モルモット蝸牛内・外リンパ圧の測定

吉田 雅文・上村 卓也

Measurement of Endolymphatic and Perilymphatic Pressure
in the Guinea Pig Cochlea

Masafumi Yoshida and Takuya Uemura

(Kyushu University)

Hydrostatic pressure in the endolymph and perilymph was measured by a servo-controlled micropipette system in guinea pigs anesthetized with pentobarbital. During and after 3 minutes of anoxia, endolymphatic pressure showed changes similar to those observed in systemic arterial pressure and cochlear blood flow. Fine fluctuations with influences of heartbeat and respiration were observed in the endolymphatic pressure. These facts indicate that the system is applicable for the accurate measurement of inner ear pressure, especially of endolymphatic pressure. In guinea pigs with middle ear filled with a saturated sodium chloride solution, both endo- and perilymphatic pressure measurements showed a gradual decline for 15 minutes and a slow recovery during the next 25 minutes. These pressure changes indicate that water is transferred through the semipermeable membrane of the inner ear due to modified osmolarity. The absence of a pressure gradient between the two fluids during the period of observation suggests that Riessner's membrane is not stiff.

はじめに

内耳液の静水圧に関する研究は、イオン濃度や浸透圧などの研究と並んで、内耳液代謝の異常によって起こると考えられている内耳障害、たとえばメニエール病などの病態を知る上で重要である。これまでに、直接電気圧力計に接続したカニューレを内耳に挿入する方法で観察された、外リンパ圧に関する知見は数多く報告されている¹⁻⁵⁾。しかし、従来のこの方法で内リンパ圧を測定するには、技術的に問題がある。

われわれは、毛細血管内の血圧測定のために開発された servo-controlled micropipet system⁶⁾を用い、モルモットにおいて内リンパおよび外リンパの静水圧の測定を行っている。本稿では、anoxia 負荷ならびに飽和食塩水の中耳腔への注入の、内耳液圧に及ぼす影響について報告する。

実験方法

実験には、体重 200 g から 400 g の耳介反射正常な黒目モルモットを使用した。図 1 に、測

定の block diagram を示す。内耳液圧の測定には、WP-Instrument Model 900 Micropres-

図1 モルモット蝸牛内・外リンパ圧測定のための block diagram.

sure System を用いた。この system は、先端直径 $2-5\ \mu$ のガラス毛细管電極を sensing element として、微小な体積腔内の静水圧と電位を同時に測定するもので、その原理の詳細は既に報告した⁷⁾。

動物は pentobarbital $40\ \text{mg/Kg}$ 腹腔内投与により麻酔し、tubocurine chloride $6\ \text{mg/Kg}$ 筋注による筋弛緩下に、人工呼吸を行った。ventral approach で中耳骨胞を開き、蝸牛基底回転の骨壁を薄く削り、中央階または鼓室階に相当する部に、直径 $20-50\ \mu$ の小孔を作製した。この小孔より、micropressure system に接続した毛细管電極を、micromanipulator を用いて蝸牛内に刺入した。

一匹の動物からは、内リンパまたは外リンパいずれか一方の静水圧を測定した。内リンパ圧の測定では、ラセン靱帯および血管条がシール

図2 外リンパ圧の測定に用いた、先端から約 $400\ \mu$ にシールを持つ pipet.

の役割を果し、リンパ液の漏れは認められなかった。一方、外リンパ圧の測定に際しては、先端より約 $400\ \mu$ の部にシールを有する特殊な pipet を用いた (図2)。静水圧と直流電位は、polygraph 上に記録するとともに、digital meter で直読した。

実験結果

1) anoxia

3分間の人工呼吸停止による anoxia の、内リンパ圧に及ぼす影響を観察した。

図3に示す一例のように、内リンパ圧は

anoxia の開始後徐々に上昇し、その解除後に急激な一過性の上昇を示した後、正常の値に戻っていった。5匹のモルモットにおける anoxia 解除後の圧上昇は、 $12.1 \pm 2.6\ \text{mmHg}$ (平

図3 3分間の anoxia 負荷による内リンパ圧と蝸牛内直流電位の変化。

A: anoxia 負荷前, B: anoxia 開始2分後, C: anoxia 解除1分後。

図4 内リンパ圧の、呼吸と心拍による微細な変動。

均±標準偏差, 以下同じ)であり, 上昇のピークは解除後 16 ± 6 秒に認められた。図4に, 呼吸および心拍による内リンパ圧の微細な変動を示す。anoxiaにより, 図4Aにみられた呼吸性的変動は消失し, 徐脈となった心拍による変動のみが観察された(図4B)。anoxiaの解除後には, 呼吸と心拍による変動はともに増強されていた(図4C)。

同時に観察された蝸牛内直流電位(EP)は, anoxiaの開始後減少し, 3分後では -28.5 ± 10.0 mVに達し, anoxiaの解除とともに急速に回復した。

