シンポジウム I : 粘液線毛輸送系とその病態

2. 粘液線毛輸送系の形態と機能

——生化学とくにアラキドン酸カスケード代謝物を中心に——

*昇 卓夫, 島 哲也, 森山 一郎
坂本 邦彦, 大山 勝

Symposium I : Mucociliary Transport—Fundamental and Clinical Aspects—

2. Correlation of Mucociliary Transport System with Arachidonic Acid Cascade Metabolites

Takuo Nobori, M.D., Tetsuya Shima, M.D., Ichirou Moriyama, M.D.,
Kunihiko Sakamoto M.D. and Masaru Ohyama, M.D.

Department of Otolaryngology, Kagoshima University, Faculty of Medicine, Kagoshima

12- and 15-HETE were detected in the cultured ciliated epithelium obtained from the canine trachea, but no lipoxigenase metabolites of arachidonic acid cascade were observed in this culture medium. The cinematographic analysis revealed that the mucociliary activity in the cultured rat tracheal epithelium was inhibited by LTC_4 . The results of photoelectrical analysis of the ciliary beat in vivo indicated that PGE_2 showed a little promotion of mucociliary activity in the guinea pig trachea, while LTD_4 inhibited it. Both lipoxigenase and cyclooxygenase metabolites of arachidonic acid cascade in the nasal secretion, retention cyst and tissue fluids obtained from the patients with some nasal lesions were measured using RP-HPLC, radioimmunoassay and bioassay. It was found that the almost equal amounts of SRS-A were detected in the sinus mucosa of chronic sinusitis and inferior turbinate of nasal allergy. The influences of these substances on mucociliary function and nasal mucosal pathology were discussed briefly.

Key Words : metachronal wave, プロスタグランディン, ロイコトリエン, 線毛上皮, 線毛運動

はじめに

粘液線毛機能の研究には過去に優れた業績がみられる^{1)~8)}。しかしながら、線毛運動のエネルギー源やその制御機序、さらにはメタクロニズムの詳細については、いまだ不明な点が多いのが現状である。そこで、近年別名局所ホルモンとも呼ばれ、かつ生体内調節物質のひとつとして注目されているアラキドン酸カスケード代謝

物に焦点を絞り、粘液線毛機能との関連について検討を行った。

実験的研究

1 : 気管粘膜線毛細胞におけるアラキドン酸代謝系について検討した。正常イヌの摘出気管を用いた。ひとつのグループでは実体顕微鏡下に基底膜上で慎重に剝離した線毛上皮片を試料とした。他のグループは気管軟骨を含む粘膜全層の組織片を用いた。これら2種類の試料をそれぞれ別個のポタコール液2 cc 中で24時間培

*鹿児島大学医学部耳鼻咽喉科学教室
(主任: 大山 勝教授)

表1 気管・線毛上皮中のアラキドン酸代謝物の存在 (線毛上皮中に最も多い)

	15-HETE	A. A.
CILIATED EPITHELIUM	++	±, -
TRACHEA	+	±, -
SUP. (ciliated epithelium)	-	-
SUP. (TRACHEA)	-	-

CILIATED EPITHELIUM:

TRACHEA $\approx 9.7:2.0$ (15-HETE)

養をした。またこれら培養液中には ^{14}C -アラキドン酸 $10 \mu\text{Ci/ml}$ とシクロオキシゲナーゼ阻害剤であるインドメタシン $2 \times 10^{-3}\text{M}$ を各々溶解混入しておき、24時間後に顕微鏡観察し線毛運動の存在する組織について以下の検索を行った。すなわち、まず培養液と組織をそれぞれ、エタノールの最終濃度66%にて抽出した後、エタノール水溶液を完全に蒸発させ残った溶液をシリカゲルの薄層板にスポットした。次いで、これらを石油エーテルとジエチルエーテルそして酢酸の50:50:1の溶媒内に展開し、スポットの展開部位をラジオクロマトスキャンニングで確認して、アラキドン酸カスケード中のリポキシゲナーゼ代謝物の存在を検索した⁹⁾。

その結果、表1の下2段にみるごとく培養液中には、線毛上皮片はもちろん気管片そのものの培養例においても、共にアラキドン酸ならびにリポキシゲナーゼ代謝物は全く認められないのに対して、図1上2段の培養組織中からは、両者のいずれもが主として15-HETE (ハイドロキシ・エイコサ・テトラエン酸) と思われるリポキシゲナーゼ代謝物が確認された。しかし、アラキドン酸はほとんど検出されなかった。また組織の湿重量当たりのアラキドン酸代謝物生成量をみてみると、線毛上皮のみの組織と気管全体のものとの比は9.7:2.0と線毛上皮のほうがはるかに高値をしめした。これらの事実は、アラキドン酸は線毛上皮で常時かなりの量が代謝されていること、また線毛上皮は周囲環境に存在するアラキドン酸を容易に取込み、これを

