BIOASSEY IN THE MEDICAL TREATMENT OF THE INNER EAR DISEASES

T. MORIMITSU, M.D. I. MATSUMOTO, M.D. and K. HAYASHIDA, M.D.

*Dept. of Otorhinolaryngology, Faculty of Medicine, Kyushu Univ. Fukuoka**(Director: K. Hiroto, M.D.)*

To make an assay whether or not a medicament has an actual value for bringing in the double blind test of inner ear diseases, an experimental design was presented: 1. Recording of cochlear microphonics (CM) from the basal turn of the cochlea of guinea pigs, 2. Observation of the change in the amplitude of CM by applying NaCl crystals on the round window membrane 3. Observation of change of CM after applying both the medicament and NaCl crystals. 4. Statistical comparison of the results.

Meclofenoxate hydrochloride was used as a medicament in this study. This medicament had shown a significant effect in decreasing the NaCl-effects on CM. It seems worthwhile to utilize Meclofenoxate hydrochloride for the double blind test in the inner ear disease.

A78—1271. 23555

内耳疾患薬物療法の実験的根拠

(特に Meclofenoxate hydrochloride について)

九州大学医学部耳鼻咽喉科教室 (主任: 広戸幾一郎教授)

森 満 保・松 元 一 郎・林 田 邦 彦

I 緒 言

従来の内耳疾患薬物療法の最大の弱点は、第一に使用される薬物の内耳での作用をほとんど検討することなく、他の臓器での作用と全く同じであろうと仮定して患者に投与していたことであり、第二に対象となつた患者の内耳疾患について、その病態なり病因をある仮定の上に想定して試行錯誤的に治療を行つてきたことであろう。仮定の上に仮定を組み合わせてその薬物の治療効果を云々してみてもそこに得られる結果は極めて曖昧なものであり次のステップへの足掛りにもならない低い価値のものしか得られない。例えば一般に血行改善剤とされているものを内耳でも血行改善作用ありとし、内耳血流障害が本当に起つているか否か全く不明の患者に血流障害があると勝手に決めつけて治療してきたところに今日の内耳疾患薬物療法の混乱を招いた原因があつたと考え

る。

それでは内耳疾患の薬物療法の確固たる根拠はどうしたら得られるかという設問に対しては残念ながら今なお即答できない実状にある。そこでこうした問題をもう一度反省してみるとともに最近耳鼻科領域でも広く用いられている meclofenoxate hydrochloride を例に取つて一つの実験を行つてみたのでその結果を報告する。

II 薬物療法の実験的根拠について

一般にある薬物が確かに内耳疾患に有効であると判定するためには厳重な control 下での double blind test によらなければならないし、この際に対象となる患者も厳密に同一性質の患者でなければならない。double blind test の理論は既に確立しているが、厳密に同一性質の内耳疾患患者を多数集めることは今日では不可能であるし、又全ての薬物についてこうした double blind test

を行うことも不可能である。そこでまず double blind test に供するに足る薬物であるか否か、そしてその内耳での作用はどのようなものであるかを動物実験で screening することが必要となってくる。

この実験的な screening を行う際にもいろいろのレベルでの実験が考えられる。その大まかな関係を表 1 に示したが、内耳血流、それも内耳動脈から一番末梢部と思われる血管条やラセン血管のレベルまでの流量の増減を問題にするか、これら末梢血管と内耳液の代謝（生産・吸収）のレベルを問題とするか、更にまた内耳液とラセン器有毛細胞の代謝（組織・呼吸）のレベルを問題とするか少くとも 3 つのレベルが考えられる。検討しようとする薬物の性質からどのレベルでの検定を行うべきかも充分に考慮し決めなければならない。

