実験的内リンパ水腫†

進行性内リンパ水腫と非進行性内リンパ水腫

矢 沢 代四郎

I はじめに

メニエール病剖検例の側頭骨病理所見の最初の報告は、1938年になされた。それらは山川¹⁾の報告の1例および Hallpike と Cairns²⁾の報告の2例の計3例であり、それぞれ独立して報告されたものであるが、「内リンパ水腫」という共通の病理所見を示していた。以後報告されたメニエール病の側頭骨剖検例の文献を検討し、重複例などを除外すると、症例数は少なくとも72例を数える³⁾。そのうち67例(93%)に「内リンパ水腫」を認めているが、この事実からメニエール病の病態を「特発性内リンパ水腫」と言うことができる。

このようにメニエール病の病態が「特発性内リンパ水腫」と報告されるのと並行して動物を用いて実験的に同じ様な内リンパ水腫を作成しようとする試みが数多くなされるようになった。しかし、その方法は千差万別であるため、これらの方法をヒト内リンパ水腫の分類と対比して整理してみることにした。そこで、まずはじめに、ヒト内リンパ水腫の分類について述べ、次に動物を用いた実験的内リンパ水腫作成の歴史と方法を紹介する。これらの方法の中でも特に Kimura⁴⁾の内リンパ管閉塞法(Kimura 法)が有名であるが、その変法でもある著者らの内リンパ囊硝酸銀腐蝕法⁵⁾における水腫形成状態を述べる。

II ヒト内リンパ水腫の分類

ヒト側頭骨内リンパ水腫の分類については、Schuknecht の二つの報告⁶⁾⁷⁾がある。その一つは病因に基づく分類(表1)であり、いま一つは症候に基づく分類(表2)である。

1. 病因に基づく分類(1976)⁶⁾(表1)

病因に基づく分類では、内リンパ水腫を「非進行性内リンパ水腫」と「進行性内リンパ水腫」に大別している。「非進行性内リンパ水腫」は炎症、外傷、中毒などの一時的な刺激により発生するもので、一時的な前庭症

表1 病因に基づく内リンパ水腫の分類
(Schuknecht⁶⁾ 1976)

I. 非進行性内リンパ水腫	II. 進行性内リンパ水腫
急性中耳炎	メニエール病
慢性中耳炎	先天性梅毒
外傷	遅発性内リンパ水腫
外側半規管開窓術	(側頭骨骨折、アブミ骨
アブミ骨摘出術	摘出術、突発性難聴、流
耳硬化症	行性耳下腺炎、ジフテリ
ページェット病	ア、細菌性迷路炎、特発
ウィルス性迷路炎	性先天性難聴)

表2 症候に基づく内リンパ水腫の分類
(Schuknecht⁷⁾ 1983)

症候性内リンパ水腫	無症候性内リンパ水腫
先天性	先天性
後天性	後天性
炎症後性	炎症後性
外傷後性	外傷後性
特発性	特発性

状や時には後遺症として難聴を来すことがあるが、前庭症状が持続したり再発することはない。これには、中耳炎、内耳炎、外傷、手術侵襲などの原因が考えられる。中耳炎や内耳炎に伴う内リンパ水腫については Paparella⁸⁾⁹⁾, Suga et al¹⁰⁾, Hinojosa et al¹¹⁾などの報告があり、側頭骨骨折に伴う内リンパ水腫は Rizvi et al¹²⁾の報告がある。さらに耳硬化症、ページェット病、ウィルス性内耳炎もこれに属するとされている。

一方、「進行性内リンパ水腫」は、内リンパ囊や内リンパ管の機能障害に起因する内リンパ水腫であり、蝸牛症状と前庭症状とも持続し、かつ進行する。これにはメニエール病、内耳梅毒、遅発性内リンパ水腫が含まれる。

2. 症候に基づく分類(1983)⁷⁾(表2)

症候に基づく分類では、内リンパ水腫を「症候性内リ

†Experimental Endolymphatic Hydrops —Progressive Hydrops and Nonprogressive Hydrops—
Yoshiro Yazawa
滋賀医科大学耳鼻咽喉科学教室

