

コルチ器支持細胞におけるアセチルコリン応答についての検討

奥 雅 哉

哺乳類のコルチ器は、音刺激によって振動する基底板上に位置し、内有毛細胞 (inner hair cell, IHC) および外有毛細胞 (outer hair cell, OHC) の2種類の感覚毛と、これらを周囲から支える支持細胞群により構成されている。

音受容機構は、その全容は未だ完全に解明されておらず、現在も広範囲にわたり研究されている。その中で、音受容には、IHC 及び OHC の関与が重要であるが、支持細胞も IHC 及び OHC の構造上の支持だけでなく、音受容に関与している可能性が示唆されている。

本研究では、モルモット蝸牛のコルチ器支持細胞群、特にダイテルス細胞 (Deiters' cell, 以下 DCs) 及びヘンゼン細胞 (Hensen's cell, 以下 HEs) のアセチルコリン (Ach) 応答性をパッチクランプ法の conventional whole cell mode を用いて、膜電流の変化として調べた。その結果、次の諸点が明らかになった。

- (1) DCs において Ach 応答が認められたが、HEs においては認められなかった。
- (2) DCs において認められた Ach 応答は濃度依存性であり、OHC の Ach 応答と同様であった。
- (3) DCs における Ach 応答に対応する Ach レセプター (AchR) は、OHC の AchR と同様にムスカリン様、ニコチン様両者の性質を併せ持っている新しいタイプの受容体である可能性が示唆された。

以上の結果から、DCs は OHC の解剖学的な支持だけでなく、OHC と DCs の間に電気生理学的な関連があり、音受容に対する DCs の何らかの関与を示唆するものと考える。

(平成10年6月15日受理)

Analysis of the Responses to Acetylcholine in Isolated Supporting Cells from the Guinea-pig Cochlea

Masaya OKU

The whole cell patch clamp modes were developed to investigate the ionic channels of cellular membrane and to elucidate the signal transduction pathways from receptor to effector.

The auditory sensory organ of mammals, the organ of Corti, is located on the basilar membrane. This organ consists of two types of sensory hair cells, outer and inner hair cells (OHC and IHC), and a surrounding network of various supporting cells, the largest part of the supporting cells is made of Deiters' cells (DCs) and Hensen's cells (HEs). By using whole cell patch clamp technique, the Acetylcholine (Ach) -induced current (I_{Ach}) in dissociated OHC of guinea-pig cochlea has been

investigated. The aim of this presented study was to determine whether voltage-dependent currents exist in the supporting cells which are associated with the hair cells.

Two types of supporting cells, DCs and HEs, were freshly isolated from guinea-pig cochlea. The current-voltage relations of the DCs was higher than the HEs, and the I_{Ach} in DCs was increased, but the I_{Ach} in HEs was not observed.

Ach induced outward currents of DCs was increased by the concentration.

The responses to Ach were suppressed by the muscarinic antagonist, atropine ($10^{-6}M$), and the nicotinic antagonist, D-tubocurarine ($10^{-6}M$). It suggests that the Ach receptor of DCs was both the muscarinic and nicotinic receptor. (Accepted on June 15, 1998) *Kawasaki Igakkaishi* 24(1): 25-33, 1998

Key Words ① Organ of Corti ② Acetylcholine ③ Deiters' cells
④ Hensen's cells

はじめに

人体を構成する各々の細胞は増殖、分化から機能発現に至るまで厳重に制御され、調和のとれた効率のよい生命活動を行っている。ホルモン・神経伝達物質・オータコイドや細胞増殖因子などの調節因子の大部分は細胞膜を通過できず、情報を細胞膜を横切って送り込むシステム (transmembrane control) を持っている。細胞表面のレセプター (化学受容体) で受け取られた情報は、信号の変換を経て細胞内へと伝えられる。これらの信号は細胞膜上に存在する効果器 (エフェクター) であるイオンチャネルへと導かれ、細胞膜において特有の電氣的応答を引き起こし、諸々の細胞応答を引きおこす。これが細胞内情報伝達である。細胞膜レセプターまでを情報伝達の第1段階、それ以降を第2段階と考えて、細胞外情報伝達物質を第1次情報伝達物質 (first messenger)、またレセプター刺激によって生産される細胞内情報伝達物質を第2次情報伝達物質 (second messenger) と呼ぶことがある¹⁾。

コルチ器は、柱細胞列によって内外の2部にわけられ、ここに1列の内有毛細胞 (inner hair cell, 以下 IHC) および3~4列の外有毛細胞 (outer hair cell, 以下 OHC) の2種類の感覚毛とこれらを周囲から支える支持細胞群により構成

