喉頭組織の男性ホルモン親和性についての実験的研究

聖マリアンナ医科大学耳鼻咽喉科学教室（主任：竹山 勇教授）

漆 畑 保

ANDROGEN AFFINITY ON HUMAN LARYNGEAL TISSUES

TAMOTSU URUSHIBATA, M.D.

Department of Otolaryngology, St. Marianna University School of Medicine, Kawasaki

Some phenomena implicate androgenic steroid as existing effects in laryngeal sexual differences and disease. For this reason, specific androgen binding proteins in tissue from the laryngeal region have been examined, and antiandrogens have been used to treat laryngeal carcinoma. However, there have been few experimental data documenting its presence, especially concerning with the location of receptors for androgenic steroids in male and female larynx. To investigate this problem whether androgen is taken up by the tissue of human laryngeal carcinoma or normal mucosa of the larynx, an autoradiographical study was performed. Tumors used in this study were moderately differentiated squamous cell carcinomas. Immediately after resection, the samples were put into Eagle's MEN, and incubated at 37°C for 1 hour with a specific radio ligand, ^3H -Testosterone (^3H -T). ^3H -T and its metabolites were found to be concentrated in nuclei of epithelial cells of the male vocal cord and some parts of male laryngeal carcinoma tissues. This suggest some effect of testosterone on these cell nuclei. However, the silver grain distribution in the cell nuclei per 10000 μm^2 of nuclear area (average specific concentration) was not uniformly distributed in the same specimen. Male laryngeal carcinoma cells can possibly be classified into several cell types, according to the extent of silver grain distribution of nuclei. Laryngeal carcinoma seems to be composed of various cell types with different sensitivity to androgenic steroid. Nevertheless, distribution of the silver grains per cell was similar in the same specimen of laryngeal carcinoma. Quantitative analysis of the intracellular distribution of radioactivity by silver grain counting showed about 60-75 % of ^3H -T to be associated with the nuclear compartment of the small cell type of laryngeal carcinoma and the epithelium of vocal cord bordering on the basementmembrane. This value appeared to be similar to the results in other sex hormone target organ reported elsewhere. These findings provide some evidence that human laryngeal tissue, especially vocal cords, and laryngeal carcinomas might be one of the target organs for androgenic steroids.

Key words : Androgen affinity, Autoradiography, Laryngeal tissue,
Laryngeal carcinoma.

A91-0370-61310

序 論

男性ホルモンは性ホルモン作用はもちろんのこと筋

肥大作用, 体重増加作用, 骨成長作用, 増血作用などを有する。また, これらの薬理作用を期待し広く臨床

に応用されるに至り、男性ホルモン剤は、そのままの形で乳癌に、あるいは混合製剤の形で更年期障害、月経困難症、乳腺症に、合成剤として慢性消耗性疾患や全身衰弱など低蛋白血症をきたす諸疾患に広く用いられている。しかし、いくつかの副作用¹¹⁻⁵⁾が知られ、中でも臨床的副作用として、月経異常、アクネ、口渇、胃症状、嘔声などが報告⁶⁾され、耳鼻科領域においては難治性の病態を示す女性の音声障害が知られている⁷¹⁻¹²⁾。

男性ホルモンはまた思春期における男子の声変わりにも関与しているものと考えられ、思春期に関わる成熟プログラムが始動し、脳の性分化が引き金となり正中隆起から性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GTH-RH) が分泌され、それに伴い下垂体前葉による性腺刺激ホルモン (GHT) 分泌の上昇を招き、最終的な情報としての男性ホルモンが精巣において飛躍的に生産及び分泌されるにいたり、これが声変り出現の誘因となると考えられている。

さらに喉頭自体の肉眼的な大きさはもとより、光顕的にも扁平上皮層と粘膜固有層の厚みを雌雄差として区別でき、また Pomum Adami が男性に見られ思春期以降の現象と考えられている。

喉頭癌の発生率をみると男女比がおおよそ10: 1と男性の喉頭癌発生頻度が女性に比し圧倒的に高いことが知られ¹³⁾⁻¹⁵⁾、血中男性ホルモン量の男女差がその一因と考えられており、事実、男性においては血中男性ホルモン量が女性に比し高値を示している¹⁶⁾。

以上のいくつかの事実から喉頭組織は男性ホルモンの標的器官であり喉頭の性分化に、また、喉頭癌の発生及び増殖過程において男性ホルモンが関与しているとの推測は想像に難くない。

性ステロイドの標的器官または細胞に対する作用は細胞質内の特異的なレセプター (AR) を介して初めて誘起されることが明らかにされており、この観点から喉頭組織における AR の存在について1976年に Saez 等¹⁷⁾、1981年に Tuohimaa 等¹⁸⁾、1982年に伊東等¹⁹⁾ が同一の生化学的分析法を用いて定量を行い、それぞれの成績を報告している。しかし、これらの成績においてかならずしも三者の意見が一致しておらず、喉頭組織における AR の存在の有無に関して正確な結論が得られていないのが現状である。

音声障害発症または喉頭の分化の際、喉頭組織内のどの細胞が男性ホルモンの標的となるのか、また、喉頭癌の発生や増殖における男性ホルモン関与の有無

という問題に関しては未解決のままである。

今回、正常喉頭組織及び喉頭癌組織を形成する細胞における男性ホルモンの取り組みの確認と男性ホルモンの組織内局在を実証する目的で男性ホルモン親和性部位の組織内分布について実験を行い、喉頭組織における男性ホルモンの代謝作用の立場から喉頭癌の発生率に関する男性優位および喉頭組織性分化の機序について検討を試みた。

方 法

1. 検体

今回の実験に供した検体組織は喉頭癌ならびに喉頭上皮を主にしており、比較対象として上顎、下咽頭、食道の組織を用いた(表1)。各臓器における癌組織の組織像はいずれも分化型の扁平上皮癌であった。手術時、摘出した頭頸部癌組織(11検体)及び正常粘膜組織(14検体)を直ちに Eagle's MEM 中に入れ、4mm 以下にトリミングした後、オートラジオグラフ(ARG)標本作成用とした。正常粘膜組織についてはいずれも頭頸部癌患者で癌を全摘した際に正常な周辺部から採取したものをを用いた。

