フロセマイドとEP

(モデルによる分析)

八木 伸也*・深沢 達也**・大村 正樹

牧本 一男***

EP and Furosemide

Nobuya Yagi

(Kohchi Medical School)

Tatsuya Fukazawa

(Fukui Red Cross Hospital)

Masaki Ohmura and Kazuo Makimoto

(Kyoto University)

The endocochlear potential (EP) of the cochlea was recorded in 20 adult guinea pigs using the microelectrode technique. The falling pattern of EP after one-shot intravenous injection of furosemide (20,30,40,50 mg/kg) was analyzed on the basis of the following equation (model A) using the least-square method with a micro-computer.

$$y=L(1-e^{-r(t-a)})$$

where L: maximum EP fall

r: reaction rate

t: time

a: beginning of EP fall

All cases of EP fall were well fitted to the model equation. The values of reaction rate r fell in a limited range regardless of large EP falls. The falling rate of EP caused by furosemide had constant values in each case though FUR blocks EP pump.

Then we proposed a second model (model B) which has channelization of the EP pump corresponding FUR receptor and examined the fitness of the acquired EP curves and model using the least square method.

The results showed good match between the data and the model. From model B, channelized EP pump was blocked by furosemide on the All or None mode.

*高知医科大学耳鼻咽喉科学教室

**福井日赤耳鼻咽喉科

***京都大学医学部耳鼻咽喉科学教室

緒 言

フロセマイド (FUR) は, 蝸牛の Endocochlear Potential (EP) を低下させる為, この電位の機序解明に使用されている.

FUR やエタクリン酸 (EA) は, ループ利尿剤と呼ばれ, 他の領域でも研究がすみ種々の研究がみられる¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾. その成果を蝸牛に応用して, EP 発生機序の解明を行なおうとする報告が多くみられる^{8)~16)}.

従来の EP の分析や, 底値に到る時間等が使われたり, EP 変化と酵素との関係をみたりする例が多い.

EP が FUR により障害される場合蝸牛内では EP ポンプの障害が起っておりポンプを構成する biochemical process の一部が FUR により障害されているはずである.

今回の報告は, この process がどのようなものであるかを, 化学反応速度論¹⁷⁾の立場より EP 低下パターンを足がかりにして, モデル分析しようとするものである.

次に, EP 生成機序について, EP ポンプを多数のチャンネルが並列にならんでいると考え, このチャンネルを FUR が障害して EP を低下させると仮定し, モデル分析をすすめた. 実際の FUR による EP 低下をモデルにより分析し, チャンセルと FUR の関係を考え, EP の生成機序について考按した.

実 験 方 法

実験動物として, 成熟モルモット (300~400 g) 20匹を使用した. Nembutal® を腹腔内麻酔 (20~25 mg/kg) し, 気管切開をして, 人工呼吸器 (成茂 AR-1) に接続した. 動物は Gallamine® で非動化し, 実験中必要に応じて追加した. 薬剤を反対側頸静脈より静注する為, 頸静脈の確保を行った.

EP は, 通常の微小電極法を用いて記録した.

頭を専用の頭部固定器に固定した後, 中耳骨胞を腹側より開放した. 蝸牛を露出後, 手術用顕微鏡下に血管条を露出し, 細孔をあけた. 細孔より Scala Media に向けて 2—5 μ の微小電極を挿入した. 頸筋に Ag-AgCl 電極をおいた.

EP が 80 mV 近くある事を確めた後, 2 分間の Apnea を施行して, 通常の反応が認められた場合のみを分析に使用した.

EP は, 高入力インピーダンス増幅器で増幅後, オッシロスコープ (菊水) でモニターしつつ, 4 ch, レクチコーダー (渡辺測器 MC 6601) で記録した.

FUR は, 対側頸静脈より, 20秒間かけて投与した. 投与量は 20, 30, 40, 50 mg/kg である.

