

Palmitoyl Carnitine の蝸牛電気現象に及ぼす作用

吉 弘 剛

Na⁺-K⁺ポンプ阻害剤の Palmitoyl-DL-Carnitine を用いて、その Endocochlear DC potential (EP) と Cochlear Microphonics (CM) に対する作用を検討した。1×10⁻⁴M Palmitoyl Carnitine の外リンパ灌流により EP は +8~+16 mV に、CM は30~39%まで低下した。ouabain 灌流時の EP および CM の時間的变化とを比較すると EP についてはほぼ同様の経過をたどるが、CM 振幅はある程度まで保たれており、Palmitoyl Carnitine の有毛細胞に対する直接効果が示唆された。Palmitoyl Carnitine はもともと protein kinase C (PKC) の作用を抑制する薬物であり、その EP に対する作用は Na⁺-K⁺ポンプの抑制を介するばかりでなく PKC への影響も考えられたため、PKC の選択的抑制物質である 1-(5-isoquinolinesulfonyl)-2-methylpiperazine dihydrochloride (H-7) ならびに PKC 活性物質 Phorbol 12-Myristate, 13-Acetate (PMA) の外リンパ腔投与を試みた。H-7は Palmitoyl Carnitine よりも作用は弱いものの、PKC を阻害することによって EP の低下をもたらしたと判断され、PKC が血管条 Na⁺-K⁺ポンプに調節的に働いている可能性が示唆された。

(平成5年5月25日採用)

The Effect of Palmitoyl Carnitine on the Cochlear Potentials

Tsuyoshi Yoshihiro

The cochlear endolymph is positively charged with respect to the perilymph or interstitial fluid. This polarity is in the opposite direction to the value expected from the K⁺ equilibrium potential. The characteristic feature of the endocochlear DC potential (EP) can be explained from Na⁺-K⁺ pump located in the basolateral membrane of the marginal cells in the stria vascularis and possibly of the active K⁺ pump located in the luminal membrane. In the present work, the effects of Palmitoyl-DL-Carnitine, which is known as a Na⁺-K⁺ pump inhibitor were investigated using the perilymphatic perfusion method. When the perilymphatic space was perfused with 1×10⁻⁴M Palmitoyl-Carnitine solution, the EP level decreased to +8~+16mV and the cochlear microphonics (CM) amplitude fell to 30~39% of the control.

Simultaneous decreases in the CM amplitude and the EP level were also observed during perilymphatic perfusion with ouabain. Quantitatively, the CM amplitude at a given EP level was larger during Palmitoyl-Carnitine perfusion than that during ouabain perfusion. Accordingly, the curve relating CM amplitude to the EP level

during Palmitoyl-Carnitine perfusion shifted toward a higher level along the EP axis than that during ouabain perfusion. The difference between the two chemicals may be related to the direct facilitatory action of Palmitoyl-Carnitine on hair cells. It is known that Palmitoyl-Carnitine inhibits protein kinase C (PKC) activity. To clarify whether the action of Palmitoyl-Carnitine on CM and EP is mediated by PKC, another selective PKC inhibitor 1-(5-isoquinoline sulfonyl)-2-methylpiperazine dihydrochloride (H-7) was applied by the perilymphatic perfusion method. There was a slight discrepancy between the action of H-7 and that of Palmitoyl-Carnitine, the former being slower and weaker than the latter. However, H-7 clearly decreased EP, suggesting that the $\text{Na}^+\text{-K}^+$ pump, located in the basolateral membrane of the marginal cells in the stria vascularis is regulated by PKC.

Phorbol ester is known to stimulate the activity of PKC. Therefore, it was expected that phorbol ester would elevate the level of EP, but this was not clearly demonstrated. Probably, the $\text{Na}^+\text{-K}^+$ pump in the basolateral membrane of the marginal cells is constantly fully activated and cannot be further stimulated.

(Accepted on May 25, 1993) *Kawasaki Igakkaishi* 19(2): 91-101, 1993

Key Words ① Endolymphatic DC potential ② Cochlear microphonics
③ Palmitoyl-DL-Carnitine ④ $\text{Na}^+\text{-K}^+$ pump inhibitor
⑤ H-7

はじめに

蝸牛内リンパ液は外リンパ液あるいは間質液に対して正に荷電している。この蝸牛内直流電位 (EP) は、内外のリンパ液の K^+ 平衡電位から期待される値とは正負が逆転している。この特徴的な EP の存在する理由として、まず第一に、血管条辺縁細胞の basolateral membrane に存在する $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ポンプによって維持されていると考えられており¹⁾、さらに luminal membrane が K^+ に対して高い透過性をそなえているばかりでなく、膜に存在する K^+ ポンプも関与するという説²⁾ も提議されている。これらの仮説は、蝸牛の機能の維持には好気性代謝によって得られた ATP が利用されており、酸素欠乏時に速やかに EP が低下し^{3), 4)} 同時に ATP も低下する⁵⁾ という事実によって証明されており、また、酸素欠乏の他に解糖阻害剤であるモノヨード酢酸⁶⁾、 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase 阻害剤である ouabain^{7), 8)} などの投与によっても EP は低下する事実によって

