Kanamycin の聴器毒性に対する Vitamin B₁ 誘導体の影響について(第2報)

福島県立医科大学耳鼻咽喉科学教室

(主任: 大内 仁教授)

石田 弘子, 大谷 巖, 水野 茂
服部 政夫, 大内 仁

I 緒 言

いわゆる感音難聴の治療に広く用いられている vitamin B₁ (Vit. B₁ と略す) 誘導体が, kanamycin (KM と略す) の聴器毒性にいかなる効果を示すかを知らるために, 前報¹⁾ 電気生理学的研究につづいて, 今回, その形態学的所見を検討した。Vit. B₁ 誘導体としては O,S-dicarbethoxythiamine (DCET と略す) を用いた。

II 実験方法

正円窓永久電極家兎13羽を2群に分け, 対照群5羽には, KM 100 mg/kg を単独に, 実験群8羽には, KM 100 mg/kg と DCET 20 mg/kg とを併用, いずれも24時間毎に連日腹腔内に投与した。永久電極により, 1000 Hz, 80 dB (SL) の検査音に対する cochlear microphonic (CM と略す) を連日測定して蝸牛機能の指標とした。KM 投与によって CM 電位が高度に低下した時期に薬剤の投与を中止, 10日~2週間後に断頭, 1.5% veronal buffered osmium tetroxide solution を用いて蝸牛を固定し, 大内他²⁾ により発表された方法で surface specimen を作り, 位相差顕微鏡下に細胞学的検索を行なった。ただし, クラウジウス細胞は, 標本作製上, 人工的操作が多く加えられたので, 実験成績より除いた。

III 実験成績

第1報¹⁾ に報告した電気生理学的所見のうち, 注目すべき所見は次の事実である。すなわち「CM 低下開始から CM が低電位に移行するまでの経過は, 対照群では, すぐぶる急激であるのに反して, 実験群では, ゆるやかな経過をたどり, 両群の経過曲線の勾配

の間に画然とした差が見られた」ことである。

病理組織学的検索では, 障害細胞の個々の所見は, 両群の間に原則的には異なった点はなく, 従って, 各群を特徴づけるものは認められなかった。その主なる所見は次のごとくであった。

1) 外有毛細胞の障害は, 観察した組織中, 最も著しく, 両群を通じて全例に変化を認めた。その主な変化は, 細胞体の膨化 (図1), Engström³⁾ のいう collapsed cell (図2), および網状膜構造の消失 (図3), の3つであり, KM 中毒による変化は, 恐らくこの順序にて進行するものと考えられた。

2) 内有毛細胞の変化は外有毛細胞よりも軽度で, おおむね collapsed cell までの変化で, 第1回転前半部に局限していた (図4)。

3) 支持細胞の主なる変化はヘンゼン細胞の空胞形成 (図5), ダイテルス細胞消失などで, 外有毛細胞の変化の強いものに起こる傾向を示していた。

4) 柱細胞は特に, 外柱細胞が障害されやすく, 節突起の消失がみられ (図6), しかも, この変化は内有毛細胞に障害のある動物の第1回転にみられた。すなわち, この変化のみられたものでは, 常に, コルチ器に高度の破壊があった。

各群, 各動物の所見を, 回転別に表示した (表1)。これによって, 両群の細胞障害のパターンを比較すると, 1) 各動物例の主要所見は, 第1回転, 特に, その前半部に集中すること。2) 第1回転後半部およびそれより上方への変化の波及は, もっぱら個体差によるもののごとくであること。3) 第1回転前半部の外有毛細胞のみならず他の全細胞に変化を示すものは, 上方回転への波及はなく, あっても軽微であること。4) 第1回転前半部に外有毛細胞と支持細胞の変化のあるものでは, 上方回転への変化の波及, 特に, 外有毛細胞の

表1 CM低下開始日と組織学的所見

薬物	家兎番号	CM低下 開始日	CM 50% 低下時の日数	1/2回転	1	1 1/2	2	2 1/2
K M	RW-209	4	4	●	⊙			
	RW-210	5	2	●				
	RW-202	15	3	⊕	⊙	⊙		
	RW-200	17	3	●				
	RW-201	22	3	⊙	⊙			
K M + D C E T	RW-207	5	7	●				
	RW-204	7	7	⊕	⊙	⊙		
	RW-205	14	8	⊕	⊙	⊕	⊙	
	RW-214	16	9	●				
	RW-206	21	7	●		⊙		
	RW-213	29	10	⊙				
	RW-212	33	11	⊙	⊙			
	RW-203	34	10	⊙				

