STUDIES ON THE CILIATED EPITHELIAL CELLS OF THE MUCOUS MEMBRANE OF THE MAXILLARY SINUS BY PHASE CONTRAST MICROSCOPY

By

T. KOHSAKA

*From the Department of Oto-Rhino-Laryngology, Faculty of Medicine, Hirotsuki
University.*

(Director: Prof. S. Katagiri)

With the aid of phase contrast microscope the author studied the ciliated epithelial cells of the mucous membrane obtained from the maxillary sinus at the time of operation.

The results were as follows:

1. It was possible to observe the form of the cells and cilia, basal bodies, nuclei, mitochondria, storage granules, Golgi's apparatus etc. without staining.
2. The ciliary movement was mainly shown in hooked type, its effective stroke, recovery stroke and metachronism were observed distinctly, but in few cases climbing movement was observed.
3. The ciliary movement became gradually inactive and finally ceased, and then nuclear membrane became brilliant and double-contoured with the lapse of time. Further, the cell showed a tendency of swelling and at last the protoplasm and nuclei were destructed, but in few cases contraction of the cells was observed.
4. Studying the effect of various chemicals and drugs upon the ciliated epithelial cells, it was confirmed that fixatives produce distinct changes for living cells. Distilled water showed marked influence on the cells where normal saline did not show any significant change.

位相差顕微鏡による上顎洞粘膜線毛上皮細胞の観察

弘前大学医学部耳鼻咽喉科教室（主任：片桐圭一教授）

幸 坂 十 四 男
コウ サカ ト シ オ

緒 言

上顎洞粘膜に関する研究は古くから行われているが、その多くは固定、包埋、染色等の操作を施したいわば死んだ細胞についてなされている。しかし細胞学的研究は生きている細胞について最も自然に近い状態のもとで観察することが望ましいと考えられ、今回私は位相差顕微鏡を応用して生体時の上顎洞粘膜線毛上皮細胞を観察し、またその時間の経過に伴う形態的变化並びに種々の化学物質及び薬剤に対する反応をも観察したのでここに報告する。

研究材料並びに研究方法

研究材料は手術によつて得た上顎洞粘膜片で、粘膜剥出の際の人工的損傷を可及的少くしかつ麻酔剤の影響を避けるために、犬歯窩の骨部のみを鑿除し、そこに露われた粘膜を尖刀でもつて切除した粘膜片、及び上顎洞鼻腔側粘膜あるいは側壁粘膜の一部を骨壁より剔離した後、剪鋏で剪除した粘膜片を用いた。このようにして得た粘膜片を直ちに人血漿中に投入し、粘膜表面をメスで軽く搔爬して載物ガラスに載せ、人血漿で封入し、主として DLL 及び NDL の位相板を有するレンズで観察

を行つた。時間の経過に伴う変化を観察する際に、封入剤の蒸発を防ぐために被覆ガラスの周囲を流動パラフィンでもつて封じた。また薬物に対する反応を観察する場合、薬液の1滴を被覆ガラスの一端に滴下することによつてその薬液を細胞に到達させることができた。

成 績

A. 対照群についての観察成績

1) 細胞の形態及び内部構造

個々に分離した生活状態にある上顎洞粘膜線毛上皮細胞についてみると、その形態は大部分が円柱状を呈しているが(第1図)、細長なもの(第2図)あるいは肥満状を呈するものも認められる(第4図)。

線毛は細胞の表面からはほぼ平行に発生しており、等質性に黒く見え、これが小皮縁を貫いて細胞体内に入つた所で基底小体に結合している。

基底小体は小皮縁下に一列に配列し、黒色の球形もしくは紡錘形を呈している(第1図)。

原形質基質は均等性を呈して灰色に見える。核はその殆んど総てが細胞の基底側に偏しており、その数は通常1個であるが、稀に2個存することもある(第1図)。核の形態は概ね楕円形で、核膜は黒く見え、比較的薄く、一般に平滑であるが屢々その内側面に2,3の突起が認められる。核質内には1乃至2個の暗灰色または黒色の明瞭な核小体が存在し、またやゝ不明瞭な桿状もしくは顆粒状物質が不規則に配列しているのが認められる。ミトコンドリアは暗灰色乃至黒色を呈し、糸状、桿状及び顆粒状をなして主に基底小体下及び核周囲に存在する(上顎洞粘膜線毛上皮細胞内ミトコンドリアについては別に報告した)。

屢々、その大きさに多少の相違はあるが球形で青色に輝き黒い輪廓をもつた顆粒が、主に核より上部に認められることがあるが、その数は多くとも数個である。

また時折核の上方にあるいは核上極に接し黒色の短桿状乃至球状物質の不規則な集団が認められることがある(第2図)。

2) 線毛運動

上顎洞粘膜線毛上皮細胞の線毛運動は多くの場合鉤状運動を示している。この運動に関して分離した1個の細胞についてみると、線毛運動が激しい時は線毛運動によつて細胞体自身が一定方向に回転しているのが見られることがある。かゝる線毛運動がやゝ衰えてくると回転運動は振子様運動に変わり、この運動に伴つて細胞内顆粒等も動いている様子も見られる。線毛運動が緩やかになり

