

Tuberactinomycin のモルモット聴器に及ぼす影響

特に耳介反射の域値変動と病理組織学的所見ならびに酵素組織化学的所見について

秋吉正豊・佐藤喜一

東京医科歯科大学難聴研究施設病理部

早野和夫・吉沢宗敏

東洋醸造株式会社研究部第四研究室

(昭和44年3月31日受付)

I. はじめに

Tuberactinomycin (Tuberactin, TUM) は永田ら¹⁾ (1968)によつて新しく開発された抗生物質である。この物質は静岡県大仁町の土壌から分離同定された放線菌 *Streptomyces griseovorticillatus* var. *tuberacticus* の培養液から単離されたものであつて、人型結核菌に対して試験管内で抗菌作用を示し、さらに動物の実験的結核症の治療に有効であることが明らかにされている^{2,3)}。

TUM が抗結核剤として利用できる可能性が明らかになつてきたので、現在 TUM の生物学的および薬理学的性状について、さらに検討が加えられている。その一部についてはすでに永田・早野らによつて報告されてきた^{4,5)}。

TUM の化学構造はいまだ明らかではないが、いままでの検索によれば、この物理的、化学的性状は水溶性塩基性ペプチド抗生物質に一致して、臨床的に使用されている。Viomycin (VM), Capreomycin (CPM) に類似していると考えられている⁶⁾。

VM の聴器毒性については、すでに P'AN *et al.* (1951)⁷⁾, TUCKER (1954)⁸⁾, LEACH (1962)⁹⁾, HUIZING (1966)¹⁰⁾, OSTYN and TYBERGHEIN (1968)¹¹⁾ などによつて指摘されており、CPM については、この物質が軽度ながら聴器毒性を有することが明らかにされている (WELLES *et al.* (1966)¹²⁾, 秋吉・佐藤ら (1967)^{13,14)}, OSTYN and TYBERGHEIN (1968)¹¹⁾。

従がつて、TUM の聴器毒性についても充分検討する必要がある。そこで、TUM の聴器毒性を、モルモットについて機能的ならびに病理組織学的および組織化学的に検索し、同時に行なつた VM および Kanamycin (KM) による聴器毒性の検索結果と比較検討した。

その結果、KM および VM に比較して、TUM の聴器毒性が非常に低いことが明らかにされたので報告したい。

II. 実験材料および方法

a. 実験材料

実験動物として正常範囲内の Preyer 耳介反射域値を

有する、約 300 g の体重の雌の Hartley 系白色モルモット 149 匹を用いた。被検薬剤は TUM 塩酸塩を用い、同時に対照薬物として VM 塩酸塩および KM 硫酸塩を使用した。

b. 実験方法

1. 薬剤投与方法

TUM, VM および KM の投与量は体重 1 kg に対して、それぞれ 80 mg, 100 mg, 200 mg, 400 mg の 4 種類とした (表 1)。薬剤は 80 mg 投与では背部皮下に注射されたが、100 mg, 200 mg, 400 mg の投与では臀部筋肉内に注射された。薬剤投与期間は、80 mg 投与では連日 35 日間、100 mg, 200 mg, 400 mg の投与では連日 28 日間であつた。なお、各注射群の動物数は表 1 に示したとおりである。無処置対照群は 5 匹であつた。

2. 体重測定

我々は注射開始前から注射終了までの期間にわたつて、毎週 2 回各動物の体重を測定した。

3. 耳介反射域値の測定

表 1

薬 剤	注 射 量 (mg/kg)	動 物 数	注 射 期 間 (日)	注 射 部 位
対 照		5		
TUM	80	3	35	背部皮下
	100	25	28	臀部筋肉
	200	25	28	"
	400	25	28	"
VM	80	3	35	背部皮下
	100	10	28	臀部筋肉
	200	10	28	"
	400	10	28	"
KM	80	3	35	背部皮下
	100	10	28	臀部筋肉
	200	10	28	"
	400	10	28	"

被験動物の耳介反射域の推移はモルモット用の Audiometer を用いて測定した¹⁵⁾。測定は注射開始前、注射期間中(週2回)および最終注射の翌日に行なつた。なお平衡機能検査は行なわなかつたが、「立ち直り反射」あるいは「強制歩行」などで平衡障害の発現を推測した。

4. 酵素組織化学的検索

蝸牛有毛細胞内のコハク酸脱水素酵素(SDH)活性の組織化学的証明は生体下外リンパ腔灌流法によつた¹⁶⁾。

TUM 100 mg/kg 群, 200 mg/kg 群および 400 mg/kg 群の5匹づつの動物の腹腔内に、薬剤最終注射後Pentobarbital(30 mg/kg)を注射した。麻酔下に蝸牛骨胞を露出して、SDH 染色反応液を正円窓膜から注入し、蝸牛先端部に作つた小孔から流出させ、外リンパ腔内を徐々に灌流した。15分間そのまま放置した後10%中性ホルマリン液で染色反応を中止させた。蝸牛を取りはずし、数時間10%ホルマリン液で固定後実体顕微鏡下で蝸牛骨胞を開き、Corti器を小ブロックに分けて取出し、Corti器の surface specimens を作成して光学顕微鏡で観察した。

5. 病理組織学的検索

被検薬剤の最終注射後に動物を、etherで麻酔し、正中線上で開胸し心臓を露出した。左心室から大動脈まで細いガラスカニューレを挿入して、37°Cのリンゲル液で血管を灌流して血液を洗い流し、さらにWittmaack固定液で灌流した。その後両側の聴器を取出し、さらにWittmaack固定液で1週間固定した後に、PLANK氏の脱灰液で脱灰した。脱灰した聴器を水洗後、ツエロイゲン包埋とした。両側の蝸牛軸を含む水平断面で、連続切片を作り、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した。

III. 実験結果

1. 体重変化の推移

表2 各薬剤注射による体重変化(平均値)

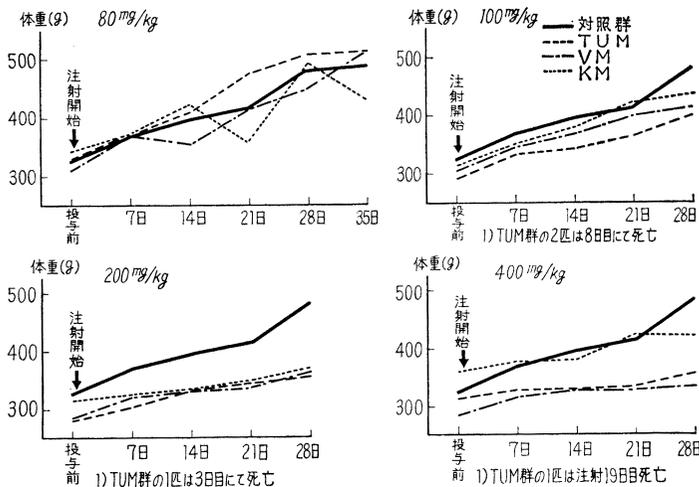


表3 耳介反射域値の変化

薬物	投与量 (mg/kg)	動物数	聴力障害			
			正常	軽度	中等度	高度
対照		5	5	0	0	0
TUM	80	3	3	0	0	0
	100	25	23	2	0	0
	200	25	24	0	0	1
	400	25	11	9	2	3
VM	80	3	3	0	0	0
	100	10	5	5	0	0
	200	10	2	2	2	4
	400	10	0	0	0	10
KM	80	3	2	1	0	0
	100	10	7	3	0	0
	200	10	7	0	1	2
	400	10	3	2	1	4

判定基準(我々の教室のデータによる)

純音周波数, 4, 6, 8, 10 KCPS の領域で実験前の域値と最終回域値の差を聴力の損失とみて、次のように分類した

正常: 5 db ↑ 中等度: 11~20 db

軽度: 5~10 db 高度: 20 db ↓ 或いは scale out

TUM, VM および KM を注射したモルモットの体重変化の平均値は、表2に示すとおりである。すなわち 80 mg/kg 投与の場合では、TUM 注射群は対照群と同様に体重の順調な増加を示した。しかし VM 注射群および KM 注射群では、一時軽度の体重減少がみられた。100 mg/kg 投与の場合では、TUM 注射群は VM 注射群および KM 注射群と同様に対照群動物よりも低い体重増加率を示したが、その程度は軽度であつた。200 mg/kg および 400 mg/kg 投与では、TUM 注射群, VM 注射群, KM 注射群はいずれも体重増加の著しい抑制を示していた。

TUM 400 mg/kg 注射群の1匹は注射19日目で死亡した。なお、TUM 100 mg/kg および 200 mg/kg 注射群で死亡した3匹では死亡時にいずれも上気道感染がみられた。

しかし、実験モルモットで特に著しい急性中毒症状および運動失調をきたしたものは1匹も認められなかつた。

2. 耳介反射の域値変動と病理組織学的所見

TUM 群 (63 匹):

