

● 各施設一般演題 (4) : 耳鼻咽喉科 II-3

慢性副鼻腔炎粘膜のイオン輸送と貯留液の粘弾性

竹内万彦 鈴村恵理 平田圭甫 間島雄一
坂倉康夫

はじめに

気道の粘液は、腺からの分泌物や杯細胞からの分泌物のほか、上皮を介する Na^+ や Cl^- の移動に伴う水の移動により形成されている。気動粘液は線毛間液層と粘液層とに分けることができ¹⁾、イオン輸送に伴う水の輸送は、線毛間液の形成に関与し、さらに粘液層の物理的性質に影響を及ぼしていると考えられている^{2~4)}。しかしながら、これまでにイオン輸送と粘液のレオロジーとの関係を明らかにした報告はみられない。慢性副鼻腔炎は、上気道の慢性炎症性疾患の一つで、副鼻腔の一つである上顎洞にも、過分泌された粘液が貯留する。貯留液の多くは粘稠であるが、その生成機序は十分には解明されていない。

われわれは粘稠な貯留液の形成に粘膜のイオン輸送が関与しているのではないかと考え、慢性副鼻腔炎の手術時に上顎洞粘膜と上顎洞貯留液を同時に得られた症例で、粘膜の電気的特性と貯留液のレオロジー的性質を測定し、両者の間の関係を検討したので報告する。

1 対象ならびに方法

対象は手術適応のある慢性副鼻腔炎患者15例で男性4例、女性11例で平均年齢23.7歳(13~59歳)とした。手術の前処置として硫酸アトロピン0.5 mg, diazepam 10 mg を投与した。0.5% mepivacaine で上顎神経をブロックした後、

Caldwell-Luc 法にて上顎洞の前壁の骨を除去し、上顎洞粘膜をなかの貯留液を入れたまま袋状にして摘出し、直ちに上顎洞後壁粘膜をussing chamber に固定し、電気的特性を測定した。また採取した貯留液のレオロジー的性質を磁気振動球レオメーターにて測定した。

電気的特性の測定は粘膜摘出後30分以内に開始した。上顎洞後壁粘膜を一つの膜として、二つの chambers の間にはさみこみ(粘膜の露出面積 0.64~1.43 cm²)、両方の chambers を Krebs-bicarbonate Ringer 液 (140 Na^+ , 120 Cl^- , 5.2 K^+ , 25 HCO_3^- , 2.4 HPO_4^{2-} , 0.4 H_2PO_4^- , 1.1 Ca^{2+} , 1.2 Mg^{2+} , 5.6 glucose mM) により還流した。還流液は、37°C, pH 7.4 に維持した。粘膜の電気的特性を測定するため、二対の 0.9% NaCl 溶液を含んだ 3% 寒天で満たしたポリエチレンチューブにより測定した。これらの一端を粘膜両側から 2 mm 離して置き、他端を Ag/AgCl 電極に接続し、さらにこれを短絡電流測定装置 (CEZ-9100, 日本光電) に接続した。

もう一対の寒天橋は、粘膜から 1.5 cm 離れた両側に設置し、電位差を 0 にするように電流を流した。この電流は短絡電流と呼ばれ、正味のイオンの能動輸送量と相関することが確立されている⁵⁾。安定した電位差、短絡電流が得られるように最低90分間観察した。粘膜のコンダクタンス (mS/cm^2) は、短絡電流 ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$) を

Key words: Viscosity, Elasticity, Ion transport, Mucus

Table 1 Comparison of rheologic properties of various upper airway fluids (25°C, 1 Hz)

	Elastic modulus (Pa)	Dynamic viscosity (Pa s)
Normal nasal mucus (n=29)	3.5	0.179
Nasal mucus in sinusitis (n=75)	253.6±57.3	25.5±8.6
Maxillary fluid in sinusitis (n=15)	281.0±96.5	15.6±3.8

Values are mean±standard errors.