ンパ水腫」と「無症候性内リンパ水腫」に大別している。「症候性内リンパ水腫」は、前庭症状や変動性難聴や耳鳴をきたすもので、膜迷路の破裂とそれに続くカリウム刺激が考えられる。これはさらに先天性、後天性、特発性の3種類に細分され、メニエール病はこのうち特発性の症候性内リンパ水腫に該当する。

一方、「無症候性内リンパ水腫」は、症状がないため側頭骨の病理所見で初めて発見される例である。これもさらに先天性、後天性、特発性の3種類に細分される。

3. 実験的内リンパ水腫分類への応用

ヒト内リンパ水腫の分類から類推すると、内リンパ嚢や内リンパ管が閉塞されることにより生ずる「進行性内リンパ水腫」の他に、内耳に炎症、外傷、手術侵襲、ウイルス感染などの刺激を与えることによって容易に「非進行性内リンパ水腫」が発生することが考えられる。従って、実験的内リンパ水腫の分類についても病因に基づく分類である「進行性内リンパ水腫」と「非進行性内リンパ水腫」に大別して行うのが適切であると考ええる。

III 実験的内リンパ水腫作成法の歴史と分類

1760年 Contugno は前庭導水管の存在を報告し、さらに1896年 Boettcher により再確認され、また内耳液と他の体液との関連や内耳液の循環が研究されるようになった。やがて1927年 Guild¹⁸⁾ のモルモット蝸牛への色素注入実験の結果から、内リンパ液の蝸牛から内リンパ嚢への循環、すなわち longitudinal flow theory が提唱されるようになり、内リンパ液の動態が話題にされるようになった。また1921年 Portmann¹⁴⁾ は外部に露出している魚の内リンパ管を閉鎖して平衡障害を観察している。さらに1927年 Portmann¹⁵⁾ はメニエール病のめまいは上昇した内耳圧によると考え、内リンパ嚢を切開して内耳圧を開放し、メニエール病を治療しようとする手術法を考案している。このように1920年代には、前庭平衡障害の研究がヒトまた動物で行われるようになってきた。

一方、動物の内耳に内リンパ水腫が生じることはすでに1926年 Wittmack¹⁶⁾ により報告されているが、これは主として内耳炎に起因する内リンパ水腫であり、メニエール病のモデルとしての実験的内リンパ水腫とはいえない。しかし、1938年山川¹⁾ および Hallpike と Cairns²⁾ によりメニエール病の内リンパ水腫病理組織が報告され、これらの例の内耳には炎症所見を認めなかったことから、内耳炎による内リンパ水腫ではなく、内リンパ液の動態による内リンパ水腫が存在すると考えられた。そしてその原因を山川¹⁾ は内リンパ液の分泌過剰と考え、Hallpike ら²⁾ は内リンパ液の吸収障害の可能性を考察し、すでにこの時点でメニエール病の病因についての指針が示唆されている。

このような経過の中で1940年代に入ると動物を用いて実験的に内リンパ水腫を作成しようとする試みがされるようになってきた。

メニエール病の病因はいまだに不明であるが、発症原因として、内リンパ嚢・管の吸収障害説、内リンパ液の分泌亢進説、アレルギー説、免疫異常説、血管・血流障害説などがある。従ってこれらの説にもとづいた実験的内リンパ水腫の作成の試みがいろいろ報告されている。これらの実験的内リンパ水腫の報告を Schuknecht の内リンパ水腫の分類⁶⁾ に即して表3にまとめてみた。方法を「進行性実験的内リンパ水腫」と「非進行性実験的内リンパ水腫」の2つに大別して示した。それぞれの方法の水腫を発生した動物数、実験に供した動物数および水腫発生率を表3の右側に示した。ただしこれらの数字が明記されていない場合は「？」で示した。なお追試の報告例は割愛してある。

