シンポジウム I : 粘液線毛輸送系とその病態

3. 粘液線毛輸送系と気道クリアランス

——電気光学的方法による線毛運動の観察——

*大橋 淑宏, 中井 義明, 池岡 博之
丸岡 健一, 古下 博之

Symposium I: Mucociliary Transport — Fundamental and Clinical Aspects —

3. Determination of the Ciliary Activity by the Photo-electric Method

Yoshihiro Ohashi, M.D., Yoshiaki Nakai, M.D., Hiroshi Ikeoka, M.D.,
Kenichi Maruoka, M.D. and Hiroyuki Koshimo, M.D.

Department of Otolaryngology, Osaka City University, Medical School, Osaka

The function and morphology of the nasal mucociliary system in a normal and some pathological states was studied with special reference to the ciliary activity and morphology of nasal epithelial cells.

The following results have been derived from the present investigation.

1. The value of the nasal ciliary activity of the healthy human and animal was about 700 ~900 beats per minute at 30° C in the physiological saline solution.
2. The first appearance of the ciliary activity at the nose of fetal rabbits was on the 26th day of the fetal stage. The nasal ciliary activity in fetal rabbits had the quantitative maturity but did not have the qualitative maturity indicated by the disorder in its direction.
3. The ciliary activity was not affected by a single antigen-antibody interaction. On the other hand, the ciliary activity was declined by the frequent recurrence of antigen-antibody interaction.
4. The ciliary activity of the nasal mucosa derived from rabbits was declined in association with the irradiation dose. In addition, the functional and morphological damages of the nasal epithelium after the irradiation were not easily recovered.
5. The exposure to tetrahydrofuran affected the nasal ciliary activity of rabbits and the recovery of the nasal ciliary activity was observed in a few hours when the concentration of tetrahydrofuran was rather low.
6. The ciliary activity at the nasal epithelium was declined by 4 weeks exposure to SO₂ of 20 ppm. The complete recovery of the nasal ciliary activity was not observed 2 weeks after the stoppage of the exposure to SO₂.
7. The functional and morphological damages of the nasal mucosa with intact basal cells by the mechanical injury were recovered in about 5 days. On the other hand, it took

*大阪市立大学医学部耳鼻咽喉科学教室

about 6 weeks to recover from the damages when the basal cells and basement membrane were affected.

Key words: pathology of nasal epithelium, ciliary activity, electron microscopy

緒 言

気道には粘液線毛系が存在し、これが気道の浄化作用を担っていることが知られている。慢性炎症をはじめとする種々の病態において、粘液線毛系の機能低下はよく知られているが、線毛運動の生理や病態に関しては不明な点も多い。そこで本論文においては、正態および各種病態における気道線毛運動について検討した。

研究材料および方法

1. 正態における線毛運動

健康な成熟家兎5羽および健康成人4名の鼻粘膜線毛運動数を電気光学的線毛運動測定法(photo-electric method of Ohashi & Nakai)¹⁾⁻³⁾にて環境温度30°C, 生理食塩水にて測定した。

2. 線毛運動の発生

胎齢17日より胎齢29日までの家兎胎児, 1週齢および1カ月齢の幼若家兎の鼻粘膜線毛運動数および鼻粘膜粘液流動速度を測定した。

3. アレルギーと線毛運動

DNP Ascaris と百日咳菌ワクチンにて感作したラット (PCA titer: 128) に小島らの方法⁴⁾に準じて抗原液を10分間灌流した後の鼻粘液線毛運動数を測定した。また, 38名の鼻アレルギー患者の右下鼻甲中央部粘膜の線毛運動数を測定し, 得られた成績を林の数量化理論 I 類⁵⁾を用いて多変量解析した。

4. 放射線と線毛運動

1) In vitro での放射線の影響

健康家兎鼻粘膜をローズチェンバー内に封入し, base line の線毛運動数を測定した後に放射線を照射し, 同一部位の放射線量による線毛運動数の変化を測定した。

