1. 粘液纖毛輸送系の検討

*久松建一

Symposium II : Sinobronchial Syndrome and It's Related Subjects

1. A Study on Mucociliary Transport System with Special Reference to Chemical Mediators of Allergic and Chronic Inflammatory Respiratory Diseases

Ken-ichi Hisamatsu, M.D.

Department of Otorhinolaryngology, Yamanashi College of Medicine, Kofu

Mucociliary transport system is an important defense mechanism of the respiratory system and its function needs coordination of mucous layer and ciliary movement. Sinobronchial syndrome causes chronic inflammatory diseases of upper and lower respiratory systems and mucociliary dysfunction is a characteristic morbid status of the respiratory systems. Factors related to mucociliary function can be classified into quality of the mucous layer, structure of the system and ciliary function. Cilioinhibitory factors previously reported are as follows: 1) A low molecular glycoproteins and family of proteins purified from materials of patients with cystic fibrosis, asthma, etc., 2) Serine protease from patients with bronchiectasis, probably neutrophil elastase, 3) major basic protein (MBP) and eosinophil cationic protein, 4) metabolites of arachidonic acid. In this study MBP, leukotriene C₄, leukotriene D₄, prostaglandin E₂, prostaglandin F_{2α} and platelet activating factor were tested on effect on ciliary activity using a newly developed apparatus with a VTR system and changes in mucosal surface profile of humans were observed following these substance challenges at a concentration of 10⁻⁶M. These mediators except for prostaglandin E₂ caused mucosal damage such as ciliodyskinesis, ciliostasis and exfoliation of the cells and resulted in coarse profile of the mucosal surface within several hours at a concentration of 10⁻⁶M suggesting their possible destructive action to the mucosa.

Key words : 副鼻腔気管支症候群, 粘液纖毛輸送機能の修飾因子,
纖毛抑制因子, MBP, アラキドン酸代謝物

SBSは慢性に経過する副鼻腔炎と下気道の炎症の合併した症候群であるが、これら慢性の気道粘膜の炎症に共通する病態の一つに粘液纖毛輸送能の低下がある。

1. 粘液纖毛輸送系の構成

粘液纖毛輸送系は粘液層と纖毛上皮よりなる

が、前者は外層粘液層 gel layer と纖毛間液 sol layer とに分けられる。後者は纖毛細胞、杯細胞、無纖毛細胞、基底細胞より構成される。一般に、大気道では上皮表面の大部分が纖毛によって占められ、無纖毛細胞の割合は少ないが、末梢気道ほど纖毛細胞領域は減少する。纖毛細胞は径0.2~0.3 μm、長さ5~6 μmの纖毛を約300本以上有する。その先端には複数の纖毛上の突起を有し、有効打の時には纖毛先端は粘液

*山梨医科大学耳鼻咽喉科学教室

gel 層内に刺入し前方に移動させる。纖毛中心には 2 本の中心微小管とその周辺部に, subfiber A および subfiber B の合体した doublet が 9 組配置され, いわゆる 9+2 構造をとる。Subfiber A には ATPase に富む outer および inner dynein arm が付着し, subfiber B は ATP を含有する。纖毛内の ATP 代謝により発生するエネルギーは, これら microtubules 相互の滑りを起こして纖毛の曲がりが生ずるといわれる (Satir 1974)。

纖毛細胞や無纖毛細胞の表面には microvilli が存在し, 細胞表面積を増加し, 細胞と気道液間の物質交換の促進と気道の乾燥防止に役立つと考えられている。杯細胞は, 炎症時に数が増加し, 分泌活動は亢進する。纖毛は液体の中でのみ運動が可能である。したがって, 気道粘膜を被覆する粘液層は, 纖毛機能にとって極めて重要であり, 粘液纖毛輸送系にとって不可欠な構成部分である。主に, 分泌腺や杯細胞により産生される。粘液は親水容量の大きな glycoprotein を成分とし, 粘膜表面の水分調節を補助している。纖毛間液 sol layer の由来はまだ明らかでないが, おそらく分泌腺の分泌細胞と, 上皮表面より移行した組織液よりなると考えられている。纖毛間液の深さは約 4~6 μm で纖毛の長さにはほぼ一致する。これはおそらく microvilli の水分の吸収によっても調節されており, 殆ど一定の深さに保たれている。正常な鼻の粘液流速は平均 5.3 mm/min (0~3.6 mm/min) とされ, 部位により流速に差がある (Andersen ら, 1971)。粘液の流速は咽頭に向かい増大する。吸入された粒子は鼻腔から 10~15 分以内に排除される。下部気管支では 0.5 mm/min, 上部気管支では 1 mm/min, 気管では 14 mm/min (Morrow ら, 1967) とされている。