⊙ ⊕ ● 外有毛細胞障害(膨化, Collapse, 網状構造消失)

⊙ 内有毛細胞障害 ● 支持細胞障害 ● 支柱細胞障害

変化の波及が著しいこと。などの所見は、両群の間に差をみない。また、5) CM の低下が長期間投与後に起ってくる動物例にあっては、変化は一般に軽度で、第1回転の外有毛細胞のみ障害され、しかもその程度は、collapsed cell に止まるものが多いことも両群に共通した所見としてみられたが、このような例の発現が実験群に多いことが知られた。

IV 考 按

KM聴器毒性に関する病理組織学的研究は、種々の方法で数多く行なわれてきている。現在までの報告をみると、KM による聴器障害は主に、基礎回転の外有毛細胞の変性、消失であり、障害が進むにつれて頭頂回転に向かって進むものが多い。

外有毛細胞を形態学的に観察した報告をみてみると Engström et al³⁾, Hawkins & Engström⁴⁾ はモルモットで surface preparation technique を用いて KM の変性過程の初期変化は外有毛細胞の聴毛の W-pattern の乱れであるとし、ついで、核の膨化、細胞の消失へと進むと報告している。また Farkashidy⁵⁾ は猫の KM 障害の初期像は電頭によれば、聴毛、蓋板の消失であ

ると報告しており、立木他⁶⁾ は、モルモットの電頭像で外有毛細胞蓋板下部と核に異常小体の出現をみ、イオン負荷を加えると聴毛および蓋板の消失をきたすとしている。一方、音響外傷による実験では、石井⁷⁾ はモルモットで初期変化は聴毛の乱れであり、ついで、胞体の蓋板下部、さらに核、最後に蓋板の消失に至るとしている。また、水野⁸⁾ は、兎の音響外傷実験で、障害細胞を、胞体の膨化、collapsed cell、網状膜構造消失という3種の変化を報告したが、本実験の障害像はこれと一致しており、KM中毒による変化も、恐らくこの順序で進行するものと考えられた。

内有毛細胞については、その変化は、外有毛細胞ほど強くないとする報告が多いが⁴⁾⁹⁾¹⁰⁾、その変化は、基礎回転から起り、上方回転に波及するものと^{11)~14)}、逆に頭頂回転から起り、下方回転に波及するもの^{15)~17)}とがみられる。本実験では、内有毛細胞の変化は、外有毛細胞より軽度で、おおむね collapsed cell までの変化で、第1回転前半部に限局していた。

支持細胞については、その変化は、報告者により非常に異なっている。まず、変化がダイテルス細胞に認められるとするもの¹⁸⁾、クラウドゥス細胞に認められ

るとするもの¹⁹⁾、ヘンゼン細胞、クラウジス細胞に認められるとするもの²⁰⁾、この3者に変化があるとするもの¹¹⁾、一方、全く無変化であるとするものがある²¹⁾。本実験での主なる変化は、ヘンゼン細胞の空胞形成、ダイテルス細胞消失などで、外有毛細胞の変化の強いものに起こる傾向を示していた。

柱細胞についての報告は少ないが、散在性消失が認められたとするもの¹⁶⁾、無変化であるとするものがある²⁰⁾。本実験では、柱細胞は、特に、外柱細胞が障害されやすく、しかも、この変化は、内毛細胞に障害のある動物の第1回転前半部にみられた。すなわち、この変化のみられたものでは、常にゴルジ器に高度の破壊があった。

このように多くの報告にみられる所見の差は、動物差、個体差、薬物投与法、標準作製法などの相違が大きく影響していると思われる。もちろん、本実験成績でも細胞障害の程度に相当の個体差がみられたが、その成績は、諸家の報告に、おおむね一致し、第1回転における外有毛細胞の変性、消失が主体で、それについて、第1回転の支持細胞、内毛細胞、さらに、柱細胞障害がみられた。