又 Glycerol 投与が FUR の EP 低下に及ぼす影響をみる為, 15 分前は 50% Glycerol を 1.0 ml/kg 投与した場合もある. しかし, 反応増強効果のみであり, 低下パターンに差がなかった為, 今回はすべてを含めて分析した.

モデル A とモデル B

A. モデル A¹⁸⁾¹⁹⁾

FUR を oneshot 投与すると, 通常は図 1 の如く, EP は低下する. この図をよくみると, EP は exponential curve にそい低下し

ている. これらは, EP を FUR が単分子反動的に阻害していると仮定できる.

もしこの仮定にたてば

$$y = L (1 - e^{-r(t-n)}) \dots \dots \dots \textcircled{1}$$

図1 FUR 40mg/kgを投与した場合のEP変化
FUR 40mg/kgを投与すると図にみられる
如くEPはexponential curveにそい低下し3分頃に最低値に到る。

y: EP低下量

L: 最大EP低下量

r: 反応速度定数

t: 時間

a: 反応開始時間

この式は

という化学反応で、Bの生成物yの生成速度は、生成される速度定数rと時刻t時のAの量(L-y)に比例するとして導き出せる(図

2)。

これをEPに応用すると、EPの初期値を零とし、EP低下量をプラスの値にとってゆくとこの式にあてはめる事が可能である。

上記のモデル式に、実際に得られた20秒毎のEPの値を代入し、最小2乗法を用いて、定数a, r, Lを求めた。使用した最小2乗法は、非線形も可能な方法である²⁰⁾。

BASIC言語で書かれており、マイクロコンピュータ(富士通マイクロ8(FM-8))を用いて、倍精度で計算した。

B. モデルB

次に式①の仮定のもとに、EPポンプをチャンネル化したモデルBを考えた。即ち、チャンネルに相当したFURレセプターを考え、FURがレセプターを占拠して、EPチャンネルを障害しEP生成を低下させるとした。詳しくは深沢の論文²¹⁾を参照されたい。

まず、初期のレセプターをRo、初期のFUR量をFoとして以後FURがレセプター(チャンネル)を占拠すると考えると、残存するレセプター数(RE)は

$$RE(t) = \frac{Ro - Fo}{1 - \frac{Fo}{Ro} e^{-r(Ro - Fo)t}} \dots\dots\dots ②$$

と表わせる。

単分子反応

$$\frac{dy}{dx} = r(L-y)$$

$$y = L(1 - e^{-r(x-a)})$$

図2 単分子反応

AからBに化学変化してゆく場合、反応生成物yの生成速度は、反応速度数rとBの残量(L-y)に比例する。

これは、各チャンネルの数であるので、実際の EP は、チャンネルを流れる電流 i 、又 i の流れる蝸牛抵抗成分を R 、 n を FUR が結合するレセプター数とし、又 EP 中負の成分 E_- (negative EP) を加えて下の如く表わせる。

$$EP = i \cdot R \cdot n \cdot RE(t) - (E_-)$$

今回は、 FUR 投与により、 i, R, n は変化しないとし、 E_- は $-40mV$ とした。これをモデル B とした。

実験上、 i, n は側定不能であるので、 $i \cdot R \cdot n = M$ (定数) として便宜上計算している。

計算は、モデル A の場合と同様、最小 2 乗法を用い、 $Ro, Fo, r, M (= i \cdot R \cdot n)$ を求めることとしたが、計算途中で収束しない場合もあったので、一律に $Ro = 1$ として他の値を求めて

