内耳圧と内耳血流†

——グリセロールの内耳薬理効果——

竹田 泰三・竹内 俊二・木村 正
鎮西 邦彦・齋藤 春雄

緒 言

グリセロール投与前後の聴力閾値変動を見るグリセロールテストは、臨床上内リンパ水腫を検出する簡便な方法としてよく知られている¹⁾。本検査法は、グリセロールの浸透圧効果により、内リンパ水腫が軽減し、その結果内・外リンパ圧差が解消され、内リンパ水腫の存在する場合は聴力閾値の低下がもたらされるとの仮説に立脚している²⁾。実際、グリセロールテストによる聴力改善は、浸透圧利尿効果と似た反跳現象 (Rebound phenomenon) を示すことより³⁾、グリセロールの浸透圧効果と深い関わりがある事は間違いない事実と考えられる。一方、動物実験でも実験的内リンパ水腫はグリセロール負荷により虚脱を示す⁴⁾。また、内・外リンパ圧もグリセロールの内耳脱水効果で減圧されることが立証されている⁵⁻⁷⁾。しかしながら、グリセロール負荷前後の内・外リンパ圧の変動を同時に計測した我々の実験では、グリセロールは内・外リンパ圧差になんら影響を与えないと考えざるを得ない⁸⁾。よって、メニエール病難聴に於けるグリセロール効果の原因は、グリセロールの内耳での浸透圧効果に関係があっても、内・外リンパ圧差を相殺すると考える内耳減圧効果以外に求めなければならない。

グリセロールの薬理効果としては、浸透圧効果の他に、微小循環改善作用がある⁹⁾。その一貫として、内耳でも蝸牛血流の増大することが Larsen により Microsphere 法を用いて立証されている¹⁰⁾。しかし、この蝸牛血流の増大が、内リンパ水腫難聴のグリセロール効果にいかなる関わりがあるかを知るには、グリセロールの内耳循環への影響をより詳細に知る必要がある。だが、従来の Microsphere 法による報告では、グリセロール投与前後の2点の対比において、内耳循環への影響を述

べるのみで、内耳循環の経時変化については云うに及ばず、グリセロールの内耳減圧効果との関わりについても不明である。

よって本稿では、グリセロールテストで最も関係が深いと考えられる内耳浸透圧効果とグリセロールのもう一つの薬理効果である内耳循環改善効果との関係を探る目的で、グリセロール負荷前後の蝸牛血流量と内耳圧を経時的に同時計測した。

方 法

実験動物としては体重 250~350 gr のブライエル耳介反射正常の成熟モルモット20匹を用いた。そのうち5匹はコントロール動物として、生理食塩水負荷実験に、残り15匹は実験動物としてグリセロール負荷実験に用いられた。まず、ネブタール (25 mg/kg) 腹腔内注射による全麻下で動物を背位に動物固定器に固定し、気管切開を施行の上、臭化パンクロニウム (0.8 ml/kg) で不動化して人工呼吸器で呼吸管理した。グリセロールを経食道投与するため、頸部食道に瘻孔を造設し、アトム栄養カテーテルを胃に達するまで挿入した。しかる後、動物を翻転、軀幹を水平に保ち、耳後部より中耳骨胞を削開、蝸牛全体を明視下に置く。そして、十分に術野を止血すると同時に、粘膜血管の血流の影響を避ける為、蝸牛骨壁の粘膜を剝離除去した。さらに、レーザードブラー血流計のプロープ先端が蝸牛骨壁に十分密着するよう、第二回転中央階骨壁を一部削開して平滑にし、骨壁を通して血管条が透見出来るようにした。

図1に蝸牛血流及び外リンパ圧計測のBlock diagramを示す。蝸牛血流の測定には TSI 社 (St. Paul, MN) レーザー微小循環血流計 Laserflo BPM 403、及びニードルプロープ (先端径 0.8 mm) を、外リンパ圧の計測には WPI 社 (New Haven, CT) サーボ圧測定装置 Micropressure System Model 900 を用いた。レーザー微小循環血流計のプロープはマニピュレーターにより、前述した第二回転蝸牛骨壁の血管条上に密着させた。なお、プロープと骨壁間の間隙には、血液や滲出液

†Cochlear Circulation and Labyrinthine Pressure—Effect of Glycerol on Inner Ear—
Taizo Takeda, Shunji Takeuchi, Tadashi Kimura, Kunihiko Chinnzei and Haruo Saito
高知医科大学耳鼻咽喉科学教室

図1 蝸牛血流と外リンパ圧測定系の block diagram.

