

# Photochemically induced focal cochlear lesions in the guinea pig : II. A transmission electron microscope study

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-28 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 宮下, 弘 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1564">http://hdl.handle.net/10271/1564</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 287号	学位授与年月日	平成10年11月 6日
氏名	宮下 弘		
論文題目	Photochemically induced focal cochlear lesions in the guinea pig: II .A transmission electron microscope study (光増感反応による限局性蝸牛障害 II透過型電子顕微鏡による観察)		

博士(医学) 宮下 弘

## 論文題目

Photochemically induced focal cochlear lesions in the guinea pig: II. A transmission electron microscope study

(光増感反応による限局性蝸牛障害 II 透過型電子顕微鏡による観察)

## 論文内容の要旨

[はじめに]

これまでに、ローズベンガル(光増感物質)と緑色光を用いた光増感反応により、蝸牛の限局性障害モデルができることは走査型電顕を用いた観察でわかっている。しかし、組織深部、および細胞レベルでの変化はわかっていなかった。今回は、その変化をみるため、血管条およびラセン隆起、ラセン靭帯、コルチ器について、透過型電子顕微鏡により形態学的変化を経時的に観察した。

[材料ならびに方法]

体重250~300gのブライエル反射陽性の白色モルモットを用いた。ペントバルビタール30mg/kgを腹腔内注射後、中耳骨包を腹側より開き、蝸牛第二回転に直径1mmの緑色光(波長540nm)を直接あてるようにセットした。頸静脈内に留置したカテーテルからローズベンガル(20mg/kg)を投与し直ちに緑色光を10分間照射した。照射後5分、10分、20分、30分、90分、12時間、1日、3日、7日、30日を待って側頭骨を摘出し、2.5%グルタルアルデヒドで浸漬固定1時間後、実体顕微鏡下に照射部を採取した。1%オスミウムで後固定、アルコール上昇系列で脱水し、エポキシ樹脂で包埋した。ミクロトームで超薄切片としたうえウラン、鉛で二重染色し透過型電子顕微鏡(JEOLJEM-100C)で観察した。

[結果]

ローズベンガルのみ注入し、照射はしていないコントロール群では血管条、らせん靭帯、らせん隆起、コルチ器には変化は見られなかった。血管条内の血管には赤血球が見られるが凝集はしていなかった。照射群では、5分経過した時の血管条内の血管壁には血小板の凝集がみられ、すでに血栓ができていることがわかった。血管内の多くは赤血球により占められ、血管は著明に拡張していた。血管を取り巻く辺縁細胞や中間細胞の変化は見られなかった。10分では、中間細胞細胞質に小器官が減少し、30分では、血管条内の血管には溶血が見られた。辺縁細胞の核は膨化し、細胞膜は内リンパ腔側へ突出し、破れている変化が見られた。中間細胞は細胞質、核とも収縮していたが、基底細胞は正常形態で残っていた。90分では、血管条には細胞の変性、脱落の著しい変化が見られたが、ラセン隆起やラセン靭帯、外有毛細胞には、変化は指摘できなかった。12時間たつとラセン隆起上皮下に空胞が見られ、外有毛細胞には細胞膜が破れた所見が観察された。1日ではラセン隆起の上皮細胞が内リンパ腔へ突出脱落していた。3日目になると血管条では血管と基底細胞のみとなり、7日目には基底細胞のみであった。30日たつと血管条、ラセン隆起とも一層の細胞で覆われ、有毛細胞も変性し、ラセン板縁においても細胞数の減少が見られた。以上の変化は不可逆性であり、障害の拡大や縮小はみられず限局性のものであった。

[考察]

光増感反応により活性酸素が発生し、光を照射した部の血管内に血栓を作ることが知られているが、

その血栓は障害を受けた内皮細胞に血小板が付着することによりできる。今回観察されたものは赤血球が主体の赤色血栓であり今までに実験報告された血小板主体の血栓とは異なっていた。経時的観察では、血管条、ラセン隆起と外有毛細胞、ラセン靭帯の順に障害があらわれ、Kimura ら (1958) の前下小脳動脈や静脈の閉塞によって起こる循環障害モデルの変化とは明らかに異なっていた。また、血管条内の細胞変化にも時間差が見られ、血管内皮細胞、中間細胞、辺縁細胞の順に障害が現れた。原因として、