いる。 $Ro = 1$ とすると、得られた Fo は、レセプターを占拠する FUR 量となり、レセプター占有率となる。

使用した実測値は、 EP 低下が始まる時刻即ち、 FUR がレセプターに到達して EP 低下を起し始める時刻を開始時とした。

実際使用した式は、 y を実測した EP とすると

$$y + 40mV = \frac{M(1 - Fo)}{1 - Fo e^{-r(Fo - 1)t}} \dots\dots\dots ③$$

となる。

y : 実測した EP 値 (mV)
 M : 定数 (予想される初期 EP 値)
 Fo : レセプター点有率
 r : 反応速度定数
 t : 時刻

結 果

FUR を投与すると図 1 の如く exponential curve 状の低下を示す。20 例の EP 最大低下値

を投与量 (20, 30, 40, 50 mg/kg) に対して図示すると図 3 の如くなる。相関係数は、0.875

図 3 FUR 投与量と EP 低下

FUR を 20, 30, 40, 50 mg/kg 投与すると、 EP は図にみられる如く低下してゆく。相関係数は 0.875 と比較的良い。

であり、ほぼ直接的な関係がえられる。

得られた各々のEP記録を、まずモデルAにより分析した。モデルAでは、 r, L, a が求められる。今回 a は、全例に於て、約20—40秒の間の値が得られたが、あまり重要な意味をもたないと考え分析よりはらずしている。

図4にFUR 20mg/kg 投与例及び分析例を示す。図中実線は実測値、点線はモデルAより得られた値である。実測値とモデル値は非常に良い一致を示している。

図5は50% Glycerol を15分前に投与したFUR 30mg/kg の例を示す。この場合も実測値は実線、点線はモデル値であり、近似は非常に良い。

全例に於て、このように良い近似が得られた。

EPの低下量と、反応速度定数 r について図6に全例を示す。図にみられる如く分散は大きく、相関は認められない。むしろ、EP低下が

図4 FUR 20mg/kg 投与例のモデルBによる分析
FUR 20mg/kg を投与した場合、実線の如く低下してゆく。それをモデルBにより分析すると点線の如くなる。近似は非常に良い。

あるにもかかわらず、反応速度定数 r は一定であり、 r は、低下の割合によらず一定値を保っている可能性がある。このことは、EP低下が、投与されるFUR量によって決り、EP低下速度はそれにかかわらず一定である事をうかがわ

図5 GLY-FUR 30mg/kg 投与例のモデルB分析

15分前に50% Glycerol 1.0ml/kg を投与した後にFUR 30mg/kg を投与するとEPは、図の実線の如く変化する。それをモデルAにより近似すると図の点線の如くなる。

図 6 反応速度定数 r と EP 低下 (mV)

モデルA では EP 低下 (mV) が大きくなっても反応速度定数 r は一定範囲内に停っている. この場合相関は非常に低い ($r = 0.071$).

せる. 即ち, FUR で block されるチャンネルは all or None の型式で作動しており, FUR の n 分子が 1 ケのチャンネルの gate を

close する可能性がある.

次にモデルBによる分析を行う.

モデルBによる分析例, glycerol 投与後の FUR 40mg/kg の反応を図7に示す.

図中実線は, モデル値, 点は実測値である. この場合の EP は EP の negative 成分が加えられている故 80 mV+40 mV 近くの初期値を示し投与後 exponential curve にそい低下してゆくパターンをとる. 図にみられる如く fitting は良い. 投与量が20~30mgでは fitting は非常に良かったが, 40~50mgの3例に於て fitting が悪くなり, 初期値が大きくなる傾向がみられる.

モデルBよりはM, r , レセプター点有率が得られた.

図8に, モデルBより得られた仮想のEP初期値Mを示す.

初期値Mの平均及び標準偏差は $148.81 \pm$

図 7 GLY-FUR 30mg/kg 投与例のモデルB分析

15分前に 50% Glycerol 1.0ml/kg を投与し, FUR 30mg/kg を投与した例をモデルBにより分析した. この例は10秒毎にサンプルした実測値が黒丸で, 実線がモデルBにより得られた値を示している. 仮想EP初期値は 117.3 mV であり, 以後EPは exponential curve にそい低下してゆく. この場合レセプターの占有率は48.5%である.