も支持されている。さらに、 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ポンプの働きに加えて Cl^- が EP 生成に関与しているという可能性が示唆されている。Konishi と Hamrick⁹⁾ は内外リンパ間で Cl^- 濃度が等しいこと、および furosemide が EP を低下させること¹⁰⁾ から内リンパ液から辺縁細胞への Cl^- 輸送機能、おそらく $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-2Cl}^-$ 共輸送の存在が考えられている。さらに、内外リンパでの Ca^{2+} 濃度が約100倍異なっていることが確認され¹¹⁾、 Ca^{2+} 輸送の EP に対する関与が示唆され始めた。我々のグループ¹²⁾⁻¹⁵⁾ において nifedipine による EP の低下及び種々の重金属イオンによって EP・CM が低下したことから有毛細胞や血管条細胞における Ca^{2+} の流入が EP や CM の維持に必要であり種々のポンプ活動が Ca^{2+} 依存性である可能性を示唆した。

EP の成因を明らかにするために、 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ポンプの阻害剤として、ouabain のみならず、dimethylsulfoxide (DMSO)^{16), 17)} や vanadate^{18), 19)} を外リンパ灌流して EP に対する作用が検討されてきた。また、 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ポンプ以外

のNa輸送機構に対して作用する物質として、furosemideのみならず bumetanide²⁰⁾やamiloride²⁰⁾, ethacrine 酸^{10), 21)}のEPに対する作用も調べられている。このように、EPの成因に直接関与するのはNa⁺-K⁺ポンプであり、その結果としてNa⁺-K⁺-2Cl⁻共輸送が存在し、これらをCa²⁺が修飾していると考えられる。本研究においては、従来用いられてきた薬物に加えてNa⁺-K⁺ポンプ阻害剤と考えられているPalmitoyl-DL-Carnitineを新たに用いて、そのEPに対する作用を検討した。Palmitoyl-DL-Carnitineはもともとprotein kinase C (PKC)の作用を抑制する薬物であり^{22)~24)}そのEPに対する作用は、Na⁺-K⁺ポンプの抑制を介するばかりでなくPKCへの影響も含まれているであろう。そこで、PKCの選択的抑制物質である1-(5-isoquinolinesulfonyl)-2-methylpiperazine dihydrochloride (H-7)ならびにPKC活性物質であるPhorbol 12-Myristate, 13-Acetate (PMA)の外リンパ腔投与も試みて、PKCのEPに対する関与の有無についても併せて検討した。

方 法

プライエル反射正常のハートレー系モルモット(250~350g)を用いた。pentobarbital sodium 30 mg/kgを腹腔内に注射し麻酔し、体温は自家製の保温器を用いて一定に保ち、動物を背位に固定し人工呼吸器によって呼吸を維持した。蝸牛の露出方法やEP・CMの測定はSato¹¹⁾の方法に順じて行った。3 M-KClを充填した硝子毛細管微小電極を蝸牛基底回転中央階に作製した小孔より刺入し、電極は高入力抵抗増幅器(AVZ-8, 日本光電)に接続した。不感電極を頸筋に置きEPはペンレコーダー(R-102, 理化電気)で記録した。CMは2000 Hz, delay time 2.0 msec, duration 20 msecのtone burstにて刺激し記録した。外リンパ灌流は、基底回転鼓室階に灌流液の注入孔を開き、基底回転前庭階に流出用の小孔を開いて行い、灌流速度は10 μ l/minとした。人工外リンパ液は130 mM

NaCl, 5 mM KCl, 1 mM CaCl₂, 2 mM MgCl₂, 0.1 mM NaH₂PO₄, 10 mM NaHCO₃, 5 mM glucose, 10 mM HEPES, pH 7.4に調整した。

Palmitoyl-DL-Carnitine (Sigma)は99.5% ethanolで、Phorbol 12-Myristate, 13-Acetate (PMA) (Sigma)はDimethyl sulfoxide (DMSO)にて溶解し、1-(5-isoquinolinesulfonyl)-2-methylpiperazine dihydrochloride (H-7) (生化学工業)は蒸留水にて溶解し、さらに所定の濃度になるように人工外リンパ液で希釈した。溶媒の最終濃度はethanolについては1%であり、DMSOについては0.1%であって、溶媒の作用は無視される。

結 果

1) Palmitoyl-DL-Carnitineの作用

微小電極を小孔に刺入し約10 μ mごとに進めていくと血管条に達し、さらに電極を進め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+70 mV以上得られた例のみを採用し、ここでCMがシリコンtubeを通しての音刺激に反応して測定されることを確認した。灌流用の小孔から鼓室階より前庭階を通して1%エタノールを含む人工外リンパ液の灌流を行い、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、Palmitoyl Carnitineの試薬を含む液を充満させた別のピペットに交換し再度挿入した。

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点を示しており、灌流前のEPレベルおよび人工外リンパ灌流時のEPレベルの一部は省略してある。