2. 粘液纖毛輸送機能の修飾因子

粘液纖毛輸送系が機能するには, それを構成する粘液層, 原動力となる纖毛運動, 粘液と纖毛細胞相互の調和が必要である。粘液纖毛輸送機能の修飾因子は次のごとく分類できる。

〔1〕 粘液層の質

(1) 粘液層の構成成分の変化による rheological な変化: 粘弾性にも optimal range が存

在することが知られ, 粘弾性が低すぎても高すぎても纖毛運動による粘液層の移動が障害される (Chen and Dulfano, 1978)¹⁾。

(2) 粘液層の含有物質の変化: 外来物質, immune complex, 炎症, アレルギーの mediators など。これら諸物質は直接間接的に他の修飾因子に影響を与える。

〔2〕 粘液纖毛輸送系の構造 (以下報告例を挙げる)

- (1) 外層粘液の増加: SO_2 exposure (rat)²⁾
- (2) 纖毛間液の減少: chronic obstructive lung disease³⁾
- (3) 纖毛間液の増加: methacholine 投与 (dog)⁴⁾
- (4) つなぎ止め現象 tethering phenomenon: dehydration (chicken)⁵⁾, SO_2 exposure (chicken), DNV infection⁶⁾, chronic sinusitis⁷⁾

つなぎ止め現象とは, 粘液層が杯細胞や分泌腺より出た粘液によってつなぎ止められ, 纖毛に働く力はあっても粘液層が移動し難い現象である。つなぎ止め現象における粘液纖毛輸送系の構造の変化により, 粘液と纖毛運動が相互に調和のとれぬ状態にある。

〔3〕 纖毛機能

- (1) 纖毛活性の低下: chronic sinusitis^{8), 9)}
- (2) 協調性の低下: immotile cilia syndrome の一亜型¹⁰⁾, common cold
- (3) 纖毛領域面積の減少: chronic sinusitis¹¹⁾

3. 慢性気道疾患における纖毛抑制因子

これまでに報告されている纖毛抑制因子は, (1) 低分子 glycoprotein または protein 類: これは cystic fibrosis, asthma などの患者の血清¹²⁾, plasma, リンパ球¹³⁾, 単球などから精製されており, 家兎の気管においては ciliostasis より ciliodyskinesia を起こすといわれる¹⁴⁾。しかし Rutland らは, cystic fibrosis 患者の血清はヒト纖毛細胞の活性を抑制しなかったとしている¹⁵⁾。

(2) Serine protease: 気管支拡張症患者の喀痰中に発見された¹⁷⁾, おそらく好中球 elastase で, ヒトや家兎の纖毛細胞の活性を抑制す

る¹⁸⁾ことが知られる。

(3) 急性増悪時の慢性気管支喘息患者の喀痰は ciliostatic な factor を含有する¹⁹⁾との報告があるが、これは次の MBP や ECP などの活性を反映しているとも理解される。

(4) MBP (major basic protein)：好酸球の顆粒蛋白の一つであるこの蛋白は、細胞障害性を有し、上皮細胞を基底膜より遊離させ、纖毛運動を停止させる²⁰⁾。

