サリチル酸の蝸牛電位に及ぼす影響について

くさかり   じゅん   みよし   たもつ   わだ   じゅん   かんはやしじゅんいち
 草刈   潤・三好   保・和田   淳・神林   潤一
 かわもと   かずとも
 河本   和友

サルチル酸中毒 (acute salicylate poisoning) のときに耳鳴, 難聴, 眩暈等の耳症状が高頻度に出現することはよく知られた事実である^{1)~8)}. しかしながらこの薬剤の内耳における作用機序は十分に解明されておらず, 電気生理学的にも CM 及び AP 共に低下するという説⁹⁾ と AP のみが低下するという報告¹⁰⁾ がある. 本実験の目的は電気生理学的に再検討することにある.

実験方法

体重250~350 g, プライエル反射正常なるモルモット, 47匹を使用した. 動物をネンブター麻酔下 (28mg/kg) に気管切開し, 筋弛緩剤 (フラキシディール又はレラキシン) 投与後人工呼吸を行った. EP の記録は正円窓経由で基礎回転から行い, CM 及び AP の記録は基礎回転からいわゆる differential electrode recording によった. 音刺激は 6 KHz で最大音圧は鼓膜面附近で105 dB (SPL) であった. CMの記録には, rise-decay time 1.0msec,

40msec 持続の音を, 又 AP の記録には立ち上がりの速い音を 500msec 間隔できかせ signal analyser system 5480 A (Hewlett Packard 社製) にて 16 回加算し基線から N_1 の peak までの高さの平均をもって AP の振幅とした. Na-Salicylate を 1 ml に 50mg の割合いで溶解し, 体重 kg あたり 350mg (21匹), 500mg (24匹), 600mg (2匹) を腹腔内に投与した. 実験中は体温の保持に特に注意し, 37°C前後になるように心がけた.

実験結果

1. Salicylate の血中濃度 (図1)

投与後 1~2 時間で最高値に達し 3 時間後には低下の傾向を示した. 500mg/kg 3 匹, 350mg/kg 4 匹にて測定したが全て同じ傾向を示した. 又, 図 (1) に×で示す如く外リンパ液中の濃度も測定したが血中濃度と同様 1 時間後には高い濃度が認められ, この時間までには確実に内耳に到達していることが確認された.

2. EPに与える影響 (図2)

350mg/kg (1 匹), 500mg/kg (12匹) を投与し 2~3 時間観察したが全く変化は認められなかった. 又一部の動物に投与 2~3 時間後呼吸器を止め ischemia を負荷したが EP の反応パターンには正常動物の反応と何等相違は認められず EP を構成している電位にも何等変化がないことを示していた.

3. CMに与える影響 (図3)

350mg/kg (11匹) 500mg/kg (7 匹), 600mg/kg

Effects of Salicylate on the Cochlear Potentials.

Jun Kusakari, Tamotsu Miyoshi, Jun Wada, Jun-ichi Kambayashi and Kazutomo Kawamoto.
 東北大学医学部耳鼻咽喉科学教室

図1 Salicylateの血中並びに外リンパ液内濃度。
・印は血中，×印は外リンパ液中の Salicylate の濃度を示す。いずれも 500mg/kg 投与。

図2 Salicylate 投与による EP への影響。代表例 3 例を示す。いずれも全く変化なし。

(2 匹) 投与 2～3 時間 観察したが変化は全く認められなかった。

4. AP に与える影響 (図4)

CM を記録したのと同じ動物で AP の変化を観察した。最大反応値は 2～3 時間にわたり不変であったが、弱い音圧に対する反応は著明に低下し域値の上昇が認められた。AP の intensity-function curve にある 2 つの hump のうち低い音圧に対する方が 1～2 時間後には消失したとも言える反応であった。コントロー

図3 Salicylate 投与による CM への影響。500 mg/kg 投与の 1 例。CM は全く変化しない。横軸はアテニュエーターの目盛を示す。最大音圧は約 105dB in SPL。

図4 Salicylate 投与による AP への影響。500 mg/kg 投与の 1 例。弱い音圧に対する反応が低下している。

ル動物 3 匹にて 2～3 時間 AP を観察したがこのような変化は認められなかった。

考

アスピリン中毒における耳症状は血中濃度が 20～30mg % 以上になると出現し、濃度が増すと症状も増強するが、約 40mg % 以上になるとそれ以

按

上の症状の悪化はないといわれる¹⁾²⁾⁴⁾⁶⁾⁸⁾。最初の報告は Schwabach によるもので、以来臨床並びに動物実験につき諸家の報告がある。先

ず聴力像では flat に 20~40dB 低下するという報告や高音漸傾型を呈するという報告²⁾⁶⁾ がある。Waltner (1955)³⁾はリクルートメントの存在を示し, Myers and Bernstein (1965)²⁾は 37%に SISI が陽性であったと報告している。T.T.S. や語音聴力検査には 著変はないといわれ, biaural summation も正常といわれる⁵⁾。

