

## ● Session 2 : 各研究施設のトピックス 1

## 吸引採取が鼻汁のレオロジー的性質に及ぼす影響

服部 雅彦 間島 雄一 竹内 万彦 坂倉 康夫<sup>1)</sup>

## はじめに

慢性副鼻腔炎鼻汁や滲出性中耳炎中耳腔貯留液などの気道粘液のレオロジー検査は疾患の治療に対する予後や効果判定に有用なものである<sup>1,2)</sup>。このような気道粘液の採取方法のうち吸引採取法は一般に広く行われているにもかかわらず、吸引採取法が気道粘液のレオロジー的性質に及ぼす影響については解明されていないのが現状である。今回われわれは内径の異なる吸引管を用いて吸引採取が鼻汁のレオロジー的性質に及ぼす影響について検討した。

## 1 方 法

## 1) 粘 液

試料は数人の慢性副鼻腔炎患者から粘膿性鼻汁を採取し混合した後に、蒸留水にて48時間透析後、凍結乾燥した。こうして得た粉末鼻汁を tris-Cl buffer (pH 7.0) に溶解し、10%濃度の再生鼻汁を作製した<sup>3)</sup>。このようにして得た再生鼻汁は自然鼻汁と比べ、部位による不均一さがなく均一であるため、本研究の目的に適していると考えられた。

## 2) 動的粘弾性率の測定

鼻汁のレオロジー性状は磁気振動球レオメーターで測定した。図1は磁気振動球レオメーターのブロックダイアグラムである。装置は上下方向に配置した一対の電磁石を持ち、カートリッジ式の容器のサンプルセル内に約4 $\mu$ lの微小

試料と直径20 $\mu$ mの微小鉄球を封入して上下磁極の間隙にセットする。変位設定ユニット、直流電力増幅器を介して電磁石により鉄球を上下方向に任意の周波数で正弦波状に振動させる。鉄球の動きは電子光学式変位測定装置で捕らえ、鉄球における磁界の強さ $F_0$ 、鉄球変位の振幅 $X_0$ 、この両者間の位相差 $\delta$ を測定した。動的粘弾性は次の式により算出した。

動的弾性率  $G'$  (dyne/cm<sup>2</sup>)

$$= \frac{F_0}{6\pi r X_0} \cos \delta + \frac{2}{9} \rho_s r^2 \omega^2$$

動的粘性率  $\eta' = \frac{F_0}{6\pi r X_0} \sin \delta \times \frac{1}{\omega}$ 

なお上の式において $r$ は鉄球の半径(cm)、 $\rho_s$ は鉄球の密度(g/cm<sup>3</sup>)、 $\omega$ は角振動数(rad/sec)である。

測定周波数0.5, 1, 5, 10, 20 Hzにおける動的弾性率 $G'$ 、動的粘性率 $\eta'$ を算出した。 $G'$ 、 $\eta'$ は25°Cの一定温度下に各検体につき5回測定した。

## 3) 吸引採取法

吸引採取が鼻汁の粘弾性に及ぼす影響を知るために10%の再生鼻汁を吸引管を用いて陰圧負荷により容器に吸引採取し、陰圧負荷を加えない10%再生鼻汁の粘弾性率と吸引採取後の鼻汁の粘弾性率を測定した。吸引管としては、中耳腔貯留液を集める際に広く使用されているJuhn Tym Tap®(図2のa)を使用して吸引採取す