個々の線毛が識別できるようになると、各線毛は同時性の運動を示さずに隣接線毛との間に僅かの相のずれをもつて調整された運動を認めることができる。また前方への固い運動即ち effective stroke と後方へのしなやかな運動即ち recovery stroke も明瞭に認められ、その運動速度は前者が後者よりも速い。さらに時間が経過し生活力が弱まるにつれて、線毛運動は益々緩慢となり、ついに停止するに至るが、この停止に移行する状態に2種類の様式がみられる。即ちその1は各線毛がその協調性を乱して1本づゝ停止してゆくもので、その2は各線毛が殆んど同時に停止するものである。しかし停止の状態は前者では多くの場合線毛の配列が乱れており(第2図)、後者では殆んど平行しておりかつやゝ effective stroke 側に傾いている(第1図)。多くの場合はかゝる鉤状運動を示すが、ごく一部に上昇運動を示すものがある。即ち個々の線毛は協調性を示すことなく下方より上方に向う運動で、この運動により赤血球等は上方に向つてはね上げられる。このような上昇運動を営む線毛の停止状態はほぼ垂直位をとつている。一列に配列した線毛上皮細胞についてみると、線毛運動により線毛列上の媒質に一定方向の渦流を生じ、赤血球等はこの媒質の流動によつて移動されてゆくのが見られる(第3図)。細胞列上の線毛運動は各細胞の metachronism の連続であり、この様子は屢々風が上方を通過する際の穀畑に形容されているものである。

粘膜剥出後極めて短時間内に作製した標本においても、常に上述したような活潑な線毛運動を有する細胞のみが認められるものではなく、そこには線毛運動が活潑なものゝ他に、微弱なもの、すでに停止しているもの、線毛が脱落しているもの等が存在し、また細胞列についてみても、活潑な線毛運動を有している細胞列中に線毛運動の微弱なもの、停止しているもの、線毛が脱落しているもの等が混在し、上述したような定型的 metachronism の連続状態を示さぬことが屢々ある。

3) 時間の経過に伴う細胞の変化

次に時間の経過に伴う細胞の変化について観察した。標本作製後約10~20分で屢々細胞に水泡を形成するものが認められる。即ち原形質と原形質膜の間に小水泡ができ、これが次第に大きくなり球形を呈し、遂には細胞体から分離して浮游液中に游出する。この際分離した部位には欠損部は認められず、またそこから原形質が流出することもない。そしてこの部位から再び新しい水泡が形成されることもある。多くの場合はこの所謂局所型で

あるが、時には胞体全体を包むような彌蓋型を生ずることもある。水泡内容は等質で浮游液よりも僅かに暗く見え、時折その内容中に小さい黒い顆粒がブラウン様運動を行つているのが見られることもある。水泡壁は薄く、2個の水泡が接触してもこれらは融合することはない。この水泡形成はすでに死んだと思われる細胞には認められず、また水泡を形成しつつある細胞が死んだと思われるからにはそれ以上の發育形成は認められない。

線毛運動は時間の経過につれて衰え、初め活潑な運動を行つているものも多くの場合1時間～2時間以内で運動の停止をみる。しかし室温で血漿溶液中に48時間浸漬した粘膜片から作製した標本中に、なお線毛運動を続けている少数の細胞を認めることもある。一般に線毛運動が活潑なものは運動持続時間が長く、緩徐なものほど持続時間が短い傾向を示している。なお、線毛運動が減弱した場合あるいは停止直後に新鮮な生理的食塩水で置換すると、運動は再び活潑になりあるいは再現する(第4, 5及び6図)。線毛運動停止後さらに時間が経過すると屢々線毛の脱落をきたす。しかしこの脱落までの所要時間は一定しておらず、剔出粘膜によつてかなりの相違が認められ、標本作製後約1時間で標本中の殆んど総ての細胞の線毛が完全に脱落し去り、脱落線毛が浮游液中に充満することもあるが、24時間以上経過してもなお脱落をみない細胞を認めることもある(第9図)。

線毛運動停止後まもなく核膜は不規則に厚くなり、核の周囲が輝いて所謂 double contour を示すようになる。時間の経過に伴つて胞体は次第に膨化しはじめ、核もやゝ膨大し、核膜の厚さは幾分減ずる。さらに時間が経過すると胞体は益々膨大し、ついには原形質膜が破れるに至る。原形質内ミトコンドリアは顆粒状になり膨大の傾向を示す(第7, 8及び9図)。しかし少数の線毛上皮細胞は膨化の過程を辿らず、むしろ胞体、核等に縮小の傾向を示す。

B. 諸種化学物及び薬物の影響について

最後に種々の化学物質及び薬物の線毛上皮細胞に及ぼす影響について観察した。

1) 10% フォルマリン

薬物が細胞に達してからおよそ30秒以内に線毛運動はあたかも苦悶するような状態で停止する。胞体及び核は縮小する。原形質は顆粒状に輝いて内部構造は不明瞭になり、核膜はやゝ厚く不規則となり、輝いて double contour を示す。核質は曇んだようになり、核内構造も輝きを帯びてくる(第12図)。

2) 70% エチルアルコール

アルコールが細胞に達してから数秒で線毛運動は停止する。約1分後に胞体及び核は軽度縮小し、約2分後にはその縮小はさらに著明となり、核膜は軽度に肥厚して不規則となり、甚だしい時は鋸歯状を呈することもある。原形質及び核内構造は幾分輝きを帯び、その構造に明瞭を欠くものもある(第13, 14及び15図)。

3) 3% 重クロム酸カリ

線毛運動は薬液到達後大体1分以内に停止する。胞体及び核は軽度縮小するが、10% フォルマリン、70% アルコール程著明ではない。原形質は顆粒状を呈して輝き、核膜も輝いて double contour を示し、核質は明るく見え、その中に屢々黒い不規則に配列した顆粒状物質の集団が認められる(第16図)。

4) 醋酸

5% 溶液は線毛運動を瞬時に停止させる。数秒内に線毛の形、配列が乱れ、胞体及び核は縮小し、原形質構造は顆粒状を呈してやゝ不明瞭になり、核膜は不規則にかつ軽度に厚くなり鮮明に現われるが、核内は輝いて内部構造は不明瞭になる。次の瞬間、胞体及び核は急速で膨大し、原形質は薄く曇んだようになりその構造は全く不明になるが、ひとり核膜のみは膨大のため厚さをやゝ減ずるがなお黒く明らかに認められる(第18, 19及び20図)。0.5% 溶液では作用後1分～2分で線毛運動は停止し、胞体は僅かに縮小を示し、原形質内は顆粒状に輝いて内部構造は明瞭を欠く。核膜は厚くなりかつ不規則に縮小して double contour を示す。構内構造は青味を帯びて輝いてくる(第17図)。