形態学的には, Falbe-Hansen¹⁾ の hyper-tonic degeneration が生ずるという報告や Covell(1936)¹²⁾の血管条, 外有毛細胞及びラセン神経節細胞のミトコンドリアに変化があるという説もあるが, 近年のヒトの側頭骨における所見やサルの電顕学的検索では形態学的には全く変化が認められず, アスピリン投与時の内耳における変化は恐らく酵素レベルのものであろうと思われる。

電気生理学的には, CM, AP 共に低下するという説 (Silverstein et al. 1967⁹⁾) と, CM は変化せず AP のみが低下するという報告 (Mitchell et al. 1973¹⁰⁾) がある。本実験の結果は, EP 及び CM には変化がなく, AP の生成機構に障害があることを示していた。又 AP を構成するニューロンの中, 域値の低いものみに影響があるという結果は, Gold and Wilpizeski (1966)¹³⁾ のネコ聴神経核から記録した活動電位の変化とも一致するものである。AP はいわゆる whole nerve action potential であり, 数多くのニューロンが同期して fire したものを記録したものである。したがってその振幅は fire しているニューロンの数に比例する。よく知られていることであるが, AP の input-output. curve には図 5 に示す如く 2 つの hump があり, この curve を構成しているニューロンには, 2 つ (又は 3 つ) の種類があることを示している。一般に域値の低い方は外有毛細胞, 高い方は内有毛細胞由来と考えられている¹⁴⁾。したがって本実験における如く, 弱い音圧に対する反応のみが低下し, 強い音圧に対する反応が不変ということは外有毛細胞支配のニューロンから出る活動電位が低下もしく

図 5 AP の振幅とそれに関与するニューロンの数の関係を示す (Davis 原図)。

は消失していることを示している。一般に, 内耳感覚細胞に音刺激が作用すると, 感覚細胞上部で receptor potential (CM) が発生し, これが何等かの機序で synaptic transmitter の分泌を促し, この物質が postsynaptic membrane に作用して generator potential を発生, 更にこの電位が電気緊張的に蝸牛神経の最初の myelin sheath のある部分(initial segment) にまで伝わり, ここで活動電位を発生させるといわれる¹⁴⁾。

現在のところ, 蝸牛では generator potential の記録は不可能なので本実験の結果から言えることは generator potential, 又は action potential のどちらか又は両方の生成機構の障害がサリチル酸により生ずるということになる。

一般にアスピリンは多くの薬理作用を有しているが, その中, 特に oxydative phosphorylationの uncoupling や Pyridine nucleotide-linked dehydrogenases 及び flavin nucleotide-linked enzymes を抑制することが知られている¹⁵⁾。これはいずれもエネルギーの産生機構 (ATP の生成) に重大な障害を及ぼすものである。全身投与されたサリチル酸が内耳にど

んな具合に移行するかについては Ishii et al. (1967)¹⁶⁾の報告がある。モルモットの腹腔内に H^3 にてラベルしたサルチル酸を投与すると、1時間後には、血管条及びラセン靱帯に最も多いがとにかく蝸牛全体に拡散しているのが認められ、6時間後には radioactivity はほとんど消失するといわれる。したがって内耳の全ての部位が一応は障害される可能性がある。内耳における酵素学的研究では、Silverstein et al. (1967)⁹⁾ が内外リンパ液の maleic dehydrogenase の低下を報告し、Krazanowski and Matschinsky (1971)¹⁷⁾ はライスネル膜の ATP が低下すると述べているが、Thalmann et al. (1973) は内耳のいかなる部分にも ATP 及び P-Creatine の低下は認められなかったと報告している。Silverstein et al. の報告による内外リンパ液の maleic dehydrogenase の低下が何を意味しているか現在の所不明であるが彼等が推定しているコルチ器や血管条の代謝障害は本実験の結果から否定出来るものと思われる。又何故、AP の低下という事実があるにもかかわらず Krazanowski and Matschinsky や Thalmann et al. はエネルギー産生機構の障害を生化学的にとらえることが出来なかったのだろうか。先ず第1に考えられることは、両

