

## ● Session 2: 各研究施設のトピックス

## 気道粘液のレオロジー的性質とその役割

間島雄一 坂倉康夫 平田圭甫 竹内万彦  
森下篤人 大石公子 坂倉健二 清水猛史<sup>1)</sup>

## はじめに

気道粘膜は線毛上皮で被覆され、杯細胞や腺細胞からの分泌物は粘液層を形成する。線毛と粘液層とは粘液線毛機能を形成して気道の防御機構に重要な役割を演じている。気道粘液のレオロジー的性状は粘液線毛輸送に影響を与えているといわれており、そのなかでもとりわけ粘弾性的性質の重要性が指摘されている<sup>1)</sup>。本研究では、粘液線毛輸送機能に果たす粘液の粘弾性的性質とその役割について検討した。

## 1 方 法

## 1) 対 象

中耳腔貯留液：小児の滲出性中耳炎患者40名52耳より採取した中耳腔貯留液（粘液）を対象とした。採取は経外耳道的に鼓膜切開を行い、中耳腔に貯留した粘液を吸引採取した。採取した貯留液は4°Cに保存し、24時間以内にその動的粘弾性を測定した。残りの貯留液は-70°Cに凍結保存し、後日、カエル口蓋粘液線毛輸送速度を測定した。

正常鼻汁：気道疾患を認めない健康成人15名29側の鼻腔を対象とした。鼻腔粘膜（特に下鼻甲介と鼻中隔）表面に存在する鼻汁を市販の中耳貯留液採取器 Juhn Tym-Tap® を用いて採取した。採取した鼻汁は0°Cに保存し、6時間以内にその動的粘弾性を測定した。

## 2) 動的粘弾性の測定

動的粘弾性の測定には、Lutz ら<sup>2)</sup>の原理をもとにわれわれが考案、開発した変位設定方式磁気振動球レオメーター<sup>3)</sup>を用いて行った。図1は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对の駆動電磁石を持ち、カートリッジ式のディスプレイ容器のサンプルセル内に約4μlの微量試料とともに半径100μmの微小鉄球を封入して上下磁極の間隙にセットする。振動法により動的粘弾性を測定するには、鉄球を磁力により正弦振動的に上下に変位させる。目標変位の信号が波形発生装置より入力され、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が駆動される。鉄球の変位は電子光学式変位測定装置で観測される。

動的粘弾性は測定した磁力の振幅  $F_0$  (dyn) と変位の振幅  $X_0$  (cm) および磁力に対する変位の位相差  $\delta$  (rad) を用いて次の式で算出した。

$$\text{動的弾性率 } G' = \frac{F_0}{6\pi r X_0} \cos \delta \frac{2}{9} \rho s r^2 \omega^2 \quad (\text{dyn/cm}^2)$$

$$\text{動的損失 } G'' = \frac{F_0}{6\pi r X_0} \sin \delta \quad (\text{dyn/cm}^2)$$

