SO₂ 曝露によるニワトリ鼻腔粘液纖毛機能低下の機構 についての研究

間島 雄一*, David L. Swift**, Betsy G. Bang***, Frederik B. Bang***

Mechanism of Slowing of Nasal Mucociliary Transport Induced by SO₂ in Chicken

Yuichi Majima

(Mie University)

David L. Swift

(Johns Hopkins University)

Betsy G. Bang

(Johns Hopkins University)

Frederik B. Bang

(Johns Hopkins University)

Slowing of mucociliary transport following exposure to SO₂ is a well established phenomenon in a variety of animal models and in humans. In chickens, exposure to 6 ppm SO₂ decreased the mucociliary transport rate (MTR). Intramuscular pilocarpine injection recovered the slowing of MTR induced by SO₂ but did not change the MTR in control animals. This suggests the slowing of MTR induced by SO₂ is not due to either destruction of cilia nor disturbance of ciliary movement *per se*, but to alternations of properties or conditions of the mucus layer. The minimum force required to move an iron particle on the mucus by magnetic field *in vivo* (Fv_{iv}) increased significantly after exposure of the chickens to SO₂, while the minimum force *in vitro* (Fv_{it}) showed no change after the exposure. The *in vivo* recoil distance decreased significantly after SO₂ exposure in comparison with control values. There was no significant difference in the *in vitro* recoil distance of the mucus between the SO₂-exposed and control groups. The pattern of both Fv_{iv} and *in vivo* recoil distance are similar to that of the MTR during the 7 days of SO₂ exposure. These results suggest the existence of *in vivo* factors, such as the tethering phenomenon or decreased thickness of sol layer, in the mucous layer during SO₂ exposure, which may decrease the MTR.

気道の粘液纖毛機能は上気道の感染防御機構に重要な役割を果たしていると考えられる。大気中

*三重大学医学部耳鼻咽喉科学教室 (主任: 三吉康郎教授)

**Department of Environmental Health Sciences The Johns Hopkins University School of Hygiene and Public Health.

***Department of Pathobiology The Johns Hopkins University School of Hygiene and Public Health.

の異物が生体内に侵入するためには纖毛機能によって流動している粘液層(mucous blanket)をつらぬいて上皮細胞に付着せねばならない。しかし、本機能による活発な鼻腔の自浄作用があれば如何に纖毛上皮に親和性を持つウイルス、細菌粒子でも容易に咽頭に輸送され、嚥下、排泄されてしまう。

粘液纖毛機能を知る重要な指標の一つとして粘液纖毛輸送速度(mucociliary transport rate 以下 MTR)があげられる。粘液纖毛輸送速度は上気道の病的状態¹⁾²⁾³⁾, 有害ガス⁴⁾⁵⁾, 脱水⁶⁾, 自律神経作用薬剤⁷⁾の投与等により変化するが、その制御機構については未だ明らかでないといつてよい。

本研究の目的は SO_2 ガス曝露が粘液纖毛輸送速度を低下させる⁴⁾⁵⁾ ことを利用して、このモデルに於ける粘液纖毛輸送速度制御の機序を検討しようとするところにある。

実 験 方 法

1. 実験動物

一定供給源より購入した1日令のホワイトレグホン種のニワトリを使用した。以下の *in vivo* 実験は全て無麻酔の状態で行なった。

2. SO_2 曝露

SO_2 曝露は Wakabayashi らの方法に順じた⁸⁾。曝露チエンバー内の SO_2 濃度は modified West-Gaeke 法⁹⁾により測定した。

3. ニワトリ鼻甲介の粘液纖毛輸送速度(mucociliary transport rate over the nasal turbinate 以下 MTR-T と略す)の測定

測定方法は Wakabayashi らの方法⁸⁾に順じてまず粘液纖毛輸送時間を測定した。概略は参考文献10を参照されたい。20日令のニワトリ鼻入口部より上咽頭までの平均距離は14mmであったため、14mmを粘液纖毛輸送時間で除したものを MTR-T と定めた。なお7分が最長粘液纖毛輸送時間としたため7分以上の輸送時間を有するものは7分として統計処理した。

4. ニワトリの鼻中隔底部に於ける粘液纖毛輸送速度(mucociliary transport rate along the base of nasal septum 以下 MTR-S と略す)の測定

ニワトリは口蓋裂を有する為、開口させると鼻中隔底部は口蓋裂を通して口腔側より観察可能となる。直径0.4mmの鉄片を口腔側より鼻中隔底部に置き同部位の粘液纖毛機能により輸送される鉄片の動きを実体顕微鏡下に観察した。鉄片の移動距離は顕微鏡に装着した liner eyepiece で計測し、同時に測定した移動時間