図2 グリセロール負荷実験の記録実例. 蝸牛血流と外リンパ圧の4パラメーターの変化が同位相で記録されている。

が侵入して血流測定値に悪影響を与えぬように、光学顕微鏡用イマージョンオイルを滴下した。外リンパ圧の計測ではサーボ圧測定装置に接続した先端 $1\sim 5\ \mu\text{m}$ の、 2 M NaCl が満たされたガラスマイクロピペットを、同じくマイクロマニピュレーターを用いて正門窓より外リンパ腔内に穿刺した。レーザー微小血流計の出力である血流量 (Flow)、血球量 (Volume)、血流速度 (Velocity) はそれぞれ5秒間の平均値が出力される。これら3出力とサーボ圧測定装置よりの外リンパ圧の、計4出力は多チャンネル記録計、グラフテック社製 Multicorder MC 6256 で記録された。本記録計はベンチオフセットコンベンセータ機能を有し、上記4出力が同位相で記録できる。

蝸牛血流と外リンパ圧の計測の実際は、まず無負荷で20分前後、上記4出力が安定して記録できることを確認する。しかる後、コントロール実験では生理食塩水を、またグリセロール負荷実験では50%グリセロールをそれ

ぞれ 12 ml/kg 、約1分間で食道カテーテルより注入して、この4出力の経時変化を約1時間追跡する。計測を終える前に、人工呼吸器の2分間停止による Asphixia 負荷を加えて、蝸牛血流と外リンパ圧が典型的变化を示すのを観察し、レーザー微小血流計とサーボ圧測定装置の記録系が良好に作動していることを確認した。

成績

グリセロール負荷動物15匹中11匹では、図2の記録実例に示すように浸透圧脱水効果による外リンパ圧の低下と共に蝸牛血流の顕著な増大がみられた。この増大現象は血流量で最も明瞭で、負荷前の1.8倍前後から6.5倍にも達するものが見られた。図3は、この11匹の外リンパ圧と蝸牛血流 (血流量、血球量、血流速度) の平均値の経時変化を示す。なお、外リンパ圧はグリセロール負荷前よりの圧差を示し、蝸牛血流はグリセロール負荷前5分間の20秒間隔15ポイントの各パラメーターの平均値を100%として表示したものを示す。外リンパ圧はグリ

図3 グリセロール負荷後の蝸牛血流と外リンパの経時変化。
 (●), (○), (△), (□)はそれぞれ血流量, 血液量, 血球速度及び外リンパ圧の
 平均値 (n=11) を, 又バーはそれぞれの標準誤差を示す。

図4 2分間窒息負荷実験の記録事例。
 蝸牛血流, 内耳圧共顕著な変化を示す。蝸牛血流量の変化は内耳圧の変化と概ね
 一致する。

セロール負荷数分後より減少し始め、ほぼ単調に経過し負荷後1時間前後で平均 8.5 mmHg 低下して、ピークに達する。この外リンパ圧の変化は、幅の狭い標準誤差が示すように個体差は少ない。蝸牛血流に関しては、血球量はグリセロール負荷10分後より増大し始め、30分前後ではその平均値は負荷前の150%とピークに達し、その後徐々に減少するが、60分経過しても血球量の平均値は負荷前に比すると増大傾向を維持している。血球速度は、グリセロール負荷15分までは一過性に低下するが、その後急速に増大傾向を示し負荷30分前後にはピークに達し、その平均値は血球量と同じく負荷前の150%に達する。その後、血球速度は徐々に減少し60分後には負荷前より低い傾向を示す。この結果、血球量と血球速度の積である血流量の平均値は、グリセロール負荷直後の10分間は軽度減少傾向を示すが、その後急速に立ち上がり、負荷30分後では230%と最大値を示した。その後、血流量は減少して負荷60分後には、ほぼ負荷前の平均値に戻るが、この間の経過は、標準誤差の幅が示すように個体差は大きい。一方、グリセロール負荷動物15匹中残り4匹では、外リンパ圧は上述した11例と同様の外リンパ圧の低下が認められるが、蝸牛血流は、血球量、血流速度共著変なく、よって、グリセロール負荷1時間以降に行なった人工呼吸器停止による窒息負荷では、外リンパ圧も蝸牛血流も図4に示すような典型的な変化を示した。

