

## 発育中のゴールデンハムスターにおける Marginal Pillar の電子顕微鏡的観察

中川のぶ子

発育中のゴールデンハムスターにおける蓋膜の外側縁と marginal pillar (MP) について透過電子顕微鏡で観察した。

MP の成分は、生後3日目から第3列目のダイテルス細胞によって分泌された。MP は生後7日目から柱状を呈し、第3列目のダイテルス細胞の微絨毛の著明な延長を伴い、蓋膜の辺縁部の下面に接着した。MP は生後10日目に完成し、蓋膜が完成するまで、その外側縁を支持したが、第3列目のダイテルス細胞の微絨毛は MP の内側部で萎縮・消失し、辺縁部で残存した。MP は生後16日目に消失し始め、生後18日目に完全に消失した。

(平成元年10月24日採用)

### Transmission Electron Microscopy of the Marginal Pillar in Postnatal Golden Hamsters

Nobuko Nakagawa

The lateral margin of the tectorial membrane (TM) and the marginal pillar (MP) of postnatal golden hamsters (*Mesocricetus auratus*) were studied by transmission electron microscopy.

The components of the MP were secreted by the third row of Deiters' cells from the 3rd day after birth. The MP showed column-like structures attended by remarkable elongation of the microvilli of the third row of Deiters' cells on the 7th day, and attached itself to the lower surface of the lateral margin of the primordial TM. Although the MP was completed on the 10th day and supported the external border of the TM until it fully matured, the microvilli of the third row of Deiters' cells had become shorter along the base of the MP with the exception of those in the marginal portion. On the 16th day, the MP began to disappear, and it completely disappeared on the 18th day. (Accepted on October 24, 1989) *Kawasaki Igakkaishi* 15 (4) : 575-585, 1989

**Key Words** ① Organ of Corti ② Development ③ Marginal pillar  
④ Tectorial membrane

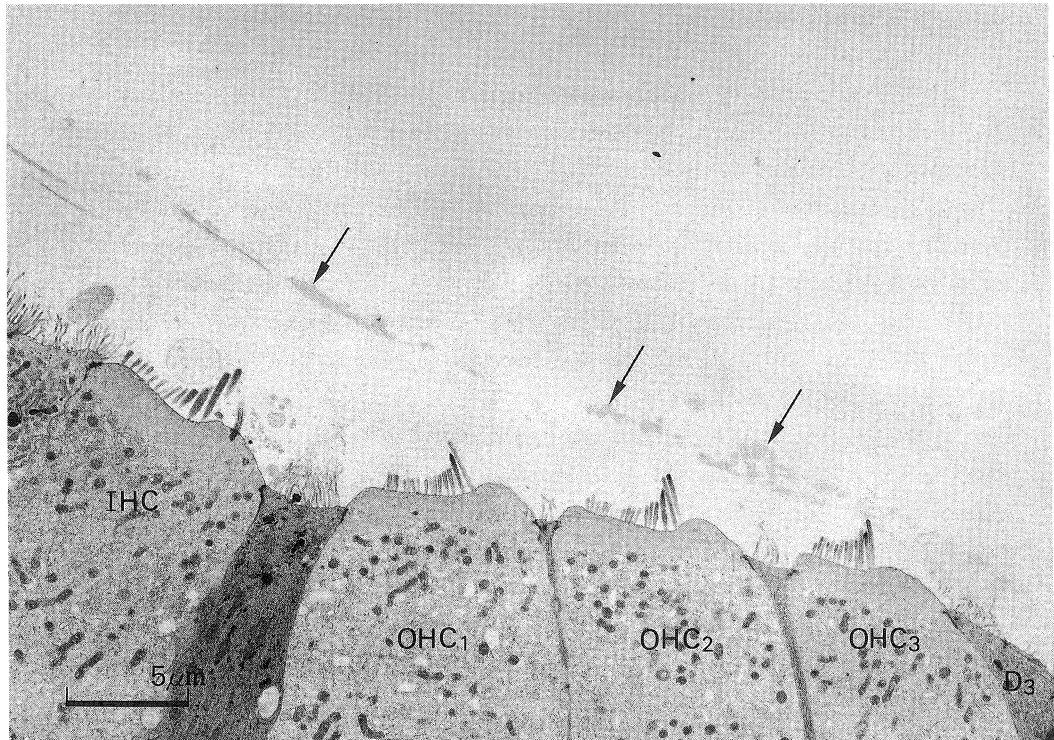
## はじめに

蓋膜はラセン板縁からコルチ器の表面に伸びるやや厚い膜で、細糸と均質な母基物質からなる。成熟動物のコルチ器では、外有毛細胞の最外側列の聴毛の先端が蓋膜に嵌入しているが、発育中の動物で未成熟の蓋膜は、柱細胞やダイテルス細胞の頂面と一見接着しているように見え、この接着は、蓋膜が蝸牛軸方向から形成されるに従って消失する。この経過中に、第3列目のダイテルス細胞には柱状の形象 marginal pillar (以下 MP) が見られ、その機能は形成中の蓋膜の外側縁をコルチ器の頂面に接着させることであるらしい。<sup>1)~4)</sup> しかし、MPの出現と消失について詳しい観察は甚だ少ない。この研究は、ゴールデンハムスターにおける発生中の蓋膜と第3列目のダイテルス細胞の間に見られる特殊な結合である MPの出現と消失を電子顕

