耳石代謝障害と前庭特殊細胞*

原 田 康 夫**

耳石代謝に関する報告は未だ多くない。私は先に、硫酸ストレプトマイシンを注射したモルモットの耳石器における耳石の変化、前庭暗細胞部での耳石の吸収などについて報告した¹⁾。今回は、これらの事と、前庭暗細胞などの特殊細胞の表面構造と、内リンパ囊上皮細胞の表面構造が、硫酸ストレプトマイシンにより影響をうける事について走査電顕で観察したので、これらについて報告する。また従来より耳石の生成は内リンパ囊であるといわれているが、内リンパ囊、耳石の消失した striola の部、前庭暗細胞などについてX線 microanalyzer で分析したので併せて報告する。

実験方法

有色モルモット平均 300 g のものを用い、1 週間毎に体重補正をしながら、硫酸ストレプトマイシン (SM) 250 mg/kg を隔日に、2 週、4 週、6 週間腹腔内に注射した。これらの注射した動物は 1 群 5 匹づつとし、それぞれ、2 週間後に側頭骨を摘出した。これを直ちに、2 %グルタルアルデヒドで固定し、surface preparation 法で耳石器、並びに内リンパ囊を摘出した。その後、2 %オスミウム酸液で二重固定し、アルコール脱水、critical point 法で乾燥し、金のスパッター蒸着を行ない、JSM-U3 型走査電顕及び JXA-50A 型X線 microanalyzer で観察分析した。

実験結果

有色モルモットの内耳に色素が存在することはよく知られた事実で、特に前庭では、卵形囊、半規管の壁細胞にも多くの黒色の色素が含まれている。また、この部と前庭暗細胞が一致して存在するといわれている。図 1 はモルモットの内耳を surface preparation で蝸牛と前庭部を開いた所である。卵形囊は周囲の骨と比較して黒色にみえる。これは、壁細胞内のメラニン色素によるもので、有色モルモットではこの様に多量のメラニン色素が前庭部にみられる。

硫酸ストレプトマイシン (SM) による耳石層の変化：硫酸ストレプトマイシンで処置したモルモット卵形囊斑の耳石層は、striola の部から薄くなって行き、しかも小

図 1 モルモット内耳

蝸牛の下方に黒色にみえるのが卵形囊で、矢印の部が卵形囊斑の裏面である。

図 2 SM 250mg/kg を 2 週間注射すると、耳石膜上より小耳石が減少し、特に striola 部 (矢印) の耳石は著しく減少していた。

耳石は減少するのが観察されるのが常であった(図 2)。従って耳石膜上には、巨大な耳石が多数観察される様に

*Metabolic disorder of otoconia and the vestibular dark cells.

**Yasuo Harada, M.D.

**広島大学医学部耳鼻咽喉科学教室

図3 SM 250mg/kg を6週間注射, 2週後の耳石の変化。耳石の変形が著しく, 赤道部の亀裂(矢印), 並びに耳石結晶の両端が多面体になっている。

図5 卵形囊斑壁細胞 microvilli が少なく cent-riole をもつ細胞と, 短い中等量の micro-villi をもつ細胞とがみられ敷石状に大小の細胞が並んでいる。

図4 a. 暗細胞 (dark cell) の上に移行した小耳石
b. 暗細胞上で脱カルシウムされ軽石状に見える耳石。

なり, その耳石の赤道部に亀裂が入っているものが多く見られる様になった (図3)。

卵形囊斑壁細胞と耳石: 耳石膜上より消失した小耳石は卵形囊の extra macular portion の暗細胞上に多数見られる様になり (図4 a), これらの耳石は, あるものでは耳石の形態を失い, 軽石の如くなったものや, 非常に小さくこわれて暗細胞に吸着されている様な所見が見られた (図4 b)。軽石状を呈した耳石では1%前後のCa量に低下していた。卵形囊の壁細胞を観察すると, 細胞は5~6角形で敷石状に並んでおり, 表面は平坦で, microvilli もあまり豊富ではない。中には centriole を持つものもあり, 耳石を吸着したものはむしろ centriole のない細胞であることが多かった (図5)。大部分の耳石膜より脱落した耳石は, 平衡斑近くの暗細胞に集って吸着されていたが, 中には卵形囊斑よりかなり離れた部にも小耳石が吸着されており, これらは小さく変形した形で観察された。