Positive Comp. of EP

図8 モデルによる仮想EP初期値

モデルBによると、仮想のEP初期値Mが求められる。20例全例では $\bar{x}=148.81 \pm 45.9$ mV である。分散が大きいのはEP低下が大きい場合、fitting をよくする為初期値が自動的に大きくなるからである。棄却検定をすると、 $n=10$, $\bar{x}=123.62 \pm 3.87$ mV となる。

45.9mVであり、分散が大きい。これはEP低下が大きくなると、初期値のずれが大きくなる為に起った現象である。棄却検定を行うとデータ数は少くなるが 123.62 ± 3.87 mV となり、ほぼ予想した値となってくる。

次にEP最低値と反応速度定数 r についてみる(図9)。この図では、実測したEP値に40 mV が加えられている。この図よりすると、EP低下が大きくなると r が大きくなり直線的な関係が存在する如くみえる。しかしこの現象は、 r が初期値Mを含んでいる為に起ったものであり、Mが大きくなると必然的に r は大きくなって来る。図中右下の3例はこのような例である。実際の r は、モデルAで検討した図6の如く一定範囲内に停っている。

図10に、EP低下 mV とレセプター占有率(%)を图示する。

図にみられる如く、EP低下とレセプターの占有率には、1対1の直線的関係が認められた。回帰直線は、 $y=0.992x+119.617$, $r=$

図9 モデルBによるEP低下度(mV)と反応速度定数 r

モデルAと異り、EP低下が大きくなると、反応速度定数 r が大きく表われる。これはEP低下が大きいと fitting を良くするため、自動的に初期値が大きくなり、初期値を含む r が大きくなる為である。実際の r は、図6と考えられる。

図10 モデルBによるEP低下(mV)とレセプター占有率(%)

EP低下(mV)とレセプターの占有率は、図にみられる如く直線的関係を有している。図のうちレセプターが100%占拠されても20mV近くのEPが残存しているのに注意されたい。

0.986であった。FURの濃度とEPとは直線的な関係があり、FUR n 分子が X mV のEP低下を起すといえる。モデルBによると、チャンネルがFURにより1対1対応でblockされると考えられる。この場合、EPの負成分として、-40 mV を使用したが、0 mV, -25

mV の場合も検討した. これら 2 者の場合, EP 低下が大きくなると fitting が悪くなり, 初期値Mが大きくなりすぎる場合が, 生じた. 又 -60mV で行なったところ, -40mV を加えた値となったので, -40mV を今回は採用した.

又図10にみられるように, FURが100%レセプターを占有した状態であっても20mV近くのEPは残存している. この20mVのEPは, FURによる阻害を受けないEP成分と考えられ, 今後の検討を要する.

以上, モデルAによると, FURは, EP生成を単分子反動的に阻害する.

モデルBによると, EPポンプをチャンネル化した場合, FURがそのチャンネルを阻害して, EP生成を阻害する. その阻害型式も1対1のAll or None型が考えられる(図11).

考

FURは, EPを低下させる作用故にEPの生成機序を研究する薬剤として多用され, 解剖学的²²⁾, 生理学的²⁵⁾²⁶⁾²⁷⁾²⁸⁾, 生化学的³²⁾³³⁾アプローチがなされている.

Pike²²⁾等はモルモットにFUR(80mg/kg)を投与するとStria Vascularis中のmarginal cellの膨化, intermediate cellにshrinkageがみられるとし, EP生成障害を起しているとした.

この場合問題となるのは, FURが大量に投与される事, 又解剖学的確認が30分後である為, 実際にEP低下が起っている時期の変化でない事である. これら組織学的変化が, 機能的な面と直結したものであるのか, 2次的効果であるのか, 今後の研究をまたねばならない. しかし, 他の薬剤, ナイトロミン, SM等²³⁾に比べて, 変化がStriaに局限されている事は特記されてよく, 一応EPポンプがintermediate cell近傍に存在している事を示唆する.

FURのEPに対する効果はKusakari¹³⁾, Brusilow¹⁴⁾, Rybak²⁵⁾²⁷⁾等の報告がみられる.

