原 著

ヒト内リンパ嚢直流電位 (ESP) の測定

隈上 秀高¹⁾²⁾・奥 竜太²⁾・田中 藤信²⁾
重野浩一郎²⁾・高橋 晴雄²⁾

Measurement of Human Endolymphatic Sac Potential

Hidetaka Kumagami¹⁾²⁾, Ryota Oku²⁾, Fujinobu Tanaka²⁾,
Koichiro Shigeno²⁾, Haruo Takahashi²⁾

¹⁾ Department of Otolaryngology, Ureshino National Hospital

²⁾ Division of Otorhinolaryngology, Department of Translational Medical Sciences,
Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

In this study we measured human Endolymphatic Sac Potential (EPS) in 8 patients with acoustic neuroma during the translabyrinthine removal of the tumor. EPS was measured with a glass electrode filled with 154 mM NaCl and with an outside tip diameter ranging from 2 to 3 μ m. The mean value of ESP in patients with acoustic neuroma was $+13.3 \pm 1.9$ mV. To our knowledge, our study was the first successful measurement of human ESP.

Key words: EPS, human endolymphatic sac, acoustic neuroma

はじめに

内リンパ嚢を機能の観点よりみると、①内リンパ吸収¹⁾²⁾、②内耳の免疫防御能³⁾、③利尿ホルモン産生⁴⁾、④内耳圧調節⁵⁾、⑤イオン調節能⁶⁾などがこれまで報告されている。一般に、ある器官において、その特有の機能維持のため、あるいは器官自体の活動の結果としての電位が観察され、内耳では音情報の機械電気変換に蝸牛内リンパ直流電位 (Endocochlear Potential: EP) は不可欠とされる。内リンパ嚢においても固有の直流電位が存在することが知られており、内リンパ嚢直流電位 (Endolymphatic Sac DC Potential: ESP) と呼ばれている。1983年、モルモットにおいて、硬膜外ア

プローチにより Amano ら⁷⁾ が初めて ESP 測定に成功した。以来、その存在と特徴は、動物実験により確認されてきた。一方、ヒト内リンパ嚢の研究は、主として電顕、免疫組織学的手法を用いた形態学的な観点よりなされ、電気生理学的手法による検討は少なく、これまでヒト内リンパ嚢に関する ESP 測定の報告はない。今回、我々は、正常ヒト ESP の値を知り、将来的にメニエール病患者の ESP と比較検討することを目的とし、経迷路法による聴神経腫瘍摘出手術の際、ESP 測定を試みた。

対象と方法

1998年から2002年までの期間、長崎大学耳鼻咽喉科にて経迷路法による聴神経腫瘍摘出術を施行された症例中の8例を対象とした。測定に先立ち、経迷路法による手術では迷路を削除するために内リンパ嚢の操作では術後平衡障害に大きな

¹⁾ 国立嬉野病院耳鼻咽喉科

²⁾ 長崎大学医歯薬総合研究科病態解析制御学講座
耳鼻咽喉病態制御学領域

影響がない点、および将来的にはメニエール病患者の ESP と比較することによりメニエール病患者の病態解明に寄与できる可能性について患者、家族には十分な説明を行い承諾を得た。また、学内倫理委員会、ヘルシンキ宣言についても十分検討、照合し承諾を得た。症例は男性 1 名、女性 7 名、年齢は 42 歳～74 歳（平均 62.3 歳）であった。全例患耳一側性の感音性難聴を呈し各症例の 4 分法による平均聴力は 41.0 dB～聾で、症例全体の平均は 72.5 dB であった。また 8 例中 6 例の経過中にめまいの自覚を認めたが、手術直前には全例めまい・平衡障害はなかった。平衡機能検査では暗所開眼下の頭位眼振検査で健側向き水平回旋混合性眼振を 3 例に認め、温度眼振検査では全例患側耳の CP を呈した。蝸電図検査その他神経耳科的検査では内リンパ水腫を示唆する所見はなかった。ESP の測定は全例、全身麻酔下に乳突削開術を施行し、続いてメニエール病に対する内リンパ嚢手術に準じ内リンパ嚢硬膜部を露出した後、迷路削開 (labyrinthectomy) 前に行われた。測定用電極として 150 mM NaCl で充たしたガラス電極（先端径 2～3 μm ）を使用した。不関電極は Ag-AgCl を用い、術創筋上に置いた。電極をマニピュレーターに設置し、徐々に内リンパ嚢表面に接近させ、完全に内リンパ嚢に接地し電位が安定した点を基準点（電位 0 mV）とした。さらに電極を刺入させ ESP 電位を測定した。ESP 電位

