



Displacement of the reticular lamina with and without the tectorial membrane in the guinea pig cochlea

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2013-08-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 酒井, 丈夫 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/312

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 4 1 1 号	学位授与年月日	平成 1 8 年 1 月 2 0 日
氏 名	酒 井 丈 夫		
論文題目	Displacement of the reticular lamina with and without the tectorial membrane in the guinea pig cochlea (モルモット蝸牛における蓋膜がある場合とない場合の網状膜の変異)		

博士(医学) 酒井 丈夫

論文題目

Displacement of the reticular lamina with and without the tectorial membrane in the guinea pig cochlea
(モルモット蝸牛における蓋膜がある場合とない場合の網状膜の変位)

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

コルチ器から単離された外有毛細胞は、電気刺激や化学物質の刺激によって細胞の長さが変化することが知られている。この外有毛細胞の長さの変化は、基底膜の動きを能動的・機械的に調節していると考えられている。しかし、外有毛細胞がコルチ器の中で、運動能を発揮できるかどうかは明らかではない。蝸牛の音増幅機能は網状膜、基底膜、蓋膜の働きによると考えられている。蓋膜の機能に関してはまだ十分な解明がなされていない。そこで、蓋膜がある場合とない場合の網状膜の変位を測定することにより、網状膜と蓋膜の間の微細機械的な動態を検討した。

〔材料ならびに方法〕

27匹のモルモットを用いた。ネブタール腹腔麻酔後に断頭し中耳骨包を摘出し、蝸牛の骨壁を除去した後、第3回転のコルチ器を約3/4回転採取した。摘出された標本は蝸牛軸、基底膜、ラセン靱帯、コルチ器を有している。蓋膜を有しないコルチ器標本は、蓋膜を微細鑷子を用いて取り除いて作製した。

人工外リンパ液のNaClは137mMに調節されており、外有毛細胞の収縮刺激に用いた高カリウム溶液はNaClとKClを入れ替えてK⁺が50mMになるように作製し、刺激として3分間灌流した。

特製の測定用チャンバーにコルチ器を載せ、×100微分干渉レンズを装着した倒立型ノマルスキ顕微鏡、CCDカメラ、イメージプロセッサを用いて観察し画像をビデオに記録した。

〔結果〕

高カリウム液を灌流すると網状膜には、放射方向、即ち内毛細胞からヘンゼン細胞方向へ著しい変位が生じる。蓋膜がないコルチ器では高カリウム液灌流3分後、内毛細胞の移動距離は $2.2 \pm 0.3 \mu\text{m}$ 、外有毛細胞第1列の移動距離は $3.1 \pm 0.3 \mu\text{m}$ であった。蓋膜があるコルチ器では高カリウム液灌流3分後、内毛細胞の移動距離は $1.0 \pm 0.1 \mu\text{m}$ 、外有毛細胞第1列の移動距離は $1.3 \pm 0.1 \mu\text{m}$ であった。蓋膜があるコルチ器の内毛細胞、外有毛細胞第1列の移動距離は蓋膜がないコルチ器の約半分であった。

蓋膜がないコルチ器の外有毛細胞第1列、第2列、第3列の移動距離は $3.2 \pm 0.2 \mu\text{m}$ 、 $3.1 \pm 0.3 \mu\text{m}$ 、 $3.1 \pm 0.3 \mu\text{m}$ であった。外有毛細胞第1列、第2列、第3列の移動距離の間には有意差はなかった。

〔考察〕

高カリウム液は単離外有毛細胞にゆっくりした収縮を惹起することが知られている。単離コルチ器を用いた本研究では、高カリウム液は単離コルチ器においても著しい動的变化をもたらした。

網状膜と蓋膜の間の相互作用についての研究はあまりなされていない。Reuterの電気刺激による網状膜の変位の研究(1990)では蓋膜がない蝸牛が使用されていた。Moriokaの蓋膜が温存された蝸牛を用いた音

刺激による網状膜の変位の研究(1995)は特に蓋膜についての検討はなされていない。本研究ではモルモット蝸牛における蓋膜がある場合とない場合のコルチ器の変位を比較し、コルチ器の動態における蓋膜の役割を検討した。蓋膜があるコルチ器は、ないコルチ器に比べ内有毛細胞、外有毛細胞ともに移動距離が半減していた。

蓋膜があるないにかかわらず、外有毛細胞の移動距離は内有毛細胞の移動距離よりも大きかった。この結果は内有毛細胞と外有毛細胞第1列の間をつなぐ構造体は機械的に強固なものではないことを示唆する。柱細胞は非常に堅い細胞として認識されていたが本研究では柱細胞に伸縮能があることを示唆するものであった。

〔結論〕

コルチ器の細胞を結合している構造体の伸縮性は、基底膜の動きに重要であり、蓋膜は網状膜の微細機械的動態に重要な役割をなしている。

論文審査の結果の要旨

コルチ器の網状膜下にある外有毛細胞は、電気刺激や化学物質の刺激によって細胞長が変化することが単離標本の実験で知られている。外有毛細胞長の変化は、基底膜の動きを調節し、周波数弁別に関与するのではないかと考えられているが、外有毛細胞がコルチ器の中で実際に細胞長を変化させることが、網状膜の変位につながるかどうかは明らかになってない。また、蝸牛の音増幅機能は網状膜、基底膜、蓋膜の働きによると考えられているが、蓋膜の機能に関してもよく分かっていない。そこで、申請者は蓋膜がある場合とない場合の網状膜の変位を外有毛細胞と内有毛細胞の変位を指標に測定することにより、網状膜の微細機械的な動態に対する蓋膜の役割を検討した。

