慢性副鼻腔炎鼻汁ムチン：その可溶化と O-グルコシド 糖鎖の生化学的研究

東京大学医学部耳鼻咽喉科学教室（主任：野村恭也教授）

杉 田 公 一

MUCIN-TYPE GLYCOPROTEIN OF NASAL SECRETION FROM PATIENTS OF CHRONIC SINUSITIS : SOLUBILIZATION AND BIOCHEMICAL ANALYSIS OF THE O-GLYCOSIDIC OLIGOSACCHARIDE CHAINS

KOUICH SUGITA, M.D.

Department of Otolaryngology, Faculty of Medicine, University of Tokyo, Tokyo

Since detailed analysis on the structure and property of mucin in human nasal secretion has not so far performed due to the difficulty of its solubilization, we aimed to investigate the solubilization and the carbohydrate composition of the mucin to clarify the function and the possible involvement by pathological conditions.

Nasal mucopurulent secretions obtained from patients of chronic sinusitis (17 cases, 30ml, dry weight 1650mg) were solubilized with 5mM EDTA-containing phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4), and the insoluble materials which were hardly solubilized under the above condition, were solubilized with 8M urea in PBS. According to the two step solubilization procedures, almost all of the nasal secretions could be solubilized and the recoveries of dry weight, protein, hexose and sialic acid were 92.9 %, 71.5 %, 96.4 % and 92.9 %, respectively. The soluble fraction with EDTA-PBS and the fraction solubilized with urea-PBS (insoluble fraction) were fractionated by Sepharose CL-4B column chromatography and the mucin fractions in the void volume, which contained glycoprotein with the molecular weight of more than 10^5 daltons, were collected. Both mucins retained on a DEAE Sephadex A-25 column, indicating that the majority of the mucins are negatively charged, and their purity and molecular weights were confirmed by SDS-Polyacrylamide Gel Electrophoresis.

In addition, carbohydrate compositions of both soluble and insoluble mucins were determined by gas-liquid chromatography. Molar ratio of carbohydrates in the soluble mucin was Fuc : Man : Gal : GalNAc : GlcNAc : NeuAc = 2.31 : 0.13 : 4.36 : 0.99 : 1.81 : 1, and that in the insoluble mucin was Fuc : Man : Gal : GalNAc : GlcNAc : NeuAc = 1.93 : 0.33 : 5.68 : 2.63 : 5.44 : 1. The difference between the two mucins with different solubilities was suggested to be mainly due to the aminosugar, which mediate the formation for intra-and inter-molecular linkages to give the viscous nature of the mucin.

Key words: 鼻汁ムチン, 可溶化, ガスクロマトグラフィー, アミノ糖, A89-0715-30140
SDS-PAGE

はじめに
上皮性細胞で合成されるムチンの主な特徴は以下の

ごとくである。(1)分子量が100万ダルトン以上である。
(2)ペプチド鎖含量は30%以下で残りは糖鎖である。(3)

セリン, スレオニン, プロリンの含量が高い。(4)糖とペプチド鎖の結合はO-グリコシド結合による。(5)ガラクトース, N-アセチルガラクトサミン, N-アセチルグルコサミン, フコース, シアル酸, 硫酸を含み, マンノース, ウロン酸, グルコースは含まれない¹⁾。また, ムチンはたとえ唯一の腺組織や器官から単離したものであっても, 単一の分子構造を持たず, 複数の構造体の混合物である。一方, ムチンは免疫原性を有する分子であることが, 唾液²や腸管³のムチンについて調べられており, 最近では癌関連糖鎖抗原としての性質に関心が集まりつつある⁴⁾⁵⁾⁶⁾。結局, 分子的定義は明確ではないが, その性質と役割が重要視されつつあるというのがムチン研究の現状といえる。鼻汁ムチンの構造と機能を調べ臨床への応用を計ることを主眼に研究を進めているが, 今回は鼻汁ムチンのO-グリコシド糖鎖に結合している糖の分析を, 主としてガスクロマトグラフィーを用いて行った。鼻汁などの粘液の分析については, 分離, 精製にさまざまな方法が取られており統一されたものはないが, 本論文では鼻汁の可溶化について5mM EDTA および8M 尿素を用い, それぞれの方法により可溶化された鼻汁ムチンの相違についてガスクロマトグラフィーによる糖の分析を中心に進めた。

