雌モルモットを用いたホルモン音声障害の基礎的研究

稲上 憲一, 北原 哲
小倉 雅實, 井上 鐵三

Histopathological Study of the Larynx after Administration of Androgenic Hormone in Guinea Pig

Ken-ichi Inakami, M.D., Satoshi Kitahara, M.D.,
Masami Ogura, Ph.D., and Tetsuzo Inouye, M.D.

Department of Otolaryngology, National Defense Medical College, Saitama

Histopathological changes of the vocal cords after anabolic steroid administration have not been clearly resolved. In this study, histopathological changes in the larynx of anabolic steroid induced dysphonia are investigated.

The experimented animals were female guinea pigs at 4 weeks of age. Twenty guinea pigs received 50 mg of testosterone enantate intramuscularly once a week. And another twenty were used for control study (free from hormone injection). Their voices were recorded and analysed weekly. After 5 or 6 weeks of administration of testosterone enantate, the voice became rough or breathy in all hormone group. The larynges of both groups were excised, sectioned and stained by H-E and Azan. Observation of the vocal cords was made under the light microscope. The histopathological changes were as follows. 1) Cricothyroid muscle fibers were hypertrophied. 2) In lamina propria, the number of fibroblasts increased. 3) The fibers showed irregular alignment and their continuity was broken. 4) The space among collagenous fibers became narrow.

From these observations, it can be concluded that the larynx is one of the main targets for anabolic steroid and it is suggested that the dysphonia is due to the qualitative change in the lamina propria of the vocal cord and the hypertrophy of the cricothyroid muscle.

Key words : ホルモン音声障害, モルモット, testosterone, 声帯粘膜固有層

I. 緒 言

Testosteroneは男性ホルモン剤の一つであ

防衛医科大学校耳鼻咽喉科学講座(主任: 井上鐵三教授)

別刷請求: 〒359 埼玉県所沢市並木3-2

防衛医科大学校耳鼻咽喉科学講座

稲上憲一

投稿受付: 1990年2月23日

り, 骨髄線維症, 腎性貧血, 再生不良性貧血, 末期乳癌などの治療に用いられている。男性ホルモン(アンドロゲン)は, 1. 雄性副性器発育肥大作用, 2. 第二次性徴出現促進作用, 3. 性欲亢進作用, 4. 造精作用, 5. 間脳性中枢抑制作用, 6. 蛋白同化作用などの諸種の生理作用を有している。1~5は雄性性機能に関するものであり, 6は性機能遂行に必要な基礎的代謝づくりに関与している。

アンドロゲン製剤の副作用として月経異常, アクネ, 口渇, 浮腫, 多毛などがあるが, ほかに声の高さや音質の変化といった音声障害も耳鼻咽喉科領域ではよく知られていて, Goldman^ら¹⁾は testosterone を筋注した女性400例中23例に, 梅原²⁾は673例の男女の内19例に音声障害が認められたと述べている。これまでこの音声障害に関しては諸家により発生頻度, 症状, 喉頭の肉眼的所見などが報告されているが, 音声障害の出現率は, 思春期, 更年期の女性に頻度が高いという報告³⁾と, その時期には関係なく出現するという報告⁴⁾とがあり, 定説はなく, 個人差が大きいというのが諸家の一致した意見である。

音声変化の特徴として Bauer⁴⁾は, 初期の症状として自覚的な音声の易疲労性, その後に嘔声, 話声位の低下, 声域の下方移動と表現し, Goldman^ら¹⁾は huskiness, 男性的な声, 岡村^ら⁵⁾はいわゆる声がれ, 大きな声が出ない, 低音化, と報告している。

また喉頭所見についても, 加藤⁶⁾は女性で蛋白同化ホルモンを投与された剖検例のヒト死体喉頭を非投与例と比較し, 肉眼的に喉頭には差が認められなかったと報告しているが, 肉眼的な変化が認められないという意見に対し, 認められるという報告⁶⁾もある。これには投与量, 観察時期の差による違いが関与しているものと考えられるが, いずれにせよ見解の一致を見ていない。

過去におけるホルモン音声障害に関する実験的研究は, Leonard⁷⁾が雌のカナリアに男性ホルモンを注射し鳴き声の変化を観察したことに始まるが, 矢内⁸⁾, 戸田⁹⁾や北原¹⁰⁾らは, 家鶏を用いてホルモン音声障害を作成している。加藤や Haubrich^ら¹¹⁾は, アンドロゲンホルモンを投与したマウスにおける喉頭筋の筋線維の変化を, 組織学的あるいは組織化学的变化として, Sobel^ら¹²⁾は結合組織に及ぼすホルモンの影響を生化学的に, 戸田⁹⁾, 北原¹⁰⁾は鳴膜の上皮や粘膜固有層の変化を病理組織学的に報告している。

