実験的正円窓破裂の聴覚生理学的 組織学的研究

柳 原 弘 男

Experimentally-Induced Round-Window Membrane Rupture in Guinea Pigs: a comparative study of hearing and cochlea histopathology

Hiroo Yanagihara

(Ehime University)

The initial part of the present investigation clarified the relationship between hearing impairment and the pathology of the cochlea in experimentally-induced round-window membrane (RWM) rupture. The auditory brain stem response (ABR) was employed to assess hearing of the animals. In 15 (56%) of the 27 guinea pigs, hearing loss immediately after the rupture remained within 10 dB. In these animals, there was no injury of the organ of Corti, despite hemorrhage in the perilymphatic space. In 4 of the 7 animals which survived from 7 to 100 days, during which hearing loss was within 10 dB immediately after the rupture of the RWM, no further deterioration of hearing ensued, and there was no specific pathologic change in the cochlea except for hemorrhage of the perilymphatic space. The results indicated that the RWM rupture alone might not cause serious hearing impairment as long as the organ of Corti remained intact.

In the latter part of the present study, comparative histological study of the healing process of the RWM ruptures was performed in 13 guinea pigs using the fascia and the perichondrium. After the RWM was totally ruptured, it was closed with the temporal fascia in 6 guinea pigs and with the perichondrium in 7. One to three months after surgery, histological specimens of the RWM were obtained. Either the temporal fascia or perichondrium seemed to function as a "supporting guide" in closure of the RWM and the healing process of the RWM rupture with these materials were essentially the same. Complete absorption of these materials usually took three months.

目 次

I 章 緒言	2. 実験成績
II 章 文献的考察	3. 考按
III 章 実験的正円窓破裂の聴覚に及ぼす影響の検討 (ABRを指標として)	IV 章 実験的正円窓破裂症における内耳病態の組織 学的研究
1. 実験方法	1. 実験方法

2. 実験成績	1. 実験方法
3. 考按	2. 実験成績
V章 実験的正円窓破裂の閉鎖法に関する組織学的研究	3. 考按
	VI章 全章の総括

I 章 緒 言

内耳窓破裂症の歴史は浅い。1971年、Goodhill¹⁾らが内耳窓破裂症 labyrinthine membrane rupture という疾病概念を確立し、その成因に関し、外方爆発破裂 explosive rupture, 内方爆発破裂 implosive rupture という仮説を提唱して以来、欧米においてはこの疾患についてにわかに関心が高まり^{2)~13)}、かなりの数の症例が報告されている。本邦においては、寺山¹⁴⁾らが1977年に本症を初めて紹介してから、最近になって本症の症例報告が散見されるようになった^{15)~21)}。

本症は適切な治療、特に発症早期の手術的治療によって改善することができる唯一の急性感音性難聴である。その意味で本症の臨床像と診断及び治療に関する詳細かつ系統的な臨床研究は勿論であるが、破裂の成因、破裂の聴覚に及ぼす影響、破裂の修復の機転などについて基礎的レベルで研究することはきわめて有意義であると考えられる。内耳窓破裂症の一型である正円窓破裂を、手術により初めて確認したのは Pullen²⁾ (1972) である。著者は、彼を含めその後に報告された正円窓破裂確実例39症例について、詳細な文献的考察を行ったが、本症の臨床像は多彩であり、診断の決め手となる特異的な症状や所見が何であるかが未だに明らかでない。例えば聴力像についていえば、純感音性難聴を示すものもあれば、混合性難聴を示す症例もあり、難聴の程度も一様でない。聴力型についてみても、高音障害型、水平型、低音障害型などを示す症例があり、本症に特異的な聴力型は認められない。また発症後の臨床経過は多様で、予後を推定できる所見についても不明の点が少ない。以上の意味から、まず本研究の III, IV 章では正円窓破裂症のモデル動物により、実験的に内耳窓破裂における聴覚障害と内耳の組織学的変化について検討し、本症の診断の確立に資することを意図した。また正円窓破裂の修復、手術においては、数種の閉鎖材料が用いられている。しかし閉鎖のプロセスや何をどのように使用すれば最も効果的であるかに関して、統一の見解には至っていない。本研究の V 章ではこの問題の解決を意図した。

II 章 文献的考察

実験的に正円窓を破裂して、聴覚に及ぼす影響について最初に研究を行ったのは Simmons²²⁾ら (1966) である。彼らは猫を用い、蝸牛マイクロフォン電位 (Cochlear Microphonic 以下 CM と略) を聴覚の指標として、正円窓破裂前後の CM の変化を記録した。記録電極は正円窓窩に置かれた。破裂には注射用皮内針を用い、正円窓の $\frac{1}{2}$ を穿破し、外リンパ液の流出を確認した。破裂後 1 時間以内では中耳腔に貯留する外リンパ液を吸引すれば、CM の低下は回復するが、1 時間以後は CM の回復は見られなくなる。1 時間以後の著しい聴力低下は、蝸

牛に何らかの障害が起こったものと推察した。破裂後 1 日以後、35 dB 以上の聴力損失が起こることがあるが、その後は回復に向かい、1~4 週間には 3~4 dB 以内まで CM は回復した。

Simmons は以上の聴力変化の経過を 2 つの時期に分けた。第 I 期は穿孔後聴力が徐々に低下し、聴力損失が一定のレベルに達するまでの時期であり、第 II 期は聴力の回復する時期で、破裂後 2~4 週間の期間がこれにあたる。実験動物の $\frac{1}{2}$ は I・II 期が典型的に見られたが、 $\frac{1}{3}$ の動物においては聴力が術前のレベルまでには

回復しなかった。聴力が回復しない理由として、手術の失敗、中耳・内耳の感染、正円窓破裂と同時に基底膜が損傷されたものと推察した。また聴力の回復しなかった例の蝸牛には肉芽を認めた。

