Synaptic Transmission between Cochlear Hair Cells and Auditory Nerve

Seung Hwan Lee

Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Hanyang University College of Medicine, Guri, Korea
Department of Neuropsychiatry, Hanyang University Guri Hospital, Guri, Korea

와우 유모세포와 청신경의 시냅스

이 승 환

한양대학교 의과대학 이비인후과학교실, 한양대학교 구리병원 이비인후과

Due to the recent development of physiologic study methods, along with morphologic and molecular biologic studies, the understanding about synaptic transmission between cochlear hair cells and auditory nerve terminal has been significantly improved. Auditory system has very delicate mechanism that can differentiate the frequency, loudness, and time difference, and localization of the sound. This mechanism is found not only in central auditory system but also at the very end level of the cochlea. The synapse in auditory hair cells has very unique morphologic and functional characteristics compare to other synapse in various nerve tissue. The author will describe the characteristics of the synapse transmission between cochlear hair cells and auditory nerve.

Key Words: Cochlea, Auditory hair cell, Synaptic transmission.

Received: February 2, 2016 / **Accepted:** March 15, 2016

Correspondence: Seung Hwan Lee, Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Hanyang University College of Medicine, 153 Gyeongchun-ro, Guri 11923, Korea

Tel: +82-31-560-2363 / **Fax:** +82-31-566-4884 / **E-mail:** shleemd@hanyang.ac.kr

INTRODUCTION

청각은 놀라운 정도의 정교한 능력으로 소리의 주파수와 크기, 시간의 미세한 차이를 구별하여 소리를 구분하고 음원의 위치를 파악한다. 이를 가능하게 하는 기전이 청각중추뿐 아니라 내이의 유모세포와 청신경말단 사이의 시냅스 수준에서도 활발하게 일어나고 있다. 이 시냅스는 일반 신경조직의 시냅스와는 다른 기능적 특성과 이와 관련된 독특한 구조를 가지고 있다.

내이 유모세포는 감각세포의 하나로, 소리나 움직임 자극에 반응하여 신경전달물질을 분비함으로써 구심성 신경을 활성화하고, 원심성 신경으로 부터의 되먹임 자극에 의해 활성이 조절되는 것으로 알려져 있다(Art, 1985). 즉 유모세포들은 구심성 신경에 대한 presynaptic terminal의 역할과, 원심성 신경의 postsynaptic target 역할을 하는 것이다(Fuchs, 1996).

내이 유모세포와 신경말단 사이의 시냅스 전달(synaptic transmission) 분야는 형태학적, 분자생물학적 연구와 더불어

생리학적인 연구방법의 발전에 따른 기능적 연구가 추가되어, 전달 기전에 대한 이해가 급속히 이루어지고 있다. 저자는 와우 내이유모세포와 청신경말단에서 일어나는 시냅스 전달과정의 개요와 특이성에 대하여 기술하고자 한다.

REVIEW

와우 유모세포의 신경분포

와우의 내유모세포는 나선신경세포의 약 95%를 차지하는 제I형 신경섬유와 구심성 시냅스를 이룬다. 제I형 세포는 양극성 세포로 수초화된 말단신경분지가 한 개의 내유모세포와 연결되며, 하나의 내유모세포는 종(species)이나 와우 내 위치에 따라서 약 10개에서 30개의 구심성 신경과 접하고 있다(Liberman et al., 1990; Raphael & Altschuler, 2003). 내유모세포로 향하는 원심성 신경은 외측 올리브와우각 원심성 신경(lateral olivocochlear efferents)으로, 뇌간의 외측 올리브 복합체(su-

perior olivary complex)에서 기원하여 대부분 동측의 와우에 분포한다(Guinan, 2006). 외유모세포는 주로 원심성 신경의 분포를 받는데, 대부분 반대 측의 내측 올리브 복합체에서 기원한 내측 올리브와우각 원심성 신경이 와우에 도달하며, 한 개의 원심성신경이 여러 개의 외유모세포에 분포한다. 외유모세포의 구심성신경 연결은 제II형 나선신경절세포와 이루어진다. 구심성 신경의 약 3~5%로 제I형 신경섬유에 비하여 숫자가 적고 매우 가늘며 한 개의 신경말단은 여러 개의 외유모세포와 시냅스를 이룬다(Brown, 1987).

