EVALUATION OF ADENOSINE TRIPHOSPHATASE IN THE STRIA VASCULARIS AND SPIRAL LIGAMENT OF THE NORMAL GUINEA PIG

By

TOSHITAKA IINUMA, M.D.

*From the Department of Oto-rhino-laryngology,
Faculty of Medicine, University of Tokyo, Japan
(Director: Prof. Ichiro Kirikae)*

The enzymatic ATP-hydrolyzing system in the stria vascularis and spiral ligament of the normal guinea pig was investigated. The existence of membrane ATPase, which is said to be closely related to the active transport of sodium and potassium across biological membranes, was established. The membrane ATPase in the present study was found to be similar in many respects to that

found in various tissues.

The activity of the membrane ATPase in the stria vascularis and spiral ligament was considered to be fairly high in comparison to other secretory tissues. The distribution of the enzyme activity among various portions of the membranous labyrinth was also demonstrated.

正常モルモット血管条および螺旋靱帯における Adenosine Triphosphatase の測定

東京大学医学部耳鼻咽喉科学教室（主任：切替一郎教授）

大学院学生 飯 沼 寿 孝
い い ぬ ま と し た か

目 次

1. 緒 言
2. 実験方法
 - 1) 組織分離法
 - 2) 薬 品
 - 3) 酵素測定法
 - 4) 乾燥重量測定法
 - 5) 統計処理
3. 実験結果
 - 1) Ouabain の影響
 - 2) カリウム及びナトリウム濃度の影響
 - 3) マグネシウムおよびカルシウム濃度の影響
 - 4) 温度および pH の影響
 - 5) 種々の阻害剤の影響
 - 6) 蝸牛各廻転別および膜迷路の他の部分における酵素活性
 - 7) 血管系のみ酵素活性

4. 検 討

- 1) 膜迷路における電解質の能動輸送について
- 2) 血管条および螺旋靱帯における膜 ATPase について
- 3) 蝸牛各廻転別酵素活性度について

5. ま と め

1. 緒 言

化学的微量定量法の発達によつて、過去 10 年間に内リンパおよび外リンパの組成分析がなされた。これらの分析結果は内耳の機能を理解するに重要であることも判明してきた。内耳液における電解質の分析は 1954 年に始めて、Smith 他¹⁾によつてなされ、モルモット内リンパの高カリウム濃度および低ナトリウム濃度、また外リンパ組成の他の細胞外液との類似などが示された。

これと似た所見が他の種類の動物、すなわち、猫、(Citron 他²⁾)、人、(Rauch 他³⁾)、モルモット、(三宅⁴⁾)、亀と蛙、(Johnstone 他⁵⁾)、および、魚、

(Murry 他⁶⁾, Enger⁷⁾) などにも報告されてきた。

内リンパにおける特異な電解質の分布は能動輸送, Active Transport (イオンを膜を通じてエネルギー差, 濃度差などに打勝つてエネルギーをもちいて輸送する過程, Ussing⁸⁾) によりなされることは疑いない。

ただし, 膜迷路のどの部分でこの能動輸送が行なわれるかについては多くの議論があり定説がない。また, この問題は内リンパの起原にもからまるもので, 数多くの報告から内耳液の起原および吸収に関する定説を見いだすのは困難なようである (Lawrence, ⁹⁾)。

しかし, これらの極め難い議論にもかかわらず, 血管条および螺旋靱帯 (Vosteen, ¹⁰⁾), あるいはライスネル氏膜 (Rauch, ¹¹⁾) および Chou, ¹²⁾) などの果す役割は認められた。

これら歴史的経過を考慮に入れ, 我々は血管条および螺旋靱帯における1つの酵素系を研究して来た。これは Adenosine Triphosphatase (ATPase) の1つであつて生物学的膜を通して, カリウムとナトリウムの能動輸送に密接な関連をもつものであるといわれている。ATPase は Adenosine Triphosphate (ATP) を Adenosine Diphosphate (ADP) と無機リン酸に水解する際, 作用する酵素である。この際に発生した高エネルギーは, さまざまな生物の活動, 例えば筋収縮, 能動輸送などに用いられるという。

神経膜 (Caldwell 他 ¹³⁾), 赤血球膜 (Whittam, ¹⁴⁾) および Hoffman, ¹⁵⁾) における実験から能動輸送に必要なエネルギーは ATP から来ることが示された。Skou ¹⁶⁾ は 1957 年に始めて, かにの神経膜を含むと思われるミクロゾーム分かくにおいて, ある種の ATPase の活性がカリウムとナトリウムの共存によつて活性化されることを発見した。