Axelsson²³⁾(1977)は、正円窓破裂の聴覚に及ぼす影響を、モルモットにより実験的に検討した。聴覚の指標はCMに拠り、記録電極は正円窓窩に置いた。破裂後の聴力障害の程度は変化に富み、破裂直後にCMが全く消失したものから、術前のCMのレベルがそのまま維持されたものもあり、一定の傾向は認められなかった。更に中耳・内耳の組織学的検索を行い、以下の結論を得た。1) 破裂直後から2週間は中耳に炎症を認めたが、それ以後は炎症は消退した。2) 破裂後早期には正円窓膜に凝血塊が認められたが、破裂後10日以降では全例において、正円窓の破裂は閉鎖した。3) 正円窓膜が閉鎖していても鼓室階にしばしば出血を見た。4) 術後10日以内に正円窓膜が閉鎖していない例では、前庭階にも出血があった。中央階における有毛細胞の障害は軽微であるが、時に血管条の変性が認められた。5) 以上の組織学的異常所見とCMの変化の間には相関を認めなかった。

Weisskopf²⁴⁾(1978)もモルモットを用い、CMを指標として正円窓膜破裂後の聴覚の変化を検討した。彼の実験では基底回転に記録電極を埋め込むことにより、外リンパ液によりCMの記録が影響を受けることを回避することに成功し、実験の信頼性を高めた。正円窓膜は耳手術用鉤によって正円窓全周にわたって除去した。穿破直後の聴力損失は平均 6 dB で、穿破後8時間を経過し、外リンパの漏出が確認された例でも、CMの低下が進行することはなかった。破裂直後にCMが比較的低下したものを選び、聴力の変化を破裂後一定期間をおいて記録した。破裂後1週間目では全ての周波数で破裂直

後より更にCMの反応低下が認められたが、破裂後9週目にはCMは術前のレベルまで回復した。以上の成績から、臨床例における正円窓破裂例の高度難聴は、正円窓膜の穿孔だけによるものではなく、併発する蝸牛障害によるものと推察した。すなわち、1) 鼓室階、前庭階、中央階の出血または循環不全とコルチ器の破壊、2) 外リンパ瘻と同時に起こった内耳炎、3) 内リンパ液と外リンパ液が混合し、いわゆる内リンパ液による外リンパ液の汚染のためのコルチ器の乏血、糖代謝の不全などを挙げている。

深谷²⁵⁾(1981)はモルモットを用い、正円窓窩に置いた電極によりCMを記録し、正円窓膜破裂後のCMの変化を追跡した。彼の実験では手術後10日目、平均 20 dB の損失が認められたが、30日目には聴力は術前レベルまで回復した。

以上の諸家の実験成績は、正円窓破裂直後の聴力の変化は比較的軽度であること、一定期間を過ぎると蝸牛内に起こる種々の障害により聴力の悪化が起こるが、大多数の例において聴力は破裂前のレベルに回復しうること示唆している。しかし中耳内にCMの記録電極を設置した以上の実験では、電極先端部のインピーダンス変化、中耳内の異物反応などのために起こる電位低下やアーチファクトの混入が避けられない。特に破裂後の聴力変化の経過を忠実に観察し、組織学的所見との対比を求めるには、中耳・内耳に影響を及ぼさない方法で聴力を記録し評価することが必要となる。著者は、頭頂部に記録電極を長期設置し聴性脳幹反応を記録することにより、以上述べたCM記録法での破裂後の聴力変化を観察し、組織的变化と聴力変化との関係についてより詳細な研究を行った。著者の調査の範囲では、内耳窓膜破裂の修復材料に関して、実験の評価を加えた研究の発表は未だに行われていない。

III章 実験的正円窓破裂の聴覚に及ぼす影響の検討 (ABRを指標として)

1. 実験方法

本実験は正円窓膜破裂の直後と、破裂後一定期間において、聴性脳幹反応を指標として動物の聴力障害の推移を検討することを目的として行われた。また次章以下では以上の各時期に一致して内耳の組織学的観察が行われた。以下、便宜的に破裂直後に行われた聴性脳幹反応の測定を中心とする実験を急性実験と呼び、穿破後一定期間において行われた実験を慢性実験と呼ぶことにする。

i) 急性実験

(a) 聴性脳幹反応 Auditory Brain Stem Response (ABR) の記録

実験にはプライエル反射正常の白色モルモット (400~500 g) 27匹を使用した。

ネプタール® (Sodium-Pentobarbital) 20~30mg/kg を腹腔内に投与し麻酔した後、腹臥位で頭部を固定した。局所には更に 0.5%キシロカイン® (Lidocain Hydrochloride) による局所浸潤麻酔を追加した。

聴性脳幹反応 (以下ABRと略す) の記録は Gyo²⁶⁾らの方法によった。すなわち頭蓋骨正中線上で骨に至る切開を加え、皮膚、筋肉、骨膜を一気に剝離挙上し、前頭骨、頭頂骨、後頭骨を露出した。図1に示すように、直径約1mmの小孔3ヶを頭蓋骨正中線上に設け、銀ボール電

図1 記録電極の設置部位 (Gyo, K. Yanagihara, N. より引用²⁶⁾)

極を埋没し、エポキシ樹脂を用いて骨に接着固定した。電極は鼻側より接地・関・不関電極とした。

図2に実験装置のセットアップを示す。他覚的聴力検査用信号発生器 (Dana Japan DA-502 A) からの信号で、チューブ・イアホン (Dana Japan 50) を駆動させ、これより発生する信号音を実験側の外耳道にチューブを通して導いた。この方法により音刺激は実験側耳にのみ与えられ、非実験側を刺激することはない。

刺激音には図3に示すように 8, 4, 2, 1, 0.5 KHz の tone pip を用いた。2, 1, 0.5 kHz では立ち上がり、立ち下がりそれぞれ 3msec, 8, 4 kHz では立ち上がり、立ち下がりそれぞれ 0.5msec の tone pip とし、繰り返し時間は 69msec, 加算回数は 600回とした。

上記刺激音に対する ABR は生体用増幅器 (Dana Japan DA-55) で増幅した後、アーチ

図2 実験装置のセットアップ

ファクタ, クリアユニット (Dana Japan DA-612) を経てアナログトランジェント解析装置 (NIHON-KOHDEN ATAC-150) で加算した。