80 mg/kg 注射群においては、すべての

図 1 TUM 80 mg/kg 4 週間投与モルモット (No. 1-3-15) の左内耳。蝸牛には著明な変化がない
H.E. 染色, ×12

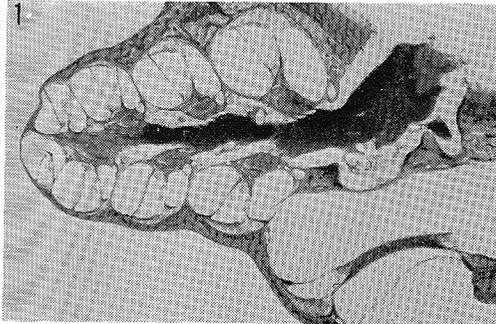


図 2 図 1 の蝸牛の第 4 回転後半。Corti 器およびその他の内耳組織には著変はない
H.E. 染色, ×100

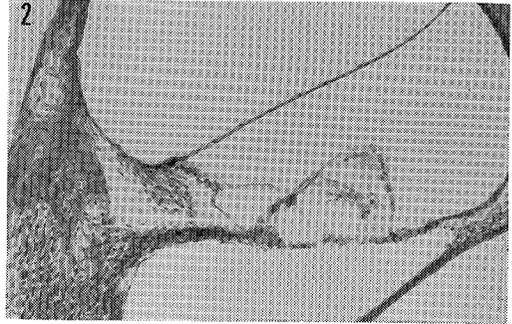


図 3 図 1 の蝸牛の第 2 回転後半。Corti 器およびその他の内耳組織には著変はない
H.E. 染色, ×100

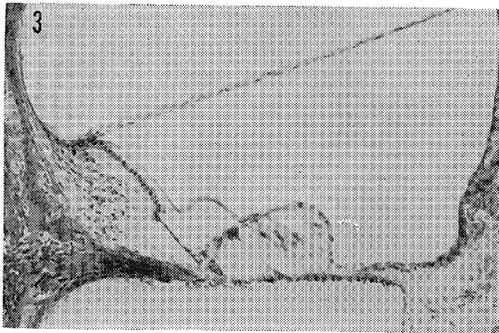


図 4 図 1 の蝸牛の第 1 回転後半。内耳に著変はない
H.E. 染色, ×100

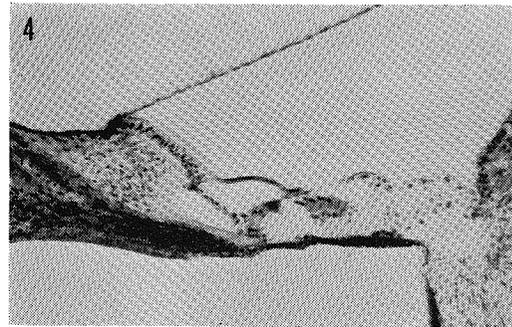


図 5 図 1 の蝸牛の第 1 回転前半。内耳に著変はない
H.E. 染色, ×100

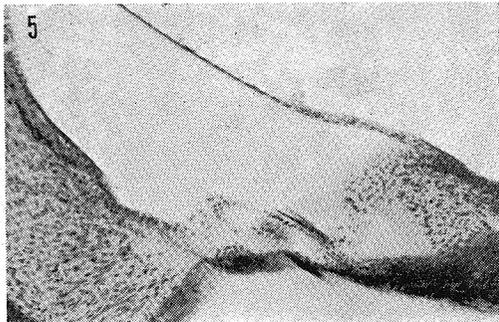


図 6 TUM 100 mg/kg 4 週間投与モルモット (No. 5-51-21) の右内耳。第 1 回転前半より第 3 回転前半にわたる Reissner 膜の破損 (矢印)。Corti 器の有毛細胞およびその他の内耳組織には著変はない
H.E. 染色, ×12

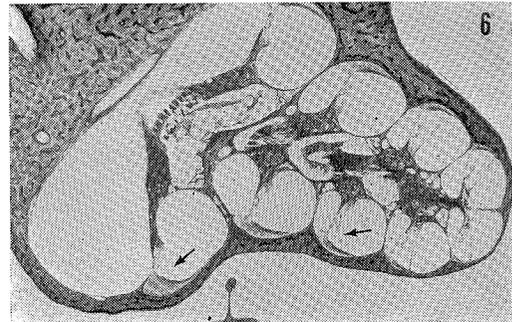


図 7 図 6 の蝸牛の最上回転。Corti 器およびその他の内耳組織には著変はない
H. E. 染色, $\times 100$

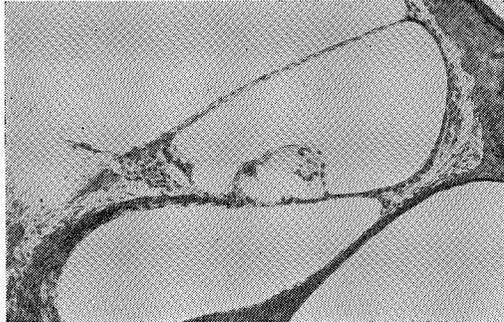


図 8 図 6 の蝸牛の第 4 回転前半。Corti 器およびその他の内耳組織には著変はない
H. E. 染色, $\times 100$

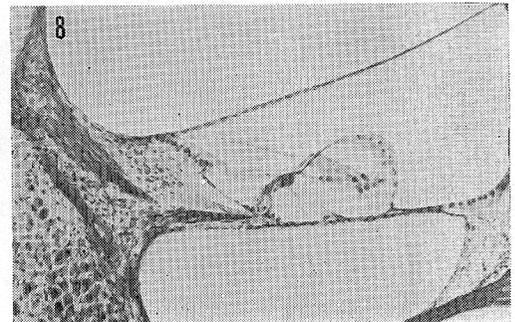


図 9 図 6 の蝸牛の第 3 回転後半。Corti 器およびその他の内耳組織には著変はない
H. E. 染色, $\times 100$

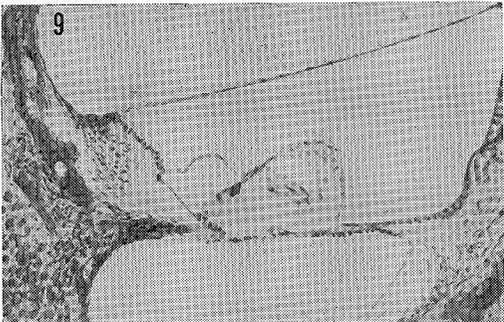


図 10 図 6 の蝸牛の第 3 回転前半。Reissner 膜は破損し, Corti 器の上面を被っている (矢印)。しかし有毛細胞の欠損は認められない
H. E. 染色, $\times 100$

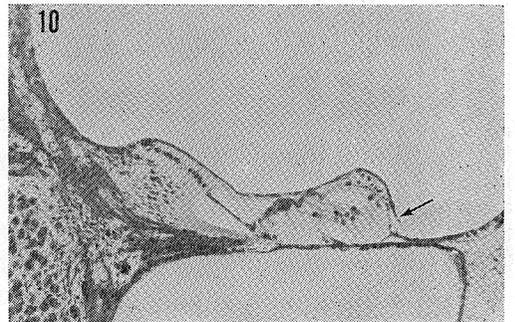


図 11 図 6 の蝸牛の第 2 回転前半。Reissner 膜は破損し, Corti 器の上面を被っている。有毛細胞には著変はない
H. E. 染色, $\times 100$

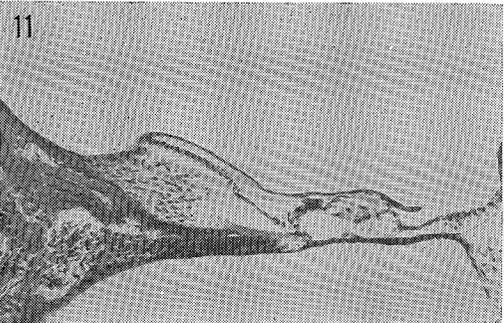


図 12 図 6 の蝸牛の第 1 回転前半。図 11 と同様の变化
H. E. 染色, $\times 100$

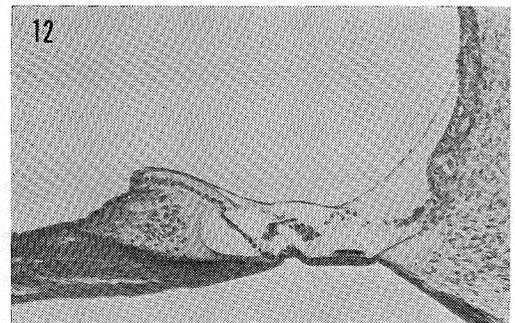


図 13 TUM 200mg/kg 4週間投与モルモット(No. 4-8-25)の左内耳。Corti器およびその他の内耳には明らかな障害はない
H. E. 染色, $\times 100$

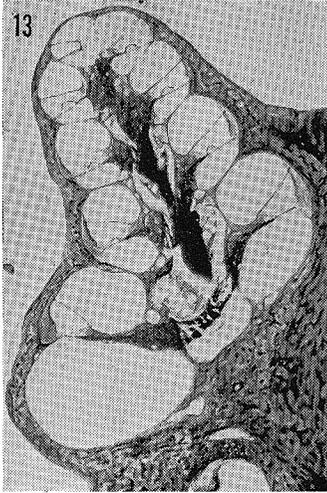


図 14 図13と同じ動物の右内耳。Corti器およびその他の内耳組織には明らかな障害はない
H. E. 染色, $\times 100$



図 15 図13の蝸牛の第2回転前半。Corti器には外有毛細胞および内有毛細胞が存在し、有毛細胞の障害像は認められない
H. E. 染色, $\times 100$

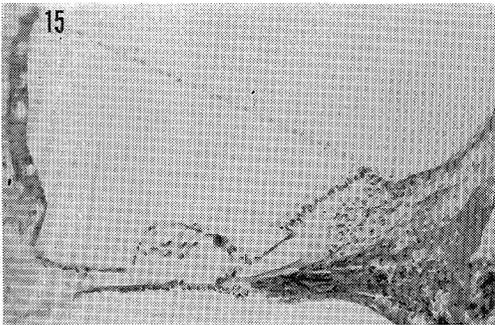


図 16 図13の蝸牛の第1回転前半。Corti器およびその他の内耳組織に障害はない
H. E. 染色, $\times 100$

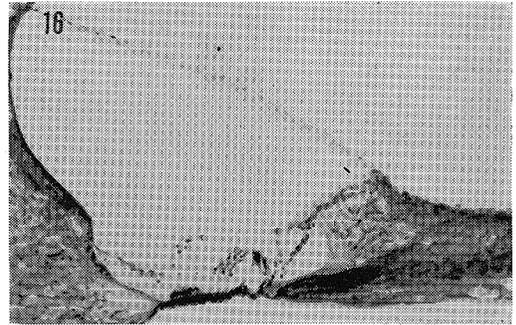


図 17 TUM 400mg/kg 4週間投与モルモット(No. 3-1-22)の左内耳。Corti器およびその他の内耳組織には著明な障害がない
H. E. 染色, $\times 12$