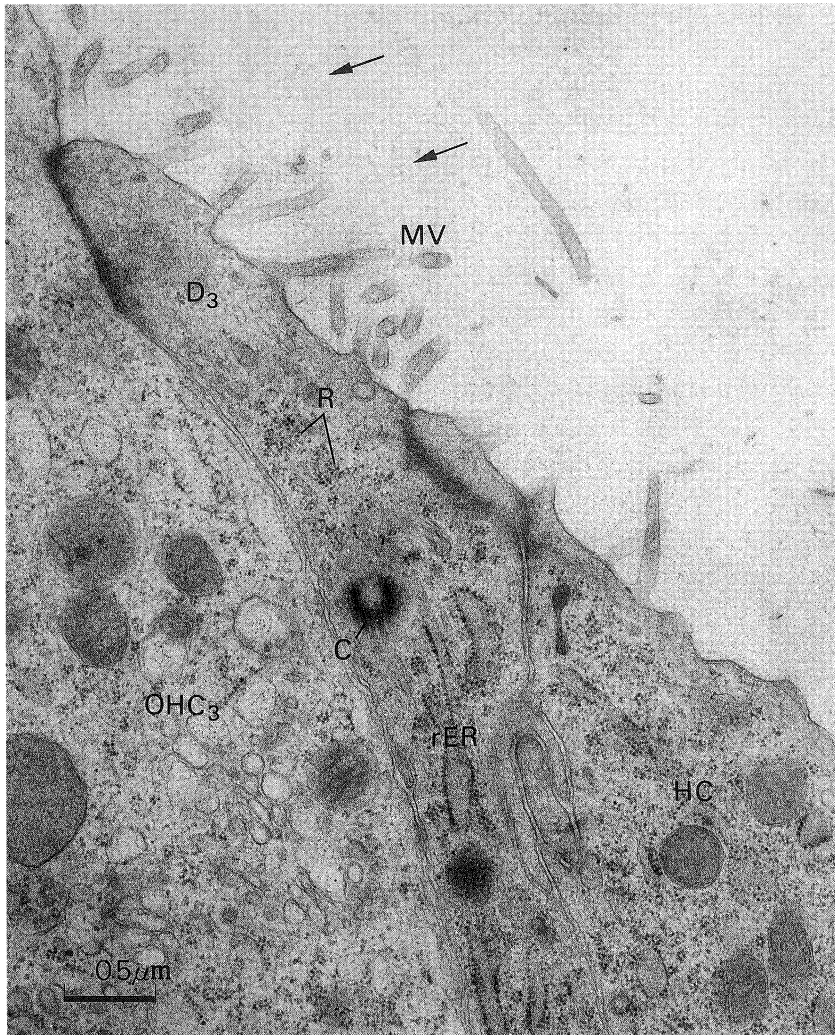
微鏡を用いて観察し、蓋膜の支持構造としての意義を明らかにするために行われた。

## I. 材料と方法

材料には生後3日から18日までのゴールデンハムスター (*Mesocricetus auratus*) を35匹37耳用いた。エーテル麻酔を行い断頭して、内耳を摘出し、2%グルタルアルデヒド (pH 7.4) で2時間固定し、1%四酸化オスミウム液 (pH 7.4) で後オスミウム化した。組織塊をエポキシ樹脂に包埋し、蝸牛の基底回転でラセン管の長軸にほぼ垂直の断面がえられるように超薄切片を作り、酢酸ウラニルとクエン酸鉛で電子染色の後に日立H-500型透過電子顕微鏡で観察した。



**Fig. 1.** The 3rd day after birth. Arrows show the tectorial membrane ( $\times 3,200$ ). IHC: inner hair cell, OHC<sub>1-3</sub>: the first, second and third rows of outer hair cells, D<sub>3</sub>: the third row of Deiters' cells.



**Fig. 2.** The 3rd day. High magnification of the third row of Deiters' cells (D<sub>3</sub>), showing secretion of amorphous substance (arrows) around short and haphazardly-oriented microvilli (MV) ( $\times 24,000$ ). rER: rough endoplasmic reticula, R: free ribosomes, C: centriole, OHC<sub>3</sub>: the third row of outer hair cells, HC: Hensen's cells.

