花粉有機酸の気道粘膜におよぼす影響に 関する実験的研究

——線毛運動機能と微細構造の観察——

*大橋 淑宏, 中井 義明, 原田 博文

村岡 道德, **大迫 茂人

Experimental Study of the Effect of Pollen Organic Acid on the Respiratory Tract Mucosa ——Observation of Motive Function and Microconstruction of Cilium——

Yoshihiro Ohashi, M.D., Yoshiaki Nakai, M.D.,

Hirofumi Harada, M.D. and Michinari Muraoka, M.D.

Department of Oto-Rhino-Laryngology, Osaka City University, Medical School, Osaka

Shigeto Osako

Oto-Rhino-Laryngological Department, Osaka Municipal Pediatric Health Care Center, Osaka

It is doubtless that the primary cause of pollinosis is type I allergic reaction. But when compared to other all-year-round allergy, there is certain difference between the two in regard to the symptoms and mode of onset of the disease. Also in view of the fact that the frequency of occurrence of pollinosis is relatively few for bronchial asthma while it is high for nasal allergy, there is a possibility that respiratory tract allergy caused by pollen is not only caused by antigen-antibody reaction but also it has some relation with the stimulation of respiratory tract mucosa by certain components of pollen.

In recent years, the study on the pollen components advanced and it has been reported that it contains various organic acids. The author suspected that oxalic acid and acetic acid which are contained commonly in all the pollen would have certain relation on the complicated pathology of pollinosis and studied the influence of these two organic acids on the mucosa of respiratory tract by observing the ciliary motive function and the conditions of mucous membrane.

The results are as follows:

1. Irreversible suspension of ciliary motion of nasal mucosa and tracheal mucosa of rabbit occurred within several seconds when immersed in the $1/10^2$ – $1/10^5$ solution of oxalic acid and acetic acid.
2. In $1/10^6$ solution, ciliary motion of nasal mucosa and tracheal mucosa of rabbit was found to stop within several minutes. In $1/10^7$ solution, ciliary motion accentuated temporarily and then attenuated gradually but did not stop.
3. Ciliary motive function of human maxillary sinus mucosa indicated similar reaction to those of respiratory tract mucosa of rabbit in the solution of organic acids.
4. When nasal mucosa and tracheal mucosa of rabbit are immersed in organic acid solution, certain changes of cilia cytoplasm and nucleus were observed. When disturbance was remarkable defoliation or collapsing of epithelial cells was also observed.

*大阪市立大学医学部耳鼻咽喉科学教室

**大阪市立小児保健センター耳鼻咽喉科

Key words : 花粉有機酸, 気道粘膜, 線毛運動機能

緒 言

花粉症はわが国でも急速な増加傾向にあり、花粉はハウスダストとともに気道アレルギーの大きな原因となっている。花粉による気道アレルギーの主因はⅠ型アレルギー反応にあるが、花粉による鼻アレルギーとハウスダストによる鼻アレルギーではその症状や発現様式に若干の差異が認められる点や、花粉症が気管支喘息では少なく鼻アレルギーでは頻度が高い点などからも、花粉による気道アレルギーには抗原抗体反応以外に花粉そのものの成分による気道粘膜刺激などが関与している可能性が考えられる。

一方、最近では花粉成分に関する研究も進み、大本ら¹⁾は花粉中に含まれる有機酸の濃度を報告している。われわれはこれまでに気道粘膜の生理と病態に関して線毛運動機能と形態の関連性を報告してきたが²⁾⁻⁸⁾、今回は花粉有機酸の気道粘膜におよぼす直接的な影響を線毛運動機能と形態の両面から検討したので、花粉症の複雑な病態を解明する一助となることを期待して以下に報告する。

実験材料および方法

実験には花粉に含まれる有機酸のなかでも、ほぼすべての花粉に含まれている蟻酸と酢酸を用いて、その気道粘膜におよぼす影響を検討した。

1) 実験材料

実験材料として、健常な成熟家兎の鼻粘膜および気管粘膜と慢性副鼻腔炎根本手術時に採取したヒト上顎洞粘膜を用いた。

2) 観察方法

i) 線毛運動機能の観察(図1)

