耳鼻咽喉科領域の神経ペプチドに関する免疫組織化学的研究

第1報：中耳粘膜および耳管における神経ペプチド分布

二之湯 修・山下 敏夫・天野 一

久保 伸夫・熊沢 忠躬

Immunohistochemical Studies of Peptidergic Innervation in the Field of Otolaryngology Part 1 Distribution of Peptidergic Nerve Fibers in the Middle Ear Mucosa and Eustachian Tube

Osamu Ninoyu, Toshio Yamashita, Hajime Amano,
Nobuo Kubo and Tadami Kumazawa

(Kansai Medical University)

The peptidergic innervation of the guinea pig's middle ear mucosa and eustachian tube was studied by the immunohistochemical method.

Concerning the middle ear mucosa, we tested 4 kinds of peptide antibodies-SP, VIP, GRP, and APP. All of them stained well by either the FITC or PAP method. Most of these nerve fibers are found along small blood vessels, but some of them run independently. GRP is only scarcely distributed, while the other kinds are well distributed. However around the tubal tympanic orifice, all four kinds of peptidergic nerve fibers were found in abundance.

The peptidergic innervation of the eustachian tube has already been studied concerning VIP and APP. In this paper, we tried and succeeded in displaying the SP nerve fiber distribution in the eustachian tube by either the FITC or PAP method. And we found that they are well distributed near the pharyngeal orifice. Also we were able to find them in the subepithelial region and around blood vessels, but a little a round the tubal glands.

This innervation of peptidergic nerve fibers in the middle ear mucosa and eustachian tube was comparatively similar to the innervation of adrenergic and cholinergic nerve fibers.

SP, VIP and GRP were not affected by the resection of the superior cervical ganglion, but it caused a reduction of the APP nerve fibers in the middle ear mucosa.

As a result of this study, we can suggest that the peptidergic nerve fibers in the middle ear and eustachian tube have a vasomotor and secretory actions, and work with both adrenergic and cholinergic nerve fibers in preventing infection and in helping to remove mucous secretions from the middle ear.

緒 言

中耳粘膜及び耳管における自律神経の分布は, 山下らによりアドレナリン作動神経 (ア神経)¹⁾²⁾ 及び石井らによりコリン作動神経 (コ神経) の分布³⁾ が報告されてきている. しかしごく最近従来のア神経, コ神経という 2 つの自律神経に加え, 免疫組織化学法の発達に伴い神経伝達物質と考えられる種々の神経ペプチドが自律神経様作用物質として報告される様になってきた⁴⁾. それらのうち Substance P (SP), Vasoactive Intestinal Polypeptide (VIP), Enkephalin (Enk) などを除いてはまだ十分にその生理的薬理学的性格は解明されていないが, 諸器官の自律神経作用を考える時, 従来のア神経, コ神経に加えて, 神経ペプチドについても検討する事が極めて重要な事と考えられる.

中耳粘膜に関しての神経ペプチド分布の報告はまだ見られていない. そこで著者らは同粘膜における SP, VIP, Avian Pancreatic Polypeptide (APP), Gastrin Releasing Peptide (GRP) の 4 種の神経ペプチドに対する抗体を使い, その分布を蛍光抗体法⁵⁾ (FITC 法) 及び PAP 法⁶⁾ を用い観察したので報告する.

又, 耳管の神経ペプチド分布に関しては, Uddman が VIP, APP に関してすでに報告している⁷⁾⁸⁾. しかし SP の分布を証明した報告は行っていないので今回著者らは耳管における SP 分布についても観察し併せて報告する.

材料及び方法

a) 材料及び採取: 200~500 g のプライエル反射陽性モルモット 20 匹を使用した. 試料採取には動物をジエチルエーテル麻酔後断頭し, 側頭骨を摘出し, マイクロスコープ下に側頭骨骨壁を除去し, 中耳腔内を観察後, 中耳粘膜を 4~5 部に細切して採取し, スライドガラス上に伸展し, ホルムアルデヒドとピクリン酸との混液中に一昼夜おいた⁹⁾. 耳管に関しては, 耳管鼓室口より人毛髪を挿入し, その走行を確認した後耳管咽頭口まで全長にわたって摘出し, 筋層など周囲組織を可及的に除去後, 凍結乾燥及び 4%ホルムアルデヒド (4%FA) 固定を行なった. 又, 中耳粘膜及び耳管における神経ペプチドの由来を調べる為, 上頸神経節除去を行った. 2 週間後標本を採取しそれぞれ伸展法, 凍結乾燥法及び 4%FA 固定法にて調べた.

