論 説

聴覚障害におけるグルタミン酸の役割

暁 清 文

Role of Glutamate in Hearing Loss

Kiyofumi Gyo

(Ehime University)

L-Glutamate is believed to be a neurotransmitter in the first auditory synapse between the inner hair cells and the dendrites of spiral ganglion type I cells. It is released by a variety of mechanisms, such as anoxia, acoustic trauma and some ototoxic drugs. Although excessive release of glutamate is supposed to be toxic to the surrounding neurons, the exact mechanism of action in the cochlea remains unclear. In the first experiment, we investigated the effects of glutamate on hearing by the administration of AMPA, an agonist of glutamate, to the cochlea of guinea pigs. AMPA caused a reversible increase in the threshold of the compound action potential (CAP). Secondly, we studied the glutamate excitotoxicity induced by transient cochlear anoxia by means of occlusion of the bilateral vertebral arteries in gerbils. Five minutes of occlusion caused a drastic increase in the CAP threshold, which recovered after recirculation. The threshold returned to preischemic levels on the 3rd day, but in some animals it increased again after the 5th day, suggesting delayed neuronal death. Glutamate concentration in the perilymph increased following ischemic insult. Histological studies revealed that ischemic pathological changes were severe in the dendrites of the primary afferent auditory nerve, composing the synapse with the inner hair cell. In the 3rd experiment, the effects of noise exposure on hearing were studied in mice lacking the glutamate transporter GLAST (mutant mice). Continuous 4 kHz pure tone exposure of 105 dB for 30 minutes caused an increase in the CAP threshold in both mutant and wild mice. However, the increase was more severe and the recovery was later in mutant than in wild mice. Glutamate concentration in the perilymph was consistently higher in the former than in the latter. These results suggested that excessive glutamate released in the cochlea as a consequence of anoxia or acoustic trauma caused damage to the surrounding neurons, especially to the dendrites of the primary afferent auditory nerve. Glutamate excitotoxicity is, therefore, thought to underlie sensory hearing loss attributed to a variety of causes.

Key words : glutamate excitotoxicity, transient cochlear anoxia, delayed neuronal death, glutamate transporter

はじめに

グルタミン酸は脳の情報伝達や記憶にかかわる興奮性神経伝達物質であり、臨床的には脳卒中や外傷後の神経細胞死、あるいは癲癇の発症に関係することから、現在、

最も注目されている生理活性物質の一つである。近年の脳虚血に関する研究によれば、血流遮断などによりグルタミン酸がシナプス間隙に過剰に放出されたり、シナプス間隙で迅速に処理されなくなると、グルタミン酸は周

囲に拡散して神経毒として作用し、虚血局所のみならず周辺領域にも神経障害を引き起こすことが明らかとなった¹⁾。この excitotoxicity と呼ばれるグルタミン酸による神経障害は、虚血前にあらかじめグルタミン酸拮抗剤や神経栄養因子を投与しておけば軽減できる²⁾ことから、虚血病変を治療するための重要な手がかりとして注目されている。

一方、内耳における神経伝達物質の研究も進み、内有毛細胞の求心性神経伝達物質はグルタミン酸であるとする説が有力である^{3,4)}。したがって内耳障害などでグルタミン酸が過剰に放出されると、脳と同様に内耳においても周囲の神経組織に障害を引き起こすことが想定される。実際、Lefebvre ら⁵⁾は単離ラセン神経節細胞の培養液中に高濃度のグルタミン酸アゴニスト(特異的活性化物質)を添加すると細胞が変性すると報告しており、また Klinke ら⁶⁾もネコの内耳に高濃度のグルタミン酸を投与すると蝸牛複合電位(CAP)の振幅が低下したことから、グルタミン酸が内耳に障害性に作用すると結論している。さらに音響刺激⁷⁾や高 K^+ による灌流⁸⁾が外リンパ中のグルタミン酸濃度を上昇させて難聴を起こすことも証明されており、様々な原因による内耳障害の機序にグルタミン酸が増悪因子として関与している可能性がある。

我々も内耳障害に伴うグルタミン酸の遊離が、本来の内耳障害を増強し治癒を妨げているのではないかと推察している。もしこれが事実であれば、グルタミン酸による神経障害はアンタゴニスト(特異的阻害物質または拮抗剤)や神経栄養因子の投与、低体温、グルタミン酸トランスポーターの活性化などで防御可能と考えられるので、新しい視点からの難聴治療の研究が期待できる。以下、当科で行ってきた内耳虚血モデルや音響外傷モデルを用いた研究成果を中心に、聴覚障害におけるグルタミン酸の役割についての研究の概要を述べる。

