薬 物

慢性副鼻腔炎鼻汁の研究

Ⅱ . セアプロゼ S の影響

坂倉 康夫・間島 雄一・大井 益一
松原 隆志・三吉 康郎

Effect of Seaprose-S on Nasal Secretions from Patients with Chronic Sinusitis

Yasuo Sakakura, Yuichi Majima, Masuichi Ohi
Takashi Matsubara and Yasuro Miyoshi
(Mie University)

The purpose of this study was to evaluate the effect of Seaprose-S(SAP), a representative proteolytic enzyme, on the nasal secretion from patients with chronic sinusitis. Retained nasal secretion in the nasal cavity was carefully aspirated from 17 patients who were selected on the basis of rhinoscopy and radiology. The nasal secretions obtained were diluted 8-fold with distilled water. Relative viscosity was measured by a method of the falling rate of a metal ball. Dry weight, amounts of total protein, albumin and DNA were determined before and every week during the period of drug administration. SAP was given in a dose of 45 mg/day orally for more than four weeks.

At week 0, the mean relative viscosity, dry weight, amounts of total protein, albumin and DNA were 2.83 ± 2.06 , $59.40 \text{ mg/g} \pm 48.18$, $38.83 \text{ mg/g} \pm 14.49$, $2.20 \text{ mg/ml} \pm 1.46$ and $31.15 \text{ mcg/g} \pm 18.80$, respectively. Significant correlations were noted between relative viscosity versus dry weight, and relative viscosity versus amount of total protein. At week four, the variables were 2.22 ± 1.94 , $52.40 \text{ mg/g} \pm 40.91$, $40.53 \text{ mg/g} \pm 10.18$, $2.82 \text{ mg/ml} \pm 0.91$ and $32.24 \text{ mcg/g} \pm 19.78$. At week five, they were 2.18 ± 1.35 , $59.24 \text{ mg/g} \pm 48.37$, $34.56 \text{ mg/g} \pm 12.74$, $3.04 \text{ mg/ml} \pm 2.10$ and $43.64 \text{ mcg/g} \pm 40.85$, respectively.

The large variability among the patients precluded the quantitative changes in these variables by the SAP therapy. However, relative viscosity significantly decreased at weeks four and five. There were no significant differences for dry weight, and amounts of total protein, albumin and DNA between week 0 and weeks four and five.

慢性副鼻腔炎患者の鼻腔粘液纖毛輸送速度は正常者に比較して遅く¹⁾²⁾。この原因の1つとして慢性副鼻腔炎鼻汁は正常者のそれに比して高い比粘度を示す³⁾ことはすでに報告してきた。この高粘度副鼻腔炎鼻汁の質と量の正常化は本疾患の治療に重要な役割を果すものと考えられる⁴⁾⁵⁾。慢性副鼻腔炎の酵素製剤による治療の目標はこれら障害された粘液纖毛機能を正常化し、本機能による粘膜の自浄作用を回復させることにあるといえよう。しかしながら現在多種多様の薬理作用上副鼻腔炎治療に使用可能な酵素製剤について、何らの選択基準もないのが現状である。

われわれは正常鼻汁⁶⁾をはじめとして慢性副鼻腔炎鼻汁の比粘度と化学成分を定量し³⁾⁷⁾、これらを酵素製剤療法効果判定基準として用いてきた。本研究は微アルカリ性蛋白分解酵素製剤であるセアプローゼS内服が慢性副鼻腔炎患者の鼻汁の比粘度、乾燥重量と蛋白質、DNA、albumin 量にいかなる変化をもたらすかを検討したものである。

研究 方 法

1. 研究対象

三重大学医学部耳鼻咽喉科学教室臨床とその関連病院耳鼻咽喉科で臨床症状と鼻鏡検査、レ線検査所見から慢性副鼻腔炎と診断された30才から70才の17症例を本研究の対象とした。これらの症例の病変は高度でつねに固有鼻腔に鼻汁の貯留がみられた。

2. 鼻汁採取方法

固有鼻腔に貯留している鼻汁を秤量ずみの試験管内に採取管より陰圧吸引し、採取した³⁾。採取条件を可及的に一定にするため、1週間ごとの受診日には朝から擤鼻を禁じ、午前中に採取した。