図1に示すようなすでにわれわれが報告している電気光学的手法を用いて $1/10^1 \sim 1/10^7$ 倍に希釈された蟻酸 および 酢酸 の 混合有機酸溶液(生理的食塩水にて希釈)の鼻および気管線毛運動におよぼす影響を直接的かつ定量的に観察した。

ii) 形態学的観察

空気塞栓によって死亡せしめた後に採取した家兎の鼻粘膜および気管粘膜を $1/10^2 \sim 1/10^6$ 倍に希釈した蟻酸 および 酢酸 の 混合有機酸溶液(生理的食塩水にて希釈)に10分間浸した後の形態学的な変化を主として透過電子顕微鏡にて観察した。

成 績

1. 機能的観察

1) 対照群

環境温度 30°C 、生理的食塩水中で家兎の鼻粘膜および気管粘膜の分時線毛運動数を60分間にわたって観察した場合、図2、3に示すような結果であった。すなわち、生理的食塩水中では

図 1

分時線毛運動数

図 2 家兎鼻粘膜線毛運動 (生理的食塩水中)
健康な家兎の鼻粘膜線毛運動は生理食塩水中で
60分間に著明な低下を観察しなかった。

分時線毛運動数

図 3 家兎気管線毛運動 (生理的食塩水中)
健康な家兎の気管粘膜線毛運動は生理食塩水中
で60分間に著明な低下を観察しなかった。

図 4 花粉有機酸の鼻粘膜線毛運動におよぼす影響
 $1/10^6$ 倍希釈した有機酸溶液中では鼻粘膜線毛
運動は急激に低下して約 2 分後には運動の停止を
観察した。

図 5 花粉有機酸の鼻粘膜線毛運動におよぼす影響
 $1/10^7$ 倍希釈した有機酸溶液中では鼻粘膜線毛
運動は約 5 分間にわたって亢進した後に低下した
が、運動の停止は観察されなかった。

60分間には線毛運動の低下はみられなかった。

2) 家兎鼻粘膜線毛運動におよぼす有機酸の影響

チェンバー内の生理的食塩水中で数分間線毛運動を観察した後に、この生理的食塩水を種々の濃度の有機酸溶液に置換して、その後の分時運動数の変化を観察した。

$1/10^2 \sim 1/10^5$ 倍希釈の有機酸溶液に置換した場合には、鼻粘膜の線毛運動は数秒以内に停止し、その後生理的食塩水で洗浄しても線毛運動の回復はみられなかった。

$1/10^6$ 倍希釈した有機酸溶液で置換した場合には、数秒以内に線毛運動は半減し、その後は徐々に低下して約 2 分程度で線毛運動の停止を

観察した (図 4)。

また、 $1/10^7$ 倍希釈した有機酸溶液で置換した場合には、直後より線毛運動は亢進し、その後は徐々に低下したが、運動の停止はみられなかった (図 5)。

3) 家兎気管粘膜線毛運動におよぼす有機酸の影響

$1/10^2 \sim 1/10^5$ 倍希釈した有機酸溶液で置換した場合には、鼻粘膜の場合と同様に、気管線毛運動は数秒以内に停止し、その後生理的食塩水で洗浄しても運動の回復はみられなかった。

$1/10^6$ 倍希釈した有機酸溶液で置換した場合には、気管線毛運動は数秒以内に半減し、その

図 6 花粉有機酸の気管粘膜線毛運動におよぼす影響

$1/10^6$ 倍希釈した有機酸溶液中では気管粘膜線毛運動は急激に低下して3分前後で運動の停止が観察された。

図 7 花粉有機酸の気管粘膜線毛運動におよぼす影響

$1/10^7$ 倍希釈した有機酸溶液中では気管粘膜線毛運動は数分の間は一過性に亢進し、その後は徐々に低下したが、運動の停止は観察されなかった。

図 8 花粉有機酸の慢性副鼻腔炎粘膜線毛運動におよぼす影響

$1/10^6$ 倍希釈した有機酸溶液中ではヒト上顎洞粘膜の線毛運動は急激に低下し、2分程度で運動の停止が観察された。

後は徐々に低下して、3分前後で停止した。その後は生理的食塩水で洗浄しても運動の回復はみられなかった(図6)。

また、 $1/10^7$ 倍希釈した有機酸溶液で置換した場合には、3～5分程度の間に一過性の線毛運動の亢進を示し、その後は徐々に低下したが、線毛運動の停止は観察されなかった(図7)。

