

DOI: 10.13376/j.cblls/2025021

文章编号: 1004-0374(2025)02-0206-06

## 鸡与鼠耳蜗毛细胞损伤后再生修复的研究进展

张信文<sup>1,3\*</sup>, 杨思远<sup>1,2</sup>, 江凌玲<sup>2,4</sup>, 白焕菊<sup>2,5</sup>, 曾少举<sup>2\*</sup>

(1 海南科技职业大学医药学院, 海口 571126; 2 北京师范大学基因资源与分子发育北京市重点实验室, 北京 100875; 3 海南师范大学生命科学院, 海口 571158; 4 首都医科大学附属北京天坛医院, 北京 100070; 5 中国人民大学附属中学, 北京 100080)

**摘要:** 耳毒性药物等造成的毛细胞损伤脱落可导致人们的严重听力障碍。研究显示, 在非哺乳动物中, 鸡的胚胎期毛细胞具有一定抵抗耳毒性药物损伤的能力, 出生后毛细胞受损后, 能自我修复到损伤前状态。耳蜗结构、发育及生理功能在哺乳类与非哺乳类间高度保守同源, 找出参与鸡耳蜗毛细胞受损后自我修复基因, 比较这些基因在小鼠耳蜗受损后对应时段中的差异, 通过腺病毒作基因载体, 转染这些差异基因到受损后的鼠耳蜗上皮细胞, 改变它们的表达活性, 可一定程度实现小鼠毛细胞的再生。以上工作为通过基因治疗手段, 提高哺乳动物毛细胞损伤后的再生修复提供了新策略和契机。

**关键词:** 耳蜗损伤; 听感觉上皮; 毛细胞再生; 鸡; 小鼠; 氨基糖苷类抗生素

**中图分类号:** {Q28}; R764.3 **文献标志码:** A

## Progress in the regeneration of cochlear hair cells after damage in chickens and mice

ZHANG Xin-Wen<sup>1,3\*</sup>, YANG Si-Yuan<sup>1,2</sup>, JIANG Ling-Ling<sup>2,4</sup>, BAI Huan-Ju<sup>2,5</sup>, ZENG Shao-Ju<sup>2\*</sup>

(1 College of Pharmacy, Hainan Vocational University of Science and Technology, Haikou 571126, China; 2 Beijing Key Laboratory of Gene Resource and Molecular Development, Beijing Normal University, Beijing 100875, China; 3 College of Life Science, Hainan Normal University, Haikou 571158, China; 4 Beijing Tiantan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100070, China; 5 The High School Affiliated to Renmin University of China, Beijing 100080, China)

**Abstract:** Ototoxic drugs and other damage can cause hair cell apoptosis and loss, resulting in serious deafness. It has been shown that chick hair cells in some embryonic stages are prevented from injury from ototoxic drugs to some degree, whereas hair cells in post-hatching can be regenerated after injury and return to the state before injury. The structure, development and physiological functions of cochlea are highly conserved and homologous between mammals and non-mammals. After the genes involved in the hair cell regeneration after injury are determined in the chick, they are compared with those in the mouse hair cells in the corresponding stages after injury. Some of these genes expressed differently in the chick or mouse are constructed into the adenoviruses, and transfected into epithelium cells in the cochlea of mice after damage by aminoglycoside antibiotic to change their expressing activities. The results indicate that some regenerated cells are obtained in the cochlea of mice after damage. These results provide a new strategy and chance to increase cell proliferation and cell differentiation towards hair cells in the cochlea of mice after damage.

**Key words:** cochlear damage; auditory epithelium; hair cell regeneration; chicken; mouse; aminoglycoside antibiotic

收稿日期: 2024-06-19; 修回日期: 2024-09-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(31860269); 海南省自然科学基金项目(319QN238)