내유모세포의 활성화와 이온채널의 역할

내유모 세포에서는 소리 자극이 없는 안정 상태(resting state)에서도 부분적으로 개방되는 세포역학신호변환 통로(mechanotransduction channel)와 세포막의 외측과 기저부에 존재하는 slow delayed rectifier K^+ channels (KCNQ4)을 통한 이온의 이동 때문에 세포막을 통한 전류의 흐름(resting membrane conductance)이 일어난다(Kubisch et al., 1999). 그러나 이러한 안정기의 전류흐름은 매우 미약하여 시간적 정교성(temporal precision)등의 내유모세포-구심신경 시냅스의 기능적 특성과는 직접 연관성은 없다. 소리자극에 의한 물리적 자극에 의해 내유모세포의 유모다발이 키가 가장 큰 부동모 방향으로 기울어지면 부동모간에 서로 연결된 tip link의 작용으로 첨부에 위치한 비 선택적 양이온 채널인 세포역학신호변환 통로가 열린다. 이 이온통로를 통해 K^+ 과 Ca^{2+} 등의 양이온이 세포내로 유입되면(transduction current) 내유모세포내의 전위가 변화하여 수용체 전위(receptor potential)가 생긴다(Gummer et al., 2002; Ricci et al., 2005).

유모세포의 탈분극으로 형성된 수용체 전위는 세포 기저부와 측부 세포막에 존재하는 전압의존성 칼슘채널(voltage gated calcium channel)을 활성화 시키고, 이 채널을 통해 세포로 유입된 칼슘에 반응하여 시냅스 소포(synaptic vesicle)가 세포막과 융합하여 신경전달물질을 분비한다(Fettiplace, 1992)(Figure 1).

유모세포가 탈분극이 되면 전압의존성 칼슘채널의 개방에 이어 large conductance Ca^{2+} activated K^+ channel (BK)과 delayed rectifier K^+ channel (Kv)이 활성화 된다. 이들 K^+ 채널의 개방으로 세포내에 고농도로 존재하는 K^+ 이온이 세포 밖으로 유출되어 세포내의 전위가 다시 낮아진다(Lee et al., 2007) (Figure 2). BK 채널은 msec 미만(수백 μ sec)의 속도로 빠르게 활성화 되어 막 전위의 급격한 변화를 유도함으로써 내유모세포가 높은 시간적 정교성 보이는데 기여하고 세포를 재 분극(repolarization)시켜 수용체전위를 조절하는 기능을 한다(Kros & Crawford, 1990; Oliver et al., 2006).

내유모세포-구심성신경 시냅스

청각신호의 청각중추로의 전달과정의 높은 시간적 정교성은 소리의 이해나 sound localization에 매우 중요하다. 이러한 기능을 수행하는데 있어서 endbulb and calyx of Held와 같은

Figure 1. From mechano-transduction to neurotransmission. Schematically, the bending of stereocilia allows K^+ to flow into the inner hair cell, which is thus depolarized. This opens voltage-gated Ca^{2+} channels. Calcium is involved in neurotransmitter (glutamate) release and also in a K^+ active exit mechanism. (adapted from Promenade Round the Cochlea website)

Figure 2. Ion currents from isolated chicken hair cells. A: Typical K^+ currents recorded without any blockers. The observed currents include those through large conductance (BK) potassium channels, delayed rectifier and inward rectifier K^+ channels. B: Purely inward Ca^{2+} currents were obtained with various K^+ blockers and 20 mM external calcium. The currents showed very fast activation and deactivation. Note the difference in scale between two recordings (Lee et al., 2007).

