ヒト側頭骨病理研究補遺

佐野 光 仁

The Status of Human Temporal Bone Research
in Osaka University Medical SchoolMitsuhito Sano
(Tondabayashi Hospital)

We have investigated human temporal bones, especially in fetuses and newborn children to clarify the relation between the features of hearing impairment and temporal bone histopathological findings. About 300 temporal bone specimens were obtained from patients with 18 trisomy, 6p monosomy, 1g+ monosomy, Turner's syndrome, osteogenesis imperfecta, campomelic dysplasia, thanatophoric dysplasia, and mucopolysaccharidosis. Our method of preparation of temporal bone specimens is also described.

Key words: temporal bone, fetus, new born children, hearing impairment

はじめに

側頭骨病理の研究に電子顕微鏡が導入されて以来、Ultramicroscopicな観察が動物実験だけではなく、ヒューマンのマテリアルについても盛んに行われるようになってきた。しかし現在においてもなお、側頭骨病理の研究に連続的に側頭骨標本を作成し、メニエール病の本態といわれている内リンパ水腫の発生の検討においては光学顕微鏡を用いた macroscopic な側頭骨標本の研究がなお必要である。また蝸牛のコルチ器、神経節細胞、血管条の reconstruction¹⁾²⁾、コンピュータによる側頭骨の三次元構築³⁾などには光学顕微鏡の側頭骨病理組織標本が不可欠である。

また、大阪大学耳鼻咽喉科には1938年山川強四郎先生が世界ではじめてメニエール病の側頭骨標本⁴⁾を発表して以来伝統的に側頭骨の病理

研究が行われている。

しかしながらそれら側頭骨の研究も最近は動物実験の分野でむしろ盛んで、山川強四郎先生以来依然と続いていたヒューマンの側頭骨研究に関するものは少なくなってきた。

様々な疾患の病因、病態を研究する基礎として臨床病理の重要性は言うまでもなく、ヒューマンの側頭骨に関する研究が少なくなっている現状を憂慮し、再びヒューマンの側頭骨の研究に着手した。成人の側頭骨を研究することはもちろんのことであるが、剖検例が最近は極度に減少している現状では成人の側頭骨の入手はなかなか困難であるので、まず手始めに、剖検例の多い胎児、新生児の側頭骨に注目して、これらの標本を収集して、種々の疾患における病理病態の解明に取り組むことにした。ここでは我々がいままでに経験した側頭骨の標本作成

法よりはじめて、側頭骨採取の現況、今後の展望について述べる。

側頭骨標本の作製法

側頭骨病理を研究するに当たり、一番重要なことは、その形態的な変化がアーチファクト否かと言う点である。アーチファクトを惹起する要因としてマテリアルを採取してから固定までの時間（死後変化）、固定液の種類、固定の時間、脱灰液の種類、脱灰の時間などが挙げられる。

側頭骨標本の作製法として我々が2, 3検討した点を先ず述べることにする。

1) 側頭骨標本の採取法⁵⁾⁶⁾⁷⁾

成人の側頭骨の採取法は従来よりよく行われているのは Schuknecht の側頭骨プラグが頭蓋骨を開頭した場合には頭蓋底より側頭骨の錐体部を円筒状にくり貫くか、また開頭しない場合には耳介より両耳を円筒状にくり貫く方法がとられている。しかし胎児、新生児の側頭骨は柔らかく、在胎日数の低い胎児では骨化が不十分で側頭骨を採取するのは容易である。在胎日数20週未満の胎児であればメスで簡単に摘出できる。もう少し成長した胎児や新生児の場合には解剖用のメスやハサミで簡単に摘出できる⁵⁾。側頭

骨摘出の際にはできるだけ外耳道、中耳腔の耳小骨、外耳道、鼓膜もインタクトで採取できるように注意している。

2) 側頭骨の固定法⁸⁾ (表1)

