doi:10.6040/j.issn.1673-3770.0.2023.294 ·上海市第六人民医院耳鼻咽喉头颈外科献礼“六院 120 周年”纪念专题·

单细胞测序分析小鼠耳蜗螺旋神经节与内外毛细胞间的细胞信号通路

董文琪,于栋祯
上海交通大学医学院附属第六人民医院 耳鼻咽喉头颈外科,上海 200233

摘要:目的 研究在耳蜗听力形成期和成熟期小鼠耳蜗的细胞群以及调控螺旋神经节细胞和内外毛细胞间信号通路表达的配受体。**方法** 通过收集公共数据库小鼠耳蜗单细胞测序数据,并利用 CellChat 软件研究内外毛细胞与临近细胞潜在的细胞与细胞间相互作用。**结果** Seurat 分析显示小鼠耳蜗具有 15 群主要的细胞类型,分别是成纤维细胞、Hensen 细胞、鼓膜边界细胞、Coch+/Spp1+成纤维细胞、内外沟细胞、内侧指状细胞/内侧边界细胞、外毛细胞、Reissner 膜、巨噬细胞、梭形细胞/根细胞、螺旋神经节、中间细胞、施万细胞/卫星胶质细胞、内毛细胞、红细胞。CellChat 通讯分析揭示出 P14 小鼠耳蜗内外毛细胞和螺旋神经节间的通讯关系主要由 *Bdnf/Ntrk2* 信号通路介导,P28 时期主要由 *Ggf6/*(*Bmpr1a+Bmpr2*)、*Bmp6/*(*Bmpr1a+Bmpr2*)、*Ntf3/Ntrk3*、*Ntf3/Ntrk2* 以及 *Spp1/Cd44*、*Spp1/*(*Itgav+Itgb1*)、*Pdgfa/Pdgfra*、*Gas6/Tyro3* 信号通路介导。**结论** 本研究基于单细胞转录组数据,初步识别出在耳蜗听力形成期和成熟期螺旋神经节细胞和内外毛细胞间特异性的配受体。

关键词:单细胞测序;螺旋神经节;毛细胞;细胞间通讯
中图分类号:R764 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-3770(2025)03-0051-10

引用格式:董文琪,于栋祯. 单细胞测序分析小鼠耳蜗螺旋神经节与内外毛细胞间的细胞信号通路[J]. 山东大学耳鼻喉眼学报,2025, 39(3):51-60. DONG Wenqi, YU Dongzhen. Single-cell RNA sequencing reveals cellular communication between spiral ganglion neurons and inner and outer hair cells in postnatal mice[J]. Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University, 2025, 39(3):51-60.

Single-cell RNA sequencing reveals cellular communication between spiral ganglion neurons and inner and outer hair cells in postnatal mice

DONG Wenqi, YU Dongzhen
Department of Otorhinolaryngology & Head and Neck Surgery, Shanghai Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200233, China

Abstract: Objective To investigate the cell populations of cochlea during hearing formation and maturation phases and the ligand receptors that regulating the expression of signaling pathways between spiral ganglion neuron and inner and outer hair cells. **Methods** We investigated the potential cell-cell interactions between inner and outer hair cells and adjacent cells by collecting single-cell sequencing data from mouse cochlea and using CellChat software. **Results** Seurat analysis showed 15 significant groups of cell types in the mouse cochlea, including Fibroblast, Hensen's cell, Tympanic Border Cell, Coch+/Spp1+ Fibroblast, Inner/Outer Sulcus Cell, Inner Phalangeal Cell/Inner Border Cell, Outer Hair Cell, Reissner's Membrane, Macrophage, Spindle Cell/Root Cell, Spiral Ganglion Neuron, Intermediate Cell, Schwann Cell/Satellite Glial Cell, Inner Hair Cell and Red Blood Cell. Through the CellChat analysis, we observed that the communication relationship between inner and outer hair cells and spiral ganglion neurons in the P14 mouse cochlea was mainly mediated by the *Bdnf/Ntrk2* signaling pathway, and *Gdf6/*(*Bmpr1a+Bmpr2*), *Bmp6/*(*Bmpr1a+Bmpr2*), *Ntf3/Ntrk3*, *Ntf3/Ntrk2*, *Spp1/Cd44*, *Spp1/*(*Itgav+Itgb1*), *Pdgfa/Pdgfra*, *Gas6/Tyro3* signaling pathways during P28 period. **Conclusion** This study initially identified specific ligand receptors between spiral ganglion neuron and inner and outer hair cells during the cochlear hearing formation and cochlea maturation phases based on single-cell transcriptome data.

Key words: Single-cell RNA sequencing; Spiral ganglion neurons; Hair cells; Intercellular communication networks

收稿日期:2023-07-27
通信作者:于栋祯。E-mail:doctor.yu@126.com

听力损失目前影响着全球 20% 的人口[1]。全世界约有七亿人患有不同程度的听力损失[2],这已成为全球关注的公共卫生问题。感音神经性听力损失是最常见的听力障碍之一,主要与听觉完整性受损有关,尤其是毛细胞和螺旋神经节损伤[3-4]。螺旋神经节通过将复杂的听觉信息从毛细胞传递到大脑,对于听觉感知至关重要。因此,更好地了解介导螺旋神经节与内外毛细胞之间的通讯关系可以提供新的治疗和预防策略。

耳蜗毛细胞是听觉感受器细胞,包括内毛细胞和外毛细胞[5-7]。螺旋神经节细胞是一种双极细胞,通过经典染色或特定神经丝的表达分为Ⅰ型(包括Ⅰa, Ⅰb, Ⅰc 神经元)和Ⅱ型神经元[8-9]。Ⅰ型螺旋神经节细胞约占总细胞的 90%~95%[10],Ⅱ型螺旋神经节细胞约占 5%~10%[11]。内毛细胞通过与Ⅰ型螺旋神经节的连接将有关声音的大部分信息传递到大脑。每一个Ⅰ型螺旋神经元外周纤维都与最靠近的内毛细胞形成单一的突触联系,每个内毛细胞接收来自 10 ~20 个传入Ⅰ型螺旋神经节突触[10]。这种突触是带状突触,可以促进神经递质的快速释放来维持高频率放电[12]。Ⅱ型螺旋神经节细胞占总数的 5%,数量少,直径小,活性低,外毛细胞可以放大声音,由Ⅱ型螺旋神经节细胞支配[11,13-15]。内外毛细胞都具有突触前带,可促进谷氨酸从毛细胞释放到突触后的螺旋神经节[11]。先前的研究发现Ⅰ型螺旋神经节的发育细化需要内毛细胞的驱动[13],功能需要内毛细胞释放谷氨酸来激活[16],但是在小鼠耳蜗中螺旋神经节细胞与两种类型毛细胞之间还存在着其他的通讯关系,这有待进一步研究。

单细胞 RNA 测序(scRNA-seq)是近年来一种新的测序技术,可以为单个正常组织细胞的表征提供相关信息,揭示细胞基因表达水平,不同细胞间的相互作用,有助于更好地理解发育过程中的分子调控机制[17]。目前单细胞 RNA 测序已经成功用于胚胎和出生后早期的内耳,以阐明耳蜗上皮细胞的发育[18-19],但是对于小鼠耳蜗 P7 之后的时间点研究仍然较少。