されている。

音受容には、IHC 及び OHC の関与が重要であるが、支持細胞は OHC を構造上直接あるいは間接的に支持し、この構造的支持が主な機能と考えられてきた。しかし、音刺激によって引き起こされる受容器電位が支持細胞でも記録されることから、OHC と支持細胞間に電氣的結合が存在し、両細胞の電氣的生理機能が、密接に関連していることが示唆されている^{2)~4)}。

モルモット蝸牛 OHC においては、細胞外からの蝸牛遠心性神経伝達物質としてアセチルコリン (Ach) が考えられている⁵⁾。

Ach に対応するアセチルコリンレセプター (AchR) は、ニコチン性アセチルコリンレセプター (nAchR) とムスカリン性アセチルコリンレセプター (mAchR) に分類され、nAchR は骨格筋の神経筋接合部、神経節及び中枢神経に発現しているイオンチャネル受容体であり、50~60 kD で4種類のサブユニットからなる5量体 ($\alpha 2$, β , γ , δ) である。中央にイオンの通る小孔、すなわちチャネルを形成しており、 α サブユニットに Ach が結合し、カチオンチャネルが開くことによりシナプス後細胞に脱分極が引き起こされると考えられている。

また mAchR は、中枢神経、自律神経節後神経、心筋、平滑筋等に発現している G タンパク質共役受容体である。受容体活性化の情報が G タンパク質を介してエフェクターに伝達され

る型で、一般に活性化した1個の受容体に数個のGタンパク質が結合し効率を高めている。Gタンパク質にはコレラ毒素に感受性をもつGs, 百日咳毒素に感受性をもつGi, Go, 両者に感受性をもつGt, 両者に感受性をもたないGqなどが知られている。また、Gタンパク質のエフェクターとして代表的なものにadenylate cyclase (AC), phospholipase C (PLC)があり、それぞれセカンドメッセンジャーを活性化し細胞内情報伝達を行っている。

近年、パッチクランプ法を用いて^{6)~8)}、細胞外からあるいは、細胞内に直接薬物を投与することにより、その細胞の生理機能を解明する情報が得られるようになり^{9)~13)}、内耳においてはまずOHCに関する研究がすすめられた。その中で神経伝達物質とその受容体に関する研究では、現在コルチ器の遠心性神経伝達物質としての関与が示唆されているATP⁹⁾、Ach^{10),11)}、サブスタンスP¹⁴⁾などの細胞外投与に反応する化学応答が報告されている。また、遠心性神経の一部がDCsに分布しているとの報告もある¹⁵⁾。

最近、比較的容易に単離できる支持細胞群の1つであるダイテルス細胞 (Deiters' cell, 以下DCs) やヘンゼン細胞 (Hensen's cell, 以下HEs) の生理的機能が種々の方法で検討されているが^{16)~19)}、現時点では不明な点も多い。今回著者は、OHCと支持細胞間に電気生理学的関連性が存在するならば、支持細胞にもOHC同様の化学受容体が存在すると考え、有毛細胞で証明されている、化学受容体応答のなかで最も重要な役割を果たしていると思われるアセチルコリン (以下Ach) 応答についてDCs及びHEsにおいて検討したので報告する。

方 法

1. 実験動物及び細胞単離

250~400gのプライエル反射正常の白色ハートレー系モルモットを使用した。ハロセン麻酔下に断頭後、実体顕微鏡下に中耳骨胞を露出し、蝸牛を摘出した。摘出した蝸牛の主に第2, 3

回転から機械的処理によりDCs及びHEsを単離した。

倒立顕微鏡 (Nikon製) のチャンバー内に細胞を沈殿させ、対象細胞をDCsとHEsとした。これらの操作は全て、室温24~26℃下でおこなった。

2. 電流測定

パッチ電極は、Inter Medical社のガラス毛細管 (1.5mm~0.8mm) から、微小電極作製器 (Narishige pp83) を用いて作製した。使用した電極の先端直径は2~3µm, 抵抗は3~5MΩであった。吸引により、細胞膜との間にギガオームシールを作製し、更に吸引し細胞膜を破りパッチクランプ法のConventional whole cell modeとして膜電流を測定した。保持電位を-80mVとし、10mV stepにて-100mV~+90mVまで持続時間100mSの電圧刺激を与え、膜電流の変化を室温下に記録した。アンプは、AXON Instruments社のAXOPATCH 1Dを使用し、電圧刺激及び膜電流測定は同社のpCLAMPを使用した。なお、膜電流は100mS時の値で検討した。

