白金抗癌剤 CDDP 投与と電子線照射の併用による 内耳障害増強作用に関する実験的研究

福島県立医科大学耳鼻咽喉科学教室（主任：大谷 巖教授）

岡 村 洋 沖

POTENTIATION OF INNER EAR DAMAGE FOLLOWING ELECTRON BEAM IRRADIATION WITH CDDP ADMINISTRATION

HIRO-OKI OKAMURA, M.D.

Department of Otorhinolaryngology, Fukushima Medical College, Fukushima

The study was designed to examine the combined ototoxic effect of CDDP (Cisplatin, Cis-diammine dichloroplatinum) and electron beam irradiation, using guinea pigs.

One group received physiological saline solution of 4ml/kg/day, and another group received CDDP of 2mg/kg/day for five days. And following the injection of saline or CDDP, the electron beam of 14Gy/day was applied to the both groups to the right ear for five days. Animals were sacrificed after 21 days, and temporal bones of these animals were removed for the inner ear histopathology. Temporal bones were classified into four groups (control, electron beam irradiation, CDDP administration, and combined administration group), and the inner ears were observed by the surface preparation technique with a phase contrast microscope, and by scanning and transmission electron microscopy, and by temporal bone study of serial sectioned slides.

The main pathologic findings of the inner ear are as follows: Electron beam irradiation group showed no hair cell damage. CDDP group induced slight damage to the outer hair cells. Combined administration group (CDDP + electron beam irradiation) showed severe outer hair cell damage. Stria vascularis was degenerated moderately in the combined administration group and slightly in some animals of electron beam irradiation group. And Reissner's membrane and Hensen's cells, were damaged in the basal turn of cochlea of the combined administration group. All other cochlear structures (spiral ganglion, spiral lamina, basilar membrane, spiral prominence, tectorial membrane, blood vessels of the cochlea) and vestibular organs were lack of significant changes in all groups by a light microscopic observation.

This study was clarified that combined administration of CDDP and electron beam irradiation showed severe ototoxic potentiation. Therefore, it is important that we must pay attention to the inner ear damage caused by combined therapy of CDDP and electron beam irradiation involving inner ear for the head and neck tumor.

Key words: Electron beam irradiation, CDDP
Ototoxic potentiation, Inner ear damage

A 92-0402-23637

はじめに
近年、頭頸部悪性腫瘍に対する治療手段として、放

射線療法や化学療法などを併用した集学的な治療法が
広く行われている。その治療効果の向上により長期生

存例が増加するに伴い、治療による副作用の発現も多くなり、聴力障害もその一つにあげられている。頭頸部腫瘍では放射線療法を行う際、その解剖学的特殊性より側頭骨が照射される可能性があり、内耳に照射が及ぶと照射後に難聴を生ずる症例を経験することが少なくなく、照射による感音難聴の発症が指摘されている¹⁾²⁾。一方、頭頸部悪性腫瘍に対して広く使用されている白金製剤シスプラチン ($\text{Cl}_2\text{H}_6\text{N}_2\text{Pt}$, Cis-diammine dichloroplatinum, 以下 CDDP) も、その副作用として聴器毒性を有しており、蝸牛有毛細胞や血管条などに障害を起こしてくることが知られている。

しかし、これまでに放射線照射、あるいは CDDP 投与による内耳障害についての研究は臨床的にも実験的にも行われてきているが、内耳障害を起こす両者が臨床的に数多くの症例に併用されているにもかかわらず、両者を併用した際の内耳障害についての研究は報告されていない。そこで、今回、CDDP を腹腔内投与したモルモットの側頭骨に電子線照射を行い、二者併用時の内耳障害を、おのおの単独負荷した場合と比較検討し、興味ある知見が得られたので報告する。なお、実験は、はじめに蝸牛有毛細胞障害を定量的に評価するために位相差顕微鏡を用いた surface preparation 法により行い(実験1)、次いで蝸牛有毛細胞および周囲組織の状態を詳細に検討するため、透過型および走査型電子顕微鏡、さらに水平断連続側頭骨病理標本による観察を行った(実験2)。

実験 1

実験方法

実験動物として耳介反射正常のハートレイ系白色モルモット25匹(300g~400g)を使用した。5匹に生理食塩水4ml/kgを、残り20匹にCDDP2mg(4ml)kgを腹腔内投与した。動物はすべて生理食塩水またはCDDP投与3時間後にNembutal腹腔内麻酔下(0.30ml/kg)に四肢および上顎部を固定し、右耳にのみ電子線照射(14Gy/日)を施行した(図1)。以上の負荷を5日間連続施行し、CDDPは総量10mg/kg投与、電子線は総量70Gy照射を行った。