このカリウムおよびナトリウムで活性化される ATPase 成分は同時に Ouabain (=Strophantin G) により阻害される。これより先 1953 年に Schatzmann, ¹⁷⁾ は Ouabain がカリウムおよびナトリウムの輸送を阻害することを観察している。この ATPase 成分が, 少なくとも一部分は, カリウムおよびナトリウムの能動輸送に関連することが考えられた。

Post 他 ¹⁸⁾ および Dunham 他 ¹⁹⁾ は赤血球において ATPase 活性と能動輸送に極めて密接な関連のあることを証明した。両者, すなわち ATPase および能動輸送は, 膜に局在し, 両者とも ATP を使用し, 両者にカリウム, ナトリウムの存在が必要であり, さらに両者

とも特異的に Ouabain で阻害される。このようにカリウムとナトリウムで活性化され, しかも Ouabain で特異的に阻害される ATPase は猫において 29 種類の組織に証明され, 広く生物内に分布することが示された (Bonting, 他 ²⁰⁾)。

現在この ATPase は種々な名称で呼ばれており, 「Membrane ATPase」 「Glycoside or Ouabain-Sensitive ATPase」, 「Sodium-Potassium-Activated-ATPase」および「Pump-ATPase」などがある。当論文においては一応「Membrane ATPase」 (=膜 ATPase) と呼ぶことにするが, これは必ずしもただ1つの酵素系が存在することを意味するとは限らない。

今回の論文は正常成熟モルモットにおける血管条および螺旋靱帯の膜 ATPase およびその他の ATP-水解系の測定を報告するものであり, この要旨は 1965 年 11 月に米国シカゴで行なわれた「第 9 回全米耳鼻咽喉科基礎部門研究発表会 (米国耳鼻咽喉科アカデミー主催)」にて発表された (飯沼 ²¹⁾)。ストレプトマイシン系統の内耳中毒性薬物のこれら酵素系への可能性ある影響についての報告が続いて行なわれる (飯沼 ²²⁾)。

2. 実験方法

1) 組織分離法

正常耳介反射を示す成熟モルモットが用いられる。モルモットは約 50mg の Pentobarbital Sodium の腹腔内注射で麻酔され, 断頭される。取り出された側頭骨はすみやかに氷冷された Ethylene-Diamine-Tetra-Acetate-Disodium (EDTA), 2.5mM 濃度溶液に保たれる。EDTA 溶液は Tris(hydroxymethyl)aminomethane (Tris) にて pH7.5 に調節されてある。

15 倍立体顕微鏡下に血管条と螺旋靱帯はともに取り出され, 氷冷 EDTA 溶液内に保たれる。EDTA 溶液は組織片よりカルシウムイオンを除く目的で使用される (Dunham, ¹⁹⁾)。酵素活性の測定は断頭 90 分間以内に始められる。予備実験結果によれば, 氷冷 EDTA 溶液内にて 90 分間保存することは酵素活性に認めるべき変化を与えないことが判明している。

血管条と螺旋靱帯は, Apex と第 4 廻転, 第 3 廻転, 第 2 廻転および第 1 廻転の 4 つの部分にわけて取り出される。第 1 廻転においては骨螺旋板の細い骨片が分離された組織片に附着し, 容易に取り除けない。後のべられるごとく, 酵素活性は乾燥重量 mg あたりに換算されるために, この細小骨片の附着は重大な誤差の原因になり得る。従つて今回の論文では, 第 1 廻転の活性は参

考法に引用され、統計処理により算出される全廻転の平均活性度には含まれない。

2) 薬 品

ATP (Disodium salt) および Tris-ATP は Sigma Chemical Co. より購入された。Ouabain および Oligomycin は Mann Research Laboratories より購入された。他の日常薬品、NaCl, KCl, Mg Cl₂ などは Reagent Grade である。薬品はすべてガラス再蒸溜水にて準備された。また室温保存で変化を受ける物質は使用されるまで氷結された。以上の薬品内に微量に存在する重金属は特に分離されなかつた。

