研 究

正円窓膜の酸素透過性に関する研究

— 第二報 外リンパ酸素分圧測定による
ネコ正円窓膜のガス透過性実験 —

笹 英彦*・永原 國彦**三宅 洋一***

山下 敏夫*・熊沢 忠躬*

Experimental Study on the Gas Permeability of the Cat Round Window Membrane

Hidehiko Sasa, Toshio Yamashita and Tadami Kumazawa

(Kansai Medical University)

Kunihiko Nagahara

(Kyoto National Hospital)

Yoichi Miyake

(Chiba University)

The polarographic technique was used to examine the oxygen permeability of the round window membrane in 14 cats.

Under general anesthesia, a small hole was drilled in the first turn of the bony wall of the cochlea. An oxygen sensing microelectrode with a tip diameter less than $1\mu\text{m}$ was inserted through the hole into the scala tympani. Dynamic changes in perilymphatic oxygen tension were measured by applying compressed air, pure oxygen, carbogen (95% $\text{O}_2 + 5\% \text{CO}_2$), and nitrogen gas to the round window membrane via the middle ear cavity.

- 1) The gasses easily pass through the round window membrane into the perilymphatic space.
- 2) The level of the perilymphatic oxygen tension is in part under the control of the oxygen concentration in the middle ear cavity.
- 3) A gradient in the perilymphatic oxygen tension is present, increasing with the distance from the round window membrane.

*関西医科大学耳鼻咽喉科学教室（主任：熊沢忠躬教授）

**国立京都病院耳鼻咽喉科

***千葉大学工学部画像工学科

緒 言

正円窓膜は内耳と中耳とを隔てる薄い3層構造の膜であり, その解剖学的特徴により古く18世紀頃よりその聴覚に対する役割に関心が持たれていた¹⁾. 以来多くの研究者により構造, 機能両面において詳細な報告がなされている. 構造面においてはモルモット²⁾³⁾⁴⁾, ネコ⁵⁾⁶⁾, チンチラ⁷⁾⁸⁾, ヒト⁹⁾などを用いての透過電顕による観察で, 正円窓膜は鼓室岬角の粘膜の連続した上皮細胞より形成される外層と, 線維芽細胞, 膠原線維および弾力線維より形成される中間層と, 蝸牛鼓室階を被う扁平細胞より連続する内層との3層より構成された厚さ0.05~0.06mmの薄い膜であることが報告されている.

一方, 機能面では正円窓膜は音伝導に際して内耳液振動に対する緩衝帯としての作用¹⁰⁾, 外リンパ液の排泄路としての役割¹¹⁾などが報告されており, それ以外に中耳の炎症の内耳への通過路¹²⁾¹³⁾, 局所薬剤使用時の内耳への侵入路¹⁴⁾なども報告されている. 最近ではメニエール氏病の臨床的治療方法の一つ¹⁵⁾として利用され, また正円窓膜破裂時の聴覚への影響¹⁶⁾も注目されはじめている.

著者らは滲出性中耳炎の長期罹患者に高音域の感音性難聴の合併が認められるという報告¹⁷⁾に基づき, この膜の半透性の構造に注目して, あらたな機能として中耳腔より内耳への酸素供給路を推測した. この機能の有無を調べるため, モルモット正円窓膜を各種物質で閉鎖し, その後にかかる内耳機能変化を電気生理学的に, 酵素組織学的に観察した結果をすでに報告¹⁸⁾した. この報告においては, 正円窓膜閉鎖3週間後には酸素依存性である蝸牛マイクロフォン電位と有毛細胞内コハク酸脱水素酵素活性とがいづれも同様に低下することにより, この機能の存在を示唆した.

今回, この機能の存在をより明確にするためネコを用いて経中耳腔的に正円窓膜に各種ガスを投与し, 引き続き起こる鼓室階外リンパ酸素分圧の変化をポラログラフィ法で測定した. この酸素分圧測定に加うるに動脈血圧 (SBP), 中心静脈圧 (CVP), 脳脊髄液圧 (CSF), 体温 (BT) 等の各種パラメーターもミニコンピューターシステムによりオンラインで12ビットデジタル化し解析した. この装置を用いてネコにおける経正円窓膜的酸素供給路の存在をより直接的に証明し得たので報告する.

実 験 方 法

実験動物として体重3~4kgの成熟ネコ14匹を使用した. Pentobarbital sodium (Nembutal Abbott) 50mg/kg 静脈内麻酔下に気管内挿管を施行し, alcuronium chloride (Dialferin) 1mg/kgの筋肉内注射の後, 陽圧式人工呼吸器 (シナノ製作所SN-480-7) により呼吸管理 (1回換気量20~30ml, 1分間20~30回) を行なった. 実験中のヘマトクリット値を一定に保つため乳酸リンゲル液の点滴静脈内投与を行ない, 加えて血液ガス分析を繰り返して実施し, 血液中の pH, aPCO₂ および aPO₂ 濃度を一定に保った. SBPは大腿動脈よりヘ

パリン化したテフロンカテーテルを挿入して測定し, CVPは大腿静脈よりカテーテルを下大静脈に挿入して測定した. CSFは第4~第5腰椎の脳脊髄液腔にテフロンカテーテルを固定して測定した. 直腸温をサーミスターで記録し体温を保温マットで35~36℃に保った.