\*通信作者: 张信文, E-mail: zhangxw2844@sina.com; 曾少举, E-mail: sjzeng@bnu.edu.cn

耳毒性药物如氨基糖苷类抗生素 (aminoglycosides, AmAn) 以及一些治疗肿瘤类药物、环境噪声、病毒或细菌感染 (突发性耳聋)、年龄等均可导致毛细胞死亡, 引起人们听力下降或完全丧失。据世界卫生组织报告, 全球目前有 4 亿多耳聋性残疾 (低于 35 dB), 其中成年人约 4.32 亿, 儿童约 3 400 万, 到 2050 年将有超过 7 亿人出现听力障碍<sup>[1]</sup>。此外, 约 80% 以上的 80 岁老人都不同程度出现有听力问题。严重的听力损失阻碍了正常的日常交际与沟通, 给患者带来较大的生活困扰, 严重影响患者的身心健康<sup>[2]</sup>, 听力产生始于耳蜗内听觉毛细胞机械振动—电转换过程。当声波传至内耳, 引发耳蜗内淋巴液的振动, 使听觉毛细胞的顶端纤毛弯曲, 机械门控离子通道开放, 释放胞内囊泡中的神经递质, 引发与毛细胞连接的神经突触产生神经电信号, 经听觉神经向中枢传送, 这些电信号最后到达听觉脑皮层<sup>[3]</sup>。哺乳动物中, 听觉毛细胞以及听觉神经元均不具备再生能力, 一旦受到严重损伤, 就可能造成永久性的听力障碍<sup>[4]</sup>。相比之下, 鸟类耳蜗毛细胞即使出现大面积受损脱落, 毛细胞也能在短时间内 (几天~10 多天) 恢复, 听力几乎不受影响<sup>[5]</sup>。因此, 如果将鸡毛细胞损伤后修复方式成功模拟并应用于哺乳动物耳蜗毛细胞, 就可望解决人毛细胞损伤后不能修复, 并导致严重听力障碍的问题<sup>[6-7]</sup>。这方面的研究不仅有助于深入揭示非哺乳类与哺乳动物之间毛细胞再生差异的机制, 还可解决上面提到的人类正面对的毛细胞受损导致的听力障碍<sup>[8-9]</sup>。

由于耳蜗结构、发育及生理功能在哺乳类与非哺乳类间高度保守并同源<sup>[10-13]</sup>, 找出参与鸡耳蜗毛细胞受损后自我修复基因后, 比较这些基因在小鼠耳蜗受损后对应时段中的表达差异, 将这些基因构建到腺病毒载体中, 然后转染到受损后的鼠耳蜗上皮细胞, 改变它们的表达活性。结果发现可一定程度实现小鼠毛细胞的再生。以上工作为通过基因治疗手段, 提高哺乳动物毛细胞损伤后的再生修复提供了新策略和契机<sup>[6-7, 14]</sup>。本文旨在总结比较鸟类 (以鸡为代表) 与哺乳动物 (以小鼠为例) 在毛细胞损伤后, 毛细胞再生修复差异, 以及相关研究进展, 分析目前哺乳动物内耳毛细胞再生治疗的前景以及所面临的问题。

## 1 鸡耳蜗毛细胞损伤后再生的研究进展

鸡仅有一块听小骨, 耳蜗呈短而弯曲的棒状, 主要部分称听觉感受器——基底乳突 (basilar papilla,

BP), 与人的耳蜗柯蒂氏器 (organ of corti) 高度同源。鸡 BP 上覆盖着毛细胞 (hair cell, HC) 和支持细胞 (supporting cells, SCs), 毛细胞与支持细胞相间排列于感觉上皮层, 支持细胞为毛细胞提供营养和支持。小鸡的毛细胞损伤后会再生和修复, 是由于部分支持细胞具有干细胞特征, 一旦毛细胞受到损伤, 支持细胞通过两种方式再生出毛细胞: 一种方式为有丝分裂, 支持细胞在基因的调控下重新进入细胞分裂周期, 一个形成毛细胞, 另一个仍然为支持细胞; 另一种为转分化, 即毛细胞损伤脱落刺激周边支持细胞, 直接向感觉上皮表面迁移并转分化成毛细胞<sup>[15]</sup>。通过有丝分裂再生毛细胞的方式主要发生在有较高形态的毛细胞所在区域, 一般发生在毛细胞受损脱落几天后; 而转分化再生毛细胞则主要发生在短毛细胞所在的区域, 一般始于毛细胞损伤脱落后 24 h 内<sup>[16]</sup>。支持细胞在耳蜗上皮细胞神经侧区域比在非神经侧更密集, 前者支持细胞与毛细胞的比例明显更高<sup>[17]</sup>, 支持细胞密度是否与毛细胞再生有关, 该问题仍有待确定。

