

## プロトタイプデバイスの動作特性 空気中における動作特性

ここでは、プロトタイプデバイスの空気中における特性を示す。スピーカに正弦波状の電圧を印加することで、75 dB SPLの音圧を発生させ、人工基底板上に印加した。そして、LDV(Laser Doppler Vibrometer)を用いて振動計測を行った。まず、音波の周波数を固定し、人工基板全体の振動振幅を計測した結果をFig. 7に示す。Fig. 7(a),(b)および(c)は、それぞれ6 kHz, 9 kHz および 12 kHzで計測した振幅分布を示す。各周波数において人工基底板の振動様式が異なっている。最大振幅を示す位置に着目すると、周波数の増加とともに、その  $x$  座標が減少することが分かる。この現象は、最大振幅を示す位置では局所的な共振周波数と音波の周波数が一致することが原因で生じたと考えられる。また、最大振幅を示す位置よりも  $x$  座標が大きな領域において、複数の極大振幅が確認できる。これは、定在波が発生していることを意味する。振幅の最大位置よりも  $x$  座標の小さな領域で定在波が発生しないのは、その領域では板幅が波長よりも短く、波動が平面波として伝播できないためであると考えられる。この結果はFig. 3に示した理論解析結果と定性的に一致する。

次に、印加周波数を変えながら振動振幅および電圧振幅を計測した結果をFig. 8に示す。振動振幅の周波数特性は、電圧振幅のそれとほぼ一致する。すなわち、振動振幅と電圧振幅はほぼ線形関係にあると考えられる。これは、溝幅が溝の長さに対して十分に小さいため、幅方向の曲率半径が長さ方向の曲率半径に比して十分小さいことが原因である。Fig. 8に示した結果を低周波数側から高周波数側へ

観察すると、いずれの結果においても、最大振幅よりも特に高周波数側で複数の極大振幅を示す。これは、前述の定在波の影響であると考えられる。すなわち、ある位置に着目すると、共振周波数以上の条件では、波動が平面波として伝播し、定在波が発生する。そして、その位置が周波数に応じて定在波の腹や節に変わるため、結果的に複数の周波数で極大振幅が得られる。

次に、最大振幅を示す周波数をその位置の共振周波数と定義し、電極の位置と共振周波数の関係を調べた結果をFig. 9に示す。 $x$  座標が増加すると、共振周波数は減少する傾向にあることが分かる。共振周波数と  $x$  座標の関係について実験結果と理論解析結果(40  $\mu$ m)を比較すると両者はよく一致する。このことから、ここで示した理論解析法は空気中における人工基底膜の振動特性を精度良く予測できることが分かる。

次に音圧と電圧振幅の関係についてFig. 10に示す。ここでは、Ch24, Ch12 および Ch1の結果を

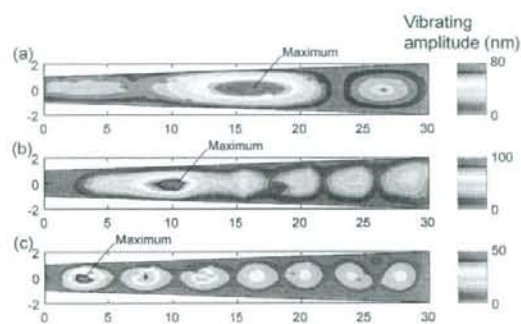


Fig. 7 Contour maps of vibrating amplitude at (a) 6 kHz, (b) 9 kHz and (c) 12 kHz

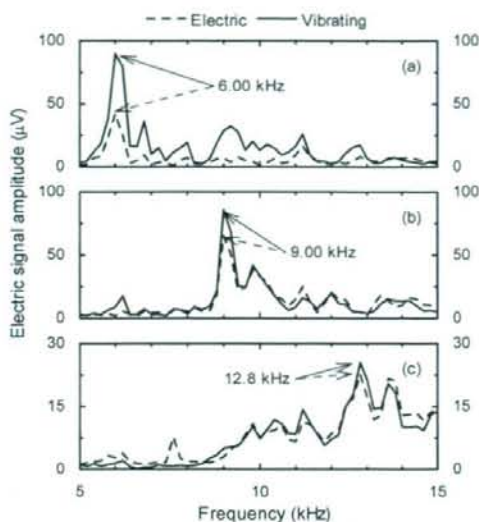


Fig. 8 Frequency dependences of vibrating amplitude and electric signal amplitude at (a) Ch24, (b) Ch12 and (c) Ch1

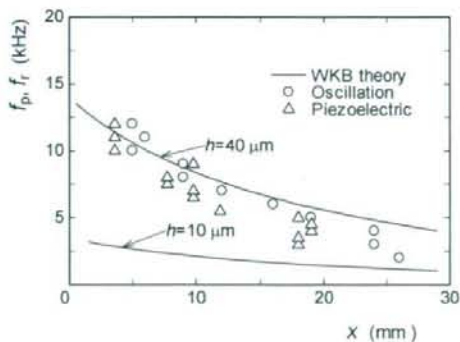


Fig. 9 Local resonance frequencies  $f_p$  and  $f_r$  on the position  $x$  for various thickness  $h$  of PVDF diaphragm

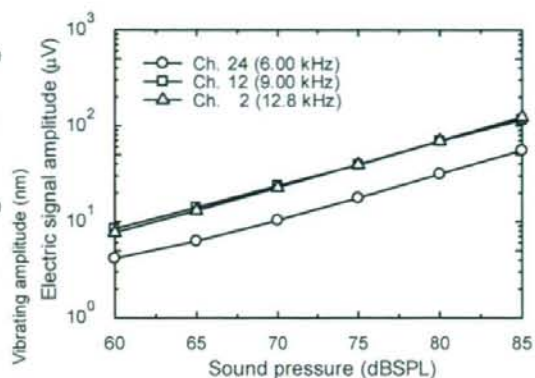


Fig. 10 Relationship between sound pressure and electric signal amplitude

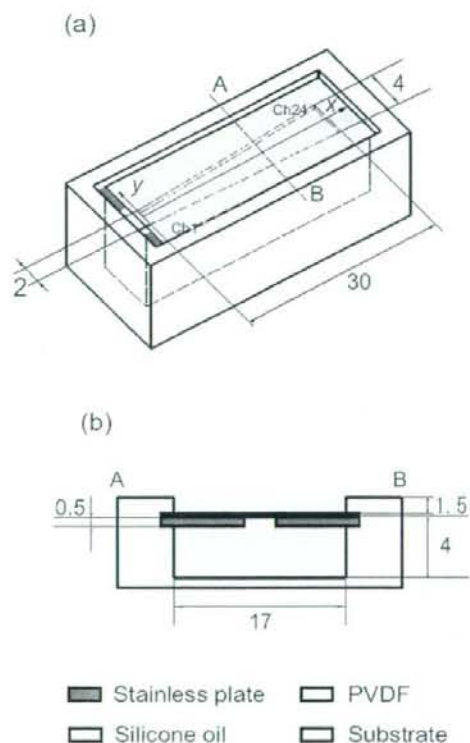


Fig. 11 Schematic of artificial cochlea for measurement in liquid environment; (a)3D view and (b) cross sectional view

例に示す。これらはそれぞれの位置における局所的な共振周波数において得られた結果であり、周波数はそれぞれ 6.0 kHz, 9.0 kHz および 12.8 kHz である。60~85 dB SPL の範囲において音圧と電圧振幅の関係は、ほぼ線形関係にあった。以上より、本プロトタイプデバイスは、周波数弁別性と同時に音圧の検出も可能であると言える。しかし、85 dB SPL の音圧に対する出力電圧は約 100  $\mu$ V 程度であり、これは聴覚神経の刺激に十分な大きさとは言えない。聴覚神経を刺激するためには、少なくとも現在の 10 倍程度の増幅が必要であり、今後は、人工基板の薄膜化や電氣的増幅等により改良を図ることを検討している。