3. 薬剤投与方法

ゼオエース®錠は1錠中にセアプローゼS(SAP) 15mgを含有するもので、1回1錠ずつ1日3回毎食後に服用させた。

4. 採取鼻汁の処理と保存

採取した鼻汁は試験管とともに秤量し、採取鼻汁重量をもとめた。採取した鼻汁はすべて(重量/重量)比で脱イオン蒸留水で8倍に希釈し、用手振盪によって均一化し、直ちに比粘度測定に供した。図1に本研究に使用した転球式粘度計⁸⁾のブロックダイアグラムをしめした。本器は検体を満したガラス管内の3cmをステンレス球(直径0.18cm, 0.017g)が通過す

図1 転球式粘度計のブロックダイアグラム。

るのに要する時間を測定し、その結果を比粘度が1と考えられる蒸留水での計測値に比較して比粘度をもとめるものである。

比粘度測定後はつぎの凍結乾燥まで -20°C に保存した。

4. 成分定量

試料は凍結乾燥 (Spacesaver, Labconco) 後秤量し、採取鼻汁の乾燥重量とした。これより Lowry 法⁹⁾によって総蛋白量をもとめた。DNA量は Indole 法¹⁰⁾によって定量したが、DNAの標準液は deoxyribonucleic acid (ex salmon sperm, Calbiochem) の生食希釈液を用いた。本法によるDNAの最低定量閾値は5.0mg/mlである。

Albuminは radial immuno diffusion (RID) 法¹¹⁾によって定量した。抗ヒト血清 albumin ウサギ血清 (Miles Lab) を1.2%の agarose (Beringerwerke) を含む veronal buffer, pH 8.6 で1:25に希釈して寒天平板を作製した。Albuminの最低定量閾値は0.1mg/dlである。定量した各成分は albumin 以外は採取鼻汁1gにたいしての含有量でしめた。

図2に採取した鼻汁の処理と成分定量法をま

とめた。

5. SAPの in vitro での混合鼻汁の比粘度におよぼす影響

6例の慢性副鼻腔炎患者より別途に採取した鼻汁を pool して混合鼻汁とし、これを9等分した。これらにたいして0.1M Tris amino-methane 0.15M NaCl buffer (pH 7.5), 0.1% sodium-EDTA, 0.1M Tris aminomethane 0.15M NaCl buffer 中0.2% SAPをそれぞれ鼻汁の重量にたいし6, 8, 12倍釈釈となるよう加え30分間室温に放置後比粘度を測定した。

図2 採取した鼻汁の処理と成分定量法。

研究結果

1. 薬剤投与前の鼻汁

SAP投与前の、蒸留水によって8倍に希釈した鼻汁の比粘度は1.16~9.71で、平均 2.83 ± 2.06 であった。乾燥重量は2.7~159.0mg/gで、平均 $59.40\text{mg/g} \pm 48.18$ であった。

乾燥重量は比粘度と有意に相関した ($r = 0.628$, $P < 0.01$, 図3)。蛋白質は $20.80 \sim 71.10\text{mg/g}$ で、平均 $38.83\text{mg/g} \pm 14.5$ であった。蛋白質量は比粘度と有意に相関した ($r = 0.628$, $P < 0.01$, 図4)。しかしながら蛋白質量と乾燥重量との間の相関は有意ではなかった ($r = 0.468$, $0.05 < P < 0.1$, 図5)。

鼻汁中のDNA量は $8.35 \sim 77.30\text{mcg/g}$ で、平均 $31.15\text{mcg/g} \pm 18.8$ であり、比粘度との間の相関はみとめられなかった ($r = 0.2609$)。

鼻汁中の albumin 量は $0.47 \sim 5.49\text{mg/ml}$ で、平均 $2.21\text{mg/ml} \pm 1.46$ であり、比粘度との間の相関は有意ではなかった ($r = 0.5397$, $0.05 < P < 0.1$)。

鼻汁中のDNA量は乾燥重量や蛋白質量と有意に相関せず、albumin 量は乾燥重量、蛋白質量、DNA量と有意に相関しなかった。

2. SAP投与の鼻汁にたいする影響

図6はSAP投与後の鼻汁比粘度の変化をしめた。経口投与開始4週以降に投与前に比較して比粘度の低下傾向があるが、0週に比較してその差は有意ではなかった。追跡しえた症例数が各週で大きく異なるため、薬剤投与後4週の12例、および5週の8例について0週と第4週、第5週の比粘度を paired t-test で検討し

図3 乾燥重量と比粘度との相関: $r=0.628$, $p<0.01$

図4 蛋白質量と比粘度との相関: $r=0.628$, $p<0.01$

図5 蛋白質量と乾燥重量との相関： $r=0.468$, $0.05 < p < 0.1$.

