

<特集「生体センシング研究の最前線」>

蝸牛有毛細胞における 聴覚メカノセンシング機構とその分子基盤

二之湯 弦*, 中村 高志

京都府立医科大学大学院医学研究科耳鼻咽喉科・頭頸部外科学

Defining Features of the Cochlear Mechanosensing via the Hair Cells

Yuzuru Ninoyu and Takashi Nakamura

*Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Kyoto Prefectural University of Medicine
Graduate School of Medical Science*

抄 録

蝸牛有毛細胞は、音の粗密波を生体内の電気信号に変換する、機械電気変換（mechanoelectrical transduction ; MET）機能を有し、聴覚一次受容の中心的役割を担っている。有毛細胞頂側面には聴毛（不動毛）とよばれるアクチン線維束が階段状にならび、先端部にはその傾斜により機械的に開閉する非選択的陽イオンチャネル（MET チャネル複合体）が存在する。有毛細胞周囲の内リンパ環境は高カリウムかつ高電位に維持されており、MET チャネル複合体を介した高感度な有毛細胞脱分極を可能にしている。聴覚 MET 成立には、高度な有毛細胞骨格制御機構が必要であり、アクチン骨格制御分子である Rho-GTPase をはじめとした、様々な分子群がそれに関与している。これら蝸牛 MET 機構を支える分子機構についての本質的な理解は、難聴に対する分子標的治療の実現に必要不可欠である。

キーワード：有毛細胞, MET チャネル複合体, Rho-GTPase.

Abstract

Cochlear hair cells are specialized mechanosensory cells that have a pivotal role for hearing perception. Stereocilia on the apical surface are actin-rich protrusions which contain the mechanoelectrical transduction (MET) channels complexes. These channel complexes convert sound waves into electrical signals via the non-selective cation-influx. Endolymph surrounding stereocilia is unique in composition due to its high potassium ion concentration, resulting in a positive endocochlear potential that is essential for the MET current. The variety of actin related proteins, such as small Rho-GTPases, elaborate tuning the actin cytoskeleton of hair cells and stereocilia. Understanding of the molecular machinery that is cardinal for the MET by hair cells provides important insight into a novel molecular targeted treatment for hearing loss.

Key Words: Cochlear Hair Cells, MET channels complexes, Rho-GTPase.

令和2年8月31日受付 令和2年9月12日受理

*連絡先 二之湯 弦 〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路ル梶井町465番地

ninoyu@koto.kpu-m.ac.jp

doi:10.32206/jkpum.129.10.687

はじめに

聴覚の本質は、音波という粗密波を生体内の電気信号に変換する、いわゆる機械電気変換 (mechanoelectrical transduction; MET) である。蝸牛には極めて高感度の MET 機能が存在し、その巧みな音受容システムにより、鋭い周波数弁別と 100dB を超える広いダイナミックレンジを実現している。ヒト蝸牛においては、ナノメートル以下の振動を感知し、その信号を 100 倍以上に増幅したうえ、さらに 20Hz から 20kHz までの広域な周波数帯を弁別することができる。この驚異的な聴覚メカノセンシングの中心を担うのが、蝸牛有毛細胞と呼ばれる感覚上皮細胞であり、らせん状に配置された基底板と呼ばれる薄膜上に、厳密に規定されて配列されている (コルチ器)。有毛細胞は頂側面に聴毛 (不動毛) とよばれるアクチン線維束を有し、その階段状にならんだ先端部には、聴毛の傾斜により機械的に開閉するイオンチャネル (MET チャネル) が存在する。この MET チャネルこそが、聴覚一次受容の起点となる重要な構造である。

この聴覚における高感度 MET が成立するためには、音受容のために高度に分化した有毛細胞骨格を厳密に維持する必要があり、様々な分子群がそれに関与している。本稿ではまず、MET 機構を支える蝸牛組織構造と内リンパ高電位について述べ、次に MET チャネル複合体、蝸牛有毛細胞の微細構造、さらに様々なアクチン骨格制御分子による有毛細胞形態制御機構について、マクロからミクロへと掘り下げながら、最新の知見を交えて概説する。

MET 電流を生む内リンパ高電位

蝸牛は骨性の外壁 (骨迷路) と、それを裏打ちする膜性の管腔 (膜迷路) からなり、前庭膜 (ライスネル膜) およびエラスチンとコラーゲン繊維からなる基底板により、鼓室階と前庭階および中央階 (蝸牛管) という 3 つのコンパートメントに分けられる (図 1A)。それぞれの内部は内および外リンパ液で満たされており (図

1A)、それぞれのイオン組成の違いと電位差が、MET チャネルを介した有毛細胞における活動電位 (MET 電流) の駆動力になり、聴覚一次受容に必須となっている。有毛細胞の基底側膜と接している外リンパ液は、通常の細胞外液と同じ組成であるが ($[K^+] = 5 \text{ mM}$)、有毛細胞頂上膜と接する内リンパ液は高カリウム環境に維持されており ($[K^+] = 150 \text{ mM}$)、外リンパ液を基準にすると +80mV 前後の高い静止電位 (endocochlear potential, EP) をもつ。有毛細胞内は外リンパ液に対して -40 ~ -60 mV 程度の静止電位をもつため、内リンパ液との間で実に 120 ~ 140 mV 程度もの大きな電位差をもつことになる。これが MET チャネルを介した K^+ 流入を増幅し、有毛細胞の高い鋭敏性を実現している。この内リンパ高電位は、蝸牛外側壁中の血管条内に存在する Na^+ , K^+ -ATPase · $Na^+K^+-2Cl^-$ 共輸送体分子 (NKCC-1) および内向き整流性カリウムチャネル (Kir4.1) によって生み出されたカリウム拡散電位由来であることが、数理モデルおよび電気生理学的実験により実証されている¹⁾。有毛細胞に流入したカリウムイオンは、基底側膜のカリウムチャネルを通じて外リンパ液へ放出され、蝸牛外側壁中の血管条を介して再び内リンパ液へと循環される仕組みとなっており、これらイオン輸送システムにより内リンパ高電位および聴覚の高感受性が維持されている。

コルチ器の組織構造

コルチ器には、基底板上に 1 列の内有毛細胞および 3 列の外有毛細胞が整然と配置されており、支持細胞と呼ばれる種々の非感覚上皮細胞とモザイク状のパターンを形成している (図 1B)。有毛細胞頂側面には不動毛と呼ばれるアクチン繊維束が伸びており、内毛細胞では 3 ~ 4 列、外毛細胞では 3 列の不動毛が V 字状かつ階段状に規則正しく配置されている (図 1C)。不動毛頂側は蓋膜とよばれるゼラチン状構造で覆われ、内毛細胞には 1 細胞あたり数十本の求心性神経線維が連結しており、中枢でラセン神経節を形成している (図 1A)。基底板