電位差 (mV) で除して得た。

ヒト鼻粘膜では主として Na⁺ は吸収され、Cl⁻ は分泌されることが知られている⁶⁾。そこで、Na⁺ の entry blocker である amiloride 10⁻⁴ M を粘膜側に作用させ、電位差、短絡電流の変化を求めた。amiloride 投与後の短絡電流は主として Cl⁻ の分泌によるものと考えられる。

次に amiloride による短絡電流阻害率を次式により求めた。

$$\text{短絡電流阻害率} = \left[\frac{\text{amiloride 投与前の短絡電流} - \text{投与後の短絡電流}}{\text{投与後の短絡電流}} \right] \times 100$$

粘膜による Na⁺ の吸収が少なく、residual current である Cl⁻ 分泌能が高いほど amiloride により短絡電流が阻害される率は少なくなる。

電気的性質の測定後、上顎洞粘膜をパラフィン固定し、hematoxylin-eosin 染色を施し、病理組織学的検討を加えた。

次に、粘液のレオロジー的性質を磁気振動球レオメーター⁷⁾により測定し、1 Hz, 25°C での動的弾性率、動的粘性率を求めた。測定は粘液採取後24時間以内に行った。この原理は 4 μl の粘液中の鉄球を電磁石で上下方向に振動させ、鉄球の動きを tracker にてとらえることにあり、磁界の強さ、鉄球の振幅、この両者の位相差から、動的弾性率と動的粘性率を求めた。

なお、値は平均±標準誤差で表した。

amiloride 投与前後の電位差、短絡電流、コ

ンダクタンスの比較は、対応のある t 検定で行った。レオロジーと電気的特性との相関は、一次回帰により検定した。p<0.05 を有意とした。

2 結 果

電位差は全例で粘膜側が負であった。amiloride 投与前は電位差 -3.27±0.49 mV、短絡電流 52.3±7.31 μA/cm²、コンダクタンス 16.50±0.76 mS/cm² であり、amiloride 投与後はそれぞれ -0.91±0.18 mV, 14.2±2.66 μA/cm², 18.89±1.83 mS/cm² であった。amiloride の投与により、電位差、短絡電流は有意 (p<0.01) に減少したが、コンダクタンスの前後で有意の変化を示さなかった。

上顎洞粘膜の病理組織学的所見では、粘膜固有層に浮腫の著しい、いわゆる浮腫型が5例であり、固有層に細胞浸潤の著しい浸潤型が10例であった。15例すべてにつき、上皮には杯細胞の増殖が見られたが、上皮の脱落などはみられずほぼ保たれていた。また、浮腫型と細胞浸潤型では電気的特性に差はみられなかった。

Table 1 は今回得られた慢性副鼻腔炎上顎洞貯留液のレオロジー的性質の値と、正常鼻汁のそれ⁸⁾、慢性副鼻腔炎患者の鼻汁のそれ⁹⁾ とを比較したものである。これより、今回の上顎洞貯留液のレオロジー的性質は正常鼻汁よりは高く、慢性副鼻腔炎鼻汁と同等の粘弾性を有することがわかる。

次にイオン輸送と粘液の動的弾性率との関係を調べた。amiloride による短絡電流阻害率と、1 Hz での動的弾性率との間には有意の正の相関 (r=0.59, p<0.05) を認めた。

amiloride による短絡電流阻害率と動的粘性率の間にも正の相関 (r=0.61, p<0.02) がみられた。

3 考 察

上顎洞壁は呼吸器の一つとして立方線毛上皮で覆われ、粘液線毛輸送が行われている。正常な粘液線毛輸送のためには粘液が正常なレオロジー的性質を有することが必要である¹⁰⁾。レオ

ロジー的性質のなかでも動的弾性率と動的粘性率が重要¹¹⁾である。動的弾性率と動的粘性率の値は測定時の周波数に依存し変化する。気道では線毛打頻度は約 10 Hz である¹²⁾が、実際に粘液に加えられる effective shear rate はずっと小さく、1 Hz から 1.5 Hz の間にあると考えられている¹³⁾。これが、われわれが今回 1 Hz を選んだ理由である。今回得られた結果から、上顎洞貯留液は正常鼻汁に比べ高い動的弾性率と動的粘性率をもつことがわかった。この正常から逸脱したレオロジー的性質は上顎洞貯留液が粘液線毛輸送機能により排除されずに洞内に貯留する一主要因であると考えられる。