### 1.1 E12~E14鸡胚毛细胞免受抗生素药物的损伤

不当使用氨基糖苷类抗生素治疗疾病时可导致胎儿和出生后儿童致聋, 这类抗生素包括庆大霉素、链霉素、新霉素、卡那霉素等。该问题目前已经受到许多临床医生的关注, 严防这类药物对人听觉毛细胞产生不可逆转的损伤, 导致严重的听力障碍<sup>[8, 14]</sup>。有趣的是, 与哺乳动物包括人不同, 鸡胚孵化期 (E12 和 E14) 加入庆大霉素或链霉素, 内耳毛细胞可以免受这类药物的损伤<sup>[18]</sup>。在鸡胚 E12 和 E14 卵黄囊内, 注射庆大霉素或链霉素 (75、150 或 250 mg/kg 蛋重), 或用含 78  $\mu\text{mol/L}$  庆大霉素或链霉素的培养基, 孵育离体鸡胚耳蜗。再用德克萨斯红标记的庆大霉素 (gentamicin-conjugated Texas red, GTTR) 追踪抗生素进入毛细胞的路径 (毛细胞能摄取这种标记的抗生素, 支持细胞却不摄取<sup>[6]</sup>)。结果发现: 抗生素处理 2 d 后, 体内外两种损伤实验均观察到 E12 毛细胞没有吸收这两种抗生素, E14 毛细胞内仅有微弱的标记, 但毛细胞没有受到损伤。这说明 E12~E14 鸡胚耳蜗毛细胞可以免受庆大霉素或链霉素损伤, 具有自我保护功能<sup>[18]</sup>。

氨基糖苷类抗生素是一种水溶性的多聚阳离子复合物, 可通过耳蜗毛细胞上存在的一种机械转导通道 (mechanotransducer channel, MET) 进入毛细胞<sup>[19]</sup>。该通道位于外毛细胞静纤毛的顶端, 是一个非选择性的阳离子通道, 直径大约 1.25 nm, 比

氨基糖苷类抗生素分子的直径大,是抗生素药物或声波传导导致 $K^+$ 进入毛细胞的主要途径<sup>[20]</sup>。机械转导通道在鸡胚E11开始组装<sup>[21]</sup>,在E12可以通过细胞膜片钳技术,检测到内向和外向 $K^+$ 电流,鸡胚E12毛细胞纤毛可以被鬼笔环肽标记,但是静纤毛的结构需要继续发育,才能表现出成熟形态。E16毛细胞对声音频率表现出选择性应答,机械转导通道逐渐发育成熟<sup>[19-21]</sup>。用德克萨斯红标记的庆大霉素追踪药物进入毛细胞的全过程,在E12时,毛细胞静纤毛顶端最先出现少量的德克萨斯红标记的庆大霉素,在接下来的几个小时里,荧光标记逐渐进入细胞,然后与线粒体结合,导致线粒体内细胞色素C释放,破坏了线粒体的供能过程,使毛细胞走向凋亡<sup>[18-19]</sup>。由于早期鸡胚毛细胞的机械转导通道尚未发育好,中期发育程度也比较低,摄取药物的量很少,达不到破坏毛细胞的浓度,可能是E12~E14鸡胚耳蜗毛细胞免受庆大霉素或链霉素损伤的原因<sup>[6,18]</sup>。

### 1.2 抗生素药物损伤E16及后期鸡胚耳蜗毛细胞

为了观察孵化晚期鸡胚内耳毛细胞受到链霉素或庆大霉素损伤情况,在鸡胚卵黄囊内,注射不同浓度庆大霉素或链霉素(75、150或250 mg/kg 蛋重)。结果发现随着抗生素浓度逐渐升高,鸡胚孵化率显著降低。使用含德克萨斯红标记的庆大霉素培养孵化晚期的鸡胚内耳,发现鸡胚从E16开始不断增加摄入抗生素的量,毛细胞的损伤程度加大。虽然E16和E18毛细胞出现损伤,但除基底乳突近端损伤严重外,中端和远端还有许多存活的毛细胞。从E16到E18德克萨斯红荧光强度迅速增强,近端和非神经侧的毛细胞中的荧光强度显著高于远端和神经侧,荧光强度达到上限,毛细胞内有大量被德克萨斯红标记的庆大霉素,孵化晚期近端毛细胞已受到严重的损伤,但停止用药后,毛细胞开始再生和修复<sup>[6,18]</sup>。E18内耳基底乳突近端和非神经侧的毛细胞更容易受到损伤,可能是这些区域的毛细胞机械转导通道的开放性更高,并且抗氧化剂含量少<sup>[6,18]</sup>,提示E18很可能是机械转导通道达到成熟,允许大量氨基糖苷类抗生素进入毛细胞的一个时间节点。在这个时间节点之前,毛细胞不能摄取大量的氨基糖苷类抗生素,从而对抗生素药物不敏感<sup>[18]</sup>。若用抑制剂BAPTA(1,2-bis(o-aminophenoxy)ethane-N,N,N',N'-tetra-acetic acid)阻断机械转导通道,检测不同时期胚胎毛细胞对德克萨斯红标记的庆大霉素吸收情况,再用荧光染料标记线粒体,检测两者的

