

# Development of Vestibular Organ and Cochlea

Chan Ho Hwang

Department of otorhinolaryngology, Incheon Medical Center, Incheon, Korea

## 전정기관과 와우의 발생

황 찬 호

인천의료원 이비인후과

### Address for correspondence

Chan Ho Hwang, MD, PhD  
Department of Otorhinolaryngology,  
Incheon Medical Center,  
159 Bangchuk-gil, Dong-gu,  
Incheon 401-711, Korea  
Tel +82-32-580-6150  
Fax +82-2-6455-2140  
E-mail chanhoh@gmail.com

Inner ear is an important organ that is responsible for balance and hearing. It is composed of two complicated major subunits, vestibular organ and cochlea. During development, both functional units require complex genetic interactions to achieve proper patterning and morphology as its purpose. This review comprises three parts. In the first part, general information about technical tools in studying mouse ear development is introduced. In the second part, it is shown how semicircular canals are formed and what genetic interaction is involved in canal formation. In the last part, genetic interactions required for proper development of cochlea are elaborated, focusing on the length of cochlea and morphology of organ of Corti. The study about development of mutant mice provides us useful information about genetic interaction involved in the formation of structures for hearing and balance. The data acquired in the development field could provide a breakthrough to hair cell regeneration and stem cell therapy fields in stuck, which are directly applicable to human.

Korean J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg 2010;53:265-74

**Key Words** Development · Mouse · Semicircular canal · Cochlea · Organ of Corti · Hair cell.

## 서 론

인간의 내이형성은 태생 17~19주에 성인크기에 도달하며 38주리는 인간의 재태기간을 생각한다면 내이는 매우 이른 시기에 완성됨을 알 수 있다.<sup>1)</sup> 마우스는 인간과 매우 유사한 형태의 내이구조를 가지고 있으며 내이형성과정 또한 인간과 매우 흡사하다. 그러므로 마우스의 내이형성과정에 대한 연구는 인간의 내이형성 과정을 분자생물학적으로 보다 심도 있게 이해할 수 있게 해주며 궁극적으로는 인간의 내이기형에 대한 치료법 개발을 위한 좋은 실험도구로 활용될 수 있을 것이다. 특히 유전자 변형 마우스는 내이를 형성함에 있어 유전자들의 상호작용에 대한 중요한 정보를 제공해준다.

줄기세포(stem cell)를 손상된 와우(cochlea)에 넣어주어 손상된 유모세포(sensory hair cell)를 대체시키고자 했던 실험들은 많은 사람들의 기대에도 불구하고 별다른 성과를 거두지 못하였다. 손상된 내이에 대한 줄기세포치료(stem cell therapy) 실험이 이렇게 답보를 보이는 이유는 아직도 우리가 유모세포들의 형성에 관한 구체적인 분

자생물학적인 기전을 이해하고 있지 못하고 있기 때문으로 생각된다. 발생학(development)은 내이(inner ear)의 형성 과정 중에 보이는 유전자(gene)의 발현양상(expression)을 이해하고 유전자변형마우스(genetically modified mouse)에서 보이는 기형(phenotype)이 생기는 기전(mechanism)을 분석함으로써 유전자 간 상호작용(genetic interaction)을 밝히는 학문으로 현재 답보상태에 있는 줄기세포치료(stem cell therapy)와 유모세포 재생연구(regeneration)에 돌파구(breakthrough)를 제공할 수 있을 것이라 기대 된다.

이 리뷰는 내이발생학에서 사용되는 연구기법에 대한 개략적인 소개와 세반고리관의 발달, 그리고 와우성장에서 길이와 유모세포의 수를 결정하는 유전자를 설명하는 데 초점을 맞추었다. 인간의 몸은 선천적인 전정기관의 결손에 대해서 시운동신경이나 체신경의 보강을 통해 훌륭하게 균형을 이루는 법을 저절로 터득하므로 세반고리관의 기형은 임상적으로는 많은 의미가 없어 보이지만 많은 선천성 난청 환자들에게서 발견되는 세반고리관의 기형형태에 대한 분석은 난청의 원인을 발견하는 데 단서(clue)를 제공해 줄

수 있다(Table 1). 마찬가지로 코티기관을 형성하는 데 있어서도 수많은 유전자들이 코티기관 근처에서 발현되며, 그 유전자들이 제거되었을 경우 나타내는 와우길이의 단축과 유모세포 열의 증가나 감소는 인간의 Mondini 기형의 원인을 밝히는 데 도움이 되리라고 생각한다(Table 2). 아직 결

론을 내릴만한 단계는 아니지만 내이성장과정에서 보이는 이러한 유전자의 발현양상과 유전자변형마우스에서 보이는 유전자 상호작용에 대한 지식은 앞으로 유전자중심으로 재편되는 임상환경을 이해하는 데 많은 도움을 주리라 생각한다.

**Table 1.** The canal phenotype of mutant mice

Gene	Semicircular canal phenotype			Cristae	Genetic character	Authors
	Anterior canal	Lateral canal	Posterior canal			
<b>Genes expressed in canal pouch</b>						
<i>Dlx5/6<sup>-/-</sup></i>	Absent	Absent	Absent	Total cristae absent	Double deletion	Robledo and Lufkin (2006)
<i>Dlx5<sup>-/-</sup></i>	Absent	Small	Absent	Total cristae absent	Deletion	Acampora et al. (1999) Depew et al. (1999)
<i>Hmx3<sup>-/-</sup></i> (#1)	Small	Absent	Absent	Lateral crista absent	Deletion	Hadrys et al. (1998)
<i>Hmx3<sup>-/-</sup></i> (#2)	Normal	Normal	Normal	Lateral crista absent	Deletion	Wang et al. (1998)
<i>Hmx2<sup>-/-</sup></i>	Absent	Absent	Absent	Lateral crista absent	Deletion	Wang et al. (2001)
<i>Hmx2<sup>-/-</sup>; Hmx3<sup>-/-</sup></i>	Absent	Absent	Absent	Absent	Double deletion	Wang et al. (2004)
<i>Fgf3<sup>-/-</sup></i>	Variable	Variable	Variable	Posterior crista absent	Conditional deletion	Hatch et al. (2007)
<i>Fgf9<sup>-/-</sup></i>	Absent	Rudimentary	Absent	Normal	Deletion	Pirvola et al. (2004)
<i>Ntn1<sup>-/-</sup></i>	Normal	Absent	Absent	Normal	Deletion by gene trap	Salminen et al. (2000)
<i>Nor1<sup>-/-</sup></i>	Thinned	Thinned	Thinned	Normal	Deletion	Ponno et al. (2002)
<i>Ephrin B2<sup>-/-</sup></i>	Thinned	Thinned	Thinned	Normal	Deletion	Dravis et al. (2007)
<i>Lrig1<sup>-/-</sup></i>	Normal	Not resorbed, Truncated	Normal	Normal	Conditional deletion	Abraira et al. (2008)
<i>Lrig1<sup>-/-</sup>; Netrin1<sup>+/-</sup></i>	Normal	Normal	Normal	Normal	Double deletion	Abraira et al. (2008)
<i>Bmp2<sup>-/-</sup></i>	Absent	Absent	Absent	Normal	Conditional deletion	Hwang and Wu (unpublished)
<i>Gli3<sup>-/-</sup></i>	Truncated	Absent	Narrowed	Normal	Deletion	Bok et al. (2007)
<i>Gbx2<sup>-/-</sup></i>	Swollen	Unaffected	Swollen	Present	Deletion	Lin et al. (2005)
<b>Genes expressed in cristae</b>						
<i>Jag1<sup>-/-</sup></i>	Truncated	Absent	Absent	Absent	Conditional deletion	Kiernan et al. (2006)
<i>Jag1<sup>+/-</sup></i>	Small ampulla	Small ampulla	Truncated, Missing ampulla	Posterior crista absent	Deletion	Kiernan et al. (2006)
<i>Jag1<sup>Htlu/+</sup></i>	Absence of ampulla	Normal	Absence of ampulla	Malformed	ENU derived heterozygote	Kiernan et al. (2001)
<i>Sox2<sup>Lcc/Lcc</sup></i>	Thin, truncated	Thin, truncated	Absent	Absent	X-ray irradiation	Kiernan et al. (2005)
<i>Sox2<sup>Ysb/Ysb</sup></i>	Truncated	Truncated	Intact	Absent	Fortuitous insertion of a transgene	Kiernan et al. (2005)
<i>Fgf10<sup>-/-</sup></i>	Not resorbed	Small, truncated	Absent	Posterior crista absent	Deletion	Pauley et al. (2003) Wu et al. (unpublished)
<i>Bmp4<sup>-/-</sup></i>	Absent	Absent	Absent	Total cristae absent	Conditional deletion	Chang et al. (2008)
<i>Foxg1<sup>-/-</sup></i>	Normal	Normal	Non resorption	Lateral crista absent, Malformed cristae	Deletion	Pauley et al. (2006) Hwang et al. (2009)
<i>Six1<sup>Cwe/Cwe</sup></i>	Thin truncated	or Absent	Absent	Posterior crista absent	ENU derived	Bosman et al. (2009)
<i>Six1<sup>+/-</sup>Eya<sup>+/-</sup></i>	Intact	Intact	Truncated, Missing ampulla	Absent posterior crista	Deletion	Zheng et al. (2003)
<i>Eya<sup>+/-</sup></i>	Truncated, missing ampulla	Intact	Intact	Absent anterior crista	Deletion	Zou et al. (2008)