$$\text{動的粘性率 } \eta' = \frac{G''}{\omega} \quad (\text{poise})$$

なお、上の式において  $r$  は鉄球の半径 (cm)、

**Key words:** Mucociliary clearance, Mucus, Normal mucus, Viscosity, Elasticity

<sup>1)</sup> 三重大学医学部耳鼻咽喉科（主任：坂倉康夫教授）

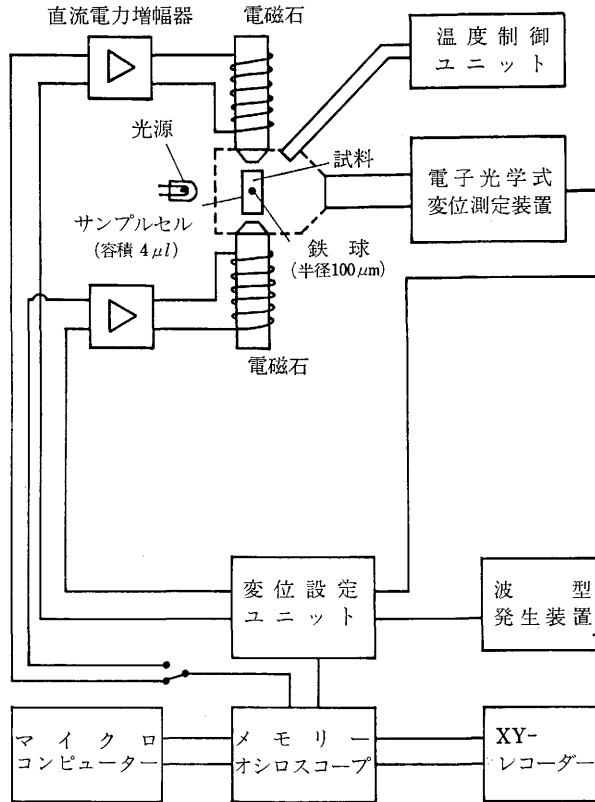


図1 磁気振動球レオメーターの構成

$\rho_s$  は鉄球の密度 ( $\text{g}/\text{cm}^3$ ),  $\omega$  は角振動数 ( $\text{rad}/\text{sec}$ ) を示す。

試料の振動数 1 Hz における  $G'$ ,  $\eta'$  を  $25^\circ\text{C}$  の一定温度下に測定した。

### 3) カエル口蓋粘液線毛輸送速度

カエル口蓋線毛モデルは Sadé ら<sup>4)</sup> の方法に基づいて作製した<sup>5)</sup>。約  $2 \mu\text{l}$  の中耳貯留液をカエル口蓋粘膜の正中部に置き、粘液がカエル口蓋線毛機能により運搬される動きを実体顕微鏡下に観察した。粘液が 5 mm 動くのに要する時間を測定し、粘液線毛輸送速度 (カエル口蓋粘液線毛輸送速度) を算出した。測定は  $25^\circ\text{C}$ , 90% rh で行った。

### 4) 統計学的解析

相関の検定は least squares 法によった。また、文中の値は平均値  $\pm 1$  標準偏差で示した。

## 2 結 果

### 1) 動的弾性率 $G'$ と粘液線毛輸送速度との相関

中耳腔貯留液の  $G'$  を横軸に対数目盛りで、また同一試料のカエル口蓋粘液線毛輸送速度を縦軸に算術目盛で示した (図 2)。輸送速度は  $G'$  が約  $20 \text{ dyn}/\text{cm}^2$  で最も速く、 $G'$  が  $20 \text{ dyn}/\text{cm}^2$  以下では輸送速度と  $\log G'$  との間に有意の正の相関が認められた ( $r=0.4723$ ,  $p<0.05$ )。また、 $G'$  が  $20 \text{ dyn}/\text{cm}^2$  を越えると輸送速度は  $\log G'$  と有意の負の相関を示した ( $r=-0.5288$ ,  $p<0.05$ )。

### 2) 動的粘性率 $\eta'$ と粘液線毛輸送速度との関係

$\eta'$  が約 2 poise で輸送速度は最大となり、2 poise 以下では  $\log \eta'$  と輸送速度との間に有意の正の相関がみられた ( $r=0.4048$ ,  $p<0.05$ )。また  $\eta'$  が 2 poise 以上では両者の間に負の相関が認められた ( $r=-0.5227$ ,  $p<0.01$ ) (図 3)。