b) 中耳粘膜の観察: 標本をピクリン酸とホルムアルデヒドとの混液中に一昼夜おいた後, 脱水し Xylene につけた. その後さらに含水させ, PBS buffer にて一昼夜保存. これらの標本に SP, VIP, APP, GRP に対する抗体を作

用させ, FITC 法及び PAP 法に従って各神経ペプチドの観察を行なった. FITC 法については第 2 抗体として Fluorescein isothiocyanate labelled swine antirabbit IgG (DACO) を使用し蛍光顕微鏡下にて観察, 又 FITC 法により蛍光を発するペプチド神経線維の存在が明瞭に見られない場合, PAP 法を使用した.

その方法としては, FITC 法により観察した標本伸展スライドガラスを Buffer にて洗滌した後, PAP (DACO) をさらに作用させ, ジアミノベンチジン染色により, 光学顕微鏡下にて観察した.

c) 耳管の観察: 標本を液体窒素内で凍結した後, 凍結乾燥機にて凍結乾燥を行った. その後ジエチルピロ炭酸塩処理を 60°C 3 時間行った¹⁰⁾. さらにパラフィン溶液中で真空包埋を 80°C 30 分間施行した. ブロック作製後, ミクロトームにて 6 μ m の切片を作製しスライドガラス上に伸展した. Xylene により脱パラフィンを行ない PBS+0.25% triton 溶液中で洗滌した. 第 1 抗体として S P 抗体を作用させ第 2 抗

表1 Characteristics of antiserum used

a) First antibody	Code No.	Working dilution in whole mount and cryostat section	Working dilution in freeze dry section	Source
SP	SP-8	1:20~40	1:320	Dr. P. Emson, Cambridge University, Cambridge England.
VIP	7852	1:160	—	Dr. R. EKman, Malmö general Hospital Malmö Sweden.
APP	—	1:80	—	Dr. J.R. Kimmel, university of Kansas Kansas city, USA
GRP	6902	1:320	—	Dr. N. Yanaihara, Laboratory of Bioorganic chemistry, Shizuoka College of Pharmacy, Shizuoka Japan

b) Second antibody and PAP	Code No.	Working dilution	Source
FITC labelled swine anti-rabbit IgG	F205	1:20	DACO company
unlabelled sheep anti-rabbit IgG	SR64 B050	1:30	SBL company
PAP (rabbit)	Z113	1:160	DACO company

体として Unlabelled sheep anti rabbit IgG (SBL) を使用し, さらに PAP (DACO) を作用させた. その後ジアミノベンチジン染色により光学顕微鏡下に観察した. 又, 標本を4%FA固定後, 翌日 Tyrode 液にての洗浄を2日間施行, 標本をドライアイス内で凍結後, クライオスタットにて約12 μ mの切片を作製しSP抗体を作用させた. その後, FITC 法に従い蛍光顕微鏡下に観察した.

d) 各種抗体 (表1)

SP 抗体は交叉反応試験により, COOH 基をもつ2つのアミノ酸基が SP と共通である Bombesin 及び GRP とは, 交叉反応は認められないがフィセラミンとの交叉反応がわずかに見られた.

VIP 抗体は, Enk, SP, Somatostatin, Neurotensin, Gastrin, そして CCK に対し

て交叉反応はみられなかった.

APP 抗体は, VIP, Somatostatin, SP, Met-Enkephalin, Bombesin, CCK-39, CCK-8, bovine PP 等との交叉反応は見られなかった.

GRP 抗体は, SP との交叉反応は示さないが合成 Bombesin とはわずかに交叉反応が見られた.

交叉反応に関してまだ知られていないペプチドに対する交叉反応の可能性は否定できない. その為, 現在までの所上記ペプチド神経線維は, SP 様, VIP 様, APP 様, GRP 様神経線維と言うべきであろうが, 本文中では便宜上, SP, VIP, APP, GRP 神経線維と記した. 吸収試験を行なう為過量の合成 SP, 精製 porcine VIP, 精製 avian PP, 合成 GRP を各抗体に作用させ, その特異性を確認した.

