研 究

ゲンタマイシンの前庭器・神経節に及ぼす影響

世 良 公 志

Effect of Gentamicin on Vestibular Sensory Epithelial Cells and Vestibular Ganglion

Koji Sera

(Hiroshima University)

Morphological changes in the vestibular sensory epithelial cells and the vestibular ganglia following gentamicin (GM) intoxication were demonstrated three dimensionally by scanning electron microscopy.

A single dose of 4 mg (0.1 ml) of GM was injected into the middle ears of guinea pigs through the tympanic membrane. The vestibular organs and ganglia were observed from one day to 6 months after the treatment. Four days after the injection, fusion, ballooning and disappearance of sensory cilia were observed in the vestibular sensory epithelium. These changes were more marked in type I than in type II hair cells. Earlier morphological signs of degeneration were observed in the mitochondria of the supranuclear portion of type I hair cells.

Later dilatation of the cisterns in the Golgi apparatus as well as of the endoplasmic reticulum were noted. Nerve chalices also revealed disintegration in the earlier phase of degeneration. The changes of the sensory cell progressed and extended from the central toward the peripheral area of the crista and the macula.

These findings suggest that GM may induce some metabolic changes in the vestibular sensory cells which result in fusion or loss of sensory hairs and later complete disappearance of sensory cells.

Changes in the vestibular ganglia were first observed seven days after the treatment. The degenerative process started with destruction of the mitochondrial cristae of the Schwann cells and the ganglion cells. These changes were followed by dissociation of the myelin sheath around the ganglion cells. The cytoplasmic organelles in the ganglion cells gradually deteriorated. At a later stage, the myelin sheath around the ganglion cell disappeared and the number of cells was reduced.

The changes in the ganglia are direct effects of GM.

Key words: gentamicin, vestibular sensory cell, vestibular ganglion, guinea pig, scanning electron microscopy

緒 言

内耳には聴覚を感受する蝸牛と平衡覚を感受する前庭器とが存在し、哺乳類の場合、前庭器は末梢受容体である2つの平衡斑と3つの半規管から構成されている¹⁾。前庭神経は前庭に存在するこれらの末梢受容体の感覚上皮と脳幹に存在する前庭神経核とを連絡しており、途中、内耳道底に別名 Scarpa の神経節と呼ばれる前庭神経節を形成している²⁾。

末梢前庭器を構成する平衡斑、半規管に関する形態学的研究は枚挙にいとまがなく、古くは Retzius の光顕的研究¹⁾ から透過型電顕(TEM)による Engström と Wersäll の研究³⁾、さらには走査型電顕 (SEM) による原田らの研究⁴⁾ により、その微細構造が明らかとなってきた。これら正常構造の研究に加えて、近年、各種病態下での前庭器障害の研究がさかんとなり、特に1951年 Berg⁵⁾ が猫の内耳に対するストレプトマイシン (SM) の影響について報告して以来、アミノ配糖体系抗生物質の前庭器に関する実験報告は数多くみられる^{4) 6) ~9)}。一方、前庭神経および前庭神経節に関する形態学的研究は Alexander(1899¹⁰⁾、Wittmaack(1904¹¹⁾、1906¹²⁾ が光顕レベルで報告したのをはじめとし、TEM による微細構造の観察が各種の動物を用いて行われている^{4) 13) ~15)}。しかしながら、前庭神経節に関する毒性実験の報告例はいまだ少なく、わずかに Rossi¹⁶⁾、工田¹⁷⁾ らの報告が散見されるにすぎず、特に前庭感覚上皮と前庭神経節の両者の形態的变化を対比して詳細に観察した報告はいまだみられない。

1965年に SEM が医学生物学の分野で実用化されて以来、内耳でもその三次元的観察が可能となった^{4) 18)}。さらに近年の SEM の高分解能化と試料作製技術の進歩は、微細な細胞内小器官の立体的観察をも可能とした^{4) 19) ~21)}。このことから著者は、アミノ配糖体系抗生物質による前庭器障害の機構を解明するため、SEM を用いて、ゲンタマイシン (GM) による前庭感覚上皮と前庭神経節の内部構造の形態的变化を経時的

に詳細に対比して観察し、新しい知見を得たので報告する。

実験方法

実験動物にはプライエル反射正常、鼓膜所見正常、体重200~350 gのハートレイ系モルモット98匹を使用した。モルモットは8群に分けた。GM は、動物の右側耳に4 mg (0.1 ml) を1回のみ経鼓膜的に鼓室内投与し、対側の左耳にはコントロールとして生理食塩水 0.1 ml を投与した。8群のモルモットを GM 投与後それぞれ、1日、4日、7日、14日、1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月の各12匹ずつ7群と残りの1群14匹はコントロール群として両耳に生理食塩水 0.1 ml の投与を行ない GM 投与群と同時期に断頭した。