(b) 内耳窓破裂動物の作り方

ネブタール® を腹腔内に投与して麻酔した後, 実験動物を腹臥位にして頭部を水平に固定した。動物の実験側耳介後部に局所浸潤麻酔を行い, 耳介付着線に沿って皮切を加える。皮膚, 筋膜を外耳道軟骨, 茎乳突孔, 側頭線の範囲に亘って剝離し, 側頭骨骨胞を広く露出した。

本実験では鼓膜, 耳小骨の伝音系を温存し,

図3 刺激音の原波形. tone pip の立ち上がり下がり時間は, 8, 4 kHz で各 0.5m/sec とし, 2, 1, 0.5kHz では各 3m/sec とした。

かつ正円窓に直接的に操作を加えることを可能とするアプローチを選ぶ必要がある。そこで手術顕微鏡下に側頭骨骨胞の削開を茎乳突孔と外耳道との間で行い, 鼓膜・耳小骨を損傷することなく正円窓を直視下に置いた。

25ゲージの注射針を用いて正円窓の中央を穿破した。正円窓膜破裂の大きさは正円窓直径の $\frac{1}{2}$ を目標とした。破裂の確認は顕微鏡下に正円窓膜の破裂縁から外リンパ液が流出することが見られることによりなされた。

ii) 慢性実験

急性実験を行った27匹のモルモットのうち, 7匹を急性実験に引き続き一定期間飼育し慢性実験に用いた。一定期間後, 急性実験と全く同じ要領で, ABRを指標とした聴力測定を行った。

2. 実験成績

i) 急性実験

破裂前ABRをコントロールとし, 破裂後のABRと比較検討した。図5は4 kHzにおける破裂前後のABRの代表的記録である。この例では4 kHzにおいて, ABRの閾値の上昇があることが示されている。また図6では4 kHzにおいて破裂前後のABR閾値に全く変化の見られなかった例を示している。この様に破裂直前の各周波数におけるABR閾値を0 dBとし, 破裂直後の各周波数のABR閾値の上昇程度を, 実験動物全体についてまとめたのが図7である。図中●印は, それぞれの周波数において閾値上昇をみた動物の数を示している。図に示した成績は以下のように総括される。

1) 27匹中15匹 (56%) において, 0.5~8 kHz の範囲で, ABR閾値の上昇は10 dB以内にとどまった。

2) 27匹中6匹 (22%) において, 少なくとも1周波数以上において, ABR閾値上昇は10~30 dBであった。

3) 27匹中2匹 (8%) において, 少なくとも1周波数以上でABR閾値の上昇は30~60 dBであった。

図4 破裂直前のABR. 各周波数でのABR閾値を0 dBと規定した. 加算回数は600回, 解析時間は20m/secとした.

図5 聴力悪化例の破裂前後のABR. 4 kHzで20 dBのABR閾値の上昇を認めた. (No.16)

図6 聴力不変例の破裂前後のABR. 1週後の記録でも全くABR閾値に変化を認めなかった. (No.23)

	0.5 (kHz)	1	2	4	8
≤10 (dB)	●●●●●	●●●●●	●●●●●	●●●●●	●●●●●
20	●●●●●	●●●	●●	●●●●●	●●●
30	●	●●		●●	●
40	●●		●●●		
50		●	●	●	●
60<			●●	●●●●	●●●

図7 急性実験例における聴力の変化.

4) 27匹中4匹(14%)においては、少なくとも1周波数以上においてABR閾値の上昇は60dBを越えた.

5) 図8・9は10dB以上ABR閾値上昇を認めた代表例における閾値曲線を示したものである. 図に示す通り、閾値曲線は動物毎に異なる型を示すが、全体として見れば0.5, 1, 2 kHzよりも4, 8 kHzにおいて閾値上昇が顕著な例が多かった.

ii) 慢性実験

各動物の正円窓破裂後の飼育期間は7日間

図8 8 kHz以下の聴力障害が著明な例. (No.12)

図9 4 kHzに聴力障害が著明な例. (No.25)

(3匹), 8日間(1匹), 30日間(1匹), 70日間(1匹), 100日間(1匹)であった。

図6は術前・破裂直後, 破裂後1週間のABR閾値が全く変化しなかった例を示している。

図10は最終測定時における閾値変動の程度を, 実験動物全体についてまとめたものである。以上の結果をまとめると以下になる。

1) 破裂直後にABR閾値上昇が10dB以内に留まる場合は, 動物No.21, 23, 26, 27(動物No.26の0.5kHzを除いて)それ以上ABR閾値が上昇することはなかった。

2) 破裂直後ABR閾値が10~30dB上昇した動物はNo.22, No.25である。No.25では全周波数にわたって閾値の低下を認め, 逆にNo.22では全

周波数にわたって閾値上昇を認めた。

3) 破裂直後ABR閾値が極度の上昇を示したNo.24は, 8日目には全ての周波数で反応は消失した。

3. 考按

すでに述べた如く, 実験的正円窓破裂の聴覚に及ぼす影響に関しては Simmons²²⁾, Axelson²³⁾, Weisskopf²⁴⁾, 深谷²⁵⁾などの研究がある。これらの研究では, 動物の聴覚をCMを用いて測定している。CMの測定では記録電極を正円窓窩あるいは鼓室に設置する必要がある, 破裂後に流出する外リンパ液や創からの浸出物によって記録電極の電位の滑走が起こりうる。また慢性実験では電極に対する異物反応が起こり, 安定した状態でCMを記録することは困難

図10 各周波数における聴力障害の経時的変化。

と考えられる。本実験ではABRを指標として聴覚を測定したので、急性及び慢性実験においても反応閾値は安定した状態で行われた、例えば金川²⁷⁾らは中耳腔に人工的な病変を作り、CMとABRによる聴覚閾値を検討している。中耳腔に生理食塩水を充満した場合にはCMの閾値はABR閾値より10~15dB高いことを認め、その原因をCM記録電極間の短絡にもとめている。更にCMはABRよりも不安定であり、CMの低下が必ずしも内耳機能低下とは平行しないので、その解釈に慎重でなければならないと述べている。