1. 血管条内では、血管が網の目状に走っており、血液量が豊富なこと、
2. 血流速度が遅いためと血管内腔が狭いことから赤血球が滞留しやすいこと、
3. 血管条の血管はらせん靭帯や蝸牛軸血管領域のものとは発生学的に異なること、

などのために血管条には活性酸素が発生しやすく、それによる直接の細胞障害と、血栓による局所の循環障害が重なって起こっているためと考えられた。

#### 〔結論〕

活性酸素を発生させる光増感反応により確実に血管条の毛細血管に血栓をつくれることがわかった。血管条を構成する三種類の上皮細胞にも障害を受けやすい順番があることがわかった。血管条につづいて、らせん隆起、コルチ器、らせん靭帯の順に局所障害があらわれたが、これは、活性酸素による障害と循環障害にもとづく障害とが重なっていると考えられるが、さらに詳しい検討が必要である。このモデルは感音難聴における内耳血流障害の関与を検討する上で有用なものと考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

内耳の蝸牛障害による感音難聴の病因は多彩で不明のことが多い。前下小脳動脈・静脈の閉塞による内耳の循環障害モデルは既に研究されている。一方、光増感反応により発生する活性酸素が血栓形成や細胞障害を来すことが知られており、この光増感反応による血栓形成を使った蝸牛の限局性障害モデルの研究もあるが、これは主として、光学顕微鏡的研究であり、走査型電顕を使った研究による組織深部や細胞の変化は不明である。

そこで申請者はプライエル反射陽性の白色モルモット35匹に、ローズベンガルを頸静脈に注入した直後に左蝸牛第二回転に波長540nmの緑色光を10分間照射し、5分、10分、20分、30分、90分、12時間、1日、3日、7日、30日後に照射部と、コントロールのために右側の同部を採取した。標本について光学顕微鏡と透過型電顕で観察し、以下の如き経時的変化を明らかにした。

- 1) 5分後に血管条内の毛細血管は著明に拡張し赤色血栓で充満していた。
- 2) 10分後には中間細胞の細胞質の小器官が減少していた。
- 3) 30分後には血管条内の血管に溶血が見られ、辺縁細胞の核の膨化と細胞膜の突出や破裂、中間細胞の核と細胞質の萎縮が観察された。
- 4) 90分後には血管条内の細胞の変性、脱落の著しい変化が見られた。
- 5) 12時間後にはラセン隆起上皮下に空胞、外有毛細胞の細胞膜破裂が見られた。
- 6) 1日ではラセン隆起の上皮細胞が内リンパ腔へ突出脱落していた。
- 7) 3日では血管条は血管と基底細胞のみとなった。
- 8) 7日では血管条は基底細胞のみとなった。
- 9) 30日では血管条、ラセン隆起とも一層の細胞で覆われ、有毛細胞も変性し、ラセン板縁においても細胞数の減少が見られた。

これらの変化は不可逆性であり、前下小脳動脈・静脈の閉塞による内耳の循環障害モデルの変化とは

明らかに異なっており、血管条を構成する三種類の上皮細胞にも障害を受けやすい順番があり、血管条に続いて見られたラセン隆起、コルチ器、ラセン靭帯の局所障害は活性酸素による障害と循環障害に基づく障害とが重なっている可能性が示唆された。

〔本論文の評価〕

本論文内容の説明の後、論文内容と関連の深い以下の点について申請者との間に質疑応答がなされた。

- 1) photochemical lesionの機序
- 2) 光増感反応による血栓形成の機序について
- 3) red thrombusとstasisの鑑別
- 4) photochemical lesionとischemic lesionの違い
- 5) 血管内皮の電顕での同定法
- 6) apoptosisとnecrosisの違い
- 7) rose bengalの閾値
- 8) rose bengalの存在の証明
- 9) 白血球の反応がない理由
- 10) 本研究の臨床的意義

以上の質問に対する申請者の解答は適切であり、光増感反応による蝸牛の局所障害を細胞レベルで経時的に詳細に解明した意義は大きく、本論文は博士（医学）の学位を授与するに十分な内容であると審査員全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 植 村 研 一  
副査 教授 平 光 忠 久 副査 助教授 三 浦 克 敏