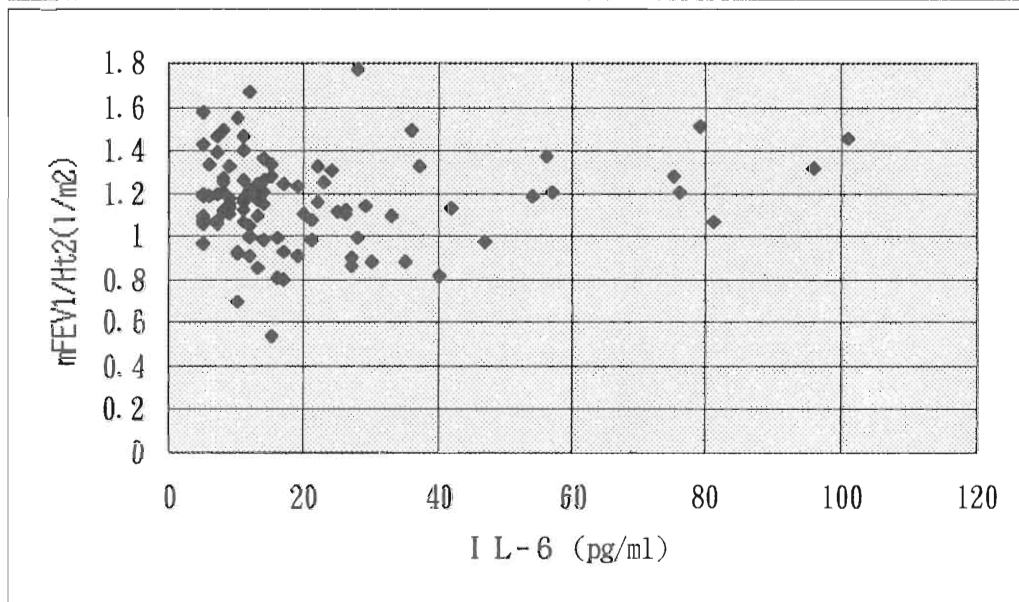
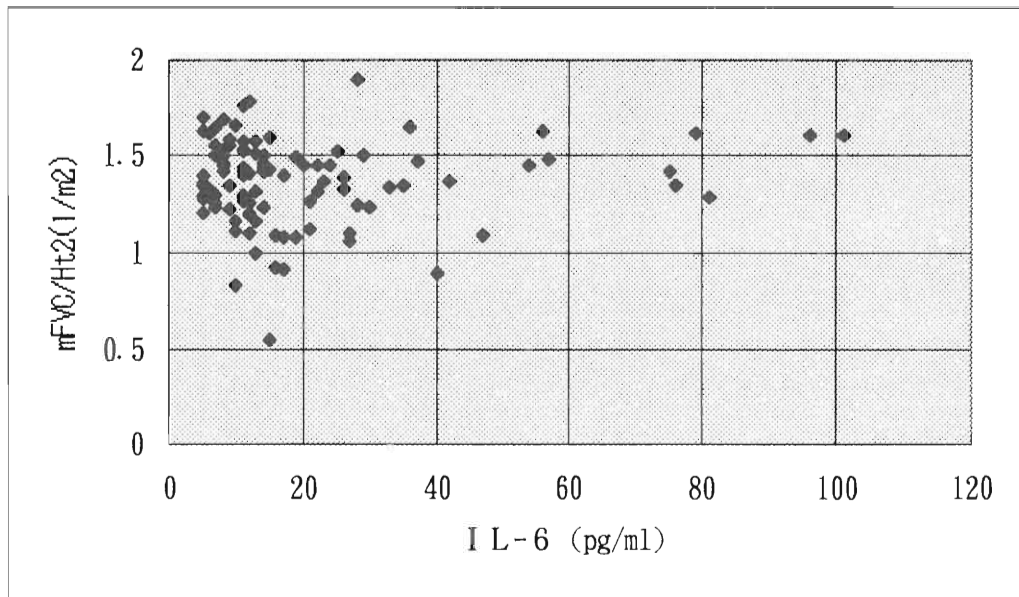