3) 酵素測定法

種々な反応系の組成はその都度図表において説明される。最終反応系容積は 1ml である。蝸牛の 1 廻転分の組織片は小さなガラス鉤で釣り上げられ、小試験管内の反応溶液に浮遊する。組織片および反応系は 37°C に保たれ、30 分後に 10% 氷冷 Trichloroacetic Acid (TCA) を 1ml 加えることにより反応を止める。乾燥重量測定のため、再び蒸溜水にて洗った後、組織片はプレパレートの上にのせる。

1.0ml の反応液は Fiske, SubbRow 法²³⁾ の変法によつて ATP より分離水解した無機リン酸濃度測定に用いられる。Beckman DU 型光電比色計および微量定量用セル (0.9ml) を用いる。当実験条件下では、組織片自体には無機リンは存在が証明されない。組織片を含め反応系が酵素反応以外の ATP 分解の補正のためコントロールとして同じ状態で観察される。反応系の時間および組織重量に関する直線性については予備実験において確かめられた。

酵素活性度は乾燥重量 mg, 1 時間あたり ATP より水解された無機リン量 micromole で示される (Pi-micromoles/mg dry wt./hr).

4) 乾燥重量測定法

反応終了後組織片を再蒸溜水で洗い、プレパレートの上にのせ、気温 25°C、湿度 30% 以下のドラフトに 48 時間放置して乾燥重量とする。乾燥重量は Helix, Quartz Balance (Microchemical Specialities Co) を用いて測定する。この感度は 1.0mm の延長あたり 16 マイクログラム (=10⁻⁶gram) に相当する。湿度との関係は少く、詳細な検討は Lowry²⁴⁾ を参照されたい。

5) 統計処理

以下の分析で明らかになるごとく、膜 ATPase の活性は、反応系に Ouabain が存在する場合としない場合

の平均値 (Sample means) の差として表現される。一般の定義によれば、この差が確率 0.95 以上の場合、差は有意義であるという (Solomon²⁵⁾ および Weiner²⁶⁾)。以下にのべるごとく、膜 ATPase の同定にはさまざまな反応系を用いなければならず、その各々に統計的処理を可能にする多数の実験を重ねることは技術的に困難である。従つて Ouabain にのみ限つて、およそ 25 例の実験を重ね、統計処理を行つて、膜 ATPase の存在を明らかにし、その後の各種の反応系に関しては 6~10 例を用い、平均値を示す。

3. 実験結果

1) Ouabain の影響

膜 ATPase の活性は 0.2mM Ouabain の存在で完全に阻害されるという (Post 他¹⁸⁾)。従つて膜 ATPase の活性度は、Ouabain の存在する反応系の活性度を Ouabain の存在しない反応系の活性度から引いた差で表現される。

図 1 酵素活性測定値分布

温度 37°C. pH7.5. ATP 2.5mM. Na 85mM. K 30mM. Mg 2.5mM. Tris 20mM. すべて最終濃度を示す。値は、Apex と第 4 廻転、第 3 廻転および第 2 廻転の平均値である。

図 1 に示されるごとく、これら活性の実測値の分布はほぼ正規分布を示し、このことから正規分布に関する統計分析がなされる。

Ouabain の存在しない反応系の平均値を M_1 、標準偏差を S_1 、Ouabain の存在する反応系のものを各々 M_2 および S_2 とすると、 $M_1 - M_2 = 2.1$ が観測された差になる。すなわち膜 ATPase の活性度である。 $S_1 = 1.4$, $S_2 = 1.5$ であるから、差の標準誤差, SEd (Standard error for the difference) は $\sqrt{S_1^2/24 + S_2^2/24} = 0.42$ となる。統計法によれば (方法参照), $(M_1 - M_2)/SEd$

が2より大きければ、($M_1 - M_2$)、すなわち、2つの反応系の差は0.95以上の確率をもつて確かであるという。現在の場合この値は約5であつて、統計的にこの差は有意義である。従つて膜 ATPase の存在は確率0.95以上をもつて証明された。

2) カリウムおよびナトリウム濃度の影響

図2および図3に示されるごとく、ATPの酵素的水解系には2つの成分が存在する。1つはその活性がカリウムおよびナトリウムの濃度上昇と共に上るもので、この上昇分は Ouabain 0.2mM の存在で阻害される。もう1つは電解質濃度や Ouabain で影響を受けない系である。前者がいわゆる膜 ATPase に相当する。後者は Ouabain-insensitive Component と呼ばれる。

