INFLUENCE OF DIAMOX (ACETAZOLAMIDE SODIUM) UPON INNER EAR AND HISTOCHEMICAL STUDY OF CARBONIC ANHYDRASE

By

YASUO WATANABE

*From the Department of Oto-rhino-laryngology Osaka University
Medical School (Director: Prof. T. Hasegawa)*

A study was made on the influence of Diamox (acetazolamide sodium) upon inner ear tissue and inner ear fluid, for this drug has been in use for glaucoma for its depressive effect upon the intraocular pressure.

On an assumption of the presence of carbonic anhydrase in stria vascularis, widely recognized site of secretion of endolymph, histochemical demonstration of the enzyme was also attempted by modified Häusler's method.

Materials used were human kidneys and adult normal guinea pigs and rats.

Vital transfusion fixative specimen of inner ear of adult normal guinea pigs were made 1, 3, 6, 12 and 24 hours respectively after the injection of 100 mg Kg of acetazolamide sodium.

One-hour specimen showed marked dilation of capillaries of stria vascularis and twelve-hour specimen, depression of Reissner's membrane.

Decrease of sodium in endolymph was noted one hour after the injection of the substance.

When 20 micron thick, non-decalcified frozen section of cochlea, placed on a colodium membrane, was free floated on the surface of the incubation medium according to Häusler's method, stria vascularis was positively stained to indicate the presence of carbonic anhydrase.

The same method also demonstrated the activity of carbonic anhydrase along the inner border or brush border of urinary tubule endothelia of human kidney as well as in the proximal urinary tubule endothelia of normal adult rat and guinea pig.

内耳組織および内耳液におよぼす Diamox (acetazolamide sodium) の影響, および 炭酸脱水酵素の組織化学的研究

大阪大学医学部耳鼻咽喉科学教室 (主任: 長谷川高敏教授)

大学院学生 渡 部 泰 夫
 わたなべ やす お

目 次

- I 緒 言
- II 文献の考察
- III 実験方法および実験動物および実験成績
 - (実験A) 蝸牛迷路に及ぼす acetazolamide の影響について
 - (実験B) 内耳液電解質に及ぼす acetazolamide の影響について

(実験C) 炭酸脱水酵素の組織化学的研究

- IV 考 按
- V 結 語

I. 緒 言

電気生理学の進歩により聴覚の伝音機構等の生理作用は近年著るしく解明されて来た。1961年ノーベル医学生理学賞受賞の Bekesy を始め、Davis 田崎、勝本等のすぐれた研究が多くみられる。しかしながら内耳疾患

には現代の進歩に拘らず未だ原因不明のものが多い。

すなわち老人性難聴、職業性難聴を含めての神経性難聴、メーエル氏病、内耳性耳鳴等その病態生理の不明のところ少なくない。

これらの問題の解明にとって内耳電気現象の検索とともに内耳有毛細胞の物質代謝、特に栄養および酸素供給の問題は極めて重要なものと考えられる。殊に直接血液による物質転送が少いと考えられる有毛細胞にとって内耳液の問題は極めて重要なものと考えられる。

しかし、内耳液の分泌、呼吸、循環の問題は今日なお、諸説があり決定されていない。

著者は Smith (1954) により明らかにせられた内外リンパ液のイオン構成に興味をもち、体液の電解質に大きな変化を与えるといはれている acetazolamide sodium をモルモットに投与、その内耳組織および内耳液組成の変化を追求、内耳物質代謝の一面を知り、また、炭酸脱水酵素の組織化学的証明法 (Häusler 法) を改良し内耳の血管帯にこれを証明したので報告する。

II. 文献的考察

内耳の組織学にはその微細な点に関しては現在、なお諸説があり、従つて内耳液の分泌、吸収の問題に関しても古来より多くの説が述べられたが未だ結論は得られていない。

有毛細胞への栄養および酸素供給に直接関与すると考えられる内リンパ液の分泌に関しては Corti (1851) Schambaugh (1908) 等により血管帯より分泌されると唱えられ、以来血管帯より分泌するという考えは内リンパ分泌説の中心となつている。

しかし一方、Halle, Rudinger は内リンパは脳背髄液より由来すると述べ、Gegenbauer, Siebeman, Quix, Egmond. は外リンパが内リンパの一部を供給すると考えている。

Wittmaack (1916) は分泌には血管帯、螺旋器上皮、前庭感覚終末細胞上皮等、分泌細胞上皮が関与すると述べ、滲透には膜様迷路全般を被う扁平上皮が関与するとした。

Guild (1927) は鉄塩を蝸牛管に注入後、その分布を調べ、内リンパ液は血管帯より内リンパ嚢へと流れ、また、卵形嚢や半規管からも内リンパ嚢へと流れると述べ、分泌には血管条、卵形嚢、半規管を、吸収には内リンパ嚢を考えた。1956年 Lawrence は prominentia spiralis において rosette cells を発見し、この部は栄養物供給源と考えられると述べた。

Pease (1956) は電顕の研究にて生体における infolded basal plasma membrane が water transport に関与すると報告。C.A. Smith (1957) はこれをモルモット血管帯に認め、また電顕ミトコンドリア像よりモルモット血管帯と prominentia spiralis に内リンパ生産が考えられると述べた。

S.D. Erulkar (1961) 等は眼房水生成に関与する毛様体の構造と血管帯の構造の類似を想定し、内耳液無機イオン構成との関連を述べた。

一方 Borghesan (1957) は血管帯は内リンパ分泌に適当でない構造であると述べている。

Naftalin (1958) 等は内リンパ液は外リンパ液より前庭階を介して由来すると述べ、血管帯は腎尿細管と同様の働きをなし、無機イオンの交換に関与すると推測している。

Merle Lawrence (1960) は内リンパ液の流れを電気現象と結びつけ Corti-Guild の stria から分泌され saccus に向つて流れ、吸収されるという説を longitudinal theory と名付け Naftalin u. Harrison の前庭階より内リンパ腔へ流れがあるという説を radial theory として、これらを区分し、後者がより事実と一致していると述べている。吸収の部位に関しては更に不明のところ多く、上記、Corti, Guild 等は内リンパ嚢と述べている他 Quix, Egmond, Kley, Altmann, Waltner, Saxen 等は outer spiral sulcus と述べ Lindsay は更に種々な部位も考えている。

外リンパの分泌、吸収に関しても諸説がある。その解剖学的構造より、外リンパは蝸牛小管を介して脳背髄液より生じ、また蝸牛小管以外の経路、すなわち、外リンパ管を介して、またクモ膜下腔から、また血管周囲、聴神経鞘間隙を介して髄液よりくるとも考えられている。その後 Kley (1951) は外リンパは外リンパ腔自身より生じると唱え、限外濾過で形成されると推定している。Altmann & Waltner (1950) は内リンパより由来すると唱える。一方、後藤 (修) 三宅等は外リンパ二起源説を唱え、髄液および血清より生じると考えている。吸収の部位に関しては、これまた不明のところ多く、近年、切替 (1961) 等は色素注入実験および venules の血管構造より lower spiral ligament を想定している。

内外リンパ液の組成に関しては、その量的な問題、および解剖学的構造より採取の困難な事より研究は遅れていた。僅かに、海江田 (1930) が鮫を用いて、その内外

リンパ液の電解質、蛋白質含量等について報告、Ledoux (1943)は猫を用いて、その pH を、また Ledoux (1950)は CO₂ および蛋白について報告している。

Graf u. Porette (1950) は radioactive Na を用いて、内外リンパ液への取り込みを報告し、内リンパへの取り込みが少いと述べている。

しかしながら、内外リンパ液の電解質の特異性を明確にしたのは C.A. Smith (1954) である。

Smith はモルモットを用いて、その微量内外リンパ液の無機イオンの測定を行い、外リンパはそのイオン構成において血清または組織間液に類似し、内リンパ液は細胞内液に類似していると報告した。この結果は Citron Exley (1956)、三宅 (1960) 等により追試されたが各研究者の報告はその特異なる無機イオン構成に関して大略一致をみた。Smith の報告せるこの内リンパの高カリウム、および外リンパの低カリウムは電気生理的聴覚機構、すなわち、CM. AP, EP 等と関連しても追求されるに到つた。

