シンポジウム I : 粘液線毛輸送系とその病態

9. Immotile Cilia 症候群

*渡辺 雄司, 奥田 稔

Symposium I: Mucociliary Transport—Fundamental and Clinical Aspects—

9. Immotile Cilia Syndrome

Yuji Watanabe, M.D. and Minoru Okuda, M.D.

Department of Otolaryngology, Nippon Medical School, Tokyo

In a recent year congenital anomalies of the cilia of the respiratory mucosal epithelium have been thought of as a cause of chronic airway disease, and electron microscopic observations on cilia in patients with airway disease have revealed that axonemes containing ATP-ase called dynein arms are missing in those cilia. This was first reported in 1977 by Eliasson as immotile cilia syndrome.

In order to detect the patients with immotile cilia syndrome, 103 patients with one or more involved conditions such as paranasal sinusitis, bronchiectasis, situs inversus and sterility were examined using a ciliary function test and electron microscopic observation of the nasal cilia and sperm tails (male only). Ten of the examined patients were diagnosed as having the immotile cilia syndrome on the basis of the presence of the characteristic ultrastructural patterns of the nasal cilia i.e., disorders of the dynein arms.

As the electron microscopic findings of this syndrome, Afzelius has reported defects of the dynein arms, spoke head and central sheath. In the present study, besides these abnormalities, we have revealed new findings such as abnormal attachment of the dynein arms and twist of the peripheral microtubules near the distal end of central microtubules.

Key words : immotile cilia syndrome, mucociliary transport, peripheral microtubules, dynein arms

1. はじめに

近年、ヒトの線毛系の先天的、系統的内部構造の異常により、一連の疾患が生ずることが注目されてきている。1975年、Afzelius¹⁾が、dynein arms と呼ばれる ATPase 蛋白の欠損によるヒト精子鞭毛運動障害を報告したのは始まり、2年後に、全身の線毛や鞭毛の系統的な観察から類似の構造の異常が見出され、immotile cilia syndrome (以下、I.C.S.) の名称が提唱された。

I.C.S. は、慢性の気道疾患や不妊など、線毛・鞭毛の運動障害が重要な病因であるいくつかの疾患群の総称と考えられる。また慢性副鼻腔炎、気管支拡張症、内臓逆位を合併することで知られている Kartagener 症候群も線毛の微細構造の観察から本症と病態の類似性が認められている²⁾。

従来より、I.C.S. の病態的特徴として、dynein arms の欠損が指摘されていたが、その後、radial spokes や central sheath の欠損も報告されている³⁾。著者は、これらの異常のほか、dynein arms の周辺微小管への付着異常や、周辺微

*日本医科大学耳鼻咽喉科

表 1 Immotile cilia syndrome の10症例

例 数	慢性副鼻腔炎	気管支拡張症	不 妊	内臓逆位	滲出性中耳炎
No1 Y.M. 25 ♂	+(手術後)	+	不 明	+(心臓のみ)	+
No2 S.O. 30 ♀	+	—	+	+(全逆位)	+
No3 K.T. 23 ♀	+(手術後)	+	不 明	+(全逆位)	+
No4 K.K. 41 ♂	+(手術後)	疑 い	+	—	—
No5 S.O. 67 ♀	+	+	+	—	+
No6 S.K. 52 ♀	+(手術後)	—	不 明	—	—
No7 M.G. 7 ♀	+	+	不 明	+(全逆位)	+
No8 S.Y. 31 ♂	+	+	不 明	—	+
No9 A.S. 15 ♀	+(手術後)	+	不 明	+(全逆位)	+
No10 T.K. 38 ♂	+	+	不 明	+(全逆位)	+

小管の配列の乱れなど、電顕的観察の面から I.C.S. の病態について検討を行ってきた。すでにその詳細は報告してあるが⁴⁾, 今回は症例数が10例に達し、さらに新しい電顕的知見が得られたのでここに報告する。

2. 診 断⁵⁾

I.C.S. の早期診断法として、まず詳しい問診、臨床検査を行い、線毛運動の障害による疾患を検索した。次に鼻粘膜の粘液線毛輸送能をサッカリン法を用いて検査し、線毛の機能異常を有する患者を広範囲に抽出した。このサッカリン法は、スクリーニングテストにすぎず、I.C.S. の診断のためには、さらに、電顕的観察が必要である。電顕試料は、鼻粘膜表面を小鋭匙で、擦過して採取した。この方法は、出血もなく患者にほとんど負担を与えず、しかも観察に十分耐える標本を得ることができ、有用であった。以上の検査により、表 1 に示すごとく10例の患者を I.C.S. と診断することができた。