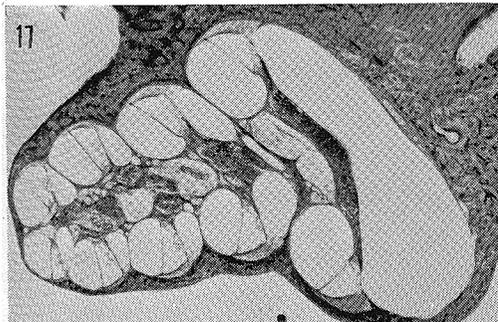


図 18 図17と同じ動物の右内耳。Corti器およびその他の内耳組織には障害がない
H. E. 染色, $\times 12$

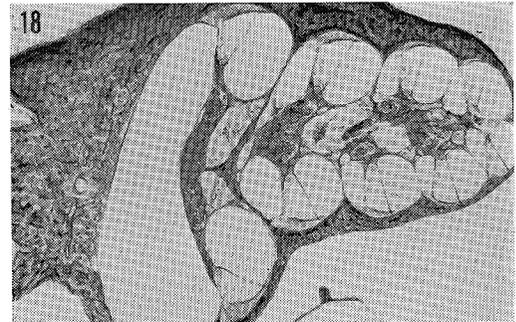


図 19 図 17 の蝸牛の第 4 回転前半。Corti 器およびその他の内耳組織には障害がない
H. E. 染色, $\times 100$

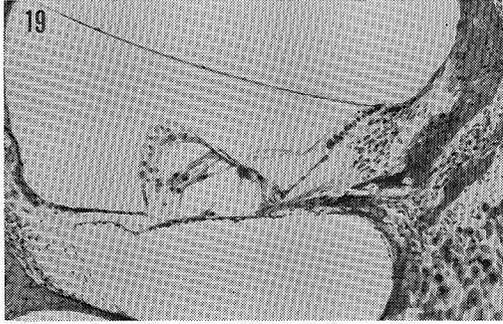


図 20 図 17 の蝸牛の第 3 回転前半。Corti 器およびその他の内耳組織には障害がない
H. E. 染色, $\times 100$

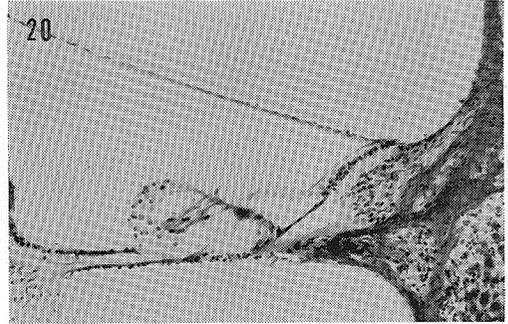


図 21 図 17 の蝸牛の第 2 回転前半。Corti 器およびその他の内耳組織には障害がない
H. E. 染色, $\times 100$

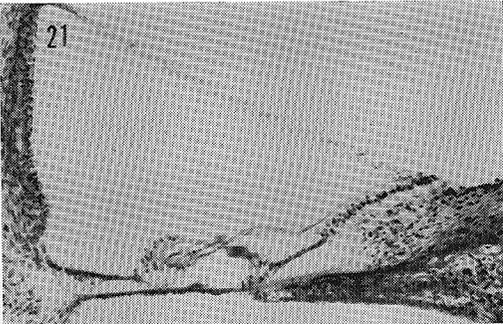


図 22 図 17 の蝸牛の第 1 回転前半。Corti 器およびその他の内耳組織には障害がない
H. E. 染色, $\times 100$

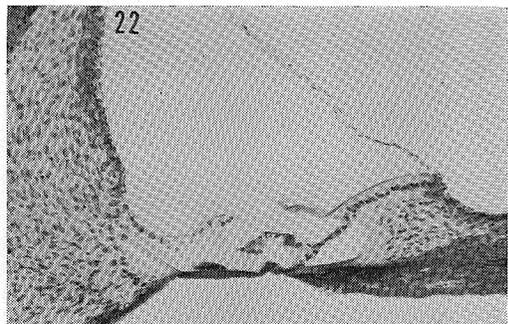


図 23 VM 200 mg/kg 4 週間投与モルモット (No. 4-29-17) の左内耳。第 2 回転および第 4 回転の Reissner 膜は破損している (矢印)
H. E. 染色, $\times 12$

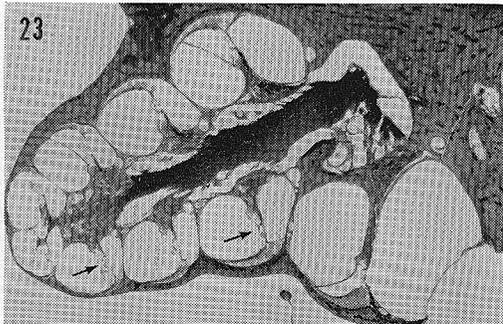


図 24 図 23 の蝸牛の第 3 回転前半。Corti 器には著変がなく、外有毛細胞および内有毛細胞は認められる
H. E. 染色, $\times 100$

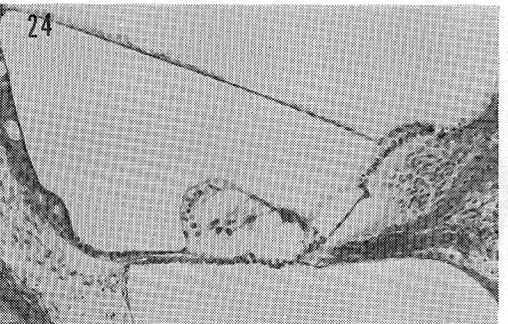


図 25 図 23 の蝸牛の第 2 回転後半。Reissner 膜は破損して Corti 器の上面を被っている(矢印)。Corti 器には著変なく外有毛細胞、内有毛細胞も認められる。外リンパ腔隙には少量の蛋白質に富む滲出液が混在している
H. E. 染色, $\times 100$

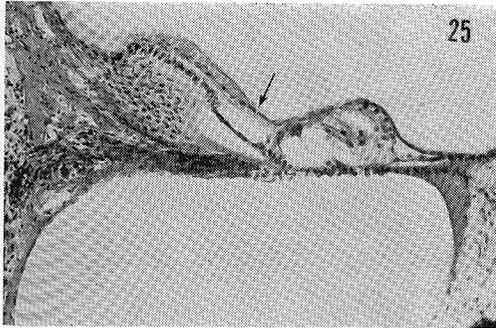


図 26 図 23 の蝸牛の第 2 回転前半。Reissner 膜は破損し、Corti 器上面を被っている。外有毛細胞は壊死におちいり、核の消失をきたしている。しかし内有毛細胞には著変はない(矢印)
H. E. 染色, $\times 100$

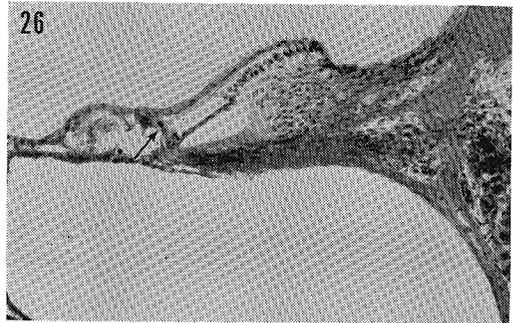


図 27 図 23 の蝸牛の第 1 回転後半。Corti 器の外有毛細胞の中 2 列は核の消失をきたしている(矢印)。しかし内有毛細胞には著変はみられない
H. E. 染色, $\times 100$

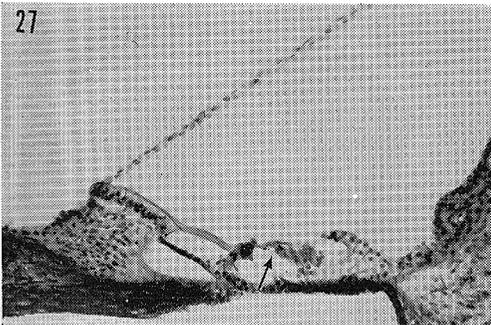


図 28 図 23 の蝸牛の第 1 回転前半。Reissner 膜は軽度凹陷し内リンパ腔の拡張の存在を示している。Corti 器の外有毛細胞は核の消失をきたしている(矢印)。しかし内有毛細胞には著変は認められない
H. E. 染色, $\times 100$

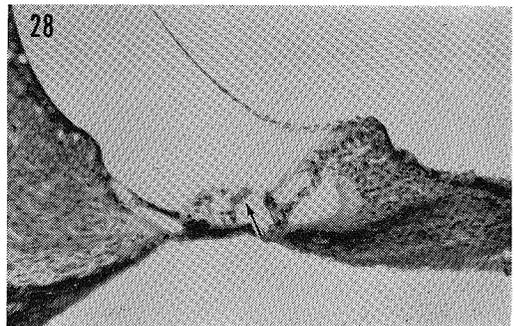


図 29 VM 400 mg/kg 4 週間投与モルモット (No. 4-35-17) の右内耳。Reissner 膜には破損はない。Corti 器の外有毛細胞および内有毛細胞の消失は第 1 回転前半より第 3 回転までおよんでいる
H. E. 染色, $\times 12$

