

氏 名 (本籍) 香 取 幸 夫

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 医 博 第 1 2 1 2 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 6 年 3 月 25 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当

研 究 科 專 攻 東 北 大 学 大 学 院 医 学 研 究 科
(博 士 課 程) 外 科 学 系 專 攻

学 位 論 文 題 目 Fine structure and lectin histochemistry of the
apical surface of the free neuromast of
Lampetra japonica.

(ヤ ツ メ ウ ナ ギ 側 線 器 頂 面 の 微 細 構 造 と レ ク チ ン
組 織 化 学)

(主 査)

論 文 審 査 委 員 教 授 高 坂 知 節 教 授 近 藤 尚 武

教 授 名 倉 宏

論文内容要旨

【はじめに】

ヤツメウナギは無顎綱円口類に属し、脊椎動物門の最下位に位置づけられ、一对の前庭器と体表に露出する数百個の露出型の側線器（遊離感丘）を備える。感丘は体表の水流の方向と変化を知覚する振動受容器であると考えられており、その感覚上皮は、高等脊椎動物の内耳の蝸牛および前庭器と同様に、有毛細胞と支持細胞よりなる。

本研究は、ヤツメウナギの遊離感丘の感覚上皮頂面に振動受容に関するいかなる装置が分化しているかを検討するため、細胞突起と細胞外物質について電子顕微鏡による観察を行った。さらに、この振動受容器としては原始的と見なされる形態において、感覚上皮頂面の細胞外物質に対してレクチン組織化学を行った。

【材料および方法】

実験には、石狩川（北海道江別市）にて捕獲されたヤツメウナギを0-10°Cの淡水中で飼育して用いた。

- 1) 実体顕微鏡下での体表の遊離感丘の数、分布の観察。麻酔下に10匹の体表を観察した。
- 2) 走査型および透過型電子顕微鏡による細胞突起および膜表面物質の観察。細胞外物質を保存し、電子線コントラストを強調するために、1%タンニン酸を含む2.5%グルタルアルデハイドによる前固定と0.4%オスミウム酸による後固定を行った。
- 3) 膜表面物質にたいするレクチン組織化学。フェリチン標識レクチン（EY-labolatory社製）を用いて包埋前反応法を行った。対照実験としては、0.2Mのhaptin sugarを加えた反応液を用いた。

【結 果】

平均体長50cmのヤツメウナギにおいては各体側に107ないし131個の遊離感丘が認められた。それらの半数以上は頭頸部に分布し、一定の配列を示した。

感丘是一对の皮膚の隆起とその中心を走る溝よりなり、溝の中に長径100-300 μ m、短径70 μ mの長円形のpitを形成していた。pitの中央には帯状の感覚上皮領域があり、有毛細胞と支持細胞より構成される。有毛細胞頂面には、溝の長軸方向に一致して偏在する1本の動毛(kinocilium)と15-20本の不動毛(stereocilia)を認めた。動毛は長さ10 μ m、直径0.24 μ mで典型的な9+2の微小管束を備えていた。不動毛は長さ0.3-1.0 μ m、直径0.12 μ mであり、

支持細胞の微絨毛（1.0–2.0 μm ）に比べて短く、内部には直径約 6 nm の中心細線維が認められた。高等動物の振動受容器の動毛–不動毛間および不動毛間に見られる架橋構造（cross-link, tip-link）に類似の構造が認められた。

支持細胞頂面は膜表面物質に富み（厚さ約 0.2 μm ）、直径約 0.12 μm の微絨毛はその豊かな糖衣によって隣接する微絨毛と連絡されていた。一方、有毛細胞頂面は膜表面物質に乏しく、しばしばリン脂質の変性像と思われるミエリン様の層板構造が認められた。

4 種のレクチン（PNA, GS-1, SBA, WGA）が有毛細胞と支持細胞の膜表面物質に陽性反応を示したが、3 種のレクチン（RCA-1, MPA, ConA）は支持細胞の膜表面物質にのみ陽性を示した。