#### 液体中における動作特性

次に、液体中においてデバイス特性を計測した。Fig. 11 は、実験に用いた装置図を示している。人工基板下部に流路を設け、内部をシリコンオイルで満たし、基板上側にもシリコンオイルを注入した。本条件で計測した振動振幅の分布を Fig. 12 に示す。これらは、音波の周波数を、それぞれ 1.5 kHz, 2 kHz および 3 kHz に設定して得られた結果である。定性的な振動様式は空気中の結果と一致している。しかし、振動が確認された周波数帯は空気中の結果よりも相対的に低下している。これは、理論的予測と同様の傾向であり、周囲流体の存在により振動に寄与する実効的質量が増加したためであると考えられる。空気中と同様に振動振幅と電圧振幅の特性を計測したところ、両者はほぼ同一の周波数で最大になることが分かった。その結果を元に、Fig. 13 の  $x$  座標と共振周波数の関係を調べた。液体中の条件で得られた共振周波数は空気中のそれよ

りも明らかに低下していることが分かる。図中の点線および実線は理論予測により、それぞれ空気中および液体中における共振周波数を求めた結果であるが、両者共に良く一

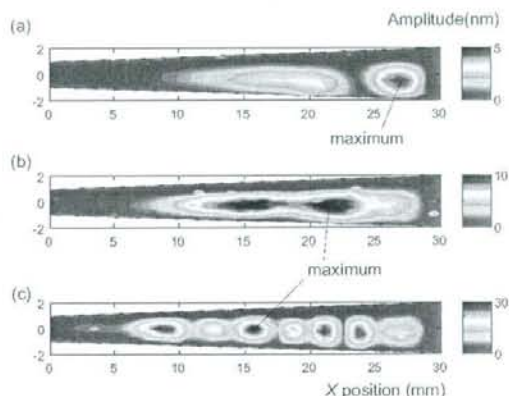


Fig. 12 Contour maps of vibrating amplitude in silicone oil at (a) 1.5 kHz, (b) 2 kHz and (c) 3 kHz

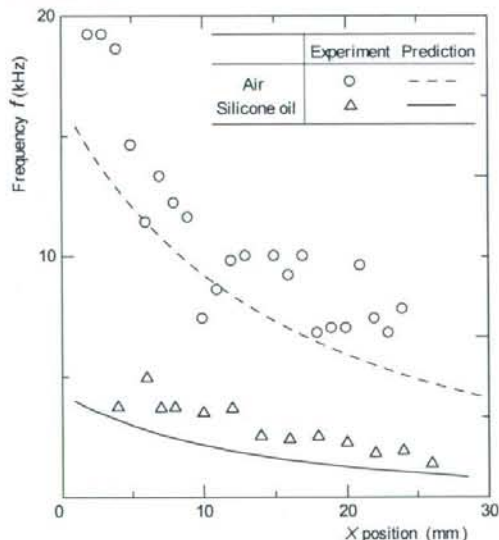


Fig. 13 Comparison of local resonance frequency in air and in liquid

致することが分かる。このことから、理論予測法の妥当性が確認できる。以上から、周囲

流体は周波数特性に強く影響し、特に液体環境下では周囲流体の影響を考慮したデバイスの設計が必要であると言える。

#### 薄膜技術を用いた MEMS 人工内耳の開発

蝸牛管の直径は、約 10 mm 程度であることから、実際に埋め込む際には、さらに小型化したデバイスが必要である。デバイスの小型化は、薄膜技術や MEMS 技術を利用することで可能であり、現在その課題に取り組んでいる。小型化は、単にデバイスを小さくすることの他にも、いくつかの効用をもたらす。例えば、薄膜技術により人工基板の厚さを薄くすると、応答周波数が低下する (Fig. 9 における 10  $\mu\text{m}$  の結果を参照)。また、板厚の減少は電圧出力の増加にも寄与する。同一の音圧条件の場合、板内のひずみは厚みの 3 乗に反比例する。一方で、圧電効果による出力電圧は、厚みの 2 乗に比例する。すなわち、同一の音圧条件で考えた場合、出力電圧は、厚みに反比例する。以上から、人工基板の薄膜化により出力電圧が増加し、感度が向上すると期待される。さらに、“自然な聞こえ”に必要な周波数帯の増加は、電極数の増大により実現でき、これは微細加工技術が得意とするところである。以上から、微細加工技術および薄膜技術を応用して、新たに人工基底膜を製作し、その動作特性について考察した。

#### 人工基底膜の構造および実験方法

開発した人工基底膜の構造を Fig. 14 に示す。Si 基板上に下部電極の Pt (厚さ  $t = 150 \text{ nm}$ )、圧電材料であるポリフッ化ビニリデン三フッ化エチレン共重合体 (P(VDF-TrFE)) ( $t = 500 \text{ nm}$ ) が順に成膜されている。そして、その上に電気的出力を計測するための Al 製微小電極が配置されている。微小電極の寸法は、

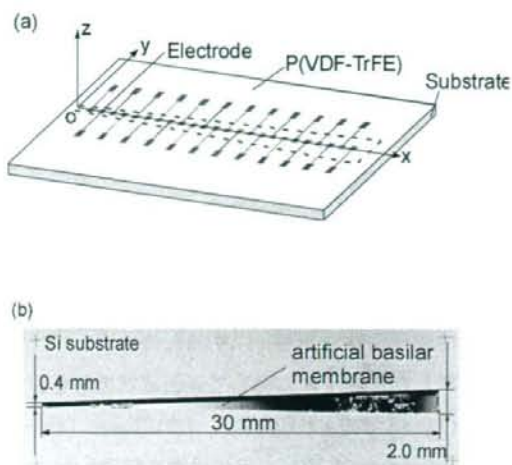


Fig. 14 (a) Schematic of artificial basilar membrane and (b) photograph of trapezoidal slit.

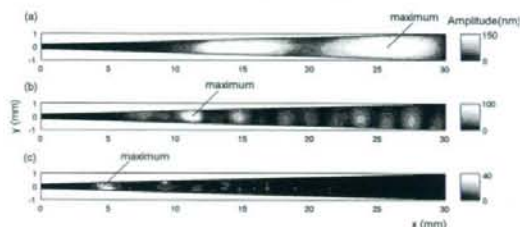


Fig. 15 Contour maps of vibrating amplitude at (a) 12 kHz, (b) 21 kHz, and (c) 27 kHz.

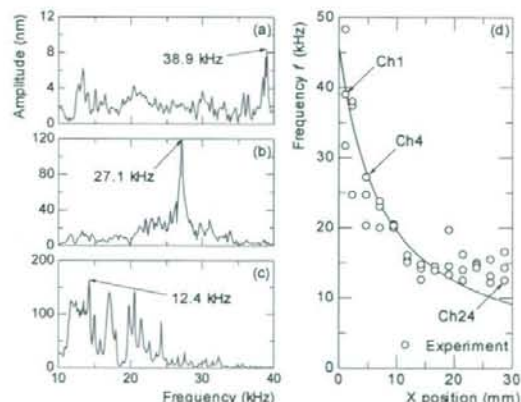


Fig. 16 Frequency dependence of vibrating amplitude at (a) Ch1, (b) Ch4, and (c) Ch24. (d) Relationship between local resonance frequency  $f$  and  $x$ .

0.5 mm×0.4 mm であり、1.2 mm 間隔で 24 個配置した。便宜上、溝幅の狭い方から順に電極番号を Ch1-Ch24 と定義した。Si 基板は台形状の溝を有し、全長が 30 mm、幅は 0.4 mm から 2.0 mm まで線形的に変化する。溝部の人工基底膜は、外部励振により振動する。膜は端部で固定端条件を満たすため、固有振動数が膜の長手方向で変化する。ここでは、基本的動作特性を明らかにするため、大気中に設置したデバイスに対して正弦波状の単色音波 (75 dB SPL) を印加し、LDV (Laser Doppler Vibrometer) を用いて膜の振動を計測した。

#### 結果と考察

Fig. 15 に振動振幅の分布を計測した結果を示す。Fig. 15(a), (b) および (c) はそれぞれ  $f = 12$  kHz, 21 kHz および 27 kHz の条件に対応する。振動振幅が最大になる位置で膜が共振していると考えられ、その座標はそれぞれ  $x = 26$  mm, 11 mm, および 4.5 mm である。すなわち、周波数が高くなるほど、共振位置は  $x$  座標の小さい領域へ移動する。これは、膜の共振周波数が局所的な境界条件に依存し、溝幅が狭いほどその値が高くなることを示唆している。また、上記座標以外にも極大値を示す領域が確認できるが、これは定在波の影響であると考えられる。次に各電極における振動の周波数依存性を Fig. 16 に示す。Fig. 16(a), (b) および (c) はそれぞれ Ch1, Ch4 および Ch24 である。最も溝幅の狭い Ch1 は 38.9 kHz において振幅が最大になる。ここでは、その周波数を電極の共振周波数と定義する。電極番号の増加につれ、共振周波数は減少し、Ch4 および Ch24 ではそれぞれ 27.1 kHz および 12.4 kHz となる。これらの結果は、本デバイスが周波数弁別能を有することを示している。ただし、Ch1 お