在本研究中,我们基于基因表达数据库(gene expression omnibus, GEO)的单细胞数据,选取两个关键时间点 P14(听力产生)和 P28(耳蜗成熟),探究小鼠耳蜗各细胞类型占比变化以及螺旋神经节细胞和内外毛细胞之间的细胞通讯关系。首先我们鉴定了在 P14 和 P28 两个时期中小鼠耳蜗中的细胞类型,除此以外,我们发现在耳蜗听力形成期和成熟期螺旋神经节细胞和内外毛细胞间特异性的配受体不同。P14 小鼠耳蜗内外毛细胞和螺旋神经节间的通讯关系主要由 *Bdnf/Ntrk*2 信号通路介导,P28 时期主要由 *Bdnf/Ntrk*2、*Gdf*6/(*Bmpr*1*a*+*Bmpr*2)、*Bmp*6/(*Bmpr*1*a* + *Bmpr*2)、*Ntf*3/*Ntrk*3、*Ntf*3/*Ntrk*2 以及 *Spp*1/*Cd*44、*Spp*1/(*Itgav* + *Itgb*1)、*Pdgfa*/*Pdgfra*、*Gas*6/*Tyro*3 信号通路介导。

1　数据来源与方法

1.1　数据下载与整理

本研究使用的数据集下载自美国国家生物技术信息中心基因表达综合数据库 GEO:GSE202920。其中包含一个 P14 和两个 P28 小鼠耳蜗样本。通过 R 软件 Seurat 包(版本 4.1.0)对原始数据进行质控和过滤,采用以下指标保留高质量细胞 nFeature_RNA>500 和<5000,nCount_RNA<20000 数据校正后,对排名前 2000 的高变基因进行主成分分析,批次效应通过 CCA 法去除。

1.2　数据批次效应校正典型相关分析(canonical correlation analysis, CCA)

典型相关分析是研究两组变量之间相关关系的一种多元统计方法,能够揭示两组变量之间的内在联系。做单细胞数据整合,借助 SelectIntegrationFeatures, FindIntegrationAnchors 和 IntegrateData 三个 Seurat 函数做整合,即 CCA。

1.3　降维、聚类和可视化

质量控制过滤后,通过 Seurat 包中的 NormalizeData 函数进行归一化。使用'RunPCA'以高度可变基因作为输入进行主成分分析,查看前 50 个主成分的贡献度。然后根据主成分的变化趋势,选择后续细胞聚类分析的主成分数量。在这个分析中,分辨率的范围是 0.1-1。使用 UMAP 降维投影, 即Uniform Manifold Approximation and Projection 可视化算法。

1.4　差异表达的基因及细胞类型识别

使用 FindAllMarkers 功能对各类型细胞的每个亚群进行差异性基因分析,以|log2FC|≥0.25,校正后 $P<0.05$ 为阈值选取各个细胞亚群的差异表达基因。通过手动检查经典标记物的平均表达来鉴定细胞类型[20]。

1.5　细胞通讯分析

使用 CellPhoneDB 数据库和 CellChat 软件包。根据细胞的受体和配体的表达,预测潜在的细胞和细胞间的相互作用强度。通过信号配体、受体和附属因子基因表达的综合信息,以及之前对它们之间相互作用的了解,对细胞通讯进行概率性建模。在推断出细胞间通讯网络后,数据被进一步可视化。根据配体-受体对的表达,可以预测两个细胞亚群之间互动的潜在强度。

2 结 果

2.1 样本的初步分群和鉴定

从耳蜗样本中获得 scRNA-seq 原数据,在初始质量控制后,P14 样本中一共获得 1 600 个细胞,两个 P28 样本中分别获得 7 830 和 11 894 个细胞。聚类降维分群后,利用已发表文献中的标记基因进行注释。共获得 15 群主要的细胞类型(图 1A):成纤维细胞(fibroblast, FB)(*Dcn*, *Lum*)[21],Hensen 细胞(Hensen's cell, HeCs)(*Gata*3)[22-23],鼓膜边界细胞(tympanic dorder cell, TBC)(*Emilin*2)[24],Coch+/Spp1+成纤维细胞(*Coch*+/*Spp*1+ Fibroblast, FC_*Coch* +/*Spp*1 +)(*Coch*, *Spp*1),内外沟细胞(Inner/Outer Sulcus Cell, OSC/ISC)(*Gjb*2)[25],内侧指状细胞(inner phalangeal cell, IPhC)(*Slc*1*a*3)[26-28],外毛细胞(outer hair cell, OHC)(*Myo*6, *Slc*26*a*5, *Ocm*)[29-31],Reissner 膜(reissner's membrane, RM)(*Vmo*1)[32],巨噬细胞(macrophage, MP)(*Cx*3*cr*1)[33,34],梭形细胞(spindle cell, SpC)(*Slc*26*a*4)[35],螺旋神经节(spiral ganglion neuron, SGN)(*Tubb*3, *Nefh*)[36-37],中间细胞(intermediate cell, IC)(*Dct*, *Met*)[35,38],施万细胞/卫星胶质细胞(schwann cell/satellite glial cell, SC/SGC)(*Plp*1)[39],内毛细胞(inner hair cell, IHC)(*Myo*6, *Slc*17*a*8, *Otof*)[40-42],红细胞(red dlood cell, RBC)(*Hba-a*1)[20]。在两个 P28 的样本中,细胞类型分布基本相似,与 P14 的样本相比,P28 的样本中外毛细胞和内毛细胞的占比明显减少,这可能与 P14 样本获取的细胞数目较少相关(图 1B)。数据使用 CCA 整合方法进行批次校正,不同样本来源的细胞分布均匀,批次效应校正良好(图 1C)。FeaturePlot 图展示了 15 种主要细胞类型的标志性基因(图 1D)。