図2 カリウム濃度の ATPase 活性度への影響

温度 37°C. pH7.5. ATP 2.5mM. Mg 2.5mM. Tris 20mM. すべて最終濃度を示す。各点は Apex と第4廻転, 第3廻転, 第2廻転の平均値である。測定は各点6箇の側頭骨の平均でなされた。

図3 ナトリウム濃度の ATPase 活性度への影響

温度 37°C. pH7.5. ATP 2.5mM. Mg 25mM. Tris 20mM. すべて最終濃度を示す。各点6箇の側頭骨の平均。図2参照。

3) マグネシウムおよびカルシウム濃度の影響

図4に示されるごとく、マグネシウムの濃度が ATP と等しい時、膜 ATPase の活性は最高を示す。実験範囲内では Ouabain に影響されない成分 (Ouabain-insensitive Component) はマグネシウム濃度にも関係がない。

図5によれば、カルシウムはマグネシウムと共存する時、膜 ATPase を阻害する。Ouabain に影響されない部分はカルシウム濃度にも影響されない。

図4 マグネシウム濃度の ATPase 活性度への影響

温度 37°C. pH7.5. ATP 2.5mM. Na 25mM. K 140mM. Tris 20mM. 各点6箇の側頭骨の平均。図2参照。

図5 カルシウム濃度の ATPase 活性度への影響

温度 37°C. pH7.5. ATP 2.5mM. Na 25mM. K 140mM. Mg 2.5mM. Tris 20mM. 各点は6箇の側頭骨の平均。図2参照。

4) 温度および pH の影響

図6によれば低温、高温両者ともに膜 ATPase の活性低下をきたすが、Ouabainで影響されない成分は 42°C まで活性が温度上昇と共に上る。酵素的 ATP 水解全体としての活性は 37°C で最高を示す。

図7によれば、pH 7.5 からいずれの方向にずれても、膜 ATPase の活性は低下し、それに反して Ouabain

に影響されない成分は pH の変化にも余り影響をうけない。

5) 種々な阻害剤の影響

表1によれば、今回の測定条件下においては、2, 4-Dinitrophenol (DNP) および Oligomycin は ATP 水解系にほとんど影響がない。シアナイドは影響少ないのに反してフルオリドは相当に ATP 水解系を阻害する。

図6 温度の ATPase 活性度への影響

pH 7.5 ATP 2.5mM. Na 25mM. K 140mM. Mg 2.5mM. Tris 20mM. 各点は6箇の側頭骨の平均値。図2参照。

図7 pH の ATPase 活性度への影響

温度 37°C. ATP 2.5mM. Na 25mM. K 140mM. Mg. 2.5mM Tris 20mM. 各点は6箇の側頭骨の平均値。図2参照。

表1 種々な阻害剤の ATPase 活性度への影響

INHIBITORS.	DNP 0.1mM	Oligomycin 17/ml	Cyanide 10mM	Fluoride 10mM
1. INHIBITOR absent	3.8	3.5	3.3	4.0
2. INHIBITOR present	3.9	3.6	3.4	2.8
3. Difference. (1.~2.)	0.1	0.1	0.1	1.2

ACTIVITY Pmicro M/mg dry wt./hr.

温度 37°C. pH 7.5. Na 25mM. K 140mM. Mg 2.5mM. Tris 20mM. 各測定値は4箇の側頭骨を用い、Apex と第4廻転、第3廻転、第2廻転の平均値を示す。

図8 膜迷路における活性度分布

温度 37°C. pH 7.5. Na 25mM. K 140mM. Mg. 2.5mM. Tris 20mM.

縦線は標準偏差を示す。各点は12箇の側頭骨の平均値。Av. は Apex と第4廻転、第3廻転および第2廻転の平均値。Ap. は Apex, 4th. T. は第4廻転, 3rd T. は第3廻転, 2nd T. は第2廻転, 1st T. は第1廻転, Mac. utr. は Macula utriculi, Amp. は Ampulla semicircularis, Wall utr. は Utricle の壁を指す。

6) 蝸牛廻転別および膜迷路の他の部分における酵素活性

図8は膜迷路の種々な場所における酵素活性の分布を示す。ナトリウムおよびカリウムの濃度は内リンパ液のそれに相当する。膜 ATPase に関する限り、蝸牛廻転別の活性度分布は廻転に従った順序の分布は示さない。ただし、酵素的 ATP 水解系全体としての活性は第1廻転から Apex に行くに従って上昇する。前庭末梢系の活性度も相当に高い。