2. 放射性ステロイド及び試薬

[1, 2, 6, 7, 16, 17-³H] Testosterone (³H-T)は159 Ci/mmolの放射活性を持ち、New England Nuclear Corp. より入手、Eagle's MEM 及び Fetal Calf Serum は Gibco Laboratories のものを購入し、培養液に対し20%の血清量として使用した。感光乳剤は Konishiroku Photo Ind. Co., Ltd., の Sakura NR-

表1 対象とした検体

部 位	組 織	性	平均年齢	数
声 門 部	癌	男 性	61	3
〃	〃	女 性	66	1
〃	上 皮	男 性	58	3
〃	〃	女 性	64	2
声門上部	〃	男 性	57	4
〃	〃	女 性	63	2
声門下部	癌	男 性	57	1
〃	上 皮	〃	49	1
上 顎 洞	癌	〃	47	1
下 咽 頭	〃	〃	57	4
〃	上 皮	〃	69	1
〃	〃	女 性	72	1
食 道	癌	〃	66	1

M2, 現像液には Fuji Photo Film Co., Ltd., の Rendol を用いた。

3. オートラジオグラフィーの方法

トリミングずみの各組織は $^3\text{H-T}$ を $25\mu\text{Ci/ml}$ に調整した Eagle's MEM 中にて 37°C 1 時間培養した。Bouin 液にて 12 時間固定後, 脱水, パラフィン包埋し, 約 $4-5\mu\text{m}$ の厚さに薄切し, プレパラートに乗せ, 脱パラ後, 蒸留水にて水洗, 乾燥した。暗所, 50°C のウォーターバス中にて, 蒸留水で約 4 倍量に希釈した感光乳剤を作成し, デッピング法を用いて各プレパラートに塗付した。そして, 各プレパラートは 4°C , 暗所にて 5 週間感光後に現像処理し H.E. 染色を施した。

今回の $^3\text{H-T}$ の培養喉頭組織への取り組みの特異性に関して, 競合試験に人喉頭組織の検体を用いるには, 組織の数及びその大きさにおいて十分得られなかった。そこで, Balb/c 系マウスの喉頭組織及び肝臓組織を用い, in vivo と in vitro 実験において, 両者の比較を行った。AR の検討で, 喉頭組織では核, 肝臓組織では細胞質での $^3\text{H-T}$ の取り込みが確認され, その際 in vivo と in vitro の実験において有意な差が認められず, 今回用いた方法の信頼性が増すものと思われる。また, in vitro における競合試験を 100 倍-1000 倍の非放射性ホルモンを用い, 標識の特異性を確認した。5 週間感光後に喉頭組織での核上, 肝臓組織では細胞質上に確認可能であったグレーン数は, 非放射性ホルモンにより抑制された。喉頭組織では核, 肝臓組織では細胞質での $^3\text{H-T}$ の取り込みが特異的であると表現されて良いものと考えた (投稿準備中)。

顕微鏡下にて $10000\mu\text{m}^2$ 当たりの面積について, 核及び細胞質の占めるグレーンのカウントにより放射活性の原形質内分布を数量化し, 男性ホルモン親和性部位の組織内分布について検討を試みた。カウントする部位については任意に 5 カ所を選び出し, 各計測値はその平均値を取っている。

同一喉頭癌組織が男性ホルモンの取り込み様式の異なる細胞の集合体であることを証明する目的から, 同一喉頭癌における細胞の大きさ及びこれら細胞の形成する形態から任意に大型の細胞 (L 群), 小型で管腔構造を構成するもの (S 群) の 2 種類に分類した。2 種類の境界に相当し, 種類分けの不明確な部位については計測を避けた。男女それぞれ 2 種類に分類した細胞について顕微鏡写真を取り, 細胞の 150 個について核及び細胞質の占めるグレーン数及び面積について計測した。

成 績

1. 正常喉頭組織の $^3\text{H-T}$ の取り込み

男性正常喉頭上皮組織の ARG 標本による $^3\text{H-T}$ 及びその代謝産物の組織内での局在を図 1 に示す。喉頭上皮及び固有層から成る組織像において基底膜に近い重層扁平上皮細胞にグレーンが多く存在し, しかもそのグレーンが細胞の核に多く確認された。この組織像により, 明らかに喉頭の重層扁平上皮の基底膜に近接した細胞では男性ホルモンが多数取り込まれ, その何らかの作用を受けているものと思われた。その他, $^3\text{H-T}$ の局在を示す細胞として一部線維芽細胞においても確認ができた。

一方, 女性の正常喉頭組織の ARG 標本を図 2 に示す。男性の正常喉頭組織での取り込みと異なり女性の喉頭組織での $^3\text{H-T}$ の分布は, 扁平上皮組織における分布が粘膜固有層に比し多く確認され, 喉頭組織全体に広がりを見せ, 特に核に取り込まれておらず組織内での $^3\text{H-T}$ の単なる拡散を思わせた。

男女の正常声帯組織をそれぞれ細胞 150 個について核及び細胞質が占めるグレーン数及び面積について検討したものを示す (表 2)。男性の声帯組織での $^3\text{H-T}$ の核への移行率は約 77% であり, 女性の約 15% に比し遙かに高値を示し, 男性ホルモンの標的器官として男性の声帯組織はより強い立場にあると思われた。また, 男性声帯における $^3\text{H-T}$ の密度も細胞質上での 2.6 個/ $100\mu\text{m}^2$ に対して核上では 14.6 個/ $100\mu\text{m}^2$ と高値を示し, 男性ホルモンの組織内での単なる拡散でないことが確認できた。一方, 女性の正常喉頭組織では核への移行率が 15% と低値を示すもののグレーン総数は男性の 1626 個に比して 2065 個と幾らか高値を示し, さらに $^3\text{H-T}$ の核での密度も 14.5 個/ $100\mu\text{m}^2$ と男性同様の値を示した。

表 2 男女の正常声帯組織における核上と細胞質上でのグレーン数及び面積の比較

性 別	男 性			女 性		
	核	細胞質	合 計	核	細胞質	合 計
グ レ ー ン	77%	23%	1626	15%	85%	2065
面 積 (μm^2)	37%	63%	23100	9%	91%	23700
グ レ ー ン 100 μm^2	14.6	2.6	7.0	14.5	8.1	8.7