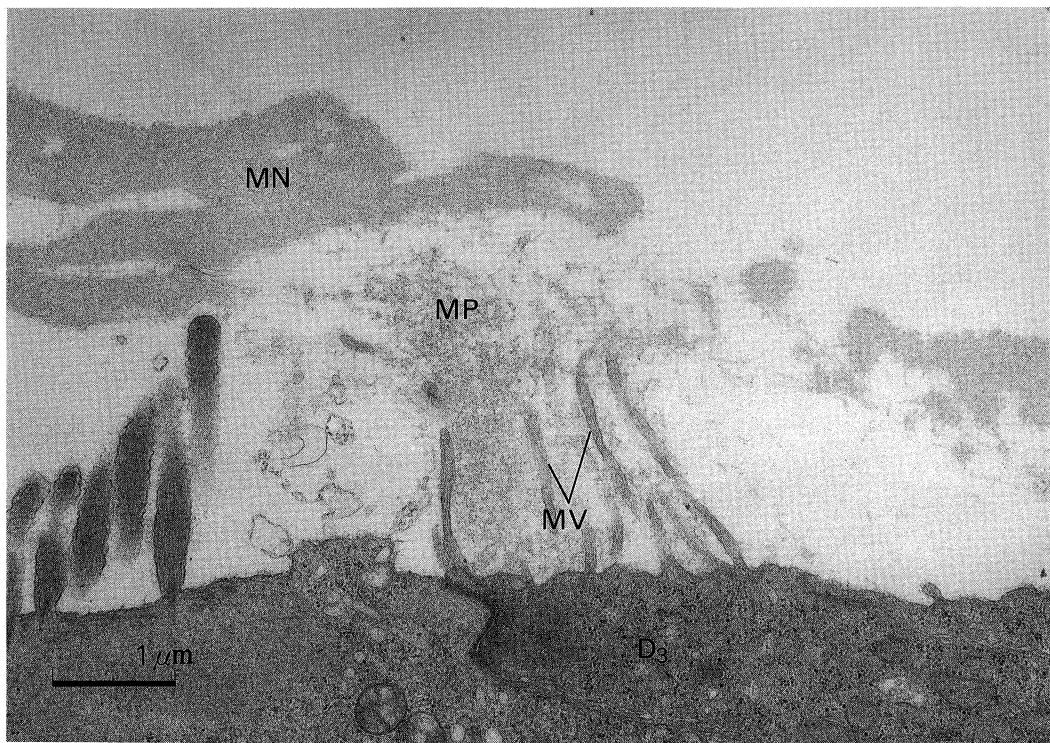
## II. 結 果

生後3日では、蝸牛管の底部の上皮は二つの隆起からなる。蝸牛軸側の greater epithelial ridge とその外側(血管条側)の lesser epithelial ridge であり、それぞれ柱形の細胞で構成されていた。greater epithelial ridge の外側端の内有毛細胞と、lesser epithelial ridge の外有毛細胞の頂面にはそれぞれ聴毛が認められ、周囲の支持細胞から区別された。支持細胞の頂面には微絨毛が認められた (Fig. 1)。細線維に富む蓋膜の主部はまだ内有毛細胞の頂面に達していない。しかし、蓋膜の構成成分と思われる無定形で淡影の物質 (Fig. 1, 矢印) が有毛細胞や支持細胞の頂部の付近に見られ、第3列目のダイテルス細胞上にも認められた。第3列目のダイテルス細胞は、第3列目の外有毛細胞に比べ、基礎胞形質の電子密性がや

や高く、粗面小胞体に富み、多くの遊離したリボゾームが認められ、短く方向性の不定な微絨毛の周囲には無定形物質の分泌が見られた (Fig. 2)。

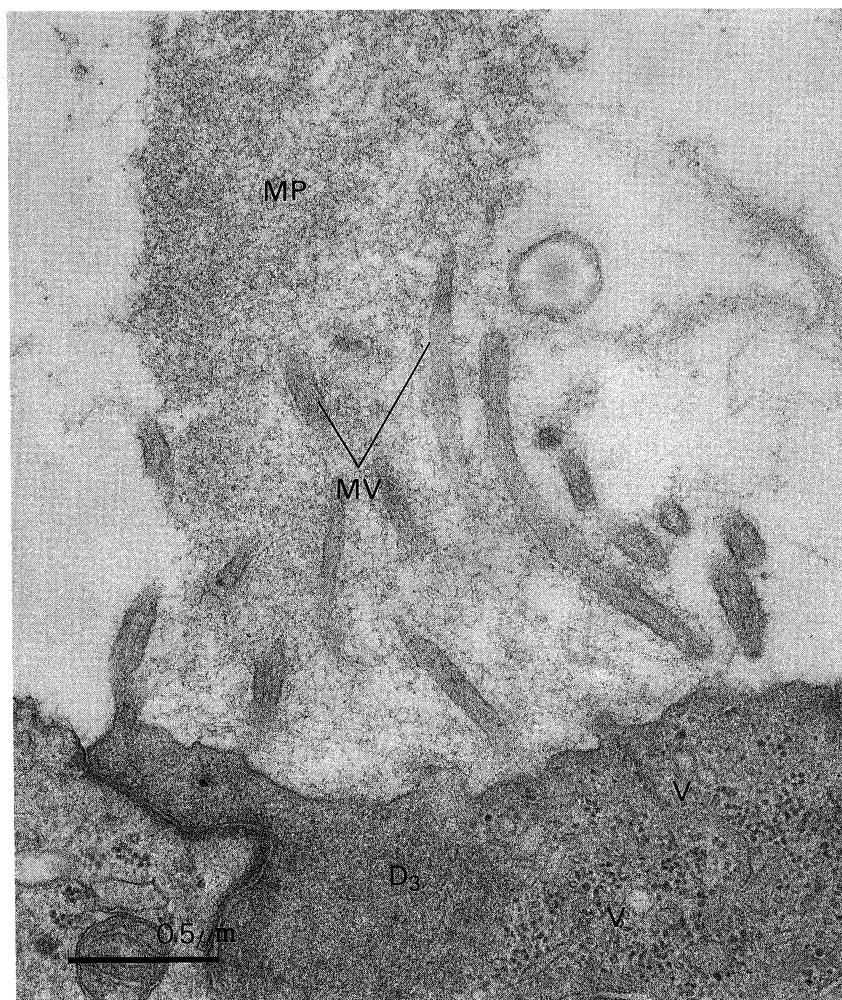
生後7日では、第3列目のダイテルス細胞の頂面の近くに多くの小液胞が現れ、細胞頂面に放出された物質は、既に出現した蓋膜の成分を挙上し、MP を形成し始めた (Fig. 3)。第3列目のダイテルス細胞の微絨毛は、上述の形成中の MP の基部で上方へ向かって垂直に長く延長していた。詳しく見ると、MP では径が約 2 nm の微粒子が 5~10 nm の細糸を形成していたが、構造周期は認められなかった (Fig. 4)。