以上の組織学的所見は、対照群と実験群との間に、原則的に異なった点はみられなかった。ただ、CMの低下が長期間投与後に起ってくる動物例では、変化は軽度で、第1回転の外有毛細胞のみ障害され、このような動物例の発現が、実験群に多かった。しかし、この事実を直ちに、Vit. B₁ 誘導体の効果の表現と考えることは適当でない。なぜならば、この所見は、先に大谷¹¹⁾がKM単独投与実験において見出した事実に一致し、DCET投与の有無に関係なく、個体のKMに対する反応性のいかんに関与すると考えることもできるからである。従って、以上の成績から、われわれは、Vit. B₁ 誘導体のKM中毒耳に対する影響は、機能の面からは相当 clear cut な効果の存在を考えることができたのに反し、本実験計画による形態学的検索によっては、明らかな差をみることができなかったといわねばならない。

V. 結 語

KMの聴器毒性について Vit. B₁ 誘導体(DCET)がいかなる効果を示すかを知らるために、前報電気生理学的研究につづいて、その形態学的所見を surface preparation により検討した。

1) KMによる主な病理組織学的変化は、基礎回

転の外有毛細胞の変性、消失であり、ついで基礎回転の支持細胞におよび、さらに内毛細胞、柱細胞にも変化が及ぶのが認められた。

2) 外有毛細胞の主な形態学的変化は、細胞体の膨化、collapsed cell、網状膜構造消失の3つであり、KM中毒による変化は恐らくこの順序にて進行するものと考えられた。

3) 障害細胞の個々の所見は、対照群と実験群との間に原則的に異なった点はなく、従って、各群を特徴づける所見は認められなかった。Vit. B₁ 誘導体のKM中毒耳に対する影響は、機能の面からは、相当 clear cut な効果の存在を考えることができたのに反し、本実験計画による形態学的検索によっては、明らかな差をみることができなかったといわねばならない。

本論文の要旨は、東北地方会第44回総会兼第147回例会および日耳鼻第71回総会において発表した。

なお、本研究は、昭和43年度文部省科学研究費の援助を受けた。

The Experimental Study on the Effect of Thiamine Derivative on the Kanamycin Ototoxicity. (II)

By

Hiroko Ishida, Iwao Ohtani, Shigeru Mizuno, Masao Hattori and Jin Ouchi
From the Department of Otorhinolaryngology, Fukushima Medical College

(Director: Prof. J. Ouchi)

In order to study the effect of vitamin B₁ derivative (O,S-dicarbethoxy-thiamine, DCET) on the kanamycin (KM) ototoxicity, the electrophysiological and phase contrast microscopical studies using rabbits with electrodes permanently implanted on the round windows were carried out.

Rabbits (control group) were daily given 100 mg/kg of KM intraperitoneally, and the others (experimental group) 100 mg/kg of KM with 20 mg/kg of DCET in the same way. The measurements of the cochlear microphonic (stimulus: 1000Hz, 80dB) and the drug administrations were daily performed until their CM could not be detected, and about 10 days or 2 weeks after the completion of the drug administration all of the rabbits were sacrificed for phase contrast microscopical examinations.

As previously reported the main electrophysiological findings were the followings : After the onset of reduction of maximum CM amplitude, in the control group, the curves of CM amplitude were reduced rapidly. On the contrary, in the experimental group, the curves were reduced with a gentle slope to the lower level. There was the clear-cut difference between the curves of the two groups.

The cytological findings of the outer and inner hair cells, the supporting cells(Hensen's and Deiters' cells) and pillar cells were precisely investigated. However, the cytological difference between the two groups were not observed. It may be given as a conclusion the functional effect of vitamin B₁ derivative (DCET) on the KM ototoxicity was very clearly observed, but the histopathological proof on its effectiveness could not be obtained by the above-mentioned experimental procedure using light microscopy.

