

内耳有毛細胞再生の新たなメカニズムの解明

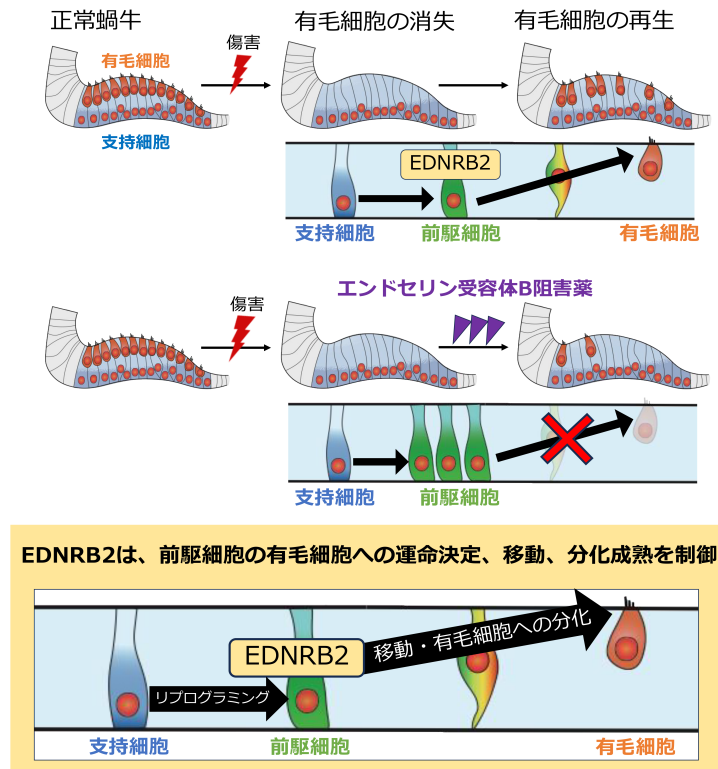
—新しい感音難聴治療法の開発を目指して—

概要

京都大学大学院医学研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 竹内万理恵博士課程学生、松永麻美助教、中川隆之
研究員らの研究グループは、鳥類の有毛細胞再生過程における新たな分子メカニズムを明らかにしました。

我々哺乳類では、聴覚を司る有毛細胞は一度傷害を受けると再生しないため、感音難聴は改善しません。一方、鳥類では有毛細胞が傷害されると、支持細胞を起源に新たな有毛細胞が再生し、難聴が治ります。鳥類での支持細胞から有毛細胞への再生メカニズムの解明は、哺乳類における聴覚再生の手がかりになりますが、仕組みの多くは未だ明らかになっていません。これまでの研究成果から、鳥類の有毛細胞再生過程では、支持細胞がリプログラミングされたのち有毛細胞へ分化すること、この過程でエンドセリン受容体 B2 (EDNRB2) が特異的に発現することが解っていましたが、その具体的な機能は不明でした。本研究により、発生段階の鶏蝸牛において、EDNRB2 は前駆細胞から有毛細胞あるいは支持細胞への分化の方向性が決定する時期にのみ発現していることが明らかになり、更に、再生過程の鶏蝸牛において受容体の働きを阻害すると、前駆細胞の移動と有毛細胞への分化が抑制されることがわかりました。これらの結果から、再生過程における EDNRB2 の機能は、前駆細胞の有毛細胞への運命決定、移動、分化成熟を調節することであると考えられました。本成果は、支持細胞から有毛細胞への再生時における細胞運命決定機構と分化過程の理解を深め、哺乳類での有毛細胞再生に貢献することが期待されます。

本研究成果は、2025 年 7 月 8 日に、国際学術誌「*Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*」に掲載されました。



本研究の概要

1. 背景

我々ヒトを含む哺乳類では、一度傷害を受けた有毛細胞は再生せず、有効な治療薬も存在しないため、感音難聴¹⁾は永続的なものとなります。哺乳類における有毛細胞再生研究も進んでいますが、完全な有毛細胞再生、および聴力の改善にはまだ至っていません。蝸牛²⁾には有毛細胞と支持細胞が上下に隣り合って存在していますが、鳥類では傷害により失われた有毛細胞が、支持細胞を起源として自然に再生し、聴力が改善します。しかし、支持細胞がどのような仕組みで有毛細胞へと分化するのかについては、依然として未解明な点が多く残されています。哺乳類では未だ実現できていない有毛細胞再生医療の確立に向けて、鳥類における有毛細胞再生の仕組みを解明し、再生が限定的にとどまっている哺乳類の有毛細胞再生に応用することを目指しています。我々はこれまでに、薬物で有毛細胞を傷害・消失させたのちに新たな有毛細胞が再生する鶏蝸牛の器官培養³⁾モデルを確立し (Matsunaga et al., 2020)、そのモデルを用いて単一細胞 RNA 発現解析⁴⁾を行いました(Matsunaga et al., 2023)。結果、支持細胞から有毛細胞への再生過程では、支持細胞が前駆細胞⁵⁾様段階にリプログラミング⁶⁾されたのちに有毛細胞に分化し、前駆細胞様段階で特異的に発現する分子として EDNRB2 を発見しました。今回は、鳥類蝸牛有毛細胞再生過程における EDNRB2 の機能的役割を詳細に解析することを目的に次に示す研究を行いました。

