Kanamycin の聴器毒性に対する Vitamin B₁ 誘導体の影響について (第一報)

福島県立医科大学耳鼻咽喉科学教室

(主任：大内 仁教授)

大谷 巖・石田 弘子・小川 克二・大内 仁

I 緒 言

伝音難聴の多くの症例が、いわゆる機能的手術の発達によって、聴力改善への希望がひらけつつあるに反して、いわゆる感音難聴の治療は、古くから種々試みられているにもかかわらず、依然として悲観的状态にある。例えば騒音による難聴や、抗生物質その他の薬物による難聴などは、原因が明らかであって、しかも内耳の障害部位等について多くの知見が加えられて徐々にその病態が明らかにされて来ているにもかかわらず、まだ適切な治療法の確立を見ることができないのが現状である。少くともこの領域の感音難聴に対する治療法の開発は、耳科学に於て最も興味あり、かつ實際上重要な主題の一つである。

我々は薬物中毒特に kanamycin (以下KMと略す) による聴器障害の予防・治療法の確立を目ざした。すでに報告したごとく、我々は、KMが蝸牛機能を障害する経過の実態を明らかにした¹⁾。この知見にもとづいて、薬物的療法がいかなる効果をKMによる蝸牛障害に対してもつかを検討することとした。すなわち我々が明らかにしたKM中毒による蝸牛機能障害の過程と、それに関連する蝸牛内の病態を、何らかの薬物的効果によって、改善の方向に変化せしめることができれば、そこに我々はKMによる蝸牛障害の治療あるいは予防に対する有効な手段を見出す手がかりを得ることができるだろうと考えたのである。

現在感音難聴治療の薬物として最も広く用いられているものに vitamin B₁ (以下 Vit. B₁ と略す) がある。これは Selfridge²⁾ (1937) が感音難聴の原因は Vit. B₁ 欠乏にありとして、はじめて Vit. B₁ 療法を唱え、また河田³⁾ (1940) が、Vit. B₁ 投与により聴力障害の回復をみとめて以来、種々の感音難聴の治療に広く用いられて来たものであるが、最近では数多くの Vit. B₁

誘導体が開発され、その大量療法が行なわれるようになってきている。最近の大量療法の傾向は、もはや Vit. B₁ 欠乏という古典的な考え方では考えられないことで、B₁ の神経賦活作用に期待するとされているのであるが、蝸牛機能障害に対する Vit. B₁ 効果の基礎的研究、特に蝸牛機能を長期間に亘って他覚的に測定することによって Vit. B₁ 効果を実証的に検討した実験報告をみることはできなかった。

よって我々は今回KMの聴器機能障害に対して Vit. B₁ 誘導体がいかなる影響を及ぼすかを検討する目的で、正円窓永久電極家兎により cochlear microphonic (以下CMと略す) を指標として以下の実験を行い、興味ある知見を得たので報告する。Vit. B₁ 誘導体としては O.S-dicarbethoxythiamine⁴⁾ (以下DCETと略す) を使用した。

II 実験方法

1. 実験動物

正円窓膜に永久電極装着後、電位の安定した体重 2～3kg の正常成熟家兎13羽を以下のごとく2群に分けて使用した。すなわち I 群 (5羽) には、KM 100mg/kg を単独に投与し対象群とし、II 群 (8羽) には KM 100mg/kg と DCET 20mg/kg とを併用投与した。いずれの薬剤も24時間毎に連日腹腔内注射により投与した。

2. 実験装置

その系統図を図1に示す。CM用音源として oscillator からの純音を attenuator を通して減衰し、これを power amplifier で増幅した後 speaker に導いた。更にこの speaker の先端は、毎回の測定条件の恒常性を図るために個々の家兎の外耳道に合致するよう石膏で作成した ear mold のビニール管に接続して外耳道に導き、closed system とした。

図1 実験装置

反応電位の測定は家兎を押田式固定器に固定し、防音シールド室内で無麻酔で行った。個々の家兎につき測定記録した電位は 1000Hz, 80dB (SL) の検査音に対する CM である。誘導された CM は pre-amplifier で増幅した後、ブラウン管 oscilloscope 及び真空管電圧計に導き観察記録した。