1 \times 10⁻⁵M濃度のPalmitoyl Carnitineで灌流した。EPはFigure 1に示すごとくわずかに減少したのみで明らかな作用を認めることはできなかった。この間同時に測定したCMについてもその振幅にはほとんど変化は認められなかった。

濃度を1 \times 10⁻⁴Mに高めたところEPレベル及

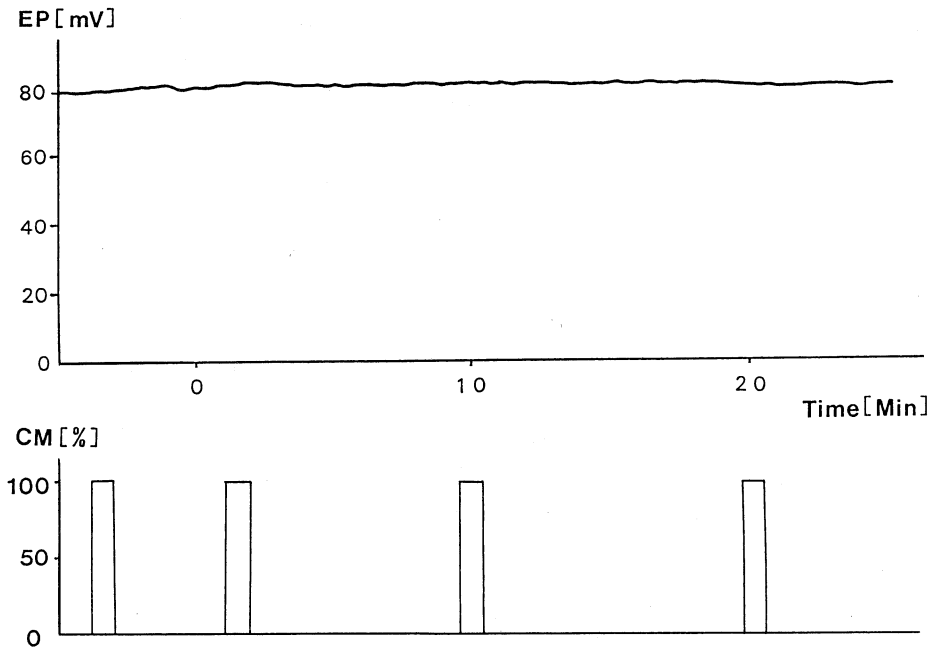


Fig. 1. EP and CM during perfusion with 1×10^{-5} M Palmitoyl-Carnitine solution. Peak CM amplitudes are indicated by % of the control on the ordinate. EP and CM decreased only slightly.

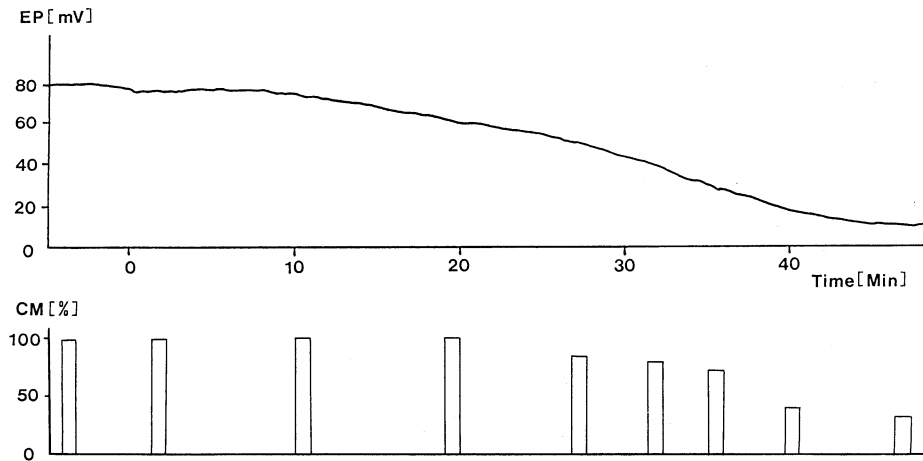


Fig. 2. EP and CM during perfusion with 1×10^{-4} M Palmitoyl-Carnitine solution. EP started to fall after 8 min of the latent period and attained +10 mV in 45 min. The CM amplitude decreased with a similar time course to the change in EP and attained a minimum value of 33 % of the control.

びCM振幅の著明な減少を認めた(Fig. 2)。EPは灌流開始約8分後より低下し始め、約45分後には+10 mVに低下した。CM振幅は灌流開始後、この例では約25分後になって減少し始め、45