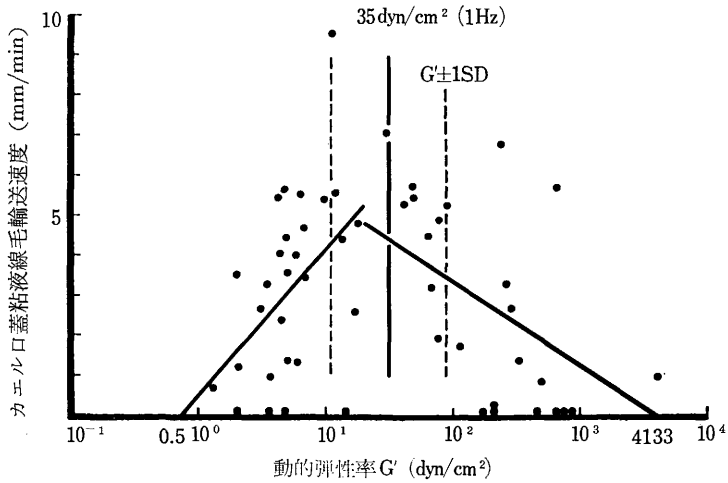


図2 中耳腔貯留液のカエル口蓋粘液線毛輸送速度と動的弾性率( $G'$ )の相関  
 :|:は正常鼻汁の平均値  $\pm 1$  標準偏差

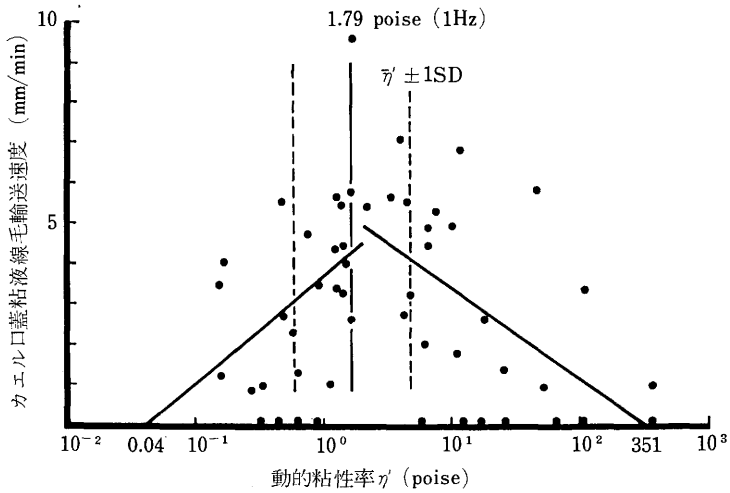


図3 中耳腔貯留液のカエル口蓋粘液線毛輸送速度と動的粘性率( $\eta'$ )の相関  
 :|:は正常鼻汁の平均値  $\pm 1$  標準偏差

3) 正常鼻汁の動的粘弾性

$G'$  は平均  $35 \text{ dyn/cm}^2 \pm 0.46 \text{ log unit}$ ,  $\eta'$  は平均  $1.79 \text{ poise} \pm 0.47 \text{ log unit}$  であった。

3 考 察

粘液のレオロジー的性質と粘液線毛輸送機能との関係については、Dulfano と Adler<sup>6)</sup> が新鮮なヒト喀痰を用いてその viscosity ( $\eta$ ) およ

び elastic recoil ( $S_R$ ) とカエル口蓋粘液線毛輸送機能との関係を検討し、輸送速度と  $S_R$  との間には有意の正の相関を認めたと報告している。また King<sup>7)</sup> は、新鮮なイヌ気管粘液を用いてカエル口蓋粘液線毛輸送速度と  $\log G'$ ,  $\log \eta'$  がそれぞれ負の相関を示したと報告している。 $S_R$  と  $G'$  とは逆の関係にあると考えら

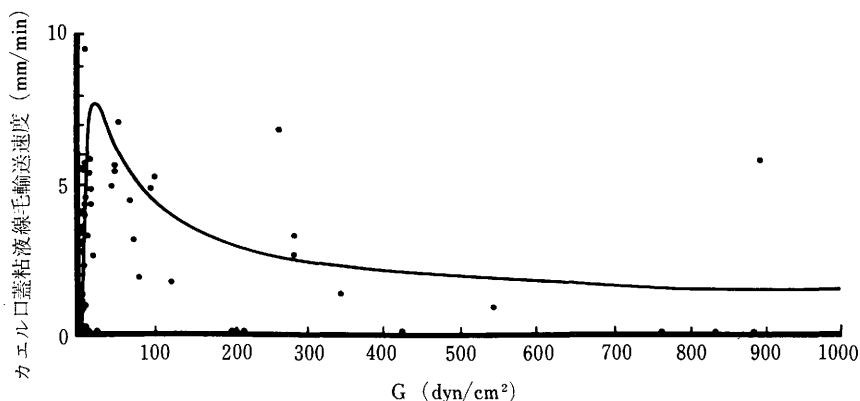


図4 中耳腔貯留液のカエル口蓋粘液線毛輸送速度と動的弾性率 ( $G'$ ) との関係  
図2の  $G'$  を対数目盛から算術目盛に書き改めたもの

れることから、これらの結果はすべて  $G'$  または  $\eta'$  の増加に従って輸送速度が低下するものであると解することができる。一方、Shih ら<sup>8)</sup> は、イヌ気管に作製した tracheal pouch より採取した粘液を粉末化してこれを溶媒に溶解して作製した再生粘液を用いて再生粘液濃度と輸送速度との関係を検討し、輸送速度は濃度の増加に伴って増加し、1.5~2%の濃度で輸送速度が最も速く、この濃度を越えると濃度の増加に伴って輸送速度は低下したと報告している。

