

Ws ラット蝸牛の走査電顕観察

分科会長 星野知之 (浜松医大耳鼻咽喉科)

共同研究者 森田浩史・渡邊高弘
竹下 有・水田邦博 (浜松医大耳鼻咽喉科)

【研究要旨】

Ws ラットは血管条の中間細胞が欠損している mutant rat である。このラットのコルチ器を走査電顕で観察し、以下の所見を得た。(1) Ws ラットのコルチ器は、血管条の色素欠損部位では血管条の変性に遅れて生後8週より外有毛細胞の変性が始まる。この変化は頂回転より始まり、1年以上かかってゆっくりと変性が進行していく。(2) 変性のしかたは回転によって異なり、上方回転では外有毛細胞の聴毛の癒合、細胞体の球状変化が特徴的であったが、下方回転では外有毛細胞の散在性欠損が特徴的であった。(3) 内有毛細胞にはほとんど変化を認めなかった。(4) 血管条に色素のみられる部位では1年以上たっても血管条およびコルチ器は正常の所見であった。

【研究目的】

感音性難聴の原因のひとつに血管条障害があげられているが、その病態については不明なところが多い。Ws ラットはメラノサイトの先天異常を有する動物であり、蝸牛血管条の中間細胞が欠損し、そのため血管条の機能不全があることがわかっている^{1) 2) 3)}。今回、このラットを用いて走査電顕で蝸牛を観察し、血管条の障害とコルチ器の変化との関連について検討した。

【研究方法】

生後2週、4週、8週、4ヶ月、7ヶ月、14ヶ月のWs ラットの蝸牛を摘出しセロイジンに包埋、厚切り切片を作成した。セロイジンを除去したのちにエプテラルアルコール凍結乾燥、金蒸着し走査電顕で観察した。なお、血管条の色素の有無は切片作製時に確認できた。

【倫理面への配慮】

実験は十分な麻酔下で行い、断頭時も多量の麻酔下で苦痛を与えずに行った。

【研究結果】

Ws ラットの血管条の色素は、基底回転上部を境に上方回転では欠損していた。血管条の辺縁細胞は、生後2週までは正常の形態であったが、生後4週以後には色素欠損部位に一致して次第に変性が進み、生後8週以後には扁平で不整形となった。一方、コルチ器は8週以後に頂回転より外有毛細胞の変性がしだいに進行、聴毛の癒合や消失が認められた。コルチ器内部の観察では、上方回転では外有毛細胞の球状変化が特徴的で、生後4ヶ月では外有毛細胞のほぼ正常な形態のもの、球状変化したもの、および細胞の欠損が混在していた(図1-2)が、生後7ヶ月では残存する細胞はほとんどが球状に変化していた(図1-3)。変性した外有毛細胞には、正常と同様の神経終末の付着を認めた。生後14ヶ月になると、球状の外有毛細胞がさらに萎縮していた(図1-4)。第2回転下半部では、外有毛細胞の部分的消失を認めるものの、球状変化はみられなかった。また、頂回転よりも第2回転における外有毛細胞の消失が高度であった。外有毛細胞の変性の高度な部位では Deiters 細胞の変形も認められた。一方、内有毛細胞にはほとんど変化を認めなかった。血管条に色素のある部位では生後14ヶ月でも血管条およびコルチ器は正常の所見であった。

【考 察】

今回の観察でWs ラットの蝸牛では血管条の変性に遅れてコルチ器が1年以上の時間をかけて緩徐に変性していくことがわかった。蝸牛上方回転では外有毛細胞の球状変化が特徴的であったが、これは薬剤性蝸牛障害ではみられない所見であった。また上方回転と下方回転とでは変性のしかたに違いがあることや内有毛細胞にはほとんど変化のみられないことがわかった。この動物は血管条の障害による蝸牛の病態をみるのによいモデルと考えられた。

