

## 気道粘液のレオロジー的測定法の簡便化と その臨床応用

服部雅彦 問島雄一 平田圭甫 坂倉康夫

### はじめに

気道粘液のレオロジー的測定は、上気道疾患の予後や治療効果の評価に有用である<sup>1)</sup>。われわれは従来レオロジー的パラメータとして最も基本的で重要な動的粘性率 ( $\eta'$ )、動的弾性率 ( $G'$ ) を測定しているが、これらのパラメータを得るための装置は高価で計算が複雑であるため、一般臨床での利用は容易ではない。そこで今回レオロジー的測定法の簡便化を目的に、種類の簡便法について検討した。

### 1 方法

#### 1) 試料

試料としての粘液は、慢性副鼻腔炎患者から吸引採取した鼻汁と再生鼻汁を採用した。再生鼻汁は10数人の慢性副鼻腔炎患者から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、こうして得た粉末鼻汁を Tris-Cl buffer (pH 7.0) に溶解することにより作製した<sup>2)</sup>。種々のレオロジー的性質を有する粘液を得るために、1, 3, 10, 20% の再生鼻汁を作製した。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

鼻汁の動的粘弾性は、磁気振動球レオメータで測定した<sup>3)</sup>。測定周波数 1 Hz における動的

弾性率  $G'$ 、動的粘性率  $\eta'$  を 25°C の一定温度下で測定した。

#### 3) レオロジー的測定の簡便法

レオロジー的測定の簡便法については三つの方法について検討した。

##### 1) 傾斜法

スライドガラス上に 100  $\mu$ l の試料をのせ、さらにその上に 18 mm 四方のカバーガラスをのせ粘液の厚さを一定にし、スライドガラスを傾斜させることにより粘液が滑り出す角度を測定した。

##### 2) 曳糸性の測定

曳糸性 (spinability) は Filancemeter® (SE-FAM 社) を用いて 10  $\mu$ l の試料を 10 mm/sec の曳糸速度で測定した<sup>4)</sup>。

##### 3) 粘液の乾燥重量の測定

採取時に鼻汁の体積を測定し、凍結乾燥を行い乾燥重量を測定した<sup>5)</sup>。乾燥重量は採取時の鼻汁体積に対する乾燥重量の割合で表現した。

##### 4) 統計学的検討

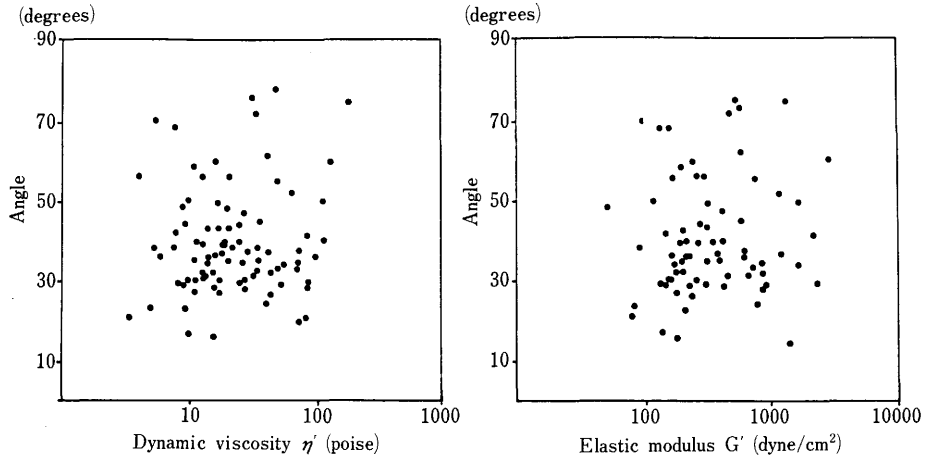
動的粘弾性率と簡便法による結果の相関関係は、Spearman の相関係数を求め解析した。