よび Ch4 は共振周波数に近い条件でのみ応答が得られるが、Ch24 はそれ以外の周波数帯においても応答した。これは、膜厚が 650 nm と薄く、溝幅の広い Ch24 において、膜の剛性が低いためであると考えられる。実際に、本デバイスでは膜の曲げ振動を想定しているが、溝幅の広い領域 ( $x > 14.4$  mm) では固定端近傍で振幅がノイマン条件を満たさず、張力モードの振動が支配的であった。Fig. 16 (d) に  $x$  座標と共振周波数の関係を示す。共振周波数は  $x$  座標の増加と共に減少し、本デバイスの応答する周波数帯域は 12.4 kHz ~ 48.2 kHz であることが分かった。ここで得られた周波数帯域は人間の可聴域 (20 Hz ~ 20 kHz) よりも比較的高いが、実際の使用条件下では周囲流体の影響により周波数が減少する。今後は蝸牛内における動作特性を検証するため、液体中で計測する予定である。

#### 課題と展望

本年度はプロトタイプデバイスの基本的特性を詳細に明らかにした。その結果、開発したシステムで周波数弁別能および電圧信号出力を得られることが分かった。しかし、出力電圧は最大で 100  $\mu$ V 程度であり、聴覚神経の刺激には少なくとも 10 倍程度の増幅が必要である。また、蝸牛への埋め込みを考慮した場合、さらなる小型化も課題である。これらの課題を解決すべく、薄膜技術を応用した改良型の人工内耳も開発した。薄膜化により人工基底膜の厚さは 40  $\mu$ m から 650 nm になった。理論的見積もりより、この膜の電気的出力はこれまでの約 60 倍になると期待される。電圧出力の実測についても現在進行中であり、出力が増幅していることを示唆する結果が得られ始めている。加えて、開発したデバイスの

有効性を動物実験により議論するため、さらに小型化したデバイスも開発中である。その外形寸法は 1.0 mm 角程度であり、蝸牛への埋め込みが十分に可能な大きさであると言える。

#### 研究発表

#### 著書

1. 新宅博文, 中川隆之, 川野聡恭, 田畑泰彦, 和田 仁, 伊藤壽一: MEMS 技術による人工内耳の開発, バイオ健康 & 医療デバイス (仮), シーエムシー出版, (予定)

#### 学会発表

1. Hirofumi Shintaku, Harto Tanujaya, Yohei Nakamoto, Takayuki Nakagawa, Satoyuki Kawano, and Juichi Ito, "Fluid Dynamical Analysis on Basic Characteristics of MEMS Fabricated Artificial Cochlea," Proceedings of The Seventh JSME-KSME Thermal and Fluids Engineering Conference, Sapporo, Japan, October (2008), p.155 (CDROM).
2. 北川 大, 新宅博文, 川野聡恭: 人工内耳基底膜の振動と周波数弁別特性, 日本機械学会 2008 年度年次大会講演論文集 (8),

pp.103-104, 横浜, 2008 年 8 月。

3. 中本洋平, 新宅博文, 川野聡恭, 圧電式人工基底膜の振動解析, 日本機械学会 2008 年度年次大会, 日本機械学会 2008 年度年次大会講演論文集 (8), pp.101-102, 横浜, 2008 年 8 月。
4. Hirofumi Shintaku, Harto Tanujaya, Takayuki Nakagawa, Juichi Ito, and Satoyuki Kawano, Acoustical Frequency Selectivity of Piezoelectric Artificial Cochlea, Proceedings of the 25th Sensor Symposium on Sensors, Micromachines, and Applied Systems, Okinawa, Japan, October (2008), pp.847-848.
5. 北川 大, 新宅博文, 川野聡恭: 人工内耳基底膜の振動特性における周囲流体の影響, 第 21 回バイオエンジニアリング講演会講演論文集 No.08-53, pp.487-488, 札幌, 2009 年 1 月。
6. 神戸俊也, 新宅博文, 川野聡恭: 薄膜技術を用いた MEMS 人工内耳の開発, 日本機械学会 関西学生会学生員卒業研究発表講演会 (予定)

人工蝸牛管開発—数値解析—

研究分担者 和田 仁 東北大学大学院工学研究科

A. 研究の背景と目的

本研究事業では、ナノテクノロジー、再生医学を融合した人工内耳・人工蝸牛を開発することを目的とする。開発にあたっては基底板、およびコルチ器（図1）の振動特性を理解する必要がある。しかし、実験動物を用いて基底板、およびコルチ器の振動を直接計測することは蝸牛の脆弱性と振動の微小さゆえ困難である。これに対して、モデルを用いた数値解析は、生理学的条件の影響を受けず、これらの挙動を定量的に明らかにできるため有用であると考えられる。

平成20年度分担研究では、高周波数の音を受容するモルモット蝸牛基部の基底板、およびコルチ器の複雑な構造を考慮した有限要素モデルを構築し、振動解析を行った。そして、昨年度構築した蝸牛頂部コルチ器モデルを用いた解析と併せて、頂部・基部両部位のコルチ器の振動特性について考察した。さらに、頂部、基部コルチ器モデルを用いて、基底板下部に人工感覚上皮を留置した場合を模擬した解析を行い、人工感覚上皮の適合性を検討した。

B. 研究方法

B.1. コルチ器モデルの構築

図2(a)に昨年度構築した蝸牛頂部コルチ器モデルを示す。この部位における特徴周波数はおおよそ0.5 kHzである。図2(b)に本年度構築した蝸牛基部コルチ器モデルを示す。特徴周波数はおおよそ7 kHzである。モデルの形状はTeudt and Richter (2007)による顕微鏡写真を参考に決定した。表1に両モデルの主要な寸法を示す。表2に両モデルに適用した物性値を示す。また、コルチ器とその周囲のリンパ液との相互作用を再現するため、コルチ器上部の前庭階、基底板下部の鼓室階、および蓋膜下腔のリンパ液をモデル化した。

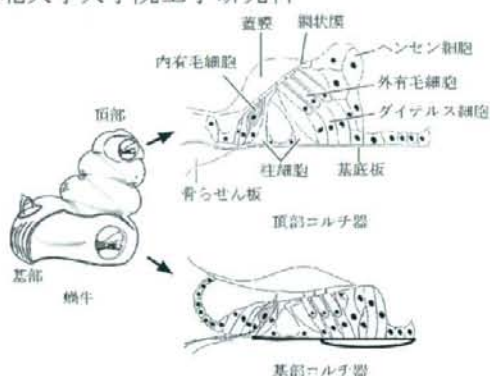
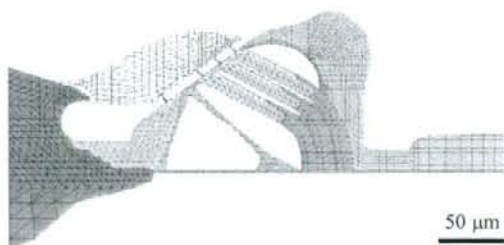


図1 モルモット蝸牛頂部、および基部におけるコルチ器断面の模式図。

(a)



(b)

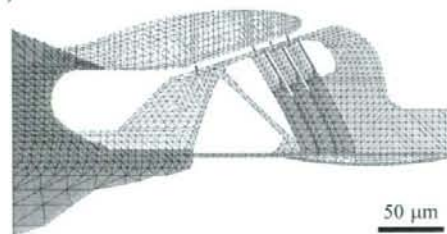


図2 モルモット蝸牛コルチ器の有限要素モデル。(a) 頂部コルチ器モデル。(b) 基部コルチ器モデル。

## B.2. 外有毛細胞が発生する力の見積もり

外有毛細胞が発生する力をモデルに導入するため、蝸牛頂部、および基部の細胞が発生する力を見積もった。頂部の細胞については、Dallos (1986), He and Dallos (2000)の報告に基づいて入出力特性を図3(a)のように定めた。また、力の位相すなわち力発生タイミングを、Dallos (1984)の報告に基づいて周波数に依存した特性とした(図3(b))。基部の細胞については、Cody and Russell (1987), Sugawara et al. (2002), Scherer and Gummer (2004)の報告に基づいて入出力特性を図4のように定めた。また、力の位相を、高周波数域において予測されている $-90$ 度(Preyer et al., 1996)とした。