分後には33%まで低下した。

EPに対する効果とCMに対する効果とは量的には必ずしも平行しておらず、CM振幅の減少は、Palmitoyl CarnitineによるEPレベルの低

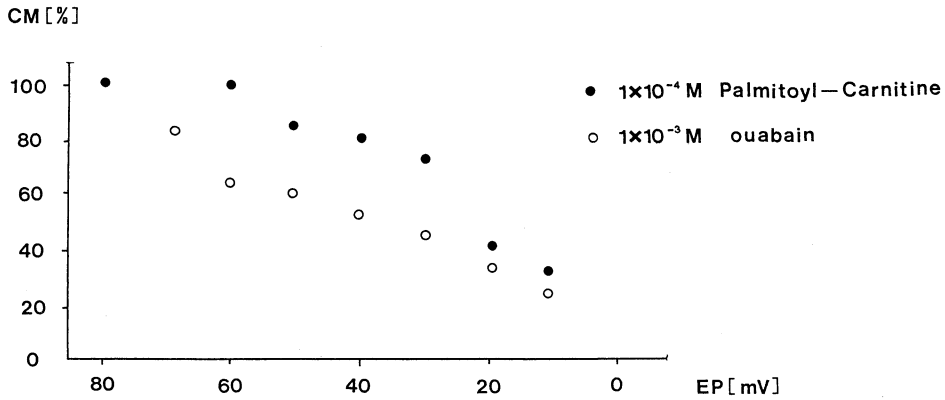


Fig. 3. Relationship between the changes in EP and CM. The CM amplitude at a given EP level was larger during Palmitoyl-Carnitine perfusion than that during ouabain perfusion.

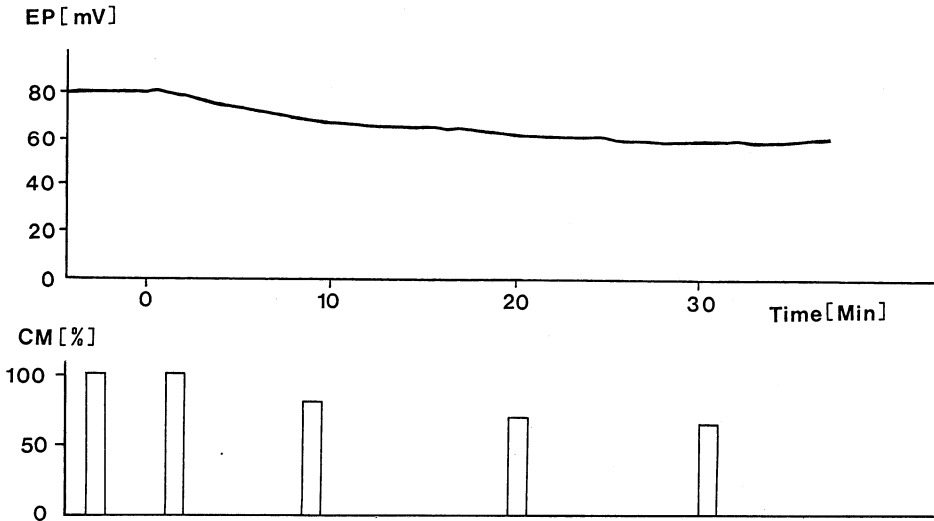


Fig. 4. EP and CM during perfusion with 5×10^{-4} M Palmitoyl-Carnitine solution. The decreases in EP and CM were less marked than those at 1×10^{-4} M.

下による二次的効果のみならず、有毛細胞に対する直接効果が含まれることが示唆された。CM振幅に対する特異的な作用を見出すために、EPの低下とCM振幅の減少との関係を求めた(Fig. 3)。CM振幅はEPレベルが+60 mVに低下するまで灌流前の対照値と同じであって変化は認められなかった。EPが+60 mV以下に低下すると、CM振幅は最初は緩徐に後には急激に減少し、EPが+60~+20 mVの範囲においては上方

凸の曲線を示している。Konishiら⁷⁾はouabainを灌流してEPとCMの変化を測定しているが、両者の関係を同様にFigure 3の中に示した。ouabain灌流によってもCM振幅はEPの低下とともに減少するが、同じEPレベルにおいて比べると、ouabainを灌流したときよりもPalmitoyl Carnitineの方がCM振幅の減少は軽度であった。興味深いことは、Palmitoyl Carnitineの濃度をさらに 5×10^{-4} Mに高めて灌流し

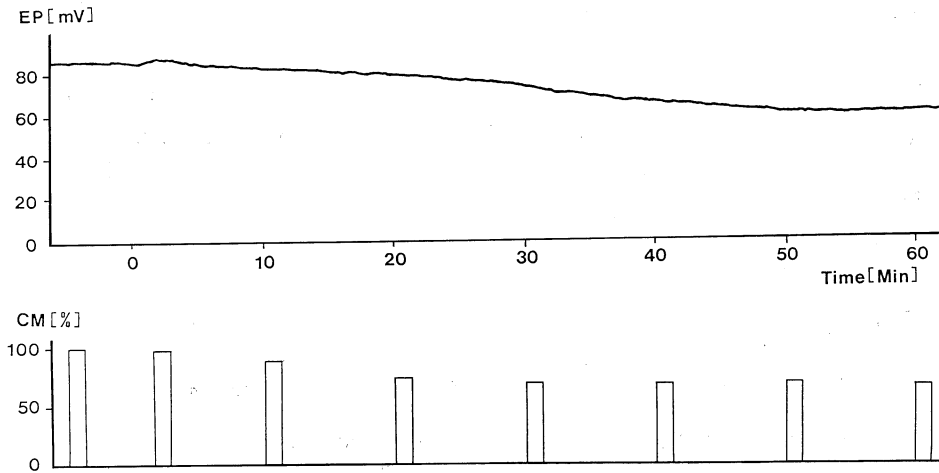


Fig. 5. EP and CM during perfusion with 5×10^{-5} M H-7 solution. EP reached +65 mV in 60 min. The CM amplitude attained a minimum value of 33 % of the control.