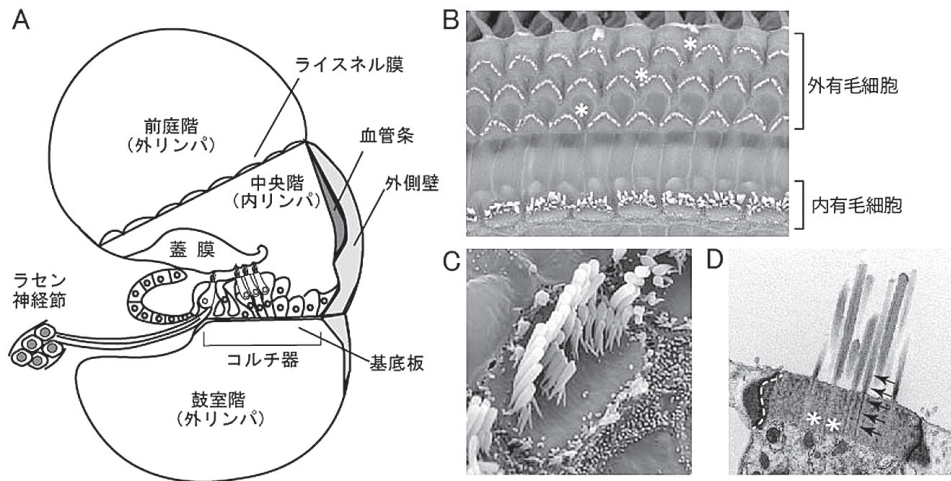


図1 蝸牛組織構造

A: 蝸牛模式図。

B: 8週齢マウス、コルチ器の走査型電子顕微鏡 (SEM) 写真。1列の内有毛細胞と3列の外有毛細胞が整然と並んでいる。外有毛細胞の間に支持細胞 (*) が並び、モザイクパターンを形成している。

C: 8週齢マウス、蝸牛中回転における内有毛細胞のSEM写真。有毛細胞頂側面に外側から階段状に3列の不動毛が並んでいる。

D: 8週齢マウス、蝸牛中回転における外有毛細胞の透過型顕微鏡写真。頂側面にあるアクチン密度の高いクチクラ板 (**) に不動毛が深く根差し、根構造 (矢印) を形成している。隣接する支持細胞と頂側結合複合体 (点線) を形成し、その周囲には高密度のアクチン環が存在する。

は頂回転に向かうにつれ幅が広がり、かつ剛性が低下する構造となっており、この物理的勾配がトノトピーを生み、蝸牛に周波数弁別能をもたらしている。さらに外有毛細胞の能動的な収縮 (electromotility) により、音波による基底膜振動が非線形的に増幅され、周波数弁別向上に寄与する²⁾。また、蓋膜には聴毛を傾斜させる機能だけでなく、その構成分子である *Otogelin* や α -*Tectorin* はカルシウムイオン結合部位を持ち、不動毛周囲に高カルシウム環境をもたらすことで MET 感度を向上させていると考えられている³⁾。有毛細胞は隣接する支持細胞同士で、タイト結合や接着結合と呼ばれる細胞間結合により頂側結合複合体 (apical junctional complexes, AJCs) を構成し (図 1D)、コルチ器の構造的かつ機能的なバリアを形成している⁴⁾。これにより聴覚一次受容に必要なイオン勾配の維持と、機械ストレスや外有毛細胞の能

動的伸縮に対するコルチ器の強剛性を保証していると考えられる⁴⁾。

不動毛の微細構造

不動毛が機械的振動を感知するためには、適度に屈曲し、そしてバネのように戻る剛性が必要である。不動毛は基部に向かって細くなる tapered base 構造をとり、中心部は根構造 (rootlet) と呼ばれる高密度アクチン線維束により、クチクラ板と呼ばれる有毛細胞頂側面のアクチン網に固定されている (図 1D)。不動毛同士は tip link と呼ばれる微細フィラメントに架橋されており、他にも lateral link や attachment crown と呼ばれる線維性結合が存在し (図 2)、不動毛や蓋膜を協調的に機能させている。Tapered base 構造には、PTPRQ (Protein tyrosine phosphatase receptor Q)⁵⁾、Radixin⁶⁾、CLIC5 (chloride intracellular channel 5)⁷⁾、

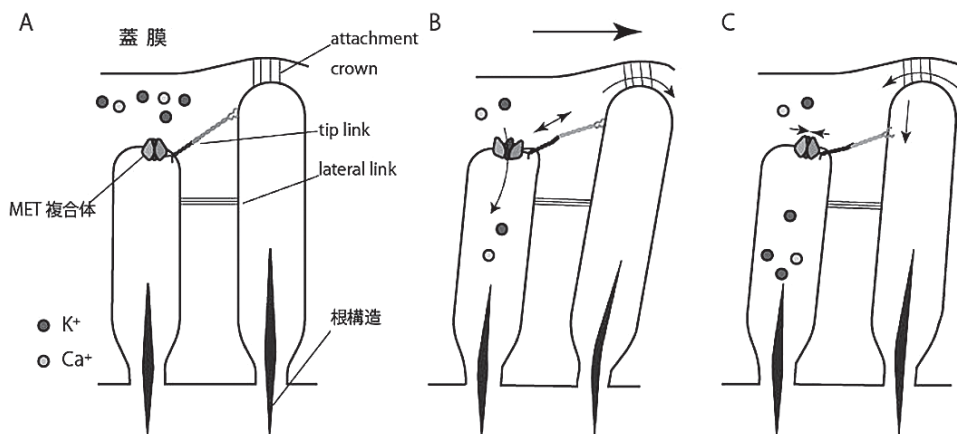


図2 不動毛 MET 機構

- A: tip link は PCDH15 (黒) と CDH23 (灰色) によるヘテロフィリックな結合で構成され、MET 複合体および隣接する不動毛とを架橋している。さらに attachment crown や lateral link といった微細フィラメントにより、蓋膜と不動毛が協調して動くようになっている。内リンパ液中は高カリウムに維持されており、また蓋膜の特性により、不動毛周囲に高カルシウム環境が作られている。
- B: 基底板振動により不動毛が傾斜すると、tip link を介した張力により下端にある MET チャネルが開閉し、陽イオンが流入する。
- C: 根構造の剛性で不動毛の傾きが戻り、さらに上端が滑り落ちることで tip link の張力が低下し、MET チャネルが閉鎖する。