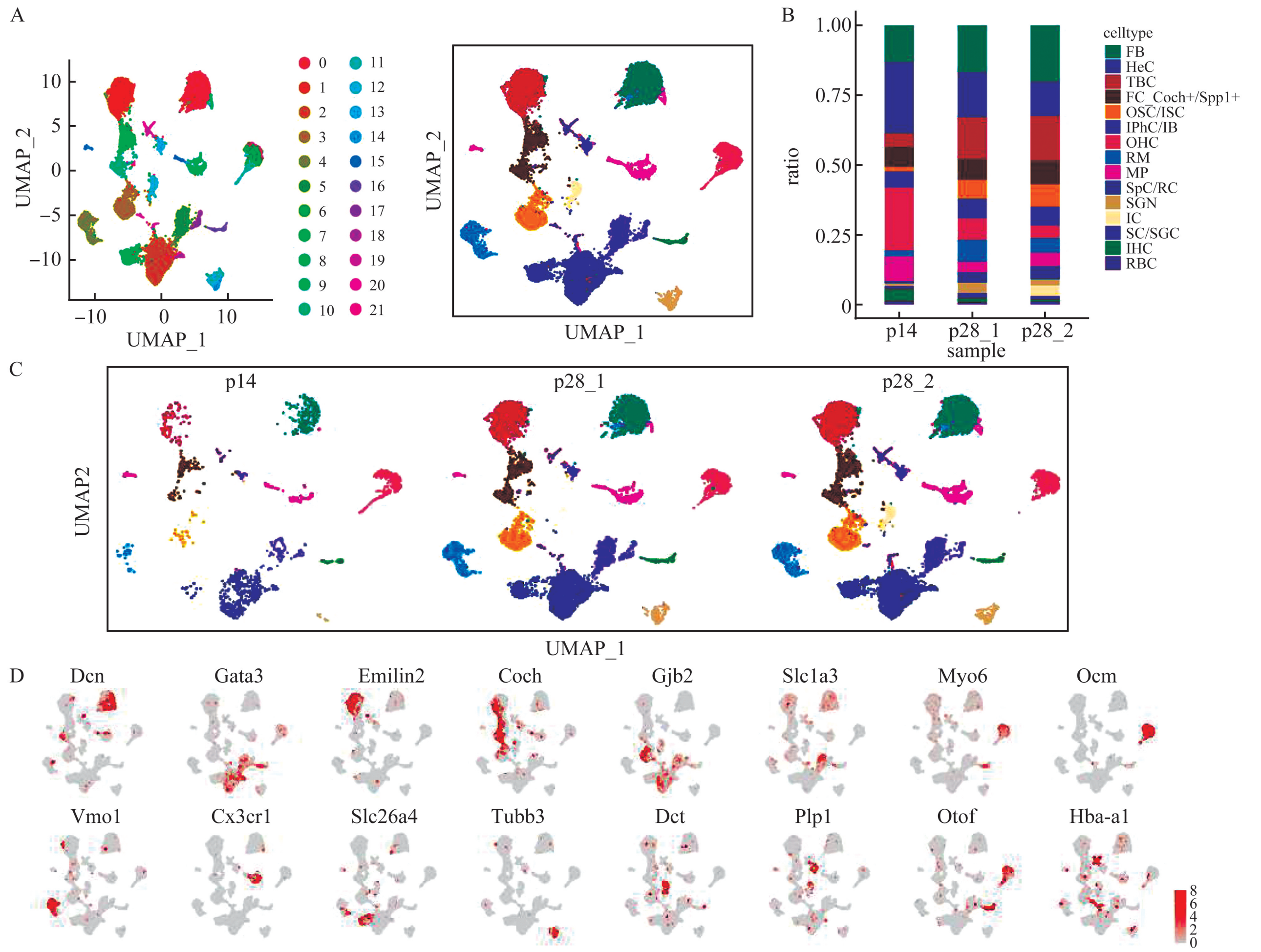


图 1 P14 和 P28 小鼠耳蜗的单细胞转录组图谱

A:P14 和 P28 小鼠耳蜗的单细胞聚类分析和 UMAP 图谱;B:P14 和 P28 小鼠耳蜗各细胞类型比例分布;C:P14 和 P28 小鼠耳蜗细胞类型分布;D:小鼠耳蜗细胞各亚群特有的功能标记基因表达

Figure 1 Single-cell transcriptomic profiles of the cochlea of P14 and P28 mice

A: Single-cell clustering analysis and UMAP plot of the cochlea of P14 and P28 mice; B: Proportion of each cell type in the cochlea of P14 and P28 mice; C: Distribution of cochlear cell types in the cochlea of P14 and P28 mice; D: Functional specific markers to each subpopulation of mouse cochlea cells

2.2 不同时期耳蜗组织中细胞间通讯模式的确定

通过配受–受体互作分析的表达可以探究细胞间的相互作用。我们通过 CellChat 对 P14 和 P28 小鼠的耳蜗分别进行细胞通讯分析，比较不同类型的细胞间的相互作用，包括相互作用的数量和强度。首先，分别构建了 P14 和 P28 小鼠耳蜗组织中细胞间的通讯网络，并对其显著富集的配体和受体对进行可视化展示。结果显示，相比于 P14 的小鼠耳蜗，P28 各细胞间的通讯关系要复杂的多(图 2)。其中，我们重点关注内外毛细胞与螺旋神经节间细胞通讯关系。

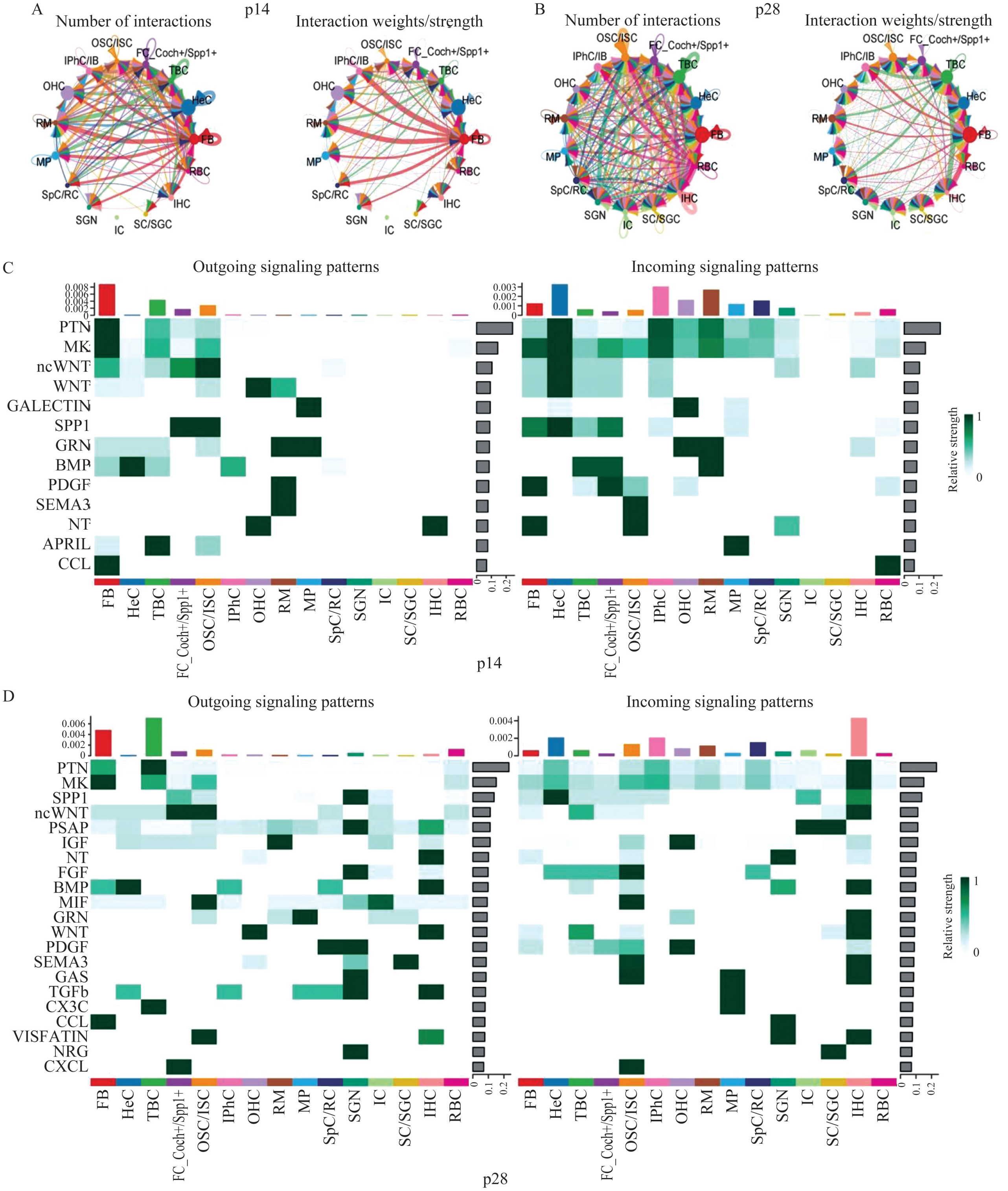


图 2　P14 和 P28 样本中各细胞类型间的配体-受体对展示

A～B：P14 和 P28 样本细胞类型配受体对圆图；C～D：P14 和 P28 样本细胞类型配受体对热图

Figure 2　Presentation of ligand-receptor pairs in each cell type of P14 and P28 samples