4) ヒト上顎洞粘膜線毛運動におよぼす有機酸の影響

慢性副鼻腔炎根治術時に採取したヒト上顎洞粘膜を生理的食塩水に入れて線毛運動数を観察した後に、種々の濃度の有機酸溶液と置換して、その際の線毛運動の変化を観察した。 $1/10^2$ ～ $1/10^5$ 倍希釈液で置換すると、数秒以内で線

図 9 花粉有機酸の慢性副鼻腔炎粘膜線毛運動におよぼす影響

$1/10^7$ 倍希釈した有機酸溶液中ではヒト上顎洞粘膜の線毛運動は亢進後に徐々に低下したが、運動の停止は観察されなかった。

毛運動は停止し、生理的食塩水による洗浄で線毛運動の回復はみられなかった。

$1/10^6$ 倍希釈液で置換した場合には、直後より線毛運動は著明に低下して、2分程度で停止した(図8)。 $1/10^7$ 倍希釈液で置換した場合には、直後より著しく亢進し、その後徐々に低下したが、線毛運動の停止は認められなかった(図9)。

2. 形態学的観察

1) 有機酸の注入による鼻粘膜

In vivo で家兎鼻腔内に注射器で $1/10$ 倍希釈した有機酸 1 ml を注入し、10分後の鼻粘膜を観察した像が図10である。上皮細胞層はほぼ完全に融解し、基底膜も不明瞭となっている。上

図 10 家兎鼻腔内に1/10倍希釈した有機酸1 mlを注入1分後の鼻粘膜では上皮細胞の完全な融解消失が観察された。

図 11 巨大な複合線毛の形成、線毛細胞の脱落などが観察される。

図 12 自由表面には脱落した上皮細胞の破片が多くみられ、基底細胞にも著明な変化が観察される。

図 13 自由表面には脱落した上皮細胞の破片が多くみられ、残存する細胞にも著明な障害が観察される。

図 14 杯細胞では変化が軽度であるが、線毛細胞では線毛の脱落、細胞質の空虚化が観察される。

図 15 線毛細胞の胞体には強い障害がみられるが、線毛自体の変化は軽度である。

図 16 部分的な細胞膜の膨化や破綻がみられるが、線毛や上皮細胞は残存している。

皮下では膠原線維には変化はあまり観察されないが、細胞成分には核の濃縮変性などの障害像が観察される。

2) 有機酸溶液に浸漬した鼻粘膜

1/10² 倍希釈した有機酸溶液中に 10 分間浸漬した場合の鼻粘膜では自由表面には、おそらく上皮細胞の細胞成分の散出像であろうと推察される多くの塵状成分が観察された。また、線毛細胞の崩壊脱落像、複合線毛の形成、上皮細胞の空虚化や核の濃縮像や変性像も観察された。さらに細胞膜の著明な膨化像や糸粒体の膨化像

を観察した (図11, 12, 13)。

1/10⁴ 倍希釈した有機酸溶液中に 10 分間浸漬した鼻粘膜の形態を図14に示す。分泌顆粒の変化は軽度であるが、核や細胞質は空虚となって観察される。自由表面では細胞膜の膨化や破綻、および線毛の脱落を認める。

1/10⁵ 倍希釈の有機酸溶液中に 10 分間浸漬した場合の鼻粘膜の形態を図15, 16に示す。この濃度では線毛の脱落はみられないが、部分的な細胞膜の破綻や核および細胞質の変性が観察される。