電子線照射装置は日本電気製NELAC-1018-Dを使用し、15MeV、4Gy/minの条件下で照射を施行した。焦点皮膚間距離は1m、遮蔽板皮膚間距離は約4cmとし、照射野は図2に示すごとく右側頭骨部に3×3cmの大きさで照射した。また、遮蔽板には厚さ約1.5cmの鉛合金を使用した。

図1 動物の固定：Nembutal 腹腔内麻酔下に四肢および上顎部を固定した。
IR：電子線照射装置

図2 照射野。右側頭骨部に3×3cmの範囲で照射した。

動物は最終負荷施行後3週間目に断頭し、側頭骨の採取を行った。得られた側頭骨を、コントロールとしての生理食塩水投与群(生理食塩水を腹腔内投与した動物の左耳)、電子線照射群(生理食塩水を腹腔内投与

図3 全回転を13に区分し、表示した各部位について外有毛細胞各列50個計150個、内有毛細胞50個数え、そのうちの障害細胞数を100分率で示した。

図4 CDDP を腹腔内投与後電子線照射を施行し、生存した動物の体重変化。体重は負荷終了後も減少し、第7日目付近より回復に向かった。

した動物の右耳)、CDDP 投与群(CDDP を腹腔内投与した動物の左耳)、CDDP 投与と電子線照射の併用群(CDDP を腹腔内投与した動物の右耳)の4群に分け、内耳障害について比較検討を行った。

図5 電子線照射群(第2回転)
内、外有毛細胞に障害はほとんど認められない。
IHC: 内有毛細胞
1,2,3: 外有毛細胞第1, 2, 3列

図6 CDDP 投与群(第2回転)
内有毛細胞には障害を認めないが、外有毛細胞には散在性に障害を認める(矢印)。
IHC: 内有毛細胞
1,2,3: 外有毛細胞第1, 2, 3列

観察方法: 側頭骨採取後ただちに蝸牛を1% O_3O_4 にて灌流固定し、上昇エタノール系列にて脱水を行い、蝸牛有毛細胞の状態を位相差顕微鏡を用い、surface preparation 法にて観察した。観察は有毛細胞を全回転にわたって行い、さらに図3に示すごとく内耳を13の部位に区分し、各部位について外有毛細胞各列50個、計150個、内有毛細胞50個を数え、そのうちの障害細胞の割合を100分率で示した。細胞の消失をもって障害細胞とした。

実験結果

実験動物のうち生理食塩水を投与した5匹のうち1匹とCDDP を投与した20匹のうち10匹が実験途中で死亡したため、これらの動物は検索から除外し、前者4匹、後者10匹について検討した。

図7 CDDP 投与と電子線照射の併用群 (第2回転)
外有毛細胞は高度に障害され、残存細胞は少ない。内有毛細胞の障害は軽度である。

※印：残存細胞

IHC：内有毛細胞

1,2,3：外有毛細胞第1, 2, 3列

(1) 体重変化

薬剤投与初日より断頭までの間、連日体重測定を行い、全身状態の指標とした。死亡動物は負荷終了後も

体重減少が著しく、全身状態が悪化し、第10日目付近に多くの死亡をみた。

図4にCDDPを腹腔内投与し右耳に電子線照射を施行し、生存しえた動物の体重変化を示した。体重は薬剤投与および照射終了後も減少し、7日目付近から回復に向かった。生理食塩水を投与した電子線照射を施行した動物でもほぼ同じ傾向を示していた。

(2) 位相差顕微鏡による観察

生理食塩水投与群や電子線照射群では蝸牛有毛細胞の障害はほとんど認められなかった(図5)。CDDP投与群では外有毛細胞に散在性の障害が認められた(図6)。CDDP投与と電子線照射の併用群では外有毛細胞はほとんどの動物で高度に障害され(図7)、内有毛細胞も動物により軽度の障害が認められた。しかし、内有毛細胞の障害率は各群で有意差が認められなかったため、外有毛細胞についてのみ各群の障害細胞率を図8に示した。生理食塩水投与群、電子線照射群では外有毛細胞の障害率は5%以下であり、両群の間に有意差は認められなかった。CDDP投与群では基底回転

図8 各群における外有毛細胞障害率。生理食塩水投与群、電子線照射群では障害率は5%以下であり、CDDP投与群では基底回転に15%前後の障害率を認めた。CDDP投与と電子線照射の併用群では障害は高度となり、基底回転では45~25%、第2回転で25~15%、それより上方回転にて15~20%の障害率を示した。基底回転ほど障害は高度であった。

図9 外有毛細胞の障害率の比較

図の左側にCDDP投与と電子線照射の併用群の外有毛細胞の障害率を、右側にCDDP投与群と電子線照射群のそれぞれの障害率の和を示す。基底回転、第2回転では併用群の障害率は単独負荷の障害率の和より有意に大きい。