5) 1% 苛性カリ

薬液作用瞬間に線毛運動は停止し、引続いて胞体及び核は急激に膨化をきたし、原形質膜及び核膜が溶解して細胞内構造物が浮游液中に散乱するが、まもなくこれ等も溶解消失する。たゞ特殊顆粒のみが変化なく残つている(第21図)。

6) 蒸溜水

蒸溜水が細胞に作用してから大体5分～10分で線毛運動は停止する。胞体は膨化し、原形質内ミトコンドリアも膨大し球形となるが特殊顆粒には著変を認めない。核は比較的急速に膨大し、核膜は薄くなり、核内は曇んでその内部構造は不明瞭となる。また水泡の形成は促進される(第10及び11図)。

7) 生理的食塩水

生理的食塩水で置換してもその線毛運動に変化なく、

かつ運動持続時間も屢々1時間以上に及ぶ。また細胞内部構造にも大した変化は認められない。

8) 塩酸=カイン

10%溶液では線毛運動は大体2分以内に停止する。薬液作用後まもなく胞体は軽度に縮小し、原形質はやゝ輝きを帯びて内部構造が不明瞭になり、核膜は不規則に幾分厚さを増し double contour を示すものもある。核内は明るくなり顆粒状構造が輝いている。5%溶液では線毛運動は5分〜7分で停止し、胞体の縮小並びに内部構造の変化は10%溶液とはほぼ同じである。2%溶液では30分〜1時間の持続時間が認められ、細胞構造は著変を示さない。

9) 塩化アドレナリン

0.1%溶液を作用させても線毛運動は直ちに停止せず、5分〜7分の運動持続をみる。薬液作用後まもなく胞体は軽度に縮小し、原形質及び核内構造はやゝ輝きを帯びるようになる。0.01%溶液では線毛運動は屢々30分以上に及び、細胞構造にも大した変化は認められない。

10) 5%プロタルゴール

5%プロタルゴールは5分〜10分で線毛運動を停止させる。線毛運動停止後原形質はやゝ輝きを帯びるがミトコンドリア等は明瞭に認められる。核膜は多少不規則に厚くなり核質も僅かに輝くが、核小体は明瞭である。

11) 水性ベニシリン

水性ベニシリン 10万単位を 10cc の生理的食塩水で溶解したものでは、線毛運動は30分以上持続し、原形質及び核構造にも変化は認められない。

12) 0.05% フリピナ

0.05% フリピナを作用させた場合、その線毛運動持続時間は短かくは2分以内に停止する。最初核質が霞むが次に核内構造が輝いてくる。胞体及び核は次第に縮小し、原形質も顆粒状に輝き、核膜は不規則に厚くなり、double contour を示してくる。

13) ナーベル

薬液作用後にも線毛運動に格別の変化が認められず、その持続時間は30分以上である。原形質及び核内構造にも著変は認められない。

総括並びに考按

従来より行われてきた上顎洞粘膜の細胞学的研究は主に固定染色標本についてなされてきたが、かゝる研究方法によつては線毛の運動状態を観察することができず、またすでに Proetz (1946) は線毛上皮細胞は固定及び染色のために細胞の萎縮、核の不均衡、線毛の縮小及び

混乱をきたすと指摘し、森 (1936) は標本作製に使用する固定液の性状により、あるいは染色法の差異、弁色の程度によつて異つた微細構造を示すと述べているように、細胞構造は固定、包埋、薄切、染色等の操作中に物理化学的影響による変化を免れ得ず、従つてその細胞学的研究はかゝる操作を加えない生きている細胞について行われることが最も理想的であると考えられ、さらに固定染色標本では特殊染色法によらなければ認めることができなかった細胞内部構造をも同一標本において見ることができるといふ点から、上顎洞粘膜線毛上皮細胞の観察に位相差顕微鏡を応用したものである。

本研究においては標本作製に際して可及的線毛上皮細胞に人工的影響を加えないようにすることが必要であると考えられる。この人工的影響として第1に手術時の機械的刺戟並びに局所麻酔剤の影響、第2にメスによる搔爬という機械的刺戟を考慮に入れなければならない。第1の場合については、犬歯窩の骨部のみを除去して、そこに露われた粘膜を無麻酔のもとで切除することによりこの刺戟を避け得るものと考え、かくして得た粘膜片を主として実験に用いた。第2の刺戟は本実験においては不可避であつたが、戸谷 (1956) は同様の操作を行い、細胞分離の操作によつては細胞の形態学的変化は認められなかつたと述べている。しかしそこに搔爬という操作が行われる以上は当然多少の刺戟が加わり、厳密には全く人工的影響は無いとは云い得ないと思われるが、その影響範囲は比較的少く、本実験には大した支障をきたさないものと考えられる。

位相差顕微鏡による上顎洞粘膜線毛上皮細胞の観察はすでに 1955 年渡辺によつて行われているが、その内部構造に関しては余り詳細に報告されていない。これは生理的食塩水あるいはリンゲル氏液を封入剤とし、また 3/4 波長膜位相板を使用したためにその内部構造が明瞭に観察できなかつたのではないかと思われる。生理的食塩水あるいはリンゲル氏液はその屈折率が低く、従つて標本との間の屈折率の差が大きく、このような細胞の観察には封入剤として余り好ましくないとされており、水平 (1952) が強調するように、使用する動物の血漿あるいは腹水を用いるのが最適であるように思われる。私も以前に生理的食塩水を封入剤とし、3/4 波長膜位相板を使用して観察を行つてみたが、像は輝き、像の周囲に halo を生じて位相差の像は壊され、また像の contrast が逆転したりしてその内部構造の観察に明瞭を欠くものがあつた (第3, 4, 5 及び 6 図)。その後乾燥血漿溶液を