1/10⁶ 倍希釈液中に 10 分間浸漬した鼻粘膜の

図 17 上皮細胞の形態は保たれているが、細胞質の電子密度の変化や糸粒体の変性が観察される。

図 18 線毛細胞の電子密度に変化がみられるが、線毛および細胞膜の破綻は観察されない。

図 19 上皮細胞の脱落、核の変性など高度な変化が観察される。

形態を図17, 18に示す。上皮細胞の形態は図10～16に比較してかなり保たれているが、核では軽度の変化が観察され、線毛細胞では細胞質の電子密度の変化や糸粒体の変性が観察される。また、細胞膜の膨化変形や線毛の脱落などの像も部分的に観察された。

3) 有機酸溶液に浸漬した気管粘膜

$1/10^2$ 倍希釈液に10分間浸漬した気管粘膜では著明な崩壊像が観察された。図19に示すように上皮細胞の崩壊像をはじめとして、核の濃縮像、線毛の融解像などが観察された。

$1/10^3$, $1/10^4$, $1/10^5$ 倍に希釈した有機酸溶液中に10分間浸漬した気管粘膜でも鼻粘膜とほぼ同様の変化を観察した。

図 20 上皮細胞の核に軽度の変化が観察されるが、胞体の変化は軽度である。

また、 $1/10^6$ 倍希釈した有機酸溶液中に10分間浸漬した気管粘膜では、上皮細胞の核や細胞質に軽度の電子密度の変化が観察されたが、図20, 21に示すように、その変化の程度は同条件の鼻粘膜(図17, 18)でみられた変化よりもやや軽度であった。

考 察

わが国で花粉症が本格的に取り上げられたのは、荒木(1960, 1961)⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾からである。これ以前には Alford (1948)⁽¹¹⁾, Durham (1961)⁽¹²⁾の報告にみられるように、ブタクサなど花粉植物の日本における分布は少なく、花粉飛散もみられないことから日本に花粉症の可能性は少ないと言われた時代もあったが、現在では花粉はハウスダストとともに気道アレルギーの大きな原因となっている。

この花粉による気道アレルギーの主因はⅠ型アレルギー反応にあるが、他の通年性アレルギーと比較してみると、症状の発現様式に多少の差異がみられる。このような花粉症の特殊性には抗原抗体反応以外の他の因子の関与も考えら

図 21 一部の核に障害がみられるが、胞体や線毛にはほとんど変化は観察されない。

れる。福山(1938)⁽¹³⁾は花粉エキスを作製し、酸性反応を呈するものが多いと述べている。また、大本ら(1978)⁽¹⁴⁾は花粉中には多くの有機酸の含まれることを報告し、表1に示すようにその濃度についても定量に成功している。われわれはこれらの有機酸のなかでもほぼすべての花粉に共通して含まれている蟻酸と酢酸が花粉症の複雑な病態になんらかの形で関与している可能性を考えて、本研究を行なった。

花粉症と線毛運動の関連性については、奥田(1974)⁽¹⁵⁾, Mygind (1978)⁽¹⁶⁾の報告によれば、花粉症患者の鼻粘膜上皮は破壊されていたり、杯細胞におきかえられていて線毛運動による運動能は低下しているが、花粉を除外できないほど高度には障害されていないとしている。

一方、Chevance (1971)⁽¹⁷⁾はモルモットの鼻腔内に多量のライムギ、シラカンパなどの花粉を入れると、1～10分で線毛運動は停止したと報告している。

今回のわれわれの観察では $1/10^2 \sim 1/10^5$ 倍希釈の有機酸溶液中では鼻粘膜および気管粘膜の線毛運動の不可逆的な停止を数秒以内で認め

表 1 Amount of Organic Acids in Pollen Grains* (%)