た. 図7に示すように, 第4週では12例中9例が比粘度低下をしめし, その平均値は0週で 3.06 ± 2.41 . 第4週で 2.22 ± 1.94 で, その差は有意であった ($P < 0.025$). 第5週では8例中7例が低下をしめし, その平均値は0週 3.64 ± 2.08 , 第5週で 2.18 ± 1.35 でSAP投与によって, 比粘度の有意の低下があった ($P < 0.05$).

SAP投与期間中の乾燥重量, 蛋白質量, DNA量, albumin 量の変化をそれぞれ図8, 9, 10, 11に示した. これらの各週の平均値を0週の平均値と比較するとその差は有意でなかった. またこれらの第4週, 第5週を用いて0週と paired t-test を行ったが, 有意差をみ

とめなかった. 図12, 13に第4週と第5週における乾燥重量と蛋白質量の変動を示した.

3. SAPの in vitro での鼻汁比粘度にたいする影響

図14にSAPの混合鼻汁にたいする比粘度低下作用をしめした. SAPは Tris buffer, EDTAに比較して各希釈で高度の混合鼻汁の比粘度低下作用をしめした.

4. 副作用

本剤投与中, 副作用もしくはそれに類した症状, 所見をしめした症例はみとめられなかった.

図6 SAP投与による比粘度の変化：()；検体数.

図7 SAP投与第4週と第5週目の比粘度：
*； $p < 0.025$ ，**； $p < 0.05$.

図8 SAP投与による乾燥重量の変化：()；検体数.

図9 SAP投与による蛋白質量の変化：()；検体数.

図10 SAP投与によるDNA量の変化：（ ）；検体数。

図11 SAP投与による albumin 量の変化：（ ）；検体数。

図12 SAP投与第4週と第5週目の乾燥重量。

図13 SAP投与第4週と第5週目の蛋白質量.

図14 SAPの混合鼻汁にたいする比粘度低下作用.

考

SAPは *Aspergillus melleus* の一菌株の培養物から抽出、精製された微アルカリ性蛋白分解酵素製剤である。本剤の薬理作用として抗浮腫作用や抗炎症作用があるが、さらに粘稠な喀痰を漿液化することにより喀痰の咯出を容易にする作用があると報告されている¹²⁾。伊藤ら¹³⁾はSAPが inactive placebo 群に比較して有意の差をもって粘液性痰の粘稠度を低下させたことを報告している。本研究でもSAPは in vitro で Tris buffer やEDTAに比較して極めて高度の鼻汁の比粘度低下作用をしめした。0.2% SAP で希釈した鼻汁の比粘度は蒸留水の比粘度 1.0にほとんど等しかった。6, 8, 12倍希釈で鼻汁の比粘度低下作用が変化しなかったことは、6倍の希釈ですでに最大の比粘度低下効果をしめしたためと考えられる。

気道の粘液纖毛機能による排除が正常に作動するためには纖毛打、粘液の量、粘液の質とくにその粘弾性の3者が正常でなければならない。この3者の相互作用の結果である粘液纖毛輸送速度 (mucociliary transport rate-MTR) は慢性副鼻腔炎患者の鼻腔粘膜で低下している¹⁴⁾。このMTRの低下は粘液纖毛機能を規定する因子の中でも粘液の量と質の変化に基づくものであるとすることは一般的な概念となっている^{14)~22)}。

酵素製剤による慢性副鼻腔炎治療の目的は本症の抗炎症作用に期待すると同時に鼻汁の粘稠度を低下させて粘液纖毛機能を正常化することにある⁴⁾⁵⁾。一般に消炎酵素として用いられている蛋白分解酵素製剤には基質特異性と抗炎症作用との間にはとくに一定の関係はないとされている²³⁾。鼻汁の粘稠度はその単一の化学構成々分によって規定されているものではないことは当然であるが、もし粘稠度に深い関係を有する化学構成々分があり、さらにそれに特別影響をおよぼす蛋白分解酵素製剤があるとすれば、それぞれ基質特異性を有す多種多様の酵素製剤

