人工内リンパ中央階注入時の内・外リンパ圧

竹内 俊二・竹田 泰三・齋藤 春雄

Pressure Relationship between Perilymph and Endolymph after the Infusion of Artificial Endolymph into Scala Media

Shunji Takeuchi, Taizo Takeda and Haruo Saito

(Kochi Medical School)

The pressure difference between the perilymph and the endolymph following infusion of artificial endolymph into the endolymphatic space was studied in guinea pigs. The perilymphatic and the endolymphatic pressures were measured simultaneously with two sets of a servo-nulling system. Endolymphatic infusion caused pressure increases in both the endolymphatic and the perilymphatic spaces, but no significant pressure difference between them. Soon after the endolymphatic infusion, both pressures returned to nearly the initial levels. We conclude that the endolymphatic and the perilymphatic pressures are very closely related and there may not be a significant pressure difference between them in endolymphatic hydrops.

Key words: inner ear fluid pressures, simultaneous recording, hydrops

はじめに

内リンパ水腫においては、その形態学的特徴から、内リンパ圧の上昇があるとする説がある。Tonndorf¹⁾²⁾ は、内リンパ圧の上昇に基づいてメニエル病の難聴の発生機序を説明した。Ito³⁾、Bohmer⁴⁾ は実験的内リンパ水腫動物の内・外リンパ圧に有意の差を認めたと報告している。また Long⁵⁾ も、実験的内リンパ水腫形成の初期において内・外リンパ圧に差があると報告している。しかしながら我々の実験では、内リンパ水腫モルモットの内・外リンパ圧の間に有意の差がなかった⁶⁾。また、内・外リンパ圧を同時に測定しながら無呼吸負荷やグリセロール負荷⁷⁾、脳脊髄液腔の加圧⁸⁾ を行った実験でも、内・外リンパ圧の間に有意の差を生じな

かった。

内・外リンパの間に圧差が生じるかという問題は、内耳の病態生理、特に内リンパ水腫における難聴やめまいの発生機序に関連して重要である。本研究では、内リンパ水腫の内・外リンパ圧を更に詳細に検討するために、内・外リンパ圧を同時に測定しつつ、蝸牛中央階に人工内リンパを微量注入して、中央階の体積増加によって内・外リンパ圧の間に差が生じるか否かを検討した。注入後の膜迷路の形態的な変化についても検討した。

方 法

実験系のブロックダイアグラムを図1に示す。内・外リンパ圧の測定は、サーボ圧測定装置 (Micropressure system model 900, WPI Inc,

New Haven, Conn, USA) を、2 台同時に用いて行った。2 台のシステムの校正の方法は、すでに報告した⁶⁾。測定に用いたガラスマイクロピペットの先端は約5 ミクロンに研磨し、2 M KCl を充填した。内リンパ腔への刺入は、ピペット先端の電位を同時に測定し、EP を指標として確認した。

内リンパ腔への人工内リンパの注入の為に図2に示す器具を自作した。注入用ガラスマイクロピペットの先端は20~30 ミクロンとした。内リンパ腔への刺入は EP を同時に測定して確認した。注入用ガラスマイクロピペット先端の電位の測定には Dual Electrometer model 223 (WPI Inc, New Haven, Conn, USA) を用いた。

人工内リンパの組成を表1に示す。これは Marcus ら⁹⁾ の内リンパ腔灌流実験に基づいたものであり、電解質濃度と浸透圧がよく考慮されている。Fernandez¹⁰⁾ の報告に基づいて計算するとモルモットの中央階の体積は約2 μ l であるので、注入量は中央階の十分な体積増加を起こす量を考えて2 μ l とした。注入用ピペットは先端径が20~30 ミクロンと小さいため先端径の

わずかな違いが注入に対する抵抗の大きな差となって現れる。このため、微量注入器で同じように加圧しても注入に要した時間は30秒から4分と差ができた。

実験には体重 250~300 g のプライエル反射良好な白色モルモットを31匹用いた。このうち26匹は圧の測定に、5 匹は組織学的検討に用いた。ペントバルビタール 25 mg/kg を腹腔内投与して麻酔、気管切開を行って人工呼吸器にて維持、臭化パンクロニウム 0.4 mg/kg を筋肉内注射して不動化させた。