方 法

1. 試料の鼻汁

臨床症状, 鼻鏡所見, X線検査所見などから慢性副鼻腔炎と診断された患者(13歳~42歳)の固有鼻腔より鼻粘膜を刺激しないように慎重に吸引採取した鼻汁を用いた。鼻汁の肉眼的性状はすべて粘膿性であった。採取した鼻汁はディープフリーザー内(-80°C)で保存した。

2. 鼻汁の精製

試料鼻汁(14検体, 24ml)に5mM EDTA 添加リン酸緩衝食塩水(PBS, pH7.4)126mlを加えて超音波処理した。これを15,000rpmで30分間遠心後, 上清を集めて水に対し透析し, 凍結乾燥して得られたものを可溶性画分とした。一方, 沈渣に8M 尿素を加えて, 再び15,000rpmで30分間遠心して得られた上清を透析後, 凍結乾燥したものを不溶性画分とした。可溶化前の試料, 可溶性画分および不溶性画分から一部を取り, そのヘキサース含量をフェノール硫酸法で, 蛋白含量をウシ血清アルブミンを標準蛋白質としてFolin-Lowry法で, シアル酸をレゾルシノール法で定量し

た。つぎに可溶性画分および不溶性画分をそれぞれセファロース CL-4Bのカラム(90×2cm)でゲルろ過した。溶出には6M 尿素を含むPBSを用いた。溶出液は試験管ごとに水に対して48時間透析した後, それぞれについてヘキサース含量をフェノール硫酸法で, 蛋白含量をUV吸収(280nm)で定量した。この中のpass-through fractionで特に糖含量の高い画分を可溶性画分では可溶性ムチン画分(s-I), 不溶性画分では不溶性ムチン画分(i-I)とした。また, 2番目のピークのうち特に糖含量の多い画分を可溶性画分ではs-II, 不溶性画分ではi-IIとした。

3. ガスクロマトグラフィーによる糖の定量

2.で得た各試験管から50μlずつ採取して, これを凍結乾燥後, メタノリック塩酸400μlおよび酢酸メチル100μlを加えて混合し, 70°Cで16時間反応させた。これに内部標準物質としてマンニトール25μgを水100μlに溶解した液を加えて室温で窒素ガスにより乾燥させた。さらにメチルアルコール500μl, ピリジン50μl, 無水酢酸50μlを加えて室温で15分間放置後, 窒素ガスで溶媒を除いた後, デシケーター内で乾燥させた。これにヘキササン100μlを加えたものをガスクロマトグラフィー用の試料とした。

使用したガスクロマトグラフは島津製作所製GC-7AGまたはGC-9Aである。カラムは1%OV-101および3%SE-30を用いた。分析条件は初期温度160°Cから最終温度250°Cまで2°C/分で昇温させた。あらかじめ, 既知量の糖とマンニトールで検量線を求めておき, これより各試料中の糖含量を定量した。糖のうちシアル酸についてはレゾルシノール法で定量した。

4. SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)による分析

2.で得た各試験管から100μlずつ採取して, これに1%ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)添加20%ショ糖を100μlおよびマーカー色素ブロムフェノール・ブルー(BPB 1%)50μlを加えて40°Cで2時間放置した。これをSDS-PAGE用の試料とした。7%アクリルアミドゲルを用いて80V, 60mAで4~5時間泳動した。標準物質としてはチトクロームC(分子量11,700), ミオグロビン(分子量17,000), カルボニック・アンハイドラーゼ(分子量31,000), 卵白アルブミン(分子量43,000), ウシ血清アルブミン(分子量68,000)を用いた。