生後10日では、細線維に富む蓋膜の主部が、ほぼ第3列目の外有毛細胞に達した (Fig. 5)。蓋膜辺縁部はまだ完全な marginal band ではなく、marginal net (MN) をつくり、その辺



**Fig. 3.** The 7th day. The marginal pillar (MP) appeared on the third row of Deiters' cells ( $D_3$ ) and began to attach itself to the lower surface of the marginal net (MN). Remarkable elongation of the microvilli (MV) of  $D_3$  up to the MP was observed ( $\times 16,000$ ).





**Fig. 4.** The 7th day. Long microvilli (MV) of the third row of Deiters' cells ( $D_3$ ) were seen in the base of the marginal pillar (MP) ( $\times 40,000$ ). V: vesicles

縁がMPの外側と接する。詳しく見ると、MPは2~3nm径の基礎的微粒子の凝集からなる5~10nm径の屈曲した細糸から構成され、MNに比べて電子密に見える。MNではほぼ同様な2~3nm径の微粒子が15~20nm径のより太い直線的な細糸を形成して、MNの長軸の方向に並ぶ傾向が見られる。MPとMNの間には、それぞれ明らかな境界膜がなく、両者の接着部(Fig. 6, 矢印)ではMPの濃影の細糸が諸所でMNに進入している(Fig. 6, ↓)。この時期では、MPの細糸の密度は生後7日に比べて高かった。MPの基部には第3列目のダイテルス細胞の微絨毛が含まれたが、それらの中でMPの辺縁を被うものだけが長く、MP内部に位置するものは、この時期から次第に短くなった(Fig. 7)。

生後10~14日では、MPは柱状の形態を保っていたが、生後12日までに全例で蓋膜はその辺縁部がほぼ完成して、MPとの接触を断ってい

た。生後16日では、MPはその長軸方向に諸所で柱状の集塊に分離され、それらの上部から内部構造の粗鬆化が明らかに認められた(Fig. 8)。MP基部には甚だ短くなった微絨毛がわずかに残存するにすぎなかった。生後18日には、MPは柱状構造が完全に破壊され、痕跡的に残存するのみで、その細糸は甚だ淡影化した(Fig. 9, 矢印)。

### III. 考 察

蓋膜は形成されるときに、第3列目のダイテルス細胞と接着することは早くから知られている。Kimura<sup>5)</sup>は透過電子顕微鏡を用い、生後10日のハツカネズミの蓋膜を調べ、蓋膜の先端が第3列目のダイテルス細胞と接着するが、成熟個体ではそれが見られないことを報告している。また Lindemanら<sup>6)</sup>は走査電子鏡検により、ネコでは生後4週まで第3列目のダイテルス細胞に蓋膜から伸びた柱状の形象があり、生