ここでもう一つ考えるべきことは、実験を正常動物の正常な反応を指標にするか、あるいは何らかの負荷をかけて病的状態を作り出して実験を行うかということである。治療を目的とした薬効検定であれば当然病的状態での検定でなければならないと思われるが、人工的に内耳の病的状態を作り出すことは簡単なようであるが、薬効検定に役立つような病的状態を任意に高い再現性をもって作り出すことは極めて難しい。

具体的に従来の知見に基づいて検討してみると、第 1 のレベルである内耳血流に関しては蝸牛開窓下にその末梢血管での血流を映画で観察する方法¹⁾と impedance plethysmography²⁾³⁾による方法がある。正常動物についてはかなり多くの報告があり、結論的には内耳血流はその母循環である脳循環とほぼ同じ薬理学的性格のものといえる。しかし実際の臨床で予想されているような内耳だけに限局した血流障害を実験的に作り出すことは極めて困難なことで、内耳動脈本幹を機械的に圧迫したり、微細な embolus を注入したりしての実験が実際の患者のモデルとは到底考えられない。更に血流の増加がそのまま感覚細胞レベルでの治療的效果に直結しないことは明らかであり、内耳血流増加剤の中で最も強力な 5% CO₂ 吸入が各種の内耳疾患患者で常に一定方向の治療的效果を示さないことをわれわれは報告⁴⁾している。

血管条を中心とした機能の動的観察には endocochlear DC potential (EP) が最も適当である。しかし正常の EP レベルを更に supernormal のレベルに高める薬物はほとんどなく、僅かに CO₂ 吸入時に一過性に認めることがきただけである。normal の反応を supernormal にするか否かで治療効果を検定しようとすることは非常

に危険な方法と考える。

EP を実験的に低下せしめるには⁵⁾ anoxia にするか、血流量を減少させるか、flocemide や ethacrinic acid などと静注するか、極めて強大な音響負荷をする⁶⁾ などがあるが、こうした全身的な負荷による EP の低下では、その薬物効果は内耳での効果ではなくむしろ全身的な薬物効果の検定とみるべきであろう。

内外リンパ液のレベルに関しては、Rauch⁷⁾ らの isotope を注入しての実験や、Na K 電極を用いての実験、⁸⁾ 更に Misrahy⁹⁾ らの内耳液 O₂ 分圧測定の実験があり、特にこの O₂ 分圧測定では既に小出¹⁰⁾ らの薬効に関する報告もある。

単に内耳血流量の増減のみならず、血管条の透過性までも含め内耳液の代謝レベルでの検定としてこの O₂ 分圧測定は極めて有意義のものといえるが、聴覚に関してはやはり間接的な方法である。

表 1 内耳での物質代謝と各レベルでの実験的指標

III 実験指標としての CM の意義

内耳での最後のレベルとして cochlear microphonics (CM) を指標に実験を行う場合、その意義について若干の検討を加えてみたい。

CM は現在ではラセン器有毛細胞の activity を示すものと理解されているが、この電位が聴覚の成立に関して一次的な意義を持つものであるか、単なる二次的な epiphenomenon であるかについては未だ結論がでていない。したがってこの意味で CM を指標としてこれを聴覚イクオルと考えることは問題である。

しかしながら臨床的に内耳疾患患者治療の指標として用いられるものが聴覚しかない以上、これに相対するものとして CM を用いることは合理的であるといえる。

CM を指標として薬物の効果検定を行おうとする場合の相互の関係を模式的に示してみると表 2 のようなものが考えられる。

正常 CM について薬物を内耳局所に投与することによって内耳疾患の病因や病態生理の究明に重要な情報が得られる。この際投与する薬物の作用が明確であればある

表2 CMを指標とした薬物効果実験の模式図。
黒線は治療に関する情報を、白線は病因に関する情報を、太い程多く与えてくれる。

ほどその意義は大となる。種々の条件を負荷して異常となったCMについて全身的に、特に静注や内服で薬物を投与することによって主として内耳疾患の治療に役立つ情報が得られる。特に内耳局所に限局した負荷による異常CMを指標にすれば最も実際的な内耳疾患患者のための情報が期待される。その他の組み合わせについてもそれぞれに情報が期待されるわけであるが、それらを線の太さと黒・白線で表現してみた。