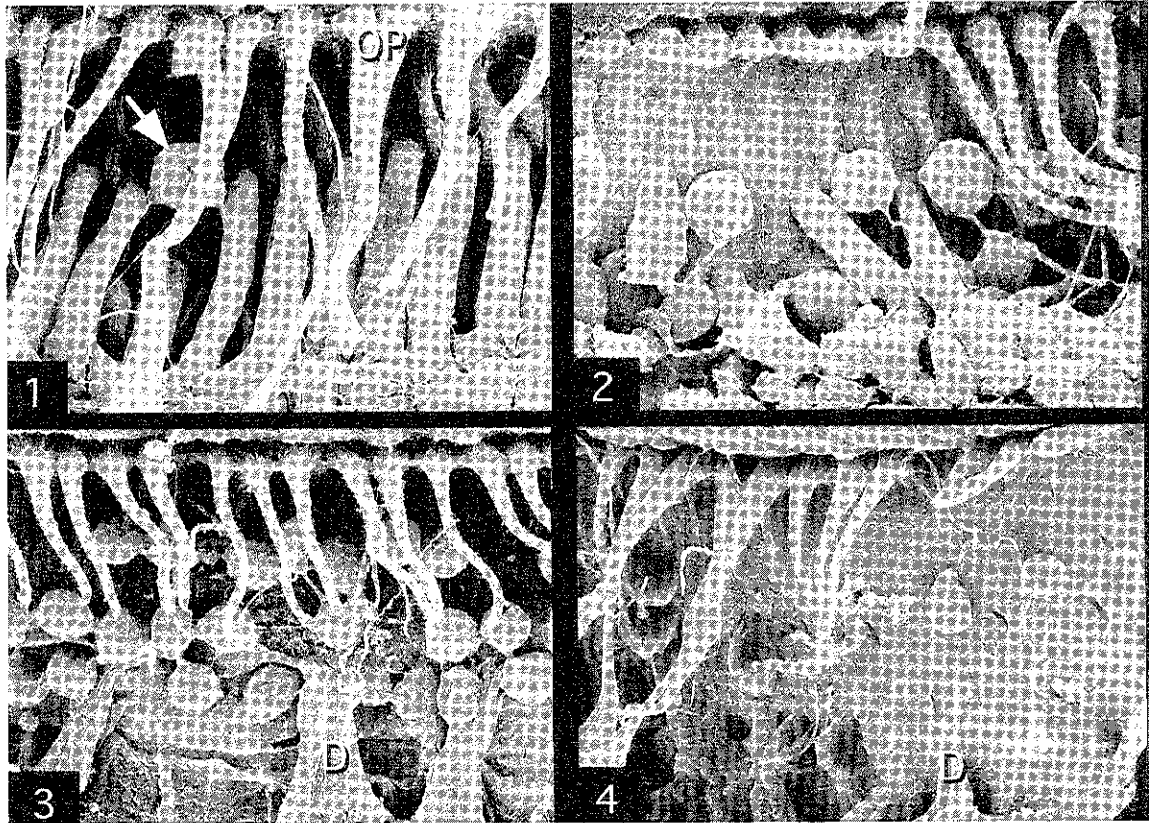


図1 Wsラットのコルチ器断面（第2回転上部，コルチトンネルから外側をみたSEM像）

1：生後8週。第1列外有毛細胞の1つに球状変化を認める（矢印）。2：生後4ヵ月。外有毛細胞は正常の形のもの，球状のもの，欠損しているものが混在している。3：生後7ヵ月。3列の外有毛細胞すべてが球状に変化している。4：生後14ヵ月。球状の外有毛細胞がさらに萎縮している。OP：外柱細胞，D：ダイテルス細胞

【結 論】

Wsラットの蝸牛を走査電顕で観察し，血管条障害の部位ではコルチ器が1年以上の時間をかけて緩徐に変性していくこと，変性は主として外有毛細胞にみられ，細胞体の球状変化が特徴的であることがわかった。

【参考文献】

- 1) 星野知之：先天性血管条発育不全ラットー White spotting rat : Ws. 限局性血管条障害. 東京医学社，東京，1999.
- 2) Niwa Y, Kasugai T, Ohno K, et al : Anemia and mast cell depletion in mutant rats that are homozygous at "White spotting (Ws)" locus. Blood 78 : 1936-1941, 1991.
- 3) Kitamura K, Sakagami M, Uemoto M et al : Strial dysfunction in a melanocyte deficient rat (Ws/Ws rat).

Acta Otolaryngol (Stockh) 114 : 117-181, 1994.

【研究発表】

〈論文発表〉

森田浩史：血管条変化でみられる蝸牛有毛細胞の変性. JOHNS 16(3)522-523, 2000.