側頭骨の固定には10%のホルマリン液、Wittmaack 氏固定液 Heidenhein-SuSa 固定液がしばしば用いられている。我々の教室では従来より Wittmaack 氏固定液を用いている。それぞれの固定液に特徴があることが認められた。特に言及したいことはホルマリン固定液と Plank-Rychlo 脱灰液は相性が悪いことである。

それぞれの固定液の特徴は、蝸牛において10%ホルマリン固定液では外リンパ腔である前庭階、鼓室階については特に著変は認められなかった。しかし内リンパ腔である中央階にはヘマトキシリン・エオジンにて淡いピンク様に染まる析出物の出現が認められた。この物質は基底回転、中央回転、頂回転の区別なく認められた。また中耳腔側、側頭骨側の差はなかった。ライスネル膜は3種類の固定法のなかでは一番張力がかかっているようにまっすぐであった。しかし基底回転の中耳側のライスネル膜だけが軽度中央階の方へ陥凹する傾向が認められた。蓋膜は膨化しており頂回転に行くほど程度は強く頂

表 1

部 位 \ 固定法	10%ホルマリン固定	Wittmaack 氏固定	Heidenhein-SuSa 固定
中 央 階	析出物 (+)	析出物 (-)	析出物 (-)
ライ ス ネ ル 膜	伸展がよい	たるみ (+)	たるみ (+)
血 管 条	幅がうすい	幅が少し厚い	幅が少し厚い
蓋 膜	膨化、融解	融解していないが厚い	収縮し、少しうすい
コ ル チ 器	全体の高さが低い	全体の高さが高い	全体の高さが高い
有毛細胞の染色度	淡 い	中 間	濃 い
ヘ ン ゼ ン 細 胞		細胞周囲に空胞形成 (上回転)	
外ラセン溝上皮	細胞質が融解 (上方回転で著名)	上皮層が索状になり下層よりはく離挙上 (下方回転に著名)	融解 (-) はく離 (-)
内ラセン溝上皮	細胞質が融解 (上方回転で著名)	上皮層がはく離挙上 (下方回転に著名)	はく離 (-)
ラ セ ン 神 経 節	核が濃染		

回転では蓋膜の融解が認められた。コルチ器は全体に高さが低く、有毛細胞の染色性は弱く、淡く染まる程度であった。外ラセン溝上皮、内ラセン溝上皮ともに細胞質が融解しており、この程度は上方回転に行くほど著名であった。又ラセン神経節細胞の核は一番強く濃染された。

Wittmaack 固定液では内リンパ腔、外リンパ腔には10%のホルマリンと異なって析出物は認められなかった。しかしライスネル膜には膨隆、陥凹のたるみが認められた。血管条は幅が少し厚かった。蓋膜はホルマリン固定と異なって融解してはいないが、幅が厚い傾向が認められた。コルチ器では全体の高さが高く、有毛細胞の染色度は3種類の固定法では中間位であった。ヘンゼン細胞の周囲に、とくに上方回転に空胞の形成が認められた。外ラセン溝上皮、内ラセン溝上皮ともに索状になり基底膜より剝離挙上していた。この程度は下方回転に行くほど著名であった。

Heidenhein-SuSa 固定液では内リンパ腔、外リンパ腔ともに析出物を認めなかった。ライスネル膜は全回転に軽度の陥凹が認められた。血管条はホルマリン固定と異なり幅が少し厚かった。蓋膜は収縮し幅が薄かった。これは全回転にわたり同程度に認められた。コルチ器は全体の高さが高く有毛細胞の染色度は3種類の固定法の中では一番濃染した。外ラセン溝上皮、内ラセン溝上皮ともに融解、剝離の現象は認められなかった。

前庭、半規管においては蝸牛と同様に10%のホルマリン液で内、外リンパ腔に析出物を認める以外、10%のホルマリン液、Wittmaack 氏固定液、Heidenhain-SuSa 固定液の3種類の固定液による差は認めなかった。しかし半規管の膨大部では全ての固定液で内リンパ腔が collapse になりやすい傾向を認めた。