**Key Words:** Rheology, Nasal mucus, Sampling method, Aspiration, Juhn Tym Tap®

<sup>1)</sup> Masahiko Hattori ほか：三重大学医学部耳鼻咽喉科

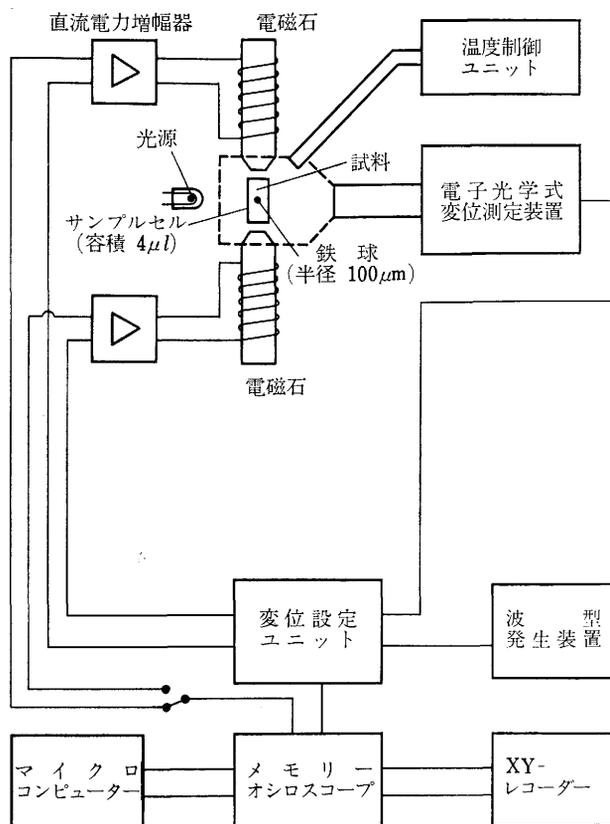


図1 磁気振動球レオメーターのダイアグラム

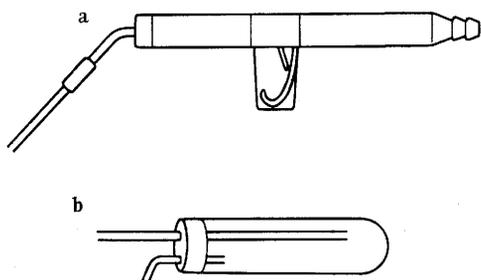


図2 Juhn Tym Tap® の形状(a)と内径 3 mm ガラス管による吸引負荷のための装置(b)

る群と、内径 0.45 mm のツベルクリン針 (26G) を用いて吸引採取する群、そして内径 3 mm のガラス管を用いて吸引採取する群 (図2のb) を設定した。吸引の際の陰圧負荷は Juhn Tym Tap® では 60 cmHg、ツベルクリン針では 70 cmHg、ガラス管では 35 cmHg であった。

#### 4) 統計学的検討

陰圧負荷を加えない10%再生鼻汁の粘弾性率 (以下対照群) と吸引採取後の鼻汁の粘弾性率の有意差検定は  $G'$ ,  $\eta'$  値を常用対数変換し, paired  $t$ -test で解析した。

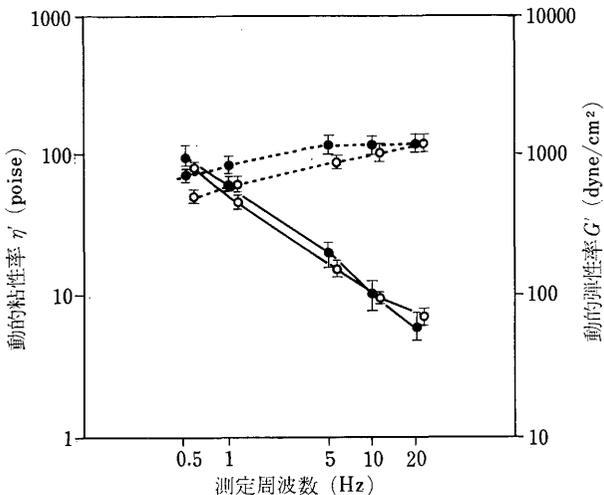


図3 新鮮粘膿性鼻汁と10%再生鼻汁の動的粘弾性率

●—● : 新鮮鼻汁の  $\eta'$   
 ●……● : 新鮮鼻汁の  $G'$   
 ○—○ : 再生鼻汁の  $\eta'$   
 ○……○ : 再生鼻汁の  $G'$