## B.3. コルチ器モデルの振動の解析

コルチ器モデルに Newmark- $\beta$  法、リンパ液モデルに Marker-and-Cell (MAC) 法を用いてモデルの振動挙動の解析を行った。音刺激に起因する駆動力は前庭階、および鼓室階のリンパ液モデルに

表1 頂部・基部コルチ器モデルの主要な寸法。

	頂部 モデル	基部 モデル
基底板の幅 ( $\mu\text{m}$ )	270	200
基底板の厚さ ( $\mu\text{m}$ )	2	10
外有毛細胞の長さ ( $\mu\text{m}$ )	65	35
網状膜と基底板間の角度 (deg.)	37	18
外有毛細胞と基底板間の角度 (deg.)	28	60

表2 コルチ器モデルに適用したヤング率。

	頂部モデル	基部モデル
ヘンセン細胞	$1.0 \times 10^3$ (Pa)	$1.0 \times 10^3$ (Pa)
蓋膜	$1.0 \times 10^4$	$3.0 \times 10^4$
内有毛細胞	$1.0 \times 10^4$	$1.0 \times 10^4$
外有毛細胞	$1.0 \times 10^4$	$2.0 \times 10^4$
基底板	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^7$
ダイテルス細胞	$1.0 \times 10^7$	$5.0 \times 10^6$
内柱細胞	$1.0 \times 10^9$	$1.0 \times 10^9$
外柱細胞	$1.0 \times 10^9$	$1.0 \times 10^9$
網状膜	$1.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^7$
骨ラセン板	$2.0 \times 10^{10}$	$2.0 \times 10^{10}$

表3 基底板下にポリマーを留置した場合に、モデルの基底板部分に割り当てた等価なヤング率。

ポリマーの厚さ ( $\mu\text{m}$ )	頂部モデル基底板のヤング率 (Pa)	基部モデル基底板のヤング率 (Pa)
0.	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^7$
0.65	$6.9 \times 10^7$	$1.6 \times 10^8$
9.0	$1.8 \times 10^{11}$	$2.5 \times 10^{11}$
40	$1.6 \times 10^{13}$	—
80	$1.3 \times 10^{14}$	—

正弦波状の圧力変動を加えることにより与えた。コルチ器モデルとリンパ液モデル間の境界において、それぞれのモデルより得られた圧力や

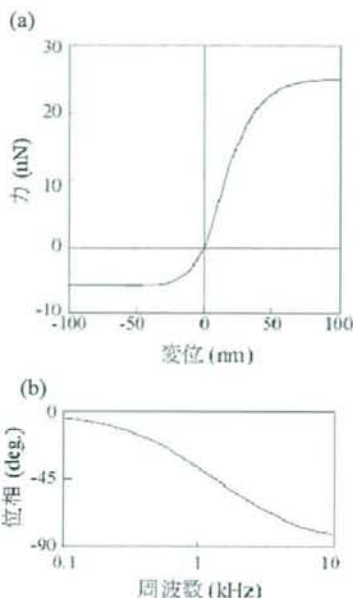


図3 蝸牛頂部の外有毛細胞が発生する力の特性。(a) 聴毛先端の変位と発生する力の関係。正方向の変位は最も長い毛の方向への変位であり、正方向の力は細胞を収縮させる方向へ働く力である。(b) 聴毛の変位に対する力の位相の周波数特性。

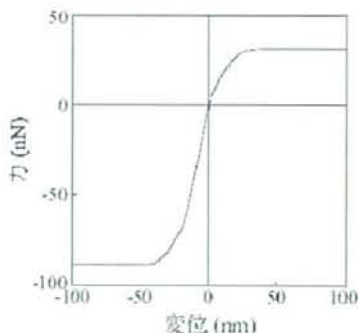


図4 蝸牛基部の外有毛細胞の聴毛先端の変位と発生する力の関係。聴毛の変位に対する力の位相は、解析を行った 1-20 kHz において $-90$ 度で一定とした。



速度を受け渡すことにより、リンパ液がコルチ器の振動に及ぼす影響を考慮した。

#### B.4. 人工感覚上皮の適合性の検討

本研究事業では、病変により有毛細胞の機能が失われた場合を想定して、圧電性を有するポリマーであるポリフッ化ビニリデン (PVDF) を基底板下に留置し、機械的振動を電気信号に変換する人工感覚上皮の構築を試みる。動物実験に先立って、構築したコルチ器モデルを用いて、基底板下にポリマーを留置した場合の振動特性を解析した。モデル構築の方法、および解析用プログラムにおける技術的な制約から、コルチ器モデルの形状は変更せず、基底板の部分に割り当てる物性値を変更することにより、基底板下にポリマーを留置した状況を再現することを試みた。すなわち、基底板とポリマーを組合せはりとしてその曲げ剛性を見積もり、モデルの基底板繊維層の部分がこの組合せはりと同じ曲げ剛性を持つように基底板のヤング率を定めた (表 3)。

### C. 研究結果および考察

#### C.1. 頂部コルチ器モデルの振動の解析

図 5 に、68 dB SPL におけるヘンセン細胞上部の振動速度の周波数特性を示す。図中の赤線は外有毛細胞が力を発生するアクティブの場合の解析結果、青線は細胞が力を発生しないパッシブの場合の解析結果を示す。アクティブではパッシブに比べて特徴周波数が低下し、特徴周波数における振動速度は減少した。白丸はモルモットが生きている状態で計測されたデータ、黒丸は動物の死後に計測されたデータを示す (Zinn et al., 2000)。解析結果は特徴周波数の低下、および振動速度の減少という点で計測結果と同様の傾向を示した。頂部でコルチ器の振動を計測した実験は少なく、現在のところ増幅の有無について統一的な知見は得られていない。しかし、頂部コルチ器の剛性は小さく、増幅がなくとも十分な振幅が得られると考えられる。解析結果から、外有毛細胞は頂部コルチ器の特徴周波数を低下させ、これにより可聴周波数域を低周波数側に広げていることが示唆された。

#### C.2. 基部コルチ器モデルの振動の解析

図 6 に、75 dB SPL における基底板中央部の振動速度の周波数特性を示す。図中の赤線はアクテ

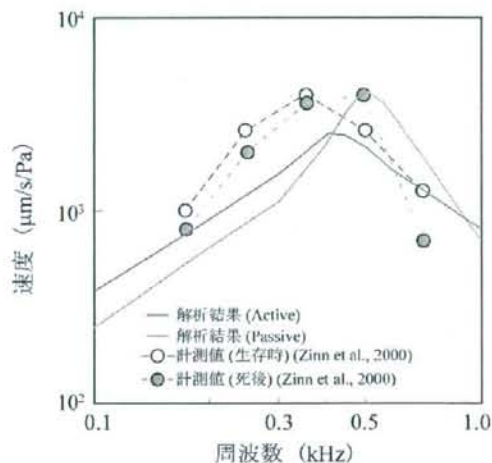


図 5 68 dB SPL における、頂部コルチ器モデルのヘンセン細胞上部の振動速度の周波数特性。赤線は外有毛細胞が力を発生するアクティブの場合の解析結果、青線は細胞が力を発生しないパッシブの場合の解析結果を示す。白丸は動物が生きている状態で計測されたデータ、黒丸は動物の死後に計測されたデータを示す。