すなわち、中村 (1962) 等は内リンパ液の置換を行い、この際、聴覚電気現象の変化することを報告している。

内耳電解質におよぼす薬剤の影響に関しては近年、菊地 (1957) がピロカルピン、アドレナリン、重曹水、投与時の無機イオンの変動を報告している。芦原 (1960) はコーチゾン、ストマイ投与による内耳電解質の変化を報告。コーチゾンにて Na, K の低下を、ストレプトマイシンにて Na の低下を報告した。

Wullstein (1961) はメニエル氏病の患者で眩暈発作が激しく、迷路破壊術を行つた際の内耳液の電解質を計測し、メニエル氏病において、前庭階の外リンパ液のカリウム値の増加、内リンパ液のカリウム値の軽度低下およびナトリウムの増加傾向、および鼓室階外リンパは正常という所見を得ている。これより彼はライスネル膜の選択的透過性の変化を考えている。

内耳の老人における組織像は Saxen u. Fieandt (1937) により詳細に研究された。彼等は老人の側頭骨の組織学的検索により、螺旋神経節の老人性萎縮、および蝸牛管の強度の変化、すなわち螺旋上皮の扁平化、血管帯の血管の硝子化、色素沈着、コルチ器の虚脱化、ライスネル膜の血管帯上皮への融着等を述べている。

S. Rüedi (1951) は強大音響負荷により音響周波数に一致したコルチ器の崩壊、および、それに対応した血管帯の毛細血管の拡張を述べ、上皮細胞の代りに毛細血管壁がコルチ器崩壊部位の内リンパ腔に直面すると述べて

いる。streptomycin 注による場合も同様の変化がおこると述べている。

M.B. Jorgensen (1962) は老人性難聴の原因として血管帯の毛細血管壁の肥厚を述べている。

佐藤 (1957) は強大音響負荷がコルチ器の退行変性をきたすこと、および肝障害を実験的に惹起したモルモットは音響受傷性の高まることを述べた。

临床上、内耳疾患において、内耳組織および内耳液の構成も変化すると考えられる。

山川 (1938) はメニエル氏病患者の剖検例において、内耳のライスネル膜の膨隆、腫脹を報告し、メニエル氏病の病態生理の一面を明らかにした。以来、内耳の Hydrops と内耳液の分泌、吸収、またイオン構成との関連性等が追求されている。

炭酸脱水酵素の組織化学的証明は倉田 (1953) により始めて行われたが、その発色はかなり難しく、また不確実であつた。その後 acetazolamide による該酵素の抑制試験も可能となり、さらに 1958 年 Häusler により free floating method を用いることにより発色が容易に生じることが明かにされた。

内耳血管帯に炭酸脱水酵素が存在することは Naftalin (1958) により想定され Erulkar 等 (1961) が猫を用いて内耳組織、殊に血管帯等に該酵素の存在することを生化学的証明したと述べているが組織化学的証明は報告されていない

III. 実験方法および実験動物および成績

(実験 A) 蝸牛迷路におよぼす Acetazolamide の影響について

1) 実験動物

実験動物にはブライエル耳介反射測定に便利なモルモットを用いた。実験条件を同一にするため、体重 250～350gr の健康な動物を使用した。いづれも鼓膜に異常なく、ブライエル耳介反射正常なもので、20 秒 10 回転の回転後眼振を測定し前庭機能に異常のないことを確めた。

2) 使用薬剤

acetazolamide sodium (2-acetyl-amino-1, 3, 4, -thiazole-5-sulfonamide sodium) “Lederle”

3) 実験方法

acetazolamide sodium を 100mg/kg の割合でモルモットに腹腔注を行い、1 時間後、3 時間後、6 時間後、12 時間後、24 時間後、Wittmaack 固定液を用いて山川の方法に従い生体灌流固定を行い、標本作成について

も山川記載の法により脱灰等行い、ツエロイデイン包埋となし蝸牛迷路の modiolus に沿つて組織切片作成、切片の厚さは約 10μ , Haematoxylin-Eosin 染色を得つた。

4) 実験成績

蝸牛迷路に及ぼす acetazolamide の影響をコルチ器、血管帯、ライスネル膜、基底膜について観察した。

コルチ器および basilar membrane, limbus spiralis, sulcus spiralis int. には正常モルモット群および acetazolamide 注射群、全時間、全回転に互つて異常所見を認めなかつた（付図参照）。

ライスネル膜の膨隆、伸展または萎縮低下像に関しては対照正常群、acetazolamide 注射 1 時間、3 時間、6 時間の場合もこれを認めず、12 時間後のものにおいて中等度の萎縮低下を認める（付図参照）。

acetazolamide 投与により著変が認められたのは血管帯においてであつて、血管帯毛細血管の拡張像および血管帯の腫脹である（付図参照）。

これら所見は acetazolamide 投与 1 時間より 12 時間迄の各群において認められたが、1 時間後において特に著るしく、また回転別では全回転に互つては特に第 1～2 回転に強く、3～4 回転にはやや小さい拡張像が認められ血管帯の腫脹も少ない。

第 1～2 回転では毛細血管の拡張像が全血管帯に互り、単一毛細血管の内皮細胞が 1 側に内リンパ腔と直接接し反対側が血管帯下の結合織と接する程著るしい。

このような拡張毛細血管の数は第 1～2 回転においては 5～6 認められ腫脹せる血管帯の面積の殆んどを占める。

第 2～3 回転では拡張毛細血管の数は、2～4 に減少するが拡張の程度は 1～2 回転同様著るしい。第 3～4 回転にも同様 2～4 の拡張毛細血管を血管帯に認める。

時間的経過では acetazolamide 投与後 1 時間の場合に最もつよく、3 時間、6 時間の場合もなお血管拡大は強いが、12 時間、24 時間には拡張像は少くなる。

これに対して鼓室階および前庭階に面する spiral ligament の毛細血管の拡張は著るしくない。

（実験 B）内耳液電解質におよぼす Acetazolamide の影響について

- 1) 実験動物 実験 A と同じ
- 2) 使用薬剤 実験 A と同じ
- 3) 実験方法

実験 A に従い acetazolamide 100mg/kg をモルモット腹腔注を行い、注射後 1 時間、24 時間に内耳液採取、その電解質の Na および K を測定。非注射群と対

照比較した。

採取部位は C.A. Smith および島本・菊地の方法に従い、外リンパ液は正円窓を介し鼓室階より内リンパ液は卵形囊より採取した。芦原は基底膜を介して蝸牛内リンパ液を採取しているが採取方法にかなり熟練を要するので、これは行はなかつた。

採取方法はモルモットをエーテル麻酔後、直ちに断頭 Bulla をとり出し、拡大ルーベにて正円窓附近の血液その他、体液水分を濾紙にて清拭、経 $100\sim 300\mu$ 、管壁 $5\sim 20\mu$ の硬質ガラス毛細管にて先づ正円窓を軽く穿刺、毛細管現象により外リンパ液を採取する。血液成分の混入が疑われるものはこれを放棄した。

次に鐙骨附近を濾紙にて清拭後、鐙骨を取り、外リンパ液を濾紙にて吸収、卵形囊を視野内に入る迄骨様迷路の一部を破壊、メラニン色素を有する卵形囊の膨隆を確認しこれを傷つけぬように注意しながら周囲の外リンパ液を濾紙にて吸収、卵形囊の膨隆部に注意深く直径 $100\sim 300\mu$ 管壁の厚さ $5\sim 20\mu$ の硬質ガラス毛細管を浅く穿刺、内リンパ液を採取する。

穿刺後、卵形囊の対側に損傷を認めたもの、および外リンパ液の侵入が考えられるもの、すなわち、内リンパ液としては多量に採取されたものはこれを放棄した。

上記採取内外リンパ液は、その硬質ガラス毛細管の両端をパラフィンにて封入、番号記載後、冷室に保存した。

微量容積は菊地の報告する島津 SR-2 型座標測定器にて直径、管壁、長さを計測、島本の方法に基づきガラスの屈折率を加え次式にて容積を計測した。

使用した硬質ガラス毛細管の屈折率は 1.51。計測式は

$$R = R' \frac{1}{\sqrt{1 - R'^2/D^2}} \approx R'(1 + 1/2 R'^2/D^2) \dots\dots\dots ①$$

$$L = L' \sqrt{\frac{a^2 + h^2}{h^2}} \approx L'(1 + 1/2 a^2/h^2) \dots\dots\dots ②$$

$$r = \frac{L}{n} \sqrt{1 + \frac{(L-r)^2}{(R^2 - L^2)}} \dots\dots\dots ③$$

R', L' は顕微鏡下の毛細管の輝線間距離の $1/2$

R, L は直の毛細管の外径、内径の $1/2$

r : 直の毛細管の半径

h : 対物レンズと毛細管距離

b : 座標測定器の nodal point と対物レンズ間距離

$$D = h + b$$

なお、計測に際して xanthochrome を呈したものは血液成分の混入したものとして放棄した。

計測容積は外リンパ液にて最小 $3.46 \times 10^{-4} \text{cc}$ 最大 $3.49 \times 10^{-3} \text{cc}$ 内リンパ液にては最小 $1.75 \times 10^{-4} \text{cc}$ 最大 $2.32 \times 10^{-3} \text{cc}$

