

学位論文題名

蝸牛基板線維の微細構造と立体構築

—透過および走査電子顕微鏡的研究—

学位論文内容の要旨

【緒言】音が内耳の蝸牛に伝わると、蝸牛の基板は振動し、その上にのせているコルチ器の有毛細胞を刺激する。伝わってきた音の周波数により基板の振動様式は異なり、このことが蝸牛における周波数分析、すなわち音の聴き分けに大きく役立っていると考えられるが、基板線維が何か、およびどのような立体構築を示すかは不明のままである。そこで、本研究では、マウスおよびモルモットの蝸牛基板線維の微細構造を透過電子顕微鏡で、マウス蝸牛基板線維の立体構築を水酸化ナトリウム浸軟法を用いて走査電子顕微鏡で観察した。

【材料と方法】基板線維の微細構造の観察には、マウス、モルモットの蝸牛を用いた。エーテル麻酔下に、灌流固定後、蝸牛と手掌皮膚を摘出し、さらに固定、脱灰、後固定、脱水した後、エポキシ樹脂に包埋した。このブロックから厚さ1.5 μm の切片を作製し、これをトルイジンブルーで染色して光学顕微鏡で観察した。また、超薄切片を作製し、これをリンタングステン酸、酢酸ウランで染色して透過電子顕微鏡で観察した。

基板線維の立体配列の観察には、マウスの蝸牛を用いた。蝸牛を摘出後、骨迷路、膜迷路の一部を除去し、固定、脱灰、再固定した。ついで10%水酸化ナトリウム水溶液に3-4日浸軟後、蒸留水で1日洗浄した。これをタンニン酸、オスミウム酸で導電染色した後、脱水、臨界点乾燥、白金-パラジウムでイオンコーティングを施し、走査電子顕微鏡で観察した。また、一部の試料は、脱水後、スチレン-メタクリル酸樹脂に包埋し、断面を作製し、アセトンで脱樹脂した後、臨界点乾燥、イオンコーティングをし、走査電子顕微鏡で観察した。

【結果】蝸牛の基板は、コルチ器の外柱細胞付着部を境として、蝸牛軸側の弓状部とその外側の櫛状部に区別された。コルチトンネルの床となる弓状部は一層の線維層をつくり、櫛状部は二層の線維層を示していた。透過電子顕微鏡で観察すると、基板線維は一種類からなるようにみえた。基板の個々の線維は、直径は約10nmで、分枝することなく互いに並行して走り、側面像で見ると、ところどころで線路のような2本の平行な線として観察された。さらに、線維を横切るかすかな縞構造も認められた。この縞の間隔は正確な周期性を示さなかった。線維の横断像は、円形ないしは多角形を呈し、管状にみえた。一

部の線維の内腔には点状の構造が認められた。これらの基板線維の形態学的特徴は、手掌から採取した皮膚の結合組織に認められた微細線維(microfibril)の特徴によく一致していた。

水酸化ナトリウム浸軟法により処理した蝸牛を走査電子顕微鏡で観察すると、蝸牛の細胞成分は除去されて、線維成分と骨のみが残っていた。基板線維の配列は弓状部と櫛状部で異なっていた。弓状部の線維は、らせん板縁とらせん靭帯を結ぶ方向(蝸牛軸を中心とする放射方向)と蝸牛のらせん方向の二方向に交錯して走り、交織状になっていた。一方、櫛状部では、大部分の線維が放射方向に走り、交差する線維はほとんど認められなかった。断面の観察では、弓状部は線維が密集して一層になっていたが、櫛状部は線維密度により三層に区別した。蝸牛管側から、線維密度の高い蝸牛管層、線維が少なく間隙が多い中間層、そしてまた線維密度の高い鼓室階層である。この層の線維を横断する方向の断面をみると、鼓室階層は丸い断面を示す線維束の集合となっていた。

【考察】これまで光学顕微鏡、透過電子顕微鏡により基板線維の微細構造は研究されてきた。さらに近年では、免疫組織学的な手法も取り入れられて基板の研究は行われているが、基板線維の本態は未だに解明されていない。本研究は、透過電子顕微鏡による詳細な観察により、蝸牛基板線維の形態学的特徴が、微細線維(microfibril)の特徴に一致することをはじめて明らかにした。微細線維は、結合組織において、膠原線維やエラスチン線維とは異なる線維として認められ、眼球の水晶体を保持する毛様体小帯も微細線維であるといわれている。蝸牛基板では、微細線維は、音刺激による基板振動に対する機械的強度と伸縮性に関与する構造であると考えられる。

また、本研究は、組織浸軟法を利用した走査電子顕微鏡観察により、基板線維の立体構築をはじめて明らかにした。基板の弓状部と櫛状部における線維の立体構築の差異を明瞭に示し、弓状部では線維は放射方向とらせん方向の二方向に走り交織状を呈し、櫛状部では大部分の線維が放射方向に走っていた。この線維配列の差異は、基板振動が弓状部では小さく、櫛状部では大きく振動することを示唆する。すなわち、蝸牛における音周波数分析のメカニズムを理解する際に、基板の振動様式が弓状部と櫛状部で異なることを考慮する必要がある。

