

CHRONIC SINUSITIS AND CHEMOTAXIS

S.FURUTA, S.MATSUNAGA, T.SHIMA, M.OHYAMA

Department of Otolaryngology, Faculty of Medicine, Kagoshima University.

Polymorphnuclear(PMN) leukocytes play an important role in maintaining homeostasis, especially in immunity during a process of defense mechanism. These neutrophils show also protecting effects against microorganisms by their phagocytic and bacteriocidal activities in a physiological condition. Chemotaxis may be defined as the directional migration of leukocytes toward a massive influx of PMN leukocytes occurs in an area of inflammation substances involving complement components, bacterial culture filtrates, extracts from the leukocytes themselves, and tissues with virus. Neutrophil chemotactic function and the lipoxygenase metabolites of an arachidonic acid of nasal secretion were studied in patients with chronic sinusitis. From the results thus obtained, the pathogenesis of this nasal lesion discussed briefly.

(Material and method)

1) Chemotactic assay; Heparinized venous blood was drawn from both healthy volunteers and the patients. Erythrocytes were allowed to sediment by gravity at room temperature for a period of a half hour. Leukocyte-rich plasma was removed and the concentration of PMN leukocytes was adjusted

to 1×10^6 /ml. Chemotaxis was assayed by a modification of the Boyden technique with Millipore filters of 3μ porosity and human PMN leukocytes obtained 3 hrs after i.p. installation of FMLP or nasal secretion.

2) Leukotriene and the related metabolites such as leukotriene B₄, hydroxyeicosatetraenoic acid(HETE) in the nasal fluid were extracted by a modification of the Salali method and SRS-A were extracted by HPLC and were identified by the bioassay method.

(Result) The chemotactic index of neutrophil in patients with chronic sinusitis to FMLP was demonstrated peak value at the concentration of 1×10^{-8} /ml. It was higher than that of normal subjects. The chemotactic responsiveness of human PMN leukocytes to the nasal secretion was fairly higher than that to the chemotactic agent FMLP. The activities of leukotriene B₄, 5 HETE, 12 HETE and SRS-A were identified in nasal fluid. As the chemotactic substances in nasal fluid of chronic sinusitis, it was suggested that there were either some kinds of the proteins or the lipoxygenase products, especially leukotriene B₄ and 5 HETE.

慢性副鼻腔炎とCHEMOTAXIS

鹿児島大学医学部耳鼻咽喉科学教室

古田 茂・松 永 信 也

島 哲 也・大 山 勝

はじめに

炎症病巣が存在すると、その局所には炎症細胞の遊走が見られ、異物や代謝廃棄物を貧食処理し、炎症を修復過程へと導く、したがって、これら遊走細胞の機能を検索することにより、宿主の炎症に対する防御機能の一端を垣間見ることが可能となる。我々は、副鼻腔炎の病態を解明する一手段として、患者好中球機能を検索することとした。そして、今回はその中で、特に、遊走能に対して検討を加えたところ、若干の興味ある知見が得られたので報告する。

研究方法

1. 好中球遊走能測定：好中球遊走因子の測定には、Boyden Chamber 法を用いた¹⁾。好中球浮遊液作成には、ヘパリン加静脈血に6%生食デキストランを加え赤血球を除去し、Ficol paque を加え400gで遠心しリンパ球を除去した。最終的に緩衝液にて 1×10^6 個/mlに調整した。遊走因子も緩衝液にて溶解し、chamber 装着後3時間37℃の恒温器に静置した。フィルターの色法は鉄ヘマトキシリン染色で行い、アルコール脱水を経て、キシレンにて透徹後、バルサムで包埋した。chemotactic index (以下C I)の算出には、400倍にて5視野を鏡検し、フィルター内の総数を参考にした。フィルターは pore の直径が 3μ のものを使用した。遊走因子として chemotactic peptid である FMLP(n-formyl-methionyl-phenylalanine)を用いた。また、鼻汁は湿重量当たりPBSで4倍に希釈して

ホモゲナイズし、15000回転、低温で遠心し、さらに上清を10倍に希釈して使用した。

2. アラキドン酸 Lipoxygenase 代謝産物：Leukotriene (以下LT) B₄, hydroxyeicosate traenoic acid (以下HETE)の抽出定量は、Salari²⁾らの方法にしたがい若干の変更を加えた。SRS-Aの抽出定量は、腰原の方法³⁾にしたがった。そして抽出した物質は高速液体クロマトグラフで分析した。更に、HETE, LT B₄は好中球遊走能で回定し、SRS-Aはモルモット同腸の収縮反応にて同定した。

