Thapsigargin および Ryanodine の外リンパ灌流 による蝸牛内電気現象への作用

川崎医科大学耳鼻咽喉科学教室（主任：折田洋造教授）

武 浩太郎

EFFECTS OF THAPSIGARGIN AND RYANODINE ON COCHLEAR ELECTRICAL POTENTIALS IN GUINEA PIGS EXAMINED BY THE PERILYMPHATIC PERFUSION METHOD

KOTARO TAKE, M.D.

Department of Otorhinolaryngology, Kawasaki Medical School, Kurashiki

The effect of thapsigargin and ryanodine on cochlear microphonics (CM) and the endocochlear DC potential (EP) in the guinea pig was investigated by the perilymphatic perfusion method. These chemicals were considered to be pharmacological tools to reduce the amount of Ca^{2+} stored within the endoplasmic reticulum (ER), although the sites of their action were different; thapsigargin inhibits Ca^{2+} uptake of the ER, while ryanodine locks Ca^{2+} channels of the ER in an open state.

Both CM and EP were measured with a glass microelectrode inserted into scala media. The amplitude of CM started to decrease soon after the beginning of thapsigargin perfusion and fell to 35% of the initial value in 30 minutes. Ryanodine, like thapsigargin, reduced the CM amplitude depending on the concentration between $1 \times 10^{-6} \sim 3 \times 10^{-5} \text{M}$. These results suggest that Ca^{2+} ions which regulate the ciliar movements of outer hair cells are due not only to entry from extracellular fluid but to their release from the intracellular storage sites, probably through the mechanisms of Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release.

Key words: thapsigargin, ryanodine, cochlear microphonics
endocochlear DC potential, outer hair cell

A 99-1641-23020

はじめに

聴覚の生理的機能は外部からの音刺激すなわち音エネルギーを中耳伝音系によって機械的エネルギーに変換し、内耳によって電氣的エネルギーに変換する機械電気変換機構 (mechano-electrical transduction) により説明できる。外部から伝えられた音刺激は内耳で cochlear microphonics (CM) と summing potential (SP) という受容器電位に変換される。内耳に存在する endocochlear DC potential (EP), intracellular negative potential (INP) の2つの静止電位は受容器電位の発生にあたり、そのエネルギー源と例えることができる¹⁾。蝸牛の外有毛細胞 (OHC) の活動の過程において Ca^{2+} が重要な役割を果たしている。外有毛細胞は

運動能を有しており膜電位が脱分極することにより収縮し、過分極で伸展する。外有毛細胞は機械的刺激により感覚毛が屈曲すると機械電気変換チャネルが開口し K^{+} が細胞内へ流入する。 K^{+} の流入により細胞は脱分極し収縮が生じる。同時に Ca チャネルが開口し Ca^{2+} が細胞内へ流入する。 Ca^{2+} の流入による細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) の増加と膜電位の脱分極は Ca^{2+} 活性化 K^{+} チャネルを開口させ、 K^{+} が細胞外へ流出し、細胞は過分極し、元の膜電位に戻り元の長さに戻る。細胞内の増加した Ca^{2+} は $\text{Na}^{+}-\text{Ca}^{2+}$ 交換輸送により細胞内に排出されたり小胞体へ取り込まれて $[\text{Ca}^{2+}]_i$ も元の状態に戻る。また K^{+} も $\text{Na}^{+}-\text{K}^{+}$ 交換輸送により調節される。