(5) ECP (eosinophil cationic protein)：MBP と同様に纖毛運動を抑制する。

(6) その他：chemical mediators¹⁵⁾：本研究において検討したので次に述べる。

4. 炎症, アレルギ-の chemical mediators のヒト気道粘膜に対する影響

各種 chemical mediator の産生細胞, effector cell, 生物活性などが次第に解明されつつある。われわれはこれまで各種物質の纖毛活性に対する影響について研究してきたが、本研究ではこれら chemical mediators のうちアラキドン酸代謝物, 好酸球顆粒蛋白 MBP および PAF をとりあげ、われわれの開発した長時間追跡観察記録の可能な顕微鏡 VTR system を用いて検討した。方法は副鼻腔手術時に採取した粘膜を 7 日間 Eagle MEM, 5% CO₂ 下に培養後、30°C で倒立位相差顕微鏡, TV camera を通して VTR にて追跡録画し、TV monitor に拡大された画像より纖毛運動を光学電氣的に記録測定、同時に粘膜表面の profile を次の基準に

より評価した。すなわち、粘膜表面の不整像、粘膜細胞の脱落、纖毛運動の停止について観察した。TV camera 画像の粘膜表面の 25% 未満の変化を +, 25% 以上 50% 未満の変化を ++, 50% 以上 75% 未満の変化を +++, 75% 以上の変化を ++++ とした。

結果：(1) 10⁻⁶M MBP では作用後すみやかに纖毛の抑制傾向が認められ、4 時間以後纖毛運動の協調性が障害され、纖毛打の測定の不能な細胞が出現しはじめ、さらに纖毛運動停止を呈する細胞や、脱落細胞の増加とともに、粘膜表面の profile は著しく不整となり、粘液纖毛輸送系の機能障害の発現が示唆された。10⁻⁶M MBP では、2 時間を peak とした ciliostimulation が認められ、5 時間以後は ciliodyskinesis による纖毛活性不能な細胞の出現と、粘膜表面の不整像が経時的に進行して認められ、ciliostasis の出現する 9 時間までは ciliodyskinesis を示すもの、正常な纖毛活性を示すものなど、さまざまな運動を示した。粘膜表面の profile の乱れは、粘液纖毛輸送系の機能障害を窺わせる。気管支喘息患者の喀痰中の MBP 濃度は、10⁻⁶ ~ 10⁻⁵M であることが知られている。今回のヒト MBP の細胞障害性は、Frigas らのモルモットや家兎における成績に類似した (図 1)。

(2) 10⁻⁶M prostaglandin E₂ の粘膜に対する影響は殆ど認められず、軽度の粘膜表面の不整像と稀に脱落細胞の出現を認めるのみであった (図 2)。

(3) 10⁻⁶M prostaglandin F_{2α} については、

図 1

図 2

図 3

作用後早期に纖毛活性の抑制傾向が認められ、作用 2 時間以後、粘膜表面の不整像、脱落細胞、異常纖毛運動が認められ経時的にその程度の増強と数の増加が認められた (図 2)。

(4) 10⁻⁶M leukotriene C₄については、早期に纖毛活性の抑制傾向が認められ、作用 3 時間後には粘膜表面の不整像とともに異常纖毛運動による纖毛活性の測定不能な細胞の出現、4 時間後に纖毛運動停止と脱落細胞が認められ、以後経時的にその増強傾向が認められた (図 3)。

(5) 10⁻⁶M leukotriene D₄についても、作用後すみやかに纖毛活性の抑制が認められ、作用 2 時間以後、纖毛運動の不協調による纖毛活性の測定不能な細胞の出現、纖毛運動停止、脱落細胞の増加に伴う粘膜表面の不整像の変化が急速に進行して認められた (図 3)。

(6) 10⁻⁶M PAF については、作用後 30 分より纖毛活性の抑制が認められ、1 時間以後、急速に粘膜表面の不整像とともに纖毛運動異常、纖毛運動停止と脱落細胞の増加が認められた (図 1)。

以上のごとく、炎症やアレルギーの chemical mediator の一部のものは気道粘膜障害性を有しており、粘液纖毛輸送系の修飾因子として機能低下に関与する可能性が示唆され、向後の SBS におけるこれら chemical mediators の検討の必要性を提示した。