III 実験成績

実験動物13羽について、1000Hz, 80dB (SL) の検査音に対する CM の経日的変化を推移曲線として図2に示した。薬剤投与前の CM のレベルを 100 としてその後変化の度を%で示している。

まず I 群すなわち KM 単独投与群の推移曲線を見ると、KM 投与からある期間投与前のレベルを維持し、その後急激に低下を示している。投与開始から CM が低下し始まるまでの期間をみると 4 日から 22 日と動物

により相当の幅がみられる。しかし CM が一旦低下し始めると速やかに低電位に移行するのが一般的な傾向である。このような KM 投与による CM の経日的な経過は前に報告した成績に一致するものであった。

次に II 群すなわち DCET 併用群の経過をみると、CM が低下し始まるまでの期間は 5 日から 34 日と非常に幅の広い範囲にあり、I 群の CM 低下開始日の範囲よりはるかに延長しているもの (RW-203, 212, 213) がみられた。

また CM 低下開始後の経過をみると I 群と異なりいずれの動物も比較的ゆるやかな勾配で低電位に移行している。

このような I 群と II 群との CM 低下開始後の経過曲線の勾配を比較するために、図2を CM 低下開始日を起点にして書きかえてみると図3のごとくなり、I 群と II 群とでは画然と異なった低下のパターンを示していることが分る。例えば CM が低下開始後より CM が 50% に低下するまでの期間をみると、その平均日数は I 群で 3.9 日、II 群で 8.6 日となる。

すなわち CM が低下し始めてから CM が 50% に低下するまでに要する日数が II 群では I 群の 3 倍近くとなっている。

またこの I 群と II 群の成績の有意差をコンピューターで解析してみると、5% の危険率で、薬剤投与後から CM 低下開始までの期間には、現在の例数では両群に、有意差は認められなかったが、CM 低下開始後のパターンには有意の差が認められた。

図2 CM の経日的推移曲線

図3 C M 低下曲線

V 考 察

現在まで感音難聴に対して有効であるとして行われてきた薬物療法は非常に多い。ビタミン類、代謝改善剤、血管拡張剤等が内耳の生化学、電気生理学、組織化学等の発達に伴って、内耳機能に深い関係をもつことが知られた。その成果に立ってこれらの作用をもつ多くの薬剤が実際臨床に用いられているが、仲々期待される効果を示さないのが現状である。その重大な理由の一つとして、個々の薬剤が果して蝸牛内においても理論通りの作用を示すかどうかの実証的検討が必ずしも確実な蝸牛機能を指標として行なわれているとは限らないことをあげねばならない。最近、菅⁵⁾ (1969) がいわゆる血管拡張剤と言われる薬剤について検討した結果は、我々が予想するところとは大分ことなるものであることが明らかになったが、従来有効であるとして使用されてきている薬剤を、蝸牛機能の変化との関連の下に、一つ一つ実証的にその有効性を検討することをまず我々は始めねばならない。

KMによる聴器障害の予防に関する実験的研究は、これまでに種々の薬剤により、機能的あるいは形態学的検討が行なわれてきた。志多他⁶⁾ (1960) はモルモットで CM-pseudothreshold と最大 CM voltage とを指標としてコンドロイチン硫酸、パントテン酸カルシウム、N-アセチルグルコサミン、N-アセチルガラクトサミン及びチオクト酸の各薬剤の効果を検討し、前4剤に予防効果を認めた。Plattig⁷⁾ (1967) は猫の活動電位を指標とし、またOstyn & Tyberghein⁸⁾ (1968)

はモルモットのCM及び病理組織学的検索からパントテン酸の効果を認め、佐藤他⁹⁾ (1968) はモルモットの耳介反射及び病理組織学的検索から NAD (nicotinamide adenine dinucleotide) の予防効果を認めている。Portmann & Darrouzet¹⁰⁾ (1964), Darrouzet¹¹⁾ (1967) はモルモットの病理組織学的実験でビタミンB複合体とアミノ酸の併用により、KMの内耳障害に対してその予防効果を認めている。しかし同様の薬剤による Aran¹²⁾ (1967) のCMを指標とした実験では結論は引き出せなかったとしている。