者ともコルチ器、ラセン神経節、聴神経（中枢枝のことと思われる）で測定を行ったのであって、決して聴神経の末梢枝で測定を行ったわけではないということである。したがって generator potential の発生、この電位の initial segment までの伝導、そして initial segmentにおける action potential の発生に関与する部分はこの検索から除外されているわけである（現実はこの部分のみを dissect することは不可能であろう）。もう一つの可能性は一部のラセン神経節のみが障害されるためにこれらの生化学的分析では異常所見が出ないのではないかということである。Spoendlin (1970)¹⁹⁾ のネコにおける実験によると蝸牛神経のうち、大多数は内毛細胞と連絡があり、外毛細胞に関連するのはほんのわずかであるという。前述の如く、サルチル酸により影響をうけるのは外毛細胞由来の活動電位であると思われるので、影響をうける神経線維、又は神経節細胞の数はわずかであり、このような方法では、数多くある正常な細胞のなかのわずかな異常細胞を見出すことは困難であるかも知れない。作用機序及びその部位をより明確にするためには今後更に検討が必要である。

結 語

プライエル反射正常な47匹のモルモットにサルチル酸ナトリウム（350mg/kg, 500mg/kg 及び 600mg/kg）を投与し、次の如き結論を得た。

- ①投与1時間後には血中濃度は上昇し、且つ確実に到達していることを確認した。
- ②蝸牛電気現象のうち EP 及び CM は不変で、AP のみが変化する。
- ③投与後2～3時間では AP の変化は弱い音圧に対する変化のみで、強い音圧に対する反応は不変であった。

以上の結果を文献学的に考察し、サルチル酸による内耳障害は generator potential, 又は action potential の生成機構の障害によるものであらうと考えた。

本論文の主旨は第23回日本内耳生化学研究会にて口演した。又、本実験の一部は米国ミズリー州 セントルイス市のワシントン大学耳鼻咽喉科教室において行われたものである。

文 献

- 1) Graham, J.D.P. and Parker, W. A. : The toxic manifestations of sodium salicylate therapy. *Quart. J. Med.* 17 : 153~163, 1948.
- 2) Myers, E. N. and Bernstein, J. M. : Salicylate ototoxicity. *Arch. Otolaryng.* 82 : 483~493, 1965.
- 3) Waltner, J. G. : The effect of salicylates on the inner ear. *Ann. Otol.* 64 : 617~622, 1955.
- 4) Myers, E. N., Bernstein, J. M. and Fostropoulos, G. : Salicylate ototoxicity. A clinical study. *New Eng. J. Med.* 273 : 587~590, 1965.
- 5) Bernstein, J. M. and Weiss, A. D. : Further observations on salicylate ototoxicity. *J. Laryng.* 81 : 915~925, 1967.
- 6) McCabe, P. A. and Dey, F. L. : The effect of aspirin upon auditory sensitivity. *Arch. Otolaryngol.* 82 : 483~493, 1965.
- 7) 片桐主一, 他 : サリチル酸製剤の聴器に及ぼす影響 (第一報). *オージオロジー* 7 : 301~302, 1964.
- 8) Criffo, S. : Aspirin ototoxicity in the guinea pig. *ORL* 37 : 27~34, 1975.
- 9) Silverstein, H., Bernstein, J. M. and Davies, D, G. : Salicylate ototoxicity. A biochemical study. *Ann. Otol.* 76 : 118~127, 1967.
- 10) Mitchell, C. et al. : Electrophysiological study of the effect of sodium salicylate upon the cochlea. *Arch. Otolaryngol.* 98 : 297~301, 1973.
- 11) Farbe-Hansen, J. : Clinical and experimental histological studies on effects of salicylate and quinine on the ear. *Acta Otolaryng. Suppl.* 44 : 1941.
- 12) Covell, W. P. : A cytologic study of the effects of drugs on the cochlea. *Arch. Otolaryngol.* 23 : 633~641, 1936.
- 13) Gold, A. and Wilpizeski, C. R. : Studies in auditory adaptation. II Some effects of sodium salicylate on evoked auditory potentials in cats. *Laryngoscope* 76 : 674~685, 1966.
- 14) Dallos, P. : The auditory periphery. Biophysics and physiology. Academic Press, New York and London, 1973.
- 15) Smith, M.J.H. and Smith, P. K. : The salicylates. A critical bibliographic review. Interscience Publishers, New York, London, Sydney, 1966.
- 16) Ishii, T. et al. : Distribution of tritium-labeled salicylate in the cochlea. *Ann. otol.* 76 : 368~376, 1967.
- 17) Krazanowski, J. J. and Matschinsky, F.M. : A phosphocreatine gradient opposite to that of glycogen in the organ of Corti and the effect of salicylate on adenosine triphosphate and P-creatine in cochlear structures. *J. Histochem. Cytochem.* 19 : 321~323, 1971.
- 18) Thalmann, R. et al. : Quantitative approaches to the ototoxicity problem. *Audiology* 12 : 364~382, 1973.
- 19) Spoendlin, H. : Innervation of organ of Corti. *J. Laryng. Otol.* 81 : 717~738, 1970.

原稿到着 : 昭和51年 5月24日
 別刷請求先 : 草刈潤
 〒980 仙台市星陵町1の1
 東北大学医学部耳鼻咽喉科学教室