結 果

中耳粘膜において SP, VIP, APP 神経線維 (図1, 図2, 図3) は比較的多く見られたが GRP 神経線維は少なかった (図4). 各ペプチ

ド神経線維は varicosity を持っており, それらのほとんどの神経線維が血管に沿って走行していた. しかし一部は独立して走行する線維も

みられた。各ペプチド神経線維の中耳粘膜における部位別分布に関しては、耳管開口部に多くみられ開口部より遠ざかるにつれその分布は少なくなる傾向が見られた。その 1 例を SP 神経

線維について示す (図 5, 図 6)。

耳管における SP 神経線維の分布は、耳管鼓室口以下より中央部にかけて、その分布はきわめて少なかった (図 7)。一方、耳管咽頭口に

図 1 中耳粘膜の SP 神経線維 (↑)
(伸展標本)
PAP 法 (×320)

図 4 中耳粘膜における GRP 神経線維
(伸展標本)
PAP 法 (×320)

図 2 中耳粘膜における VIP 神経線維
(伸展標本)
FITC 法 (×320)

図 5 中耳粘膜の耳管鼓室口附近に多く見られた SP 神経線維 (伸展標本)
FITC 法 (×160)

図 3 中耳粘膜における APP 神経線維
(伸展標本)
FITC 法 (×320)

図 6 中耳粘膜の鼓室内側壁にみられる SP 神経線維 (伸展標本)
FITC 法 (×160)

図7 耳管鼓室口附近のSP神経分布(↑)
その分布はまばらである。
軟骨(C) 耳管腔(L)
ジェチルピロ炭酸塩処理パラフィン切片標本 P A P法(×100)

耳管腔周囲の粘膜下及び血管周囲に比較的豊富な分布(図8)を認めた。しかし耳管腺において、SP神経線維の分布は少なかった(図9)。

上頸神経節除去例の中耳粘膜及び耳管の観察では、除去例のSP, VIP, GRP各神経線維はほとんど影響を受けなかったが、中耳粘膜におけるAPP神経線維のみ影響を受け、その線維は消失した。

図8 耳管咽頭口附近の粘膜下におけるSP神経線維分布 上皮(E)
1) 4%FA処理クライオスタット切片標本 FITC法(×320)
2) ジェチルピロ炭酸塩処理パラフィン切片標本 P A P法(×200)

図9 耳管腺周囲のSP神経線維分布(↑)
耳管腺(G)
ジェチルピロ炭酸塩処理パラフィン切片標本 P A P法(×200)

考

SPは1931年 Von Euler と Gaddum¹¹⁾により、ウマ脳及び消化管のアルコール抽出物中に麻酔ウサギの血圧を低下させ、in vitroで腸管収縮作用を増す活性物質の存在として見出された。その一般的薬理作用としては強力な平滑筋収縮、血圧低下、血流増加、血管拡張、唾液分泌刺激作用を示す事が知られている。又もう1つの重要な役割として、一次知覚ニューロンの神経終末中に存在し、刺激によりそこから放出され、又脊髄ニューロンに対して強い興奮作用を示すことである¹²⁾。

VIPは1970年 Said & Mutt¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾らにより

察

ブタ小腸抽出物より血流増加作用、血圧降下作用、血管拡張作用など血管系に対する作用、平滑筋に対する作用、又血糖上昇作用などを有する28個からなるペプチドとして単離された。さらに腸管のみならず壁に神経叢の中にも見出され、かつ中枢神経や迷走神経にも存在する事がわかってきた¹⁶⁾。そして Fahren Krug¹⁷⁾らは迷走神経を刺激した後VIPの放出を認めており、それらのことからVIPの神経伝達物質としての役割りが考えられるようになってきた。又 Lundberg¹⁸⁾らはVIPが顎下腺や膵臓のコリン作動性ニューロンに含まれ、この2

つの **Transmitter** により外分泌腺の分泌及び血流が調節されていることを示唆した。

GRP は McDonald¹⁹⁾ らによりブタ消化管より発見された27個のアミノ酸よりなるペプチドである。又その作用として矢内原らは pGRP の投与実験で pGRP は内臓動脈の血流量を低下させ、大腿動脈の血流量増加をきたし、末梢血圧の上昇を認めた²⁰⁾。又、ラジオイムノアッセーによりブタ消化管、脾・脳組織において GRP 様免疫活性がきわめて広範に認められ、又、Suzue らは、pGRP が運動ニューロンを明らかに脱分極させることを唱えている²¹⁾。これらの結果から、神経伝達物質又は、調節物質として作用していると考えられている。