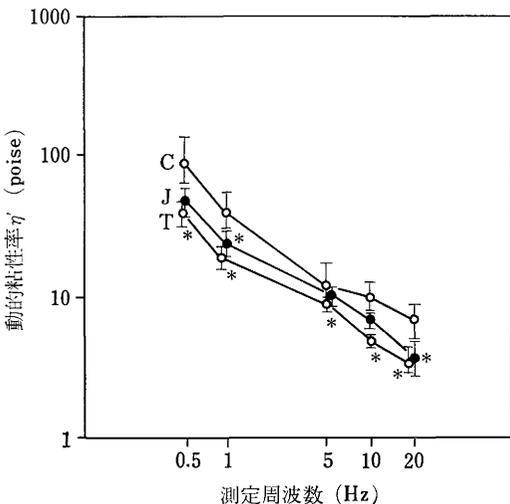


図4 陰圧負荷の有無による動的粘性率の違い

C : 対照群  
 J : Juhn Tym Tap® 吸引群  
 T : ツベルクリン針吸引群  
 \* 対照群に比し有意に低値 ( $p < 0.05$ )

2 結 果

1) 新鮮粘膿性鼻汁と再生鼻汁の動的粘弾性率

図3は慢性副鼻腔炎患者の新鮮粘膿性鼻汁と10%再生鼻汁の動的弾性率  $G'$  と動的粘性率  $\eta'$  を平均  $\pm 1$  標準偏差で示したものである。新鮮粘膿性鼻汁と10%再生鼻汁は各測定周波数において類似した  $G'$ ,  $\eta'$  値を示し,  $G'$  値は両鼻汁とも測定周波数の増加に伴い高値を示し,  $\eta'$  値は両鼻汁とも測定周波数の増加に伴い低値を示した。

2) 吸引採取が動的粘性率に及ぼす影響

図4は対照群, Juhn Tym Tap®吸引群およびツベルクリン針吸引群の動的粘性率  $\eta'$  を示す。Juhn Tap 吸引群では対照群に比べ, 測定周波数 1 Hz, 20 Hz で有意の低値を示した ( $p < 0.05$ ) が, 他の測定周波数では有意の低値を示さなかった。一方ツベルクリン針吸引群では対照群に比べ, 各測定周波数において有意に低値を示した ( $p < 0.05$ )。

図5は対照群と, 10%再生鼻汁を内径 3 mm のガラス管を用いて吸引採取した後の再生鼻汁

図 5 対照群とガラス管吸引群の動的粘性率  
 C : 対照群  
 G : ガラス管 (内径 3 mm) 吸引群

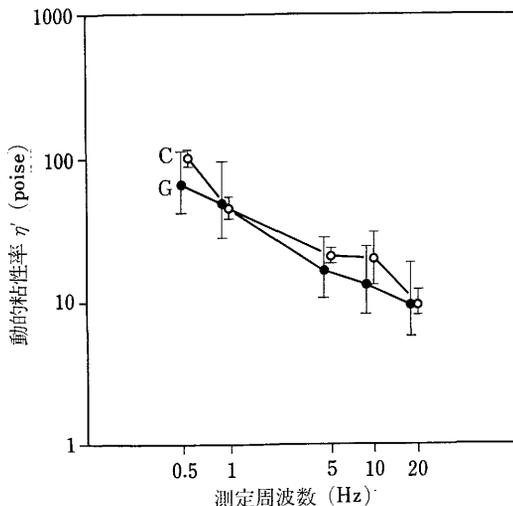
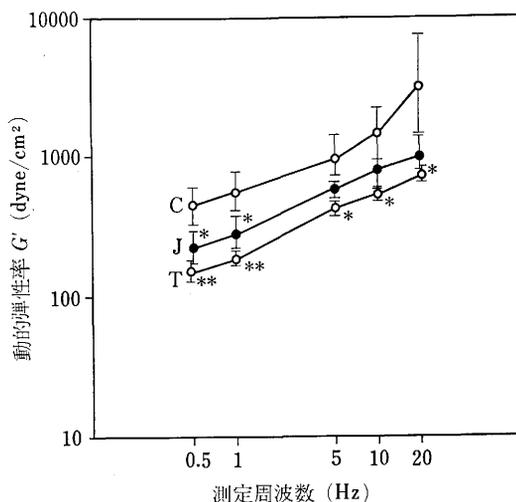