以上の操作後動物を腹臥位にて頭部固定し顎下部より皮膚切開を加え胸鎖乳突筋, 顎二腹筋を圧排して顎下腺を除去し中耳骨胞を削開して正円窓窩および正円窓膜を明視下に置いた.

外リンパ液中の酸素分圧測定はポラログラフィ法によった.

(ポラログラフィ法)

酸素ガスの溶存する液体中に酸素電極を挿入し、陰極と陽極間に電圧を加え、これを連続的に増加させると、その電圧—電流特性は図1のごとく特徴のある曲線を描く。0.5～1.0Vの間では印加電圧に関係しないほぼ一定の電解電流が流れる。これをプラトーと言う。この時陰極では $O_2 + 2H_2O + 4e^- \rightarrow 4OH^-$ 、陽極では $4Ag + 4Cl^- \rightarrow 4AgCl + 4e^-$ の還元反応が起こる。一般に酸素の電極界面への補給は一定状態下では拡散現象のみによって起こり、この時陰極での還元電流は溶液中の陰極付近の酸素濃度に比例する。従って、この還元電流を測定することにより溶液中の酸素濃度が測定できることになる。

酸素電極は先端約 $1\mu m$ の膜付ガラス微少電極(TRANISIDYNE 社#723)を使用し、増幅アンプは TRANISIDYNE 社 Chemical microsensor モデル1201を使用した。不関電極として Ag—AgCl 電極を同側の側頭筋内に固定した。手術用顕微鏡下に鼓室階基底回転骨壁に microdrill にて約 $500\mu m$ の小孔を穿ち micro-manipulaor を使用して微少酸素電極を鼓室階

外リンパ液中に約 $600\mu m$ 挿入した。電極挿入後小孔はリンパ液の漏出防止、小孔を通してのガス拡散防止ならびに実験の最後に酸素電極の校正を可能にするため寒天にて閉鎖した。

記録の安定した時点で電極が正確に外リンパ液中に挿入されていることを確認するため、ならびに吸入による内耳血管系よりの酸素供給反応を調べる目的で人工呼吸器からの吸入ガスを純酸素, carbogen (95%酸素と5%炭酸ガスとの混合ガス)の各3分間吸入ならびに窒素2分間吸入に変更し、外リンパ酸素分圧の動脈血 aPO_2 , $aPCO_2$, HCO_3^- 濃度変化に対する反応を測定した。次に本実験として純酸素, carbogen, 窒素の各種ガスを経中耳腔的に正円窓膜に投与した。対照として後に使用する純酸素等の各種ガスと当量(1L/min)の大気をまず使用した。中耳腔へのガス投与は正円窓膜表面の温度を低下せしめ外リンパ酸素分圧の低下を起こすからである。大気投与後記録の安定した時点で各種ガスを順次投与し、引き続いて起こる外リンパ酸素分圧の変化を測定した。酸素電極は各実験前後に $37^\circ C$ の恒温槽内にて窒素と

図1 ポラログラフィ特性曲線 (0.5～1.0Vにプラトーが存在する)

大気とで校正した。中耳腔へのガス投与はゴム管の先端に内径 5 mm のラッパ管を装着し正円窓膜に過剰な圧を加えぬようにし且つ、ガス流量はすべての実験で 1L/min と一定にした。

上述の鼓室酸素分圧, SBP, CVP, CSF, BT 等はポリグラフ (日本光電—RM—6200) で記録すると同時に、これ等のアナログ信号を A/D コンバーターで 12 ビットデジタル化したミニコンピュータ (DEC 社 MINC 23) システムを用いてフロッピーディスクに記録した。このシステムは最高周波数 25KHz の A/D 変換が可能であるが、本実験では 10Hz, 500 秒間の記録を行なった。これ等のデータを解析し、また X—Y プロッター (WATANA BE—WX—4636) を使用して表示するために種々のソフトウェアを開発した。測定装置のブロックダイアグラムを図 2 に示す。

図 2 外リンパ酸素分圧測定装置
ブロックダイアグラム

実 験 結 果

1. 予備実験 (各種ガス吸入による外リンパ酸素分圧の変化)

1. a, 純酸素 3 分間吸入 (10例)

鼓室階基底回転部の外リンパ酸素分圧の平均初圧は 35.6mmHg であった。吸入開始後約 60 秒の潜伏時間 (ガス投与と開始より酸素分圧が反応し始めるまでの時間) をおき酸素分圧は上昇を始め約 4 分で最高値に達した。最高圧は平均 66.1mmg で初圧比は平均 192% であった (表 1, 図 3)。

この反応間での CVP, CSF には有意の変化は認められなかったが, SBP は 4 例で軽度上昇を認めた。

1. b, carbogen 3 分間吸入 (10例)

吸入開始後約 76 秒の潜伏時間をおき酸素分圧は上昇を始め約 4 分で最高値に達した。平均初圧 39.1mmHg より平均最高圧 95.0mmHg へと上昇し初圧比は平均 240% であった (表 2, 図 4)。