より MTR-S を算出した。

5. Minimum force の測定

In vivo 測定

図1に示す如くプラスチックホルダーにニワトリの胴を固定し、首をホルダー前方の穴より突出させ、その頭部は開口器を用いて開口固定した。ニワトリの嘴を solenoid DC magnet

図1 実験装置: A; Body jacket, B; Mouth opener, C; Head of chicken, D; DC magnet, E; Poles of DC magnet, F; DC power supply, G; Palatine cleft, H; Base of nasal septum, I; Iron particle put on the septal mucosa, J; Nasopharynx, K; Tongue.

の2つの極の間におき、ニワトリ口蓋裂を通じて観察可能な鼻中隔底部に置いた直径 0.2mm の鉄片の動きを実体顕微鏡で観察した。正常状態では鼻中隔底部の粘膜上皮の上に置かれた鉄片は粘液纖毛機能により鼻中隔前部より上咽頭に向かって運ばれる。この粘液纖毛輸送に逆って鉄片を一定の位置に停止させるまでマグネットの磁力を増加させこの磁力を F_A とした。鉄片における磁力は既知粘度のニュートン流体を用いて計測した。次に磁力をさらに増加し、鉄片が粘液纖毛輸送と逆方向に動き始めるのに要する磁力を測定した (F_B)。粘液纖毛輸送能を消去して in vivo の粘膜上皮上で鉄片が磁力により動き始める力を minimum force in vivo (以下 F_{viv}) と定め、これは F_B より F_A を減ずることにより得られるとした。なお F_{viv} は 1日3回7日間、対照群と SO₂ 群、各6匹のニワトリに於いて計測した。

In vitro 測定

個々のニワトリの F_{viv} 測定直後に鼻中隔底部周辺の粘液を吸引採取し (約 10 μ l 採取可能)、これを buffered glycerin ($\eta=39$ cp) でコーティングしたスライドグラス上に乗せ、この粘液の中央に in vivo 測定で用いたのと同じ鉄片を乗せた。このスライドグラスを既述した DC magnet の2つの極の間に置き、採取した粘液の上の鉄片が磁力により動き始める力を測定し、この力を minimum force in vitro (以下 F_{vit}) とした。 F_{vit} の測定は各ニワトリで粘液採取後2分以内に行ない、1日3回7日

間、対照群と SO₂ 群、各6匹につき施行した。

6. Recoil distance の測定

In vivo 測定

ニワトリ頭部は minimum force の測定と同様に固定し、直径 0.4mm の鉄片を鼻中隔底部の粘膜上皮の上に置いた。まず鉄片が粘液纖毛機能により輸送されるのを止める磁力 F_A を測定し、さらに $F_A+0.58$ dyne の磁力を一気に約2秒間鉄片に加えた。この操作により鉄片は magnet に向って、すばやく移動するため、この移動距離を記録し、約2秒後、磁力を F_A に減じると鉄片は magnet とは逆方向に後退移動した。この後退移動した距離を recoil distance in vivo と定めた。計測は1日4回、7日間、対照群と SO₂ 群各6匹について施行した。

In vitro 測定

F_{vit} の測定と同様に採取した粘液をスライドグラスに乗せ、この上に直径 0.2mm の鉄片を置いた。このスライドグラスを DC magnet の2つの極の間に置き 0.58 dyne の磁力を2秒間加え、鉄片の移動距離を計測し、次いで磁力を 0.58 dyne より 0 dyne に減じた。0.58 dyne の磁力で magnet の方向に移動した鉄片は磁力 0 で magnet とは逆向きに瞬時に後退移動した。この後退移動距離を recoil distance in vitro と定めた。計測は1日3回、7日間、対照群と SO₂ 群各6匹について施行した。

以上の全ての実験は、23°C、湿度45~55%で行なった。統計学的有意差の検討は student-t-test 又は paired-t-test によった。

実験結果

1. SO₂ 曝露の粘液纖毛輸送速度に及ぼす影響

12匹の15日令ニワトリに1日20時間で8日間、5.7 ppm SO₂ を曝露し MTR-T を測定した。MTR-T は SO₂ 曝露直後より曝露前の値に比べ有意に低下し、この有意の低下は8日間の曝露期間中観察された (図2)。

対照群6匹 (実験開始19日令) のニワトリの

MTR-S を1日3回、8日間測定した。139回の測定で MTR-S は 0~7 mm/min であり、このうち粘液纖毛輸送を認められないもの (0 mm/min) は7回の測定に認められた (全体の5%)。MTR-S の対照群平均値は 2.8 ± 1.6 mm/min であった。6匹 (実験開始23日令) のニワトリを 6.7 ppm SO₂ に1日16時間、7日間曝露し、1日3回、計125回の MTR-S の

図2 SO_2 曝露のニワトリ鼻甲介粘液纖毛輸送速度 (MTR-T) に及ぼす影響: +; $p < 0.005$ ($n=12$), 曝露条件: 5.7 ± 0.6 ppm, 20時間/日.