試料作製方法はネブタール麻酔下に0.5%グルタルアルデハイド、0.5%パラホルムアルデハイドの等量混液 (0.1 M リン酸緩衝、pH 7.4) にて心腔内より灌流固定後、断頭し、ただちに側頭骨を前庭神経節を残したままで摘出した。骨胞を開放後、平衡斑、半規管および前庭神経節の摘出を行なった。平衡斑、半規管は表面観察群と内部構造観察群に分けた。

前庭感覚上皮表面観察群では、直ちに2.5%グルタルアルデハイド、2%パラホルムアルデハイド等量混液中に24時間浸漬固定し、次いで2%タンニン酸、2%オスミウム酸による固定後、上昇エタノール系列にて脱水、酢酸イソアミルに浸漬後、臨界点乾燥 (CO₂)、白金スパッタコーティングを行なった。

前庭感覚上皮内部構造及び前庭神経節内部構造観察群では、A-O-D-O 法²²⁾ に従って試料を作製した。すなわち摘出した平衡斑、半規管、前庭神経節を1%オスミウム酸溶液で30分 (4°C) 固定、洗浄した後、25% dimethyl sulfoxide (DMSO) に30分、引き続き 50%DMSO に1時間浸漬した。続いてこれを液体窒素中にて凍結断した。断頭試料は水洗により DMSO を完全除去し、0.1%オスミウム酸溶液で70~80時間の組織浸軟を行なった。続いて1%オスミウ

ム酸溶液にて30分, 2%タンニン酸で2時間, 1%オスミウム酸溶液で30分処理した. 上昇エタノール系列で脱水し, 以後, 前庭感覚上皮表面観察群と同様の操作により観察対象とした. 観察には JSM F-15, JSM T-200, HITACHI S-800 形走査電顕を用いた.

実験結果

1. 前庭感覚上皮表面構造

コントロール群及び GM 投与1日後では卵

形囊斑, 球形囊斑, 半規管膨大部稜の感覚上皮には, 形態的变化は認められなかった. しかし, 投与4日後では平衡斑 striola 部および膨大部稜中央部を中心として, 感覚毛の脱落および感覚毛の融合や風船状変化が観察された. このような変化はI型細胞の感覚毛に強くみられた(図1). 投与7日後になると, 感覚毛の変性はより高度となり, 平衡斑 striola 部及び膨大部稜中央部, さらにその周辺でもI型細胞の感覚

- 図1 GM 投与4日後. 卵形囊斑 striola 部に一致して感覚毛の脱落がみられる(⇒).
- 図2 GM 投与1ヶ月後. 卵形囊斑 striola 部を中心とした変化は投与4日後に比べて強く, 障害範囲も拡大している(⇒).
- 図3 GM 投与1ヶ月後. 卵形囊斑 striola 部の感覚毛の脱落が著明で, 残存する感覚細胞はほとんどII型細胞であり(⇒), 脱落部位は1本の central cilium と表面に microvilli を有する細胞で覆われている(☆).
- 図4 GM 投与6ヶ月後. 半規管膨大部稜中央部を中心とした変化は辺縁までおよび, 辺縁部でも感覚毛の脱落が著明である.

毛は完全な脱落,あるいは高度の変性を示し,残存する感覚細胞はⅡ型細胞が多くを占めていた.投与1ヶ月後になると,平衡斑および膨大部稜の障害はさらに強くなるとともに,周囲へと拡大傾向を示し,感覚細胞は1本の central cilium と表面に microvilli を有する支持細胞と

考えられるものに殆ど置換されていた(図2,3).また,膨大部稜の一部では,中央部の置換した支持細胞表面に球状物質が出現したのもみられた.投与3ヶ月後になると障害範囲は拡大し,平衡斑および膨大部稜とも辺縁部まで感覚毛の脱落は著明であった.また,投与1ヶ月

図5 前庭感覚上皮の障害様式. GM 投与により, 平衡斑では striola 部 (St), 半規管では膨大部稜中央部を中心として障害が始まり, 時間経過とともに次第に周辺部に拡大している.

U: 卵形囊斑 S: 球形囊斑 SCC: 半規管膨大部稜 d: 日 w: 週 m: 月

図6 GM 投与7日後の卵形囊斑辺縁部. I型細胞の神経杯内のミトコンドリアは正常形態であるが, 細胞質内核上部のミトコンドリアの配列の乱れや消失(⇒),あるいはミトコンドリア自体の膨化(★)がみられる. N: 核 M: ミトコンドリア NC: 神経杯

図7 GM 投与4日後の半規管膨大部稜中央部. I型細胞の神経杯は比較的明瞭に保たれているが, 神経杯および細胞質内核上部のミトコンドリアにはクリステの配列の乱れや消失(⇒)がみられる. M: ミトコンドリア NC: 神経杯 N: 核

後と同様に一部の膨大部稜では、支持細胞表面に球状物質の出現を示すものもみられた。投与6ヶ月後では平衡斑および膨大部稜の障害範囲は、投与3ヶ月後のものとほとんど差はみられず、障害程度についてもほとんど変わらなかった(図4, 5)。

