

氏 名（本籍）	きく ち とし ひこ 菊 地 俊 彦
学位の種類	博 士 （ 医 学 ）
学位記番号	医 第 2 4 0 0 号
学位授与年月日	平 成 4 年 2 月 26 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 2 項該当
最 終 学 歴	昭 和 58 年 3 月 25 日 東北大学医学部医学科卒業
学位論文題目	前庭 Kinocilium の微細構造とその運動特性

（主 査）

論文審査委員	教授 高 坂 知 節	教授 近 藤 尚 武
	教授 伊 藤 恒 敏	

## 論文内容要旨

前庭 kinocilium の運動能については、欠落しているという考え方がこれまで有力であったが、それに対する明確な論拠は呈示されておらず、また、運動性を考える上で不可欠ともいえるその内部微細構造についても、未だ充分には解明されていない。発生学的側面からの研究も充分にはなされておらず、前庭 kinocilium の胎生期における出現および分化の過程については、未だ詳細には解析されていないのが現状である。

そこで、繊毛内における微小管および dynein 等の関連タンパク、また glycocalyx 等の細胞外糖鎖の形態学的解析には必須ともいえるタンニン酸固定法を用いて、モルモットおよびマウス前庭感覚上皮を固定し、前庭 kinocilium の微細構造および細胞外連結構造を透過型電子顕微鏡にて詳細に解析し、その運動特性および機能的意義につき検討するとともに、走査型電子顕微鏡および透過型電子顕微鏡を用いて、マウス胚子における前庭 kinocilium の初期発生過程を経時的に検索することを本研究の目的とした。

モルモット、マウスいずれにおいても、前庭 kinocilium は通常の繊毛とは異なった特異的な微細構造を有していることが本研究において初めて明らかにされた。

第一に、中心部に存在すべき central pair が kinocilium においては存在せず、その代わりに電子密度の比較的高い amorphous な構造物が観察され、いわゆる 9 + 0 構造を呈していることが示された。

また、第二の特徴として、outer dynein arm, radial spoke 等の構造物は明らかに存在するものの、inner dynein arm は選択的に欠損していることが判明した。

感覚毛束の先端に近い部分では kinocilium が微細な細胞外繊維状構造 (stereo-kinociliar-bonds) を介して、周囲の stereocilia と連結されている像が観察された。これら細胞外連結構造が前庭 kinocilium に付着する部位においては、裏打ち様の構造物が観察された。この構造物は outer dynein arm の近傍に位置していたが、その間には何等明確な結合は認められず、形態学的観点からは両者間には機能的関連はないものと推測された。

一方、前庭 kinocilium の前駆体は、マウスにおいては、耳板形成以前の胎生初期の段階に既にその存在が認められた。また、この現象は耳板予定領域のみならず、体表外胚葉細胞に普遍的に認められるものであることが判明した。この発生の初期段階にみられる繊毛は、通常の繊毛とは異なり、しばしば細胞の深部より生じており、また、構造的には central pair および dynein arm が欠損しており、いわゆる primary cilium の範疇に属するものであった。このような基本構造は成熟した前庭 kinocilium と形態学的に極めて類似しており、前庭 kinocilium は内耳原基形成

以前に既に存在する primary cilium の誘導体であることが強く示唆された。

繊毛運動においては, outer dynein arm はその運動性の主体をなすものではなく, むしろ inner dynein armこそが必須の構造物であるとする考え方が現段階では有力となっている。従って, 今回の研究により前庭 kinocilium において inner dynein arm が特異的に欠損していることが明らかにされたことは, 前庭 kinocilium における運動性の欠落を強く示唆するものであり, 従来の定説を形態学的立場から初めて裏付けることができたといえる。

前庭 kinocilium は, 耳石膜やクプラ等の上部構造に引き起こされた物理的振動を, stereokinociliar bonds を介して, stereocilia に伝達する為の鋭敏なセンサーとして機能している可能性が示唆されるが, 微細な物理的振動を正確に伝達するという観点からみて, 前庭 kinocilium 自体が運動性を持たないということは極めて理にかなったことといえよう。

## 審査結果の要旨

聴平衡覚の末梢受容器である蝸牛コルチ器や前庭感覚上皮には機械電気変換機構を司る重要な構造として感覚細胞表面に規則正しく配列した感覚毛が存在する。最近の生理学的研究の進歩により極性を有する感覚毛束の興奮側への偏位が感覚細胞膜のイオンチャンネルの開孔を誘い細胞を脱分極へと導くことが明らかにされたが、それらの微細構造の精細については不明の点が多々残されていた。その最大の理由は、内耳膜迷路が厚い骨組織に囲まれているため容易に到達できないこと、並びに細胞膜表面の糖鎖構造の生理的な固定が困難なために極めて人工変化を受け易い組織であることなどが挙げられる。

本論文では、ハートレー系白色モルモットおよび Jel : ICR 系マウスを用い、0.2~1.0%タンニン酸を含む 0.1M カコジル酸緩衝 2.5% グルタルアルデヒド局所灌流固定を行うことによって従来の微細構造に比して極めて人工変化の少ない標本を得て前庭感覚上皮細胞の Kinocilium・Stereocilia の微細構造並びに Kinocilium の初期発生について検討した。

その結果、前庭感覚毛 Kinocilium は、気管粘膜等に見られる通常の respiratory cilia と違って、①中心部に存在すべき central pair が存在しないこと、②中心部には電子密度の高い無構造物質が存在すること、③peripheral doublets に付着する outer dynein arm は存在するが inner arm は選択的に欠落していること、④nexin arm は認めないこと、などが明らかになった。また、Kinocilium の初期発生像として、①8日齢胚子において耳板予定領域が既に観察され、そこに1本/1細胞の割合で幼若な cilia 構造が認められた。②その横断像は central pair を欠落しかつ dynein arm も認めなかった。

以上の Kinocilium の形態的特徴より、その運動性について考察し、繊毛運動にとって必須の構造物として有力視されている inner dynein arm の欠落する前庭 Kinocilium においてはその運動性は欠如しているか、例えあっても極めて制限されたものであろうと結論した。又、形態的にみて、Kinocilium は感覚毛束中最も長い構造物であり、先端は耳石膜と側方では Stereocilia と連繋しているところから Kinocilium は機械的刺激を Stereocilia へより効率良く伝達する媒体としての役割をになっている可能性のあることを示唆した。

本論文の内容は既に英文論文として Acta Otolaryngol. (Stockh) に掲載されており相応の評価が与えられている。よって、博士論文として十分に値するものと判断する。