さらに代謝することを示唆している。

2:培養線毛上皮に対するプロスタグランディン、ロイコトリエンの影響を解析した¹¹⁾¹⁰⁾。ラットの気管粘膜を前述の方法にしたがって線毛上皮片を剥離摘出する。これをローズチャンバーのガラス板上におき、Eagle's minimum essential medium に仔牛血清を混じた溶液を滴下、腎透析膜で抑えるようにして密封した後、同様のガラス板上から圧挺する。この状態で培養を行い、位相差顕微鏡下に観察した必要に応じて映画に記録解析した。培養は3~7日間行い、その間所望の薬物をチャンバー内に注入灌流してその影響を観察した。図1, 2はその映画の各1コマである。図2は薬剤投与前の線毛上皮を示している。これにプロスタグランディン E_2 を投与しても、線毛運動に著明な変化は認められず、胞体にもとくに著しい変化はなかった。ところが、ロイコトリエン C_4 を投与した場合、プロスタグランディン E_2 のそれと

図1 正常線毛上皮細胞を示す。

図2 LTC_4 を投与した際の線毛上皮細胞を示す。(胞体は膨化し、細胞膜は不明瞭である。)

Effect of LTD₄

図3 LTD₄投与による気管上皮の線毛打数の経時変化を示す。(15分後、著明に抑制される。)

は異なり、線毛運動はかなり抑制され全体として乱れが生じ、図2のごとく胞体は膨化し、細胞膜の構造が一部不明瞭となった。これを新しい培養液で再灌流すると、再び活発な線毛運動を示すことも確認された。

これらのことは、SRS-A系のロイコトリエンには線毛細胞の膜機能に障害を及ぼす作用のあることを示唆している。

3: 光電変換法による *in vivo* での粘液線毛機能測定法を用いて、プロスタグランジンやロイコトリエンの線毛運動におよぼす影響を検討した¹⁸⁾。すなわち、ネブタール麻酔下にモルモットの気管粘膜を開き、その表面に、直流光を照射し metachronal wave が関与すると思われるフリッカーを、photodiode でとらえ電気的な波形として記録解析するものである。プロスタグランジン E₂ を滴下した場合、投与15分経過しても線毛打数に変化は全く見られなかった。しかし、ロイコトリエン D₄ の投与例では、正常波数を100とした場合、図3にみるごとく5分後には68に減少し、15分後にはほぼ50%にまで減少し抑制作用が認められた。これらの成績は、前述の線毛上皮の培養観察所見とも全く合致し、SRS-Aの線毛上皮への作用をみる上で、非常に興味ある所見である。事実、これ

らの物質と炎症やアレルギー病態との関係が論じられている今日、その診断や治療面できわめて示唆にとむ成績を示しているものといえる。

臨床的研究

鼻副鼻腔の炎症性疾患におけるアラキドン酸代謝物の動態を検索した。試料には、慢性副鼻腔炎鼻汁、鼻アレルギー鼻汁、術後性頬部嚢胞貯留液また慢性副鼻腔炎洞粘膜、下鼻甲介、鼻茸を用いた。リポキシゲナーゼ代謝物では、5-HETE, 12-HETE, 15-HETE, LT B₄, C₄, D₄, E₄ の7種類について検索した。抽出および定量は、これらの酸アルカリ耐性度の違い、極性の高低、生物学的活性および活性濃度の差等から、HETE, LT B₄ と SRS-A の2群にわけ行行った。HETE, LT B₄ 群は Salari らの方法¹¹⁾ に準じて抽出定量した。SRS-A の抽出精製法は、腰原らの方法¹²⁾ に従った。LT C₄, D₄, E₄ の定量はモルモットの回腸収縮を用いた bi

図4 組織中ロイコトリエンの定量
LTC₄, D₄, E₄ が鼻アレルギー下甲介、副鼻腔炎洞粘膜ではほぼ同程度に認められる。

図5 鼻汁、貯留液中のロイコトリエンの定量
鼻アレルギーと副鼻腔炎鼻汁では12-HETEが多量に認められている。

図6 鼻汁中のPGE₂および6Keto-PGF_{1α}の定量

PGF₂, 6-Keto-PGF_{1α}とも全ての試料で検出されている。急性副鼻腔炎でとくにPGE₂が多量に認められた。

assay により行った。また、SRS-Aの同定に、選択的活性阻害剤FPL55712 (Fiscon Co) (0.1 μg/ml) による拮抗反応をみて確認した。プロスタグランジンについては、鼻アレルギー、急性、慢性の両副鼻腔炎の鼻汁を対象に、PGE₂と6-keto-PGF_{1α}をRISA法(NEN. USA)で定量した。その結果、組織抽出液では図4のごとく、SRS-Aは慢性副鼻腔炎粘膜と鼻アレルギー下甲介ではほぼ同程度に認められたが、鼻茸ではLTE₄以外はごく少量しか認められなかった。また、LTB₄やHETEについてみると、鼻アレルギー下甲介の5-HETEを別にすれば、他の代謝物は洞粘膜でも下鼻甲介でもほぼ同程度に認められた。