この反応間では SBP, CVP, CSF には有意の変化は認められなかった。

1. c, 窒素 2 分間吸入 (6 例)

吸入開始後約 48 秒より酸素分圧は低下を始め約 3 分で平均初圧 33.3mmHg より平均最低圧 17.7mmHg へと低下した。初圧比は平均 51% であった。大気再吸入後約 6 分で平均 32.1mmHg

の回復時過剰反応 (overshoot) を認めた (表 3, 図 5)。

この反応間の SBP は窒素吸入後ゆるやかに上昇した後, 外リンパ酸素分圧の低下に先だって著明に低下した。大気再吸入後は急速に上昇し overshoot を示した後, 初圧へと回復した。CSF は SBP の overshoot 初期の急激な血圧変動の時期を除いて, SBP と正反対の反応を示した。これは脳血管系の強い autoregulation の存在¹⁹⁾を示唆するものである。CVP は窒素吸入の間ゆるやかな上昇を示し, 外リンパ酸素

分圧の変化と逆の反応を示した。

2. 本実験 (経正円窓膜的ガス投与時の外リンパ酸素分圧の変化)

14例中 2 例のネコにおいて予備実験での純酸素, carbogen, 窒素の吸入による外リンパ酸素分圧の反応が認められなかったため結果より除外し, 正常な反応を認めた 12 例において各種ガス中耳腔投与実験を施行した。この実験間では SBP 等の外リンパ酸素分圧以外のパラメーターについては有意の変動は認められなかった。

2. a, 大気投与 (10例)

表 1 純酸素 3 分間吸入時の鼓室階外リンパ酸素分圧 (n=10)

	潜伏時間 (秒)	最高値到着 時間 (分)	初 圧 (mmHg)	最 高 圧 (mmHg)	初 圧 比 (%)
No. 1	55	6.1	67.1	100.0	149
No. 2	85	4.3	29.2	64.6	221
No. 4	80	2.8	24.9	30.3	127
No. 5	90	4.3	29.5	40.0	136
No. 6	30	3.3	33.3	84.1	253
No. 7	60	4.3	20.5	64.6	315
No. 8	70	4.3	41.2	43.2	105
No. 10	50	3.0	29.6	56.6	191
No. 11	40	3.7	45.0	122.9	273
No. 12	40	3.8	35.9	54.5	152
MEAN±SE	60±7	4.0±0.3	35.6±4.1	66.1±9.0	192±22

図 3 純酸素 3 分間吸入における鼓室階外リンパ酸素分圧変化 (n=10, 平均±標準誤差)

前述のとおり外リンパ液の温度変化に伴う酸素分圧の変化を除くため以下のガス投与前には対照として大気投与を行なった。大気投与後約33秒の潜伏時間をおき外リンパ酸素分圧は低下を始め約3分で平均初圧39.0mmHgより30.6mmHgへと低下し平衡した。初圧比は平均84%であった(表4, 図6)。

2. b, 大気→純酸素投与(10例)

純酸素投与開始後約29秒の潜伏時間をおき酸素分圧は上昇を始め約7分で最高値に達し平衡した。平均初圧41.5mmHgより平均最高圧97.5mmHgへと上昇し, 初圧比は平均255%であった(表5, 図7)。

2. c, 大気→窒素投与(9例)

窒素投与開始後約29秒の潜伏時間をおき酸素分圧は低下を始め約5分で平均初圧35.5mm

表2 Carbogen 3分間吸入時の鼓室階外リンパ酸素分圧 (n=10)

	潜伏時間 (秒)	最高値到達 時間 (分)	初 圧 (mmHg)	最 高 圧 (mmHg)	初 圧 比 (%)
No. 1	180	6.9	66.5	170.8	257
No. 2	80	4.7	29.2	105.9	363
No. 3	110	5.2	74.1	103.6	140
No. 4	65	2.8	22.6	29.7	131
No. 5	100	4.5	31.0	40.2	130
No. 6	35	3.3	43.0	156.9	365
No. 9	60	4.3	15.3	24.9	163
No. 10	50	3.5	30.5	74.4	244
No. 11	40	3.5	42.0	157.8	376
No. 12	40	3.3	37.2	85.6	230
MEAN±SE	76±14	4.2±0.4	39.1±5.8	95.0±16.9	240±33

図4 carbogen 3分間吸入における鼓室階外リンパ酸素分圧変化 (n=10)

表 3 窒素 2 分間吸入時の鼓室階外リンパ酸素分圧 (n = 6)

	潜伏時間 (秒)	最低値到達 時間 (分)	初 圧 (mmHg)	最低圧 (mmHg)	初圧比 (%)	過剰反応圧 (mmHg)	終 圧 (mmHg)
No. 4	60	2.4	24.5	21.3	87	27.6	26.0
No. 6	40	2.2	40.5	17.7	44	42.7	35.3
No. 8	70	3.8	42.3	38.7	92	(-)	40.8
No. 9	50	3.3	16.5	2.6	16	(-)	15.2
No.11	40	2.7	39.4	9.9	25	39.7	39.5
No.12	30	2.0	36.5	15.8	43	38.7	36.0
MEAN±SE	48±6	2.7±0.4	33.3±4.2	17.7±5.0	51±13	37.2±2.7	32.1±4.0