### 2 結果

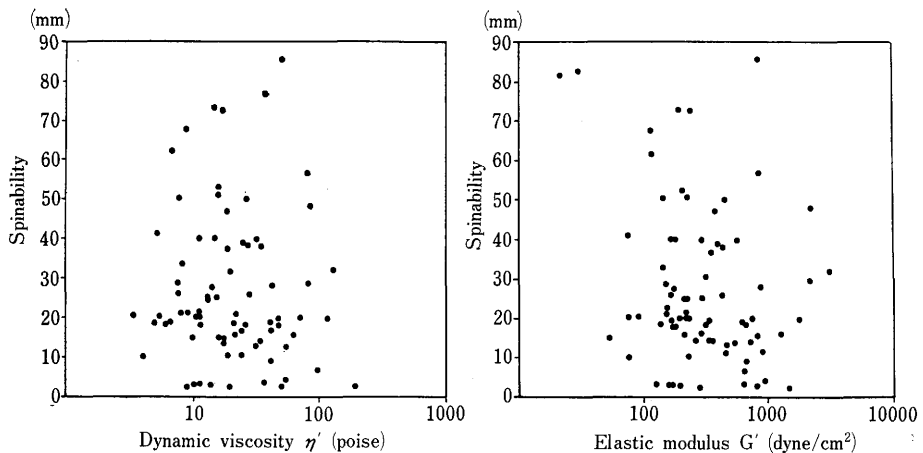
#### 1) 慢性副鼻腔炎鼻汁の動的粘弾性率と傾斜法

**Fig. 1** の左は動的粘性率 ( $\eta'$ ) と傾斜角度との関係で、また **Fig. 1** の右は動的弾性率 ( $G'$ ) と傾斜角度との関係である。使用した慢性副鼻

**Key words:** Rheology, Viscoelastic measurement, Spinability, Dry weight of mucus



**Fig. 1** Relationship between angle and dynamic viscoelasticity  
 $\eta'$ ;  $r s=0.11$  (not correlation),  $G'$ ;  $r s=0.07$  (not correlation)



**Fig. 2** Relationship between spinability and dynamic viscoelasticity  
 $\eta'$ ;  $r s=-0.10$  (not correlation),  $G'$ ;  $r s=-0.12$  (not correlation)

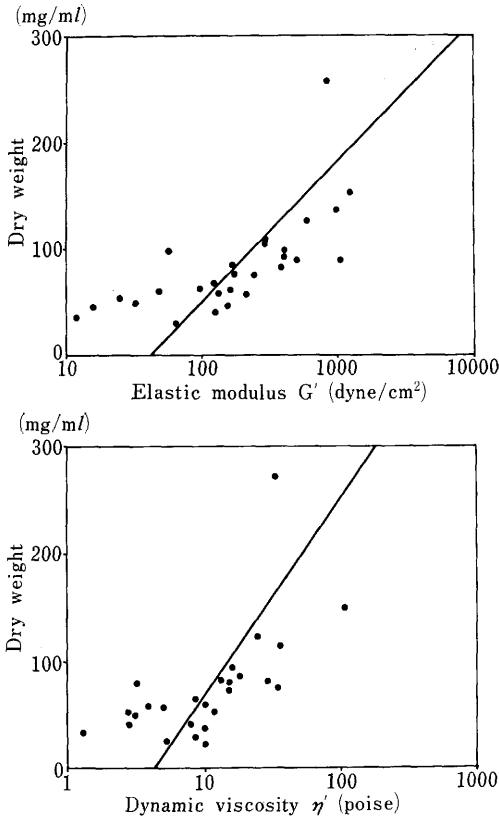
腔炎鼻汁の動的粘性率 ( $\eta'$ ) は 3.4 poise から 191 poise に分布し、その平均 $\pm 1$  SD は  $33.8 \pm 32.5$  poise であり、動的弾性率 ( $G'$ ) は 784 dyne/cm<sup>2</sup> から 2280 dyne/cm<sup>2</sup> に分布し、その平均 $\pm 1$  SD は  $561 \pm 513$  dyne/cm<sup>2</sup> であった。傾斜法と magnetic rheometer での動的弾性率 ( $G'$ )、動的粘性率 ( $\eta'$ ) との有意の相関関係は認められなかった。

## 2) 慢性副鼻腔炎鼻汁の動的粘弾性率と曳糸性

**Fig. 2** は動的粘弾性率と曳糸性との関係である。この場合の動的粘性率 ( $\eta'$ ) と動的弾性率 ( $G'$ ) の測定値は、前項と同じである。動的粘弾性率と曳糸性との間には有意の相関関係は認められなかった。

## 3) 乾燥重量と動的粘弾性率

**Fig. 3** は乾燥重量と動的粘弾性率との関係である。この検討で用いた鼻汁の動的粘性率

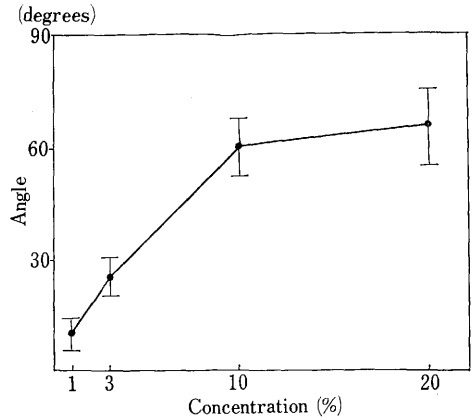


**Fig. 3** Relationship between viscoelasticity and dry weight of mucus  
 $\eta'$ ;  $r s=0.57$  ( $p < 0.01$ )  
 $G'$ ;  $r s=0.59$  ( $p < 0.01$ )