1. 進行性実験的内リンパ水腫

最初に試みられた方法は、内リンパ嚢・管の吸収障害説にもとづく retention hydrops の作成であった。すなわち内リンパ液の吸収部位である内リンパ嚢や管を手術的に閉塞し、内リンパ液の貯留をもたらし、「進行性内リンパ水腫」を作成しようとする方法である。1947年の Lindsay¹⁷⁾、1950年の内藤¹⁸⁾、1965および1968年の Kimura⁴⁾¹⁹⁾ の報告がある。特に1965年の Kimura の報告⁴⁾ が脚光をあびるようになった結果、この方法が今日まで最も広く行われている実験的内リンパ水腫作成法である。しかし同一の方法を用いてもサル、ウサギ、チンチラ、モルモットなど動物の種類により水腫の発生率はかなり異なり、特にサル¹⁷⁾¹⁹⁾ では水腫は形成されにくい。手術的に内リンパ嚢・管を閉塞する他に、同部を化学薬品で処置⁵⁾ したり、免疫学的方法で処置²⁰⁾²¹⁾ する方法も報告されている。あるいは、内リンパ嚢にウイルスを感染²²⁾ させ、障害する報告もある。また、内リンパ液の分泌亢進説を念頭においた「進行性内リンパ水腫」の発生法として蝸牛管に人工内リンパ液を微量注入²³⁾ する方法の報告がある。

2. 非進行性実験的内リンパ水腫

一方、非進行性実験的内リンパ水腫に該当すると思われる報告を表3の下方に示した。メニエール病の原因として免疫あるいはアレルギーを念頭に置いた方法が多い。内藤²⁴⁾、牟田²⁵⁾、隈上²⁶⁾、朴沢²⁷⁾、Miyamura²⁸⁾ の方法はいずれも動物をある種の抗原で全身感作後に局所(中耳腔、茎乳突孔)に同抗原を注入する方法である。これとは別の方法として自己免疫を念頭に置いた方法がある。すなわち内耳成分の抗原で全身感作する小野寺²⁹⁾、Yoo³⁰⁾、Harada³¹⁾ の報告である。その他に薬物

表 3 実験的内リンパ水腫の方法と成績

A. 進行性実験的内リンパ水腫

- a. 内リンパ液の吸収障害による内リンパ水腫 (retention hydrops)
- (a) 内リンパ嚢または管の手術的閉塞
1. Lindsay¹⁷⁾ (1947) : 乳突洞側より処置 (サル)→0/4 (0%)
 2. 内藤¹⁸⁾ (1950) : 内リンパ嚢の破壊 (モルモット)→1/5 (20%)
 3. Kimura⁴⁾ (1965) : 内リンパ嚢および管の閉塞 (モルモット)→14/14 (100%)
 4. Kimura¹⁹⁾ (1968) : モルモット→61/61 (100%), サル →0/11 (0%)
ネコ →5/6 (83%), チンチラ→2/2 (100%)
- (b) 内リンパ嚢の化学的処理
1. 矢沢⁵⁾ (1981) : 内リンパ嚢の硝酸銀腐蝕法 (モルモット)→99/108 (92%)
- (c) 内リンパ嚢の免疫学的処理
1. Sawada²⁰⁾ (1985) : HRP 全身感作後内リンパ嚢に HRP 局所注入→67/90 (74%)
 2. 富山²¹⁾ (1989) : KLH 全身感作後内リンパ嚢に KLH 局所注入→10/17 (59%)
- (d) 内リンパ嚢のウィルス感染
1. Nomura²²⁾ (1989) : 単純ヘルペスやサイトメガロウィルスを内リンパ嚢に投与 (モルモット)
→2/9 (22%)
- b. 内リンパ液の分泌過剰による内リンパ水腫
1. 北原²³⁾ (1981) : 蝸牛管へ人工内リンパ液微量注入 (モルモット)→6/20 (30%)