## 본 론

### 발생 실험기법과 유전자변형마우스

발생학에서 다른 연구에서보다 많이 사용되는 실험기법

은 RNA의 발현을 검출하는 *in situ* hybridization이다. 항체를 만드는 생물공학의 발달로 많은 종류의 항단백질 항체들이 인터넷상에서 구입 사용 가능하지만 항체별, 조직별로 다른 고정(fixation) 시간이나 항원노출법(Antigen re-

**Table 2.** Genes related with patterning of organ of Corti

Deleted gene	Length of cochlea duct	Cochlear phenotype			Genetic character	Ref.
		Base	Middle	Apex		
<b>Notch related</b>						
Jag2 <sup>-/-</sup>	Normal		4 rows of OHC, 2 rows of IHC		Deletion	Landford et al. (1999)
Lfng <sup>-/-</sup>	Normal		Normal		Deletion	Zhang et al. (2000)
Jag2 <sup>-/-</sup> ; Lfng <sup>-/-</sup>	Normal		4 rows of OHC, 1 rows of IHC		Double Knockout	Zhang et al. (2000)
Httu <sup>+/-</sup>	Normal	Two rows of OHC, extra and atypical IHC	Two rows of OHC, extra and atypical IHC	Two rows of OHC, extra and atypical IHC	Missense mutation of Jag1	Kiernan et al. (2001)
Cm <sup>+/-</sup>	Normal	Two rows of OHC, extra IHC	Two rows of OHC, extra IHC	4-5 rows of OHCs, extra IHC	Deletion encompassing Jag1	Kiernan et al. (2001)
Hes1 <sup>-/-</sup>	Normal		2 rows of IHC		Deletion	Zine et al. (2001)
Hes5 <sup>-/-</sup>	Normal		4 rows of OHC		Deletion	Zine et al. (2001)
Dll1 <sup>-/-</sup>	Normal	4 rows of OHC, increased IHC	4 rows of OHC, increased IHC	Increased HC	Conditional deletion	Brooker et al. (2006)
Jag1 <sup>-/-</sup>	Normal	OHC missing, disorganized rows and islets of IHC	OHC missing, disorganized rows and islets of IHC	Reduced HC	Conditional deletion	Brooker et al. (2006)
<b>Convergent extension and PCP pathway related</b>						
Vangl2 <sup>-/-</sup>	Short	Normal in rows of OHC and IHC	Increased HC toward apex	> 4 rows of OHC, > 2 rows of IHC	Deletion	Montcouquiol et al. (2003)
Scrb1 <sup>-/-</sup>	Not specified		Mis-oriented 2nd, 3rd rows of OHC		Deletion	Montcouquiol et al. (2003)
Dvl1 <sup>-/-</sup> ; Dvl2 <sup>-/-</sup>	Short	Normal in rows of OHC and IHC	Normal in rows of OHC and IHC	Increased OHC	Double deletion	Wang et al. (2003)
Wnt5a <sup>-/-</sup>	Short	4 rows of OHC		4-5 rows of OHC	Deletion	Qian et al. (2007)
Myo2 <sup>-/-</sup>	Short	> 2 rows of pillar cells	> 2 rows of pillar cells	> 2 rows of pillar cells	Conditional deletion of Myh10	Yamamoto et al. (2009)
<b>Fgfs related</b>						
Fgfr1 <sup>n7/n7</sup>	Normal	2 rows of OHC	2 rows of OHC	2 rows of OHC	Hypomorphic conditional deletion	Pirvola et al. (2002)
Fgfr1 <sup>-/-</sup>	Normal	OHC patches, Sparse IHC, Pillar cell Cluster	OHC patches, Sparse IHC, Pillar cell Cluster	OHC patches, Sparse IHC, Pillar cell Cluster	Conditional deletion	Pirvola et al. (2002)
Fgf9 <sup>-/-</sup>	Normal	Normal	Normal	Normal	Deletion	Pirvola et al. (2004)
Fgf3 <sup>-/-</sup>	Normal	4 rows of OHC	4 rows of OHC	4 rows of OHC	Deletion	Puligilla et al. (2007)
		rack of pillar cell differentiation	rack of pillar cell differentiation	rack of pillar cell differentiation		Hayashi et al. (2007)
Fgf8 <sup>-/-</sup>	Normal	Rack of pillar cell differentiation	Rack of pillar cell differentiation	Rack of pillar cell differentiation	Conditional deletion	Jacques et al. (2007)
Fgf20	Cochlear Explants		Decreased hair cells and supporting cells		Blocking Ab	Hayashi et al. (2008)
<b>Genes not included above criteria</b>						
Foxg1 <sup>-/-</sup>	Short	4 rows of OHC	5-6 rows of OHC, 2-3 rows of IHC	To 6 rows of OHC, to 3 rows of IHC	Deletion	Pauley et al. (2006)
Gli3 <sup>Δ699/699</sup>	Short	At least one extra rows of OHC	To 7 extra rows of OHC	At least one extra rows of OHC	Truncated deletion	Driver et al. (2008)
Shh <sup>-/-</sup>	Short	4 rows of OHC, increased IHC	Extra rows to 7 of OHC, 2 rows of IHC	4 rows of OHC, 2 rows of IHC	Conditional deletion	Wu et al. (unpublished)

trieval method), 백그라운드(background noise) 문제 등 좋은 시그널을 얻기 위해 많은 시간과 노력을 요하며, 또한 사용가능한 항체의 수에 제한이 있고 비용 또한 비싼 단점이 있다. 반면 *in situ* hybridization은 RNA probe의 종류에 관계없이 일정한 조건에서 비교적 신뢰성 있는 시그널을 보여주며 백그라운드가 적고 목표유전자(target gene)의 서열(sequence)만 안다면 저렴한 가격에 최소한의 노력으로 RNA probe를 재생산할 수가 있어 발생학 분야에서 없어서는 안될 강력한 실험기법 중의 하나이다. 특히 태어나기 전의 마우스 태아는 측두골의 골화가 아직 진행되지 않아 탈석회화(decalcification)의 과정이 필요없이 *in situ* hybridization을 하기에 아주 적당하다.