Rybak²⁵⁾は, チンチラにFURを投与し, 血

図11 FURとEPポンプ

FURは, EPポンプを形成するチャンネルを, All or Noneの型式で障害する. EPの低下は, 血中のFUR量によるが, EPの低下速度は, All or None型式の為, 投与量によらず一定と考えられる.

按

中及び内リンパ液内のFURを実測している. この報告によると, 投与量に比例して, FURの量は血中, 内リンパ液中に直線的に増加しており, 内耳に達するFURの量は, 投与量に比例しているとした.

Kusakariの報告によると投与量によらず, FURによるEP低下は30秒後より起り始め, 3分頃に最低値に達する. その点, EAは投与量により最低値に達する時間が異なるとした.

この点は今回の実験でもみられ投与量の大小にかかわりなく, 最低値に到る時間は, 大体2-3分であった. 投与量によらず一定時間内に最低値を示す事は, FURがEPを投与量に比例して障害する事, それも副次的に障害を起すのではなく, 直接的効果があった為と推定される.

EPの低下速度定数をモデルAよりみてみると, 低下量によらず一定範囲内に停っている. EPチャンネルの障害がAll or Noneの型式で起っているとすれば, EP低下単位あたりの速度定数は一定となり, EP低下の度合に依存しない事になる.

これを、模式的に示すと図11の如くなる。血液中のFURは血管壁のFURレセプター(=EPポンプの各チャンネル)を占拠し、FURが多くなると投与量に比例してblockされるチャンネル数が多くなりEPは低下する。

FURがEPを単分子反応的に阻害し、EPポンプをAll or None型式でblockする事は、次のべるモデルBへと発展させうる。

その前にFURの生化学的側面についてその障害箇所及び形式をみている。FURは生化学的には、5ヶ所生化学反応を阻害する箇所が報告されている。

- 1, $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase の阻害³⁰⁾⁴⁾
- 2, Fructose-1,6-diphosphate と Glucose-6-phosphate より lactate 生成の阻害⁴⁾ (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase の阻害)
3. Cytochrome b より c に到るリン酸化阻害³¹⁾
- 4, Carbonic anhydrase の阻害³⁴⁾
- 5, Adenylcyclase の阻害³²⁾³³⁾

である。

これらの部位はいずれも単分子反応であり、どの場所をblockされても、今回の実験の如く単分子反応的阻害となって表われる。いずれにせよこれらの反応のうち一つが律速反応となってEP生成障害を起していると考えられる。

これらの部位のうち比較的よくとりあげられるのはAdenylcyclaseである。総説的にはFeldman²⁴⁾, Prazma²⁸⁾等の報告、EPとFURの比較ではPaloheimo³²⁾, Tra Ba Huy³³⁾の報告がみられる。

Paloheimoは、in vitroの学験で、FUR、EAによる酵素阻害が、Adenylcyclaseで、 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPaseより低い濃度でみられるとして、ループ利尿剤によるEP障害はAdenylcyclaseの障害ではないかとした。

Tra Ba HuyもAdenylatecyclaseの阻害がEAやFURで起るとした。

Adenylcyclaseは、 β レセプターの細胞内

側面に存在すると言われている。アドレナリン系の薬剤で、FURによるEP低下がどう変化するに興味あるところである。

この点についてBrusilow¹⁴⁾は、モルモットで、FUR 50mg/kg投与10分前に β ブロッカーであるPropranololを投与してEP変化、内リンパの K^+ , Na^+ 変化を観察している。

Propranolol投与後、EPの低下に変化はみられなかったが、内リンパ中の Na^+ , K^+ の変化は、消失している。この事は、イオンバランスを保持する機構にもFURが作用を及ぼしている事を示す。

彼の報告では、FURで中央階を灌流するよりも、血管内投与の方がEP変化が大きく表われており、FURのレセプターは血管壁側に存在するとしている。この推察は、解剖学的所見とも略一致する。現在のところFURの障害部位、形式は不明である。

