内外リンパ混合による前庭半規管障害に関する実験的研究

中井 義明・小西 一夫・張 寛正

大橋 一博・栢谷 治彦

Experimental Study on the Disorders of the Vestibule and Semicircular Canals Due to Intermixture of Endolymph and Perilymph

Yoshiaki Nakai, Kazuo Konishi, Kuan-cheng Chang,

Kazuhiro Ohashi and Haruhiko Masutani

(Osaka City University)

As a mechanism of the attack of Meniere's disease, membrane break theory is proposed. The detailed observation of the effects induced by the mixture of endolymph with perilymph was considered to be useful for the diagnosis and treatment of vertiginous disease. We ruptured the saccular membrane of the guinea pig and observed the effects functionally and morphologically.

Functionally, horizontal-rotatory-mixing spontaneous nystagmus to the healthy side was observed, however, behavioral observation revealed no deviating tendency.

Morphologically, the degenerations of the sensori-epithelium, which were resemble to that induced by drug intoxication or accelerating stimulus, were found in the maculae and the cristae ampullares. There were only slight disorders at the organ of Corti. Many vacuoles and vesicles and partial swelling were observed in the marginal cells, these findings were resemble to that of the dark cells and transitional cells of the cristae ampullares.

By these results, discussions were made on the relationship among the range of degeneration, endolymphatic flow and the attack of Meniere's disease.

緒 言

メニエール病に於けるめまい発作発現の機序として、内リンパ水腫の生じた膜迷路破裂説が Lawrence¹⁾, Schuknecht²⁾³⁾以来提唱されており、又、膜迷路破裂により生じたと思われる感音性難聴の症例報告も認められる⁴⁾⁵⁾。膜迷路破裂に伴なう内外リンパ混合は内耳機能に影響を及ぼす事は容易に想像されるが、実験的にも Duvall⁶⁾⁷⁾らにより主に蝸牛での形態的变化が報告されている。

我々は、内外リンパ混合の及ぼす影響を詳細に観察する事がメニエール病をはじめとするめまい疾患の診断、ひいては治療の一助となるものと考え、実験的にモルモットの球形囊膜を穿孔し、機

能的には自発眼振を, 形態的には内耳, 特に前庭半規管に及ぼす障害を観察し, ここに報告する。

実験方法

実験動物には体重約 400 g, 鼓膜所見及びブライエル反射正常のハートレイ系モルモット 30 匹を使用した。ペントバルビタール 30mg/Kg 腹腔内注射による麻酔下に右側耳介後部に皮切を加え, 軟部組織を剥離し側頭骨を露出する。骨を削開し中耳腔を開放した後, 手術用顕微鏡下に顔面神経管壁を一部削除し正門窓と鐙骨を明視下に置き, 正門窓と鐙骨底に極めて近接した骨壁に約 0.1 mm の小孔をあけ外リンパ流出を確認する。その小孔より微細な彎曲した鉤を球形嚢に向けて刺入し穿孔する。穿孔後は外科用瞬間接着剤にて骨小孔表面を被覆し, 更に中耳腔も閉鎖する。セファロスポリン系抗生物質を局所に撒布し軟部組織を縫合する。以上の操

作は無菌的に施行する。術後は連日セファロスポリン系抗生物質 100mg/Kg を筋注した。

1 週間後断頭, 側頭骨を採取し 2.5% グルタルアルデヒド, 2% オスミック酸にて 2 重固定の後脱水, 一部は常法に従いエポキシ樹脂包埋し, 光学顕微鏡及び日立 HS-9, H-300 型透過電子顕微鏡にて観察した。一部は臨界点乾燥後金蒸着を施し, JOEL-50A 型走査電子顕微鏡にて観察した。

5 匹については平衡機能障害の有無観察の為行動観察を施行すると共に, 術後 4 時間, 1 日, 2 日, 3 日に眼振計にて自発眼振を記録した。なお試料作製時中耳炎, 内耳炎などの感染を生じていたものは観察の対象より除外した。