図 1 正常線毛の縦断面 (図右) と線毛幹・基底体部におけるそれぞれの横断面 (図左)。

Bm: basement membrane, Mv: microvilli d-CMT: distal end of central microtubules

3. 超 微 形 態

図 1 は、線毛の内部構造を判り易く示す模式図である。線毛の縦断面と線毛幹、基底体部におけるそれぞれの横断面が描かれ、図左上の太い矢印は線毛打の方向を示す。線毛は二重の線毛膜で囲まれ、その中心には一対の singlet である中心微小管 (CMT) があり、周囲は central sheath (Cs) が被っている。これらを取り囲むように 9 対の doublet である周辺微小管

(PMT) がほぼ等間隔に配列しており, $9 + 2$ 構造を作っている。それらは, nexin (Ne) で連結されている。

周辺微小管は管状構造をなす A 小管 (SA) と C 字型の B 小管 (SB) よりなり, この A 小管より B 小管に向けて 1 対の突起は dynein arm (Da) と呼ばれ, ATPase 蛋白と考えられている。また A 小管と central sheath との間に車軸状に radial spoke (RS) が認められる。細胞自由表面の形質膜直下に basal body (Bb) があり, 周囲は線毛膜を欠き, 壁は 9 組の triplet と高電子密度の物質から構成されている。側壁からは円錐状の突起である basal foot (Bf) が突出して認められる, これは, 線毛打の方向に関与しており, すべての basal foot の向きはほぼ一定している。

図 2 に I.C.S. 患者の線毛像を示す。すべては線毛膜に囲まれているが, ほとんど $9 + 2$ 構造を作らず, その配列が乱れており, 中心微小管, central sheath, radial spokes など欠損している。また, inner dynein arms の欠損はすべての線毛で認められ, 随所に本来の周辺微小管の結合部とちがった部位に付着している arm が認められる (矢印細)。中央上の線毛において, 周辺微小管の強い配列の乱れと, 一部に 180° のねじれが認められる (矢印太)。

周辺微小管の配列の乱れが, どの部位で生じているかを知るために, 縦断面を観察した (図 3)。周辺微小管の彎曲が, 細胞自由表面より少し出た部位, すなわち, triplet 部分と doublet 部分の境より, やや線毛端に寄ったところで生じているのが認められる (矢印)。この部は, 図 1 の “d-CMT” (中心微小管の下端が認められだす部位) とほぼ一致している。このことに関する報告は, 過去にされておらず, 新しい所見と思われる。

図 4 は, I.C.S. の患者の線毛の基底部を示す。数個の basal body が認められ, 周辺微小管は triplet になっており, その配列は正常だが, 側面より突出している basal foot の方向は, 強い不整を示している。この所見により線毛打の方向が一定でないことが示唆される。

図 5 は, I.C.S. の患者の精子尾部 (頭部側) の鞭毛像を示す。細胞膜は膨化しており, ミトコ

図 2 I.C.S. の患者の鼻粘膜上皮の線毛像 (横断面)。

太矢印は周辺微小管の 180° のねじれを示し, 細矢印は dynein arms の付着異常を示す。(×86,000)

図 3 I.C.S. の患者の鼻粘膜上皮の線毛像 (縦断面)。

矢印の部位で周辺微小管の彎曲が認められる。(×31,000)

図 4 I.C.S. の患者の線毛の底体部の高さにおける電頭像。(×36,000)

ンドリア被膜は厚く認められる, その内側に鞭毛の硬度に関与しているといわれている電子密度の高い線維束が9個認められる。中心束は, 線毛と同様に9+2構造を示すはずだが, 中心に1対あるべき中心微小管は, 偏位して3個認められる。周辺微小管は9対認められるが, その配列は不規則で, inner dynein armsの不全が観察できる。しかし, dynein armsの付着異常は明確でない。

I.C.S. 10例の電顕的特徴を表2にまとめた。dynein armsの不全をみると, inner armのみは7例に, inner, outer 両方の arm は3例に認められた。また5%以上の配列の乱れは, 4例(1例精子のみ)に認められた。

4. 超微構造の異常と線毛運動

今日の, 線毛運動のメカニズムの概念の確立は, Afzeluis (1959)⁶⁾のウニ精子鞭毛におけるdynein armの観察に始まる。彼は, 線毛運動も筋収縮と同様に, 微小管の滑り合いにより生じる運動と考えた。すなわち微小管のA小管から突出しているdynein armが隣接する微小管のB小管と周期的に接しており, このarmがデジタのような動きでB小管の次の付着部に接す

る。この動きが連続的に生じると, となり合った微小管に滑りを生じる。この繰り返しが線毛運動になる。運動に重要なのはA.T.Pase活性を有するといわれているdynein armや微小管などであるが, そのほかにも微小管の滑りを局所的な屈曲に変えると考えられているspoke, central sheathなども線毛運動に関与している。