按

の選択基準を作りうる可能性が生ずる。

慢性副鼻腔炎鼻汁の比粘度と鼻汁中の乾物量、蛋白質量、多糖類量とは前回の報告³⁾では有意に相関しなかったが、今回の研究では比粘度と乾燥重量および蛋白質量に有意の相関がみられた。このことは個々の鼻汁の heterogeneity が大であり、鼻汁研究の困難性をしめすものといえよう。本研究でDNAと albumin 濃度は比粘度と相関しなかった。DNAは鼻汁の濃性度の指標として²⁴⁾²⁵⁾、albumin は血漿成分の鼻汁への移行の指標²⁶⁾²⁷⁾として使用した。

SAPはすでに慢性副鼻腔炎の治療²⁸⁾²⁹⁾³⁰⁾や、種々の気道疾患³¹⁾³²⁾³³⁾に用いられているが、本研究でSAPは慢性副鼻腔炎鼻汁比粘度低下作用をしめした。すなわち、本剤投与4週で比粘度は投与前の78%となり、第5週で77%となった。これらはいずれも投与前に比較して paired t-test で有意差をみとめた。この変化の要因を知るため他のパラメーターを検討したが、SAP投与前比粘度と有意に相関した乾燥重量は、SAP投与で有意の変動をみとめなかった。同様にSAP投与前比粘度と有意に相関した蛋白質量もSAP投与前後で有意の変化をしめさなかった。DNA量、albumin 量もSAP投与前後で有意の変化はなかった。

以上のごとくSAPの比粘度低下作用は今回測定した鼻汁の化学構成々分の変動からは説明することはできなかった。しかしこの比粘度低下の機序を推論すると、可能性として本剤の有する消炎作用によって分泌液の質の変化が生じた、あるいは蛋白分解作用で軸となる蛋白が分解され、高分子がその構造を変化させたなどがあげられる。いずれにせよ鼻汁の構成々分の量的変化より質的变化によって比粘度が低下したものと考えられる。

慢性副鼻腔炎患者にTSPを投与した場合、鼻汁中の個々の構成々分に変化はなかったが、

乾燥重量が有意に低下した⁷⁾。乾燥重量や比粘度は種々の化学構成々分の統合したものであるので、TSPとSAPは類似の効果をしめしたといえよう。

検討しえた化学構成々分があまりにも少ないので、これらから臨床応用可能な結論を導くに

は極めて慎重でなければならないが、酵素製剤の選択基準の設定という本研究の目的のため、あえて結論を急ぐと、粘稠な鼻汁にたいしてはSAP、濃厚な鼻汁にたいしてはTSPといったものが想定されよう。

結 語

1. 慢性副鼻腔炎患者17名にセアプロゼSを1日45mg内服させ、鼻汁の比粘度、乾燥重量、蛋白質とDNAと albumin の量を1週間ごとに測定した。
2. 投与第4週と第5週で比粘度は投与前に比較して有意に低下した。
3. 乾燥重量、蛋白質とDNAと albumin の量には有意の変動をみとめなかった。

本稿の要旨は第19回日本鼻副鼻腔学会総会(1980年)において口演した。

本研究における薬剤は、三和化学研究所製のゼオエース錠15mgを使用した。本研究は三和化学、天野製薬、杏林製薬、小野薬品工業の共同研究によるもので、各社の御援助を得た。