研究成績

FMLPに対する好中球遊走能を検討すると、正常人では、遊走能はFMLP 10^{-8} M濃度にピークを示し、C Iは5.8であった。フィルター中での深さ40 μ , 60 μ 80 μ および100 μ におけるそれぞれの値でも、同様の結果が得られた。副鼻腔炎患者では、そのピークはFMLPの 10^{-8} Mの濃度で見られるが、C Iは患者群で8.2と高値を示した。因みに、鼻アレルギー患者ではほとんど正常者群と変化を認めなかった(図1)。鼻汁に対する正常人の好中球遊走中能を検討すると、鼻アレルギー鼻汁に比べて、副鼻腔炎患者鼻汁では、好中球遊走能は強く認められた。したがって、副鼻腔炎鼻汁に含まれる遊走因子は比較的高いと考えられる(図2)

患者鼻汁中には、表1の様に、SRS-A, LT B₄, HETE類が存在することが判明した。SRS-Aとしては、LTC₄, D₄, E₄と

にも検出された。しかし、この3者の間には、LTC₄ からE₄ へと時間の経過で変化をするという関係があり、E₄ が多く認められている鼻汁は採取までの時間が長かったことにも起因するものと考えられる。また、LTB₄ は5例中1例に認められ、HETE類では12HETE、5HETEが認められ、15HETEは認めなかった。

図1 FMLPに対する好中球遊走能

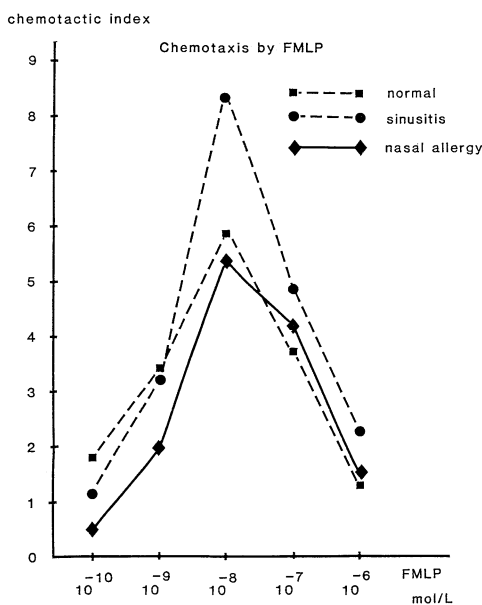


図2 鼻汁に対する正常人好中球遊走能

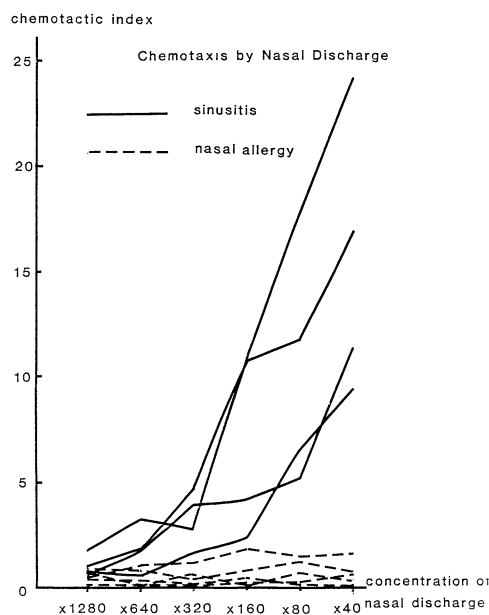


表1 鼻汁中のSRS-A, LTB₄とHETE

case	LTC ₄	LTD ₄	LTE ₄	LTB ₄	5-HETE	12-HETE	15-HETE
	(U/g)			(ng/g)			
nasal allergy	1.4	10.0	N.D.	N.D.	N.D.	211	N.D.
sinusitis							
1	N.D.	83.3	4.7	N.D.	6	2503	N.D.
2	8.0	0.5	7.5	N.D.	N.D.	939	N.D.
3	1.9	0.5	0.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
4	6.8	11.9	6.0	N.D.	N.D.	220	N.D.
5	N.D.	N.D.	12.0	288	N.D.	N.D.	N.D.

N.D.: not detectable

考 按

副鼻腔炎の好中球機能を考える場合、本来ならば遊走、付着、貪食、殺菌、消化の各機能を検索するべきであるが、今回は、この中で、遊走機能について検討を加えた。遊走機能の異常には好中球自体の異常と、外部環境の異常のために二次的に機能異常を起こす外因性の異常とがある。好中球の細胞自体に内因的欠陥があるものとしては、Lazy-leukocyte syndrome⁴⁾、Chediack-Higashi syndrome⁵⁾や好中球の形態異常を伴う先天性の疾患⁶⁾や、液性あるいは細胞性免疫不全を伴った時に⁷⁾認められる。外因性の異常としては、遊走因子の障害や遊走阻止因子の増加が挙げられ、また、臨床的に使用される種々の薬剤によっても顆粒球機能を低下させると言われている^{8) 9)}。