Table 1. Final EP level, time for final level and final CM level at different concentrations of Palmitoyl-Carnitine.

concentration	final EP level (mV)	time for final level (min.)	final CM level (%)
10^{-5} M	72~76 (n=4)	25~30	98~100
10^{-4} M	8~16 (n=5)	40~50	30~39
5×10^{-4} M	42~62 (n=5)	25~35	33~73

Table 2. Final EP level, time for final level and final CM level at different concentrations of H-7

concentration	final EP level (mV)	time for final level (min.)	final CM level (%)
10^{-5} M	72~78 (n=3)	40~45	95~100
5×10^{-5} M	62~68 (n=3)	55~70	56~72
10^{-4} M	52~58 (n=3)	55~65	42~56

たところ EP の低下の程度はかえって小さいことである。25分間の灌流にて EP は +60 mV に低下するに過ぎず、その後灌流を続けても変化は認められなかった (Fig. 4)。同時に測定した CM もまた、Palmitoyl Carnitine の濃度を 5 倍に高められているにもかかわらず 30 分後 EP が +60 mV の時に 64 % に減少するに過ぎなかった。

3 種の濃度における Palmitoyl Carnitine の EP・CM に対する結果を Table 1 にまとめた。EP の低下は 1×10^{-5} M Palmitoyl Carnitine によってはほとんど認められないが、 1×10^{-4} M の濃度では顕著に発現し、しかし 5×10^{-4} M とさらに濃度を高くするときにかえって EP 低下の程度は小さいという結果が得られた。

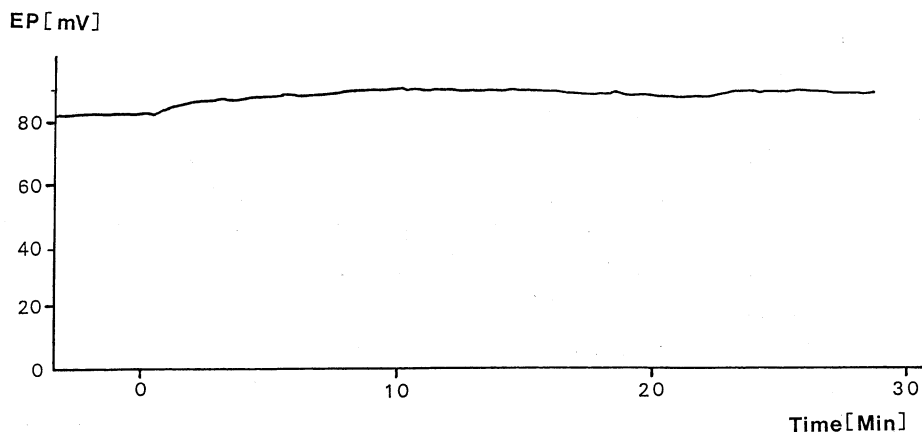


Fig. 6. Changes in EP during perfusion with 1×10^{-5} M PMA solution. EP rose from +82 mV to +89 mV, but in other experiments changes were not clearly observed in either the EP level or CM amplitude.

2) Protein kinase Cの抑制物質 H-7および活性物質 PMA の作用

1×10^{-5} M の H-7 を灌流したが 4 例全例において EP レベル, CM 振幅に有意な変化は認められなかった。H-7 の濃度を 5×10^{-5} M に高めて灌流するとき, EP は Figure 5 に示すごとく, 60 分間の灌流後に約 20 mV 低下し, CM 振幅は 60 分後に灌流前値の 66 % に減少した。さらに H-7 の濃度を 1×10^{-4} M にして灌流を行った。EP レベルの低下, CM 振幅の減少とも, 先述の 5×10^{-5} M の結果と比較してより低下する傾向を示した。

以上の結果を Table 2 にまとめて示す。 1×10^{-4} M H-7 では 5×10^{-5} M より EP・CM ともにより低下したが, 4×10^{-5} M では toxic といわれているためその評価は, はっきりしなかった。

PMA の灌流では 1×10^{-7} M, 1×10^{-6} M, 1×10^{-4} M の濃度では EP レベルに明らかな効果は認められなかった。ただ 1 例において 1×10^{-5} M PMA によって +82 mV から +89 mV まで上昇した (Fig. 6)。しかし同濃度の 3 例では上昇は認められず, PMA の効果を確認するには至らなかった。

