毛細胞受容器膜の性質と Ca イオン

鶴見大学歯学部生理学教室

田 中 康 夫

はじめに

蝸牛マイクロホン電位 (CM) が Wever and Bray²⁸⁾ によりはじめて記録されてからすでに半世紀近くが経過した。この電位が内耳における真の受容器電位であるかどうかということは長く論争されてきている問題であり、音波受容の本質的な初期過程としての確証はいまだ十分ではない。しかし、CM は音刺激に対する段階的応答であること、強大音の負荷やストレプトマイシンなどの耳中毒による毛細胞の変性や脱落で消失すること、また網状膜を境界として位相が逆転することなどがよく知られており、動物実験においてあるいは蝸電図学上、毛細胞受容器膜の機能表現の指標とされる電位である。ここでは蝸牛に対し通電や酸素欠乏あるいは薬剤投与を行った場合の CM の観察から毛細胞受容器膜部の性質を検討し、さらに膜の接するイオン環境特に Ca イオンの役割について考察する。

毛細胞受容器膜の性質

外毛細胞の感覚毛側受容器膜はダイテルス細胞の指節および外柱細胞の柱部上端とともに網状膜を形づくり、最も重要な構成要素である。CM の発生に関し、Davis の提唱した可変抵抗マイクロホン説⁵⁾では、蝸牛中央階の正電位 (EP) と毛細胞内静止電位を二つの電源とした直列回路において CM は網状膜に想定される電気抵抗の音刺激に際する増減に結果されるものと考えられている。CM の発生源が受容器膜であるとされる一つの理由はらせん器への電極刺入により CM が増大し¹⁾、電極先端が網状膜を貫通し中央階に入ると EP が記録されると同時に CM の位相が 180° 転換するからであり²⁶⁾、最近マーキング法を応用した電位の部位同定でこの CM の位相転換が明らかに網状膜において行われることが確認された²³⁾。Dallos¹⁾ はこの学説に基いた等価回路において、網状膜部の可変抵抗を正弦関数的に変化させても前庭階鼓室階間の電位勾配の正負の変動は非対称的になるのである種の容量を考えねばならず、毛細胞のエネルギー変換過程にも非直線性が存することを示唆している。

蝸牛前庭階から鼓室階に向かって陽極通電を行うと

CM が増大し反対方向の通電では縮小することが以前から知られている²⁵⁾。これは蝸牛隔壁における分極が増減されるのであって、CM の大きさは網状膜の分極の程度に依存している。酸素欠乏初期では CM は縮小されるが通電によって増大する¹⁸⁾²¹⁾、そして逆向きの電流すなわち中央階に刺入した電極からの陰極電流で CM の振幅は縮小し、さらにその電流を大きくすると CM の位相逆転がみられることも報告されている¹¹⁾。図 1 は酸素欠乏およびアセチルコリン (ACh) の中央階電気泳動により縮小した CM における通電の効果の差異を示している。酸素欠乏時の CM は通電に敏感で、中央階における陽極通電では直線的な関係をもって増大する。しかし ACh 投与後の CM は通電に殆ど反応しない。酸素欠乏初期では受容器膜の分極性は保持されており、通電方向によって脱分極または過分極を起させることが可能である。ACh は膜の分極性を阻害するようであるが ACh 作用の詳しい検討は別の

図 1 酸素欠乏時およびアセチルコリンの中央階注入により縮小した CM に対する直流通電の効果の比較。縦軸は CM の振幅を通電前の値に対し % 表示したもの。横軸は電流の大きさ、Anodal は中央階に刺入した電極を電池の陽極につないだ場合、Cathodal はその逆向の通電。

機会にゆずる。今までCMの特質の一つとして酸素依存性があげられていたが、これはEPを介してであって受容器膜自体は酸素欠乏にさほど敏感でないといえる。

イオン環境とCaイオンの役割

哺乳類内リンパの化学組成は、外リンパの電解質濃度が脳脊髄液のそれにくらべ、きわめて高いKイオン濃度によって特徴づけられる。内リンパ腔を160 mmolの等張Kイオン溶液で灌流してもCMは十分に大きく維持されるが、Kイオン濃度の低い溶液ではCMは急激に減少してしまうことが明らかである²⁰⁾¹²⁾。毛細胞感覚毛側が面している蓋膜下腔が内リンパ性かあるいは外リンパ性かということはよくわかっていなかった。最近のX線微量分析⁹⁾およびマーキング法²⁸⁾による成績から、蓋膜下腔が内リンパ性であり中央階と交通していることがすでに確かである。したがって蝸牛毛細胞の感覚毛は高Kイオン濃度の液に浸されている。下等動物においてもアフリカツメガエルの遊離側線器で外液Kイオン濃度の上昇によって振動刺激に対する神経放電の域値が低下することが知られている¹⁰⁾。毛細胞受容器膜の機能維持には感覚毛の高イオン環境が必要であるといえる。

