

噪声性听损失与耳蜗内神经递质改变的研究进展

张琰敏, 马 蓓*, 高文元

(第二军医大学基础部生理学教研室, 上海 200433)

[摘要] 螺旋神经节细胞(spiral ganglion neuron, SGN)是听觉传导通路中的初级神经元,与毛细胞形成传入性突触,在听觉的分析和整合中起到十分重要作用。其间存在多种神经递质,在生理和病理的情况下介导不同的效应,其机制较为复杂。本文就目前已知的耳蜗内神经递质如谷氨酸、三磷酸腺苷、多巴胺和 γ -氨基丁酸等的特性及其在噪声性听力损失(noise-induced hearing loss, NIHL)中的作用和可能机制作一综述,以期探究更多的内耳疾病的发生机制和治疗方法提供新的线索和依据。

[关键词] 听觉丧失,噪声性;螺旋神经节;耳蜗;谷氨酸;腺苷三磷酸;多巴胺; γ 氨基丁酸

[中图分类号] R 764.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2007)04-0430-04

Noise-induced hearing loss and cochlea neurotransmitters: recent progress

ZHANG Yan-min, MA Bei*, GAO Wen-yuan (Department of Physiology, College of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[ABSTRACT] Being the primary neurons in the auditory system, spiral ganglion neurons form the afferent synapse with hair cells and play a critical role in the analysis and integration of hearing. Many kinds of neurotransmitters can be found in the cochlear and they have different effects under both physiological and pathological conditions with complicated mechanism. This article reviews the characters of some transmitters in cochlear, such as glutamate, ATP, dopamine and GABA, and their roles in noise-induced hearing loss, hoping to provide more clues for research and therapy of inner ear diseases.

[KEY WORDS] hearing loss, noise-induced; spiral ganglion; cochlea; glutamate; adenosine triphosphate; dopamine; gamma-aminobutyric acid

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(4): 430-433]

噪声为频率和强度无规律混合的有害声音。暴露一次短暂强噪声或者长期反复的噪声可导致噪声性听力损失(noise-induced hearing loss, NIHL)。近年的研究发现,引起噪声性听力损失的原因除机械损伤、代谢障碍外,与耳蜗内神经递质不同程度的释放也密切相关。本文以耳蜗传入突触结构为基础,探讨噪声性听力损失与耳蜗内神经递质之间的关系。

1 听觉初级传入突触的形态学特征

螺旋神经节细胞(spiral ganglion neuron, SGN)是听觉传导通路中的初级神经元,位于内耳的蜗轴中。根据其形态可以分为两型: I型 SGN 是双极神经元,直径约 20 μm ,占神经节细胞总数的 90%~95%;其周围突与约 3 500 个内毛细胞(inner hair cells, IHC)构成会聚型突触联系,其中枢突构成听神经纤维的主体。II型 SGN 胞体较小,为假单极神经元,占神经元总数的 5%~10%;其周围突与约 12 000 个外毛细胞(outer hair cells, OHC)形成辐射型突触联系。SGN 的中枢突构成第 VIII 神经中的耳蜗神经,经内听道终止于延髓的耳蜗核^[1]。

SGN 的周围突与内、外毛细胞底部的突触间隙中存在许多重要的神经递质,可将毛细胞的信号传向听觉中枢。因

此了解这些递质的特性对于研究生理及病理状态下的耳蜗内信息传递具有非常重要的意义。

2 听觉初级传入突触处的神经递质

2.1 谷氨酸 (glutamate, Glu) 谷氨酸是中枢神经系统兴奋性递质之一。其受体可分为: NMDA 受体、AMPA 受体、海人藻酸(KA)受体、代谢型谷氨酸受体(mGluRs)和 L-AP4 受体。前三者都是由谷氨酸门控的阳离子通道,后两者为 G 蛋白耦联受体^[2]。Glu 也是听觉传入神经系统的重要递质,介导着内耳毛细胞和 SGN 之间的快速信号转导。研究发现在 SGN 上表达有 NMDA 受体、AMPA 受体及高亲和性 KA 亚型受体。Nakagawa 等^[3]认为其在不同种类的动物上表达不同的受体类型。在急性分离的豚鼠 I 型 SGN 上存在的是非 NMDA 受体,而在雏鸡的 SGN 上则能诱发出 NMDA 电流。SGN 上存在不同 Glu 受体亚型, Glu 诱发的反应主要由电压依赖性钙离子通道介导^[4-5]。