CM測定の特長はCMが極めて正確に周波数選択性をもつ点にある。一方、ABRにおいては刺激音としてtone pipを用いれば、ある程度の周波数選択性を示すことが知られている^{28)~30)}。今回の実験に用いた刺激音の周波数分析結果はこのことを裏付けた。従って本研究における各周波数のABR閾値は、厳密な意味ではその周波数における聴力を示すものではないが、臨床例における聴力像と対比しても、差支えない程度の周波数選択性をもってると解される。

IV章 実験的正円窓破裂における内耳病態の組織学的研究

1. 実験方法

生理実験を行ったモルモット27匹のうち10匹について、実験後種々の時期に両側蝸牛を摘出し、正円窓破裂の聴器に及ぼす影響を組織学的に観察し、組織学的所見と聴覚障害の関係について検討を行った。

ネンブータル®(Sodium-Pentobarbital)を20~30mg/kgを腹腔内に投与して麻酔した後、動物を背臥位に固定して開胸した。生理食塩水を左心房より灌流して脱血した後Heidenhain-Susa液で固定し、断頭の後、両側中耳骨胞を採取した。中耳骨胞は再度浸漬固定し、5%三塩化酢酸で脱灰した。脱灰の終了は、シュウ酸アンモニウムにより脱灰液中のカルシウム検出ができないことにより確認した。アルコール系

著者の研究では、正円窓破裂が起こっても聴力損失は約半数において10dB以内に留まることが示された。また、10dB以内の聴力損失であれば、破裂後これ以上悪化することがないことが示された。この結果はWeisskopf²⁴⁾の報告とよく一致している。その他のCMによる実験では、破裂による聴力損失は10dBを越えるとしているが、これは前述のCM記録の欠点による実験誤差と考えられる。

臨床例にならって10~30dBの聴力損失を軽度、30~60dBを中等度難聴、60dB以上を高度難聴とすると、その頻度は軽度難聴が高く、いずれにしても正円窓破裂の急性期の聴力損失は軽度に留まるものと言える。中等度及び高度難聴では、高い周波数の方が障害され易い傾向が認められた。これは、蝸牛の周波数感受部位(place principle)と正円窓の位置的関係から見ても当然の結果と考える。

Weisskopfは高度聴力低下のあるものでも回復すると述べているが、本研究では中等度難聴では回復しうる場合とそうでない場合があり、高度難聴の場合には更に聴力が悪化し、聾となりうることを示された。

列で脱水。セロイジン-パラフィン二重包埋の後、切片を作製し、Hematoxylin-Eosin法で染色した。

2. 実験成績

i) 急性実験

10匹中、破裂後に蝸牛を採取したのは表1のNo.1, 2, 5のモルモットで、表1には蝸牛の各階と正円窓部の所見をまとめてある。全例外リンパ腔に高度の出血を認めた。No.1に見られた中央階の出血は正常例にも認められ、蝸牛採取時のアーチファクトと考えられる。これら3匹のモルモットのABR閾値は、全ての周波数において10dB以内であり、外リンパ腔への出血は聴力に殆んど影響を与えないか、与えたとしても極く軽度であることが明らかにされた。

表1 正円窓破裂による内耳への影響

No.	前庭階	中央階	鼓室階	正円窓
1	出血	出血	出血	
2	—	—	出血	
5	出血	—	出血	
21	出血	—	—	閉鎖
22	出血	—	出血	閉鎖
23	出血	—	—	閉鎖
24	出血	出血	出血	閉鎖
25	—	—	—	閉鎖
26	出血	—	—	閉鎖
27	—	—	出血	閉鎖

ii) 慢性実験

破裂後7日目に3匹 (No.21, 22, 23) 8日目に1匹 (No.24) 30日目に1匹 (No.25) 80日目に1匹 (No.26) 100日目に1匹 (No.27) の蝸牛を採取した。これらの組織学的所見は表1に示す通りである。これをまとめると以下の通りである。

1) 全例において正円窓は閉鎖していた。動物No.21, 22, 23, 24は破裂部に肉芽を認めた。

2) No.25を除いて外リンパ腔に出血を認めた。破裂直後に見られた血球は消失していたが、血清蛋白の遺残を Nubeculla として認めた。

3) 破裂直後に高度難聴があり、8日目に全周波にわたってABR閾値が Scale out した動物 (No.24) では内リンパ腔内にも著明な出血を認めた。

4) No.24を除き有毛細胞、支持細胞など蝸牛管内の組織には破裂による影響を認めなかった。

また以上組織学的所見とABR閾値の関係をを見ると、破裂直後に10dB以内の閾値上昇に留った動物No.1, 2, 5では外リンパ腔への出血

図11 破裂直後の正円窓、中耳及び鼓室階に著明な出血を認める。(No.5) (×25)

図12 破裂直後より高度難聴となった例の組織像。鼓室階・中央階内に出血を認める。有毛細胞の変性・消失やラセン神経節細胞の変性がみられる。(No.24) (×25)

図13 聴力不変例の組織像。破裂後1週目。
(No.21) (×5)

があり、正円窓の閉鎖は認められなかった、破裂直後は10~30 dBのABRの閾値上昇を来したが、30日目には閾値は10 dB以内に回復した動物No.25においては正円窓膜が閉鎖し、内耳内に全く出血を認めなかった。

破裂直後10~20 dBのABRの閾値上昇があり、1週間後にABRの閾値上昇をみた動物No.22では1週間後正円窓は閉鎖していたが、前庭階、鼓室階に出血を認めた。

70日目に0.5, 1 kHzでABRの閾値で上昇をみた動物No.26は前庭階に出血があり、100日目で10 dB以内の閾値上昇に留まった動物No.27は鼓室階に出血があり、共に正円窓は閉鎖していた。

3. 考按

正円窓膜破裂後の修復過程を観察した暁、柳原³¹⁾らは、モルモットにおいては正円窓膜は早いもので、破裂後3日目、遅いものでも10日目には閉鎖することを確認し、Axelssonらの報告よりも早く破裂部は閉鎖するとしている。

図14 図13の拡大像。(×25)