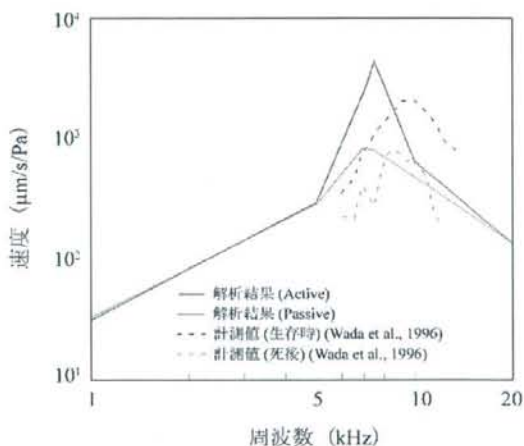


図 6 75 dB SPL における、基部コルチ器モデルの基底板中央部の振動速度の周波数特性。赤線はアクティブの場合の解析結果、青線はパッシブの場合の解析結果を示す。赤の破線は動物が生きている状態で計測されたデータ、青の破線は動物の死後に計測されたデータを示す。

タイプの場合の解析結果、青線はパッシブの場合の解析結果を示す。アクティブではパッシブに比べて特徴周波数が上昇し、特徴周波数における振動速度は増加した。赤の破線はモルモットが生きている状態で計測されたデータ、青の破線は動物の死後に計測されたデータを示す(Wada et al., 1996)。解析結果は特徴周波数の上昇、および振動速度の増加という点で計測結果と同様の傾向を示した。基部では、多くの実験で今回と同様に増幅、および特徴周波数の上昇が報告されている。基部コルチ器は頂部コルチ器に比べて剛性が大きく揺れにくいいため、増幅により感度を上げる必要があるものと考えられる。また、基部の外有毛細胞はコルチ器の特徴周波数を上昇させ、これにより可聴周波数域を高周波数側に広げていると考えられる。

### C.3. 人工感覚上皮の適合性の検討

頂部コルチ器モデルの基板中央部における変位の周波数特性を図7に示す。図中の黒線は基板下にポリマーを留置しない場合の解析結果を示す。赤線、青線、橙線、緑線はポリマーの厚さがそれぞれ0.65  $\mu\text{m}$ 、9.0  $\mu\text{m}$ 、40  $\mu\text{m}$ 、80  $\mu\text{m}$ の場合の解析結果を示す。ポリマーの厚さが0.65  $\mu\text{m}$ のとき、ポリマーを留置しない場合と比較して変位は1/100程度に低下した。厚さの増加に伴い、表3に示したヤング率にほぼ反比例して変位はさらに低下した。

基部コルチ器モデルの基板中央部における変位の周波数特性を図8に示す。図中の黒線は基板下にポリマーを留置しない場合の解析結果を示し、赤線、青線は基板下に留置したポリマーの厚さがそれぞれ0.65  $\mu\text{m}$ 、9.0  $\mu\text{m}$ の場合の解析結果を示す。ポリマーの厚さが0.65  $\mu\text{m}$ のとき、ポリマーを留置しない場合と比較して変位は1/10程度に低下した。また、このときの基板の振動パターンはポリマーを留置しない場合のそれと同様であり、基板の中央部でたわみが生じた。これに対して、ポリマーの厚さが9.0  $\mu\text{m}$ のとき、変位は1/100程度に低下し、たわみはほとんど生じなかった。これらの結果から、PVDFを人工感覚上皮として用いる場合、基板の変位の低下を極力抑え、また基板の正常な振動パターンを維持するために、PVDFの厚さを0.65  $\mu\text{m}$ 程度として蝸牛基部に留置することが望ましいと考えられる。

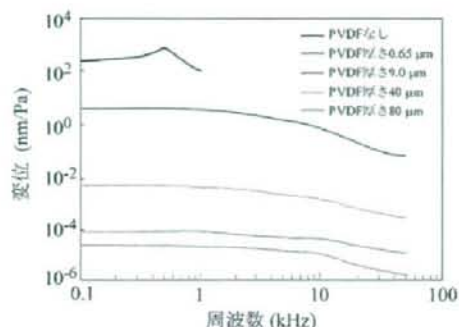


図7 頂部コルチ器モデルの基板中央部における変位の周波数特性。黒線は基板下にポリマーを留置しない場合の解析結果を示す。赤線、青線、橙線、緑線はポリマーの厚さがそれぞれ0.65  $\mu\text{m}$ 、9.0  $\mu\text{m}$ 、40  $\mu\text{m}$ 、80  $\mu\text{m}$ の場合の解析結果を示す。

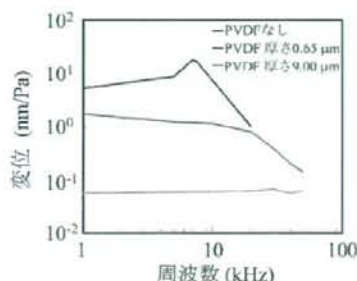


図8 基部コルチ器モデルの基板中央部における変位の周波数特性。黒線は基板下にポリマーを留置しない場合の解析結果を示し、赤線、青線はポリマーの厚さがそれぞれ0.65  $\mu\text{m}$ 、9.0  $\mu\text{m}$ の場合の解析結果を示す。

### D. 結論

1. モルモット蝸牛において、外有毛細胞は頂部、基部コルチ器の振動速度をそれぞれ減少、増加させる働きがある。
2. モルモット蝸牛において、外有毛細胞は頂部、基部コルチ器の特徴周波数をそれぞれ低下、上昇させることで、可聴周波数域を広げる働きがあると考えられる。
3. PVDFを人工感覚上皮として用いる場合、基板の変位の低下を極力抑え、その振動パターンを維持するために、PVDFの厚さを0.65  $\mu\text{m}$ 程度として蝸牛基部に留置することが望ましい。

## 表面加工による人工感覚上皮固定法開発

研究分担者 田畑 泰彦 京都大学再生医科学研究所

### 研究要旨

ポリフッ化ビニリデン（PVDF）膜表面にスパッタリングされた白金薄膜に細胞接着性、組織親和性を付与する目的で、コラーゲンを化学固定した。白金表面へアルカンチオールを利用した自己組織化反応によりカルボキシル基を導入した後、そのカルボキシル基にコラーゲンのアミノ基を化学結合させた。アルカンチオールによる白金表面へのカルボキシル基の導入とそれに続くコラーゲンの化学結合を調べたところ、期待通り、コラーゲンが白金薄膜表面に化学固定されていることがわかった。

### A. 研究目的

本邦では 35 万人が聴覚障害者の認定を受けており、難聴により日常会話に不便を感じる人は 600 万人にのぼると言われている。また新生児の 1000 人に 1 人は先天性難聴を認め、難聴は頻度の高い障害のひとつとなっている。難聴は外耳・中耳の伝音系の障害により生じる伝音難聴と、主に内耳障害により生じる感音難聴に分けられる。伝音難聴は手術による改善が見込まれるのに対し、感音難聴は補聴器や人工内耳といった聴覚補助機器に頼る必要がある。

高度感音難聴・聾に対する治療として用いられている人工内耳は、音を検出するマイクロフォン、音刺激を電気刺激に変換して送信コイルに出力するスピーチプロセッサからなる体外器機と電気刺激の入力を受ける受信コイルおよび蝸牛のラセン神経節細胞を刺激するための電極からなる体内器機より構成される。人工内耳の恩恵を被る難聴者は本邦で毎年 500 人ずつ増加しており、人工内耳は最も成功した埋め込み型医療機器のひとつといえるが、本来ヒトの蝸牛が 2 万個の有毛細胞により果たしている役割を、最大で 24 個の刺激電極により代

替させるのには限界があり、得られる聴覚は周波数弁別の面で満足できるものではない。

現在の人工内耳の問題点として、使用されている電極が少ないこと、体外器機を要すること、適応となる難聴レベルが限定されていることがあげられる。より自然な聴覚の獲得のためには、聴覚中枢の可塑性の制御だけではなく、末梢蝸牛でえられる情報をより自然に近い形で増加させることも重要な意義をもつ。また、体外器機を必要とせず、充電も不要なデバイスを開発することができれば、既存の人工内耳装用例とは全く異なるより自然なライフスタイルを提供することができる。

本研究では、人工内耳に対する問題点を解決するために、圧電素子を用いた人工感覚上皮の研究開発を考えた。人工感覚上皮は完全体内埋め込み型の聴覚補助器機であり電極数を増やすことで、より自然な聴覚が獲得できるようにすることをコンセプトとしているが、既存の人工内耳との最大の相違点は、残存する蝸牛基底板の機能を利用するという点である。基底板は蝸牛の回転にあわせてラセン構造をとっている膜状の構造物であり、蝸牛に伝達された音刺