* 各組織においてそれぞれ細胞数 150 個につき計測

表3 男女の喉頭癌組織内における2種類の腫瘍細胞の比較（細胞数150個）

型	性別部位	男 性			女 性		
		核	細胞質	合 計	核	細胞質	合 計
L	グレン数 (個)	690 (43%)	918 (57%)	1608 (100%)	182 (31%)	402 (69%)	584 (100%)
	面 積 (μm^2)	15902 (34%)	30317 (66%)	46219 (100%)	8972 (15%)	49282 (85%)	58254 (100%)
	グレン数 100 μm^2	4.3	3.0	3.5	2.0	0.8	1.0
S	グレン数 (個)	1227 (76%)	377 (24%)	1604 (100%)	249 (64%)	141 (36%)	390 (100%)
	面 積 (μm^2)	5280 (40%)	7817 (60%)	13097 (100%)	5723 (25%)	16798 (75%)	22521 (100%)
	グレン数 100 μm^2	23.2	4.8	12.2	4.4	0.8	1.7

2. 喉頭癌組織の³H-Testosteroneの取り込み

男性の喉頭癌組織における³H-T及びその代謝産物の組織内での局在を図3と図4に示す。図3の喉頭癌組織内において多くのグレンがみられ、しかも正常喉頭組織と同様グレンの多くが核に存在することが確認できた。また、図3に示す³H-Tの取り込みの多い喉頭癌細胞は小型のものからなり、比較的細胞間隙が密で全体として管腔構造を形成していた。

一方、同一の喉頭癌組織内においても³H-Tの細胞への取り込みの異なる部位がありその組織像を図4に示す。この組織像によると、図3に示す細胞群に比しグレンの核内への取り込みの少ないことが示されている。また、この部位は全体的に大型で、核の面積に

比し細胞質の占める比率が大きい細胞からなり、これら2つの異なる組織像から、同一癌組織内においても³H-Tの核への取り込み量が多い細胞と少ない細胞とが存在することが確認できた。

女性の喉頭癌組織における³H-Tの取り込みを図5に示す。男性の喉頭癌に比べ遙かにグレンの存在が少なく、さらに正常女性喉頭組織における組織像とは異なったグレンの取り込みが確認できた。

同一喉頭癌組織標本の中での³H-Tの核への移行が多く管腔構造を構成する小型の細胞（S群）と、³H-Tの核への移行が少ない大型の細胞（L群）をそれぞれ150個について、核と細胞質におけるそれぞれのグレン数、さらに核と細胞質の占める面積について計測した（表3）。

男性においては、L群の核では総グレンの43%が核に存在するのに対しS群では76%と高い値を示した。さらに、単位面積100 μm^2 当たりのグレン数がL群では核で4.3個、細胞質で3.0個であるのに対し、S群では23.2個、細胞質で4.8個であり、S群の細胞における核のグレン密度がL群の約5.4倍と圧倒的に高く、S群の細胞での核への³H-Tの高い取り込みが確認された。単位面積におけるグレン数の値を用いて核に対する細胞質の値の比を算出すると、L群では $4.3 \div 3.0 = 1.4$ 、S群では $23.2 \div 4.8 = 4.8$ となり、L群においては1に近い値を示した。

一方、女性においても、L群の核でのグレン数が

図6 男性大型細胞

図7 男性小型細胞

図8 女性大型細胞

総グレーン数の31%存在するのに対し、S群では64%と高い値を示した。単位面積 $100\mu\text{m}^2$ 当たりのグレーン数がL群では核で2.0個、細胞質で0.8個であり、S群の核では4.4個、細胞質で0.8個であり、S群の細胞における核のグレーン密度がL群の約2.2倍と高いことがわかった。しかし、女性の喉頭癌S群の核でのグレーン密度4.4個は男性の喉頭癌S群の核での密度23.2個に比し極めて低く、また、男女の正常喉頭組織の核での密度14.6個と14.5個(表2)に比べ遙かに低値であることが確認できた。単位面積におけるグレー

ン数を用いて核に対する細胞質の値との比を算出すると、L群では $2.0 \div 0.8 = 2.5$ 、S群では $4.4 \div 0.8 = 5.8$ となりL群S群共に1に近似した値は示さなかった。

3. グレーン数と細胞数との関係

S群とL群の各々150個の細胞について更に検討する目的で細胞質上と核上におけるグレーン数とその細胞数に対するヒストグラムを作成した。男性のL群、S群を図6、図7に、女性のL群、S群を図8、図9にそれぞれ示し、図中のaは細胞質上、bは核上についての分布を表示し、図の縦軸がグレーン数、横軸が

図1 正常男性喉頭組織の ^3H -Testosterone
の取り込み (×230)

図2 正常女性喉頭組織の ^3H -Testosterone
の取り込み (×230)

図3 男性喉頭癌組織の ^3H -Testosterone
の取り込みの多い部位 (×230)

図4 男性喉頭癌組織の ^3H -Testosterone
の取り込みの少ない部位 (×230)

図5 女性喉頭癌組織の ^3H -Testosterone
の取り込み (×230)

図9 女性小型細胞

細胞数を示している。

男性の喉頭癌のL群の細胞におけるグレーン数を対象に考えると、細胞質でのモード値は4個であるが平均が6個と多少多い方に分布が傾いており、核でのモード値は2個で平均が5個と、これもまたモード値に比し平均がグレーンの多い方に分布傾向を示している。細胞質、核でのグレーン数のモード値及び平均値に多少の相違があるもののほぼ同一の分布を認めている。

一方、S群では細胞質でのグレーン数のモード値は0個および1個に位置し、細胞1個当たりの平均グレーン数も2個と少ない方に分布が傾いており、L群の約1/3倍のグレーン数を含むこととなり、男性ホルモンの感受性が高いと思われるS群の細胞において細胞質では $^3\text{H-T}$ は余り存在しないことがわかった。核でのモード値が7個で平均グレーン数は8個であり、しかも14個以上のグレーンを含む細胞も14個に見られると共に3個から11個のグレーンを含む細胞が幅広く分布し、核にグレーンの多いことが確認できた。さらに、グレーン数の核/細胞質の比がL群の細胞ではモード値で0.5、平均値で0.8、S群の細胞ではモード値で6.0、平均値で4.0となり、S群の細胞では遙かに多くのグレーンが核に分布していることが確認でき、細胞質から核へのTの移行が能動的に行われていることが窺えた。

