

氏名	すがわら みちこ 菅原 路子		
授与学位	博士(工学)		
学位授与年月日	平成12年3月23日		
学位授与の根拠法規	学位規則第4条第1項		
研究科, 専攻の名称	東北大学大学院工学研究科(博士課程) 機械電子工学専攻		
学位論文題目	外有毛細胞の機械的特性の解明		
指導教官	東北大学教授 和田 仁		
論文審査委員	主査 東北大学教授	和田 仁	東北大学教授 佐藤 正明
	東北大学教授	谷 順二	東北大学教授 林 一夫
	東北大学助教授	松本 健郎	

論文内容要旨

第1章 緒論

空気の粗密波である音は、鼓膜、耳小骨連鎖からなる中耳で機械振動となり、内耳蝸牛へ伝播する。そして、蝸牛内の基底板と呼ばれる膜が振動する。この基底板上には、コルチ器と呼ばれる細胞群が存在し、この部分で、機械振動が電気信号に変換される。

近年、コルチ器内に存在する聴覚の感覚細胞の一つである外有毛細胞 (outer hair cell: OHC) が、細胞内外の電位差、すなわち膜電位(membrane voltage)の変化により自ら伸縮することが明らかとなった。OHCは、この伸縮運動に伴い力を発生し、基底板振動を増幅すると推察されており、このような増幅メカニズムにより、聴覚の鋭敏性が達成されているとする説が、現在の有力である。しかし、実際に生体内でOHCの伸縮運動およびそれに伴い発生する力を計測した例は皆無であり、そのメカニズムには不明な点が多い。

本論文では、OHCの特異な細胞側壁の構造を考慮に入れたシェルモデルを構築し、細胞側壁の弾性特性の検討を行った。次に、細胞の伸縮運動の源と推察されているタンパク質モータの機能を組み込んだOHCのモデルを構築し、細胞の伸縮運動およびそれに伴い発生する力を求めた。その際、タンパク質モータの分布、密度、さらには細胞側壁の硬さの違いによる影響を考察した。また、OHCの粘弾性特性にも注目し、細胞の単軸引っ張り試験を行うとともに、3要素線形粘弾性モデルを構築し、粘弾性特性がOHCの伸縮運動におよぼす影響を検討した。

第2章 外有毛細胞の弾性特性

OHCの弾性特性解析にあたり、細胞膜(plasma membrane)および細胞骨格(cortical lattice)を考慮に入れたOHCの2層円筒シェルモデルを構築した(Fig. 1)。ここで、細胞膜は等方体、細胞骨格は直交異方体として扱った。

初めに、これまで報告されているOHCの内圧負荷実験の結果を、本モデルによる数値解析結果と比較した。細胞骨格の長さ方向に対する円周方向のヤング率の比を $ratio$ とし、この値をパラメータとして比較

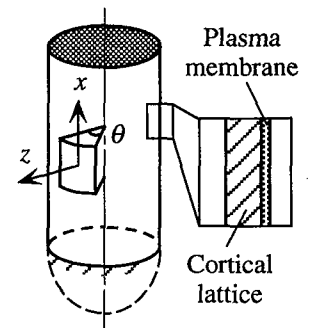


Fig. 1 Double layer cylindrical shell model of the OHC.

の結果をまとめると、Fig. 2が得られた。これより、細胞骨格のスティフネスは、*ratio*、すなわちその異方性により異なることが明らかとなった。次に、これまで報告されている圧縮力負荷実験と本モデルによる解析結果を比較した結果、Fig. 3に示されるように *ratio* は2.2となり、OHCの細胞骨格は異方性を有することが示唆された。さらに、Fig. 2およびFig. 3より、細胞側壁の物性値が得られた。

また、Fig. 1に示すOHCの2層モデルによる解析結果を1層異方体モデルによる解析結果と比較し、細胞側壁の構造と物性値の関連を検討した。その結果、OHCの細胞側壁の硬さは主に細胞骨格によるものであることを明らかにした。

第3章 外有毛細胞の伸縮挙動特性

細胞側壁に存在すると推察され、伸縮運動の源と考えられているタンパク質モータの機能を組み込んだモデルを構築するにあたり、次のような仮定を導入した。

- (1) OHCの細胞側壁は1層直交異方体とする。
- (2) 細胞側壁の弾性要素とモータ要素は直列に連結する。
- (3) 細胞側壁に生じる応力や細胞の膜電位の変化に従いモータ要素は形状変化を生じ、その際モータ要素は、compact state および extended state の2状態をとる。

これらの仮定のもとに、第2章で構築したモデルにタンパク質モータの機能を組み込み新たにOHCモデルを構築し、細胞の伸縮運動およびそれに伴い発生する力の解析を行った。