激により発生した外リンパの振動運動を周波数ごとに弁別する機能を有している。蝸牛頂回転側では低音、基底回転側では高音を弁別しているが、この周波数弁別能を利用するためには人工感覚上皮の圧電素子を基板に固定させて基板の振動が圧電素子に伝達されるようにする必要がある。圧電素子を基板に固定して基板とともに振動させることで、音刺激の周波数に応じて刺激電極を変えられるようになる。このような試みを可能とするためには、圧電素子の開発に加えて、素子を生体の基板表面に固定するための方法が不可欠となる。これを可能とする1つの方法として、生体親和性をもつコラーゲンを素子表面に固定化することを考えた。

## B. 研究方法

人工感覚上皮としての圧電素子の表面へのコラーゲンの化学固定は、これまでに報告のあるアルカンチオールの自己組織化を利用した方法に従って行った。金表面へアルカンチオールを化学結合させ、その後、固定化アルカンチオールにコラーゲンを化学結合する方法である。本研究では、金の代わりに白金を用いた。その理由として、金と同様に白金でも同じ反応が起こることがわかっており、電極としての使用例が多く、すでに、白金は生体内で電極として使用されているからである。人工感覚上皮としての圧電素子として、厚さ40 $\mu\text{m}$ のポリフッ化ビニリデン(( $\text{CH}_2\text{CF}_2$ ) $_n$ , PVDF)膜を用いた。この膜の片面にスパッタリング法により白金薄膜(数nm厚)を形成させた。この白金薄膜へのコラーゲンの化学結合を行った。その反応は、3段階の化学反応よりなる。

第1反応：脱水された99.5%エタノールにアルカンチオール( $\text{HS}(\text{CH}_2)_{11}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_6\text{OCH}_2\text{COOH}$ )を溶解した1mMアルカンチオール溶液にPVDF膜を浸し、窒素置換されたチ

ャンバー内で24時間反応させた。この反応で金属表面とアルカンチオールのスルホ基が化学的に結合してself-assembled monolayer(自己組織膜)が形成され、PVDF膜の表面がカルボキシル基で覆われる。

第2反応：0.05M N-hydroxysulfosuccinimide(NHS)と0.2M 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride(EDC)の混合溶液にPVDF膜を浸し、室温で20分間反応させた。この反応によりPVDF膜表面のカルボキシル基が活性化される。

第3反応：PVDF膜を200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ コラーゲン溶液に浸して4 $^{\circ}\text{C}$ で4時間反応させた。この反応により活性化されたPVDF膜表面のカルボキシル基とコラーゲンのアミノ基が化学的に結合し、PVDF膜表面にコラーゲンが化学固定される。

化学反応の進行とコラーゲン固定化量の測定は以下のように行った。第1反応後に水に対する接触角の測定を行い( $n=20$ )、99.5%エタノールのみ浸したPVDF膜( $n=4$ )の接触角と比較して膜表面の親水性の変化を検討した。接触角はコラーゲン固定化あるいは固定化していないPVDF膜表面に水滴を滴下して15秒後、30秒後、60秒後の表面に対する水の接触角を測定した。第3反応において、PVDF膜表面に固定化されたコラーゲンは放射ラベルされたコラーゲンを用いて定量した。すなわち、 $^{125}\text{I}$ でラベルされたコラーゲンを0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で、同様の化学反応操作を行った。その後、サンプルの放射活性をガンマカウンターで測定した。

## C. 研究成果

接触角測定：15秒後、30秒後、60秒後の接触角は、アルカンチオール反応群で62.6、61.6、60.6度、エタノール群で65.1、64.4、62.9度で

あり、two-way ANOVA による統計解析で群間に有意差( $p = 0.004$ )を認めた。金表面にアルカンチオールを同様の方法で反応させた場合の接触角は 15 度前後となった。白金表面にアルカンチオールを反応させた場合の接触角変化は金表面に比べて小さくなったが、未反応群との間には有意差を認めた。これらの結果から、アルカンチオールが表面に結合され、PVDF 膜表面にカルボキシル基が導入されたことがわかった。

コラーゲン定量: 第 3 反応後に  $^{125}\text{I}$  ラベルされたコラーゲンの溶液の放射線量を基準に算出した、コラーゲン結合量は  $15.69 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  であった。一方、金表面の場合の結合量は  $12.5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  であり、十分な量のコラーゲンが結合していると考えられた。以上の結果から、期待通り、アルカンチオールの自己組織化法を用いることで、PVDF 膜表面の白金薄膜へのコラーゲンの化学固定化を達成することが可能であることがわかった。

#### D. 考察

金表面と同様に、白金表面に対してもコラーゲンの固定化が可能であることがわかった。今後は、固定化コラーゲンによって圧電素子が蝸牛組織に接着するかどうか、また、この方法が

本研究目的を遂行するために適切かどうかなどについて、動物実験と組織学評価を行うことが必要となる。期待通りの接着が得られない場合には、コラーゲンの固定化量の検討、あるいは他の組織接着性タンパク質の利用などを考え、生体組織への接着のための人工感覚上皮圧電素子の表面設計を行っていく予定である。

#### E. 結論

人工感覚上皮を蝸牛基底板上に固定させるための表面処理として、圧電素子表面にコラーゲンを化学結合させることが可能であることを確認した。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

1. 論文発表  
該当なし
2. 学会発表  
該当なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

## 研究成果の刊行に関する一覧表

### 著書

著者氏名	タイトル名	書籍名・編者名など	頁	出版社名	出版地	出版年
新宅博文,中川隆之, 川野聡恭,田畑泰彦, 和田 仁,伊藤壽一	MEMS 技 術による 人工内耳 の開発	バイオ健康&医 療デバイス (仮)	未定	シーエム シー出版	大阪	2009

## 論文

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	出版年・巻号・頁
Hiraumi H, Nakagawa T, Ito J.	Efficiency of a transtympanic approach to the round window membrane using a microendoscope.	Eur Arch Otorhinolaryngol	266:367-71, 2009
Ogita H, Nakagawa T, Lee KY, Inaoka T, Okano T, Kikkawa YS, Sakamoto T, Ito J.	Surgical invasiveness of cell transplantation into the guinea pig cochlear modiolus.	ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.	71:32-39, 2009
Matsumoto M, Nakagawa T, Kojima K, Sakamoto T, Ito J.	Potential of embryonic stem cell-derived neurons for synapse formation with auditory hair cells.	J Neurosci Res	86:3075-3085, 2008.
Nakagawa T, Ito J.	Local drug delivery to inner ear for treatment of hearing loss.	Current Drug Therapy	3: 143-147, 2008

## Efficiency of a transtympanic approach to the round window membrane using a microendoscope

Harukazu Hiraumi · Takayuki Nakagawa · Juichi Ito

Received: 12 March 2008 / Accepted: 1 July 2008  
© Springer-Verlag 2008

**Abstract** There has been increasing interest in cochlear drug delivery through the round window membrane (RWM). However, placing drugs on the RWM is difficult because of anatomical barriers. We examined the efficacy of a microendoscope for a transtympanic approach to the RWM. We evaluated the visibility of the RWM using four approaches: transtympanic microendoscopic, transtympanic microscopic, transmastoid microendoscopic, and transmastoid microscopic in ten human temporal bones. For the transtympanic approach, we made a fenestration ( $2 \times 1$  mm) in the postero-inferior quadrant of the tympanic membrane. For the transmastoid approach, conventional posterior hypotympanotomy was performed. The transtympanic microendoscopic approach enabled visualization of the RWM in all specimens, whereas the transtympanic microscopic approach only permitted visualization in three specimens. Through the transmastoid approach, the RWM was visible in all specimens using either a microendoscope or a microscope. The transtympanic microendoscopic approach can be utilized for cochlear drug delivery through the RWM.

**Keywords** Microendoscope · Round window membrane · Cochlea · Drug delivery

### Introduction

Sensorineural hearing loss (SNHL) is one of the most common disabilities in industrial countries. Systemic adminis-

tration of steroids has been widely used for the treatment of acute profound hearing loss [1]; however there are limitations in their clinical efficacy [2]. At present, therapeutic strategies are limited to hearing aids and cochlear implants for patients with chronic SNHL. Based on this background, basic investigations have elucidated several agents that are effective for the treatment of SNHL. However, the problem of how to deliver drugs to the inner ear has been a considerable obstacle to the development of treatments for SNHL. The blood-inner ear barrier prevents the transportation of serum drugs to the inner ear, and the blood flow to the inner ear is very limited.