で15%前後、それより上方回転では10～5%の障害率を認めた。CDDP投与と電子線照射の併用群では障害はさらに高度となり、基底回転で45～25%、第2回転で25～15%、それより上方回転では20～15%前後の障害率を示し、基底回転ほど障害は高度であった。

さらに図9にCDDP投与と電子線照射の併用群の外有毛細胞の障害率が、CDDP投与群と電子線照射群のそれぞれの障害率の和よりも大きいことを示した。特に基底回転および第2回転では5%の危険率で障害率に有意差を認めた。すなわち、CDDP投与と電子線照射の併用により、蝸牛外有毛細胞の障害がCDDP投与や電子線照射の単独負荷による障害に比較して著しく増強されることが認められた。

実験2

実験方法

実験1と同条件の実験動物を作製し、電子顕微鏡および水平断連続側頭骨病理標本にて、蝸牛、特に有毛細胞およびその周囲組織、血管条、蝸牛軸内血管、前庭器管の観察を行った。

(1) 走査型および透過型電子顕微鏡

生理食塩水を腹腔内投与し照射した3匹、CDDPを腹腔内投与し照射した6匹について観察を行った。断頭により側頭骨を採取し、ただちに蝸牛を2%グルタルアルデヒドで灌流固定し、続いて1%O₃を用い二重固定を施行後、上昇エタノール系列の脱水を行った。脱水段階の途中でラセン靱帯の血管条の部分だけを取り出し脱水を進め、Epon 812にて包埋、超薄切片を作製し、透過型電子顕微鏡(日本電子製JEM-1200EX)にて血管条の変化を各群の第2回転について観察を行った。ただし、CDDP投与と電子線照射の併用群については全回転の観察を行った。また、残った

図10 電子線照射群のコルチ器（第2回転）
内, 外有毛細胞に特に変化は認められない
($\times 440$)

IHC: 内有毛細胞

OHC: 外有毛細胞

図11 併用群のコルチ器（第2回転）
外有毛細胞は聴毛の乱れ, 膨化, さらに完全消失を示すものまで高度に障害されている。しかし, 内有毛細胞の障害はごく軽度である。
($\times 780$)

IHC: 内有毛細胞

OHC: 外有毛細胞

内耳組織のうち膜迷路を酢酸イソアミルで置換後, 臨界点乾燥(日本電子製 JCPD-5)を行い, イオンスパッタリング装置(日本電子製 JFC-1100)で金コーティング後, 走査型電子顕微鏡(日本電子製 JSM-840A)にて蝸牛有毛細胞の観察を各群について行った。

(2) 水平断連続側頭骨病理標本

生理食塩水を腹腔内投与し照射した4匹, CDDPを腹腔内投与し照射した12匹について観察を行った。胸部大動脈より Heidenhain-SuSa 液にて生体灌流固定を施行後, 側頭骨を採取し, 常法にしたがって cel-luloid 包埋を行い, 25μ の厚さで水平断切片を作製, 5枚ごとに H.E.染色を施行し, 光学顕微鏡下に蝸牛および前庭器管を観察した。

実験結果

(1) 走査型電子顕微鏡による観察

図12 併用群の血管条（第2回転）

ミトコンドリアに種々の程度の変性が認められる。クロマチンの濃染, 空胞の形成も認められ

各群の蝸牛有毛細胞の障害状態を走査型電子顕微鏡で観察した。生理食塩水投与群および電子線照射群(図10)では有毛細胞に特に障害は認められず, CDDP投与群では外有毛細胞に散在性の障害が認められた。一方, CDDP投与と電子線照射の併用群では, 外有毛細胞の聴毛は短くなり, 配列が乱れ, 膨化し, さらに完全に消失するものなど強い障害が認められた(図11)。内有毛細胞にも一部聴毛の乱れが認められたが障害は軽度であった。支持細胞などには特に障害は認められなかった。以上のように各群における障害の程度は位相差顕微鏡による観察と同様の結果であった。

(2) 透過型電子顕微鏡による観察

各群の第2回転の血管条を, また, 併用群については全回転の血管条を透過型電子顕微鏡を用いて観察した。併用群では特に中間細胞にミトコンドリアの種々の程度の変性, クロマチンの濃染, 多数の空胞形成などが認められた(図12)。電子線照射群ではミトコンドリアに変性を認めるものがあつたが併用群ほど明らかではなかった。生理食塩水投与群, CDDP投与群ではミトコンドリアの変性は明らかではなかった。