新鮮な中耳腔貯留液を用いたわれわれの検討では、King ら<sup>7)</sup> と Shih ら<sup>8)</sup> の両方の報告を満足する結果を得た。つまり、測定周波数 1 Hz において、 $G'$  が 20 dyn/cm<sup>2</sup> または  $\eta'$  が 2 poise で輸送速度は最大となり、 $G'$ 、 $\eta'$  がこの値以下では輸送速度と  $\log G'$  または  $\log \eta'$  との間には正の相関が認められ、また  $G'$  と  $\eta'$  がそれぞれ 20 dyn/cm<sup>2</sup>、2 poise を越えると輸送速度と  $\log G'$  または  $\log \eta'$  との間に負の相関が認められた (図2, 3)。

また図2, 3において回帰直線が横軸と交叉する点、すなわち粘液の  $G'$  が 0.5 dyn/cm<sup>2</sup> 以下または 4133 dyn/cm<sup>2</sup> 以上、 $\eta'$  が 0.04 poise 以下または 351 poise 以上では、理論上、粘液線毛輸送機能が停止する可能性が示唆された。

粘液線毛輸送速度に動的粘弾性が重要であることが示されたわけであるが、さらにこの関係

を容易に理解するために、図2の  $G'$  の対数目盛を算術目盛に変換したのが図4である。輸送速度は、 $G'$  が 0.5 dyn/cm<sup>2</sup> から 20 dyn/cm<sup>2</sup> までは  $G'$  の増加を敏感に反映して急勾配で速度を増し、 $G'$  が 20 dyn/cm<sup>2</sup> を越えると  $G'$  の増加に伴い緩やかな勾配で速度の低下をきたすことがわかる。

喀痰や鼻汁は、それらが喀出または流出すること自体病的な状態であるため、その性状や組成の正常の基準値が確立されておらず、これが気道粘液の物理化学的性状から疾病や病態の診断や経過の判定を困難にしてきた要因である<sup>9)</sup>。正常気道粘液を採取しようとする試みは以前よりなされてきており、その1つは洗浄液を気道に注入した後、これを回収して正常気道液の性状を知ろうとするいわゆる鼻洗浄や気管支洗浄がこれである。この方法は希釈倍数を正確に知ることができないことや、物理化学的性状の測定には不向きであることが欠点である。この理由から希釈を加えずに正常に近い気道粘液を得る試みがなされ、グラスファイバーメッシュを気管に挿入してここに集まった粘液を採取する方法<sup>10)</sup>、鼻内にフィルターペーパーなどを挿入し、気道液をこれに吸収させた後回収する方法<sup>11)</sup>等が考案されたが、いずれも気道の刺激を避けることはできないという欠点を持っていた。近年では、King と Macklem<sup>12)</sup> の細胞診

ブラシによる正常気道粘液の採取や、気管の一部を神経、血管とともに皮下に埋め込んで、ここで産生され貯留した粘液を採取する tracheal pouch<sup>13)</sup>がより自然に近い気道粘液採取法と考えられるが、前者は採取量が極めて少量であること(2~5  $\mu$ l)、後者はヒトに適応できないという欠点を有している。今回われわれが用いた中耳腔貯留液採取器による正常者鼻粘液の採取は鼻粘膜への機械的刺激が少なく、ほぼ正常に近い気道粘液が採取されるものと思われる。またその採取量も  $51 \pm 26 \mu$ l<sup>14)</sup>と King ら<sup>12)</sup>の細胞診ブラシによる方法よりもはるかに多く、簡便かつ有効な手段と考えられる。

このような方法で得られた正常鼻汁の  $G'$ ,  $\eta'$  を、先に得られた滲出性中耳炎中耳腔貯留液の  $G'$ ,  $\eta'$  とそのカエル口蓋粘液線毛輸送速度との関係直線上に示すと、最も効果的な輸送速度を示す  $G'$ ,  $\eta'$  付近に分布することが判明した(図2, 3)。このように、正常気道粘液は粘液線毛輸送機能に最適な粘弾性の性質を有していることが、本研究より明らかとなった。