2) In vivo での放射線の影響

健康家兎鼻粘膜に 3000 rad の放射線を照射し, 照射後の経時的変化を線毛運動および上皮形態の両面より観察した。

5. 刺激性ガスと線毛運動

1) 有機溶剤の影響

健康成熟家兎に 100 ppm, 250 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm, 6000 ppm および 12000 ppm のテトラヒドロフラン (THF) を 4 時間吸入曝露した後の経時的な鼻粘膜線毛運動の変化と曝露終了直後の鼻粘膜上皮形態を観察した。

2) SO₂ の影響

約 20 ppm の SO₂ を健康家兎に図 1 に示したように 1 日 4 時間で連続 28 日間吸入曝露した。また, 一部の家兎には 200 mg/kg のカルボシステイン (S-CMC) を投与した。このようにして作製した 6 群 28 羽の家兎鼻粘膜線毛運動数および上皮形態を検討した。

6. 鼻粘膜線毛運動の修復

1) 微小損傷後の修復

家兎鼻粘膜を綿棒にて軽く擦過し, その後の鼻粘膜の線毛運動および上皮形態を観察した。

2) 高度障害後の修復

家兎鼻粘膜の全層を剥離し, その後の鼻粘膜の線毛運動および上皮形態を観察した。

成 績

1. 正態における線毛運動

ヒトおよび家兎鼻粘膜の正態における線毛運動数は約 700-900 打/分であった。

2. 線毛運動の発生

家兎胎児の鼻粘膜における線毛発生は胎生 20 日ですでに観察されたが, 線毛運動は胎生 25 日までは認められず, 胎生 26 日より自発的な線毛運動が観察された。また, 胎児鼻粘膜の線毛運動数は成熟線毛運動数とほぼ同程度であったが, その粘液流動速度は有意に遅延していることが認められた (図 2)。

また, 胎児鼻粘膜の線毛細胞では形態学的な特徴的所見として, 線毛の短小, 線毛数が少ないことおよび basal foot の方向性の不一致が観察された。

3. アレルギーと線毛運動

抗原液を鼻腔内に灌流した後の鼻粘膜線毛運

図 1

図 2 家兎胎児気道粘膜粘液流動速度

図 3 抗原液観流後の鼻粘膜線毛運動数

動数は感作群および無感作群で有意の差を認めなかった (図 3)。

一方、種々の相よりなる35名の鼻アレルギー患者の鼻粘膜線毛運動数 (打/分) の平均値は498

打/分で健常人と比較すると低値であることが認められた (表 1)。また、35名の鼻アレルギー患者のなかで線毛運動の観察された32名の成績を林の数量化理論 I 類を用いて解析し、鼻アレ

表1 35名の鼻アレルギー患者の背景および鼻粘膜線毛運動数

case number	age	sex	duration	type		grade	provocation	cbm	main antigen	accessory antigen
				perennial	seasonal					
1	15	♂	< 1	○		mild	≡	698±25	HD	
2	8	♀	< 1	○		moderate	+	678±30	HD	
3	41	♂	7	○	○	severe	≡	383±18	HD	JS
4	10	♂	4	○		severe	≡	451±40	HD	
5	36	♀	3	○		mild	+	623±30	HD	
6	42	♀	7	○		moderate	≡	485±89	HD	
7	45	♀	3		○	mild	≡	679±40	CR	
8	7	♂	< 1	○		moderate	≡	775±42	HD	
9	39	♀	11	○		severe	≡	0 ± 0	HD	
10	16	♀	< 1	○		mild	≡	684±25	HD	
11	23	♂	9	○	○	severe	≡	338±26	HD	CR
12	29	♂	3	○		moderate	+	643±36	HD	
13	35	♀	2	○	○	mild	≡	606±27	HD	JS
14	8	♀	6	○		severe	≡	486±32.8	HD	
15	7	♂	< 1	○		severe	≡	670±30	HD	
16	36	♀	12	○	○	severe	≡	413±20	HD	JS
17	22	♀	5	○		moderate	≡	484±68	HD	
18	49	♂	18	○	○	moderate	≡	274±23	HD	JS
19	35	♀	10	○	○	severe	≡	375±65	HD	JS
20	47	♂	12	○	○	severe	≡	0 ± 0	HD	JS
21	45	♀	< 1	○	○	moderate	≡	611±28	HD	CR
22	15	♀	< 1	○		mild	+	723±23	HD	
23	39	♂	4	○		moderate	≡	540±36	HD	
24	44	♀	4	○		moderate	≡	504±28	HD	
25	41	♂	< 1	○		moderate	≡	688±21	HD	
26	32	♀	6	○		severe	≡	459±58	HD	
27	13	♀	8	○	○	moderate	+	596±46	HD	JS
28	12	♀	5	○	○	mild	≡	348±38	HD	JS
29	27	♂	6	○		severe	≡	533±23	HD	
30	14	♂	6	○		moderate	+	544±22	HD	
31	52	♂	< 1		○	severe	≡	642±23	CR	
32	18	♀	8	○	○	moderate	≡	0 ± 0	HD	JS
33	35	♀	< 1		○	moderate	≡	608±30	CR	
34	47	♂	15	○		mild	≡	384±19	HD	
35	22	♀	7	○	○	moderate	≡	491±21	HD	JS