封入剤とし、また従来用いていた3/4波長膜位相板を有するレンズを±1/4波長膜位相板を有するDLLあるいはNDLのレンズに替えることによって比較的明瞭に内部構造を観察することができた。また1956年戸谷は普通顕微鏡によつて新鮮標本の上顎洞粘膜線毛細胞を観察し、従来の顕微鏡をもつてしても細胞の形態並びにその構造が簡単に究明できると述べ、細胞の形態及び線毛運動に関して詳細に報告しているが、その内部構造に関しては全く論じていないようである。実際、普通光学顕微鏡による新鮮標本の観察において、屈折率の差が大きい線毛や核等の存在はある程度認められるとしても、屈折率の差が小さい細胞内微細構造の観察は到底不可能なものと思われる。

上顎洞粘膜線毛上皮細胞の形態は一般に円柱状であるといわれており、私の観察においてもその大部分は円柱状であつたが、一部のものは肥満状あるいは細長い形を呈していた。戸谷は形態的にこれらを4型に分類しているが、白川(1957)はこれら形態的变化は疾病の経過々程において起つたものとみなしている。線毛運動の停止あるいは線毛の脱落等を示しているものは屢々細胞体の膨化をきたして形態的に肥満状を呈しているものがあり、かゝる細胞は病的変化によるものと云い得ると思うが、活発な線毛運動を行つている細胞にも肥満状あるいは細長い形態を呈しているものもあり、この場合、分離した細胞についての観察からはこれが正常状態にあるものか、あるいは病的過程におけるものかは一概に断定することはできないが、活発な線毛運動を示す事実を見れば、正常機能を有する線毛上皮細胞にもこのような形態を呈するものもあるものと推測される。Sternbergは線毛細胞は杯状細胞と同一のものであり、そのような形態的变化は機能的要求に応ずるものであると云い、Messerklingerも杯状細胞は病的状態において線毛細胞から移行すると述べており、また白川の研究によつてもかゝる事実を裏書きするような結果が出ている。しかし私の位相差顕微鏡による観察からはこのような移行状態を見出すことは困難であつた。

線毛は1683年Anton de Heideによつて初めて観察されたが、その機能面より1891年Schäferは線毛は原形質基質で充され、弾力性膜で包被されていると仮定し、1911年Heidenheinは線毛は中心性芯を有していると考えた。また組織学的にNussbaum(1887)、Loeffler(1889)、Fischer(1894)、Schuberg(1905)、Erhard(1910)等は線毛内に縦軸小線維を観察してお

り、Dellinger(1909)、Korschikov(1923)、Grave及びSchmitt(1923)等は線毛は多くの細線維から成つてっていると報告している。1954年Fawcettは電子顕微鏡下に線毛の中心に2本の線維があり、その周囲に9対の線維が縦走していることを観察し、上述のNussbaum等の報告した構造が普通の光電顕微鏡によつて見出されたことは理解し難く、これは凝固した蛋白質並びに染色液によるものではないかと解釈している。位相差顕微鏡による私の観察では線毛は等質に見え、Schäferの管腔並びに弾力性膜、Heidenheinの中心性芯、Nussbaum等の縦走線維等は認め得なかつた。

基底小体もFawcett等の電子顕微鏡的観察では中心に原形質性の芯を封じ、周囲に好オスミウム酸の密な鞘を有し、その形態も非対称的に見出されているが、私の観察では従来述べられているように球形あるいは紡錐形の等質性小体として小皮縁下に一列に配列し、線毛と連結して認められた。

原形質基質は等質性で灰色に見えること、核膜は比較的薄く、その外側は平滑であるが内側に屢々2,3の突起が認められ、核内に黒色の明瞭な核小体及び不明瞭な棒状もしくは顆粒状物質が不規則に配列している粗なクロマチン網工が存在すること、原形質内に暗灰色ないし黒色のミトコンドリア及び青色を帯びて輝き明瞭な黒い輪廓をもつた顆粒即ち特殊顆粒が存在し、後者は線毛上皮細胞においては比較的数字が少いこと等はZollingerの位相差顕微鏡による種々の細胞における細胞学的研究の所見と概ね一致していた。Zollingerは氏の研究においてゴルジ装置は証明できなかつたと記載しているが、私は線毛上皮細胞において時折核の上方にあるいは核上極に接して黒色の短棒状あるいは球状物質の集団を認めた。これはミトコンドリア及び特殊顆粒とは外観上明らかに異なるもので、単にこの観察から断定することは困難であるが、私はその形態並びに位置的關係からゴルジ装置ではないかと推察した。また線毛上皮細胞核が直接分裂を行うことはすでに森等によつて認められているが、私も直接分裂によると思われる2個の核を有する細胞を認めた。

Valentinによれば線毛運動型は振子状運動、鉤状運動、漏斗状運動及び波動状運動の4型に分類されている。清水(1955)は鼻粘膜線毛は鉤状運動に属すと述べ、戸谷は上顎洞粘膜線毛細胞の運動を波動運動型、火焰状運動型及び中心部集合状運動型の3型に分類している。私の観察ではその大部分がValentinのいう鉤状運動を

示しているが、ごく少数のものに上昇運動を示すものが認められた。鈎状運動は戸谷のいう波状運動型に、上昇運動はその火焰状運動型もしくは中心部集合状運動型に相当するものと考えられるが、後者の運動状態を戸谷の如く火焰状と中心部集合状とに明確に区別することは困難なように思われた。