【考 察】

ヤツメウナギ感丘の有毛細胞の不動毛の長さは、多くの脊椎動物の振動受容器の場合と異なり、隣接する支持細胞の微絨毛より短い。有毛細胞頂面では唯一高く突出している動毛が、振動受容に大きな役割を担っていると考えられる。一方、動毛と不動毛の配列は、高等動物の振動受容器に類似して、極性を示しており、不動毛も機械的刺激受容に一定の役割を担っている可能性が考えられた。また、不動毛間には、高等動物の cross-link, tip-link に類似する 2 種類の架橋構造が認められ、これらは振動に対する修飾的装置のほぼ完成された姿として、すべての脊椎動物に備わることが推察される。

ヤツメウナギ感丘においては、有毛細胞頂面の膜表面物質が質、量とも、支持細胞のそれと異なる。有毛細胞頂面を被う膜表面物質は半閉鎖的な領域をなし、糖衣に富む支持細胞の領域に囲まれる。体表の過剰な刺激から有毛細胞頂面が保護されているものと解釈される。この有毛細胞頂面には、高等動物の振動受容器において陽性反応を呈することが報告されているレクチン；WGA, PNA, SBA の陽性反応が認められた。ここでは振動受容に適する特殊化された環境が形成され、この環境は硬骨魚の管状感丘や高等脊椎動物の膜迷路に受け継がれていくことが推察される。

審査結果の要旨

香取論文では、ヒト聴覚・平衡覚の末梢受容器と同様の機構を持ち、振動受容器として機能しているヤツメウナギの側線器を電子顕微鏡レベルで検索し、機械電気変換受容器に共通する基本的な構造を明らかにして、より分化した機能との関連について論じている。

方法としては、電顕標本作成にあたり、1%タンニン酸を含む2.5%グルタルアルデハイドの前固定と0.4%オスミウム酸による後固定をおこなった。また、膜表面物質に対するレクチン組織化学も併せて行っている。その結果、

- 1) 平均体長50cmのヤツメウナギの体側には107-131個の遊離感丘があり、その半数以上は頭頸部に分布し、一定の配列を示すこと。
 - 2) 感丘は一对の皮膚の隆起とその中心を走る溝よりなり、その中に長径100-300 μ m、短径70 μ mの長円形のpitを形成していたこと。
 - 3) 有毛細胞頂面には、溝の長軸方向に一致して偏在する1本の動毛と15-20本の不動毛を認めること。
 - 4) 動毛は典型的な9+2パターンを示し、不動毛は支持細胞の微絨毛より短く0.3-1.0 μ mの長さで内部に約6nmのフィラメンツを納めていること。
 - 5) 動毛-不動毛間並びに不動毛間に明瞭な架橋構造を認めること。
 - 6) 支持細胞の微絨毛間には豊かな糖衣によって被われ互いに連結していること。逆に有毛細胞は膜表面物質に乏しく、リン脂質の変性像と思われる高電子密度のミエリン様構造を認めること。
 - 7) 4種のレクチン(PNA, GS-1, SBA, WGA)が有毛細胞と支持細胞の表面物質に陽性、3種のレクチン(RCA-1, MPA, ConA)は支持細胞のみ陽性反応を示したこと。
- などの所見を明らかにした。

以上のことから、ヤツメウナギ側線器では唯一高く突出している動毛の役割が重要であるが、架橋されている不動毛も少なからず役割分担していて、そこには既にtip-link, cross-linkの2種類の構造が完成されているところから機能的にもかなり分化したものと推定できる。また、有毛細胞・支持細胞の表面物質に各種のレクチンの存在が証明されたことは、聴器・平衡器における蓋膜・耳右膜への分化に重要な手がかりを与えたもので、特に支持細胞の特異的レクチンの存在に関する新知見は極めて示唆に富むものである。よって、本論文は振動受容器に関する創造的研究として学位論文に値すると結論した。