2. 前庭感覚上皮内部構造

前庭感覚上皮表面構造の観察により、感覚上皮内部構造の観察では、薬剤投与後の時期、あるいは同一試料でもその観察部位の形態的变化を中央部と辺縁部とで比較する事によって感覚上皮の変性過程のいろいろな時期を知る事が可能となった。以上より所見は平衡斑、膨大部稜

のうち、部位、時期を問わず軽度の形態的变化を示すものから順に記した。

なお、コントロール群および投与1日後では明らかな形態的变化はみられなかった。

1) I型細胞

投与4日後の卵形囊斑 striola 周辺部あるいは投与7日後の卵形囊斑および膨大部稜辺縁部で、最も軽度の形態的变化がみられた。すなわち、核上部でのミトコンドリアにクリステの配列の乱れや消失、あるいはミトコンドリア自体の膨化が認められた。一方、神経杯には変化がなく、また、その内部のミトコンドリアも正常形態を呈していた(図6)。次の段階の変化は投

- 図8 GM投与7日後の半規管膨大部稜中央部。I型細胞の神経杯自体の膨化(☆), 部分的狭小化(⇨)がみられる。 N:核
- 図9 GM投与14日後の半規管膨大部稜辺縁部。I型細胞内の小胞体のシステルナの拡張, リボゾームの減少がみられる。 M:ミトコンドリア ER:小胞体 N:核
- 図10 GM投与1ヶ月後の半規管膨大部稜辺縁部。細胞質の内リンパ腔側への突出がみられる(⇨)。
- 図11 GM投与3ヶ月後の半規管膨大部稜辺縁部。神経杯の形態は不明瞭となり、細胞質内部の空胞形成が著明である(☆)。 N:核

与4日後の平衡斑 striola 部,あるいは膨大部稜中央部にみられた. すなわち細胞質内核上部のミトコンドリアの変化に加えて, 神経杯内のミトコンドリアにも同様の変化が現われていた(図7). 次の段階である投与7日後の膨大部稜中央部では, 細胞内部構造の変性はさらに著しくなった. すなわち, 細胞内の空胞形成や細胞質膜の部分的な崩壊, あるいは細胞質膜と神経杯とが一部狭小化し, 一部では融合している細胞もみられた. 神経杯自体が膨化している細胞

もみられた(図8). 投与14日後の感覚細胞の変性は平衡斑, 膨大部稜とも全体的に高度となり, 細胞質膜の単位膜の解離が認められたり, 細胞内部では小胞体のシステルナの拡張, 空胞形成あるいはリボゾームの減少がみられ, さらにゴルジ装置においてもシステルナの拡張が認められた(図9). 投与1ヶ月後では細胞内部の変性はさらに進行し, 細胞質の内リンパ腔側への突出も著明となった(図10). 投与3ヶ月後になると神経杯の形態は不明瞭となり, わずかに名残

- 図12 GM投与7日後の半規管膨大部稜中央部. II型細胞内のミトコンドリアにクリステの乱れや消失(⇔)がみられる. G:ゴルジ装置 N:核
- 図13 GM投与14日後の半規管膨大部稜辺縁部. II型細胞内部のミトコンドリアのクリステの消失が著明である(⇒). ☆:融合した感覚毛
- 図14 GM投与1ヶ月後の半規管膨大部稜中央部. II型細胞内の小胞体のシステルナの拡張やリボゾームの減少(⇔)がみられる.
- 図15 GM投与1ヶ月後の感覚上皮下の神経線維. 内部のミトコンドリアの一部にクリステの消失(⇒)がみられるが, ミエリン鞘には配列の乱れや離開はみられない(★).

りをとどめるのみとなった。また、細胞質内部では空胞形成が著明となった(図11)。

2) II型細胞

II型細胞はI型細胞に比較して障害の発現は軽度であった。最初の変化として一部のII型細胞では、細胞質内部のミトコンドリアのクリステの配列の乱れ、消失がみられた。ただ、これらの変化はI型細胞の同時期の形態的变化と比

べてはるかに軽度であった(図12)。これらのII型細胞の変性は次第に高度となり(図13)、投与1ヶ月後になると、細胞内部ではミトコンドリアの変性とあわせて、小胞体のシステルナの拡張及びリボゾームの減少が認められた(図14)。投与1ヶ月後の神経終末には、一部のものとで軽度のミトコンドリアの空胞変性が認められた。以上のような所見は、投与3ヶ月後、6ヶ月後

図16 GM投与4日後の前庭神経節。大小の神経細胞体(⇒)が神経節細胞軸索(NF)の間に存在する。

図17 GM投与4日後の神経細胞体細胞質。細胞内部構造は正常形態を示している。

M:ミトコンドリア ER:小胞体 G:ゴルジ装置

図18 GM投与7日後の神経細胞体細胞質。ミトコンドリアのクリステの配列の乱れ、減少および消失(⇒)がみられる。

図19 GM投与1ヶ月後。神経細胞体周囲のシュワン細胞には空胞形成(☆)がみられ、神経細胞体内の小胞体のシステルナの拡張、空胞形成(⇒)がみられる。

M:ミトコンドリア ER:小胞体

においても同様であった。

3) 神経線維

GM 投与全群では、感覚上皮下の神経線維の変化は軽度であり、投与1ヶ月後の神経線維において線維内のミトコンドリアの空胞変性は軽度認められるものの、ミエリン鞘はその配列の乱れ、離開もなくほぼ正常に保たれていた(図15)。これは投与3ヶ月後、6ヶ月後でも同様であった。