一方、女性の細胞を対象に検討してみると、L群では、細胞質でのグレーン数のモード値は2個で、細胞

1個当たりの平均グレーン数は約3個であり、グレーン数を0個から4個まで含む細胞の多いことが確認でき、一方、核でのグレーン数ではモード値は0個で、1個当たりの平均グレーン数は約1個となり、細胞質が核に比し約3倍多くのグレーンが分布しており、Tの核への移行が少ないことが理解できる。

また、S群の細胞質でもモード値が0個で、この値を示す細胞数が71個であり、平均グレーン数が約1個で、L群の細胞質に比しても約1/3倍と低値を示すこととなり、女性のS型の細胞質においてはTがほとんど存在しないことがわかった。一方、核でもモード値が0個であるものの平均グレーン数は2個であり、核にグレーンを1個から3個まで含む細胞数が27個から30個と低値ではあるもののグレーンの取り込みをみせており、しかも、L群と比較するとS群の方が核でのグレーン数が多かった。グレーン数の核/細胞質の比がL群ではモード値で0、平均値で0.4、S群ではモード値で0、平均値で1.3を示し、S群において細胞質から核へのTの移行が少なからず行われていることが示唆された。

以上の結果は、すべて喉頭組織のみを対象としたものであり、喉頭組織にみられる特異の現象であるかどうかを検討するために、喉頭組織以外の正常粘膜組織(14検体)及び癌組織(11検体)を比較対象とした。面積 $10000\mu\text{m}^2$ 当たりにおける、核及び細胞質の各々の上に確認できるグレーンをカウントすることにより原形質内の放射活性分布について数量化を行い、男性ホ

表4 各組織におけるグレーンの比較

部 位	性 別	例 数	組 織	核	細胞質	総 数
声 門 部	男性	3	癌	66%	34%	973
	女性	1	癌	60%	40%	115
	男性	3	上皮	76%	24%	393
声門上部	女性	2	上皮	15%	85%	871
	男性	4	上皮	68%	32%	225
	女性	2	上皮	46%	54%	244
声門下部	男性	1	癌	24%	76%	151
	男性	1	上皮	61%	39%	127
上 顎 洞	男性	1	癌	28%	72%	126
下 咽 頭	男性	4	癌	41%	59%	368
	男性	1	上皮	37%	63%	178
	女性	1	上皮	44%	56%	272
食 道	女性	1	癌	22%	78%	1107

*単位面積10000 μm^2 当りのグレーンについて記す。

ルモン親和性部位の組織内分布について検討を試みた(表4)。核上と細胞質上に確認できたグレーン数、およびその総和を示す数値は各組織での平均値を示しており、さらに上皮組織では基底膜に隣接した部位、癌組織では小型の細胞について観察した各々の値を示した。喉頭組織では ^3H -Tの核への移行率60%を超えるものが多いのに対し、喉頭癌以外の癌組織では上顎洞癌28%、食道癌22%と低く、下咽頭において41%と中間値を示し、いずれの組織においても喉頭組織(声門部、声門上部、声門下部)よりも低値であることが確認できた。

考 察

1. ホルモンレセプターに関する文献的概括

男性ホルモンが標的器官に及ぼす作用機序を論ずるに先立ち、一般的に支持されているステロイドホルモンの作用発現機序に触れ、ホルモン作用の共通点を踏まえて本研究の考察を行った。一般にステロイドホルモンの作用発現の機序に関して広く支持されている特徴を以下に記すと、

1. ステロイドホルモン自体の分子量が400以下と小さいため、蛋白ホルモンがその標的組織に作用を発現させる場合に細胞外膜に存在する細胞膜レセプターを介するのに対して、それを必要とせず細胞膜を通過す

る。

2. ステロイドホルモンはその標的器官に特異的に集まる。

3. 男性ホルモンやプロゲステロンなどの一部のステロイドホルモンでは標的細胞内で親和性が上昇するため、活性型ホルモンへの代謝が行われる。

4. ステロイドホルモンはそれに特異的なホルモンレセプターと結合しレセプター複合体を形成する。

5. レセプター複合体は核内に移行しクロマチンアクセプターへの結合。

6. 特定の暗号をもつRNAの合成。

7. 細胞質において特定の蛋白質が合成される。

以上が現在一般に理解されているステロイドホルモン標的器官での作用発現機序モデルである。一つの臓器での作用メカニズムが他臓器でも当てはまる可能性のあることを基本的な考え方として今後の研究を展開することは合理的なことと考える。しかし、喉頭組織が男性ホルモンの標的器官であるとの結論は先述した事実から予測はできるもののいまだ実証されておらず仮説の段階を脱していないのが現状と思われる。

喉頭組織に対するTestosterone (T)の作用についてステロイドホルモンの作用発現機序モデルに当てはめ、ARの存在(上記モデルの第4番に当たる)について生化学的定量分析が数施設においてなされている。Saez¹⁷⁾はリガンドとしてDHTを用い喉頭癌と咽頭癌それぞれ3例中2例に、そして正常喉頭4例中4例および咽頭3例中3例においてARがあると報告し、Tuohimaa¹⁸⁾はリガンドとして ^3H -R1881を用い喉頭癌18例中5例、正常喉頭組織2例中2例に男性ホルモンレセプターが存在するとしている。一方、伊東¹⁹⁾はリガンドとしてDHTとR1881を用い、日本人の喉頭癌組織19例についてARを検索し、DHTとの結合蛋白は19例中16例に見られるものの、多くのcompetitor及び熱処理を用いたinhibition testによりDHTとの結合蛋白はARそのものとは異なり、かつSex hormone binding globulin (SHBG)とも異なる蛋白であるとし、Seazが男性ホルモンレセプターとした蛋白はほとんどがSHBGであると結論づけている。さらにR1881との結合蛋白はいずれも存在しないと、Tuohimaaが結論づけた結果とは異なり、人喉頭癌組織中には前立腺癌に存在するような有意な男性ホルモンレセプターは存在しないとされている。