中枢神经系统内 Glu 大量释放或再循环不彻底时会产

[基金项目] 国家自然科学基金(30570444)。Supported by National Natural Science Foundation of China (30570444)。

[作者简介] 张琰敏, 硕士, 助教。

* Corresponding author. E-mail: mabei2004@yahoo.com.cn

生神经毒性。这在一些急慢性神经疾病如老年性痴呆、帕金森病、中风等十分常见,以急性细胞肿胀或者延迟性细胞溃变的方式发展,导致神经元的损伤^[2]。在低氧^[6]或噪声的情况下,耳蜗内同样会出现 Glu 兴奋性毒性。Pujol 等^[7]将耳蜗的兴奋性毒性损伤分成两步:首先当 AMPA/KA 受体被激活时,大量 Na^+ 流入,少量 K^+ 流出,同时伴有 Cl^- 和水分子进入胞内,形成胞内水肿和空泡,引起细胞的急性损伤和功能丧失。第二,由 NMDA 受体的过度激活,引起 Ca^{2+} 大量内流,甚至超载,进而引起线粒体功能异常,自由基产生等,导致延迟性细胞坏死^[7]。NMDA 受体的拮抗剂 MK-801 能有效阻断 Ca^{2+} 内流,减轻细胞损伤。我们前期的实验^[8]证实了 NMDA 受体在代谢通路中的重要作用;即噪声刺激后 NMDA 受体的过度激活,导致一氧化氮合酶(NOS)活性增强,进而产生大量 NO。因此,Glu-NMDA-NOS-活性氧(ROS)通路可能是声损伤中形成耳蜗功能和形态损害的一条重要途径。另一方面,NMDA 受体在耳蜗受损伤后的反应性神经再生和突触形成过程中起到重要的神经营养作用,在突触修复过程中表达增加,说明适量的 NMDA 对突触修复有一定促进作用。而 AMPA 受体也可通过降低强音诱发的刺激毒性反应来保护耳蜗组织^[9]。

除了 SGN 上存在的 Glu 受体外,IHC 上也存在 Glu 自身受体。被释放的 Glu 先作用到 IHC 上的自身受体再与 SGN 上的 Glu 受体结合发挥效应^[10],且 Glu 可以上调游离 IHC 内的 Ca^{2+} 浓度^[11]。而自身受体究竟是哪种 Glu 受体还没有明确报道。

关于 Glu 在耳蜗内的去路,Eybalin 等^[12]利用放射自显影方法的研究推测耳蜗中可能存在的谷氨酸-谷氨酰胺(Gln)循环机制:突触间隙中过量释放的 Glu 主要是由支持细胞通过谷氨酸转运体的重摄取来清除,以阻止 Glu 的兴奋性毒性作用。离体细胞培养发现,Glu 可能是谷氨酰胺合成酶的一个调控因素,因而推测在噪声、缺血缺氧等损伤引起的 Glu 分泌增加时,谷氨酰胺合成酶在此调控作用下可能具有重要的保护作用。该问题的研究对于防治谷氨酸的兴奋性毒性作用具有重要的意义。

2.2 三磷酸腺苷(ATP) ATP 是神经系统的递质之一,其受体可分为两大类:配体门控性离子通道型受体(P2X 受体)^[13]和 G 蛋白耦联型受体(P2Y 受体)^[14]。听觉信息由 SGN 向中枢传递的过程中,ATP 可与 Glu 等神经递质一起释放^[15],在听觉形成的过程中发挥了重要作用^[16]。Xiang 等^[17]利用多克隆抗体对 P2X 受体的表达进行了定位,发现在几乎所有 SGN 上都有 P2X 受体的表达,P2X₂ 受体的表达最多,其次为 P2X₁,P2X₁ 和 P2X₃。ATP 受体在 I 型 SGN 的胞体及突起均有分布,且分布均匀^[15]。而在 SGN 上诱导出 ATP 电流(I_{ATP}),说明功能性 ATP 受体的存在^[18],进一步提示 ATP 是 SGN 的传入神经递质之一^[19]。除了 P2X 受体,血管纹处还表达有 P2Y 受体,介导 K^+ 从血管纹的边缘