FURのEP blockがAll or Noneの型式で起っているとすれば、モデルBの如くEPポンプのチャンネル化が考えられる。

深沢の報告²¹⁾によるとDavis³⁵⁾により提唱されたBattery theoryはHonrubia³⁶⁾の報告にまとめられている。Honrubiaはポンプを定電圧源と考えているが、深沢²¹⁾によると定電流源と考えた方がより生理的であり、又1ヶの電源と考えるよりも、多数くのチャンネルが並列にならんだ定電流源とした方が、FURレセプターとの関係も理解しやすいとした。

実際定電圧源は、適当な変換を施せば、並列化した定電流源となる。

これによりFURのレセプターブロック⇔EPポンプを構成するチャンネルのブロックに論をすすめる。

FURが、単分子反応的にEP生成障害を起すという仮定と、レセプターの初期値、FURの初期値を仮定することで、モデルBの式②は導かれる。

実際はFURで障害されなかったレセプター数が式②となる。故に、この残存するレセプタ

ー (=チャンネル) を流れる電流と、蝸牛管内の抵抗成分 R 及び EP の負成分を加え合わせると実際の EP となる。

負の EP は, hair cell⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾⁽³⁹⁾ 又は K diffusion potential⁽¹¹⁾⁽³⁷⁾ に由来するとする 2 つの説があるが, FUR による EP 低下は $-30 \sim -40$ mV 近くであるようである。今回は -40 mV を負成分としている。この為

$$EP = i \cdot n \cdot R \cdot RE(t) - 40 \text{ mV}$$

が, 実際の EP となる。式中にみられる如く抵抗成分 R により EP は変化する。

小宗⁽⁴⁰⁾は, FUR 投与時に R を測定しているが, 投与中 R は $2.3 \text{ k}\Omega \sim 6 \text{ k}\Omega$ の間を変化している。彼の報告では FUR は 40 mg/kg であるので, 投与量が多い場合, R の変化の効果が表われる可能性がある。今回 40 mg/kg 投与で, モデル値が, 実測値よりずれたのはこの R の効果であるかもしれない。

しかし少量 ($20 \sim 30 \text{ mg/kg}$) の場合 R の変化は少いと考えられるのでモデル B 適用も可能である。

モデル B の場合, FUR レセプター= EP チャンネルと考えたが, この場合, FUR は, EP 生成を直接に障害し, その対応も 1 対 1 であると考えられた。

このことは FUR が EP ポンプの基本素子であるチャンネルに直接作用し, それもチャンネルを構成する生化学反応の一部を単分子反応的に障害している可能性を示している。

FUR 大量投与でも 20 mV 近くの電位が残存する。これは FUR に障害されない EP 成分がある可能性を示している。今回の場合, 負成分として -40 mV を仮定しているので, FUR により障害される成分は -20 mV となり FUR が 100 %チャンネルを占拠した状態でもこのようになる。

Sellick 等⁽⁴¹⁾の報告によると $2 \times 10^{-3} \text{ M}$ の Ouabain で perilymph を灌流すると -20 mV に到る EP 低下が起り, この時 Anoxia を与えても変化しない。しかし $2 \times 10^{-3} \text{ M}$ の EA で灌流すると EP は -40 mV まで低下し, この状態で Anoxia を施すと -20 mV に上昇する。彼らは EA により endolymph の Na^+ が増加し negative $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ pump が作動してこの成分が加わったとした。彼らは, 従来の positive electrogenic K^+ pump, K^+ diffusion potential に加えて negative electrogenic potential を考えたことになる。

この場合の negative electrogenic potential は約 -20 mV である。

今回の実験より推察すると, FUR で完全に block される成分は -20 mV までであり, あとの -20 mV (図11では $20 \text{ mV} \sim 0 \text{ mV}$ に相当する) は, この negative electrogenic potential であろう。この電位は, 薬剤投与により生じた 2 次的な電位であるか, 又は蝸牛固有の電位であるかは論議の多いところである。今後の研究課題と考えられる。