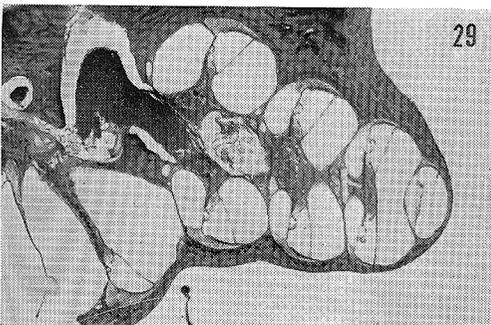


図 30 図 29 の蝸牛の第 3 回転前半。Corti 器の外有毛細胞の消失(矢印)とその支持細胞の変性。内有毛細胞の核の消失がある
H. E. 染色, $\times 100$



図 31 図 29 の蝸牛の第 2 回転後半。Corti 器の外有毛細胞およびその支持細胞の消失と内
有毛細胞 (矢印) の消失。軽度の漿液性内耳炎
がある H. E. 染色, $\times 100$

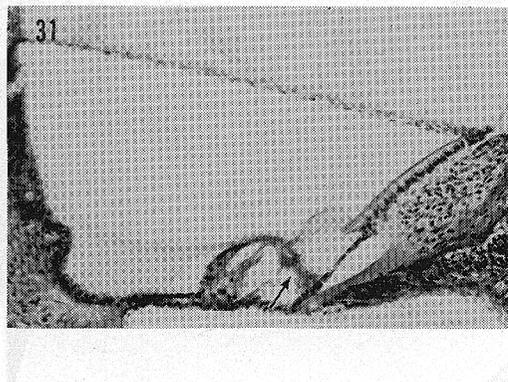


図 32 図 29 の蝸牛の第 1 回転後半。蝸牛の外有毛
細胞および内
有毛細胞 (矢印) の消失ならび
にそれらの支持細胞の核の消失
H. E. 染色, $\times 100$

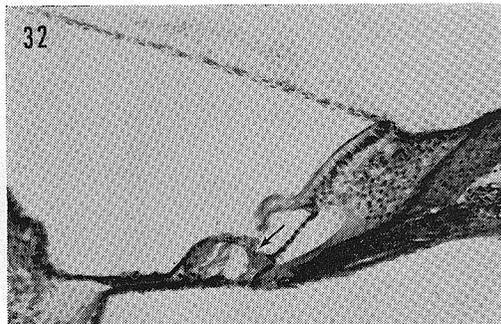


図 33 図 29 の蝸牛の第 1 回転前半。Corti 器の外
有毛細胞 (矢印) および支持細胞の消失と内
有毛細胞の核の消失 H. E. 染色, $\times 100$

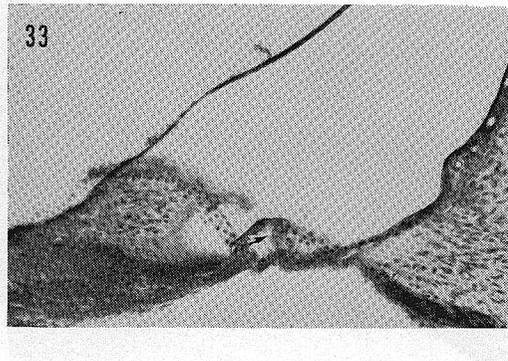


図 34 VM 400 mg/kg 4 週間投与モルモット (No.
4-34-17) の左内耳。Reissner 膜には破損が
ないが、第 1 回転前半の Corti 器は扁平化
を示している。外有毛細胞の消失は第 1 回
転前半から第 2 回転前半まで認められる。
しかし内
有毛細胞には消失および著変は認
められない H. E. 染色, $\times 12$

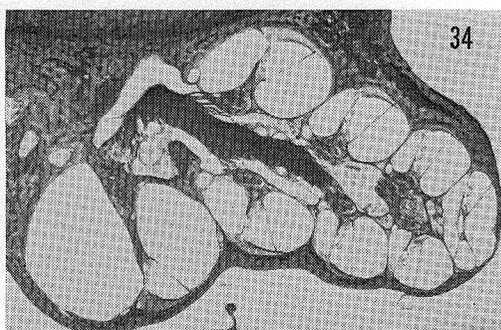


図 35 図 34 の蝸牛の第 1 回転後半。Corti 器の外
有毛細胞は消失している (矢印)。しかし内
有毛細胞には核の消失および著変は認め
られない H. E. 染色, $\times 100$

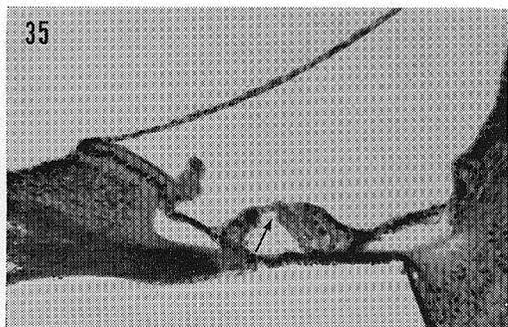


図 36 図 34 の蝸牛の第 1 回転前半。Reissner 膜は
軽度の陥凹を示し、内リンパ腔の拡張を示
唆している。Corti 器は扁平化し、外有毛
細胞の消失をきたしている (矢印)。しかし
内
有毛細胞には著変は認められない
H. E. 染色, $\times 100$

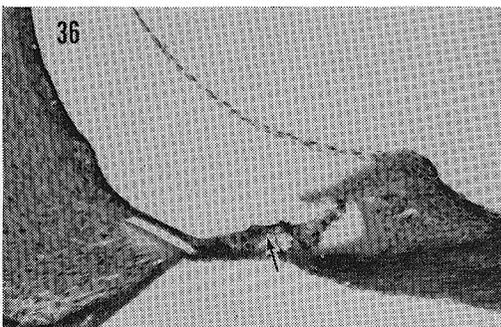


図 37 KM 200 mg/kg 4 週間投与モルモット (No. -KM-9-36) の左内耳。第 1 回転前半の Reissner 膜は内リンパ腔の拡張により軽度の湾曲を示す。Corti 器の内外有毛細胞には著変は認められない
H. E. 染色, $\times 12$

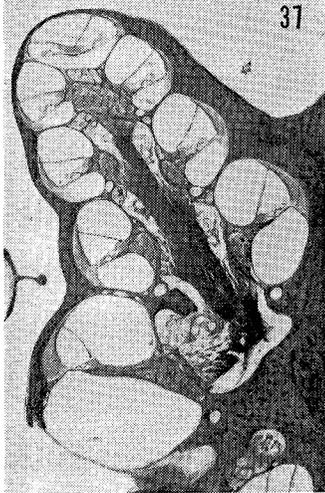


図 38 図 37 の蝸牛の第 1 回転前半。内リンパ腔は軽度の拡張を示す。Corti 器の外有毛細胞および内毛細胞には著変は認められない
H. E. 染色, $\times 100$



図 39 KM 400 mg/kg 4 週間投与モルモット (No. +KM-1-8) の左蝸牛第 3 回転前半。Corti リンパ腔の著しい拡張をきたしているが、内外有毛細胞には著変は認められない
H. E. 染色, $\times 100$

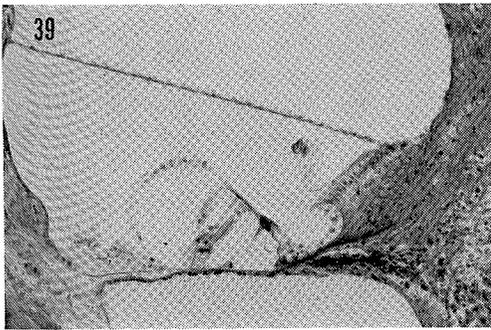


図 40 図 39 と同じ動物の蝸牛第 1 回転後半。Corti 器の外有毛細胞は核の消失を示しているが (矢印)。内毛細胞には著変は認められない
H. E. 染色, $\times 100$

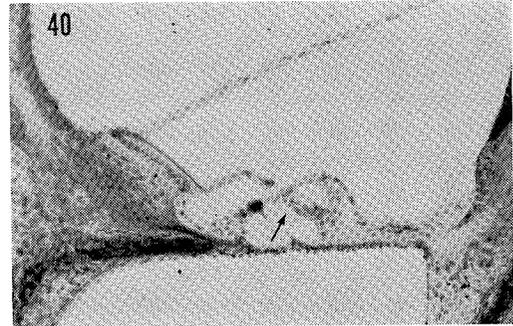


図 41 図 39 と同じ動物の蝸牛第 1 回転後半。Corti リンパ腔は軽度の拡張を示しているが、外有毛細胞および内毛細胞には著変はみられない
H. E. 染色, $\times 100$

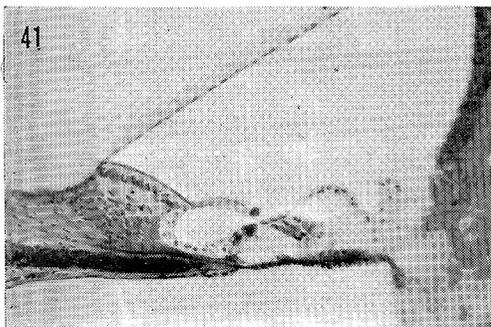


図 42 KM 400 mg/kg 4 週間投与モルモット (No. +KM-6-62) の左蝸牛第 1 回転前半。Corti 器の外有毛細胞の核の消失を示しているが (矢印)。内毛細胞には著変がない
H. E. 染色, $\times 100$