CM は有毛細胞の受容器電位であり有毛細胞機能の指標となる^{12,13)}。そして、その発生には上述した外有毛細胞の運動能が重要となる。一般に細胞内 Ca^{2+} 濃度は細胞外より $10^{-3} \sim 10^{-4}$ 倍低いオーダーで維持されており、有毛細胞においても外リンパの Ca^{2+} 濃度は $1 \sim 2 \text{ mM}$ で、内リンパは $10 \sim 30 \mu\text{M}$ であり、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ を一定の低い値に維持する機構が必要であり小胞体の Ca^{2+} 放出機構も重要な役割を果たしていると推測される。この微量な Ca^{2+} は有毛細胞の機械電気変換に必須であり、細胞外からの Ca^{2+} 流入によるものとともに、細胞内 Ca^{2+} 貯蔵部位、すなわち小胞体からの放出による細胞質内への動員の 2 つの経路により調節される外有毛細胞の Ca^{2+} 動員経路には、まず、細胞外液からの流入があることは当然としてもこの流入量だけで十分であるのか、あるいは流入した Ca^{2+} によって細胞内 Ca^{2+} 貯蔵部位である小胞体からの Ca^{2+} 動員 (Ca^{2+} induced Ca^{2+} release: CICR, inositol trisphosphate (IP_3) induced Ca^{2+} release: IICR) の機序が存在しているか否かはいまだ明らかではない。本研究では、外有毛細胞の細胞内 Ca^{2+} 貯蔵部位である小胞体からの Ca^{2+} 動員の機序を CM を指標として、薬理的に検討した。使用した薬剤は小胞体 Ca^{2+} -ATPase 選択的阻害剤で小胞体への Ca^{2+} の再吸収を阻害する作用を持つ thapsigargin、および小胞体の CICR チャンネルに特異的に高い親和性で結合し、このチャンネルを開口状態に固定する作用を持つ ryanodine の 2 種類で各々を外リンパ灌流しながら CM、EP への影響を計測し検討した。

実験方法

実験動物は体重 300g 前後のブライエル反射正常のハートレー系モルモットを使用した。pentobarbital sodium 30mg/kg を腹腔内投与後、気管切開し、suxamethonium chloride の筋注にて不動化した。人工呼吸器にて呼吸管理、自家製の保温器にて体温管理を行った。顕微鏡下に、腹側経路にて中耳骨胞を露出、開放して蝸牛を露出し、蝸牛基底回転中央階に電位測定用の小孔を開け、蝸牛基底回転鼓室階に灌流用の注入口を開き前庭階に流出口を開いた。基底回転中央階の小孔に 3M-KCl を充填した硝子毛細管電極をマイクロマニピレーターを用いて刺入し EP、CM を測定した。外リンパ灌流は灌流用ピペットを基底回転鼓室階の注入口に刺入し人工外リンパ液を外リンパ灌流し、EP、CM に影響のないことを確認したのち、thap-

sigargin または、ryanodine を溶解した人工外リンパ液を $10 \mu\text{l}/\text{min}$ の速度で外リンパ灌流し、EP、CM を測定した。電極は高入力抵抗増幅器 (AVZ-8, 日本光電) に接続し EP はペンレコーダー (R-102, 理化電気) に、CM はオシロスコープ (VC-10, 日本光電) に、それぞれ表示した。CM を記録するための音刺激は 2000Hz、刺激音圧は 80dB、delay time 2.0msec, rise and fall time 10msec, plateau time 50msec の tone burst とし、外部スピーカーからシリコンチューブを通じて外耳道経由で刺激した。対照となる人工外リンパ液は、130mM NaCl, 5mM KCl, 1mM CaCl_2 , 2mM MgCl_2 , 0.1mM NaH_2PO_4 , 10mM NaHCO_3 , 5mM glucose, 10mM HEPES (N-2-Hydroxyethylpiperidine-N'-2-ethanesulfonicacid), pH7.4 に調整した。thapsigargin の溶媒は dimethyl sulfoxide (DMSO)、ryanodine の溶媒は methanol を使用し人工外リンパ液にて希釈して使用した。thapsigargin の濃度は $1 \times 10^{-5} \text{ M}$, $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ryanodine の濃度は $1 \times 10^{-6} \text{ M}$, $1 \times 10^{-5} \text{ M}$, $3 \times 10^{-5} \text{ M}$ とした。また、溶媒として使用した DMSO、および methanol の濃度は 0.4% 以下であり、外リンパ灌流により同濃度の各溶媒が CM、EP に対して影響を及ぼさないことを確認した。

結 果

1. thapsigargin の作用

硝子毛細管微小電極を蝸牛基底回転中央階に刺入し、血管条経路にてその先端が内リンパ腔に達すると EP が記録される。EP は +75mV 以上を示した試料のみを採用し、ここで音刺激に反応して CM が測定されることを確認した。人工外リンパ液を鼓室階より前庭階へ灌流し、約 10 分間 EP、CM に変化のないことを確認した後、灌流ピペットを抜去し thapsigargin の試薬を含む人工外リンパ液を充滿させた別のピペットに交換し灌流を開始した。以下の図において time 0 は試薬を含む液の灌流を開始した時間を示している。また、CM は外リンパ灌流前の振幅を 100% とし以後の CM 振幅を % 表示とした。CM は $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ では 30 分間経過後に CM は認め得るべき変化を示さなかった ($n=4$)。 $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ thapsigargin を外リンパ灌流したときの実際の CM を示す (図 1)。thapsigargin の濃度を $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ に高めたとき、CM は 10 分後より減少し 20 分後に $75.6 \pm 16.3\%$ (mean $\pm$ SD)、30 分後には $33.9 \pm 15.5\%$ にまで減少した ($n=6$)。 $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ と $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ 群に有意差を認めた (図 2)。 $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ($n=4$)