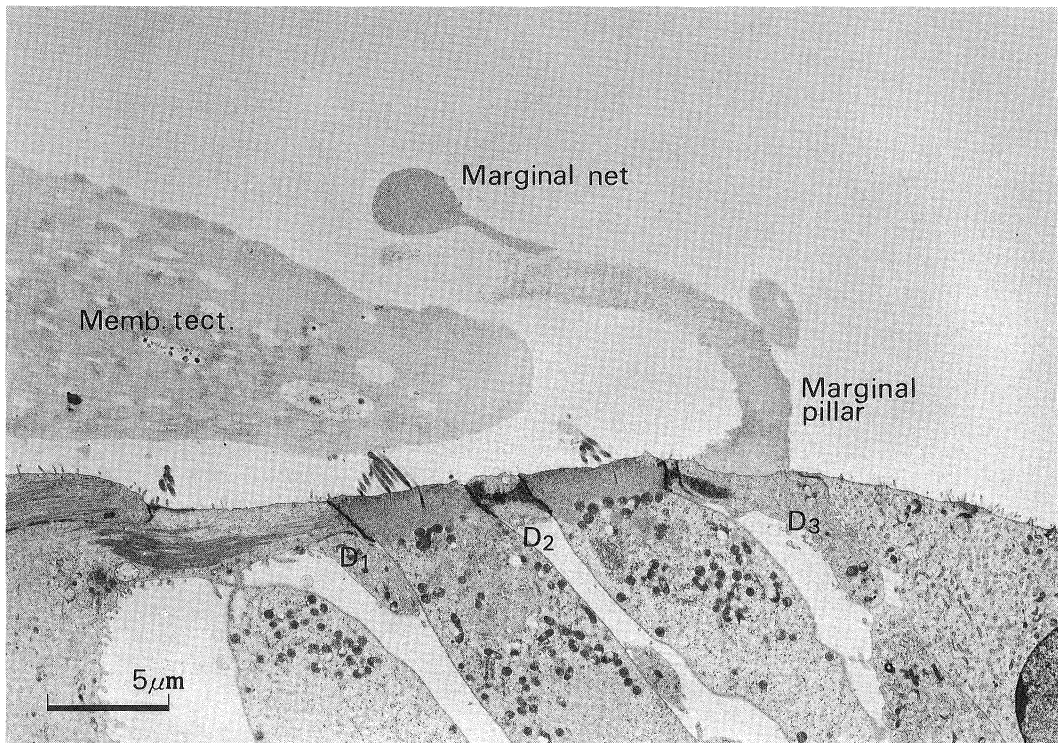
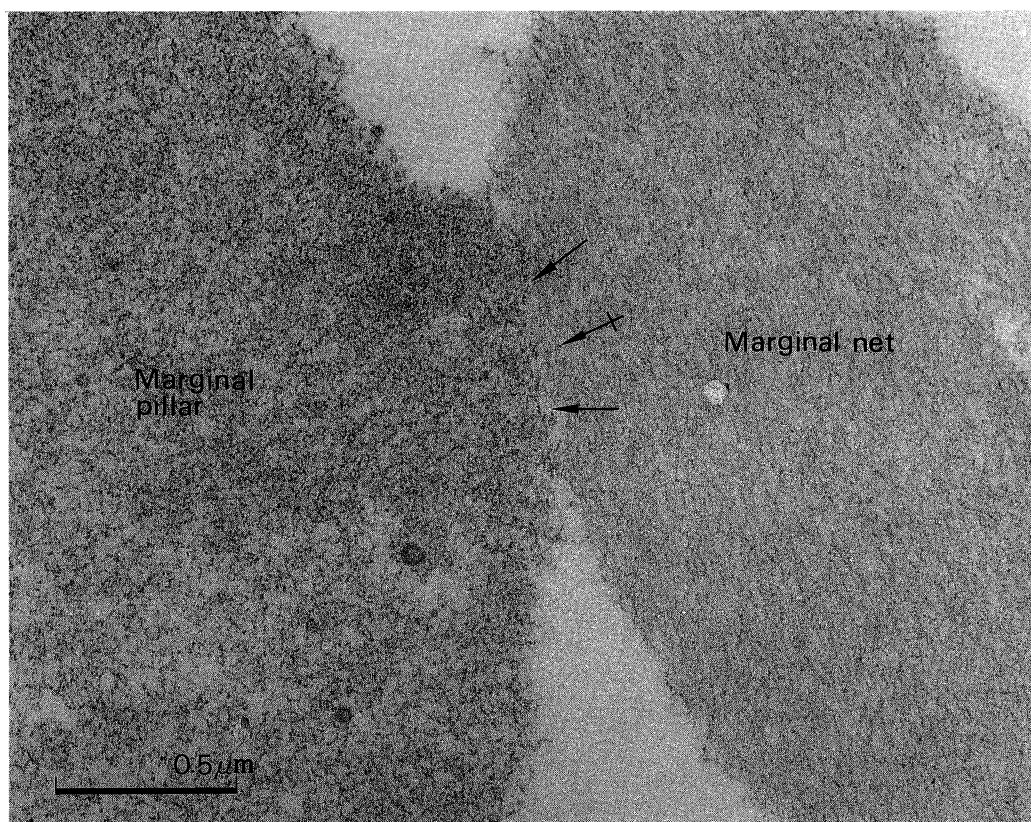