Taperin⁸⁾ など、アクチン線維と細胞膜を架橋する分子群が局在し、細胞膜表面張力によって不動毛同士が基部で癒合することを防いでいる。根構造を形成するアクチン繊維は、アクチン結合蛋白である TRIOBP により高密度に束ねられている⁹⁾。TRIOBP アイソフォームのうち、TRIOBP-4 が主にクチクラ板より頭側の根構造に局在するのに対し、TRIOBP-5 はより基底側に局在し、TRIOBP-4 と相補的にアクチン線維束を周囲から取り囲むように束ねている¹⁰⁾。さらにクチクラ板におけるアクチン線維網と根構造を架橋することにより、聴毛の剛性を高めていると考えられている¹⁰⁾。

MET と聴覚一次受容

不動毛先端部に MET チャネルが存在することは上述したが、その開口と聴覚一次受容の詳細を述べる。隣接する不動毛同士を架橋する tip link は全長 90~200 nm のらせん状二重鎖であり、CDH23 と PCDH15 と呼ばれる 2 種の

分子が 2 量体を形成し、カルシウムイオン存在下でヘテロフィリックに結合している (図 3)¹¹⁾。Tip link の両端には Myosin7a, Myosin1c, Myosin15a, Myosin3, SANS, Harmonin b といった分子群が複合体を形成し (図 3)¹²⁾、それぞれが共役しながら tip link の張力を調整している。不動毛あたり 1~2 個存在する MET チャネルは tip link 下端に存在し¹³⁾、pN レベルの牽引力により、50~200 μs の間で瞬時に開口する¹⁴⁾。MET チャネルは非選択的陽イオンチャネルであり、上述の内・外リンパのイオン濃度勾配と電位差により、主にカリウムイオンおよびカルシウムイオンが有毛細胞内に流入する (図 2B)。ある程度の張力が tip link にかかる時、根構造の“しなり”により不動毛が元の位置に戻り、tip link の張力が低下することで MET チャネルが閉鎖する (gating spring theory)¹⁴⁾ (図 2C)。またカルシウムイオンが流入すると、Myosin1c の働きにより tip link 上端が滑り落ちることで MET チャネルが閉鎖

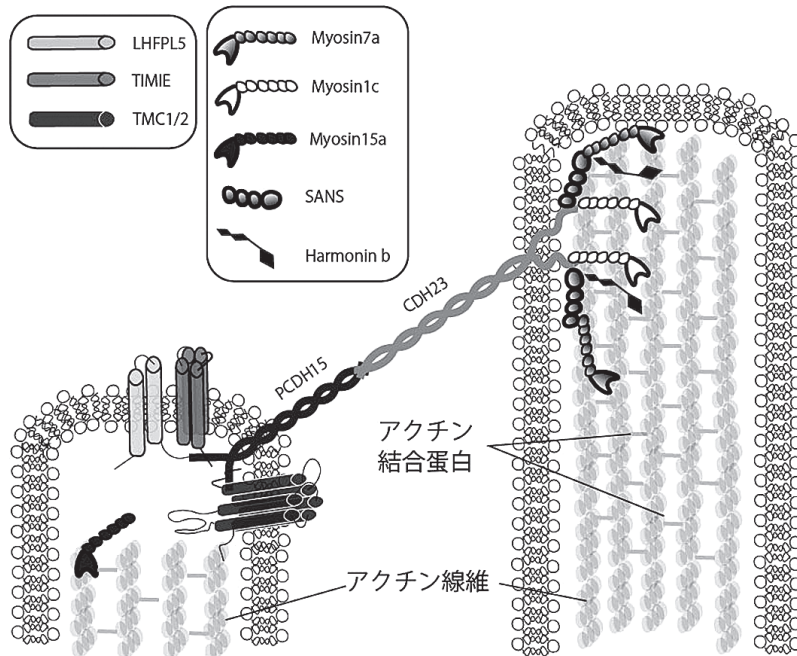


図3 METチャネル複合体

METチャネル複合体を構成する分子群の模式図を示す。tip linkの上部はCDH23、下部はPCDH15で構成され、それぞれが2量体を形成しヘテロフィリックに結合している。下端にMETチャネル複合体が存在し、細胞質でPCDH15やアクチン線維と結合していると考えられている。アクチン単量体が重合することでアクチン線維を形成し、アクチン結合蛋白により架橋され繊維束を形成する。各種ミオシン蛋白はこの線維上を移動し、HarmoninbやSANSといった分子と共役しながら、そのモーター活性によりtip linkの張力を適度に保っている。

し、遅い順応反応が起きる¹⁵⁾(図2C)。さらにMET開口による膜電位の上昇に呼応して、有毛細胞側面に存在する電位依存型カルシウムチャネル(Ca_v1.3, L型カルシウムチャネル)が開口し、細胞内にカルシウムイオンを流入させる¹⁶⁾。この流入したカルシウムイオンは、Otoferlinと呼ばれるカルシウム結合蛋白を介してシナプス小胞を放出させ¹⁷⁾、音圧に応じた量の伝達物質を聴覚一次ニューロンである蝸牛神経へと放出する。かねてより、連続的なカルシウムチャネルの開放とシナプス小胞の放出を可能にする、有毛細胞特異的な機構があると考えられていたが、長らくその詳細は不明であった¹⁸⁾。近年、難聴家系の遺伝解析により¹⁹⁾、Calcium binding protein-2 (CaBP2)と呼ばれる蛋白にCa_v1.3の不活化を抑制する機能があ

ることがわかり²⁰⁾、注目を集めている。

METチャネル複合体

蝸牛有毛細胞におけるMETチャネルの定義としては、①MET機能獲得時期に聴毛に発現し、②その分子の発現抑制や欠損によりMET電流が消失する、さらに③変異によりその性質が変化し、④異種発現させてもMET電流が再現できる、とされているが¹²⁾、これら全てを単独で満たす有毛細胞METチャネル分子は未だ同定されていない。現在METチャネルは複数の分子が共役して機能する複合体として捉えられており、LHFPL5 (lipoma HMGIC fusion partner-like 5)、TMIE (transmembrane inner ear)、TMC1/2 (transmembrane channel-like 1/2)などが重要な複合体構成分子として考え