3. 前庭神経節

1) 神経節細胞

コントロール群及び GM 投与1日後、4日後では、神経細胞体には特に著明な形態的变化は認められなかったが(図16, 17), 投与7日後になると、一部の細胞体に形態的变化を示すものがみられた。すなわち神経細胞体周囲のシュワン細胞内の空胞形成、ミトコンドリアのクリステの消失がみられた。さらに神経細胞体では

図20 GM 投与3ヶ月後、神経細胞体内部では小胞体のシステルナの膨化(⇒)がみられ、リボソームも減少している。また、ミエリン鞘の解離もみられる(☆)。

図21 GM 投与6ヶ月後、神経節の障害は極めて高度で、神経細胞体は減少し、個々の細胞境界は極めて不明瞭になっている。

→: 神経節細胞の核

図22 GM 投与6ヶ月後、ミエリン鞘の消失とともに細胞質部が縮小し、個々の細胞境界は極めて不明瞭である。

図23 GM 投与3ヶ月後、神経節細胞軸索はほぼ正常の形態を保っている。

細胞質内部のミトコンドリアのクリステの配列の乱れ, 減少ないし消失がみられた(図18). 投与1ヶ月後になるとシュワン細胞および神経細胞体におけるこれらの変化は次第に著明となり, 神経細胞体内の小胞体のシステルナの拡張, 空胞形成も認められた(図19). さらに, 細胞体周囲を覆うミエリン鞘の層板間に広い間隙ができ疎となっているものもみられた.

投与3ヶ月後では, これらのミエリン鞘の変化は次第に著明となった. すなわち, 鞘の菲薄化, さらに鞘の消失とともに細胞体の融合が認められた. 神経細胞体内部では小胞体のシステルナの膨化がさらに著明となり, リボゾームの減少もみられた(図20). 投与6ヶ月後になると, 神経節の障害は極めて高度で神経細胞体が著明に減少していた. 残存している細胞体では, ミエリン鞘の消失とともに, 細胞質部が縮小し, 細胞形態にも強い変化が生じ, 個々の細胞境界は極めて不明瞭になっていた. 細胞内小器官についても同様で, 各々の各器官を同定することさえ不可能な状態であった(図21, 22).

2) 神経節細胞軸索

GM 投与3ヶ月後の神経節細胞軸索の髄鞘の変化は, 細胞体のそれに比較すると軽微であり, 層板の解離が軽度で認められる程度であった(図23). 投与6ヶ月後でもその変化は同様であった.

考 察

1951年, Berg⁵⁾ が猫の内耳に対する SM の影響を報告して以来, アミノ配糖体系抗生物質の前庭器障害に関する報告は数多くみられる³⁾⁴⁾⁶⁾⁸⁾. しかし, それらの研究報告は主に TEM を用いて行なわれており, 最近になり SEM を用いた報告が増えつつある⁴⁾⁹⁾¹⁸⁾. SEM の利点は TEM に比べて三次元的観察が可能であり, 広範囲の全体像を明確に把握できうる点にある. さらに近年の SEM の高分解能化と, それに対応する試料作製技術の進歩は目覚ましく, SEM による超微細構造の観察が可能となり²²⁾, 内耳領域においても研究が盛んに行なわれつつ

ある⁴⁾¹⁹⁾²⁰⁾.

一方, 別名 Scarpa の神経節とも呼ばれる前庭神経節に関する研究も数多くみられるが⁴⁾¹³⁾^{~15)}, 障害実験に関しては, 多くの障害実験の報告が既に成されている蝸牛神経節に比べてはるかに少なく, 詳細な観察が行なわれているとは言い難いのが現状である. さらに, 今回の実験のように, アミノ配糖体系抗生物質を用いて, 末梢前庭器と前庭神経節の経時的変化を対比して, 詳細に SEM を用いて観察した報告はいまだみられていない.

今回, GM の投与方法として点耳(鼓室内注入)を用いているが, 点耳療法は現在でも臨床的に種々の外耳, 中耳疾患に対して行なわれている治療法であり, 点耳薬による内耳障害は長い間の耳鼻科医の懸念となっている問題である. 内耳障害を起こす機序としては, 浸透圧の変化が関係しているとの報告もあるが²³⁾, 一般的には点耳薬自体が中耳から内耳へ浸透し, 直接的に障害を引き起こすものと解釈されている⁶⁾⁷⁾.