J S : Japanese cedar
C R : common ragweed

ルギー患者の鼻粘膜線毛運動数は罹病年数と病型に左右されており、罹病期間が長期におよぼほど、また通年性でかつ季節性の症例では線毛運動数の低下は高度であることが認められた。

4. 放射線と線毛運動

1) In vitro での放射線の影響

200 rad の照射によって、摘出鼻粘膜の線毛運動数は照射前の72.9±14.2%に減少し、3000 rad の照射直後には照射前の45.1±8.3%に減少した(図4)。

2) In vivo での放射線の影響

3000 rad 照射後の鼻粘膜では照射直後より

図4 放射線照射後の摘出鼻粘膜線毛運動数

著明な線毛運動数の減少が観察された。

一方、照射直後の鼻粘膜では胞体の空胞変性や核の濃縮などの著明な障害の認められる上皮細胞が散在性に観察されたが、ほとんど障害の認められない上皮細胞も観察された(図5)。照射2週後および3週後の鼻粘膜上皮でも種々の退行性変化が認められる上皮細胞が散在性に観察されたが、障害の程度は照射直後よりもむしろ進行していることが認められた(図6)。照射6週以後の鼻粘膜では扁平上皮化生など上皮構築の変化も部分的に観察された(図7)。

5. 刺激性ガスと線毛運動

1) 有機溶剤の影響

テトラヒドロフラン (THF) の吸入曝露直後の鼻粘膜では線毛運動数の減少が観察された。THF 曝露による鼻粘膜線毛運動の低下は曝露終了後に経時的に回復することが認められた。100 ppm および 250 ppm 曝露群では曝露終了後180分以内に線毛運動は元のレベルまで回復が観察されたが、高濃度曝露群では180分後でも完全に元のレベルまで線毛運動数は回復しない

図5 3000 rad 照射直後の鼻粘膜上皮では空胞変性などの著明な障害像を呈する上皮細胞が散在性に観察される。

図6 3000 rad 照射3週後の鼻粘膜上皮では照射直後の鼻粘膜上皮よりも大きな障害性変化が観察される。

図7 3000 rad 照射6週後の鼻粘膜では扁平上皮化生などの像が観察される。

ことが認められた(図8)。

一方、低濃度曝露群の鼻粘膜では微小な複合線毛が観察される程度であったが、曝露濃度が高い場合には、上皮細胞の胞体の膨化や脱落な

図8 テトロヒドロフラン曝露後の鼻粘膜線毛運動数の経時約変化
上段左より, 100 ppm, 250 ppm, 1000 ppm,
下段左より, 2000 ppm, 6000 ppm, 12000 ppm