KイオンについてCaイオンもまた重要である。Caイオンが神経筋接合部においてAChの放出を駆動し⁶⁾、あるいはフジツボ筋線維の興奮をひき起こすこと⁹⁾は以前からよく知られている。蝸牛機能に対するこのイオンの役割をしらべるためにすでに2,3の実験が行われてきた。Caイオンを外リンパ腔に注入するとCMの一過性縮小を来すが¹⁹⁾、5 mmol前後の濃度では回復後にむしろやや増大することも観察されている¹⁵⁾。しかし内リンパ腔注入ではCMは回復しない。Caイオン除去剤のEDTAを外リンパ腔に注入すると、遠心性線維の電気刺激によって起る活動電位の抑圧やCMの増大が妨げられることも報告されている¹⁴⁾。これらの成績からはCaイオンの作用は毛細胞下端における遠心性抑性機序に関係をもつものと考えられてきた。しかしその後、Sand¹⁷⁾はアメリカサンショウウオの側線器でCaイオンが神経放電の振動刺激に対する同期性を高めることをみて、受容器電位の発生にこのイオンが重要であることを示唆した。したがってこのような観点から、哺乳類聴器においても受容器膜に対するCaイオンの働きを再検討する必要性が生じてきた。

図2 蝸牛中央階に注入したEDTAのCMに対する効果²²⁾。EDTAは2 μ A、4分の電気泳動で注入したEDTAの場合、KClは塩素イオンを同じ電流で与えた対照。縦軸は泳動前の大きさを100%としたCMの振幅、横軸は泳動注入終了後の時間。

毛細管微小電極をモルモットの中央階に刺入し、電極内に充填したEDTAを電気泳動的に流出させ蝸牛電位に対する効果をしらべた²⁴⁾。EDTAを2 μ Aの電流で4分間泳動注入させると、同じ電流量によるClイオン注入の対照と比して明らかにCMの振幅が縮小した(図2)。EDTAによるCMの縮小は60分の観察においても回復しなかったが、先にCaイオンを0.5~1.0 μ Aの電流で与えておくとEDTA単独の場合のような縮小はみられなかった。それ故、2価の陽イオンのキレート剤であるEDTAはこの場合Caイオンを除去したものと考えられる。EDTAの中央階注入はEPには影響をあたえなかった。

内リンパのCaイオン濃度は古くから測定されており、モルモットの卵形嚢では3 mmolであり外リンパおよび脳脊髄液の濃度と等しいといわれていた³⁾。しかし最近のBosher and Warrenの報告によると²⁾、ラット中央階内リンパのCa濃度は蛍光分光分析では全カルシウム量として2.3 μ mol、イオン電極法ではイオン化Ca濃度にもかかわらずやや多く3.0 μ molである。いずれにせよ内リンパのCa濃度は細胞外液としてはきわめて低い値である。中央階にEDTAが注入されると毛細胞感覚毛側においてこの微量のCaイオンがキレートされてしまうものと思われる。側線器毛細胞において、Caイオンの除去は振動刺激に際し記録される細胞内電位の交流変動を縮小させ、求心神経の自発性放電数は変えないが同期性を悪化させる

ことから Ca イオンは受容器膜の機械的性質を保つものと考えられている²⁷⁾。電顕的には、不動毛のフィラメントにHメロマイオシンと反応する矢頭結合が観察され、フィラメントはアクチンからなっていることが証明されている⁷⁾¹⁶⁾。アクチンの活性維持および重合速度の調節に Ca イオンが関係するといわれており、このイオンが振動刺激に対する不動毛の適当な硬さを保つのに役立っているかも知れないが今のところ確証はない。一方 Ca イオンが毛細胞受容器膜の磷脂質に結合して膜のイオン透過性を制御するものであるということも示唆されている¹⁸⁾。感覚毛は高濃度 K イオン環境にあるので、受容器膜に仮定される K イオン系の Ca イオンによる調節は十分考えられ、追求を要する課題である。

Role of Calcium Ions in the Receptor Membrane of Hair Cells

Yasuo Tanaka

(Department of Physiology, Tsurumi University)

The reticular membrane is composed of the brush border of hair cells and the tops of their supporting apparatus. The receptor membrane is considered to have a polarizing property since the phase of cochlear microphonics (CM) is reversed in electrode penetration from one side of the reticular membrane to the other and also the amplitude of CM is increased or decreased by applying current through the membrane.

The sensory hairs of hair cells face to an environment of high potassium and very low calcium concentrations. This characteristic ionic environment is necessary to the maintenance of the CM sensitivity. The role of calcium ions in the initial receptive process of hair cells is discussed.

文 献

- 1) Békésy, G. von: Gross localization of the place of origin of the cochlear microphonics. *J. Acoust. Soc. Am.*, **24**; 399-409, 1952.
- 2) Bosher, S. K., and Warren, R. L.: Very low calcium content of cochlear endolymph, an extracellular fluid. *Nature*, **273**; 377-378, 1978.
- 3) Citron, L., Exley, D. E. and Hallpike, C. S.:

Formation, circulation and chemical properties of the labyrinthine fluids. *Brit. Med. Bul.*, **12**; 101-104, 1956.