神経伝達物質としてのグルタミン酸の代謝

シナプス間隙に放出されたグルタミン酸はシナプス後膜の受容体に作用して陽イオンチャンネルを開き、脱分極を引き起こして神経細胞に活動電位を発生させる。グルタミン酸は音響刺激のような速い情報伝達に対応するためシナプス間隙に長く滞留することはない、すばやくグルタミン酸トランスポーターの働きにより周囲のグリア細胞に取り込まれる。ついでグリア細胞内でグルタミ

ンへと代謝された後、再び神経細胞に吸収されてグルタミン酸となり、神経伝達物質として再利用される⁹⁾。一部は感覚細胞や神経終末に直接取り込まれて再利用される。

シナプスでの情報伝達は神経伝達物質がシナプス後膜の受容体と結合することによって達成されるが、どの受容体と結合するかにより伝えられる情報の内容は異なる。これまでの研究からグルタミン酸の受容体は AMPA/kainate 型と NMDA 型とに大別される。ラットやマウスの内・外有毛細胞基部と求心性蝸牛神経のシナプスには、分布程度に差はあるが、両者が混在するという。Pujol ら¹⁰⁾によると、内耳においては AMPA/kainate 型受容体は中程度までの大きさの音の情報伝達に¹¹⁾、NMDA 型は強い音の情報伝達に関与する¹²⁾という。

※ AMPA : α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid, NMDA : N-methyl-D-aspartate

グルタミン酸による内耳障害

前述のようにグルタミン酸やそのアゴニストは内耳障害を起こす。Klinke ら⁶⁾はネコの内耳にグルタミン酸を投与して蝸電図を記録し、その影響を検討している。それによると 2.5 mMol では変化はないが、10 mMol 投与すると、蝸牛マイクロホン電位(CM)は変化しないものの CAP 振幅は著明に減少したことから、高濃度のグルタミン酸は内耳障害を起こすと報告している。Puel ら¹¹⁾もモルモットの内耳に AMPA を投与すると濃度依存性に内耳障害が起こるとしている。さらに彼らは最近の論文¹³⁾で、モルモットの内耳に 200 μ Mol の AMPA を投与すると、CAP はただちに低下したがほぼ 5 日で正常に戻ったと述べている。この間、CM は全く変化がないことから、AMPA は内有毛細胞とシナプスを形成している求心性蝸牛神経の樹状突起に作用して障害を起こすが、この樹状突起の変化は再生可能であると結論している。Juiz ら¹⁴⁾はラットの鼓室階にカイニン酸(kainate)を投与したところ、10日後にラセン神経節の I 型神経細胞数が減少したことから、内有毛細胞の求心性シナプスの神経伝達物質はグルタミン酸であり、過剰な投与は障害を起こすとしている。細胞培養の実験によれば、グルタミン酸アゴニストによるラセン神経節細胞の障害は、あらかじめ特異的拮抗剤を投与しておけば防ぐことができる⁵⁾。これらの研究結果は、グルタミン酸の受容体が内有毛細胞のシナプス後膜やラセン神経節に

図1 AMPA投与によるABR域値の経時的变化
鼓室階外リンパ腔へのAMPA投与前の値を0 dBとして相対的な変化を示した。200 μ Molの結果は3例の平均値である。

存在すること、過剰なグルタミン酸の遊離はシナプス後膜の受容体を中心に障害を起こすこと、この障害は拮抗剤により防御できることを意味している。

我々もモルモットの鼓室階外リンパ腔にAMPAを直接投与し、その前後の聴性脳幹反応(ABR)を記録した。その結果を図1に示す。ABRの域値はAMPAの用量に比例して高くなり、200 μ Mol投与では最大33 dB、2 mMolの投与では76 dB悪化した。その後の経時的变化をみると、前者では7日目にはほぼ元の値に復したが、後者では10日目でもなお35 dBの域値上昇が続いていた。