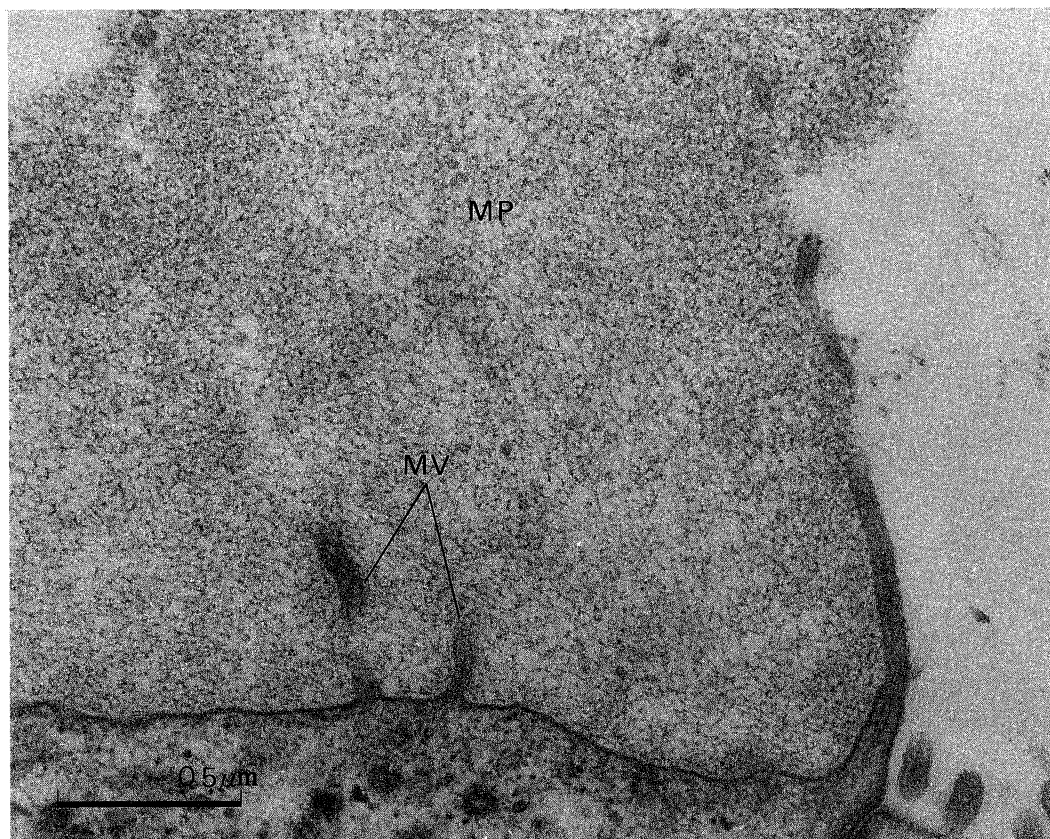
Fig. 5. The 10th day. The marginal net attached itself to the marginal pillar ( $\times 3,200$ ). D<sub>1,2,3</sub>: the first, second and third rows of Deiter's cells



**Fig. 6.** The 10th day. The marginal net and the MP were attached to each other with no border membrane (arrows). Fine-grained particles of the MP had entered the marginal net (crossed arrow) ( $\times 48,000$ ).

後6週以後はそれが見られないことを指摘した。これらの研究では、蓋膜と第3列目のダイテルス細胞の接着部を蓋膜辺縁の延長または突出と解釈している。これに反して、Lim<sup>1)</sup>は発育中のネコの蓋膜では、第3列目のダイテルス細胞と蓋膜の先端との結合部をMPと呼び、MPは蓋膜の一部ではなく、第3列目のダイテルス細胞から分泌されるらしいことを指摘している。また Kraus ら<sup>2)</sup>はハツカネズミでは、生後5日に第3列目のダイテルス細胞の微絨毛が互いに接着し、生後10日にMPが出現し、MPの基部内部にも微絨毛が存在することを観察した。その結果、MPは第3列目のダイテルス細胞の微絨毛間に存在する物質に由来することを示唆した。著者のゴールデンハムスターでの観察では、蓋膜が分化するとき、生後3日目

でMPは第3列目のダイテルス細胞頂面の微絨毛の近傍に無定形物質として出現し始め、蓋膜の辺縁部とは明瞭に区別された。蓋膜の分化が進むと、生後7日目にはMPは柱状構造を呈し蓋膜外側縁を挙上するようになり、その基部では第3列目のダイテルス細胞の微絨毛が長く垂直に延長した。この時期の第3列目のダイテルス細胞は遊離のリボソームや粗面小胞体に富み、細胞頂部では小液泡が認められた。これらの所見から、このような未熟な第3列目のダイテルス細胞は一般に物質の合成や分泌が活発と考えられ、したがってMPもこれらの細胞によって形成されることが窺われた。その後、生後10日目にはMP基部の微絨毛のうち、辺縁の微絨毛は変化しないが、内部の微絨毛が著明に短縮・減少した。また第3列目ダイテルス細胞



**Fig. 7.** The 10th day. The microvilli (MV) became shorter except for marginal ones along the base of the marginal pillar (MP) ( $\times 48,000$ ).