5. DEAE セファデックス A-25 クロマトグラフィーによる分析

s-Iおよびi-IをDEAEセファデックスA-25カラム(容積90ml)で分画した。10mM トリス塩酸緩衝液を用いて0から1.6MのNaClの濃度勾配をつけて溶出した。溶出パターンは、糖(フェノール硫酸法)および蛋白質(UV吸収, 280nm)でモニターした。

結 果

1. 鼻汁の精製

鼻汁の精製に用いた鼻汁混合液24mlの乾燥重量は1650mg、蛋白質量は225.0mg、ヘキソース量は76.5mg、シアル酸量は32.4mgであった。また可溶性画分の乾燥重量は1284mg、蛋白質量は143.9mg、ヘキソース量は65.1mg、シアル酸量は22.1mgであり、不溶性画分の乾燥重量は240mg、蛋白質量は16.9mg、ヘキソース量は8.63mg、シアル酸量は7.97mgであった。これらの関係を図1に示す。この中で可溶性画分と不溶性画分の合計から回収量を計算すると初めの混合液に対して、乾燥重量で92.9%、蛋白質量で71.5%、ヘキソース量で96.4%、シアル酸量で92.9%であり、

ほとんどの構成成分、特に糖は二つの画分に可溶化されていることがわかった。可溶性画分と不溶性画分との割合は乾燥重量で77.8%と14.5%、蛋白質量で64.0%と7.5%、ヘキソース量で85.1%と11.3%、シアル酸量で68.3%と24.6%であった。したがって、この値をもとに不溶性画分への分配率を求めると、乾燥重量で15.7%、蛋白質量で10.5%、ヘキソース量で11.7%、シアル酸で26.5%となりシアル酸の不溶性画分への分布は比較的高い値であった。

可溶性画分および不溶性画分のセファロースCL-4Bでの溶出のパターンを図2に示す。いずれの画分においてもCL-4Bでは2個の主ピークを与え、そのうち特に糖含量の多い画分を可溶性画分ではs-I(可溶性ムチン画分)、s-IIとし、不溶性画分ではi-I(不溶性ムチン画分)、i-IIとした。

2. 糖の定量

試験管ごとに定量した糖のモル数を合計してその中に占める糖の割合を示したものが図3である。可溶性画分の中で比較すると各試験管での糖の割合は比較的

図1 可溶性画分および不溶性画分の化学組成

一定しているが、血清蛋白由来成分に多いとされているマンノースは s-II で増加している。可溶性ムチン画分 (s-I) における糖の重量は溶出液 1 ml あたりフコース 257.0 μ g, マンノース 15.9 μ g, ガラクトース 550.2 μ g, N-アセチルガラクトサミン 153.6 μ g, N-

アセチルグルコサミン 281.3 μ g, シアル酸 215.5 μ g であった。これをシアル酸の値を 1 として糖のモル比を求めるとおよそフコース:マンノース:ガラクトース:N-アセチルガラクトサミン:N-アセチルグルコサミン:シアル酸=2.31:0.13:4.36:0.99:1.81:

Elution Profile of Sepharose CL-4B Soluble Fraction

Elution Profile of Sepharose CL-4B Insoluble Fraction

図2 可溶性画分および不溶性画分の CL-4B での溶出パターン

上段: 可溶性画分, 下段: 不溶性画分

s-I: 可溶性ムチン画分, i-I: 不溶性ムチン画分

図3 試験管ごとの糖のモル数の百分率

上段：可溶性画分，下段：不溶性画分

s-I：可溶性ムチン画分，i-I：不溶性ムチン画分

1となった。不溶性画分では可溶性画分に比較していずれの試験管も糖の割合に変化が大きいこと、ガラクトースははじめのムチン画分に多く、後になるほど減少すること、マンノースは逆に後になると増加することが示された。不溶性ムチン画分(i-I)での糖の重量は溶出液 1 ml あたりフコース 17.9 μ g, マンノース 3.4 μ g, ガラクトース 58.5 μ g, N-アセチルガラクトサミン 33.7 μ g, N-アセチルグルコサミン 68.4 μ g, シアル酸 17.8 μ gであった。これを同様にシアル酸の値を1として糖のモル比を求めるとフコース：マンノース：ガラクトース：N-アセチルガラクトサミン：N-アセチルグルコサミン：シアル酸=1.93：0.33：5.68：2.63：5.44：1となった。

3. SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動による鼻汁の分析

可溶性画分および不溶性画分を同一条件で電気泳動し、それぞれについて蛋白質の染色としてクマシーブリリアントブルー染色を、また糖の染色としてPAS染色を行った(図4)。s-Iおよびi-Iのいずれも蛋白質

は泳動されておらず、基線の位置のみが強く染色されている。この基線の位置は分子量100万ダルトン以上と推定される。s-IIおよびi-IIではいずれも複数のバンドが染色されており標準蛋白質から分子量を推定してアルブミン(分子量68,000)、トランスフェリン(分子量75,000)などが考えられた。一方、糖について見るとs-I, i-Iの基線の位置がやはり強く染色されていて、これが糖の豊富な画分であることが示された。

4. DEAE セファデックス A-25 によるクロマトグラフィー

可溶性ムチン画分を陰イオン交換樹脂で分離すると、NaClの濃度で0.36M, 0.61Mに2本のピークが得られた。非吸着成分はなく、ほとんどが吸着される。これはシアル酸もしくは硫酸を含む成分が相互分離しているためと予想される。不溶性ムチンも同様に非吸着成分はほとんど含まれず、ほぼすべての成分がカラムに吸着された。その溶出位置は0.50M NaClに1本のピークとして観察された。

図4 SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動

上段: クマシーブリリアントブルー染色, 下段は PAS 染色

左側: 可溶性画分, 右側: 不溶性画分

s-I: 可溶性ムチン画分, i-I: 不溶性ムチン画分

考 案

気道, 消化管, 生殖器などにおける分泌物の主成分であるムチンの一般的な役割には, 器官内での潤滑作用, 食物を包み込み粘膜を傷つけずに混和, 消化して腸へ送る庇護作用, 胃の防御因子としての作用, 外来物の排出に際しての作用, 子宮腔の保護, 精子の生存と貫通性の調節などがある。最近特に注目されているのはムチン糖鎖構造の癌化時の変化であり, 消化管ムチンの抗原性の癌性変化は良く知られている^{4)~7)}。一方, ムチンの構造は徐々に解明されつつあり, 消化管, 顎下腺, 気管のムチンの構造についての報告が見られる^{8)~9)}。ムチンの分子構造の模式図を図5に示した。ムチン分子はポリペプチドからなるコアに糖の側鎖がセリンもしくはスレオニンを介してO-グリコシド結合している¹⁰⁾。また, ムチン分子間や自らの分子内でジスルフィド結合や二価の陽イオンなどを介したイオン

結合が形成され, その粘性に関与している。ムチンの構造と機能を検索する方法は, ムチン分子自体の分子構造的定義が確立されておらず, 精製の指標となるものがないため, O-グリコシド結合を開裂して単離した糖鎖の構造を解析するか, あるいは免疫学的手法を用