しかし実験的にも, マウスの喉頭や鳥の鳴管の肉眼的変化は認められず, 病理組織学的な検索として内喉頭筋の肥大が主な器質的变化とす

る報告と, 上皮あるいは粘膜固有層にホルモンの影響があらわれるという報告が主なものと考えられるが, これらによって音声障害の本態が解明されているとはいいがたい。北原¹⁰⁾は家鶏を用いた実験結果から, 「容易に鳴き声を得られる哺乳動物」を用いて, ホルモン音声障害の本態を解明することが良策であると提案しているが, われわれは偶然にもモルモットにおいてその鳴き声が容易に得られることを見いだした。ここに実験動物として雌モルモットを用い, ホルモン音声障害を作成した後, その音声の分析と声帯の病理組織学的観察を行い, この音声障害の本態の解明を試みた。

II. 方 法

生後約4週目の体重200~250 gの雌モルモット(ハートレー)40匹を実験動物として用いた。うち20匹をホルモン投与群として週1回エナント酸テストステロン(エナルモンデポー[®])50mgを大腿部に筋注, 同時に体重を測定し, 音声を防音室にてテープレコーダーに録音した。モルモットの音声は, 項部皮膚を把握して刺激することにより容易に得られた。他の20匹はコントロール群として体重測定と音声記録のみを同様に行った。5~6週経過すると, テストステロンを投与されたモルモットに聴覚的に明瞭な気息性嘔声が出現した。

記録した音声のレコードテープを再生し, A-D変換の後コンピューターに入力, 音声波形の抽出と周波数分析を行った。使用器械はカセットテープレコーダー, SONY TC-2500, パーソナルコンピューター, NEC PC-9801VX, 波形観測ソフトウェア, カノーブス社, DSS98 TYPE IVを用いた。

聴覚的に嘔声が出現した時点で, コントロール群とホルモン投与群とを同時に屠殺し, その喉頭を摘出し10%ホルマリン液で固定, パラフィン包埋し, 標本作製した。標本は水平断と前額断で厚さ3 μm の連続切片とし, H-E および Azan にて染色した。

検索部位は声帯遊離縁部の上皮, 粘膜固有層, および甲状披裂筋としたが, さらに水平断で胸骨舌骨筋, 前額断で甲状披裂筋の筋線維断面を400倍の拡大写真にとり, その面積を Ushikata

X-Plan 360i を使用して測定した。1つの標本より300の筋線維を抽出し、その断面積の平均値を求めて筋線維断面積とした。断面積の比較にあたって、両群からはほぼ同じ体重のものを選んだ。

III. 結 果

1. 音声分析, 周波数分析

ホルモン投与群は投与6週目までには程度に差はあるものの、全例聴覚的には気息性嚙声を示した。図1はホルモン非投与モルモットの音声波形と周波数分析を示しているが、その音声波形は規則正しく周期性を保っていて、振幅にも乱れのない波形を示し、基本周波数は2750Hzで、正数倍にピークが明瞭にみられる。図2は同じ日に記録したホルモン投与後5週目のモル

図1 正常モルモットの音声波形および周波数分析

図2 男性ホルモン投与モルモットにおける音声波形および周波数分析 (気息性嚙声出現時)

モットの波形を示しているが、音声波形は先のような規則正しい波形をとらず不規則である。またその周波数分析では周波数帯域の分散がみられ、基本周波数は不明瞭となっている。

2. 病理組織学的変化

モルモットの声帯は、はっきりした襞を呈しておらず喉頭室もない。声帯は甲状披裂筋部にあり、その上皮は遊離縁部が重層扁平上皮となっている(図3)。声帯の上下面は多列線毛上皮と、腺組織を含んだ粘膜固有層を形成している。声帯粘膜固有層は大部分膠原線維で形成され、前後方向に線維が並んでいる。毛細血管は上皮下に多く、特に声帯後部に多い。弾性線維は声門下粘膜固有層の深層および浅層に分布しているが、頭側にゆくに従い減少し、声帯遊離縁部でほとんど消失している。図4にコントロール群の声帯遊離縁部の水平断を示す。粘膜固有層の線維の走行は一定であり、その連続性を保っている。また浅層と深層には弾性線維の層がみられる。