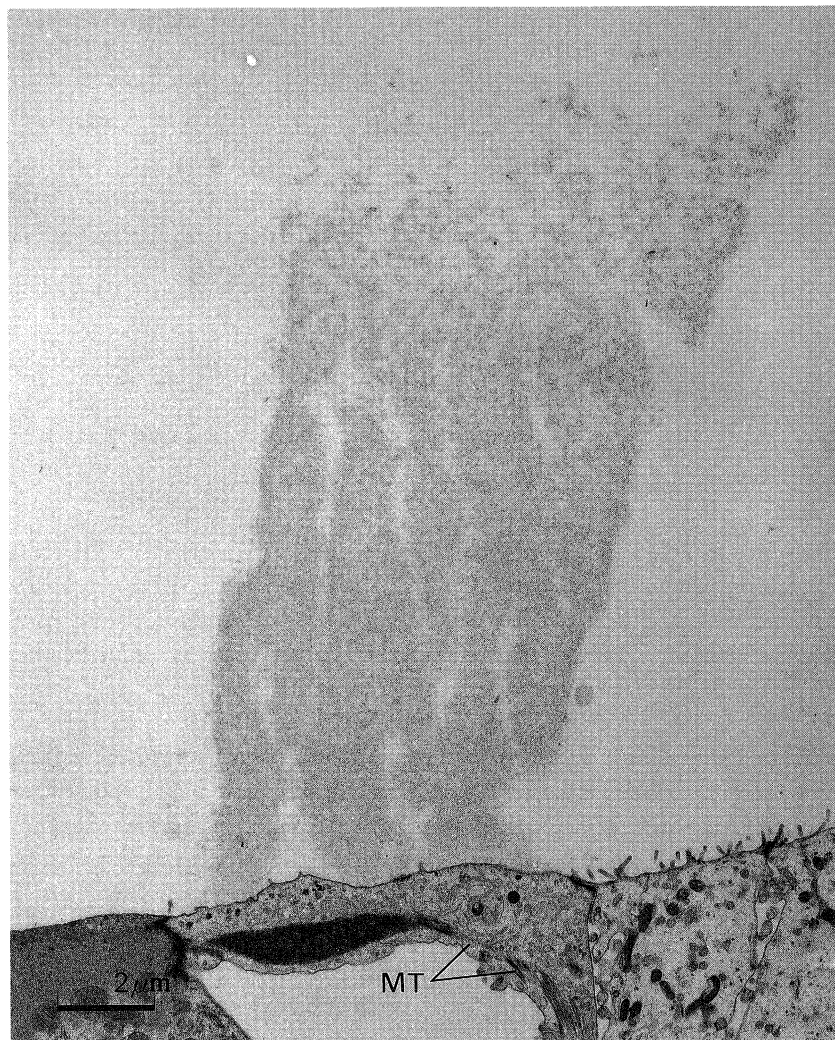
の頂部の小液胞も減少し、MPの分泌は衰退しているように考えられた。したがって第3列目ダイテルス細胞の微絨毛は、MPを側面から機械的に支持しているのではないかと推測された。以上のMP形成と消退に関わる第3列目ダイテルス細胞の微絨毛の変化については、著者の知る限りでは各種動物においてまだ報告されていない。

MPは成熟動物には存在せず、その消失に当たっては、構造の断裂が起り、遺残物が第3列目のダイテルス細胞の頂面に残存することが知られている。<sup>1)~3), 6), 7)</sup>しかし、MPの消失過程は、蓋膜の分化が比較的短期間に終わる動物種で行った本研究で初めて明らかにされた。すなわち、MPは蓋膜が完成する頃に蓋膜辺縁部との接着が弱くなり、やがてMPの構成が粗に

なり、その柱状構造が崩壊し、変性・消失することを示唆した。

ゴールデンハムスターのオルチ器の形成過程で、有毛細胞の聴毛は生後14日に完成する。<sup>8)</sup>また稲垣<sup>3)</sup>は、同じくゴールデンハムスターの生後14日頃には蓋膜の下面に外有毛細胞の聴毛の圧痕が見られ、MPは生後16~18日に消失しはじめ、生後20日には完全に消失すると報告している。これらの報告と著者の観察結果から、ゴールデンハムスターにおいても、Lim,<sup>1)</sup> Krausら,<sup>2)</sup> Lenoirら<sup>4)</sup>が他の動物ですでに指摘したように、MPは蓋膜が完成し、聴毛と蓋膜下面の接続ができるまで、蓋膜の辺縁部を第3列目のダイテルス細胞の頂面に接着させて保持する機能を果たし、その役割が終わると消失すると考えられる。さらにMPの消失と聴覚





**Fig. 8.** The 16th day. The marginal pillar split into smaller columns and the microvilli of the third row of Deiters' cells had disappeared ( $\times 6,400$ ). MT: microtubules