考 察

1) Palmitoyl Carnitine 灌流による EP お

よび CM の変化

本研究の主たる実験結果は, Palmitoyl Carnitine を外リンパ腔を通して灌流するとき, EP のレベルが低下し CM の振幅が減少することを明らかにしたことである。Palmitoyl Carnitine はウシ心筋²²⁾, イヌ心筋²⁵⁾, ネズミ皮膚²⁶⁾ の組織における $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase を抑制することが報告されている。本研究において認められた EP の低下は, 血管条辺縁細胞の basolateral membrane に存在する $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase が Palmitoyl Carnitine によって抑制されることによってもたらされるものと考えられる。灌流液中の Palmitoyl Carnitine 濃度が 1×10^{-4} M のとき EP および CM に対する作用が顕著であり, EP を +8 ~ +16 mV にまで, CM を 30 ~ 39 % まで低下させた。Dainty ら²⁷⁾ はラットの大動脈内皮細胞に対する作用が $10 \sim 1000 \mu\text{M}$ の範囲の濃度で発現されることまた, Kobayashi ら²⁸⁾ はヒト赤血球に対する作用が最大に出現するのは $100 \mu\text{M}$ であることを報告している。また, in vitro の実験において $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase を抑制する濃度は $50 \sim 200 \mu\text{M}$ であり²⁵⁾, 特に 50 % に抑制する濃度 I_{50} は $44 \sim 48 \mu\text{M}$ である²²⁾ ことが知られている。本研究において EP と CM に対する作用が顕著に認められる 1×10^{-4} M の濃度は, 上記の種々な組織について調べられた濃度と比較し得

る値であった。

2) ouabain 灌流との比較

Palmitoyl Carnitine を灌流するときの EP および CM の時間的変化を ouabain を灌流するときの時間的経過と比較した (Fig. 3)。EP 低下の経過に関しては両者ともほぼ同様の経過をたどるが、CM 振幅の減少に関しては ouabain 灌流では EP に比例して減少しているのに対して Palmitoyl Carnitine 灌流では EP がある程度低下するまでよく保たれていた。Palmitoyl Carnitine は EP 低下にともなう CM 振幅の減少を防ぐ方向に作用しているといえる。

Corti 器には Calmodulin (CaM) が多量に含まれている²⁹⁾。CaM の生理的役割りは、強大音響に暴露されて多量の Ca^{2+} が外有毛細胞に流入すると、外有毛細胞に遅い収縮が引き起こされ感覚毛の剛性が高まり屈曲しにくくなることによって、有毛細胞の感度が調節されることにあると考えられている³⁰⁾。Palmitoyl Carnitine は CaM 阻害作用を有しており³¹⁾、そのために音刺激に対する感覚閾値が上昇しないのではないかと考えられる。Palmitoyl Carnitine の作用によって CaM の働きが阻害される結果、有毛細胞の感度が高いままに維持されるので EP レベルが低下しても CM 振幅が影響される程度が少ないと推測される。

3) Palmitoyl Carnitine の 2 相性作用について

$1 \times 10^{-4} M$ の濃度では EP・CM に対してその作用は顕著に発現したが、しかし $5 \times 10^{-4} M$ とさらに濃度を高めると EP 低下、CM 減少の作用はかえって減弱された。

この 2 相性の作用に関していくつかの機序が考えられる。

a) *in vitro* の実験において、Palmitoyl Carnitine の $Na^+ - K^+$ ATPase 抑制作用は、その濃度が低いときは ouabain の $Na^+ - K^+$ ATPase 抑制作用と加重されて発現するが、濃度が $50 \mu M$ 以上に高められると逆に ouabain による抑制を減弱する方向に作用すると云われる²⁵⁾。ouabain と Palmitoyl Carnitine との混合液を灌流する

実験は試みていないが、高濃度の Palmitoyl Carnitine はポンプを構成するタンパク質の磷酸化を促進するという可能性は残っている。

b) 後述のように EP の生成に PKC が関与していることが示唆された (Fig. 5)。Palmitoyl Carnitine が高濃度になると PKC activity は、かえって抑制されないという報告³²⁾ から $1 \times 10^{-4} M$ が PKC activity の最大抑制濃度である。

c) $Na^+ - K^+$ ATPase 抑制以外の作用が高濃度で発現した。

以上のことが考えられた。

4) Palmitoyl Carnitine の PKC 抑制について

Palmitoyl Carnitine は $Na^+ - K^+$ ポンプ抑制に加えて PKC の作用発現を抑制することが知られている。PKC には様々な細胞での多様な作用がある²³⁾と言われており、Yingst³³⁾ はホルモンや他の刺激により $[Ca^{2+}]_i$ が急激に増加したときに $Na^+ - K^+$ ATPase に影響を与える 3 つの細胞内タンパク質、Calnaklin, Calmodulin, PKC の意義を説明している。Palmitoyl Carnitine は PKC の活性化因子であるホスファチジルセリンと結合することにより PKC 活性を阻害し、それによって血管条辺縁細胞の basolateral membrane にある $Na^+ - K^+$ ポンプの活性が低下することによって EP が低下した可能性も考えられた。

そこでホスファチジルセリンとは競合せず PKC の触媒部位に作用してより特異的に PKC 活性を阻害する H-7³⁴⁾ を用いて実験を行った。

H-7 を灌流するとき、 $5 \times 10^{-5} M$ の濃度では EP は $+62 \sim +68 mV$ に、CM は $56 \sim 72 \%$ に減少し、 $1 \times 10^{-4} M$ では EP は $+52 \sim +58 mV$ へ、CM は $42 \sim 56 \%$ へと減少した。