破裂後の主な組織学的所見では外リンパ腔への出血であり、この点ではAxelssonの報告と一致している。この出血は、穿破することにより正円窓膜の固有層に密に分布する血管を破綻することにより起こったものである。但しこの外リンパへの出血は多くの例において、ABRの閾値上昇は10 dB以内に留まり聴力に殆んど障害を与えないことがわかった。1週間後に破裂直後よりもABRの閾値上昇をみた例では正円窓は閉鎖していたが、前庭階、鼓室階に出血をみたので、出血の吸収が遅れる場合には、破裂が閉鎖しても聴力の悪化が起こりうることを考えられる。逆に破裂直後にかなりの出血があり、中等度の閾値の上昇があっても出血が吸収される場合には聴力は回復するものと考えられた。

破裂直後より聴力損失が著しく、8日目にはABRが記録できなくなった動物では、外リンパ腔だけでなく、内リンパ腔にも強い出血があり、有毛細胞の変性及び消失が認められた。この所見は正円窓破裂に際して蝸牛の基底膜が損傷され、内リンパ腔へ出血し、その為に有毛細

胞に変性が起こったものと考えられる。

以上より正円窓の破裂による組織学的変化は、外リンパ腔への出血に留まることが多く、外リンパ腔への出血のみでは聴覚に殆んど障害を起こさないと結論される。臨床的に見られる高度聴力障害のある例では正円窓破裂だけでな

く、基底膜やライスネル膜などにも損傷が起こり、中央階にも出血などを起こしたものと推定される。臨床報告例では聴力障害の程度や型は多様であることを述べたが、これは以上の理由によるものであると推論される。

V 章 実験的正円窓破裂の閉鎖に関する組織学的研究

1. 実験方法

実験動物にはプライエル反射正常の白色モルモット（400～500 g）14匹を使用した。ネプタール®（Sodium-Pentobarbital）20～30mg/kgを腹腔内に投与して麻酔した後、腹臥位で頭部を固定し、耳介周囲を 0.5 %キシロカイン®（Lidocain Hydrochloride）にて局所麻酔した。

i) 正円窓膜の破裂法

耳介付着部線に沿って切開し、皮膚、筋膜を剝離、側頭骨骨胞を広く露出した。側頭骨骨胞は、側頭線直下より顔面神経直前まで大きく削開し、ツチ・キスタ骨を除去した。正円窓膜の穿破は耳手術用鉤によって行い、正円窓全周にわたって破裂を起こした。これらのすべての操作はすべて手術用顕微鏡下で行い、外リンパ液流出によって正円窓膜の破裂を確認した。

ii) 正円窓膜破裂の修復

破裂の修復には、自家側頭筋膜と自家耳介軟骨膜を使用した。

修復材料は3×3 mm程度の大きさで、可能な限り組織を薄くし、図22に示すように正円窓を含めて広く破裂部を覆うようにした。さらに正円窓被覆膜を AB-PC を浸したスポンゼルで覆い、膜の固定と感染の予防を計った。耳介後部の創は一次的に縫合閉鎖した。

iii) 組織学的観察

術後1ないし3ヶ月飼育した後、Heidenhain-Susa 液で灌流固定を行い、ついで断頭後両側中耳骨胞を採取した。採取後、再度浸漬固定を行った。ついで 5 %三塩化酢酸により脱灰した。この脱灰はシュウ酸アンモニウムによりカ

ルシウムが検出できなくなるまで行った。脱水はアルコール系列により、セロイジン二重包埋後、切片を作製した。切片の染色には、正円窓膜の修復の状態が観察しやすいアルデヒド・フクシン法を専ら使用した。

2. 実験成績

筋膜及び軟骨膜使用群における飼育期間は1, 2, 3ヶ月とし、それぞれの期間の両群における動物数を表2に示した。なお、筋膜を使用した一例において、術後1週間目に観察を行ったが、次章で述べる如く筋膜には特に組織学的変化を認めなかった。

正円窓の閉鎖が完了するまでには中耳、正円窓、基底回転の鼓室階に於いては、血液の遺残、炎症、骨新生、繊維の増殖等の所見が見られた。これら術後変化を各時点で詳細に観察し表3・4にまとめた。

(A) 中耳における所見

i) 血液遺残

術後1ヶ月までは筋膜群と軟骨膜群の殆どどの例に於いて、手術時の出血は吸収されることなく、血餅として遺残しているのを認めた。

ii) 繊維の増殖

筋膜使用例に於いては1ヶ月目のものでは全例に中耳腔における繊維及び肉芽の増殖があり、その1例には正円窓部と中耳腔、鼓室階に

表 2 正円窓破裂修復後の期間と動物数

飼育期間	筋 膜			軟 骨 膜		
	1 (M)	2	3	1	2	3
動物数	2	2	2	3	2	2

表3 正円窓破裂修復後の中耳腔の所見

飼育期間	筋 膜			軟 骨 膜		
	1 (M)	2	3	1	2	3
出 血	2	0	1	2	1	0
肉 芽	2	0	1	2	1	0
骨新生	2	0	0	1	1	0
炎症細胞	2	1	0	2	1	0

もこの所見が認められた。2ヶ月目、3ヶ月目のものでは繊維の増殖及び肉芽の増生等の所見は認められなかった。

軟骨膜使用例においては1ヶ月目の $\frac{2}{3}$ 例に中耳腔に肉芽の増生が認められた。そのうちの1例は肉芽は中耳腔より正円窓を通じて鼓室階に入っていた。2ヶ月目の $\frac{1}{2}$ 例に中耳腔に肉芽の増生の著明なものがあり、1ヶ月のものと同様の所見があった。3ヶ月目のものでは肉芽は認められなかった。

iii) 骨の新生

筋膜使用例では1ヶ月目の全例に、中耳腔に骨の新生の所見があった。このうち1例では、中耳腔の上方より正円窓にわたって大きく骨の増殖があった。2ヶ月目の $\frac{1}{2}$ 例に骨の新生が著しく正円窓にまで増殖している所見があった。3ヶ月目の例では、中耳腔の骨増殖の所見はなかった。