3. 実験溶液

細胞外液はNaCl; 150mM, KCl; 5mM, CaCl₂; 2mM, MgCl₂; 1mM, HEPES; 10mM, Dextrose; 10mM, pH 7.4とし、ピペット内液はKCl; 150mM, MgCl₂; 5mM, Na₂ATP; 3mM, EGTA; 1mM, HEPES; 10mM, pH 7.4を使用した。

細胞外液を標準液とし、Ach^{10⁻³M, 10⁻⁴M, 3×10⁻⁵M, 10⁻⁵M, 10⁻⁶M}及びAchレセプターの拮抗薬であるAtropine^{10⁻⁶M, D-tubocurarine^{10⁻⁶M}}をそれぞれ標準液に溶解し、チャンバー内の液を交換することにより投与した。

なお、本実験は、川崎医科大学動物実験委員会の承認を受け、同大学の動物実験指針に基づき施行された。

実 験 結 果

1. DCs及びHEsの電位依存性電流

標準細胞外液、標準ピペット内液下でDCs

に対して、 -80 mV を保持電位とし -100 mV から 10 mV のステップパルスで脱分極性電圧変化を与えると、 -20 mV 付近で急速に賦活される電流を認めた。

Figure 1 に示した様に、DCs の脱分極性電圧変化に伴う外向き電流は、 0 mV で 0.75 nA, 30 mV で 2.00 nA, 60 mV で 2.77 nA, 90 mV で 2.78 nA ($n = 39$) と急速に電流の上昇を示し、この外向き電流は 60 mV 付近までは膜電位の上昇(脱分極)に伴って直線的な増加を示すにも拘らず、それ以上の電流では増加せずプラトー相を形成した。

同様に HEs に脱分極性電圧変化を与えると、**Figure 1** で示した様に、DCs 同様に -20 mV 付近で急速に賦活される外向き電流を認めた。この電流は 0 mV で 0.32 nA, 30 mV で 0.96 nA, 60 mV で 1.52 nA, 90 mV で 2.00 nA ($n = 6$) の値を示し、 90 mV まで直線的に上昇し、DCs で認められたような 60 mV 以上の電位での電流のプラトー相の形成は認められなかった。この結果は DCs と HEs の外向き電流の増加状態が 60 mV 付近から異なり、両細胞に關与する電流が若干異なることを示している。この結果は奥本が報告²⁰⁾しており、更に奥本は CsCl や TEA などを使用した実験により、この外向き電流は、DCs では電位依存性遅延整流型 K 電流と Ca イオンに依存した電流から構成され、また HEs では主に電位依存性遅延整流型 K 電流で構成されていると報告している²⁰⁾。

2. DCs 及び HEs の Ach 応答の有無

音受容に關連している OHC において証明されている、化学受容体応答のなかで最も重要な役割を果たしていると思われる Ach 応答が、OHC と支持細胞間に何らかの電気生理学的機能が存在するなら、支持細胞においても Ach 応答が存在するのではないかと考え、DCs 及び HEs の Ach 応答の有無について検討した。

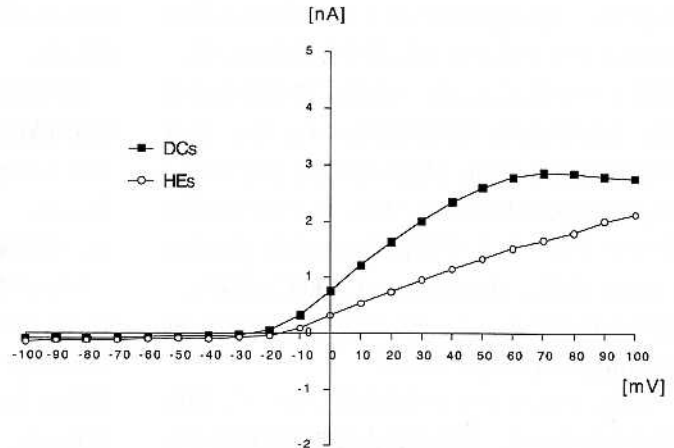


Fig. 1. I-V curves of isolated DCs and HEs obtained with normal extracellular solution and normal pipette solution. Outward currents were generated by depolarizing voltage pulses.