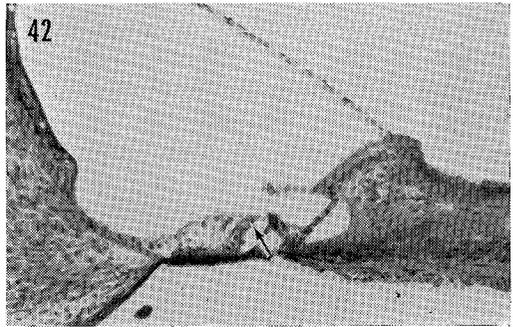


図 43 図 42 と同じ動物の右蝸牛第 1 回転後半。
Corti 器の外有毛細胞および内有毛細胞には
著変はない H. E. 染色, $\times 100$

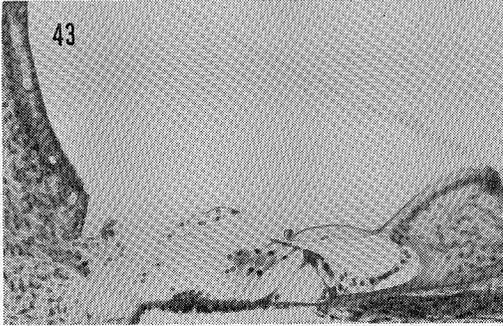


図 44 図 42 と同じ動物の右蝸牛第 1 回転前半。
Corti 器の外有毛細胞および内有毛細胞には
著変はない H. E. 染色, $\times 100$

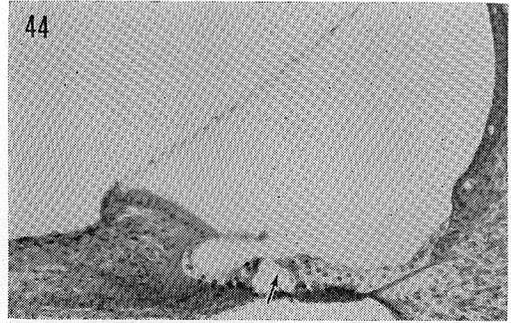


図 45 VM 400 mg/kg 4 週間投与モルモット (No.
4-40) 腎臓のネフローゼ尿細管上皮には核の
消失, 崩壊 (矢印) が認められ, 細胞質は水
症変化あるいは硝子化を示している
H. E. 染色, $\times 100$

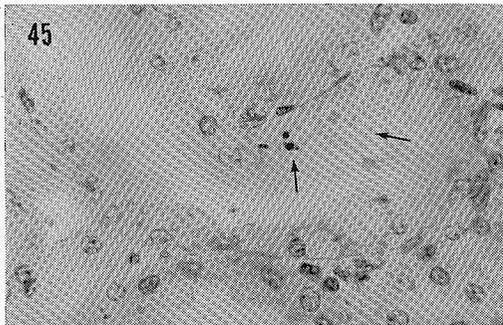


図 46 VM 400 mg/kg 4 週間投与モルモット (No.
4-35) 腎臓のネフローゼ尿細管上皮は核の消
失, 空胞化 (矢印) を示している。しかし、一
部に核分裂もみられる H. E. 染色, $\times 100$

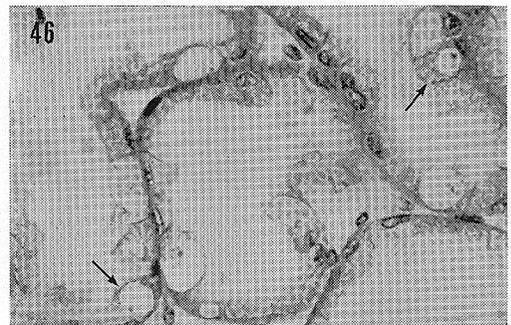


図 47 TUM 400 mg/kg 4 週間投与モルモット (No.
3-5) 腎臓。尿細管上皮は腫脹し, 一部は水
症変化 (矢印) を示している
H. E. 染色, $\times 100$

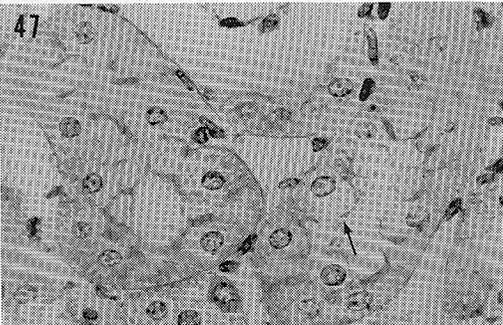


表4 TUM 100mg/kg 最終耳介反射域値 (25匹)

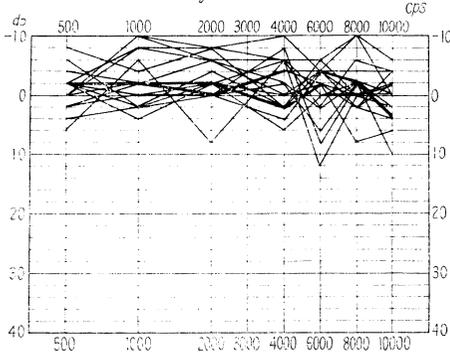


表5 TUM 200mg/kg 最終耳介反射域値 (25匹)

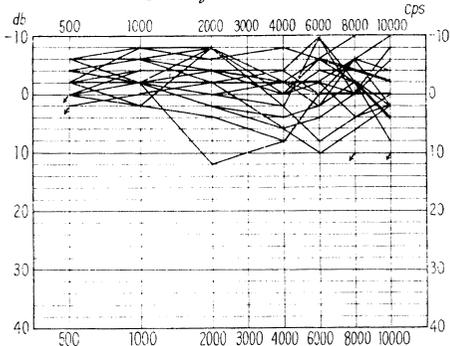


表6 TUM 400mg/kg 最終耳介反射域値 (25匹)

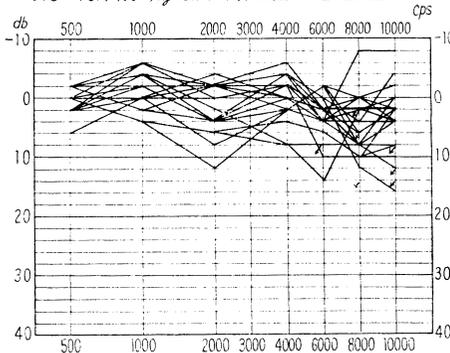


表7 TUM 400mg/kg (No. 3-1)

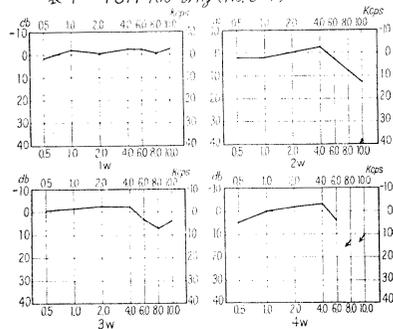
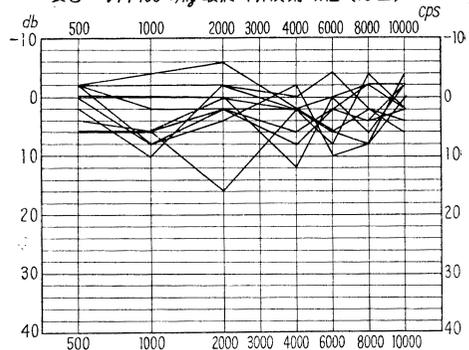


表8 VM 100mg/kg 最終耳介反射域値 (10匹)



動物の耳介反射域値は正常であつた(表3)。組織学的にも内耳には著変が認められず(図1)、Corti器その他の内耳組織も正常であつた(図2~5)。

100 mg/kg 注射群では、耳介反射検査で(表3, 4)、ほとんどの動物が正常範囲内の域値変動を示し、2匹が域値の軽度上昇をきたした。組織学的には、反射域値が正常範囲内にあるものはもちろん、軽度の域値上昇を示した動物においても、Corti器には著変を認めることはできなかった。しかし耳介反射域値の軽度の上昇をきたした1例は第1回転から第2回転にわたるReissner膜の破損を示していた(図6~12)。

200 mg/kg 注射群においては、耳介反射検査では(表3, 5)、1匹が8,000 cps以上の周波数領域における反射の消失(高度聴力障害)をきたしたが、その他の動物は正常範囲内の域値変動を示した。組織学的には、域値変動が正常範囲内にあるものはもちろん、高度聴力障害を起こした1匹においても、Corti器およびその他の内耳組織に著変を認めることはできなかった(図13~16)。

400 mg/kg 注射群における耳介反射検査では(表3, 6)、3匹が6,000 cps以上または8,000 cps以上の高度域における耳介反射の消失をきたしており(高度聴力障害)、2匹が10 db内外の域値上昇を示した(中等度障害)。他の9匹は域値の軽度上昇をきたし(軽度聴力障害)、11匹は正常範囲内の域値変動を示した。この高度の聴力障害を起こした動物では、TUM注射開始後3~4週に8,000~10,000 cpsの領域で耳介反射消失をきたした(表7)。この内、組織学的検索を行なつた中等度および高度の聴力障害を示した各2匹では、Corti器およびその他の内耳組織に著変を認めることはできなかった(図17~22)。また域値変動が正常範囲内にあつたものおよび軽度の上昇をきたした動物の内耳組織にもなら障害を認めることはできなかった。なお、以上のいずれの動物の前庭器にも組織学的著変は認めることはできなかった。

VM群(33匹):

表9 VM 200mg/kg 最終耳介反射域値 (10匹)

