ポリプ様声帯内容物の生化学的検討

松尾 浩一・進 武幹*・平野 実**
田中 幸男・高園 磯子***

A Chemical Investigation of the Contents of Polypoid Vocal Folds

Koichi Matsuo, Takemoto Shin

(Saga Medical School)

Minoru Hirano

(Kurume University)

Yukio Tanaka and Isoko Takazono

(Kurume University)

Chemical examination of tissue from polypoid vocal folds obtained from 9 patients during endolaryngeal microsurgery showed that the main substances were acid mucopolysaccharide (AMPS) and acid glycoprotein. AMPS and acid glycoprotein were identified cellulose acetate stripelectrophoresis and digestion by specific enzymes.

- 1) In all 9 cases the histopathological findings revealed edema.
- 2) Hyaluronic acid in AMPS was found in 7 cases and acid glycoprotein in all 9.
- 3) The contents were classified into 3 types on the basis of their viscosity: serous type in 5 cases, mucous type in 2, and intermediate type in 2. The serous type contained a relatively large amount of hyaluronic acid ($84.14 \pm 16.60 \mu\text{g}$), which was not present in the mucous type, while in the intermediate type, the hyaluronic acid content was low (23.3 μg , 21.6 μg).

1. 緒 言

ポリプ様声帯の病変は粘膜固有層浅層, いわゆる Reinke's space¹⁾ に主在することは周知のことである²⁾ が, いかなる機序のもとに浮腫性病変が起こるのかは不明である.

われわれは, ポリプ様声帯 (浮腫型)³⁾ の成因を探る一つの試みとして, 浮腫性の内容物を生化学的に検索した. 検索は結合組織の間質酸性ムコ多糖⁴⁾⁵⁾⁶⁾ と, 酸性糖たんぱく⁷⁾ について測定し, この結果からポリプ様声帯の浮腫状病変が起こる原因を推察し, 成因に関する若干の考察を行った.

* 佐賀医科大学耳鼻咽喉科学教室 (主任: 進武幹教授)

**久留米大学医学部耳鼻咽喉科学教室 (主任: 平野実教授)

*** 久留米大学進学課程化学教室 (主任: 田中幸男教授)

2. 研究方法

対象とした症例は久留米大学耳鼻咽喉科において手術された52才から71才までの9例(男性5例, 女性4例)である. 全例, 両側性のポリープ様声帯で, 両側同時に内容物を採取した. 内容物の採取は, **Endolaryngeal microsurgery**のもとで行った. 方法は, 声帯上面の腫脹部に小切開を加えて, 特殊な採取用器具を用いて吸引採取した. この器具は図1に示すようなもので, 試料採取用試験管の蓋に2つの孔を設け, その1つには吸引用シリコンチューブを連結

図1 内容物の採取装置

し, 他の1つの孔は吸引器に連結してある. シリコンチューブはラリンゴマイクロ用吸引管の内部に入れ, 先端を5mm程度出してある. 吸引に際しては, 吸引用シリコンチューブの先端を声帯靱帯表面の深さまで入れ, 数回しごくようにして採取した. チューブ内に残った内容物も少量の蒸留水を吸引しながら採取した. また, 粘膜切開時の血液の混入を極力さけるため, 切開前に1000倍ボスミンを十分に塗布した. 粘膜切開は内容物の吸引に必要な最小限に留めた.

内容物の吸引採取後は, **sucking technique**²⁾に準じて余剰の粘膜を切除し, この粘膜を組織学的検索のため10%ホルマリンに固定後, H.E. 染色を行った.

内容物は, 図2, 3の手順に沿って処理を行って, 酸性ムコ多糖の定性, 同定, 定量, 酸性糖たんぱくの定性, 同定を行った. 酸性ムコ多糖, 酸性糖たんぱくの定性, 同定には酵素消化法, セルロースアセテート膜電気泳動法を併用

図2 ポリープ様声帯内容物の処理 (I)

した。電気泳動は2%酢酸銅溶液を展開溶媒とし、0.5A/cm, 60分泳動した。染色には0.1% Alcian-Blue の0.05M 酢酸溶液を用い、15分間染色し、5%酢酸溶液で脱色した。酸性ムコ多糖の標準としたヒアルロン酸、コンドロイチン-6-硫酸、デルマトン硫酸は、いずれも久留米大学化学教室で精製したものを使用した。同定は標準品との易動度を比較すると共に、ヒアルロニダーゼ、コンドロイチナーゼAC、およびABCを用いる消化法によった。ヒアルロニ