図5 酸性ムチン分子の模式図

いて抗原の産生細胞を組織化学的に調べる方法がもっぱら用いられてきた¹¹⁾。著者らは、慢性副鼻腔炎患者の粘膿性鼻汁を精製して得た可溶性ムチンを家兎に免疫することにより、抗鼻汁ムチン抗血清を作製し、その抗血清の性質や抗血清によって認識される抗原構造を解析することによって、ムチンのO-グリコシド糖鎖がその発現に大きく関与していることを明らかにし、また抗血清を用いた蛍光抗体法により上顎洞粘膜におけるムチン分布の所見について報告した¹²⁾。今回の報告は鼻汁ムチンについての研究の一環として、鼻汁ムチンの可溶化とO-グリコシド糖鎖についての生化学的分析を試み、その結果から、ムチンの物理的性質を付与する化学的構造の背景について考察を加えたものである。

ヒト鼻汁ムチンについての研究は、最近では大山¹³⁾、坂倉¹⁴⁾、Patow ら¹⁵⁾、Boat ら¹⁶⁾の報告があるがいまだ不明な点が少なくない。ヒト鼻汁ムチンの研究上の問題の一つに、正常鼻汁を分析に十分な量を採取することが困難なことがあげられる。そもそも鼻汁は正常な状態では鼻粘膜上に二層の mucous blanket として存在し¹⁷⁾、その厚さは約 5 μm とされている¹⁴⁾。正常者から採取する方法として、生理食塩水で鼻腔内を洗浄し、その洗浄液を採取したり、綿球またはろ紙を鼻腔内において吸収させる方法¹⁸⁾などが考案されている。また鼻汁を誘発させる方法も低温室で温かい麺類を食べる方法¹⁹⁾や各種薬剤を吸入させる方法などがある。いずれの方法でも「正常鼻汁」とは言いがたく、また量的にも十分ではない。また、最近行われている粘膜の組織培養による結果をそのままヒトに当てはめることはできない¹⁵⁾¹⁶⁾²⁰⁾。一方、慢性副鼻腔炎は主要鼻疾患の一つであるが、その主病態は鼻、副鼻腔粘膜上皮の杯細胞、腺細胞および血管からの気道粘液の過剰分泌による鼻漏過多である。その分泌液は肉眼分類で粘性、粘膿性、膿性に分けられるが、比較的軽症例では粘性が多く、一般的には粘膿性が多い。慢性副鼻腔炎患者の鼻汁の場合は個体差や病期による相違は存在するが、誘発せずに固有鼻腔内の貯留液を被検者に大きな負担をかけずにある程度の量を採取できる利点がある。したがって、本研究では慢性副鼻腔炎患者から採取した鼻汁を分析に用いた。

鼻汁の分析において、単に遠心すると“gel phase”とよばれる粘液糖蛋白の豊富な画分と“sol phase”とよばれる少量の粘液糖蛋白、血清蛋白、分泌蛋白、小分子量の物質の含まれる画分とに分けられる。前者の

粘液糖蛋白(ムチン)は不溶性で後者と自由に混合させることはできない。そこでムチンの可溶化が必要となる。この方法としては1)蛋白分解酵素たとえばパパイン、プロナーゼなどを用いて、分子量3～6×10⁵ダルトンの断片にする。2)チオール複合体すなわちN-アセチルシステイン、ジチオスレイトールなどでジスルフィド結合を開裂する。3)水素結合開裂剤たとえば尿素、グアニジン塩、アセトアミドを用いる。4)超音波処理などがある²¹⁾。本研究ではカルシウムなどの陽イオンのキレート剤であるEDTAと蛋白変性剤で水素結合を切断する尿素を用いた。EDTAによって可溶化される画分を可溶性画分とし、そのなかでも糖含量の多い画分を可溶性ムチン画分とした。また尿素によって可溶化される画分を不溶性画分とし、そのなかで特に糖含量の多い画分を不溶性ムチン画分とした。この両者の方法を組み合わせるとチオールなどでジスルフィド結合を開裂しなくてもヘキサース量で96.4%とほとんどの糖が可溶化され、ムチンの可溶化には極めて有効な方法であることがわかった。