薬剤が内耳に到達する経路として, Saijo²⁴⁾ らは Horseradish peroxidase (HRP) を用いて, 鼓室内に注入された HRP が蝸牛, 前庭感覚細胞, 内リンパ嚢などに移行する事, さらに蝸牛窓膜をブロックすることで, HRP の内耳への移行が妨げられる事を報告しており, その経路は主として蝸牛窓神経によるものであるとしている. 今回の実験結果において, 対照として生理食塩水を入れた場合の内耳の形態的变化はみられない事から, GM 注入群の内耳障害は, 鼓室内注入という操作によるものではなく, GM 固有の薬理作用によるものであり, 鼓室内に注入された GM が蝸牛窓を経由し, 内耳液中に移行し, 末梢前庭器および前庭神経節に障害を及ぼした事が推察される.

前庭各器官の感覚細胞の障害は, 表面構造としては感覚毛の脱落, 融合および風船状変化であり, 細胞内部構造の変化としては I 型細胞で, まずミトコンドリアの変性がみられ, 次いで小

胞体のシステルナの拡張, ゴルジ装置のシステルナの拡張がみられた. II型細胞でもI型細胞と同様に細胞質内のミトコンドリアの変性から小胞体の変性, ゴルジ装置の変性がみられたが, I型細胞の障害と比較して変性の進展は遅く, その程度も軽かった. また, 神経杯では内部のミトコンドリアの変性, 次いで神経杯自体の膨化, 空胞変性, あるいは細胞質膜との融合がみられ, 最終的にその形態は不明瞭となり, わずかに名残りをとどめるのみとなった(図24 i)).

今回の観察でみられたミトコンドリアの変化について, 一般的にはミトコンドリアの膨化は変性の初期像であり, 恒久的な膨化は恐らく代謝活性の変化によるものと考えられている²⁵⁾. 感覚細胞のミトコンドリアの膨化やクリステの消失といった変性は, GM による障害の他に Kanda と Igarashi⁸⁾ によってバイオマイシンの点耳でも認められており, 彼らは薬剤が細胞内に移行した際, ミトコンドリアが最初の障害部位であると報告している. それゆえ今回認め

図24

i) 前庭感覚細胞の障害様式

A : 正常

sh : 感覚毛 I : I型細胞 II : II型細胞

S : 支持細胞 m : ミトコンドリア g :

ゴルジ装置 er : 小胞体 mf : 有髄神経

B : I型細胞の感覚毛は融合し, 神経杯, 細胞質の一部のミトコンドリアのクリステの変性, 消失がおこる. II型細胞は正常である.

C : I型細胞のミトコンドリアの変性は著明となり, 神経杯の膨化あるいは狭小化がみられる. II型細胞の感覚毛も変性が始まり, 細胞質内部では一部のミトコンドリアの変性が始まる.

D : I型細胞内部の小胞体やゴルジ装置のシステルナの拡張やリボゾームの減少がおこり, 神経杯の変性はさらに進行する. I型細胞表面では細胞質の内リンパ腔への突出がみられる.

E : II型細胞内部のゴルジ装置, 小胞体の変性がみられ, I型細胞の神経杯はほぼ消失し, 細胞質の空胞変性が著明となる.

ii) 神経節細胞の障害様式

A : 正常神経節細胞

N : 核 er : 小胞体 g : ゴルジ装置 m : ミトコンドリア SC : シュワン細胞

➡ : ミエリン鞘 * : 神経節軸索

B : シュワン細胞, 神経細胞体のミトコンドリアのクリステの変性, 消失がみられる.

C : シュワン細胞のミトコンドリアの変性は高度となり, ミエリン鞘の層板間に広い間隙ができ, 粗となっている (➡). 神経細胞体内部ではゴルジ装置, 小胞体のシステルナの拡張やリボゾームの減少がみられる.

D : ミエリン鞘は消失し (➡), 細胞境界は不明瞭である. 細胞質部も縮小している. 軸索はほぼ正常の形態を示している (*).

られた高度なミトコンドリアの変性は GM 投与による初期の変化であり, GM が細胞自体の代謝に障害をおこしたことによるものと考えられる。

また, 小胞体のシステルナの拡張, ゴルジ装置の変性あるいはリボゾームの減少などの所見について, これらの器官は一般的に GERL complex として糖蛋白あるいは糖の代謝に強く関連しており, このような器官の変性は細胞代謝の低下ならびに膜構造の脆弱性をひきおこし, 内耳感覚細胞での感覚毛の融合を含めた細胞膜の変性に強く関連しているとされている⁶⁾ 25)。放射性同位元素を使った研究でも, GM 投与により内耳感覚細胞中の DNA や RNA 量が減少する事が知られており²⁵⁾, また同様の変化が TEM による観察でも確認されている事より⁶⁾ 25), GM が細胞内の小胞体, リボゾームといった膜構造に大きな影響を及ぼしている事が考えられた。