最後に MBP を恵与くださった Mayo Clinic の Gleich 教授に深謝します。

文 献

- 1) Chen, T.M. et al.: Mucus viscoelasticity and

- mucociliary transport rate. *J. Lab. Clin. Med.*, 91 : 423-431, 1978.
- 2) Dalhamn, T. : Mucous flow and ciliary activity in the trachea of healthy rats and rats exposed to respiratory irritant gases. *Acta Physiol. Scand. Suppl.*, 123 : 1-61, 1956.
 - 3) Litt, M. : Mucus rheology. Relevance to mucociliary clearance. *Arch. Int. Med.*, 126 : 417-423, 1978.
 - 4) Proctor, D.F. et al. : Nasal mucociliary clearance in man. *Ciba Found. Symp.*, 54 : 219-230, 1978.
 - 5) Bang, B.G. et al. : Responses of upper respiratory mucosae to dehydration and infection. *Ann. Acad. Sci.*, 6 : 625-630, 1963.
 - 6) Sakakura, Y. et al. : Changes of mucociliary function during colds. *Eur. J. Respir. Dis. Suppl.*, 128 : 348-354, 1983.
 - 7) Majima, Y. et al. : Possible mechanisms of reduction of nasal mucociliary clearance in chronic sinusitis. *Clin. Otolaryngol.*, 11 : 55-60, 1986.
 - 8) 久松建一・他 : ヒト慢性副鼻腔炎の粘膜纖毛運動機能について, 光学電氣的測定法による検討. *耳鼻*, 27(補1) : 243-249, 1981.
 - 9) Ohashi, Y. et al. : Reduced ciliary action in chronic sinusitis. *Acta Otolaryngol. Suppl.*, 397 : 3-9, 1983.
 - 10) Pedersen, M. et al. : Ciliary motility in the 'immotile cilia syndrome'. First results of microphoto-oscillographic studies. *Br. J. Dis. Chest*, 74 : 239-244, 1980.
 - 11) 伊藤博・他 : 慢性副鼻腔炎におけるレ線の上顎洞粘膜機能検査(X-MFT)と定量的表面微細構造との比較研究. *耳鼻臨床*, 77 : 1375-1380, 1984.
 - 12) Blitzner, M.G. et al. : A purified serum glycopeptide from controls and cystic fibrosis patients. I. Comparison of their mucociliary activity on rabbit tracheal explants. *Pediatr. Res.*, 16 : 203-208, 1982.
 - 13) Wilson, G.B. et al. : Separation of ciliary dyskinesia substances found in serum and secreted by cystic fibrosis leukocytes and lymphoid cell lines, using protein A : Sepharose CL-4B. *J. Lab. Clin. Med.*, 92 : 463-482, 1978.
 - 14) Conover, J.H. et al. : Ciliary dyskinesia factors in immunological and pulmonary disease. *Lancet*, 1 : 1194, 1973.
 - 15) Wanner, A. et al. : Effect of chemical mediators of anaphylaxis on ciliary function. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 72 : 663-667, 1983.
 - 16) Rutland, J. et al. : Cystic fibrosis serum does not inhibit human ciliary beat frequency. *Am. Respir. Dis.*, 128 : 1030-1034, 1983.
 - 17) Smallman, L.A. et al. : Reduction of ciliary beat frequency in vitro by sputum from patients with bronchiectasis : a serine proteinase effect. *Thorax*, 39 : 663-667, 1984.
 - 18) Tegner, H. et al. : Effect of human leukocyte enzymes on tracheal mucosa and its mucociliary activity. *Rhinology*, 17 : 199-206, 1979.
 - 19) Dulfano, M.J. et al. : Ciliary inhibitory effects of asthma patients' sputum. *Clin. Sci.*, 63 : 393-396, 1982.
 - 20) Frigas, E. et al. : Cytotoxic effects of the guinea pig eosinophil major basic protein on tracheal epithelium. *Lab. Invest.*, 42 : 35-43, 1980.

別刷請求 : 〒409-38 山梨県中巨摩郡玉穂町下河東1110
山梨医科大学耳鼻咽喉科
久松 建一