られている (図3)。

LHFPL5は4回膜貫通型蛋白で、AMPA型グルタミン酸受容体サブユニットの一つである。LHFPL5変異は、ヒト遺伝性難聴(DFNB67)を引き起こすことが知られている²¹⁾。マウス蝸牛において、LHFPL5の発現はMET機能が観察される生後1週目頃より不動毛全体に確認され²²⁾、成熟と共にtip link下端に局在し、さらにtip link構成分子であるPCDH15と結合することが生化学的に確認されている²²⁾。またLHFPL5欠損マウスにおいては、最大90%ほどMET電流が低下し、tip link存在下でも即時反応が障害される²²⁾。しかしながら、完全にMET電流が消失することはなく、またPCDH15と共発現させても細胞膜上でMETを再現できない²²⁾。以上から、LHFPL5は単独では機能せず、METチャンネル孔を構成する分子の一つとして、PCDH15やTMC1と共役しながらMETチャンネル複合体を制御しているものと考えられている¹²⁾。

TMIEは同じくヒト遺伝性難聴(DFNB6)の原因遺伝子として知られており²³⁾、*Tmie*欠損によりマウス有毛細胞²⁴⁾やゼブラフィッシュ側線条¹²⁾において完全にMET電流が消失することが分かっている。幼若マウス蝸牛において不動毛先端部への局在が確認されており、生化学的にもPCDH15のアイソフォームであるPCDH15-CD2と直接結合し、PCDH15-CD1および-CD3ともLHFPL5を介して複合体を形成する²⁴⁾。また同欠損マウスにおいては、他のMETチャンネル関連蛋白であるLHFPL5、PCDH15-CD2、TMC2などの局在は変化しないことから²⁴⁾、TIMIEはチャンネル分子群の動員には関与せず、METチャンネル複合体機能の中心的な役割を果たしていると考えられる。

TMC1はヒト遺伝性難聴(DFNA36、DFNB7/11)²⁵⁾に係る原因遺伝子として同定された。TMC遺伝子ファミリー(TMC1~8)の中で、TMC2はTMC1と類似した構造をとるが、これまでにTMC2変異が難聴や平衡障害を引き起こすという報告はない。TMC1/2は6回膜貫通領域を持ち、両末端は細胞質内に存在し、

4番目と5番目の膜貫通ドメインの間に長い細胞質ループを持つ。この構造からは温度感受性チャンネルや α subunit of Shaker K^+ チャンネルなどに類似する¹²⁾が、TMC1がもつ機能の詳細は未だ明らかにされていない。TMC1の発現はMET機能獲得の数日前から上昇し、蝸牛が成熟する生後21日頃まで持続する²⁶⁾。TMC1は動毛および不動毛に局在し、一部はTMC2と不動毛先端部で共局在する²⁶⁾。TMC1/2はPCDH15と結合するが、LHFPL5やTMIEとは結合しないとされる²⁶⁾。TMC1の欠失マウスではMET電流の減少のみがみられるが、TMC1/2の欠失マウスでは完全に消失し、METチャンネルを介して取り込まれるFM1-43も全く取り込まれなくなる²⁶⁾。以上から、TMC1/2はMETチャンネル複合体に必要な不可欠な構成分子であると考えられている¹²⁾²⁶⁾。

不動毛アクチン骨格の制御機構

聴覚MET機構が成立するには、不動毛のアクチン骨格を厳密に制御し、その剛性や階段状構造を維持する必要がある。そのためにはアクチン線維の重合および脱重合の速度を平衡に保つ機構があると考えられるが、その詳細は未だわかっていない。かつては微絨毛(microvilli)と同様に、不動毛においても頂部(反矢じり端)から基部(矢じり端)に向かって構成成分であるアクチン単量体が代謝新生され、動的に維持されていると考えられてきた(treadmillingモデル)²⁷⁾。しかし近年は、不動毛先端部のみでアクチン代謝は活発におこり、それ以外では極めて静的なアクチン動態を示すと考えられている(tip turnoverモデル)²⁸⁻³⁰⁾。成熟したマウス蝸牛有毛細胞では、1列目よりも2、3列目にある短い不動毛先端部においてよりアクチン代謝活性が高く、また個々の不動毛でもその活性が異なることが分かっている²⁹⁾。

不動毛先端部にはアクチン重合と伸長に重要とされる、Myosin15a³¹⁾、Whirlin³²⁾、Eps8(epidermal growth factor receptor pathway substrate 8)³³⁾、Myosin3³⁴⁾、Espin1³⁵⁾などのモーター蛋白やアクチン結合蛋白が局在しており、これらの遺伝

子変異はいずれもヒト遺伝性難聴を引き起こす³⁶⁻⁴⁰。Eps8 および Eps8L2 (Eps8-like2) はアクチン線維を伸長させるだけでなく、アクチン重合核を覆う (キャッピング) 機能を有しており⁴¹、他にも CAPZB (actin-capping protein ZB)⁴²、Twinflin2⁴³、Gelsolin⁴⁴ などのキャッピング蛋白や、ADF (actin depolymerizing factor)、AIP1 (actin interacting protein 1) などのアクチン線維の切断・崩壊を促進する因子²⁹と共に、不動毛長を厳密にコントロールしている。興味深いことに、Eps8L2やTwinflin2、Gelsolinなどのキャッピング蛋白は、2、3列目の短い不動毛先端部に局在する^{41/43/44}。一方、先端部以下の不動毛の主軸では、Espin1/3A⁴⁵、Plastin1⁴⁶、Fascin2⁴⁷、Xirp2 (Xin actin binding repeat containing 2)⁴⁸ などのアクチン結合蛋白が隣接するアクチン線維を束ねることで強固で安定な軸を形成しており、同時に脱重合速度を制御し²⁹、静的な状態を維持していると考えられている。

Rho-GTPase による 有毛細胞骨格制御機構

遺伝性難聴原因遺伝子の多くはアクチン骨格に関連した分子であり、上述した分子以外にも様々な細胞形態を制御する分子群が、有毛細胞の成熟および維持に関連していると考えられる。しかしながら、これら構造蛋白の上流に位置し、アクチン骨格形成や再構築を包括して制御する分子シグナルに関する知見は、蝸牛においてあまり多く得られていない。我々のグループは、Rac1/3 や Cdc42 といったアクチン構造の構築に重要な機能を果たす古典的 Rho-family GTPase に着目し、有毛細胞特異的欠失モデルマウス (conditional knock out マウス, CKO マウス) を用いて、それら分子の有毛細胞骨格形成・維持への関わりを報告してきた⁴⁹⁻⁵¹。Cdc42-CKO マウスでは、一旦正常形態の有毛細胞が構築され聴覚を獲得するも、徐々に不動毛や AJCs の形態異常を認め、有毛細胞死による進行性難聴がみられる⁴⁹。また我々は1分子 FRETプローブを全身で発現するマウス (Cdc42