虚血性内耳障害におけるグルタミン酸の役割

梗塞などにより組織に虚血が生じると、当然ながら細胞内の代謝は影響を受け、フリーラジカルの産生、アンダーソン、カルシウムイオンの細胞内流入、蛋白質合成障害、脂質代謝障害、核内DNAの破損、熱ショック蛋白の発現、神経伝達物質の遊離など様々な現象が起こる²⁾。虚血が長く続けばやがてネクロシスが生じ細胞は崩壊する。あるいは虚血が誘因となりアポトーシスをきたす。

以下の実験では虚血により誘発されたグルタミン酸の遊離がどのように内耳障害に関与するかを検討する目的で、一過性内耳虚血動物において蝸電図とグルタミン酸の外リンパ濃度を経時的に記録するとともに、虚血によって生じた内耳病変を主に電子顕微鏡を用いて観察し

た¹⁵⁾¹⁶⁾。

実験動物には先天的に中大脳動脈と後大脳動脈とを連絡する後交通動脈が欠損しているスナネズミを用いた¹⁷⁾。この動物では両側の椎骨動脈を同時に圧迫すると、内耳血流を一過性に完全に遮断することができる。従来、内耳虚血に関する実験の多くはモルモットを用い迷路動脈を結紮したり遮断することによって行われてきた。しかし内耳道を走行する迷路動脈へのアプローチは困難であり、隣接する蝸牛神経を損傷する可能性が高い。また小動物では血管カテーテルを用いた塞栓術も難しい。白馬¹⁶⁾が指摘しているように、これらの方法では長期間動物を生かすことが困難で、慢性実験を行うことは難しい。ローズベンガル光増感反応を用いた梗塞法は慢性実験に向いているが、一過性虚血を作ることはできない。

1) 聴覚域値の変化(図2)

椎骨動脈血流遮断により内耳に虚血負荷を加えると、ただちにCAPの域値は著明に上昇した。5分間の虚血後、血流を再開させると徐々に聴覚応答は回復したが、60分後でもなお13 dBの域値上昇を認めた。虚血後3日目にはCAP域値は全例でほぼ虚血前値にまで回復した。しかし5日目以降、再び上昇する例があり、10日目の時点で8例中3例では15 dB以上の域値上昇がみられた。なお、この時に中耳骨胞を開放し組織を採取したが、中耳に炎症などの病変はみられなかった。

以上の結果より、一過性内耳虚血により聴力は悪化するが、再環流とともにやがて回復し正常となる。しかしその後も徐々に聴力が悪化する例のあることが示された。

グルタミン酸による神経障害で最も注目されているこ

図2 虚血による蝸電図CAP域値の経時的变化
虚血直後の域値上昇は3日目にはほぼ元の値に復したが、その後、一部の例では再び域値は上昇した。

との一つに、虚血などで惹起されたグルタミン酸放出が有毛細胞や蝸牛神経細胞に「遅発性神経細胞死」をきたすか否かの問題がある。これまでの研究によるとスナネズミに5分間の前脳虚血を負荷すると、数日後より海馬CA1領域に遅発性神経細胞死が観察される¹⁸⁾。これは虚血によって放出されたグルタミン酸が細胞内への Ca^{2+} 流入をもたらし、細胞内での蛋白合成障害や脂質代謝異常、核内DNA障害などを引き起こすためとされている。今回の我々のデータは実験数が少なく再検討の余地はあるが、少なくとも一部の例では内耳に遅発性神経細胞死が生じたことを示している。突発性難聴の中には早期より治療を開始したにもかかわらず数日の経過で

むしろ悪化する例がある。このような症例の真の原因は不明であるがグルタミン酸による遅発性神経細胞死も否定できない。

2) 蝸牛組織像

走査型電子顕微鏡にて有毛細胞を観察すると、虚血翌日では何ら変化はみられなかった(図3a)。しかし虚血後10日目の聴力が低下していた例では、外有毛細胞にはほとんど変化はないが内有毛細胞の聴毛は散在性に消失していた(図3b)。透過型電子顕微鏡を用いて内有毛細胞を観察すると、図4に示すように、求心性蝸牛神経の樹状突起に空胞がみられ、シナプス間隙は崩壊して変形していた。このような変化は外有毛細胞にはみられなかった。

