

一般講演 2

内耳蝸牛管上皮組織における H^+ /*myo*-inositol transporter および aquaporin 4 の局在解析

小林 春也¹, 宮本 歩実¹, 池田 理佐², 安藤 元紀^{1,2}

¹岡山大学大学院教育学研究科・細胞生理学研究室

²岡山大学大学院環境生命科学研究科・動物生理学研究室

【背景と目的】哺乳類の聴覚機能を担う内耳蝸牛は、前庭階・中央階・鼓室階の3つの区画に分かれており、それぞれ内・外リンパ液で満たされている。内リンパ液で満たされた中央階は蝸牛管側壁・コルチ器・ライスネル膜から成る。これらの構成組織は、聴覚機能の発現に必須の内リンパ液の産生・維持を担い、高い代謝活性に裏打ちされた活発なイオン輸送の場となっている。難聴の多くは、こうしたイオン輸送機構や付随する浸透圧・pH調節機構のバランスが崩れることにより発症する。本研究では、内耳蝸牛管においてその遺伝子発現が認められた H^+ /*myo*-inositol transporter (HMIT) の発現部位について特にコルチ器周辺に着目した解析を行った。内耳でその発現部位が明らかとなっている aquaporin 4 (AQP4) を指標として、HMIT分子の局在を調べた。

【材料と方法】実験にはマウスおよびラットを用いた。麻酔下、化学固定液で経心灌流を行い、側頭骨から蝸牛を摘出し脱灰処理後、Tissue-Tek[®]に置換して凍結包埋した。凍結切片を作製し免疫組織化学法を適用した。一次抗体として polyclonal goat anti HMIT antibody (sc-244166, Santa Cruz biotechnology) および polyclonal rabbit anti AQP4 antibody (AB3594, Chemicon), 二次抗体として Alexa488 donkey anti goat IgG (A-11055, Life technologies) および Cy3 donkey anti rabbit IgG (711-165-152, Jackson Immuno Research) を用いた。観察には共焦点レーザー顕微鏡 (FV1200, Olympus) を用い、コルチ器を含む外ラセン溝から内ラセン溝に至る上皮組織における HMIT および AQP4 分子の局在解析を行った。

【結果と考察】成獣における抗 AQP4 抗体の強い陽性部位は Hensen's cells (HC), inner sulcus cells (ISC) の領域であること、および蝸牛の回転に依存した陽性部位の違いはないことが確認され、これまでの報告と一致した (Eckhard et al., 2012; Miyabe et al., 2002; Huang et al., 2002)。これらの結果を指標として、HMIT分子の局在を調べたところ、特に強い陽性部位は outer sulcus cells (OSC), Deiters' cells (DC), ISC であることが分かった。また、生後発達段階における局在変化の有無を確認するため、幼若 (生後 7~11 日齢) と成獣で比較を行ったところ、HMIT分子の局在について大きな変化は認められなかった。以上の結果から、コルチ器周辺における HMIT の主な発現部位は OSC, DC, ISC 領域であること、および AQP4 の発現部位との比較においては ISC 領域を除いて異なる局在を示すことが分かった。ISC 領域では両分子の発現が確認されたが AQP4 は基底板側、HMIT は内リンパ側で細胞極性に応じた違いが認められた。HMIT は H^+ と *myo*-inositol の共輸送体であることから、内リンパ液の pH および浸透圧調節に関与していることが示唆される。OSC 領域においては Cl^-/HCO_3^- exchanger である pendrin の発現が報告され、pendrin KO により内リンパ水腫による難聴が誘発されるとされる (Wangemann et al., 2007)。HMIT が pendrin と同じ OSC 領域に発現していることは、即ち H^+ と HCO_3^- の輸送経路が同じ細胞領域で機能していることが示唆され、極めて興味深い。今後も内耳機能維持の解明に向けて、複数の膜輸送体分子の協働の仕組みに視点を置いた解析を進めていく必要がある。