初めに、細胞側壁の異方性と細胞が発生する力の関連を検討した結果、定量的な解析を行うためには細胞側壁の異方性を考慮に入れることが重要であることを指摘した。

次に、細胞側壁におけるタンパク質モータの分布と細胞が発生する力の関連を調べた。解析結果をFig. 4に示す。Fig. 4において、実線はタンパク質モータが細胞全体に分布する場合、点線はタンパク質モータが細胞基部から20~80%の範囲、すなわち細胞中央部に集中して分布する場合に細胞が発生する力を表す。図より、タンパク質モータが細胞中央部に集中して分布するほど、細胞はより大きな力を発生することが明らかとなった。実際の細胞では、タンパク質モータが中央部にのみ分布することが示唆されているが、生体内における細胞と他の組織との構造関係を考慮すると、このような分布は基底板を加振するうえで都合良いと推察された。

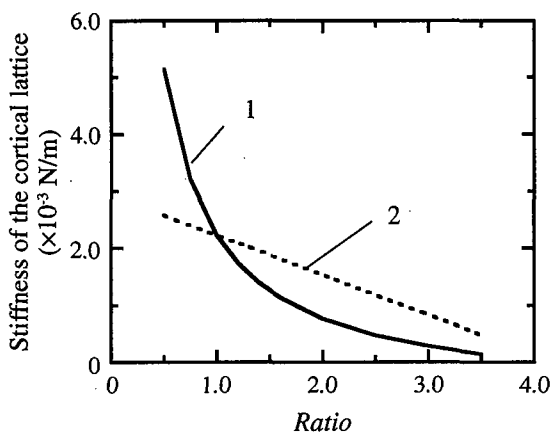


Fig. 2 Relationship between the ratio and the stiffness of the cortical lattice. 1, Axial stiffness. 2, Circumferential stiffness. *Ratio* is the ratio of circumferential Young's modulus to axial one.

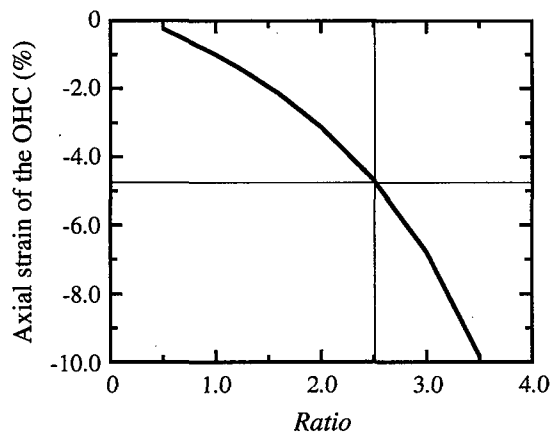


Fig. 3 Relationship between the ratio of the cortical lattice and the axial strain of the OHC when the axial force of -10nN is applied to the cell. The thin line which is parallel to the horizontal axis represents the reported measurement result.

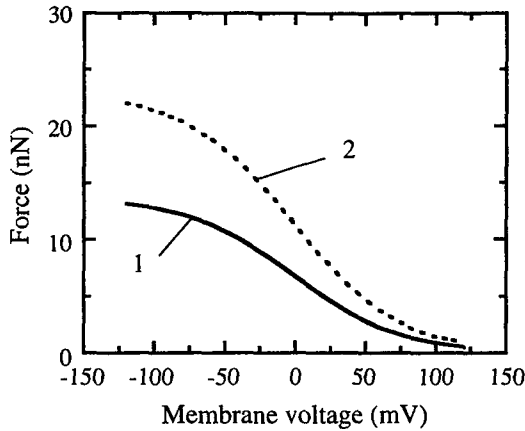


Fig. 4 Effect of the distribution of the motor protein along the OHC lateral wall on the force generation of the cell. 1, Protein motor distributes along whole lateral wall of the cell. 2, Protein motor distributes 20 to 80% from the basal end of the cell.

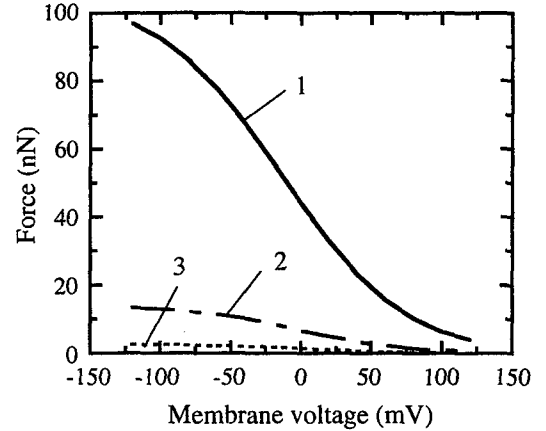


Fig. 5 Effect of the distribution of the motor protein along the OHC lateral wall on the force generation of the cell. 1, OHC length $l = 30\mu\text{m}$. 2, $l = 60\mu\text{m}$. 3, $l = 90\mu\text{m}$.