標準細胞外液での DCs 及び HEs の膜電位依存性の電流を control とし Ach による影響を検討した (**Fig. 2**)。標準細胞外液に Ach 10^{-3} M を溶解し、チャンバー内の液を交換することにより投与した。標準細胞外液で検出された DCs の膜電位依存性電流は 60 mV 付近までは膜電位の上昇(脱分極)に伴って直線的な増加を示すにも拘らず、それ以上の電流では増加せずプラトー相を形成する。次に Ach 10^{-3} M を含む細胞外液をチャンバー内に投与すると、標準細胞外液の時と同様に -20 mV 付近で急速に賦活される電流を認めた。この電流は、 0 mV で 0.77 nA, 30 mV で 2.80 nA, 60 mV で 4.72 nA, 90 mV で 6.47 nA ($n = 10$) の値を示し、標準細胞外液の時とは異なり、プラトー相を形成せず、直線的に外向き電流の増加を示した (**Fig. 2a**)。

一方 HEs では、標準細胞外液で検出された膜電位依存性電流は、プラトー相を形成せずに 90 mV まで直線的に上昇する。次に、Ach 10^{-3} M を含む細胞外液をチャンバー内に投与したが、 0 mV で 0.38 nA, 30 mV で 1.02 nA, 60 mV で 1.53 nA, 90 mV で 2.00 nA ($n = 4$) の値を示し、DCs で認められた様な有意な外向き電流の増加は認められなかった (**Fig. 2b**)。

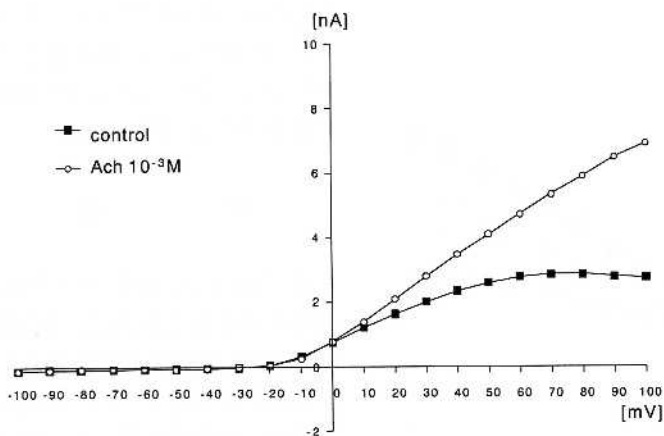


Fig. 2a. I-V curves obtained from isolated DCs before and after perfusion of the cell with 10^{-3} M Ach solution. Outward current increased remarkably after perfusion of the cell with 10^{-3} M Ach solution.

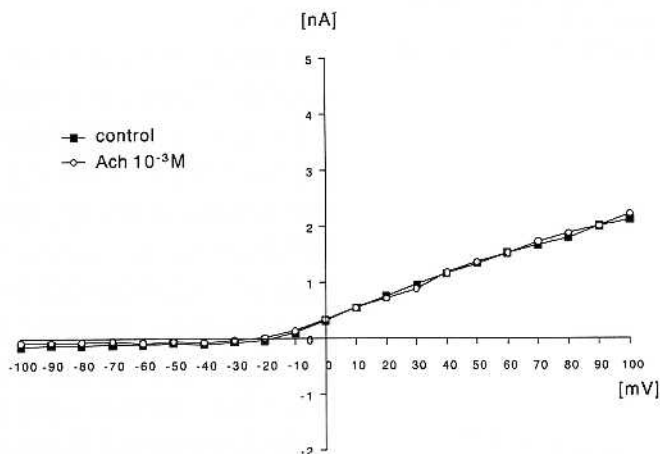


Fig. 2b. I-V curves obtained from isolated HEs before and after perfusion of the cell with 10^{-3} M Ach solution. Outward current did not increase after perfusion of the cell with 10^{-3} M Ach solution.

3. DCs に対する Ach 応答の濃度依存性について (Fig. 3)

標準細胞外液で検出される DCs の膜電位依存性電流を control とし、標準細胞外液に溶解する Ach 濃度を変えることにより濃度依存性の有無を調べた。Ach 10^{-3} M では 0 mV で 0.77 nA, 30 mV で 2.80 nA, 60 mV で 4.72 nA, 90 mV で 6.47 nA ($n=10$) の値を示し、Ach 10^{-4} M では、0 mV で 1.05 nA, 30 mV で 3.14 nA, 60 mV で 4.95 nA, 90 mV で 6.24 nA ($n=19$) の値を示し、ほとんど有意な変化は認められな

かったが、Ach 3×10^{-5} M では、0 mV で 0.37 nA, 30 mV で 2.05 nA, 60 mV で 3.70 nA, 90 mV で 4.98 nA ($n=4$) の値、Ach 10^{-5} M では、0 mV で 0.61 nA, 30 mV で 2.31 nA, 60 mV で 3.33 nA, 90 mV で 4.19 nA ($n=4$) の値、と低濃度になるにしたがって Ach に対する反応が弱くなり、Ach 10^{-6} M では、0 mV で 0.51 nA, 30 mV で 1.55 nA, 60 mV で 2.45 nA, 90 mV で 3.35 nA ($n=4$) の値を示し、反応はほとんど認められなくなった。この結果より DCs における Ach 応答は濃度依存性である可能性が示唆された。