Mattox²⁰⁾は、細胞質の蛋白1mg当たりのホルモンレセプターが0.7f.mol/mg of proteinであり、Saez等

のデータに比し低値を示しながらも抗男性ホルモンを喉頭部癌治療に使用し、喉頭癌組織中のホルモンレセプターが低値であることは喉頭癌に対し抗男性ホルモンは比較的の不活化を意味するかもしれないとしている。さらに、Bobin²¹⁾は、予備実験のデータではあるがDHTは喉頭癌細胞の増殖を促進するとしている。一方、Maillot²²⁾は20個以上の喉頭癌組織についてのホルモンレセプターを検討し、Estoradiolで50%、Progesteronでわずかに認め、DHT、cortisolに対してはいずれも存在しないと報告している。さらにVecerin-Veric²³⁾は正常喉頭組織および喉頭癌組織におけるARを細胞質内(ARc)と核内(ARn)においてそれぞれ分けて定量することが意義があるとし、リガンドとして³H-R1881を用い定量を行った。男性の正常喉頭組織にはARcとARnは存在せず喉頭癌では16例中8例にARnが存在するとし、女性においては正常喉頭組織3例中3例、喉頭癌では4例中2例にARnは存在しないがARcは存在すると報告している。

以上のことは喉頭癌細胞におけるARの存在の有無について未解決ではあるがいずれにしても喉頭癌細胞がステロイドに対する感受性の存在を証明するものと思われる。

伊東¹⁹⁾のARは喉頭組織には存在しないとする報告と併せ今回の実験から確認した核へのTの移動という結果に基づき喉頭組織におけるTの作用を考えた場合、前立腺組織等で示唆されているAR等の輸送物質を介さず、男性ホルモンの核への移行が行われる可能性と、ARやSHBG等の既知の蛋白を仲介物質とせず喉頭組織特異の蛋白等の物質を介し細胞質内の男性ホルモンを核内に移送している可能性の二つが考えられる。

睪丸由来のTは胎生期初期に未分化性腺を男性型に分化誘導し、そして思春期男性における二次性徴の発育促進作用を示す。一方、人間の言語学習のOntogenyが鳥類のSong Ontogenyの特質と類似しているとされ^{24)~28)}、Zebra finchにおいては脳の発声中枢へのTの取り込みに雌雄差が存在することが報告されている²⁹⁾。しかし、人間の喉頭組織の性分化を対象に考えた場合、胎生期初期の際またはそれ以後の脳や喉頭組織におけるステロイドホルモンその他Triggerによる性分化のprograming開始が存在し得るものかはいまだ推測の域を脱していないのが現状のようである。

2. 実験成績の解釈

男性の正常喉頭組織では核への移行が多く、一方、女性の正常喉頭組織の方が遙かに核への移行が少ないと言う結果から、喉頭組織の分化の際、男女の喉頭組織においてTの作用に対する質または水準の決定的な差が生じていることを裏付けている。言い換えるならば人の成長過程のある時期に喉頭組織において性分化の存在することを示唆しており、この結果、男女の正常喉頭組織の扁平上皮細胞における男性ホルモンの代謝に相違が生じるものと推測された。

喉頭上皮組織を対象とした男性ホルモン作用の実験としては、Kāmbič等が雌犬を用い男性ホルモン投与後声帯上皮に強い過形成と細胞分裂の増加を報告しており³⁰⁾、今回の実験結果も³H-Tの取り込みが女性においては粘膜固有層に比し上皮組織に多く見られ、その分布状態から³H-Tの組織内での拡散を思わせ、男性の組織と比較してTの核への移行率が低いものの、Tの核での密度には男女差はほとんど見られなかった。この結果から男性の声帯とは何らかの点で異なるものの女性の正常喉頭組織も男性ホルモンの作用を受けており、男性ホルモン製剤や蛋白同化ホルモン製剤の投与による女性のホルモン音声障害の発症メカニズムの作用点として声帯扁平上皮細胞の細胞質ばかりでなく核にもその存在があることを示唆しているものと言える。

男性ホルモンの標的として対象となり得るものは喉頭を形成する上皮組織のみではなく、粘膜固有層、骨や筋肉等も当然男性ホルモンの標的となる可能性がある。ホルモン音声障害の際、男性ホルモンの標的が喉頭筋であるという報告があり、その結論として筋原線維へのandrogenの作用により筋線維の肥大と筋線維中のglycogenやRNAの増加等が報告されている³¹⁾³²⁾。ホルモン音声障害と発癌時におけるTの作用点及び作用メカニズムにおいて男性ホルモンの喉頭組織での働きが全く異なるものと考えるのが妥当であると思われるが、間葉系組織の異常が上皮組織の癌化を惹起、促進するとの報告³³⁾³⁴⁾もあり、喉頭組織における癌化における要因の一つとして男性ホルモンを挙げる場合、上皮組織のみをその標的と考えるのも無理があると思われる。

一方、男性ホルモンによる結合織に及ぼす影響についての報告にSobel³⁵⁾はテストステロンペレットを組織内に移植し、その周辺における結合織の造成を形態的に認め、さらに実験的胃潰瘍発現がテストステロン等により抑制されることを報告し、Kowalemski

等³⁶⁾は熱傷の治癒過程において膠原線維の合成が促進されるとしている、竹田³⁷⁾はマウスの真皮の線維芽細胞の電顕的形態に雌雄差があり、雄においては扁平嚢状を呈する粗面小胞体の密な平行配列が顕著で、³H-Proline の皮膚コラーゲンへの取り込みを男性ホルモンが促進することを報告しており、Collagen Metabolism に男性ホルモンが関与し組織の剛性に変化をもたらすことが理解できる。

また、上皮組織の発達にとって間充織が正常の組織構築の維持、機能発現に重要であることが知られている³⁸⁾³⁹⁾。さらに、ホルモン作用が直接上皮に作用するのではなく、間充織を介して上皮に作用することが証明されている組織に泌尿生殖洞からの前立腺あるいは腔への分化⁴⁰⁾⁴⁵⁾や乳腺への分化⁴⁶⁾⁵⁰⁾があげられる。

今回の喉頭粘膜層に対するTの取り込みの結果について検討すると、男性の喉頭組織の線維芽細胞にも確認でき、男性ホルモンによる喉頭粘膜層の基質的变化が引き金となり間接的な上皮組織への作用も十分考えられた。この問題に関し確定的な意見は得られていないものの男性ホルモンが結合織に何らかの影響を及ぼしていることだけは事実である。喉頭組織においても性分化の過程において結合織が重要な役割を担っているのかどうか、また、ホルモン音声障害の発症及び癌化の際、結合織が重要な役割を担っているのかどうかは不明である。しかし、今回の結果より³H-Tの正常喉頭組織における結合織での取り込みに男女差がみられた事実から、喉頭の性分化の際、粘膜固有層においても男性ホルモンに対する感受性の質及び程度に相違が生じているものと考えられた。