結

手術施行したモルモット 30 匹中, 手術失敗 2 例, 手術後死亡 5 例, 中耳炎, 内耳炎惹起したもの 7 例で, 残り 16 例について観察を行った。

(1) 機能的観察

球形嚢膜穿孔翌日, 軽度には頭部を患側に回旋している例を認めたが 2 日後より軽減した。自発眼振は手術後 2 日目まで健側向き水平回旋混合性眼振が認められた (Fig. 1)。その頻度, 振幅とも経時的に減少し, 3 日後より自発眼振は消失した。

行動観察では, 手術後よりその行動量が極めて減少したが, 翌日よりモルモットの殿部を刺激すると左右に偏倚せずに前進する事が可能であった。

(2) 形態的变化

(1) 耳石器の変化

耳石器には多少の大小不同を認めるものの (Fig. 2), 特に有意の所見とは考えられなかった。一部に炎症性細胞と思われるものが耳石に付着している像も観察された。 (Fig. 3)

果

感覚上皮は II 型細胞に比較し I 型細胞の障害が著明で (Fig. 4), ミトコンドリアや小胞体などの細胞内小器官の膨化, 核の濃縮から空胞形成, 神経杯との離開, 更には神経細胞の消失まで種々の程度の変性所見を呈した (Fig. 5)。II 型細胞にも小空胞の形成や核の濃縮が, 又, 支持細胞にも大きな空胞形成がみられたが, 神経終末や神経線維には障害は認められなかった。神経細胞感覚毛は cuticula free area より生じた膨隆により囲みこまれたり, 感覚毛の融合が散見された (Fig. 6)。内リンパ腔には膜で囲まれ, 内に無構造物質を入れたものが散在していた。

(ii) 半規管膨大部

感覚上皮の障害は耳石器平衡斑とはほぼ同一の様相を呈した。すなわち, I 型細胞に神経杯との離開や大小の空胞形成, 神経細胞の消失などを認めた。II 型細胞や支持細胞の変性所見や, 内リンパ腔の膜の囲まれた無構造物質も平衡斑と同様であった (Fig. 7)。

球形囊膜穿孔後の自発眼振

Fig. 1: 球形囊膜穿孔後の自発眼振
健側向き水平回旋混合性自発眼振を認める。

Fig. 2: 球形囊膜穿孔後1週間に於ける耳石
多少の大小不同を認るが有意の所見
とは思われない。

移行細胞表面は凹凸不整，膨隆及びその破裂像，分泌顆粒又は細胞破片と思われるものの付着像が認められ（Fig. 8），胞体内にも大小空胞形成，核の濃縮を認めた．暗細胞にもほぼ類似の所見がみられた．なお，クプラについては標本作成操作による変性もある為観察していない。

(iii) 蝸牛の変化

Fig. 3: 同時期の耳石
耳石表面に炎症性細胞と思われるもの
の付着像が稀に観察される。

蝸牛コルチ器は走査電顕的には各回転とも聴毛の変形融合，消失などの変化を認めなかった（Fig. 9）．透過電顕的にも変性所見は乏しく，細胞膜下槽の乱れや小胞体の膨化などを示すのみであった．下方回転に於いてダイテルス細胞が膨隆と有毛細胞体中央部まで包み込んでいる像も稀に観察された．神経終末及び神経線維には変化を認めなかった．しかし唯一例に於いて中央階が虚脱し，聴毛の消失，著明な空胞

Fig. 4 : 球形嚢感覚上皮の障害像
障害はⅠ型細胞に著明で, Ⅱ型細胞, 支持細胞にも軽度の変性所見を認める. 内リンパ腔内に膜で囲まれた無構造物が散見される。