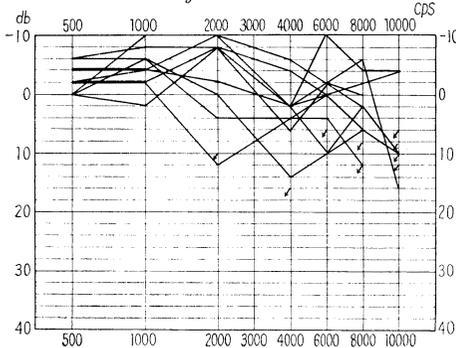


表10 VM 400mg/kg 最終耳介反射域値 (10匹)

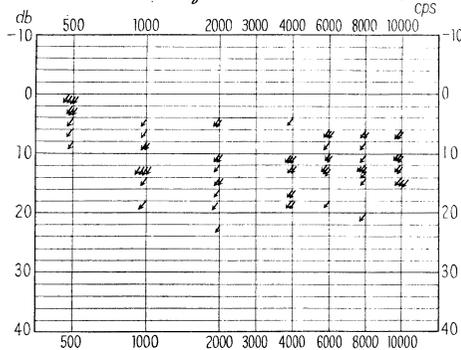


表11 VM 400mg/kg (No.4-38)

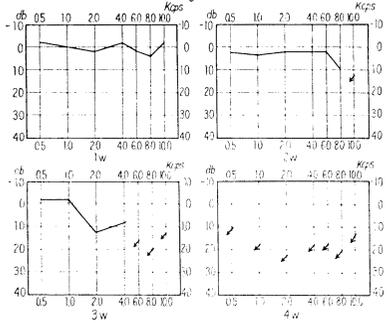
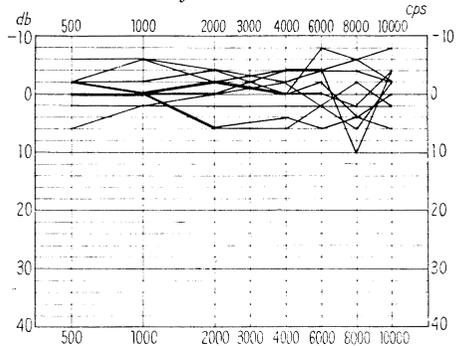


表12 KM 100mg/kg 最終耳介反射域値 (10匹)



80 mg/kg 注射群においては、いつれの動物にも耳介反射値の上昇はみられず (表 3), 組織学的に蝸牛の Corti 器に障害像を認めることができなかった。

100 mg/kg 注射群においては、耳介反射域値は半数の動物において軽度上昇、すなわち軽度の聴力障害を示した (表 3, 8)。組織学的には次の 1 匹を除いて蝸牛の Corti 器に障害像を認めることができなかった。すなわち 3 週以後 8,000 cps の耳介反射域値の軽度上昇を示した 1 匹では、両側の蝸牛の第 1 回転前半部における Corti 器に外有毛細胞の散発性消失が認められた。しかし、その他の内耳組織には組織学的に障害を認めることができなかった。

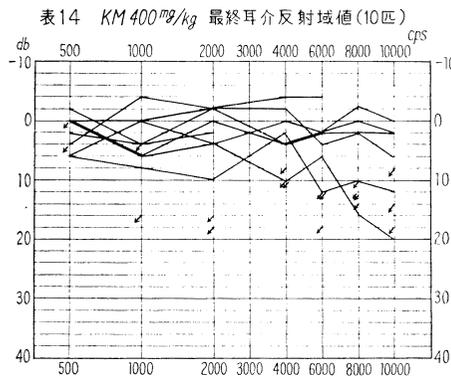
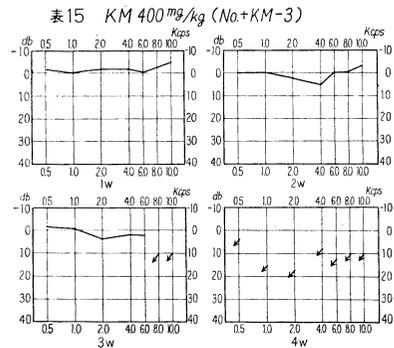
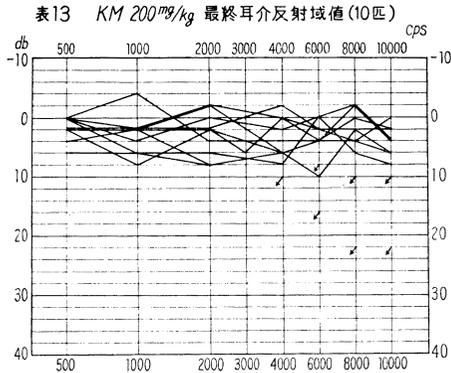
200 mg/kg 注射群では、耳介反射で 4 匹は 10,000 cps あるいは 8,000~10,000 cps または 2,000~10,000 cps の高音域の耳介反射消失 (高度聴力障害) を示し、他の 2 匹は耳介反射域値の中等度上昇 (中等度聴力障害) をきたし、他の 2 匹は反射域値の軽度上昇 (軽度聴力障害) を起こした (表 3, 9)。正常範囲の耳介反射域値を示したものおよび反射域値の軽度ならびに中等度の上昇を示した動物のうちで、組織学的に Corti 器における有毛細胞の核の消失およびその他の変化を示したものは 1 例もなかった。耳介反射検査で 10,000 cps 附近の耳介反応の消失をきたした 4 匹のうち 3 匹では、蝸牛の第 1

回転前半部、あるいは時に第 1 回転より第 2 回転前半部におよぶ範囲内の Corti 器の外有毛細胞の散発的消失ならびに内リンパ腔隙の軽度の拡張あるいは Reissner 膜の部分的破損がみられた (図 23~28)。

400 mg/kg 注射群では、すべての動物が耳介反射検査で 500 cps から 10,000 cps までの広汎な周波数領域における反射消失 (高度聴力障害) を示した (表 3, 10)。耳介反射消失は、一般に VM 注射開始後 2~3 週目頃に 10,000~8,000 cps 以上の高音域から起こることが多く、4 週目には 10,000 cps から 500 cps までの広汎な周波数領域の耳介反射の消失を示した (表 11)。組織学的には、内耳の Corti 器では第 1 回転前半より第 2 回転後半まで、時には第 1 回転より第 3 回転までおよぶ範囲の外有毛細胞の細胞体あるいは核の消失が認められた (図 29~36)。内毛細胞の細胞質あるいは核の消失は必然的な変化ではなかつたが、時として第 1 回転前半より第 3 回転までおよぶこともあつた (図 29~33)。また障害が強い場合には、Corti 器の消失や扁平化がみられることもあつた (図 36)。外リンパ腔隙および内リンパ腔隙にはしばしば軽度の漿液性炎がみられた (図 31)。しかし、前庭器には著変がなかつた。

KM 群 (33 匹) :

80 mg/kg 注射群においては、1 匹が耳介反射域値の



軽度上昇を示しただけで、他の動物の反射域値は正常範囲内にあつた(表3)。組織学的には、Corti器およびその他の内耳組織に異常を認めたものは1例もなかつた。

100 mg/kg 注射群においては、3匹が耳介反射域値の軽度上昇を示したが、残りの動物の反射値は正常範囲内

にあつた(表3, 12)。耳介反射域値が正常値を示したもののおよび軽度の上昇をきたしたものでは、Corti器およびその他の内耳組織に著変はみられなかつた。

200 mg/kg 注射群では、耳介反射検査で2匹が4,000~10,000 cps または 6,000~10,000 cps の高音域における耳介反射の消失(高度聴力障害)をきたし、他の1匹は耳介反射域値の中等度上昇(中等度聴力障害)を起こした(表3, 13)。耳介反射検査で正常範囲内にあつた動物では、Corti器およびその他の内耳組織にも障害を起こしてゐなかつた。耳介反射域値の中等度上昇を示した1匹では、第1回転の内リンパ腔隙が軽度の拡張を示していた(図37, 38)。しかしこの例ではCorti器の有毛細胞には消失も変性も認められなかつた。耳介反射検査で4,000 cps以上の領域における耳介反射の消失を示した2匹では、第1回転前半の内リンパ腔隙に軽度の拡張が認められた。しかしこれらの例でもCorti器の有毛細胞には異常は認められなかつた。

表16 蝸牛の病理組織学的所見

薬物	投与量 (mg/kg)	検索数	変化なし	Corti器の障害			血管条萎縮	ラセン神経節細胞の変性	その他
				有毛細胞消失内	消失外	扁平化 範囲			
TUM	80	3	3	—	—	—	—	—	—
	100	20	19	—	—	—	—	—	1(R)
	200	20	20	—	—	—	—	—	—
	400	20	20	—	—	—	—	—	—
VM	80	3	3	—	—	—	—	—	—
	100	10	9	—	1	—	第1回転	—	—
	200	10	7	—	3	—	第1回転~第2回転	—	1(R)
	400	10	0	5	10	3	第1回転~第2回転	—	—
KM	80	3	3	—	—	—	—	—	—
	100	10	10	—	—	—	—	—	—
	200	10	7	—	—	—	—	—	3(R)
	400	10	5	2	5	2	第1回転~第4回転	—	—

(R) : Reissner 膜の変形あるいは破損

400 mg/kg 注射群では、耳介反射検査で4匹が高度聴力障害をきたし、うち2匹は500~10,000 cpsの、また他の2匹は4,000 cps または8,000 cps 以上の高音域における耳介反射の消失を示した(表3, 14)。耳介反射が中等度上昇を示したものは1匹で、軽度上昇をきたしたものは2匹であつた。高度聴力障害を起した動物では、KM 注射開始後2~3 週目頃に8,000~10,000 cps の高音域に現われ、4 週目ではしばしば10,000~500 cps の広汎な周波数領域における耳介反射の消失を起していた(表15)。耳介反射の正常の動物と反射域値の軽度の上昇を示した動物では、内耳組織に障害は認められなかつた。耳介反射で6,000 cps 以上の領域の中等度域値上昇を示した1匹では、組織学的に第2回転のCorti器の外有毛細胞および内毛細胞の消失が認められた。耳介反射検査で4,000 cps 以上(時には500 cps 以上)の領域において耳介反射の消失をきたした4匹では(図39~44)、第1回転より第3回転、時には第4回転の前半にわたる範囲のCorti器の外有毛細胞が消失をきたしていた。また障害のはなはだしい場合にはCorti器は全く消失していることもあつた。しかし前庭器の組織には著変はみられなかつた。