結 語

1. 20匹の成熟モルモットに, フロセマイド (FUR) をワンショットにて $20, 30, 40, 50 \text{ mg/kg}$ 投与し, Endocochlear Potential (EP) を記録した。

2. 得られた EP は exponential curve にそい低下を示した。

3. この EP を単分子反応的に FUR が EP ポンプを障害していると考え, モデル式により最小 2 乗法を用いて分析した。モデル式と実測値はよく一致し, FUR を障害し, その反応速度定数は, EP 低下量によらず一定範囲内に留まった。

4. EP ポンプのチャンネル化を考え, FUR のレセプターが EP ポンプの各チャンネルに対応するという仮定の下にモデル式を作り, 最小 2 乗法を用いて分析した。分析の結果, EP ポンプの障害と FUR 量は直線的な関係をもっており, 又 FUR に障害されない EP 成分も存在する事が判

った。

参 考 文 献

- 1) Bowman, R. H. et al. : Interaction between ouabain and furosemide on Na and K excretion in perfused kidney. *Am. J. Physiol.* 224 : 1200~1205, 1972.
- 2) Gordon, E. E. and Hartog, M. : The relationship between cell membrane potassium ion transport and glycolysis. *J. Gen. Physiol.* 54 : 650~663, 1969.
- 3) Puschett, J. B. and Goldberg, M. : The acute effects of furosemide on acid and electrolyte excretion in man. *J. Lab. Clin. Med.* 81 : 666~677, 1968.
- 4) Radtke, H. W. et al. : Dual action of acetazolamide and furosemide on proximal absorption in the rat kidney. *Kidney International.* 1 : 100~105, 1972.
- 5) 山内真 : エタクリン酸. *日本臨床* 284 : 1299~1304, 1970.
- 6) Marumo, F. and Mishima, T. : Effects of ethacrynic acid and furosemide on the hormone-mediated adenylate cyclase activation of the hamster kidney. *Endocrinol. Japon.* 25 : 423~430, 1978.
- 7) Klahr, S. et al. : Inhibition of glycolysis by ethacrynic acid and furosemide. *Am. J. Physiol.* 221 : 1038~1043, 1971.
- 8) 草刈 潤, 他 : 利尿剤による難聴に関する基礎的研究. *Audiology Japan.* 21 : 117~122, 1978.
- 9) Thalmann, R. et al. : Physiological chemistry of cochlear duct. *Acta Otolaryngol.* 91 : 535~540, 1981.
- 10) 平島直子, 他 : Furosemide の Endocochlear DC potential に及ぼす影響. *耳鼻* 20 : 50~55, 1974.
- 11) 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. *Audiology Japan* 18 : 261~269, 1975.
- 12) Juhn, S. K. and Rybak, L. P. : Labyrinthine barriers and cochlear homeostasis. *Acta Otolaryngol* 91 : 529~534, 1981.
- 13) Kusakari, J. et al. : Effect of ethacrynic acid, furosemide, and ouabain upon the endolymphatic potential and upon high energy phosphates of the stria vascularis. *Laryngoscope* 88 : 12~37, 1978.
- 14) Brusilow, S. W. : Propranolol antagonism to the effect of furosemide on the composition of endolymph in guinea pigs. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 54 : 42~48, 1976.
- 15) Asakuma, S. : Effect of kanamycin sulfate on the endocochlear dc potential of guinea pigs. *Arch. Otolaryngol.* 105 : 145~148, 1979.
- 16) Komune, S. and Snow, J. B. : Nature of the endocochlear dc potential in kanamycin-poisoned guinea pigs. *Arch. Otolaryngol.* 108 : 334~338, 1982.
- 17) クリストス・カペロス, ベノン・H. J. ビエルスキー : システム反応速度論. 鍛冶健司訳, 地人書館, 1977.
- 18) 八木伸也, 他 : フロセマイドとEP. *Ear Res. Jpn.* 13 : 164~166, 1982.
- 19) 八木伸也, 他 : フロセマイドとEP(その3). *Ear Res. Jpn* 14 : 133~135, 1983.
- 20) Yamaoka, K. et al. : A pharmacokinetic analysis program (multi) for microcomputer. *J. Pharm. Dyn.* 4 : 879~885, 1981.
- 21) 深沢達也, 他 : EP生成機構に関する考察. *耳鼻臨床* 76(増1) : 407~413, 1983.
- 22) Pike, A.D. and Bosher, S.K. : The time course of stria changes produced by intravenous furosemide. *Hearing Research* 3 : 79~89, 1980.
- 23) 秋吉正豊, 水越治編 : 聴覚障害. p. 390~414, 朝倉書店, 1978.
- 24) Feldman, A.M. : *Cochlear Biochemistry*. ed. by Brown, R.D. and Diagnault, E.A. *Pharmacology of Hearing* : p 51~80, Wiley-Interscience 1981.
- 25) Rybak, L.P. et al. : Elimination kinetics of furosemide in perilymph and serum of the