APP は Kimmel ら²²⁾²³⁾により鳥膀胱から36個のアミノ酸からなるポリペプチドとして分離された。PP は脊椎動物に広くみられる様であり²⁴⁾それらは腸管及び膀胱に存在する事が知られているが²⁵⁾²⁶⁾ APP に関して現在では、腸管、膀胱だけでなく脳及び腸管神経叢において広範な神経システムを作っている事が明らかにされつつある。しかし、これらのノイロンは人とか牛の PP に対する抗体では証明されず、APP に対する抗体においてのみ証明することができるので、それらのことは神経 PP が内分泌細胞にある PP とは違ったものであることを示唆している²⁷⁾。その APP の生理、薬理的作用はまだ広く知られていない。Lundberg ら²⁸⁾は交感神経節において、APP を多く見出しており、又 Uddman らは脳血管におけるその分布を調べ、APP がア神経の一部を構成しているのであろうことを述べている²⁹⁾。これらのことから APP の神経伝達物質又は調節因子としての可能性が考えられてきた。

以上の4種の神経ペプチドのうち、とくに GRP, APP についての薬理作用は尚不明な点が多く、又個々の薬理作用も若干異なる様であるが共通していえる事は、これらの神経ペプチドは血管に対し作用し、又、平滑筋や腺分泌などにも関与するであろうという事である。

中耳粘膜におけるア神経線維及びコ神経線維の分布はそれぞれ山下²⁾ら及び石井³⁾らによりくわしく報告されており、その結果、それぞれの神経線維の分布は耳管開口部附近に多いとしている。今回著者らが得た知見でも、やはり SP, VIP, APP, GRP 神経線維も同様に耳管開口部附近に多くみられ、山下ら石井らの報告と良く合致した。一方耳管においてはア神経線維分布に関し山下らにより¹⁾詳しく報告されており、そしてコ神経及び VIP⁷⁾, APP⁸⁾について Uddman らによりその分布が調べられている。それらの報告では耳管腺、血管及び粘膜下にそれらの神経線維が多いとし、耳管咽頭口においてその分布は密であるとのべている。今回の我々の耳管における SP 分布を調べた結果でもやはりその分布は耳管咽頭口附近に多く見られた。しかし、血管、粘膜下などに SP 神経線維が多く存在することを示し得たが、耳管腺に関してはその分布は少なかった。

以上述べたごとく中耳粘膜および耳管に於ける各種神経ペプチドの分布様式は文献上見られるア神経及びコ神経の分布様式に近似するものであるが、SP 線維の耳管腺における分布が少ないということは興味のあることであり、今後の検討を要するものと考えた。

各神経線維の由来について調べる為、上頸神経節除去を行なった。その結果中耳粘膜において健常側に比し切除側の中耳粘膜内 APP 神経線維の消失をみとめたのみで他の VIP, SP, GRP 神経線維は影響を受けなかった。又耳管における SP 神経線維も影響を受けなかった。

この結果は、山下らによる中耳粘膜及び耳管のア神経線維が上頸神経節経由で分布するという報告に対し、VIP, SP, GRP 神経線維はこれを経ずに分布しているのであろうことを示した。Steven³⁰⁾ らは、耳管粘膜への自律神経支配として、交感神経又副交感神経の関与及びその由来について述べている。そこで特に耳管粘膜に対する副交感神経路として翼口蓋神経節よ

りの咽頭枝以外に他の副交感神経路が存在する可能性を示唆し、それはアトロピン拮抗性であり、非コリン作動性の可能性があることを述べている。今回我々の得た SP 神経線維は **non cholinergic** な作用を持つといわれており、耳管に対する非コリン作動性神経の 1 つとして考えることが出来ると思う。又、耳管への SP 神経線維の由来はおそらく翼口蓋神経節からのものであろうと推測した。

人耳管において熊沢らはその機能を生理学的又組織学的に詳細にわたり検討しているが³¹⁾、その中で耳管の自律神経の作用に関して、耳管開放症、狭窄症の症例に対しそれぞれ星状神経節及び翼口蓋神経節ブロックを行ない、耳管機能を測定すると同時に内視鏡による耳管咽頭口の観察を行なっている。その結果前者が耳管を狭くさせ、後者が拡大させる事が明らかになり、耳管咽頭口もそれぞれに相応した変化を認めた。この事は自律神経の影響が耳管機能に、特にその咽頭口に強く作用していることを示唆するものと考えられる。今回の研究はあくまで動物実験であり、又ペプチドに対するポリクロ