Drug transduction through the round window membrane (RWM) is one option for delivering drugs into the inner ear. Continuous infusion of RWM with an osmotic pump and microcatheter has been reported as an effective and safe approach [3]. However, it requires surgery and the invasion cannot be overlooked. Recently, new local drug application procedures using biodegradable substances are gaining interest [4, 5]. The inner ear is one of the targets for local drug administration using biodegradable gelatin hydrogels [6, 7]. In this drug delivery system, positively charged proteins or peptides are electrostatically trapped in negatively charged gelatin polymer chains. As the gelatin polymer chains degrade, proteins or peptides are released from the hydrogel. The released protein is conveyed through the RWM into the inner ear via a concentration gradient. Therefore, close contact of biodegradable hydrogels with the RWM is critical for efficient drug delivery to inner ear fluids.

The RWM is situated perpendicular to the tympanic membrane and deep in the round window niche. In some cases, a false membrane covers the RWM. For safe and certain drug administration, hydrogels containing drugs should be placed on the RWM under direct visualization. Use of a

H. Hiraumi (✉) · T. Nakagawa · J. Ito  
Department of Otolaryngology, Head and Neck Surgery,  
Graduate School of Medicine, Kyoto University,  
Kawaharacho 54, Shogoin, Sakyo-ku, 606-8507 Kyoto, Japan  
e-mail: hhiraumi@ent.kuhp.kyoto-u.ac.jp

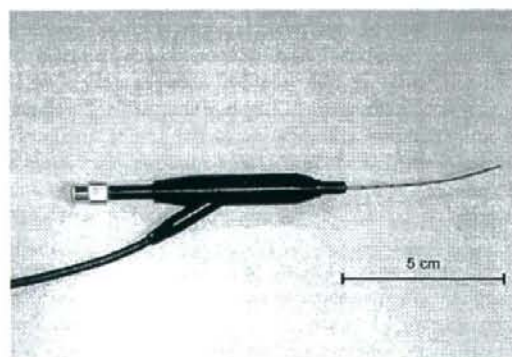


microendoscope is an effective method for visualization of the RWM [8]. It is equipped with a working channel, which can be used in drug administration. However, the potential of microendoscopes for placing substrates on the RWM has not been evaluated, and it is important to clarify the prevalence of subjects in whom the RWM is microendoscopically visible. In the present study, we examined the potential of a specially modified microendoscope for a transtympanic approach to the RWM using human temporal bones.

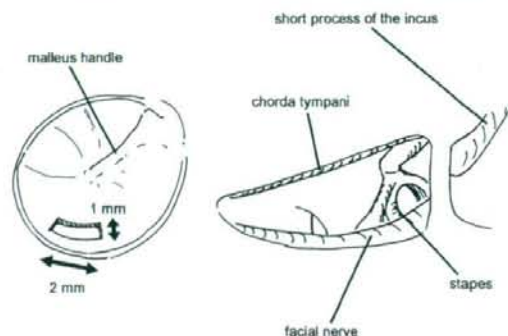
## Materials and methods

Ten formalin-fixed temporal bones with no middle or inner ear diseases were obtained from six individuals (aged from 68 to 76 years at death, five male, and one female). A microendoscope (0.9 mm in outer diameter, 50 mm in length; FiberTech, Tokyo, Japan) was specially modified in the fit angle for observation of the RWM through the tympanic membrane. The tip is curved 15° (Fig. 1). The view angle is 70°. It is equipped with a working channel (0.3 mm in diameter).

We used four different approaches to observe the RWM as follows: (1) transtympanic microendoscopic, (2) transtympanic microscopic, (3) transmastoid microendoscopic, and (4) transmastoid microscopic. For the transtympanic approach, a small fenestration (2 × 1 mm) was made in the posterior inferior quadrant of the tympanic membrane using a knife (Fig. 2). The microendoscope was inserted into the middle ear through this fenestration and set to provide the best view of the RWM. For observation with a microscope, the fenestration edge in the tympanic membrane was gently pushed with a curved needle to obtain the best access to the



**Fig. 1** A microendoscope specially modified for better visualization of the RWM. The outer diameter is 0.9 mm and the length is 50 mm. The view angle is 70°. It is equipped with a working channel (0.3 mm in diameter)



**Fig. 2** A small fenestration (2 × 1 mm) was made in the posterior inferior quadrant of the tympanic membrane using a knife. Posterior hypotympanotomy was made as large as possible. In all specimens, the facial nerve and chorda tympani were skeletonized

RWM. For transmastoid approaches, canal-wall up complete mastoidectomy and posterior hypotympanotomy were performed under conventional microscopy (Leica M300, Leica Microsystems, Wetzlar, Germany). The bones covering the middle cranial fossa dura, the posterior fossa dura, and the sigmoid sinus were drilled to be as thin as possible. The bony wall of the external auditory canal was preserved. The facial nerve and chorda tympani nerve were skeletonized and the facial recess was opened as large as possible (Fig. 2).

The RWM was observed through a posterior hypotympanotomy with a microendoscope or a microscope. Surgical procedures were performed by one author (Harukazu Hirumi). The view of the RWM and surrounding structures using the four approaches was video-captured. Frames showing best view of the RWM were converted into still images, and the area of the RWM was measured using image-processing program, ImageJ. An angled hook (1.0 mm sharp tip) was used as a reference. Total area of the RWM was measured after drilling the round window niche. The visibility of the RWM was calculated and graded into three classes: Grade I as no or little visualization of the RWM (<20%), Grade II as defined by >20%, and Grade III as defined by >70%. In three samples, the round window niche was covered with false membranes. In these cases, the false membranes were removed with a curved needle under microscopic view via posterior hypotympanotomy.

## Results

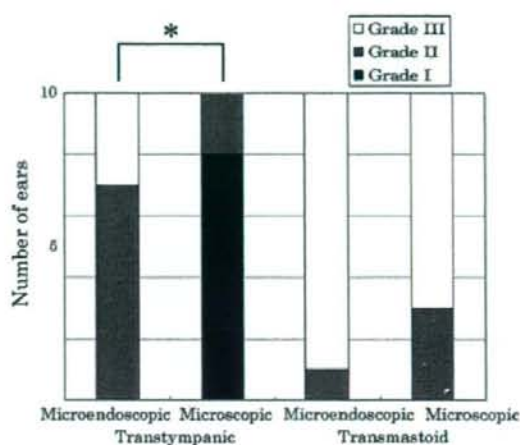
A microendoscope was smoothly inserted into the middle ear cavity and the incudostapedial joint was observed easily in all the specimens. The percentage of the area of the

RWM under direct vision was shown in the Table 1. The transtympanic microendoscopic approach enabled visualization of the RWM in all the specimens (Fig. 3). In three specimens, the RWM was totally observed (Fig. 4a). We used the incudostapedial joint as a landmark to identify the location of the round window niche and the tip of the microendoscope was safely oriented to the RWM. No hazardous events such as ossicular dislocation or disruption of the tympanic membrane occurred. In contrast to the transtympanic microendoscopic approach, a transtympanic approach using a microscope provided visualization of the RWM in only three specimens (Fig. 3). Even in those three specimens, the view of the RWM was very limited (Fig. 4c). In the other seven specimens, the RWM was not observed, as the overhang of the round window niche was an obstacle for visualization. The visibility of the RWM through the transtympanic microendoscopic approach was significantly superior to that through transtympanic microscopic approach (Fig. 3,  $P < 0.01$ , Wilcoxon matched-pair signed-rank test).

In all the specimens, the transmastoid approach provided an excellent view of the RWM using either microendoscope (Fig. 4b) or microscope (Fig. 4d). The transmastoid microendoscopic approach provided a wide view of the middle ear cavity; for instance more than 70% of the tympanic membrane was visible in nine (microendoscopic), and seven (microscopic) specimens.