図 5 窒素 2 分間吸入における鼓室階外リンパ酸素分圧変化 (n = 6)

表 4 正円窓膜大気吹付けによる鼓室階外リンパ酸素分圧の変化 (n = 10)

	潜伏時間 (秒)	最低値到達 時間 (分)	初 圧 (mmHg)	最低 圧 (mmHg)	初 圧 比 (%)
No. 1	40	4.2	87.4	52.7	60
No. 2	10	2.5	31.5	24.0	76
No. 3	20	2.5	79.3	58.5	74
No. 4	60	3.0	25.3	23.1	91
No. 5	40	3.5	31.0	29.0	94
No. 7	50	4.0	28.4	21.9	77
No. 9	50	5.7	15.9	15.0	94
No. 10	30	2.0	28.0	24.0	86
No. 11	30	2.2	26.2	25.8	98
No. 12	30	2.7	36.5	31.5	86
MEAN±SE	33±5	3.2±0.3	39.0±7.5	30.6±4.3	84±4

図 6 正円窓膜大気吹付け時の鼓室階外リンパ酸素分圧変化 (n=10)

表 5 大気→純酸素投与時の鼓室階外リンパ酸素分圧の変化 (n=10)

	潜伏時間 (秒)	最高値到達 時間 (分)	初 圧 (mmHg)	最高圧 (mmHg)	初圧比 (%)	最大上昇速 度 (mm Hg/sec)
No. 1	20	6.3	55.0	120.0	218	0.83
No. 3	43	7.0	70.1	95.9	137	0.21
No. 4	12	2.4	65.0	140.0	215	2.50
No. 5	50	11.0	29.7	67.5	231	0.21
No. 7	33	5.9	22.7	57.9	255	0.26
No. 8	26	8.0	51.3	145.0	285	0.46
No. 9	23	7.0	21.0	91.5	436	0.53
No. 10	31	8.0	27.4	78.6	287	0.33
No. 11	18	3.7	38.5	104.4	271	0.99
No. 12	32	10.5	34.5	74.0	215	0.31
MEAN±SE	29±4	7.0±0.8	41.5±5.5	97.5±9.3	255±24

図 7 大気→純酸素投与時の鼓室階外リンパ酸素分圧変化 (n=10)

Hgより平均最低圧 19.9mmHg へと低下し安定した. 初圧比は平均51%であった (表 6, 図 8).

2. d, 純酸素→大気投与 (7例)

純酸素投与後最高値に達し安定した時点で投与ガスを純酸素から再び大気にもどすと, 大気投与後約33秒より酸素分圧は低下を始め約7分で最低値に達し平衡した. 平均初圧 84.3mm Hgより 29.9mmHg へと低下し, 初圧比は平均 36%であった (表 7, 図 9).

2. e, 窒素→大気投与 (6例)

窒素投与後最低値に達し安定した時点で大気を再投与した. 約30秒の潜伏時間後酸素分圧は

上昇を始め約6分で平均初圧 16.9mmHg より 33.2mmHgへと上昇し平衡した. 初圧比は平均 304%であった (表 8, 図10).

2. f, 純酸素→carbogen 投与

純酸素投与後最高値に達し安定した時点で投与ガスを carbogen に変更したが, 純酸素投与時と比較しても有意の変化は認められなかった (図11).

3. 電極深度 (正円窓膜—電極間の距離) と外リンパ酸素分圧の関係

上述の分析は基底回転部内の平均外リンパ酸素分圧の変化を示したものであり, 正円窓膜—電極間の距離すなわち電極深度に関する影響は

表 6 大気→窒素投与時の鼓室階外リンパ酸素分圧の変化 (n=9)

	潜伏時間 (秒)	最高値到達 時間 (分)	初 圧 (mmHg)	最低圧 (mmHg)	初圧比 (%)	最大低下速 度 (mm Hg/sec)
No. 1	39	5.0	25.0	5.0	20	0.10
No. 2	13	3.3	40.0	21.0	53	0.63
No. 3	29	4.0	50.0	39.0	78	0.20
No. 4	12	3.5	60.0	32.5	54	0.80
No. 7	33	3.5	25.6	16.8	66	0.11
No. 9	32	6.4	24.2	4.1	18	0.14
No. 10	45	7.0	24.0	12.3	51	0.08
No. 11	23	7.0	34.7	18.4	53	0.23
No. 12	32	3.0	35.6	24.0	67	0.15
MEAN±SE	29±4	4.7±0.5	35.5±4.2	19.9±3.9	51±7

図 8 大気→窒素投与時の鼓室階外リンパ酸素分圧変化 (n=9)

表 7 純酸素→大気投与時の鼓室階外リンパ酸素分圧の変化 (n=7)