FRET biosensor TG マウス) を用いた解析から、Cdc42 は不動毛先端部および頂側結合複合体で機能し、不動毛を含めた有毛細胞の形態維持に必要であることを見出した⁴⁹。興味深いことに、近年 Cdc42 の新生突然変異による先天異常症候群 (武内・小崎症候群)⁵² が報告され、同患者は感音性難聴を呈することが分かっている。また、Cdc42 を抑制した MDCK 細胞では RhoA 活性の上昇がみられることから⁴⁹、有毛細胞においてもアクチン重合状態をセンシングし、RhoA-ROCK 経路へのフィードバックによって細胞骨格をリモデリングする経路が存在すると考えられる⁴⁹。また Rho 活性制御因子である ARFGEF6⁵³ や ELMOD1⁵⁴ 欠損マウスは、不動毛の形態異常および難聴を呈することが分かっており、それらの下流にある Rho-GTPase 分子群が有毛細胞の骨格維持に寄与していることが示唆されている^{53/54}。

現在我々は、RhoA シグナルの下流に存在する直鎖状アクチン重合作用をもつ DIA1 に着目し、有毛細胞骨格制御機構と難聴に関する研究を進めている。DIA1 は RhoA 存在下でアクチン重合活性を示す分子であり、DIA1 変異はヒト遺伝性難聴 (DFNA1) の原因遺伝子として知られている⁵⁵。長らくその生理的機能や難聴発症メカニズムは不明であったが、近年相次いで報告された DFNA1 新規変異の解析により^{56/59}、その一端が明らかになりつつある。DIA1 の機能獲得変異体である DIA1 (R1204X/R1213X) は、C 末端側の自己制御分子結合ドメイン中にナンセンス変異を持ち、RhoA 非存在下でも強いアクチン重合活性を持つ⁵⁷。この活性型変異体を過剰発現させたマウスは、進行性の不動毛および AJCs の変性、外有毛細胞死による進行性難聴を呈する^{57/59}。また DIA1 は蝸牛成熟に従って AJCs に局在し、活性型変異体 (DIA1 (R1213X)) においては、アクチン代謝の高い聴毛先端部へも集積することが分かった⁵⁹。すなわち DIA1 はこれら AJCs および聴毛への局在を介して、有毛細胞の成熟、維持に寄与していると考えられ^{57/59}、DIA1 活性型変異体はその過剰なアクチン伸長作用により、RhoA 非依

存的に細胞骨格再構成を破綻させると考えられる⁵⁹⁾。興味深いことに、この機能獲得変異は、ヒト遺伝性難聴だけでなく巨大血小板減少症を引き起こすことが分かっている⁵⁸⁾⁶⁰⁾。

ま と め

高感度な聴覚メカノセンシングとその維持機構について概説した。哺乳類では、一度失った有毛細胞が再生することはなく、生涯にわたり生まれ持った有毛細胞により音受容を行っている。すさまじいメカニカルストレスに晒されながらも、緻密に聴覚 MET を維持し続ける蝸牛有毛細胞に興味はつきない。多くの難聴が有毛細胞死によるものであることを考えると、難聴

分子標的治療開発には、この蝸牛特有の細胞種における細胞骨格制御機構の本質的な理解が必要不可欠である。

謝 辞

本稿の Rho-GTPase および DIA1 分子に関わる研究は、神戸大学バイオシグナル総合研究センター・分子薬理研究分野で行った。多大なるご協力とご助言を頂きました齋藤尚亮教授ならびに上山健彦准教授に、この場を借りて深謝致します。

開示すべき潜在的利益相反状態はない。

文 献

- 1) Nin F, Hibino H, Murakami S, Suzuki T, Hisa Y and Kurachi Y. Computational model of a circulation current that controls electrochemical properties in the mammalian cochlea. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 109: 9191-9196, 2012.
- 2) Zheng J, Shen W, He DZZ, Long KB, Madison L, Dand Dallos P. Prestin is the motor protein of cochlear outer hair cells. *Nature*, 405: 149-155, 2000.
- 3) Strimbu CE, Prasad S, Hakizimana P and Fridberger A. Control of hearing sensitivity by tectorial membrane calcium. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 116: 5756-5764, 2019.
- 4) Wangemann P. Supporting sensory transduction: cochlear fluid homeostasis and the endocochlear potential. *J. Physiol.*, 576: 11-21, 2006.
- 5) Sakaguchi H, Tokita J, Naoz M, Bowen-Pope D, Gov N S and Kachar B. Dynamic compartmentalization of protein tyrosine phosphatase receptor Q at the proximal end of stereocilia: Implication of myosin VI-based transport. *Cell Motil.*, 65: 528-538, 2008.
- 6) Pataky F, Pironkova R and Hudspeth AJ. Radixin is a constituent of stereocilia in hair cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 101: 2601-2606, 2004.
- 7) Salles FT, Andrade LR, Tanda S, Grati M, Plona KL, Gagnon LH, Johnson KR, Kachar B and Berryman MA. CLIC5 Stabilizes Membrane-Actin Filament Linkages at the Base of Hair Cell Stereocilia in a Molecular Complex with Radixin, Taperin, and Myosin VI. *Cytoskelet.*, 71: 61-78, 2014.
- 8) Rehman AU, Morell RJ, Belyantseva IA, Khan SY, Boger ET, Shahzad M, Ahmed ZM, Riazuddin S, Khan SN, Riazuddin S, Friedman TB. Targeted capture and next-generation sequencing identifies C9orf75, encoding taperin, as the mutated gene in nonsyndromic deafness DFNB79. *Am. J. Hum. Genet.*, 86: 378-388, 2010.
- 9) Kitajiri S, Sakamoto T, Belyantseva IA, Goodyear RJ, Stepanyan R, Fujiwara I, Bird JE, Riazuddin S, Riazuddin S, Ahmed ZM, Hinshaw JE, Sellers J, Bartles JR, Hammer JA, Richardson GP, Griffith AJ, Frolenkov G, Friedman TB. Actin-bundling protein TRIOBP forms resilient rootlets of hair cell stereocilia essential for hearing. *Cell.* 141: 786-798, 2010.
- 10) Katsuno T, Belyantseva IA, Cartagena-Rivera AX, Ohta K, Crump SM, Petralia RS, Ono K, Tona R, Imtiaj A, Rehman A, Kiyonari H, Kaneko M, Wang Y-X, Abe T, Ikeya M, Fenollar-Ferrer C, Riordan GP, Wilson EA, Fitzgerald TS, Segawa K, Omori K, Ito J, Frolenkov GI, Friedman TB, Kitajiri S. TRIOBP-5 sculpts stereocilia rootlets and stiffens supporting cells enabling hearing. *JCI Insight*, 4: e128561, 2019.
- 11) Kazmierczak P, Sakaguchi H, Tokita J, Wilson-Kubalek EM, Milligan RA, Müller U, Kachar, B. Cadherin 23 and protocadherin 15 interact to form tip-link filaments in sensory hair cells. *Nature*, 449: 87-91, 2007.
- 12) Cunningham CL, Müller U. Molecular structure of the hair cell mechanoelectrical transduction complex.

