

力は38.3 dB、異常群は72.8 dBであり、1%の危険率で両者には有意差を認めた。

3. 表2に突発性難聴症例をVEMPの有無とともに列記した。聴力予後は厚生省高度難聴調査研究班による聴力改善の判定基準に準じた。7耳中1耳にVEMP異常を認めたが、この症例は聴力は聾型で、初診時にめまい感があり治療がほとんど無効であった症例であった。

4. 今回VEMPを施行した症例中、先行する聴力低下があり、聴力固定後にめまい感、ふらつきを自覚する症例が4例あったが、中耳CTやMRIでも異常なく、メニエール病や遅発性内リンパ水腫とは経過や症状、検査結果が異なるため表3のように別のカテゴリーに入れた。このような内耳障害が疑われた症例4例中2例にVEMP異常を認めた。

#### **【考察・結果】**

De Waeleらは、54%のメニエール病患者でVEMPが消失し、VEMPの有無は低音部の聴力低下と相関すると報告している。今回我々の研究ではメニエール病患者の31%にVEMPの異常があり、250~2000Hzの平均聴力においてはVEMP正常群と異常群に明らかに有意差があることが判明した。聴力レベルとVEMPの有無に関しての結果は一致し、昨年同報告会で発表したVEMPは内リンパ水腫の病勢を反映するという仮説を裏づけるものと考え。低音障害型難聴はたとえその病態が内リンパ水腫であっても、水腫がまだ蝸牛で留まっているためかVEMPはほとんど正常に反応したのと考えた。遅発性内リンパ水腫の3耳では今回VEMPの異常は見られなかったが、症例数が増えればメニエール病におけるVEMPの異常率と同等かそれ以上になると思われる。突発性難聴では表2における症例2がVEMP異常、症例1、3、4のようにめまいの無い高度難聴症例でVEMPが正常であったことを考えると、めまいのない突発性難聴では聾型にならない限りVEMPは正常である可能性が高いと思われた。また、表3のようにいずれにも属さない内耳障害症例は4例であるが、メニエール病の場合とは異なりVEMPの結果は聴力レベルと解離した。日常の診療の中で診断に苦慮するめまい症が少なからずあるが、VEMPを施行することでBPPVとは異なる耳石機能低下症といった病態、疾患も把握できる可能性があると考えられる。

#### **【参考文献】**

- 1) de Waele C, Tran Ba Huy P, Diard JP, Freyss G, Vidal PP, : Saccular dysfunction in meniere's disease. Am J Otol 1999; 20: 223-232
- 2) Ferber-Viart C, Dubreuil C, Duclaux R, : Vestibular evoked myogenic potentials in human: review. Acta Otolaryngol (Stockh) 1999; 119: 6-15

表 1. VEMPを施行した感音難聴症例の内訳

・メニエール病	32耳 (10)
・突発性難聴	7耳 (1)
・低音部障害型難聴	2耳
・小脳橋角部腫瘍	3耳 (1)
・遅発性内リンパ水腫	3耳
・上記に属さない内耳障害	4耳 (2)
合計	51耳 (14)