これまで気道分泌液の糖成分の定量的研究は多数あるが、鼻汁中にはさまざまな構成成分が含まれることを考えると定量した糖の由来を明確にする必要があり、本研究ではゲルろ過で分画した試験管ごとに糖を分析し、さらにその溶出液の分子量を確認するためにSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行った。その結果、可溶性ムチン画分および不溶性ムチン画分は分子量10⁶ダルトン以上の成分、すなわちムチンに富んだ画分であることが示された。

鼻汁ムチンのO-グリコシド結合糖鎖に含まれているとされる糖はフコース、ガラクトース、N-アセチルガラクトサミン、N-アセチルグルコサミン、シアル酸²⁰⁾である。Clark ら²²⁾はラットの気管の移植片からのムチンをセファロース CL-6B およびセファロース CL-4B でゲルろ過しその溶出パターンで画分を3つに分けて分析している。その中の初めのピークは本研究の可溶性ムチン画分に相当すると思われるが、そこでの糖のモル比をシアル酸を1として求めるとフコース0.33、マンノース0.33、ガラクトース3.31、N-アセチルガラクトサミン2.13、N-アセチルグルコサミン2.90となる。ヒト気道では下気道ムチンについての報告が中心であるが²³⁾、鼻科領域では、培養した甲介粘膜からのムチンを分析した研究があり、糖のモル比はフコース0.79、ガラクトース2.29、ヘキサース2.63、シアル酸1と報告されている¹⁵⁾。本研究でのモル比は

可溶性ムチン画分でフコース2.31, マンノース0.13, ガラクトース4.36, N-アセチルガラクトサミン0.99, N-アセチルグルコサミン1.81, シアル酸1であり, また一方, 不溶性ムチン画分ではフコース1.93, マンノース0.33, ガラクトース5.68, N-アセチルガラクトサミン2.63, N-アセチルグルコサミン5.44, シアル酸1であった。報告者間の相違は鼻汁の採取方法, ムチンの精製法, 炎症の有無などに起因すると考えられる。可溶性ムチン画分と不溶性ムチン画分の相違は可溶性の違いから水素結合の架橋度によるものと考えられるが, それらを構成する糖組成の上からは不溶性ムチン画分にはN-アセチルガラクトサミンとN-アセチルグルコサミンなどのアミノ糖が多い。したがって, アミノ基がムチン分子の物理学的性質に関与している可能性が考えられる。

ま と め

慢性副鼻腔炎患者の鼻汁にEDTAを含む緩衝液を加え超音波処理で可溶化した。鼻汁中にはこの操作によっても全く可溶化されない成分が含まれるが, この成分は尿素による処理でほぼ完全に可溶化された。これは添加尿素による水素結合開裂によるものと考えられる。それぞれを可溶性ムチン画分, 不溶性ムチン画分としたが, 両者とも酸性の性質を示し中性ムチンはほとんど含まれていなかった。両ムチン画分の糖成分を分析し, 構成糖のモル比を比較すると, アミノ糖含量が不溶性ムチン画分に高くなった。したがって, 可溶化の際の性質の相違はアミノ糖含量すなわちアミノ糖を介した分子内あるいは分子間の架橋度の相違によることが予想された。