7) 血管条のみの酵素活性

以上の結果はいずれも血管系と螺旋靱帯を共にした組織から算出された。第1、第2廻転は別とし血管系を螺旋靱帯から分離することは困難であり、たとえ分離できても組織片が小さすぎて重量が測定不可能になる。そこでモルモット 15 匹 30 耳を使用し、第2廻転のみににおいて、血管条と螺旋靱帯との活性を別箇に測定した。それによれば、血管系の ATP 水解系全体の活性は 9.1 であり、その内、膜 ATPase が 2.8、Ouabain に影響を受けぬ成分が 6.3 である。また、螺旋靱帯の活性度は ATPase 水解系全体として 1.7、その内、膜 ATPase が 0.1、Ouabain に影響されぬ成分が 1.6 である。このように、少なくとも第2廻転においては、血管条の活性は螺旋靱帯の活性に比して極めて高い。換言すれば現在の実験条件では大部分の活性は血管条に由来し約 1/5 見当の活性が螺旋靱帯より由来するものと思われる。

4. 検 討

1) 膜迷路における電解質の能動輸送について

内耳液の分泌および吸収に関する知識は現在完全なものではないが、大きく分けて、膜迷路には3つの組合せが恐らく能動輸送に関連するのではないと思われる。1つは血管条と螺旋靱帯（別箇に、あるいは共に）、ライスネル氏膜、あるいは以上の組合せ等である。

Guild²⁷⁾の行った古典の実験以来、血管条は内リンパ分泌の観点から研究対象として取りあげられて来た。種々の組織化学的染色法によれば (Vosteen,¹⁰⁾、血管条の反応は相当高度の物質代謝を反映するかのようである。Rauch 他¹¹⁾によれば放射性カリウムを使用し、実験では血管条には吸収作用が存在するという。Choo 他^{28) 29)}の結果では、放射性カリウム、ナトリウムを用いた実験において、相当に高度な分泌作用を認めたという。

Engström 他³⁰⁾、Smith³¹⁾ および Iurato³²⁾等の電子顕微鏡の所見によれば、血管条には液体の分泌ないし

は吸収を裏付けする形態学的根拠があるという。

次に螺旋靱帯の研究結果に移れば、Saxén^{33) 34)} および Borghesan³⁵⁾ は特に Outer Sulcus が内リンパ循環に密接な関連をもつという。Butler, 他³⁶⁾は Spiral Prominence に特殊な陰電負荷状態を観察し、内リンパ循環との関連を討論した。

最後にライスネル氏膜はその透過性を主題として研究が進められてきた。Rauch, 他¹¹⁾によれば、放射性のカリウムはライスネル氏膜を通して濃度差に打勝って、放射性ナトリウムの約5倍以上の速度で移動するという。又 Chou¹²⁾の行った酸素消費量の測定によれば、ライスネル氏膜の消費量は血管条に比すべく、しかも腎皮質、脳皮質よりは高いという。Lawrence, 他³⁷⁾によると、ライスネル氏膜もまた、電子顕微鏡の所見から解釈して撰択的な通過をつかさどる組織であるという。

以上のごとく、ごく最近の論文を引用するだけで議論はますます発展して、いずれがいずれとも判定し難くなつて来る。現在までのところ、血管条、螺旋靱帯、それからライスネル氏膜のいずれも能動輸送の立役者たりうる種々の条件をそなえているかのようと思われる。

今回の実験は能動輸送の所在についてはなんの検討もできない。すなわち、技術的問題（主に重量測定）からライスネル氏膜が測定に含まれていない。また、血管条と螺旋靱帯の膜を通して、果してどちらの方向に能動輸送が働くかについても討論できない。

今回の報告は、生化学的に能動輸送に密接な関係を有すると思われる酵素の存在を証明したにすぎない。

他の報告例と比較し、血管条と螺旋靱帯の膜 ATPase の活性は相当に高い。

実験状態が異なる報告例が多く、正確な比較はできないが、大体腎皮質の約 1/2 の活性を有する。腎皮質のデータは Whittam, 他³⁷⁾による。猫の種々な組織において試みられた膜 ATPase 活性度による分類法によれば (Bonting, 他²⁰⁾、血管条と螺旋靱帯の活性度は、choroid plexus, ciliary body, および胃粘膜と比肩する。