次いで 5cc 容硬質試験管に滅菌再蒸留水を取り、試作スポイドにて封入ガラス毛細管内の試料を注入。その後、同ガラス毛細管内壁をスポイト利用により 10 回洗滌、冷室に保存。Na, K の計測には C.A. Smith は遠心沈澱法を用い、菊地、島本は日立 EPV-2 焰光分光光度計を推賞し、三宅、芦原は Perkin-Elmer C-52 型焰光分光光度計の改良型を用いている。著者が今回使用したのは島津 R-50 焰光分光光度計で Na は $\lambda = 589 \text{m}\mu$ 、K は $\lambda = 768 \text{m}\mu$ はにて計測した。

4) 実験成績

正常モルモットの内リンパ、外リンパ容積および電解質 Na, K の各値は第 1 表、第 2 表に示した。容積は内リンパにおいては量少 $1.75 \times 10^{-4} \text{cc}$ より最大 $2.32 \times 10^{-3} \text{cc}$ 、外リンパにおいては最小 $3.46 \times 10^{-4} \text{cc}$ より最大 $3.49 \times 10^{-3} \text{cc}$ 採取し得た。

採取量は C.A. Smith は Utricular Endolymph で $2 \times 10^{-4} \text{cc}$ より $1.0 \times 10^{-3} \text{cc}$ と報告。芦原は採取量は 5

$\times 10^{-3} \text{cc}$ 以下であるとし、標準測量毛細管を作成して試料を集積し計測し、菊地は内リンパ液にて最少 $1.68 \times 10^{-4} \text{cc}$ 最大 $1.08 \times 10^{-3} \text{cc}$ 採取し得たと報告している。

各種動物の正常、内リンパ、外リンパ液の電解質 Na, K の値は各種報告者により多少異つている。

第 1 表および第 2 表に正常モルモットより得た試料の外リンパ、内リンパ Na, K の測定値を示す

外リンパの Na は最少 76.1 meq/l 最大 394.0 meq/l で 38 試料の平均値は $163 \pm 25.4 \text{ meq/l}$ 。

K は最少 4.2 meq/l, 最大 67.3 meq/l, 38 試料の平均値は $18.8 \pm 4.0 \text{ meq/l}$ であつた。

内リンパは Na は最少 6.4 meq/l, 最大で 37.6 meq/l 34 試料の平均値は $16.2 \pm 3.4 \text{ meq/l}$ 。

K は最少 61.2 meq/l, 最大 320.2 meq/l, 平均値は $135.4 \pm 32.8 \text{ meq/l}$ であつた。

第 1 表、第 2 表に示す如く内リンパ、外リンパ Na, K 共その値は極めて広く分布している。それを正規分布をしていると仮定して 5% の棄却限界を示したのが平均値に附した値である。このような広範囲の異つた値が得られたことは汚染は極めて避けた積りであつたが採取

第 1 表 正常モルモット外リンパ液電解質

試料	Volume cc	Na(meq/l)	K(meq/l)	試料	Volume cc	Na(meq/l)	K(meq/l)
No. 1	1.97×10^{-3}	284.2	21.5	No. 20	3.58×10^{-4}	76.1	11.9
No. 2	6.99×10^{-4}	203.8	48.6	No. 21	1.26×10^{-3}	131.2	13.3
No. 3	5.02×10^{-4}	274.1	67.3	No. 22	2.53×10^{-3}	120.4	8.6
No. 4	5.46×10^{-4}	315.7	40.1	No. 23	2.59×10^{-3}	96.8	7.9
No. 5	1.01×10^{-3}	166.0	13.3	No. 24	2.75×10^{-3}	110.0	9.1
No. 6	6.35×10^{-4}	156.0	22.8	No. 25	1.29×10^{-3}	122.4	19.1
No. 7	7.12×10^{-4}	109.0	33.0	No. 26	3.49×10^{-3}	86.9	6.8
No. 8	5.96×10^{-4}	147.0	17.2	No. 27	9.42×10^{-4}	272.3	19.1
No. 9	5.35×10^{-4}	210.0	4.2	No. 28	1.08×10^{-3}	394.0	20.7
No. 10	1.55×10^{-4}	161.0	21.3	No. 29	1.12×10^{-3}	107.1	12.3
No. 11	9.19×10^{-4}	128.0	19.0	No. 30	2.65×10^{-3}	95.3	9.4
No. 12	1.63×10^{-4}	190.0	23.9	No. 31	1.72×10^{-3}	97.4	11.9
No. 13	1.29×10^{-3}	247.5	39.8	No. 32	1.23×10^{-3}	118.7	14.0
No. 14	3.35×10^{-3}	127.0	13.4	No. 33	1.42×10^{-3}	176.1	13.9
No. 15	7.88×10^{-4}	283.0	31.1	No. 34	1.36×10^{-3}	137.9	12.4
No. 16	1.21×10^{-3}	159.0	18.6	No. 35	6.57×10^{-4}	251.1	23.9
No. 17	2.62×10^{-3}	114.5	14.7	No. 36	1.68×10^{-3}	136.3	12.6
No. 18	3.46×10^{-4}	101.8	10.0	No. 37	2.14×10^{-3}	107.0	9.2
No. 19	2.21×10^{-3}	89.2	10.5	No. 38	2.65×10^{-3}	94.9	7.3

平均 Na: 163 ± 25.4 K: 18.8 ± 4.0

第2表 正常モルモット内リンパ液電解質

試料	Volume cc	Na (meq/l)	K (meq/l)	試料	Volume cc	Na (meq/l)	K (meq/l)
No. 1	1.24×10^{-3}	13.1	127.2	No. 18	7.49×10^{-4}	6.8	287.0
No. 2	9.40×10^{-4}	9.7	61.2	No. 19	2.17×10^{-4}	37.6	161.0
No. 3	7.50×10^{-4}	10.0	66.7	No. 20	3.97×10^{-4}	21.4	122.0
No. 4	1.55×10^{-3}	16.9	78.8	No. 21	8.37×10^{-4}	22.7	316.6
No. 5	8.25×10^{-4}	15.6	70.9	No. 22	1.47×10^{-3}	15.0	207.5
No. 6	8.20×10^{-4}	11.0	108.0	No. 23	3.76×10^{-4}	12.3	106.4
No. 7	7.06×10^{-4}	11.5	120.3	No. 24	1.18×10^{-3}	26.7	161.0
No. 8	2.32×10^{-3}	12.9	84.4	No. 25	1.09×10^{-3}	25.0	256.9
No. 9	1.18×10^{-3}	18.3	80.0	No. 26	6.71×10^{-4}	13.5	158.0
No. 10	5.52×10^{-4}	13.2	82.1	No. 27	7.36×10^{-4}	11.3	112.0
No. 11	1.19×10^{-3}	7.4	87.6	No. 28	6.94×10^{-4}	26.0	70.0
No. 12	1.03×10^{-3}	6.6	65.4	No. 29	8.62×10^{-4}	9.6	104.4
No. 13	9.99×10^{-4}	8.3	97.6	No. 30	4.33×10^{-4}	16.5	132.8
No. 14	9.21×10^{-4}	11.8	79.8	No. 31	8.49×10^{-4}	22.1	123.7
No. 15	2.05×10^{-3}	8.8	79.7	No. 32	9.77×10^{-4}	6.4	87.0
No. 16	5.47×10^{-4}	36.6	210.0	No. 33	7.14×10^{-4}	12.4	67.2
No. 17	3.77×10^{-4}	16.3	112.0	No. 34	5.08×10^{-4}	31.1	320.2

平均 Na: 16.2 ± 3.4 K: 135.4 ± 32.8

試料に血液成分その他の混入を来したか、採取試料の一部分を操作上消失したか、また計測に当つて採取試料各容積の差のため、同一標準曲線において計測できなかった事等が関与していると考えられる。

計測値が分散することは Smith, 芦原等の報告にもみられ、特に Erulkar u Maren 等において著しく、このような微量試料の推計学的処理の困難を示していると考えられる。

Acetazolamide 投与1時間において、外リンパの Na

第3表 Acetazolamide 投与1時間後
外リンパ液電解質

	Volume cc	Na (meq/l)	K (meq/l)
No. 39	1.54×10^{-3}	118.5	11.0
No. 40	1.23×10^{-3}	117.9	11.2
No. 41	1.49×10^{-3}	107.4	13.4
No. 42	8.13×10^{-4}	153.7	18.4
No. 43	1.02×10^{-3}	154.7	15.7
No. 133	1.88×10^{-3}	100.5	14.1
No. 138	1.40×10^{-3}	119.0	15.0
		124.5 ± 19.3	14.1 ± 2.3

値は最少 100.5meq/l, 最大 154.7meq/l 全例7の平均値は 124.5 ± 19.3 meq/l.