(3) 水平断連続側頭骨病理標本による観察

生体灌流固定法を用い作製した側頭骨病理標本で, 蝸牛, 特にコルチ器や血管条, 蝸牛軸内血管の状態, そして前庭器管について観察を行った(図13)。CDDP投与と電子線照射の併用群では外有毛細胞, Hensen細胞の変性・消失, 血管条の空胞形成, ライスネル膜の剝離などの障害を認めた(図14)。これらの障害は基底回転で強く(図15), 第2回転以上で軽度であった(図16)。このような内耳の変性所見は, 併用群以外の群に

図13 CDDP を投与後右側頭骨に照射した動物の側頭骨病理所見。右中耳粘膜が浮腫状に腫脹している(矢印)。

R：右側頭骨 L：左側頭骨 CN：蝸牛神経

は認められず、二者併用により障害が増強したものと思われた。血管条の萎縮像は電子線照射群の一部にも認められるものがあつたが、生理食塩水投与群、CDDP 投与群には認められず、血管条も併用により障害が増強された可能性が考えられた。前庭器官、蝸牛軸内血管には各群とも特に変化は認められなかった。

また、各群で中耳粘膜には正常を示すもの、非化膿性滲出性炎症を示すもの、増殖性炎症を示すもの、化膿性炎症を示すもの、など種々の変化が認められた。化膿性炎症の強いものでは主に基底回転、第2回転の前庭階、鼓室階などの外リンパ腔内に fibrinoid の析出が認められた。これら中耳粘膜の炎症性変化は生理食塩水投与群が最も軽く、併用群で高度である傾向が認められた。しかし、併用群でも中耳粘膜が正常であったり、生理食塩水投与群でも高度の化膿性中耳炎を示すものもあり、中耳粘膜の状態と外有毛細胞の障害程度との間に関連性は認められなかった。さらに外リンパ腔内に fibrinoid の析出を認めたものでも有毛細胞に障害は認められず、本実験で観察された内耳障害は炎症による障害よりも電子線照射やCDDPの投与に起因するものと考えられた。

考 察

CDDP はその優れた抗腫瘍効果のため頭頸部悪性腫瘍に対し広く使用され、数多くの症例において放射線療法との併用が行われている。しかし一方で、CDDP および放射線は共に内耳障害を起こしてることが知られている。そこで今回、CDDP と電子線照射併用による内耳障害について検討を行い、二者を併用することにより内耳障害が、それぞれ単独投与する場合に比し著しく増強することが認められた。

(1) CDDP による内耳障害について

白金化合物である CDDP はアルキル化剤と同様に DNA 合成阻害作用を有し、1969年 Rosenberg ら³⁾により抗腫瘍効果のあることが報告され、以後、産婦人科領域や泌尿器科領域の悪性腫瘍をはじめ、頭頸部腫瘍にもその優れた効果を有し、わが国においては1984年に発売されて以来、癌化学療法の集学的治療の中心的薬剤となってきた。しかし一方で、CDDP は多彩でかつ激しい副作用を有しており、胃腸障害、腎毒性、聴器毒性、血液毒性などがある。CDDP による聴器毒性としての難聴の発現率は報告者により異なり、Hartwig ら⁴⁾の74例中3例(4%)、Wittes ら⁵⁾の73例中4例(5.5%)から、Hayes ら⁶⁾の31例中28例(90%)、Helson ら⁷⁾の104例中95例(91%)などがある。難聴の

図14 併用群の蝸牛
基底回転でコルチ器, 血管条, ライスネル膜に
障害を認め, これらの障害は基底回転で強く,
第2回転で軽度である.
T1: 基底回転 T2: 第2回転

図15 併用群のコルチ器 (基底回基)
外有毛細胞の変性・萎縮, Hensen 細胞の消失,
血管条の空胞形成, Reissner 膜の剝離など高度
の障害が認められる.

図16 併用群のコルチ器 (第2回転)
外有毛細胞の胞体の萎縮, 核の濃染, 血管条の
軽度萎縮, 空胞化が認められるが, 基底回転と
比較して軽度である.

発現には, 1 回投与量, 投与日数, 投与期間などの投与方法が関与しており, さらに one shot 静注と点滴静注を比べた場合, one shot 静注のほうが難聴の程度が強く, CDDP の血中濃度と聴力障害との相関性が報告されている⁸⁾. また, 難聴は CDDP の総投与量が $200\text{mg}/\text{m}^2$ 以上になると引き起こされると言われている^{7,8)}. しかし, より少ない投与量で聴力障害が生じた報告もある⁹⁾. 現在, 内耳中の白金濃度と蝸牛毒性との関連性については, なお, 明らかにされていないが, 蝸牛障害は血中白金濃度よりも内耳 emulsion 濃度と相関すると報告されている¹⁰⁾.

