内リンパ腔内への人工内リンパ液注入が 蝸牛静止電位に及ぼす影響†

柿 木 章 伸・竹 田 泰 三・齋 藤 春 雄

はじめに

メニエール病の病理組織像が内リンパ水腫であることより、実験的に内リンパ水腫動物を作成し、種々の基礎研究がなされている。

実験的内リンパ水腫動物はおもに Robert Kimura の方法¹⁾を用いて作成されている。

この方法では、内リンパ水腫の程度の指標は、内リンパ囊閉塞を行った後の時間経過となり、慢性期のメニエール病の研究に適しているが、急性期の研究には適しているとはいえない。今回我々は、急性期の内リンパ水腫が、聴覚にどのような影響を与えているかを検討するために、モルモットの内リンパ腔に、人工内リンパ液を注入し、蝸牛内静止電位を人工内リンパ液注入時の positive EP、無酸素負荷時の negative EP の変化について検討したので報告する。

方 法

実験は、プライエル反射正常、体重 240-450 g の白色モルモットを用い、ネブタール 40 mg/kg 腹腔内麻酔のもとで気管切開を施行、臭化バクロニウムにより不動化させ、頭部を固定し、人工呼吸管理下で行った。

EP の測定は、腹側より中耳骨胞を開放し、基底回転の中央階に小孔を開け、人工内リンパ液を充填したガラス毛细管電極を挿入して行った。電位の計測には WPI エレクトロメーターモデル 223 を用い、グラフテック マルチコーダー MC6625 で記録した。

人工内リンパ液注入は、ガラス毛细管電極を接続しているセルの側壁にポリエチレンチューブを接続し、テルモテルフュージョンシリジポンプ STC-521 にて行った(図 1)。人工内リンパ液の注入量は 0.5、1.0 及び 2.0 μ l とし、コントロール群、各人工内リンパ液注入群それぞれ 6 例づつについて検討した。

人工内リンパ液の組成を表 1 に示す。これは、Marcus ら²⁾のものを参考にした。

結 果

図 2 に人工内リンパ液注入時の positive EP の変化と、無酸素負荷による negative EP の変化の代表例を示した。positive EP は、人工内リンパ液注入により増加した、注入終了後その増加はしばらく継続しその後減少した。negative EP は、その絶対値の減少がみられた。人工内リンパ液注入時の positive EP の比較は、注入開始時 (EP cont)、注入終了時 (EP inj)、無酸素負荷開始時 (EP anox) の間で行い、negative EP はその最大値 ($-EP_{max}$) を比較した。

表 2 に人工内リンパ液注入時の positive EP の変化を示した。注入量依存性に positive EP の増加を認めしたが、0.5 μ l で注入では EP cont、EP inj、EP anox の間に有意差は認めなかった。1.0 μ l 注入では、EP cont と EP inj の間に 5 % の危険率で有意差を認めたが、EP cont と EP anox の間には有意差を認めなかった。2.0 μ l 注入では、EP cont と EP inj の間、EP cont と EP anox の間に、それぞれ 1 % の危険率で有意差を認めた。しかし、EP の上昇は数 mV であった。

図 3 に人工内リンパ液注入後、無酸素負荷をかけたときの EP の経時的変化を示した。人工内リンパ液注入群では、コントロール群と比較して、EP の減少速度が遅く、かつ $-EP$ の絶対値が減少した。

表 3 に無酸素負荷時における $-EP_{max}$ の比較を示した。人工内リンパ液を注入しなかったコントロール群では、 $-EP_{max}$ は平均 -41.2 mV の値をとったが、人工内リンパ液注入群では $-EP_{max}$ の絶対値は 0.5 μ l 注入群 -31.0 mV、1.0 μ l 注入群 -23.3 mV、2.0 μ l 注入群 -22.2 mV と減少した。コントロール群と人工内リンパ液注入実験の各群との間の有意検定の結果は、コントロール群と、各人工内リンパ液注入群とは、危険率 1 % で有意差を認め、人工内リンパ液 0.5 μ l 注入群と 1.0 及び 2.0 μ l 注入群とは危険率 5 % の有意差を認めたが、1.0 μ l 注入群と 2.0 μ l 注入群の間には有意差は認めなかった。

考 案

従来、内リンパ水腫の動物実験の多くは Robert Kimura の方法を用いて行われてきた。この方法による

† Effect of Artificial Endolymph Injection into the Cochlear Duct on Endocochlear Potential Akinobu Kakigi, Taizo Takeda and Haruo Saito
高知医科大学耳鼻咽喉科学教室

図1 人工内リンパ液注入と EP の測定方法。

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

図2 人工内リンパ液注入時における EP の変化と比較部位。

positive EP は、人工内リンパ液注入により増加し、注入終了後その増加はしばらく継続しその後減少する。negative EP は、その絶対値の減少がみられる。

表2 人工内リンパ液注入時の positive EP

0.5 μ l 注入では EP cont, EP inj, EP anox の間に有意差は認めなかった。1.0 μ l 注入では, EP cont と EP inj の間に5%の危険率で有意差を認めたが, EP cont と EP anox の間には有意差を認めなかった。2.0 μ l 注入では, EP cont と EP inj の間, EP cont と EP anox の間に, それぞれ1%の危険率で有意差を認めた。