文 献

- 1) 坂倉康夫, 他: 慢性副鼻腔炎患者の鼻粘膜粘液毛機能と塩酸エプラジノンの効果. 耳展 21(補1): 13~20, 1978.
- 2) 坂倉康夫, 他: ヒト鼻腔の粘液纖毛機能. 日耳鼻 83: 1592~1598, 1980.
- 3) 坂倉康夫, 他: 慢性副鼻腔炎鼻汁の研究. 耳鼻臨床 73: 1729~1736, 1980.
- 4) 坂倉康夫, 他: 粘液線毛機能よりみた慢性副鼻腔炎の保存的療法. 耳展 20(補1): 19~24, 1977.
- 5) 水越治, 他: 慢性副鼻腔炎に対する Sfericase の臨床効果— Sfericase の適正用量について— 耳鼻臨床 70: 249~267, 1977.
- 6) Sakakura Y, et al: Nasal secretion from normal subjects. Auris Nasus Larynx 6: 71~78, 1979.
- 7) 坂倉康夫, 他: 慢性副鼻腔炎鼻汁の研究. Ⅲ. セラチオペプダーゼの影響. 耳鼻臨床 投稿予定.
- 8) 大山勝: 鼻漏の生成機序と物理化学的性状. 日鼻副会誌 14: 16~17, 1975.
- 9) Lowry OH, et al: Protein measurement with folin phenol reagent. J Biol Chem 193: 265~275, 1951.
- 10) Ceriotti G: A microchemical determination of desoxyribonucleic acid. J Biol Chem. 198: 297~303, 1952.
- 11) Mancini G, et al: Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. Immunochemistry 2: 235~246, 1965.
- 12) 長岡滋: Seaprose-S の去痰作用に対する比較臨床試験報告. 臨床評価 7: 205~232, 1979.
- 13) 伊藤文雄, 他: 蛋白分解酵素製剤セアプロゼSの喀痰漿液化作用の臨床的検討—二重盲検試験による比較—日本臨床 31: 2339~2344, 1973.
- 14) Magid SL, et al: Nasal mucosa in pancreatic cystic fibrosis. Arch Otolaryngol 86: 212~216, 1967.
- 15) Litt M: Mucus rheology. Relevance to mucociliary clearance. Arch Intern Med 126: 417~423, 1970.
- 16) Dalhamn T: Ciliary motility studies. Arch Intern Med 126: 424~427, 1970.
- 17) Stahl GH, Ellis DB: The use of organ cultures in studies of respiratory tract mucin synthesis and secretion. Life Sci 2: 71~75, 1972.
- 18) Adler KB, et al: Mammalian respiratory

- mucociliary clearance. Arch Environ Health 27:364~369, 1973.
- 19) 坂倉康夫: 気道の粘液線毛機能. 日耳鼻 77:302~316, 1974.
- 20) Cheung ATW, Jahn TL: Determination of the movement pattern of the epithelial cilia of rabbit trachea and the clearance mechanism of the tracheal muco-ciliary clearance system. In "Swimming and Flaying in Nature" vol 1. Eds TY-T Wu, CJ Brokaw, C Brennen, pp 289~299, Plenum Press, New York, 1975.
- 21) Adler K, Dulfano MJ: The rheological feature in mucociliary clearance. J Lab Clin Med 88:22~28, 1976.
- 22) 山川育夫. 粘液線毛輸送系における気道液の意義に関する研究. 日胸疾会誌 15:829~839, 1977.
- 23) 伊藤文雄, 大河内寿一: 消炎酵素剤. 臨床成人病 8:311~315, 1978.
- 24) 龍華一男, 他: 喀痰中の α_1 -antitrypsin と DNA —とくにその濃性度との関係. 医学のあゆみ 83:145~146, 1972.
- 25) 佐竹辰夫, 他: 咳と痰の病態生理と臨床. 日本胸部臨床 31:896~909, 1972.
- 26) Ohi M: Immunochemical study of maxillary sinus secretion from patients with chronic sinusitis; a longitudinal study. Mie J 29:173~188, 1980.
- 27) 坂倉康夫, 他: 慢性副鼻腔炎の免疫学的研究. 耳鼻臨床 74:1146~1158, 1981.
- 28) 永井汎, 他: 副鼻腔炎に対するゼオエース錠の使用経験. 新薬と臨床 18:1287~1290, 1969.
- 29) 中村文昭, 他: 新消炎酵素剤 Jeoase の耳鼻咽喉科領域における臨床使用経験について. 診療と新薬 7:183~192, 1970.
- 30) 宮竹昭, 他: 耳鼻咽喉科領域における Jeoase の使用経験. 診療と新薬 7:193~196, 1970.
- 31) 宮崎正夫: 麻酔科領域における各種消炎酵素剤の使用. 日臨外 31:187~192, 1970.
- 32) 右京成夫, 渡辺幹夫: 消炎酵素剤 Jeoase カプセルによる上気道感染症の臨床観察. 臨床と研究 54:258~263, 1977.
- 33) 伊藤文雄, 他: 急性および慢性気道疾患に対するゼオエース Cap. の治験成績. 薬理と治療 5:1825~1834, 1977.
- (原稿到着: 昭和56年4月27日
別刷請求先: 坂倉康夫
〒514 津市江戸橋2-174
三重大学医学部耳鼻咽喉科学教室)