【結論】

1. マウス、モルモット蝸牛基板線維の微細構造、立体構築を透過電子顕微鏡、走査電子顕微鏡を用いて明らかにした。走査電子顕微鏡観察には水酸化ナトリウム浸軟法を用いた。
2. 基板線維は一種類からなり、全ての線維が直径10nmで管状構造を呈し、形態学的には皮膚の微細線維と一致していた。
3. 基板の微細線維は、音刺激による基板振動に対する機械的強度と伸縮性に関与するとみなされた。
4. 基板線維の立体構築は、弓状部と櫛状部で異なっていた。
5. 弓状部では、線維は放射方向とらせん方向の二方向に走り交織状を呈していた。一方、

櫛状部では，大部分の線維が放射方向に走っていた。

6. 弓状部と櫛状部の線維の立体構築の差は，両者の振動形式が異なることを示唆する。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 犬 山 征 夫

副 査 教 授 阿 部 和 厚

副 査 教 授 井 上 芳 郎

学 位 論 文 題 名

蝸牛基板線維の微細構造と立体構築

—透過および走査電子顕微鏡的研究—

音が内耳の蝸牛に伝わると、蝸牛の基板は振動し、その上にのせているコルチ器の有毛細胞を刺激する。伝わってきた音の周波数により基板の振動様式は異なり、このことが蝸牛における周波数分析、すなわち音の聴き分けに大きく役立っていると考えられるが、基板線維が何か、およびどのような立体構築を示すかは不明のままである。そこで、本研究では、マウスおよびモルモットの蝸牛基板線維の微細構造を透過電子顕微鏡で、マウス蝸牛基板線維の立体構築を水酸化ナトリウム浸軟法を用いて走査電子顕微鏡で観察した。

蝸牛の基板は、コルチ器の外柱細胞附着部を境として、蝸牛軸側の弓状部とその外側の櫛状部に区別された。コルチトンネルの床となる弓状部は一層の線維層をつくり、櫛状部は二層の線維層を示していた。透過電子顕微鏡で観察すると、基板線維は一種類からなるようにみえた。基板の個々の線維は、直径は約10nmで、分枝することなく互いに並行して走り、側面像で見ると、ところどころで線路のような2本の平行な線として観察された。さらに、線維を横切るかすかな縞構造も認められた。この縞の間隔は正確な周期性を示さなかった。線維の横断像は、円形ないしは多角形を呈し、管状にみえた。一部の線維の内腔には点状の構造が認められた。これらの基板線維の形態学的特徴は、手掌から採取した皮膚の結合組織に認められた微細線維(microfibril)の特徴によく一致していた。

水酸化ナトリウム浸軟法により処理した蝸牛を走査電子顕微鏡で観察すると、蝸牛の細胞成分は除去されて、線維成分と骨のみが残っていた。基板線維の配列は弓状部と櫛状部で異なっていた。弓状部の線維は、らせん板縁とらせん靱帯を結ぶ方向(蝸牛軸を中心とする放射方向)と蝸牛のらせん方向の二方向に交錯して走り、交織状になっていた。一方、櫛状部では、大部分の線維が放射方向に走り、交差する線維はほとんど認められなかった。断面の観察では、弓状部は線維が密集して一層になっていたが、櫛状部は線維密度により三層に区別した。蝸牛管側から、線維密度の高い蝸牛管層、線維が少なく間隙が多

い中間層，そしてまた線維密度の高い鼓室階層である。この層の線維を横断する方向の断面をみると，鼓室階層は丸い断面を示す線維束の集合となっていた。

これまで光学顕微鏡，透過電子顕微鏡により基板線維の微細構造は研究されてきた。さらに近年では，免疫組織学的手法も取り入れられて基板の研究は行われているが，基板線維の本態は未だに解明されていない。今研究は，透過電子顕微鏡による詳細な観察により，蝸牛基板線維の形態学的特徴が，微細線維(microfibril)の特徴に一致することを始めて明らかにした。微細線維は，結合組織において，膠原線維やエラスチン線維とは異なる線維として認められ，最近では伸縮性をもつとの報告もある。蝸牛基板では，微細線維は，音刺激による基板振動に対する機械的強度と伸縮性に関与する構造であると考えられる。

また，今研究は，組織浸軟法を利用した走査電子顕微鏡観察により，基板線維の立体構築を始めて明らかにした。基板の弓状部と櫛状部における線維の立体構築の差異を明瞭に示し，弓状部では線維は放射方向とらせん方向の二方向に走り交織状を呈し，櫛状部では大部分の線維が放射方向に走っていた。この線維配列の差異は，基板振動が弓状部では小さく，櫛状部では大きく振動することを示唆する。

蝸牛の聴覚機能の根本は，基板振動にあり，これに関連する基板の性状や構造はこれまでかなり解明されたものとして蝸牛機能は説明されてきた。今研究における新しい所見は，蝸牛のメカニズムを説明する重要な因子であり，蝸牛機能はこれらを考慮に入れて検討することにより，さらに詳細に解明されることが期待される。

公開発表では，副査の井上教授より，微細線維の構造などに関して，基板と難聴に関してなど質問があり，また副査の阿部教授より，基板線維の由来，基板の緊張性，基板振動の弓状部と櫛状部の差の有用性に関する質問があった。さらに，寺沢教授より微細線維の縞，その起源に関して質問があった。申請者は，研究結果や文献的考察をもとに，概ね妥当な回答を行った。

審査員一同は，これらの成果を評価し，申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。