3) 側頭骨の脱灰法

脱灰についてはしばしば用いられているものとしては EDTA が挙げられるが、我々の教室では従来より Plank-Rychlo 脱灰液が用いられ

ている。しかしこの脱灰液は10%のホルマリン固定液とはどうも相性が悪く、前述したごとくコルチ器の変形やライスネル膜の変形などを生じ易く、Plank-Rychlo 脱灰液には Wittmaack 固定液が相性が良いように思われる。さらに脱灰液については検討が必要と考えられる。現在私たちは重金属による汚染が問題となっている事も考慮にいれ固定液と脱灰液について検討している。

4) 固定までの時間(死後変化)⁹⁾¹⁰⁾

さらに次に問題になるのはアーチファクトを惹起する要因としてマテリアルを採取してから固定までの時間(死後変化)である。マテリアルを採取し固定までの時間の差(死後変化)による詳細な研究は山川、Fernandz によりなされているが、固定までの時間ができるだけ短いことが当然のことであるが、我々のつたない経験では夏であっても冷凍庫で貯蔵しておれば24時間は評価できる標本の作成が、可能であろう。

5) 標本の提示方法

最近はパーソナルコンピューターがいろいろな分野に用いられるようになり、我々も簡単に使用できるようになってきた。そこで側頭骨データの整理だけにコンピューターを用いるのではなく、セロイジンの連続切片を三次元的に立体構築することにより複雑な構造をしている側頭骨標本を三次元的にとらえることができるようになった。我々のところではオリンパス製の三次元構築プログラム“OZ”を用いて三次元構築を行っている。現在のところヒューマンの側頭骨について三次元構築は行っていないが、実験動物においてはその形態を調べる目的で行っている。Sando、高木¹¹⁾¹²⁾、原田ら³⁾、Green¹³⁾の詳細な報告もなされているが、三次元構築する際に、一番重要なことは基準線をいかに正確につけるかという点である。我々は針治療に使用できるだけ細い針をセロイジン包埋した標本をマイクロームにセッティングしてその上で台木にできる限り垂直にセロイジンに刺入す

る事により行っている。三次元構築の利点は複雑な膜迷路の立体構造を今までであれば、連続切片を光学顕微鏡で観察し、その立体構造を頭の中でイメージしていたのであるがこれにはなかなか熟練を要していた。しかしながら三次元立体構築ソフトを使用すると初心者でも複雑な蝸牛、三半規管、前庭、内リンパ管、内リンパ囊等の構造、位置的関係を即座にとらえることが可能となった。また中耳腔の耳小骨の形態異常、顔面神経の走行異常、頸動脈の走行異常等を立体的に捉え、手術の際に役に立つ可能性を秘めている。又学生に内耳の膜迷路、中耳腔の構造を理解させることはなかなか困難なことであるが、三次元立体構築プログラムを用いれば、教育上に多大な効果を期待できる。コンピュータにデータをいれておけばいつでも画像を引き出せ、又その画像を種々な角度より見ることが出来る。さらにこれからは CT や MRI 画像の三次元構築も容易に作成できるようになり、たとえば真珠腫性中耳炎の真珠種の広がりを術前に的確に把握し、術中のトラブルを防げるものと考えられる。

側頭骨標本の収集の状態

1) 側頭骨の標本数

大阪府立母子保健医療センター病理部の協力のもとに1983年より新生児、胎児の側頭骨を中心に側頭骨の収集を始めている。母子医療センターでは年間約100例の剖検が行われているが、このうち開頭の許可が得られた40～50例の症例の側頭骨を一年間に得ている。今までに約300例近くの側頭骨を採取できた。標本には側頭骨所見だけでなく、解剖番号、在胎日数、性別、剖検時の体重、剖検時の診断名、剖検所見、また後日判明した他の臓器の病理所見などを記載し、コンピュータに登録し、データ整理を行うようにしている。Sando らが述べているような側頭骨のデータ整理を参考にしている。