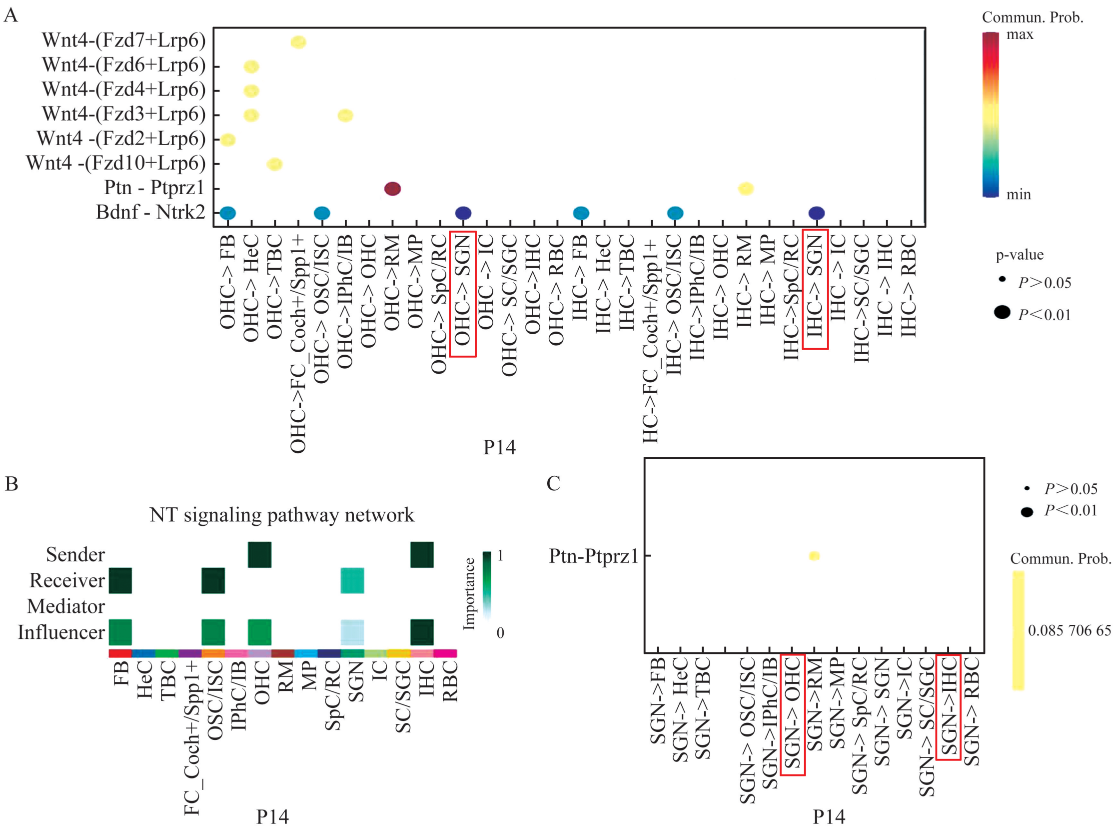
A-B：Circle plots of cell type ligand receptor pairs in P14 and P28 samples；C-D：Heatmaps of cell type ligand receptor pairs in P14 and P28 samples

2.3 螺旋神经节细胞与内外毛细胞间的细胞通讯

我们发现 P14 小鼠耳蜗内外毛细胞到螺旋神经节的通讯关系主要由 *Bdnf/Ntrk*2 信号通路介导，P28 小鼠耳蜗内外毛细胞到螺旋神经节主要由 *Bdnf/Ntrk*2、*Gdf*6/(*Bmpr*1*a* + *Bmpr*2)、*Bmp*6/(*Bmpr*1*a* + *Bmpr*2)、*Ntf*3/*Ntrk*3 和 *Ntf*3/*Ntrk*2 信号通路介导。

NTF 的神经营养因子家族包括脑源性神经营养因子(*BDNF*)和神经营养因子 3(*NT*3)，它们在神经系统的发育和稳态中起关键作用[43]，同时在胚胎内耳的发育过程和前庭感觉神经元的存活中也起重要作用，在出生后，*BDNF* 表达下降，但在维持螺旋神经节的完整性和功能中仍发挥重要作用[44]，*NT*3 在支持细胞和毛细胞中表达[45]。酪氨酸激酶受体(*Trk*)中的 *TrkB* 和 *TrkC* 分别是 *BDNF* 和 *NT*3 的同源受体，在螺旋神经节细胞中表达。*BDNF* 和 *NT*3 由毛细胞分泌，有助于促进螺旋神经节神经突生长[46-47]。我们的分析结果发现，神经营养因子不仅在胚胎期螺旋神经节的发育中发挥作用，在听力发生和耳蜗成熟期，对于螺旋神经节稳态的维持，损伤后的修复，神经营养因子也发挥着重要作用。骨形态发生蛋白 6 (bone morphogenetic protein 6, *BMP*6) 和生长分化因子 6 (growth differentiation factor 6, *GDF*6) 都属于分泌信号分子骨形态发生蛋白(*BMP*)家族。*GDF*6 也称为 *BMP*13 (bone morphogenetic protein 13，骨形态发生蛋白 13) 或 *CDMP*2 (cartilage-derived morphogenetic protein，软骨来源形态发生蛋白 2)。先前的研究表明 *Gdf*6 在发育和成年野生型小鼠耳蜗中高度表达[48]。锤骨、砧骨和镫骨构成听小骨链，将振动从鼓膜传递到椭圆窗，*Gdf*6 突变的小鼠耳朵里三块骨头之间有明显的间隙，三块骨头的形态也有所改变，导致中耳软骨和韧带的缺陷[48]。在小鼠模型中敲除 *Gdf*6 可以导致耳蜗发育不全，与人类表型相似[48-50]。我们的研究表明不仅仅在胚胎时期 *BMP* 家族在耳蜗内软骨生长中发挥作用，在耳蜗成熟期，*BMP* 家族可能也发挥了重要作用。

P14 小鼠从耳蜗螺旋神经节到内外毛细胞间没有发现信号通路。这与之前的研究早期内外毛细胞可以在没有神经支配的情况下发展的结论相一致[43,45,51]。P28 小鼠耳蜗螺旋神经节到内外毛细胞主要由 *Spp*1/*Cd*44、*Spp*1/(*Itgav* + *Itgb*1)、*Pdgfa*/*Pdgfra* 和 *Gas*6/*Tyro*3 信号通路介导。其中 *Spp*1/*Cd*44 和 *Spp*1/(*Itgav*+*Itgb*1) 表达较为明显。*Spp*1 编码骨桥蛋白(*OPN*)，被认为是参与骨化过程的非胶原骨基质蛋白[52]。骨桥蛋白在螺旋神经节细胞、前庭感觉毛细胞、前庭暗细胞和血管纹的边缘细胞中都有表达[53-55]，维持内耳环境的稳态。由于 *OPN* 存在于内耳发育的早期，它也可能对发育过程作出贡献[56]。成熟期的耳蜗螺旋神经节仍然分泌骨桥蛋白，我们猜测可能与调节一氧化氮合酶(iNOS)的表达[57-58]，介导免疫反应或细胞粘附相关[59]。