今回得られた電気的特性の値は、他の報告と若干異なった値を示した。われわれの amiloride 添加前の電位差は平均 3.27 mV、コンダクタンスは 16.5 mS/cm² であり、これは最もよく研究対象にされるイヌ気管粘膜では電位差 29.3 mV、コンダクタンス 2.81 mS/cm² である¹⁴⁾のに比べて、今回の電位差はかなり低く、コンダクタンスは大きい。しかし、ヒト下甲介粘膜の電気的特性は、正常人では、電位差 4.7 mV、コンダクタンス 15.6 mS/cm² と報告されている¹⁵⁾。よって今回得られた電位差が低く、コンダクタンスが高いのは、一つには上顎洞粘膜そのものの性質であると思われる。しかし、鼻粘膜に比べてもなお電位差の値が低いのは、今回得られた粘膜が手術で摘出されるときにかなり損傷を受けたか、あるいは、慢性炎症のために障害を受けた結果かもしれない。

多くの気道上皮は能動的に Na⁺ を吸収し、Cl⁻ を分泌し、この両者のバランスによる浸透圧差により水輸送の方向が決められると考えられている¹⁶⁾。今回粘液の粘弾性と amiloride によって短絡電流が阻害される率とを比較した。安静状態では、ヒト鼻粘膜では能動的な Cl⁻ 分泌はほとんどみられず、Na⁺ の吸収が主である⁶⁾。正常の気道上皮では amiloride は Na⁺ の吸収を阻害し、Cl⁻ 分泌を促進させ、これが amiloride 投与後の短絡電流として反映される。amiloride による短絡電流阻害率が大きいとい

うことは、amiloride で阻害される Na⁺ の吸収が大きいか、あるいは residual current としての粘膜側に分泌される Cl⁻ が少ないことを意味する。

慢性副鼻腔炎での上顎洞粘膜では、杯細胞の増生はさほど多くないが、腺細胞の増生が著しく¹⁷⁾、よって上顎洞貯留液は主として腺より過剰分泌された粘液の貯留によるところが大きい。上顎洞貯留液の粘弾性と amiloride の短絡電流阻害率との間に有意の正の相関がみられたことより、Na⁺ の吸収が多い組織では水分も間腔側より吸収されており、腺より過剰分泌された上顎洞内の粘液が濃縮され粘弾性が高まっていると推定される。ヒツジに実験的に肺炎を起こさせた場合、粘液分泌が亢進し、管腔からの Na⁺ および水の吸収が高まることが報告されている¹⁸⁾。もう一つの可能な解釈は、residual current である Cl⁻ 分泌能の違いにより、短絡電流阻害率が決定されているのかもしれないということである。嚢胞性腭線維症では、apical membrane に Cl⁻ 透過性の障害があるため粘膜下側から amiloride を作用させたとき、正常粘膜に比べて短絡電流が阻害される率が高い¹⁵⁾。この嚢胞性腭線維症の Cl⁻ 透過性の障害は遺伝子レベルの内因性的のものであるが¹⁹⁾、慢性副鼻腔炎におけるイオン輸送の変化はおそらく慢性炎症により生じたものと思われる。この点を明らかにすることが今後の課題と思われる。