共标情况,结果发现:在E14~E18时间段进入毛细胞的庆大霉素没有和线粒体出现大量共定位,这与E12~E16鸡胚毛细胞对抗生素不敏感一致,说明E18以前时期耳蜗对耳毒性药物具有自我抵御作用<sup>[6,18]</sup>。

### 1.3 抗生素药物损伤雏鸡耳蜗毛细胞

在雏鸡皮下注射庆大霉素或链霉素,2 d后观察到雏鸡毛细胞受损脱落,并在受损部位出现许多BrdU标记的增殖细胞<sup>[22-23]</sup>。在新生雏鸡内耳上皮离体培养液中添加78  $\mu\text{mol/L}$ 庆大霉素或链霉素,2 d后同样观察到毛细胞损伤脱落,同样出现了许多BrdU标记的增殖细胞。以上实验表明,抗生素药物损伤雏鸡耳蜗毛细胞后,可引发毛细胞再生<sup>[22]</sup>。

## 2 抗生素药物损伤出生后小鼠耳蜗毛细胞

为与小鸡耳蜗损伤氨基糖苷类药物保持一致,小鼠耳蜗上皮体外损伤也采用链霉素或庆大霉素(浓度为0.75 mmol/L)处理出生3 d内的小鼠2 d。结果发现:毛细胞从内耳近端向远端逐渐受到严重损伤,损伤后的毛细胞没有再生。再用含庆大霉素或链霉素(浓度为0.75 mmol/L)的培养基孵育出生1 d小鼠的离体耳蜗2 d,发现随着培养时间延长,从内耳近端向远端的毛细胞损伤程度越来越重,出现大面积脱落,但脱落区没有观察到BrdU标记的增殖细胞和转分化细胞,表明没有发生毛细胞的再生<sup>[7,24]</sup>。

### 2.1 机械转导通道成熟之前小鼠毛细胞已被抗生素损伤

观察抗生素处理胚胎期小鼠,毛细胞也造成严重损伤<sup>[19]</sup>,表明在机械转导通道成熟之前,抗生素就对小鼠毛细胞造成严重损伤。虽然鸟类和哺乳类动物的机械转导通道在组成上很相似<sup>[20]</sup>,大鼠的机械转导通道在出生后一周到两周之内发育成熟<sup>[25]</sup>,但是在机械转导通道成熟之前,抗生素已经进入毛细胞,并聚集在线粒体上,破坏线粒体的膜功能,导致线粒体功能障碍,细胞出现凋亡。可见,鼠与鸡摄取抗生素的途径、毛细胞机械转导通道在胚胎不同时期的发育程度、机械转导通道的细微分子组成等差异,可能是导致鼠和鸡毛细胞(尤其是胚胎发育期)对抗生素损伤表现出不同反应的原因<sup>[19-20]</sup>。

### 2.2 预防抗生素损伤内耳毛细胞的可能方式

虽然小鼠毛细胞在机械转导通道成熟之前已被抗生素损伤,但是使用机械转导通道的抑制剂——双氢链霉素(DSH)能显著降低庆大霉素和新霉素对小鼠毛细胞的损伤<sup>[19]</sup>。我们在小鼠耳蜗体外培养实

验中, 加入另外一种机械转导通道抑制剂 BAPTA, 也发现可以显著降低毛细胞对庆大霉素的摄入量, 一定程度阻止毛细胞不受抗生素的伤害<sup>[7]</sup>。此外, 氨基糖苷类药物进入毛细胞后, 与线粒体膜上的 rRNA 结合, 从而破坏线粒体的膜功能, 导致细胞色素 C 释放, 产生很多细胞内活性氧产物 (reactive oxygen species, ROS), 引起细胞凋亡。有报道指出, 在体外培养耳蜗中加入抗氧化剂, 降低氨基糖苷类药物进入毛细胞后产生的细胞内活性氧浓度, 可以大大降低耳毒性药物所引发的毛细胞死亡<sup>[26]</sup>。由此, 进一步研发以上对应的药物, 可望在一定程度上缓解耳毒性药物导致的耳蜗毛细胞死亡和脱落, 减轻由此产生的严重听力障碍。