次に喉頭癌組織について³H-T及びその代謝産物の組織内分布を検討したところ、男性における癌組織では核内への分布が強く、同一喉頭癌組織においてもTの核への取り込み量が多い細胞とそうでない細胞とにより構成されていることが想像できた。組織像と組織内分布の表によりTの取り込み及び大きさの異なった細胞が組織全体に均等に分散しているのではなく、ある一定の男性ホルモンに対する感受性を持つ細胞が限局、集落を形成し、それら mass が喉頭癌組織内に分散しているものと思われた。

さらに、組織標本において核と細胞質の占める面積について比較した際、単位面積当たりのグレーン数が各部位で1と近似値を示すならば、これらのデータは培養中またはARG標本作成中における放射性同位元素標識ステロイドの組織内及び細胞内における自由な

拡散現象に由来することが十分考えられる。そこで単位面積におけるグレーン数の値を用いて、男性の喉頭癌について核に対する細胞質の値の比を算出すると、S群では $23.2 \div 4.8 = 4.8$ となるが、L群 $4.3 \div 3.0 = 1.4$ となり、L群においては1に近似し³H-Tの組織内での拡散を否定できないが、S群においては組織内の³H-Tの分布が細胞内における単なる拡散ではないことが示された。その他、男女の正常喉頭組織、女性喉頭癌組織等ではいずれも、単位面積におけるグレーン数の値を用い、核に対する細胞質の比を算出した値が1に近似しておらず、男性喉頭癌の小型の細胞同様、実験操作中の組織内でのTの自由な拡散移動ではなく、培養組織による能動的なTの移動、取り込みを意味するものと考えられた。

一方、女性の癌組織では、S群のみで比較すると組織へのTの取り込み率が男性の1604個に対し390個と低く、かつ、核内の密度が男性の 23.2 個/ $100\mu\text{m}^2$ に比し 4.4 個/ $100\mu\text{m}^2$ と極端に低値を示し、明らかに男女差を認めた。この成績は喉頭癌が男性に高い発生率を示す臨床的事実を示唆するものかもしれない。また、核内の密度 4.4 個/ $100\mu\text{m}^2$ という値は正常声帯組織細胞の核内の³Hの密度 14.5 個/ $100\mu\text{m}^2$ に比べても低値を示した。これらの成績は、男女の喉頭癌組織では男性ホルモンに対する感受性の相違を示し、女性の喉頭癌では癌化に伴う形質転換の結果、Tの作用機序または作用部位の減少などの何らかの変化が生じたものと考察された。

細胞質上と核上におけるグレーン数のヒストグラムにより男性の喉頭癌組織において、L群では細胞質内にはいったTは核への積極的な移行はないものの、S群の細胞では細胞質に取り込まれたTが積極的に時間的には速い内(1時間以内)に核内に移行している事が理解できた。このことは他のステロイドホルモンの標的組織での作用機序と同様に喉頭癌組織内でもTがARと結合しDHTに代謝された後、核内への能動的な移動をしているものと考えられた。一方、女性では男性に比し遙かに能率が悪いようではあるが、S群の細胞にはいくらか細胞質内Tの核への能動的移動が想像された。

今回用いた喉頭組織において、Tの核への移行率が60%を超えるものが多く存在し、この60-70%に及ぶステロイドの核への移行率は、ラットの子宮における³H-Estradiolの核での分布⁵¹⁾⁵²⁾と近似した値であり、しかも、今回の結果より核へのTの移行が時間的に速

い内に行われていることが確認され、これらのことのみを以て結論することはできないが、喉頭組織細胞での男性ホルモンの核内への移動において、他のステロイドホルモンの標的組織と同様、ホルモンレセプターを介して行われていることが推察された。

結 論

(1)正常喉頭組織上皮及び喉頭癌は男性ホルモンの標的である可能性が示唆され、喉頭癌発生の際、男性ホルモン自体またはその代謝産物が promotor の役を演ずるものか、もしくはこれら物質の作用による組織内変化のいずれかによるにしても男性ホルモンが声帯上皮の発癌過程、癌の成長、発育などになんらかの形で関与しているものと考えられた。

(2)同一喉頭癌組織内において男性ホルモンの核への取り込みの異なる細胞が存在し、喉頭癌組織は性ホルモンに対する色々な感受性を持つ細胞から構成されている可能性、または cell cycle の異なる細胞の集合体であることが示唆された。

(3)男女正常喉頭組織の扁平上皮細胞において³H-T の取り込みに相違があり、男性の正常喉頭組織では核への移行が多く、一方、女性の正常喉頭組織の方が核への移行が遙かに少ないと言う結果を得た。

(4)男女の喉頭組織において組織的な分化に際し、男性ホルモンに対する質または水準において決定的な性差が生じていることが裏付けられた。

(5)男女の正常喉頭組織の扁平上皮細胞における男性ホルモンの代謝に相違が生じることが推測され、人の成長過程のある時期に脳または喉頭組織において性分化の存在することが示唆された。

