内耳におけるアナフィラトキシン活性について†

——長期観察例について——

原 田 保・佐 野 光 仁・松 永 亨

はじめに

アナフィラトキシンは、生物学的活性を有する補体のフラグメントで、さまざまなケミカルメディエーターと関係し、複雑な生体反応をひきおこす。我々は内耳におけるアナフィラトキシン活性について検討してきた¹⁾²⁾³⁾。

アナフィラトキシンを頸動脈より注入し、直後(10分以内)、1日目、2日目、3日目の内耳を HE 染色にて光顕的に観察を行なうと、3日目を中心に以下の実験結果を得た。①血管条において、蝸牛基底回転をのぞいて、上方回転にいくに従って著明な萎縮が認められた。②一部の蝸牛神経節細胞の萎縮。③一部の蝸牛基底回転を中心としたライスネル膜の伸展。④内リンパ嚢において、有意なマクロファージの増加を認めた。今回、我々はさらに、長期に観察し、アナフィラトキシンの内耳への関与について検討したので報告する。

実験方法

実験動物は体重 350 g 前後のブライエル耳介反射良好な正常 Hartley 系雄モルモットを以下の各実験群およびコントロール群にそれぞれ 3 匹ずつ使用した。モルモット血清 2.0 ml に 2.5 M-ε-aminocaproic acid 1.4 ml を加え、よく攪拌し、Zymosan (ICN Lot. 16713) 200 mg

を加え、37°C の恒温槽にて 1 時間反応させたのち、3000 rpm にて 5 分間遠沈後、上清液を採取し、immunoelectrophoresis にて、アナフィラトキシンの存在を確認の上、2.0 ml を左頸動脈より注入した。注入後、7 日目、10 日目、15 日目に生理食塩水にて生体環流後、10 %中性ホルマリン液にて固定し、型のごとく処理後、ツエロイジン包埋し、HE 染色を行ない、光顕的に観察をした。コントロールとして、Zymosan を加えず、上述した方法と同じに処理し、以下同じに固定、染色後、光顕にて観察を行なった。

実験結果

1. 注入後 7 日目の蝸牛組織の変化

蝸牛第 4 回転を中心に血管条の萎縮をすべての個体に認めた (図 1-a)。蝸牛基底および第 2 回転を中心に血管条の cystic formation があった (図 2)。また同じ回転を中心にライスネル膜が伸展していた (図 3)。コルチ器は正常であったが、一部蝸牛神経節細胞の脱落変性を認めた (図 4)。

2. 注入後 10 日目の蝸牛組織の変化

血管条の萎縮は蝸牛第 4 回転を中心に 3, 5 回転に認められた (図 5)。別の個体で蝸牛基底回転および第 2

a

b

図 1 アナフィラトキシン注入 7 日目。

a. 蝸牛第 4 回転の血管条の萎縮。HE 染色 (×200) b. コントロールの蝸牛第 4 回転の正常血管条。HE 染色 (×200)

†Further Observations on Anaphylatoxin Activity in the Cochlear Organ of Guinea Pigs
Tamotsu Harada, Mitsuhiro Sano and Toru Matsunaga
大阪大学医学部耳鼻咽喉科学教室

図2 アナフィラトキシン注入7日目。
血管条の cystic formation が認められる。
H E 染色 (×300)

図3 アナフィラトキシン注入7日目。
ライスネル膜の伸展。H E 染色(×200)

図4 アナフィラトキシン注入7日目。
蝸牛神経節細胞の脱落変性を認める。
H E 染色。(×400)

回転を中心にライスネル膜の伸展があった(図6)。一例、一耳において第1～第3回転までライスネル膜の collapse が存在していた(図7)。蝸牛神経節神経の一

図5 アナフィラトキシン注入10日目。
蝸牛第1 (C1) および第2 (C2) 回転の
血管条をのぞいて、血管条の萎縮を認めた。
H E 染色。(×100)