( )内はVEMP異常数

図 1. メニエール病における聴カレベルとVEMPの関係

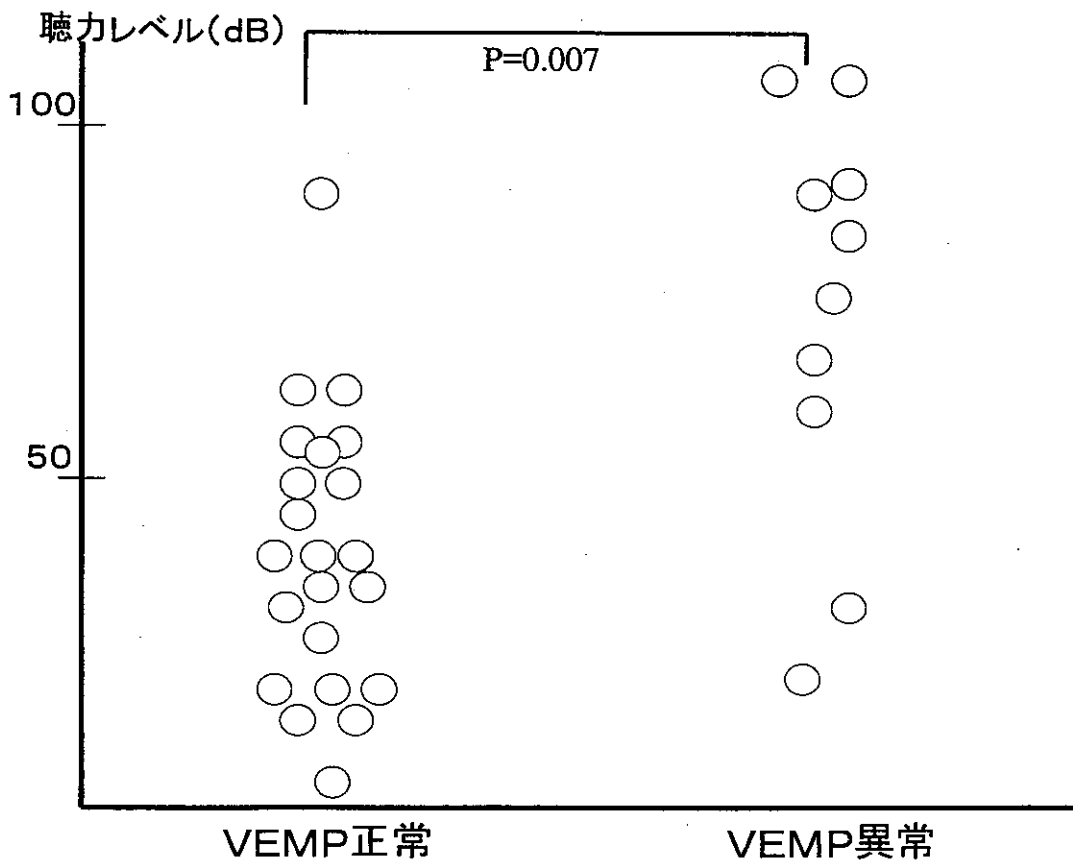


表2. 突発性難聴症例におけるVEMP

症例	年齢	聴力(dB)	予後	めまい感	VEMP
1	57	聾	不変	(-)	(+)
2	53	聾	不変	(+)	(-)
3	52	74	著明回復	(-)	(+)
4	27	65	軽度回復	(-)	(+)
5	30	58	不変	(-)	(+)
6	38	32	治癒	(-)	(+)
7	58	26	不変	(+)	(+)

表3. 内耳障害が疑われた症例におけるVEMP

症例	年齢	聴力低下時期 (年前)	聴力(dB)	VEMP
1	43	35	42	(-)
2	70	1	33	(-)
3	19	14	64	(+)
4	67	3	79	(+)

### 35. ヒストンにたいする免疫応答を背景にした内耳機能障害実験モデル

朴沢孝治、草刈千賀志（東北大学大学院医学系研究科感覚器病態学講座耳鼻咽喉科学分野）

#### [Abstract]

Immune-mediated inner ear injury in immunologically normal guinea pigs induced by Histone as a planted antigen

Koji Hozawa, Chikashi Kusakari

Department of Otolaryngology, Tohoku University School of Medicine

[Purpose] Immune reactions are revealed to take place in an inner ear and several immune-mediated mechanisms have been proposed to explain the pathogenesis of sensorineural hearing loss with unknown origin(1,2). Stria vascularis is one of the proposed sites for immune-mediated reactions in inner ears, and we reported an IgG deposition in the stria vascularis associated with an elevated threshold of auditory brain stem response in MRL/MP-lpr/lpr(MRL/lpr) mice(3). The purpose of this study is to understand the mechanism of an immune deposition in a stria vascularis, using highly cationic histones.

[Method] Fourteen male albino guinea pigs weighing 250 to 300 g with positive pryel reflex were served for this experiment. For a demonstration of anionic sites in the stria vascularis, 2 guinea pigs were fixed with an transcardiac perfusion of 2% paraformaldehyde and 0.25% glutaraldehyde in 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4, supplemented with 3% polyvynylpyrrolidone, under deep anesthesia. The stria vascularis were removed, immersed in the same fixative for 2 hours, and embedded in LR white. Ultra thin sections were cut, incubated with poly-L-lysine-gold complex, and observed under transmission electron microscope(JEOL, 100S).