内耳局所に限局した負荷を与えることのできるもので既知のものとしては強大音響負荷、経蝸牛窓的薬物投与、および蝸牛内への直接的な microinjection などがある。蝸牛の構造をできるだけ破壊せずに実験を行おうとすればそれは経蝸牛窓膜的な投与法に限られる。

この実験はCMが発見された直後の1953年Hallpike¹¹⁾らとDavis¹²⁾らの報告に始まり、その後多数の報告が見られる。その実験の目的は多くはCMの発生のメカニズ

ムの究明にあつた。われわれは1965年頃より同じような経蝸牛窓性薬物投与実験を、蝸牛の部位別損傷に関する研究の一環として differential electrode 法によつて行ないその結果を報告して¹³⁾¹⁴⁾きた。その結果、正円窓膜上に一定量のNaCl結晶を投与することによつて生ずるCMの変化は、内耳の血流、血管条機能、内外リンパ液代謝そして毛細胞の activity までの全てプロセスの上に乗ったものであり、内耳の薬効検定の指標として従来の報告にみない有意義な情報を与えてくれるものではないかとの結論に達した。そこで具体的に meclofenoxate hydrochloride を用いて実験を行つたのでその結果を報告する。

IV 実験およびその成績

実験方法：モルモットを用い基底回転より differential electrode 法を用いてCMを記録。検査音はCM出力300 μ Vを得るに必要な強さの300Hz純音を用い、持続時間500msec, rise decay time 25msecの断続音を用いた。CM記録法の詳細は既報に譲る。

まず control として分析節を用いて大きさを平均0.23mm立方に揃えたNaCl結晶2ヶを蝸牛窓膜上に投与し、60分間CM出力の変化を観察し、10頭10耳の成績から平均値とSD値を求める。

次に本実験として meclofenoxate hydrochloride 10mg/kgを静注し、平均5分後に control と同様のNaCl結晶投与を行ないCM出力の変化を観察し、その結果をcontrolと比較検討する。

実験成績：control および本実験の成績を図1.2.3に示した。

図1 蝸牛窓膜上NaCl結晶投与によるモルモット基底回転CMの変化

図2 経蝸牛窓 NaCl 投与による CM の変化に対する meclofenoxate hydrochloride の効果

図3 経蝸牛窓 NaCl 投与による CM の変化に対する meclofenoxate hydrochloride の効果 (平均値) を実線で示し、点線で Control (平均値) を示した。

control では CM は overshoot, primary decrease, recovery, secondary decrease の 2 峰性の変化を示した。その詳細は既に述べた通りである。

本実験では overshoot はほとんど現われず、この時期に一致してむしろ低下を認め、primary decrease は軽度で、回復期に移行し、30分後には secondary decrease に移行した。回復期の中程までの変化は control に比し有意の差を示したが、secondary decrease 期では60分後の CM 出力の差で比較すると有意ではなかったが、全体として control に比し CM の変化は軽度であった。

V 実験成績の検討

正円窓膜上に NaCl 結晶を投与した時の CM の変化が如何なるメカニズムによるものであるかは既報に述べたので省略するが、要するに、正円窓膜を透過してまず急激な脱水が起り内耳液はその量の減少とともに高張となる。溶解した Na^+ は外リンパ液中に移行しまず正円窓膜を介して平衡状態が成立し、次いで高張・減量した外リンパ液と内リンパ液や内耳軟部組織細胞(ラセン器も含む)の間に浸透圧の差とその平衡過程が起り最後に内耳血流と内外リンパ液の間でその regulation が始まり時間の経過とともに正常化されるといった段階的な変化が生ずる。MC の変化はこうした変化にそれぞれ対応して