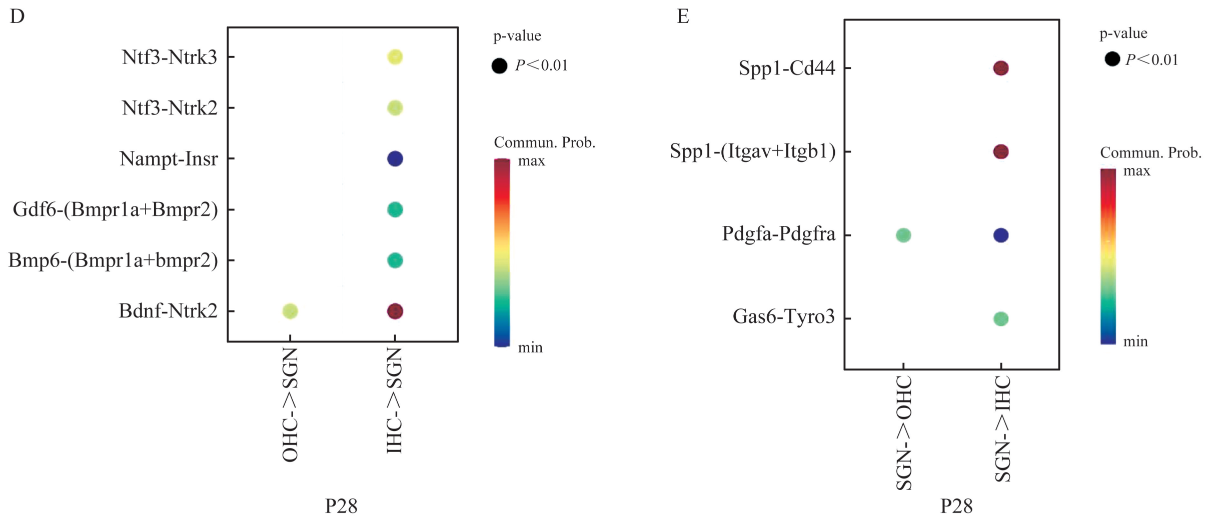


图 3　P14 和 P28 样本中螺旋神经节和内外毛细胞间的配体-受体对

A:P14 样本中从内外毛细胞到其他细胞类型之间信号通路点图;B:P14 样本中内外毛细胞和螺旋神经节之间 NT 信号通路热图;C: P14 样本中从螺旋神经节到其他细胞类型之间信号通路点图;D:P28 样本中从内外毛细胞到螺旋神经节之间 Bdnf/Ntrk2、Gdf6/(Bmpr1a+Bmpr2)、Bmp6/(Bmpr1a+Bmpr2)、Ntf3/Ntrk3 和 Ntf3/Ntrk2 信号通路点图; E:P28 样本中从螺旋神经节到内外毛细胞之间 Spp1/Cd44、Spp1/(Itgav+Itgb1)、Pdgfa/Pdgfra、Gas6/Tyro3 信号通路点图

Figure 3　Ligand-receptor pairs between spiral ganglion neuron and inner and outer hair cells in P14 and P28 samples

A: Dot plot of signaling pathways from inner and outer hair cells to other cell types in the P14 sample; B: Heatmap of NT signaling pathway between hair cells and spiral ganglion neuron in the P14 sample; C: Dot plot of the signaling pathway from the spiral ganglion neuron to other cell types in the P14 sample; D. Dot plot of Bdnf/Ntrk2, Gdf6/(Bmpr1a+Bmpr2), Bmp6/(Bmpr1a+Bmpr2), Ntf3/Ntrk3, and Ntf3/Ntrk2 signaling pathways from the inner and outer hair cells to the spiral ganglion neuron in the P28 samples; E: Dot plot of Spp1/Cd44, Spp1/(Itgav+Itgb1), Pdgfa/Pdgfra and Gas6/Tyro3 signaling pathways from spiral ganglion neuron to inner and outer hair cells in P28 samples

3　讨　论

近年来,耳蜗细胞的研究取得了显著的进展[60],但对耳蜗发育的许多特征仍然知之甚少。scRNA-seq 通过对给定群体中单个细胞的无偏转录组表征,揭示了单个细胞的独特性,促进了新细胞群的发现,监测转录动力学并模拟细胞发育轨迹,探究了基因表达调控的机制。本研究中,我们整合了出生后 14 d 和 28 d 小鼠耳蜗的单细胞数据。细胞间通讯的全局改变由不同细胞簇之间单个信号通路的变化组成。不区分细胞类型的全局改变无法反映与耳蜗中内外毛细胞最相关的变化。因此,我们首先鉴定了这两个时期小鼠耳蜗中不同的细胞类型,重点探究了螺旋神经节细胞和内外毛细胞间的互动。我们发现 P14 小鼠耳蜗中从内外毛细胞到螺旋神经节间的通讯关系主要由 *Bdnf/Ntrk2* 信号通路介导,P28 时期这两者间主要由 *Bdnf/Ntrk2*、*Gdf6/*(*Bmpr1a+Bmpr2*)、*Bmp6/*(*Bmpr1a+Bmpr2*)、*Ntf3/Ntrk3*、*Ntf3/Ntrk2* 以及 *Spp1/Cd44*、*Spp1/*(*Itgav+Itgb1*)、*Pdgfa/Pdgfra*、*Gas6/Tyro3* 信号通路介导。

Petitpré 等[51]的研究发现耳蜗发育的早期阶段毛细胞与螺旋神经节之间超过一半的配体-受体对涉及 *ephrin* 家族,证实了它们在塑造耳蜗结构中的重要作用。同时,细胞类型分化和它们与毛细胞的细胞-细胞交流模式的变化之间有明确的平行关系。外毛细胞到Ⅰ型螺旋神经节的排斥性 *Sema3f/Nrp2* 信号的得分较高,证实了外毛细胞与Ⅰ型螺旋神经节间相互排斥,从而与Ⅱ型螺旋神经节间形成突触发挥作用,而外毛细胞到Ⅱ型螺旋神经节的信号是由神经元的螯合剂 *SEMA3A/NRP1* 对标记[51]。在我们的研究中并没有发现与之相似的信号通路,这可能与小鼠耳蜗的成熟度相关,也说明不同时期的耳蜗中螺旋神经节与内外毛细胞间信号传导通路不完全相同。