细胞流动到蜗管^[20]。文献^[20-21]提示,神经末梢释放的 ATP,可以作用于 P2Y 受体,提高胞内 Ca^{2+} 的浓度,激活 NO/cGMP 途径,后者作为第二信使,调节耳蜗内电位、微循环等^[22],同时也对 ATP 进行着负反馈调节^[21],即阻止细胞内持续升高的 Ca^{2+} 导致的超载以及细胞的死亡^[23]。

ATP 与噪声暴露引起的听觉损伤直接相关。当豚鼠暴露于 110 dB SPL 的噪声环境 15 min,内淋巴中 ATP 的浓度就会达到原来的两倍,同时伴有内淋巴电位(EP)降低,而影响听觉信息的传递^[18]。而在 95 dB 噪声环境暴露 15 min 后,内源性 ATP 被释放入组织间隙,导致耳蜗的机械动力学异常,ATP 拮抗剂 PPADS 可以通过阻断耳蜗组织里的 P2X 受体和部分 P2Y 受体起到保护作用^[24]。在分离的 OHC 和耳蜗内灌注 ATP 也都出现了细胞毒性作用。实验发现 3~30 mmol/L 的 ATP 可以在几分钟内即引起分离的 OHC 的水肿,出现空泡。而在全细胞电压钳记录下的 OHC,当给予 ATP 的浓度在 10^{-6} mol/L 水平时即可引起细胞的毒性作用,可能与在一定钳制电压下,细胞内外电解质浓度的不同,导致细胞更易出现水肿有关。而 60 mmol/L ATP 灌注耳蜗 2 h,3~4 周后耳蜗螺旋器和血管纹处的细胞几乎完全损坏,且伴有 SGN 数量的明显减少。前庭阶和鼓阶内有大量增殖的粘连性组织,以顶回更明显^[25]。Chen 等^[26]也发现在一定强度的噪声暴露下,ATP 会抑制耳蜗内的一些电位,耳蜗功能受到一定损害。另一些实验则发现了 ATP 的保护作用。如在噪声暴露下可引起的暂时性听力阈移(temporary threshold shift, TTS),预灌注 ATP(5 mmol/L)的动物,其 TTS 恢复快,可见 ATP 可以促进噪声引起的 TTS 的恢复^[27]。Julie 等^[28]发现,噪声暴露下大鼠耳蜗内 P2X₂ 受体亚单位出现上调。因而,ATP 在耳蜗内的作用到底是损害性为主还是保护性为主,可能与其在耳蜗内的浓度有关,但确切的机制还有待进一步研究。

2.3 多巴胺(dopamine, DA) DA 是去甲肾上腺素的前体物质。DA 受体有 5 型:D1~D5。可分为 D1(包括 D1 和 D5)和 D2(包括 D2、D3 和 D4)受体家族。D1 受体家族被激活后可使腺苷酸环化酶的活性增强,cAMP 的水平升高。而 D2 受体家族则抑制环化酶的活性^[29]。耳蜗中存在的 DA 被公认为是耳蜗核团的传出纤维释放的神经递质之一,作为突触前抑制的可能介质,参与听神经活动的调节。Niu 等^[30]对豚鼠耳蜗的研究发现,D1 受体存在于 SGN 和 IHC 底部的突触末梢,通过谷氨酸受体的磷酸化-激活蛋白激酶 A 的途径来实现对听神经功能的调节。Sun 等^[31]发现 DA 和 DA 受体兴奋剂可诱发 SGN 产生一种缓慢的暂时去极化电流,内向电流减弱,继而引起动作电位幅度的下降,而这种内向电流可被河豚毒素特异性阻断,提示 DA 的这种作用是通过电压门控性 Na^+ 离子通道介导的,这可能是 I 型 SGN 电活动受抑制的机制之一。