- Cold Spring Harb. Perspect. Med, 9: a033167, 2019.
- 13) Beurg M, Fettiplace R, Nam J-H, Ricci AJ. Localization of inner hair cell mechanotransducer channels using high-speed calcium imaging. *Nat. Neurosci*, 12: 553-558, 2009.
 - 14) Jaiganesh A, Narui Y, Araya-ecchi R, Sptpmayor M. Beyond cell-cell adhesion: sensational cadherins for hearing and balance. *Cold Spring Harb. Perspect. Med*, 10: a029280, 2018.
 - 15) Holt JR, Gillespie SKH, Provance DW, Shah K, Shokat KM, Corey DP, Mercer JA, Gillespie PG. A Chemical-Genetic Strategy Implicates Myosin-1c in Adaptation by Hair Cells. *Cell*, 108: 371-381, 2002.
 - 16) Platzner J, Engel J, Schrott-Fischer A, Stephan K, Bova S, Chen H, Zheng H, Striessnig J. Congenital Deafness and Sinoatrial Node Dysfunction in Mice Lacking Class D L-Type Ca²⁺ Channels. *Cell*, 102: 89-97, 2000.
 - 17) Pangršič T, Reisinger E, Moser T. Otoferlin: a multi-C2 domain protein essential for hearing. *Trends Neurosci*. 35: 671-680, 2012.
 - 18) Song H, Nie L, Rodriguez-Contreras A, Sheng, Z-H, Yamoah EN. Functional Interaction of Auxiliary Subunits and Synaptic Proteins With CaV1.3 May Impart Hair Cell Ca²⁺-Current Properties. *J. Neurophysiol*. 89: 1143-1149, 2003.
 - 19) Schrauwen I, Helfmann S, Inagaki A, Predoehl F, Tabatabaieifar MA, Picher MM, Sommen M, Zazo Seco C, Oostrik J, Kremer H, Dheedene A, Claes C, Franssen E, Chaleshtori MH, Coucke P, Lee A, Moser T, Van Camp G. A mutation in CABP2, expressed in cochlear hair cells, causes autosomal-recessive hearing impairment. *Am. J. Hum. Genet*, 91: 636-645, 2012.
 - 20) Picher MM, Gehrt A, Meese S, Ivanovic A, Predoehl F, Jung S, Schrauwen I, Dragonetti AG, Colombo R, Camp GV, Strenzke N, Moser T. Ca²⁺-binding protein 2 inhibits Ca²⁺-channel inactivation in mouse inner hair cells. *Proc. Natl. Acad. Sci*, 114: 1717-1726, 2017.
 - 21) Shabbir MI, Ahmed ZM, Khan SY, Riazuddin S, Waryah AM, Khan SN, Camps RD, Ghosh M, Kabra M, Belyantseva IA, Friedman TB, Riazuddin S. Mutations of human TMHS cause recessively inherited non-syndromic hearing loss. *J. Med. Genet*, 43: 634-640, 2006.
 - 22) Xiong W, Grillet N, Elledge HM, Wagner TFJ, Zhao B, Johnson KR, Kazmierczak P, Müller U. TMHS is an Integral Component of the Mechanotransduction Machinery of Cochlear Hair Cells. *Cell*, 151: 1283-1295, 2012.
 - 23) Naz S, Giguere CM, Kohrman DC, Mitchem KL, Riazuddin S, Morell RJ, Ramesh A, Srisailpathy S, Deshmukh D, Riazuddin S, Griffith AJ, Friedman TB, Smith RJH, Wilcox ER. Mutations in a novel gene, TMIE, are associated with hearing loss linked to the DFNB6 locus. *Am. J. Hum. Genet*, 71: 632-636, 2002.
 - 24) Zhao B, Wu Z, Grillet N, Yan L, Xiong W, Harkins-Perry S, Müller U. TMIE is an essential component of the mechanotransduction machinery of cochlear hair cells. *Neuron*, 84: 954-967, 2014.
 - 25) Kurima K, Ebrahim S, Pan B, Sedlacek M, Sengupta P, Millis BA, Cui R, Nakanishi H, Fujikawa T, Kawashima Y. TMC1 and TMC2 localize at the site of mechanotransduction in mammalian inner ear hair cell stereocilia. *Cell Rep*. 12: 1606-1617, 2015.
 - 26) Kawashima Y, Géléoc GSG, Kurima K, Labay V, Lelli A, Asai Y, Makishima T, Wu DK, Della Santina CC, Holt JR, Griffith, AJ. Mechanotransduction in mouse inner ear hair cells requires transmembrane channel-like genes. *J. Clin. Invest*, 121: 4796-4809, 2011.
 - 27) Rzadzinska AK, Schneider ME, Davies C, Riordan GP, Kachar B. An actin molecular treadmill and myosins maintain stereocilia functional architecture and self-renewal. *J. Cell Biol*, 164: 887-897, 2004.
 - 28) Drummond MC, Barzik M, Bird JE, Zhang D-S, Lechene CP, Corey DP, Cunningham LL, Friedman TB. Live-cell imaging of actin dynamics reveals mechanisms of stereocilia length regulation in the inner ear. *Nat. Commun*, 6: 6873, 2015.
 - 29) Narayanan P, Chatterton P, Ikeda A, Ikeda S, Corey DP, Ervasti JM, Perrin BJ. Length regulation of mechanosensitive stereocilia depends on very slow actin dynamics and filament-severing proteins. *Nat. Commun*, 6: 6855, 2015.
 - 30) Zhang D-S, Piazza V, Perrin BJ, Rzadzinska AK, Poczatek JC, Wang M, Prosser HM, Ervasti JM, Corey DP, Lechene CP. Multi-isotope imaging mass spectrometry reveals slow protein turnover in hair-cell stereocilia. *Nature*, 481: 520-524, 2012.
 - 31) Belyantseva IA, Boger ET, Friedman TB. Myosin XVa localizes to the tips of inner ear sensory cell stereocilia and is essential for staircase formation of the hair bundle. *Proc. Natl. Acad. Sci*, 100: 13958-13963, 2003.