2) 血管条および螺旋靱帯における

膜 ATPase について

今回の報告で、血管条と螺旋靱帯に存在を証明された膜 ATPase は他の動物の種々な組織に証明されたものと性質を共にする点が多い。すなわち、陽イオンの必要性 (Skou¹⁶⁾、Post, 他¹⁸⁾ および Dunham, 他¹⁹⁾), Ouabain に対する感受性 (Skou¹⁶⁾ および Dunham¹⁹⁾), カルシウムの阻害 (Skou¹⁶⁾), などである。

生化学的に検討を進めた場合、血管条と螺旋靱帯における膜 ATPase は、以上の諸条件を満たすことから、カリウムおよびナトリウムの能動輸送に密接に関連していることと思われる。Oligomycin と DNP は酸化的リン酸代謝 (oxidative phosphorylation) の阻害剤であるが、両者ともに今回の実験条件ではほとんど影響がない。Oligomycin はまた一方、極めて低濃度 (1 microgram/1.0ml) で撰択的にミトコンドリアの ATPase を阻害するという (Huijing 他³⁸⁾, Többsis 他³⁹⁾, Van Groningen 他⁴⁰⁾。今回の報告で、Oligomycin は 1 microgram/1.0ml で使用し、しかも ATPase に影響がみられなかった。このことは今回の報告の ATPase の活性はミトコンドリア以外に由来することを示すものであるといえる。Cyanide はチトクローム a_3 の阻害剤であるが、これはまたアルカリフォスファターゼの阻害剤としても知られる。Cyanide もまた今回の報告では影響がない。

Fluoride は酸性フォスファターゼの阻害剤であり今回の報告では阻害を認めた。このことはいわゆる non-specific な phosphomonoesterase の存在を暗示するもので、この点に関しては稿を更めて検討がなされる (飯沼⁴¹⁾。

Ouabain に影響されない ATPase の機能的意義は現在ほとんど知られていない。

膜 ATPase についての更に詳しい生化学的な検討は、Hokin 他⁴²⁾, Judah 他⁴³⁾, Skou⁴⁴⁾, Csáky⁴⁵⁾ の総論がある。

また Ouabain に関しては Repke⁴⁶⁾ が最も良い。眼科領域において緑内障との関係を検討した論文はより臨床的である (Simon 他⁴⁷⁾ および⁴⁸⁾。

3) 蝸牛各廻転別酵素活性度について

Meyer zum Gottesberge 他⁴⁹⁾ によれば、蝸牛各廻転別に血管条の物質代謝は明らかに差を示すという。例えば、酸素消費量は第 1 廻転から Apex に行くにつれ減少し、これに反してライスネル氏膜の透過性は増加する。

今回の ATP の酵素的加水分解系の研究によれば、加水分解全体としての活性度は第 1 廻転から Apex に行くに従って増加を示す。

ところが、膜 ATPase の活性は第 3 廻転が低いため今のような配列は認められない。このように第 3 廻転の活性度が低いことに関する解釈は困難である。

第 2 廻転において明らかにされたごとくにもしも、血

管条と螺旋靱帯が別箇に測定されると、血管条の活性の方がはるかに高い。このことから Midmodiolar Section の顕微鏡標本 6 つを用いて、血管条と螺旋靱帯の面積比を算出し、両者の比重はほぼ等しいと仮定すると、この面積比はすなわち重量比になる。実際は恐らく螺旋靱帯の比重の方が高いと思われる。

いま、血管条と螺旋靱帯、これと血管条との重量比をとると、第 1 廻転から第 4 廻転の順に、9.3, 8.6, 7.6, 4.9 となる。この比で膜 ATPase 活性度を各々の部分について補正しても第 3 廻転の低活性は補正されなかった。すなわち、廻転の順に活性度は並ばなかった。

5. ま と め

正常成熟モルモット血管条および螺旋靱帯における酵素的 ATP 加水分解系の活性測定が行なわれた。1 価陽イオン、すなわちカリウムとナトリウムの能動輸送に密接な関係をする膜 ATPase の存在が証明された。この膜 ATPase は、神経膜、赤血球膜に存在するものとほぼ同じ性質を有することが示された。また、血管条と螺旋靱帯の膜 ATPase 活性は、他の分泌器官に比し高度であることが判明した。