耳石, 耳石膜並びに前庭壁細胞のCa分析: 耳石をX線 microanalyzer で分析すると, 耳石膜上では大小どの耳石も約40%のCa量を含有し, 標準方解石とはほぼ同量のCa量を含有していた。しかし暗細胞部に移行した耳石は種々なる程度のCa量を含有しており, 結晶形を保った耳石ではCa含有量は高いが, 第4b図の如く, 表面が粗で軽石状を呈した耳石では1%前後のCa量に低下していた。前庭暗細胞部と耳石の消失した卵形囊斑 striola 部のCa分析をすると, どちらも大差なく0.5%のCa含有量であった (図6)。脱カルシウムされたと

striola

dark cell

Ca content 0.5%

図6 耳石の消失した耳石膜 striola 部と、卵形囊暗細胞部 (dark cell) の Ca 分析。

思われる暗細胞上の耳石でも、約1%のCaを含有しているが、これらよりも更に低値を示した。

正常内リンパ囊上皮の表面形態: 内リンパ囊は、その細胞構成上から三つの部分に分かれている。即ち、前庭部に近い部 proximal part, 中央で皺壁を持つ rugous portion と sac を形成する sac portion である。内リンパ囊の proximal part の細胞は前庭部の壁細胞よりもやや丈の高い細胞で覆われており、centriole を持った細胞と持たない細胞がある。短い microvilli は前庭壁細胞よりもやや多い様に見受けられた。特に皺壁部は内リンパ吸収に最も active な能力を持っている部といわれている。この部の細胞はドーム状に膨隆しており sac 方向に細胞が流れる様に配列しているのが特徴である。また二種類の細胞が存在し、ウニの様にみえる長い microvilli を持つものと、ドーム状に膨隆し、短い microvilli が少量存在する細胞が見られる。sac portion の細胞は前庭壁細胞の如く平坦な細胞が大部分をしめており、長い microvilli を持つドーム状の細胞が少量混っている。

SM による内リンパ囊壁の障害: SM を6週間注射したものの内リンパ囊皺壁部では、長い microvilli を持つ明細胞に著明な変化が見られ、一方ドーム状の暗細胞と見られるその表面にも図7 (a, b, c) の如く荒廃が見られた。特に明細胞の荒廃は強く、microvilli は短縮し、

図7 a. SM 4週間注射後の内リンパ囊皺壁部の表面構造。2種類の細胞が観察されるが表面が荒廃している。
b. 表面がドーム状で長い microvilli をもつ明細胞の microvilli に棍棒状の変化がみられる。
c. 明細胞表面の強拡大(3万倍)、microvilli の変化が明らかである。

或るものは先端が棍棒状に膨れており、中には球状の突出物も見られた。従って SM は内リンパ囊の壁細胞にも障害を起すことがわかり、この事実は極めて興味ある所見と思われた。尚、内リンパ囊壁のCa分析を行なう

図8 内リンパ嚢細胞のカルシウム分析。内リンパ嚢の明細胞、暗細胞のCa分析を行ったが、Ca含有量は約0.1%であった。

と、Ca含有量は0.1%であり(図8)、前庭暗細胞並びに耳石の消失した部の耳石膜よりもCa量が少いことが判明した。従来、内リンパ嚢より耳石形成の為のCaイオンが移送されるという説に対して、分析の面からは否定的な所見が得られた。

考 按

耳石がSMにより障害を受けるということは、先に私が報告しているが、SMの注射により耳石に代謝障害を起せしめるという方法を用いて耳石の吸収部位が前庭暗細胞部であるということを知る事が出来た¹⁴⁾。しかしながら耳石はどこで形成されるかについては、未だ明らかにされてはおらず、今回の研究では前庭壁細胞が耳石の代謝に極めて密接に関与していることがわかって来た。先に、Robert Kimura⁵⁾は前庭暗細胞の分布について、有色モルモットを以てその暗細胞の分布を詳しく報告している。前庭暗細胞は、メラニン色素の分布と一致して存在し、形態学的には細胞底部にbasal infoldingを有することはよく知られた事実である⁶⁾⁷⁾。従って前庭暗細胞は内リンパ液のactive transportationに関与しているといわれており、今回更に耳石の吸収にも関与することを私達はSEM並びにX線microanalyzerを用いて示した。しかし、SMが耳石代謝にどの様にして影響するかについては未だわかっておらず、現象として耳石が耳石膜より脱落して消失するという事実のみがわかっている。この点は、平衡斑の支持細胞が関与するのか、内リンパ液の性状が変化するのか今後残された問題である。いずれにせよ、耳石の消失した部の耳石膜のCa量と暗細胞のCa含有量は0.5%で、内リンパ嚢壁のCa含有量は0.1%とやや低いということがわかった。従来の報告によるとCaイオンは内リンパ嚢壁より分泌され、これが平衡斑上に移送されるといわれているが²⁾³⁾、Ca含有量の点から見ると、この説に対しては否定的な意見を持たざるを得ない。

