



## SCANNING ELECTRON MICROSCOPY OF THE CELLOIDIN EMBEDDED INNER EAR SECTIONS

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-27 キーワード: 作成者: 水田, 邦博 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1388">http://hdl.handle.net/10271/1388</a>

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 111号	学位授与年月日	平成 3年11月 8日
氏名	水田邦博		
論文題目	SCANNING ELECTRON MICROSCOPY OF THE CELLOIDIN - EMBEDDED INNER EAR SECTIONS (セロイジン包埋内耳切片の走査電顕による研究)		

医学博士 水田邦博

論文題目

SCANNING ELECTRON MICROSCOPY OF THE CELLOIDIN - EMBEDDED  
INNER EAR SECTIONS

(セロイジン包埋内耳切片の走査電顕による研究)

### 論文の内容の要旨

ネコのコルチ器内部の神経走行を走査型電子顕微鏡にて観察した。従来コルチ器内部を走査電顕で観察するにはコルチ器の上部構造である reticular membrane を小さな針、メスなどで持上げて標本を作成していた。この方法は操作が難しく熟練を要し、しかも期待した部位を安定して観察し得ないという欠点があった。今回の研究はセロイジン包埋内耳から厚切り切片を作成し、セロイジンを溶解したものを標本にするという新しい方法を開発し、これを用いてコルチトンネル、ヌエル腔における神経走行を検討したものである。

(材料および方法)

成熟ネコ3匹、子ネコ6匹(80g-300g)を用いた。ペントバルビタールの腹腔内麻酔ののち断頭し中耳骨胞を開放、あぶみ骨を摘出し卵円窓から2%グルタルアルデヒドを注入し還流固定を行った。さらに24時間の固定を行ったあと5%トリクロール酢酸又は10%EDTAで脱灰した。アルコールで脱水後、Schuknecht(1974)の方法に従いセロイジン包埋を行った。約12週間で包埋は完了し、マイクロトームで100-150umの連続切片を作成した。標本は70%アルコールに保存し、随時エーテル・アルコール等量液でセロイジンを除去し使用した。乾燥はInoueら(1988)の方法に従い、t-ブチルアルコールによる凍結乾燥法を用いた。乾燥ののち標本台にカーボンペーストで固定し金を蒸着、走査型電子顕微鏡(Hitachi S-800)で観察した。

(結果)

1) 蝸牛軸に垂直な面で切断すると、コルチ器内腔は長い範囲にわたって水平に切れてくるので、内腔の観察にはこの切断面が適していた。2) 子ネコのトンネル底の観察で通常内柱細胞の基部に位置する tunnel spiral bundle がトンネルの底面を走行する例が観察された。この走行は発育の不十分な中回転から頂回転でみられた。3) 遠心性神経と言われる tunnel medial fiber は成熟ネコではトンネル腔上方を走るとされているが、なかには下降していったんトンネル底に接しそれから再上昇する線維があった。さらに未熟な例では、神経線維の束がトンネル底に見られ、tunnel medial fiber は低い位置を走行していた。4) 成熟するとヌエル腔外側面に遠心性神経の神経終末が現れるが、未熟なものでは全くみられず、ある時期に神経の成長端と思われる細い線維が認められた。

(討論)

脱灰、セロイジン包埋などは細胞壁などに多少のアーチファクトを与えるものの神経線維は従来の方法で作成したものと比較しても変化はなく、十分観察に耐えるものであった。走査型電顕による形態学的研究の一つの新しい手法を加えたと考えられる。

t-ブチルアルコールによる凍結乾燥法は標本の微細な構造をよく保ち、今回の標本のように比較的大きな切片にも応用が可能であった。20年以上も前にバルサムに封入された標本にも試み、充分観察が可能であることもわかった。

腔が開いたばかりの未熟なコルチ器では従来の方法では内腔の観察がとくに困難であるが、この方法は未熟ならせん器にも応用ができ、これまでよくわかってなかった発達途上における神経線維の走行の変容を観察するのに有用と考えられた。

各種動物、ヒトにおける蝸牛の神経線維についてはよく研究されている。ネコにおいても光顕、透過型電顕で研究がなされているが、走査型電顕による神経の研究はほとんどない。tunnel medial fiber がトンネルの低い位置を走ったり、tunnel spiral bundle がトンネル底の中央を走る所見は未熟な段階を示すものであるが、これまでの検討では報告されたことがなく、こうした観察には走査型電顕がきわめて優れている。

## 論文審査の結果の要旨

これまで蝸牛のコルチ器の立体的構造を形態学的に観察することは、その構造の複雑さや手技上の問題などのためきわめて困難であり、その方法論の確立が待たれていた。そこで、本申請者は従来の方法を改良し、簡便でしかも安定した方法を開発することにより、コルチ器内部の立体的構造と神経線維の走行を走査型電顕で観察することに成功した。

審査委員会において申請者によりなされた口頭発表と論文内容について審査した結果、本論文の特徴として次の点が評価された。

1. 成熟ネコと子ネコのコルチ器内部の神経走行を走査型電顕で観察するため、セロイジン包埋内耳から厚切り連続切片を作成し、セロイジンを除去したのち、t-ブチルアルコールによる凍結乾燥法(Inoue法)で乾燥させ、金蒸着後走査型電顕で観察するという新しい方法を確立した。この方法は、標本の微細な構造をよく保ち、比較的大きな切片にも応用可能であり、しかも以前にバルサム封入された標本にも適用されうるといふ利点があることが示された。簡便さ、再現性、精度、などの点から考えて、この方法は従来の方法より優れており、内耳の走査型電顕による形態学的研究に一つの新しい手法を導入したものであるとして、高い評価が与えられた。
2. 本法で作成した標本について、子ネコの未熟なコルチ器内にみられる発達途上の神経走行を観察し、トンネル底中央を tunnel spiral bundle が走行する例や、遠心性神経である tunnel medial fiber は成熟ネコではトンネル上方を走るのに対し、未熟な例ではトンネル底の低い位置を走行している例などを見出した。また成熟コルチ器内のヌエル腔には、その外側面に遠心性神経の神経終末が現れるが、未熟なものでは全くみられず、ある時期に神経の成長端と思われる細い線維が認められることを提示した。このように成熟ネコのコルチ器内の神経走行と対比しながら、従来まで不明であった発達途上の未熟なコルチ器内での神経線維の走行の特徴を明らかにし、新しい知見を提示した点に対し高い評価が与えられた。

なお、審査の過程において申請者の発表と関連して、次の点に対して質疑がなされた。

1. 本法により作成した標本の人工的変化や、その産物をどのように鑑別したか、
2. 本法の短所と改良点について、
3. 未熟な蝸牛と成熟蝸牛を鑑別する際、なにを指標としたか。また、両者には機能的相違があるか、
4. 観察された神経線維が afferent か efferent かをどのように鑑別したか、また、両者の比率はどれくらいか、
5. tunnel medial fiber がトンネル底部を走行する形態学的ならびに生理学的意義について、
6. 未熟と成熟のコルチ器における有毛細胞の発達の違いについて、
7. 神経終末が receptor に接する像を本法で観察できたか、
8. 蝸牛神経中での recurrent inhibiting nerve fibers の存在が想定されているが、本法で確認できたか、
9. ヒトの蝸牛の標本を本法を用いて観察した結果について、

以上の質問に対する申請者の回答はほぼ適切であり、学位授与に値する論文であると全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	山下	昭			
	副査	教授	植村	研一	副査	教授	野末道彦
	副査	教授	森田	之大	副査	助教授	藤井正子