図15 筋膜による修復例，1ヶ月目 (No.C15)．正円窓部に筋膜を認める。(矢印で示す) 中耳側には肉芽の増殖が，鼓室階側には繊維組織の増生が認められる。(×5)

表4 正円窓破裂修復後の正円窓と鼓室階の所見

飼育期間	筋 膜			軟 骨 膜		
	1 (M)	2	3	1	2	3
正円窓の閉鎖	0	2	2	1	1	2
出 血	1	0	0	1	1	0
肉 芽	2	0	0	1	1	0
骨新生	2	0	0	1	1	0
炎症細胞	2	0	0	1	1	0

軟骨膜使用例の1ヶ月目の $\frac{2}{3}$ 例で骨の新生が認められ、1例は特に骨新生は著明であった。2ヶ月、3ヶ月目の例ではこの所見は認められなかった。

iv) 炎症

筋膜使用例の1ヶ月目の全例に炎症細胞が認められた。このうち1例には、正円窓部に炎症細胞が多く認められ、この部位の強い炎症が示唆された。2ヶ月目のものには炎症細胞はないが、3ヶ月の2例中1例に炎症細胞を認めた。

軟骨膜使用例の1ヶ月目の $\frac{2}{3}$ 例には炎症が認められた。2ヶ月目の $\frac{1}{2}$ 例に炎症を認めた。3ヶ月目の例では炎症所見はなかった。

(B) 正円窓の所見

i) 正円窓の閉鎖

前節で述べた筋膜使用例の7日目の例では筋膜が鼓室階内に嵌入しており、筋膜は手術時と同じように厚く、全く吸収されていなかった。1ヶ月目の2例中1例では血液遺残及び炎症の所見が著しく正円窓及び蝸牛の骨破壊を認め、

図16 筋膜による修復例，1週目 (No.C3) 筋膜は鼓室内に嵌入してた。正円窓は肉芽組織で閉鎖していた。(×7)

膜の閉鎖はなかった。他の1例では正円窓に筋膜が存在しているが、正円窓膜の付着部位には位置せず、鼓室階と中耳腔に増生して肉芽に挟まれるように存在した。2ヶ月目の2例では、正円窓膜は閉鎖していた。膜の性状は正常側正円窓と比較してやや厚く、筋膜は正円窓中耳側に存在しているが、術後1週目の筋膜と比較すると非常に薄くなっていた。正円窓膜は固有の付着部位に認められた。3ヶ月後の2例では筋膜は非常に菲薄化し、殆んど認められず、正円窓は完全に閉鎖していた。但し、1例では正円窓膜は弛緩していた。他の1例では、正円窓膜に赤血球が付着していたが、正常側にも同様の所見があり、人工産物と考えられた。

軟骨膜使用例の1ヶ月目の3例中1例で肉芽の増生が著しく、正円窓の膜様の構造物は消失し、中耳と鼓室階にわたって肉芽が一体となって存在していた。他の2例は正円窓は膜様物によって閉鎖し、軟骨膜は残存し確認できた。2

図18 筋膜による修復例，3ヶ月 (No.C11). 正円窓膜は再生しているが，筋膜はすでにみられない．正円窓膜は弛緩している．(×25)

図17 筋膜による修復例，2ヶ月 (No.C 5) 再生した正円窓膜の中耳側に筋膜を認める。筋膜が“supporting guide”として働いたものと思われる。中耳腔より骨の新生があり，正円窓を圧迫している。(×25)

ヶ月目の2例のうち1例では正円窓膜は存在せず、炎症の所見は蝸牛の基底回転の鼓室階、前庭階、中央階のすべてにわたっていた。他の一例では正円窓膜は完全に再生し閉鎖しており、この膜は正常側のものと同一の性状を示した。3ヶ月目の2例では正円窓は正円窓膜によって完全に閉鎖しており、中耳側の軟骨膜は吸収されていた。1例では正円窓膜は弛緩していた。

図19 軟骨膜による修復例，3ヶ月目 (No.C13). 正円窓膜は再生しているが軟骨膜はみられない。(×5)

図20 図19の拡大像 (×25)

(C) 内耳の所見

筋膜使用例の1ヶ月目のものでは血液が外リンパ腔に多く認められ、2例には古い血液と肉芽が鼓室階に存在し、そのうち1例には蝸牛の全ての回転にその所見があった。2ヶ月目のものでは炎症、出血等の所見はなかったが、1例では鼓室階に血球の遺残物を認めたが、コルチ器等の膜迷路は正常であった。3ヶ月目には外リンパ腔の変化が認められなかった。

軟骨膜使用例の1ヶ月目のものでは、1例に

図21 軟骨膜による修復例、1ヶ月目 (No. C22). 蝸牛内部は著しい肉芽や繊維組織、骨の増殖によって完全に置換されていた。内耳炎を起したためと思われる。

基底回転鼓室階に血球の遺残物と肉芽を認めた。他の1例では蝸牛全体に肉芽及び骨新生が著しく膜迷路の構造を認めなかった。他の1例には鼓室階に手術時の出血による血液遺残があるが、膜迷路には変化がなかった。2ヶ月目の2例では1例に基底回転全体に線維の増殖が認められ、コルチ器も存在していなかった。他の1例では蝸牛内の変化は認められなかった。3ヶ月後の2例では鼓室階に出血及び血球の遺残はなく、蝸牛には変化を認めなかった。

3. 考按

内耳窓膜破裂に対して、1971年 Goodhill¹⁾らがゼルフォーム[®]、軟骨膜などにより手術的修復を試みて以来、手術の時期や破裂の閉鎖に用いる材料について、現在まで論議が続けられており、未だに手術適応、時期、修復材料などについて統一的な見解をみるに至っていない。そこで正円窓膜破裂に対する閉鎖材料として筋膜と軟骨膜を使用し実験的に両者を比較検討した。