Guinea pig anti-histone antisera were obtained by immunizing 2 guinea pigs with keyhole limpet hemocyanin(KLH)-histone complexes in RIVI adjuvant. Slightly lysine rich histone(H2a) were purchased from Washington Chemical Co.. During the endocochlear potential(EP) was recorded from the basal turn by the electrode inserted through the round window membrane, each 2 animals received an intraarterial injection of one of follows: saline, histone(2 mg/ 100 g B.W.) in 0.5 ml of saline, 1 ml of anti-histone antisera diluted with 4 volumes of saline, histone followed by the intravenous injection of anti-histone antisera with interval of 10 minutes, or lysozyme followed by the intravenous injection of anti lysozyme antisera with interval of 10 minutes. Two other animals received an intraperitoneal injection of 100 Units/Kg of cobra venom factor 48 hours prior to the injection of histone and following inoculation of anti histone antisera. All animals were sacrificed by a transcardiac perfusion with periodate lysin paraformaldehyde under anesthesia and distributions of IgG, C3, and histone were examined immunoelectronmicroscopically in frozen sections of their cochleas.

[Results] The cationic gold labeled a basement membrane of strial capillaries, indicating their negative charge, and the inoculated histones were revealed to be deposited on the basement membrane of the strial capillaries. Those animals which received an intravenous injection of histone followed by an inoculation of anti-histone antisera, showed IgG deposition on the basement membrane of strial capillaries, while no other animals showed IgG deposition in cochleas. IgG was also found to be accumulated on the extra vascular side of the basement membrane, however, C3 was hardly observed in stria vascularis. In these animals intercellular edema was evident in stria vascularis especially of 2nd and more apical turns but any

inflammatory cell infiltrations were not present. The significant decrease in EP was observed just after the injection of anti histone antisera in the animals received an intraarterial injection of histone(Fig.1). Such drop of EP was also observed in the animals treated by cobra venom factor, even though hemolytic assay indicated their serum complement activities were decreased to less than 12.5% of the normal titer. The EP did not show any change in any other animals, including the animals received an injection of lysozyme followed by an inoculation of anti lysozyme antisera.

[Conclusion] Present study indicated that cationic antigen could be trapped on the negatively charged basement membrane of strial capillaries, which in turn acted as target antigen for the circulating antibody against it, leading to the in situ immune complex formation, and eventually causing hearing loss(Fig.2). This planted antigen theory has been proposed as one of the antigen-mediated glomerular injury(4,5). As immunological similarities were noted between cochlea and kidney, this planted antigen theory is likely to be added to the series of possible pathogenesis of immune-mediated inner ear dysfunctions.

#### [はじめに]

内耳においても免疫応答が起こることが証明され、感音性難聴やめまいの原因の一つとして免疫異常に基づく内耳機能障害が提唱されている<sup>1)</sup>。事実、患者血清より内耳にたいする自己抗体が証明され<sup>2)</sup>、また自己免疫疾患患者に内耳障害が発生することも報告されている。我々も自己免疫異常MRL/MP-lpr/lprマウスの血管条にIgGの沈着とともに感音性難聴が生じることを報告した<sup>3)</sup>。このようなIgGの沈着は通常、流血中の循環型免疫複合体の沈着か、局所での抗原抗体反応により形成された免疫複合体と考えられるが、最近MRL/MP-lpr/lprマウスの糸球体基底膜上の免疫複合体にヒストンが含まれることが明らかとなり<sup>4)</sup>、さらにヒストンを動注後ヒストンに対する抗体を静注すると、正常動物にも免疫異常マウスにみられるような免疫複合体の沈着を伴う糸球体腎炎を惹起できることが報告された<sup>5)</sup>。本研究は、このような処置により糸球体基底膜と同様な陰性荷電を持つ血管条毛細血管基底膜において類似の反応が惹起されるか、さらに内耳機能にどのような影響を及ぼすかを明らかにすることを目的にしている。