## Discussion

The present results demonstrate that a microendoscope provided a satisfactory view of the RWM through a transtympanic approach with only a 2-mm incision on the tympanic membrane. Although the transmastoid microscopic approach provides an excellent view and favorable access to the RWM, this approach requires mastoidectomy and is



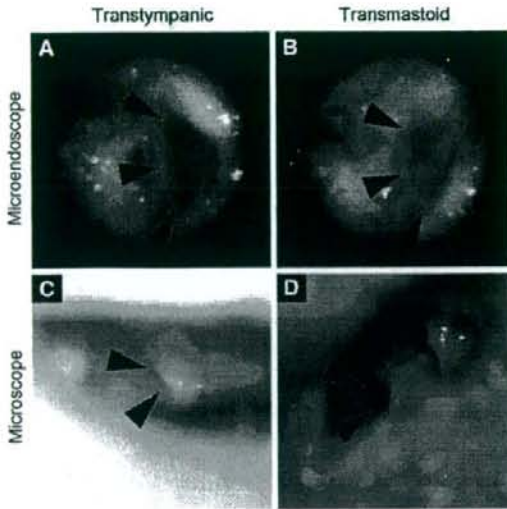
**Fig. 3** The visibility of the RWM for four approaches. Grade I as no or little visualization of the RWM (<20%), Grade II as defined by >20%, and Grade III as defined by >70%. The visibility through the transtympanic microendoscopic approach was better than that with transtympanic microscopic approach

not adequate for local drug application for treatment of SNHL. In contrast, the transtympanic microendoscopic approach requires only a small fenestration in the tympanic membrane. Therefore, the transtympanic microendoscopic approach may be applicable for office-based treatment.

Conventional endoscopes with 30° provide good visualization of the RWM [9, 10]. However, endoscopes with attached CCD cameras are not easy to handle. In office-based usage, the endoscope is usually placed just outside of the tympanic membrane [11], and tools used for drug application can hinder the view. The outer diameter is 1.7 mm or larger, requiring larger myringotomy. In addition, use of a conventional endoscope for drug delivery onto the RWM requires another channel for drug application, resulting in

**Table 1** The percentage of the visible area of the round window membrane using four approaches

No	Side	Transtympanic		Transmastoid	
		Microendoscope (%)	Microscope (%)	Microendoscope (%)	Microscope (%)
1	Left	80.2	0.0	91.6	70.1
2	Left	54.5	0.0	78.1	72.0
3	Left	78.8	23.0	87.3	79.6
4	Left	59.1	0.0	73.3	84.8
5	Left	48.2	14.6	94.8	71.6
6	Right	49.7	0.0	80.7	61.3
7	Right	79.9	0.0	87.6	75.7
8	Right	39.5	0.0	66.2	42.3
9	Right	62.0	20.1	84.9	83.2
10	Right	56.9	0.0	82.8	65.4



**Fig. 4** The RWM of bone three observed through four approaches (arrow heads). The transtympanic microendoscopic approach (a), transmastoid microendoscopic approach (b), and transmastoid microscopic approach (d) provided good views. In the transtympanic microscopic approach (c), only a small part of the RWM was observed with the aid of a curved needle

increase of surgical invasion on the tympanic membrane. This means that enlargement of the size of tympanotomy or making additional tympanotomy site is necessary. Conventional microendoscopes are made for the inspection of the nasolacrimal ducts, and their tips are straight. The external auditory canal is S-shaped [12], and it is difficult to direct straight microendoscope to the RWM. The modified microendoscope used in the current study is quite smaller than conventional ones, and is connected to a CCD camera system via a cable. The curved tip fitted the external auditory canal. This configuration provides excellent handling of equipment for drug delivery. In addition, the microendoscope used in this study has a working channel that can be utilized for application of substrates onto the RWM.

The aim of the current study was to evaluate the accurate RWM drug application efficacy of a microendoscope with angles modified to ease RWM access. For clinical use of previously developed local drug delivery systems [3, 8], safe and stable visualization of the RWM through the tympanic membrane is necessary. In this manuscript, we compared the transtympanic microendoscopic approach with the transmastoid microscopic approach, since it is the most common procedure to access the RWM. The transmastoid microscopic approach is the most reliable approach for observation of the RWM, and additional removal of the round window niche enabled measurement of the total area of the RWM, which was indispensable for quantitative analysis in the present study. The view provided by a

microendoscope is enough to deliver drugs or biomaterials incorporating drugs onto the RWM, although it is not satisfactory for precise surgical procedures. Previous studies have demonstrated the efficacy of biodegradable gelatin hydrogels for local application of brain-derived neurotrophic factor [6] and insulin-like growth factor 1 [7, 13]. The present findings resolve the problem of how to place a hydrogel onto the RWM in the clinic.

This study also found some drawbacks for this instrument. The resolution of the microendoscope is not as high as that of conventional microscopes, which may impede the differentiation of the false membrane from the RWM [14]. Sufficient understanding of the surgical anatomy of the middle ear is necessary for appropriate use of the microendoscope in drug delivery onto the RWM. However, we consider that refinement of the quality of view provided by microendoscopes may resolve this problem.

## Conclusion

The transtympanic microendoscopic approach provided satisfactory visualization of the RWM through the tympanic membrane, indicating that the microendoscope is a useful tool for placing drugs or drug-containing materials onto the RWM.

**Acknowledgements** This study was supported by a Grant-in-Aid for Researches on Sensory and Communicative Disorders from the Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare, by a Grant from Japanese Foundation for Research and Promotion of Endoscopy and by a Grant from Tinnitus Research Initiative.

**Conflict of interest** We do not have a financial relationship with the organization that sponsored the research.

## References

- Wilson WR, Byl FM, Laird N (1980) The efficacy of steroids in the treatment of idiopathic sudden hearing loss. A double-blind clinical study. *Arch Otolaryngol* 106:772–776
- Conlin AE, Parnes LS (2007) Treatment of sudden sensorineural hearing loss: I. A systematic review. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 133:573–581. doi:10.1001/archotol.133.6.573
- Plontke SK, Zimmermann R, Zenner HP et al (2006) Technical note on microcatheter implantation for local inner ear drug delivery: surgical technique and safety aspects. *Otol Neurotol* 27:912–917. doi:10.1097/O1.mao.0000235310.72442.4e
- Jeong B, Bae YH, Lee DS et al (1997) Biodegradable block copolymers as injectable drug-delivery systems. *Nature* 388:860–862. doi:10.1038/42218
- Tabata Y, Yamada K, Miyamoto S et al (1998) Bone regeneration by basic fibroblast growth factor complexed with biodegradable hydrogels. *Biomaterials* 19:807–815. doi:10.1016/S0142-9612(98)00233-6
- Endo T, Nakagawa T, Kita T et al (2005) Novel strategy for treatment of inner ears using a biodegradable gel. *Laryngoscope* 115:2016–2020. doi:10.1097/01.mlg.0000183020.32435.59

7. Iwai K, Nakagawa T, Endo T et al (2006) Cochlear protection by local insulin-like growth factor-1 application using biodegradable hydrogel. *Laryngoscope* 116:529–533. doi:10.1097/01.mlg.0000200791.77819.eb
8. Plontke SK, Plinkert PK, Plinkert B et al (2002) Transtympanic endoscopy for drug delivery to the inner ear using a new microendoscope. *Adv Otorhinolaryngol* 59:149–155
9. Karhuketo TS, Puhakka HJ, Laippala PJ (1997) Endoscopy of the middle ear structures. *Acta Otolaryngol Suppl* 529:34–39. doi:10.3109/00016489709124074
10. Silverstein H, Rowan PT, Olds MJ et al (1997) Inner ear perfusion and the role of round window patency. *Am J Otol* 18:586–589
11. Kakehata S, Futai K, Kuroda R et al (2004) Office-based endoscopic procedure for diagnosis in conductive hearing loss cases using OtoScan Laser-Assisted Myringotomy. *Laryngoscope* 114:1285–1289. doi:10.1097/00005537-200407000-00027
12. Remley KB, Swartz JD, Harnsberger HR (1998) The external auditory canal. In: Swartz JD, Harnsberger HR (eds) *Imaging of the temporal bone*, 3rd edn. Thieme, New York, pp 16–20
13. Lee KY, Nakagawa T, Okano T et al (2007) Novel therapy for hearing loss: delivery of insulin-like growth factor 1 to the cochlea using gelatin hydrogel. *Otol Neurotol* 28:976–981
14. Schicker S (1957) Das runde Fenster. *Laryngologie* 36:149–153