ナル抗体を使った研究であるが、中耳粘膜、耳管において従来の交感神経、副交感神経の 2 者支配ではなく新たな知見としてこれと種々の神経ペプチドが加わり、この 3 者の協同により中耳耳管の自律機能の調節が行われている事が判り、ひいてはこの 3 者で耳管の通気性に多大な影響を与えていると推測した。

通気性の他に耳管及び中耳粘膜が持つ重要な生理作用は、鼻咽頭からの中耳腔感染を防禦する事であり、又防禦機構を突破して中耳腔へ進入した細菌などの異物を **mucociliary system** により排除する事である。中耳粘膜及び耳管に神経ペプチドの十分な分布があり、特に中耳腔への異物侵入の 2 つの関門と思える耳管咽頭口附近、及び中耳腔の耳管口附近にその分布が密である事、又さらには文献的に交感神経、副交感神経の分布様式も同様である事を考え合えると、この異物防禦、排泄作用も、交感神経、副交感神経、神経ペプチドが加わり、これら 3 者の協同作用により支配されているものと考えられた。

結 語

中耳粘膜及び耳管における神経ペプチド分布を蛍光抗体法及び PAP 法により観察した。中耳粘膜については、SP, VIP, APP, GRP, 各ペプチド神経線維の分布を調べた。神経線維のほとんどは微小血管に沿ってみられたが、中には独立して走行する神経線維もみられた。SP, VIP, APP, 3 種のペプチド神経線維は、中耳粘膜において多く分布していたが、GRP 神経線維については、その分布は全体的に少なかった。中耳腔内分布において、4 種のペプチド神経線維は、耳管鼓室口附近に多く鼓室口より遠ざかるにつれて、その分布は少なくなる傾向がみられた。

耳管におけるペプチド神経線維の報告はすでに VIP そして APP に関して調べられているが、今回著者らは蛍光抗体法及び PAP 法により耳管における SP 神経線維分布を調べ得たので報告した。SP 神経線維は耳管鼓室口より中央部にかけて少なく、耳管咽頭口附近に多く分布していた。粘膜下そして血管周囲にその分布を多く認めたが、耳管腺周囲には少なかった。

上頸神経節除去により中耳粘膜における APP 神経線維は消失したが、SP, VIP, GRP, 各神経線維は影響を受けなかった。中耳粘膜及び耳管に見出された各ペプチド神経線維は血管拡張、血流増加作用及び分泌亢進作用があると言われており、それらは従来のアドレナリン作動神経線維、コリン作動神経線維と共同して耳管を通しての通気性の維持をして中耳における感染防禦及び異物除去作用などに影響しているものと勘案した。