対照群(5匹):

対照群では、実験期間中には耳介反射域値の病的変動をきたした例はなかつた。これらの対照動物の内耳は組織学的にすべて正常であつた。

以上の各注射群の耳介反射域値の変動を総括すると、表3のようになる。また各注射群の病理組織学的所見を一括表示すると、表16のようになる。

3. 酵素組織化学的所見

TUMの100 mg/kg 注射群、200 mg/kg 注射群、400 mg/kg 注射群から5匹づつを選んで、これら動物の蝸牛のCorti器の有毛細胞のSDH活性を組織化学的に検索した。これらのモルモットは生存中正常範囲内の耳介反射域値を示していた(400 mg/kg 群1匹を除く)。

Corti器の外有毛細胞および内毛細胞には多量のdiformazan顆粒が沈着していた。Diformazan顆粒の色調は濃い青色を示し、SDH活性の低下は認められなかつた。また第1回転より最上回転にいたる範囲の有毛細胞のdiformazan顆粒の色調と量にはほとんど差異を認めることはできなかつた。

400 mg/kg 注射11日目で耳介反射検査で高度聴力障害を示した1匹においても、外有毛細胞のdiformazan顆粒の色調と量は対照群の動物における外有毛細胞と著しい差異を示していなかつた。

IV. 考 察

以上行なつたPreyer耳介反射検査および病理組織学

的ならびに組織化学的検索の結果をもとに、TUMの聴器障害の程度をVMおよびKMの聴器障害と比較検討してみたい。

1. Preyer 耳介反射検査からみたKM, VM, TUMの聴力障害の比較

まずKMの聴器障害についてみると、すでに述べたとおり、投与量が80 mg/kg(35日間)の場合では、3例中1例が軽度の聴力障害を示しただけであるが、100 mg/kg(28日間)の場合には10例中3例が軽度障害を示した。このような聴力障害は200 mg/kg(28日間)の場合にはさらに強く現われ、10例中2例は4,000 cps 以上の高音域における聴力の高度障害をきたし、他の1例は中等度の聴力障害を起こしていた。400 mg/kg(28日間)の場合には、高度の聴力障害は8,000~10,000 cps の高音域から4,000~500 cps の低音域まで広汎に拡大した。このような広範囲な周波数領域における高度聴力障害は10例中4例に認められた。また他の1例は6,000 cps 以上の領域において15 dbの域値上昇を示した。軽度聴力障害を示したものは2例であつた。

これに対してTUMと最も近い化学構造を有すると考えられるVM投与群においては、80 mg/kg(35日間)では3例中1例も聴力障害をきたしたものはなかつた。しかし100 mg/kg(28日間)の場合には10例中5例が軽度の聴力障害をきたしていた。200 mg/kg(28日間)の場合には10例中4例は2,000 cps 以上あるいは6,000 cps 以上の高音域における高度の聴力障害をきたした。他の2例は中等度聴力障害を起こし、さらに他の2例は軽度聴力障害を示した。400 mg/kg(28日間)の場合には、10例の実験動物の全例が500 cps から10,000 cps にわたる全周波数領域における高度聴力障害を起こしていた。

いづぼう、TUM投与群においては80 mg/kg(35日間)の場合には、聴力障害をきたしたものはなかつた。また100 mg/kg(28日間)の場合には、25例中2例が軽度聴力障害を起こした。200 mg/kg(28日間)の場合には、25例中1例だけが、8,000 cps 以上の高音域における高度聴力障害をきたしていた。400 mg/kg(28日間)の場合には、25例中3例が6,000 cps 以上あるいは8,000 cps 以上の高音域における聴力の高度障害を起こしており、他の2例は高音域における10 db内外の中等度障害を示していた。軽度障害をきたした例は9例であつた。

抗生物質(Streptomycin, SM)による聴力障害はヒトでは一般に10,000 cps, 8,000 cps の高音域から始まり、障害の進展とともに次第に125 cps の低音域まで侵されるようになる(森山, 1959)¹⁷⁾。このような聴力障害の

起こり方は、我々の実験においても認められた。

すなわち、KM 投与群についてみると、200 mg/kg の場合では、聴力の高度障害は 4,000 cps 以上の高音域に起こるが、400 mg/kg の場合には、500 cps の低音域まで聴力の高度障害が拡大する。

また、VM 投与群についてみると、200 mg/kg の場合では、聴力の高度障害は 6,000 cps 以上（時には 2,000 cps）の高音域に起きるが、400 mg/kg の場合には、500 cps の低音域まで拡大し広汎な周波数域の高度聴力障害が起こるようになった。

しかし、TUM 注射群における高度聴力障害は 200 mg/kg の場合では、8,000 cps 以上の高音域だけにみられた。また 400 mg/kg の場合でも聴力障害が、8,000 cps あるいは 6,000 cps の高音域よりさらに低音域へ拡大したものは 1 例もなかつた。

従がつて、TUM においては、200 mg/kg 以上の投与量では時として高音域に聴力障害を起こすことがあるが、この場合でも障害は高音域に限局して、低音域まで拡大し広汎な音域にわたる聴力障害を起こしにくいことがわかる。また高度障害の発現頻度においても VM の 100%、KM の 40% に比較すると TUM では僅かに 12% であり、非常に低率である。すなわち聴力検査の成績からみると、聴器障害の発現の可能性は TUM において存在するが、その程度と頻度は、KM および VM におけるよりはるかに軽く、はるかに少ないことがわかる。

2. 病理組織学的所見および酵素組織化学的所見からみた KM, VM, TUM の聴器障害の比較

抗生物質による聴器障害は一般に蝸牛神経末梢部の有毛細胞に始まることが明らかにされている。

すなわち HAWKINS and ENGSTRÖM(1963)¹⁸⁾は、KM の 200 mg/kg, 400 mg/kg, 800 mg/kg を 3~10 日間投与したモルモットの Corti 器の surface specimen を観察して、早期の変化として第 1 回転における外有毛細胞の毛の W 型配列の乱れを認めている。障害が高度の場合には、内有毛細胞にも同様な変化が起こる。

LUNDQUIST and WERSÄLL (1966)¹⁹⁾は、KM の 400 mg/kg を 3~18 回注射したモルモットの Corti 器を電子顕微鏡的に検索して、障害が第 1 回転の Corti 器の外有毛細胞から始まり、次第に上方回転に向つて拡大することを明らかにしている。

また、ENGSTRÖM(1968)²⁰⁾は SM 中毒のモルモットの蝸牛を検索して、障害が第 1 回転の Corti 器の第 1 列の外有毛細胞から始まり次第に第 2 列、第 3 列の外有毛細胞におよぶことを明らかにしている。また外有毛細胞の障害は第 1 回転から上方回転へと拡がること、および

内有毛細胞は下方回転においては外有毛細胞より障害を受けにくいことを報告している。

我々の実験においては、80 mg/kg および 100 mg/kg の投与量では、KM あるいは VM の場合でも、TUM においても Corti 器に組織学的障害を認めることはできなかった。ただ TUM 100 mg/kg 注射群のうち、軽度聴力障害を示した 1 匹の内耳には、Reissner 膜の部分的破損が認められた。しかし Corti 器には著変がなかつた。

KM 200 mg/kg 投与群のうち、高音域の中等度障害および高度障害をきたした動物は第 1 回転における内リンパ腔隙の拡張をきたしていた。しかし、その部の Corti 器の外有毛細胞および内有毛細胞には障害は認められなかつた。KM 400 mg/kg 投与群では、聴力の中等度障害をきたした 1 匹が第 2 回転の Corti 器における外有毛細胞および内有毛細胞の散発的消失を起こしていた。また聴力の高度障害を示した他の 4 匹は第 1 回転から第 3 回転までの Corti 器あるいは時として第 1 回転から第 4 回転前半までの範囲の Corti 器の外有毛細胞の消失をきたしていた。これらの動物の Corti 器の障害が高度の場合には、外有毛細胞と同時に内有毛細胞が消失をきたしたり、あるいは Corti 器の消失または扁平化が認められることもあつた。

VM 200 mg/kg 投与群のうちで高度聴力障害を起こした 4 匹は、第 1 回転前半あるいは第 1 回転から第 2 回転前半にわたる Corti 器の外有毛細胞の散発的消失を起こしていた。その部の内有毛細胞は著変を示していなかつた。なお、これらの動物には第 1 回転の内リンパ腔隙の拡張がみられた。この群のうち中等度の聴力障害を起こした 2 例では、組織学的に Corti 器およびその他の内耳組織に障害を起こしていなかつた。VM 400 mg/kg 投与群では、全例が高度の聴力障害をきたしており、組織学的には第 1 回転から第 2 回転にいたる Corti 器の外有毛細胞の消失を起こす場合が多かつた。しかしこの外有毛細胞の消失は時として第 3 回転にまでおよぶことがあつた。内有毛細胞の消失は必発的变化ではなかつたが、時には第 1 回転から第 3 回転までおよぶことがあつた。障害の高度の場合には Corti 器の扁平化がみられることもあつた。また、これらの例ではしばしば軽度の漿液性内耳炎が認められた。