頭部を固定した後、側方から中耳骨胞を開削し蝸牛を明視下においた。内耳への影響を最小限とするため、耳小骨は温存した。内リンパ圧

図2 人工内リンパ液注入装置

図1 実験系のブロックダイアグラム。外リンパ圧 (Pp) と内リンパ圧 (Pe) を同時に測定し、人工内リンパ液を中央階に微量注入した。中央階への刺入は EP の同時測定によって確認した。

表1 人工内リンパ液の組成

試薬	KCl	NaCl	KHCO ₃	MgCl ₂	CaCl ₂	K ₂ HPO ₄	KH ₂ PO ₄	mannitol
濃度 (mM)	126	1	25	0.025	0.025	1.8	1.4	25

の測定には蝸牛基底回転中央階骨壁に、外リンパ圧の測定には基底回転鼓室階骨壁に、それぞれ直径約50ミクロンの小孔を開けて測定用のガラスマイクロピペットを刺入した。内リンパ腔注入用のガラスマイクロピペットは基底回転中央階骨壁に圧測定用の小孔から約1.5 mm 離れて小孔をあけて刺入した。圧測定用の2本、内リンパ腔注入用の1本、計3本のピペット刺入部は、歯科用セメント (Unident SMFP, 三金社製) で、密閉、固定した。

内リンパ腔注入後の膜迷路の形態的な変化を観察するため、2 μ l 注入後、生体灌流固定を行い側頭骨を採取し、脱灰のちセロイジン・パラフィン重包埋法でブロックを作製し、薄切した。

結 果

圧測定に用いた26匹のモルモットのうち12匹において、内・外リンパ圧の同時測定と内リンパ腔への注入が可能であった。これ以外のモル

モットでは、圧測定用ピペットの破損や、EPが60 mV 以下であったため、結果の検討から除外した。

正常モルモットの無負荷の状態では内・外リンパ圧に有意の差はなく⁷⁾、内・外リンパ圧の絶対値は個体ごとに異なり、同一個体でも体位によって変化するため、圧の絶対値ではなく圧の変化について調べた。

図3に内リンパ腔へ人工内リンパを注入した時の内・外リンパ圧の変化の一例を示す。人工内リンパの注入によって内・外リンパ圧共に上昇したが、その変化はほぼ等しく、注入終了後は両圧共に同じように低下した。12匹のモルモットにおいて、注入量が0.5 μ l, 1.0 μ l, 2.0 μ l の各時点での内・外リンパ圧差を表2に示す。両圧の間に有意の差はなかった。

注入中ピペット周囲や蝸牛窓からの明らかな液の漏れはなく、注入後の注入ピペット内への

図3 中央階へ人工内リンパ液を2.0 l 注入した際の内リンパ圧 (Pe), 外リンパ圧 (Pp), EP の変化の一例 (動物 No. 420)。

表2 中央階へ人工内リンパ液を注入した際の内リンパ圧 (Pe) と外リンパ圧 (Pp) の差

注入量 (μ l)	Pe-Pp (mmHg)												Pe-Pp (mmHg)	
	動物番号												平均	標準偏差
	409	413	416	420	421	422	425	426	427	428	429	430		
0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.017	0.037
1.0	0.2	-0.2	-0.3	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.000	0.135
2.0	-0.2	-0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.2	0.2	0.0	0.0	0.017	0.128

逆流もなかった。

注入中の圧上昇の最高値と、注入後1分の圧の値を表3に示す。外リンパ圧と内リンパ圧はほぼ同様に变化したので内リンパ圧の変化のみ

表3 人工内リンパ液注入による内リンパ圧(Pe)の最高値と注入終了後1分の内リンパ圧。注入前の値を0.0 mmHgとした。

動物番号	Pe (最高値) (mmHg)	Pe (注入後) (mmHg)
409	>16.0	0.4
413	>16.0	0.7
416	5.2	-0.2
420	2.0	0.4
421	1.8	0.6
422	1.1	0.0
425	1.5	0.3
426	4.1	0.2
427	3.2	0.3
428	12.4	1.2
429	11.8	0.6
430	10.8	0.5

を示した。注入終了後、圧はただちに低下しはじめ30秒から1分後には注入前の値に近づいた。

2 μ l 注入後の蝸牛では、組織学的にライスネル膜の軽度の伸展と球形嚢の拡張がみられた(図4)。

図5 中央階へ人工内リンパ液を2.0 l 注入した際のEPの変化。n=12, 平均+標準偏差。

図4 中央階へ人工内リンパ液を2.0 l 注入した後の組織像。A: 蝸牛, B: 注入側の前庭, C: 正常側の前庭。*; ピペット刺入部, s; 球形嚢, u; 卵形嚢。