好中球自身の機能検索のため、遊走因子としてFMLPを使用した。FMLPに対する遊走能は10⁻¹⁰M~10⁻⁶Mの各濃度について検討したが、正常者では、10⁻⁸Mにピークを示し、CIは5.8であった。副鼻腔炎患者では同様に10⁻⁸Mにピークを示し、CIは8.2と高値を示し、好中球の好中球の遊走機能の亢進がうかがわれた、しかし、臨床的に遷延化傾向の見られる症例においては、著しく遊走機能の低下するものも認められた。

一方、好中球を取巻く外界因子つまり、遊走因子として、補体、細菌、血漿および組織由来の成分が考えられる。これらのものはすべ

て鼻汁に含まれる可能性がある。しかし、副鼻腔炎鼻汁の場合、補体、細菌成分やLTB₄がその成分ではないかと考えている。そして、鼻汁に対する好中球遊走機能を検討したが、鼻汁の遊走因子としての強さはFMLP 10⁻⁸ Mの約2～5倍を示した。FMLPは細菌成分を表現する chemotactic peptid¹⁰⁾ であり鼻汁中の遊走因子としては蛋白成分以外の物質にも着目しなければならないと考える。そのため、今回、我々は、アラキドン酸のlypoxxygenase代謝産物を測定した。過去、気道分泌液中での lypoxxygenase 代謝産物の検討は少なく、主に下気道分泌液を対象とし、鼻汁中での検討は皆無に等しい。lypoxxygenase による代謝産物は遊走能や血管透過性因子に cyclooxygenase 系のPG E₁, PG E₂ やPGI 等とともに、炎症過程に深く関与している。その中で、好中球の遊走能に働くものとしては、5HETE, 12HETE, LTB₄ などである。その強さはLTB₄>5HETE>12HETE の順と言われている。今回の検索では、LTB₄, 5HETE は5例中1例に、12HETEは5例中4例に認められた。鼻汁中に存在するこれらの物質は主に遊走してきた好中球より産生されるものであろう。したがって、これらの物質の検索は局所における好中球機能を十分に反映すると予想される。

鼻汁は鼻副鼻腔の病態を反映しうる格好の材料である。今後症例を増やし副鼻腔感染症の病像と好中球遊走機能との問題について検索すべきはいうまでもない。

ま と め

- 1) 慢性副鼻腔炎患者の好中球遊走機能を検索した。
- 2) 患者好中球のFMLPに対するCIは10⁻⁸ Mでピークを示し、正常者群の1.6倍であった。
- 3) 患者鼻汁に対するCIはFMLP10⁻⁸ Mの約2～5倍を示した。

- 4) 鼻汁中の lypoxxygenase 代謝産物の検索では、LTB₄, 5HETE, 12HETEとともにSRS-Aも認められた。
- 5) 鼻汁中に存在する好中球遊走因子は蛋白成分のみならず lypoxxygenase 代謝産物も深く関与している。

参 考 文 献

- 1) 辻芳郎, Quie, P. G.: 白血球遊走能検査法に関する研究。臨床免疫 8 : 895-899, 1976。
- 2) Salari, S. H., Devoe, I. W., Powell, W. S.: Inhibition on leukotrienB₄ synthesis in human polymorphonuclear leukocytes after exposure to meningococcal lipopolysaccharide. Biochemical and biophysical research communications 104 : 1517-1524, 1982。
- 3) 腰原康子: プロスタグランジンの生化学。p. 201-206, 1982。東京化学同人。
- 4) Miller, M. E., Oski, F. A. & Harris, M. B.: Lazy-leukocyte syndrome. A new disorder of neutrophil function. Lancet, 3 : 665, 1971。
- 5) Clark, R. A. & Kimball, H. R.: Defective granulocyte chemotaxis in the Chediak-Higashi syndrome. J. Clin. Invest., 50 : 2645, 1971。
- 6) Boxer, L. A., Hedley-Whyte, E. T. & Stossel, T. P.: Neutrophil actin dysfunction and abnormal neutrophil behavior. N. Engl. J. Med., 291 : 1093, 1974
- 7) Hill, H. R., Williams, P. B., et al.: Recurrent staphylococcal abscesses associated with defective neutrophil chemotaxis and allergic rhinitis. Ann. Int. Med., 85 : 39-43, 1976。
- 8) Valerius, N. H.: In vivo effect of colchicine on neutrophil granulocyte locomotion. Acta. Path. Microbiol. Sca-

- nd. Sect. B, 86 : 149—154, 1978。
- 9) Bowers, T. K., Craddock, P. R., Jacob, H. S. : Acquired granulocyte abnormality during drug allergic reaction of complement activation. *Blood* 49 : 3-8, 1977。
- 10) Niedel, J. E. : Formylpeptid chemotactic chemotactic receptors of leukocytes and macrophages. *Current Topics in Cellular Regulation*, 17 : 137—140, 1980。
- 11) Turnbull, L. W., Turnbull, L. S., et al. : Variations in chemical mediators of hypersensitivity the sputum of chronic bronchitis : correlation with peak expiration flow. *Lancet* July 22 : 184—187, 1978。