- 32) Belyantseva IA, Boger ET, Naz S, Frolenkov GI, Sellers JR, Ahmed ZM, Griffith AJ, Friedman TB. Myosin-XVa is required for tip localization of whirlin and differential elongation of hair-cell stereocilia. *Nat. Cell Biol*, 7: 148-156, 2005.
- 33) Manor U, Disanza A, Grati M, Andrade L, Lin H, Di Fiore PP, Scita G, Kachar B. Regulation of stereocilia length by myosin XVa and whirlin depends on the actin-regulatory protein Eps8. *Curr. Biol. CB*, 21: 167-172, 2011.
- 34) Ebrahim S, Avenarius MR, Grati M, Krey JF, Windsor AM, Sousa AD, Ballesteros A, Cui R, Millis BA, Salles FT, Baird MA, Davidson MW, Jones SM, Choi D, Dong L, Raval MH, Yengo CM, Barr-Gillespie PG, Kachar B. Stereocilia-staircase spacing is influenced by myosin III motors and their cargos espin-1 and espin-like. *Nat. Commun*, 10: 10833, 2016.
- 35) Sekerková G, Zheng L, Mugnaini E, Bartles JR. Differential expression of espin isoforms during epithelial morphogenesis, stereociliogenesis and postnatal maturation in the developing inner ear. *Dev. Biol*, 291: 83-95, 2006.
- 36) Wang A, Liang Y, Fridell RA, Probs FJ, Wilcox ER, Touchman JW, Morton CC, Morell RJ, Noben-Trauth K, Camper SA, Friedman TB. Association of unconventional myosin MYO15 mutations with human nonsyndromic deafness DFNB3. *Science*, 280: 1447-1451, 1998.
- 37) Mburu P, Mustapha M, Varela A, Weil DE, I-Amraoui A, Holme RH, Rump A, Hardisty RE, Blanchard S, Coimbra RS, Perfettini I, Parkinson N, Mallon A-M, Glenister P, Rogers MJ, Paige AJ, Moir L, Clay J, Rosenthal A, Liu XZ, Blanco G, Steel KP, Petit C, Brown SDM. Defects in whirlin, a PDZ domain molecule involved in stereocilia elongation, cause deafness in the whirler mouse and families with DFNB31. *Nat. Genet*, 34: 421-428, 2003.
- 38) Behloul A, Bonnet C, Abdi S, Bouaita A, Lelli A, Hardelin J-P, Schietroma C, Rous Y, Louha M, Cheknane A, Lebdi H, Boudjelida K, Makrelouf M, Zenati A, Petit C. EPS8, encoding an actin-binding protein of cochlear hair cell stereocilia, is a new causal gene for autosomal recessive profound deafness. *Orphanet J. Rare Dis*, 9: 55, 2014.
- 39) Walsh T, Walsh V, Vreugde S, Hertzano R, Shahin H, Haika S, Lee MK, Kanaan M, King M-C, Avraham KB. From flies' eyes to our ears: mutations in a human class III myosin cause progressive nonsyndromic hearing loss DFNB30. *Proc. Natl. Acad. Sci*, 99: 7518-7523, 2002.
- 40) Naz S, Griffith AJ, Riazuddin S, Hampton LL, Battey JF, Khan SN, Riazuddin S, Wilcox ER, Friedman TB. Mutations of ESPN cause autosomal recessive deafness and vestibular dysfunction. *J. Med. Genet*, 41: 591-595, 2004.
- 41) Furness D, NJohnson SL, Manor U, Rüttiger L, Tocchetti A, Offenhauser N, Olt J, Goodyear RJ, Vijayakumar S, Dai Y, Hackney C, M Franz C, Fiore PPD, Masetto S, Jones SM, Knipper M, Holley MC, Richardson GP, Kachar B, Marcotti W. Progressive hearing loss and gradual deterioration of sensory hair bundles in the ears of mice lacking the actin-binding protein Eps8L2. *Proc. Natl. Acad. Sci*, 110: 13898-13903, 2013.
- 42) Avenarius MR, Krey JF, Dumont RA, Morgan CP, Benson CB, Vijayakumar S, Cunningham CL, Scheffer DI, Corey DP, Müller U, Jones SM, Barr-Gillespie PG. Heterodimeric capping protein is required for stereocilia length and width regulation. *J. Cell Biol*, 216: 3861-3881, 2017.
- 43) Peng AW, Belyantseva IA, Hsu PD, Friedman TB, Heller S. Twinfilin 2 Regulates Actin Filament Lengths in Cochlear Stereocilia. *J. Neurosci*, 29: 15083-15088, 2009.
- 44) Mburu P, Romero M, RHilton H, Parker A, Townsend S, Kikkawa Y, Brown SDM. Gelsolin Plays a Role in the Actin Polymerization Complex of Hair Cell Stereocilia. *PLOS ONE*, 5: e11627, 2010.
- 45) Zheng L, Beeler DM, Bartles JR. Characterization and regulation of an additional actin-filament-binding site in large isoforms of the stereocilia actin-bundling protein espin. *J Cell Sci*, 128: 2208, 2015.
- 46) Krey JF, Krystofiak ES, Dumont RA, Vijayakumar S, Choi D, Rivero F, Kachar B, Jones SM, Barr-Gillespie PG. Plastin 1 widens stereocilia by transforming actin filament packing from hexagonal to liquid. *J Cell Biol*, 215: 467-482, 2016.
- 47) Roy P, Perrin BJ. The stable actin core of mechanosensory stereocilia features continuous turnover of actin cross-linkers. *Mol. Biol. Cell*, 29: 1856-1865, 2018.
- 48) Scheffer DI, Zhang D-S, Shen J, Indzhykulian A, Karavitaki KD, Xu YJ, Wang Q, Lin J J-C, Chen Z-Y, Corey DP. XIRP2, an Actin-Binding Protein Essential for Inner Ear Hair-Cell Stereocilia. *Cell Rep*, 10: 1811-