すなわち内耳一過性虚血による有毛細胞の形態変化は外有毛細胞よりも内有毛細胞において顕著であった。

a

b

図3 虚血負荷翌日(a)および10日目(b)の有毛細胞の走査電顕像

虚血の翌日では変化はみられないが、10日目では内有毛細胞聴毛の変性が散在性に認められた。

図4 虚血負荷30分後の内有毛細胞の透過電顕像

内有毛細胞とシナプスを形成する求心性蝸牛神経のシナプス後膜に空胞形成がみられた(矢印)。

3) グルタミン酸の遊離

虚血前後の外リンパ中のグルタミン酸濃度をマイクロダイアリス法を用いて経時的に測定した。その結果、図5に示すように、鼓室階においては虚血前のグルタミン酸濃度は $0.35 \pm 0.22 \text{ pMol}/\mu\text{l}$ であったが、虚血直後より急激に上昇して最高値は $11.72 \text{ pMol}/\mu\text{l}$ となり、その後は若干減少するがほぼ一定であった。一方、前庭階におけるグルタミン酸濃度の上昇は鼓室階よりも若干遅く、徐々に上昇して15分後に鼓室階とほぼ同じ濃度となった。

以上の結果より、虚血負荷は内有毛細胞の求心性シナプスの神経伝達物質であるグルタミン酸の遊離をもたらすこと、これが神経孔(habenula perforata)を経て外リンパ中に流出すること、さらに蝸牛孔(helicotrema)を通して前庭階にも拡散することが考えられた。

虚血により外リンパ中で上昇したグルタミン酸の起源については、多量のグルタミン酸を含有するコルチ器である可能性が高い。金をトレーサーとした免疫抗体法によれば、グルタミン酸はコルチ器周囲や外有毛細胞にも認められるが、特に多いのは内有毛細胞であるという¹⁹⁾。シナプス間隙に放出されたグルタミン酸は脳ではグリア細胞のグルタミン酸トランスポーターの働きによって再吸収される。このタンパクは蝸牛にも存在することが証明されている²⁰⁾。虚血によりグルタミン酸が多量に遊離されたりトランスポーターの機能が障害されて再吸収が妨げられると、グルタミン酸は細胞間隙を通過して鼓室階

の外リンパ中に流出し濃度が高まる。本実験で示されたように、血流再開後も外リンパ中のグルタミン酸濃度が高かったのは支持細胞による吸収がそれほど強力でないためと推察される。虚血により上昇したグルタミン酸濃度が正常に復するのにかかる時間の程度を要するかは現在のところ不明である。

4) 拮抗剤による内耳障害の抑制

Puelら²¹⁾は動物の屠殺を一種の虚血処置とみなし、拮抗剤による内耳障害の抑制効果を検討している。それによると、屠殺前にAMPA/kainate型受容体に対する選択的拮抗剤であるDNQX (6-7-dinitroquinoxaline-2,3-dione)を投与しておくこと、内有毛細胞の求心性シナプスにおける空胞変性などの病変が軽減でき、さらにNMDA型受容体の拮抗剤であるD-AP5 (D-2-amino-5-phosphonopentanoate)も併用投与するとこの変化はほぼ完全に防御できるとしている。我々は虚血動物モデルを用いて同様の実験を行い、グルタミン酸拮抗剤の効果を検討した。

スナネズミに虚血を負荷する30分前、一側耳にはDNQXを鼓室階に投与、他側耳は無処置とし、両側椎骨動脈を5分間圧迫した後、蝸牛の標本を作製して電子顕微鏡で観察した。その結果、図6に示すように、DNQXを前投与した側の求心性シナプスには虚血による病変は生じなかったが、非投与側ではシナプス後膜に空胞変性が見られ、虚血による内耳障害は拮抗剤の前投与により防

図5 虚血前後の外リンパ中グルタミン酸濃度の経時変化

虚血後まず鼓室階のグルタミン酸濃度が増加し、遅れて前庭階の濃度が増加した。再灌流後もいったん上昇した濃度はなかなか低下しない。

図6 虚血前にグルタミン酸拮抗剤(DNQX)を投与した例の内有毛細胞の透過電顕像
非投与例(図4)でみられるようなシナプスの変化は生じない。

御しうることを確認した。現在のところ、虚血後に拮抗剤を投与した場合の効果については不明であるが、脳虚血モデルでの実験によれば否定的なデータが多い。

5) 虚血とグルタミン酸に関する考察

虚血により神経細胞が障害され死に至る過程にはさまざまな因子が関与している。障害が起こると、それが進行する過程と修復する過程が絡みあって起こり、その結果として神経細胞の帰趨が決まる。脳虚血が神経細胞死に結びつく因子としては、興奮性アミノ酸の放出、細胞内カルシウムイオンの上昇、細胞内あるいは核内での分子レベルでの破綻、フリーラジカルの発生、アシドーシス、蛋白合成抑制などがあり、修復因子としては神経栄養因子の存在、熱ショック蛋白の発現、グリアによる保護作用などが挙げられる²⁾。内耳においても虚血障害の際には同様の機序が働くと思われるが、これに関しては