ま と め

1) 慢性副鼻腔炎手術時に得られた15例の上顎洞粘膜の電気的特性と、同時に得られた上顎洞貯留液のレオロジー的性質を測定し、比較した。

2) 上顎洞粘膜の電位差、短絡電流は amiloride 投与により有意に低下した。

3) 上顎洞貯留液の動的弾性率・粘性率は正常鼻汁より高く、慢性副鼻腔炎鼻汁と同等な値を示した。

4) amiloride による短絡電流阻害率と上顎洞貯留液の弾性率・粘性率との間に有意の正の

相関を認めた。

文 献

- 1) Yoneda K: Mucous blanket of rat bronchus. *Am Rev Respir Dis* **114**: 837-842, 1976
- 2) Nadel JA, Davis B, Hipps RJ: Control of mucous secretion and ion transport in airways. *Annu Rev Physiol* **41**: 369-381, 1979
- 3) Welsh MJ, Widdicombe JH, Nadel JA: Fluid transport across the canine tracheal epithelium. *J Appl Physiol* **49**: 905-909, 1980
- 4) King M: Viscoelastic properties of airway mucus. *Federation Proc* **39**: 3080-3085, 1980
- 5) Ussing HH, Zerahn K: Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuited isolated frog skin. *Acta Physiol Scand.* **23**: 110-127, 1951
- 6) Knowles MR, Clark CE, Fischer ND *et al*: Nasal secretions; role of epithelial ion transport. Mygind N, Pipkorn U ed, Allergic and vasomotor rhinitis; pathophysiological aspects. p 77-90, Munksgaard, Copenhagen, 1987
- 7) Hirata K: Dynamic viscoelasticity of nasal mucus from children with chronic sinusitis. *Mie Medical Journal* **34**: 205-219, 1985
- 8) Hirata K, Majima Y, Takeuchi K *et al*: Viscoelastic measurement of normal mucus in the respiratory tract (Abstract). *Biorheology* **23**: 521, 1986
- 9) Majima Y, Hirata K, Takeuchi K *et al*: Effects of orally administered drugs on dynamic viscoelasticity of human nasal mucus. *Am Rev Respir Dis* **141**: 79-83, 1990
- 10) King M, Gilboa A, Meyer FA *et al*: On the transport of mucus and its rheologic simulants in ciliated system. *Am Rev Respir Dis* **110**: 740-745, 1974
- 11) King M, Engel LA, Macklem PT: Effect of pentobarbital anesthesia on rheology and transport of canine tracheal mucus. *J Appl Physiol* **46**: 504-509, 1979
- 12) Lucas AM, 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) Dulfano MJ, Adler K, Philippoff W: Sputum viscoelasticity in chronic bronchitis. *Am Rev Respir Dis* **104**: 88-98, 1971
- 14) Widdicombe JH, Ueki IF, Bruderman I *et al*: The effects of sodium substitution and ouabain on ion transport by dog tracheal epithelium. *Am Rev Respir Dis* **120**: 385-392, 1979
- 15) Knowles MR, Stutts MJ, Spock A *et al*: Abnormal ion permeation through cystic fibrosis respiratory epithelium. *Science* **221**: 1067-1070, 1983
- 16) Frizzell RA: Role of absorptive and secretory processes in hydration of the airway surface. *Am Rev Respir Dis* **138**: S 3-S 6, 1988
- 17) 堀みどり: ヒト上顎洞粘膜分泌細胞の定量的組織化学. *耳鼻臨床* **80**: 979-986, 1987
- 18) Phipps RJ, Torrealba PJ, Lauredo IT *et al*: Bacterial pneumonia stimulates macromolecule secretion and ion and water fluxes in sheep trachea. *J Appl Physiol* **62**: 2388-2397, 1987
- 19) Yankaskas JR, Knowles MR, Gatzky JT *et al*: Persistence of abnormal chloride ion permeability in cystic fibrosis nasal epithelial cells in heterologous culture. *Lancet* **ii**: 954-956, 1985

**Bioelectric Properties of Maxillary Mucosa
and Rheological Properties of Maxillary Fluid
in Chronic Paranasal Sinusitis**

Kazuhiko Takeuchi, Eri Suzumura, Keisuke Hirata,
Yuichi Majima and Yasuo Sakakura

Department of Otorhinolaryngology, Mie University School of Medicine

Chronic paranasal sinusitis is a chronic inflammatory disease with fluid retention, most frequently in the maxillary sinus. We measured both viscoelasticity of maxillary sinus fluid and bioelectric properties of maxillary mucosa from fifteen patients with chronic sinusitis in an attempt to correlate the mucus viscoelasticity with bioelectric properties. The viscoelasticity was measured with an oscillating sphere magnetic rheometer within 24 hours after sampling. Potential difference and short circuit current of maxillary mucosa mounted in Ussing chambers, were measured before and after exposure of mucosal surface to amiloride. Viscoelasticity of maxillary fluid was as high as that of nasal mucus in the patients with chronic sinusitis. Both elasticity and viscosity showed significant positive correlation with per cent inhibition of short-circuit current by amiloride. Our results indicate that ion transport process plays an important role in the determination of viscoelasticity of maxillary sinus fluid in chronic sinusitis.