CDDP の内耳障害に対する実験的研究としては 1974 年 Piel ら¹¹⁾の報告に始まり, 以後その詳細な研究が進み, 主に蝸牛有毛細胞が障害されることが知られている. 有毛細胞の障害は内有毛細胞より外有毛細胞

に強く, 上方回転より下方回転が強いこと, 障害は非連続性・散在性に起こること, 外有毛細胞では内側第 1 列から障害されることなどが報告されている³⁾⁻²⁰⁾. 外有毛細胞の走査型電子顕微鏡的観察からは, 感覚毛表面の bleb の形成, 感覚毛の減少・消失, 欠損, 乱れ, 融合などが認められ, 透過型電子顕微鏡的観察からは感覚毛の消失, 空胞の拡大, ミトコンドリアの変性, 細胞膜の断裂, 細胞内容の遊出, 周囲支持細胞による置換などが認められている¹²⁾⁻¹³⁾. ヒト側頭骨においても, 実験動物における所見とほぼ同様の結果が報告されている¹⁴⁾⁻¹⁵⁾. また, 動物実験では主にモルモットが用いられており, これらの外有毛細胞障害を引き起こす CDDP 濃度としては, 1 回投与量で $10 \sim 12.5\text{mg}/\text{kg}$, 少量分割投与で総量 $12 \sim 40\text{mg}/\text{kg}$ と報告されている¹⁶⁾⁻¹⁷⁾. さらに, CDDP による血管条の障

図17 放射線深部率曲線
右上顎に対しての照射例。
○印は内耳の部分を示す。

害も報告されており、透過型電子顕微鏡による観察では、辺縁細胞の変性、辺縁細胞・中間細胞の離開、ミトコンドリアの変性、空胞の拡大、厚さの減少など¹³⁾¹⁸⁾¹⁹⁾が報告されている。さらにラセン神経節細胞の障害、蝸牛神経の変性²¹⁾、ライスネル膜のcollapse²²⁾も報告されているが、外有毛細胞に比べ障害は軽微であるとされている²³⁾。

(2) 放射線による内耳障害について

放射線による癌治療の報告は1859年のX線発見の頃よりあり、1920年代の200kvpX線治療装置の完成と共に癌に対する治療法が進歩し、⁶⁰Co・Linacと引き継がれていった。頭頸部悪性腫瘍に対しては扁平上皮癌が多いこともあり、放射線治療の対象になるものは全体の約30%を占め、しかもその大部分は放射線治療の成否が予後を決定し²⁴⁾、頭頸部腫瘍の治療には必要不可欠なものとなっている。しかし一方で、内耳に照射が及んだことによる難聴を経験することが少なくなく、照射後の感音難聴の発症が指摘されている¹⁾²⁾。図

17に右上顎に対し照射を行った症例の放射線深部率曲線を示したが、明らかに照射が内耳に及んでいる。このように頭頸部は解剖学的に特殊性を有すために、上顎腫瘍進展例、篩骨洞や蝶形骨洞腫瘍、聴器腫瘍、上咽頭腫瘍などの症例では、側頭骨が照射野に入り内耳に照射される可能性が高く、照射により内耳障害もたらされることが予想される。

放射線照射後の難聴については、伝音難聴と感音難聴の存在が指摘されている¹⁾。伝音難聴は一般に照射によって生じる中耳腔の炎症による難聴と見なされており、その成因としては、中耳腔内および耳管の粘膜内に存在する血管の透過性が照射によって亢進し、そのために滲出性の中耳炎などが起こるためとされてきた¹⁾。また、耳小骨のradionecrosisによる伝音難聴の報告もある²⁵⁾。一方、照射による感音難聴としては、Borsanyiら²⁶⁾、Leach²⁷⁾、Moretti²⁸⁾、当教室の村上ら²⁾などの報告がある。山本¹⁾は照射による感音難聴をさらに早期に出現する一過性のものと晩期に出現する進行性のものに区別し、前者は早期の血管系の反応によるものであり、後者は血管の狭窄性病変による虚血状態によるものであると述べている。

照射後早期に出現する感音難聴に関する実験としては、Kelemen²⁹⁾がモルモットに対し1~30Gyの全身照射を行い、その側頭骨病理標本を観察し、種々の程度の中耳炎の像および内耳における出血とそれに伴う蝸牛管内の構造の崩壊像を認め、さらに蝸牛の基底回転部および前庭部における膜迷路の圧迫を伴った外リンパ水腫様病変、すなわち漿液性内耳炎を呈していることなどを報告している。また、蝸牛有毛細胞の観察について、Winther³⁰⁾はモルモットの側頭骨にX線照射を施行し、surface preparation法を用いて観察を行い、外有毛細胞が広範な変性に陥っていたことを観察し、この有毛細胞障害がX線の直接作用であることを述べ、その障害が基底回転と第2回転の外有毛細胞に限局していたことを報告している。金川³¹⁾も照射後早期の内耳障害をABRを用いて観察し、照射による内耳障害が高周波域より起こりやすいこと、すなわち基底回転ほど障害されないことを報告し、その原因として、基底部では血液供給が多く、放射線障害に関与する酸素効果が大きく、さらに種々の生化学的代謝が活発であるため、阻害因子により特に高率に障害されやすいことなどを掲げている。