- 1818, 2015.
- 49) Ueyama T, Sakaguchi H, Nakamura T, Gptp A, Morioka S, Shimizu A, Nakao K, Hishikawa Y, Ninoyu Y, Kassai H, Suetsugu S, Koji T, Fritzsche B, Yonemura S, Hisa Y, Matsuda M, Aiba A, Saito N. Maintenance of stereocilia and apical junctional complexes by Cdc42 in cochlear hair cells. *J Cell Sci*, 127: 2040-2052, 2014.
- 50) Nakamura T, Ueyama T, Ninoyu Y, Sakaguchi H, Chojookhuu N, Hishikawa, Y, Kiyonari H, Kohta M, Sakahara M, Curtis I, Kohmura E, Hisa Y, Aiba A, Saito, N. Novel role of Rac-Mid1 signaling in medial cerebellar development. *Development*, 144: 1863-1875, 2017.
- 51) 坂口博史, 中村高志, 上山健彦. 聴覚・平衡覚の成立における Rho-GTPase の関与. *Equilib. Res*, 76: 720-726, 2017.
- 52) Takenouchi T, Okamoto N, Ida S, Uehara T, Kosaki K. Further evidence of a mutation in CDC42 as a cause of a recognizable syndromic form of thrombocytopenia. *Am. J. Med. Genet. A*, 170: 852-855, 2016.
- 53) Zhu C, Cheng C, Wang Y, Muhammad W, Liu S, Zhu W, Shao B, Zhang Z, Yan X, He Q, Xu Z, Yu C, Qian X, Lu L, Zhang S, Zhang Y, Xiong W, Gao X, Xu Z, Chai R. Loss of ARHGEF6 Causes Hair Cell Stereocilia Deficits and Hearing Loss in Mice. *Front. Mol. Neurosci*, 10: 3389, 2018.
- 54) Johnson KR, Longo-Guess CM, Gagnon LH. Mutations of the mouse ELMO domain containing 1 gene (Elmod1) link small GTPase signaling to actin cytoskeleton dynamics in hair cell stereocilia. *PLoS One*, 7: e36074, 2012.
- 55) Lynch ED, Lee MK, Morrow JE, Welch PL, León PE, King MC. Nonsyndromic deafness DFNA1 associated with mutation of a human homolog of the *Drosophila* gene diaphanous. *Science*, 278: 1315-1318, 1997.
- 56) Wu K, Wang H, Guan J, Lan L, Zhao C, Zhang M, Wang D, Wang Q. A novel variant in diaphanous homolog 1 (DIAPH1) as the cause of auditory neuropathy in a Chinese family. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol*, 133: 109947, 2020.
- 57) Ueyama T, Ninoyu Y, Nishio S, Miyoshi T, Torii H, Nishimura K, Sugahara K, Sakata H, Thumkeo D, Sakaguchi H, Watanabe N, Usami S, Saito N, Kitajiri S. Constitutive activation of DIA1 (DIAPH1) via C-terminal truncation causes human sensorineural hearing loss. *EMBO Mol Med*, 8: 1310-1324, 2016.
- 58) Ganaha A, Kaname T, Shinjou A, Chinen Y, Yanagi K, Higa T, Kondo S, Suzuki M. Progressive macrothrombocytopenia and hearing loss in a large family with DIAPH1 related disease. *Am. J. Med. Genet. A*, 173: 2826-2830, 2017.
- 59) Ninoyu Y, Sakaguchi H, Lin C, Suzuki T, Hirano S, Hisa Y, Saito N, Ueyama T. The integrity of cochlear hair cells is established and maintained through the localization of Dia1 at apical junctional complexes and stereocilia. *Cell Death Dis*, 11: 1-15, 2020.
- 60) Westbury SK, Downes K, Burney C, Lozano ML, Obaji SG, Toh CH, Sevivas T, Morgan NV, Erber WN, Kempster C, Moore SF, Thys C, Papadia S, Ouwehand WH, Laffan MA, Gomez K, Freson K, Rivera J, Mumford AD. Phenotype description and response to thrombopoietin receptor agonist in DIAPH1-related disorder. *Blood Adv*, 2: 2341-2346, 2018.

著者プロフィール



二之湯 弦 Yuzuru Ninoyu

所属・職：京都府立医科大学大学院医学研究科耳鼻咽喉科・頭頸部外科学・助教

略 歴：2007年3月 滋賀医科大学医学部医学科 卒業

2007年4月 済生会滋賀県病院 臨床研修医

2008年4月 京都府立医科大学附属病院 臨床研修医

2009年4月 京都府立医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科 専攻医

2010年4月 市立福知山市民病院耳鼻咽喉科 医員

2012年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科耳鼻咽喉科頭頸部外科学博士課程 専攻

2013年8月 神戸大学バイオシグナル研究センター分子薬理分野特別研究員

2015年7月 JCHO 神戸中央病院耳鼻咽喉科 医員

2017年7月 京都府立医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科 病院助教

2019年9月 現職

専門分野：難聴，中耳手術，人工聴覚器，内耳研究

最近興味のあること：小児聴覚，内耳免疫

- 主な業績：1. Ueyama T, Sakaguchi H, Nakamura T, Goto A, Morioka S, Shimizu A, Nakao K, Hishikawa Y, Ninoyu Y, Kassai H, Suetsugu S, Koji T, Fritzsche B, Yonemura S, Hisa Y, Matsuda M, Aiba A, Saito N. Maintenance of stereocilia and apical junctional complexes by Cdc42 in cochlear hair cells. *J Cell Sci*, **127**: 2040-2052, 2014.
2. Ueyama T, Sakuma M, Ninoyu Y, Hamada T, Dupuy C, Geiszt M, Leto T, Saito N. The Extracellular A-loop of Dual Oxidases Affects the Specificity of Reactive Oxygen Species Release. *JBC*, **290**: 6495-6506, 2015.
3. Ueyama T, Ninoyu Y, Nishio S, Miyoshi T, Torii H, Nishimura K, Sugahara K, Sakata H, Thumkeo D, Sakaguchi H, Watanabe N, Usami S, Saito N, Kitajiri S. Constitutive activation of DIA1 (DIAPH1) via C-terminal truncation causes human sensorineural hearing loss. *EMBO Mol Med*, **8**: 1310-1324, 2016.
4. Nakamura T, Ueyama T, Ninoyu Y, Sakaguchi H, Chojjookhuu N, Hishikawa Y, Kiyonari H, Kohta M, Sakahara M, Curtis I, Kohmura E, Hisa Y, Aiba A, Saito N. Novel role of Rac-Mid1 signaling in medial cerebellar development. *Development*, **144**: 1863-1875, 2017.
5. Morioka S, Sakaguchi H, Yamaguchi T, Ninoyu Y, Mohri H, Nakamura T, Hisa Y, Ogita K, Saito N, Ueyama T. Hearing vulnerability after noise exposure in a mouse model of reactive oxygen species overproduction. *J Neurochem*, **46**: 459-473, 2018.
6. Ninoyu Y, Sakaguchi H, Chen L, Suzuki T, Hirano S, Hisa Y, Saito N, Ueyama T. The integrity of cochlear hair cells is established and maintained through the localization of Dia1 at apical junctional complexes and stereocilia. *Cell death dis*, **11**: 536-536, 2020.