### 3 小鼠耳蜗毛细胞损伤后再生研究

除积极寻找或研发减轻耳蜗毛细胞损伤的药物外, 探究如何提高毛细胞损伤后的再生与修复<sup>[27-28]</sup>, 也是解决耳蜗毛细胞损伤后导致听力严重障碍的有效办法。由于内耳发育过程及其调控在哺乳动物和非哺乳动物之间高度保守, 而且非哺乳动物的毛细胞再生过程及基因调控与其发育相似, 那么研究非哺乳动物的再生与哺乳动物的不再生之间的差异就尤为重要, 这之间的差异很可能就是哺乳动物毛细胞不能再生的原因, 通过病毒载体将这些差异基因转染至支持细胞中, 改变支持细胞中这些基因的活性, 可望诱导支持细胞的分化和细胞增殖, 促进毛细胞的再生与修复<sup>[29]</sup>。

#### 3.1 运用腺病毒载体技术诱导毛细胞的再生

基因治疗要解决两大问题: 一是确定参与毛细胞再生与修复的关键基因, 二是找到介导关键基因进入靶细胞中高效表达的病毒载体<sup>[30]</sup>。通过转录组测序, 在全基因组范围内比较了鸡和鼠耳蜗毛细胞再生过程中出现表达差异的基因及其所在的信号通路。结果表明: 在鸡耳蜗毛细胞再生过程中, 有 805 个基因和 99 个信号通路发生变化。尤其指出的是, 在这些变化的通路中包含了与毛细胞发育或增殖相关的信号通路如 Notch、Wnt、Hh、MAPK、TGF- $\beta$ 。除了 Hh 通路, 这些信号通路都排在变化由高到低排列的前 50。而在小鼠耳蜗毛细胞受损后的对应时段, 以上基因及其所在的信号通路变化却不如鸡中显著<sup>[5]</sup>。

已有研究表明, 腺病毒可以高效地转染支持细胞和少量毛细胞, 转染细胞两天后就可以表达靶基因。而腺相关病毒则主要感染毛细胞和少量支持细

胞, 转染 14 d 后开始表达靶基因。此外, 与腺相关病毒不同, 腺病毒携带的基因不能整合到宿主基因组中, 持续高表达时间短, 仅 7~11 d。这样使用腺病毒可减少潜在致癌风险和相关基因表达改变所带来的副作用, 因此较安全。而腺相关病毒能将携带的基因整合到宿主基因组中, 并长时间表达, 对于遗传性耳聋的治疗有新的展望<sup>[31-33]</sup>。

由于毛细胞的前体细胞均来源于支持细胞, 耳蜗毛细胞的再生与修复在受损后 14 d 即可完成, 因此, 腺病毒较适合做毛细胞再生与修复, 介导相关基因表达的病毒。目前, 已有腺病毒介导 *Atoh1* 基因在支持细胞中表达, 促进了支持细胞转分化形成毛细胞, 并恢复了部分听力功能的报道<sup>[34]</sup>。我们最近构建了一个 -catenin-AD 腺病毒 (-catenin-AD) 来增加 Wnt 信号通路的活性, 另一个 NICD (Notch1 细胞内结构域)-RNAi (NICD-RNAi-AD) 腺病毒来降低 Notch 信号通路活性。将以上病毒同时转染经庆大霉素损伤的鼠耳蜗上皮, 结果发现: 两个病毒同时转染较单一病毒转染更能提高损伤后的细胞增殖和转分化, 显著性提高鼠耳蜗毛细胞损伤后的再生和修复<sup>[24]</sup>。在体外, 通过加入 Notch、Wnt、BMP、FGF 和 Hh 通路的激动或抑制剂, 发现以上细胞信号双通路或三通路一起联合作用, 比单通路作用效果更明显, 可得到更多来自转分化或通过有丝分裂增殖而来的毛细胞<sup>[5, 7, 23-24]</sup>, 未来尚需进一步探索在体内通过腺病毒介导的多通路联合作用, 提高鼠耳蜗毛细胞损伤后的再生和修复。