( $\eta'$ ) の平均 $\pm 1$  SD は  $12.0 \pm 1.6$  poise, 最大 120 poise, 最小 0.8 poise であった。動的弾性率 ( $G'$ ) の平均 $\pm 1$  SD は  $188 \pm 170$  dyne/cm<sup>2</sup>, 最大 2300 dyne/cm<sup>2</sup>, 最小 15 dyne/cm<sup>2</sup> であった。乾燥重量と動的粘性率との間に, 危険率 1% 以下で有意の正の相関関係が認められた。また乾燥重量と動的弾性率との間にも, 有意の正の相関関係が認められた ( $p < 0.01$ )。

4) 再生鼻汁の動的粘弾性率

3, 10, 20% の再生鼻汁の 1 Hz での動的粘性率 ( $\eta'$ ) はそれぞれ, 5.7 poise, 36 poise, 74 poise で 1% は粘性が低く測定不能であった。また 3, 10, 20% の再生鼻汁の 1 Hz での動的弾性率 ( $G'$ ) はそれぞれ, 101 dyne/cm<sup>2</sup>, 607 dyne/cm<sup>2</sup>, 887 dyne/cm<sup>2</sup> で 1% は弾性が低く測定不



**Fig. 4** Relationship between angle and concentration of mucus  
 Values are mean  $\pm$  SD.

能であった。粘液の濃度が濃くなると  $G'$ ,  $\eta'$  とも増加した。

5) 再生鼻汁の濃度と傾斜法

**Fig. 4** は 1, 3, 10, 20% の再生鼻汁を試料とした傾斜法による結果である。横軸は再生鼻汁の濃度, 縦軸は傾斜角度である。傾斜角度は粘液の濃度が増加するに従い上昇した。

6) 再生鼻汁の濃度と曳糸性

**Fig. 5** は 1, 3, 10, 20% の再生鼻汁の曳糸性の結果である。3% の濃度で曳糸性は最も長くなり, 1, 10, 20% で短くなるという結果が得られた。

3 考 察

臨床的簡便法について Robinson らは, 5g の痰を 1 オンス容量のびんのなかに入れて, そのびんを種々の角度に傾斜させて, 痰がびんの壁に沿って流動する状態を粘稠度の指標とすることを報告し<sup>6)</sup>, また Chodosh は, 試験管内に痰を入れ, その試験管を傾斜させて, 痰が一定距離を流動するのに要する時間を計測することにより, 痰の流動性と患者の症状との間に相関性が認められたことを報告している<sup>7)</sup>。

今回の慢性副鼻腔炎鼻汁を用いた検討ではその動的弾性率, 動的粘性率と鼻汁の傾斜による

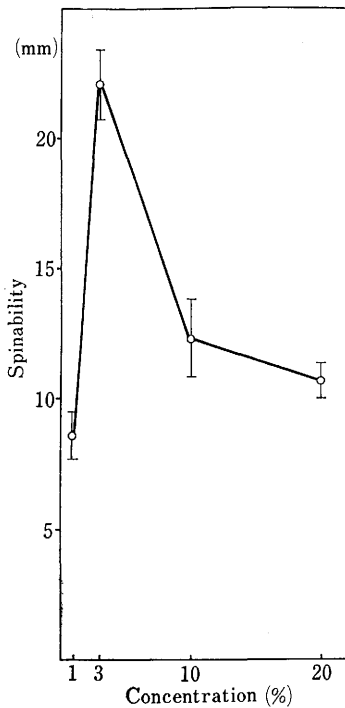


Fig. 5 Spinability of reconstituted mucus  
Values are mean  $\pm$  SD.

流動開始角度との間に有意の相関は認められなかった。この結果より、正常鼻汁に比して高い  $G'$ ,  $\eta'$  値をもつ慢性副鼻腔炎鼻汁において傾斜法は、鼻汁の  $G'$ ,  $\eta'$  値の指標とはなりえないことが明らかになった。再生鼻汁を用いて低い粘性率から高い粘性率まで幅広い粘弾性率を有する鼻汁を作製し、この流動開始角度を測定すると、粘性率の低いものは高いものに比し、角度が小さい傾向を示した。このことより流動開始角度は粘弾性の著明な違いのある粘液の比較の目安になることが示唆された。