一方、分泌液については(図5)、副鼻腔炎鼻汁とアレルギー鼻汁でSRS-AとくにLTD₄が認められたが、囊胞貯留液では検出されなかった。また、LTB₄やHETE等は、副鼻腔炎鼻汁と鼻アレルギー鼻汁で12-HETEが多量に認められる以外、他の代謝物はほとんど検出されなかった。

他方、PGE₂については(図6)、全ての試料で10数 ng/ml 以上、6-keto-PGF_{1α}で数100 pg/ml 以上が検出された。中でも、急性副鼻腔炎鼻汁では、PGE₂が70 pg/ml 以上の高値を示した。

考 按

正常気管粘膜上皮内にはリポキシゲナーゼ代謝物である15-HETE, 12-HETEが多量に検

出されたこと、またこの粘膜上皮はアラキドン酸を比較的短期間に取り込むることなどを考え合せると、気道上皮細胞の代謝に対してこれら物質がかなり密接なかかわりを示していることは否定できない。PG合成阻害剤のアスピリンで誘発されるアスピリン喘息では、アラキドン酸代謝がリポキシゲナーゼ優位の状態であるとの考え方があるが¹³⁾、正常でもこれら代謝物が多量に気道粘膜上皮内から検出されたことを考えると、一概にシクロオキシゲナーゼが抑制されたためと決めつけることは危険であると思われる。また一方では、LTC₄やD₄の局所投与で実験的に、気道粘膜上皮の線毛運動が抑制され、かつ胞体の膨化像が認められたこと、また、鼻副鼻腔の病的粘膜や分泌物中にアラキドン酸カスケード代謝物がかんりの程度証明されたことなどなどは気道疾患の診断や治療面で新たな展開が期待され、臨床的にも極めて有用と思われる。また、今回の研究で副鼻腔炎鼻汁と鼻アレルギー鼻汁の間で、リポキシゲナーゼ代謝物の検出パターンがきわめて類似している傾向が窺われたことは、副鼻腔炎の病態になんらかの形でアレルギーの関与を示すものとして興味つきないものがある。今後さらに検索を必要とすることは論をまたない。

参考文献

- 1) 大山勝：上気道粘膜の病態生化学—診断と治療への結びつき—鹿児島大学医学部耳鼻咽喉科，鹿児島，1984.
- 2) Sanderson, M.J. et al.: Ciliary activity of cultured rabbit tracheal epithelium; Beat pattern and metachrony. J. Cell Sci., 47: 331-437, 1981.
- 3) Sleight, M.A.: Ciliary function in mucus transport. Chest, 80 (suppl.): 791-795, 1981.
- 4) Kaya, S. et al.: Measurement of nasal mucociliary activity in man with 99mTc-labelled resin particles. Arch. Otorhinolaryngol., 239: 267-272, 1984.
- 5) 大山勝・他：上気道粘液線毛系の病態生化学—プロテアーゼとプロテアーゼインヒビターを中心に，Therapeutic Research, 1: 278-284, 1984.
- 6) 間島雄・他：粘液線毛系輸送機能低下の機構について—慢性副鼻腔炎をモデルにして—Therapeutic Research, 1: 285-291, 1984.
- 7) 大山勝・他：気道粘液線毛機能と薬物—Tyloxapol, Salbutamol, Orciprenaline等の作用のin vivo 光電氣的解析成績について—，基礎と臨

- 床, 17: 3167-3179, 1983.
- 8) 坂本邦彦・他: 気道粘液線毛機能の in vivo 光電氣的解析法, 日耳鼻, 投稿予定.
- 9) 島哲也・他: 鼻副鼻腔の lipxygenase 代謝について, 日耳鼻, 投稿予定.
- 10) 幸坂十四男: 位相差顕微鏡による上顎洞粘膜線毛上皮細胞の観察, 日耳鼻, 62: 12-21, 1958.
- 11) Salari, S.H. et al.: Inhibition of leukotriene B4 synthesis in human polymorphonuclear leukocyte after exposure to meningococcal lipopolysaccharide. Biochem. Biophys. Res. Commun., 104: 1517-1524, 1982.
- 12) 腰原康子: プロスタグランジンの生化学, 東京化学同人, 201-204, 1982.
- 13) 坂元正一・他: プロスタグランジン物語, 講談社, 東京, 1983.
-
- (別刷請求: 〒890 鹿児島市宇宿町1208-1)
鹿児島大学医学部耳鼻咽喉科学教室
昇 卓夫)