내이의 발달을 보기 위해 검체로는 주로 어류(Zebra fish), 조류(chicken), 마우스가 주로 사용되며, Zebra fish와 chicken의 경우 morpholino와 plasmid electrophoration 같은 유전자변형기법을 이용하면 유전자를 쉽게 조작(manipulation)할 수 있고 그 결과를 수주 내에 확인할 수 있다는 장점이 있다. Zebra fish와 chicken에서 얻어진 결과들은 *in vitro* 실험 결과보다 더 신뢰할만하고 우수하지만 실제로 인간에게 적용되기에 위해서는 마우스에서 먼저 증명이 되어야만 한다. 마우스는 사람과 유사한 유전자구조와 내이구조를 갖고 있어 사람에서 불가능한 유전자 조작 실험이 가능하며 두개 이상의 유전자이상을 가지고 있는 복합변형유전자마우스(compound mutant mouse)를 이용하면 유전자의 결손으로 인한 표현형의 구제(rescue) 가능여부까지 시험할 수 있어, 사람에게 유전자치료를 시행하기에 앞서 행하는 마우스모델을 이용한 구제(rescue) 실험은 임상적으로도 큰 의미를 지닌다. 마우스를 이용한 실험기법으로는 유전자변형마우스(mutant mouse), 와우배양체(cochlear explant), 임신중 태아수술 등이 있다.

유전자변형마우스(mutant mouse)에는 크게 transgenic, knockout, conditional knockout 마우스로 나눌 수 있으며 transgenic 마우스는 특정 promotor에 의해 발현되는 유전자 construct을 genomic DNA에 무작위적(random)으로 삽입(insertion)시켜 유전자의 과잉발현(overexpression)이나 이소발현(ectopic expression)을 보고자 할 때 사용된다. Knockout 마우스는 일반적으로 특정유전자가 결손되어 있는 마우스를 지칭하며, 만들어지는 방법에 따라 simple knockout, knock-in, ENU(ethyl-nitrosourea), gene-trap 마우스 등으로 나눌 수 있다. Knock-in 마우스는 어떤유전자를 promoter를 남기고 제거한 다음 그 자리에 cre나 LacZ같은 다른 유전자를 삽입한 마우스이다. ENU 마우스는 alkylating agent를 사용하여 random

mized point mutation을 일으켜 생성되는 마우스이며, gene-trap 마우스는 gene trap vector를 무작위적으로 넣어서 만들어지는 마우스로 gene trap vector가 삽입된 부위가 추적가능하다는 점이 ENU 마우스와는 다른 점이다. 생존에 필수적인 유전자 즉, 심장이나 혈관 등에서 발현되는 유전자들이 제거될 경우 내이가 발생하기도 전인 태생(embryonic day: E) 11.5일 이전에 죽기 때문에 그 유전자가 내이형성에 미치는 영향을 분석하지 못하는 단점이 있다. 이 경우 특정조직에서만 유전자가 제거되는 conditional knockout 마우스를 이용하면 분석이 가능해진다. Conditional knockout 마우스는 특정 조직에서 발현되는 유전자의 promotor에 의해 cre recombinase가 발현되도록 만든 knock-in 마우스와, 목표유전자(target gene)의 양측에 lox 유전자를 붙인 마우스와 교배하여 cre-lox recombination으로 목표유전자를 제거함으로써 만들어진다. 주로 Foxg1-cre나 Pax2-cre 마우스가 내이 conditional knockout 마우스를 만들 때 사용되어진다. 예를 들면 Foxg1<sup>2</sup>의 promotor에 cre가 발현되는 마우스(Foxg1<sup>cre/+</sup>)와 Bmp2<sup>+/-</sup> 마우스를 교배하여 Foxg1<sup>cre/+</sup>; Bmp2<sup>+/-</sup> compound mutant 마우스를 만든 다음 이를 다시 Bmp2<sup>lox/lox</sup> 마우스와 교배하여 나오는 Foxg1<sup>cre/+</sup>; Bmp2<sup>lox/-</sup> 유전형을 가지는 마우스가, 내이에서만 Bmp2가 제거된 conditional knockout 마우스이다(Fig. 1). Bmp2 knockout 마우스는 심장의 이상으로 E9.5경에 자궁 내에서 죽으나 conditional knockout 마우스는 태어날 때까지 생존할 수 있어 Bmp2가 제거된 내이의 상태를 분석하는 것이 가능해진다.<sup>3)</sup>

와우배양체(cochlear explant)는 E13.5에 와우(cochlea)를 분리하여 플레이트에 배양하는 방법으로 유모세포와 관련된 유전자조작을 쉽게 할 수 있으며 유모세포에 영향을 미치는 다양한 약물의 효과도 빠른 시일내에 알 수 있어 최근에 각광받는 *in vitro* 실험 기법으로 Matthew Kelley 등이 주로 사용하고 보고하였다.<sup>4)</sup> 마우스 임신중 태아

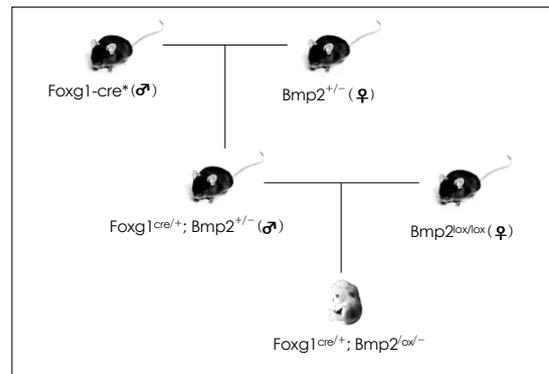


Fig. 1. Pedigree to produce Bmp2 conditional knockout mouse.

수술은 John Brigande에 의해 소개된 방법으로 마우스 자궁내 태아내이에 plasmid electrophoration을 시행하여 유전자 조작을 하는 방법으로 인간의 선천성기형에 대한 유전자 치료에 한걸음 더 접근했다는 평가를 받고 있다.<sup>5)</sup> 그외 귀의 신경분포(innervation)을 추적할 수 있는 lipophilic dye tracing 기법이 있으며 Bernd Fritzsche에 의해 주로 사용되어 유전자변형마우스에서 신경분포의 이상에 대한 많은 정보를 얻을 수 있게 되었다.<sup>6)</sup>

