 研 究

内リンパ電位に関する電気生理学並びに 生化学的研究 : (第4報)

エタクリン酸及びウワバイン溶液による外リンパ灌流

くさかり じゅん み よし たもつ かわもと かずとも
草刈 潤・三好 保・河本 和友

利尿剤であるエタクリン酸(以下EAと略)の副作用の1つとして耳鳴, 難聴といった内耳障害があり, この薬剤の内耳における作用部位は血管条であるといわれている^{1)~4)}. 電気生理学的にもこの薬剤によりEPが低下することがよく知られており, その作用機序として腎におけると同様血管条のNa-K ATPaseを抑制するためと考えられている^{4)~6)}. 第1報に述べた如く蝸牛のEPは少なくとも2つの電位の和であると考えられている^{7)~11)}. 1つは血管条において能動輸送によってつくられる正の electrogenic K secretion potential であり, もう1つは負の K dominated diffusion potential である. EAは少なくとも初期の段階では前記2者のうち前者を低下させると考えられている. 能動輸送はNa-K ATPaseを介して行われており, この酵素を抑制するものとしてouabainがよく知られている. 一般にある薬剤がどの程度のATPase抑制力があるかということはこのouabainと比較してその程度が示されることが多い. 腎における研究では, Na-K ATPaseを50%抑制するためにはEAはouabainの約100倍多い量が必要といわれている⁸⁾. このouabainは静注不可能なので, 以前報告した我々のEA静注実験と直接比較することは不可能である. 本実験の目的はEA並びにouabain溶液で外リンパ腔を灌流しEPに与える影響を両者の間で比較検討することにある.

実 験 方 法

38匹のプライエル反射正常なる有色モルモットを使用した. ネンプタール麻酔, 気管切開, フラキシディール静注後人工呼吸を行い動物を固定した. EPの記録は第2回転から行い, 灌

流のためのInlet holeは基礎回転の鼓室階にoutlet holeは卵円窓周辺の骨の薄い部分に作製した. inlet holeにガラス管を差し込みHarvard社製ポンプ(Series 940)にて最初の3

Electrophysiological and biochemical studies on the endolymphatic potential : part 4. perfusion of the perilymphatic space with ethacrynic acid and ouabain solution.

Jun Kusakari, Tamotsu Miyoshi and Kazutomo Kawamoto.

東北大学医学部耳鼻咽喉科学教室

分を $13\mu\text{l}/\text{min}$ 次の37分を $6\mu\text{l}/\text{min}$ の速度で合計40分を行った。灌流液の濃度は 10^{-7} から 3×10^{-3} モル濃度までのものをうい溶媒には bovi-

ne serum ultrafiltrate を使用し、コントロール実験5匹、EA灌流21匹そして ouabain 灌流を21匹に行った。

実験結果

①記録したEPの平均は 77.2 ± 5.8 mV ($N=38$) でコントロール5例にて電位が長時間に亘り安定であることを確認した。

②図1はEA各種濃度による外リンパ腔灌流のEPへ与える影響を示している。灌流開始後EPは低下し始め最低値に達した後に再び上昇し始める。EPが上昇する時期は一般には2段階に分かれ始めの比較的速い上昇の時期とその後引き続き極めて緩やかな上昇とがある。この変化はEPの最低値が低いほど顕著である。灌流終了後80分観察したがこの間にEPが元のレベルまでもどったものは 5×10^{-6} モル濃度以下のものでこれ以上の濃度ではこの時間内での回復は $+20 \sim 30\text{mV}$ のレベルまでであった。

③高濃度なものほどEPの低下速度は急峻ではがって図2に示す如く最低値が低ければ低いほどそこへ到達する時間は短かく最低値の高いものほど到達時間は長かった。

④図3に示す如く 10^{-6} モル濃度以下ではEPには著変なく、 3×10^{-6} モル濃度で始めてEPは低下した。更に増量するとEPの最低値は低

くなり、 2×10^{-4} モル濃度位で -40 mV 附近まで低下した。EPを構成する2つの電位のうち正の部分を丁度半分だけ低下させる ($+20$ mV 位への低下) 濃度は 10^{-5} モル濃度位であった。

⑤図4は ouabain による実験結果を示しており投与量と反応の関係はEAの場合と大差は

図2 EA溶液灌流時の最低値とその値への到達するまでの時間を示す。

図1 各種濃度のEA溶液灌流によるEPの変化。

図3 EA溶液灌流時のEPの最低値と各々の溶液の濃度を示す.

図4 ウワバイン溶液灌流時のEPの最低値と各々の濃度を示す.

図5 EA (3×10^{-8} モル濃度)及びウワバイン溶液 (3×10^{-8} モル濃度)灌流及びEA静注 (50mg/kg)によりEPが最低値に達した時に上行大動脈を切断し anoxia とした時のEPの変化を示す. 横軸のOは anoxia にした時間を示す. EA (IV), EA (P) は夫々EA静注及びEA溶液による灌流を示す.