および $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ($n=6$) の濃度の thapsigargin で外リンパ灌流を行う30分間 EP の変化を観察したが変化は認められなかった。さらに、thapsigargin の濃度を $1 \times 10^{-3} \text{M}$ に高め、外リンパ灌流を試みた結果、CM の

急速で顕著な減少が認められたが溶媒である DMSO の濃度が高くなりすぎることや、溶液が白濁することから、thapsigargin の作用以外の条件が加わっていると考え、これを除外した。

2. ryanodine の作用

ryanodine の濃度を $1 \times 10^{-6} \text{M}$, $1 \times 10^{-5} \text{M}$, $3 \times 10^{-5} \text{M}$ の、それぞれ3段階とし、30分間の外リンパ灌流を行った。ryanodine を外リンパ灌流したときの実際の CM を示す(図3, 4, 5)。CM は、 $1 \times 10^{-6} \text{M}$ ryanodine 溶液では30分間の外リンパ灌流後も変化を示さないか、せいぜい、5%以内の変化に過ぎなかった($n=4$)。 $1 \times 10^{-5} \text{M}$ ryanodine 溶液を灌流するときでは時間の経過と共に変化を示し、10分後に $94.1 \pm 4.3\%$ (mean $\pm$ SD), 20分後に $80.5 \pm 10.3\%$, 30分後に $73.4 \pm 15.8\%$ にまで減少した($n=4$)。さらに、高濃度の $3 \times 10^{-5} \text{M}$ ryanodine 溶液を灌流すると10分後に $93.5 \pm 7.5\%$, 20分後に $73.2 \pm 5.3\%$, 30分後に $61.3 \pm 13.5\%$ と減少した($n=4$)。比較すると $1 \times 10^{-6} \text{M}$ から $3 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度範囲においては CM の減少に濃度依存性の有意差が認められた(図6)。この濃度範囲でも EP には有意な変化は認められなかった。

図1 $1 \times 10^{-4} \text{M}$ thapsigargin の外リンパ灌流時の CM の変化の1例
時間の経過と共に CM 振幅の減少を認める。

図2 2濃度の thapsigargin の外リンパ灌流時の CM 振幅の変化
CM は外リンパ灌流前の振幅を100%とし以後の振幅を%表示とした。
—○— $1 \times 10^{-5} \text{M}$ thapsigargin
—□— $1 \times 10^{-4} \text{M}$ thapsigargin

図3 $1 \times 10^{-6} \text{M}$ ryanodine の外リンパ灌流時の CM の変化の 1 例
写真内、上段は刺激波 下段は CM。
外リンパ灌流開始から30分を経過しても CM は変化を認めない。

考 察

本実験においては thapsigargin, ryanodine を外リンパ腔に灌流するときいずれも CM の振幅を著明に減少することを明らかにした。細胞内の Ca^{2+} 放出チャネルには 2 種類あり、それぞれ Ca^{2+} , IP_3 という別の活性化因子に反応し、CICR, IICR と呼ばれるが本実験で使用した 2 種類の薬剤は、その作用機序において thapsigargin は IP_3 感受性、 IP_3 非感受性の両方の小胞体に作用し、ryanodine は、CICR 感受性の小胞体のみ特異的に作用するという点において若干の差異はあるものの小胞体からの Ca^{2+} 放出を促進し、細胞質内の Ca^{2+} 濃度を上昇させるといわれている。CM は外有毛細胞の活動電位の指標となり、外有毛細胞の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇はその運動性を抑制もしくは障害すると考えられる。その原因としては外有毛細胞の運動には局所の膜電位が重要であることが種々の研究により報告されているが外有毛細胞の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇が、膜電位に影響を及ぼし、その運動性を低下させると考えられる。

thapsigargin の外リンパ灌流では、 $1 \times 10^{-5} \text{M}$ では CM に変化が認められず $1 \times 10^{-4} \text{M}$ で CM の減少が顕著であった。外リンパ灌流の場合灌流された薬剤の濃度は外リンパ液によって、100倍前後の濃度に希釈されて中央階の各組織に到達すると考えられている

