



Degeneration of the stria vascularis during development in melanocyte-deficient mutant rats (Ws/Ws rats)

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 新木, 五月 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1646

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 369号	学位授与年月日	平成15年 2月21日
氏 名	新 木 五 月		
論文題目	Degeneration of the stria vascularis during development in melanocyte-deficient mutant rats(Ws/Ws rats) (メラノサイト欠損ラット (Ws/Ws ラット) における発達過程での 血管条の変性)		

博士(医学) 新 木 五 月

論文題目

Degeneration of the stria vascularis during development in melanocyte-deficient mutant rats(Ws/Ws rats)

(メラノサイト欠損ラット(Ws/Ws ラット)における発達過程での血管条の変性)

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

メラノサイト欠損ラット(Ws/Ws rats)はW-領域の遺伝子異常のため神経堤由来のメラノサイトの欠失があり、体毛が白色で、黒眼、不妊、貧血、難聴がある。蝸牛内でもメラニン色素の異常がある。色素は基底回転では存在するが中回転より上方で消失しているパターンが多い。色素のない部分の血管条では中間細胞がなく、この部分の辺縁細胞は薄く平らで、側底膜の infolding が乏しいと報告されている。このラットは中間細胞の機能や聴覚の研究に役立つモデルと考えられるが、出生後の発達における血管条の変性はまだ調べられていない。今回の研究では、Ws/Ws ラットにおける血管条の生後の発達を透過型電子顕微鏡(TEM)、走査型電子顕微鏡(SEM)、diaminobenzidine(DAB)染色法により検討した。

〔材料ならびに方法〕

ラットにペントバルビタールの腹腔内麻酔を行った後、断頭し中耳骨胞を摘出した。

透過型電子顕微鏡

生後 1、2、3、4、6、8、14週の Ws/Ws ラットを各 3 匹、生後 1、2 週の野生種ラットを各 3 匹用いた。2.5%グルタルアルデヒドに 2 時間固定した後、緩衝液で洗浄後 1%オスミウム液で後固定し、エポンに包埋した。薄切し酢酸ウランとクエン酸鉛の二重染色をほどこし透過型電子顕微鏡(JEOL JEM-1220)で観察した。

走査型電子顕微鏡

生後 2 週、生後 4 カ月の Ws/Ws ラットを各 2 匹用いた。2%グルタルアルデヒドに一晩固定し、2%タンニン酸で処理した後、1%オスミウム液で後固定した。蝸牛管をとりだし、t-ブチルアルコールを用いて凍結乾燥した。金を蒸着した後、走査型電子顕微鏡(Hitachi S-800)で観察した。

Diaminobenzidine 染色法

生後 3 週の Ws/Ws ラット 6 匹と生後 4 週の Ws/Ws ラット 1 匹を用いた。2.5%グルタルアルデヒドに 1 時間固定後、0.35M EDTA にて 150 分間脱灰した。その後、diaminobenzidine peroxidase で 1 時間染色した。緩衝液で洗浄後、血管条を摘出し、光学顕微鏡で観察した。

〔結果〕

生後 1 週では、Ws/Ws ラットの色素のある部分、色素のない部分、野生種のいずれの標本においても、血管条の辺縁細胞は円柱状で、辺縁細胞の側底膜は未発達であった。Ws/Ws ラットの色素のある部分と野生種では中間細胞が辺縁細胞と基底細胞の間に認められた。生後 2 週では、色素のある部分と野生種の側底膜はほぼ成獣に類似して発達していた。色素のない部分の側底膜は生後 1 週よりも発達していたが、細胞間には空胞が認められた。SEM 所見では色素のある部分、色素のない部分どちらも同様の表

面が小形の辺縁細胞が認められた。生後3週では、色素のある部分の血管条は正常に発達し、辺縁細胞と中間細胞の交互嵌入が増加していた。対照的に色素のない部分では辺縁細胞の変性はより著明で、側底膜の infolding は萎縮し、辺縁細胞はかなり薄くなっていた。DAB 染色でみると、色素のない部分の毛細血管網の発達は生後4週の色素のある部分とほとんど同じであった。生後4、6週では、辺縁細胞は色素のある部分では十分に発達し、色素のない部分では変性がさらに進んでいた。毛細血管の変性は明らかではなかった。生後8週では、色素のない部分で側底膜の infolding は完全に消失し、辺縁細胞は基底細胞に接していた。毛細血管の基底膜は厚くなっていた。生後4カ月では SEM による観察で、色素のない部分の辺縁細胞は扁平大型で、不規則な形状となっていた。

〔考察〕

生後1週では、Ws/Ws ラット蝸牛管の色素のある部分とない部分、野生種で血管条の形態的变化は未だ明らかではなかった。これは血管条は生後早期では形態的に成熟せず特に辺縁細胞の側底膜が未発達であるため変性が明らかではなかったと思われる。色素のある部分では生後2週から3週までに成熟した所見を示し、野生種と差はなかった。一方、色素のない部分での辺縁細胞の側底膜の infolding は生後2週までは発達したが、生後3週では萎縮、消失した。これらの所見は辺縁細胞の側底膜が少なくとも一度は発達するがその後すぐに変性することを示している。この時期は辺縁細胞が中間細胞と密に接触し始める時期であるので中間細胞が辺縁細胞側底膜の発達、形態維持に役割を担っている可能性が示唆された。また、生後3週で色素のない部分の毛細血管の発達は生後4週の色素のある部分の毛細血管の発達と同程度であるが、生後8週では変性が認められた。生後16日で毛細血管の内皮細胞に中間細胞が接触すると報告があり、中間細胞がこの時期から毛細血管の発達、維持にも重要な役割をはたしていると思われた。

〔結論〕

今回の研究で、形態学的に血管条の毛細血管は一度は発達し、その後変性していくことがわかった。辺縁細胞の成熟、血管網の形成には中間細胞の存在が必要であり、これを欠く Ws/Ws ラットの血管条には上方で形態の明らかな異常が進行していくことがわかった。

論文審査の結果の要旨

蝸牛管における血管条は辺縁細胞、中間細胞、基底細胞の3種の細胞群から構成されている。基底細胞は一層の細胞層としてラセン靱帯に接している。辺縁細胞はリンパ液に接触しており、また、その下層にある中間細胞とは交互に嵌入しあう突起をだして、複雑に絡み合っている。これら細胞群の主な機能はカリウムイオンの再灌流への関与である。

血管条は通常基底回転から上方先端部に向かって発達するが、出生後の発達にはメラニン顆粒を含む中間細胞が深く関係している。メラサイト遊走を制御している c-kit 遺伝子に異常のある Ws/Ws ラットでは、メラノサイトの神経堤からの遊走に異常があるため、蝸牛管のとくに上方回転部にメラニン色素分布に異常が見られ、色素欠損部では血管条も変性している。また、左右の耳の蝸牛管では発達異常のパターンが異なっている。

申請者はラットを実験動物として、出生後の発達における血管条の変性を、透過型電子顕微鏡と走査