	潜伏時間 (秒)	最低値到達 時間 (分)	初 圧 (mmHg)	最低圧 (mmHg)	初圧比 (%)	最大低下速 度 (mm Hg/sec)
No. 2	20	6.5	100.0	32.0	32	0.81
No. 5	45	7.7	73.5	32.4	44	0.29
No. 7	40	8.3	62.2	25.2	41	0.32
No. 9	32	7.8	95.6	25.2	26	0.50
No. 10	45	7.8	80.0	25.9	32	0.30
No. 11	20	6.0	103.7	34.8	34	0.96
No. 12	29	4.7	74.8	34.0	45	0.46
MEAN±SE	33±4	7.0±0.5	84.3±5.9	29.9±1.6	36±3

図 9 純酸素→大気投与時の鼓室階外リンパ酸素分圧変化 (n=7)

表 8 窒素→大気投与時の鼓室階外リンパ酸素分圧の変化 (n=6)

	潜伏時間 (秒)	最高値到達 時間 (分)	初 圧 (mmHg)	最高圧 (mmHg)	初圧比 (%)	最大上昇速 度 (mm Hg/sec)
No. 2	10	3.2	23.0	47.4	206	0.34
No. 7	35	6.7	20.5	32.6	159	0.15
No. 9	32	7.7	2.5	22.2	888	0.15
No. 10	45	7.5	10.4	25.9	249	0.13
No. 11	25	6.2	20.0	34.8	177	0.25
No. 12	32	4.3	25.0	36.3	414	0.12
MEAN±SE	30±5	5.9±0.7	16.9±3.6	33.2±3.6	304±118	

考慮されていない。潜伏時間は中耳腔に投与されたガスが正円窓膜を通過して外リンパ液中に溶解し電極まで達する時間であり電極深度に正比例する。しかし潜伏時間と各種ガス中耳投与時の外リンパ酸素分圧最大上昇（低下）速度とは簡単な線型方程式で表わすことは出来ない。そこで非線型近似によく用いられる次式²⁰⁾からその関係を定めた。

$$v = A_1 T + A_2 \ln(e^{0.2T} - 1) + A_3 e^{0.2T} + A_4$$

ここで A_1, A_2, A_3, A_4 は最小 2 乗法から求めた。2 a～d の各種条件下におけるそれ等の値は各々下記のとおりである。

a, 大気→純酸素

$$A_1 = 0.0, A_2 = -0.368, A_3 = 0.0, A_4 = 2.583$$

$$(S = 1.1541, \delta^2 = 0.1154, \delta = 0.3397)$$

b, 大気→窒素

$$A_1 = 0.0, A_2 = -0.185, A_3 = 0.0, A_4 = 1.501$$

$$(S = 0.0767, \delta^2 = 0.0085, \delta = 0.0923)$$

c, 純酸素→大気

$$A_1 = 0.0, A_2 = -0.175, A_3 = 0.0, A_4 = 1.559$$

$$(S = 0.0250, \delta^2 = 0.0036, \delta = 0.0598)$$

d, 窒素→大気

$$A_1 = 0.0, A_2 = -0.036, A_3 = 0.0, A_4 = 0.381$$

$$(S = 0.0250, \delta^2 = 0.0036, \delta = 0.0598)$$

なお S = 残差の 2 乗和, δ^2 = 分散, δ = 標準偏差であり, それぞれ実測値と, この曲線近似により求めた。以上求めた値による非線型近似曲

図10 窒素→大気投与時の鼓室階外リンパ酸素分圧変化 (n=6)

図11 純酸素→Carbogen投与時の鼓室階外リンパ酸素分圧の変化 (n=2)

線を図12に示す。

いづれの群においても潜伏時間の短いものほど酸素分圧の変化速度が大であり、この傾向は

特に潜伏時間が20秒以下の場合に著しい。また変化速度は窒素投与の場合より、純酸素投与の場合の方が大であった。

考 按

内耳機能と酸素との関係は蝸牛マイクロフォン電位を用いた電気生理学的研究が行なわれており Weber²¹⁾, Tsunoo²²⁾, Gisselson²³⁾ 等をはじめとして多くの研究者により内耳機能維持には酸素の存在の必要不可欠なことが報告されている。この内耳機能を維持するために必要な酸素は内耳血管より供給されると考えられる。感音性難聴のかなりの部分は、この内耳血管系の機能不全による酸素欠乏が病因であると推測されており、臨床治療的には内耳への酸素供給増加、内耳血流量の増強を目的とした方法が広く採用されている^{24) 25) 26)}。

1. 予備実験について

Morimitu²⁷⁾, Pollock²⁸⁾ 等は最大の内耳血管拡張作用を有し内耳血流量を増加させるのは

CO₂ の吸入であると報告した。この CO₂ 吸入の内耳に及ぼす効果をポラログラフィ法を用いた外リンパ酸素分圧の測定により検討したのは Fisch²⁹⁾ 等である。彼等は耳硬化症と突発性難聴との患者に対して各種ガス吸入時の前庭階外リンパ酸素分圧変化を鑢骨底に小孔を穿って酸素電極を挿入して測定した。結果、外リンパ酸素分圧は血液中 aPO₂ に正比例すると伴に aPCO₂ に対してより高度に正比例することを報告した。また動脈血圧の正常範囲内で外リンパ酸素分圧を上昇せしめるのは carbogen が最も有効であることも報告した。次いで Murata³⁰⁾ 等もネコ動物実験で各種条件下の外リンパ酸素分圧の変化を測定し carbogen の有用性を報告した。また Nagahara³¹⁾等は各タイプ別に分類