2) 飽和食塩水の中耳腔注入

飽和食塩水約0.1 mlを, 中耳腔へ注入した時の, 内・外リンパ圧の変動を観察した。注入は安定した圧が5分間以上記録されることを確認した後, あらかじめ蝸牛窓近くまで挿入しておいたポリエチレンチューブを通して行った。

図5に注入による内リンパ圧とEPの変動の一例を, 図6にそれぞれ5匹の動物から得られた内・外リンパ圧の平均を示す。注入前の圧は内リンパ 3.0 ± 0.6 mmHgで, 外リンパ 3.2 ± 0.9 mmHgであり, 両者の間には, t検定で有意の差はなかった($p > 0.6$)。飽和食塩水の

図5 飽和食塩水の中耳腔注入による内リンパ圧と蝸牛内直流電位の変化。

図6 飽和食塩水の中耳腔注入による内・外リンパ圧の変化。それぞれ5匹のモルモットでの平均値と標準偏差を示す。

注入に続いて、内・外リンパ圧はともに徐々に低下し、約15分後に最低のレベルに達した。内リンパ圧低下の最大値は平均で 1.4 ± 1.0 mmHg であり、外リンパ圧のそれは 1.4 ± 0.5 mmHg であった。両者の間に差は認められなかった ($p > 0.9$)。その後両リンパ圧はゆっくりと上昇していったが、この実験では外リンパに比

べ、内リンパ圧の回復が先行する傾向が認められた。しかし注入後40分では、内・外リンパ圧はそれぞれ 2.8 ± 0.8 mmHg と 2.1 ± 1.2 mmHg であり、両者の差は統計的に有意でなかった ($p > 0.3$)。

飽和食塩水注入前の EP は、5例の平均で 78.0 ± 7.8 mV であった。注入後2分から5分

にかけて数ミリボルトのオーバーシュートを示した後、EPは低下し約30分で最低値 3.7 ± 2.1

mVに達した。その後の10分間には電位の変化はなく、極性の逆転は認められなかった。

考

内耳液圧に関する研究は、これまで外リンパ圧をその主な対象として数多く行われてきた。1958年に Weille¹⁾ が容量型トランスデューサーを用い、また1965年に中島²⁾ が、1968年には Martinez³⁾ が歪ゲージ型トランスデューサーを用いた内耳液の測定を報告している。

しかし、従来の方法を用いて内耳圧、殊に内リンパ圧の測定を行うには、技術的な問題がある。Beentjes⁴⁾ は、カニューレを直接圧トランスデューサーに接続する方法では、内耳に挿入するカニューレの先端直径が数十 μ 以下であると、心拍や呼吸に伴う圧の微細な動揺が観察できないことを報告している。一方、内リンパ液の量はモルモットで0.002 mlとされており⁸⁾、このように微量な体積腔に直径数十 μ 以上のカニューレを挿入すれば、蝸牛管の損傷や圧自体に及ぼす影響は無視できない。

1975年に Angelborg⁹⁾ が、また1981年には Nagahara¹⁰⁾ が、Weiderhielm⁶⁾ により初めて生理学実験に応用された servo-controlled micropressure system を使用し、外リンパ圧に関する研究を報告している。われわれは同じ原理に基づいて開発された micropressure system を、外リンパだけでなく内リンパ圧の測定に応用した。この方法には、電気圧力計を用いた従来の方法に比べ、いくつかの利点がある。第一に、測定系の volume displacement は0に等しく、内リンパのような微量の液体の圧変化が正確に測定できる。次に、カニューレの先端直径が5 μ 以下と小さく、挿入による内耳への影響が少ない。また、同時に測定されるEPにより、カニューレの先端が中央階に位置していること、および蝸牛管に損傷がないことを容易に確認できる。

人工呼吸の停止による anoxia の負荷で、内リンパ圧は徐々に上昇し、anoxia の解除後に

按

一過性の急な上昇を示し、その後ゆっくりと負荷前の値へと戻っていった。この圧の変化は、全身血圧の変化と類似しており¹¹⁾、その微細な変動は impedance plethysmography により測定された蝸牛血流のそれとも一致していた¹²⁾。

これらの事実から、内耳圧は従来の報告にみられる髄液圧⁵⁾、全身血圧¹⁰⁾ の影響と同時に、局所の血流の影響を直接に受けていると考えられた。同時に、図4に示したように、内リンパ圧の微細な変動が、anoxia 負荷前後において変化することも記録されていた。また、蝸牛管に損傷があると認められないとされる anoxia 時の負のEPも、3分後には約-30 mVの値を示した。従ってわれわれの用いた測定装置により、内リンパ圧の正確な測定が可能であると結論した。