B. 非進行性実験的内リンパ水腫

- a. 免疫およびアレルギーによる内リンパ水腫
- (a) 局所的免疫
1. 内藤²⁴⁾ (1952) : 馬血清で感作後中耳腔に馬血清を局所注入 (モルモット)→?
 2. 牟田²⁵⁾ (1954) : 結核死菌で全身感作後中耳腔にツベルクリン液を局所注入→?
 3. 隈上²⁶⁾ (1974) : ヒト血清で兎の全身感作後茎乳突孔にヒト血清を注入→?
 4. 朴沢²⁷⁾ (1979) : HRP 感作モルモットの茎乳突孔に HRP 注入→?
 5. Miyamura²⁸⁾ (1987) : DNP 全身感作後に茎乳突孔に DNP 局所注入→3/20 (15%)
- (b) 全身の免疫
1. 小野寺²⁹⁾ (1956) : ニワトリ抗家兔膜迷路血清を家兔血管に注入→?
 2. Yoo³⁰⁾ (1983) : II型コラーゲンで全身感作 (モルモット)→6/13 (46%)
 3. Harada³¹⁾ (1984) : 家兔血管条を抗原としてモルモットに投与→4/11 (36%)
- b. 薬物刺激による内リンパ水腫
1. Feldman³²⁾ (1976) : コレラ毒による内リンパ液分泌亢進 (モルモット)→?
 2. 内藤³³⁾ (1954) : アセチルコリンまたはピロカルピンをモルモットVIII神経幹に滴下→?
 3. 内藤³⁴⁾ (1954) : 低張液を中耳腔に滴下 (モルモット)→?
- c. 炎症による内リンパ水腫
1. Nomura²²⁾ (1989) : 単純ヘルペスの内耳感染 (モルモット)→7/8 (87%)
- d. 外リンパ液の減少による内リンパ水腫 (passive hydrops)
1. Nomura³⁵⁾ (1987) : 外リンパ瘻作成による passive hydrops→13/56 (23%)
- e. ストレス刺激による内リンパ水腫
1. 秋岡³⁶⁾ (1990) : 複合ストレス負荷 (モルモット)→14/47 (37.8%)

刺激による方法^{32)~34)}，ウイルス性内耳炎による方法²²⁾，外リンパ瘻による passive hydrops の方法³⁵⁾ およびストレス刺激による方法³⁶⁾の報告がある。

3. メニエール病のモデル

一般的に「進行性実験的内リンパ水腫」に分類される方法は水腫発生率が高く，また炎症所見が少なく，水腫の程度も高度であることが多い。これに対し「非進行性実験的内リンパ水腫」に分類される方法は水腫発生率が低くまた不確実であり，内耳にはしばしばヌベクラなどの炎症性沈着物を認め，水腫の程度も軽度である場合が多い。これらを考えると「進行性実験的内リンパ水腫」の方がメニエール病の側頭骨剖検例と形態学的に類似し，メニエール病のモデルとして適していると考えられる。

IV モルモット内リンパ囊硝酸銀腐蝕法と進行性実験的内リンパ水腫

メニエール病の内リンパ水腫は，時間の経過とともに進行性に形成されると考えられ，この間に何度かのメマイ発作をくりかえし，最後にはライスネル膜は前庭階の骨壁に接し，球形囊膜はアブミ骨底に接するような高度内リンパ水腫を示すようになる。メニエール病剖検例の

報告例を検討すると，大部分が高度内リンパ水腫例であり，軽度あるいは中程度の水腫例は少なく，メニエール病の内リンパ水腫が進行性であることを示唆している。

実験的内リンパ水腫のうちでも，内リンパ囊・管の機能を障害する方法では，内リンパ液はダムの水が蓄積されるように徐々に進行性に貯留し，やがて高度な内リンパ水腫を形成され（図1），メニエール病の内リンパ水腫と形態学的にかなり類似していると考えられている。そこで実際に内リンパ水腫が進行性に形成されているかを確かめるために，経過時間の異なる各段階で形成された内リンパ水腫の面積を測定して検討した。

Kimura の内リンパ囊閉塞法⁴⁾の変法でもある内リンパ囊硝酸銀腐蝕法⁵⁾でモルモット内リンパ囊を処理し，処置後1週（14匹），3週（9匹），6週（12匹）で組織標本上で内耳の各部位の内リンパ水腫の面積を Kontron 社製 IBAS 1 Videoplan（図2）を用いて計測し，元の内リンパ腔の面積と比較し，各時間的段階で何倍に拡大したかを検討した（図3）。結果は図4のグラフに示す。どの段階においても最も大きな拡大率を示したのは球形囊で6週では7.28倍であった。卵形囊も徐々に拡大し6