〈学会発表〉

第9回 日本耳科学会総会

【知的所有権の取得状況】

〈特許取得〉

なし

〈実用新案登録〉

なし

〈その他〉

なし

Ⅲ 研究成果の刊行に関する一覧表

< 雑 誌 >

Kagei K, Shirato H, Suzuki K, Isu T, Sawamura Y, Sakamoto T, Fukuda S, Nishioka T, Hashimoto S, Miyasaka K : Small-field fractionated radiotherapy with or without stereotactic boost for vestibular schwannoma. *Radiotherapy and Oncology* 49 : 185-190, 1998

Sakamoto T, Shirato H, Sato N, Kagei K, Sawamura Y, Suzuki K, Takizawa H, Hokunan K, Isu T, Fukuda S, Inuyama Y, Miyasaka K : Audiological assessment before and after fractionated stereotactic irradiation for vestibular schwannoma. *Radiotherapy and Oncology* 49 : 185-190, 1998

Shirato H, Sakamoto T, Sawamura Y, Kagei K, Isu T, Kato T, Fukuda S, Suzuki K, Soma S, Inuyama Y, Miyasaka K : Comparison between observation policy and fractionated stereotactic radiotherapy (SRT) as an initial management for vestibular schwannoma. *Int J Radiation oncology, Biology, Physics* 44 : 545-550, 1999

Ohtani F, Furuta Y, Iino Y, Inuyama Y, Fukuda S : Amplification of RNA from archival human temporal bone sections. *Laryngoscope* 1999, 109 : 617-620

福田 諭 : ムンプス難聴と予防接種—難聴予防の立場から—。日本耳鼻咽喉科学会専門医通信 1999, 60 : 6-7

坂本 徹, 福田 諭, 佐藤 信清, 澤村 豊, 犬山征夫 : 小脳橋角部髄膜腫症例の検討。耳喉頭頸 71 : 177-181, 1999

福田 諭 : 内科医のための耳鼻科の知識—耳鳴—。クリニカ 26 : 177-180, 1999

大谷文雄, 古田 康, 福田 諭, 犬山征夫 : 末梢性顔面神経麻痺における血清中 TNF- α の測定。Facial N Res Jpn 19:42-44, 1999

松村道哉, 千田英二, 柏村正明, 福田 諭, 佐藤 信清, 犬山征夫 : 乳幼児における誘発耳音響放射

福田 諭 : 幼小児の難聴—幼小児感音難聴とウイルス感染—。JOHNS 2000 印刷中

福田 諭 : 質疑応答—急性感音難聴とウイルス—。日本医事新報 2000 印刷中

福田 諭 : 全身疾患と耳鼻咽喉科—ウイルスと耳鼻咽喉科—。耳喉頭頸 2000 印刷中

黒田 努, 福田 諭, 千田英二, 柏村正明, 松村道哉, 大渡隆一郎, 犬山征夫, 佐藤 信清 : 自発耳音響放射の誘発耳音響放射への影響について。日耳鼻 2000 印刷中

Takahashi K, Kitamura K : A point mutation in a plasma membrane Ca²⁺-ATPase gene causes deafness in Wriggle Mouse Sagami *Biochem Biophys Res Commun* 261 : 773-778, 1999

Takahashi K, Kitamura K, Takizawa T : Detection of mRNA of Kinesin Superfamily 3A in the Cerebrum and Cerebellum: Biotin-Tyramine-Catalyzed Signal Amplification for In Situ Hybridization : *Acta Histochem Cytochem* 32 : 275-280, 1999

Kitamura K, Takahashi K, Kakoi H, Sugimoto T, Silverstein : A morphologic and morphometric study of the peripheral process of the human vestibular nerve following posterior cranial fossa neurectomy. *J Laryngol Otol* 113 : 967-972, 1999

玉川雄也, 喜多村 健: ミトコンドリア脳筋症と聴覚障害. JOHNS 15 : 311-313, 1999

Kanazawa T, Hagiwara H, Kitamura K : Labyrinthine involvement and multiple perforations of the tympanic membrane due to group A streptococcal acute otitis media. J Laryngol Otol 114 : 47-49, 2000

Fukushima K, Kasai N, Ueki Y, Nishizaki K, Sugata K, Hirakawa S, Masuda A, Gunduz M, Ninomiya Y, Masuda Y, Sato M, McGuirt WT, Coucke P, Van Camp G, Smith RJH : A Gene for Fluctuating, Progressive Autosomal Dominant Non-Syndromic Hearing Loss, DFNA16, Maps to Chromosome 2q23-24.3. Am J Hum Genet 65 : 141-150 (1999)