本研究鉴定到的螺旋神经节与毛细胞间的配体-受体关系对有望作为螺旋神经节细胞保护和修复的潜在干预靶点。众多研究表明在耳蜗发育和再生的背景下,*BDNF* 和 *NT3* 可以支持螺旋神经节细胞和带状突触的存活[61-66],其中 *BDNF* 和 *TrkB* 对前庭感觉神经元的存活最为重要,而 *NT3* 和 *TrkC* 对耳蜗感觉神经元的存活最为重要[67]。Subhendu 等[44]利用腺相关病毒 2(AAV2)转染耳蜗毛细胞,增加了 *BDNF* 的表达后,发现可以显著减少噪音引起的内毛细胞和螺旋神经节间的突触消失。将外源性神经营养因子引入耳蜗还可以促进听力损失后周围神经纤维的再发育,即使没有毛细胞,和人工耳蜗

联合使用时,神经激活的阈值也会发生降低[43,45]。

Ma 等[69]描述了 *BMP* 信号通路在内耳的发育,包括最早的基板诱导到随后的前庭和耳蜗的形成以及功能成熟都发挥了关键作用。Sun 等[70]发现 *LMO4A* 通过调节 *BMP* 通路可以促进斑马鱼内耳和前庭发育。除此以外,有研究表明高浓度的 *Bmp*4 可以促进分离的螺旋神经节的单极神经突的生长,对出生后的小鼠的耳蜗螺旋神经节有促进其存活和保护其结构的作用[71]。虽然已经证明 *BMP*4 在体外可以促进培养的螺旋神经节外植体中神经突的存活和生长,在内耳的发育过程中半规管的形成中发挥了重要作用[71],但目前 *BMP* 信号传导对螺旋神经节在体内的影响和毛细胞的生成中发挥的作用仍不清楚。同时 *BMP*6 与内耳发育之间的关系也缺乏探讨。因此,需要更深入的研究来确定 *BMP* 信号传导在这一过程中的作用,从而有助于我们理解由于螺旋神经节损伤或丢失引起的感音神经性听力损失的机制[69]。

综上所述,本研究通过对细胞间通讯网络分析较为深入地理解了在耳蜗听力形成期和成熟期,螺旋神经节细胞和内外毛细胞间相互作用的规律,识别了特异性的配受体。这将有助于为耳蜗中毛细胞再生提供新的思路,从而为与毛细胞丢失相关的疾病带来新的治疗方法。

参考文献:

[1] Greenzang KA. Hearing Loss[J]. J Clin Oncol, 2018, 36(1): 94-5. doi.org/10.1200/jco.2017.75.2212

[2] Hazlitt RA, Min J, Zuo J. Progress in the development of preventative drugs for cisplatin-induced hearing loss[J]. J Med Chem, 2018, 61(13): 5512-5524. doi: 10.1021/acs.jmedchem.7b01653

[3] Bu C, Xu L, Han YC, et al. C-Myb protects cochlear hair cells from cisplatin-induced damage via the PI3K/Akt signaling pathway[J]. Cell Death Discov, 2022, 8(1): 78. doi:10.1038/s41420-022-00879-9

[4] Ching JK, Ju JS, Pittman SK, et al. Increased autophagy accelerates colchicine-induced muscle toxicity[J]. Autophagy, 2013, 9(12): 2115-2125. doi:10.4161/auto.26150

[5] Vogl C, Neef J, Wichmann C. Methods for multiscale structural and functional analysis of the mammalian cochlea[J]. Mol Cell Neurosci, 2022, 120: 103720. doi:10.1016/j.mcn.2022.103720

[6] Ashmore J, Gale J. The cochlea[J]. Curr Biol, 2000, 10(9): R325-R327. doi:10.1016/S0960-9822(00)00457-7

[7] Dallos P. The active cochlea [J]. J Neurosci, 1992, 12(12): 4575-85. doi.org/10.1523/jneurosci.12-12-04575.1992

[8] Carricondo F, Romero-Gómez B. The cochlear spiral ganglion neurons: the auditory portion of the VIII nerve[J]. Anat Rec, 2019, 302(3): 463-471. doi: 10.1002/ar.23815

[9] Sanders TR, Kelley MW. Specification of neuronal subtypes in the spiral ganglion begins prior to birth in the mouse[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2022, 119(48): e2203935119. doi:10.1073/pnas.2203935119

[10] Nayagam BA, Muniak MA, Ryugo DK. The spiral ganglion: connecting the peripheral and central auditory systems[J]. Hear Res, 2011, 278(1/2): 2-20. doi: 10.1016/j.heares.2011.04.003

[11] Zhang KD, Coate TM. Recent advances in the development and function of type II spiral ganglion neurons in the mammalian inner ear[J]. Semin Cell Dev Biol, 2017, 65: 80-87. doi:10.1016/j.semcdb.2016.09.017

[12] Wichmann C, Moser T. Relating structure and function of inner hair cell ribbon synapses[J]. Cell Tissue Res, 2015, 361(1): 95-114. doi:10.1007/s00441-014-2102-7

[13] Meyer AC, Frank T, Khimich D, et al. Tuning of synapse number, structure and function in the cochlea[J]. Nat Neurosci, 2009, 12(4): 444-453. doi:10.1038/nn.2293

[14] Sun SH, Siebald C, Müller U. Subtype maturation of spiral ganglion neurons[J]. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg, 2021, 29(5): 391-399. doi:10.1097/MOO.0000000000000748

[15] Dhanasingh AE, Rajan G, van de Heyning P. Presence of the spiral ganglion cell bodies beyond the basal turn of the human cochlea[J]. Cochlear Implants Int, 2020, 21(3): 145-152. doi:10.1080/14670100.2019.1694226

[16] Flores EN, Duggan A, Madathany T, et al. A non-canonical pathway from cochlea to brain signals tissue-damaging noise[J]. Curr Biol, 2015, 25(5): 606-612. doi:10.1016/j.cub.2015.01.009

[17] 徐翀,王晓亭,易红良. 单细胞测序分析喉癌及其微环境代谢相关靶基因[J]. 山东大学耳鼻喉眼学报, 2023, 37(2): 33-38. doi: 10.6040/j.issn.1673-3770.0.2021.542
XU Chong, WANG Xiaoting, YI Hongliang. Single-cell sequencing analysis of laryngeal cancer and its microenvironmental metabolism-related target genes[J]. Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University, 2023, 37(2): 33-38. doi: 10.6040/j.issn.1673-3770.0.2021.542

[18] Chen JY, Gao DK, Chen JM, et al. Single-cell RNA sequencing analysis reveals greater epithelial ridge cells degeneration during postnatal development of cochlea in rats[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 719491. doi:10.3389/fcell.2021.719491

[19] Durruthy-Durruthy R, Heller S. Applications for single cell trajectory analysis in inner ear development and regeneration[J]. Cell Tissue Res, 2015, 361(1): 49-57. doi:10.1007/s00441-014-2079-2

[20] Xu ZH, Tu S, Pass C, et al. Profiling mouse cochlear cell maturation using 10 × Genomics single-cell transcriptomics[J]. Front Cell Neurosci, 2022, 16: 962106. doi:10.3389/fncel.2022.962106

[21] Amado N, Mathews J, Henry G, et al. mp44-09? understanding prune belly syndrome at single cell resolution [J]. J Urol, 2021, 206(Suppl 3): e796. doi:10.1097/JU.0000000000002065.09

[22] Nishimura K, Noda T, Dabdoub A. Dynamic expression of Sox2, Gata3, and Prox1 during primary auditory neuron development in the mammalian cochlea[J]. PLoS One, 2017, 12(1): e0170568. doi: 10.1371/journal.pone.0170568