図6 アナフィラトキシン注入10日目。
蝸牛第2回転において、ライスネル膜の伸
展を認めた。血管条は正常であった。H E 染
色 (×200)

図7 アナフィラトキシン注入10日目。
a : 蝸牛第1～第3回転にかけて collapse が認められた。H E 染色 (×40)
b : 7a の蝸牛基底回転の左側の拡大であるが、ライスネル膜の collapse が認められた (×200)

部変性を認めたが、コルチ器は collapse を示した一例をのぞいて、正常であった。

3. 注入後15日目の蝸牛組織の変化

血管条の萎縮は蝸牛第4回転を中心に認められた。また基底および第2回転にライスネル膜の伸展があった。

蝸牛神経節細胞の一部変性を認めたが、コルチ器には異常なかった。一例は血管条、ライスネル膜、コルチ器、蝸牛神経細胞ともに正常であった。以上の組織変化に関して、蝸牛回転別の血管条の萎縮の有無を表1に、ライスネル膜の伸展の程度を表2に示した。表1に示すごとく各群とも蝸牛第4回転を中心に血管条の萎縮を認めた。注入7日目の群では、全蝸牛回転の39%に、10日目の群では、27%に15日目の群では18%に血管条の萎縮が存在していた。また表2に示すごとくライスネル膜の伸展は蝸牛基底と第2回転を中心に4匹、5耳に認められ、その程度は軽度なものが多かった。

4. コントロール群における組織変化

コントロールのすべての群の蝸牛組織において変化は認められなかった。

考 案

補体の活性化途上において、C4a, C3a, C5a などのフラグメントが形成される。これらはアナフィラトキシンと呼ばれ、生物学的活性を有し、さまざまなケミカルメディエーターと関与する。肥満細胞などに作用し、ヒスタミンやロイコトリエンなど放出したり、C5a はとくに、好酸球、好中球やマクロファージを遊走したりと炎症反応と非常に関係が深い^{4)~7)}。以前より我々は、内耳におけるアナフィラトキシンの生物学的活性について検討してきた。表3は、今回と同じ方法にてアナフィラトキシンを頸動脈より注入し、1日目より、今回報告した15日目までの蝸牛回転別の血管条の萎縮の発現頻度を示したものである。

注入1日目では、血管条の萎縮は認められないが、それ以後はだんだん頻度を増し、3日目では第2回転より上方回転にいくに従って高頻度に認められた。今回の結果でも、血管条の萎縮は、第4回転を中心に存在していた。第3回転において、2日目では33%、3日目では82%、7日目では42%、10日目では17%、15日目でも17%の頻度で萎縮が認められるが、その萎縮は、経日的にだんだん改善傾向にあると考えられる。第4回転においても同じ傾向を示している。すなわちアナフィラトキシンを注入後、だんだんと血管条を中心に蝸牛組織に障害をおよぼし、2日目より血管条に萎縮を発現させ、3日目に最高となり、7日、10日、15日と経日的に一部の血管条は回復すると考えられる。さて、この血管条の萎縮がどのような病態にて発現するかを考えることは興味深い。C5a は単球および多核球に対して、 $10^{-10} \sim 5 \times 10^{-9} M$ で走化性を示し、同じ低濃度にて、多核球、肥満細胞および好塩基球より、顆粒放出反応を惹起さす。

このような反応によって、平滑筋の収縮や血管透過性の亢進や組織障害をひきおこす。

表1 各蝸牛回転における血管条の萎縮の有無について

No	side	C1		C2		C3		C4		C5
		a	b	a	b	a	b	a	b	
1	R	—	—	—	—	—	at	at	at	at
	L	—	—	—	—	—	at	at	at	
2	R	—	—	—	—	—	—	at	at	at
	L	—	—	—	—	at	at	at	at	
3	R	—	—	—	—	at	—	at	at	at
	L	—	—	—	—	—	—	at	at	
4	R	—	—	—	—	—	at	at	at	at
	L	—	—	—	—	—	—	at	at	
5	R	—	—	—	—	—	—	at	—	at
	L	—	—	—	—	—	—	—	at	
6	R	—	—	—	—	—	—	—	at	at
	L	—	—	—	—	—	at	at	at	
7	R	—	—	—	—	at	at	at	at	at
	L	—	—	—	—	—	—	at	at	
8	R	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	L	—	—	—	—	—	—	—	—	
9	R	—	—	—	—	—	—	at	—	at
	L	—	—	—	—	—	—	—	at	