蝸牛廻転別、および前庭膜迷路の活性も図示された。

文 献

- 1) Smith et al.: The electrolytes of the labyrinthine fluids, Laryngoscope, 64; 141, 1954.
- 2) Citron et al.: Formation, circulation and chemical properties of the labyrinthine fluids. Brit. Med. Bull., 12; 101, 1956.
- 3) Rauch et al.: Aspects chimiques de l'endolymphe et de la perilymphe. Pract. oto-laryng., 20; 287, 1960.
- 4) 三宅: 内耳液の研究, 日耳鼻; 63, 1, 1960.
- 5) Johnstone et al.: Sodium and potassium in vertebrate cochlear endolymph as determined by flame microspectrophotometry., Comp. Biochem. Physiol., 9; 335, 1963.
- 6) Murray et al.: The composition of the endolymph, perilymph and other body fluids of elasmobranchs, Comp. Biochem. Physiol., 2; 65, 1961.
- 7) Eger: Ionic composition of the cranial and labyrinthine fluids and saccular D.C. potentials in fish., Comp. Biochem. Physiol., 11; 131, 1964.
- 8) Ussing: Transport of ions across cellular membranes. Physiol. Rev., 29; 127, 1949.
- 9) Lawrence: Hearing, Ann. Rev. Physiol., 23; 485, 1961.
- 10) Vosteen: Neue Aspekte zur Biologie und Patholo-

- gie des Innenohres., Arch. Ohren-usw.-Heilk., 178; 1, 1961. 11) *Rauch et al.*: Arguments for the permeability of Reissner's membrane., Laryngoscope, 73; 135, 1963. 12) *Chou*: Respiration of Reissner's membrane of the guinea pig, J. Laryng., 77; 374, 1963. 13) *Caldwell*: The utilization of phosphate bond energy for sodium extrusion from giant axon., J. Physiol., 137; 12P, 1957. 14) *Whittam*: Potassium movements and phosphate metabolism in red cells., J. Physiol., 137; 13P, 1957. 15) *Hoffman*: The link between metabolism and the active transport of Na in human red cell ghosts. Fed. Proc., 19; 127, 1960. 16) *Skou*: The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from peripheral nerves. Biochim. Biophys. Acta, 23; 394, 1957. 17) *Schatzmann*: Hertzglycoside als Hemmstoffe für den aktiven Kalium und Natriumtransport durch Erythrocytemembran. Helv. Physiol. Acta, 11; 354, 1953. 18) *Post et al.*: Membrane adenosine triphosphatase as a participant in the active transport of sodium and potassium in the human erythrocyte. J. Biol. Chem., 235; 1796, 1960. 19) *Dunham et al.*: Adenosine triphosphatase activity and the active transport of alkaline ions. J. Physiol., 156; 274, 1961. 20) *Bonting et al.*: Studies on sodium-potassium activated adenosine triphosphatase. 1. Quantitative distribution in several tissues of the cat. Arch. Biochem. Biophys., 95; 416, 1961. 21) *Iinuma*: Evaluation of adenosine triphosphatase activity in the stria vascularis and spiral ligament of the normal guinea pig. Read at the 9th Ann. Meeting. The committee for Research in Otolaryngol., Am. Ac. Ophthal. Otolaryng., 1965. 22) *Iinuma et al.*: Possible effects of various ototoxic drugs upon the ATP-hydrolyzing system in the stria vascularis and spiral ligament of the guinea pig. In preparation. 23) *Fiske et al.*: The colorimetric determination of phosphorus. J. Biol. Chem., 66; 375, 1925. 24) *Lowry*: The quantitative histochemistry of the brain. J. Histochem. Cytochem., 1; 420, 1953. 25) *Solomon*: Information and error. Basic Books Inc., New York, 1959. 26) *Weiner*: Biostatistics. New York Univ., 1965. 27) *Guild*: The circulation of the endolymph. Am. J. Anat., 39; 57, 1927. 28) *Choo et al.*: Formation and flow of cochlear fluids. 1. Studies with radioactive sodium. Ann. Otol., 73; 92, 1964. 29) *Choo et al.*: Formation and flow of cochlear fluids. 2. Studies with radioactive potassium. Ann. Otol., 74; 140, 1965. 30) *Engström et al.*: Feinstruktur der Stria vascularis. Pract. oto-laryng., 17; 69, 1955. 31) *Smith*: Structure of the stria vascularis and the spiral prominence. Ann. Otol., 66; 521, 1957. 32) *Iurato*: Submicroscopic structure of the membranous labyrinth. Z. Zellforsch., 52; 105, 1960. 33) *Saxén*: Some observations on the physiology of endolymph stream. Acta otolaryng., 74; 87, 1948. 34) *Saxén*: Histological studies of endolymph secretion and resorption in the inner ear. Acta otolaryng., 40; 23, 1951. 35) *Borghesan*: Modality of the cochlear humoral circulation. Laryngoscope, 67; 1266, 1957. 36) *Butler et al.*: Cochlear functions under metabolic impairment. Ann. Otol., 71; 648, 1962. 37) *Whittam et al.*: The sensitivity of a kidney ATPase to ouabain and to sodium and potassium. Biochim. Biophys. Acta, 51; 622, 1961. 38) *Huijing et al.*: The use of oligomycin as an inhibitor of oxidative phosphorylation. J. Biochem. (Tokyo), 49; 493, 1961. 39) *Jöbsis et al.*: Inhibition of a Na and K-stimulated adenosine triphosphatase by oligomycin. Biochim. Biophys. Acta, 73; 346, 1963. 40) *Van Groningen et al.*: The effect of oligomycin on the (Na+K)-activated magnesium-ATPase of brain microsome and erythrocyte membrane. Biochim. Biophys. Acta, 73; 527, 1963. 41) *Iinuma*: The evaluation of various phosphomonoesterases in the stria vascularis and spiral ligament of the guinea pig. In preparation. 42) *Hokin et al.*: Biological transport. Ann. Rev. Biochem., 32; 553, 1963. 43) *Judah et al.*: The biochemistry of sodium transport. Biol. Rev., 39; 160, 1964. 44) *Skou*: Enzymatic basis for active transport of Na and K across cell membrane. Physiol. Rev., 45; 596, 1965. 45) *Csaky*: Transport through biological membranes. Ann. Rev. Physiol.,