なお、生理食塩水投与のコントロール動物5匹では、外リンパ圧及び蝸牛血流共一時間の経過観察で著変が認められなかった。

考 案

レーザードプラー法による血流計の原理は、本血流計の開発者の一人である Bonner, Nossal¹¹⁾ の原著に詳しいが、要するに組織に照射されたレーザーの散乱光の一部が、赤血球の動きによりドプラー偏位を生じ、周波数及び位相の整調されたレーザー光のため、一種の“うなり”現象（ヘテロダイン効果）が生じることを利用している。即ち、光センサーの出力である電気シグナルは散乱光の大部分を占める動きのない組織よりのDC成分と赤血球の動きによって生じたAC成分からなる。このAC成分の振幅は動く血球に衝突した光子の数に関係することより、AC/DC比を求めれば単位組織内の血液量（血球数）が分かることになる。一方、AC成分の周波数は赤血球の動きによって生じたドプラー偏位量、即ち赤血球の速度に関係する。しかし、赤血球の速度そのものが個々の赤血球で異なる上に、赤血球の運動方向とレーザー光の入射角度もそれぞれ異なる。このため、AC成分の周波数スペクトルは広帯域に及ぶが、数理統

計学的解析で、AC成分の平均周波数は平均血球速度に比例することが判明している。今回用いた TSI 社のレーザー微小循環血流計では、血流速度としてAC成分の時間領域の自己相関関数を周波数領域に変換して平均周波数を求め、AC/DC比より求めた血球量との積より血流量を定めている。よって、得られる血流速度、血流量は原理的には相対数であるから、本稿でも薬剤負荷前を100%として相対的变化を議論の対象としたが、Microsphere 法や水素クリアランス法など、従来の血流測定法と異なり、内耳に損傷を与えることなく長時間の経時的变化を追える利点がある。このため、他の内耳現象との同時記録も可能で、本実験では、外リンパ圧の計測をも同時に行なった。グリセロールの蝸牛血流量への影響は、グリセロール投与直後の一過性の低下を除き、通常、投与30分後にピークを持つ著明な増大現象が特徴的であった。一方、外リンパ圧は、グリセロール投与直後より徐々に減少し始め、蝸牛血流がほぼ投与前の状態に復するグリセロール投与1時間前後に、最大の減圧効果を示し、蝸牛血流の経時変化とは異なった。外リンパ圧の低下は、グリセロールの外リンパ腔内外の濃度勾配による浸透圧差によって生じるわけであるから¹²⁾、血中のグリセロールは、投与1時間でも十分高い濃度が保たれていると考えねばならない。よって、グリセロール投与による蝸牛血流の増大は、浸透圧利尿剤としての内耳脱水効果を含めてグリセロールが内耳に直接及ぼす薬理効果ではない可能性が高い。実際、この蝸牛血流量の増大現象は、血球量の増大のみならず、血流速度の増大にも起因しているので、一つには浸透圧効果による循環血液量の増大のような全身循環状態の変化をも背景にしたものと思われる。

一方、小数例であるが、15匹の実験動物中4匹では明瞭な蝸牛血流の増大が認められなかった。これらの実験動物でも外リンパ圧の低下は認められ、実験終了時の窒息負荷では蝸牛血流、外リンパ圧とも典型的な変化を示したことより、グリセロール負荷や蝸牛血流の計測には問題はなかったものと考えられる。蝸牛血流の増大を見た例でもその増大の程度は1.8倍から6.5倍と大きな差がみられるので、グリセロールにみる蝸牛血流の反応は個体差が大きいのかも知れない。

レーザードプラー法で計測される血流値は、通常の組織ではプローブ先端の1mm径の半球内の血流を反映すると考えられている⁹⁾。蝸牛組織の場合は、骨壁を經由して測定し、かつ通常の組織とは異なり、内部は内耳液に満たされている。よって、血流測定範囲はプローブ直下のラセン靱帯、血管条が含まれるとしても、より深部の組織がどの程度包含されているかは現在のところ不明