Figure 3. Hair cell ribbon synapse. Electron micrograph of an inner hair cell afferent synapse of an 8-week-old mouse. The ribbon (rib) is anchored to the presynaptic plasma membrane and faces the postsynaptic density (PSD) of the auditory nerve fibers (Nouvian et al., 2006).

중추 청각전달과정뿐 아니라(Erazo-Fischer et al., 2007), 최 말단인 내유모세포-구심성신경 시냅스의 독특한 구조와 기능도 큰 역할을 한다.

뇌의 neuron-neuron 시냅스에서는 시냅스전 활동전위(pre-synaptic action potential)이 형성되면 여러 개의 시냅스로부터 각각 한 개 씩의 시냅스 소포가 분비되고 이들이 축적된 합(summation)이 역치에 도달하여야 시냅스후 활동전위(post-synaptic action potential)가 형성되는 실무울(all or none)의 법칙을 따르는 반면에, 내유모세포에서는 세포막 전위의 연속적인 변화(graded depolarization)에 반응하여 신경전달물질이 분비됨으로써 상대적으로 훨씬 빠르게 정보를 전달한다(Prescott & Zenisek, 2005).

내유모세포와 구심성 신경사이의 시냅스는 안정기에도 시냅스 소포의 자발적인 분비가 일어나고, 오랜 자극에 반응하여 지속적으로 분비가 일어나며(tonic transmitter release), 한 시냅스에서 여러 개의 소포가 동시에 분비(multivesicular release)되는 특징을 가지고 있다. 유모세포와 구심신경사이에서 신경전달물질이 분비되어 시냅스 전달이 일어나는 영역을 active zone이라고 하는데, 이곳은 전자현미경으로 관찰 시 많은 시냅스 소포에 둘러싸인 electron dense body와 구심신경 말단의 시냅스 부위가 두꺼워진 postsynaptic thickening(혹은 postsynaptic density, PSD)으로 구성되어 있다. 이 electron dense body를 synaptic ribbon이라고 부르고 ribbon을 가지는 시냅스를 ribbon synapse라고 부른다(Sterling & Matthews, 2005). 이

들 synaptic ribbon을 갖는 세포는 세포막 전위의 연속적인 변화에 의해 시냅스 소포의 분비가 일어나고 신경전달물질의 빠르고 지속적인 분비가 일어나는 공통점을 갖는다(Gersdorff, 2001). 내유모세포는 하나의 active zone과 하나의 구심성신경이 일대일로 시냅스를 이루는 가장 단순한 형태를 가지고 있다. Ribbon은 구형 혹은 계란형의 모양으로 내유모세포의 기저측부(basolateral area)에 분포한다. 하나의 ribbon엔 약 60개의 소포가 연결되어 있으며 일부의 소포들은 세포막에 접촉하고 있다(Fuchs et al., 2003; Nouvian et al., 2006)(Figure 3).

대부분의 타 신경계 말단에서는 세포막과 융합된 시냅스 소포 들은 지속적인 조달을 위해 수 초 정도 걸리는 회수과정을 거치는데 비하여, 유모세포에는 이와 별도로 세포질 내에서 생산된 소포를 ribbon으로 사전에 충분히 공급함으로써 즉시 분비 가능한 pool (readily releasable pool, RRP)이 존재하여, 이들이 자극 초기에 일반적인 뉴런의 약 100배나 되는 빠른 속도로 분비에 동원되고 짧은 시간 내에 동시에 많은 수의 vesicle 분비가 일어나며, 또한 오랜 시간 동안 지속적인 분비가 가능하다(Moser & Beutner, 2000; Moser et al., 2006). 이러한 독특한 구조와 기능 덕분에 구심성 신경에서 휴지기에도 100 Hz가 넘는 자발성활성을 유발하고, 소리 자극 시 약 200~300 Hz의 지속적인 활성을 일으키며 하나의 ribbon에서 많은 수의 소포가 동시에 분비됨으로서 높은 빈도로 신호 전달이 가능하다(Geisler et al., 1974).