C1 (cochlear basal turn)

a : anterior side

— : normal

b : posterior side

at : atrophy

C5 (cochlear apical turn)

No. 1～3 は注入7日目, 4～6 は注入10日目, 7～9 は注入15日目.

表2 各蝸牛回転におけるライスネル膜の伸展の程度

No	side	C1		C2		C3		C4		C5
		a	b	a	b	a	b	a	b	
1	R	+	—	+	—	+	—	—	—	—
	L	+	—	+	++	+	—	—	—	
2	R	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	L	—	—	—	—	—	—	—	—	
3	R	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	L	—	—	—	—	—	—	—	—	
4	R	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	L	+	+	+	—	—	—	—	—	
5	R	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	L	C	C	C	C	C	C	C	C	
6	R	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	L	—	—	—	—	—	—	—	—	
7	R	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	L	—	—	—	—	—	—	—	—	
8	R	+	+	+	+	—	—	—	—	—
	L	+	—	—	—	—	—	—	—	
9	R	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	L	—	—	—	—	—	—	—	—	

C1 (cochlear basal turn)

a : anterior side

— : small amount

C : collapse

b : posterior side

++ : moderate amount

C5 (cochlear apical turn)

— : absent

++ : large amount

No. 1～3 は注入7日目, 4～6 は注入10日目, 7～9 は注入15日目.

表 3 各蝸牛回転における血管条の萎縮の頻度

days	chochlear turn n	basal	second	third	fourth	apical
one	3	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12
two	3	0/12	0/12	4/12 (33%)	4/12 (33%)	3/3 (100%)
three	13	0/12	13/50 (26%)	41/50 (82%)	49/50 (98%)	50/50(100%)
seven	3	0/12	0/12	5/12 (42%)	12/12(100%)	3/3 (100%)
ten	3	0/12	0/12	2/12 (17%)	9/12 (75%)	3/3 (100%)
fifteen	3	0/12	0/12	2/12 (17%)	6/12 (50%)	2/3 (67%)

また多核球に C5a は 10^{-9} M 以上の濃度で作用し、爆発的呼吸 (respiratory burst) 反応を起こす。この時、酸素消費の増大や活性酸素種 (スーパーオキシド、過酸化水素、ラジカル水酸基) の放出があり、殺菌作用や内皮・上皮細胞に対し、細胞障害を生じ、炎症の増悪、遷延化を起こす⁸⁾。C5a を中心としたアナフィラトキシンの作用は強力である。アナフィラトキシン単独で血管条を中心とした蝸牛組織の変化をもたらす可能性もあるが、前述したさまざまなケミカルメディエーターと協合し、複雑な機序によってこの病態が発現したと考察するが、明確な事実はない。Rüedi らは⁹⁾、モルモットに経口的にキニーネを投与した血管条に cystic atrophy を認めたと報告し、キニーネの血管条に対する毒性によって、空胞化を生じ、その結果、萎縮をきたしたと報告している。最近、Sun ら¹⁰⁾ は鉄欠乏状態のラットにおいて、血管条の萎縮を認めたと報告している。前述したごとく、我々の実験における血管条の萎縮の機序はいまだ不明であるが、さまざまな全身的影響が、血管条をふくむ内耳に波及し、蝸牛組織に種々の変化を発現することは事実であると考えた。