2) 疾患の種類

疾患種類は原因不明の胎内死亡、全身の骨系統疾患、他臓器の先天奇形（心血管奇形など）、

染色体異常、先天性代謝異常（母体の代謝異常、たとえば母親の糖尿病）、感染症（母親のウイルス感染）、急性循環障害などが主な疾患である。しかしながら特に疾患を認めない胎児、新生児でも側頭骨の発生（例えば側頭骨のリモデリング等）を研究する手段として収集している。

3) 我々の今までの報告

側頭骨病理の研究は欧米では Schuknecht, Sando, 五十嵐, Paparella などにより、又日本では石井, 大谷, 斎藤等により発育障害、感染症、中毒、循環障害、代謝異常、腫瘍（側頭骨転移）、メニエール病、突発性難聴等について詳細に述べられている。奇しくも山川強四郎先生自身が突発性難聴（ご本人はメニエール病と思われていた）にかかれていたのであるが私たちは先生の側頭骨の標本もまた報告する機会を得た¹⁴⁾。

特に我々が興味を持っている先天性異常については Sando らが精力的に検討している。それらの所見についてはほとんど我々の報告と一致している。そこで我々は側頭骨の正常の発育を含め、今までに主として

- ①全身性骨系統疾患
- ②染色体異常
- ③先天性奇形
- ④そのほか

について報告してきたがこれらの所見についてまとめてみる。

①全身性骨系統疾患

全身性の骨系統疾患では Osteogenesis imperfecta congenita¹⁵⁾¹⁶⁾, Thatophoric dwarfism¹⁷⁾, Campomelic syndrome¹⁸⁾, Arythroglyposis¹⁹⁾ 等についてその迷路骨包の発育障害、中耳腔の発育異常、聴小骨形成異常、骨迷路の発育異常、膜迷路の発育異常等について報告してきた。その中で全身性に骨の形成異常があれば種々の形成異常が側頭骨に及んでくることが判明した。私達はすぐに膜迷路の異常に注目しがちであるが、メニエール病に前庭導水管の形成異常がレ線的に指摘されているごとく、迷路

骨包特に middle layer, outer layer の形成異常が膜迷路の形成異常, 特に内リンパ液の分泌, 吸収に関係するといわれている内リンパ管, 内リンパ囊の長さ, 大きさの形成に重大な影響があると考えられる. 夢のようなことではあるがこれらの所見が染色体または遺伝子レベルで判明すれば遺伝相談, 遺伝子診断の道が開かれ内リンパ液の過剰分泌, 吸収障害が病因とされているメニエール病に遺伝子診断の道が開かれるのではなかろうか.

②染色体異常

染色体異常の側頭骨についてもやはり現在までに私たちは 18 trisomy, Turner's syndrome, 6p partial monosomy, 1q+monosomy について報告しているが, ほかに 21 trisomy 等についての報告も散見される. これらの所見はこれまでの報告と類似している.

18 trisomy では中耳組織では耳小骨のうち鐙骨の奇形が認められた. 鐙骨の前脚, 後脚ともに細く, 後脚が底板の中心よりに付着し脚の付着部位の異常が認められた. 底板自体も固着している. また鐙骨頭部に変形が見られた症例もあった. 鐙骨付着部位は底板との固着はないもののコルメラ状であった症例も認められた.

蝸牛では回転数が 1 回転半しかなく短蝸牛の症例も認め, また全例を通じてラセン神経節細胞は減少していたが, コルチ器, 血管条には異常を認めなかった. さらに蝸牛軸の形成が悪く, 蝸牛が扁平の症例が多く, 蝸牛軸構造の一部が欠損していたり, 中回転が左右融合し, 隔壁が欠損していた. そのほかの蝸牛の異常で正円窓の骨性閉鎖が認められた症例もあった.

前庭の異常としては球形囊, 卵形囊の拡大を認めた. また utricular endolyphatic valve が欠損していた. さらに球形囊の一部には球形囊膜が虚脱し, 感覚細胞上に異常な膜様物が形成しており, この膜様物は球形囊膜が折れかえって二重になっているようにも見られた.

また半規管の異常も目立ち, 外側半規管, 前半規管, 後半規管が太く短く, 位置も偏位して

おり, 膨大部稜では基底部に囊胞の形成を認めた症例もあった.