另一方面,预灌注 DA 受体激动剂 piribedil(双哌啶啉),可以预防缺血引起的突触末梢的损伤^[32]。在 130 dB SPL 噪声暴露 15 min 的同时进行 piribedil 灌注耳蜗后,听神经复合

动作电位的阈移也显著减小,且不伴有传入神经末梢的破坏^[32]。另有文献^[33]报道,DA可以抑制噪声或缺血引起的传入神经末梢的过度兴奋,起到保护传入神经末梢的作用。其机制尚不清楚,但可以为临床上预防和治疗如突发性耳聋和噪声性聋等特殊听力损失提供重要的治疗前景。

2.4 γ -氨基丁酸(GABA) GABA是中枢神经系统主要的抑制性神经递质,其受体分为两种亚型:GABA_A和GABA_B。GABA作用于GABA_A受体,调节Cl⁻离子流,影响突触的传递,平衡神经元的兴奋和抑制活动。GABA作用于GABA_B受体,影响第二信使,调节K⁺的传导^[34]。

哺乳动物耳蜗系统内,外侧橄榄耳蜗束主要起源于上橄榄外侧核(核内的大多数神经元为GABA阳性神经元),传出神经元发出的纤维与传入神经元的树突形成突触联系^[35]。噪声可引起外淋巴中GABA浓度升高^[36],提示噪声可使传出神经末梢释放GABA。原位杂交证实所有I型SGN均表达GABA_A α_2 受体mRNA^[37],且Malgrange等^[38]也证实了SGN上功能性GABA受体的存在,提示GABA作为传出-传入的轴-树型突触间的神经递质,可以通过调节I型SGN的活动完成对IHC传入活动的抑制^[37]。文献^[39]表明IHC释放的Glu可以通过作用到外侧橄榄耳蜗束上的mGluRs调节GABA的释放,进而再通过GABA_A受体调节DA的释放,从而减轻Glu对SGN的兴奋性毒性作用。近期实验^[39]发现单侧耳蜗毁损后,GABA在下丘脑中的含量先降后升,而Glu含量的变化则刚好相反,两者的比例随时间的推移而趋于正常,这可能与Glu是GABA的代谢前体,GABA能通过三羧酸循环合成Glu,而Glu能刺激GABA的合成有关。二者含量的动态变化反映了神经元的活动状态,提示在单侧耳蜗毁损后,两者在听觉中枢的重组过程中可能起重要作用。但是这种变化是否是神经元的保护性或代偿性机制的结果,还不明确。

综上所述,耳蜗螺旋神经节细胞和毛细胞之间神经递质多样,机制复杂,可能还存在未知的递质和噪声性听力损伤相关,因此还需通过电生理学及分子生物学的方法进一步研究,这也将为我们探索更多的内耳疾病如耳聋、听力障碍的发生机制和治疗方法提供新的线索和依据。

[参考文献]