図5はホルモン投与群で嚙声のあるモルモッ

図3 正常モルモットの喉頭前額断
矢印: 声帯遊離縁部, H-E 染色, $\times 40$ 。

図4 正常モルモットの声帯遊離縁部水平断, 上皮および粘膜固有層を示す
H-E 染色, $\times 200$ 。

図5 男性ホルモン投与モルモット嗄声出現時の声帯遊離縁部水平断の上皮および粘膜固有層を示す
線維の走行の乱れ, fibroblast の増加と線維間の狭小が見られる。H-E 染色, $\times 200$ 。

トの声帯遊離縁部水平断を示す。粘膜固有層は膠原線維の走行に乱れを生じ, 線維間の間隔も狭く連続性に欠けている。また fibroblast cell は増加している。上皮および弾性線維の変化は明確ではない。

3. 筋線維断面積

甲状披裂筋と胸骨舌骨筋の筋線維断面積の比較において, 甲状披裂筋ではホルモン非投与モルモットの平均筋線維断面積は 0.30 nm^2 , ホルモン投与モルモットのそれは 0.43 nm^2 。胸骨舌骨筋では非投与モルモット 1.13 nm^2 , ホルモン投与モルモット 1.55 nm^2 であり, 両者ともホル

モン投与群に筋線維の肥大がみられ, t 検定にて危険率5%で有意差があった。

IV. 考 察

アンドロゲン感受性組織である精嚢と前立腺は, testosterone と 5α -dihydrotestosterone (DHT) に対して親和性の強い結合蛋白をもっている。これらのレセプターをもった蛋白は, アンドロゲン作用を標的細胞に伝える中間体となり, 加えて骨格筋にも同化作用を及ぼす。これはラット, モルモットの肛門筋や, ラットの大腿筋, 広筋, 膀胱筋, 広背筋, 横隔膜で確かめられている。

Lieberburg と Nottebohm¹³⁾は Zebra finches を使い, 鳥の声帯に当たる Syrinx の筋肉内の testosterone receptor を調べ, Syrinx 以外の横紋筋にみられる以上の receptor が存在することを報告し, また Saez ら¹⁴⁾は ^3H DHT で incubate した喉頭および咽頭の粘膜細胞のアンドロゲン結合蛋白の量を測定することにより, 男性の喉頭, 咽頭粘膜にアンドロゲン receptor が存在することを示し, 女性においても DHT の標的細胞となる粘膜があることから, アンドロゲンの投与で音声変化をきたす可能性を示している。

このように, 横紋筋の結合部位は本来のアンドロゲンの標的組織と比較すると数は少ないが, このホルモンの同化作用が発声に及ぼす影響は確かである。平野ら¹⁵⁾は, 声帯筋とその他の内喉頭筋の収縮運動と, 上皮および粘膜固有層の波動運動によって声帯振動が成り立っていると述べているが, ホルモン音声障害のメカニズムに対し加藤ら³⁾は, 声帯筋線維の不規則な肥大傾向の存在のため他筋群との共同運動に乱れを生じ, 筋緊張の変動がバランスをくずし機能不全を来すと考察している。

一方戸田⁹⁾は, 雌家鶏に男性ホルモンを投与することによって音声障害を作成し, 鼓状膜における粘膜上皮の肥厚, 粘膜固有層の線維の走行の乱れという病理組織学的所見より雌家鶏のホルモン音声障害は鼓状膜の粘弾性の低下によるものであろうと述べ, 上皮および粘膜固有層がより大きく関与しているとしている。

しかし Talaat ら¹⁶⁾は, anabolic steroid を投

与した albino マウスの声帯の組織学的考察を行い、上皮には parakeratosis と扁平上皮化生が起り、甲状披裂筋には肥大と筋線維の太さの乱れが生じたとしたが、音声の変化は上皮の変化よりも筋の肥大によるところが大きいとしている。

われわれの実験では、男性ホルモン投与により音声障害をきたしたモルモットにおいて、甲状披裂筋および胸骨舌骨筋の肥大が認められたが、筋線維の断面積の分布はほぼ正規分布をとり、その太さに乱れは認められなかったこと、粘膜固有層には明らかに器質的变化が現れていたこと、音声障害は気息性嚔声として現れたことなどから考察してみると、音声に及ぼす声帯筋肥大の意義よりも、声帯の粘膜固有層の線維の乱れや、fibroblast の増生に起因する物理学的性状の変化の方が疾患の本質により近いのではないかと考えられる。

北原¹⁰⁾は、雌家鶏に男性ホルモンを投与し、音声障害を作成した上でエストロゲン、プロゲステロンの併用投与を行ったところ、著明な改善がみられ、音声分析では正常と区別ができなかったと述べている。家鶏の鳴管には筋組織を欠くという点、また Holt ら¹⁷⁾や Aufdemorte ら¹⁸⁾のオートラジオグラフィーで投与したヒヒの声帯上皮および粘膜固有層に、testosterone の集積がみられていること等あわせて考えると、男性ホルモン投与による音声障害が筋肉の肥大という変化より、粘膜固有層の物理学的性状の変化の方がより大きく関与しているのではないかという印象を受ける。