図3 SO_2 曝露のニワトリ鼻中隔底部粘液纖毛輸送速度 (MTR-S) に及ぼす影響: ●; SO_2 曝露群 ($n=6$), ○; 対照群 ($n=6$), *, $p < 0.05$, **, $p < 0.005$, 曝露条件: 6.2 ± 0.7 ppm, 16時間/日.

測定を行なった。図3に示す如く MTR-S は曝露2, 3, 6, 7日目に対照群に比し有意の低下を示した。粘液纖毛輸送が認められないものは55回の測定にみられ, これは SO_2 群全測定回数の44%に相当した。この0mm/minの頻度は対照群に比して SO_2 群が有意に高度で

図4 鼻中隔底部で MTR-S が認められなかった測定回数率: ●; SO_2 曝露群 ($n=6$), ○; 対照群 ($n=6$)

各曝露日数に於いて MTR-S が認められなかった測定回数
 $\% = \frac{\text{各曝露日数に於ける MTR-S 測定回数}}{\text{各曝露日数に於ける MTR-S 測定回数}} \times 100$

曝露条件: 6.2 ± 0.7 ppm, 16時間/日.

あった ($p < 0.005$). 粘液纖毛輸送が認められない測定回数は SO_2 曝露開始により増加し, 曝露3日目に最も頻回にみられ, 曝露5日目に回復傾向を示しその後再び頻回にみとめられるようになった (図4).

2. ピロカルピンの粘液纖毛輸送速度に及ぼす影響

対照群の6匹 (実験開始15日令) のニワトリに隔日に交感神経遮断剤ピロカルピンを筋注射し (24mg/kg), 注射後1, 2, 3, 4, 5時間の MTR-T を測定した。ピロカルピンの効果は注射後10~30分以内に激しく認められ, 鼻, 口腔より激しい粘液の流出が認められたが注射1時間後には鼻腔及び鼻中隔底部の粘液層の状態は肉眼的にはほぼ正常に近い状態であり, MTR-T は注射後1, 2, 3, 4, 5時間にはいずれも注射前の値に比べ有意の変化は認められなかった (図5右).

SO_2 曝露により低下した粘液纖毛輸送速度に対するピロカルピンの効果を知る為 5.7 ppm SO_2 に1日20時間8日間曝露した12匹のニワトリを用いた。8日間の曝露終了直後, 無作意に各6匹ずつのピロカルピン筋注射群と同量生理的

図5 ピロカルピンの MTR-S に及ぼす影響: ▲; SO₂ 曝露群 (ピロカルピン投与群) (n=6), △; SO₂ 曝露群 (生理的食塩水投与群) (n=6), □; 対照群 (ピロカルピン投与) (n=6), *, p<0.025, **, p<0.05, ○; p<0.005, 曝露条件; 5.7±0.6 ppm, 20時間/日。

食塩水筋注群に2分した。ピロカルピン投与2時間後には両群間に MTR-T の有意の変化はなく投与5時間後にはピロカルピン投与群が生食投与群に比し MTR-T の有意の増加 (回復) をみた (p<0.025)。投与7時間後にも両群間にはなお有意が認められた (p<0.05) (図5左)。

3. SO₂ 曝露の minimum force に及ぼす影響

1. Minimum force in vivo (Fviv)

Fviv の対照群の平均値は 0.076±0.018 dyne であり、7日間の測定期間中、各測定日の値に有意の変化は認められなかった。5.6 ppm SO₂ に1日16時間7日間曝露した SO₂ 群では図6に示す如く Fviv は SO₂ 曝露直後より曝露前の値に比して有意に増加し、3日目には最高値 0.200±0.032 dyne を示した (p<0.005)。曝露3日以後 Fviv は減少傾向を示し曝露6日目には曝露3日目に比し有意に減少した。曝露7

図6 SO₂ 曝露の Fviv に及ぼす影響: ●; SO₂ 曝露群 (n=6), ○; 対照群 (n=6), △; 総対照群 (n=42), *, p<0.005, **, p<0.005, 曝露条件; 5.6±0.4 ppm, 16時間/日。