		注入量 (μ l)		
		0.5	1.0	2.0
EP (mV)	EP cont	83.5 $\pm$ 5.97	82.7 $\pm$ 3.40	84.0 $\pm$ 3.11
	EP inj	84.3 $\pm$ 5.34	84.5 $\pm$ 3.99	87.3 $\pm$ 3.25
	EP anox	84.7 $\pm$ 4.42	84.5 $\pm$ 4.31	87.3 $\pm$ 3.10

(mean $\pm$ S.D.)
 * : P < 0.01
 ** : P < 0.05

図3 人工内リンパ液注入後の無酸素負荷時の EP の変化。

人工内リンパ液注入群では, コントロール群と比較して, EP の減少速度が遅く, かつ -EP の絶対値が減少している。

内リンパ水腫は, 慢性期のものほど内リンパ水腫の程度は高度で, 電気生理学的にも positive EP が低下すると同時に, negative EP も減少することが知られている³⁾。この negative EP の減少は, 我々の行った人工内リンパ液注入においても確認された。しかし, positive EP に関しては, 内リンパ液注入直後に, 基板板の下方偏位に起因すると思われる一過性の上昇⁴⁾⁵⁾は認め

られたが, 内リンパ腔の全容量に匹敵する 2 μ l⁶⁾ の注入でも, 最終的には平均 3.3mV の上昇しか認めず positive EP に著明な影響は与えなかった。したがって, Kimura の方法による内リンパ水腫動物にみる positive EP の低下は, 内リンパ水腫による二次的な変化を反映しているものと思われる。一方, negative EP の低下は, 内リンパ囊閉塞動物でも, 人工内リンパ液注

表3 無酸素負荷時における, negative EP の最大値

コントロール群と人工内リンパ注入実験の各群との間の有意検定の結果は, コントロール群と, 各人工内リンパ注入群とは, 危険率1%で有意差を認め, 人工内リンパ液 0.5 μ l 注入群と1.0及び2.0 μ l 注入群とは危険率5%で有意差を認めたが, 1.0 μ l 注入群と2.0 μ l 注入群の間には有意差を認めなかった。

入動物でも見られることより, 内リンパ水腫そのものによる変化と考えられるが, その原因は不明な点が多くある。また, アミノグリコシド系の薬物負荷を行った動物等において, negative EP の低下⁷⁾が認められることなどから。現時点で考えられる negative EP に影響を与える因子としては, 1) 基底板の下方偏位, 2) 有毛細胞の障害, 3) 鼓室階の高 K 化等が考えられるが, 今後検討して行く予定である。

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および文部省科学研究費補助金 (No. 04671045) の援助により行われたものである。

文 献

- 1) Kimura RS : Animal models of endolymphatic hydrops. Am J Otolaryngol 3 : 447-451, 1982
- 2) Marcus DC, Rokugo M, Ge X and Thalmann R : Response of cochlear potentials to presumed alterations of ionic conductance : Endolymphatic perfusion of barium, valinomycin and nystatin. Hearing Res 12 : 17-30, 1983
- 3) Ikeda K and Morizono T : Ionic activities of the inner ear fluid and ionic permeabilities of the cochlear duct in endolymphatic hydrops of the guinea pig. Hearing Res 51 : 185-192, 1991

- 4) Tasaki I, Davis H, and Eldredge DH : Exploration of cochlear potentials in guinea pig with a microelectrode. J Acoust Soc Am 26 : 765-773, 1954
- 5) Butler RA and Honrubia V : Responses of cochlear potentials to changes in hydrostatic pressure. J Acoust Soc Am 35 : 1188-1192, 1963
- 6) Fernandez C : Dimensions of the cochlea (guinea pig). J Acoust Soc Am 24 : 519-523, 1952
- 7) Konishi T : Some observations on negative endocochlear potential during anoxia. Acta Otolaryngol 87 : 506-516, 1979
- 8) Asakuma S, Lowry LD, and Snow JB : Effect of kanamycin sulfate on the endocochlear dc potential of guinea pigs. Arch Otolaryngol 105 : 145-149, 1979

Abstract

Acute endolymphatic hydrops was produced by the injection of artificial endolymph into the cochlear duct of guinea pigs. The endocochlear potential (EP) of the basal turn was measured during endolymph volume increase and anoxia. The ears were grouped into untreated, 0.5, 1.0, and 2.0 μ l volume increase. The +EP increased only slightly as the volume increased. Anoxic

changes in the EP occurred more slowly in acute hydropic ears than in untreated ears. In contrast, the lowest $-EPs$ were $-41.2mV$ in untreated ears, $31.0mV$ in $0.5\mu l$ ears, $-23.3mV$ in $1.0\mu l$ ears, and $-22.2mV$ in $2.0\mu l$ ears. There were significant differences in the lowest $-EP$ between the untreated group and the acute volume increased groups ($p<0.01$; t-test).

The results of this study show that the causes of changes in $+EP$ and $-EP$ are different.

Key words : artificial endolymph injection, endocochlear potential, anoxia

（原稿到着：平成4年4月28日）
（別刷請求先：柿本章伸）
〒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）