Fig. 6 : 球形嚢感覚上皮感覚毛の融合。

Fig. 5 : 同部拡大像
Ⅰ型細胞にミトコンドリアや小胞体などの膨化や神経杯との離隔, 大小空胞形成などを認める。

Fig. 7 : 半規管膨大部稜感覚上皮
平衡斑感覚上皮と同様Ⅰ型細胞に強い障害を認める。

Fig. 8 : 半規管膨大部移行上皮
表面の凹凸不整, 膨隆及び破裂像, 分泌顆粒又は細胞破片と思われるものの付着像を認める。

Fig. 9: 蝸牛第1回転走査電顕像
蝸牛コルチ器は各回転とも殆んど障害を認めない。

Fig. 10: 蝸牛第2回転透過電顕像
ただ1例において、中央階の虚脱、有毛細胞の消失、ダイテルス細胞による置換など高度の変性を認めた。

考

メニエール病の基本病理として内リンパ水腫が一般的に考えられている。1938年山川⁸⁾以来メニエール病患者の剖検例で数多くの内リンパ水腫が報告されている。⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾。しかし、内リンパ水腫のみでは反復するめまい発作を説明し得ず、その発作発現の機序として、Lawrence¹⁾、Schuknecht²⁾³⁾以来膜迷路破裂説が提唱されている。Schuknechtによれば、膜迷路破裂に伴う急激な内リンパ流動の変動がクブラや耳石膜の偏位をもたらすと共に、内外リンパ混合による外リンパカリウムイオン濃度上昇が前庭神

形成、細胞膜の断裂、有毛細胞の消失、ダイテルス細胞の膨隆及び置換などが観察された (Fig. 10)。

血管条に於いては、辺縁細胞、中間細胞の大小の空胞形成、自由表面への軽度の膨隆及び破裂像、細胞間隙の軽度増大を認めた (Fig. 11)。基底細胞及び毛細血管には変化は殆んどみられなかった。

Fig. 11: 血管条透過電顕像
辺縁細胞、中間細胞に大小の空胞形成、自由表面の膨隆及び破裂、細胞間隙の軽度増大を認める。

察

経線維の一時的麻痺を惹起すると述べている。しかし内外リンパ混合そのものが前庭あるいは蝸牛の感覚細胞に形態的变化をもたらすとは言及していない。

一方、Simmons はめまいを伴う可逆性感音性難聴の原因としてライスネル膜破裂及び正円窓又は卵円窓膜破裂によると考えられる症例を“The membrane break syndrome”として報告している。すなわち、膜迷路破裂に伴う内外リンパのイオン組成の変動が広汎かつ重篤な機能障害をもたらし、その組成の回復と共に

機能も回復するが、穿孔部に於けるコルチ器の器質的变化により小範囲の永久的聴力低下が残存すると推察している。又、Duvall⁶⁾⁷⁾ らは実験的にモルモットの蝸牛頂回転のライスネル膜を穿孔させた結果、穿孔部より上下 1 mm に渡る外有毛細胞の変性と穿孔部より頂回転側の血管条及びらせん靱帯の萎縮などを報告し、内外リンパ混合が内耳に器質的变化をもたらす事を示した。

今回我々は内外リンパ混合を目的として球形囊膜を実験的に穿孔し、その結果種々の形態的变化を生じる事を確認したが、Kaufman¹³⁾ らはネコの球形囊膜穿孔後 4 時間にわたり蝸牛電位を測定した結果変化を認めないと報告している。五十嵐¹⁴⁾ はリス猿の球形囊膜を選択的に破壊した実験で組織学的に変化を認めないとしている。これらの報告は我々の今回の実験結果と相反するものであるが、Kaufman らの実験は形態的变化を惹起するにはあまりにも観察期間が短かく、五十嵐の報告も例数が少なく、光学顕微鏡の観察にとどまっている。

我々の観察では、球形囊膜穿孔一週間後に於いて耳石器平衡斑感覚上皮に種々の程度の変性所見を認めた。この様式は種々の薬剤や加速度刺激負荷と同様¹⁵⁾¹⁶⁾ I 型細胞に顕著であった。この障害は耳石器のみならず半規管膨大部嵴感覚上皮にまで波及するが蝸牛コルチ器はあまり障害されない。一方では、暗細胞、移行上皮、血管条に比較的類似の障害を認めた。

内リンパ流動は蝸牛回転に沿って流動し内リンパ囊で吸収されるという longitudinal flow¹⁷⁾ 説と蝸牛各部に於いて膜迷路を介して水分その他の物質交換が行なわれるという radial flow 説⁶⁾ がある。更に Juhn¹⁸⁾ らによれば内リンパは外らせん隆起、外らせん溝、内リンパ囊で吸収され、longitudinal flow 及び radial flow 両者が生じていると考えている。更に内耳は計統発生上、半規管、卵形囊より成る pars superior と球形囊、蝸牛より成る pars inferior に分けられ、両者の間は卵形囊内リンパ弁により