Arslan¹³⁾ は、モルモット中耳腔に飽和食塩水を注入することにより、早期においての注入側向きと、それに続く反注入側向きの二相性眼振が認められることを報告し、この実験的内耳障害がメニエール病のめまい発作に類似することを指摘するとともに、内耳液の浸透圧変化に基づく水の移動を、その障害の機序として重視した。Molinari¹⁴⁾ は、蝸牛窓に NaCl の結晶を置くと、30分後には内・外リンパの Na, K イオン濃度が著明に上昇し、180分後には正常に近い値まで減少することを、また Huangfu¹⁵⁾ らは、外リンパKイオン濃度上昇のピークが、投与後15分にあることを報告している。この内耳液イオン濃度の上昇が、浸透圧による水の移動に基づくものであるとすれば、内耳から高張な液で満たされた中耳腔へ水の出っていく早期には内耳圧の低下が、周囲組織から高張となった内耳へ水の入ってくる後期には圧の上昇が考えられる。

われわれの実験では、飽和食塩水の中耳腔注

入により、内・外リンパ圧はともに低下し約15分で最低となり、その後徐々に上昇していった。これは、予想された変化と時間的にも一致しており、内耳での速やかな水の移動が裏付けられた。また、組織学的に内リンパ腔の collapse があり、Reissner 膜の変位が報告されて

いる早期¹³⁾においても、内・外リンパ間に有意の圧差は観察されなかった。このことから、Reissner 膜の stiffness は極めて小さく、内耳液の代謝異常によりその体積に変動がおこる時、Reissner 膜は容易に伸展され、hydrops または collapse が形成されと考えられた。

ま と め

- 1) servo-controlled micropipet system を用い、モルモット蝸牛内リンパおよび外リンパ静水圧の測定を行った。
- 2) 人工呼吸の停止による3分間の anoxia で、内リンパ圧は全身血圧と平行した変化を示した。心拍や呼吸によるその微細な変動は、内耳液流のそれと一致していた。
- 3) 飽和食塩水を中耳腔に注入することにより、内・外リンパ圧はともに低下し、約15分で最低値に達し、その後徐々に上昇した。注入後40分間の観察では、内・外リンパ間に圧差は認められなかった。

文 献

- 1) Weille FL, et al: Pressure of the labyrinthine fluids. *Ann Otol Rhinol Laryngol* **67**: 858~868, 1958.
- 2) 中島恒彦: 内耳圧変動に関する実験的研究. 耳鼻 **11**: 補4: 153~168, 1965.
- 3) Martinez DM: Simultaneous measurement of endolymphatic and perilymphatic fluid pressures before and during anaphylaxis and associated changes in cerebrospinal fluid, venous and arterial pressures. *Acta Otolaryngol [Suppl]* **238**: 1~53, 1968.
- 4) Beentjes BJ: The cochlear aqueduct and the pressure of cerebrospinal and endolabyrinthine fluids. *Acta Otolaryngol* **73**: 112~120, 1972.
- 5) Carlborg BIR and Farmer JC: Transmission of cerebrospinal fluid pressure via the cochlear aqueduct and endolymphatic sac. *Am J Otolaryngol* **4**: 273~282, 1983.
- 6) Weiderhielm CA, et al: Pulsatile pressure in the microcirculation of frog's mesentery. *Am J Physiol* **207**: 173~176, 1964.
- 7) Yoshida M and Lowry LD: Hydrostatic pressure measurement of endolymph and perilymph in the guine pig cochlea. *Am J Otolaryngol* **5**: 159~165, 1984.
- 8) Johnstone BM and Sellick PM: The peripheral auditory apparatus. *Q Rev Biophys* **5**: 1~57, 1972.
- 9) Angelborg C and Agerup B: Glycerol effects on the perilymphatic and cerebrospinal fluid pressure. *Acta Otolaryngol* **79**: 81~87, 1975.
- 10) Nagahara K, et al: Experimental study on the perilymphatic pressure. *Am J Otol* **3**: 1~8, 1981.
- 11) 吉田雅文, 他: モルモット蝸牛内リンパ圧と EP の同時記録の試み. 基礎耳科 **12**: 181~183, 1981.
- 12) Morimitsu T, et al: Behavior of the cochlear blood flow. *Ann Otol Rhinol Laryngol* **74**: 22~32, 1965.
- 13) Arslan M: Modification of the osmotic pressure of perilymph and endolymph: an hypothesis of the pathogenesis of Meniere's disease. *Acta Otolaryngol* **67**: 360~377, 1969.
- 14) Molinari GA: Alteration of inner ear mechanisms resulting from application of sodium

chloride on the round window membrane. Ann
Otol Rhinol Laryngol 81 : 315~322, 1972.

- 15) Huangfu M, et al : Dynamics of the flow of
perilymph in the cochlea of the guinea pig.

Arch Otolaryngol 108 : 535~538, 1982.

別刷請求先 : 吉田 雅文
〒812 福岡市東区馬出3-1-1
九州大学医学部耳鼻咽喉科学教室