K値は最少 11.0meq/l, 最大 18.4meq/l で平均値は 14.1 ± 2.3 meq/l であつた (第3表).

一方内リンパ液は試料総数13, Na 値は最少 5.5meq/l 最大 15.6meq/l, Na の平均値は 9.25 ± 2.0 meq/l であつた. K は最少 78.7meq/l, 最大 169.8meq/l, 平均値は 123.5 ± 17.6 meq/l であつた.

採取容積は最少 1.75×10^{-4} cc, 最大 1.06×10^{-3} cc であつた (第4表).

注射後24時間の各値は、外リンパにおいて Na は最少 111.8meq/l, 最大 166.4meq/l, Na の平均値は 136.5 ± 18.5 meq/l, K は最少 13.3meq/l, 最大 24.6meq/l, 平均値は 19.6 ± 3.6 meq/l であつた. 採取容積は最少 1.00×10^{-3} cc, 最大 1.67×10^{-3} cc であつた (第5表).

内リンパにおいては Na は最少 7.2meq/l, 最大 33.7meq/l, 平均値 12.8 ± 7.3 meq/l であり, K は最少 105.8meq/l であり. 最大 144.3meq/l, 平均値は 129.5 ± 12.6 meq/l であつた.

採取容積は最少 5.23×10^{-4} cc, 最大 1.75×10^{-3} cc であつた (第6表). 以上の結果を棒グラフで示したのが第1図である.

第4表 Acetazolamide 投与1時間後
内リンパ液電解質

試料番号	Volume cc	Na (meq/l)	K (meq/l)
No. 36	3.04×10^{-4}	15.6	121.7
No. 37	5.63×10^{-4}	8.7	94.3
No. 38	8.18×10^{-4}	7.0	162.0
No. 39	3.48×10^{-4}	11.5	100.0
No. 40	5.38×10^{-4}	5.6	83.6
No. 41	8.06×10^{-4}	9.0	158.2
No. 42	8.26×10^{-4}	6.4	133.2
No. 43	6.35×10^{-4}	5.5	78.7
No. 44	1.75×10^{-4}	14.3	131.4
No.140	6.12×10^{-4}	8.5	132.0
No.141	9.71×10^{-4}	6.9	114.0
No.142	4.25×10^{-4}	13.0	126.0
No.143	1.06×10^{-3}	8.3	169.8
		9.25 ± 2.0	123.5 ± 17.6

第5表 Acetazolamide 投与24時間後
外リンパ液電解質

試料番号	Volume cc	Na (meq/l)	K (meq/l)
No.135	1.61×10^{-3}	111.8	13.3
No.137	1.67×10^{-3}	140.6	18.9
No.139	1.66×10^{-3}	114.6	19.0
No.155	1.00×10^{-3}	153.0	23.8
No.156	1.36×10^{-3}	123.6	16.2
No.157	1.16×10^{-3}	145.4	24.6
No.158	1.53×10^{-3}	166.4	21.4
		136.5 ± 18.5	19.6 ± 3.6

第6表 Acetazolamide 投与24時間後
内リンパ液電解質

試料番号	Volume cc	Na (meq/l)	K (meq/l)
No.143	7.01×10^{-4}	12.8	141.4
No.144	8.68×10^{-4}	11.5	121.0
No.145	1.75×10^{-3}	7.5	142.5
No.149	6.87×10^{-4}	7.2	121.5
No.150	8.49×10^{-4}	10.1	144.3
No.152	5.23×10^{-4}	33.7	143.4
No.153	1.04×10^{-3}	8.0	116.3
No.154	1.03×10^{-3}	11.4	105.8
		12.8 ± 7.3	129.5 ± 12.6

第1図

第7表

METHOD FOR CARBONIC ANHYDRASE
(Hausler, 1958: after Kurata)(Cold microtome, fresh sections, post-fixed
in cold acetone: free-floating)

Preparation of Incubating Medium

Solution A. To 1.0ml. 0.1M CoSO_4 add 6.0ml. 0.05M- H_2SO_4 (This solution is stable).Solution B. Dissolve 1.0g NaHCO_3 in 50ml. 0.1M- Na_2SO_4 (Freshly prepared before use)

Before incubation pour solution B into solution A in order to avoid a momentary high concentration of cobalt ions.

Method

(1) Post-fix sections in cold absolute acetone (0-4°) for 1 hour.

(2) Transfer directly into incubating medium at 18-20°. Incubate for 1½ to 2 hours. It is important to keep the sections floating on the surface of the medium.

(3) Wash in distilled water for 2 minutes.

(4) Transfer to dilute $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ solution for 1 minute.

(5) Wash in tap water.

(6) Mount in glycerine jelly.

Result

A positive result is indicated by black or brown deposits of cobalt sulphide control sections incubated in the presence of 4×10^{-3} M-Diamox (sodium salt) should show no staining.

(実験 C) 炭酸脱水酵素の組織化学的研究

1) 実験動物

実験動物には成熟および幼若ラッテ、有色成熟モルモット(体重約 250～350gr) および人間の剔出腎を用いた。

2) 染色法

ラッテおよびモルモットの腎を剔出。これを直ちに凍結、厚さ 20μ の新鮮凍結切片を作った。次いで、室温 (20°C) にて約 10 分間放置、Häusler 原法(第 7 表)に従い、冷アセトン固定、1 時間後 $18\sim 20^{\circ}\text{C}$ にて 1 時間半 incubate し、水洗後、黄色硫化アンモンにて発色させた。この際 incubation は free floating で行うことが Häusler により考案された。この点が従来の倉田法と異なる大きな点である。

次いで人間の剔出腎についても同様染色を試みた。更にこの染色法を内耳に応用するためあらかじめスライドガラスに 2～3% の薄いコロジウム膜を作つて置き、その上に凍結切片を載せ、基質液を注射器でコロジウム膜とスライドガラスの間に注入(第 2 図)表面張力を利用して発色を容易ならしめると同時に、骨部と空隙と軟部よりなる内耳組織の崩壊を可及的に防いだ。この場合、固定液としてアルコール(70～80%)を用いた。

抑制実験は acetazolamide sodium $4\times 10^{-3}\text{mol}$ 附加基質液を用いた。

なお、内耳の切片の作成においては、モルモットを断

第 2 図

第 3 図

頭瀉血後 Bulla を開け、骨様蝸牛迷路の第 3～4 回転の骨壁を拡大ルーペ下にて針にて結合織と分離、剝離した後、これを modiolus と共に腎組織に包埋後凍結、modiolus 軸に平行に切つた。この際得られる形態の略図を第 3 図に示す

3) 実験成績

コロジウム膜上で反応を行つた Häusler 変法においてもラッテ腎においては Häusler の記載する如く近位尿管に活性強く糸球体および髄質には活性は認められなかつた(付図参照)。

モルモットにおいても同様な結果が得られた。人間の剔出腎においても活性を認め、動物による発色に差は認めなかつた。人剔出腎の活性部位は強拡大にて近位尿管上皮細胞の遊離縁、すなわち brush border に一致するようにひだをなして認められた(付図参照)。