日目には再び増加傾向を示した (図6)。このような増加, 減少, 増加と云う特有なパターン

は SO_2 曝露に於ける MTR-S の変動パターンに極めて類似していた。

2. Minimum force in vitro (Fvit)

Fvit の対照群の平均値は 0.063 ± 0.018 dyne

図 7 SO_2 曝露の Fvit に及ぼす影響: ●; SO_2 曝露群 (n=6), ○; 対照群 (n=6), ▲; 総 SO_2 曝露群 (n=40), △; 総対照群 (n=33), 曝露条件: 5.6 ± 0.4 ppm, 16時間/日。

図 8 Fviv と Fvit との相関: 上図; 対照群 ($r=0.6065$, $p<0.005$, $n=81$), 下図; SO_2 曝露群 ($r=-0.0063$, $p>0.2$, $n=65$).

であり SO_2 群のそれは 0.059 ± 0.017 dyne で、各群ともに測定期間中、各測定日に有意の変化は認められなかった。 SO_2 群は Fviv が有意の変化を示したにもかかわらず Fvit は有意の変化を示さなかった (図 7)。

3. Fviv と Fvit の相関

個々のニワトリの Fviv と Fvit との相関をみると対照群では両者間に有意の相関を認めた ($r=0.6065$, $p<0.005$)。一方、 SO_2 群では両者間に有意の相関は認められなかった ($r=-0.0063$) (図 8)。

4. SO_2 曝露の recoil distance に及ぼす影響

1. Recoil distance in vivo

図 9 は対照群の recoil distance in vivo を示す。平均値は測定期間中各測定日間に有意の変化はなくその平均値は 1.33 ± 0.38 units (1 unit=0.16 mm) であった。

極度の脱水状態は粘液纖毛輸送速度の著明な低下と組織学的には腺より放出された粘液が粘液層と連続するいわゆる tethering phenome-

図 9 対照群の recoil distance in vivo: ●; 対照群 (n=6), △; 総対照群 (n=42), ■; 72時間脱水群 (n=5), *, $p<0.005$, 1 unit=0.16 mm.

図10 SO₂ 曝露の recoil distance in vivo に及ぼす影響：●；SO₂ 曝露群 (n=6), △；総対照群 (n=42), *; $p < 0.005$, 1 unit = 0.16 mm, 曝露条件; 6.3 ± 0.4 ppm, 16 時間/日.

non を顕著に示す¹¹⁾ 為, 5 匹のニワトリを72時間脱水状態にした後, その後の8時間の間に3回 recoil distance in vivo を測定した. 平均値は 0.36 ± 0.12 units でこの値は同じ日令の対照群ニワトリのそれに比し (1.25 ± 0.15 units) 有意に低値であった ($p < 0.005$).

図10は 6.3 ppm SO₂ に1日16時間, 7日間

考

SO₂ 曝露が気道の粘液纖毛機能に及ぼす影響には多くの報告があり, 曝露条件, 実験対象の違いにもかかわらず SO₂ 曝露は粘液纖毛機能を低下させるとされている. 鼻腔に限れば, Andersen ら⁵⁾ は 5 ppm SO₂ に曝露したヒト鼻腔の粘液纖毛輸送速度 (以下 MTR) は低下すると報告し Wakabayashi ら⁸⁾ は $1.4, 12.6, 66.0$ ppm SO₂ 曝露がニワトリ鼻腔の MTR を低下させたと報告している. このような SO₂ 曝露による MTR 低下の原因については未だ

図11 SO₂ 曝露の recoil distance in vitro に及ぼす影響：●；SO₂ 曝露群 (n=6), ○；対照群 (n=6), 1 unit = 0.16 mm, 曝露条件; 6.2 ± 0.5 ppm, 16 時間/日.

曝露したニワトリの recoil distance in vivo を示す. 曝露開始とともに recoil distance は曝露前の値に比して有意に減少し ($p < 0.005$), 又この値は対照群に比しても有意に低値を示した ($p < 0.005$). 曝露3日目には recoil distance の減少は最高となり, 6日目にはやや増加傾向を示した後, SO₂ 曝露7日目には再び減少した.

2. Recoil distance in vitro

6.2 ppm SO₂ に1日16時間, 7日間曝露した対照群と SO₂ 群のニワトリの recoil distance in vitro を図11に示す. SO₂ 曝露中 recoil distance in vitro は変化せず対照群のそれとの間に有意の変化は認められなかった.