図4 続き

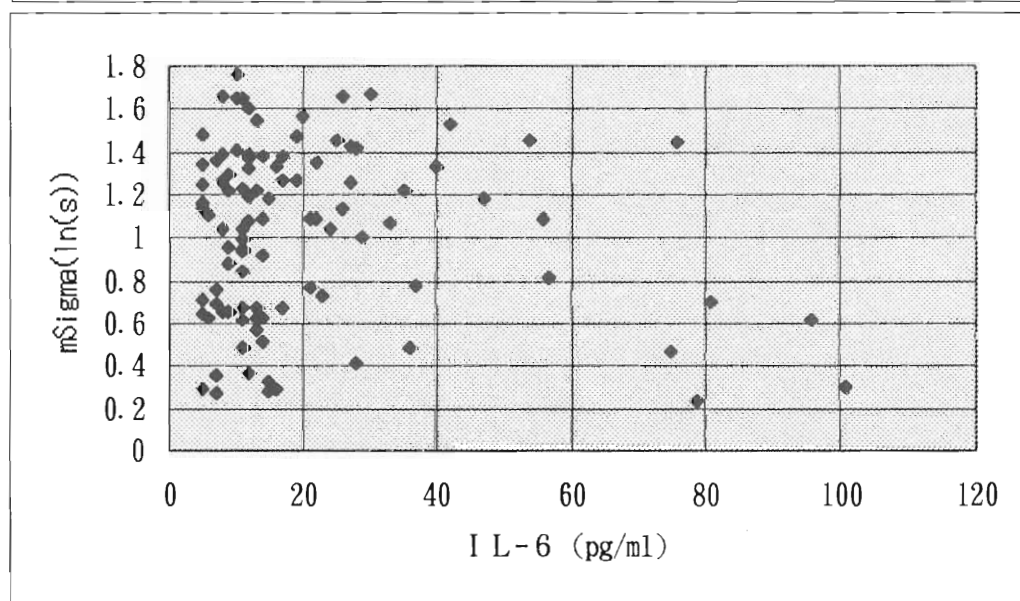
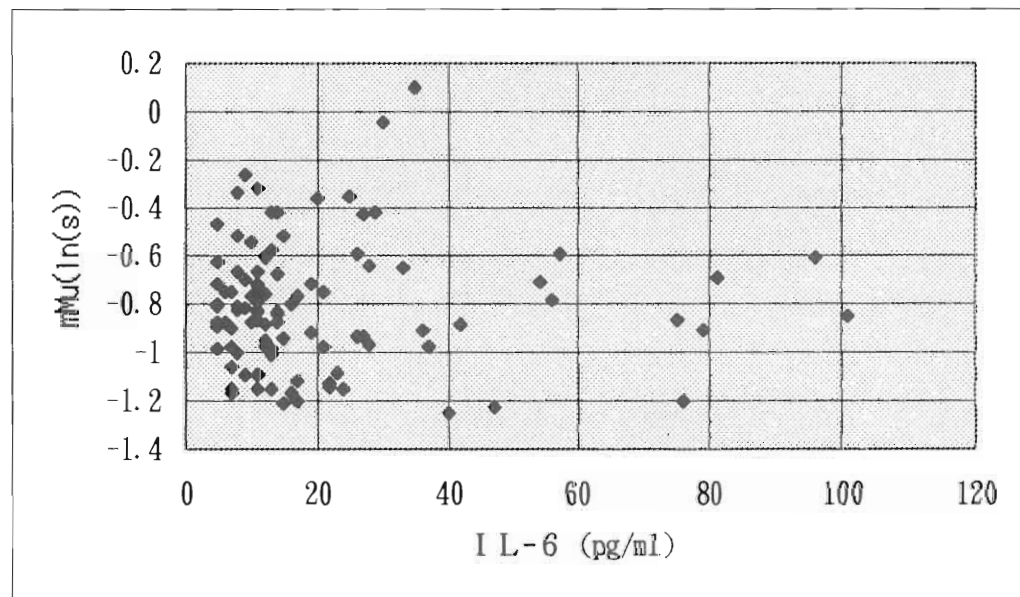
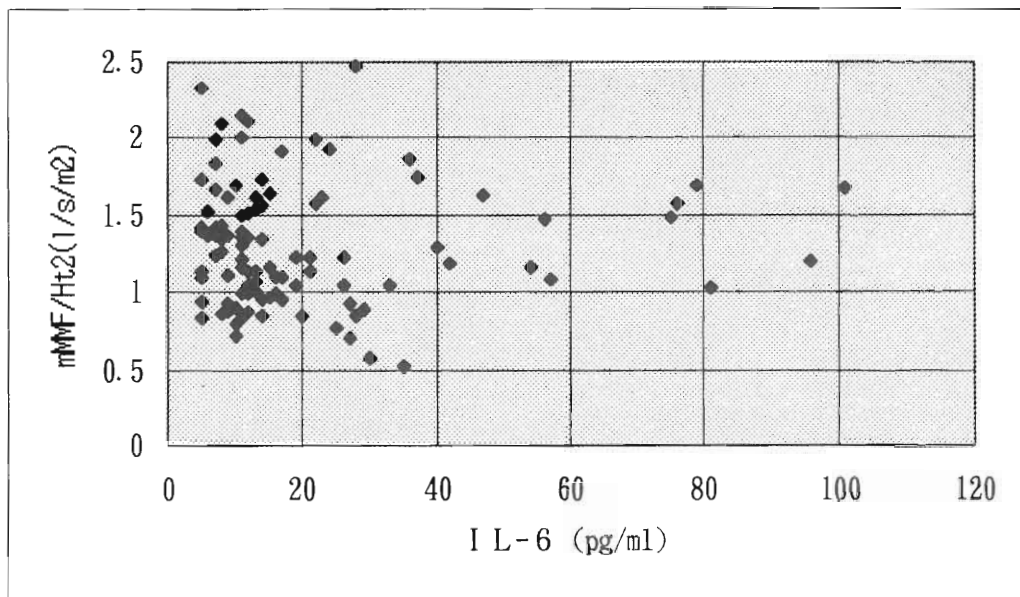


図4 続き