### 文 献

- 1) Litt M.: Mucus rheology. Relevance to mucociliary clearance, *Arch. Intern. Med.* **126**: 417~423 (1970)
- 2) Lutz R.J. *et al.*: Physical-chemical factors in mucus rheology. In: *Rheology of biological systems*, ed. by Gabelnick H.L. & Litt M., Charles C. Thomas, Springfield (1973), pp. 119~157
- 3) Hirata K.: Dynamic viscoelasticity of nasal mucus from children with chronic sinusitis, *Mie Med. J.* **34**: 205~219 (1985)
- 4) Sadé J. *et al.*: The role of mucus in transport by cilia, *Am. Rev. Respir. Dis.* **102**: 48~52 (1970)
- 5) 間島雄一ほか: 纖毛モデルとしてのカエル口蓋粘膜上皮, *医学のあゆみ* **128**: 20~22 (1984)
- 6) Dulfano M.J. & Adler K.B.: Physical properties of sputum. VII. Rheologic properties and mucociliary transport, *Am. Rev. Respir. Dis.* **112**: 341~347 (1975)
- 7) King M. *et al.*: Effect of pentobarbital anesthesia on rheology and transport of canine tracheal mucus, *J. Appl. Physiol.* **46**: 504~509 (1979)
- 8) Shih C.K. *et al.*: Effect of nondialyzable solids concentration and viscoelasticity on ciliary transport of tracheal mucus, *Am. Rev. Respir. Dis.* **115**: 989~995 (1977)
- 9) 長岡 滋: 咯痰学の現状と問題点, *中外医薬* **32**: 294~297 (1979)
- 10) Proctor D.F. *et al.*: A method for collecting normal respiratory mucus, *Bull. Physiopath. Resp.* **9**: 351~357 (1973)
- 11) Lorin M.I. *et al.*: Quantitative composition of nasal secretions in normal subjects, *J. Lab. Clin. Med.* **80**: 275~281 (1972)
- 12) King M. & Macklem P.T.: Rheological properties of microliter quantities of normal mucus, *J. Appl. Physiol.* **42**: 797~802 (1977)
- 13) Wardell Jr. J.R. *et al.*: The canine tracheal pouch: A model for use in respiratory mucus research, *Am. Rev. Respir. Dis.* **101**: 741~754 (1970)
- 14) 平田圭甫ほか: 正常気道粘液の動的粘弾性の測定, *日本バイオレオロジー学会論文集* (1986), 掲載予定

## The Role of Viscoelasticity of Respiratory Mucus on Mucociliary Transport

Yuichi Majima *et al.*

*Department of Otorhinolaryngology, Mie University School of Medicine*

Both elastic modulus ( $G'$ ) and dynamic viscosity ( $\eta'$ ) of 52 middle ear effusions were determined by an oscillating sphere magnetic rheometer and compared with transportability of the effusions on mucus-depleted bullfrog palate. The experiments were performed under the constant temperature of 25°C. A maximum value of transport was obtained at  $G'$  of about 20 dyn/cm<sup>2</sup> (at 1 Hz). Below this value there was a significant positive correlation between the transport rate and log  $G'$ . Above 20 dyn/cm<sup>2</sup>, the negative correlation between the transport rate and log  $G'$  was significant. A similar significant correlation between the transport rate and log  $\eta'$  was obtained. The maximum value of transport was obtained at  $\eta'$  of about 2 poise (at 1 Hz). Below  $\eta'$  of 2 poise, there was positive correlation, and above 2 poise, negative correlation was observed.

Twenty-nine normal nasal mucus were collected from the each nasal cavity of healthy human adults, and its dynamic viscoelasticity were determined at 1 Hz.  $G'$  of normal mucus averaged 35 dyn/cm<sup>2</sup>±0.46 log unit, and  $\eta'$  averaged 1.79 poise±0.47 log unit. Our results indicate that both  $G'$  and  $\eta'$  of normal respiratory mucus exist in the viscoelastic range for optimal transport efficiency.