4. HEs に対する Ach 応答の至適濃度について (Fig. 4)

標準細胞外液で検出される HEs の膜電位依存性電流を control とし、Ach 10^{-3} M を投与しても、Figure 2b で示したように外向き電流は惹起されない。そこで至適濃度がある可能性を考え、Ach 10^{-4} M を投与したが、0 mV で 0.24 nA, 30 mV で 0.89 nA, 60 mV で 1.49 nA, 90 mV で 2.04 nA ($n=4$) の値を示し、濃度を変化させても

Ach による膜電流の変化は、ほとんど認められなかった。

5. DCs における Ach 応答の受容体についての検討

標準細胞外液での DCs の膜電位依存性の電流を control とし Ach 10^{-4} M を投与すると Figure 3 で示した様に、 -20 mV より脱分極側では、有意な外向き電流の増加を認める。次にムスカリン様拮抗薬である Atropine 10^{-6} M を投与すると、膜電位依存性電流は -20 mV 付近で急速に賦活されるが、0 mV で 0.77 nA, 30 mV で 2.19

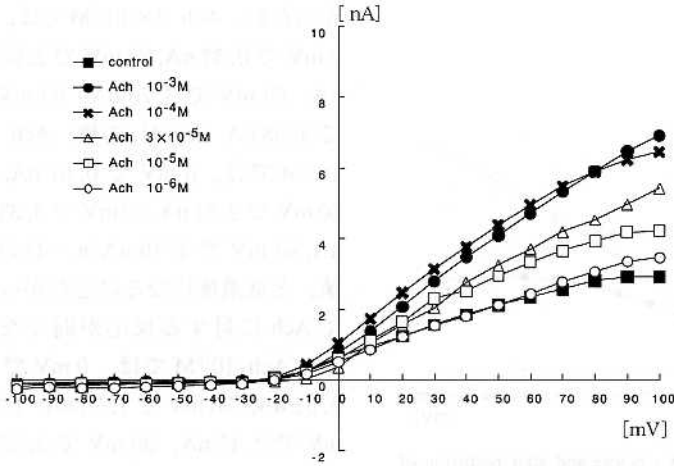


Fig. 3. I-V curves obtained from isolated DCs before and after perfusion of the cell with 10^{-3} M, 10^{-4} M, 3×10^{-5} M, 10^{-5} M, 10^{-6} M Ach solutions. Outward currents showed the almost same increase after perfusion of the cell with 10^{-3} M and 10^{-4} M Ach solutions. These currents decreased to a lower concentration and outward current increased a little after perfusion of the cell with 10^{-6} M Ach solution.

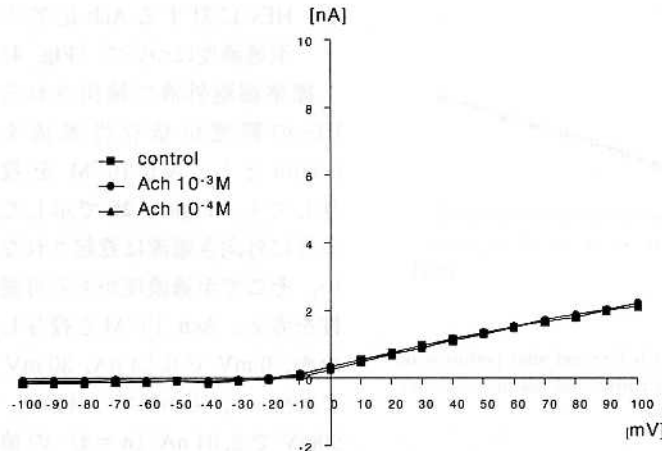


Fig. 4. I-V curves obtained from isolated HEs before and after perfusion of the cell with 10^{-3} M and 10^{-4} M Ach solutions. Outward currents did not increase after perfusion of the cell with 10^{-3} M and 10^{-4} M Ach solutions.

nA, 60 mV で 3.17 nA, 90 mV で 3.53 nA ($n=4$) の値を示し, Ach 投与により増加した外向き電流は著明に抑制された (Fig. 5). 同様に DCs に Ach 10^{-4} M を投与することにより外向き電流を惹起させ, 次にニコチン様拮抗薬である D-tubocurarine 10^{-6} M を投与すると, 膜電位依存性電流は -20 mV 付近で急速に賦活されるが, 0 mV で 1.52 nA, 30 mV で 3.23 nA, 60 mV で

4.42 nA, 90 mV で 4.85 nA ($n=4$) の値を示し, Ach 投与により増加した外向き電流は著明に抑制された (Fig. 6).