図4 $1 \times 10^{-5} \text{M}$ ryanodine の外リンパ灌流時の CM の変化の 1 例
写真内、上段は刺激波 下段は CM。
外リンパ灌流開始から時間の経過と共に CM 振幅の減少を認める。

図5 $3 \times 10^{-5} \text{M}$ ryanodine の外リンパ灌流時の CM の変化の 1 例
写真内、上段は刺激波 下段は CM。
外リンパ灌流開始から時間の経過と共に CM 振幅の減少を認める。

が^{9)~11)}、その濃度付近で thapsigargin の作用が強いと考えられた。さらに高濃度での外リンパ灌流により濃度依存性に thapsigargin の作用が増強するのか、ある

図6 3濃度の ryanodine の外リンパ灌流時の CM 振幅の変化

—□— 1 × 10⁻⁶ M ryanodine —○— 1 × 10⁻⁵ M ryanodine
—△— 3 × 10⁻⁵ M ryanodine

程度の濃度になると逆に抑制されて二相性の作用発現がみられるのかは前述した理由により残念ながら検討できなかった。骨格筋においては細胞質の Ca^{2+} 濃度が数 μM を超えると CICR はかえって抑制作用を受け IICR も同様に $3 \times 10^{-7} \text{M}$ までの濃度では Ca^{2+} 放出が促進され、それ以上の濃度では抑制されるという二相性の Ca^{2+} 依存性を示すことなどが報告されており¹⁰⁾、外有毛細胞の Ca^{2+} の細胞内動員の機構を考えるうえで非常に興味深いことである。thapsigargin はその性質として形質膜ではなく特異的に小胞体にある Ca^{2+} -ATPase ポンプを抑制する作用がある¹¹⁾¹²⁾。しかしながら、 Ca^{2+} イオノフォアとして作用しない¹³⁾ Ca^{2+} 流出にも影響を及ぼさない¹⁴⁾。またプロテインキナーゼ C を活性化しない¹³⁾¹⁵⁾。従って thapsigargin 存在下では小胞体からリークした Ca^{2+} が小胞体に再取り込みされないために $[\text{Ca}^{2+}]_i$ は徐々に上昇すると期待される。本実験において認められた CM の低下は thapsigargin の外リンパ灌流により CICR, IICR の機構を介して、小胞体から細胞質内への Ca^{2+} の動員が起こった可能性が強いと考えられるが、それとは別に細胞外からの Ca^{2+} の流入があり thapsigargin の作用により小胞体への取り込みが遮断されるため $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が上昇しているという可能性も考えられた。

ryanodine の外リンパ灌流による CM の低下も同

様に外有毛細胞の細胞質 Ca^{2+} 濃度の上昇によって引き起こされたものと考えられる。1 × 10⁻⁶ M から 3 × 10⁻⁵ M までの ryanodine の濃度範囲では、CM は濃度依存性に減少した。ryanodine は小胞体の CICR チャネルを開放固定する作用がある¹⁶⁾。ryanodine の灌流によっても CM が低下したという結果と、thapsigargin の灌流の結果とをあわせて考えると細胞外からの Ca^{2+} 動員だけでなく小胞体からの動員が有毛細胞機能に影響を与えていることが示唆された。ryanodine はその濃度により二相性の効果発現を呈するといわれているが今回の濃度範囲では濃度依存性に効果が認められた。CM が低下する原因として前述した有毛細胞機能のうち Ca^{2+} 貯蔵部位への再取り込みが両薬剤の作用により障害され $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が上昇した状態が持続し K^+ の細胞外への流出が促進され、膜電位が過分極し細胞が伸展してしまい反応の低下が起こった可能性と、逆に細胞内の陽イオンの増加により脱分極が起こった可能性が考えられる。しかしながら本実験だけでは膜電位を決定することは困難である。