27; 415, 1965. 46) *Repke*: Über den biochemischen Wirkungsmodus von Digitalis. Klin. Wochenschr., 42; 157, 1964. 47) *Simon et al.*: Studies on sodium-potassium-activated adenosine triphosphatase. 2. Formation of aqueous humor. Exp. Eye Res., 1; 253, 1962. 48) *Simon et al.*: Possible usefulness of cardiac glycosides in treatment of glaucoma. Arch. Ophthalm., 68; 227, 1962. 49) *Meyer zum Gottesberge et al.*: Unterschiede im Metabolism der Schneckenwindungen. Acta Otolaryng., 59; 116, 1965.

この実験の予備実験は東京大学医学部生化学

教室および耳鼻咽喉科学教室においてなされた。島園順雄教授、切替一郎教授、石川晋次講師、香川靖雄博士の御指導に感謝する。

本実験はニューヨーク大学医学部耳鼻咽喉科学教室において、著者がレジデント在任中になされた。J.F. Daly 教授、水越治客員教授、Mr. R. Gore, A.M. Morrison 学士の御協力に感謝の意を表する。

(原稿到着＝昭和41.1.14日一急載)

欧米製新型補聴器

Bonochord

英国ボノコード

英国の代表的メーカーとして世に問うボノコード社B05型メガネ式補聴器は最高の性能とスマートさを誇り軽くて耐久性に富んでいるので、最も多くの人々に使用されております。

Ardente

英国アーデント

此の耳掛式は世界最小の器械で高性能の人目につかない理想的な補聴器です。重さ約5.5gで4石のトランジスターを有し、特に御婦人の場合は髪の中に入りますので、外部より全く判りません。

Zenith

米国ゼニス

米国のゼニス補聴器は世界中何処でも使われており、世界最大の量産を誇るメーカーとして、知られております。特にメガネ式は、その性能の素晴らしさと共に、スタイルは、普通のメガネと同様になりました。(Z-20)

Omniton

独逸オムニトン

ドイツの技術を結集した最古の歴史を持つボス・エレクトロニク社の補聴器として、その高性能と特に表面摺音からメガネ式と同様に完全に解放された、特徴を備えております。

英国ボノコード・アーデント・米国ゼニス・独逸オムニトン・補聴器輸入発売元

欧米 国産各種補聴器販売
補聴器専門店

有限
会社

吉田勝恵商店

東京都中央区日本橋堀留町2ノ8 TEL (661) 4370 (662) 2988
大阪支店 大阪市西区靱本町2ノ71 TEL (441) 3023
岡山支店 岡山市岡大学町195 TEL (22) 9208