EP は注入によって低下したが、注入後は回復する傾向がみられた (図5)。

考 察

本研究で用いた内リンパ腔へ人工内リンパを微量注入する方法は、内リンパ腔の急激な体積の増加を惹起する。これは注入後の組織標本で伸展したライスネル膜と拡張した球形嚢がみられたことから明らかである。したがってこの方法は、極めて短時間で形成された内リンパ水腫のひとつのモデルであるといえる。

人工内リンパ注入中、注入後共に内・外リンパ圧が同一の変化を示したことは、内リンパ水腫の形成後のみならず、形成中においても内・外リンパ圧の間に有意の差が無いことを示している。つまり、ライスネル膜は中央階の体積の増加に伴って容易に伸展し、この際に内リンパ圧の外リンパ圧に対する有意の上昇を伴わない。

我々はこれまでに外リンパ圧の変化が減衰することなく、また時間的に遅れることなく内リンパに伝達されることを報告してきた^{7,8)}。本研究では内リンパから外リンパの方向においても同様に圧の変化が伝達されることが示された。

人工内リンパ注入終了後、内・外リンパ圧ともに速やかに注入前の値近くまでもどったことは、注入にともなう内耳液の体積増加が外リンパの蝸牛水管または内耳道経由の脳脊髄液腔への移動によって解消されたためと考えられる。

Tasaki ら¹¹⁾ は KCl 等張液 0.015 μ l を中央階に注入すると、EP の上昇がみられたと報告している。我々の実験においては、人工内リンパを中央階に注入した際に EP の低下がみられた。この相違の主な原因は、我々の実験では注入量が Tasaki らの100倍以上であるため、内耳骨胞内の一過性の圧の上昇が内耳血流の減少を来したためと考えている。

これまでの我々の研究結果^{6)~8)} と本研究の結果から、内リンパ水腫において内リンパ圧が外リンパ圧に比べて現在利用しうる方法で明らかにされるほど有意に上昇しているとは考えにくい。

本研究は厚生省特定疾患前庭機能異常調査研究班の研究費援助、および文部省科学研究費 No. 63771323 の援助によって行われた。

参考文献

- 1) Tonndorf J : The hearing loss in early cases of endolymphatic hydrops. *Ann Otol* **66** : 766~784, 1957.
- 2) Tonndorf J : Endolymphatic hydrops; mechanical cause of hearing loss. *Arch Otorhinolaryngol* **212** : 293~299, 1976.
- 3) Ito S, Fisch U, Diller N, et al : Endolymphatic pressure in experimental hydrops. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* **113** : 833~835, 1987.
- 4) Bohmer A and Andrews JC : Maintenance of hydrostatic pressure gradients in the membranous labyrinth. *Arch Otorhinolaryngol* **246** : 65~66, 1989.
- 5) Long CH and Morizono T : Hydrostatic pressure measurements of endolymph and perilymph in a guinea pig model of endolymphatic hydrops. *Otolaryngol Head Neck Surg* **96** : 83~95, 1987.
- 6) 竹内俊二, 竹田泰三, 齋藤春雄 : 実験的内リンパ水腫 モルモットの 内・外リンパ圧差. *Equilibrium Res Suppl* **5** : 88~91, 1989.
- 7) 竹内俊二, 竹田泰三, 岸本誠司, 他 : 内・外リンパ圧差について. *Equilibrium Res Suppl* **4** : 41~44, 1988.
- 8) 竹内俊二, 竹田泰三, 齋藤春雄 : 脳脊髄液腔加圧時の内・外リンパ圧差. *耳鼻臨床* **83** : 789~792, 1990.
- 9) Marcus DC, Rokugo M, Ge X, et al : Response of cochlear potentials to presumed alterations of ionic conductance; endolymphatic perfusion of barium, valinomycin and nystatin. *Hear Res* **12** : 17~30, 1983.
- 10) Fernandez C : Dimensions of the cochlea (guinea pig). *J Acoust Soc Am* **24** : 519~523, 1952.
- 11) Tasaki I, Davis H and Eldredge DH : Exploration of cochlea potentials in guinea pig with a microelectrode. *J Acoust Soc Am* **26** : 765~773, 1954.

原稿受付：平成元年12月7日
原稿採択：平成2年1月9日
別刷請求先：竹内俊二
〒783 高知県南国市岡豊町小蓮
高知医科大学耳鼻咽喉科学教室