また、外有毛細胞には速い収縮だけでなく遅い収縮も存在する。 Ca^{2+} 依存性の遅い収縮が in vitro において様々な条件下で観察されてきた¹⁷⁾¹⁸⁾。遅い収縮は生理的条件下よりも強大音暴露時における蝸牛保護作用として働くことが一般に知られているが、遅い収縮を

起こす機構の一つにF-actin やカルモジュリンの関与があげられる¹⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾。カルモジュリンの拮抗薬が Ca^{2+} 依存性の遅い収縮を抑制するといわれており筋細胞に類似した収縮機構が存在するといわれている²⁰⁾。そして外有毛細胞ではF-actin の存在する部位にほぼ一致して小胞体が存在することが報告されており小胞体からこれら収縮性蛋白への Ca^{2+} の供給が示唆されるとされている²¹⁾。 Ca^{2+} は外有毛細胞生理において最も重要なイオンであり生物活性のある分子である。細胞質 Ca^{2+} 濃度の急速な変化は細胞内の生化学的な経路や変換機構、運動能などの細胞の調節過程に影響を与える。thapsigargin により小胞体から放出された Ca^{2+} が収縮性蛋白を活性化させ外有毛細胞の剛性を亢進させ、その結果、外有毛細胞の刺激の感度を低下させ感覚の域値を上昇させた可能性も示唆された。今回使用した thapsigargin および、ryanodine の濃度範囲では EP の変化が全く出現しなかったことから CM の低下は両薬剤の作用による有毛細胞機能の低下により起こったものであり血管条機能の低下に引き続いて起こったものではないと考えられる。さらに高濃度の薬剤の外リンパ灌流を行えば EP の低下をきたす可能性はあると考えられる。本実験では薬剤の外リンパ灌流を開始してから CM の低下が認められるまでに10分以上を要し非常に緩やかな反応として捕らえられた。その原因として使用した薬剤の濃度やリンパ液への拡散、有毛細胞への薬剤の到達経路などが可能性としてあげられる。外リンパ灌流による薬剤の到達経路としては大きく二通りが考えられるが一つは鼓室階から投与された薬剤がラセン靱帯や蝸牛頂部の helicotrema から拡散により鼓室階側に移動し、一部は血行性に血管条やコルチ器に輸送されるという経路。もう一つは、有毛細胞の側底面は解剖学的にも鼓室階の外リンパ液に接しているため、その面から直接移動するという経路である。側底面が外リンパ液に接している外有毛細胞のほうが血管条の辺縁細胞より外リンパ灌流による薬剤の影響を受けやすいのではないかと推測される。

今回の CM は SP の変化を伴っておりその原因が懸念されるが実験中に灌流を on, off し SP の変化を観察したところ灌流により SP が出現し灌流を止めると消失し、一定の周波数刺激を与えているにもかかわらず SP の極性は一定しなかった。また、灌流用の流出口が小さすぎたときや流出口が一時的に詰まったときには正極性の SP が出現する傾向が認められた。他にも

灌流用ピペットの刺入方向の微妙な違いによっても SP の出現に変化が認められた。SP の変化が認められたときでも EP には変化が認められず、薬剤の全身的な作用や血管条への影響は考えにくく実験手技上のアーチファクトと考えられた。

結 語

1. 蝸牛有毛細胞における Ca^{2+} の影響、特に細胞内 Ca^{2+} 貯蔵部位である小胞体からの動員が有毛細胞機能に与える影響をみるために、小胞体 Ca^{2+} -ATPase 選択的阻害剤で小胞体への Ca^{2+} の再吸収を阻害する作用を持つ thapsigargin、および小胞体の CICR チャネルに特異的に高い親和性で結合し、このチャネルを開閉状態に固定する作用を持つ ryanodine の2種類の薬剤の外リンパ灌流を行い CM、EP の測定を行った。

2. $1 \times 10^{-4}\text{M}$ の thapsigargin の外リンパ灌流により CM の有意な低下が認められたが EP の変化は認められなかった。また、ryanodine でも、 $1 \times 10^{-5}\text{M}$ 、 $3 \times 10^{-5}\text{M}$ において濃度依存性に CM の有意な低下が認められたが EP の変化は認められなかった。

3. ryanodine および thapsigargin の外リンパ灌流によりみられた CM の低下の原因として両薬剤の作用により $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇が起こった結果、有毛細胞の膜電位に変化が起こり運動機能が障害された可能性や、遅い収縮が引き起こされた結果、有毛細胞の刺激の感度が低下し感覚域値の上昇が起こった可能性が考えられた。