Species	Organic acids								
	For.	AcOH	Pro.	Pyr.	Lac.	Mal.	Suc.	Cit.	α -Ket.
<i>Ginkgo biloba</i> L.	0.009	0.008	—	0.037	0.013	0.016	0.047	0.244	—
<i>Cryptomeria japonica</i> D. DON	0.002	0.003	—	—	0.001	0.013	0.051	0.159	0.004
<i>Typha latifolia</i> L.	0.006	0.059	—	0.027	0.013	0.023	trace	0.184	—
<i>Alnus hirsuta</i> TURCZ.	0.011	0.019	—	—	0.024	0.038	0.041	—	—
<i>Alnus sieboldiana</i> MATSUM.	0.007	0.017	—	—	0.006	0.300	0.017	—	—
<i>Betula platyphylla</i> SUKATCHEV var. <i>japonica</i> HARA	0.009	0.670	0.019	0.032	0.005	0.004	0.004	0.826	—
<i>Quercus acutissima</i> CARRUTH.	0.015	0.057	—	0.053	0.035	—	0.092	—	—
<i>Quercus serrata</i> THUNB.	0.009	0.024	—	—	0.004	0.020	0.015	—	—
<i>Humulus scandens</i> MERRILL	0.025	0.078	—	0.012	—	0.550	0.051	0.380	—
<i>Camellia japonica</i> L.	0.001	—	—	—	—	0.017	0.004	—	—
<i>Ambrosia elatior</i> L.	0.028	0.100	—	0.032	—	0.082	0.060	0.300	—

For. : Formic acid, AcOH : Acetic acid, Pro. : Propionic acid, Pyr. : Pyruvic acid, Lac. : Lactic acid, Mal. : Malic acid, Suc. : Succinic acid, Cit. : Citric acid, α -Ket. : α -Ketoglutaric acid.

* Collected April, 1975.

た。また、 $1/10^6$ 倍希釈液中では鼻粘膜および気管粘膜の線毛運動は数分以内に停止することを観察し、 $1/10^7$ 倍希釈液中では線毛運動は一過性に亢進し、その後徐々に減弱したが停止は観察されなかった。このことから蟻酸および酢酸は線毛運動に障害性に作用することが考えられる。蟻酸および酢酸の線毛運動障害の主因として、pH の変化が最も説明されやすい。教室の長谷川 (1976)¹⁴⁾の基礎実験の成績からみると、pH の変化のみでは急激な線毛運動の停止は説明できない。また、われわれが線毛運動賦活性を有する薬物として報告した硫酸テルブタリンの pH は3.2~4.2の範囲内であった。以上の成績より考えると、蟻酸および酢酸には pH の影響以外に何かの線毛運動を障害する因子のあることが強く推察される。

また形態学的観察で述べたように、 $1/10$ 倍希釈液の注入によって鼻粘膜上皮層の融解が認められ、 $1/10^2 \sim 1/10^6$ 倍希釈した有機酸溶液中で気道粘膜の形態的な変化が観察された。

有機酸によって、線毛運動の障害や上皮細胞の変化が高度な場合には、花粉中の抗原成分の侵入もより容易となり、アレルギー反応は複雑に修飾されるものと考えられる。しかし、これら気道粘膜の障害は有機酸の濃度によって大きな差異が認められたので、花粉飛散期にどの程

度の有機酸が鼻内に停滞するかを検索することが今後の課題であろうと考える。

一方、花粉アレルギーは鼻アレルギーで頻度が高く、気管支喘息で頻度が低い理由として、花粉粒子の大きさが重視されている。奥田 (1979)¹⁸⁾や今回のわれわれの観察では、有機酸による鼻粘膜と気管粘膜での障害の程度が機能的にも若干ながら差異の認められたことも、その一つの原因因子であろうと推察する。

まとめ

花粉症の主因はI型アレルギー反応にあるが、他の通年性アレルギーと比較してみると、その症状と発現様式に若干の差異がみられる。また、花粉症が気管支喘息では少なく鼻アレルギーでは頻度が高い点などからも、花粉による気道アレルギーには抗原抗体反応以外に花粉成分そのものによる気道粘膜刺激などが関与している可能性が考えられる。

一方、最近では花粉成分に関する研究も進み、花粉には多くの有機酸の含まれることが報告されている。われわれはこれらの有機酸のなかでもほぼすべての花粉に共通して含まれている蟻酸と酢酸が花粉症の複雑な病態になんらかの形で関与している可能性を考えて、蟻酸と酢酸の気道粘膜におよぼす影響を線毛運動機能と