GM による障害がⅡ型細胞よりもⅠ型細胞に強く現れる理由について, 綿貫は²⁶⁾ Ⅰ型細胞は細胞体周囲のほとんどを神経杯によって包まれ, 隣接支持細胞とはクチクラ下部のほんの一部で接触しているにすぎず, 一方, Ⅱ型細胞は細胞体のほとんどが隣接支持細胞と接触しているという形態学的特徴から, Ⅰ型細胞がⅡ型細胞よりも隣接支持細胞からの栄養の供給を受けにくいとし, Ⅰ型細胞の脆弱性を指摘している。また, 林田らは²⁷⁾ 鼓室内投与した GM がⅠ型細胞の神経杯及び細胞質に強く取り込まれる一方, Ⅱ型細胞, 支持細胞には弱い集積を認める場合もあったが, 神経線維には全くみられなかったことより, 薬剤の分布の差がⅠ型細胞とⅡ型細胞の受傷性の差をひきおこすとしている。さらに Ylikoski ら²⁸⁾ はⅠ型細胞の細胞質および神経杯には, 特異的に substance P 様の物質が集積しており, Ⅱ型細胞に比べて高度の代謝活性を有していると報告している。以上の事を考えあわせると, Ⅰ型細胞はⅡ型細胞に比べ, 高度の代謝活性を有するものの, その栄

養供給は貧弱であり GM による代謝障害を受けやすく, これに加えて, 点耳された GM は特異的にⅠ型細胞に集積する事からも, Ⅰ型細胞がⅡ型細胞より受傷性が強いものと考えられた。

このような末梢前庭器である平衡斑, 半規管の感覚細胞の GM による変性の過程は, 部位的にみると平衡斑では striola 部, 半規管では膨大部稜中央部での感覚毛の融合, 脱落に始まり, 次第に周囲へ広がっていく。また, 経時的変化についてみると, 投与4日後から投与3ヶ月後まで, 感覚細胞の障害の程度は時間経過とともに強くなり, その障害範囲も次第に周囲へと拡大し, 辺縁の感覚毛にまで及んでいた(図5)。この理由については明らかではないが, 平衡斑 striola 部, 半規管膨大部稜中央部でⅠ型細胞が多いという部位による感覚細胞の分布の差や, 細胞内代謝活性の差などが考えられている⁴⁾ 29)。

豊田は²⁹⁾ モルモットのカナマイシン(KM)筋肉内投与による前庭器障害の経過を光顕にて観察報告している。それによれば, KM による前庭器障害は投与終了後も6ヶ月後まで進行しており, KM の前庭器に対するいわゆる delayed ototoxicity を示唆している。今回の実験でも投与3ヶ月後まで障害の進行を示し, GM による障害は薬剤投与中止後も一定期間進行していく事が確認された。この理由については GM の内耳への貯留性や細胞代謝への影響などが考えられているが⁶⁾ 25) 29), 少なくとも GM による細胞障害は不可逆性であり, 一旦おこった細胞内小器官の変性が修復される事のないまま, さらに次の変化をきたすものと考えられた。

感覚上皮下の神経線維に関しては, 感覚細胞の高度の変性に対してごく軽度の変化が, 投与1ヶ月以降に認められているのみである。林田ら²⁷⁾ が述べているように鼓室内注入では, GM の集積が神経線維にはほとんどない事も考え合わせると, 今回みられた感覚上皮下の神経線維の変性は, 感覚細胞の障害による二次的なもの

であろうと推測された。

前庭神経節細胞はアミノ配糖体系抗生物質¹⁵⁾内耳破壊術³⁰⁾、細菌¹⁷⁾などにより障害される事がすでに報告されている。しかし、その変性過程を詳細に観察した報告は少ない。今回の結果では、前庭神経節細胞の障害は GM 投与 7 日後に現われ、末梢感覚細胞で明らかな変性が認められた投与 4 日後と比べてやや遅いもののほぼ同時期であった。その障害程度は末梢前庭器と同様に、時間経過とともに強くなり、投与 6 ヶ月まで進行した。

神経節での障害様式は、シュワン細胞では胞体の空胞変性、ミトコンドリアの変性がみられ、次いで神経細胞体周囲のミエリン鞘の解離がみられた。神経細胞体細胞質においては細胞内小器官の変性、すなわちミトコンドリアの変性、小胞体のシステルナの拡張がみられた。次いで、ミエリン鞘の形態の崩壊とともに細胞質膜も不鮮明となり細胞質部の減少がみられた(図 24 ii)。さらに、軽度ではあるものの神経節細胞軸索にも変性が認められた。これらの変性過程は、現在まで報告されている前庭神経節細胞及び蝸牛神経節細胞の変性像³¹⁾³²⁾ とほぼ同様であり、臨床的にみられるアミノ配糖体系抗生物質による前庭機能異常は、末梢前庭における受容細胞の障害のみならず、前庭神経節細胞における障害とともに、神経節細胞軸索のミエリン鞘の異常なども、複雑に関与している可能性も否定できないものと考えられる。

今回、神経細胞体内部構造の障害として、ミトコンドリアの変性、あるいは小胞体の変性が早期に認められた。これらの事は先の前庭感覚上皮の障害と同様、GM によって神経細胞体内部の代謝活性が阻害されるという事を、強く示唆しているものと思われた。