V. ま と め

1) 雌モルモットに男性ホルモンを投与し、音声障害を作成し、その声帯遊離縁部の病理組織学的変化を観察した。

2) 雌モルモットにエナント酸テストステロン 50 mg を毎週 1 回投与すると、5～6 週で音声障害（気息性嚔声）を生じた。

3) ホルモン投与群の甲状披裂筋および胸骨舌骨筋は、コントロール群に比べて有意にその筋線維が肥大していた。

4) 病理組織学的にはホルモン投与群の粘膜固有層の fibroblast の増生と膠原線維の連続性

の欠如、線維間隙の狭小がみられたが、上皮には変化がみられなかった。

5) 雌モルモットにおける男性ホルモン投与後の音声障害のメカニズムにつき考察した。

文 献

- 1) Goldmann, J.L., and Salmon, U.J.: The effect of androgen therapy on the voice and vocal cords of adult women. *Ann. Otolaryngol.*, 51: 961-963, 1942.
- 2) 梅原千治: 蛋白同化ステロイドの薬理作用とその応用面の検討. *最新医学*, 17: 1791-1809, 1962.
- 3) 加藤友康: 蛋白同化ステロイドによる音声障害の研究. *日鼻耳*, 76: 1073-1094, 1973.
- 4) Bauer, H.: The influence of the androgenic hormones on the female voice. *International Association of Logopedics and Phoniatrics XIIth Congress Abstracts*, 10, 1962.
- 5) 岡村正美, 沢島政行, 廣瀬 肇・他: 蛋白同化ステロイド使用による音声障害. *耳喉*, 36: 409-413, 1964.
- 6) Damsté, P.H.: Voice change in adult women caused by virilizing agents. *J. Speech & Hearing Disorders*, 32: 126-132, 1967.
- 7) Leonard, S.L.: Induction of singing in female canaries by injections of male hormones. *Prog. Soc. exp. Biol. Med.*, 41: 229-230, 1961.
- 8) 矢内一郎: 性ホルモンの音声に及ぼす影響に関する実験的研究. *耳鼻臨*, 36: 122-161, 1961.
- 9) 戸田行雄: ホルモン音声障害の基礎的研究—家鶏における発声器の器質的变化について—. *耳鼻*, 29: 70-94, 1983.
- 10) 北原 哲, 井上鐵三, 戸田行雄・他: 雌家鶏を用いたホルモン音声障害の基礎的研究. *耳鼻*, 31: 931-938, 1985.
- 11) Haubrich, J., Schätzle, W., and Stennert, E.: Histologische und histochemische Untersuchungen zur Frage der Reversibilität von Kehlkopf veränderungen bei der weiblichen Maus nach Androgenbehandlung. *Zeitschrift für L.R.O.*, 49: 168-175, 1970.
- 12) Sobel, H., and Marmorston, J.: Hormonal influences upon connective tissue changes of aging. *Recent. Prog. Hormone Res.*, 14: 457-481, 1958.
- 13) Lieberburg, I., and Nottebohm, F.: High-affinity androgen binding proteins in syringeal tissues of songbirds. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 37: 286-293, 1979.
- 14) Saez, S., Martin, P.M., and Gigroux, B.: Androgen receptors in larynx and pharynx. "Normal and Epitheliomatous: Steroid Receptors and Hormone Dependent Neoplasia, T.

- C. Whitliff, O. Dapunt, and N.Y. Masson, (Eds.), pp.205-208, 1978.
- 15) 平野 実, 小池祐一, 広瀬幸矢・他: 振動体としての声帯の構造. 日耳鼻, 76: 1341-1350, 1976.
- 16) Talaat, M., Talaat, A.M., Kelada, I., et al.: Histologic and histochemical study of effects of anabolic steroids on the female larynx. Ann. Otol. Rhinol. Laryngol., 96: 468-471, 1987.
- 17) Holt, G.R., Aufdemorte, T.B., and Sheridan, P.J.: Estrogen receptor in the larynx of the aged baboon. Ann. Otol. Rhinol. Laryngol., 95: 608-617, 1986.
- 18) Aufdemorte, T.B., Sheridan, P.J., Holt, G.R., et al.: Autoradiographic evidence of sex steroid receptors in laryngeal tissues of the baboon. Laryngoscope, 93: 1607-1611, 1983.