考 察

音受容には, IHC 及び OHC の関与が重要であるが, 支持細胞は OHC を構造上直接あるいは間接的に支持し, この構造的支援が主な機能と考えられてきたが, 最近支持細胞も聴覚機構に関与している可能性が示唆されている。

本実験の目的は, コルチ器支持細胞群, 特にダイテルス細胞 (DCs) 及びヘンゼン細胞 (HEs) も音受容に関与しているならば, OHC との間に電気生理学的関連性が存在し, また OHC と支持細胞間に電気生理学的関連性が存在するならば, 支持細胞にも OHC 同様の化学受容体が存在すると考え, 有毛細胞で証明されている化学受容体応答のなかで最も重要な役割を果たしていると思われるアセチルコリン (Ach) 応答について DCs 及び HEs において検討した。

本実験で示した DCs のイオンチャンネルを流れる電流の増加は, 60 mV 付近までの電圧刺激では, 直線的に増加するが, 更に大きい電圧では電流の増加は無く, プラトー相を形成した。モルモットの OHC の電流-電圧曲線は, 80 mV 付近を最小とする N-shape パターンが報告されており^{21)~23)}, また Dulon²⁴⁾ は DCs の外向き電流は, OHC 同様の N-shape パターンを示すと報告している。本実験で認められる DCs におけるプラトー相は, 電圧刺激を 90 mV ま

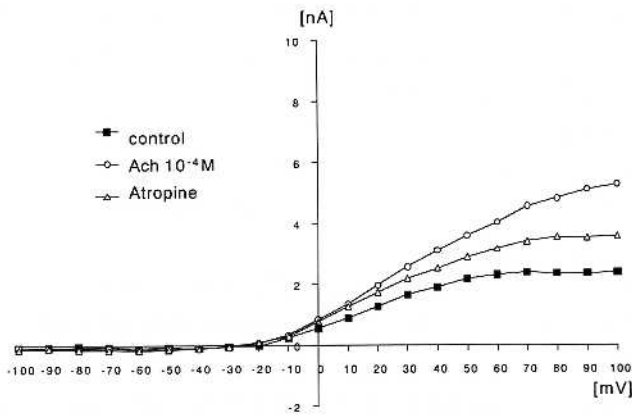


Fig. 5. I-V curves obtained from isolated DCs before and after perfusion of the cell with 10⁻⁴M Ach solution. Ach-induced current was suppressed by the 10⁻⁶M atropine solution.

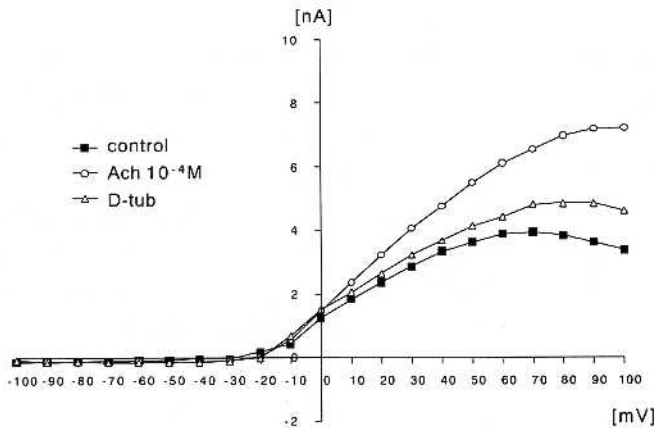


Fig. 6. I-V curves obtained from isolated DCs before and after perfusion of the cell with 10⁻⁴M Ach solution. Ach-induced current was suppressed by the 10⁻⁶M D-tubocurarine solution.

でしか上げていないための結果であって、Dulon²⁴⁾と同様に電圧刺激を140 mVまで行くとN-shapeパターンを呈するのではないかと考えられ、プラトー相はN-shapeパターンの一部であると考えている。

これに対し、HEsでは、脱分極電位の上昇に伴う電流は、直線的に増加した。DCsとHEsの電流の増加の違いについて、奥本²⁰⁾はDCsの電位依存性外向き電流は電位依存性遅延整流型K電流とCaイオンに依存した電流から構成され、またHEsでは主に電位依存性遅延整流型K電流で構成されており、DCsにおけるプ