제 I형 신경세포의 시냅스후 반응(Postsynaptic Response)

내유모세포와 구심성 신경간 시냅스 전달의 특성을 보이기 위해서는 위에서 언급한 것과 같은 소포의 분비특성뿐 아니라 이에 대응하여 시냅스후 반응 도 빠르고 효과적으로 나타나야 한다. 시냅스후 세포막에는 신경전달물질인 glutamate의 수용체가 존재하는데 이 수용체는 이온채널로 작용하여 개방 시 양이온이 구심성 신경세포 내로 유입됨으로서 신경말단이 탈분극되어 활성화된다(Kuriyama et al., 1994; Ruel et al., 1999). 분비된 glutamate는 최종적으로 주변의 지지세포들(supporting cells)에 분포하는 glutamate/aspartate transporter (GLAST)를 통해 제거된다(Glowatzki et al., 2006).

Glowatzki와 Fuchs(2002)는 구심성 신경 말단에서 전류의 기록에 성공하여 내유모세포와 제 I형 신경섬유 사이 시냅스의 신경전달물질이 glutamate 이며, 소포 하나가 한 개의 흥분성 시냅스후 전류(excitatory postsynaptic current, EPSC)을 일으키고, 여러 개 소포의 동시 분비에 의해 형성되는 EPSC를 기록하여 ribbon 시냅스의 전달특성을 생리학적으로 증명하였다. Keen & Hudspeth(2006)는 내유모세포와 구심신경말단으로부터 동시에 이중 측정을 시행하여 시냅스 수 전류가 시냅스전

막 전위와 시냅스전 Ca^{2+} 전류의 크기와 선형관계에 있음을 보여 주어 시냅스 후 신경이 내유모세포로부터의 정보를 충실히 상위 신경로로 전달한다고 하였다.

내유모세포-원심성 신경 시냅스

원심성신경의 주된 신경전달물질은 아세틸콜린으로, 분리된 유모세포 주위에 Ach 을 투여하면 일차적으로 $\alpha 9$, $\alpha 10$ 아형의 니코틴성 아세틸콜린 수용체인 ligand-gated cation channel을 통해 Ca^{2+} 의 세포내 유입이 일어나고(Simmons & Morley, 1998), 이어서 SK2 유전자에 의해 coding되는 small conductance, calcium-activated K^+ channel (SK)이 열려 K^+ 이 세포 외부로 빠져나감으로 써 과분극이 일어나 세포의 흥분성이 억제되는 biphasic change를 보인다(Art et al., 1984). 이와 같은 콜린성 시냅스 억제 현상은 내이 발생 중 청각이 완성되기 전 원심성신경이 직접 내유모세포에 시냅스하는 포유류에서도 관찰되었다(Glowatzki & Fuchs, 2000).

청각의 발달이 완성된 포유류의 와우에서는 원심성 신경이 직접 내유모세포에 시냅스하지 않고, 구심성 신경섬유인 제I형 나선신경세포의 말단에 시냅스를 이루는데, 원심성신경과 구심성 신경 사이의 신경전달물질로는 dopamine, GABA 아세틸콜린, enkephalins, dynorphins 등이 알려져 있다. Dopamine과 GABA는 구심성신경의 glutamate에 의한 흥분성을 억제하고, 반대로 아세틸콜린은 흥분성을 증가시키는 것으로 알려져 있다. 이와 같이 원심성 신경은 구심성 신경의 흥분 혹은 억제를 일으켜 청각중추로 가는 신호의 dynamic range를 조절하고, 과도한 자극으로부터의 퇴역임성 보호기능을 하는 것으로 생각된다(Pujol et al., 1993; Groff & Liberman, 2003; Le Prell et al., 2003).