は、微小電極増幅器（FD223, WPI）で増幅後、レコーダー（SR6335, Graphtec）にて記録した。測定は各症例ごとに 5 回行い、平均値をその症例の ESP とした。測定後、内リンパ嚢の一部を生検し、その形態を走査電子顕微鏡（JSM-35）にて観察した。内リンパ嚢組織は 2 % タンニン酸を含む 1 % グルタルアルデヒドにて 2 時間固定し 2 % 四酸化オスミウム、0.1 M カコジル酸緩衝液にて 4 時間処理し、上昇エタノール系列にて脱水した。続いて、臨界点乾燥を行った後、金スパッタコーティングを行い、走査電顕を用いて観察した。

結 果

全例手術終了後、通常の手術時と同様に覚醒し、問題となる合併症はなかった。また、ESP 測定前後で血圧、脈拍などの大きな変動はなく全身循環動態は安定していた。ESP 測定は硬膜上の内リンパ嚢遠位部にて行われ、刺入はほぼ一定の部位で実施し、ESP 値の刺入部位による大きな変動は認めなかった。ESP の測定値は $+10.3 \pm 2.1 \text{ mV}$ ～ $+16.2 \pm 2.1 \text{ mV}$ ($n=8$, 平均±標準偏差) の値を記録し、その平均は $+13.3 \pm 1.9 \text{ mV}$ であった。測定例のまとめを表 1、測定の様子を図 1、ESP の波形例を図 2 に示す。内リンパ嚢はメニエール病患者にみられるような発育不良や血管分布が減少した所見はなく、全例剥離容易で色調もほぼ正常と思われた。内リンパ嚢は測定部

表 1 聴神経腫瘍症例と内リンパ嚢直流電位 (ESP)

症例	年齢 (歳)	性別	平均聴力 (dB)	めまい	眼振	温度眼振検査 (患側耳)	走査電顕	ESP (mV)
1	48	男	66.8	有	無	CP	正常	$+13.5 \pm 1.5$
2	66	女	72.5	有	有	CP	正常	$+13.2 \pm 1.3$
3	74	女	68.3	無	無	CP	正常	$+13.8 \pm 1.8$
4	70	女	68.3	有	無	CP	正常	$+10.3 \pm 2.1$
5	42	女	95.0	有	有	CP	正常	$+11.3 \pm 1.9$
6	65	女	63.0	有	無	CP	正常	$+16.2 \pm 2.1$
7	69	女	41.0	無	無	CP	正常	$+15.3 \pm 2.2$
8	65	女	聾	有	有	CP	正常	$+12.7 \pm 1.9$
平均	62.3	/	72.5	/	/	/	/	$+13.3 \pm 1.9$

図1 内リンパ囊直流電位 (ESP) 測定の様子
ES : 内リンパ囊, G (矢印) : ガラス電極
PSC : 後半規管。

位を含む遠位部を採取し、走査電顕にて観察した。走査電顕では、細胞表面に微絨毛を有した扁平、多角形の内リンパ囊上皮が観察され、表面構造上、全例ほぼ正常の細胞形態が保たれていた (図3)。

考 察

ESP は1983年の Amano⁷⁾ の報告以来、専ら動物において測定がなされており、+10～+20 mV 前後の値が記録されている^{7)～9)}。これまでヒトにおける ESP 測定の報告はなかったが、今回、我々が測定したヒトにおける ESP の測定値も +13.3 ± 1.9 mV と過去、動物において測定されたものとほぼ同様の結果となった。