実験にはモルモット27匹を用いた。ネブタールの腹腔内投与によって麻酔後に断頭し、中耳骨包を摘出し、蝸牛の骨壁を除去した後、第3回転のコルチ器を約3/4回転採取した。摘出された標本は蝸牛軸、基底膜、ラセン靱帯、コルチ器を有している。蓋膜を有しないコルチ器標本は、蓋膜を微細鑷子を用いて取り除いて作製した。単離したコルチ器は人工外リンパ液(137mM NaCl)で持続的に灌流し、外有毛細胞の収縮刺激には50mMの高カリウム溶液を用い(92mM NaCl)、刺激として3分間灌流した。特製の測定用チャンバーにコルチ器を載せ、×100の微分干渉対物レンズを装着した倒立型ノマルスキ顕微鏡、CCDカメラ、イメージプロセッサを用いて外有毛細胞と内有毛細胞の変位を観察し画像をビデオに記録した。

高カリウム液は単離外有毛細胞にゆっくりした収縮を惹起することが知られているが、網状膜に外有毛細胞と内有毛細胞が付いた状態の単離コルチ器を用いた本実験でも、高カリウム液は網状膜に著しい動的变化をもたらした。蓋膜がないコルチ器の内有毛細胞の移動距離は $2.2 \pm 0.3 \mu\text{m}$ 、外有毛細胞第1列の移動距離は $3.1 \pm 0.3 \mu\text{m}$ で、蓋膜がある場合は各々 $1.0 \pm 0.1 \mu\text{m}$ と $1.3 \pm 0.1 \mu\text{m}$ でいずれも50%以下であった。蓋膜がないコルチ器の外有毛細胞第1列、第2列、第3列の移動距離は各々 $3.2 \pm 0.2 \mu\text{m}$ 、 $3.1 \pm 0.3 \mu\text{m}$ 、 $3.1 \pm 0.3 \mu\text{m}$ で、これらの移動距離の間には有意差はなかった。

網状膜と蓋膜の間の相互作用についての研究はこれまであまりなされていない。例えば、電気刺激による網状膜の変位の研究では蓋膜がない蝸牛標本が使用されていた。蓋膜が温存された蝸牛標本を用いた音刺激による網状膜変位の研究では、特に蓋膜の有無についての検討はなされていなかった。そこで

申請者は本研究においてコルチ器の動態における蓋膜の役割に着目し、蓋膜がある場合とない場合のコルチ器の変位を初めて比較し、蓋膜がある場合はない場合に比べ内有毛細胞、外有毛細胞ともに移動距離が半減することを見出した。さらに、蓋膜の有無にかかわらず、外有毛細胞の移動距離は内有毛細胞の移動距離よりも大きいことを見出した。この結果は内有毛細胞と外有毛細胞第1列の間をつなぐ柱細胞に伸縮性があることを示唆している。柱細胞はこれまで伸縮性に乏しい細胞として認識されていたが本研究により、柱細胞にも伸縮能があることがはじめて明らかとなった。

審査委員会では、申請者がこれまで網状膜の運動に関して蓋膜の有無についての検討がなされていない点に着目し、蓋膜が網状膜の微細機械的動態に重要な役割をもつことを明らかにした点、および基底膜の動きに重要な柱細胞の伸縮性をはじめて明らかにした点を高く評価した。

審査の過程において、申請者に対して次のような質問がなされた。

- 1) 外有毛細胞の高カリウム刺激は生理的か
- 2) 高カリウムによる外有毛細胞の収縮は細胞長の変化をもたらしたか
- 3) 細胞長の変化がなぜ網状膜のradial方向の変位になるのか
- 4) 3群の比較にANOVAを用いたか
- 5) 柱細胞、ダイテルス細胞と内有毛細胞、外有毛細胞の位置関係
- 6) 蓋膜のない場合の有毛細胞変位の分散の増大は何を意味するか
- 7) 高カリウムによる網状膜変位の時間経過は有毛細胞収縮の時間経過と一致するか
- 8) 外有毛細胞の3列各々の間隔の変化を比較した意図
- 9) 外有毛細胞の生理的機能は何か
- 10) 内有毛細胞の刺激は基底膜振動かリンパ流か
- 11) 高カリウムによる刺激は外有毛細胞以外の細胞にも作用したか
- 12) 外有毛細胞収縮の機序
- 13) 網状膜の変位を見る際に固定された点は在るのか
- 14) 柱細胞が膨化したことによる有毛細胞変位への影響は
- 15) 電気刺激や薬物刺激による有毛細胞の収縮はみられなかったのか
- 16) 実験結果のような遅い時間経過の網状膜変位の生理的意味は

これらの質問の対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 福田 敦 夫
副査 梅 村 和 夫 副査 堀 田 喜 裕