### 정상 세반고리관의 발생

마우스는 평균적으로 E19.5째에 출생하며 중요한 내이 구조물은 E11.5에서 E13.5 사이에 형성된다. 마우스 내이는 이관(otic placode, E8.5)이라고 불리는 외배엽의 두꺼워진 상피세포로부터 발생하여, 점차 안쪽으로 함몰되어 이배(otic cup, E9.5)라는 컵 모양의 구조를 이룬 다음 피부 외배엽 상피세포로부터 완전히 분리되어 독립적인 이낭(otocyst, E10.5)을 형성한다.<sup>7)</sup> 태생 11.5일에는 이낭의 내측(medial)에 등측(dorsal)으로 뺀 내림프관(endolymphatic duct)이 뚜렷하게 관찰되며 이낭의 배측(ventral)으로는 원시와우관(cochlear anlage)이 아래로 자라 내려간다. 이 시기에 이낭의 등측(dorsal)으로는 수직주머니(vertical pouch)와 평형주머니(horizontal pouch)가 형성되는데 수직주머니는 앞반고리관(anterior semicircular canal, SCC)과 후반고리관(posterior SCC)으로 분화되고, 평형주머니는 외측반고리관(lateral SCC)으로 발생한다. E11.75에는 관주머니(canal pouch)가 편평해지면서 서로 마주보는 관판(canal plate)을 형성하는데, E12에는 이들 두개의 상피세포층이 가운데서 서로 만나 한층의 융합판(fusion plate)을 형성한다(Fig. 2). 이때 이낭의 외측에 있는 세포층의 기저막(basement membrane)이 먼저 소실되며 맞닿은 두층의 세포들은 상호삽입(intercalated)되어 한층의 상피세포층을 이룬 후에 반고리관을 형성하는 가장자리를 남기고는 점차 사라진다.<sup>8)</sup> 이 과정은 앞반고리관에서 먼저 시작되어 후반고리관 그리고 외측반고리관 순으로 진행된다. E13.5에는 성인형태의 완성된 세반고리관이 관찰되며 그 이후엔 크기성장만이 진행된다.

### 세반고리관 형성의 기전에 대한 세 가지 가설

E11.5일에서 13.5일 사이에 반고리관 형성을 위한 이낭의 형태학적인 변화는 관판의 함몰(indentation of canal plate), 융합(fusion of two apposing epithelial layers), 그리고 융합판 세포의 사라짐(clearing of fusion plate cells)의 세 단계로 이루어진다(Fig. 2).<sup>8)</sup> E11.5일에 앞관판

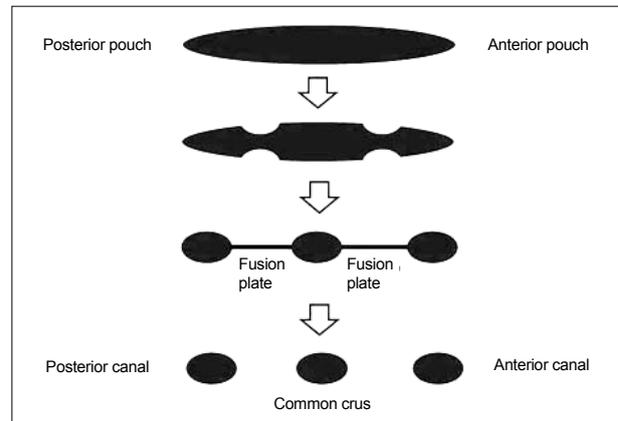


Fig. 2. Schematic diagram showing the sequence of semicircular canal formation.

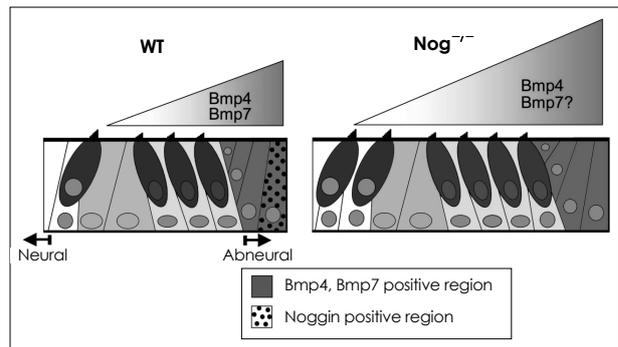
(anterior canal plate)의 함몰이 시작되어 두개의 마주보는 상피층들이 가운데서 서로 만나게 되는데 이러한 형태의 변화는 다른 기관의 발달, 즉 심장의 형성(endocardial cushion formation)이나 신경관이 닫힐 때(closure of neural tube), 그리고 구개(palate)의 형성 때도 마찬가지로 관찰되는 현상이다.<sup>9-11)</sup> 이들 조직에서는 hyaluronan의 생성이 간여하는 것으로 생각되며, 기저막의 소실(disruption of basal lamina)과 상피세포의 재배열(epithelial rearrangement)이 함께 일어나는 것으로 보고되어 있다. 양서류(Xenopus)에서 hyaluronidase가 이낭에 주입될 경우 관판의 함몰이 소실되는 것으로 보아 국소적이고 비대칭적으로 축적된 hyaluronan이 관판 함몰의 주된 기전으로 생각되어진다.<sup>12)</sup> 실제로 마우스에서 기저막(basement membrane, BM)의 소실과 함께 많은 양의 hyaluronan이 태생 E12.5 부근에 합성되는 것으로 보고되어 있어 hyaluronan의 비대칭적 생산이 관판 함몰의 주된 기전으로 생각된다.<sup>13)</sup> 보다 확실한 분자생물학적인 증거를 얻기위해서는 hyaluronan synthetase를 만드는 데 관여하는 Has1-3 유전자의 발현을 E11.5 이낭(otocyst)에서 보는 것이 도움이 될 것이다.<sup>14)</sup> 앞관판의 중심부가 함몰되기 시작할 때 관판 외측의 기저막(BM)이 먼저 붕괴되는데, 특히하게도 융합판을 형성할 때까지도 관판 내측의 기저막(BM)은 그대로 유지된다(Martin and Swanson, 1993). 이러한 비대칭적인 기저막의 붕괴는 융합판세포의 운명(fate)과 밀접히 관련되어 있는 것으로 보인다.

융합판(fusion plate)을 이루는 단층의 세포들이 어떻게 제거되는지에 대해서는 사람이나 마우스에서 아직 확실하게 알려져 있지 않으며 이들 상피세포들의 운명에 대해서는 세포고사(programmed cell death), 중간엽세포로 전환(transformation into mesenchymal cells), 반고리관

형성에 참여(recruited back into a canal) 등의 세 가지의 가설이 존재한다. 양서류(Xenopus), 조류(avian), Zebrafish에서는 포유류와 매우 비슷한 형태의 세반고리관이 존재하며 융합관세포가 사라질때 많은 TUNEL 양성세포가 관찰된다.<sup>12,15,16</sup> 하지만 마우스와 사람에서는 여러 시도에도 불구하고 TUNEL 양성세포가 융합관세포 부위에서 발견되지 않으므로 세포고사(apoptosis) 외에 다른 기전이 더 관여할 것으로 생각된다. 상피세포-중간엽전환(Epithelial-to-mesenchymal transformation, EMT)은 내이상피세포가 중간엽세포들로 전환분화되는 것을 의미하는데, 실제로 신경능선세포(neural crest cell)들은 외엽세포(ectoderm)에서 발생하여 중간엽세포(mesoderm)로 분화되기도 하므로 마우스와 사람에서 융합관세포의 사라짐을 설명하기에 매력적인 가설이다. 마주보는 두 개의 상피세포층(epithelial layers)이 융합되기 전에 외측 상피층의 기저막 붕괴가 일어나는 현상은 EMT의 가능성을 강하게 암시한다. 실제로 EMT가 조류에서 부분적으로 융합세포의 사라짐에 관여함이 분자생물학적으로 보고된 바 있다.<sup>17</sup> 1993년에 Martin과 Swanson은 융합관세포들이 바깥쪽으로 이동하여 세반고리관 형성에 관여한다는 가설을 제시하였는데, 이들은 Monastral Blue(MB)를 태생 11.5일에 이닝에 주사하여 1일간 배양한 다음 대부분의 MB 염색 세포들이 흡수영역(resorption domain)이나 중간엽(mesoderm)보다는 세반고리관 쪽에서 관찰되었음을 보고하였다.<sup>8</sup> 이 결과는 융합관 형성 세포들이 세포고사나 EMT보다는 세반고리관 쪽으로 이동하여 세반고리관 형성에 참여함을 시사한다. 위에서 제시한 세 가지의 가설들은 결론을 짓기에는 아직 분자생물학적인 증거가 부족하다. 보다 확실한 결론을 내리기 위해서는 흡수대(resorption domain)에 발현되는 유전자인 Netrin1-cre+와 ROSA 마우스의 교배를 통해 얻어지는 reporter 마우스를 이용한 세포추적(fate mapping) 연구가 필요하다. 이 reporter 마우스에서는 한번이라도 Netrin1을 발현한 세포는 계속해서 LacZ를 발현하므로 흡수영역대(resorption domain)에서 LacZ를 발현하기 시작한 세포들의 이동경로를 추적하기만 하면 융합관세포 사라짐의 기전을 알 수 있을 것이다.