図1 モルモット内リンパ囊硝酸銀腐蝕法により形成された蝸牛の内リンパ水腫

図2 内リンパ水腫面積の測定に使用した Kontron 社 IBAS 1 Videoplan

図3 内リンパ水腫面積計測方法の模式図
拡大した内リンパ水腫面積 (S) をもとの中央階の面積 (s) で除し拡大率 (S/s) を求めた。

図4 各時間経過 (1 週, 3 週, 6 週) における内リンパ水腫の拡大率の変化
進行性に内リンパ水腫が形成されているのがわかる。U: utricle, S: sacculle, 1-4: 蝸牛各回転。

週では2.81倍を示した。一方、蝸牛においては3週までは上方回転での拡大率が高く内リンパ水腫が上方回転から形成されることを示している。その後下方回転の内リンパ水腫がより発育し上方回転の拡大率に追いつき、6週に至ると各回転とも2.2-2.3倍になり、ほぼ同程度の

内リンパ水腫を示していた。

このようにモルモット内リンパ嚢硝酸銀腐蝕法による実験的内リンパ水腫が進行性的内リンパ水腫であることが証明され、メニエール病の内リンパ水腫に類似していることが示された。形態学的にはこのようにメニエール病と非常に類似しているが、しかしメニエール病のメマイ発作のようなものをこれら動物モデルで確認することは非常に困難であり、今後の研究が待たれる。

文 献

- 1) 山川 強四郎: メニエール氏候症ヲ呈セン患者ノ聴器. 日耳鼻 44: 2310-2312, 1938
- 2) Hallpike CS, Cairns H: Observations on the pathology of Meniere's syndrome. J Laryngol 53: 625-655, 1938
- 3) Yazawa Y, Kitahara M: Bilateral endolymphatic hydrops in Meniere's disease: Review of temporal bone autopsies. Ann Otol Rhinol Laryngol 99: 524-528, 1990
- 4) Kimura RS, Schuknecht HF: Membranous hydrops in the inner ear of the guinea pig after obliteration of the endolymphatic sac. Pract Oto Rhino Laryngol 27: 343-354, 1965
- 5) 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
- 6) Schuknecht HF: Pathophysiology of endolymphatic hydrops. Arch Otorhinolaryngol 212: 253-262, 1976
- 7) Schuknecht HF, Gulya AJ: Endolymphatic hydrops. An overview and classification. Ann Otol Rhinol Laryngol (Suppl) 92: 1-20, 1983
- 8) Paparella MM: The pathology of suppurative labyrinthitis. Ann Otol Rhinol Laryngol 76: 554-586, 1967
- 9) Paparella MM, Goycoolea MV, Meyerhoff WL, et al: Endolymphatic hydrops and otitis media. Laryngoscope 89: 43-58, 1979
- 10) Suga F, Lindsay JR: Labyrinthitis ossificans. Ann Otol Rhinol Laryngol 86: 17-29, 1977
- 11) Hinojosa R, Lindsay JR: Profound deafness. Associated sensory and neural degeneration. Arch Otolaryngol 106: 193-209, 1980
- 12) Rizvi SS, Gibbin KP: Effect of transverse temporal bone fracture on the fluid compartment of the inner ear. Ann Oto Rhinol Laryngol 88: 741-748, 1979
- 13) Guild SR: The circulation of the endolymph.