- [1] Spoendlin H. Sensory neural organization of the cochlea[J]. J Laryngol Otol, 1979, 93:853-877.
- [2] 韩济生. 神经科学原理[M]. 北京:北京医科大学出版社, 1999: 524-538.
- [3] Nakagawa T, Komune S, Uemura T, et al. Excitatory amino acid response in isolated spiral ganglion cells of guinea pig cochlea[J]. J Neurophysiology, 1991, 65:715-723.
- [4] Han D Y, Harada N, Tomoda K, et al. Characterization of the calcium influx induced by depolarization of guinea pig cochlear spiral ganglion cells[J]. ORL, 1994, 56:125-129.
- [5] Shimozono M, Tono T, Morimitsu T, et al. Measurement of intracellular free Ca²⁺ concentration in guinea pig spiral ganglion cells[J]. Neuroreport, 1995, 6:421-424.
- [6] Ferchmin P A, Perez D, Biello M. Spermine is neuroprotective against anoxia and N-methyl-D-aspartate in hippocampal slices[J]. Brain Res, 2000, 859:273-279.
- [7] Pujol R, Puel J L. Excitotoxicity, synaptic repair, and functional recovery in the mammalian cochlea: a review of recent findings[J]. Ann NY Acad Sci, 1999, 884:249-254.
- [8] Diao M, Gao W. The effect of NO in noise-induced hearing loss: research progress[J]. Chin J Ophthalmol Otorhinolaryngol, 2004, 4:191-193.
- [9] Ruel J, Chen C, Pujol R, et al. AMPA-preferring glutamate receptors in cochlear physiology of adult guinea-pig[J]. J Physiol, 1999, 518(Pt3):667-680.
- [10] Takashi K, Mitsuru O, Yuki W, et al. Glutamate induced currents in isolated inner hair cells from guinea-pig cochlea[J]. Brain Res, 2003, 976:135-138.
- [11] 李兴启, 孙建和, 于宁, 等. 谷氨酸调节耳蜗内毛细胞游离钙的实验观察[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 2001, 36:101-104.
- [12] Eybalin M, Norenberg M, Renard N. Glutamine synthetase and glutamate metabolism in the guinea pig cochlea[J]. Hear Res, 1996, 101:93-101.
- [13] North R A. Molecular physiology of P2X receptors[J]. Physiol Rev, 2002, 82:1013-1067.
- [14] Burnstock G. The past, present and future of purine nucleotides as signaling molecules[J]. Neuropharmacology, 1997, 36:1127-1139.
- [15] Cho H, Harada N, Yamashita T. Extracellular ATP induced Ca²⁺ mobilization of type I spiral ganglion cells from the guinea pig cochlea[J]. Acta Otolaryngol, 1997, 117:545-552.
- [16] Salih S G, Housley G D, Raybould N P, et al. ATP-gated ion channel expression in primary auditory neurons[J]. Neuroreport, 1999, 10:2579-2586.
- [17] Xiang Z, Bo X, Burnstock G. P2X receptor immunoreactivity in the rat cochlea, vestibular ganglion and cochlear nucleus[J]. Hear Res, 1999, 128:190-196.
- [18] Housley G D, Jagger D J, Greenwood D, et al. Purinergic regulation of sound transduction and auditory neurotransmission[J]. Audiol Neurootol, 2002, 7:55-61.
- [19] Jarlebak L E, Housley G D, Thorne P R. Immunohistochemical localization of adenosine 5'-triphosphate-gated ion channel P2X₂ receptor subunits in adult and developing rat cochlea[J]. J Comp Neurol, 2000, 421:289-301.
- [20] Ren T, Nuttal A L, Miller J M. ATP-induced cochlear blood flow changes involve the nitric oxide pathway[J]. Hear Res, 1997, 112:87-94.
- [21] 赵立东, 李英莉, 李宁, 等. 豚鼠耳蜗中ATP对一氧化氮/环磷酸鸟苷途径的激活作用[J]. 生理学报, 2003, 55:658-662.
- [22] Fessenden J D, Schacht J. Localization of soluble guanylate cyclase activity in the guinea pig cochlea suggest involvement in the regulation of blood flow and supporting cell physiology[J]. J Histochem Cytochem, 1997, 45:1401-1408.
- [23] Matsunobu T, Shacht J. Nitric oxide-cyclic GMP pathway attenuates ATP-evoked intracellular calcium increase in supporting cells of guinea pig cochlea[J]. J Compar Neurol, 2000, 423:452-461.