4. 有毛細胞において、その運動機能や細胞活性の保持に細胞内 Ca^{2+} が重要な役割を果たしているが、それには細胞外からの動員だけでなく細胞内動員、すなわち小胞体からの動員も非常に重要な役割を果たしていると考えられた。

文 献

- 1) Davis H: A model for transducer action in the cochlea. Cold Spring Harbor Symp Quant Biol 30: 181-190, 1965.
- 2) von Békésy G: D-C resting potentials inside the cochlear partition. J Acoustic Soc Am 24: 72-76, 1952.
- 3) Tasaki I, Davis H, Eldredge OH: Exploration of cochlear potentials with a microelectrode. J Acoust Soc Am 26: 765-773, 1954.

- 4) Boscher SK, Warren RL: Very low calcium content of cochlear endolymph, extracellular fluid. *Nature* 273: 377-378, 1979.
 - 5) Tanaka Y, Asanuma A, Yanagisawa K: Effect of EDTA in the scala media on cochlear potential. *Proc Jap Acad* 55: 31-36, 1979.
 - 6) Sato Y: Effects of a calcium channel blocker and calcium chelating agent on cochlear electrical activity in the guinea pig. *Acta Otorhinolaryngol* 108: 76-82, 1989.
 - 7) 半田 徹: 重金属イオンの EP, CM に及ぼす効果—蝸牛におけるカルシウムイオンの役割の考察—. *日耳鼻* 94: 1227-1233, 1991.
 - 8) 吉弘 剛: Palmitoyl Carnitine の蝸牛電気現象に及ぼす作用. *川崎医学会誌* 19: 91-101, 1993.
 - 9) 河合晃充: 蝸牛内電気現象に対する K チャネル開口薬, Nicorandil の作用. *日耳鼻* 98: 942-950, 1995.
 - 10) 飯野正光: 細胞内 Ca^{2+} 放出チャネルファミリー. *実験医学* 10: 626-631, 1992.
 - 11) Thastrup O: Role of Ca^{2+} -ATPases in regulation of cellular Ca^{2+} signalling, as studied with the selective microsomal Ca^{2+} -ATPase inhibitor, thapsigargin. *Agents Actions* 29: 8-15, 1990.
 - 12) Thastrup O, Cullen PJ, Drobak BK, Hanley MR, Dawson AP: Thapsigargin, a tumor promoter, discharges intracellular Ca^{2+} stores by specific inhibition of the endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 2466-2470, 1990.
 - 13) Ohuchi K, Sugawara T, Watanabe M, Hirasawa N, Tsurufuji S, et al: Analysis of the stimulative effect of thapsigargin, a non-TPA-type tumor promoter, on arachidonic acid metabolism in rat peritoneal macrophages. *Br J Pharmacol* 94: 917-923, 1988.
 - 14) Takemura H, Thastrup O, Putney JW: Calcium efflux across the plasma membrane of rat parotid acinar cells is unaffected by receptor activation or by the microsomal calcium ATPase inhibitor, thapsigargin. *Cell Calcium* 11: 11-17, 1990.
 - 15) Thastrup O, Dawson AP, Sharff O, Foder B, Cullen BJ, et al: Thapsigargin, a novel molecular probe for studying intracellular calcium release and storage. *Agents Actions* 27: 17-23, 1989.
 - 16) Lai FA, Erickson HP, Rousseau E, Liu QY, Meissner G: Purification and reconstitution of the calcium release channel from skeletal muscle. *Nature* 331: 315-319, 1988.
 - 17) Flock A, Flock B, Ulfendahl M: Mechanisms of movement in outer hair cells and a possible structural basis. *Arch Otorhinolaryngol* 243: 83-90, 1960.
 - 18) Zenner HP: Motile responses in outer hair cells. *Hearing Res* 22: 83-90, 1986.
 - 19) Zenner HP: Cytoskeletal and muscle-like elements in cochlear hair cells. *Arch Otorhinolaryngol* 230: 81-92, 1981.
 - 20) Dulon D, Zajic G, Schacht J: Increasing intracellular free calcium induces circumferential contractions in isolated cochlear outer hair cells. *J Neurosci* 10: 1388-1397, 1990.
 - 21) 高坂知節: 蝸牛の微細構造と音受容機構. *Otol Jpn* 1 Suppl 2: 1-167, 1991.
-
- 稿を終えるにあたり、ご指導とご校閲を賜りました川崎医科大学耳鼻咽喉科学教室折田洋造教授、川崎医科大学、松村幹郎名誉教授（元第一生理学教室）に深く感謝いたします。
- なお本論文の要旨は、第5回日本耳科学会総会（東京、1995）において発表した。
-
- （1996年5月29日受稿 1996年7月17日受理）
- 別刷請求先 〒701-01 倉敷市松島577
川崎医科大学耳鼻咽喉科学教室 武 浩太郎