ラトー相の形成はCaイオンに依存する電流の関与によるものと報告している。

標準細胞外液での膜電位依存性の電流をcontrolとしDCs及びHEsに対してAch 10⁻³Mを投与すると、DCsにおいて著明な外向き電流の増加が認められたが、HEsでは電流の増加が認められなかった。OHCにおいてAch応答が報告されており^{10,11,25,26)}、同様のAch応答がDCsには存在するが、HEsには存在しないということがわかった。これにより、OHCとDCsの間に何らかの電気生理学的関連性が存在するが、OHCとHEsの間には電気生理学的関連性が存在しない可能性が示唆された。

また、OHCにおけるAch応答は濃度依存性であると報告されており^{10,11)}、本実験の結果からDCsにおけるAch応答もOHCと同様に濃度依存性であることが示唆された。一方、HEsに対してはAch濃度を変えてもAch応答は認められず、至適濃度いかに拘らず、HEs

においてはAch応答は認められないものと思われる。

Achに対応するAchRは、nAchRとmAChRに分類され、OHCにおけるAchRは、Housely and Ashmore¹⁰⁾によるニコチン様拮抗薬、ムスカリン様拮抗薬を用いた実験から、AchRはニコチン様であると報告している。欠畑ら²⁴⁾や山本ら²⁵⁾はムスカリン様作動薬、拮抗薬の効果を調べることによって、AchRはムスカリン様受容体の性質もっており、OHCにおけるAchRはムスカリン様、ニコチン様受容体の両者を併せ持っているとして、いままでに報告されてい

ない新しいタイプであると報告している。本実験では、DCsにおけるAchRの性質を調べるため、DCsに対してAchを投与し外向き電流を惹起させた後、ムスカリン様拮抗薬であるAtropineを投与したところ外向き電流は抑制された。このことは、DCsにおけるAchRはムスカリン様受容体の性質を持っていることを示している。また同様に、ニコチン様拮抗薬であるD-tubocurarineを投与しても外向き電流は抑制された。これらの結果から、DCsにおけるAchRは、ムスカリン様、ニコチン様受容体の両者を併せ持っていることが示され、いままでOHC以外の細胞では報告されていない新しいタイプの受容体である可能性が示唆された。

音受容にはOHCの関与が重要であるが、支持細胞はOHCを構造上直接あるいは間接的に支持し、この構造が主な機能と考えられていた。OHCの遠心性神経伝達物質としてAch^{10),11)}が関与しており、最近、遠心性神経の一部がDCsに分布しているとの報告もあり¹⁵⁾、DCsにおいてもAchが関与している可能性が示唆されている。また本実験結果より、化学受容体応答のなかで最も重要な役割を果たしていると思われるAch応答がOHCだけでなくDCsにおいても認められ、HEsにおいては認められないことがわかった。更に、DCsにおけるAch応答はOHCと同様の濃度依存性が認められ、このAch応答に対応するDCsにおけるAchRは、いままでOHCにおいてのみ報告されている新しいタイプの受容体に類似していると示唆される。以上の結果から、支持細胞のなかでDCsはOHCの解剖学的な支持だけでなく、何らかの生理機能を有し、OHCとDCsの間に電気生理学的な関連があると考えられる。OHCとの

共同作業あるいは情報交換を行うことによって、DCsも音受容に関与している可能性を示唆するものとする。

ま と め

1. コルチ器支持細胞のAch応答をパッチクランプ法 (conventional whole cell mode) を用いて検討した。
2. DCsにおいてAch応答が認められ、またその反応は濃度依存性であり、OHCのAch応答と同様であった。
3. HEsにおいては、Ach応答が認められなかった。
4. DCsにおけるAchRは、OHCと同様にムスカリン様、ニコチン様両者の性質を併せ持っている新しいタイプの受容体である可能性が示唆された。

以上のことから、DCsはOHCの解剖学的な支持だけでなく、OHCとDCsの間に電気生理学的な関連があり、音受容に対するDCsの何らかの関与を示唆するものとする。

謝 辞

稿を終えるにあたり、ご指導とご校閲を賜りました川崎医科大学生化学1教室・湊川洋介教授、川崎医科大学・折田洋造名誉教授に深く感謝いたします。

なお、本論文の要旨の一部は、第98回日本耳鼻咽喉科学会総会 (大阪, 1997)、第23回日本耳鼻咽喉科学会中国地方連合講演会 (倉敷, 1997)、第7回日本耳科学会総会 (高知, 1997) において発表した。

文 献

- 1) 堅田利明：レセプターの構造と機能。Clin Neurosci 13：19-22, 1995
- 2) Oesterle E, Dallos P：Intracellular recordings from supporting cells in the organ of Corti. Hear Res 22：229-232, 1986
- 3) Oesterle EC, Dallos P：Intracellular recordings from supporting cells in the guinea-pig cochlea：AC potentials. J