鈎状運動には前方に向う effective stroke と旧位に復す recovery stroke とがあり、前者は固く線毛の曲りが尖端から根本に向い、後者は柔軟で線毛の曲りが根本から尖端に向っており、その速度は前者が後者よりも速い。また個々の線毛は同位相の運動を示すことなく隣接線毛との間に僅かづゝの位相のずれをもつて調整された運動を示している。この運動状態が所謂 metachronism として知られているものである。これ等の所見は Proetz, Tremble, 瀬尾, 清水等がすでに記載しているそれと全く一致している。しかしこの線毛運動及び metachronism はいかなる機転によつて営まれているかは今日なお明らかにされていない。Schäfer の線毛は弾力性膜で包被された管腔で、線毛運動は原形質基質のリズミカルな出入によつて起るという仮説や、Heidenhein の線毛は中心性芯を有し、その収縮弛緩によつて線毛運動が起るという学説はすでに否定され、近年 Fawcett 及び Porter はその電子顕微鏡的研究より、このような運動には基底小体が密接な関係を有するらしいと推論している。

活潑な線毛運動も時間の経過につれて次第に緩慢となりついに停止するに至るが、その停止に移行する状態について、渡辺は各線毛の足並が乱れて1本づゝ運動を停止してゆくとして述べており、戸谷はその動態的推移型を2型に分類し、Ⅰ型は衰頽期には運動停止前30秒~2分で急に速度が鈍り次第に衰えるが如く停止するもので、Ⅱ型は運動停止20分~30分前より不変期と明確な限界を示すことなく徐々に衰えるが如く停止期に移行するものであるとし、また停止状態も全線毛が一定方向に向つて停止する場合と、線毛が不規則に各方向に向う場合とを認めている。清水はやゝ有効打側に傾いて停止すると述べているが、私の観察では戸谷の所見とはよく一致していた。たゞ戸谷は線毛運動に上方に向う運動を認めているにもかゝらずその停止への移行状態及び停止状態については論じていないようであるが、私の観察ではこのような運動を示すものゝ多くはその協調性が乱れたまま停止状態に移行し、停止状態は大体垂直位をとつていた。

線毛運動により線毛列上の媒質に一定方向の渦流を生じ、異物等がこの媒質の流動によつて運搬される状態はすでに渡辺、白川等によつて認められているものであるが、私もこのような状態を観察し得た。しかして媒質流動の方向は recovery stroke の方向に向うものである。異物等の移動の大部分は線毛自身によるものではなく媒質の流動によるもので、生体内においてもその線毛運動により線毛列上の粘液層に流動を生じ、これによつて異物等が運搬されるであろうということは想像に難くない。

慢性炎症粘膜における線毛運動について、Proetz はその運動は殆んど損われることがないといひ、小倉(1950)は粘液層の移動は殆んど認められず、時にはごく微小な移動を認めるが、これは線毛運動が微弱であるかあるいは不協調であるためであろうと推論し、戸谷は指標の不動は広範囲に亘る線毛の欠落によると考え、線毛運動自体の微弱は認められなかつたと述べている。私の観察した標本においては線毛運動の活潑なもの、微弱なもの、停止しているもの並びに線毛が脱落しているもの等が混在し、そこには手術及び搔爬の際の機械的影響が加わるにしろ、線毛運動の微弱ないし停止、線毛脱落等の総てが機械的刺戟によるものとは考えられず、生体上顎洞の慢性炎症粘膜においてもこのような種々の状態の線毛上皮細胞が存在しているものと思われ、Proetz のように線毛運動は損われていないとは断言し難く、小倉の観察した粘液層の微小な移動は微弱な線毛運動を有する細胞群上に発現し、また粘液層あるいは指標の不動は単に線毛欠落によるのみならず、線毛運動が停止している細胞群の存在によつても惹起するものと考えられる。また Hilding, Proetz 等はその粘液層の流れは非直線的でありかつ同速度でないとして報告しているが、これは線毛運動型並びにその速度の相違及び線毛運動停止細胞、線毛脱落細胞等の混在に由来するものと考えられる。

なお、基礎膜より分離した1個の線毛上皮細胞で、線毛運動が激しい時その運動によつて細胞自体が一定方向に廻転しているのが見られることがあるが、これは標本作製の際に被覆ガラスに加える圧が少い場合、即ち載物ガラスと被覆ガラスとの間の間隙が大きい場合に屢々見られ、このような標本は運動状態を観察するには適しているが、細胞内部構造を観察するには不適當で、この場合にはもう少し被覆ガラスに圧を加えることによつてより明瞭に内部構造を観察することができるということ

を知った。

線毛上皮細胞の水泡形成はすでに渡辺によつて観察されており、また Zollinger、水平も種々の細胞における水泡形成について記載しているが、私の観察における所見もそれ等と殆んど一致していた。Zollinger はこの水泡形成は大抵の細胞に認められるもので、浮游液に直接に接触している遊離面及び細胞の生存能力の存在、並びに硬固な細胞外皮の欠除という3因子の存在のもとに発生し、水泡内容は原形質の一部でゾルの状態にあり、水泡壁は細胞膜と同一物らしく、水泡の接触によつても融合しないのは表面張力によるものと考えられ、しかしてこの水泡形成は生きている細胞の活潑な活動状態であるといつてゐる。これに対して水平は、細胞が直接に浮游液に接触するために起る一種の細胞の異常状態で、死への歩みの第一歩とみるべきではないかと推論している。私の観察では水泡形成を営みながらも活潑な線毛運動を行つている細胞も認められたが、一般に水泡を形成している細胞の線毛運動は緩徐で間もなく停止に移行することが多かつた。