図9 12000 ppm 曝露後の鼻粘膜上皮では表層の上皮細胞の脱落に伴う基底細胞の露出が観察される。

図11 I 群の鼻粘膜では基底細胞にも核の濃縮や胞体の空胞化などの障害が観察される。

どの高度の障害性変化が観察された (図9)。

2) SO₂ の影響

SO₂ の曝露によって鼻粘膜線毛運動は高度に障害され、その障害は曝露終了後も長期におよぶこと、またカルボシスティンによりその障害は加速的に修復されることが観察された (図10)。また、I 群の鼻粘膜上皮では基底細胞を含めた上皮細胞の著明な障害が観察された (図11)

図10 SO₂ 曝露後の鼻粘膜線毛運動数

図12 IV群の鼻粘膜には線毛細胞の新生などの修復像が観察される。

が、曝露終了2週後の家兎 (IV群) の鼻粘膜では線毛細胞を含めた上皮細胞の修復が認められた (図12)。一方、カルボシスティンの前投与群 (III群) では上皮細胞の障害はI 群における障害よりも軽度であり、曝露中と曝露後の6週間にカルボシスティンを投与した群 (IV群) ではほぼ健常に近い上皮が観察された (図13)。

6. 鼻粘膜線毛運動の修復

図13 IV群の鼻粘膜上皮ではほぼ正常に近い像が観察される。

1) 微小損傷後の修復

家兎鼻粘膜を綿棒にて軽く擦過すると、基底細胞に障害がおよばないが、表層部の上皮細胞のみ脱落が認められた。このように作製された鼻粘膜上皮は障害形成5日後には健常近く修復することが観察され、線毛運動数もほぼ健常に近いことが認められた。

2) 高度障害後の修復

全層剝離後の再生鼻粘膜には1週後に未分化な杯細胞の形成と基底膜の形成が観察され、3週後より線毛細胞の出現が観察された。線毛運動は3週後より観察され、その程度は対照群とほぼ同程度であった。また、6週後には広範囲にわたって、ほぼ健常な線毛運動数と上皮形態を有する鼻粘膜上皮の再生が観察された(図14)。

考 察

鼻粘膜をはじめとする気道粘膜は多列円柱線毛上皮より構成されており、気道粘膜の主たる機能のひとつに粘液線毛輸送機能による気道浄化作用が知られている。慢性炎症などの種々の病態において粘液線毛輸送が低下すること、また粘液線毛輸送能低下の要因のひとつとして線毛運動数減少も挙げられる可能性が示唆されている^{6)~8)}。そこで、本研究では、アレルギー、刺激性ガス、放射線などによって惹起される気道線毛運動の病態を正態における線毛運動と比較した。

実験的に作製した1回のアレルギー反応によ

図14 高度障害6週後の鼻粘膜ではほぼ正常の上皮細胞の再生が観察される。

つては鼻粘膜線毛運動に著変は認められなかったが、鼻アレルギー患者では鼻粘膜線毛運動数の減少が観察され、その低下度は罹病期間と相關することが認められた。したがって、繰り返されるアレルギー反応により鼻粘膜上皮細胞に非特異的な病態が惹起され⁹⁾、このために線毛運動の障害されるものと考えられた。

刺激性ガスと気道粘膜との関係については、Dalhamnを初めとして多くの報告がある^{6)8)9)10)~13)}。これらの報告の多くは、刺激性ガスによって粘液線毛輸送能は低下するが、線毛運動数は低下しないと報告している。本研究においては鼻粘膜線毛運動数は約20 ppmのSO₂の連続曝露によって減少することが認められた。また、THFの曝露の際にも曝露濃度によっては非可逆性の線毛運動障害の惹起されることが認められた。さらに線毛運動障害の観察される鼻粘膜では上皮細胞形態に障害性変化が認められたこと、また低濃度の曝露群では線毛運動障害は一過性でかつ上皮細胞形態上にはほとんど変化が認められなかったことを考えあわせると、線毛運動の障害は機能的障害と器質的障害の2型に分類されうるものと考えられた。すなわち、刺激の強さが一定範囲内である場合の線毛運動障害は上皮細胞に器質的な障害がないために刺激が除去された後には線毛運動は回復するが、一定以上の刺激が付加された場合には上皮細胞に形態学的な障害が引き起こされることにより非可逆の障害が生れてくるものと考えられた。