Nagatani³⁵⁾ らは $10^{-5} M$ が最高濃度で $4 \times 10^{-5} M$ では toxic であると報告しており、本研究で用いられた H-7 の濃度は約 10 倍高い。一般に外リンパ灌流法により薬物を投与した場合、間質拡散して標的細胞に到達するまでの間に外リンパの連続的な流れによって稀釈されるであろうことは充分予想され、摘出した細胞に対して用いられる濃度よりも $10 \sim 100$ 倍高い濃度が必要で

あることを経験している^{12)~15)}。したがって $5 \times 10^{-5} \text{M} \sim 1 \times 10^{-4} \text{M}$ の濃度は、非特異的な毒性を発揮するほどの高濃度であるとは断定できない。むしろH-7はPalmitoyl Carnitineよりも作用は弱いもののPKCを阻害することによってEPの低下をもたらしたと判断され、PKCが血管条 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ポンプに調節的に働いている可能性が示唆された。H-7にはCaM抑制作用がなく、灌流開始後EPの低下とほぼ平行してCM振幅の減少をきたしたことは、Palmitoyl CarnitineによるCM維持へのCaM関与の裏付けとなった。

5) PKC stimulant の作用

Doi³⁶⁾らはForskolinを用いてadenylate cyclaseを賦活し $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ポンプを活性化することによってEPが可逆的に約20 mV上昇することからEP生成におけるprotein kinase Aの意義を報告している。他方、PKCが隣acinar cell

の $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ポンプ活性を規定しているという報告³⁷⁾がなされている。

そこで直接PKCを活性化するPMAにて灌流を試みたが、一例において $1 \times 10^{-5} \text{M}$ によってわずかにEPの上昇を認めた以外、明確な結果を得るには至らなかった。血管条辺縁細胞の $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ポンプは常に十分に活動している飽和状態にあり、PKCがさらに刺激されてもポンプ活性がさらに上昇することはないか、もしくは、PKCの活性化はポンプ活性に関与していないと考えられた。

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第一生理学教室 松村幹郎教授、同耳鼻咽喉科学教室 折田洋造教授に深く感謝いたします。

なお本論文の要旨は、第43回日本生理学会中国四国地方会(広島, 1991)、第1回日本耳科学会基礎学会(東京, 1992)において発表した。

文 献

- 1) Sterkers O, Ferrary E, Amiel C: Production of inner ear fluids. *Physiol. Rev.* 68: 1083-1128, 1988
- 2) Offner FF, Dallos P, Cheatham MA: Positive endocochlear potential: Mechanism of production by marginal cells of stria vascularis. *Hear. Res.* 29: 117-124, 1987
- 3) Konishi T, Butler RA, Fernandez C: Effect of anoxia on cochlear potentials. *J. Acoust. Soc. Am.* 33: 349-356, 1961
- 4) Kusakari J, Kambayashi J, Kobayashi T, Rokugo M, Arakawa E, Ohyama K, Kaneko Y: The effect of transient anoxia upon the cochlear potentials. *Auris. Nasus. Larynx.* 8: 55-64, 1981
- 5) Thalmann R, Kusakari J, Miyoshi T: Dysfunction of energy releasing and consuming process of the cochlea. *Laryngoscope* 83: 1690-1712, 1973
- 6) Kobayashi T, Ise I, Marcus DC, Thalmann R: Effect of iodoacetic acid upon cochlear potentials. *Acta Otolaryngol. (Suppl)* 435: 46-54, 1987
- 7) Konishi T, Mendelsohn M: Effect of ouabain on cochlear potentials and endolymph composition in guinea pigs. *Acta Otolaryngol.* 69: 192-199, 1970
- 8) Kuijpers W, Bonting SL: The cochlear potentials. I. The effect of ouabain on the cochlear potentials of the guinea pig. *Pflügers. Arch.* 320: 348-358, 1970
- 9) Konishi T, Hamlick PE: Ion transport in the cochlea of guinea pig. II. Chloride transport. *Acta Otolaryngol.* 86: 176-184, 1978
- 10) Kusakari J, Ise I, Comegys TH, Thalmann I, Thalmann R: 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
- 11) Boshier SK, Warren RL: Very low calcium content of cochlear endolymph, an extracellular fluid. *Nature* 273: 377-378, 1978