図12 潜伏時間（電極深度）と鼓室階外リンパ酸素分圧変化速度との関係

横軸：潜伏時間

縦軸：鼓室階外リンパ酸素分圧変化速度（絶対値）

した感音性難聴患者の前庭階外リンパ酸素分圧の **carbogen** 吸入に対する変化を測定, 比較した結果, 突発性難聴患者においては酸素分圧の初圧は低値を示すが, 吸入時には正常の反応を認めるとし, 臨床面での **carbogen** の有用性を報告した。

これ等の報告はいづれも前庭階外リンパ液中での測定であり, **carbogen** の吸入時間も15~30分と比較的長時間であるため今回行なった鼓室階外リンパ液中での測定結果とは単純に比較はできないが, 吸入ガスの変化に伴う外リンパ酸素分圧の変化が1分弱の遅延を伴って起こることから, 吸入開始より4分の時点における外リンパ酸素分圧をこれ等の報告から読みとると, Murata 等の報告では純酸素吸入時は初圧39.0mmHg から44.0mmHg (113%), **carbogen** 吸入時は初圧35.0mmHg から47.5mmHg (136%) へと上昇し, Nagahara 等のネコを使用した報告では **carbogen** 吸入時は初圧20.0mmHg から27.5mmHg (138%) へと上昇をしている。今回著者らの測定では純酸素吸入時は初圧35.6mmHg から66.1mmHg (186%) へと上昇し, **carbogen** 吸入時は初圧39.1mmHg から95.0mmHg (243%) へと上昇した。 **carbogen** 吸入が純酸素吸入より高度に内耳酸素分圧を高める点では同様であったが, 純酸素, **carbogen** いずれの吸入においても鼓室階外リンパ酸素分圧の上昇は前述の2報告の前庭階外リンパ酸素分圧の上昇より高度であった。鼓室階への血行が前庭階へのそれに比してCO₂に対してより高い反応性を持っていることが予想される。また, コルチ器への酸素供給が主に基底膜側からのもの³²⁾とすると, 鼓室階外リンパの酸素分圧は前庭階のそれに比して聴覚にとってより重要な意味をもち, この階の酸素分圧の維持は逆にコルチ器への酸素供給を補償するものと言えよう³³⁾。

2. 本実験について

正円窓膜を介する酸素供給路の存在についてはモルモットを用いた動物実験が報告されてい

る。Maass³⁴⁾は正円窓膜より直接酸素電極を鼓室階外リンパ液中に刺入し酸素分圧を測定した結果, 正円窓膜付近では100mmHgを越える値を記録したのに対し基底膜付近では10~40mmHgと低値であることを報告した。また, この酸素分圧の濃度勾配は **carbogen** 吸入時, 正円窓膜閉鎖時, 中耳腔への窒素投与時には逆転して, 電極が深くなればなるほど酸素分圧が高くなることも報告した。Morgenstern³⁵⁾等も同様に直接正円窓膜より酸素電極を鼓室階外リンパ液中に刺入し, 電極深度に応じて酸素分圧に濃度勾配のあることを報告した。しかしながら菲薄かつ柔軟性に富んだ正円窓膜に直接穿孔し深度を変化させるために生じる測定誤差(正円窓膜の位置が変化する), 外リンパ液の正円窓膜外への漏出の影響, 測定時間が短かく, その間の記録に安定性が欠ける点, および中耳腔内の酸素濃度に変化のない点と多くの問題点があり信頼性の高いものとは言えなかった。

これ等の報告に対して Nuttall³⁶⁾等の中耳腔にガスを投与すると外リンパ液の温度が低下するため大気, 純酸素, 窒素投与時にはいづれも外リンパ酸素分圧は低下すると報告し, Maass等の実験での中耳腔窒素投与時の正円窓膜付近での酸素分圧低下は温度低下によるものであるとして, この供給路の存在を否定した。しかしながら Nuttall 等の実験では各種ガス投与が連続して行なわれておらず, 温度低下の影響のみが表面にあらわれる方法が用いられており, 対照としての大気投与に問題があった。しかもガス投与時間も短かく, 流量についての記載も見うけられない。いづれにせよ正円窓膜を介しての酸素供給路の存在についての信頼しうる実験報告は今だ見られない。

今回の実験ではこれ等の諸問題を考慮し酸素電極挿入は正円窓膜に影響を及ぼさぬように基底回転部蝸牛骨壁を通じて行なった。また数時間に及ぶ測定時間中に安定した記録を得るため外リンパ酸素分圧に影響を与えられらるSBP, 血液中aPO₂, aPCO₂濃度の変化に注