参 考 文 献

- 1) Overbeek GA, de Visser J: Nor-androstenolone-phenylpropionate, a new potent anabolic ester. *Acta Endocrinol* 24: 209, 1957.
- 2) Flerko B, Illei G: Specificity of action of sex steroids on hypothalamic nervous structures. *Endokrinologie* 35: 123-127, 1957.
- 3) Vermande-Vaneck GT, Chang CH: Action of testosterone propionate on the output of pituitary gonadotrophins in mice. *Cancer Res* 15: 280-284, 1955.
- 4) Rinne UK, Naatanen EK: The effect of nor-androstenolonephenylpropionate on the adrenal cortex and body weight of male rat. *Acta Endocrinol* 27: 415-422, 1958.
- 5) Sala G, Baldratti G, Ronchi R et al: Anabolic activity of a series of new analogues of testosterone. *Sperimentale* 106: 490-510, 1956.
- 6) 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.
- 7) Timonen S, Sonniinen A, Wickman K: Endocrinological laryngopathy. *Ann Clin Gynec Fenn* 51: 107-112 (Suppl), 1962.
- 8) Goldmann JL, Salmon UJ: The effect of androgen therapy on the voice and vocal cords of adult women. *Ann Otol* 51: 961-963, 1942.
- 9) 岡村正美, 沢島正行, 広瀬 肇, 小林武夫, 蔵内祥博 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.
- 10) Damste PH: Voice change in adult women caused by vililizing agents. *J Speech hear Disord* 32: 126-132, 1967.
- 11) 竹越省一: 男女混合および同化ホルモンによる音声障害. *日本医事新報* 2292: 27-30, 1968.
- 12) 牛島達二郎, 小林武夫, 米川紘子, 広瀬 肇, 米山文明: 蛋白同化ステロイドによる音声障害の臨床. *音声言語医学* 10: 41-42, 1969.
- 13) 藤巻龍枝: 喉頭癌の臨床統計的観察 全国医療機関登録患者の生存率調査. *日耳鼻* 76: 533-577, 1973.
- 14) 佐藤武男: 喉頭癌—その基礎と臨床—. 金原出版, 1972.
- 15) Wynder EL, Covey LS, Mabuchi K et al: Environmental factors in cancer of the larynx. *Cancer* 38: 1591-1061, 1976.
- 16) Forest MG: Age-related response of plasma testosterone, Δ^4 -androstenedione, and cortisol to adrenocorticotropin in infants, children and adults. *J Clin Endocrinol Metab* 47: 931, 1978.
- 17) Saez S, Sakai F: Androgen receptors in human pharyngo-laryngeal mucosa and pharyngo-laryngeal epithelioma. *J Steroid Biochem* 7: 919-921, 1976.
- 18) Tuohimaa PT, Kallio S, Henijoki J et al: Androgen receptors in laryngeal carcinoma. *Acta Otolaryngol* 91: 149-154, 1981.
- 19) 伊東真人, 吉田淳一, 松永 亨: 喉頭組織中の男性ホルモン結合蛋白: *日耳鼻* 85: 912-917, 1982.
- 20) Mattox DE, Von Hoff DD, McGuire WL: Androgen receptors and antiandrogen therapy for laryngeal carcinoma. *Arch Otolaryngol* 110: 721-724, 1984.
- 21) Bobin JY, Mayer M, Saez S: Role of androgens on

- larynx tumor growth. *Cancer Treatment Report* 63II : 259, 1979.
- 22) Von Maillot K, Weidenbecher M, Gentsch HH : Advanced larynx cancer, steroid receptor and hormonal treatment. *Cancer Treatment Report* 63II : 259, 1979.
 - 23) Vecerin-Veric : Androgen receptors in normal and neoplastic laryngeal tissue. *Arch Otolarygol Head Neck Surg* : 113, 411-413, 1987.
 - 24) Konishi M : The role of auditory feedback in the vocal behavior of the domestic fowl. *Zeitchrf Tiephsychol* 20 : 349-367, 1963.
 - 25) Nottebohm F, Konishi M, Hillyard S et al : Auditory templates and the ontogeny of birdsong. : In auditory processing of biologically significant sounds. Worden FG, Rebert Galambos (eds) 1970, pp.34-43.
 - 26) Marler P, Peters S : Selective vocal learning in sparrow. *Science* 198 : 519-522.
 - 27) Miller DB : Long-term recognition of father's song by female zebra finches. *Nature* 280, 389-391, 1979.
 - 28) Marler P : Birdsong and speech development : Could there be parallels? *Am Scientist* 58 : 669-673, 1970.
 - 29) Arnord AP, Nottebohm F, Pfaff DW : Hormone concentrating cells in vocal control and other areas of the brain of the zebra finch (*Poephila guttata*). *J Comp Neur* 165 : 487-512, 1976.
 - 30) Kámbíć V, Lenart I : Untersuchungen über die Wirkung von Testosteron auf die Kehlkopfschleimhaut des Hundes. *HNO* 16 : 327-330, 1968.
 - 31) Schätzle W, J Haubrich : Histologische und Histochemische Untersuchungen über die Beeinflussung des Mausekhlkopfes durch Testosteronderivate. *Arch Klin Exp Ohr Nas Kehlkopfheilk* 187 : 722-725, 1966.
 - 32) Haubrich J, Schätzle W, Stennert E : Histologische und Histochemische Untersuchungen zur Frage der Reversibilität von Kehlkopfveränderungen bei der weiblichen Maus nach Androgenbehandlung. *Z Laryng Rhinol Otol* 49 : 168-175, 1970.
 - 33) Sakakura T, Sakagami Y, Nizuka Y : Acceleration of mammary cancer development by grafting of fetal mammary mesenchymes in C₃H Mice. *Gann* 70 : 459-464, 1979.
 - 34) Sakakura T, Sakagami Y, Nizuka Y : Accelerated mammary cancer development by fetal salivary mesenchyma isografted to adult mouse mammary epithelium. *JNCI* 66 : 953-957, 1981.
 - 35) Sobel H, Marmorston J : Hormonal influences upon connective tissue changes of aging. *Recent Progress Hormone Reserch* 14 : 457-481, 1958.
 - 36) Kowalewski K, Heron F : Effects of thermal injury of excretion of hydroxyproline in rats. treated or not with anabolic androgen. *Acta Endocri* 64 : 541-547, 1970.
 - 37) 竹田俊男 : コラーゲン線維形成, 成熟と内分泌. *Bull Chest Dis Res Inst Kyoto Univ* 8 : 20-21, 1974.
 - 38) Grobstein C : Inductive tissue interaction in development. *Adv Cancer Res* 4 : 187-236, 1956.
 - 39) Grobstein C : Mechanism of organogenetic tissue interaction. *Natl Cancer Inst Monogr* 26 : 279-299, 1967.
 - 40) Bernfield MR, Wessle NK : Inner-and extracellular control of epithelial morphogenesis. *Dev Biol (suppl)* 4 : 195-249, 1970.
 - 41) Tarin D (ed) : Tissue interactions in carcinogenesis, Academic Press, London and New York, 1972, pp. 1-477.
 - 42) Cunha GR : Tissue interactions between epithelium and mesenchyme of urogenital and integumental Origin. *Anat Rec* 172 : 529-542, 1972.
 - 43) Cunha GR : Epithelio-mesenchymal interactions in primordial gland structures which become responsive to androgenic stimulation. *Anat Rec* 172 : 179-196, 1972.
 - 44) Cunha G, Lung B : The importance of stroma in morphogenesis and functional activity of urogenital epithelium. *In Vitro* 15 : 50-71, 1979.
 - 45) Lasnitzki I, Mizuno T : Role of the mesenchyme in the induction of the rat prostate gland by androgens in organ culture : *J Endocrinol* 82 : 171-178, 1979.
 - 46) Kratochwil K : Organ specificity in mesenchymal induction demonstrated in the embryonic development of the mammary gland of the mouse. *Dev Biol* 20 : 46-71, 1969.
 - 47) Kratochwil K, Schwartz P : Tissue interaction in androgen response of embryonic mammary rudiment of mouse : Identification of target tissue for testosterone. *Proc Natl Acad Sci USA*, 73 1976, pp. 4041-4044.
 - 48) Drews U, Drews U : Progression of mouse mammary gland anlagen in recombinants of Tfm and wild-type tissues : Testosterone acts via the