剔出粘膜の線毛運動持続時間に関する戸谷の実験によれば、8°C 前後の生理的食塩水あるいはリンゲル氏液中で最低 48 時間、最高 120 時間の運動持続を認めているが、私の観察では室温の血漿溶液中で 48 時間後なお線毛運動を継続している少数の細胞を認め得たが、72 時間後には全く認められなかつた。また線毛運動停止直後新鮮な生理的食塩水を注加することによつて線毛運動が回復することを認めたが、この事は Zollinger も見ており、また渡辺も稀薄アルコール及び加温により線毛運動が再現することを観察している。この事実から線毛運動の停止のみをもつて直ちに細胞の死と判定することは早計と思われる。渡辺は細胞の死後 6 時間～12 時間で線毛は完全に脱落すると報告しているが、私の観察では剔出粘膜によつてかなりの相違が認められ、標本作製後約 1 時間で完全に脱落することもあり、また 24 時間以上経過してもなお脱落をみないこともあつた。

Lewis 及び McCoy は核の屈折性の増加及び明らかな核膜の出現をもつて細胞死の定型的徴候であると考え、Zollinger は動物実験によつて輝いた核を有する細胞は死滅していることを実証し、線毛上皮細胞においてはこの核の光輝と線毛運動の停止の2つの出現をもつて細胞の死を判定することができると述べており、水平も Zollinger の見解を全面的に認めている。私の観察においても線毛運動が停止しかつ核の輝きを示している線毛

上皮細胞は新鮮な生理的食塩水の置換等の操作によつても、もはや線毛運動の回復は認められなかつた。

線毛運動はその活動が活潑なものは運動持続時間も長い、微弱なものは比較的短時間内に停止するというところを観察した。従つて微弱な線毛運動を有している細胞に薬物を作用させた場合、その運動持続時間が薬物の影響によつて短縮されたものかあるいは薬物の影響を蒙らなくとも自然に短時間内に停止したものかを区別することは不可能である。よつて薬物の線毛運動に及ぼす影響を観察する場合は活潑な線毛運動を行つている細胞を対象とした。またこの観察の際 Zollinger は薬液に少量の中性紅を加えておくことにより薬液が細胞に達する瞬間を判定できると記載しているが、この方法を追試してみた結果は着色が薄くその到達瞬間を明瞭に判定することは困難であつた。戸谷は薬液に生理的食塩水で溶解した 2% マーキエロクロームを 0.01% の割合に混入し、この赤染液が線毛に接触した瞬間をみているが、この方法も位相差鏡下では不明瞭であつた。被覆ガラスの一端に濃い色素液を滴下し顕微鏡下に観察していると、色素液は速かに封入液中に浸入し、比較的辺縁部の細胞には大体 2 秒～3 秒で到達する。よつて私はこの事を念頭に入れかつ添加色素によつて位相差像が壊されることを考慮し、薬液には色素を加えずに観察した。

渡辺は 5% 重クロム酸カリ及び 10% フォルマリンを線毛細胞に作用させ、最初細胞体の収縮と線毛運動の減衰、数分後に原形質の透明感の増加と線毛運動の停止を認め、また細胞体の変形を示すことがあると述べている。Zollinger は、10% フォルマリンを生きている細胞に作用された場合は数秒後に核は霞んで等質に見え僅かに萎縮をきたし、細胞は輝き、核小体及びクロマチン網工は輝き青みがかつてき、また核膜は不規則に厚くなり輝いて double contour を示す。しかして 70%～95% アルコールも同様の変化を起すと記載しており、また水平も固定液による作用を種々の細胞で調べ Zollinger と全く同じ所見を得たといつてゐる。さらに Zollinger によれば 3% 重クロム酸カリは核に特有の変化をきたし、作用後 2 秒～3 秒で核膜は厚くなるが輝くことはなく、クロマチンは網状構造を失ひ核質中に不規則な暗い点として現われ、核小体は非常に明瞭に認められる。しかし最後には核は萎縮し輝いてくるのでフォルマリン、アルコール等で処理したものと区別ができなくなるという。私も一般に固定液として用いられている 10% フォルマリン、70% アルコール及び 3% 重クロム酸カ

リについてその線毛上皮細胞に及ぼす影響を観察し、これ等固定液は線毛運動を大体1分以内で停止させ、強烈な影響力をもっていることを知った。また細胞体に対してもこの3者はほぼ類似した変化を惹き起した。即ち原形質は縮小しその内部構造は顆粒状に輝いて不明瞭になり、核も縮小し核膜は不規則に厚くなりかつ輝いて double contour を示し、核内構造も輝きを帯びて明瞭さを欠いた。たゞ原形質及び核の縮小程度は70%アルコールにおいて最も顕著であり3%重クロム酸カリでは比較的軽度であつたが、内部構造の光輝は後者において最も著明であつた。以上の所見は Zollinger のそれと類似している点が多かつた。しかし3%重クロム酸カリにおいて Zollinger の所謂中間段階ともいふべき変化は認められなかつた。要するにこれ等固定液は細胞蛋白質の凝固及び沈澱を惹起し、その縮小並びに屈折性及び明瞭度を増すものと考えられる。従来、細胞学的研究は生きている状態においてなされるのが理想とされているにもかゝらず、その生態観察が不十分なために固定液により細胞に変化を招来することを熟知しつつも止むを得ず固定操作を施し、固定標本所見を基礎として生態時の構造並びに機能を推論していた状態である。本実験においてはその固定液が生態時の細胞に及ぼす影響について観察したものであるが、細胞構造に著明な変化をきたし、生態時とは大分異つた所見を呈することを知り得た。

5%醋酸を細胞に作用させた場合、渡辺の実験ではコオルマリン等とはほぼ類似の現象を示すと云い、Zollinger も原形質は収縮せず、ミトコンドリアは著明に膨大するが、その他はフォルマリンと同じ態度をとると述べている。しかし私の実験では両者とはかなり異つた所見を呈し、線毛の運動は瞬時に停止してその形及び配列が乱れ、細胞は一見縮小像を示すが、ついで急速に膨大し原形質構造は薄くなつて全く不明瞭になり、単に核のみが黒く現われてその存在を示している状態であつた。しかし0.5%醋酸による変化がむしろ渡辺、Zollinger の報告に類似していた。