不明な点が多い。

内耳における代謝は血管条、コルチ器、ラセン神経節で活発であるが、虚血の影響は主に血管条との関連で詳しく研究されている²²⁾²³⁾。それによると、虚血により血管条の好氣的代謝が停止しATP依存性イオンチャンネルが機能しなくなると、蝸牛管内の代謝バランスが崩れ蝸牛内直流電位(EP)が低下し、コルチ器の音受容機能が正常に働かなくなる。またイオンポンプの停止は Na^+ の細胞内貯留をもたらし、浸透圧で水分が流入するため神経細胞は膨化し機能障害が加重される。このような状況下でさらにグルタミン酸が放出されると、神経細胞内に Ca^{2+} が水とともに流入し、細胞内のATP消費も進行するので、神経細胞の膨化はますます高度となる。

我々の実験では5分間虚血によりグルタミン酸濃度は $0.35 \text{ pMol}/\mu\text{l}$ から最高 $11.72 \text{ pMol}/\mu\text{l}$ へと約33倍上昇した。これは外リンパにおける濃度変化であり、シナプスなどの局所はさらに高濃度のグルタミン酸に曝されていると推察される。また虚血負荷による組織学的変化は、グルタミン酸が神経伝達物質と考えられる内毛細胞で強く、外毛細胞にはほとんど病変が見られなかった。さらにグルタミン酸拮抗剤の前投与が虚血病変を防止したことなどを考慮すると、虚血によって多量に遊離されたグルタミン酸は、内耳の病変を悪化させる因子として働き聴力障害を増悪させると結論した。

音響外傷におけるグルタミン酸の役割

強音響や持続的騒音は物理的に有毛細胞を障害するとともに、内耳の好氣的代謝をも障害して内耳性難聴をきたす²⁴⁾。音響外傷の起こり方や程度は人により様々であり、同じ音響に暴露されても難聴の起こる人と起こらない人とがいる。現在のところ、このような音響外傷に対する感受性の差が何に起因するかについては明らかではないが、おそらく内耳における代謝機能の個人差が大きく関与しているものと思われる。我々は一時的域値移動(TTS: temporal threshold shift)や永久的聴力損失(PTS: permanent threshold shift)を含めた広義の音響外傷にグルタミン酸が関与しているのではないかと考えているが、最近、遺伝子操作で作製されたグルタミン酸トランスポーターの一つであるGLASTが欠落したマウスを入手することができたので、この動物を用いて以下の騒音負荷実験を行い、その可能性を確信したので概

要を報告する.

グルタミン酸トランスポーターはシナプス間隙に遊離されたグルタミン酸の再吸収に携わるタンパク分子であり, 内耳では内有毛細胞やその周囲の支持細胞, ラセン神経節細胞などに分布する. これには GLT-1, GLAST, EAAC1, EAAT4, EAAT5 が同定されており, このうちマウスやモルモットの内耳では GLAST の存在が証明されている²⁰⁾. グルタミン酸トランスポーターが欠落した動物ではグルタミン酸は再吸収されにくい. したがって連続的に音響刺激を負荷すると, グルタミン酸は次第にシナプス間隙に蓄積し excitotoxicity により聴覚障害を起こすことが考えられる.

1) 聴覚域値の変化

GLAST 欠落マウス (mutant mouse) および遺伝子欠損のないマウス (wild mouse) に騒音暴露 (4 kHz, 105 dB SPL, 30 分間) を行い, 経時的に ABR を測定して両者の比較を行った. その結果を図 7 に示すが, 騒音暴露前には mutant mouse と wild mouse で聴覚域値に差はなかった. 暴露直後は両者とも聴覚域値は上昇したが, 上昇の程度は後者よりも前者の方が有意に大きかった. その後, wild mouse では10日後にはほぼ元の聴力に復したが, mutant mouse ではなお 20 dB 以上の聴覚域値の上昇が続いた.

mutant mouse では GLAST が欠落しているということを除けば wild mouse と変わることがない. したがって, このような音響負荷に対する感受性の差はシナプス

図7 音響負荷による ABR 域値の経時的変化
GLAST 欠落マウス (mutant) と野生型マウス (wild) の比較.