形態学的にみると、聴神経腫瘍の内リンパ囊を正常コントロールとすることには議論のあるところ

図3 内リンパ囊の走査電顕所見
表面に豊富な微絨毛を有した扁平、多角形の上皮細胞が観察される。

ろであるが^{10)～12)}、今回、測定の対象とした聴神経腫瘍8例の内リンパ囊における上皮細胞の形態はよく保たれており、正常の内リンパ囊上皮と考えられる。従って、我々が測定した ESP 値は概ね、ヒト ESP の正常値と近似した値と思われる。

また、ESP の測定に際し、技術的には電極周囲の出血を避け、電極を振動させないことが重要であるが、さらに迷路削開の影響も考慮すべきである。実験的観察では ESP に対して迷路削開による急性的な影響はないと思われるが¹³⁾¹⁴⁾、今回の測定ではヒトにおける迷路削開が内リンパ囊に及ぼす影響は不明であり、その影響を避けるため迷路削開の前に ESP を測定した。

さらに、ESP について電気生理学観点よりみると、内耳に存在する固有の電位の中で ESP は

図2 内リンパ囊直流電位 (ESP) の測定波形
in (矢印) : 電極の刺入点, out (矢印) : 電極の抜去点。

EP と若干の差異がみられる。ESP は酸素依存性で anoxia 負荷により低下するが、EP とは異なり正の電位で利尿剤フロセミド (furosemide) で低下しない¹⁵⁾。また、その他の特徴として ESP はカテコールアミン (catecholamine) で低下することがよく知られている¹⁶⁾。Couloigner ら¹⁷⁾ は 1998 年、種々の薬剤に対する ESP の反応性について詳細に検討し、 H^+ -ATPase の阻害剤である bafilomycin A_1 や carbonic anhydrase の阻害剤である acetazolamide で ESP が抑制されることを報告し、酸・塩基調節機構に依存した電位である可能性を示唆している。最近、 H^+ -ATPase の B_1 -subunit が内リンパ囊上皮に存在することが判明し、この B_1 -subunit を翻訳する遺伝子 ATP6B1 の変異は難聴を伴う腎尿細管アシドーシスを生じさせることが報告された¹⁸⁾。また、内リンパ囊腔内の内リンパが蝸牛・前庭とは異なり、弱酸性 (pH = 6.65) であることが知られており、 H^+ -ATPase はこの内リンパ囊内の内リンパにおける pH 維持と ESP の発生機序に重要な因子と思われる¹⁹⁾。内耳における内リンパの容量調節の観点よりみると、Salt ら²⁰⁾ は正円窓より内リンパを注入あるいは吸引することで内リンパ腔の容積を変化させた際に、ESP が反応することを報告した。内リンパ吸収の場のひとつである内リンパ囊の障害は、これまでメニエール病の病因として重要な要素であると考えられ、実際に手術の対象にもなっている。ESP は、上述の動物実験における薬剤、化学物質に対する反応性より、内リンパ囊の機能を反映する電位と考えられる。今回、安定したヒト ESP が記録されたことより、我々の測定法は、メニエール病における内リンパ囊手術の際に応用可能であると思われる。ESP を測定することにより、電気生理学的見地よりメニエール病の内リンパ囊を評価することが可能であろう。

まとめ

1. 8 例の経迷路法による聴神経腫瘍摘出術術中に内リンパ囊直流電位 (ESP) を測定した。

2. 8 例における ESP の平均は $+13.3 \pm 1.9$ mV であった。全例形態学的には正常の内リンパ囊であり、測定値にばらつきが少ないことからこの値はヒト ESP の正常値と考えられた。