次に、正常猫の卵形嚢壁細胞をSEMで観察したが、SMを使用していない無処置の前庭暗細胞部に変形した耳石が吸着されていた(図9)。この事実は、耳石が前庭暗細胞部で脱カルシウムされ、常に胞飲されているものと推測される¹⁾⁸⁾。先に私は、SM中止後2ヶ月すると再び耳石の再生が起り、小耳石が耳石膜を覆う事を示したが⁹⁾、この再生機転に関しては、現在追求を行なっている所である。モル

モットに於いては、耳石のturnoverは従来の実験から約2ヶ月であると考えられる。また、SMによる障害は感覚細胞のみならず、耳石層にも変化を起し、大耳石は崩壊し、小耳石となり¹⁰⁾、小耳石はstriola部から容易に脱落し、前庭暗細胞部で吸収されるというpatternをとる様に思われた。今後更に詳細に耳石の生成の問題についても研究を進めていくつもりである。

図9 正常ネコの卵形嚢壁細胞。変形した耳石が吸着されているのが観察される。

結 語

モルモットに硫酸ストレプトマイシンを注射した所、平衡斑上の耳石に代謝障害が起り、耳石膜上より耳石が減少する事がわかった。この耳石膜上より消失した耳石は前庭暗細胞部にみられ、耳石に含有されているカルシウム量が種々なる程度で減少している事、耳石の消失した部の耳石膜、前庭暗細胞、内リンパ嚢細胞、各部の

カルシウム量などを走査電子顕微鏡とX線 microanalyzer で測定する事が出来た。卵形嚢壁細胞には暗細胞と明細胞が存在する事が知られているが、この暗細胞が、耳石の吸収に関与する事もわかった。

尚、その他、内リンパ嚢細胞の形態についても走査電子顕微鏡で観察し、同様に硫酸ストレプトマイシンにより、内リンパ嚢の特に rugous portion の細胞に変化が起る事も判明したので併せて報告した。

参 考 文 献

- 1) Harada, Y. and Sugimoto, Y.: Metabolic disorder of otoconia after streptomycin intoxication. *Acta Otolaryngol* (Stockh) 84: 65-71, 1977.
- 2) Vilstrup, T.: On the formation of the otolith. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 60: 974-981, 1951.
- 3) Balsamo, G., Devincentiis, M. and Marmo, F.: The effect of tetracycline on the processes of calcification of the otoliths in the developing chick embryo. *J. Embryol. Exp. Morph.*, 22: 327-332, 1969.
- 4) 原田康夫, 杉本嘉朗, 田頭宣治: 耳中毒性薬物による耳石代謝障害の研究。内耳生化学, 7: 60-62, 1976.
- 5) Kimura, R. S.: Distribution, structure and function of dark cells in the vestibular labyrinth. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 78: 542-562, 1969.
- 6) Kimura, R., Lundquist, P and Wersäll, J: Secretory epithelial linings in the ampullae of the guinea pig labyrinth. *Acta Otolaryngol* (Stockh) 57: 517-530, 1974.
- 7) Smith, C.: Microscopic structure of the utricle. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 65: 450-469, 1956.
- 8) Lim, D. J.: Formation and fate of the otoconia, scanning and transmission electron microscopy. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 82: 23-36, 1973.
- 9) 原田康夫, 杉本嘉朗, 田頭宣治: 耳石代謝障害と再生。日耳鼻, 80: 1096-1098, 1977.
- 10) 原田康夫, 杉本嘉朗, 田頭宣治: ストレプトマイシン中毒による耳石形態的变化。耳鼻臨床, 70:1943-1949, 1978.

Abstract

Effects of streptomycin on the otolithic organs were studied in guinea pigs by means of the scanning electron microscope. The most severe damage was found in the otoconia on the otolithic membrane. The layer of the otoconia on the otolithic membrane became thinner at the striola region. The longer the duration of streptomycin injection the fewer were the tiny otoconia evident in the otolithic membrane, and large otoconia remained on this membrane.

The small otoconia were found on vestibular dark cells. The otoconia on the vestibular dark cells were irregular, shrunken or fragmented. Their calcium content, measured with an X-ray micro-analyzer, was diminished in varying degrees. The vestibular dark cells are considered to have pinocytotic activity. The surface structure of the endolymphatic sac was also observed. According to our morphological findings, three portions were recognized, the proximal, intermediate (rugous) and distal parts. Morphological changes of endolymphatic sac cells were noted in the intermediate portion.