におけるグルタミン酸の濃度調節障害によるものと考えられる.

2) 蝸牛組織像

騒音暴露直後は両群とも, 透過電顕による観察で内有毛細胞や求心性蝸牛神経の樹状突起に膨化がみられた. 5 日後にはこのような変化は wild mouse では消失したが, mutant mouse では持続しており, 10 日目になってようやく改善した. 走査電顕による観察では wild mouse には全く変化はみられなかった. mutant mouse では3日目までは変化はないが, 5 日目以降になると内有毛細胞の聴毛が散在性に障害されていた.

一般に音響外傷による障害は, 基底板中央部が物理的な振幅が最も大きいことから, 外有毛細胞最外列 (第3列) で最も大きく, 内有毛細胞では比較的小さいと考えられる. しかし実際には Spoendlin²⁵⁾ が指摘しているように, 音響外傷による組織変化は外有毛細胞だけでなく内有毛細胞の求心性蝸牛神経終末にもみられる. 上記の実験において, mutant mouse では内有毛細胞の障害が高度であったことから, 音響刺激で遊離したグルタミン酸が音響障害自体を増強したものと推察した.

3) グルタミン酸の遊離

音響負荷前の外リンパ中グルタミン酸濃度は wild mouse で 0.58 ± 0.07 pMol/ μ l, mutant mouse で 0.9 ± 0.06 pMol/ μ l と後者の方が高かった (図 8). 音響負荷を加えるとこの差はさらに顕著となり, mutant mouse ではグルタミン酸濃度は2倍以上に上昇したが, wild mouse では有意な変化はみられなかった. すなわち

図8 音響負荷による外リンパ中グルタミン酸濃度の経時的変化
GLAST 欠落マウス (mutant) と野生型マウス (wild) の比較.

GLAST 欠落マウスでは外リンパ中のグルタミン酸濃度はもともと若干高いが、音響負荷を加えると著しく増加し excitotoxicity による神経障害を起こすものと思われた。

4) 音響外傷とグルタミン酸に関する考察

持続的な強い音響刺激は有毛細胞を物理的に損傷するだけでなく、活発な好氣的代謝を営む内耳感覚器をエネルギー欠乏状態に導き感音難聴をきたす。強い音響刺激を酸素欠乏状態の動物に負荷すると通常よりも大きな障害が起こることや、音響外傷とストマイが相乗効果をもって内耳障害を起こす²⁶⁾ことが報告されており、様々な因子が音響外傷の成立に相加的に関与している。本稿ではグルタミン酸の代謝障害が音響外傷を増悪させる一因になることを示したが、ヒトにおける内耳のグルタミン酸トランスポーターの役割についてはほとんど研究されていない。もしこの蛋白の機能を高めることが可能となれば、臨床例に応用して excitotoxicity による内耳障害を予防することができるが、まだまだ不明な点が多く、さらに研究の必要があろう。

本研究は平成9～10年度文部省科学研究費基盤研究C(課題番号09671747)によった。本文で記した実験は当教室の白馬伸洋、古賀健一郎、渡辺太志、兵頭 純および本学医学部学生の高橋由博が実施した。GLAST 欠落マウスを提供していただいた国立精神神経センター神経研究所の田中光一博士に謝意を表します。