以上コロジウム膜上に切片を置き、アセトンの代りにアルコールを用い固定した後、コロジウム膜下に基質液を入れた Häusler 変法においても活性には変化は認められなかつた。内耳組織の非脱灰切片の作成は難しい問題であり、切片を薄くすれば形態がかなりくずれる。著者は 20μ の切片により反応を行つたが modiolus の骨組織である Lamina spiralis ossea 等のため、膜様蝸牛の正しい位置関係は得られなかつたが、付図に示す如く Häusler 変法で染色した場合と、その acetazolamide $4\times 10^{-3}\text{mol}$ 附加基質液で抑制した場合と比較すれば Lamina spiralis ossea につづく Crista spiralis の透明部より先に屈曲して血管帯が存在するのが認められ、血管帯と周囲腎組織尿管とは同様の炭酸脱水酵素活性を有し、acetazolamide で抑制した場合は両者とも

発色せず、血管帯に一致してメラニンの黒褐色顆粒を認める。

IV. 考 按

近年内耳血管帯が聴覚機構、特にその末端の有毛細胞の栄養および酵素供給源として、また endocochlear potential の有力なる維持機構であると考えられ重要視されて来た。

解剖学的にも内耳血管帯は血管の少い蝸牛迷路の中で、特に血管網に富み、この点、従来より多くの研究者により、内リンパ液は勿論、外リンパ液を含め内耳液の分泌部位と考えられてきた。

Seymour (1954) は血管帯の毛細血管網における循環の速度は spiral ligament およびその他の部位における毛細血管網の速度より遅いと述べ、Smith (1957) は電子顕微鏡にて血管帯を研究、血管帯の内リンパ腔に面する方より marginal cell, lighter cell, basal cell layer と区分し marginal cell は多くの膜様構造を含み、特に Pease の報告する infolded basal plasma membrane の存在を報告した。また毛細血管網はこの部に存在し marginal cells や他の細胞の薄い cytoplasmic content によつて囲まれると述べている。

血管帯の病的所見に関しても種々報告があり S. Rüedi (1951) は前述の如く強大音響 (1600cps 純音, 140db 64時間) を負荷した場合、モルモット内耳の音響周波数に一致したコルチ器の崩壊がおこり、それに伴つて、同じその対応血管帯の毛細血管の拡張、そして上皮細胞の代りに毛細血管壁がコルチ器崩壊部位の内リンパ腔に直面すると報告。さらに streptomycin の注射によりコルチ器の崩壊をきたした場合にも、同部の血管帯に上皮の断裂と、著るしい毛細血管の拡張がみられると報告している。同様なことは quinine によるコルチ器の崩壊部の血管帯においても認められる。砒素毒においては上皮細胞の変性、腫脹を来すのみで、従つて streptomycin や quinine の場合の血管帯の変性は主として circulatory system に影響すると考えている。

M.B. Jorgensen (1962) は老人性難聴の原因として血管帯毛細血管壁の変化を Haematoxylin-Eosin 染色および PAS 染色で研究、その肥厚像が著るしいと報告している。Seymour (1954) は全身の sclerotic な変化が血管帯における毛細血管網に影響するが spiral ligament や内耳の他の部位には影響しないと述べた。

山川 (1938), Hallpike-Cairns (1938), Wolff (1938) 等がメニエル氏病の剖検例を報告、ライスネル膜の伸屈

延長、球形囊膨大、コルチ器および血管帯の萎縮等、いづれも内リンパ水腫の所見を述べ、メニエル氏病の病態の一因が内耳の Hydrops によることを明らかにした。

以来実験的メニエル氏病、すなわち、内リンパ水腫および前庭症状を実験的に惹起する試みが多く、研究者により行われ、Skoog (1939) はフォルスマン抗体をモルモットの頸動脈に注射し、前庭症状をきたすと述べ、これは前庭神経核の毛細血管の透過性の亢進によると考えている。

内藤 (1950) はピロカルピン、アセチルコリンを内耳口周辺部に作用させ、また、長谷川 (義) (1954) は馬血清による抗原抗体反応により内リンパ水腫を実験的に作ることに成功したと報告している。生体に Hydrops がおこる場合 Wullstein の述べる如く電解質の状態と、その調節異常が原因となされることが多い。

内リンパ水腫の際、内耳液がいかに変動するか不明であり、また内リンパ液のイオン構成が変れば簡単に Hydrops その他組織学的変化が惹起されるかどうかとも未解決である。また内リンパ水腫はメニエル氏病の発作と直接関係があるか、どうか不明の点も少くない。

利尿に、また抗座彎剤として、また緑内障の際の眼圧上昇の治療剤として広く用いられている acetazolamide が内耳組織および内耳液にいかに作用するかは、上記各種の点より、興味あるところである。著者の得た成績は前述の如くで acetazolamide sodium 100mg/kg 腹腔注射後1時間より6時間迄の例にて、蝸牛迷路の中で、血管帯の毛細血管像に著るしい変化を認めた。ライスネル膜の膨隆、腫脹、または、萎縮低下等、内リンパ水腫、また、内耳液圧の変動を組織学的に示す所見は認められなかつた。また Smith (1957) Borgensen (1957) 等により内リンパ分泌が行はれていると考えられている Prominentia spiralis には軽度の血管拡張像を認めるのみであつた。この点、血管帯はその周囲組織と異つた反応を示し著るしい拡張像をきたした。

山川 (1938) 等のメニエル氏病剖検例における萎縮した血管帯とは逆の成績であるが Reissner 膜の低下は12時間後のものはこれを認めなかつた。

上記血管帯の腫脹、および毛細血管の拡張は注射後1時間にて特に著るしく、時間経過と共に漸退、正常化を示しているが6時間、12時間迄認めることができる。

回転別では第1、第2回転に著明であるがこれは佐藤 (1959) が音響負荷により血管帯毛細血管の拡張像が、第

1 回転, 第2回転に認められたという報告に類似する。

投与後12時間に認められる Reissner 膜の萎縮低下は内リンパ圧の低下傾向を示すものと考えられる。投与せる acetazolamide sodium は sulfonamide ではあるが bacteriostatic な sulfonamide とは化学構造も異なり non-bacteriostatic であり, 著るしい利尿効果を有している。これは sulfonamide の酵素抑制効果, 特に炭酸脱水酵素の抑制効果によるといわれている。即ち, 次式

の反応を抑制することにより HCO_3^- の腎よりの消失, および Na, K, H_2O の運搬をする。従つて尿のアルカリ化がおこる。この acetazolamide sodium の体液無機イオンに及ぼす影響については T.H. Maren (1954) の詳細な報告がある。彼等の実験(実験動物は犬または猫)では血清中のナトリウム, カリウム値の減少, 尿中のナトリウム, カリウム, 炭酸各イオンの増加, アンモニウムイオンの減少を報告している。

Acetazolamide は心臓疾患における利尿作用の目的の他 epilepsy において抗痙攣作用により, また緑内障の時の眼圧降下作用により, 临床上よく用いられている。しかしながら, その作用機序に関しては全て明確にされたわけではなく, 例えば, 抗痙攣作用については中枢神経系の炭酸脱水酵素の抑制によるという説, および, それによつて生じる slight acidosis によるという説も唱えられている。

Woodbury (1958) によれば acetazolamide 投与による痙攣抑制作用は脳細胞内の CO_2 圧の上昇を来す結果であると報告している。彼によれば, 細胞は CO_2 の調節器であり CO_2 の増大が細胞の代謝よりくると述べている。従つて炭酸脱水酵素の抑制は細胞内で代謝的に作られた CO_2 が細胞より遊離する割合を抑制すると推定している。この事は CO_2 が細胞内で炭酸として生産され, 細胞膜が炭酸に対して透過性が中等度であればおこるだろうと述べている。

Shanes (1948) の実験では細胞を離れる CO_2 の殆んどが CO_2 ガスの形で, 炭酸の脱水は重要な CO_2 遊離の反応調律因子であると考えている。

従つて炭酸脱水酵素抑制, および CO_2 ガス投与による抗痙攣作用は同じ機序, すなわち, 細胞内の炭酸濃度の急速な上昇によると説明している。Woodbury はま

た「acetazolamide 投与により脳細胞内の Na/K 比が低下すると述べている。緑内障治療剤としての acetazolamide sodium の作用は毛様体における HCO_3^- 分泌機能低下に基づくと考えられている。これは Myotics の流出増大とは異つた上記の機序で眼圧低下をきたすと考えられている。