**마우스 코티기관의 정상 발생과 Bone Morphogenic Protein**

포유동물의 코티기관(organs of Corti)은 1열(row)의 내유모세포(IHC)와 3열의 외유모세포(OHC), 그리고 pillar cell이나 Deiters' cell 같은 여러 종류의 특성화된 지지세포로 구성된다. 코티기관은 신경외측(aneural side)으로 Hensen's and Claudius' cells가 stria vascularis와 접하고



**Fig. 3.** The expression pattern of Bmp4/7 and Noggin during the development of organ of Corti. Bmp4 /7 are expressed in abneural side of organ of Corti making a gradient. The expression domain of Noggin is overlapped with Bmp domain. In *Nog<sup>-/-</sup>*, the number of hair cell row is increased, maybe due to increased activity of Bmps.

있으며 Bmp4와 Bmp7, 그리고 Noggin(Nog)은 이 부위에서 강하게 발현(expression)이 된다(Fig. 3). 와우(cochlea)는 E10.75경에 이닝(otocyst)의 배측(ventral side)에서 나타나기 시작하여, E12.5경에 전구감각세포대(prosensory domain)를 형성하고, 그 안에 있는 세포들은 와우첨부(apex)부터 기저부(base)쪽으로 점차 세포주기(cell cycle)에서 빠져나가기 시작하면서 p27Kip1을 발현한다. 와우첨부(apex)부터 시작된 p27Kip1의 발현 wave가 와우기저부(base)에 도달하면 Math1이 와우기저부(base)에서 발현되기 시작하며, 그 또한 와우첨부(apex)로 이동하는 wave 형태의 발현양상을 보여준다.<sup>18</sup> 전구감각세포대(prosensory domain)에 있는 여러 세포들은 Math1과 p27Kip1 외에도 다양한 유전적인 분화와 상호작용을 통하여 코티기관을 형성하게 된다.<sup>19,20</sup>

Bone morphogenetic protein(Bmp)은 세포에서 만들어져서 세포 외로 분비되어 작용하는 신호단백(excretory protein)이며 사지, 심장, 신장, 뇌, 눈 등 여러 기관의 형성에 중요한 역할을 한다. Bmp는 Bmp 특이 수용체에 결합함으로써 세포질에 존재하는 Smad 1/5/8단백질을 인산화(phosphorylation)시키고 Smad4와 결합한 후 핵으로 이동하여 Bmp 목표유전자(target gene)를 활성화시키거나 억제한다.<sup>21</sup> Bmp의 활성도는 Noggin and Chordin 같은 Bmp 길항단백질(antagonist)의 양에 따라 조절되는 것으로 알려져 있으며,<sup>22</sup> Bmp 단백질과 직접 결합하거나 Bmp가 수용체에 결합하는 것을 방해하는 것으로 알려져 있다.<sup>23,24</sup> 실제로 Noggin knockout(*Nog<sup>-/-</sup>*) 마우스는 Bmp기능의 증강(gain-of-function)이라는 측면에서 Bmp를 연구하는 동물모델로서 널리 사용되어지고 있으며,<sup>25,26</sup> 중이의 발생 연구에서 *Nog* heterozygote 마우스가 이소골 형성시 새궁(branchial arch)의 분리장애(failure of separation)로

선천성 등골고정(stapes fixation)이 생길 수 있음이 보고된 바 있다.<sup>27)</sup>

### 수렴확장(Convergent extension)과 평면세포극성(planar cell polarity)

와우관은 E10.75경에 이남의 배측으로부터 나타나기 시작하여, 그 길이가 길어질수록 나선구조를 형성하기 시작하여 E13.5에 1/2회전, 그리고 E16.5에 1과 3/4회전의 구조를 갖게된다.<sup>7)</sup> 와우관의 길이성장과 코티기관의 형성(patterning)은 ‘수렴확장’(convergent extension)의 과정 즉, 길이 축으로는 길어지고 그 폭은 좁아지는 과정을 통하여 만들어진다고 생각된다.<sup>28-31)</sup> 그리하여 전구감각 세포대(prosensory domain)는 E13.5에 6~7층 세포로 구성되어다가 점차 얇아져서 최종적으로 2개의 세포 층을 가진 코티기관으로 성장한다.<sup>31)</sup> 한편 평면세포극성(planar cell polarity)을 결정하는데 관여하는 유전자들, 예를들면 Vangl2, Scrb1, Dvl, Wnt5 등이 와우관의 길이성장과 유모세포의 배열에도 영향을 미친다고 알려져있다(Table 2).<sup>31-34)</sup> 이러한 유전자들에 결함이 있을 경우에는 유모세포 섬모의 배열이 불규칙해질뿐만 아니라 와우첨부에 conversion extension을 하지 못한 유모세포가 많이 모여있는 짧은 와우관이 형성된다.<sup>35)</sup>

### 코티기관의 형성에 있어 Noggin과 Bmp의 역할

Noggin은 Bmp와 마찬가지로 세포외로 분비되어 Bmp나 Bmp 수용체에 경쟁적으로 결합하여 Bmp의 활동을 억제하는 신호단백이다. *Nog<sup>-/-</sup>* 마우스의 와우관(cochlear duct)은 짧아져 있지만 평면세포극성(planar cell polarity)은 정상이며,<sup>3)</sup> *Nog<sup>-/-</sup>* 마우스의 짧은 와우관은 발생초기 후뇌(hindbrain)와 이남(otocyst)의 부정배열(misalignment) 때문인 것으로 알려져 있다.<sup>36)</sup> Noggin은 hindbrain에서 발생초기에 강하게 발현되므로, hindbrain에서 분비되어 내이에 영향을 미치는 신호전달단백(signaling molecule)의 발현에 영향을 줄 것으로 생각되며 hindbrain와 otocyst의 부정배열(misalignment)도 이에 기인하는 것으로 생각된다. 와우의 성장장애를 보이나 평면세포극성(planar cell polarity)은 정상을 보이는 경우는 Noggin 마우스 외에 *Gli3* and *Lmx1a* knockout 마우스 등이 있다.<sup>4,37)</sup>

*Nog<sup>-/-</sup>* 마우스에서는 외유모세포(OHC)와 내유모세포(IHC)의 증가와 함께 와우관의 길이가 짧아져있으며 상대적으로 내유모세포(IHC)가 더 많이 증가되어있다(Fig. 3).<sup>3)</sup> 일반적으로 와우 길이성장을 보이는 즉 수렴확장(convergent extension)장애를 보이는 유전자변형마우스들은 와우