Kawarai H, Nishizaki K, Fukuda S, Akagi S, Inokuchi I, Gunduz M, Masuda A, Nakashima T, Fukushima K, Masuda Y : Hearing immaturity found by ABR and its clinical impact on otoneurological evaluation. Acta Otolaryngologica (Suppl) 540 6-11 1999

Fukushima K, Ueki Y, Smith RJH ; DFNB5, 6, 7 -Homozygosity mapping to localize genes causing autosomal recessive non-syndromic hearing loss- Genetics in Otolaryngology. ed by K Kitamura and K Steel, Advances in Oto-Rhino-laryngology in printing

笠井紀夫, 福島邦博, 鶴迫裕一, 菅田研一, 中田道広, 赤木博文, 西崎和則, 増田游: IFN療法中に発症した一側性高度難聴 耳鼻臨床 92 941-945 1999

Nakashima T : Autoregulation of cochlear blood flow. Nagoya J Med Sci 62 : 1-9, 1999

Nakashima T, Ueda H, Furuhashi A, Yasue M, Beppu R, Ogawa K, Takahashi H : Large vestibular aqueduct syndrome treated by hyperbaric oxygen. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 51 : 207-210, 1999

Naganawa S, Ito T, Iwayama E, Fukatsu H, Ishigaki T, Nakashima T, Ichinose N: MR Imaging of the cochlear modiolus : Area measurement in healthy subjects and in patients with a large endolymphatic duct and sac. Radiology 213 : 819-823, 1999

中島 務, 植田広海, 三澤逸人, 伊藤彰英, 富永光雄, 朝日清光: 突発性難聴における耳鳴, 耳閉感 Audiology Japan 42 : 710-716, 1999

中島 務: 突発性難聴の長期経過 耳鼻臨床 92 (9): 919-924, 1999

中島 務: 多発性硬化症と突発性難聴 JOHNS 15 (3): 307-310, 1999

中島 務: 内耳疾患に対する局所治療 現代医学 47 (1): 63-69, 1999

中島 務: 今日の治療指針 2000 急性感音難聴. 医学書院: 883-884, 2000

中島 務: メニエール病の内リンパ水腫仮説 「脳の科学」星和書店 (印刷中)

三澤逸人, 中島 務: 突発性難聴. 図説 耳鼻咽喉科・頭頸部外科講座 Vol. 1 内耳 メジカルビュー社 (東京) (印刷中)

Usami S, Abe S, Akita J, Namba A, Shinkawa H, Ishii M, Iwasaki S, Hoshino T, Ito J, Doi K, Kubo T, Nakagawa T, Komiyama S, Tono T, Kumune S. Prevalence of mitochondrial gene mutations among hearing impaired patients. J Med Genet 2000 ; 37 : 38-40.

Abe S, Usami S, Shinkawa H, Kelley PM, Kimberling WJ. Prevalent connexin 26 gene (GJB2) mutations in Japanese. *J Med Genet* 2000 ; 37 : 41-3.

Abe S, Usami S, Hoover DM, Cohn E, Shinkawa H, Kimberling WJ. Fluctuating sensorineural hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct maps to 7q31, the region containing the Pendred gene. *Am J Med Genet* 1999 ; 82 : 322-8.

Kelley PM, Abe S, Askew JW, Smith SD, Usami S, Kimberling WJ. Human connexin 30 (GJB6), a candidate gene for nonsyndromic hearing loss : molecular cloning, tissue-specific expression, and assignment to chromosome 13q12. *Genomics* 1999 ; 62 : 172-6.

Usami S, Abe S, Shinkawa H, Deffenbacher K, Kumar S, kimberling W. EYA1 nonsense mutation in a Japanese branchio-oto-renal syndrome family. *J Hum Genet* 1999 ; 44 : 261-5.

Usami S, Abe S, Shinkawa H, Inoue Y, Yamaguchi T. Rapid mass screening method and counseling for the 1555A->G mitochondrial mutation. *J Hum Genet* 1999 ; 44 : 304-7.

Usami S, Abe S, Weston MD, Shinkawa H, Van Camp G, Kimberling WJ. Non-syndromic hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct is caused by PDS mutations. *Hum Genet* 1999 ; 104 : 188-92.