文 献

- 1) 大谷 巖他 : 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). *Audiology Japan*, 13 ; 49, 1970.
- 2) 大内 仁他 : 家兎蝸牛の surface preparation. *日耳鼻*, 70 ; 222, 1967.
- 3) Engström, H., Ades, H. and Anderson, A.: Structural Pattern of the Organ of Corti. *Almqvist & Wiksell*, Stockholm, 1966.
- 4) Hawkins, J.E. and Engström, H.: Effect of Kanamycin on Cochlear Cytoarchitecture. *Acta Oto-laryng.*, Suppl, 188 ; 100, 1963.
- 5) Farkashidy, J. et al.: The Effect of Kanamycin on the Internal Ear; An Electrophysiological and Electron Microscopic Study. *Laryngoscope*, 73 ; 713, 1963.
- 6) 立木 豊他 : Kanamycin, Dihydrostreptomycin および強大音響が蝸牛感覚細胞におよぼす影響に関する電子顕微鏡的研究。*日耳鼻*, 68 ; 1333, 1965.
- 7) 石井雅良 : 蝸牛感覚細胞の初期変性過程に関する位相差顕微鏡的観察。*日耳鼻*, 72 ; 1917, 1969.
- 8) 水野 茂 : 音響刺激による家兎蝸牛損傷の実験的研究。*日耳鼻*, 73 ; 1577, 1970.
- 9) Beck, C. und Krahel, P.: Experimentelle und feingewebliche Untersuchungen über die Ototoxizität von Kanamycin. *Arch. Ohren- usw-Heilk. u.z. Hals- usw-Heilk.*, 179 ; 594, 1962.
- 10) Ostyn, F. and Tyberghein, J.: Influence of Some Streptomyces Antibiotics on the Inner Ear of the Guinea Pig. *Acta Oto-laryng.*, Suppl, 234 ; 1968.
- 11) 大谷 巖 : Kanamycin による聴器毒性に関する慢性実験的研究。*日耳鼻*, 71 ; 688, 1968.
- 12) Ward, P.H. and Fernandez, C.: The Ototoxicity of Kanamycin in Guinea Pigs. *Ann. Otol.*, 70 ; 132, 1961.
- 13) Benitez, J. T. et al.: Pathologic Changes in Human Ear after Kanamycin. *A.M.A. Arch. Otolaryng.*, 75 ; 192, 1962.
- 14) Jørgensen, M.J. and Schmidt, M.R.: The Ototoxic Effect of Kanamycin. *Acta Oto-laryng.*, 55 ; 537, 1962.
- 15) Kohonen, A.: Effect of Some Ototoxic Drugs upon the Pattern and Innervation of Cochlear Sensory Cells in the Guinea Pig. *Acta Oto-laryng.*, Suppl., 208 ; 1965.
- 16) 河田政一他 : モルモットにおける Dihydrostreptomycin, Kanamycin, および Capreomycin の中毒性について。*Audiology Japan*, 10 ; 240, 1967.
- 17) Darrouzet, J.: Essais de protection de l'organe de Corti contre l'ototoxicité des antibiotiques. *Acta Oto-laryng.*, 63 ; Appendix, 49, 1967.
- 18) Matz, G.J. et al.: The Ototoxicity of Kanamycin. *Laryngoscope*, 75 ; 1690, 1965.
- 19) Reddy, J. B. and Igarashi, M.: Changes Produced by Kanamycin. *A.M.A. Arch. Otolaryng.*, 76 ; 146, 1962.
- 20) Portmann, M. et Darrouzet, J.: Etude 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.
- 21) 五十嵐 真・吉信敏子 : Kanamycin 聾の内耳病理学的所見。*耳鼻臨*, 56, 301, 1963.

(受付 45. 12. 8)

図1 RW-204第1回転前半部、
外有毛細胞の胞体膨化(↓)

図2 RW-207第1回転前半部、
外有毛細胞の第1, 2列は
collapsed cell となり, 第3
列はダイテルス細胞の節板で
置きかえられている。

図3 RW-210 第1回転前半部、
第1, 2列の外有毛細胞は
collapsed cell となり, 第2
列の一部に網状膜構造の消失
(↓) がみられる。

図4 RW-200 第1回転前半部
内有毛細胞の消失(↓)。柱細胞
には変化はみられない。

図5 RW-206, 第1回転前半部,
ヘンゼン細胞の空胞形成(↓)。
第1, 2列の外有毛細胞は
collapse に陥り, 一部柱細胞
突起の消失をみる。

図6 RW-200 第1回転前半部
外柱細胞節突起の消失(↓)