1%苛性カリによる変化は渡辺の観察とほぼ一致していたが、特殊顆粒のみが溶解されずに不変のまま視野に散在しているのが印象的であつた。

蒸留水を用いた場合の線毛運動持続時間について、佐伯は15分、戸谷は2分~7分、Zollinger は12分以上であると報告しており、私の場合は大体5分~10分であつた。これに比べて生理的食塩水の場合はその持

続時間が遙かに長く、戸谷は55分~88分の運動持続をみており、私の実験でも屢々1時間以上の持続時間を認めた。また蒸留水中では原形質の膨化、ミトコンドリアの膨大、核の嚢型変化等を惹き起したが、生理的食塩水中では細胞構造に大した変化は認められなかつた。かかる両者の線毛上皮細胞に及ぼす影響の相違は主として滲透圧の差に因るものと考えられ、従つて臨床上薬剤を溶解する場合、同一濃度でもその溶解に使用した溶媒によつて線毛上皮細胞に及ぼす影響にも当然差異をきたすものと考えられ、溶媒としてはでき得る限り生理的食塩水を用いることが望ましいと考えられる。また蒸留水中で水泡形成が促進されることはすでに水平、渡辺、Zollinger 等によつて認められているが、これも原形質と媒質との間の滲透圧の大きな差によるものであらうといわれている。

コカイン溶液の線毛運動に及ぼす影響に関する従来の報告をみると、10%溶液では戸谷、Proetz は2分以内、白川は1分、佐伯は30分内外で停止、5%溶液では戸谷は9分~5分、Proetz は1分~3分で停止し、また2%溶液では Proetz は殆んど影響がないと述べているが、私の実験では10%溶液で2分以内、5%溶液で5分~7分、2%溶液では大体30分~1時間の運動持続時間が認められ、その成績は上述の諸氏のそれとほぼ一致していた。また10%及び5%溶液では薬液作用後もなく胞体の軽度縮小、原形質及び核内構造の輝きをみるものもあり、その線毛運動持続時間の短縮とから、この濃度のコカイン溶液は線毛上皮細胞に対してかなりの影響力を有するものと考えられる。

塩化アドレナリンについて0.1%溶液では戸谷、Proetz は直ちに停止、佐伯は1分内外で停止するというのに対して、白川、渡辺は減弱するが停止はしないと述べ、その報告にはかなりの相違が認められた。私の実験では直ちに停止することはないが、その多くは5分~7分で停止した。また白川、渡辺は0.1%アドレナリンの作用により細胞体に著明な収縮が起ると記載しているが、私の場合にはさほど著明な縮小は認められず、また原形質及び核内構造に軽度の輝きを帯びてくるが、その構造に明瞭を欠くほどのものでなかつた。0.01%溶液では Proetz は2時間以上の運動持続をみているが、戸谷は5分~3分で停止するといっている。私の結果では屢々30分以上の運動持続を認め、細胞構造にも大した変化はみられず、従つて0.01%溶液の細胞に及ぼす影響は比較的弱いものと考えられる。

プロタルゴールを作用させた場合について戸谷は2%溶液で1分以内、1%溶液で9分～15分、0.5%溶液で10分～24分で、また佐伯は2%溶液で平均5分、10%溶液では平均55秒で線毛運動が停止すると述べているが、白川は種々の濃度においても線毛運動に変化がないといっている。私の実験では5%溶液で5分～10分の運動持続時間を認め、細胞構造においても核膜の軽度不規則肥厚、原形質及び核質の僅かの輝き等の変化が認められたが、その内部構造は比較的明瞭で、プロタルゴールの細胞に及ぼす影響は余り強烈でないと思われる。

戸谷の研究によれば水性ペニシリンはその濃度いかににかかわらず正常に近い線毛運動持続時間を示すといわれているが、私の実験においても10万単位を10ccの生理的食塩水に溶解した溶液では30分以上の運動持続時間を認めかつ細胞内部構造にも変化を示さず、その細胞に及ぼす影響が少いことを知った。

最近鼻閉塞に対する局所血管収縮剤として使用されている0.05%ブリピナ及びアドナの線毛上皮細胞に及ぼす影響について観察を行った。ブリピナは線毛運動持続時間を短縮し、また細胞内部構造にも著明な変化を起したのに対し、アドナは線毛運動に障害を与えずかつ細胞内部構造にも著変が認められなかった。この結果より血管収縮作用は別としてその細胞に及ぼす影響は前者が後者よりも強いのではないかと推測される。

1934年 Lierle 及び Moore が上気道粘膜線毛運動に及ぼす薬物の影響について報告して以来、これに関する報告は多くの研究者によつてなされており、最近では Proetz (1946)、佐伯 (1951)、清水 (1955)、戸谷 (1956) 等の報告がみられる。しかしその多くは動物あるいは人間の粘膜上皮列を対象としているために詳細な観察は困難なものと思われ、この点から戸谷は個々に分離した線毛上皮細胞についてその運動持続時間並びに線毛運動停止に至る過程の動態的推移を観察し、これによつて薬物の毒性を推測することが可能であるといっている。しかしその細胞に及ぼす影響については単に線毛運動の変化のみならず細胞内部構造に及ぼす変化をも併せて論ずるのが妥当と考えられ、私はこの両者について観察を行ったが、線毛運動持続時間の短縮と細胞内部構造の変化の強さは平行関係にあることを知った。

結 論

位相差顕微鏡により上顎洞粘膜線毛上皮細胞を観察し、次の所見を得た。

- 1) 線毛上皮細胞の形態並びに線毛、基底小体、核、

ミコンドリア、特殊顆粒、ゴルジ装置等を無染色のまま観察することができた。

- 2) 線毛運動は主に鈎状運動を示し、その effective stroke と recovery stroke 並びに metachronism が明瞭に認められたが、一部に上昇運動を示すものがあった。