放射線と線毛上皮との関係については、これまでも多くの形態学的研究がなされており^{14)~17)}、放射線照射により線毛運動も障害されうる可能性が示唆されてきたが、放射線と線毛

運動の関係を直接的に観察した報告はほとんどない。本研究の成績では、剝離鼻粘膜に放射線を照射すると、照射線量に比例して線毛運動数の低下が観察された。一方、in vivo の状態で家兎鼻粘膜に放射線を照射した場合には、鼻粘膜に生じる変化は機能的にも形態的にも一様ではなく、上皮細胞の放射線感受性には大きな差異のあることが示唆された。また、その障害は照射後に経時的に進行する傾向が認められた。

このように鼻粘膜は種々の刺激により障害を被りやすい組織であるが、気道粘膜はまた大きな修復能をもつことが知られている^{18)~21)}。そこで、健全な鼻粘膜に種々の障害を作製し、その修復過程について観察した。本研究の成績より、障害因子の種類や程度により、修復様式や修復に要する時間に大きな差異が認められた。すなわち、基底細胞に障害のない機械的障害の場合には比較的短時間で修復が完成されるのに対して、基底細胞や基底膜にも障害が加えられた場合には、その修復にはかなり長期間を要することが認められた。一方、SO₂などの化学的刺激や放射線などによる障害の場合には、機械的障害の場合よりも修復過程の遅延することが認められた。また、鼻粘膜の修復はカルボシステインにより加速されたことより、病的な気道粘液線毛系の治療における薬物療法確立の可能性が示唆された。さらに気道粘液線毛系の修復はその発生過程と質的に差異のあることが認められた。

結 語

正態および各種病態における鼻粘膜粘液線毛系の機能と形態、とくに線毛運動数と上皮細胞形態について観察し、以下の成績を得た。

1. ヒトおよび実験動物の正態における鼻粘膜線毛運動数は環境温度30°C、生理食塩水中では700-900(打/分)であった。

2. 家兎鼻粘膜における線毛運動の発生は胎生26日に初めて観察された。胎生期の線毛運動は量的な成熟が観察されたが、方向性の不一致などの質的未熟性が認められた。

3. 一回の抗原抗体反応によっては鼻粘膜の線毛運動に変化は観察されなかったが、抗原抗体反応が繰り返されることによって線毛運動数

が低下する傾向が認められた。

4. 摘出鼻粘膜の線毛運動数は放射線量に相関して減少することが認められた。また、放射線照射による鼻粘膜上皮の障害は機能的にも形態的にも長期におよぶことが観察された。

5. テトラヒドロフランの吸入曝露により、鼻粘膜線毛運動は障害されるが、その濃度が低い場合には線毛運動の障害は可逆的であることが認められた。

6. 20 ppm の SO₂ 曝露により鼻粘膜の線毛運動数は低下することが認められた。また、その修復は曝露2週間後も完成されていないことが認められた。

7. 基底細胞に障害のない機械的障害は約5日間で修復の完成することが家兎鼻粘膜で認められた。一方、障害が基底細胞や基底膜にも及ぶ機械的障害の修復には約6週間を要することが認められた。

擱筆にあたり、発表の機会を与えて下さいました第36回日本気管食道科学会会長遠藤光夫教授、また本研究に御協力ならびに御教示を賜りました大阪市立大学医学部衛生学教室、堀口俊一教授、寺本敬子講師、大阪市立大学医学部放射線科学教室、小野山靖人教授、伊藤敬三主査に深甚なる感謝の念を捧げます。