図 6 陰圧負荷の有無による動的弾性率の違い  
 C : 対照群  
 J : Juhn Tym Tap® 吸引群  
 T : ツベルクリン針吸引群  
 \* 対照群に比し有意に低値 ( $p < 0.05$ )  
 \*\* 対照群に比し有意に低値 ( $p < 0.01$ )



の動的粘性率  $\eta'$  を示す。各測定周波数において近似した数値をとり、両者間の  $\eta'$  値に有意差は認められなかった。

### 3) 吸引採取が動的弾性率に及ぼす影響

図 6 は対照群と、10%再生鼻汁を Juhn Tap, ツベルクリン針を用いて吸引採取した後の再生鼻汁の動的弾性率  $G'$  を示す。Juhn Tap 吸引群では対照群に比べ、測定周波数 0.5 Hz, 1 Hz で有意の低値を示した ( $p < 0.05$ ) が、他の測定周波数では有意の低値を示さなかった。一方ツベルクリン針吸引群では、対照群に比べ、

0.5, 1 Hz では 1% 以下の危険率で有意に低値、5, 10, 20 Hz では 5% 以下の危険率で有意に低値を示した。

図 7 は対照群と、10%再生鼻汁をガラス管を用いて吸引採取した後の再生鼻汁の動的弾性率  $G'$  を示す。各測定周波数において近似した数値をとり、両者間の  $G'$  値に有意差は認められなかった。

## 3 考 察

粘液のレオロジー的性質を測定しようとする

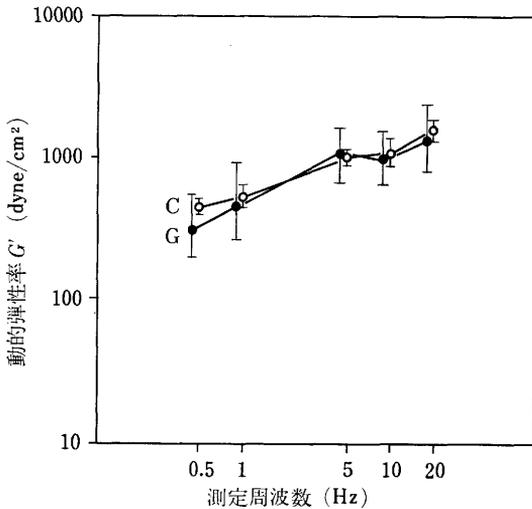


図7 対照群とガラス管吸引群の動的弾性率  
C : 対照群  
G : ガラス管 (内径 3 mm) 吸引群

場合、次の点に留意しなくてはならないといわれている<sup>4)</sup>。

- 1) 試料の量が限られている。
- 2) 試料の採取時や測定時に粘液構造が破壊されやすい。
- 3) 均一でない。
- 4) 試料を凍結したり、均一化すると構造に大きな変化を生ずる。
- 5) 粘液は粘弾性の性質を有するためにレオロジー的パラメーターを得るのが容易でない。
- 6) *In vitro* において計測された試料のレオロジー的性質は *in vivo* でのそれを示すものでなくてはならない。
- 7) 水分蒸発や酵素、細菌などにより変性が急速に起こす。

このような点のうち、レオメーターによる測定で粘液構造を破壊せず、周波数依存性を有する粘液を、*in vivo* に存在する動的状態と同じ状態で *in vitro* で測定するためには、magnetic rheometer と rheogonimeter が最適であるといわれている<sup>4)</sup>。本研究に用いた磁気振動球レオメーターは magnetic rheometer のひとつであり、少量の試料を粘液構造を破壊せず、任意の周波数で粘液のレオロジー的性質の基本の1つである動的弾性率、動的粘性率を測定できるものである。

前述の7つの条件のうち、4) について考えてみると、粘液を試料として用いる場合、生体から採取したままの状態を用いるか、または何らかの修飾を加えて用いるかが問題である。Davis は生理学的または病理学的な状態における粘液のレオロジー的性質を調べる場合には、生体から採取したままの粘液が適当であるが、薬物などが粘液に及ぼす影響をレオロジー的性質や生化学的な観点から検討しようとする場合には本研究で用いたごとく再生鼻汁のような修飾を加えた粘液を用いるのがふさわしいとしている<sup>5)</sup>。今回のわれわれの研究では、吸引採取方法が粘液のレオロジー的性質に及ぼす影響をみるためのものであったため、均一なレオロジー的性質を有する再生鼻汁を試料として用いた。