[23] Walters BJ, Coak E, Dearman J, et al. InVivo interplay between p27Kip1, GATA3, ATOH1, and POU4F3 converts non-sensory cells to hair cells in adult mice[J]. Cell Rep, 2017, 19(2): 307-320. doi:10.1016/j.celrep.2017.03.044

[24] Amma LL, Goodyear R, Faris JS, et al. An emilin family extracellular matrix protein identified in the cochlear basilar membrane[J]. Mol Cell Neurosci, 2003, 23(3): 460-472. doi:10.1016/s1044-7431(03)00075-7

[25] Crispino G, di Pasquale G, Scimemi P, et al. BAAV mediated GJB2 gene transfer restores gap junction coupling in cochlear organotypic cultures from deaf Cx26Sox10Cre mice[J]. PLoS One, 2011, 6(8): e23279. doi:10.1371/journal.pone.0023279

[26] Jin ZH, Kikuchi T, Tanaka K, et al. Expression of glutamate transporter GLAST in the developing mouse cochlea[J]. Tohoku J Exp Med, 2003, 200(3): 137-144. doi:10.1620/tjem.200.137

[27] Glowatzki E, Cheng N, Hiel H, et al. The glutamate-aspartate transporter GLAST mediates glutamate uptake at inner hair cell afferent synapses in the mammalian cochlea[J]. J Neurosci, 2006, 26(29): 7659-7664. doi:10.1523/JNEUROSCI.1545-06.2006

[28] Udagawa T, Atkinson PJ, Milon B, et al. Lineage-tracing and translatomic analysis of damage-inducible mitotic cochlear progenitors identifies candidate genes regulating regeneration[J]. PLoS Biol, 2021, 19(11): e3001445. doi:10.1371/journal.pbio.3001445

[29] Self T, Sobe T, Copeland NG, et al. Role of myosin VI in the differentiation of cochlear hair cells[J]. Dev Biol, 1999, 214(2): 331-341. doi:10.1006/dbio.1999.9424

[30] Zheng J, Shen W, He DZ, et al. Prestin is the motor protein of cochlear outer hair cells[J]. Nature, 2000, 405(6783): 149-155. doi:10.1038/35012009

[31] Simmons DD, Tong B, Schrader AD, et al. Oncomodulin identifies different hair cell types in the mammalian inner ear[J]. J Comp Neurol, 2010, 518(18): 3785-3802. doi:10.1002/cne.22424

[32] Peters LM, Belyantseva IA, Lagziel A, et al. Signatures from tissue-specific MPSS libraries identify transcripts preferentially expressed in the mouse inner ear[J]. Genomics, 2007, 89(2): 197-206. doi:10.1016/j.ygeno.2006.09.006

[33] Kaur T, Zamani D, Tong L, et al. Fractalkine signaling regulates macrophage recruitment into the cochlea and promotes the survival of spiral ganglion neurons after selective hair cell lesion[J]. J Neurosci, 2015, 35(45): 15050-15061. doi:10.1523/JNEUROSCI.2325-15.2015

[34] Rai V, Wood MB, Feng H, et al. The immune response after noise damage in the cochlea is characterized by a heterogeneous mix of adaptive and innate immune cells [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 15167. doi: 10.1038/s41598-020-72181-6

[35] Milon B, Shulman ED, So KS, et al. A cell-type-specific atlas of the inner ear transcriptional response to acoustic trauma[J]. Cell Rep, 2021, 36(13): 109758. doi: 10.1016/j.celrep.2021.109758

[36] Barclay M, Ryan AF, Housley GD. Type I vs type II spiral ganglion neurons exhibit differential survival and neuritogenesis during cochlear development[J]. Neural Dev, 2011, 6: 33. doi:10.1186/1749-8104-6-33

[37] Locher H, Frijns JH, van Iperen L, et al. Neurosensory development and cell fate determination in the human cochlea[J]. Neural Dev, 2013, 8: 20. doi: 10.1186/1749-8104-8-20

[38] Tian C, Johnson KR. TBX1 is required for normal stria vascularis and semicircular canal development[J]. Dev Biol, 2020, 457(1): 91-103. doi: 10.1016/j.ydbio.2019.09.013

[39] Wan GQ, Corfas G. Transient auditory nerve demyelination as a new mechanism for hidden hearing loss[J]. Nat Commun, 2017, 8: 14487. doi:10.1038/ncomms14487

[40] Roux I, Safieddine S, Nouvian R, et al. Otoferlin, defective in a human deafness form, is essential for exocytosis at the auditory ribbon synapse[J]. Cell, 2006, 127(2): 277-289. doi:10.1016/j.cell.2006.08.040

[41] Roux I, Hosie S, Johnson SL, et al. Myosin VI is required for the proper maturation and function of inner hair cell ribbon synapses[J]. Hum Mol Genet, 2009, 18(23): 4615-4628. doi:10.1093/hmg/ddp429

[42] Seal RP, Akil O, Yi E, et al. Sensorineural deafness and seizures in mice lacking vesicular glutamate transporter 3 [J]. Neuron, 2008, 57(2): 263-275. doi: 10.1016/j.

neuron.2007.11.032

[43] Fritzsch B, Fariñas I, Reichardt LF. Lack of neurotrophin 3 causes losses of both classes of spiral ganglion neurons in the cochlea in a region-specific fashion[J]. J Neurosci, 1997, 17(16): 6213-6225. doi: 10.1523/JNEUROSCI.17-16-06213.1997

[44] Mukherjee S, Kuroiwa M, Oakden W, et al. Local magnetic delivery of adeno-associated virus AAV2 (quad Y-F)-mediated BDNF gene therapy restores hearing after noise injury[J]. Mol Ther, 2022, 30(2): 519-533. doi:10.1016/j.ymthe.2021.07.013

[45] Fritzsch B, Silos-Santiago I, Bianchi LM, et al. The role of neurotrophic factors in regulating the development of inner ear innervation[J]. Trends Neurosci, 1997, 20(4): 159-164. doi:10.1016/s0166-2236(96)01007-7

[46] Fritzsch B, Tessarollo L, Coppola E, et al. Neurotrophins in the ear: their roles in sensory neuron survival and fiber guidance[J]. Prog Brain Res, 2004, 146: 265-278. doi:10.1016/S0079-6123(03)46017-2

[47] Ramekers D, Versnel H, Grolman W, et al. Neurotrophins and their role in the cochlea[J]. Hear Res, 2012, 288(1/2): 19-33. doi:10.1016/j.heares.2012.03.002

[48] Bademci G, Abad C, Cengiz FB, et al. Long-range cis-regulatory elements controlling GDF6 expression are essential for ear development[J]. J Clin Invest, 2020, 130(8): 4213-4217. doi:10.1172/JCI136951

[49] Katoh Y, Katoh M. Comparative integromics on BMP/GDF family[J]. Int J Mol Med, 2006, 17(5): 951-955

[50] Mazerbourg S, Hsueh AJW. Genomic analyses facilitate identification of receptors and signalling pathways for growth differentiation factor 9 and related orphan bone morphogenetic protein/growth differentiation factor ligands[J]. Hum Reprod Update, 2006, 12(4): 373-383. doi:10.1093/humupd/dml014

[51] Petitpré C, Faure L, Uhl P, et al. Single-cell RNA-sequencing analysis of the developing mouse inner ear identifies molecular logic of auditory neuron diversification[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 3878. doi:10.1038/s41467-022-31580-1