- chinchilla. *Acta Otolaryngol.* 88 : 382~387, 1979.
- 26) Green, T. P. et al. : Pharmacologic determinations of ototoxicity of the chinchilla. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 216 : 538~542, 1981.
- 27) Rybak, P. and Morizono, T. : Effect of furosemide upon endolymph potassium concentration. *Hearing Research* 7 : 223~231, 1982.
- 28) Prazma, J. : Ototoxicity of diuretics. *Pharmacology of hearing* 197~229, 1981.
- 29) 高玄吉郎 : 神経生化学 I. 共立出版, 1981.
- 30) Hook, J.B. and Williamson, H.W. : Lack of correlation between natriuretic activity and inhibition of $\text{Na}^+\text{-K}^+$ activated ATPase. *Proc. Soc. Exptl. Med.* 120 : 358~360, 1965.
- 31) Manuel, M. A. and Weiner, M.W. : Effects of ethacrynic acid and furosemide on isolated rat kidney mitochondria : inhibition of electron transport in the region of phosphorylation site. *J. Pharmac. Exp. Ther.* 198 : 209~221, 1976.
- 32) Paloheimo, S. and Thalman, R. : Influence of "Loop" diuretics upon $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase and adenylate cyclase of the stria vascularis. *Arch. Otorhinolaryngol.* 217 : 347~359, 1977.
- 33) Tra Ba Huy, P. et al. : Adenylate cyclase in guinea pig stria vascularis. *Acta Otolaryngol.* 91 : 9~14, 1981.
- 34) Maren, H. T. : Carbonic anhydrase : Chemistry, and inhibition. *Physiol. Rev.* 47 : 595~781, 1967.
- 35) Davis, H. : Some principles of sensory receptor action. *Physiol. Rev.* 41 : 391~416, 1961.
- 36) Honrubia, V. et al. : Physiological basis of cochlear transduction and sensitivity. *Ann. Otol.* 85 : 697~710, 1976.
- 37) 六郷正暁, 他 : 蝸牛内リンパ電位 (EP) の negative potential に関する検討. *Audiology Japan* 25 : 165~170, 1982.
- 38) Sitko, S. T. et al. : Source and maintenance of the endocochlear potential. *Tr. Am. Acad. Oph. Otol.* 82 : 328~335, 1976.
- 39) Konishi, T. : Some observations of negative endocochlear potential during anoxia. *Acta otolaryngol.* 87 : 505~516, 1979.
- 40) 小宗静男, 他 : 基底膜直流抵抗変化からみた蝸牛マイクロホン電位 (CM) と内リンパ直流電位 (EP) の関係. *日耳鼻* 82 : 547~557, 1979.
- 41) Sellick, P.M. and Johnstone, B.M. : Differential effects of Ouabain and ethacrynic acid on the labyrinthine potentials. *Pflügers Arch.* 352 : 339~350, 1974.
- 原稿到着 : 昭和58年1月31日
別刷請求先 : 八木伸也
〒781-51 高知県南国市岡豊町小蓮
高知医科大学耳鼻咽喉科学教室