- 4) Dallos, P.: The auditory periphery. Academic Press, Inc., New York, 1973.
- 5) Davis, H.: A mechano-electrical theory of cochlear action. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, **67**; 789-801, 1958.
- 6) Del Castillo, J. and Katz, B.: Quantal component of the end-plate potential. *J. Physiol.*, **124**; 560-573, 1954.
- 7) Flock, Å. and Cheung, H. C.: Action filaments in sensory hairs of inner ear receptor cells. *J. Cell Biol.*, **75**; 339-343, 1977.
- 8) Flock, Å.: Electron probe determination of relative ion distribution in the inner ear. *Acta Otolaryngol.*, **83**; 239-244, 1977.
- 9) Hagiwara, S. and Takahashi, K.: Surface density of calcium ions and calcium spikes in the barnacle muscle fiber membrane. *J. gen. Physiol.*, **50**; 583-601, 1967.
- 10) Hashimoto, T. and Katsuki, Y.: Enhancement of the mechanosensitivity of hair cells of the lateral-line organs by environmental potassium ions. *J. Acoust. Soc. Am.*, **52**; 553-557, 1972.
- 11) Honrubia, V., Strelieff, D. and Ward, P. L.: The mechanism of excitation of the hair cells in the cochlea. *Laryngoscope*, **81**; 1719-1725, 1971.
- 12) Konishi, T., Kelsey, E. and Singleton, G. T.: Effects of chemical alteration in the endolymph on the cochlear potentials. *Acta Otolaryngol.*, **62**; 393-404, 1966.
- 13) Konishi, T., Kelsey, E. and Singleton, G. T.: Negative dc potential in scala media during early stage of anoxia. *J. Acoust. Soc. Am.*, **39**; 1225(A), 1966.
- 14) Konishi, T. and Kelsey, E.: Effect of calcium deficiency on cochlear potentials. *J. Acoust. Soc. Am.*, **47**; 1055-1062, 1970.
- 15) Moscovitch, D. H. and Gannon, R. P.: Effects of calcium on sound-evoked cochlear potentials in the guinea pig. *J. Acoust. Soc. Am.*, **40**; 583-590, 1966.

- 16) Saito, K. and Hama, K.: The organization of filaments in the apical cytoplasm of the hair cells in the guinea pig cochlea. *J. Electron Microscopy*, **27**; 333(A), 1978.
- 17) Sand, O.: Effects of different ionic environments on the mechano-sensitivity of lateral line organs in the mudpuppy. *J. comp. Physiol.*, **102**; 27-42, 1975.
- 18) Schacht, J.: Biochemistry of neomycin ototoxicity. *J. Acoust. Soc. Am.*, **59**; 940-944, 1976.
- 19) 田中康夫, 安野友博, 小西輝三: Ca イオンの蝸牛電気現象に及ぼす影響. *耳鼻咽喉科臨床*, **55**; 223, 1962.
- 20) 田中康夫: 内リンパ完全置換の蝸牛電気現象に及ぼす影響. *日耳鼻*, **66**; 999-1017, 1963.
- 21) 田中康夫: 蝸牛隔壁の分極性とアセチルコリン効果. *Audiology Japan*, **10**; 254-255, 1967.
- 22) 田中康夫, 浅沼 厚, 柳沢慧二: 中央階に注入した Ca^{2+} 除去剤の蝸牛電位に対する効果. *Audiology Japan*, **21**; 505-506, 1978.
- 23) Tanaka, Y., Asanuma, A., Yanagisawa, K. and Katsuki, Y.: Electrical potentials of the subtektorial space in the guinea pig cochlea. *Jap. J. Physiol.*, **27**; 539-549, 1977.
- 24) Tanaka, Y., Asanuma, A. and Yanagisawa, K.: Effect of EDTA in the scala media on cochlear potentials. *Proc. Japan Acad.*, **55**, Ser. B; 31-36, 1979.
- 25) Tasaki, I. and Fernandez, C.: Modification of cochlear microphonics and action potentials by KCl solution and by direct currents. *J. Neurophysiol.*, **15**; 497-512, 1952.
- 26) Tasaki, I., Davis, H. and Eldredge, D.H.: Exploration of cochlear potentials in guinea pig with a microelectrode. *J. Acoust. Soc. Am.*, **26**; 765-773, 1954.
- 27) Yanagisawa, K., Asanuma, A. and Shiozawa, K.: Some effects of calcium on chemo- and mechanoreception by the lateral-line organ. *XXVII Internat. Cong. Physiol. Sciences*, 1977.
- 28) Wever, E.G. and Bray, C.W.: Auditory nerve impulses. *Science*, **71**; 215, 1930.

(受付 54.2.1)