線毛運動に必要なこれらの小器管のうち, dynein arm, central sheath, 中心微小管, spokeは, 図1に示した“d-CMT”の部より先端部に認められる。周辺微小管は, 基底部より認め

図5 I.C.S. の患者の精子尾部の鞭毛像。(×45,000)

表2 I.C.S. の患者における鼻粘膜線毛(精子尾部鞭毛)の電顕的所見。
()内は精子尾部鞭毛の電顕的所見を示す。
- : <5%, ± : 5~30%, + : >30%

症例	dynein armsの不全		微細構造の欠損		周辺微小管の配列異常
	Inner	Outer	中心微小管	Spokes ・ central sheath	
No. 1	+	-	(±)	±	±
No. 2	+	-	-	(+)	-
No. 3	+	-	-	±	±
No. 4	(±)	(-)	(-)	(-)	(-)
No. 5	+	-	-	-	-
No. 6	+	-	-	-	-
No. 7	+	±	-	-	-
Nn. 8	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
No. 9	+	+	±	±	±
No. 10	(+)	(+)	(±)	(±)	(±)

られているが、線毛運動に必要なすべり現象は“d-CMT”より先端部にかけて生じていると思われる。このため線毛運動に際し、“d-CMT”は、重要な部位となっていることが示唆される。I.C.S.において、線毛の横断面で微小管の配列の乱れを生じている同切片の縦断面を観察すると、この“d-CMT”の部位で、周辺微小管の彎曲が起っているのが随所に認められた。この彎曲は、元来、中心微小管、spoke, central sheathが欠損しているところに、basal footの方向異常による線毛打の乱れがあるため、それぞれの線毛がぶつかりあい、機械的な刺激をうけ、生じたのか、または、線毛形成過程で障害をうけたためかは不明だが、これは、運動異常の原因になると思われる。

Hyansら⁷⁾は、微小管に対し、dynein armは一對ずつ縦方向で22~25 nmごとに結合していると報告しており、微小管がdynein armに対して特定の結合部位をもつことを示唆している(図6)。また最近の線毛虫の実験において、Tris EDTAで、いったん遊離したdynein armを、dynein armのない微小管を含む溶液に入れた場合、dynein armはMgの存在下で再び微小管の元の位置に結合する。そのさいATPase活性の上昇も認められている。すなわち、dynein armが微小管の正常の結合部位以外に付着したり、微小管から遊離の状態にある場合、ATPase活性の低下が起ると考えられる。Dynein armの欠損やdynein armの付着異常の状態では、dynein arm・微小管間の滑り現象と、ATPの分解という共役反応が生じ難くなり、線毛運動の障害がひきおこされると考えられる。

5. おわりに

I.C.S.の電顕観察から、従来より明らかなdynein arms, central sheath, spokeの欠損などのほかに本研究では、“d-C.M.T.”の部分における周辺微小管の彎曲が観察できた。このことは、9+2構造の配列異常につながり、以前本症で報告した、dynein armsの微小管への付着異常と同様、線毛運動に障害をきたす一因にな

図6 周辺微小管と dynein arms の関係。

り得ると思われた。

稿を終るにあたり、症例を戴きました結核研究所岩井和郎先生、名古屋大学佐竹辰夫教授、国立小児病院古賀慶次郎部長に感謝の意を表します。

文 献

- 1) Afzelius, B.A., Eliasson, R.: Lack of dynein arms in immotile human spermatozoa. *J. Cell Biol.*, 66: 225-232, 1975.
- 2) 渡辺雄司, 奥田稔: Kartagener 症候群の1症例とその考察, 医学のあゆみ, 119: 935-941, 1981.
- 3) Afzelius, B.A., Eliasson, R.: Flagellar mutants in man: On the heterogeneity of the immotile cilia syndrome. *J. Ultrastruct. Res.*, 69: 43-52, 1979.
- 4) 渡辺雄司: Immotile cilia syndrome の臨床的・電顕的観察, 日気食会報, 34: 15-25, 1983.
- 5) Watanabe, Y., Okuda, M.: How can we detect patients with immotile cilia syndrome? *Eur. J. Respir. Dis.*, 64: 473-475, 1983.
- 6) Afzelius, B.A.: Electron microscopy of the sperm tail: Results obtained with a new fixative. *J. Biophysic. Biochem. Cytol.*, 5: 269-278, 1959.
- 7) Hyans, J., Chasey, D.: Aspects of the flagella apparatus and associated microtubules in a marine alga. *Exptl. Cell Res.*, 84: 381-387, 1974.

(別刷請求: 〒113 東京都文京区千駄木1-1-5)
日本医科大学耳鼻咽喉科学教室
渡辺 雄司)