TUM 200 mg/kg 投与群では、1 匹が高度の聴力障害を起こしたが、組織学的には Corti 器およびその他の内耳組織に明らかな障害を有していなかつた。TUM 400 mg/kg 投与群では 2 匹が中等度の聴力障害を起こしたが、組織学的には Corti 器にもその他の内耳組織にも障害は認められなかつた。高度聴力障害を示した 3 匹にお

いても同様に Corti 器およびその他の内耳組織には障害は認められなかつた。

なお、100 mg/kg、200 mg/kg あるいは 400 mg/kg の TUM を注射したモルモットの Corti 器における有毛細胞の SDH 活性は、いずれの動物においても低下を示していなかつた。すなわち聴力障害のないものももちろん、400 mg/kg 投与で高度の聴力障害を起こした 1 例においても Corti 器の有毛細胞はいずれも強い SDH 活性を示していた。

本研究における耳介反射検査および病理組織学的ならびに組織化学的検索の結果を比較検討してみると、Corti 器の外有毛細胞の組織学的障害は、400 mg/kg 投与の場合では KM 注射群の 50% にみられ、VM 注射群の 100% に発現しているのに対して、TUM の場合には外有毛細胞および内毛細胞の組織学的障害は 1 例もなかつた。また TUM 400 mg/kg のうちで高度の聴力障害をきたした 1 例においても、Corti 器の有毛細胞は組織化学的に SDH 活性の低下を示していなかつた。

従がつて、TUM のモルモットの聴器に対する毒性、特に Corti 器の有毛細胞に対する毒性は、KM および VM よりも明らかに弱いことがわかる。

なお、VM 400 mg/kg 投与群においては高度の聴力障害および Corti 器の有毛細胞の消失が 100% 認められたが、これらの動物の腎は尿細管上皮の混濁腫脹、水症性変化、壊死などの変化を示し、Viomycin-nephrose を起こしていた(図 45, 46)。このような腎の変化は KM 400 mg/kg 投与群では軽く、Corti 器の広汎な外有毛細胞の消失をきたした例の腎においても、尿細管上皮は混濁腫脹あるいは水症性変化を起こした程度であつて、壊死をきたしたものはなかつた。TUM の 400 mg/kg 投与群においては、一部の動物は尿細管上皮の水症性変化を示したが、上皮の壊死を起こしたものはなかつた(図 47)。

VM 400 mg/kg 投与群に高度の聴力障害と Corti 器の有毛細胞の消失が 100% 発生したのは、Viomycin-nephrose による腎機能障害によるものと考えられる。

V. 総 括

Tuberactinomycin (TUM) の聴器、特に内耳に及ぼす障害を明らかにして、Kanamycin (KM) および Viomycin (VM) による聴器障害と比較するために、モルモットで上記各薬剤の中毒実験を行ない、各動物の耳介反射域値を一定の期間をおいて測定し、さらに実験終了後各動物の内耳を病理組織学的および組織化学的に検索した。

1. TUM, KM および VM の投与量、投与方法および投与期間は同じとした。すなわち、80 mg/kg の投与

は 35 日間連日皮下注射とし、100 mg/kg および 200 mg/kg ならびに 400 mg/kg の投与は 28 日間連日筋肉注射とした。

2. 80 mg/kg および 100 mg/kg の投与量では、VM 100 mg/kg 注射群の 1 匹を除いては、いずれの薬剤によつても著しい聴力障害および Corti 器の組織学的障害は起こらなかつた。

3. 200 mg/kg および 400 mg/kg の投与量では、TUM 注射動物の少数例に高音域に限局して聴力障害がみられた。しかし KM および VM の注射動物では聴力障害は高音域から低音域まで拡大するものが多かつた。400 mg/kg 量では高度の聴力障害は、KM 注射群の 40% に、VM 注射群の 100% に認められ、TUM 注射群では 12% であつた。病理組織学的には、TUM 注射動物には内耳の Corti 器の有毛細胞の壊死または消失をきたしたものは 1 例もなかつた。しかし、Corti 器の外有毛細胞の壊死または消失は KM 注射群では 50%、VM 注射群では 100% に認められた。内毛細胞の壊死または消失は必発の変化ではなかつたが、VM 注射群では 50% にまた KM 注射群では 20% にみられた。組織化学的には Corti 器有毛細胞の SDH 活性は TUM 80~400 mg/kg 注射によつて障害を受けなかつた。なお、著しい前庭の機能障害および組織学的障害はいずれの動物にも認められなかつた。

4. 以上の結果から、TUM による聴器障害は KM および VM におけるよりも著しく軽いことが考えられる。

参 考 文 献

- 1) 永田明穂, 安藤拓司, 泉 緑郎, 田家照生, 榎原秀夫, 早野和夫, 星野保夫, 阿部仁之助: 新抗生物質 Tuberactin に関する研究。日本抗生物質学協第 160 回研究会講演
- 2) 小関勇一, 岡本茂弘, 金井興美, 室橋豊穂: 新抗生物質 Tuberactin の実験的抗結核性に関する検討。結核 43: 55~56, 昭 43
- 3) 豊原希一: 新抗生物質 Tuberactin の抗結核作用に関する実験的研究。結核 43: 245~248, 昭 43
- 4) 早野和夫, 他: 第 41 回日本細菌学会講演。昭 43. 4
- 5) 永田明穂, 早野和夫, 星野保夫: 新抗生物質 Tuberactin の生物学的および薬理学的性状について。結核 43: 249~253, 昭 43
- 6) NAGATA, A., T. ANDO, R. IZUMI, H. SAKAKI-BARA, T. TAKE, K. HAYANO & J. ABE: Studies on tuberactinomycin (Tuberactin). A new antibiotic. 1. Taxonomy of producing strain, isolation and characterization. J. Antibiotics, Ser. A 21: 681~687, 1968
- 7) P'AN, S. Y. et al.: Viomycin. acute and chronic toxicity in experimental animals. Am.

- Rev. Tuber. 63 : 44~48, 1951
- 8) TUCKER, W. B. : Re-treatment of advanced pulmonary tuberculosis with viomycin. Am. Rev. Tuber. 70 : 812~840, 1954
- 9) LEACH, W. *et al.* : Ototoxicity of neomycin and other antibiotics. J. Oto-Laryng. 76 : 774, 1962
- 10) HUIZING, Jr. E. H. : Toxische Schäden des Hörorgans Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Bd III/Teil 3 P. 1800~1815, Georg Thiene, Stuttgart 1966
- 11) OSTYN, F. & J. TYBERGHEIN : Influence of some *Streptomyces* antibiotics on the inner ear of the guinea-pig. Electrophysiological and histological study. Acta Oto-Laryng. Suppl. 234, 1968
- 12) WELLES, J. S. *et al.* : The toxicity of capreomycin in laboratory animals. Ann. N. Y. Acad. Sci. 135 : Art 2, 960~973, 1966
- 13) 秋吉正豊, 佐藤喜一, 庄司 侃, 菅宏 敬 : モルモットにおける Kanamycin, 硫酸 Dihydrostreptomycin および Capreomycin の内耳障害の組織化学的ならびに病理組織学的研究。日耳鼻 70(総会号) : 300, 1967
- 14) 佐藤喜一 : 抗結核剤による難聴。モダンセラピー 20(3) : 1~13, 1967
- 15) 秋吉正豊, 雨宮 璋, 佐藤喜一, 阿瀬雄治 : 耳介反射によるモルモットの聴力測定についてのわれわれの若干の経験。日耳鼻 68 : 822, 1965
- 16) 秋吉正豊, 佐藤喜一 : 蝸牛内生体灌流法による有毛細胞のコハク酸脱水素酵素活性の組織化学的証明。Audiology 10 : 48~56, 1967
- 17) 森山静也 : ストマイ難聴の初期像に関する研究。日耳鼻 62 : 982, 1959
- 18) HAWKINS, J. E. & H. ENGSTRÖM : Effect of kanamycin on cochlear cytoarchitecture. Acta Oto-Laryng. Suppl. 188 : 100~106, 1963
- 19) LUNDQUIST, P. G. & J. WERSÄLL : Kanamycin-induced changes in cochlear hair cells of the guinea-pig. Zeitschrift für Zellforschung 72 : 543~561, 1966
- 20) ENGSTRÖM, H. : The pathological sensory cell in the cochlea. Acta Oto-Laryng. 63 : 20~26, 1967

OTOTOXICITY OF TUBERACTINOMYCIN IN THE GUINEA PIGS

Especially on the Threshold Shift of the Pinna Reflex and Histopathological
as well as Histochemical Findings of the Inner Ear

MASATOYO AKIYOSHI, KIICHI SATO

Department of Pathology, Institute for the Deaf, Tokyo Medical and Dental University

KAZUO HAYANO and MUNETOSHI YOSHIZAWA

Research Laboratories. Toyo Jozo Co., Ltd.

The ototoxicity of tuberactinomycin (TUM) was examined by using the audiometer for the guinea pig and histopathologically as well as histochemically on 148 guinea pigs (300 g) and compared with the ototoxicity of kanamycin (KM) as well as viomycin (VM). These antibiotics were injected at the various daily doses; 80 mg/kg subcutaneously for 35 days, 100 mg/kg, 200 mg/kg and 400 mg/kg intramuscularly for 28 days, respectively. The incidence of hearing impairment and histological damage was the highest at the daily dose of 400 mg/kg; severe hearing impairment associated with extensive loss of the outer hair cells did not occur in the 25 TUM treated animals, but in 4 of the 10 KM treated animals and in 100% of the 10 VM treated ones. No remarkable decrease in succinic dehydrogenase activity of the hair cells of the organ of Corti was found in the TUM treated animals. There was no distinct impairment in equilibrium in the TUM treated animals. It may be concluded that TUM has a mild ototoxicity but its ototoxic effect is much weaker than VM and KM.