- [24] Bobbin R P, PPADS, an ATP antagonist, attenuates the effects of a moderately intense sound on cochlear mechanics[J]. *Hear Res*, 2001, 156:10-16.
- [25] Bobbin R P, Chu S H, Skellett R A, et al. Cytotoxicity and mitogenicity of adenosine triphosphate in the cochlea[J]. *Hear Res*, 1997, 113:155-164.
- [26] Chen C, Nenov A P, Bobbin R P, et al. Noise exposure alters the response of outer hair cells to ATP[J]. *Hear Res*, 1995, 88:215-221.
- [27] Sugahara K, Shimogori H, Okuda T, et al. Cochlear administration of adenosine triphosphate facilitates recovery from acoustic trauma (temporary threshold shift) [J]. *ORL*, 2004, 66:80-84.
- [28] Julie C C, Nicholas P R, Lin L, et al. Noise induced up-regulation of P2X₂ receptor subunit of ATP-gated ion channels in the rat cochlea[J]. *Neuroreport*, 2003, 14:817-823.
- [29] Taku I, Atsushi M, Shin-ichiro M, et al. Localization of dopamine receptor subtypes in the rat spiral ganglion[J]. *Neurosci Lett*, 2006, 399:226-229.
- [30] Niu X, Canlon B. The signal transduction pathway for the dopamine D1 receptor in the guinea-pig cochlea[J]. *Neuroscience*, 2006, 137:981-990.
- [31] Sun W, Salvi R J. Dopamine modulates sodium currents in cochlear spiral ganglion neurons[J]. *Neuroreport*, 2001, 12:803-807.
- [32] d'Aldin C, Puel J L, Leducq R, et al. Effects of a dopaminergic agonist in the guinea pig cochlea[J]. *Hear Res*, 1995, 90:202-211.
- [33] Gaborjan A, Lendvai B, Vizi E S. Neurochemical evidence of dopamine release by lateral olivocochlear efferents and its presynaptic modulation in guinea-pig cochlea[J]. *Neuroscience*, 1999, 90:131-138.
- [34] Nakagawa T, Yamashita M, Hisashi K, et al. GABA-induced response in spiral ganglion cells acutely isolated from guinea pig cochlea[J]. *Neuro Res*, 2005, 53:396-403.
- [35] 邱建华, 王锦玲, 施际武, 等. 豚鼠上橄榄外侧核 γ -氨基丁酸阳性神经元向耳蜗和耳蜗核的分支投射[J]. *中华耳鼻咽喉科杂志*, 1995, 30:279-281.
- [36] Lin X, Chen S, Chen P. Activation of metabotropic GABA_B receptors inhibited glutamate responses in spiral ganglion neurons of mice[J]. *Neuroreport*, 2000, 11:957-961.
- [37] 郑虹, 唐玥杓, 郑芸, 等. 大鼠耳蜗螺旋神经节细胞 GABA_A 受体 $\alpha 2$ mRNA 的表达及意义[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2004, 35:182-184.
- [38] Malgrange B, Rigo J M, Lefebvre P P, et al. Diazepam-insensitive GABA_A receptors on postnatal spiral ganglion neurons in culture[J]. *Neuroreport*, 1997, 8:591-596.
- [39] Doleviczenyi Z, Halmos G, Repassy G, et al. Cochlear dopamine release is modulated by group II metabotropic glutamate receptors via GABAergic neurotransmission[J]. *Neurosci Lett*, 2005, 385:93-98.
- [40] 王勤瑛, 华清泉, 汪审清, 等. 大鼠单侧耳蜗损毁后下丘 γ -氨基丁酸和谷氨酸变化[J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2006, 13:407-409.

[收稿日期] 2006-09-15

[修回日期] 2007-03-06

[本文编辑] 尹茶

· 书 讯 ·

《临床技术操作规范——心血管病学分册》已出版

《临床技术操作规范——心血管病学分册》是由国家卫生部委托中华医学会心血管分会组织全国心血管病学专家集体编写的权威性技术操作规范,人民军医出版社出版,ISBN号978-7-5091-0681-5,16开,精装,110页,13.6万字,定价:36.00元。

全书共分19章,分别对心电图检查、心电信息检查、动态血压监测、六分钟步行试验、倾斜试验、超声心动图检查及药物负荷试验、心脏电生理检查、其他有创检查、经皮冠状动脉介入治疗、经皮二尖瓣球囊成形术治疗心律失常、人工心脏起搏术、主动脉内球囊反搏术等临床应用进行了系统规范。本书科学、实用,可操作性强,对规范心血管病治疗的操作技术、提高医疗质量有重要指导作用。适合心血管病学医师、技师等相关专业人员和医学行政管理人员参照执行。

本书由人民军医出版社市场部发行。

通讯地址:北京市100036信箱188分箱,邮编:100036

电话:010-51927252;010-51927300-8168。E-mail: wanglan@pmmp.com.cn