本研究の一部は文部省科学研究費 (No.56480289) の援助を受けた。

尚本論文の要旨の一部は第 202 回日本耳鼻咽喉科学会大阪地方連合会に於いて発表した。

参 考 文 献

- 1) Yamashita, T. Amano, H., et al. : Adrenergic innervation in the eustachian tube of guinea pigs. Arch. Otorhinolaryngol. 225 : 279~282, 1979.
- 2) 山下敏夫, 天野 一, 他 : 中耳粘膜の交感神経分布. 耳鼻臨床 76 : 95~98, 1983
- 3) Ishii, T., et al. : Autonomic nervous system of the cat middle ear mucosa. Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. 85 : Supple. 25 : 51~57, 1976.
- 4) 大塚正徳 : ペプチド性伝達物質の現状. 神経精神薬理 2 : 333~341, 1980.
- 5) Coons, A.H., et al. : Studies on antibody production : A method for the histochemical demonstration of specific antibody and its application to a study of the hyperimmune rabbit. J. Exp. Med. 102 : 49~60, 1955.
- 6) Sternberger, L.A. : Immunocytochemistry. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, N.J. 1974.
- 7) Uddman, R., et al. : Innervation of the feline eustachian tube. Ann. Otol. 88 : 557~561, 1979.
- 8) Uddman, R., et al. : Immunoreactive avian pancreatic polypeptide occurs in nerves of the mammalian nasal mucosa and eustachian tube. O.R.L. 42 : 242~248, 1980.
- 9) Costa, M., et al. : Immunohistochemical localization of polypeptides in peripheral autonomic nerves using whole mount preparations. Histochemistry 65 : 157~165, 1980.
- 10) Pearse, A.G.E., et al. : Diethylpyrocarbonate, a vapour-phase fixative for immunofluorescence studies on polypeptide hormones. Histochem. J. 6 : 347~352, 1974.
- 11) Euler, U.S. Von., et al. : An Unidentified depressor substance in certain tissue extracts. J. physiology 72 : 74~87, 1931.
- 12) 小西史郎 : ペプチド性伝達物質—ニューロンへのペプチドの作用. 神経精神薬理 2 : 369~380, 1980.
- 13) Said, S.I. & Mutt, V. : Polypeptide with broad biological activity. Isolation from small intestine. Science 169 : 1217~1218, 1970.
- 14) Said, S.I. & Mutt, V. : Potent peripheral and splanchnic vasodilator peptide from normal gut. Nature 225 : 863~864, 1970.
- 15) Said, S.I. & Mutt, V. : Isolation from porcine-intestinal wall of a vasoactive octacosapeptide related to secretin and glucagon. Eur. J. Biochem. 28 : 199~204, 1972.
- 16) Larson, L.I., et al. : Localization of vasoactive intestinal polypeptide(VIP) to central and peripheral neurons. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 73 : 3197~3200, 1976.
- 17) Schaffalitzky de Muckadell, O.B., Fahrenkrug, J., et al. : Release of vasoactive intestinal polypeptide(VIP) by electric stimulation of the vagal nerves. Gastroenterology 72 : 373~375, 1977.
- 18) Lundberg, J.M., et al. : Vasoactive intestinal polypeptide in cholinergic neurons of exocrine glands ; Functional significance of co-existing transmitters for vasodilation and secretion. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 77 : 1651~1655, 1980.
- 19) McDonald, T.J., et al. : Characterization of a gastrin releasing peptide from porcine non-antral gastric tissue. Biochem. Biophys. Res. Commun. 90 : 227~233, 1979.
- 20) 矢内原昇, 他 : ボンベシンとガストリン放出ペプチド. 日本臨床 5 : 1088~1094, 1982.
- 21) Suzue, T., et al. : Actions of vasopressin, gastrin releasing peptide and other peptides on neurons of newborn rat spinal cord in vitro. Neuroscience Letters 26 : 137, 1980.
- 22) Kimmel, J. R., et al. : A new pancreatic pol-

- ypeptide hormone. Fed. Proc. 30 : 1318(abs.), 1971.
- 23) Kimmel, J. R., et al. : Isolation and characterization of a new pancreatic polypeptide hormone. J. Biol. Chem. 250 : 9369~9376, 1975.
- 24) Langslow, D. R., et al. : Studies of the distribution of a new avian pancreatic polypeptide and insulin among birds, reptiles, amphibians and mammals. Endocrinology, 93 : 558~565, 1971.
- 25) Larsson, L. I., et al. : Localization of APP, a postulated new hormone, to a pancreatic endocrine cell type. Histochemistry 42 : 377~382, 1974.
- 26) Alumets, J., et al. : Distribution, ontogeny and ultrastructure of pancreatic polypeptide (PP) cells in the pancreas and gut chicken. Cell Tiss. Res. 194 : 377~386, 1978.
- 27) Loren, I., et al. : Immunoreactive pancreatic polypeptide (PP) occurs in the central and peripheral nervous system : preliminary immunocytochemical observation. Cell Tiss. Res. 200 : 179~186, 1979.
- 28) Lundberg, J. M., et al. : Coexistence of an avian pancreatic polypeptide (APP) immunoreactive substance and catecholamines in some peripheral and central neurons. Acta. Physiol. Scand. 110 : 107~109, 1980.
- 29) Uddman, R., et al. : Immunohistochemical demonstration of APP immunoreactive nerve fibres around cerebral blood vessels. Brain Res. Bull. (inpress)
- 30) Steven, E., et al. : Vidian nerve and the Eustachian Tube. Ann. Otol. 85 : 83~85, 1976.
- 31) 熊沢忠躬 : 耳管の基礎と臨床. 日本耳鼻咽喉科学会第81回総会一宿題報告一. 1980.
- (原稿到着 : 昭和57年12月3日
別刷請求先 : 二之湯 修
〒570 大阪府守口市文園町1
関西医科大学耳鼻咽喉科学教室)