[52] Sakagami M. Role of osteopontin in the rodent inner ear as revealed by in situ hybridization[J]. Med Electron Microsc, 2000, 33(1): 3-10. doi:10.1007/s007950000001

[53] Davis RL, Lopez CA, Mou K. Expression of osteopontin in the inner ear[J]. Ann N Y Acad Sci, 1995, 760: 279-295. doi:10.1111/j.1749-6632.1995.tb44638.x

[54] Takemura T, Sakagami M, Nakase T, et al. Localization of osteopontin in the otoconial organs of adult rats[J]. Hear Res, 1994, 79(1/2): 99-104. doi:10.1016/0378-5955(94)90131-7

[55] Schmitt NC, Rubel EW. Osteopontin does not mitigate cisplatin ototoxicity or nephrotoxicity in adult mice[J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 2013, 149(4): 614-620. doi:10.1177/0194599813498218

[56] Lopez CA, Olson ES, Adams JC, et al. Osteopontin expression detected in adult cochleae and inner ear fluids[J]. Hear Res, 1995, 85(1/2): 210-222. doi:10.1016/0378-5955(95)00046-7

[57] Li GM, Liu W, Frenz D. Cisplatin ototoxicity to the rat inner ear: a role for HMG1 and iNOS[J]. Neurotoxicology, 2006, 27(1): 22-30. doi:10.1016/j.neuro.2005.05.010

[58] Mostafa DG, Satti HH, Khaleel EF, et al. A high-fat diet rich in corn oil exaggerates the infarct size and memory impairment in rats with cerebral ischemia and is associated with suppressing osteopontin and Akt, and activating GS3Kβ, iNOS, and NF-κB[J]. J Physiol Biochem, 2020, 76(3): 393-406. doi:10.1007/s13105-020-00744-2

[59] de Schepper S, Ge JZ, Crowley G, et al. Perivascular cells induce microglial phagocytic states and synaptic engulfment via SPP1 in mouse models of Alzheimer's disease[J]. Nat Neurosci, 2023, 26(3): 406-415. doi:10.1038/s41593-023-01257-z

[60] 李聪,李玲,刘亭彦, 等. 氨基糖苷类抗生素耳毒性影响因素研究进展[J]. 山东大学耳鼻喉眼学报, 2023, 37(2): 128-134. doi: 10.6040/j.issn.1673-3770.0.2021.097
LI Cong, LI Ling, LIU Tingyan, et al. Research progress on influencing factors of aminoglycoside antibiotic ototoxicity[J]. Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University, 2023, 37(2): 128-134. doi: 10.6040/j.issn.1673-3770.0.2021.097

[61] Evans AJ, Thompson BC, Wallace GG, et al. Promoting neurite outgrowth from spiral ganglion neuron explants using polypyrrole/BDNF-coated electrodes[J]. J Biomed Mater Res A, 2009, 91(1): 241-250. doi:10.1002/jbm.a.32228

[62] Gillespie LN, Clark GM, Marzella PL. Delayed neurotrophin treatment supports auditory neuron survival in deaf guinea pigs[J]. Neuroreport, 2004, 15(7): 1121-1125. doi:10.1097/00001756-200405190-00008

[63] Landry TG, Wise AK, Fallon JB, et al. Spiral ganglion neuron survival and function in the deafened cochlea following chronic neurotrophic treatment[J]. Hear Res, 2011, 282(1/2): 303-313. doi:10.1016/j.heares.2011.06.007

[64] Shepherd RK, Coco A, Epp SB. Neurotrophins and electrical stimulation for protection and repair of spiral ganglion neurons following sensorineural hearing loss[J]. Hear Res, 2008, 242(1/2): 100-109. doi:10.1016/j.

heares.2007.12.005

[65] Glueckert R, Bitsche M, Miller JM, et al. Deafferentation-associated changes in afferent and efferent processes in the guinea pig cochlea and afferent regeneration with chronic intrascalar brain-derived neurotrophic factor and acidic fibroblast growth factor[J]. J Comp Neurol, 2008, 507(4): 1602-1621. doi:10.1002/cne.21619

[66] Leake PA, Hradek GT, Hetherington AM, et al. Brain-derived neurotrophic factor promotes cochlear spiral ganglion cell survival and function in deafened, developing cats[J]. J Comp Neurol, 2011, 519(8): 1526-1545. doi:10.1002/cne.22582

[67] Gunewardene N, Ma YT, Lam P, et al. Developing the supraparticle technology for round window-mediated drug administration into the cochlea[J]. J Control Release, 2023, 361: 621-635. doi:10.1016/j.jconrel.2023.08.016

[68] Wang CS, Kavalali ET, Monteggia LM. BDNF signaling in context: from synaptic regulation to psychiatric disorders[J]. Cell, 2022, 185(1): 62-76. doi:10.1016/j.cell.2021.12.003

[69] Ma JY, You D, Li WY, et al. Bone morphogenetic proteins and inner ear development[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2019, 20(2): 131-145. doi:10.1631/jzus.B1800084

[70] Sun L, Ping L, Gao RZ, et al. lmo4a contributes to zebrafish inner ear and vestibular development via regulation of the bmp pathway[J]. Genes, 2023, 14(7): 1371. doi:10.3390/genes14071371

[71] Waqas M, Sun S, Xuan CY, et al. Bone morphogenetic protein 4 promotes the survival and preserves the structure of flow-sorted Bhlhb5+ cochlear spiral ganglion neurons in vitro[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 3506. doi:10.1038/s41598-017-03810-w

(编辑:王磊)

(上接第 44 页)

[27] Xue C, Li GL, Zheng QX, et al. Tryptophan metabolism in health and disease[J]. Cell Metab, 2023, 35(8): 1304-1326. doi:10.1016/j.cmet.2023.06.004

[28] Salminen A. Role of indoleamine 2, 3-dioxygenase 1 (IDO1) and kynurenine pathway in the regulation of the aging process[J]. Ageing Res Rev, 2022, 75: 101573. doi:10.1016/j.arr.2022.101573

[29] Lv RJ, Liu XY, Zhang Y, et al. Pathophysiological mechanisms and therapeutic approaches in obstructive sleep apnea syndrome[J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8(1): 218. doi:10.1038/s41392-023-01496-3

[30] Yi MH, Zhao WC, Fei QM, et al. Causal analysis between altered levels of interleukins and obstructive sleep apnea[J]. Front Immunol, 2022, 13: 888644. doi:10.3389/fimmu.2022.888644

[31] Unnikrishnan D, Jun J, Polotsky V. Inflammation in sleep apnea: an update[J]. Rev Endocr Metab Disord, 2015, 16(1): 25-34. doi:10.1007/s11154-014-9304-x

[32] Kim YS, Ko B, Kim DJ, et al. Induction of the hepatic aryl hydrocarbon receptor by alcohol dysregulates autophagy and phospholipid metabolism via PPP2R2D[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 6080. doi:10.1038/s41467-022-33749-0

[33] Modoux M, Rolhion N, Mani S, et al. Tryptophan metabolism as a pharmacological target[J]. Trends Pharmacol Sci, 2021, 42(1): 60-73. doi:10.1016/j.tips.2020.11.006

(编辑:王磊)