외유모세포-구심성신경 시냅스

외유모세포의 구심성 신경 시냅스는 숫자가 적고, 신경의 크기도 작아 기능적인 연구가 거의 이루어지지 않았다. 최근 Weisz et al.(2009)은 제 II형 신경의 말단으로부터 전류를 측정하여 이 시냅스가 glutamate와 ATP에 반응함을 확인하였다. 그러나 이 반응은 제 I형에 비하여 크기와 빈도가 매우 적어 소리자극을 직접적으로 전달하는 역할보다는 고주파의 큰 소리에 반응하여 이를 조절하고 부수적으로 세포 손상의 조절에 관련되었을 것이라는 해석을 하였다.

CONCLUSION

조직 및 세포 형태학적 연구와 더불어 전기 생리학적 연구방법의 발전으로 신경세포사이의 시냅스 소포의 세포외 배출

(exocytosis)의 속도나 숫자를 측정할 수 있게 되었고, 이에 반응하여 생성되는 신경섬유 말단으로부터의 전류와 전위를 직접 측정할 수 있게 됨에 따라 내이의 최 말단에서 일어나는 기능도 속속 밝혀지고 있다. 이러한 연구의 성과가 청각생리를 이해하고 나아가 난청의 예방과 치료, 청력의 재활과 같은 임상적인 발전으로 이어지기를 기대한다.

중심 단어 : 시냅스전달 · 외유모세포 · 청신경.

REFERENCES

- Art, J. J., Fettiplace, R., & Fuchs, P. A. (1984). Synaptic hyperpolarization and inhibition of turtle cochlear hair cells. *Journal of Physiology*, 356, 525-550.
- Art, J. J., Crawford, A. C., Fettiplace, R., & Fuchs, P. A. (1985). Efferent modulation of hair cell tuning in the cochlea of the turtle. *Journal of Physiology*, 360, 397-421.
- Brown, M. C. (1987). Morphology of labeled afferent fibers in the guinea pig cochlea. *Journal of Comparative Neurology*, 260(4), 591-604.
- Erazo-Fischer, E., Striessnig, J., & Taschenberger, H. (2007). The role of physiological afferent nerve activity during in vivo maturation of the calyx of Held synapse. *Journal of Neuroscience*, 27(7), 1725-1737.
- Fettiplace, R. (1992). The role of calcium in hair cell transduction. *Society of General Physiologists Series*, 47, 343-356.
- Fuchs, P. A. (1996). Synaptic transmission at vertebrate hair cells. *Current Opinion in Neurobiology*, 6(4), 514-519.
- Fuchs, P. A., Glowatzki, E., & Moser, T. (2003). The afferent synapse of cochlear hair cells. *Current Opinion in Neurobiology*, 13(4), 452-458.
- Geisler, C. D., Rhode, W. S., & Kennedy, D. T. (1974). Responses to tonal stimuli of single auditory nerve fibers and their relationship to basilar membrane motion in the squirrel monkey. *Journal of Neurophysiology*, 37, 1156-1172.
- Gersdorff, H. (2001). Synaptic Ribbons: versatile signal transducers. *Neuron*, 29, 7-10.
- Glowatzki, E. & Fuchs, P. A. (2000). Cholinergic synaptic inhibition of inner hair cells in the neonatal mammalian cochlea. *Science*, 288, 2366-2368.
- Glowatzki, E., Cheng, N., Hiel, H., Yi, E., Tanaka, K., Ellis-Davies, G. C., et al. (2006). The glutamate-aspartate transporter GLAST mediates glutamate uptake at inner hair cell afferent synapses in the mammalian cochlea. *Journal of Neuroscience*, 26, 7659-7664.
- Groff, J. A. & Liberman, M. C. (2003). Modulation of cochlear afferent response by the lateral olivocochlear system: activation via electrical stimulation of the inferior colliculus. *Journal of Neurophysiology*, 90(5), 3178-3200.
- Guinan, J. J. J. (2006). Olivocochlear efferents: anatomy, physiology, function, and the measurement of efferent effects in humans. *Ear and Hearing*, 27 (6), 589-607.
- Gummer, A. W., Meyer, J., Frank, G., Scherer, M. P., & Preyer, S. (2002). Mechanical transduction in outer hair cells. *Audiology and Neurotology*, 23(1), 13-16.
- Keen, E. C. & Hudspeth, A. J. (2006). Transfer characteristics of the hair cell's afferent synapse. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103, 5537-5542.
- Kros, C. J. & Crawford, A. C. (1990). Potassium currents in inner hair cells isolated from the guinea-pig cochlea. *Journal of Physiology*, 421, 263-291.
- Kubisch, C., Schroeder, B. C., Friedrich, T., Lutjohann, B., El-Amraoui, A., Marlin, S., et al. (1999). KCNQ4, a novel potassium channel expressed in sensory outer hair cells, is mutated in dominant deafness. *Cell*, 96(3), 437-446.