さらに、図3に示すごとく、新鮮粘膿性鼻汁と10%再生鼻汁とでは、測定周波数の増加に伴って動的弾性率  $G'$  が増加し、動的粘性率  $\eta'$  が減少した。この現象は気道粘液などの高分子粘弾性体の特徴であり<sup>6)</sup>、10%の再生鼻汁は粘弾性体の性質を示すばかりでなく、慢性副鼻腔炎の粘膿性鼻汁に近似した数値を示すことがわかる。

今回の研究結果より内径 0.45 mm のツベルクリン針のごとく細い管を使用して気道粘液を吸引した場合には粘液のレオロジー的性質は有

意に低下することが明らかになった。また市販の中耳腔貯留液採取器である Juhn Tap においても粘液のレオロジーの性質が低下することが明らかになった。このような吸引採取方法による粘弾性率の低下は吸引や攪拌などの外力が加わることにより粘液の粘稠度が可逆的に低下するチクソトロピー現象によるものであるのか<sup>7)</sup>、または吸引採取により粘液構造が破壊され粘稠度が不可逆的に低下したのかは今回の検討では明らかではなく、今後の検討課題である。

また内径 3 mm のガラス管を用いた吸引採取では粘液のレオロジーの性質に変化が認められなかったことにより、どのくらいの内径の採取管を用いるのが最適なのかも今後の検討課題である。

## 文 献

1) 間島雄一：鼻汁のレオロジー検査. 耳鼻咽喉科

- ・頭頸部外科 MOOK No. 1, 副鼻腔炎, 金原出版 (1986), pp. 89~95
- 2) 竹内万彦ら：小児滲出性中耳炎の粘液纖毛輸送機能, *Ther. Res.* **8**(2) : 514~519 (1988)
- 3) Romanczuk B.J. *et al.*: Rheological and transport properties of middle ear effusion from cleft palate patients, *Cleft Palate J.* **1**(15): 93~99 (1978)
- 4) Davis S.S.: Techniques for the measurement of rheological properties of sputum, *Bull. Physiopath. Resp.* **9**: 47~90 (1973)
- 5) Davis S.S.: Practical application of viscoelasticity measurements, *Eur. J. Respir. Dis.*, **61**: 141~152 (1980)
- 6) King M. *et al.*: Rheological properties of microliter quantities of normal mucus, *J. Appl. Physiol.* **37**: 447~451 (1974)
- 7) 長岡 滋：痰のレオロジー その1, 中外医薬 **37**: 44~47 (1984)

## Effect of Sampling Method on Rheological Properties of Nasal Mucus

Masahiko Hattori *et al.*

*Department of Otorhinolaryngology, Mie University School of Medicine*

We have evaluated the effect of sampling method on rheological properties of nasal mucus. Four groups were set in this experiment. Group 1 was 10% reconstituted nasal mucus (RNM) as a control. Group 2 was 10% RNM aspirated by Tuberculin needle (inner diameter 0.45 mm). Group 3 was 10% RNM aspirated by Juhn Tym Tap® for collection of middle ear mucus (inner diameter 1 mm). Group 4 was 10% RNM aspirated by glass tube (inner diameter 3 mm). The elastic modulus ( $G'$ ) and dynamic viscosity ( $\eta'$ ) of each mucus sample were determined by an oscillating sphere magnetic rheometer at frequencies of 0.5, 1, 5, 10 and 20 Hz at a constant temperature of 25°C.

The elastic modulus ( $G'$ ) of the mucus of Group 2 and 3 were lower than that of Group 1, especially the elastic modulus ( $G'$ ) of the mucus of Group 2 was significantly lower than that of Group 1 at the all frequencies examined. The elastic modulus ( $G'$ ) of the mucus of Group 4 was not differ from that of the control.

In the dynamic viscosity ( $\eta'$ ) the similar significant results were observed.