- mesenchyme. Cell 10: 401-404, 1977.
- 49) Drunbergar H, Kratchwil K: Specificity of tissue interaction and origin of mesenchymal cells in the androgen response of the embryonic mammary gland. Cell 19: 465-471, 1980.
- 50) Heuberger B, Fitzka I, Wasner G et al: Induction of androgen receptor formation by epithelium mesenchyme interaction in embryonic mouse. Proc Natl Acad Sci USA 79: 2957-2961, 1982.
- 51) Stumpf WE: Subcellular distribution of ^3H -estradiol in rat uterus by quantitative autoradiography-a comparison between ^3H -estradiol and ^3H -norethynodrel. Endocrinology 83: 777-782, 1968.
- 52) Jansen EV, De Sombre ER: Estrogenreceptor interaction. Science 182: 126-134, 1973.
-
- 稿を終えるに臨み、御校閲を賜りました竹山勇教授に深く感謝いたします。なお本研究の一部は、第8、9回日本頭頸部腫瘍学会及び第85回日本耳鼻咽喉科学会にて報告した。
- 本研究の一部は昭和61年度文部省科学研究費（課題番号61771331）の補助により行われた。
-
- （原稿受付 昭和62. 5.25日）
- 別刷請求先 〒213 川崎市宮前区菅生2-16-1
聖マリアンナ医科大学耳鼻咽喉科学教室 漆畑 保

<div data-bbox="131 1545 158 1738">A 91—0364—22851</div> <div data-bbox="134 1012 158 1078">日耳鼻</div> <div data-bbox="193 1126 216 1624">ヒスタミンの中耳粘膜線毛運動機能に及ぼす影響</div> <div data-bbox="225 1159 290 1593">江崎裕介・大橋淑宏・池岡博之・古下博之 中井義明 (大阪市大)</div> <div data-bbox="301 1012 633 1738">アレルギー反応に際して重要な役割を担うと考えられるヒスタミンをモルモット中耳粘膜に <i>in vitro</i> で作用させ、photoelectric method を用いて線毛打頻度の変化を観察した。10⁻⁶M から 10⁻⁴M の濃度においては線毛打頻度は有意の上昇を示し、耳管近位部粘膜においては dose-response relationship が観察された。ヒスタミンは炎症時の異物除去に関与している可能性が示唆された。10⁻⁶M のヒスタミンによる線毛運動亢進作用は、10⁻⁶M のジフエニヒドラミンに影響されず、10⁻⁶M のシメチジンによって約50%抑制されたことから H₂ 受容器を介する作用であることが考えられた。</div>	<div data-bbox="131 772 158 962">A 91—0348—50521</div> <div data-bbox="134 237 158 303">日耳鼻</div> <div data-bbox="193 361 216 840">咽喉頭異常感に対する咽喉頭粘膜表面麻酔効果</div> <div data-bbox="225 340 268 871">山際幹和・久保将彦・原田輝彦・坂倉康夫 (三重大)</div> <div data-bbox="287 229 649 962">咽喉頭異常感を有する450名を対象として咽喉頭粘膜の表面を軽く麻酔した際の効果を検討したところ、80%の例で異常感覚は10%以上軽減し44%の例でそれは消失した。この結果、異常感覚をひきおこしている原因の少なくとも80%は咽喉局所に存在し、異常感覚を感受し認知する感覚器系統は局所麻酔剤により抑制されうる性状を有していることが判明した。咽喉頭異常感を訴える患者の診療に際して、局所の表面麻酔効果を検討することは原因となる疾患を検索するうえで重要であり、治療方針を立てるうえでも有用である可能性がある。</div>
<div data-bbox="685 1545 712 1738">A 91—0370—61310</div> <div data-bbox="688 1012 712 1078">日耳鼻</div> <div data-bbox="741 1126 766 1671">喉頭組織の男性ホルモン親和性についての実験的研究</div> <div data-bbox="776 1238 805 1524">漆畑 保 (聖マリアンナ大)</div> <div data-bbox="814 1012 1189 1738">正常喉頭組織及び喉頭癌組織内での男性ホルモンの親和性部位を検討した結果、喉頭組織への³H-Tの取り込みが確認された。さらに同一喉頭癌組織内において男性ホルモンの核への取り込みの異なる細胞が存在し、喉頭癌組織は性ホルモンに対する色々な感受性を持つ細胞から構成されている可能性が示唆された。また、男女正常喉頭組織の扁平上皮細胞において³H-Tの取り込みに相違があり、男性の正常喉頭組織では核への移行が多く、一方、女性の正常喉頭組織の方が核への移行が遙かに少ないと言う結果となり、男女の喉頭組織において組織的な分化に際し、Tに対する質または水準において決定的な性差が生じていることが裏付けられた。</div>	<div data-bbox="685 772 712 962">A 91—0356—23141</div> <div data-bbox="688 237 712 303">日耳鼻</div> <div data-bbox="755 407 783 790">蝸牛窓膜透過性に関する実験的研究 I</div> <div data-bbox="796 450 825 755">浜口幸吉・坂倉康夫 (三重大)</div> <div data-bbox="840 229 913 962">中耳炎における蝸牛窓膜透過性の時間的変動および中耳の炎症反応の程度と膜透過性との相関性についての研究を行った。</div> <div data-bbox="924 229 1210 962">ヒトアルブミン(以下 HSA と略す)にて全身感作したチンチラを用いて、中耳骨腔内へ注入した HSA により惹起されるアルサス中耳炎における HSA の内耳移行の有無およびその時間的変動(12~48時間)を外リンパ中の HSA 量に基づいて検討した。さらに、中耳液の生化学的分析結果より、中耳粘膜の炎症レベルと蝸牛窓膜透過性との相関についても検討した。また、ステロイド剤の中耳内同時注入による膜透過性への影響についても分析を行った。</div>