さらに、OHCの長さや細胞が発生する力の関係について検討した。OHCの長さの違いにともなう、タンパク質モータの分布密度および細胞側壁の硬さの違いを考慮に入れ、細胞が発生する力を求めた結果、Fig. 5に示されるように、細胞の長さが短いほど発生する力は大きくなることが明らかとなった。生体内において、短い細胞は基底板の硬い部分に位置し、長い細胞ほど基底板の柔らかい部分に位置することから、このような細胞長による発生する力の違いは、細胞が効率良く基底板振動を増幅することを示唆するものといえた。

第4章 外有毛細胞の粘弾性特性

これまでOHCに関する研究では、弾性特性について多く検討されてきたものの、粘弾性特性に関する報告はほとんどない。そこで、本章では、粘弾性特性がOHCの伸縮運動に及ぼす影響について検討した。

初めに、OHCの単軸引っ張り試験を行い、細胞に負荷された力と細胞に生じる変位の関係を求めた後、OHCの2次元3要素粘弾性モデルを構築し、解析結果を計測結果と比較した。そして、モデルにおける各パラメータ値の決定を試みた。また、第3章と同様の方法でタンパク質モータの機能をモデルに組み込み、OHCの粘弾性特性が細胞の伸縮運動に及ぼす影響を調べた。その結果、膜電位の変化による細胞の長さ、細胞側壁に生じる応力、さらにはタンパク質モータの状態の変化のいずれにも、粘弾性の影響はほとんどみられないことが明らかとなった。従って、OHCの伸縮運動解析において、粘弾性特性を考慮に入れる必要性は少ないことが示唆された。

第5章 結論

本章では、各章で得られた知見をまとめている。

審査結果の要旨

会話領域における鼓膜の振幅は、わずか数ナノメートルにすぎないが、ヒトは小さな音でもはっきり認識することができる。この聴覚の鋭敏な判別機能は、内耳蝸牛内におけるエネルギー増幅機構によると推察されており、その源は、蝸牛内に存在する外有毛細胞自身の能動的な伸縮運動およびそれに伴う力発生メカニズムであると指摘されてきた。しかし、計測によるそれらの解明には限度があり、未だ不明な点が多い。本論文は、理論解析により外有毛細胞の伸縮運動およびそれに伴う力発生メカニズムを明らかにしたもので、全編5章よりなる。

第1章は緒論であり、研究の背景と目的を述べている。

第2章では、細胞側壁の微細な構造を考慮に入れ、外有毛細胞の弾性モデルを構築している。また、モデルによる解析結果とこれまでに報告された計測結果とを比較することにより、細胞側壁の物性値を求めるとともに、細胞側壁の構造と物性値との関連を検討した結果、外有毛細胞の細胞側壁の硬さは、主に細胞骨格によるものであることを指摘している。このような細胞側壁の弾性特性に関する詳細な解析は初めてであり、外有毛細胞の機械的特性を考える上で重要な知見である。

第3章では、外有毛細胞の伸縮運動の源と考えられているタンパク質モータの機能を考慮に入れたモデルを構築している。細胞の伸縮運動およびそれに伴い発生する力を検討した結果、タンパク質モータが細胞側壁中央部に集中して分布するほど細胞が発生する力は大きく、また長さが短い細胞ほど発生する力は大きいことを指摘している。このような解析は、生体内における外有毛細胞の力発生メカニズムを解明する上で、重要な成果である。

第4章では、粘弾性特性が外有毛細胞の伸縮運動に及ぼす影響について検討している。細胞の単軸引っ張り試験を行うとともに、タンパク質モータの機能を考慮に入れた外有毛細胞の2次元3要素線形粘弾性モデルを構築し、計測結果と解析結果を比較した結果、外有毛細胞の粘弾性特性がその伸縮運動に及ぼす影響は少ないことを指摘している。このような解析はこれまで報告がなく、貴重な知見である。

第5章は結論である。

以上要するに本論文は、数値解析により外有毛細胞の機械的特性、特に細胞の能動的な伸縮運動に伴う力発生メカニズムを明らかにしたもので、生体工学の発展に寄与するところが少なくない。

よって、本論文は博士（工学）の学位論文として合格と認める。