前庭神経節への GM の障害様式については、1) GM が直接的に神経節細胞に作用する、2) 末梢前庭の受容細胞の障害が retrograde に神経節細胞に作用するとの 2通りの説がある。直接的な障害説については Rossi¹⁶⁾ は SM

を用いて神経節への直接的な障害を強く示唆している。一方、retrograde な障害説については、Richter³⁰⁾ は迷路破壊術により術後 1 年で約 30 % の前庭神経節細胞数の減少を認めた事よりこれを支持している。

今回の観察による前庭神経節細胞の障害時期が、末梢前庭の受容細胞の障害時期とほぼ同時期で迷路破壊術によるものに比べて早期である事、さらに、林田ら²⁷⁾ の免疫蛍光法を用いた実験で、鼓室内に投与された GM が前庭感覚細胞のみでなく、前庭神経節細胞にも高度に集積する事からも、GM による前庭神経節細胞に対する直接的な障害が強く示唆される。更に今回の観察で、GM 投与により神経細胞体および神経細胞体周囲のシュワン細胞が強く障害を受けるのに対して、神経節細胞軸索内の変性はごく軽度である事、また前庭感覚上皮下の神経線維は正常であるといった所見は、先の林田らの報告²⁷⁾ の GM の分布に一致している。また、早期より神経節にて障害の生じる事実は、前庭感覚細胞→軸索→神経細胞体障害といった retrograde な変化よりも、GM の直接的な前庭神経節障害作用を裏付けるものである。

加えて、今回認められた前庭神経節細胞の障害は決して一様ではなく、ほぼ正常像を呈するものと高度の変性像を呈するものが混在している事が特徴であった。近年の substance P を含めた neuropeptide の観察では、前庭神経節は組織化学的には異なった活性を有する細胞の集合であり、それに伴い代謝活性もさまざまなものが存在している事が考えられている²⁸⁾。これらの事が高度な障害を示す細胞と軽度な障害を示す細胞の混在といった所見に強く関与しているものと考えられた。

結 語

アミノ配糖体系抗生物質であるゲンタマイシン (GM) 4 mg (0.1 ml) をモルモットに一回のみ経鼓膜的に鼓室内投与し、その前庭感覚細胞と前庭神経節に与える影響を、走査型電顕を用いて経時的に観察した。

1) GM 投与 4 日後に、すでに前庭感覚上皮および前庭感覚細胞に強い変性がおこり、投与 3 ヶ月後までその変性は進行していた。

2) 障害を受けた感覚細胞は、1 ヶ月後には支持細胞に置換しており、感覚細胞の障害は不可逆的であった。

3) 感覚細胞の障害は、I 型細胞が II 型細胞に比べて強く、I 型細胞の神経杯は最終的には名残りをとどめるのみであった。

4) 感覚上皮下の神経線維には、ほとんど形態的異常を認めなかった。

5) 前庭神経節では、GM 投与 7 日後に神経細胞体および神経細胞体周囲のシュワン細胞に変性が見られ、投与 6 ヶ月後までその変性は進行した。

6) 神経節細胞軸索には、ごく軽度の形態的異常が見られた。

7) 前庭神経節の障害は GM の直接作用と思われた。

稿を終えるにあたり、御指導ならびに御校閲を賜りました恩師原田康夫教授に深甚なる謝意を表します。また、本研究に際し、絶えず御指導と御助言をいただきました田頭宣治講師ならびに終始御協力をいただきました村尾学技官に深く感謝致します。更に多くの御助言をいただいた広島大学医学部耳鼻咽喉科学教室員に感謝の意を表します。

また本研究に際し、御配慮をいただきました双三中央病院院長若本敦雄先生に厚くお礼申し上げます。

なお本研究の一部は厚生省特定疾患前庭機能異常調査研究費を受けて行われた。

本論文の要旨は、第85回日本耳鼻咽喉科学会総会、第12回日耳鼻中国地方部会、第33回日本基礎耳科学会、Scanning electron microscopy/1987 において発表した。