区切られ別々の内リンパ系が存在するという考え方が¹⁹⁾ある。

我々の観察では pars inferior に属する球形囊での障害が pars superior である半規管に同程度に波及するのに対し、同じ pars inferior である蝸牛にはあまり障害を及ぼさない。これは球形囊から蝸牛に至るには内リンパ流動に逆行する形になり影響が波及しにくく、又、卵形囊内リンパ弁が pars inferior と pars superior 間の仕切り弁としてあまり機能しなかった事が推察される。唯一例に於いて認められた蝸牛中央階の虚脱、有毛細胞の消失など著明な変性所見は、穿孔部骨壁の閉鎖不全により内外リンパ混合と中耳腔への流出が持続した為に生じたと思われる。一方、膨大部移行細胞、暗細胞、血管条辺縁細胞に類似の変性所見を認めた事は、これらの細胞の機能が内リンパ産生又は吸収に関与すると考えられている事²⁰⁾より、変化した内リンパ組成を回復しようと務めた結果あらわれた形態的表現であると思われる。

術後 2 日目まで認められた健側向き水平回旋混合性眼振は、球形囊機能の脱落症状ではなく、一側の前庭機能の低下によるものと考えられる。鈴木²¹⁾²²⁾ らは中耳炎の内耳波及による眼振はその侵入部位により特徴的であり、卵門窓(耳石器)より侵入した場合は純回旋性となり、一側の内耳全体に波及すると水平回旋混合性になる事を臨床的に報告している。今回の成績はこの知見と一致し、形態的にも一側迷路全体の障害による事が確認された。

我々は本実験に於いて、球形囊に生じた内外リンパ混合が機能的障害及び前庭半規管に形態的变化をもたらす事を述べたが、実際に人体的に於いて同程度の障害が惹起されるかは疑問である。外科的手技を必要とする実験的研究には骨削開時の振動、血液の混入、外リンパの流出、炎症又は感染など種々の人工産物の入る可能性があり、今回の観察対象よりこれらの危険性のあるものを除外したが、観察例にも皆無とは断言できない。内リンパ水腫状態で生じた膜

迷路破裂と正常迷路に生じた破裂では、内外リンパの混合状態、内リンパの流出又は外リンパの流入の程度が異なり両者を同レベルに論じる事はできない。メニエール病に於いて今回の実験結果の如き形態的变化が生じているとすれば、当然現在まで報告されているはずであるし、又、メニエール病の病型もおおのずと異ったものになると考えられる。すなわち我々は、内外リンパ混合が内耳に形態的变化を及ぼすが、人体内で自然に発生した膜迷路破裂では、その程度はより軽度であると考えている。

今回の観察では穿孔部の膜の修復状態を観察する事ができなかった。Duvall⁶⁾らはライスネル膜は穿孔後2週間以内に修復すると報告しており、篠崎²³⁾らは内リンパ水腫モルモットのライスネル膜に穿孔や out-pouching を認めている。穿孔した膜の修復は穿孔の大きさにも関与すると思われるが、今後修復様式や時期などについて観察を加えたい。更に、内リンパ水腫動物における実験的膜迷路穿孔の形成、長期間に渡る形態的变化の推移、利尿剤やステロイドなど治療効果の判定など今後検討を加えたい。

ま と め

モルモットの球形囊膜を実験的に穿孔し、内外リンパ混合のもたらす影響を機能的形態的に観察し、以下の結果を得た。

- ① 手術後2日まで健側向き水平回旋混合性眼振が認められた。
- (2) 1週間後の形態的变化は耳石器平衡斑のみならず半規管膨大部に及んだ。
- (3) 感覚上皮の障害はI型細胞に著明であるが、II型細胞、支持細胞にも軽度の変性所見を示した。
- (4) 蝸牛コルチ器にはほとんど変化を認めなかった。
- (5) 膨大部移行細胞、暗細胞、血管条辺縁細胞に類似の変性所見を認めた。
- (6) ただ一例蝸牛中央階の虚脱、コルチ器有毛細胞など高度の変性所見を認めた。