粘膜形態の両面から検討した。

以下にその成績を示す。

1. $1/10^2 \sim 1/10^5$ 倍希釈の蟻酸と酢酸溶液中では家兎の鼻粘膜および気管粘膜の線毛運動の不可逆的な停止を数秒以内で観察した。

2. $1/10^5$ 倍希釈液中では家兎の鼻粘膜および気管粘膜の線毛運動は数分以内に停止することを観察し、 $1/10^7$ 倍希釈液中では線毛運動は一過性に亢進し、その後徐々に減弱したが停止は観察されなかった。

3. ヒト上顎洞粘膜の線毛運動機能も有機酸溶液中では家兎の気道粘膜とほぼ同様の反応を示した。

4. 家兎の鼻粘膜および気管粘膜を有機酸溶液中に浸漬すると、線毛、細胞質、核に変化を観察した。また、障害の著しい場合には上皮細胞の脱落や崩壊を観察した。

本論文の要旨は第33回日本気管食道科学会総会において報告した。

文 献

- 1) Taichi Ohmoto, Tamotsu Nikaido, Masa Ikuse: Constituents of Pollen. V. Constituents of *Betula platyphylla* var. *japonica* Chem. Pharm. Bull. 26: 1437-1442, 1978.
- 2) 大橋淑宏, 中井義明, 箕輪靖弘: 家兎胎生晚期気道線毛運動の特殊性に関する機能的並びに形態学的研究, 日気食会報, 32: 422-432, 1981.
- 3) 大橋淑宏, 中井義明: 鼻副鼻腔疾患の薬物療法に関する基礎的研究—硫酸テルブタリンの線毛運動賦活作用について—, 耳鼻臨床, 75: 93-104, 1982.
- 4) 中井義明・他: クロム化合物による気道粘膜障害, 耳鼻臨床, 69: 1197-1205, 1976.
- 5) 大橋淑宏, 中井義明, 堀口俊一, 寺本敬子: スチレン暴露ラットにおける気道粘膜の電子顕微鏡的観察 (工業スチレン中毒に関する研究XII), 産業医学, 23: 513-529, 1981.
- 6) 大橋淑宏, 中井義明, 原田博文, 堀口俊一, 寺本敬子, 片平卓男: テトラヒドロフランの気道粘膜障害性に関する電子顕微鏡的研究, 産業医学, 24: 141-162, 1982.
- 7) 大橋淑宏, 中井義明, 原田博文, 堀口俊一, 寺本敬子: ラットにおけるスチレンの気道粘膜障害に関する実験的研究—線毛運動機能と微細構造におよぼす影響の経時的観察— (工業スチレン中毒に関する研究 VIII), 産業医学, 投稿中.
- 8) 大橋淑宏, 中井義明, 原田博文, 堀口俊一, 寺本敬子, 片平卓男: テトラヒドロフランの気道粘膜障害に関する実験的研究—線毛運動機能と微細構造におよぼす影響の経時的観察—, 産業医学, 投稿中.
- 9) 荒木英斉: 花粉症の研究 I, 空中花粉の季節的変動, アレルギー, 9: 648-655, 1960.
- 10) 荒木英斉: 花粉症の研究 II, 花粉による感作について, アレルギー, 10: 354-370, 1961.
- 11) Alford, R. I.: Allergy in Japan. J. Allergy, 19: 240, 1948.
- 12) Durham, O. C.: 18) より引用.
- 13) 福山匡敏: 花粉ニヨル過敏症, 実験的研究, 岡山医学会雑誌, 50: 796, 1938.
- 14) 長谷川寛治: 各種ガス体及び細菌毒素の気道粘膜線毛運動に及ぼす影響, 日気食会報, 27: 270-299, 1976.
- 15) Okuda, M.: Mechanisms and pathogenesis of ragweed pollen nasal allergy. Wakayama Med. Rept., 15: 143-152, 1974.
- 16) Mygind, N.: 18) より引用.
- 17) Chevanec, L. G.: Experimental pollinosis. Acta Otolaryngol., 72: 121-133, 1971.
- 18) 奥田稔: 花粉アレルギー, その実態と治療, 石崎達編, 金原出版, 東京, pp. 71-80, 1979.

別刷請求: 〒545 大阪市阿倍野区旭町 1-5-7

大阪市立大学医学部耳鼻咽喉科学教室

大橋 淑宏

(投稿受付 1982年2月5日)