一方、照射後の晩期に出現する感音難聴に対する実験としては、Bohne³²⁾はチンチラを用い、⁶⁰Coを分割

で総量 40~90Gy 照射し、2 年後に内耳の観察を行い、感覚細胞・支持細胞の変性・消失、第 8 脳神経線維の減少を認めている。そしてこれらの変性・消失が照射量の増加に伴って高度になることを報告している。また、山本¹⁾はモルモット側頭骨に 18Gy の照射後、長期的な観察を行い、コルチ器、血管条、ラセン神経節細胞の著明な変性・消失、ラセン靱帯、ラセン板縁の癢痕化、さらに、蝸牛軸の細動静脈の内皮細胞の変性やその内膜の浮腫・線維化による内膜の狭窄を観察し、これらの内耳障害が時間と共に増強していたことを報告している。そしてその中で、照射後の進行性の晩発性の感音難聴は、進行性狭窄性血管病変による二次的な蝸牛有毛細胞の変性・萎縮・消失によるものであると述べている。

放射線障害によるヒト側頭骨病理所見では、照射後早期の報告は少なく、照射後 5~11カ月の側頭骨の観察からは、内耳および血管には照射による変化は認められなかったと報告されている³³⁾。一方、Leach²⁶⁾は照射による晩発性の変化として、コルチ器の変性、ラセン神経節細胞の萎縮を観察し、コルチ器が消失したあとには好酸性の液状物質が基底膜を覆っていたと報告している。Schuknecht³⁴⁾も膜迷路、特にラセン靱帯の萎縮によるコルチ器の変性、有毛細胞の消失、血管条の萎縮、蝸牛神経線維の減少などを認めており、照射後ときおり見られる進行性の感音難聴の原因と考えられると述べている。

(3) CDDP と電子線併用による内耳障害増強性について

これまで述べてきたように、CDDP は蝸牛外有毛細胞の変性を中心としたコルチ器および血管条の血管条の障害を、放射線照射は種々の内耳内の炎症性変化を含めたコルチ器、血管条、ラセン神経節、蝸牛軸内血管などの障害を起こしてくる。このような内耳障害を副作用としてもつ両者が、近代医学の発展にともない集学的癌治療に際して、たびたび併用されてきているにもかかわらず、両者を併用した際の内耳障害について検討した報告は現在までみられない。そこで今回、CDDP を腹腔内投与したモルモットの側頭骨に電子線照射を行い、二者併用時の内耳障害について観察を行った。今回の実験はできるだけより臨床使用法に近づけ、かつ文献的に内耳障害をきたしうる条件で行った。すなわち現在、臨床的には CDDP は 50~100mg/m² の点滴静注を 3 クールほど行い、放射線療法としては 60~70Gy を 30~50 回程度で分割照射するのが一般

的である。実験的には、モルモットの蝸牛外有毛細胞に障害を起こす CDDP 量は少量分割投与で総量 12~40mg/kg と報告¹⁶⁾¹⁷⁾されている。一方、モルモット内耳への放射線照射実験は、これまでの報告では分割照射は行われておらず、20~40Gy 照射 4 週間後には蝸牛有毛細胞などに変化を認めず、60~70Gy 照射 1 週間後に外有毛細胞の広範な変性を認めている¹³⁾¹³¹⁾。そこで、今回の実験では CDDP 総量 10mg/kg、電子線照射総線量 70Gy を 5 日間に分割負荷して検討した。

位相差顕微鏡を用いた Surface preparation 法による観察では、蝸牛有毛細胞には、その障害率に CDDP 投与、電子線照射および両者の併用群の間に有意差は認められなかった。しかし、外有毛細胞には CDDP 投与と電子線照射の併用群では高度の障害がみられ、その障害率は CDDP 投与群および電子線照射群のそれぞれの和よりも有意に高かった。また、これらの障害は基底回転ほど著明に増強された。この外有毛細胞の障害が基底回転ほど著明に増強された理由としては、基底回転ほど血液供給が盛んであり、種々の生化学的代謝も活発であることなどにより、CDDP や電子線照射による内耳障害が基底回転ほど強く起こるため、両者を負荷することにより受傷性がさらに増強されるためと考えられた。