- Kuriyama, H., Jenkins, O., & Altschuler, R. A. (1994). Immunocytochemical localization of AMPA selective glutamate receptor subunits in the rat cochlea. *Hearing Research*, 80(2), 233-240.
- Lee, S., Briklin, O., Hiel, H., & Fuchs, P. A. (2007). Calcium-dependent inactivation of calcium channels in cochlear hair cells of the chicken. *Journal of Physiology*, 583(3), 909-922.
- Le Prell, C. G., Shore, S. E., Hughes, L. F., & Bledsoe, S. C. J. (2003). Disruption of lateral efferent pathways: functional changes in auditory evoked responses. *Journal of the Association for Research in Otolaryngology*, 4(2), 276-290.
- Lieberman, M. C., Dodds, L. W., & Pierce, S. (1990). Afferent and efferent innervation of the cat cochlea: quantitative analysis with light and electron microscopy. *Journal of Comparative Neurology*, 301(3), 443-460.
- Moser, T. & Beutner, D. (2000). Kinetics of exocytosis and endocytosis at the cochlear inner hair cell afferent synapse of the mouse. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(2), 883-888.
- Moser, T., Brandt, A., & Lysakowski, A. (2006). Hair cell ribbon synapses. *Cell Tissue Research*, 326(2), 347-359.
- Nouvian, R., Beutner, D., Parsons, T. D., & Moser, T. (2006). Structure and function of the hair cell ribbon synapse. *Journal of Membrane Biology*, 209(2), 153-165.
- Oliver, D., Taberner, A. M., Thurm, H., Sausbier, M., Arntz, C., Ruth, P., et al. (2006). The role of BKCa channels in electrical signal encoding in the mammalian auditory periphery. *Journal of Neuroscience*, 26(23), 6181-6189.
- Prescott, E. D. & Zenisek, D. (2005). Recent progress towards understanding the synaptic ribbon. *Current Opinion in Neurobiology*, 15(4), 431-436.
- Pujol, R., Puel, J. L., D'aldin, C. G., & Eybalin, M. (1993). Pathophysiology of the glutamatergic synapses in the cochlea. *Acta Oto-Laryngologica*, 113(3), 330-334.
- Raphael, Y. & Altschuler, R. A. (2003). Structure and innervation of the cochlea. *Brain Research Bulletin*, 60(5-6), 397-422.
- Ricci, A. J., Kennedy, H. J., Crawford, A. C., & Fettiplace, R. (2005). The transduction channel filter in auditory hair cells. *Journal of Neuroscience*, 25(34), 7831-7839.
- Ruel, J., Chen, C., Pujol, R., Bobbin, R. P., & Puel, J. L. (1999). AMPA-preferring glutamate receptors in cochlear physiology of adult guinea-pig. *Journal of Physiology*, 518(3), 667-680.
- Simmons, D. D. & Morley, B. J. (1998). Differential expression of the alpha 9 nicotinic acetylcholine receptor subunit in neonatal and adult cochlear hair cells. *Molecular Brain Research*, 56(1-2), 287-292.
- Sterling, P. & Matthews, G. (2005). Structure and function of ribbon synapses. *Trend Neuroscience*, 28(1), 20-29.
- Weisz, C., Glowatzki, E., & Fuchs, P. (2009). The postsynaptic function of type II cochlear afferents. *Nature*, 461(7267), 1126-1129.