意を払った。特に前述の通り外リンパ酸素分圧は血液中 $a\text{PCO}_2$ に強く影響されるため頻回に血液ガス分析を繰り返し、Herbert & Mitchell³⁷⁾等の報告によるところの正常範囲内に保った。ガス投与時の温度低下による影響を除外するため各種ガス投与前には等量 (1L/min) の大気吹き付けを行なった。

大気吹き付け時の外リンパ酸素分圧の平均初圧比は86%であった。この低下率14%が外リンパ液の温度低下による影響であると考えられる。さらに引き続き投与した純酸素は酸素分圧を平均 225 %と高度に上昇させ、また窒素投与は大気投与時と比較して平均51%と、さらに高度な低下を認めた。いづれもガス流量は同量であるため温度変化の影響はなく、これ等の結果は純酸素、窒素が正円窓膜を通過して外リンパ液中に溶解したために起ったものと結論できる。さらに純酸素ならびに窒素投与後に中耳腔投与ガスを大気に変更すると、それまでと逆の反応を示し再現性よく初圧に回復した。また純酸素中耳腔投与から carbogen 投与に変更した時に差が認められないのはガス内の酸素濃度の差が5%と低いためであり血管を介した吸入時の反応と異なるのは当然と言えよう。

正円窓膜—電極間の距離と外リンパ酸素圧との関係については、各種ガス投与時の酸素分圧の変化を比較すると、大気⇄純酸素投与時は変化速度が急速で、大気⇄窒素投与時はゆるやか

である。これは前後に投与するガス内の酸素濃度差が大気と窒素との間は約20%、大気と純酸素との間は約80%と4倍あるためと考えられる。加えて正円窓膜—電極間の距離が長いものほど変化速度は遅く、逆に短くなれば急速になる。外リンパ液中の拡散係数は一定と考えられるので、潜伏時間の短い所、即ち正円窓膜に近い部分では外リンパ酸素分圧は中耳側の酸素分圧変化に反応し易く、深部ではその影響を受け難いと言えよう。

故に、今回の実験は鼓室階外リンパ液中に正円窓膜からの深度による酸素分圧の差が存在するか否か、即ち濃度勾配があるか否かを直接測定したものではないが、中耳側に高濃度の酸素が存在すれば外リンパ液中に酸素の濃度勾配が起こることは明らかである。この勾配は中耳側の酸素濃度ならびに内耳組織の酸素消費量により変化するものである。また慢性中耳炎、滲出性中耳炎等により中耳側の酸素分圧が減少すれば基底回転部の酸素分圧低下が惹起されるものと考えられ、前述の報告にある高音域障害の成因と推測される。一方、何らかの内耳循環障害によりコルチ器への酸素供給が欠乏した時には、この正円窓膜を介する内耳への直接的な酸素供給の存在は内耳機能維持への新しい可能性を示唆するものであり、今後の臨床的応用が期待される。

ま と め

正円窓膜の酸素透過性の存在を調べる目的で、ネコ中耳腔に各種ガスを投与し、引き続き起こる鼓室階外リンパ酸素分圧の変化をポラログラフィ法により測定した結果、次のような所見を得た。

(1)中耳腔に投与された各種ガスは容易に正円窓膜を通過し、鼓室階外リンパ酸素分圧を変化させる。

(2)鼓室階外リンパ酸素分圧は正円窓膜外の酸素濃度に強く左右される。

(3)鼓室階外リンパ酸素分圧は中耳腔酸素分圧が一定の場合、正円窓膜からの距離によって左右される。

以上の結果は経正円窓膜的に直接酸素を投与することにより、内耳血流量の増強以外の内耳酸素化を高める可能性を強く示唆するものである。

稿を終るにあたり，本実験の実施に御助力を賜りました国立京都病院耳鼻咽喉科，与座朝義，内藤泰両先生に厚く御礼申し上げます．尚本論文の一部は第30回日本基礎耳科学会において発表した．