図4 経蝸牛窓 NaCl 投与による MC の変化に対する交感神経作用薬の効果

図5 経蝸牛窓 NaCl 投与による CM の変化に対する phenoxbenzamine の効果
——α-clockade——

おり、overshoot 期から primary decrease 期は内耳液を中心とした病的変化の進行期であり、recovery 期はその regulation による病的変化の修復期あり、secondary decrease はこうした急激な内耳環境の変化によつて生じた有毛細胞の遅発性で、かつ irreversible な変性に基づく低下を示していると理解される。こうした理解の上に立つて本実験の成績を検討してみると、本剤は内耳液の regulation を control に比し促進しているといえる。

われわれは同様の実験を種々の交感神経作用薬を用いて行いその結果を報告した。¹⁴⁾ 図 4.5 にその成績を示したが meclofenoxate hydrochloride は α-receptor blockade である phenoxbenzamine に極めて類似した効果を示しているといえる。α-receptor blockade はエピレナミンなどの α-receptor stimulant による血管筋収縮作

用をブロックする作用を有しており軽度ながら血管拡張作用もあるとされているが、これに結果的に類似した作用を示したことは興味深い。本実験に用いた負荷、すなわち NaCl 結晶投与による CM の変化は前述の通り内耳液の代謝を中心に有毛細胞レベルでの変化を示すものであり実験に用いた薬物が実際にどのレベルで作用したかは不明である。勿論、実験の結果が α-receptor blockade に類似した作用を示したからといって、本剤がそのまま α-receptor blockade であるということもできない。内耳液の代謝が内耳血管を支配する交感神経によつて左右されることは理解できるが、本剤が血流に対していかに作用するかはわれわれは知らない。ちなみに本剤の作用に関する報告を紹介すると、脇坂¹⁵⁾らは脳創や脳内局所出血に関する実験から、大脳皮質、視床下部の血流を増加

させたと報告し、岳中¹⁶⁾らはイヌの脳循環では3~5mg/kgの静注で血圧下降と総頸動脈血流量の増加、10mg/kgでは強い血圧下降に伴う血流減少をみたという。

Nickel¹⁷⁾らは神経細胞の代謝を促進し、更には低酸素状態に対する脳の抵抗性を増大させるといふ。

内耳に関してはまだ報告をみないが、臨床的にはめまい、耳鳴、難聴に対して若干の治験例の報告^{18)~22)}をみている。

これらの諸報告にみられるように本剤の作用点は血流量、細胞内の代謝レベルとかなり広範のようである。

以上の結果より本剤は、内耳疾患のdouble blind testに値する薬物であるか否かという問題に対してはdouble blind testに供するに足る薬剤であるという実験的な裏づけは得られたといえよう。

VI 結 語

内耳疾患の薬物療法の根拠を実験的に得るためにどのような実験計画が最も妥当なものであるか検討を加え、その一つのモデルとしてmeclofenoxate hydrochlorideを用いて実験した結果を報告した。

現在ただ一つの動物実験のみで内耳疾患治療に確実に応用できると判定を下せるものはない。その理由は臨床耳科学の進歩で内耳障害の有無をかなり正確に診断することが可能になったが、その内耳障害の本態についてはほとんど分つておらず、全ての内耳疾患に共通の病的状態のモデルを作ることができないからである。したがって改善の策としてできるだけ広い範囲をカバーできるような実験条件を設定することに努力を集中すべきである。その目的に対して本報告に採用した内耳液の変化に基づくCMの変動を指標とすることはかなり合致したものではないかと考える。

実験の結果からmeclofenoxate hydrochlorideは内耳疾患治療のdouble blind testに値する薬物ではないかと結論されたが、特に内耳液の代謝を促進することによつてコルチ器の代謝改善を計ることが治療的効果をもたらすのではないかとと思われる疾患群に対して有効なのではないかとと思われる。