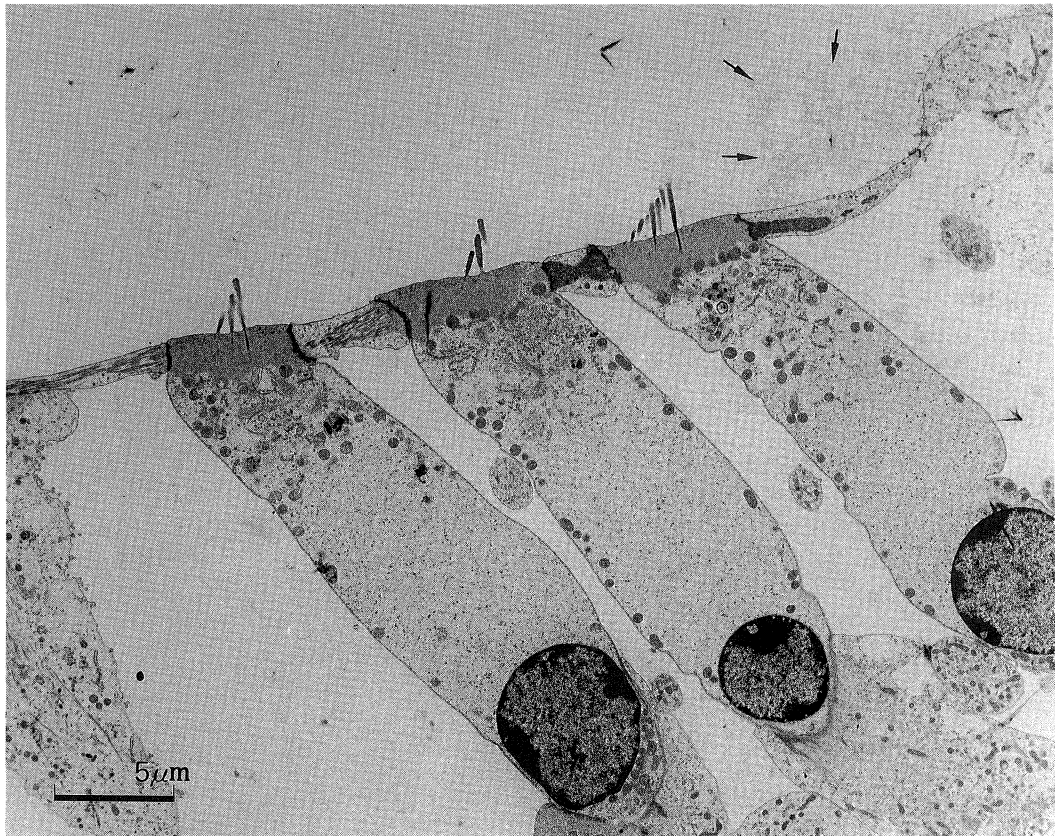


Fig. 9. The 18th day. The arrows indicate traces of the marginal pillar on the third row of Deiters' cells ( $\times 3,200$ ).

機能の発達の関係について注目すると、Krausら<sup>2)</sup>はハツカネズミでは、生後11日に蝸牛電気反応が出現するが、その後もコルチ器の分化は進行し、生後15日頃にMPが消失して、蓋膜と有毛細胞の shearing motion が制限されなくなり、聴覚の感度が増すことを指摘している。また Lenoir ら<sup>4)</sup>によると、シロネズミでは生後9~10日に聴覚が発生し、蓋膜下面の外有毛細胞の聴毛の圧痕は生後10~11日に見られる。さらに、生後14日にはMPが消失し、生後20日にはコルチ器の表面の形態が完成し、同じ頃聴覚機能も成熟動物の感度に達する。ゴールデンハムスターの聴覚の発達について、Schweitzer<sup>9)</sup>は聴性脳幹反応を用いて、生後18日から反応が起こることを指摘しているが、蝸牛電気反応の出現時期についての報告はまだ見られない。しかし、他の動物種の研究結果

から推測すると、コルチ器の分化が完了する前に聴覚が出現していると考えられる。そして、聴覚の感度が成熟個体のレベルに近づく要因のひとつに、生後16日以後のMPの崩壊・消失が考えられる。

他方、Lim<sup>1), 10)</sup>は走査および透過電子顕微鏡によりネコとハツカネズミの蓋膜を観察し、その辺縁部の成分は第3列目ダイテルス細胞から分泌されることを示唆している。しかし、著者によるゴールデンハムスターでの観察では、上述のようにMPと蓋膜辺縁部は明らかな境界膜をもたずに接着したが、蓋膜辺縁部の成分がMPを経由して第3列目ダイテルス細胞から供給されることを直接示唆する所見は得られなかった。

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲をいただきました川崎医科大学附属川崎病院病理部 伊藤慈秀教授、

川崎医科大学耳鼻咽喉科学教室 折田洋造教授に深く感謝いたします。また、終始御協力をいただいた電子顕微鏡センターの諸兄に深謝いたします。

本論文の要旨は、第32回日本オージオロジー学会総会（昭和62年10月）、第35回日本基礎耳科学会（昭和63年2月）において発表した。

## 文 献

- 1) Lim, D. J.: Fine morphology of the tectorial membrane. Fresh and developmental. *In* Inner ear biology, Vol. 68, ed. by Portomann, M. and Aran, J.-M. Paris, INSERM. 1977, pp. 47-60
- 2) Kraus, H. J. and Aubach-Kraus, K.: Morphological changes in the cochlea of the mouse after the onset of hearing. *Hear. Res.* 4: 89-102, 1981
- 3) 稲垣千果夫: 新生仔ハムスターにおける蓋膜とコルチ器表面との接続形態の観察. *日耳鼻* 86: 531-538, 1983
- 4) Lenoir, M., Puel, J. L. and Pujol, R.: Stereocilia and tectorial membrane development in the rat cochlea. A SEM study. *Anat. Embryol.* 175: 477-487, 1987
- 5) Kimura, R. S.: Hairs of the cochlear sensory cells and their attachment to the tectorial membrane. *Acta Otolaryngol.* 61: 55-72, 1966
- 6) Lindeman, H. H., Ades, H. W., Bredberg, G. and Engström, H.: The sensory hairs and the tectorial membrane in the development of the cat's organ of Corti: A scanning electron microscopic study. *Acta Otolaryngol.* 72: 229-242, 1971
- 7) Hoshino, T.: Relationship of the tectorial membrane to the organ of Corti. A scanning electron microscope study of cats and guinea pigs. *Arch. histol. Jpn.* 37: 25-39, 1974
- 8) 折田洋造, 沖田容一, 永野隆治, 稲垣千果夫: 新生仔ハムスターにおける蝸牛毛細胞の発達. *Ear Res. Jpn.* 12: 32-35, 1981
- 9) Schweitzer, L.: Development of brainstem auditory evoked responses in the hamster. *Hear. Res.* 25: 249-255, 1987
- 10) Lim, D. J.: Development of the tectorial membrane. *Hear. Res.* 28: 9-21, 1987