また、本研究の一部は、文部省科学研究補助金(課題番号 59480343)の援助を受けた。

参 考 文 献

- 1) Ohashi, Y. & Nakai, Y.: Functional and morphological studies on chronic sinusitis mucous membrane. 1. Reduced ciliary action in chronic sinusitis. *Acta Otolaryngol., Suppl.* 397: 3-9, 1983.
- 2) Ohashi, Y. & Nakai, Y.: Mucociliary activities in fetal rabbits. *Acta Otolaryngol.*, 97: 351-358, 1983.
- 3) 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ならびに形態学的研究, 日気食会報, 32: 422-432, 1981.
- 4) 小島正三, 堤直行, 百瀬泰紀, 西垣敏明, 氏家新生, 内藤淳: ラットの実験的アレルギー性鼻炎およびそれに及ぼす Tranilast の影響, 信州医誌, 31: 123-127, 1983.
- 5) Hayashi, C.: On the prediction of phenomena from qualitative data and quantification of the qualitative data from the mathematical statistical point of view. *Ann. Inst., statist. Math.* (Tokyo), 3: 69-98, 1952.
- 6) Dalhamn, T.: Mucous flow and ciliary activity in the trachea of healthy rats and rats expo-

- sed to respiratory irritant gasses. *Acta Physiol., Suppl.*, 36: 1-161, 1956.
- 7) Ohashi, Y. and Nakai, Y.: Functional and morphological studies on chronic sinusitis mucous membrane. 2. Functional and morphological pathology of chronic sinusitis mucous membrane. *Acta Otolaryngol., Suppl.* 397: 12-48, 1984.
- 8) Ikeoka, H., Ohashi, Y., Maruoka, K., Nakata, J., Masutani, H., Nakai, Y., Horiguchi, S., Teramoto, K.: Effects of tetrahydrofuran exposure on the ciliary activity and morphology of tracheal epithelium in rabbits. *Osaka City Medical Journal*, 30: 53-67, 1984.
- 9) Ohashi, Y., Ikeoka, H., Maruoka, K., Nakata, J., Koshimo, H., Nakai, Y.: The pathology of nasal allergy with special reference to its surgical treatment. *J. Jpn. Clin. Microscopy*, in press.
- 10) Andersen, I. et al.: Human response to controlled levels of sulfur dioxide. *Arch. Environ. Health.*, 28: 21-39, 1974.
- 11) Freeman, G. & Haydon, G. B.: Emphysema after low level exposure to NO_2 . *Arch. Environ. Health.*, 8: 125-128, 1964.
- 12) 間島雄一・他: SO_2 曝露によるニワトリ鼻腔粘液線毛機能低下の機構についての研究, 耳鼻臨床, 74: 1191-1203.
- 13) 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—, 産業医学, 24: 360-372, 1982.
- 14) 谷口強: 放射線照射の喉頭粘膜表面微細構造に及ぼす影響に関する臨床的ならびに実験的研究, 耳鼻臨床, 74: 1126-1145, 1980.
- 15) 内田敏夫: ^{60}Co 照射の上顎洞粘膜に及ぼす影響に関する実験的研究, 名市大医誌, 24: 67-89, 1973.
- 16) Baldetopp, L., Hakansson, C. H.: Response of ciliated cells during irradiation at different dose rats. *Acta Radiologica. Therapy. Physics. Biology*, 16: 378-384, 1977.
- 17) 池岡博之, 大橋淑宏, 丸岡建一, 古下博之, 中井義明, 小野山靖人, 伊藤敬三, 椎崎信彦: 放射線照射による鼻粘膜上皮の形態学的変化に関する電子顕微鏡的研究, 投稿中.
- 18) Hilding, D. L.: Ultrastructure of tracheal cilia and cells during regeneration. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 75: 281-294, 1966.
- 19) 山城義昭: 掻爬気管粘膜の再生に関する病理組織学的研究補遺—特に電子顕微鏡的観察—, 日耳鼻, 77: 981-995.
- 20) Ikeoka, H., Ohashi, Y., Nakata, J., Maruoka, K., Nakai, Y.: The regeneration of the nasal mucosa after the mechanical injury. *J. Jpn. Clin. Microscopy*, in press.
- 21) 池岡博之, 大橋淑宏, 丸岡建一, 中井義明: 機械的損傷後の鼻粘膜上皮の修復に関する実験的研究, 投稿中.
- (別刷請求: 〒545 大阪市阿倍野区旭町1-4-54)
大阪市立大学医学部耳鼻咽喉科学教室
大橋 淑宏)