メニエル氏病の治療には外科的療法と内科的療法とに大別される。外科的療法はメニエル氏病を内耳水腫と考えこれに基づく Portmann 氏手術, および, その山川, 内藤変法がある。

内科的療法としては, メニエル氏病を内耳血行障害に本態ありとしての, 7% 重曹水静注, ニコチン酸アミド, カリクレイン, その他, 高張液投与等がある。一方, 内耳水腫を除く目的での acetazolamide 投与も試みられている。いづれにしても緑内障における眼圧測定のように, 内リンパ圧の測定が不可能であり, メニエル氏病発作時の本態は不明であり, 内藤等の分離する如く, アレルギー, focal infection, 内分泌異常等, 種々の因子による内耳血行障害, およびその結果としての内耳水腫が有力視されている。

acetazolamide 投与により血管帯の毛細血管の拡大像がみられたこと, また, その時間的経過および, その回転別に差の認められたことは ① acetazolamide 投与による, 体液のナトリウム, カリウムの減少による, 内耳血管の血流の電解質組成の変化に基づくのか, ② また Naftalin の述べる如く, 血管帯および, その他, 膜様迷路の何んらかの場所に炭酸脱水酵素が存在し, その抑制により Woodbury の報告するように炭酸ガス圧の増加が, 血管帯そのものに, あるいは, 内リンパ液に生じ, その影響が血管帯毛細血管に及んだか ③ また血管帯および, その他の迷路組織の炭酸脱水酵素抑制により内リンパ, 外リンパ液の特異なるイオン構成に影響し, その結果として生じたものか ④ 大量の acetazolamide 投与により血管帯そのものの物質代謝に影響, 血管帯毛細血管の循環異常をきたしたためか, 等が考えられる。しかしながら生体固定における血管拡張と生理的な拡張との関連性について追求すべき問題があるが, 佐藤 (1957) (1959), Rüedi (1945), H. Davis (1953) の報告するような音響負荷という条件においてコルチ器の障害もきたし易い基礎回転に近く, 毛細血管拡張像が認められるということ, および, ストレプトマイシン, キニン等の聴器毒投与により生じるコルチ器崩壊部に対応する血管帯毛細血管が拡張するという所見

は、いずれも生体固定により得られた所見であり、著者が今回得た acetazolamide 投与による所見も、これら所見の場合と同様生体反応と考えられる。回転別において拡張毛細血管の大きさ、および数に差の認められたことは、蝸牛各回転の音響受傷性と関係するとも考えられる。

Bekesy 等の報告する如く、蝸牛有毛細胞の周波数特異性、高音が基礎回転より少し上の部より始まり、漸次低音に向うということ。また音響による聴力障害が高音に多いという事実。また SM 中毒による末梢迷路障害も基礎回転に強いという事実。キニーネ、CO 中毒等による内耳障害も高音部が犯されるということ、さらに河本 (1962)、中井 (1962) 等も回転別における血管帶酸素消費量の差を述べている等、数多くの点より考慮すれば acetazolamide 投与により、第 1~2 回転部位の毛細血管の拡大像が特に著しいということは、この部回転の特異性を示すと考えられる。また Seymour (1954) の述べるような血流の停滞現象を示すものとも考えられる。また斯様に考えれば該部は侵襲に対し、特に酸素欠乏をきたし易い部位であるかもしれない。以上の点より血管帶も、それに対応する有毛細胞同様、回転別の特異性を有しているのではないかと推察される。

Acetazolamide の内耳液に対する影響に関しては内リンパ、外リンパ液とも、その採取量の僅少、および、その解剖学的構造より生じる測定値の広汎な分布のため推計学的に有意の値をうることは、かなりの技術と例数の集積を要する。著者は内・外リンパ液のナトリウム、カリウムの低下傾向を認めたが推計学的に有意と判定するにはなお例数の増加を必要とする。しかし、内リンパのナトリウムの低下は顕著であり、現在の例数において、5% の危険率で有意であつた。

内・外リンパ液電解質に対する薬剤の影響に関しては、本邦にて芦原 (1960)、菊地 (1957) の報告がある。

菊地はピロカルピン、アドレナリン、アトロピン、7% 重曹水注射群について報告しており、ピロカルピン注射により、内リンパのカリウム値の増加を、アドレナリン、アトロピン注射群にては変化を認めずと報告。また 7% 重曹水注射により、内リンパ液のカリウム値の低下をきたしたと述べている。

島本、菊地 (1956) はメニエル氏病および、それに関連せる一群の内耳疾患の原因について、内リンパ・カリウム維持機能の障害に本態ありと考えている。

芦原 (1960) はコーチゾンおよびストマイ投与時の影

響について報告。コーチゾン大量投与にて、内外リンパ液共、ナトリウム値の増加、カリウム値は減少する傾向にあると報告。この場合、増加傾向は、内リンパより、外リンパにおいて、やゝ著明と述べている。芦原はこれらの変化が対照血清の同様な変化より大であると報告。ストマイにては内外リンパの、ナトリウム、カリウム値は著明な影響をうけないが、内リンパにおいてナトリウムはやゝ低下、カリウムはブライエル反射低下と平行して一般に増加の傾向を認めたと述べている。

acetazolamide の影響に関しては S.D. Erulkar u. T.H.Maren (1961) が報告。猫を用いて 50mg/kg 静注後内リンパのカリウムの減少を述べ、外リンパのカリウムは変化がないと述べている。彼等は、この成績により、炭酸脱水酵素は内リンパのカリウムの active secretion の機構に重要な役割をなし、恐らく、この液体の過剰形成にも重要な役割をなすと述べている。しかしながら彼等の実験においても計測値は極めて広く分散しており、その推計学的処理は行はれていない。また、彼等は内リンパ液の CO_2 の値は血清や脳髄液と変わらない 15~21mM/l を示すと述べている。彼等は猫の血清において CO_2 は投与前 17mM/l、投与後 11mM/l と述べている。

Wullstein (1961) は前述の如く、人間のメニエル氏病の電解質の計測を行い、前庭階の外リンパ液のカリウム値の増加、および内リンパ液のカリウム値の軽度低下およびナトリウム値の増加傾向を述べライスネル膜の選択的透過の変化を考えている。

Woodbury は脳細胞における Na/K 比が acetazolamide 投与により低下すること、すなわち、細胞内のナトリウム値の低下が著しいと報告している。

内リンパ液は前述の如く細胞内液と同じく、低ナトリウム、高カリウムであり、外リンパ液は反対に細胞外液の無機イオン構成を示すが、著者の得た成績によれば、内リンパ液は acetazolamide 投与により Na/K 比は低下し、Woodbury が脳細胞で得た成績と類似する。この事は両者の間の生理機構に関連のある結果によるとも考えられる。

内外リンパに及ぼす acetazolamide の影響を考えるとき、外リンパは血清と、その無機イオン構成が類似している故、外リンパのナトリウム、カリウムの減少は血清に由来していると考えられる。

内リンパ液は細胞外液としての外リンパ液の中に膜様構造にて囲まれ存在し高カリウム、低ナトリウムの特

異なる細胞外液としての構成をもつがこのためには、膜称構造はかなり強力な選択性透過性をもつか、ナトリウムの排泄機構を持たねばならぬ。acetazolamide 投与により、内リンパのナトリウム値が減少する結果を得たが、この場合、膜称構造のナトリウム・ポンプのようなメカニズムに何らかの影響があつた結果かどうか未解である。しかしながらこのような energy を要する機構は血流が問題となる。

従つて血液供給の多い血管帯がこれに当ると考え易い。Vosteen (1958) および小出はモルモット血管帯にコハク酸脱水酵素、およびチトクローム・オキシダーゼが多いと報告している。

著者の実験においてみられた acetazolamide 投与後の著明な毛細血管の拡張像は、該薬剤により血管帯の化学反応に何らかの著しい変化を来した結果と考えられる。更に内リンパ液のナトリウム・イオンが該薬剤により減少したという事は Naftalin (1958) が推測し、また Erulkar (1961) が生化学的に実証したと報告するように内耳における炭酸脱水酵素の存在によるのかもしれない。著者も組織化学的に Häusler 法を変え、内耳血管帯の炭酸脱水酵素の染色に成功し、該酵素が血管帯にあることを確認した。しかしながら該酵素が内耳液電解質の転送にどのような特異性を発揮しているかは、なお、問題となるところであり、今後の研究によらねばならないと思はれる。