按

不明な点が多いが Dalhamn⁴⁾ は 11 ppm SO₂ で67日間曝露後, 家兎気管を摘出して, 気管上皮の纖毛打数には変化がないことを観察し, SO₂ 曝露による MTR の低下は纖毛自身の障害よりも粘液層の性状の変化によるものであることを示唆した.

交感神経遮断剤ピロカルピンは全身投与でニワトリの鼻腔 MTR に変化を示さなかったが, 5.7 ppm SO₂ 曝露で極度に低下した鼻腔 MTR はピロカルピン投与5時間後に非投与群に比し

図12 SO₂ 曝露のニワトリ MTR-T への影響と SO₂ 曝露停止による MTR-T の回復: ↓; SO₂ 曝露開始, ↑; 曝露終了, SO₂ 曝露条件; 5.9±0.6 ppm, 8時間/日. SO₂ 曝露により MTR-T は曝露前の値に比し有意に低値を示した (*p<0.005). 第1日目8時間曝露終了後16時間では MTR-T は曝露前の値に比し有意差を認めない. 第2日目8時間曝露終了後16時間(48 hrs)では MTR-T は曝露前の値に比し有意に低値を示した (*p<0.005). 第2日目曝露前の値に比し8時間曝露終了後の値は有意に低値を示した (**p<0.025).

て有意に増加した. この事実は SO₂ 曝露による MTR の低下は繊毛運動の障害によるものでなく, 粘液層の性状又は状態の変化によるところが大である為と思われる. 又, SO₂ 曝露により低下した鼻腔 MTR は曝露終了後16時間以内にはほぼ正常値まで回復した(図12)ことからこのような短時間に於ける MTR の回復は SO₂ 曝露による繊毛の脱落や損傷によるものではないことを強く示唆しており, 我々の得たこれらの結果は Dalhamn の見解を強く裏付いていると思われる.

SO₂ 曝露で粘液層の性状又は状態が MTR 低下にどのように関与しているのであろうか. 対照群では Fviv と Fvit とが有意の相関を示した. これは Fviv が in vivo の粘液繊毛輸送に影響されず Fvit と同様に粘液の性状にのみ, その値が影響されることを示している. 一方, SO₂ 群では Fviv と Fvit 間には有意の相関は認められなかった. そして Fviv が対照群に比して有意に増加したにもかかわらず Fvit は対照群に比して有意の変化は認められなかつ

た. このことは SO₂ 群では in vitro での粘液の性状には対照群のそれに比し有意の変化はないが in vivo では Fviv を有意に増加させる“何か”が存在していることを示唆している. そしてこの“何か”は粘液の性状以外の in vivo にのみ存在する“in vivo 因子”ではないかと想像される. SO₂ 群に於ける Fviv の増加パターンが同群の MTR-S の減少パターンと類似することから“in vivo 因子”が MTR 低下と密接な関係を持っていることが想像される.

さて“in vivo 因子”が MTR の低下と密接な関連を持っているとすると“in vivo 因子”とは一体何なのであろうか. SO₂ 曝露は recoil distance in vivo を有意に減少し, この減少パターンは SO₂ 群の Fviv の増加, MTR-S の減少パターンに極めて類似していた. 又, MTR の極度に低下した脱水状態のニワトリに於いても recoil distance in vivo は有意に減少した. このことより recoil distance in vivo は Fviv と同様 MTR に密接に関与していることを示唆している. Recoil distance in vivo の減少は補遺の項に示す如く(後述), 粘液層の“長さ”の減少と解釈される. 以下, 粘液層の“長さ”の減少と MTR の低下について述べてみたい. ここでは1934年 Lucas と Douglas¹²⁾が提唱し, 現在その正当性が明らかとなってきた¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾, 粘液層(mucous blanket)の2層モデルに当てはめて考察する. 正常状態では繊毛の周囲には sol 層が存在し, 繊毛の上に gel 層が乗っている状態である(図13, Normal condition). この粘液と繊毛との関係に, 現在まで報告され, MTR 低下の原因として可能性があると考えられている幾つかのモデルを当てはめてみたい.