なかった。

⑥EA並びに ouabain によりEPが -40 mV 附近の最低値を示したときに、上行大動脈を切断し anoxia の負電位に与える影響を調べた。図5に示す如く、EA灌流したものでは参

考にあげたEA静注の場合と同様、EPは anoxia により急激に上昇したが、ouabain 灌流の場合は全く異なりEPの変化はわずかであった。

考

Na-K ATPase を抑制する ouabain がEPを低下させることは、Konishi and Mendelsohn (1970)⁹⁾, Prazma (1969)¹⁰⁾, Kuipers (1969)¹¹⁾ 等によりすでに報告されており、その結果は本実験の結果と大差はない。EAにおける灌流実験は他に報告がみあたらずに比較出来ないが、本実験の結果は内耳においてEAと ouabain ではその抑制力に大差はないことを示していた。腎では同一効果を得るためにはEAは ouabain の約100倍を要すると言われている⁸⁾。この差が何に由来するかは現在の所十分に説明は出来ない。しかしながらフロゼマイドの約40倍の利尿効果を有するブメタニドがEPに関してはたかだか2~3倍程度の効果しか発揮しないという事実があり¹²⁾、類似の作用機序を有するものでも腎と内耳では効果が異なることがあるものと思われる。

図1に示す如くEA高濃度灌流の場合最低値に到達後2相性の回復を示すが、はたしてこれが真の回復であるかどうかは疑わしい。いまだ灌流続行中に上昇し始めており、これは正の電位の回復ばかりではなくイオン組織の変化や膜

按

の透過性の変化による負電位の減少が大きく関与しているものと思われる。

最低値とそこへの到達時間の間には一定の関係があり量が多いほど最大効果は短時間で生じた。これは静注したときにも認められる⁹⁾ 効果であって、作用部位へ薬剤が拡散によって到達していることを示唆している。

EAを静注しEPが最低値へ到達したときに anoxia にするとEPは低下しその最低値が低いほどその低下速度は緩やかになるが、最低値が $-15 \sim -20$ mV のときには逆に anoxia によりEPは急激に上昇する⁹⁾。この現象はフロゼマイドでも認められ¹⁵⁾ また卵形囊¹⁴⁾ や膨大部の内リンパ電位¹³⁾ でも認められる。本実験では ouabain 灌流では全くこのような現象は認められないが、EA灌流では静注時と同様EPが急激に上昇するのが認められた。本現象に関する考按は他誌でも記載した⁶⁾ ので省略するが現在十分には解明されない現象である。EAと ouabain ではEPに対する作用が全て同一ではないことを示唆しており今後検討を要する問題である。

結

語

① 3×10^{-6} モル濃度以上のEA溶液による外リンパ灌流によりEPは低下し、 $+20$ mV 位まで低下させるのは 10^{-5} モル濃度で、 2×10^{-4} モル濃度以上ではEPは -40 mV まで低下した。

② これらの変化は ouabain 溶液による灌流実験と大差はなかった。

③ いわゆる negative electrogenic potential はEAでは認められ、ouabain では認められなかった。

以上より内耳においてはEAと ouabain は同程度の Na-K ATPase の抑制作用を有するがその作用機序に関しては必ずしも同一と思われる所もあり、今後更に検討が必要であることを強調した。

本論文の要旨は、第21回日本オージオロジー総会にて口演した。

文

献

- 1) Nakai, Y. : Electronmicroscopic study of the inner ear after ethacrynic acid intoxication. *Pract. Oto-Rhino-Laryng.* 33:366~376, 1971.
- 2) 笠島和子 : Ethacrynic acid 投与による血管条の変化の電顕的観察. *日耳鼻* 76 : 338~346, 1973.
- 3) Quick, C. A. and Duvall, A. J. : Early changes in the cochlear duct from ethacrynic acid : an electron microscopic evaluation. *Laryngoscope.* 80 : 954~965, 1970.
- 4) Bosher, S. K. et al. : The effects of ethacrynic acid upon the cochlear endolymph and stria vascularis. *Acta Otolaryng.(Stokh.)* 75 : 184~191, 1973.
- 5) Prazma, J. et al. : Ototoxicity of the ethacrynic acid. *Arch. Otolaryng. (Chic.)* 95 : 448~456, 1972.
- 6) 草刈潤, 他 : エタクリン酸のEPに及ぼす影響並びにその作用機序について. *Audiology Japan* 18 : 261~269, 1975.
- 7) 草刈潤, 三好保 : 内リンパ電位に関する電気生理学並びに生化学的研究. 第一報蝸牛内リンパ電位と Anoxia. *耳鼻臨床* 68 : 693~699, 1975.
- 8) Peters, G. and Roch-Ramel, F. : Ethacrynic acid and related drugs. in *Hand book of experimental pharmacology.* (ed. Eichler, O. et al.). New York, p 406~435, 1969.
- 9) Konishi, T. and Mendelsohn, M. : Effect of ouabain on cochlear potentials and endolymph composition in guinea pigs. *Acta Otolaryng. (Stokh.)* 69 : 192~199, 1970.
- 10) Prazma, J. : Active ion transport from the scala vestibuli into the scala media. *Acta Otolaryng.* 67 : 631~638, 1969.
- 11) Kuijpers, W. : Cation transport and cochlear function. Thesis. University of Nijmegen, 1969.
- 12) 草刈潤, 神林潤一, 河本和友 : unpublished data.
- 13) 草刈潤, 三好保 : 内リンパ電位に関する電気生理学並びに生化学的研究, 第3報膨大部内リンパ電位と利尿剤. *耳鼻臨床* 69 : 943~948, 1976.
- 14) Sellick, P. M. and Johnstone, B. M. : Differential effects of ouabain and ethacrynic acid on the labyrinthine potentials. *Pflügers Arch.* 362 : 339~350, 1974.
- 15) 伊勢郁夫 : Personal communication.

原稿到着 : 昭和52年3月17日
 別刷請求先 : 草刈潤
 〒980 仙台市星陵町1-1
 東北大学医学部耳鼻咽喉科学教室