である。いずれにしても、今回レーザードブラー法で計測された蝸牛血流は、蝸牛内で最も血管の濃密な血管条が含まれていると考えられるので、ほぼ蝸牛の平均的血流動態を表現していると考えても大きな間違いはないものと思われる。今回の実験より、Microsphere 法で知られているグリセロールの内耳血流改善効果は比較的短期間の現象であることが判明した。この血流改善は内リンパ腔の酸素分圧を高めるので¹³⁾内耳機能の改善をもたらす可能性はあるが、内耳循環障害が主病変とは考えられない内リンパ水腫難聴で果して聴力改善効果を期待出来るかどうかは疑わしい。さらに、30分前後の短時間の内耳血流改善を持っては、臨床にみる数時間の間維持され、かつリバウンド現象をも示すグリセロールの聴力改善効果³⁾を、種の違いを考慮しても、説明するのは難しい。むしろ、グリセロールの内耳血流の改善は内・外リンパ液の水分代謝や電解質代謝の様な広義の内耳循環代謝を介して内リンパ水腫の難聴に関与すると考えるのが妥当と思われる。

結 語

内リンパ水腫難聴に対するグリセロール効果の作用機序解明の一助とするため、生理食塩水及びグリセロール投与前後のモルモットの蝸牛血流及び外リンパ圧の変動を同時計測して、以下の成績を得た。1) コントロール動物では蝸牛血流に著明な変化は認められなかった。2) 実験動物15匹中11匹では、グリセロール投与によって一過性の著明な蝸牛血流の増大と内耳圧の低下が認められた。ただし、この血流変化は内耳圧変化に先行した。なお、実験動物の残り4匹では内耳圧の低下は認められるが、著明な蝸牛血流変化は認められなかった。

謝 辞

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によって行なわれた。

文 献

- 1) Klockhoff I, Lindblom U: Endolymphatic hydrops revealed by glycerol test. *Acta Otolaryngol* 61: 459-462, 1966
- 2) Johnstone BM, Robertson D: The Physiology and biophysics of hydrops. In ed Vosteen K-H, Schuknecht H, et al. Meniere's disease. Pathogenesis, diagnosis and treatment. pp 44-46, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, NY, 1981
- 3) Matsubara H, Kitahara M, Takeda T, Yazawa Y: Rebound phenomenon in glycerol test. *Acta Otolaryngol Suppl* 419: 115-122, 1985
- 4) 矢沢代四郎: 内リンパ水腫に関する組織学的研究. *耳鼻臨床* 74: 2450-2506, 1981
- 5) Angelborg C, Agerup B: Glycerol effects on the

perilymph and cerebrospinal fluid pressure. *Acta Otolaryngol* 79: 81-87, 1975

- 6) 松原秀春: メニエール病の発作に関する基礎実験. *耳鼻臨床* 74: 2418-2449, 1981
- 7) Yoshida M, Lowry LD: Hydrostatic pressure of endolymph and perilymph in the guinea pig cochlea. *Am J Otolaryngol* 5: 159-165, 1984
- 8) 竹内俊二, 竹田泰三, 岸本誠司, 齋藤春雄: 内リンパ圧差について. *Equilibrium Res Suppl* 4: 41-44, 1988
- 9) Gazituc S, Scott JB, Swindall B, Hardy FJ: Resistance responses to local changes in plasma osmolality in three vascular beds. *Am J Physiol* 220: 384-391, 1971
- 10) Larsen HC, Angelborg C, Hultcrantz E: The effect of glycerol on cochlear blood flow. *ORL* 44: 101-107, 1982
- 11) Bonner R, Nossal R: Model for laser-Doppler Measurements of blood flow in tissue. *Appl Opt* 20: 2097-2107, 1981
- 12) Juhn SK, Rybak LP: Labyrinthine barriers and cochlear homeostasis. *Acta Otolaryngol* 91: 529-534, 1981
- 13) Prazma J: Effect of glycerol on Cochlear microcirculation. *Acta Otolaryngol* 92: 459-461, 1981

Abstract

The effect of glycerol on the cochlear blood flow (CBF) and perilymphatic pressure (PP) was studied in guinea pigs. CBF and PP were measured simultaneously with a laser-doppler flowmeter and a servo-nulling system, respectively. Administration of 12 ml/kg of 50 % glycerol or of physiological saline was carried out through a polyethylene feeding tube. Glycerol administration caused a marked increase of CBF and decrease of PP, while physiological saline produced no change. However, some time lag was noted between the changes of CBF and PP. That is, the change of CBF preceded that of PP, and CBF had returned to its normal value when PP reached its maximum. Therefore, the increase of CBF seems to be unrelated to an increase in serum glycerol or a decrease of inner ear pressure.

Key words: cochlear blood flow, perilymphatic pressure, glycerol.

(原稿到着: 平成1年1月31日
別刷請求先: 竹田泰三
〒781-51 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)