以上の結果より障害の進展と内リンパ流動、メニエール病発作との関連などについて考察を加えた。

本研究は厚生省特定疾患前庭機能異常調査研究費による成果である。

参 考 文 献

- 1) Lawrence, M. and McCabe, B. F.: Inner ear mechanics and deafness: Special consideration of Ménière's syndrome. JAMA **171**: 1927-1932, 1956.
- 2) Schuknecht, H. F.: Ablation therapy for the relief of Ménière's disease. Laryngoscope **66**: 859-870, 1956.
- 3) Schuknecht, H. F. et al.: Further observation on the pathology of Ménière's disease. Ann. Otol. **71**: 1039-1053, 1962.
- 4) Simmons, F. B.: Theory of Membrane Braks in Sudden Hearing Loss. Arch. Oto-Rhino-Laryng. **88**: 41-48, 1968.
- 5) Goodhill, V.: Labyrinthine Membrane Ruptures in Sudden Sensorineural Hearing Loss. Proc. R. Soc. Med., **69**: 585-572, 1976.
- 6) Duvall, A. J. III, et al.: Ultrastructure of the organ of Corti following intermixing of cochlear fluids. Ann. Otol. **76**: 688-708, 1967.
- 7) Duvall, A. J.: Ultrastructure of the lateral cochlear wall following intermixing of fluids. Ann. Otol. (St. Louis) **77**: 317-331, 1968.
- 8) Yamakawa, K.: The pathology of a labyrinth with Ménière's disease. Jap. J. Otol. **44**: 2310-2312, 1938.
- 9) Altmann, F. and Kornfield, M.: Histological studies of Ménière's disease. Ann. Otol. **74**: 915-943, 1965.

- 10) Lindsay, J. R., Kohut, R. I. and Sciarra, R. A.: Ménière's disease. Pathology and manifestations. *Ann. Otol.* **76**: 5-22, 1967.
- 11) Gussen, R.: Ménière's Disease: New temporal bone findings in two cases. *Laryngoscope* **81**: 1695-1707, 1971.
- 12) Simmons, F. B.: The double membrane break syndrome in sudden hearing loss. *Laryngoscope* **89**: 59-66, 1979.
- 13) Kaufman, R. S., Tonndorf, and Khannas, S.: Short-Term Changes in Cochlea Microphonics after Perforation of the Saccula in the Cat. *Laryngoscope* **76**: 719-732, 1966.
- 14) Igarashi, M.: Histopathological findings after experimental saccula destruction in the squirrel monkey. *Laryngoscope* **75**: 1048-1061, 1965.
- 15) 中井義明: 微細構造よりみた前庭半規管の発生およびその病態. *Equilibrium Res.* **39**: 169-173, 1980.
- 16) 中井義明: 前庭半規管感覚上皮の病態. *耳鼻* **19**: 863-874, 1973.
- 17) Lundquist, P. G.: Aspects on endolymphatic sac morphology and function. *Arch. Oto-Rhino-Laryng.* **212**: 231-240, 1976.
- 18) Juhn, S. K. and Rybak, L. P.: Labyrinthine barriers and cochlear homeostasis. *Acta Otolaryngol.* **91**: 529-534, 1981.
- 19) 石井哲夫: メニエール病の基礎問題. 第 5 回耳鼻咽喉科学講習会テキスト. 47-56, 1979.
- 20) 原田康夫: 前庭特殊細胞の走査電顕的観察. *耳鼻臨床* **66**: 1293-1300, 1973.
- 21) 鈴木淳一: Labyrinth ocular reflex. *神経研究の進歩.* **18**: 698-709, 1974.
- 22) 鈴木淳一: 目で見える神経耳科学のポイント. *治療,* **56**: 1669-1687, 1974.
- 23) Shinozaki, N. and Kimura, R. S.: Scanning electron microscopic observations on the distended Reissner's and Saccular membranes in the guinea pig. *Acta Otolaryngol.* **90**: 370-384, 1980.