ダーゼはヒアルロン酸のみを消化することで知られている放線菌由来のもの（ヒアルロニダーゼ〔アマノ〕）を使用し、ウロン酸0.15mg当り30単位を使用し、PH6.0酢酸緩衝液中、60℃で30分間消化後電気泳動に用いた。試料が微量であるため、定量はセルロースアセテート膜電気泳動後デンストメーターで測定するに止めた。

酸性糖たんぱくは、粗性ムコ多糖体標本の電気泳動とノイラミニダーゼ処理後の電気泳動の比較によって定性、および同定した。

3. 研究成績

9症例の病理組織学的検討では、全例に粘膜固有層の浮腫を認めた。しかしこの組織切片は内容物吸引後のものなので病理組織学的タイプの判別には用いられない。

セルロースアセテート膜電気泳動の結果は図4に示す如くである。すなわち、9例中7例に酸性ムコ多糖が確認された。この酸性ムコ多糖の易動度は、7例共にヒアルロン酸と一致し、その他の酸性ムコ多糖は認められなかった。また、ヒアルロニダーゼ消化後の電気泳動では、ヒアルロン酸と同じ易動度を示した spot が完全に消失した。以上の結果より、ポリープ様声帯内容物に含有される酸性ムコ多糖はヒアルロ

ン酸のみであり、それ以外の酸性ムコ多糖体を含んでいないことが明らかになった（表1）。

粘膜を構成する酸性糖たんぱくの特有成分であるシアル酸は9例全例に認められた。

酸性糖たんぱく量を電気泳動の染色の濃淡で分類すると、表1に示す如くである。最も染色度の淡い症例6, 7を(+)として検索した。ヒアルロン酸を含有していない症例8, 9は明らかに酸性糖たんぱくを多く含有している。

次にポリープ様声帯（浮腫型）9例を内容物の粘性によって分類すると、漿液性のもの5例、粘液性のもの2例、中間型2例で、漿液性のものでは全例にヒアルロン酸 (84.14 ± 16.60

図3 ポリープ様声帯内容物の処理 (I)

μg) を認めるが, 粘液性のものではヒアルロン酸を認めずこの中の 1 例はゼリー状を示し, 中

間型ではヒアルロン酸量 (23.3μg, 21.6μg) が低値を示した。

4. 考

われわれは, ポリープ様声帯の臨床的検討 (1980³⁾, 1983⁸⁾) によって, 喫煙と加齢がその発症に大きく関与することをすでに報告した。特に, 喫煙との関係は, 鳥谷⁹⁾, 木下¹⁰⁾ら

按

も報告しているが, 慢性炎症, 浮腫を引き起こす要因として重要であると推察される。

加齢に伴う組織学的変化では遠藤¹¹⁾, 栗田¹²⁾が40~50才台で, 扁平上皮の菲薄化, 粘膜固有層の弾性線維の減少, 断裂, 瘢痕化を認め, しかも浮腫が認められるとしている。他方, 著者¹³⁾らは生化学的变化として, 結合組織間質の酸性ムコ多糖 (ヒアルロン酸) および酸性糖たんぱくが加齢と共に減少することを認めている。

ポリープ様声帯の病理組織像は, 比較的単純であり, 浮腫, 毛細血管拡張が主要な所見³⁾¹⁴⁾を占めている。声帯ポリープでは, その組織像に, 出血や硝子様物質を認める場合が多い¹⁵⁾¹⁶⁾のに対し, ポリープ様声帯ではこれらの所見は認められない。これは, 声帯ポリープの発症には, 血管の破綻による出血が trigger となったといわれている¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾のに対し, ポリープ様声帯では長期間にわたり血管から血清成分の漏出またはその吸収の障害が起こっている可能性が推察される。

ポリープ様声帯における生化学的検討は, 小川¹⁸⁾, 尾形¹⁹⁾らによって, 組織化学的手技を用いて行われている。これによれば, 浮腫部ではヒアルロン酸が増加し, 線維化の著明な部では

図 4 セルロースアセテート膜電気泳動とデンストメーターによる測定

表 1 内容物性状とヒアルロン酸, 酸性糖たんぱく

症 例	1	2	3	4	5	6	7	8	9
性 年 令	M 52	M 62	M 55	F 53	F 55	M 71	F 61	M 67	F 52
内容物性状 *	S	S	S	S	S	SM	SM	M	M
ヒアルロン酸 (μg)	90.0	56.2	80.7	86.3	107.5	23.3	21.6	(-)	(-)
酸性糖たんぱく	(++)	(++)	(++)	(++)	(++)	(+)	(+)	(++)	(++)