臨床的には正円窓破裂の閉鎖材料として側頭筋膜、軟骨膜、脂肪片、ゼルフォーム[®]などが使用されている。Goodhillは軟骨膜を賞用しているが、脂肪片やゼルフォーム[®]を使用したものも少なくはない。これは脂肪片やゼルフォーム[®]がアブミ骨手術時の卵円窓閉鎖にすでに用いられておること、人の正円窓窩の形態が深く陥凹しており、これらの材料により、正円窓窩を充填するのが簡便であるなどの理由によると考えられる。モルモットでは正円窓の形態が人間の場合と逆になっており、中耳腔に突出したような形をしているので、脂肪片やゼルフォーム[®]では破裂閉鎖がし難い。以上の理由より、本研究では自家耳介軟骨膜と側頭筋膜について比較検討することにした。

すでに行った著者等の実験的研究によれば、部分的正円窓破裂に於いては、放置しても10日目までには正円窓膜は肉芽で閉鎖されることが知られた。本実験のように正円窓膜を全体にわたって除去した場合には、破裂を修復しなければ

ば動物は生存し得なかった．また側頭筋による破裂閉鎖後1週間目には筋膜は手術時と全く同じ状態に留っており，1～2週の経過観察では修復効果の比較には期間が短すぎると考えた．以上の理由から，本研究では破裂閉鎖後1ヶ月ごとの経過の観察を行うこととした．

実験的正円窓破裂を筋膜と軟骨膜により閉鎖した場合，閉鎖効果に於いても，正円窓膜破裂の修復過程の組織学的所見においても基本的には特別の差異を認めなかった．またこれらの閉鎖材料は，それ自体が正円窓を閉鎖するのではないことが明らかにされた．筋膜や軟骨膜は本来の正円窓膜の再生の“supporting guide”の役割を果たすものであり，閉鎖に使用された材料は時間と共に吸収されていき，完全に修復された正円窓膜は正常と全く同じ組織学的性状を示すことも本研究で明らかにされた．

正円窓膜が全周にわたって欠損した場合には，何らかの材料による閉鎖は不可欠で，これに沿って本来の正円窓膜の再生が2ヶ月頃より始まり3ヶ月以内で再生は完成し，破裂の閉鎖は完了する．以上の膜閉鎖のプロセスを図22に模式的に示した．

膜破裂が修復される経過をみると，破裂直後には中耳側にも内耳側にも出血が起こり，その血液は1ヶ月を経ても同部に貯留している．1ヶ月以内のものでは肉芽と線維の増殖が中耳及び内耳に起こり，炎症細胞がこれらに伴って認められる．これらは手術時の感染によるものと

図22 正円窓膜の再生過程．Ⅰ：閉鎖1ヶ月目．
Ⅱ：閉鎖2ヶ月目．Ⅲ：閉鎖3ヶ月目．

考えられ，より厳密な無菌的な手術操作と，術後の抗生物質投与を行えば防止しうるものであり，人間の場合でははるかにその程度は少ないものと推察される．

著者らのすでに行った実験及び本実験，さらに我々の臨床経験からいえば，正円窓膜破裂は一定の大きさ以内であれば自然閉鎖が期待できると結論しうる．しかしある一定の限界を越えると，何らかの材料による破裂閉鎖が行われなければならない．この際修復材料は鼓膜の修復と同じ“supporting guide”として作用するので，破裂の大きさに応じて材料の選択が行われなければならないと考える．破裂が大きく，外リンパ液の流出が多量の場合には，吸収の早いゼルフォームや閉鎖効果の少ない脂肪片などより，膜様に破裂閉鎖が計れる筋膜，軟骨膜などの方が優れていると言える．

Ⅶ章 全章の総括

モルモットにおいては，正円窓膜に破裂が生じた場合の聴力障害は，その過半数において10dB以内に留まる．この結果から，正円窓膜の破裂による外リンパ瘻だけでは聴力障害はあったとしても軽度であると結論される．正円窓膜の破裂に際して起こりうる組織学的変化は前庭階，鼓室階への出血が主なものである．従って膜破裂に出血を伴っても，一定量の範囲内では聴力の著明な障害を起こさない．

残余の約半数の動物における聴力損失の程度はさまざまであり，また周波数別にみても特定の聴力障害の型を示さなかった．しかし全体として，低音部と高音部を比較すると高音部の聴力障害が強い傾向が認められた．これらの聴力障害を起こした動物における内耳の組織学的変化の主たるものは外リンパ腔の出血であるが，その程度は正円窓膜の破裂による出血に加えて，内耳の他の組織

の損傷によるものが加わっていると推定される。

破裂直後の聴力損失が 10dB 以内に留まるものは、その後に外リンパ瘻が続いても聴力の悪化することは殆んどない。また組織学的にみても破裂の自然閉鎖が認められるので、聴力損失軽度の正円窓破裂症は自然治癒する可能性がある。

中等度ないし高度の難聴が起こった場合には、更に聴力が悪化する場合と回復する場合がある。聴力の悪化が高度で聾に至るような例では前庭階、鼓室階のみでなく中央階の出血があり、有毛細胞の変性などを伴っている。また、正円窓の破裂閉鎖が起こっても前庭階、鼓室階の出血の吸収が遅れる場合は、聴力の悪化は起こりうる。逆に出血が完全に吸収されれば、破裂直後に聴力障害があっても、聴力は完全に正常化しうる。

以上の実験結果から、臨床報告例における正円窓膜破裂症の病像の多様性は、膜破裂による外リンパ瘻及び軽度の内耳出血に留まる場合から、内耳有毛細胞が変性消失する場合までの広範囲にわたる種々の程度の内耳障害が起こりうるためと考えられる。

正円窓膜を全周にわたって完全に除去した場合には、動物は長期間生存しえず、筋膜や軟骨膜による閉鎖修復によって長期間の生命の維持が可能となった。正円窓膜全破裂の修復の閉鎖材料として、筋膜と軟骨膜を使用した両者の間には、閉鎖効果に差は認められなかった。すなわち固有の正円窓膜が閉鎖を完了する時期、及び閉鎖が完了した後の正円窓膜は、いずれの材料を使用した場合にも同一の組織学的所見を示した。これらの閉鎖材料は固有の正円窓膜の再生の為の“supporting guide”として作用するものと考えられた。“supporting guide”としての機能が終了した後は吸収される。閉鎖に用いた材料が吸収されて認められなくなるには3ヶ月間を要した。