Turner 症候群では鐙骨の形成不全が認められた.

6 partial monosomy は 6 番目の染色体長腕の部分欠失である. 両耳とも外耳道は閉鎖しており, 耳垢腺組織を含む結合組織が充満しており, 中耳腔は両耳ともに狭く, 特に左側の方がより狭かった. 耳小骨は鐙骨, 槌骨は確認できたが, 砧骨は判別できなかった. また鐙骨は固着はないものの, 前脚, 後脚ともに細く形成不良であった. 蝸牛では頂回転と中回転の間隔壁が欠損しており, 回転数は約 2 回転しかなく, ラセン神経節細胞も減少しており, ライスネル膜が虚脱し, hair cell もほとんど欠如していたが, 血管条, 骨迷路には異常を認めなかった. 球形囊, 卵形囊は拡大しており, 内リンパ管も盲端に終わっていたが, utriculo-endolymphatic valve は存在していた. また蝸牛軸の形成も悪く蝸牛全体が扁平であった.

1q+は一番目の染色体の長腕に過剰バンドが認められたもので, その側頭骨標本は蝸牛小管がやや拡大しており, 蝸牛の回転数も 2 回転と少な目であった. またラセン神経節細胞が減少しており, 内リンパ管, 内リンパ囊の拡大が認められた.

これら染色体異常における特異的な側頭骨所見すなわち, 外耳道, 鼓膜, 聴小骨, 骨迷路, 膜迷路の異常が云々するほど材料が揃っていないが, もしも染色体異常特有の側頭骨病理所見が判明すれば, やはりそれぞれの染色体異常により惹起される病態がより早期に判明し, 将来の夢であろうが遺伝子治療も可能となるのではないだろうか. しかし何はともあれ染色体異常の側頭骨標本の収集が重要な今後の課題となるであろう.

③先天性奇形

さらに先天性奇形を伴った症例について研究する目的は近年は ME 機器の発達や呼吸器, 循環器の集中治療法の確立などにより未熟児も

成育できるようになっており、私達はこのような子供達の聴力発達に興味を持ち、聴力障害の有無を検討してきた。その結果、聴力障害の発生はただ単に出生時の体重が少ないかとか仮死が強かったかという新生児固有の問題のある子供よりも心奇形や消化器奇形などの外科的な問題を有する子供に発生率が高かったことを報告しているが、この事実にもとづいてこれらの異常を形態的にとらえようと努力している。その中でもしも形態的異常を早期に発見し、早期に育成、治療が可能であればこれらの障害をもって生まれた子供達に少なからずの福音となろう。又これらの子供達はいずれは外科的な処置を行うであろうが、外科的処置を施した際にもしも術後より難聴の発生に気がついた際にはそれが子供達本来の障害か、あるいは術後に使用した抗生剤等の影響か否かの判断材料にもなろうと考えられる。最近治療の過程で医療過誤も問題がしばしば発生するのでこの点から考えても我々医師サイドでは重要な問題であろう。

④その他

その他正常に生まれたがなんらかのアクセシントで死亡した側頭骨を収集していると内耳の形態を研究する上で役立つこともある。最近CT、MRIなどが盛んに内耳疾患の研究に用いられるようになってきたが、膜迷路のMRIにてとらえる努力が行われ、我々もその一翼を担っている²⁰⁾。現在のところMRIではライスネル膜は判定できないが近い将来可能であろう。これが現実になればメニエール病の画像診断も夢ではなくなるであろう。

今後の課題

側頭骨病理研究の今後の課題として私たちが最も重要と考えていることは側頭骨切片作成の時間の短縮である。現在汎用されている包埋材であるセロイジンを使うと切片ができるまで4～6カ月かかってしまい、種々の研究の早さと比較するとその速度は遅々たるものである。何とかもっと早く連続切片ができる包埋材の開発が望まれる。さらにもう一つは側頭骨切片作成