- 3) 生息時の細胞に屢々水泡形成が認められた。時間の経過に伴い線毛運動は減弱から停止に移行し、停止後核が輝いて所謂 double contour を示してくる。さらに胞体は膨化の傾向を辿り、ついには原形質及び核が破壊するに至るが、一部には縮小像を呈してゆくものもあった。

- 4) 種々の化学物質及び薬物の線毛上皮細胞に及ぼす影響について観察し、固定液は生息時の細胞に著明な変化を惹き起すこと並びに蒸溜水は生理的食塩水に比べて細胞に及ぼす影響が顕著であることを知った。

主 要 文 献

- 1) 森：千葉医誌，14巻，487頁，(昭11)。
- 2) Proetz: Applied physiology of the nose. Saint Louis. (1946)。
- 3) Zollinger: Am. Jour. Pathol. Vol. 24, 545, 569, 797, 1039. (1948)。
- 4) 小倉：日耳鼻，53巻，1頁，(昭25)。
- 5) Tremble: Arch. Otolaryngol. Vol. 51, 205, (1950)。
- 6) 合田，藤井：生理学講座，1巻，(昭25)。
- 7) 稻垣：位相差顕微鏡の臨床的应用，(昭26)。
- 8) 佐伯：広島医学，4巻，38頁，543頁，(昭26)，5巻，285頁，(昭27)。
- 9) 水平：位相差顕微鏡とその応用，(昭27)。
- 10) 井上：耳鼻喉科，24巻，547頁，(昭27)。
- 11) 瀬尾：生理学講座，2巻，(昭27)。
- 12) Tremble: Laryngoscope. Vol. 63, 619, (1953)。
- 13) Fawcett: Laryngoscope. Vol. 64, 557, (1954)。
- 14) Fawcett and Porter: Jour. Morphol. Vol. 94, 221, (1954)。
- 15) 渡辺：日耳鼻，58巻，396頁，(昭30)。
- 16) 清水：耳鼻臨床，48巻，635頁，(昭30)。
- 17) 菊地：日耳鼻，58巻，206頁，265頁，(昭30)。
- 18) 戸谷：日耳鼻，59巻，1283頁，(昭31)。
- 19) 白川：日耳鼻学会総会宿題報告，(昭32)。

附 図 説 明

第1図 細胞体は円柱状を呈し、2個の核が認められる。線毛はほぼ平行に発生して基底小体と結合している。

第2図 細長い形を呈しており、線毛の配列は乱れている。核の上方にゴルジ装置と思われる黒い顆粒状物質の

集団が認められる。

第3図 活潑な線毛運動を有する上皮細胞列。線毛列上の媒質に渦流を生じ赤血球が移動している。封入剤に生理的食塩水を用い、3/4波長膜位相板を有するDMで観察したもので、像が輝きcontrastが逆転している。

第4図 肥満状を呈する細胞で活潑な線毛運動を行つてゐる。

第5図 第4図に示したのと同じ細胞で、約40分経過したもの。胞体及び核は膨化し、線毛運動は緩慢となる。

第6図 第5図のものに新鮮な生理的食塩水を加えたところ、線毛運動は再び活潑となり、胞体及び核も軽度には縮小する。なお、第4、5及び6図も生理的食塩水を封入剤とし、3/4波長膜位相板を有するDMで観察したもので、その内部構造は不明瞭である。

第7図 線毛運動停止後約30分経過したもので、核膜は不規則に厚くなり、周囲が輝いてdouble contourを示す。

第8図 第7図と同じ細胞で18時間経過したもの。胞体は全体として膨大してくるが、特にその一部が著明に膨化している。核も若干膨大し核膜が薄くなる。原形質内ミトコンドリアも顆粒状になりかつ膨大している。

第9図 第7図と同じ細胞で36時間経過したもの。胞体及び核は益々膨化しているが、線毛はなお保たれている。

第10図 蒸留水で置換された細胞で、著明な水泡形成が認められる。

第11図 蒸留水で置換された細胞で、核の霞型を示す。原形質内ミトコンドリアは膨大している。

第12図 10% フォルマリンを作用させた細胞で、胞体及び核は軽度に縮小し、原形質内構造は顆粒状に輝いて明瞭を欠く。核膜はやゝ厚くなり核内は霞んでいる。

第13図 線毛運動停止直後の細胞。

第14図 第13図と同じ細胞で70% アルコール作用後約1分経過したもの。胞体及び核が軽度に縮小する。

第15図 第13図と同じ細胞でアルコール作用後約2分経過したもの。胞体は著明に縮小し、原形質及び核内構造は輝きを帯びて不明瞭である。

第16図 3% 重クロム酸カリを作用させた細胞。原形質は顆粒状に輝いて内部構造は明瞭を欠き、核膜はdouble contourを示し、核質も輝くが黒い顆粒状物質の不規則な集団がみられる。

第17図 0.5% 醋酸を作用させた細胞。胞体は軽度には縮小し、原形質内は顆粒状に輝きを帯びる。核膜はdouble contourを示し、核内構造も輝いている。

第18図 線毛運動停止直後の細胞

第19図 第18図に示した細胞に5% 醋酸を加えた数秒後の変化で、線毛は形が不規則となり、胞体及び核は縮小し、原形質内並びに核内は輝いてやゝ不明瞭になるが、核膜は不規則に厚くなり黒く鮮明に認められる。

第20図 第19図に引続いて胞体は急速に膨化し、原形質は薄く霞んだようになりその構造は全く不明となる。核も膨大し核膜は厚さをやゝ減するがなおよく認められる。

第21図 1% 苛性カリを作用させた細胞。細胞構造は殆んど消失して不明となるが、特殊顆粒のみがそのまゝ残る。

擧筆するに当り恩師片桐主一教授の御指導並びに御校閥に対し深謝致します。また御教示を仰いだ解剖学教室水平敏知教授に感謝致します。

(原稿到着=昭和33.7.29日)