血管条には電子線照射と CDDP 投与の併用群で、光学顕微鏡的に萎縮・変性を認め、電子顕微鏡的にはミトコンドリアの種々の程度の変性、クロマチンの濃染および空胞の形成などが認められた。血管条の萎縮・変性像は電子線照射群の一部にも認められる部分があったが、併用群ほど明らかではなく、二者併用により血管条にも相乗的に障害を起こしてきた可能性が考えられた。

さらに、併用群ではライスネル膜、Hensen 細胞にも障害が観察された。これらの変化は他の群では認められず、これも二者併用により障害が増強された可能性が考えられた。

他の内耳組織や前庭器官には各群において特に障害は認められなかった。特に蝸牛軸内血管は併用群でも明らかな変化は認められず、本実験において認められた内耳障害は、照射による血管の狭窄性病変によりもたらされた二次的なものというよりは、電子線および CDDP の内耳への直接作用によるものと考えられた。

以上、CDDP 投与と電子線照射を併用することにより内耳障害が増強することが判明したが、これは白金

製剤であるCDDPの聴器毒性が増強されたのか、電子線の影響が増強されたのかについては、CDDP、電子線共に内耳に対して障害作用を有していることなどより結論づけることは困難であった。いずれにしても両者を併用することにより内耳障害が相乗的に増強することから、集学的治療法により生存率が向上している現在、放射線治療で側頭骨が照射される可能性があり、さらにCDDPの投与を行うような症例においては、副作用としての内耳障害についても十分な注意を払うことが必要であると思われる。

本実験は、最終負荷施行後3週間目の内耳の状態について観察を行ったが、放射線による内耳障害は一般に、年余にわたって進行していくことが知られている^{13,2)}。これは照射により内耳血管の内皮細胞に障害がもたらされ、血管内膜の線維化・内腔の狭窄が生じ、その結果、蝸牛感覚細胞などの膜迷路内の諸構造が虚脱状態になり、それらの変性・萎縮、または消失をきたすためと報告されている¹⁾。したがって、本実験における内耳障害も電子線照射群、併用群では時間の経過とともに進行していくことが予想される。しかし、二者併用により内耳障害がさらに増強していくのかどうかについては不明であり、今後検討を加えていく予定である。

結 語

CDDP投与と電子線照射の併用による内耳障害についてハートレイ系白色モルモットを使用して検討し、以下の結果を得た。

1) 蝸牛有毛細胞の障害は生理食塩水投与群や電子線照射群ではほとんど認められず、CDDP投与群では散在性に認めた。一方、CDDP投与と電子線照射の併用群では高度の障害を認めた。しかし、内有毛細胞の障害は軽度であり、各群で有意差は認められなかった。

2) 蝸牛外有毛細胞の障害率は、併用群ではCDDP投与群および電子線照射群のそれぞれの和よりも有意に高く、併用することにより外有毛細胞の障害が単独投与に比し著しく増強された。特に基底回転、第2回転で著明な障害の増強性が認められた。

3) 血管索、ライスネル膜、Hensen細胞などの障害に関しても、二者併用により増強する可能性が考えられた。これらの障害も、基底回転ほど著明であった。

4) 本実験で観察された内耳障害は、蝸牛軸内血管に明らかな障害が認められなかったことより、電子線およびCDDPによる内耳への直接作用によるものと考えた。

5) 以上の実験結果より、CDDP投与と電子線照射を併用することにより、内耳障害がおのおの単独負荷した場合より相乗的に増強することが判明した。頭頸部腫瘍の治療に対し二者を併用する場合には、副作用としての内耳障害にも十分な注意を払うことが必要であると思われる。

参 考 文 献

- 1) 山本松紀：放射線照射によって生じる感音性難聴に関する臨床的および実験的研究。耳鼻臨床72：979-997, 1979.
- 2) 村上正文 他：頭頸部悪性腫瘍照射例の感音性難聴。耳鼻臨床 補冊32：掲載予定。
- 3) Rosenberg B et al: Platinum compounds; a new class of potent antitumor agents. *Nature* 222: 385-386, 1969.
- 4) Hartwing S et al: A cytostatic with an ototoxic effect. *ORL* 45: 257-261, 1983.
- 5) Wittes R et al: Based chemotherapy as initial treatment of advanced head and neck cancer. *Cancer Treat Rep* 63: 1533-1538, 1979.
- 6) Hayes DM et al: High dose Cis-platinum diaminedichloride: Amelioration of renal toxicity by mannitol diuresis. *Cancer* 39: 1372-1381, 1977.
- 7) Helson L et al: Cis-platinum ototoxicity. *Clin Toxicol* 13: 469-478, 1978.
- 8) 大西裕美子 他：シスプラチンによる内耳障害。耳喉 56: 937-942, 1984.
- 9) 安斎友博 他：シスプラチン難聴に関する臨床的検討。臨床耳科3：190-191, 1986.
- 10) 川出和彦 他：抗腫瘍剤（ナイトロミン、シスプラチン）による蝸牛障害とステロイドの影響。日耳鼻89: 177-191, 1986.
- 11) Piel IJ et al: Effects of cisdiammine-dichloroplatinum (NSC-119875) on hearing function in man: cancer chemotherapy report part 1 58: 871-875, 1974.
- 12) Nakai Y et al: Ototoxicity of the anticancer drug cisplatin. *Acta Otolaryngol* 93: 227-232, 1982.
- 13) 野々村直文 他：シスプラチン投与による蝸牛有毛細胞の変化について一走査電顕による観察一。Ear Res Jpn 12: 90-93, 1981.
- 14) Wright CG: Inner ear histopathology in patients treated with Cis-platinum. *Laryngoscope* 92: 1408-1413, 1982.
- 15) 藤野明人 他：シスプラチンを投与されたヒト蝸牛の