参 考 文 献

- 1) Sellers, L.M. and Anson, B.J.: Anatomical observation of the round window membrane, by Antonio Scarpa. *Arch Otolaryngol* 75: 2~9, 1962.
- 2) Kawabata, I. and Paparella, M.M.: Fine structure of the round window membrane. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 80: 1~13, 1971.
- 3) Richardson, T.L., Ishiyama, E. and Keels, E.W.: Submicroscopic studies of the round window membrane. *Acta Otolaryngol* 71: 9~21, 1971.
- 4) 中井義明，金子 実：正円窓膜—微細構造ならびに透過性について．耳鼻臨床 68: 223~232, 1975.
- 5) Bellucci, R.J., Fisher, E.G. and Rhodin, J.: Ultrastructure of the round window membrane. *Laryngoscope* 82: 1021~1026, 1972.
- 6) Miriszlai, E., et al.: The ultrastructure of the round window membrane of the cat. *ORL* 40: 111~116, 1978.
- 7) Franke, K.: Freeze-fracture aspects of the junctional complexes in the round window membrane. *Arch Otolaryngol* 217: 331~337, 1977.
- 8) Paparella, M.M.: Insidious labyrinthine change in otitis media. *Acta Otolaryngol* 92: 513~520, 1981.
- 9) 服部康夫，弓削庫太：鼓膜ならびに正円窓膜の電顕的研究．—加齢による変化について—．耳鼻 25: 1115~1138, 1979.
- 10) Sellers, L.M.: The round window, A critical reevaluation. *Laryngoscope* 71: 257~273, 1961.
- 11) 山下敏夫，岡崎伸博，Arnold, W.: 脳脊髄液と耳鼻科領域リンパ系との関係について．耳鼻臨床 71: 65~74, 1978.
- 12) 中井義明，金子 実：慢性中耳炎における感音性難聴．耳喉 47: 61~69, 1975.
- 13) Paparella, M.M.: Acoustic trauma from the bone cutting bar. *Laryngoscope* 72: 116~126, 1962.
- 14) 中井義明，山本 馨，五十嵐真：鼓室内薬剤による内耳障害. *Audiology Japan* 17: 190~197, 1974.
- 15) Arslan, M.: Modifications of the osmotic pressure of perilymph and endolymph. *Acta Otolaryngol* 67: 360~377, 1969.
- 16) Miriszlai, E. and Sandor, P.: Investigations on the critical perilymphatic pressure value causing round window rupture in anesthetized cats. *Acta Otolaryngol* 89: 323~329, 1980.
- 17) Ruben, R.J.: Serous otitis media associated with sensorineural hearing loss in children. *Laryngoscope* 88: 1139~1154, 1978.
- 18) 笹 英彦，他：正円窓膜の酸素透過性に関する研究，第1報—長期正円窓膜閉鎖によるCM及び毛細胞SDH活性の変化．耳鼻臨床 76: 1965~1973, 1983.
- 19) Lassen, N.A.: Cerebral blood flow and oxygen consumption in man. *Physiol Rev* 39: 183~238, 1959.
- 20) 藤波重次：写真計測法．pp34~44，東京1977，共立出版．
- 21) Weber, E.G., et al.: Effects of oxygen deprivation upon the cochlear potential. *Am J Physiol* 159: 199~208, 1949.
- 22) Tsunoo, M. and Perlman, H.B.: Cochlear oxygen tension (relation to blood flow and function). *Acta Otolaryngol* 59: 437~450, 1965.
- 23) Gisselson, L.: The effect of oxygen lack and decreased blood pressure on the microphonic response of the cochlea. *Acta Otolaryngol* 44: 101~108, 1954.
- 24) Appaix, A., et al.: Hyperbaric oxygenotherapy and sudden perceptive deafness. *Rev. Laryngol Otol Rhinol* 91: 951~972, 1970,

- 25) 石神寛通 : 急性感音性難聴に対する A T P 大量療法の効果—各種治療法との統計学的比較検討—. 耳鼻臨床 69 : 875~896, 1976.
- 26) 目時隆也 : 突発性難聴の治療成績—藥物療法群と S G B 併用群との比較—. 臨床麻酔 3 : 704~708, 1979.
- 27) Morimitsu, T. : Observations of the cochlea blood flow in guinea pigs by the impedance pletysmography. Otologia Fukuoka 12 : 5~32, 1966.
- 28) Pollock, R.A., et al. : Carbon dioxide as otic vasodilator, otic blood flow as measured by the microsphere technique. Arch Otolaryngol 100 : 309~313, 1974.
- 29) Fisch, U. Murata, K. and Hossli, G. : Measurement of oxygen tension in human perilymph. Acta Otolaryngol 81 : 278~282, 1976.
- 30) Murata, K. and Fisch, U. : Effect of CO₂ on the perilymphatic oxygen tension in cats. Ann Otol Rhinol Laryngol 86 : 164~171, 1977.
- 31) Nagahara, K., Fisch, U. and Yagi, N. : Perilymph oxygenation in sudden and progressive sensorineural hearing loss. Acta Otolaryngol 96 : 57~68, 1983.
- 32) Lawrence, M. : Effects of interference with terminal blood supply on organ of Corti. Laryngoscope 76 : 1318~1337, 1966.
- 33) Nagahara, K., Fisch, U. and Dillier, N. : Evidence of autoregulation in the inner ear oxygenation of the cats. Ann Otol(in press)
- 34) Maass, B., Baumgartl, H. and Lubbers, D.W. : Lokale pO₂ und pH₂-Messungen mit Nadellelektroden zum Studium der Sauerstoffversorgung und Mikrozirkulation des Innenohres. Arch Oto-Rhino-Laryng 214 : 109~124, 1976.
- 35) Morgenstern, C. and Kessler, M. : Oxygen transport to the inner ear—III. Plenum publ Corp New York : 741~745, 1977.
- 36) Nuttall, A.L., Hultcrantz, E. and Lawrence, M. : Does loud sound influence the intracochlear oxygen tension? Hearing Research 5 : 285~293, 1981.
- 37) Herbert, D.A. and Mitchel, R.A. : Blood gas tensions and acid-base balance in awake cats. J Appl Physiol 30 : 434~436, 1971.

(原稿到着 : 昭和59年 3 月27日
別刷請求先 : 笹 英彦
〒570 大阪府守口市市園町1
関西医科大学耳鼻咽喉科学教室)