Abe S, Usami S, Shinkawa H, Weston MD, Overbeck LD, Hoover DM, Kenyon JB, Horai S, Kimberling WJ. Phylogenetic analysis of mitochondrial DNA in Japanese pedigrees of sensorineural hearing loss associated with the A1555G mutation. *Eur J of Hum Genet* 1998 ; 6 : 563-9.

Usami S, Abe S, Shinkawa H, Kimberling WJ. Sensorineural hearing loss caused by mitochondrial DNA mutations : special reference to the A1555G mutation. *J Commun Disord* 1998 ; 31 : 423-34.

Usami S, Abe S, Tono T, Komune S, Kimberling WJ, Shinkawa H. Isepamicin sulfate-induced sensorineural hearing loss in patients with the 1555A->G mitochondrial mutation. *ORL* 1998 ; 60 : 164-9.

新田光邦, 佐野 肇, 平山方俊, 鐵田晃久, 越野樹典, 佐藤賢太郎, 岡本牧人 : 突発性難聴における高気圧酸素療法の有効性について. *Audiology Japan* 42(5) : 343-345, 1999.

佐藤賢太郎, 佐野 肇, 新田光邦, 鐵田晃久, 岡本牧人 : 低音障害型急性感音難聴の臨床的検討. *Audiology Japan* 42(5) : 383-384, 1999.

神崎 仁 : 突発性難聴とステロイド依存性感音難聴. *JOHNS* 15 : 319-322, 1999.

原田竜彦, 井上泰宏, 小川 郁, 神崎 仁 : DPOAE 位相情報の活用法. *Audiology Japan* 42 (2) : 94-99, 1999.

Kanzaki J, Satoh A, Kunihiro T : Does hearing preservation surgery for acoustic neuromas affect tinnitus? *Skull Base Surg* 9 : 169-176, 1999.

Inoue Y, Kanzaki J, Ogawa K, Hoya N, Takei S, Shiobara R : The long-term outcome of hearing preservation following vestibular schwannoma surgery. *Auris Nasus Larynx* 27 : 9-13, 2000.

Sakagami M, Node M, Fukazawa K, Seo T, Sone M, Mishiro Y: Cholesteatoma otitis media with intact ossicular chain. *Auris Nasus Larynx*, 26, 147-151, 1999.

古賀健一郎, 白馬伸洋, 渡辺太志, 兵頭 純, 暁 清文, 他: 虚血性内耳障害におけるグルタミン酸の役割, 愛媛医学, 1999, 18, 146-151

渡辺太志, 白馬伸洋, 古賀健一郎, 暁 清文: 一過性内耳虚血後の遅発性聴力障害, Otol Jpn, 1999, 9, 17-21

暁 清文: 聴覚障害におけるグルタミン酸の役割, 耳鼻臨床, 1999, 92, 455-463

Tono T, Ueki Y, Nagata N, Haruta A, Komune S: Effect of trimetaphan-induced deliberate hypotension on human cochlear blood flow. Acta Otolaryngol (Stockh) Suppl 539: 40-43, 1998.

Haruta A, Matsuda K, Tono T, Komune S, Matsubara A, Usami S: Changes of perilymphatic glutamate and cochlear blood flow following ischemia. Acta Otolaryngol (Stockh) Suppl 539: 44-47, 1998.

Matsubara A, Kawabata Y, Takumi Y, Usami S, Shinkawa H, Haruta A, Matsuda K, Tono T: A quantitative immunoelectron microscopic analysis of the glutamate-like immunoreactivity in the guinea pig organ of corti during ischemia. Acta Otolaryngol (Stockh) Suppl 539: 48-51, 1998.

Matsuda K, Ueda Y, Doi T, Tono T, Haruta A, Toyama K, Komune S: Increase in glutamate-aspartate transporter (GLAST) mRNA during kanamycin-induced cochlear insult in rats. Hear Res 133: 10-16, 1999.