ま と め

アナフィラトキシンは、生物学的活性を有し、生体内で複雑な反応をひき起こす。以前我々は、左頸動脈よりアナフィラトキシンを注入し、1日、2日、3日と観察をおこない2日目よりだんだん血管条が萎縮し、3日目では蝸牛第2回転より上方回転にかなり高頻度に血管条の萎縮を認めた。今回、さらに長期に観察を行ない、血管条がどのように変化するかを検討した。7日目、10日目、15日目と観察したが、経日的に血管条の萎縮が改善する傾向にあることが判明した。

謝 辞

本研究は厚生省特定疾患前庭機能異常調査研究費による成果である。

文 献

- 1) 原田 保, 松永 亨: 内リンパ水腫に関する血管条の役割. 耳鼻臨床 78 : 2507-2516, 1985

- 2) Matsunaga T, Harada T : The role of stria vascularis in the development of allergic endolymphatic hydrops of guinea pig. Head and Neck Surg 1 : 318-321, 1985
- 3) 原田 保, 松永 亨 : 内耳におけるアナフィラトキシン活性について (第2報). Ear Res Jpn 17 : 288-291, 1986.
- 4) Stimler NP : C5a stimulated release of SRS-A from guinea pig lung. Fed Proc 40 : 1115-1122, 1981
- 5) Stimler NP : Release of leukotrienes from guinea pig lung stimulated by C5a des Arg anaphylatoxin. J Immunol 128 : 2245-2251, 1982
- 6) Hugli T and Muller-Eberhard : Anaphylatoxin : C3a and C5a. Adv immunol 26 : 1-53, 1978
- 7) Pinckard RN, McManus LM and Hanahan DJ : Chemistry and biology of acetyl glyceryl ether phosphorylcholine (Platelet Activating Factor). In ed Weismann G. Advances in inflammation research Vol.4 pp 147-180, Raven Press, NY, 1982
- 8) Singu M and Nobunaga M : Chemotactic activity generated in human serum from the fifth component of complement by hydrogen peroxide. Am J Pathol 117 : 201-206, 1984
- 9) Rüedi L and Furrer W : Further observations concerning the toxic effects of streptomycin and guinine on the auditory organ of guinea pigs. Laryngoscope 62 : 333-340, 1952
- 10) Ai-Hua Sun, Shi-Zhi Xiao and Zun Zheng : Ascanning electron microscopic study of cochlear changes in irondeficient rat. Acta Otolaryngol 104 : 211-216, 1987

Abstract

Complement is known to be related to many inflammatory reactions, and C4a, C3a and C5a, known

as anaphylatoxins, cause strong inflammatory reaction although they are unrelated to anaphylaxis caused by immunoglobulin E.

We made anaphylatoxins from guinea pig serum plus zymosan. Anaphylatoxins were inoculated into the carotid artery. We have already reported that the stria vascularis (S.V.) in the various cochlear turns, except the cochlear basal turns, was extremely atrophied after 72 hours.

In this study, anaphylatoxins were inoculated into the carotid artery and after 7, 10 and 15 days, the S.V. was examined. It was extremely atrophied, similar to its appearance after 3 days. After 7 days, atrophy was observed in the third turn in 5 out of 12 S. V. (42%), in the fourth turn in 12 out of 12 S. V. (100%) and in the apical turn in 3 out

of 3 S. V. (100%). After 10 days, atrophy was observed in the third turn in 2 out of 12 S. V. (17%), in the fourth turn in 9 out of 12 S. V. (75%) and in the apical turn in 3 out of 3 S. V. (100%). After 15 days, atrophy was observed in the third turn in 2 out of 12 S. V. (17%), in the fourth turn in 6 out of 12 S. V. (50%), and in the apical turn in 2 out of 3 S. V. (67%).

Thus atrophy in the S.V. due to anaphylatoxin improved with time.

Key words: anaphylatoxin, stria vascularis, atrophy, endolymphatic hydrops

(原稿到着：平成1年1月27日
別刷請求先：原田 保
〒553 大阪市福島区福島1-1-50
大阪大学医学部耳鼻咽喉科学教室)