曳糸性は粘液の糸引き現象のことである。Davis<sup>9)</sup> は曳糸性は痰の弾性の指標となりうることを述べている。一方、Puchelle ら<sup>4)</sup> は慢性気管支炎喀痰を用いて、曳糸性と弾性率の間に負の相関、曳糸性と粘性率の間に正の相関を認めているが、曳糸性は計測試料の量や伸展速度に影響されることが知られており、本研究ではこれらを一定にして計測した。慢性副鼻腔炎鼻汁を

用いた今回の検討では、 $G'$ ,  $\eta'$  値と曳糸性の間には有意の相関は認められなかった。

鼻汁を含めた気道液の主要構成成分は水と固形成分であり、正常の気道液では水は全体の95%を占めている<sup>9)</sup>。粘稠な粘液では固形成分の水に対する割合が増加している<sup>10)</sup>。固形成分の80%は高分子成分からなっており、糖蛋白は高分子成分の25~50%を占めている<sup>11)</sup>。本研究で検討した乾燥重量は、鼻汁単位体積当たりの固形成分の割合であり、これは鼻汁の弾性率、粘性率と有意の相関を示した。

気道液のレオロジー的性質、なかでも粘弾性率は高分子糖蛋白が主要な役割を果たしており、この高分子糖蛋白が種々のイオン結合や、S-S 結合によって複雑な網状構造を形成することにより決定されるといわれている。したがって、乾燥重量のみで複雑な粘弾性的性質を説明するのは困難であると考えられるが、本研究結果より、気道液の粘稠度を知る簡便法の一指標として乾燥重量を利用することができる可能性が明らかになった。

## 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) 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)
- 3) 平田圭甫ほか: 磁気振動球レオメータによる粘液の動的粘弾性の測定, *日耳鼻* 87: 473~480 (1984)
- 4) Puchelle E. *et al.*: Spinability of bronchial mucus. Relationship with viscoelasticity and mucous transport properties, *Biorheology* 20: 239~249 (1983)
- 5) Matsubara T.: Physicochemical study of nasal secretions from patients with chronic sinusitis, *Mie Med. J.* 33: 39~49 (1983)
- 6) Robinson W. *et al.*: Reduction of sputum viscosity in chronic bronchitis, *Lancet* ii: 819

- ~821 (1958)
- 7) Chodosh S.: New methodology in sputum rheology; Abstracts from the 4th international congress on the chest, American college of chest physicians, *Dis. Chest* **51**: 568 (1967)
- 8) Davis S. S.: Practical application of viscoelasticity measurements, *Europ. J. Resp. Dis.* **61** (Suppl. 110): 141~156 (1980)
- 9) Boat T.F. & Matthews L.W.: Chemical composition of human tracheobronchial secretions. In: Sputum (ed. by Dulfano M.J.), Charles C. Thomas, Springfield (1973), pp. 243~291
- 10) Sleigh M.A. *et al.*: The propulsion of mucus by cilia, *Am. Rev. Respir. Dis.* **137**: 726~741 (1988)
- 11) Lopez-Vidriero M.T.: Airway mucus: Production and composition, *Chest* **80**: 799~804 (1981)

### Viscoelastic Measurement by Simplified Methods

Masahiko Hattori, Yuichi Majima, Keisuke Hirata and Yasuo Sakakura

*Department of Otorhinolaryngology, Mie University School of Medicine*

The rheological measurement of respiratory mucus is useful in evaluating the prognosis of the upper respiratory diseases and the effects of clinical therapy. The oscillating sphere magnetic rheometer can measure the elastic modulus ( $G'$ ) and dynamic viscosity ( $\eta'$ ) of a small amount of sample. But it is not suitable for routine testing, because it is expensive and mathematical analysis is complicated. Thus, we evaluated three simplified methods; 1. the measurement of the angle where a constant amount of mucus start to flow down on the slide glass. 2. the measurement of spinability with Filancemeter. 3. the measurement of dry weight of the mucus. The results obtained by these three methods were compared with those given by the oscillating sphere magnetic rheometer. In preliminary study, we evaluated the usefulness of two simplified methods except dry weight of mucus. In order to obtain the wide rheological range of mucus, we used reconstituted nasal mucus. The results obtained by the preliminary study suggest that these simplified methods may correlate with  $G'$  and  $\eta'$  values determined by a magnetic rheometer.

Nasal mucus was collected from chronic sinusitis patients and used as mucus samples. The dry weight of nasal mucus was significantly correlated with both  $G'$  and  $\eta'$ . The simplified methods except dry weight of mucus were not correlated with the  $G'$  and  $\eta'$  values. Results indicates that the dry weight of mucus may be a good indicator in predicting the dynamic viscoelasticity of mucus from the patients with chronic upper and lower respiratory diseases.