Merle Lawrence (1960) はライネル膜を損傷させると、その部位の有毛細胞が直ちに破壊されると述べ、その際の内耳電気現象を損傷部位の上下の回転にて記録、内リンパ液の流れに関して彼の見解を明らかにした。すなわち内リンパ液の流れが Guild の唱える如く、血管帯より内リンパ嚢に流れるならば当然損傷部以下の回転の電気現象の消失しなければならないと考え、彼は内リンパが Naftalin 等の唱える外リンパより、ライネル膜を介して生じるという説を正しいとしている。彼は後者を radial theory と名付け Guild の説を longitudinal theory と区別している。

いずれにしても内リンパ嚢の膜称構造の中で血管帯が内リンパ液の生成に関し重要な役割を果している事は間違いないと思われる。内耳疾患は斯様に血管帯の酵素、血液供給と関係があると思はれるが、長谷川教授の唱える如く、螺旋器の底面を走る螺旋血管 (Vas spirale) との関係も、密接と思はれる。

この方面の研究は現在のところ、少く著者も今回の実験では知見を得ることはできなかったが、今後、研究さ

れねばならぬ点と考える。

IV. 結 語

(1) 内耳液の分泌、吸収および循環の機序の一端を追求する目的で正常健康モルモットに acetazolamide sodium 100mg/kg 腹腔注射を行いこの際の内耳組織の変化、および、内耳液電解質の変化を観察した。

(2) コルチ器、ライスネル膜、基底膜、血管帯等において、内リンパ水腫を示す像は注射群、各時間別において、これを認めなかつた。12時間後において、ライスネル膜の低下像を認めるものがあつた。

(3) 注射後における最も著しい所見は、血管帯毛細血管の著しい拡張像であり、注射後1時間、3時間、6時間に認められ、特に1時間後において著明であり、回転別では高音感受部と知られている基礎回転に近く著明であり、第3～4回転の拡張像は弱い。spiral ligament および他の蝸牛組織の血管像の変化は少い。

(4) 内耳液電解質は、その量的な問題より分布はかなり大であるが、注射後1時間にて内外リンパ液共、ナトリウム、カリウムの減少傾向を認め、特に内リンパのナトリウムの減少は5%の危険率で有意であつた。

(5) 炭酸脱水酵素の組織化学的証明法である Häusler 法を成熟および幼若ラット腎、モルモット腎、および人間の剔出腎にて追試、この染色法における動物個体差のないことを確かめ、Häusler 法に一部改良を加え、これを蝸牛迷路において行い、モルモット血管帯の炭酸脱水酵素を組織化学的に証明した。

(6) 人剔出腎にて炭酸脱水酵素活性は近位尿管上皮細胞の遊離縁、すなわち、刷子縁と思はれる部位に認めた。

(7) 内耳の物質代謝、分泌機構解明のための1つの方法として acetazolamide 投与による内耳組織、内耳液の変動を観察し、内耳血管帯の特異性を認め、また内耳血管帯の炭酸脱水酵素の組織化学的証明を試み、その存在を確認し、内耳物質代謝の基礎的知見を得た。

参 考 文 献

- 1) K. Wittmaack: Über die pathologisch-anat. u. pathophysi-Grundlagen der nichteitrige Erkrankungsprozesse des Inneren Ohres u. des Hörnervus. Archiv. für Ohr- usw. Heilkunde. 99. p. 71—136, 1916.
- 2) Guild: The circulation of the Endolymph. Amer. J. Anat. 39, p. 57—81, 1927.
- 3) 山川強四郎: メニエル氏症候を呈せし患者の聴器, 日耳鼻, 44巻, 12号, 2310, 1938.
- 4) Altman and Waltner: New investigation on the physiology of

- the labyrinthine fluids, *Laryngoscope* 60, p. 912, 1950. 5) *S. Rüedi*: Some animal experiment findings on the functions of the inner ear, *Annals of Oto.* Vol 60, p. 993~1023, 1951. 6) *E. Kley*: Zur Herkunft des Perilymph, *Zeitschrift für Laryngo.* 30, p. 486~502, 1951. 7) 内藤 雋他: メニエル氏病の実験的研究 (第2報), *日耳鼻*, 55巻, 4号, p. 234, 1952. 8) 吉田 秀一: ピロカルピン及びアトロピンのモルモット聴器迷路に及ぼす影響に関する実験的研究, *日耳鼻*, 55, p. 503~508, 1952. 9) *J.E. Hawkins, M.H. Lurie*: The ototoxicity of streptomycin, *Annals of Oto* Vol 61, p. 789~809, 1952. 10) *S.H. Mygind*: Beiträge zur Physiologie der Flüssigkeitssysteme des Labyrinths, *Archiv für O-N.K.H.* 160, p. 472~500, 1952. 11) *H. Davis*: Mechanism of Hearing, 1953. 12) *Y. Kurata*: Histochemical demonstration of carbonic anhydrase activity, *Stain technol.* 28, p. 231~233, 1953. 13) *C.A. Smith*: The electrolytes of the labyrinthine fluids, *Laryngoscope* Vol 64, No. 3, p. 141~153, 1954. 14) *I. Tasaki (H. Davis. & D.H. Eldredge)*: *J. Aconst. Soc. Amer.* 26, p. 765~773, 1954. 15) *J.G. Waltnner*: The chemical composition of perilymph in cats, *Laryngoscope* 64, 6, p. 439~453, 1954. 16) 山川 強四郎, 内藤 雋: メニエル氏病の内耳病理組織学, *耳鼻咽喉科*, 27(88), p. 820~839, 1955. 17) *D.C. Pease*: Infolded basal plasma membranes found in epithelium noted for their water transport, *J. of Biophysical & Biochem. Cytology.* Vol. 2, 11, p. 203, 1956. 18) *M. Lawrence*: Structures of the spiral prominence and external sulcus and their relation, *Laryngoscope* 66(7), p. 796~803, 1956. 19) 佐藤 武男: 聴器毒投与動物の音響受傷性に関する実験的研究, *日耳鼻*, 60, 5, p. 479~495, 1957. 20) 菊地 大麓: 内リンパ電解質に関する実験的研究, *日耳鼻*, 60, 10, p. 1486~1493, 1957. 21) *E. Borghesan.*: Modality of the cochlear humoral circulation, *Laryngoscope* 67, 12, p. 1266~1285, 1957. 22) *C.A. Smith.*: Structure of the stria vascularis and spiral prominence, *Annals of Oto.* 66, p. 520, 1957. 23) *H. Green, M.J. Mann, H.S. Kroman.*: Elaboration of bicarbonate ion in intraocular fluids, *Amer. J. of Oph.* 44, p. 388, 1957. 24) 阿部 裕: 尿管管転送酵素系とその臨床的意義, 臨床生理化学シンポジウム, 第2集, p. 41~45, 1958. 25) 小林 恒久: 老人性難聴に関する研究, *日耳鼻*, 61, 1, p. 157~212, 1958. 26) 亘 康男: 血管壁 Adrenalin 脱水素酵素の存在に就いて, *大阪大学医学雑誌*, 10, 8, p. 1075~1080, 1958. 27) *K.H. Vosteen*: Die Lokalisation verschiedener Atmungsfermente in der Schnecke, *Archiv für Ohren-Nasen Kehlkopf usw. Heilkunde B.* 171, p. 368~370, 1958. 28) *K.H. Vosteen*: Die Erschöpfung der Phonoreceptoren nach funktioneller Belastung, *Archiv für Ohren-Nasen-Kehlkopf-Heilkunde B.* 172, p. 489~512, 1958. 29) *A.Koch and D.M. Woodbury.*: Effects of carbonic anhydrase inhibition on brain excitability, *J. of Pharmac and Experiment. therap.* Vol. 122, p. 335~342, 1958. 30) *J. Gordon, Millichap, M. Balten, P. Hernandez.*: Development of susceptibility to seizures in young animals. Brain water, electrolyte and acid-base metabolism, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 99~1, 6~11, 1958. 31) *L. Naftalin and M.S. Harrison.*: Circulation of labyrinthine fluids, *J. of Laryngo. and Oto*, 72, p. 118, 1958. 32) 阿南 他: 生化学実験法, p. 64~67, 1959. 33) 内藤 雋: メニエル氏病の臨床と病理, 1959, *日耳鼻総会, プリント* 34) 芋川 正彦: 内耳代謝系の組織化学的研究, *耳鼻臨*, 52, p. 348, 1959. 35) *E. Borghesan.*: Modality of the cochlear humoral circulation, *Acta Oto-rhino-laryng.* 10, p. 1266~1285, 1959. 36) *D. Hennebert and C. Fernandez.*: Ototoxicity of quinine in experimental animals, *Archiv of Otolaryngology* 70, 45, p. 321~333, 1959. 37) *H. Green, J.L. Sawyer.*: Elaboration of bicarbonate-ion in intraocular fluids, *Amer. J. of Oph.* 48(p2) p. 71~87, 1959. 38) 小出 靖: 内耳疾患の成因および治療に関する生化学的研究, *日耳鼻*, 第61回総会シンポジウム. 39) 三宅 弘: 内耳液の生化学について, *日耳鼻*, 第61回シンポジウム. 40) 水越 治: 内耳物質代謝の特異性について, *日耳鼻*, 第61回総会シンポジウム. 41) 勝木 保次: 聴覚の機構 (I), *医学のあゆみ*, 33, p. 138~144, 1960. 42) 芦原 実: 内耳液の無機物質 (Na, k) に関する研究, *日耳鼻*, 63, 4, p. 950~967, 1960. 43) 東 郁郎: 緑内障治療薬 acetazolamide の眼圧下降作用機序に関する研究, *日本眼科紀要*, Vol, 11, No. 1, p. 64~77, 1960.