参考文献

- 1) Rothman S : Synaptic release of excitatory amino acid neurotransmitter mediates anoxic neuronal death. *Neuroscience* **4** : 1884~1891, 1984.
- 2) 茂野 卓 : 脳虚血と神経細胞死. *実験医学* **11** : 2318~2323, 1993.
- 3) Kataoka Y and Ohmori H : Activation of glutamate receptors in response to membrane depolarization of hair cells isolated from chick cochlea. *J Physiol* **477** : 403~414, 1994.
- 4) 山下敏夫, 栗山博道, 土井 直, 他 : 聴覚系における神経伝達. *耳展* **41** : 194~208, 1998.
- 5) Lefebvre PP, Weber T, Leprince P, et al : Kainate and NMDA toxicity for cultured developing and adult rat spiral ganglion neurons ; further evidence for a glutamatergic excitatory neurotransmission at the inner hair cell synapse. *Brain Res* **555** : 75~83, 1991.
- 6) Klinke R and Oertel W : Amino acids-putative afferent transmitter in the cochlea? *Exp Brain Res* **30** : 145~148, 1977.
- 7) Drescher JM, Drescher GD and Medina JE : Effect of sound stimulation at several levels of concentrations of primary amines, including neurotransmitter candidates, in perilymph of the guinea-pig inner ear. *J Neurochem* **41** : 309~320, 1983.
- 8) Jenison GL, Bobbin RP and Thalmann R : Potassium-induced release of endogenous amino acids in the guinea-pig cochlea. *J Neurochem* **44** : 1845~1853, 1985.
- 9) 宇佐見真一 : 聴覚における神経伝達物質. 図説耳鼻咽喉科 New Approach 3 一聴覚情報処理とその異常—(神崎 仁編). 44~53頁, メジカルビュー, 東京, 1996.
- 10) Pujol R, Puel JL, D'aldin CG, et al : Pathophysiology of glutamatergic synapses in the cochlea. *Acta Otolaryngol* **113** : 330~334, 1993.
- 11) Puel JL, Pujol R, Landrech S, et al : α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid electrophysiological and neurotoxic effects in the guinea-pig cochlea. *Neuroscience* **45** : 63~72, 1991.
- 12) Ehrenberger K and Felix D : Glutamate receptors in afferent cochlear neurotransmission in guinea pigs. *Hear Res* **52** : 73~80, 1991.
- 13) Puel JL, Saffieding S, D'aldin CG, et al : Synaptic regeneration and functional recovery after excitatory injury in the guinea pig cochlea. *CR Acad Sci* **318** : 67~75, 1995.
- 14) Juiz JM, Rueda J, Merchan JA, et al : The effects of kainic acid on the cochlear ganglion of the rat. *Hear Res* **40** : 65~74, 1989.
- 15) Hakuba N, Gyo K, Yanagihara N, et al : Efflux of glutamate into the perilymph of the cochlea following transient ischemia in the gerbil. *Neurosci Lett* **230** : 69~71, 1997.
- 16) 白馬伸洋 : 一過性虚血後の聴力障害と内耳グルタミン酸. *耳鼻臨床* **91** : 313~321, 1998.
- 17) Hata R, Matsumoto M, Hatakeyama T, et al : Differential vulnerability in the hindbrain neurons and local cerebral blood flow during bilateral vertebral occlusion in gerbils. *Neuroscience* **56** : 423~439, 1993.
- 18) Kirino T : Delayed neuronal death in the gerbil hippocampus following ischemia. *Brain Res* **239** : 57~69, 1982.
- 19) Eybalin M and Pujol R : A radioautographic study of [3 H] L-glutamate and [3 H] L-glutamine uptake in guinea pig cochlea. *Neuroscience* **9** : 863~871, 1983.
- 20) Li H, Niedzielski AS, Beisel KW, et al : Identification of a glutamate/aspartate transporter in the rat cochlea. *Hear Res* **78** : 235~242, 1994.

- 21) Puel JL, Pujol R, Tribillac F, et al : Excitatory amino acid antagonists protect cochlear auditory neurons from excitotoxicity. *J Comp Neurol* **341** : 241~256, 1994.
- 22) Kusakari J, Kambayashi J, Kobayashi T, et al : The effect of transient anoxia upon the cochlear potentials. *Auris Nasus Larynx* **8** : 55~64, 1981.
- 23) 草刈 潤, 小林俊光 : 病的諸条件下の諸電位 一酸素欠乏一. 内耳の聴覚電気生理(森満 保編). 137~141頁, 金原出版, 東京, 1985.
- 24) Schuknecht HF : Noise deafness. *Pathology of the Ear* (2nd ed). pp 302~308, Harvard University Press, Cambridge/Massachusetts/London, 1976.
- 25) Spoendlin H : Primary structural changes in the organ of Corti after acoustic overstimulation. *Acta Otolaryngol* **71** : 166~176, 1971.
- 26) 森 弘 : 騒音刺激が螺旋神経節細胞に及ぼす影響, 特に核酸代謝について. 耳鼻臨床 **52** : 153~164, 1959.

(別刷請求先 : 梶 清文
〒791-0204 愛媛県温泉郡重信町志津川
愛媛大学耳鼻咽喉科学教室)