- 走査電顕的観察。耳鼻30: 24-28, 1984.
- 16) 森田一郎 他: Cisplatin の聴器毒性について。耳鼻臨床78: 561-568, 1985.
- 17) 村上嘉彦 他: Cisplatin の聴器毒性について—第1報, 蝸牛ラセン器の病態—。耳鼻23: 521-526, 1980.
- 18) 鳥谷陽一 他: Cis-diammine dichloroplatinum 投与後のモルモット有毛細胞の微細変化。耳鼻と臨床28: 347-351, 1982.
- 19) Tange RA et al: Changes in the stria vascularis of the guinea pig due to cis-platinum. Arch Otorhinolaryngol 230: 41-47, 1984.
- 20) 大谷 巖 他: 抗悪性腫瘍剤 Cisplatin の聴器毒性に対する Fosfomycin の軽減作用に関する実験的研究。日耳鼻87: 833-840, 1984.
- 21) Strauss M et al: Cis-platinum ototoxicity; Clinical experience and temporal bone histopathology. Laryngoscope 93: 1554-1559, 1983.
- 22) Komune S: Pathophysiology of the ototoxicity of Cis-diamminedichloroplatinum. Otolaryngol Head Neck Surg 89: 275-282, 1981.
- 23) 村上嘉彦 他: Cisplatin の聴器毒性に対する実験的研究。内耳生化学11: 69-71, 1980.
- 24) 有水 昇, 高島 力: 標準放射線医学, 医学書院, 東京, 1982.
- 25) Gyorkey J and Pallock FJ: Radiation necrosis of the ossicles. Arch Otolaryngol. 71: 793-796, 1960.
- 26) Borsanyi S et al: The effects of ionizing radiation on the ear. Ann Otol Rhinol Laryngol 70: 255-262, 1961.
- 27) Leach W: Irradiation of the ear. J Laryngol 79: 870-880, 1965.
- 28) Moretti AJ: Sensori-neural hearing loss following radiotherapy to the nasopharynx. Laryngoscope 86: 598-603, 1976.
- 29) Kelemen G: Radiation and the ear. Acta Otolaryngol Supple 184: 1-48, 1963.
- 30) Winther FO: X-ray irradiation of the inner ear of the guinea pig. early degenerative changes in the cochlea. Acta Otolaryngol 68: 98-117, 1969.
- 31) 金川清人: 放射線の内耳に及ぼす影響。日耳鼻86: 539-549, 1983.
- 32) Bohne BA et al: Delayed effects of ionizing radiation on the ear. Laryngoscope 95: 818-828, 1985.
- 33) 相川 通 他: 頭頸部癌放射線照射症例の側頭骨病理所見について。Ear Res Jpn 18: 431-433, 1987.
- 34) Schuknecht HF: Pathology of the ear. Harvard University Press, Cambridge, 1976, pp.311-315.
-
- 稿を終わるにあたり、御指導ならびに御校閲を賜った恩師大谷 巖教授に深甚なる謝意を捧げます。協力を惜しまれなかった放射線科学教室星野俊明助教授、山口 満医療技師、山田久夫医療技師、側頭骨病理標本作製にご協力頂いた佐藤悦子医療技師に厚く感謝の意を表します。また、ご協力頂いた耳鼻咽喉科学教室員各位に感謝いたします。
- なお本論文の要旨は、第35回日本基礎耳科学会、第12回日本頭頸部腫瘍学会、第37回日耳鼻東北連合学会、第280回福島医学会学術研究集会にて発表した。
-
- (原稿受付 昭和63.10.25日急載)
- 別刷請求先 〒960-12 福島市光が丘 1番地
福島県立医科大学耳鼻咽喉科学教室 岡村洋冲