の技術者の養成である。幸い我々の所では熟練した技術者に恵まれているが、その待遇の面から考えるともう少しの改善を考える必要があろう。

ともかく側頭骨の臨床病理の研究は臨床だけではなく実験をも加えた形で更なる発展を期待しよう。

稿を終えるにあたり、側頭骨標本の採取に多大のご尽力をいただいた大阪府立母子保健医療センター病理部 中山雅弘先生に深謝いたします。

参考文献

- 1) Guild SR : A graphic reconstruction method for the study of the organ Corti. *Anat Rec* **22** : 141～157, 1921.
- 2) Schuknecht HF : Techniques for study of cochlear function and pathology in experimental animals. Development of the anatomical frequency scale for the cat. *Arch Otolaryngol* **58** : 377～397, 1953.
- 3) T Harada, S Ishii and N Tayama : Three-dimensional reconstruction of the temporal bone from histologic sections. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* **114** : 1139～1142, 1988.
- 4) 山川強四郎 : メニエール氏病ヲ呈セン患者の聴器. *日耳鼻* **44** : 2310～2112, 1938.
- 5) 佐野光仁, 中山雅弘 : 側頭骨病理標本作成法. *日本医事新報*, 3396 : 150, 1989.
- 6) 側頭骨研究会編 : ヒト側頭骨病理組織標本作成法の手引. 1973.
- 7) Schuknecht HF : Pathology of the ear. Harvard University Press, 1974.
- 8) SH Mygind : Experimental histological studies on the labyrinth; the endolymphatic compression (Wittmaack's hypotonic degeneration). *Acta Otolaryngol* **33** : 86～116, 1945.
- 9) 山川強四郎 : 聴器の死後変化. 耳鼻咽喉科最近の進歩. 353～361頁. 医歯薬出版社, 1956.
- 10) Fernandez C : Postmortem changes in the vestibular and cochlear receptors (Guinea pig). *Arch Otolaryngol* **64** : 460～487, 1958.
- 11) Takagi A and Sando I : Computer-aided three-

- dimensional reconstruction; a method of measuring temporal bone structures including the length of the cochlea. *Ann Otol Rhinol Laryngol* **98** : 515~522, 1989.
- 12) Takagi A, Sando I and Takahashi H : Computer-aided three-dimensional reconstruction and measurement of semicircular canals and their cristae in man. *Acta Otolaryngol* **107** : 362~369, 1989.
- 13) Green JD, Marison MS, Erickson BJ, et al : Three dimensional reconstruction of the temporal bone. *Laryngoscope* **100** : 1~4, 1990.
- 14) 佐野光仁, 阪上雅史, 原田 保, 他 : 山川強四郎名誉教授の側頭骨病理所見. *Equilibrium Res* **45** : 302~305, 1986.
- 15) 佐野光仁, 松永 亨, 須沢八千代, 他 : Osteogenesis imperfecta の側頭骨病理. 耳鼻臨床耳科 **13** : 474~475, 1986.
- 16) 佐野光仁, 阪上雅史, 原田 保, 他 : Osteogenesis imperfecta の側頭骨病理所見. *Ear Res Jpn* **18** : 436~437, 1987.
- 17) 佐野光仁, 阪上雅史, 原田 保, 他 : THANATOPHORIC DYSPLASIA の側頭骨病理所見. 臨床耳科 **15** : 5~11, 1988.
- 18) B Kalubi, 佐野光仁, 阪上雅史, 他 : The temporal bone histopathological findings in the campomelic syndrome. *Ear Res Jpn* **19** : 212~215, 1988.
- 19) 佐古雅子, 佐野光仁, 原田 保, 他 : Arythroglyposis の側頭骨病理所見. *Ear Res Jpn* **20** : 281~282, 1989.
- 20) 肥塚 泉, 佐野光仁, 久保 武, 他 : MRI による側頭骨標本を用いた内耳の撮影. 耳鼻臨床 **83** : 549~555, 1990.
- (別刷請求先: 佐野光仁
〒584 富田林市向陽台1-3-36
富田林病院耳鼻咽喉科)