- 12) Sato Y : Effects of a calcium channel blocker and calcium chelating agents on cochlear electrical activity in the guinea pig. *Acta Otolaryngol. (Stockh)* 108 : 76—82, 1989
- 13) 佐藤幸弘 : 蝸牛内直流電位に対する Ca 関連薬剤の作用. *耳鼻臨床* 82 : 103—108, 1989
- 14) Handa T, Sato Y, Orita Y, Matsumura M : Inhibitory effects of heavy metal ions on endolymphatic DC potential and cochlear microphonics in the guinea pig. *Kawasaki Med. J.* 18 : 53—58, 1992
- 15) 半田 徹 : 重金属イオンの EP, CM に及ぼす効果. *日耳鼻* 94 : 1227—1233, 1991
- 16) Schwartz A, Lindenmayer GE, Allen JC : The sodium-potassium adenosine triphosphatase : Pharmacological, physiological and biochemical aspects. *Pharmacol. Rev.* 27 : 3—134, 1975
- 17) 山川純至 : 蝸牛内直流電位に対する Dimethyl Sulfoxide の作用. *川崎医学会誌* 17 : 60—64, 1991
- 18) Marcus DC, Ge X-X, Thalmann R : Comparison of the non-adrenergic action of phentolamine with that of vanadate on cochlear function. *Hear. Res.* 7 : 233—246, 1982
- 19) Marcus DC, Demott JE, Kobayashi T, Ge X-X, Thalmann R : Specificity of action of vanadate to the organ of corti. *Hear. Res.* 5 : 231—243, 1981
- 20) Ferrary E, Bernard C, Oudar O, Sterkers O, Amiel C : Sodium transfer from endolymph through a luminal amiloride-sensitive channel. *Am. J. Physiol.* 257 : F182—F189, 1989
- 21) Sellick PM, Johnstone BM : Differential effects of ouabain and ethacrynic acid on the labyrinthine potentials. *Pflügers Arch.* 352 : 339—350, 1974
- 22) Wood JM, Bush B, Pitts BJR, Schwartz A : Inhibition of bovine heart Na⁺, K⁺-ATPase by palmitoyl-carnitine and palmitoyl-CoA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 74 : 677—684, 1977
- 23) Abdel-Latif AA : Calcium-mobilizing receptors, polyphosphoinositides, and the generation of second messengers. *Pharmacol. Rev.* 38 : 227—272, 1986
- 24) Tanaka M, Gilbert J, Pappano AJ : Inhibition of sodium pump by 1-palmitoylcarnitine in single guinea-pig ventricular myocytes. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 24 : 711—720, 1992
- 25) Adams RJ, Cohen DW, Gupte S, Johnson JD, Wallick ET, Wang T, Schwartz A : In vitro effects of palmitoylcarnitine on cardiac plasma membrane Na, K-ATPase, and sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase and Ca²⁺ transport. *J. Biol. Chem.* 254 : 12404—12410, 1979
- 26) Nakadate T, Yamamoto S, Aizu E, Kato R : Inhibition of 12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced tumor promotion and epidermal ornithine decarboxylase activity in mouse skin by palmitoyl-carnitine. *Cancer Res.* 46 : 1589—1593, 1986
- 27) Dainty IA, Bigaud M, McGrath JC, Spedding M : Interactions of palmitoylcarnitine with the endothelium in rat aorta. *Br. J. Pharmacol.* 100 : 241—246, 1990
- 28) Kobayashi A, Watanabe H, Fujisawa S, Yamamoto T, Yamazaki N : Effects of 1-carnitine and palmitoylcarnitine on membrane fluidity of human erythrocytes. *Biochim. Biophys. Acta* 986 : 83—88, 1989
- 29) 高橋邦明, 原 晃, 草刈 潤 : コルチ器における Calmodulin の定量. *Ear. Res. Jpn.* 20 : 43—49, 1989
- 30) Cody AR, Russell IJ : Acoustically induced hearing loss : Intracellular studies in the guinea pig cochlea. *Hear. Res.* 35 : 59—70, 1988
- 31) Katoh N, Wrenn RW, Wise BC, Shoji M, Kuo JF : Substrate proteins for calmodulin-sensitive and phospholipid-sensitive Ca²⁺-dependent protein kinases in heart, and inhibition of their phosphorylation by palmitoylcarnitine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 78 : 4813—4817, 1981
- 32) Nakadate T, Blumberg PM : Modulation by palmitoylcarnitine of protein kinase C activation. *Cancer Res.* 47 : 6537—6542, 1987
- 33) Yingst DR : Modulation of the Na, K-ATPase by Ca and intracellular proteins. *Ann. Rev. Physiol.* 50 : 291—303, 1988
- 34) Hidaka H, Inagaki M, Kawamoto S, Sasaki Y : Isoquinolinesulfonamides, novel and potent

inhibitors of cyclic nucleotide dependent protein kinase and protein kinase C. *J. Biochem. (Tokyo)* 23 : 5041—5048, 1984

- 35) Nagatani K, Sasahara M, Waga S, Kawai J, Hazama F : Possible role of protein kinase C in proliferation of cultured aortic endothelial cells. *J. Mie. Med.* 40 : 359—362, 1990
- 36) Doi K, Mori N, Matsunaga T : The effect of adenylate cyclase stimulation on endocochlear potential in the guinea pig. *Arch. Otorhinolaryngol.* 247 : 16—19, 1990
- 37) Hootman SR, Brown ME, Williams JA : Phorbol esters and A23187 regulate $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -pump activity in pancreatic acinar cells. *Am. J. Physiol.* 252 : G499—G505, 1987