<p><u>A 99-1648-30581</u></p> <p>アレルギー性鼻炎患者における Anosmic zones の検討 肥後隆三郎・市村恵一・太田 康・石塚鉄男 (東大) 嶋崎雄一 (日本医療センター)</p> <p>1992年4月より1995年3月までの当科嗅覚外来受診者のうち、アレルギー性鼻炎を嗅覚障害の主因とした27例を検討した。T & T オルフアクトグラムにおいて8例に嗅素A, D, Eで検知・認知間の乖離が認められた。特定のニオイに対して嗅覚の減退がみられた点は、Douek の提唱したアレルギー性鼻炎における Anosmic zones に該当するものと思われる。呼吸性障害とは異なる要因による嗅覚障害の存在が示唆された。その原因として嗅上皮の病理学的変化に伴う嗅粘膜上粘液の異常、嗅神経細胞のニオイ分子に対する特異的応答の障害、また嗅神経細胞内のシグナル伝達系の異常などが考えられた。</p>	<p><u>A 99-1635-22092</u></p> <p>電気味覚検査の中耳術前検査としての有用性 八木沼裕司 (NTT 東北) 小林俊光 (長崎大) 斎 山美子・高坂知節 (東北大)</p> <p>中耳術前診断における電気味覚検査の有用性を調べるため、97名106耳について疾患別および術中所見と鼓索神経領域の電気味覚閾値を対比較した。慢性中耳炎では味覚閾値は正常例とほぼ同じであったが、弛緩部型真珠腫、緊張部型真珠腫および癒着性中耳炎、既手術例の順で上昇し、特に既手術例では高度障害例が多かった。また電気味覚閾値は鼓室後上部の術中所見とよく相関していた。電気味覚検査により鼓索神経の状態を術前に予測することは術式選択の上でも重要であり、本検査は中耳術前検査として有用と考えられた。</p>
<p><u>A 99-1653-24520</u></p> <p>モルモット前庭単離有毛細胞の運動性と 細胞骨格について 宮脇浩紀 (広島大)</p> <p>モルモットの前庭から細胞単離を行い、フラスコ型のI型、円柱型のII型と円形の支持細胞が採取された。</p> <p>有毛細胞は高濃度 K^+、低浸透圧、ATPを含む外液環境で感覚毛束及び頸部が傾く運動を示した。F-アクチンは感覚毛束、cuticular plate及び細胞質にびまん性に存在するが、高濃度 K^+ 負荷に伴う運動により局在に変化が認められた。</p> <p>前庭感覚上皮において、この細胞の運動性が受容体構造の stiffness や compliance に変化を起し、細胞の刺激に対する感受性を変化させ、平衡覚域値レベルでの感受性の増強あるいは低下といった active な調節機構に関与すると考えられる。</p>	<p><u>A 99-1641-23020</u></p> <p>Thapsigargin および Ryanodine の外リンパ灌流 による蝸牛内電気現象への作用 武 浩太郎 (川崎医大)</p> <p>小胞体 Ca^{2+}-ATPase 選択的阻害剤で小胞体への Ca^{2+} の再吸収を阻害する作用を持つ thapsigargin および、小胞体の CICR チャネルに結合し、開口状態に固定する作用を持つ ryanodine を、各々、外リンパ灌流することにより蝸牛マイクロフォン電位 (CM)、蝸牛内直流電位 (EP) への影響を計測し検討した結果、両薬剤共に CM の減少を認めた。EP の変化は認めなかった。これらの結果より有毛細胞の細胞機能の保持には細胞外からの Ca^{2+} の流入だけでなく、細胞内 Ca^{2+} 貯蔵部位である小胞体からの Ca^{2+} 放出が重要な役割を果たしていると考えられた。</p>