以上のようにKMによる聴器障害の予防に対して種々の薬剤による試みがなされているが Vit. B₁ の効果をみた報告はみられない。またこれらのいずれの報告も内耳障害の一時期において種々の薬剤の効果を機能的あるいは形態学的に検討したものであり、個々の動物について蝸牛機能の連続的な経過を長期間に亘って測定することによって、薬剤の効果を実証的に検討したものではない。一般的に聴器障害に関する動物実験では、動物の聴覚機能をいかにして追求して行くかが問題であり、特に長期間の実験にあっては聴器障害の経過を確実な安定した指標で追求することが必要であるが、我々は慢性電極によるCMの追求によって蝸牛機能の障害の様相を確実に把握することができた。

KMの聴器障害については種々の角度から機序解明のための研究がなされ、現在のところ内耳代謝系の阻害、内耳生体膜の透過性亢進及び内耳排泄機能遅延による蓄積作用等が重視されている¹³⁾。

一方 Vit. B₁ の生体細胞に対する作用としては、糖

代謝及び蛋白代謝等に関与し、エネルギー代謝に重要な位置を占めているといわれる。そして Vit. B₁ が内耳液へ移行することは放射性同位元素の標識によってたしかめられている¹⁴⁾¹⁵⁾。また、小坂田¹⁶⁾ (1966) は KM などにより内耳が刺戟をうけた場合、その刺戟が軽度の時には、Vit. B₁ の内耳への移行は増加し、刺戟が高度になれば Vit. B₁ 移行は減少することを認め、このことから刺戟が軽度の時は内耳組織代謝の障害を阻止せんとして Vit. B₁ 移行の増加がみられ、更に刺戟が高度になれば、内耳組織の物質代謝の失調をきたす結果 Vit. B₁ 移行の低下が惹起されると推論して、障害された内耳にあっては Vit. B₁ 移行の変動が起ることを示唆した。

翻って本実験の成績をみると I 群すなわち KM 投与群と II 群すなわち DCET 併用群との間に明らかな差異がみられた。すなわち薬剤投与後 CM が低下開始するまでの期間をみると II 群には I 群の範囲よりはるかに延長しているのがみられた。しかしこの点については更に例数を重ねて検討する必要がある。また CM 低下開始後より CM が低電位に移行するまでの経過曲線の勾配を比較してみると、I 群では急激に低下するが II 群ではゆるやかに低下し、両群の間に著しく異なったパターンがみられた。このような差異を生じた機転を解明することは KM 障害内耳における Vit. B₁ 誘導体の移行の実態や障害細胞に対する効果の本質を明らかにすることであるが、現在の段階ではこのような事実の存在を指摘し、これから蝸牛障害防止についての有効性を推測するに止めねばならない。しかしながら、現在その作用機転として考えられることは、Vit. B₁ としての作用が内耳代謝賦活化の方向に働いているというほかに、Vit. B₁ 誘導体の作用が全くは解明されていない現在、Vit. B₁ 誘導体そのものとして何らかの機転によって効果をもつことも否定できない。従ってその作用機転の解明はこのような立場から基礎的に更に検討されねばならないが、少なくとも先に述べた事実は、KM による毛細胞障害、そしてその機能障害の進行を防止しているということができると考える。

勿論この実験的研究の成績を直ちに KM 難聴の改善にむすびつけることはできないが、少なくとも KM 難聴治療に対しての有意義な手がかりを与えるものとなりうると言うことはできよう。

V 結 語

KM の聴器障害に対する Vit. B₁ 誘導体の (DCET)

効果を正円窓永久電極家兎により CM を指標として長期間にわたって観察した。対照群 (I 群) には KM 100mg/kg を、実験群 (II 群) には KM 100mg/kg と DCET 20mg/kg とを連日投与し次の結論を得た。

1. 薬剤投与より CM が低下開始するまでの期間は動物により相当の幅がみられるが、II 群には I 群の範囲よりもはるかに延長しているのがみられた。

2. CM 低下開始より CM が低電位に移行するまでの経過は、I 群ではすみやかに低電位に移行するのに対して、II 群では非常にゆるやかな経過を辿り、両群の低下曲線の勾配の間に著しくした差異がみられた。

終りに実験データの解析にあたり御協力を載しました塩野義製薬株式会社解析センターに感謝致します。

本論文の要旨は、東北地方会第 144 回例会及び第 14 回日本オージオロジー学会に於て発表した。

なお本研究の一部は昭和 43 年度文部省科学研究費の援助を受けた。併せて感謝致します。

The Experimental Study on the Effect of Thiamine Derivative on the Kanamycin-Ototoxicity.