첨부(apex)에서의 외유모세포(OHC)의 증가를 특징으로 한다. *Nog<sup>-/-</sup>* 마우스에서 보이는 유모세포 열(row)의 증가는 와우관의 길이성장의 장애 때문일 수 있지만 내유모세포(IHC)가 중간회전(middle)과 첨부회전(apex)에서 외유모세포(OHC)보다 더 증가하는 경향을 보이는 것은 길이성장의 장애만으로 쉽게 설명되지 못하는 부분이 있다. 이로부터 유추해보면 Noggin은 코티기관의 방사상모양형성(radial patterning) 즉, 유모세포(OHC & IHC) 열(row)의 개수를 결정하는 데 관여함을 알 수 있다. 이것은 와우에서 Nog과 Bmps의 발현양상과 관련과도 밀접한 관련이 있는데 *Bmp4*, *Bmp7*, *Nog*의 유전자 발현대(expression domain)는 코티기관의 신경외측(abneural side)에 위치해있으며 *Bmp2*만이 유모세포에서 발현된다.<sup>3)</sup>

내이 유모세포 성장에 있어 Bmp와 Noggin의 역할에 대한 몇몇 *in vitro* 연구들이 있으나 흥미롭게도 이들 중에는 서로 정반대의 결과를 내는 경우도 있다. 몇몇 보고에서 *Bmp4*는 마우스 와우배양(cochlear explant)이나 조류(chicken)의 이남세포배양(cultures of dissociated otic epithelial cells)에서 유모세포 분화(differentiation of hair cell)를 유도(induction)한다고 하였다.<sup>38,39)</sup> 하지만 비슷한 조건에서 시행한 연구가 정반대의 결과를 보여 조류(chicken) 이남세포배양에서 오히려 Noggin에 의해서 유모세포로의 분화가 유도되고 Bmp에 의해서는 억제된 적이 있었다.<sup>40)</sup> *Bmp4*는 기존 논문들에서 sensory fate와 non-sensory fates를 둘 다 촉진시킨다고 알려져 있으므로,<sup>41)</sup> 외부에서 주어진 *Bmp4*가 non-sensory fate를 촉진하여 유모세포의 소실(loss)을 유도할 가능성은 존재한다. 하지만 조류(Chicken) 이남세포배양실험의 결과가 서로 배치되는 반면,<sup>38)</sup> 와우 explant 실험 결과는 Bmps가 유모세포 형성을 촉진한다는 것을 확실하게 보여준다.<sup>39)</sup> 이 실험 결과들은 Bmps와 Noggin의 발현대(expression domain)가 서로 인접해있고 *Nog<sup>-/-</sup>* 마우스에서 유모세포의 줄(row)이 증가하는 것은 Bmps와 Noggin이 코티기관의 radial patterning에 관여하기 때문이라는 가정(hypothesis)과 일치한다. 두개의 gain-of-Bmp function 모델인 와우배양(explant)과 *Nog<sup>-/-</sup>* 마우스의 표현형(phenotype)의 차이점은 *Nog<sup>-/-</sup>* 마우스의 경우 내유모세포(IHC)과 외유모세포(OHC)가 다 증가하고, *Bmp4* 처리한 와우배양체(explant)의 경우는 외유모세포(OHC)만 증가한다는 것이다.<sup>39)</sup> Noggin은 정상적으로 E13.5일부터 와우에서 발현되는데 와우배양체(explant)에서 내유모세포(IHC)의 갯수에 변화가 없는 것은 외부에서 *Bmp4*가 주어진 시점에 따른 차이 때문으로 생각된다.

최근의 preliminary report를 보면 Bmp receptor Ia conditional knockout 마우스가 거울구조의 2중으로 된 코티기관(duplicated organ of Corti)을 가지는 것이 보고된 바 있다(T. Ohyama and A.K. Groves; personal communication). 그래서 그 저자들은 코티기관의 발생에 있어 Bmp의 농도경사(gradient)가 가장 중요한 요인이라고 주장하였다. 이러한 Bmp의 농도경사는 Noggin에 의해서도 조절되지만 Bmp receptor knockout 마우스와  $Nog^{-/-}$  마우스의 표현형은 서로 반대가 아니므로 Bmp와 Noggin이 코티기관을 만드는 데는 뭔가 더 복잡한 기전이 있을 것으로 예상된다. Bmps가 와우성장에서 두 가지 역할(dual action)을 한다고 가정을 한다면 이들 두 표현형은 설명될 수 있다. 즉, Bmp의 초기 역할은 Bmp receptor knockout 마우스에서 보이는 것 같이 감각기관분화(sensory organ specification) 억제에 있고, 이와는 반대로  $Nog^{-/-}$  마우스나 Bmp4 treated cochlear explants에서 보이는 유모세포의 증가촉진은 후기 역할이라고 가정한다면 설명은 가능해진다. 이 가설은 Nog의 발현이 태생 중기인 E13.5일까지 와우에서 발견되지 않는다는 사실과도 일치한다.

**유모세포형성과 청각능력에서 Bmp2의 역할**

발생 중인 마우스 코티기관에서는 Bmp2가 외유모세포(OHC)에서 그리고 Bmp4가 Henson's and Claudius' cell에서 강하게 발현된다.<sup>3)</sup> Bmp2와 Bmp4는 Noggin과 Bmp receptor에 붙는데 비슷한 친화력(affinities) 가지고 있다고 알려져있다.<sup>42,43)</sup> 그러므로 배양와우체(cochlear explant)에 Bmp4를 외부에서 넣어줄 때 생기는 외유모세포(OHC) 열의 증가는 Bmp4의 역할이거나 또는 Bmp2의 역할일 가능성이 있다. 와우에서 Bmp2의 발현은 E15.5-P1동안에만 발현되지만 이 시기는 유모세포의 운명(fate)과 갯수를 결정하는 데 중요한 시기이고, 더군다나, 조류(chicken)에서는 마우스와는 달리 유모세포에서 Bmp4가 발현한다는 것을 생각할때 마우스 외유모세포에서 발현되는 Bmp2에 대한 분석은 중요한 가치가 있어 보인다.

하지만 Foxg1-cre 라인을 이용하여 Bmp2를 내이에서 delete 시켰을 때 코티기관의 구조변화는 관찰되지 않았다.<sup>3)</sup> Foxg1-cre; Bmp2<sup>lox/-</sup> 마우스는 태어나자마자 죽기 때문에 기능적인 검사 즉 청력검사를 시행하지 못하였다. 그래서 유모세포에서만 발현되는 Math1의 downstream gene 인 Gfl1-cre를 이용하여 유모세포에서 Bmp2를 제거하였으나 코티기관의 구조변화는 마찬가지로 관찰되지 않았고 또한 생후 3개월에서의 청력검사상 이상 소견도 관찰되지 않았으며 1년간의 추적관찰에서도 조기청력감퇴(premature

presbycusis)가 관찰되지 않았다.<sup>3)</sup> 이상의 결과에서 유추해보면 코티기관의 신경외측(abneural side), 즉, Henson's and Claudius' cells에 발현되는 Bmp4가 유모세포에서 발현되는 Bmp2보다 유모세포 열의 개수를 결정하는 데 있어 중요하다는 것을 알 수 있다. 더군다나 Bmp7<sup>-/-</sup> 마우스는 내이에 이상이 없는 것으로 알려져있고,<sup>44)</sup> Noggin에 대한 친화력도 Bmp2나 Bmp4에 비해 약하다는 사실<sup>43)</sup>은 Bmp4가 코티기관의 유모세포 개수를 결정하는 데 간여하는 유일한 Bmp임을 가리킨다.