図13, Model A 1, 2 は sol 層が減少したため繊毛が gel 層に深く埋まり込んだ状態を示している. これは Litt¹⁶⁾によりその可能性を示唆されているモデルで, この状態では繊毛は viscoelastic な gel 層の中に深く埋まり込んでしまつて十分に動けずその為に粘液繊毛輸送能

図13 粘液纖毛2相モデル：Normal condition; (Lucas-Douglas model), Model A1; Sol 層の減少により纖毛が gel 層と癒着した状態, Model A2; Sol 層の減少により纖毛が深く gel 層には入り込んではいくが纖毛と gel 層との癒着がない場合, Model B; Gel 層の消失した状態, Model C; Gel 層が腺細胞と粘液で繋がった状態 (tethering phenomenon) で纖毛は十分に活動できても mucous blanket を動かすことはできない。1; Gel 層の移動する方向, 2; 纖毛の有効打の方向, 3; 鉄片, 4; Gel 層が recoil する方向。

が低下すると云われる。Model A1 は纖毛に gel 層が癒着すると仮定した場合で、表1に示す如く、粘液層の“長さ”の減少を始め、我々の実験結果の全てを満足させているので、MTR 減少の原因としての可能性は強い。一方、Model A2 は同様の状態で纖毛が gel 層に癒着せず自由に gel 層と離れることができる状態を示しているが、この場合に表1に示す如く我々の実験結果の全ては満たしておらず、MTR 低下の原因としては考え難い。

Proctor¹⁷⁾ らは sol 層の深さが逆に増加すると纖毛と gel 層とが接触し難くなり MTR が低下すると報告しているが、このモデルでは recoil distance in vivo の減少を来たすことはなく SO₂ 曝露時の MTR 低下の原因としての可能性はないと云って良い。

図13 Model B は gel 層が消失した場合を示している。Gel 層の viscoelasticity が粘液纖毛輸送に重要な役割を果していることはよく知られており、Shih ら¹⁸⁾は最も速い MTR は

表 1 Possibilities of Models A-C in our experiments

Item examined in vivo	Model A		Model B	Model C
	A 1	A 2		
Slowing of mucociliary transport	+	+	+	+
Increase of Fv _{iv}	+	—	— ?	+
Decrease of recoil distance in vivo	+	—	not applicable	+

gel 層の最適な elasticity の時に得られ, この値より elasticity が増加しても減少しても MTR は減少すると報告している. 又, King ら¹⁹⁾は gel 層を除去した纖毛モデルでは纖毛の上に置かれた物体は輸送されないことを示し, gel 層の viscoelasticity が粘液纖毛輸送に不可欠であることを示した. いずれにせよ gel 層の欠如が粘液纖毛輸送を障害することは明らかであるが, 表 1 に於ける如く gel 層がなければ当然 recoil 現象は起らず, 我々の実験結果では recoil distance の減少は認められるにせよ, 消失は起っていないわけで, gel 層の消失が, MTR 低下の原因となっている可能性は弱い.

Bang と Bang⁶⁾ は 72 時間脱水したニワトリでは粘液纖毛輸送能は欠如するが, このニワトリの鼻腔粘膜より粘液層を除いてやると粘液層の直下では活発な纖毛運動がみられ, 組織学的には分泌腺より出た粘液が粘液層に連続して繋がっていることを観察した. 彼らは粘液層が分泌腺より出た粘液によって分泌腺に繋ぎ止められ, 纖毛に充分動く力があっても粘液層が動けなくなる可能性を示唆した (tethering phenomenon) (図 13, Model C). この可能性は粘液纖毛輸送能低下の原因となる “in vivo 因子”

の一つとして広く認容されている¹⁶⁾²⁰⁾. 我々の実験でも 72 時間脱水状態のニワトリで recoil distance in vivo が極端に減少していることや, 表 1 での我々の実験結果の全ての項目を満たすことから SO₂ 曝露に於いて同様のメカニズムが MTR 低下の原因となっている可能性は強い.

Majima ら²¹⁾はニワトリ上顎甲介の組織化学的研究で SO₂ 曝露により粘液を産生する腺細胞数の著明に減少した上顎甲介では粘液纖毛輸送能が極度に低下していることを示した. このような粘液を産生する腺細胞数の減少と tethering phenomenon 又は sol 層の減少との関連の有無については今後の研究課題と思われる.

SO₂ 曝露や脱水状態に限らず粘液纖毛輸送にこのような “in vivo 因子” が重要な役割を果すことは正常の大気管²²⁾に於いても示唆されている. 慢性副鼻腔炎²³⁾や下気道の閉塞性疾患¹⁾時に粘液纖毛輸送能が低下することはよく知られているが, このような病的状態に於ける粘液纖毛輸送の障害には粘液の質 (viscoelasticity), 量の変化, 纖毛運動障害ばかりでなく “in vivo 因子” の関与も無視できないものと思われる.