参 考 文 献

- Forstner JF: Intestinal mucins in health and disease. *Digestion* 17: 234-263, 1978.
- Oemrawsingh I, Roukema PA: Immunological characterization and detection of human submandibular mucins in saliva dental plaque and submandibular glands. *Arch Oral Biol* 21: 755-759, 1976.
- Jabbal I, Kells DIC, Forstner G et al: Human intestinal goblet cell mucin. *Can J Biochem* 54: 707-716, 1976.
- Filipe MI, Branfoot AC: Abnormal patterns of mucus secretion in apparently normal mucosa of large intestine with carcinoma. *Cancer* 34: 282-290, 1974.
- Gold DV, Miller F: Comparison of human colonic mucoprotein antigen from normal and neoplastic mucosa. *Cancer Research* 38: 3204-3211, 1978.
- Kurosaka A, Nakajima H, Funakoshi I et al: Structures of the major oligosaccharides from a human rectal adenocarcinoma glycoprotein. *J Biol Chem* 258: 11594-11598, 1983.
- Nakajima H, Kurosaka A, Fujisawa A et al: Isolation and characterization of a glycoprotein from a human rectal adenocarcinoma. *J Biochem* 93: 651-659, 1983.
- Gerken TA, Dearborn DG: Carbon-13 NMR studies of native and modified ovine submaxillary mucin. *Biochemistry* 23: 1485-1497, 1984.
- Lamblin G, Boersma A, Lhermitte M, et al: Further characterization, by a combined high-performance liquid chromatography/¹H-NMR approach, of the heterogeneity displayed by the neutral carbohydrate chains of human bronchial mucins. *Eur J Biochem* 143: 227-236, 1984.
- Clamp J: Mucus in health and disease. in Parke DV, Elstein M (ed): *Mucus in health and disease*. Plenum Press, New York, 1977, pp. 1-15.
- Fleming N, Brent M, Arellano R et al: Purification and immunofluorescent localization of rat submandibular mucin. *Biochem J* 205: 225-233, 1982.
- 杉田公一, 洲崎春海 他: ヒト鼻汁および精製ムチンに対する抗血清の作製と免疫組織化学への応用に関する研究. *日耳鼻* 88: 1032-1039, 1985.
- 大山 勝: 上気道粘膜の病態生化学. 鹿児島大学耳鼻咽喉科学教室, 1984.
- 坂倉康夫: ヒト鼻腔粘液線毛機能, 態沢忠躬, 野村恭也編: *鼻科学臨床所見の定量化*. 金原出版, 東京, 1985, 78-124頁.
- Patow CA, Shelhamer J, Marom Z, et al: Analysis of human nasal mucous glycoproteins. *Am J Otolaryngol* 5: 334-343, 1984.
- Boat TF, Kleinerman JJ, Carlson DM et al: Human respiratory tract secretions. *Am Review Respiratory Disease* 110: 428-441, 1974.
- Lucas AM and Douglas LC: Principles underlying ciliary activity in the respiratory tract. *Arch Otolaryngol* 20: 518-541, 1934.
- Munich HE: Present possibilities for diagnosis in human nasal secretions. *Rhinology* 21: 223-228, 1983.
- Sakakura Y, Majima Y, Yoshii S et al: Nasal

- secretion from normal subjects. *Auris Nasus Larynx* 6: 71-78, 1979.
- 20) Boat TF and Cheng PW: Biochemistry of airway mucus secretions. *Federation proc* 39: 3067-3974, 1980.
- 21) Widdicombe JG and Weiis UM: Chapt. 9 Airway secretion in Proctor DF and Andersen IB (ed): *The Nose. elsevier biomedical, Amsterdam, 1982*, pp. 215-244.
- 22) Clark JN and Marchok AC: Characterization of mucin isolated from rat tracheal transplants. *Biochim et Biophysica Acta* 588: 357-367, 1979.
- 23) Woodward H, Horsey B, Bhavanbandan VP et al: Isolation, purification, and properties of respiratory mucus glycoproteins. *Biochemistry* 21: 694-701,

1982.

稿を終わるに臨み、御指導、御校閲を賜った恩師野村恭也教授に深甚なる感謝の意を捧げる。また、終始暖かい御指導を戴いた洲崎春海博士に深く感謝する。本研究は主として本学第二生化学教室で行われたものであるが、研究の場を提供され、直接の御指導を戴いた永井克孝教授、岩森正男博士に衷心より感謝する。

本論文の要旨は第86回日本耳鼻咽喉科学会総会において報告した。

(原稿受付 昭和60.10.11日)

別刷請求先 〒113 東京都文京区本郷7-3-1

東京大学医学部耳鼻咽喉科学教室 杉田公一