**코티기관 형성에서 Fgfs와 Bmps의 관계**

Fgf8, Fgf10 and Fgf20 같은 상당히 많은 종류의 FGF가 코티기관의 발달 중에 발현된다.<sup>45-47)</sup> Fgfr1(Fgf receptor1)의 conditional deletion시 와우관을 따라 감각세포섬(patches of sensory islands)이 발견된다.<sup>48)</sup> Fgf20은 감각세포대(prosensory domain)에 발현되며 Fgfr1을 활성화시키는 주신호전달체(main ligand)으로 알려져있다.<sup>47)</sup> 또한 전구감각세포군(prosensory domain)에 발현되는 Fgfr3(Fgf receptor3)가 제거(deletion)되었을 때는 pillar cells의 소실과 함께 외유모세포(OHC)의 증가가 나타난다.<sup>39,49)</sup> 또한 내유모세포(IHC)에서 분비되는 Fgf8는 Fgfr3을 활성화시키는 주신호전구체(main ligand)로 알려져있다.<sup>45)</sup>

와우형성에 있어 Fgf와 Bmp의 상호작용에 대한 가능성은 Noggin을 외부에서 넣어줄 때 Fgfr3<sup>-/-</sup> 와우배양체(cochlear explant)의 표현형(phenotype)이 회복(rescue)됨을 관찰함으로써 제기되었다.<sup>39)</sup> Fgfr3<sup>-/-</sup> 와우배양체(cochlear explant)는 외유모세포(OHC) 열의 증가를 보이는 데 외부에서 Noggin을 주면 열의 수가 줄어든다. 이것은 증가된 Bmp4의 활성화도가 Fgfr3<sup>-/-</sup> 와우배양체(explant)에서 보이는 늘어난 외유모세포 갯수증가의 원인임을 암시한다. 이 결과는 또한 Fgf가 Bmp와의 상호작용을 통해 외유모세포의 갯수를 정한다는 것을 의미한다.<sup>39)</sup>

다른 조직들에서도 Fgf와 Bmp의 길항작용(antagonistic relationships)은 보고된 바가 있다.<sup>50-52)</sup> Bmp4가 형성하는 농도경사(gradient)는 전구감각세포군(prosensory domain)에 발현되는 Fgf10과 Fgf20이나 외유모세포(IHC)에서 발현되는 Fgf8에 의해 좀 더 세밀한 조정(fine-tuned)을 받을 것으로 생각된다.<sup>45-47)</sup> 하지만 Fgf signaling의 변화가 있는 Fgfr3<sup>-/-</sup>나 Sprouty2<sup>-/-</sup> 마우스 등에서는 오직 외유모세포 열의 갯수만 영향을 받고 내유모세포 열의 변화가 없다는 것은 아직 풀어야할 의문점이다.<sup>39,49,53)</sup> 와우에선 다양한 종류의 Fgf가 발현되므로 잉여기능분담(functional redundancy)이 그 이유 중의 하나로 생각되며,<sup>39,49)</sup>

앞으로의 연구는 Fgf와 Bmp가 어떤 방법으로 각기 다른 유모세포의 운명(fate)을 결정짓는가 하는 것에 맞추어져야 하겠다.

## 결론

위에서 마우스의 세반고리관 형성과 코티기관의 형성에 대해 분자생물학적 측면에서 지금까지 보고된 바를 정리해 보았다. 내이의 발생은 각 단계별로 많은 유전자가 관여하고 있으며 그 유전자의 상호작용은 결코 간단하지 않고 아직도 밝혀지지 않은 부분이 훨씬 더 많다. 현재 우리가 하는 연구는 어떤 특정 유전자의 결손 시에 어떤 관련 유전자의 발현이 저하되는지 또는 어떤 유전자의 발현이 증가하는지를 통해 유전자의 상하관계를 규명(epistasis)하는 단계에 머물러 있으며 앞으로 더 많은 지식의 축적을 필요로 한다. 이러한 난청과 기형을 유발시키는 유전자들에 대한 이해는 현재 답보상태에 있는 줄기세포연구나 유전자 치료 분야에 촉매제 역할을 하리라 기대하며 유전자 중심으로 재편되는 임상환경을 이해하는 데 많은 도움을 줄 것이라 기대한다.

## REFERENCES

- Jeffery N, Spoor F. Prenatal growth and development of the modern human labyrinth. *J Anat* 2004;204(2):71-92.
- Hwang CH, Simeone A, Lai E, Wu DK. Foxg1 is required for proper separation and formation of sensory cristae during inner ear development. *Dev Dyn* 2009;238(11):2725-34.
- Hwang CH, Guo D, Harris MA, Howard O, Mishina Y, Gan L, et al. Role of bone morphogenetic proteins on cochlear hair cell formation: analyses of Noggin and Bmp2 mutant mice. *Dev Dyn* 2010;239(2):505-13.
- Driver EC, Pryor SP, Hill P, Turner J, R  ther U, Biesecker LG, et al. Hedgehog signaling regulates sensory cell formation and auditory function in mice and humans. *J Neurosci* 2008;28(29):7350-8.
- Gubbels SP, Woessner DW, Mitchell JC, Ricci AJ, Brigande JV. Functional auditory hair cells produced in the mammalian cochlea by in utero gene transfer. *Nature* 2008;455(7212):537-41.
- Fritsch B. Development of inner ear afferent connections: forming primary neurons and connecting them to the developing sensory epithelia. *Brain Res Bull* 2003;60(5-6):423-33.
- Morsli H, Choo D, Ryan A, Johnson R, Wu DK. Development of the mouse inner ear and origin of its sensory organs. *J Neurosci* 1998;18(9):3327-35.
- Martin P, Swanson GJ. Descriptive and experimental analysis of the epithelial remodellings that control semicircular canal formation in the developing mouse inner ear. *Dev Biol* 1993;159(2):549-58.
- Schoenwolf GC, Alvarez IS. Roles of neuroepithelial cell rearrangement and division in shaping of the avian neural plate. *Development* 1989;106(3):427-39.
- Kinsella MG, Fitzharris TP. Control of cell migration in atrioventricular pads during chick early heart development: analysis of cushion tissue migration in vitro. *Dev Biol* 1982;91(1):1-10.
- Ferguson MW. Palate development. *Development* 1988;103 Suppl:41-60.
- Haddon CM, Lewis JH. Hyaluronan as a propellant for epithelial movement: the development of semicircular canals in the inner ear of *Xenopus*. *Development* 1991;112(2):541-50.
- McPhee JR, Van de Water TR, Su HX. Hyaluronate production by the inner ear during otic capsule and perilymphatic space formation. *Am J Otolaryngol* 1987;8(5):265-72.
- Tien JY, Spicer AP. Three vertebrate hyaluronan synthases are expressed during mouse development in distinct spatial and temporal patterns. *Dev Dyn* 2005;233(1):130-41.
- Waterman RE, Bell DH. Epithelial fusion during early semicircular canal formation in the embryonic zebrafish, *Brachydanio rerio*. *Anat Rec* 1984;210(1):101-14.
- Fekete DM, Homburger SA, Waring MT, Riedl AE, Garcia LF. Involvement of programmed cell death in morphogenesis of the vertebrate inner ear. *Development* 1997;124(12):2451-61.
- Kobayashi Y, Nakamura H, Funahashi J. Epithelial-mesenchymal transition as a possible mechanism of semicircular canal morphogenesis in chick inner ear. *Tohoku J Exp Med* 2008;215(3):207-17.
- Chen P, Segil N. p27 (Kip1) links cell proliferation to morphogenesis in the developing organ of Corti. *Development* 1999;126(8):1581-90.
- Kelley MW. Cellular commitment and differentiation in the organ of Corti. *Int J Dev Biol* 2007;51(6-7):571-83.
- Doetzlhofer A, Basch ML, Ohshima T, Gessler M, Groves AK, Segil N. Hey2 regulation by FGF provides a Notch-independent mechanism for maintaining pillar cell fate in the organ of Corti. *Dev Cell* 2009;16(1):58-69.
- von Bubnoff A, Cho KW. Intracellular BMP signaling regulation in vertebrates: pathway or network? *Dev Biol* 2001;239(1):1-14.
- Balemans W, Van Hul W. Extracellular regulation of BMP signaling in vertebrates: a cocktail of modulators. *Dev Biol* 2002;250(2):231-50.
- Holley SA, Neul JL, Attisano L, Wrana JL, Sasai Y, O'Connor MB, et al. The *Xenopus* dorsalizing factor noggin ventralizes *Drosophila* embryos by preventing DPP from activating its receptor. *Cell* 1996;86(4):607-17.
- Piccolo S, Sasai Y, Lu B, De Robertis EM. Dorsoventral patterning in *Xenopus*: inhibition of ventral signals by direct binding of chordin to BMP-4. *Cell* 1996;86(4):589-98.
- Davis SW, Camper SA. Noggin regulates Bmp4 activity during pituitary induction. *Dev Biol* 2007;305(1):145-60.
- Brunet LJ, McMahon JA, McMahon AP, Harland RM. Noggin, cartilage morphogenesis, and joint formation in the mammalian skeleton. *Science* 1998;280(5368):1455-7.
- Hwang CH, Wu DK. Noggin heterozygous mice: an animal model for congenital conductive hearing loss in humans. *Hum Mol Genet* 2008;17(6):844-53.
- Keller R. Shaping the vertebrate body plan by polarized embryonic cell movements. *Science* 2002;298(5600):1950-4.
- Yamamoto N, Okano T, Ma X, Adelstein RS, Kelley MW. Myosin II regulates extension, growth and patterning in the mammalian cochlear duct. *Development* 2009;136(12):1977-86.
- McKenzie E, Krupin A, Kelley MW. Cellular growth and rearrangement during the development of the mammalian organ of Corti. *Dev Dyn* 2004;229(4):802-12.
- Wang J, Mark S, Zhang X, Qian D, Yoo SJ, Radde-Gallwitz K, et al. Regulation of polarized extension and planar cell polarity in the cochlea by the vertebrate PCP pathway. *Nat Genet* 2005;37(9):980-5.
- Simons M, Mlodzik M. Planar cell polarity signaling: from fly development to human disease. *Annu Rev Genet* 2008;42:517-40.
- Qian D, Jones C, Rzadzinska A, Mark S, Zhang X, Steel KP, et al. Wnt5a functions in planar cell polarity regulation in mice. *Dev Biol* 2007;306(1):121-33.
- Montcouquiol M, Kelley MW. Planar and vertical signals control cellular differentiation and patterning in the mammalian cochlea. *J Neurosci* 2003;23(28):9469-78.