- 44) 湖崎弘, 東郁郎他: 実験的家兎緑内障の電解質代謝について, 日眼会誌, 64, 8, p. 323~328, 1960. 45) 長谷川高敏: 末梢循環障害と重曹注射, 臨床と研究, 37, 6, 828~832, 1960. 46) 方円正久: 酸素欠乏の蝸牛電位および蝸牛神経活動に及ぼす影響に関する実験的研究, 日耳鼻, 63, p. 2161~2175, 1960. 47) K.H. Vosteen.: The histochemistry of oxygen metabolism in the inner ear, Laryngoscope 70, p. 351~362, 1960. 48) M. Lawrence, D. Wolsk, W.B. Litton.: Circulation of the inner ear fluids, Archiv of Oto. Vol 70. Numb. 3, p. 753~776, 1960. 49) Pease.: Histochemistry, 2nd Edition Churchill p. 597, 1960. 50) G.V. Bekesy: Experiments in hearing, 1960. 51) 陌間啓芳: 局所アレルギー反応による末梢血行障害並びに内耳病態に関する実験的研究, 日耳鼻, Vol. 64. No. 3, p. 690~703, 1961. 52) H.L. Wullstein and S. Rauch.: Endolymph and Perilymph in Ménière's disease, Archiv. of Oto. Vol 73. Numb 3, p. 261~267, 1961. 53) I. Kirikae et.: A consideration on the circulation of the perilymph, Annals of Oto. Vol 70. Numb. 2, June 1961. 54) J.B. Jorgensen.: Changes of Aging in the inner ear, Archiv of Oto. Vol. 74, Numb. 2, p. 164~171, 1961. 55) W.B. Litton & M. Lawrence.: Electron microscopy in Ménière's disease, Archiv of Oto. Vol. 74, Numb 1, p. 32~39, 1961. 56) S.D. Erulkar and T.H. Maren.: Carbonic anhydrase and the inner ear, Nature Vol. 189, No. 4763, 1961. 57) K.H. Vosteen.: Neue Aspekte zur Biologie u. Pathologie des Innenohres, Archiv für Ohren-Nasen u. Heilkunde 178, Band 1, p. 1~104, 1961. 58) 中村文雄他: 内リンパ Na および K イオンの蝸牛電気現象に及ぼす影響, 1962, 日耳鼻総会号. 59) 谷村実: モルモット蝸牛のコハク酸脱水酵素に関する研究, 耳鼻臨, 54, 8, p. 814~827, 1962. 60) 木村レイ: 超音波のモルモット蝸牛に及ぼす影響に関する研究, 耳鼻臨, 54, 8, p. 799~813, 1962. 61) 河本和友, 柿崎一郎: 血管帯における呼吸酵素に関する研究, 日耳鼻, 65, p. 179~183, 1962. 62) 安野友博: モルモットにおける Endocochlear potential に関する実験的研究, 日耳鼻, 65, 2, p. 193~219, 1962. 63) M.H. Maxwell, C.R. Kleeman.: Clinical disorders of fluid & electrolyte metabolism, 1962. 64) D.H. Elderedge, C.A. Smith, H. Davis, R.P. Gannon.: The electrical polarization of the semicircular canals, Annals of Oto Vol 70 p. 1024~1037, 1962. 65) S. Iurato.: The sensory cells of the membranous labyrinth, Archiv of Oto Vol 75, Numb. 4, p. 312~328, 1962. 66) G. Rossi.: L'acetylcholinesterase Au cours de development de L'oreille Interne du Cobaye, Acta Oto-laryngologie Suppl. 170, 1962. 67) E. Koburg u. D. Plaster.: Zur Grösse des Eiweissstoffwechsels der Gewebe der Cochlea, Acta Oto Vol 54. Fasc. 3~4, p. 319~335, 1962. 68) Y. Yoshikawa, Y. Koide.: Some oxidizing enzymes in the cochlea, Annals of Oto Vol 71, Numb. 1, p. 96~104, 1962. 69) S. Fujisaki. et.: Determination of carbonic anhydrase. Medical J. of Osaka University Vol. 12, No. 3~4, p. 315~320, 1962.
- 稿を終るに臨み, 終始御指導, 御校閲を賜った恩師, 長谷川高敏教授に深謝すると共に御援助をいただいた, 藤崎講師, 佐藤博士, 酒井博士, 植松博士, 難波博士, および小坂田学士, 堀井学士始め, 当教室諸先生および本学第一解剖学教室前田敏博学士に深く謝意を表します。
- 本論文の要旨は第 113 回, 第 114 回日本耳鼻咽喉科学会大阪地方会, および第 23 回近畿耳鼻咽喉科学会にて発表した。

(原稿到着＝昭和 38.1.24 日)

渡 部 論 文 付 図 (1)

第1図 正常モルモット蝸牛路
(第3回転) 10×10

第2図 acetazolamide sodium 100mg/kg
投与、1時間後モルモット蝸牛迷路
(第3回転) 10×10

第3図 正常モルモット蝸牛迷路
(第2回転) 10×10

第4図 acetazolamide sodium 100mg/kg
投与1時間後モルモット蝸牛迷路
(第2回転) 10×10

第5図 正常モルモット蝸牛迷路
(第1回転) 10×10

第6図 acetazolamide sodium 100mg/kg
投与1時間後モルモット蝸牛迷路
(第1回転) 10×10

渡 部 論 文 付 図 (Ⅱ)

第7図 acetazolamide sodium 100mg/kg
投与12時間後, モルモット蝸牛迷路
(第3回転) 10×10

第8図 acetazolamide sodium 100mg/kg
投与12時間後, モルモット蝸牛迷路
(第2回転) 10×10

第9図 acetazolamide sodium 100mg/kg
投与12時間後, モルモット蝸牛迷路
(第1~2回転) 10×10

第10図 acetazolamide sodium 100mg/kg 投
与1時間後血管帯, 第1回転 10×40

第11図 acetazolamide sodium 100mg/kg
投与1時間後, 血管帯第2回転 10×40

第12図 acetazolamide sodium 100mg/kg
投与1時間後, 血管帯第3回転 10×40

渡 部 論 文 付 図 (Ⅲ)

第13図 ラット腎組織の炭酸脱水酵素
(Häusler 法) 10×10

第14図 ラット腎組織の炭酸脱水酵素
(Häusler 変法) 10×40

第15図 ラット腎組織 (Häusler 変法)
acetazolamide sodium
 4×10^{-3} mol にて抑制 10×10

第16図 人別出腎, 尿細管炭酸脱水酵素
(Häusler 変法) 10×40

第17図 モルモット蝸牛迷路炭酸脱水酵素
(Häusler 変法) 10×10

第18図 モルモット蝸牛迷路 acetazolamide
sodium 4×10^{-3} mol にて抑制
10×10