2. 研究手法・成果

まず、EDNRB2 が前駆細胞を特徴づける指標となるかどうかの評価のために、発生段階の鶏蝸牛を用いてどの時期に EDNRB2 が発現しているかを in situ hybridization⁷⁾を行なって解析しました。結果、EDNRB2 は前駆細胞が支持細胞または有毛細胞への分化の運命を決定する時期に限って発現していることがわかりました。この結果から、再生過程でリプログラミングされた前駆細胞様段階にある支持細胞は、発生期における運命決定時期の前駆細胞と同じ段階に相当すると考えられました。次に、再生過程における EDNRB2 の役割を明らかにするため、器官培養モデルを用いてエンドセリン受容体 B の働きを特異的に阻害する薬剤を加え、その影響を解析しました。結果、阻害薬を投与した群では、阻害薬を投与していない群と比べて再生有毛細胞の数が有意に減少していることがわかりました。さらに、阻害薬を投与した群では、再生有毛細胞の形態がより未熟であることが確認されました。また、阻害剤投与あり・なし群間でバルク RNA 発現解析⁸⁾を行った結果、受容体の働きを阻害すると、有毛細胞の分化成熟に関連する遺伝子や細胞接着・移動に関連する遺伝子の発現が低下することがわかりました。免疫染色⁹⁾による組織学的評価でも、阻害薬投与により前駆細胞の感覚上皮内での移動が抑制され、有毛細胞の再生が遅れることが確認されました。

これらの結果から、EDNRB2 は再生過程において前駆細胞の有毛細胞への運命決定、表層への移動、分化成熟を制御していると考えられました。

哺乳類では、エンドセリン受容体 B がヒト難聴の原因遺伝子として知られていますが、どのようなメカニズムで難聴を引き起こしているかは解っていません。その他、エンドセリン受容体 B は腸管細胞や脳神経細胞の発生や傷害後の再生過程で、前駆細胞が目的の細胞に分化する際に働く分子として知られています。

今回の我々の研究により、再生可能な鳥類蝸牛において、有毛細胞が傷害を受けて消失すると、支持細胞が前駆細胞となり、前駆細胞から有毛細胞に分化する際に EDNRB2 の発現が鍵となって有毛細胞への分化が進むことが解りました。また受容体を阻害する薬剤を投与すると、前駆細胞の移動が抑制され、結果的に有毛細胞への分化が抑制されることがわかりました。本研究ではこれまで知られていなかった、有毛細胞再生時に果たす EDNRB2 の役割を明らかにし、支持細胞から有毛細胞への再生メカニズムの一端を示しました。

3. 波及効果、今後の予定

エンドセリン受容体 B の哺乳類蝸牛での発現分布や役割には不明な点が多いのが現状です。まず、哺乳類正常蝸牛や、有毛細胞傷害・消失後の発現や役割を解析し、鳥類との違いを明らかにしたいと考えています。哺乳類の有毛細胞再生に足りない分子であることが明らかになれば、エンドセリン受容体 B を操作することで、哺乳類の有毛細胞再生治療法開発、ヒト難聴の回復に貢献できる可能性があると考えています。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、独立行政法人日本学術振興会 科学研究費助成事業(課題番号:20K09708, 23K08983, 22K16899)、武田科学振興財団より資金的支援を受けて実施されました。

<用語解説>

1. **感音難聴**：蝸牛から脳に至る音の伝達経路のいずれかに障害が生じることによって起こる難聴。
2. **蝸牛**：内耳の一部で、音を感知する器官。
3. **器官培養**：取り出した臓器の一部あるいは全体を生体外で培養液中に入れて培養すること。
4. **単一細胞 RNA 発現解析**：1つ1つの細胞での RNA 発現量を網羅的に調べる手法。
5. **前駆細胞**：特定の細胞に分化する途中段階で、最終分化前の状態の細胞。
6. **リプログラミング**：分化した細胞を未分化な状態に戻すこと。
7. **in situ hybridization**：細胞内や組織内における特定の RNA の発現の分布を検出して可視化する手法。
8. **バルク RNA 発現解析**：組織内で発現しているすべての RNA の発現量を一括して測定、比較する手法。
9. **免疫染色**：抗体を用いて、細胞や組織内に存在する特定のタンパク質の分布を可視化する方法。

<研究者のコメント>

「鳥類の難聴が回復することは 1980 年代初頭に発見されていましたが、哺乳類に応用するためにはどのような仕組みで再生するのかの詳細なメカニズムを理解する必要がありました。鶏蝸牛での RNA 発現解析は世界的に取り組んでいる研究グループは少なく、手法開発に苦労しましたが、今回の研究で漸く仕組みの一端を示すことができました。これを機に哺乳類難聴治療のブレークスルーを目指し、さらに邁進したいと思います。」



松永麻美、竹内万理恵

<論文タイトルと著者>

タイトル：EDNRB2 regulates fate, migration, and maturation of hair cell precursors in regenerating avian auditory epithelium explants (EDNRB2 は鳥類蝸牛感覚上皮の有毛細胞再生過程において前駆細胞の運命決定、移動、分化を制御する)

著者：竹内万理恵¹, 松永麻美¹, 喜多知子¹, 西村幸司¹, 十名洋介¹, 大森孝一¹, 勝野達也², 中川隆之¹

¹ 京都大学大学院医学研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科学

² 京都大学大学院医学研究科 附属総合解剖センター

掲載誌：Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America

DOI：10.1073/pnas.2502713122