By

Iwao Ohtani, Hiroko Ishida,

Yoshitugu Ogawa, and Jin Ouchi, M.D.

From the Department of Otorhinolaryngology,
Fukushima Medical College

(Director: Prof. J. Ouchi)

Electrophysiological experiments were performed in order to evaluate an effect of thiamine derivative on the kanamycin ototoxicity.

Cochlear microphonics of the rabbit was measured day-to-day with the electrode permanently implanted on the round window.

One group of animals were daily given i.p. injections of kanamycin of 100mg/kg (group I). The other group got the same dose of kanamycin plus thiamine derivative (O, S-dicarbethoxythiamine) of 20mg/kg (group II).

1) The curves of CM amplitude showed that there was a wide difference in the periods of onset of reduction. The curves of group II showed a more wide difference than that of group I and in a few animals of group II the periods of onset of CM reduction were far prolonged beyond that of group I.

2) The clear-cut difference was observed in the slope of CM reduction between group I and group II. i.e. in the group I CM was reduced rapidly, while in the group II it was reduced with a gentle slope until the CM came to low valtage.

文 献

- 1) 大谷巖: Kanamycinの聴器毒性に関する慢性実験的研究。日耳鼻, 71; 688, 1968.
- 2) Selfridge, G.: Eight nerve high tone deafness from a nutritional standpoint. Ann. Otol., 46; 93, 1937.
- 3) 河田政一: 神経難聴の聴力像と「ビタミン」B₁療法。耳喉, 13; 881, 1940.
- 4) Takamizawa, A. & Hirai, K.: Studies on the pyrimidine derivatives. Chem. Pharm. Bull., 10; 1102, 1962.
- 5) 菅 文朗: 内耳循環障害における血管拡張剤の選択。Audiology Japan 12; 249, 1969.
- 6) 志多 享: Kanamycinによる聴器障害の予防に関する実験的検討。Audiology Japan 3-2; 78, 1960.
- 7) Plattig, K.H. usw.: Minderung der Ototoxicität des Kanamycins durch Pantothensäure. Deutsch. Med. Wschr., 92; 1391, 1967.
- 8) Ostyn, F. & Tyberghein, J.: Influence of some streptomycetes antibiotics on the inner ear of the guinea pig. Acta Oto-laryng., Suppl., 234, 1968.
- 9) 佐藤喜一他: カナマイシンによる内耳障害に対するNADの影響について。Audiology Japan 11; 203, 1968.
- 10) Portmann, M. et Darrouzet, J.: Étude expérimentale de l'action antibiotique de certains acides aminés et vitamines au niveau des cellules de l'organe de Corti. Acta oto-laryng., 57; 266, 1964.
- 11) Darrouzet, J.: Essais de protection de l'organe de Corti contre l'ototoxicité des antibiotiques. Acta oto-laryng., 63, Appendix, 49, 1967.
- 12) Aran, J. M.: Essais de protection de l'organe de Corti contre l'ototoxicité des antibiotiques. Acta oto-laryng., 63, Appendix, 60; 1967.
- 13) 牧本一男, 竹田禎郎: カナマイシンの聴器毒性について。耳鼻臨床, 59; 851, 1966.
- 14) 小崎秀雄: V.B₁の蝸牛組織内での局在性について。耳鼻臨床, 59; 53, 1966.
- 15) 牧本一男他: Vitamine B₁ およびその誘導体の内耳液移行。Audiology Japan 10; 230, 1967.
- 16) 小坂田誉志夫: Thiamineの内耳液への移行に関する研究。日耳鼻, 69; 919, 1966.

(受付 44.12.29)