補

粘液の viscoelastic な性質は単純には Maxwell のモデルとして表現される. このモデルでは elastic property (弾性) はスプリングで viscous property (粘性) はピストンとシリン

遺

ダーからなるショックアブソーバーで表現される. スプリングは加えた力に応じて瞬時に延長し, この力を除くと瞬時にもとの長さにもどってしまう. ショックアブソーバーは加えた力に

図14 Maxwell モデルと recoil distance: a; ショックアブソーバー (viscous element), b; スプリング (elastic element). 瞬時にこのモデルを一定の力で距離 y だけ延長し次いで加えた力を除くと距離 y' もとの位置にもどる. このような場合, ショックアブソーバー内筒の大きな位置移動は少なく (距離 x), recoil distance $y' = y - x \approx y$ となり recoil distance はほぼスプリングのみの延長した長さを表現することになる.

は関係なく時間とともにピストンがシリンダーから抜け出してきて, たとえ力を除いてもシリンダーは力を除いた時点の位置に止まって, もとの位置にもどろうとはしない. 従って瞬時の間だけ力をこのモデルに加えるとショックアブソーバーのシリンダーがほとんど動かないでスプリングのみが長く延長してもとの長さにもどってしまうことになる. この動きを模式的に示すと図14の如くなる. 図に於いて recoil distance はスプリングの延長した長さをほぼ示していることになる. 一般の粘液はこのような性格を持った Maxwell のモデルが複雑に繋がったものといわれているので, 一般の粘液に於いても recoil distance は elastic property と同じ意味を持つと考えてよいと思われる.

純粋に elastic property を持った物質では strain は加えた力 (stress) に比例しその比例定数は elastic modulus と表現される. Elastic modulus とは elasticity を代表するものと考えてよい.

$$F = k \cdot x \quad (1)$$

F ; stress, k ; elastic modulus, x ; strain

今, elastic property を持った長さ L_0 のスプリングを長さ L まで力 F でひっぱって延長したとするとこのスプリングの strain (x) は下記の式で表わされる.

$$x = \frac{L - L_0}{L_0} \quad (2)$$

先に述べた如く recoil distance (L_r) は延びたスプリングの長さ $L - L_0$ に等しいから

$$\frac{L - L_0}{L_0} = \frac{L_r}{L_0} \quad (3)$$

式(1), (2), (3)より

$$F = k \cdot x = k \cdot \frac{L - L_0}{L_0} = k \cdot \frac{L_r}{L_0} = F_m \quad (4)$$

k について解くと

$$k = \frac{F}{x} = \frac{F_m \cdot L_0}{L_r} \quad (5)$$

我々の in vitro の実験では F_m は一定の力で 0.58 dyne である. 又, 粘液の“長さ”は未知であるが実験でスライドグラスに乗せた粘液の状態 (量) が一定だとすると“長さ”は一定 C_0 と考えられるので

$$k = \frac{F_m \cdot C_0}{L_r} \quad (6)$$

ここで F_m と C_0 は一定であるので k (elastic modulus) は L_r (recoil distance) に逆比例することになる. しかるに recoil distance in vitro は対照群と SO₂ 群では有意の差がないことから両群の recoil distance in vitro が等しいとすると採取された粘液の elastic modulus は対照群, SO₂ 群とも差がなかったということになる. つまり我々の実験では SO₂ 曝露はニワトリ鼻腔粘液の elasticity に何ら影響を及ぼさなかったことが明らかである.

一方 recoil distance in vivo は SO₂ 曝露で有意に減少した. 式(5)に於いて F_m (0.58 dyne) は定数であり, 先に述べた in vitro の結果より粘液の elastic modulus (k) は一定であるとする recoil distance (L_r) の減少は粘液の“長さ”の減少ということになる. 我々はこの結果を次のように解釈した. 粘液層が一枚の大きな布のような状態¹²⁾¹⁹⁾¹⁵⁾ であるとして, 又こ

の層が纖毛の先端に乗っかっていて自由に動けるものとする、粘液層の“長さ”は限りなく長いと考えられる。ところが粘液層の一部が下部組織（纖毛上皮）に固定してしまったとすると、この固定部位と粘液層上におかれた鉄片と

の距離が粘液層の“長さ”ということになる。つまり SO_2 曝露では粘液層が下部組織と連続するような状態が *in vivo* で起っていると想像される。

結 語

SO_2 曝露による MTR の有意の減少は本研究により次のように説明される。

1. SO_2 曝露による MTR の低下には SO_2 曝露による纖毛の脱落や纖毛運動障害による影響は少ない。
2. SO_2 曝露により粘液層の性状は対照群に比し有意な変化を示さなかったと思われる。
3. SO_2 曝露による MTR の減少は mucous blanket の“*in vivo* 因子”による可能性が強く示唆される。
4. SO_2 曝露による sol 層の減少、又は腺細胞と gel 層が連続する tethering phenomenon が“*in vivo* 因子”として強く示唆された。