- Acoust Soc Am 86 : 1013 - 1032, 1989
- 4) Zwislocki J, Slepceky N, Cefaratti L, Smith R : Ionic coupling among cells in the organ of Corti. *Hear Res* 57 : 175 - 194, 1990
 - 5) Bobbin RP, Konishi T : Acetylcholine mimics crossed olivocochlear bundle stimulation. *Nature* 231 : 222 - 223, 1971
 - 6) Neher E, Sakmann B : Single channel currents recorded from membrane of denervated frog muscle fibers. *Nature* 260 : 799 - 802, 1976
 - 7) Hamill OP, Marty A, Neher E, Sakmann B, Sigworth FJ : Improved patch-clamp technique for high resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pfuger Arch* 391 : 85 - 100, 1981
 - 8) Horn R, Marty A : Muscarinic activation of ionic currents measured by a new whole-cell recording method. *J General Physiol* 92 : 145 - 159, 1988
 - 9) Nakagawa T, Akaike N, Kimitsuki T, Komune S, Arima T : ATP-induced current in isolated outer hair cells of guinea pig cochlea. *J Neurophysiol* 63 : 1068 - 1074, 1990
 - 10) Housley GD, Ashmore JF : Direct measurement of the action of acetylcholine on isolated outer hair cells of the guinea pig cochlea. *Proceedings of the Royal Soc B* 244 : 161 - 167, 1991
 - 11) Kakehata S, Nakagawa T, Takasaka T, Akaike N : Cellular mechanism of acetylcholine-induced response in dissociated outer hair cells of guinea-pig cochlea. *J Physiol* 463 : 227 - 244, 1993
 - 12) Yamamoto T, Kakehata S, Saito T, Saito H, Akaike N : Cisplatin blocks voltage-dependent calcium current in dissociated outer hair cells of guinea-pig cochlea. *Brain Res* 648 : 296 - 298, 1994
 - 13) Nakagawa T, Kakehata S, Yamamoto T, Akaike N, Komune S, Uemura T : Ionic properties of $I_{K,n}$ in outer hair cells of guinea pig cochlea. *Brain Res* 661 : 293 - 297, 1994
 - 14) Kakehata S, Akaike N, Takasaka T : Substance P decrease the non-selective cation channel conductance in dissociated outer hair cells of guinea-pig cochlea. *Molecular Basis of Ion Channels and Muscle Contraction. Annals of the New York Academy of Science. New York, New York Press. 1993, pp 476 - 479*
 - 15) Nador JB Jr, Burgess BJ : Supranuclear efferent synapses on outer hair cells and Deiters' cell in human of Corti. *Hear Res* 81 : 49 - 56, 1994
 - 16) Santos-Sacchi J, Dallos P : Intracellular communication in supporting cells in the organ of Corti. *Hear Res* 9 : 317 - 326, 1983
 - 17) Santos-Sacchi J : Dye coupling in the organ of Corti. *Cell Tissue Res* 245 : 525 - 529, 1986
 - 18) Santos-Sacchi J : Isolated supporting cells from the organ of Corti : Some whole cell electrical characteristics and estimates of gap junctional conductance. *Hear Res* 52 : 89 - 98, 1991
 - 19) Dulon D, Moataz R, Mollard P : Characterization of Ca^{2+} signals generated by extracellular nucleotides in supporting cells of the organ of Corti. *Cell Calcium* 14 : 245 - 254, 1993
 - 20) 奥本香苗 : モルモットコルチ器支持細胞の電気的特性に及ぼすカナマイシンの影響. *川崎医学会誌* 23 : 155 - 164, 1997
 - 21) Ashmore JF : Ionic mechanisms in hair cells of mammalian cochlea. *Prog in Brain Res* 74 : 3 - 9, 1988
 - 22) Meech RW : Calcium-activated potassium currents in nervous tissue. *Annu Rev Biophys Bioeng* 7 : 1 - 18, 1978
 - 23) Ohmori H : Ionic currents and transduction currents in the hair cell of the chick. *Biomed Res* 71 : 103 - 107, 1986
 - 24) Dulon D : Ca^{2+} signaling in Deiters' cells of the guinea-pig cochlea : Active process in supporting cells. *Active Hearing* 5 : 195 - 207, 1994
 - 25) 欠畑誠治, 中川尚志, 赤池紀生, 高坂知節 : 蝸牛外有毛細胞における化学受容体. *Otol Jpn* 4 : 14 - 18, 1994
 - 26) 山本健人, 欠畑誠治, 山田武千代, 赤池紀生, 齊藤武久, 齊藤 等 : 蝸牛外有毛細胞における細胞内情報伝達機構. *Otol Jpn* 5 : 112 - 118, 1995