参考文献

- 1) Retzius G: Über die periphere Endigungsweise des Gehörnerven. Biologische Untersuchungen I. pp 3, 51, Stockholm, 1881.
- 2) Scarpa A: Anatomicae disquisitiones de auditu et olfactu. Ticini, 1789.
- 3) Engström H and Wersäll J: Some principles in the structure of vibratile cilia. Ann Otol Rhinol Laryngol 61: 1027~1038, 1952.
- 4) 原田康夫: 前庭器の形態、機能と病態. 西村書店, 新潟, 1984.
- 5) Berg K: The toxic effect of streptomycin on the vestibular and cochlear apparatus. Acta Otolaryngol (Stockh) Suppl 97: 1~77, 1951.
- 6) Wärsall J, Björkroth B, Flock Å, et al: Sensory hair fusion in vestibular sensory cells after gentamicin exposure. Arch klin exp Ohr Nas -u Kehl Heilk 200: 1~14, 1971.
- 7) Harada Y: Morphological changes in the vestibular sensory organs after streptomycin intoxication. Scanning Electron Microscopy 11: 1077~1082, 1978.
- 8) Kanda T and Igarashi M: Ultra-structural changes in vestibular sensory end organs after viomycin sulfate intoxication. Acta Otolaryngol 68: 474~488, 1969.
- 9) 世良公志: 耳中毒性薬物の前庭感覚上皮に及ぼす影響—走査電子顕微鏡的観察—. 耳鼻臨床 77 増 6: 2107~2119, 1984.
- 10) Alexander G: Zur Anatomie des Ganglion vestibulare. Sitzungsberichte d kais Akad d Wiss math-naturw Class 108: 449~467, 1899.
- 11) Wittmaack K: Über Markscheidendarstellung und den Nachweis von Markhüllen der Ganglien im Acusticus. Arch Ohrenheilk 61: 18~23, 1904.
- 12) Wittmaack K: Zur histopathologischen Untersuchungen des Gehörorgans, mit besonderer Berücksichtigung der Darstellung der Fett und Myelinsubstanzen. Z Ohrenheilk 51: 148~161, 1906.
- 13) 小名 愛: コウモリの前庭神経節細胞の細胞学的ならびに電子顕微鏡的研究. 日耳鼻 77: 203~216, 1974.
- 14) Ylikoski J and Galey FR: The vestibular ganglion. In Ultrastructural Atlas of the Inner Ear (ed by Friedmann I and Ballantyne J). pp 290~306, Butterworths, London, 1984.
- 15) Harada Y and Tagashira N: Three Dimensional Ultrastructure of the Vestibular Ganglion of the Frog. The Vestibular System, Neurophy-

- siologic and Clinical Research (ed by Graham MD). pp 95~105, Raven Press, New York, 1987.
- 16) Rossi G, Robecchi MG and Sovatzis M : Scarpa's ganglion in streptomycin poisoning; electron microscope research. *Minerva Otorhinolaryng* **22** : 250~259, 1972.
- 17) 工田昌也, 田頭宣治, 世良公志, 他 : 細菌 (*Mycobacterium fortuitum*) による内耳障害—前庭神経節の変化—。耳鼻 **33** : 2 ; 255~260, 1987.
- 18) 原田康夫 : 中耳。内耳走査電顕アトラス。金原出版, 東京, 1980.
- 19) Harada Y, Tagashira N, Takumida M, et al : Three-dimensional structure of the vestibular sensory epithelia. *Acta Otolaryngol* **99** : 411~418, 1985.
- 20) 田頭宣治, 原田康夫, 工田昌也, 他 : カエル前庭神経節の微細立体構造。耳鼻臨床 **78** : 2469~2478, 1985.
- 21) Sera K, Harada Y, Tagashira N, et al : Morphological changes in the vestibular epithelia and ganglion induced by ototoxic drug. *Scanning Microscopy* **1** : 3 ; 1191~1197, 1987.
- 22) Tanaka K and Naguro T : High resolution scanning electron microscopy of cell organelles by a new specimen preparation method. *Biochemical Res Suppl* **2** : 63~70, 1981.
- 23) 志多 享 : 薬液の鼓室腔内滴下と蝸牛障害。耳喉 **51** : 10 ; 867~873, 1979.
- 24) Saijo S and Kimura R : Distribution of HRP in the inner ear after injection into the middle ear cavity. *Acta Otolaryngol* (Stockh) **97** : 593~610, 1984.
- 25) Bagger-Sjöbäck D and Wersäll J : Gentamicin-induced mitochondrial damage in inner ear sensory cells of the lizard *Calotes versicolor*. *Acta Otolaryngol* **86** : 35~51, 1978.
- 26) 綿貫幸三 : 前庭感覚器の SM および KM 中毒の病理学的研究。日耳鼻 **74** : 1028~1035, 1971.
- 27) 林田哲郎 : ゲンタマイシンの内耳組織内分布—免疫組織化学の応用—。Ear Res Jpn **16** : 4~7, 1987.
- 28) Ylikoski J, Eränkö L and Päiväranta H : Substance P-like immunoreactivity in the rabbit inner ear. *J Laryngol Otol* **98** : 759~765, 1984.
- 29) 豊田弥八郎 : アミノ配糖体系抗生物質による内耳障害様式に関する実験的研究。耳鼻臨床 **67** : 481~497, 1974.
- 30) Richter E : Submicroscopical changes in the cat Scarpa's ganglion after labyrinthectomy. *ORL* **46** : 217~222, 1984.
- 31) Koitchev K, Guilhaume A, Cazals Y, et al : Spiral ganglion changes after massive aminoglycoside treatment in the guinea pig. *Acta Otolaryngol* **94** : 431~438, 1982.
- 32) Lim DJ : Ultrastructural cochlear changes following acoustic hyperstimulation and ototoxicity. *Ann Otol* **85** : 740~751, 1976.
- (原稿採択 : 平成元年 5 月 9 日 急載)
別刷請求先 : 世良公志
〒728 広島県三次市十日市町650
双三中央病院耳鼻咽喉科