閉鎖手術後に感染が起これば、蝸牛内への肉芽の増殖や骨新生が見られ、正常の形態を有する正円窓膜再生は不可能であった。閉鎖材料を用いる手術に際しては感染に対して十分な配慮がなければ、正円窓膜破裂の治癒はあり得ない。

謝 辞

稿を終わるに臨み、御高閣を賜った恩師柳原尚明教授に深甚なる感謝の意を表します。また、本研究に際し、終始懇切なる御助言、御指導を戴いた暁清文講師、種々の御協力を戴いた清水大三郎技官ならびに教室諸先生各位に深く感謝致します。

引 用 文 献

- 1) Goodhill, V. : Sudden deafness and round window rupture. *Laryngoscope* 81: 1462~1474, 1971.
- 2) Pullen, F.W. : Round window membrane rupture. *Trans Amer Acad Ophthalmo and Otolaryngol* 76: 1444~1450, 1972.
- 3) Goodhill, V. et al : Sudden deafness and labyrinthine window rupture. *Ann Otol* 82: 2~12, 1973.
- 4) Freeman, P. et al : Rupture of the round window membrane in inner ear barotrauma. *Arch Otolaryngol* 99: 437~442, 1974.
- 5) Tonkin, J.P. et al : Rupture of the round window membrane. *Journal of Laryngology and Otology* 89: 733~756, 1975.
- 6) Frasor, J.G. and Harborow, P.C. : Labyrinthine window rupture. *Journal of Laryngology and Otology* 89: 1~7, 1975.
- 7) Taylor, P.H. and Bicknell, P.G. : Rupture of the round window membrane. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 85: 761~770, 1978.
- 8) Althaus, S.R. : Spontaneous and traumatic perilymphatic fistulas. *The Laryngoscope* 87: 364~371, 1977.
- 9) Grundfast, K.M. and Bluestone, C.D. : Sudden or fluctuating hearing loss and vertigo

- in children due to perilymph fistula. *Ann Otol* 87 : 761~770, 1978.
- 10) Freeman, P. : Injury to the round and oval windows. *Recent Advances of Otolaryngology*, edited by T.R. Bull, J. Ransome and H.B. Holden : 73~88, 1978. Churchill Livingstone.
 - 11) Emmet, J.R. et al : Traumatic perilymph fistula. *The Laryngoscope* 90 : 1513~1520, 1980.
 - 12) Althaus, S.R. : Perilymph fistulas. *The Laryngoscope* 91 : 538~562, 1981.
 - 13) Sekuta, J. and Watodyka, J. : The round window in acute hearing loss. *Audiology* 21 : 55~60, 1982.
 - 14) 寺山吉彦, 山川宗位 : Rupture of inner ear window (内耳窓破裂症) とその一手術例. *耳喉* 49 : 579~585, 1977.
 - 15) 鎌田重輝, 他 : 正円窓膜破裂の検討. *臨床耳科* 5 : 218~219, 1978.
 - 16) 河野 寿, 他 : 内耳窓破裂症例. *臨床耳科* 5 : 220~221, 1978.
 - 17) 岡田修一, 他 : 内耳窓破裂を伴う外傷性鼓膜穿孔の3症例. *臨床耳科* 7 : 98~99, 1980.
 - 18) 暁 清文, 徳橋宏俊, 柳原尚明 : 正円窓破裂の3症例. *臨床耳科* 7 : 100~101, 1980.
 - 19) 大西信治郎, 他 : 正円窓膜破裂症例手術所見. *臨床耳科* 7 : 102~103, 1980.
 - 20) 暁 清文, 田所広文, 柳原尚明 : 内耳窓破裂症の臨床像. *日耳鼻* 84 : 975~982, 1981.
 - 21) 柳原尚明, 暁清文, 徳橋宏俊, 柳原弘男 : 外傷性リンパ瘻の臨床. *耳鼻臨床* 75 : 893~904, 1982.
 - 22) Simmons, F.B. et al : Round window injury ; auditory behavioral and electrophysiological consequence in the cat. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol* 66 : 715~722, 1962.
 - 23) Axelsson, A. et al : Experimentally induced round window membrane regions. *Acta Otolaryngol* 84 : 1~11, 1977.
 - 24) Weisskopf, A. et al : Genesis of the round window rupture syndrome ; some experimental observations. *The Laryngoscope* 88 : 389~397, 1978.
 - 25) 深谷 卓, 野村恭也 : 実験的正円窓破裂—モルモットにおける内耳電位の経時的観察—. *Audiology Japan* 24 : 152~155, 1981.
 - 26) Gyo, K. and Yanagihara, N. : Electrically and acoustically evoked brain stem response in guinea pig. *Acta Otolaryngol* 90 : 25~31, 1980.
 - 27) 金川清人, 時本孝行 : モルモットにおける骨導C MおよびA B R. *耳鼻臨床* 75 : 増2 : 464~475, 1982.
 - 28) 山根 仁, 小寺一興, 山田 修 : Tone Pip による聴性脳幹反応の周波数選択性—選択的マスクングによる検討—. *Audiology Japan* 20 : 143~150, 1977.
 - 29) 小寺一興, 山根 仁, 山田 修 : Tone Burst で誘発される, ヒトの聴性脳幹反応—立ち上がり時間と周波数の影響—. *Audiology Japan* 20 : 151~157, 1977.
 - 30) 小寺一興, 鈴木雅一, 山根 仁 : 聴性脳幹反応を誘発する刺激音の有効部分. *Audiology Japan* 24 : 166~172, 1981.
 - 31) 暁 清文, 柳原弘男, 有友 宏, 柳原尚明 : 実験的正円窓破裂治癒過程の観察. *耳鼻臨床* 73 : 1543~1549, 1980.

原稿到着 : 昭和57年12月24日 急載
別刷請求先 : 柳原弘男

〒791-02 愛媛県温泉郡重信町大字志津川
愛媛大学医学部耳鼻咽喉科学教室