鍋倉 隆, 東野哲也, 植木義裕, 坪井康浩, 小宗静男: 突発性難聴再発例の蝸電図所見. Audiology Japan 42: 211-216, 1999

東野哲也, 稲葉順子, 竹中美香, 清水謙祐, 森満 保, 小宗静男: 人工中耳の経験とその術後成績—2年以上経過した4症例の検討—. 日耳鼻会報 102: 835-845, 1999

加藤榮司, 東野哲也, 終山幹子, 定永正之, 小宗静男: 剣道による急性感音難聴—症例報告と試験的打撃による TTS の検討—. Audiology Japan 42: 243-248, 1999

東野哲也, 下蘭政巳, 大迫廣人, 松田圭二, 春田 厚, 小宗静男: 遠視と幅広い拇指を伴った遺伝性アブミ骨固着家系の臨床像と手術所見. Otol Jap 9: 243-248, 1999

東野哲也: 高位頸静脈球と内耳疾患. JOHNS 15: 327-330, 1999

清水謙祐, 小宗静男, 東野哲也, 牛迫泰明, 春田 厚: 人工内耳症例における術後めまいの検討. Otol Jpn 9: 588-593, 1999

東野哲也, 竹中美香, 牛迫泰明, 小宗静男: 急性高度難聴症例の人工内耳成績. Audiology Japan 掲載予定

Matsuda K, Komune S, Tono T, Yamasaki M, Haruta A, Kato E: A role of glutamate in drug-induced ototoxicity: In vivo microdialysis study combined with on-line enzyme fluorometric detection of glutamate. Brain Res in press

Kawano H, Tono T, Schachern PA, Paparella MM, Komune S: Petrous high jugular bulb: A histological study. Am J Otol accepted

Tono T, Kiyomizu K, Matsuda K, Komune S, Usami S, Abe S, Shinkawa H: Different clinical characteristics of aminoglycoside-induced profound deafness with and without the 1555A->G mitochondrial mutation, submitted

星野知之：蝸牛血流障害と突発性難聴。耳鼻臨 93 : 89-97, 2000

Nagura M, Iwasaki S, Wu R, Mizuta K, Uemura K, Hoshino T : Effects of corticoid, contrast medium and ATP on focal microcirculatory disorders of the cochlea. Eur J Pharmacolog 366 : 47-53, 1999

Wu R, Hoshino T, Nagura M : Endocochlear potential in focal lesions of the guinea pig cochlea. Hear Res 128 : 103-111, 1999

Wu R, Hoshino T : Changes in off-lesion endochlear potential following localized lesion in the lateral wall. Acta Otolaryngol (Stockh) 119 : 550-554, 1999

Ocho S, Iwasaki S, Uemura K, Hoshino T : A new model for investigating hair cell degeneration in the guinea pig following damage of the stria vascularis using a photochemical reaction Eur Arch Otorhinolaryngol (in press)

森田浩史, 星野知之 : 血管条変化でみられる蝸牛有毛細胞の変性. JOHNS 16(3) 522-523, 2000.

中村美詠子, 青木伸雄, 久保伸朗, 中島 務, 星野知之 : Pooled control を用いた突発性難聴の症例対象研究一聴力型を用いた全国調査成績の検討一. 厚生省特定疾患に関する疫学研究班 平成 10 年度研究業績集別冊 : 133-138, 1999

<単行本>

佐藤信清, 福田 諭, 犬山征夫 : 当科における耳鳴・難聴の診断と治療. 耳鳴・難聴の診断と治療 1998, pp1-12 真興交易医書 (東京)

Usami S, Abe S, Akita J, Shinkawa H, Kimberling WJ. Sensorineural hearing loss associated with the mitochondrial mutations. In "Genetics in Otorhinolaryngology" Adv Otorhinolaryngol, Vol. 56 (eds. Kitamura K & Steel KP) 221-9 (Karger, Basel, 2000).

Abe S, Usami S, Shinkawa H, Kimberling WJ. Sensorineural hearing loss caused by the A1555G mutation in the mitochondrial DNA. In Molecular medicine: novel findings of gene diagnosis, regulation of gene expression, and gene therapy (eds. Hashimoto I, et al.) (Elsevier Science B.V., Amsterdam, 1999).

阪上雅史 : 聴力保存根治術. 耳鼻咽喉, 頭頸部アトラス上巻, 医学書院 : 117-119 頁, 1999

Tono T, Haruta A, Kawano H, Morimitsu T : Role of supratubal recess in cholesteatoma pathogenesis. Ars B ed. Pathogenesis in Cholesteatoma, Kugler : pp131-149, 1999.

Morimitsu T, Tono T : Malpneumatization theory of the supratubal recess as pathogenesis of acquired cholesteatoma. Ars B ed. Pathogenesis in Cholesteatoma, Kugler : pp151-164, 1999.

星野知之 : 限局性血管条障害. 東京医学社. 1999