- Am J Anat 39 : 57-81, 1927
- 14) Portmann G : Recherches sur la physiologie et du canal endolymphatiques : Valeur fonctionnelle de l'organe endolymphatique des Sélaciens. Compt rend Soc de biol 85 : 1070-72, 1921
 - 15) Portmann G : Vertigo : Surgical treatment by opening the saccus endolymphaticus. Arch Otolaryngol 6 : 309-319, 1927
 - 16) Wittmaack K : Hydrops Labyrinthi. Hand buch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie. Springer, Berlin, 1926
 - 17) Lindsay JR : Effect of obliteration of the endolymphatic sac and duct in the monkey. Arch Otolaryngol 45 : 1-13, 1947
 - 18) 内藤 僑 : メニエール氏病の実験的研究. 日耳鼻 53 : 19-20, 1950
 - 19) Kimura RS : Experimental production of endolymphatic hydrops. Otolaryng Clin North Am 1 : 457-471, 1968
 - 20) Sawada I, Kitahara M, Kitajima K, et al : Induction of experimental endolymphatic hydrops by immunologic techniques. Am J Otol 8 : 330-334, 1987
 - 21) 富山俊一, 野中 学, 八木聡明 : メニエール病動物モデル作製の試み : 内リンパ嚢局所免疫反応と平衡障害との関係. 耳鼻咽喉科免疫アレルギー 7 : 66-67, 1986
 - 22) Nomura Y, Hara M, Okuno T, et al : Modality of endolymphatic hydrops. In ed Nadol Jr JB. Meniere's disease : Pathogenesis, pathophysiology, diagnosis and treatment. pp 89-96, Kugler & Ghendini, Amsterdam•Berkley•Milano, 1989
 - 23) 北原正章 : 内リンパ圧変化による内耳の組織変化と聴平衡障害. 北原正章編, メニエール病の基礎と臨床. 109-112頁, 日耳鼻宿題報告, 1981
 - 24) 内藤 僑, 長谷川義夫 : メニエール氏病の実験的研究 (第2報) アレルギー性「メ」病の実験的発現. 日耳鼻 55 : 234-235, 1952
 - 25) 牟田 實, 堀 良平 : 結核アレルギーによる内耳水腫の実験的研究. 日耳鼻 57 : 237, 1954
 - 26) 隈上秀伯, 津田靖博 : 茎乳突孔からの実験的迷路障害 : とくに種々の溶液注入と免疫学的操作による障害の比較検討. 日耳鼻 77 : 115-119, 1974
 - 27) 朴沢二郎 : めまいの免疫学的考察. 日耳鼻 82 : 1319-1325, 1979
 - 28) Miyamura K, Kanzaki Y, Nagata M, et al : Provocation of nystagmus and deviation by type I allergy in the inner ear of the guinea pig. Ann Allergy 58 : 36-40, 1987
 - 29) 小野寺茂男 : 抗耳膜様迷路血清が聴器迷路におよぼす影響に関する実験的研究. 日耳鼻 59 : 1103-1119, 1957
 - 30) Yoo TJ, Yazawa Y, Tomoda K, et al : Type II collagen-induced autoimmune endolymphatic hydrops in guinea pig. Science 222 : 65-67, 1983
 - 31) Harada T, et al : Endolymphatic hydrops and type III allergic reaction. Acta Otolaryngol (Stockh) 97 : 450-459, 1984
 - 32) Feldmann AM, Brusilow SW : Effects of cholera toxin on cochlear endolymph production ; model for endolymphatic hydrops. Proc Natl Acad Sci USA 73 : 1761-1764, 1976
 - 33) 内藤 僑 : メニエール氏病 : その歴史と病理について. 耳鼻臨床 47 : 1-14, 1954
 - 34) 内藤 僑, 近藤緑子 : 異張液による内リンパ水腫の発生. 日耳鼻 57 : 237-238, 1954
 - 35) Nomura Y, Hara M, Okuno T : Endolymphatic hydrops in perilymphatic fistula. Acta Otolaryngol (Stockh) 103 : 469-476, 1987
 - 36) 秋岡勝哉 : 能動的内リンパ水腫モデルモットの病理組織学的研究. —各種ストレス負荷時— 日耳鼻 93 : 1250-1257, 1990

Abstract

Since the first reports of endolymphatic hydrops in Meniere's disease by Yamakawa and Hallpike & Cairns in 1938, various attempts have been made to induce endolymphatic hydrops experimentally in animals. We reviewed the literature from 1947 to 1990 on methods of inducing experimental endolymphatic hydrops and summarized these methods on the basis of Schuknecht's classification of human endolymphatic hydrops into progressive and non-progressive types. The progressive pattern of hydrops was induced experimentally in guinea pigs using the silver nitrate cauterization method developed in our department in 1981. This type of experimental endolymphatic hydrops has been found particularly suitable as an animal model of Meniere's disease, since endolymphatic hydrops in Meniere's disease is always of the progressive pattern.

Key words : experimental endolymphatic hydrops, progressive hydrops, non-progressive hydrops, Meniere's disease

(原稿到着 : 平成 3 年 9 月 18 日
別刷請求先 : 矢沢代四郎
〒520-21 大津市瀬田月輪町
滋賀医科大学耳鼻咽喉科学教室)