文献

1) Guild SR: The circulation of endolymph. Am J

Anat 39: 57-81, 1927

- 2) Lundquist PG: The endolymphatic duct and sac in the guinea pig. An electron microscopic and experimental investigation. Acta Otolaryngol Suppl (Stockh) 201: 1-108, 1965
- 3) Tomiyama S, Harris JP: The endolymphatic sac: its importance in inner ear responses. Laryngoscope 96: 685-691, 1986
- 4) Qvortrup K, Rostgaard J, Holstein-Rathlou NH: The inner ear produces a natriuretic hormone. Am J Physiol 270: F1073-F1077, 1996
- 5) Rask-Andersen H, Erwall C, Steel KP, et al: The endolymphatic sac in a mouse mutant with cochleo-saccular degeneration. Electrophysiological and ultrastructural correlations. Hear Res 26: 177-190, 1987
- 6) Mizukoshi F, Bagger-Sjöbäck D, Rask-Andersen H, et al: Cytochemical localization of Na^+ , K^+ -ATPase in the guinea pig endolymphatic sac. Acta Otolaryngol (Stockh) 105: 202-208, 1988
- 7) Amano H, Orsulakova A, Morgenstern C: Intracellular and extracellular ion content of the endolymphatic sac. Arch Otorhinolaryngol 237: 273-277, 1983
- 8) Mori N, Uozumi N, Sakai S: Response of the endolymphatic sac d.c. potential to asphyxia. Acta Otolaryngol (Stockh) 111: 70-74, 1991
- 9) Ikeda K, Morizono T: The ionic and electric environment in the endolymphatic sac of the chinchilla: relevance of the longitudinal flow. Hear Res 54: 118-122, 1991
- 10) Schindler RA, Horn KL, Jones PL, et al: The ultrastructure of the endolymphatic sac in Meniere's disease. Laryngoscope 89: 95-106, 1979
- 11) Wackym PA: Histopathologic findings in Meniere's disease. Otolaryngol Head Neck Surg 112: 90-100, 1995
- 12) Danckwardt-Lillieström N, Friberg U, Kinnefors A, et al: Ultrastructural analysis of 20 intraosseous endolymphatic sacs from patients with cerebellopontine angle tumors. A surgically obtained control material for histopathological studies. Auris Nasus Larynx 27: 311-

- 321, 2000
- 13) Tsujikawa S, Yamashita T, Meyer zum Gottesberge AM, et al: Experimental interruption of the endolymphatic sac duct and its effect on the DC potential in the endolymphatic sac. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 112: 785-790, 1992
 - 14) Friberg U, Wackym P, Bagger-Sjöbäck D, et al: Effect of labyrinthectomy on the endolymphatic sac. A histological, ultrastructural and computer-aided morphometric investigation in the mouse. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 101: 172-182, 1986
 - 15) Mori N, Uozumi N, Yura K, et al: The difference in endocochlear and endolymphatic d.c. potentials in response to furosemide and canrenoate as diuretics. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 247: 371-373, 1990
 - 16) Mori N, Uozumi N, Sakai S: Catecholamines depress endolymphatic sac direct potential in guinea pigs. *Am J Physiol*: R921-R924, 1990
 - 17) Couloigner V, Loiseau A, Sterkers O, et al: Effect of locally applied drugs on the endolymphatic sac potential. *Laryngoscope* 108: 592-598, 1998
 - 18) Karet EF, Finberg KE, Nelson RD, et al: Mutations in the gene encoding B1 subunit of H⁺-ATPase cause renal tubular acidosis with sensorineural deafness. *Nat Genet* 21: 84-90, 1999
 - 19) Tsujikawa S, Yamashita T, Amano H, et al: Acidity in the endolymphatic sac fluid of guinea pigs. *ORL* 54: 198-200, 1992
 - 20) Salt A, DeMott J: Ionic and potential changes of the endolymphatic sac induced by endolymph volume changes. *Hear Res* 149: 46-54, 2000

原稿到着：平成15年5月21日

別刷請求：限上秀高

〒852-8501 長崎市坂本1-7-1

長崎大学医歯薬総合研究科病態解析制御学講座耳鼻咽喉病態制御学領域

E-mail: h-kumagami@bun.bbiq.jp