* S: 漿液性
M: 粘液性
SM: 中間型

コンドロイチン硫酸A, Cの増加を認め、ポリープ様声帯の病変を結合組織の治癒障害と考えている。

本研究で、ポリープ様声帯内容物中に酸性ムコ多糖としてヒアルロン酸のみしか認められないこと、および正常人声帯の酸性ムコ多糖¹³⁾がヒアルロン酸のみであることから、漿液性内容物は声帯の結合組織が崩壊し、血清成分が漏出すると共にその間質成分であるヒアルロン酸が

流入したものと考えられる。これに対し、粘液性のもものでは酸性糖たんぱく質から構成されており、これが血清由来のものか、通常上皮性ムチンと呼ばれるものかの検索は今後の検討を要する。これらのことを考慮すると、ポリープ様声帯の成因には少なくとも2つの異なった機構が考えられ、中間型はこの両者の間に位置づけられよう。

5. 結 語

ポリープ様声帯9症例の内容物を生化学的に検索した。対象としたのは、酸性ムコ多糖と酸性糖たんぱくである。

1) ポリープ様声帯9例の組織像は、全例に粘膜固有層の浮腫を認めた。

2) 9例中7例の内容物に酸性ムコ多糖が認められ、ヒアルロン酸のみが同定された。

3) 全例に酸性糖たんぱく(シアル酸)を認めた。

4) 内容物の粘性により漿液性、粘液性、中間型と分類できた。漿液性のもの(5例)には全例ヒアルロン酸($84.14 \pm 16.60 \mu\text{g}$)認めたが、粘液性のもの(2例)ではヒアルロン酸を認めなかった。中間型(2例)ではヒアルロン酸量($23.3 \mu\text{g}$, $21.6 \mu\text{g}$)が低値を示した。

本研究の一部は第35回日本気管食道科学会(1983, 11, 18)にて発表した。

なお本研究は久留米大学耳鼻咽喉科学教室、同化学教室において行われたものである。

文 献

- 1) Reinke, F.: Untersuchungen über das menschliche Stimmband. Fortschritte der Medizin 13: 469~478, 1952.
- 2) 平野 実: ポリープ様声帯に対する手術法の改良. 耳鼻 22: 583~589, 1976.
- 3) 松尾浩一, 他: ポリープ様声帯について. 耳鼻臨床 73: 1187~1198, 1980.
- 4) 吉沢善作: ムコ多糖の構造と機能. 臨床病理 24: 865~871, 1976.
- 5) 瀬野信子: ムコ多糖構造研究の現状と展望. 化学の領域 32: 33~43, 1978.
- 6) Barrett, T.: Hyaluronic acid salt-A mechanoelectrical transducer. Biochimica Biophysica Acta 385: 157~161, 1975.
- 7) 山科郁男: シアル糖蛋白質. 代謝 16: 741~747, 1979.
- 8) Matsuo, K., et al.: Polypoid Vocal Folds—A 10-Year Review of 191 Patients. Auris Nasas Larynx 10: Suppl. 1983.
- 9) 鳥谷陽一, 他: 喉頭ポリープ様病変と喫煙. 耳鼻 25: 448~452, 1979.
- 10) 木下弘治, 他: 喉頭ポリープの疫学的研究. 日耳鼻 81: 1162, 1968.
- 11) 遠藤巨夫: 喉頭の組織学的研究—特に年令による組織像の変化について—. 気食会報 23: 322~344, 1972.
- 12) 栗田茂二郎: 人声帯の層構造—形態学的研究—. 耳鼻 26: 973~997, 1980.
- 13) 松尾浩一, 他: 声帯内の酸性ムコ多糖, 酸性糖タンパク. 耳鼻臨床 77: 817~822, 1984.
- 14) 石井英男, 他: 声帯のポリープ様変性について. 日耳鼻 67: 1638~1644, 1964.
- 15) 佐藤武男: 喉頭ポリープの臨床と病理. 耳鼻臨床 50: 487~495, 1957.
- 16) 馬場 隆: 声帯ポリープの臨床的ならびに病理組織学的研究. 日耳鼻 69: 112~129, 1966.

- 17) 小池祐一：喉頭ポリープの臨床的ならびに病理組織学的研究. 耳鼻 14 (補冊 2) : 279~305, 1968.
- 18) 小川浩司：喉頭ポリープに関する組織学的研究. 日耳鼻 75 : 682~691, 1972.
- 19) 尾形キョウ子：ポリープ様声帯の臨床的研究. 気

食会報 25 : 22~31, 1974.

原稿到着：昭和58年11月18日

別刷請求先：松尾浩一

〒840-01 佐賀市鍋島町大字鍋島三本杉
佐賀医科大学耳鼻咽喉科学教室