御校閲を賜った三吉康郎教授ならびに御懇篤な御批判をいただいた坂倉康夫助教授に深謝いたします。本研究は著者が Johns Hopkins 大学, Department of Pathobiology に在席中, Frederik B. Bang 教授のもとで行ったものである。

文 献

- 1) Santa Cruz, R, et al: Tracheal mucous velocity in normal man and patients with obstructive lung disease; Effect of terbutaline. *Am Rev Respir Dis* **109**: 458~463, 1974.
- 2) 坂倉康夫, 他: 慢性副鼻腔炎患者の鼻粘膜粘液纖毛機能と塩酸エブラジノンの効果. 耳展 **21**(補1): 13~20, 1978.
- 3) 坂倉康夫, 他: ヒト鼻腔の粘液纖毛機能. 日耳鼻 **83**: 1592~1598, 1980.
- 4) Dalhamn T: Mucus flow and ciliary activity in trachea of healthy rats and rats exposed to respiratory irritant gasses (SO_2 , NH_3 , HCHO). A functional and morphologic (light microscopic and electron microscopic study), with special reference to technique. *Acta Physiol Scand* (Suppl 123) **36**: 1~161, 1956.
- 5) Andersen I, et al: Human response to controlled levels of sulfur dioxide. *Arch Environ Health* **28**: 31~39, 1974.
- 6) Bang BG, Bang FB: Effect of water deprivation on nasal mucous flow. *Proc Soc Exp Biol Med* **106**: 516~521, 1961.
- 7) Giordano A, et al: Effect of various drugs of canine tracheal mucociliary transport. *Ann Otol Rhinol Laryngol* **87**: 487~490, 1980.
- 8) Wakabayashi M, et al: Mucociliary transport in chickens infected with Newcastle disease virus and exposed to sulfur dioxide. *Arch Environ Health* **32**: 101~108, 1977.
- 9) Taft RA: Selected methods for the measurement of air pollutants. In: *Environmental Health Series: Air pollution*, M. Storlazzi and S. Hochheiser, eds., U. S. Public Health Service, Publication No. 999-AP-11, Cincinnati, 1965.
- 10) 間島雄一, 他: SO_2 曝露のニワトリ鼻粘膜分泌細胞に及ぼす影響. 耳鼻臨床 投稿中
- 11) Bang BG, Bang FB: Responses of upper respiratory mucosae to dehydration and infection. *Ann NY Acad Sci* **106**: 625~630, 1963.
- 12) Lucas A, Douglas LC: Principles underlying ciliary activity in the respiratory tract. II. A

- comparison of nasal clearance in man, monkey and other mammals. Arch Otolaryngol 20 : 518~541, 1934.
- 13) Ross SM, Corrsin S : Results of an analytical model of mucociliary pumping. J Appl Physiol 37 : 333~340, 1974.
- 14) Yoneda K : Mucus blanket of rat bronchus, an ultrastructural study. Am Rev Respir dis 114 : 837~842, 1976
- 15) Reissig M, et al : Ultrastructure of the mucociliary interface in the nasal mucosa of the chicken. Am Rev Respir Dis 117 : 327~341, 1978.
- 16) Litt M : Mucus rheology : relevance to mucociliary clearance. Arch Intern Med 126 : 417~423, 1970.
- 17) Proctor DF, et al : Nasal mucociliary clearance in man. Ciba Found Symp 54 : 219~230, 1978.
- 18) Shih CK, et al : Effect of nondialyzable solids content and viscoelasticity on ciliary transport of tracheal mucus. Am Rev Respir Dis 115 : 989~995, 1977.
- 19) King M, et al : On the transport of mucus and its rheologic simulants in ciliated systems. Am Rev Respir Dis 110 : 740~745, 1974.
- 20) Denton R, et al : Viscoelasticity of Mucus. Its role in ciliary transport of pulmonary secretions. Am Rev Respir Dis 98 : 380~391, 1968.
- 21) Majima Y, et al : Effect of SO₂ on nasal mucous gland cells. in preparation.
- 22) Giordano AM, et al : Mucus rheology and mucociliary clearance : normal physiologic state. Am Rev Resir Dis 118 : 245~250, 1978.
- 別刷請求先 : 間島雄一
(〒514 津市江戸橋 2-174
三重大学医学部耳鼻咽喉科学教室)