- 35) Montcouquiol M, Rachel RA, Lanford PJ, Copeland NG, Jenkins NA, Kelley MW. Identification of Vangl2 and Scrb1 as planar polarity genes in mammals. *Nature* 2003;423 (6936) :173-7.
- 36) Bok J, Brunet LJ, Howard O, Burton Q, Wu DK. Role of hindbrain in inner ear morphogenesis: analysis of Noggin knockout mice. *Dev Biol* 2007;311 (1) :69-78.
- 37) Koo SK, Hill JK, Hwang CH, Lin ZS, Millen KJ, Wu DK. Lmx1a maintains proper neurogenic, sensory and non-sensory domains in the mammalian inner ear. *Dev Biol* 2009;333 (1) :14-25.
- 38) Li H, Corrales CE, Wang Z, Zhao Y, Wang Y, Liu H, et al. BMP4 signaling is involved in the generation of inner ear sensory epithelia. *BMC Dev Biol* 2005;5:16.
- 39) Puligilla C, Feng F, Ishikawa K, Bertuzzi S, Dabdoub A, Griffith AJ, et al. Disruption of fibroblast growth factor receptor 3 signaling results in defects in cellular differentiation, neuronal patterning, and hearing impairment. *Dev Dyn* 2007;236 (7) :1905-17.
- 40) Pujades C, Kamaid A, Alsina B, Giraldez F. BMP-signaling regulates the generation of hair-cells. *Dev Biol* 2006;292 (1) :55-67.
- 41) Chang W, Lin Z, Kulesa H, Hebert J, Hogan BL, Wu DK. Bmp4 is essential for the formation of the vestibular apparatus that detects angular head movements. *PLoS Genet* 2008;4 (4) :e1000050.
- 42) Rosen V, Thies RS, Lyons K. Signaling pathways in skeletal formation: a role for BMP receptors. *Ann N Y Acad Sci* 1996;785:59-69.
- 43) Zimmerman LB, De Jesús-Escobar JM, Harland RM. The Spemann organizer signal noggin binds and inactivates bone morphogenetic protein 4. *Cell* 1996;86 (4) :599-606.
- 44) Karsenty G, Luo G, Hofmann C, Bradley A. BMP 7 is required for nephrogenesis, eye development, and skeletal patterning. *Ann N Y Acad Sci* 1996;785:98-107.
- 45) Jacques BE, Montcouquiol ME, Layman EM, Lewandoski M, Kelley MW. Fgf8 induces pillar cell fate and regulates cellular patterning in the mammalian cochlea. *Development* 2007;134 (16) :3021-9.
- 46) Pauley S, Wright TJ, Pirvola U, Ornitz D, Beisel K, Fritzsche B. Expression and function of FGF10 in mammalian inner ear development. *Dev Dyn* 2003;227 (2) :203-15.
- 47) Hayashi T, Ray CA, Bermingham-McDonogh O. Fgf20 is required for sensory epithelial specification in the developing cochlea. *J Neurosci* 2008;28 (23) :5991-9.
- 48) Pirvola U, Ylikoski J, Trokovic R, Hébert JM, McConnell SK, Partanen J. FGFR1 is required for the development of the auditory sensory epithelium. *Neuron* 2002;35 (4) :671-80.
- 49) Hayashi T, Cunningham D, Bermingham-McDonogh O. Loss of Fgfr3 leads to excess hair cell development in the mouse organ of Corti. *Dev Dyn* 2007;236 (2) :525-33.
- 50) Huang J, Dattilo LK, Rajagopal R, Liu Y, Kaartinen V, Mishina Y, et al. FGF-regulated BMP signaling is required for eyelid closure and to specify conjunctival epithelial cell fate. *Development* 2009;136 (10) :1741-50.
- 51) Cushing MC, Mariner PD, Liao JT, Sims EA, Anseth KS. Fibroblast growth factor represses Smad-mediated myofibroblast activation in aortic valvular interstitial cells. *FASEB J* 2008;22 (6) :1769-77.
- 52) Pera EM, Ikeda A, Eivers E, De Robertis EM. Integration of IGF, FGF, and anti-BMP signals via Smad1 phosphorylation in neural induction. *Genes Dev* 2003;17 (24) :3023-8.
- 53) Shim K, Minowada G, Coling DE, Martin GR. Sprouty2, a mouse deafness gene, regulates cell fate decisions in the auditory sensory epithelium by antagonizing FGF signaling. *Dev Cell* 2005;8 (4) :553-64.