#### [対象と方法]

プライエル反射良好の白色ハートレー系モルモット雄14匹(体重250-300g)を用いた。ヒストンは、Washington Chemical Co. より購入したH2aを用い、抗ヒストン抗体は、ヒストンとkeyhole limpet hemocyanin (KLH) 複合体をRIVIのアジュバントと共に免疫した2匹のモルモットより得た血清を使用した。蝸牛内電位EPを正円窓より蝸牛管基底回転へ刺入したガラス電極より記録しつつ、ヒストン(2mg/100g体重)を動注し、次いで四倍希釈した抗ヒストン抗血清を静注した。対照として生理食塩水、ヒストン、リゾチーム動注後抗リゾチーム抗体を静注した群を作製した。実験後、動物を心腔より灌流固定し、腎及び内耳におけるIgG, C3, ヒストンの分布を免疫組織学的手法により解析した。

#### [結 果]

ヒストンを動注後抗ヒストン抗血清を静注した群において抗血清静注後15分以内にEPの著明な低下が観察された(図1)。これらの動物の血管条毛細血管基底膜上には、糸球体基底膜上に観察されるようにIgGとヒストンの沈着が観察されたが、糸球体基底膜上にみられたC3は不明瞭であった。この群の特に第二回転より上方回転の血管条には浮腫が観られたが、糸球体において観察されたマクロファージを主体とする細胞浸潤は欠如していた。血管条以外の部位では内リンパ囊の毛細血管基底膜にIgGとヒストンの沈着が観察された以外は著変なかった。このような変化は対照群では、リゾチームを動注後抗リゾチーム抗体を静注した動物を含めて観察されなかった。

## [考 察]

以上の結果より、陰性に荷電した血管条毛細血管基底膜に、陽性荷電したヒストンが捕捉され、この凝集能の高いヒストンを標的に、後に注入された抗ヒストン抗体が結合したため、あたかも血管条に対する自己抗体が形成された際にみられる局所での免疫複合体の産生沈着現象が、免疫学的に正常なモルモットで再現され、更にEPの低下をきたしたと考えられた(図2)。このような現象は、陽性に荷電し且つ凝集能の高い抗原、例えばウイルス、細菌、薬剤等が流血中に入り、その後これら抗原に対する抗体が生成された際に起こりうる。したがって、このモデルは、日常臨床で経験する症例にも適応されうるものと考えられた。結果の詳細を考察を加えて報告する。

## [参考文献]

- 1) McCabe BF: Autoimmune sensorineural hearing loss. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 88:585-589, 1979
- 2) Harris JF: Immunopathology of the inner ear. In: *Immunology of the ear*. Bernstein J and Ogra P(eds), 437-452. New York: Raven Press 1987
- 3) Kusakari C, Hozawa K, Koike S, Kyogoku K, Takasaka T: MRL/MP-lpr/lpr mouse as a model of immune-induced sensorineural hearing loss. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 101 suppl 157:82-86, 1992
- 4) Schmiedeke T, Stoeckl F, Muller S, Sugisaki Y, Batsford S, Woitas R, Vogt A: Glomerular immune deposits in murine lupus models may contain histones. *Clin Exp Immunol* 90:453-458, 1992
- 5) Schmiedeke T, Stockl FW, Weber R, Sugisaki Y, Batsford SR, Vogt A: Histones have high affinity for the glomerular basement membrane. Relevance for immune complex formation in lupus nephritis. *J Exp Med* 169: 1879-1894, 1989

