

別紙 4

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

主 論 文 の 要 旨

論文題目 Development of the extracellular structure is crucial for acquisition of sound sensitivity by inner ear hair cells
(細胞外構造の発達が生毛細胞の音受容能獲得に重要である)

氏 名 井 上 摩 耶

論 文 内 容 の 要 旨

動物は様々な感覚を用いて周りの情報を集め、自分の置かれた環境を認識している。感覚には、視覚、味覚、嗅覚、聴覚、触覚の五感に加え、温度や痛み、平衡感覚や固有感覚といった様々な種類がある。それぞれの感覚は、光や味やにおいなどの異なる物理的・化学的刺激を、眼や舌や鼻など異なる感覚器に存在する特定の感覚受容細胞が電気信号に変換（受容）することから始まる。興味深いことに、その中でも聴覚と平衡感覚は、音と頭の傾きという全く異なる感覚様式（モダリティ）として感じられるにも関わらず、どちらも内耳の有毛細胞によってとらえられ、基本的に同じ原理で機械受容される。すなわち、有毛細胞の頂端側には階段状に並ぶ微絨毛（Stereocilia）が存在し、刺激によって Stereocilia が長い毛の方向に倒れると、先端に存在する機械受容チャンネルが開いて陽イオンが流入し、有毛細胞の膜電位は脱分極する。特に、聴覚の感度は私達の想像を超え、音によって生じる 1 ナノメートル（100 万分の 1 ミリメートル）にも満たない振動を検知していると言われている。

このような鋭敏な感覚は動物の発達過程において、どのように獲得されるのだろうか。本論文は、聴覚の獲得における内耳有毛細胞の音受容を左右するメカニズムを調べたものである。有毛細胞が音に応答するためには、機械刺激を電気信号に変換する機械受容チャンネルや関連分子が有毛細胞に発現することが勿論必要であるが、有毛細胞そのものだけでなく、有毛細胞を覆う細胞外構造の発達の重要性が示唆されてきた。しかし、これまで研究対象となってきた哺乳類や鳥類など高等脊椎動物の内耳構造は頭の奥深くにあるため、細胞外構造を保ったまま有毛細胞の応答性を調べるのが難しく、細胞外構造の有毛細胞の音に対する感度にどのように寄与するのかが、今まで直接的には示されてこなかった。

本論文では、内耳構造を保った聴覚獲得メカニズムの *in vivo* 解析を達成するため、胚や仔魚の体が透明で体内の構造を生きたまま観察・実験できる特長をもつゼブラフィッシュに着目した。ゼブラフィッシュは受精後 5 日という非常に早い時期には既に、バ

ランスを保ち、音に対して逃避運動を起こす。このことから、平衡感覚と聴覚の両方を獲得していることが分かるが、このときのゼブラフィッシュ仔魚の耳胞（耳の原基）には、卵形嚢（Utricle, U）と球形嚢（Saccule, S）とばれる2つの耳石器官しか存在せず、どちらも耳石と有毛細胞から成る非常によく似た構造をしている。そこで、共通の構造を持った2つの耳石器官が、どのようにして異なるモダリティの刺激を受容し分けるかに着目した。

はじめに、仔魚の耳胞にガラス微小電極を刺入し、音刺激を与えた時に有毛細胞へのイオン流入によって生じる電場電位（マイクロフォン電位）の記録をおこなった。その結果、Uの有毛細胞は音に応じず、Sの有毛細胞によって選択的に音刺激が電気信号に変換されることを明らかにした。

次に、2つの耳石器官を比較して、鋭敏な聴覚の受容に必要な要因を検討した。耳石器官における音の受容は、ちょうど地震計の動作原理と同様で、耳石が錘（おもり）の役割を果たし、有毛細胞を含む体の揺れを検出している。そのため、耳石が大きく重い方が、有毛細胞と耳石のずれが大きくなり、音のような小さな刺激の受容に適しているとされてきたが、それを実証する方法がこれまでなかった。ゼブラフィッシュのUとSの耳石を比べると、受精後1日の胚では同じ大きさであるが、その後Sの耳石が顕著に成長し、受精後5日にはSの耳石はUの耳石の2.5倍になることを見出した。両者の大きさに差が出る時期が、有毛細胞が音に応じ始める時期と一致していることから、音受容における耳石の大きさの寄与が示唆された。

それを検証するため、*in vivo*で耳石の大きさを人為的に変える顕微操作を確立した。ゼブラフィッシュ胚の耳胞内のSの耳石をUの耳石に接着・融合させ、Uの有毛細胞上に巨大なU+S耳石をもつ個体を作成した。この個体の音に対する応答性をマイクロフォン電位を指標にして調べたところ、本来は音に応答しないUの有毛細胞が、音受容能を獲得することを見出した。耳石の大きさのわずかな数倍の変化によって、聴覚の有無が決まるという驚くべき結果が示された。

本研究により、ゼブラフィッシュ仔魚において、聴覚・平衡感覚刺激が受容器で明確に分離されることが明らかになった。さらに、ほんのわずかな細胞外構造の変化が、器官の機能分化をもたらすことが生体内で初めて実証された。有毛細胞外の構造変化と音刺激に対する有毛細胞の応答性の関係を生きた動物内で明確に関連付けた例はこれまでになく、本研究は聴覚の受容機構の解明に新たなアプローチを提示した。