文 献

- 1) Perlman, H.B., Tsunoo, M., and Spence, A.: Cochlear blood flow and functions; Effects of pressor agents. *Acta Otolaryng.* 51; 587-598, 1963.
- 2) 森満保: Impedance plethysmography による内耳血液循環に関する研究, 耳鼻, 6; 437-454, 1960.
- 3) 菅文朗: 蝸牛血液循環に対する血管拡張剤の効果, 日耳鼻, 73; 145-153, 1970.
- 4) 河田政一, 森満保, 森園哲夫: 内耳疾患の炭酸ガス吸入療法. 耳鼻, 9; 146-153, 1963.
- 5) 安野友博: モルモットにおける Endocochlear Potential に関する実験的研究. 日耳鼻, 65; 193-219, 1962.
- 6) 志田亨: 強大音と Endocochlear Potential (EP). オージオロジー, 8; 1-7, 1965.
- 7) Rauch, S.: *Biochimie des Hororgans*. Georg Thime Verlag. Stuttgart 1964.
- 8) 菅文朗: 内リンパ Na⁺, K⁺ 濃度の生体内測定. 日耳鼻, 73; 972-973, 1970.
- 9) Misrahy, G.H., Arnold, J.E., Mundi, J.R., Shinerberger, E.W. and Carwood, K.P.: Genesis of endolymphatic hypoxia following acoustic trauma. *J. Acouet. Soc. Amer.* 30; 1082-1088, 1958.
- 10) 小出靖: 内耳疾患の成因と治療に関する生化学的研究. 日耳鼻61回総会シンポジウム別刷, 1959.
- 11) Davis, H., Derbyshire, A.J., Lurie, M.H. and Saul, I.J.: The electric response of the cochlea. *Amer. J. Physiol.* 107; 316, 1934.
- 12) Hallpike, C.S. and Rawdon, A.F.: "Wever and Bray phenomenon" A study of the electrical response in the cochlea with special reference to its origin. *J. Physiol.* 81; 395, 1934.
- 13) 森満保, 松元一郎, 平島直子: 経蝸牛窓膜投与 NaCl の Cochlear Microphonics におよぼす影響について, 耳鼻, 18; 324-332, 1972.
- 14) 森満保, 平島直子, 松元一郎: NaCl 蝸牛窓膜投与による Cochlear Microphonics の変化に対する交感神経作用薬の影響, 耳鼻, 19; 20-30, 1973.
- 15) 脇坂順一他: ルンドリールの脳創並びに脳内局所血流に及ぼす影響に関する実験的研究. 臨床と研究 45; 620-623, 1968.
- 16) 岳中典男他: Meclofenoxate (Lucidril) のイヌ脳循環におよぼす影響. 熊本医学会雑誌, 43; 184-188, 1969.
- 17) Nickel et al.: Zur Wirkung von Aminoethanol-Derivaten auf das Zentralnervensystem. *Arzneimittel-Forschung* 13; 881-883, 1963.
- 18) 小田切醇他: 耳鼻咽喉科領域におけるルンドリール錠の使用経験. 耳喉, 41; 139-143, 1969.
- 19) 坂田英治: メマイ・平衡障害における眼球運動検査

の診断的意義に関する検討。診断と治療, 58; 505—516, 1970.

20) 田精他: めまい症例に対する Lucidril の使用経験, 耳鼻臨床, 66; 943—957, 1967.

21) 松学他: 頭部外傷後遺症に対するルシドリール使用経験, 特に大後頭神経ブロックによる治療効果との比較観察。耳鼻咽喉科臨床, 60; 841—857, 1967.

22) 上田伸他: 頭部外傷後の愁訴に対する Centro-

phenoxine の静注療法, 診療と新薬, 4; 793—797, 1967.

本論文の要旨の一部は第33回日本平衡神経科学会春季学会, シンポ“めまいの薬物療法の根拠”で発表した。

(原稿受付 昭和49.9.25日)

~~~~~