図 1. ヒストン注入後のEPの変化

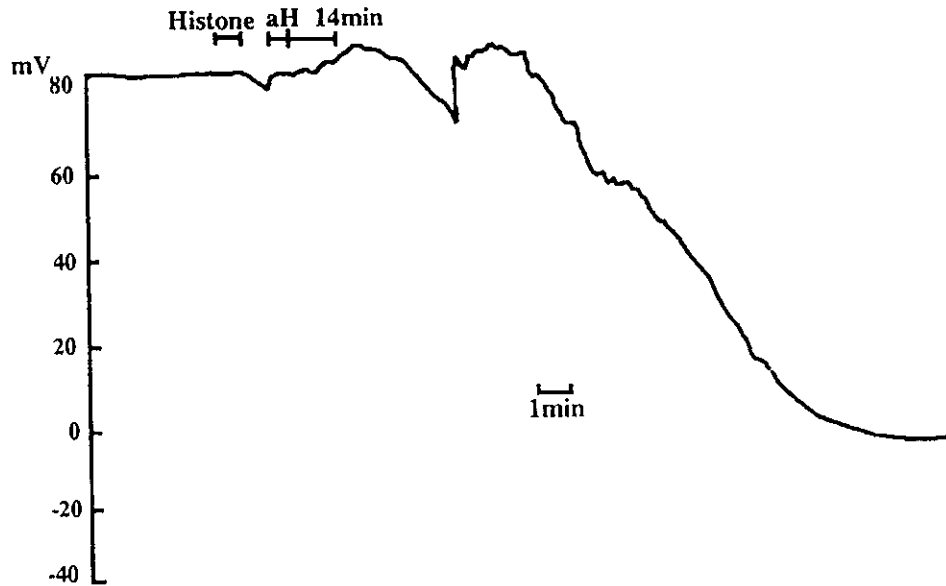


Fig. 1. EP decreased after an injection of histone followed by intravenous inoculation of anti-histone antisera.

図 2. 血管条におけるThe Planted Antigen Therapy

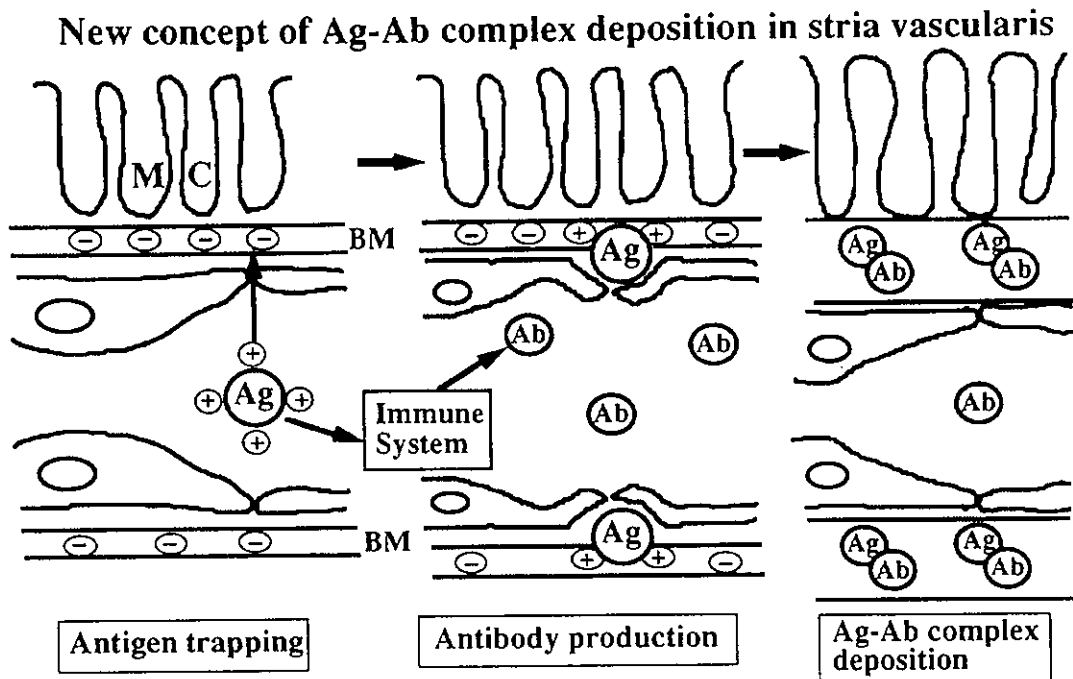


Fig. 2. The planted antigen theory may be applicable to the inner ear. In this theory, a cationic antigen deposited on the negatively charged basement membrane of the stria capillaries, which in turn acts planted antigen for the circulating antibody against it, and antigen-antibody complex was formed on t basement membrane.