#### 3.2 干细胞定向分化形成毛细胞

通过基因治疗手段, 改变支持细胞内相关基因活性, 可提高耳蜗损伤后毛细胞的再生与修复能力, 但离未损伤前的状态还差距很大<sup>[34-36]</sup>。另外一些研究正在尝试通过诱导性多能干细胞 (induced pluripotent stem cells, 简称 iPSCs) 或胚胎干细胞 (embryonic stem cell /ESCs /ES cell) 定向分化为毛细胞或听觉神经细胞, 有希望治疗感音神经性耳聋<sup>[36-40]</sup>。

诱导性多能干细胞最初于 2006 年利用病毒载体将四个转录因子 (Oct4, Sox2, Klf4 和 c-Myc) 的组合转入分化的体细胞中, 使其重编程而得到<sup>[41]</sup>。这一开创性的工作使得成体细胞 (如皮肤细胞、血液细胞等) 能够被重新编程为类似于胚胎干细胞的状态, 即具有无限增殖能力和分化成为体内多种类型细胞的能力。iPSCs 的发现打破了长期以来只能依赖胚胎干细胞进行细胞替代疗法的传统观念, 为再生医学、疾病模型建立、药物筛选和基因功能研

究等领域开辟了全新道路。为了得到 iPSCs 诱导性毛细胞, 有研究者分离出携带 *Atoh1/nGFP* 转基因小鼠的成纤维细胞, 后与鸡内耳基质细胞共同培养, 先后在培养基中加入 Wnt 信号通路抑制剂、Smad3 抑制剂、IGF-1, 后与 bFGF 孵育 3 d, 成功诱导出听觉前体细胞, 并进一步分化为毛细胞。这些由 iPSC 得到的毛细胞在形态和电生理特性上与未成熟的毛细胞相似<sup>[42]</sup>。此外, 新生小鼠的神经感觉神经节能够向这些毛细胞发出神经突起, 并形成突触<sup>[43]</sup>。

已有报道指出: 人胚胎干细胞经 FGF3 和 FGF10 处理后, 能够生成耳部上皮前体细胞, 然后在模拟“毛细胞”的培养条件下培养时, 可以表达 BRN3C、*ATOH1* 或 *MYO7A* 等在毛细胞表达的基因, 这些分化出的“毛细胞”展现出电生理活性, 证明它们能够对外部机械刺激作出反应并可产生电信号, 表明这些细胞具有潜在实际应用价值<sup>[44]</sup>。目前, 再生医学领域内的多种方法, 包括干细胞、组织工程和细胞疗法几乎每天都在取得积极进展<sup>[45-46]</sup>, 随着如何精准调控干细胞分化方向、速度及其分化后如何保持正常的生理活性和功能等问题的进一步解决, 鸟类内耳毛细胞损伤后自我再生和修复机制的进一步揭示<sup>[47]</sup>, 通过基因治疗手段, 以及诱导性多能干细胞或胚胎干细胞定向分化, 人类耳蜗毛细胞损伤后再生和修复问题可望得到较好的解决<sup>[48-49]</sup>。

#### 4 结语

耳蜗毛细胞是听觉系统机械感受器细胞, 在听觉信号转换和传递中起着至关重要的作用。氨基糖苷类抗生素、噪音等因素都会损害毛细胞并导致听力损伤, 毛细胞在成年哺乳动物中不能自发再生。与此不同, 非哺乳鸟类毛细胞在损伤之后具有自发再生的能力。先找出参与鸡耳蜗毛细胞受损后自我修复基因, 比较这些基因在小鼠耳蜗受损后对应时段中的差异, 通过腺病毒作基因载体, 转染这些差异基因到受损后的鼠耳蜗上皮细胞, 改变它们的表达活性, 实现了小鼠毛细胞的再生, 虽然具有功能的细胞数量与损伤前还有很大差距, 还不足以使听力障碍得到很大程度改变<sup>[37]</sup>。这些研究工作不仅深化了我们对毛细胞损伤后再生过程的内在机制理解, 同时也为研发基于细胞信号通路活性改变, 而提高哺乳动物耳蜗毛细胞受损后的再生能力指明了实践方向, 有望推动人类感音神经性耳聋的康复治疗取得实质性进展。

#### [参 考 文 献]

- [1] Liu Q, Zhang L, Zhu MS, et al. High-throughput screening on cochlear organoids identifies VEGFR-MEK-TGFB1 signaling promoting hair cell reprogramming. *Stem Cell Reports*, 2021, 16: 2257-73
- [2] Chadha S, Kamenov K, Cieza A. The world report on hearing. *Bull World Health Organ*, 2021, 99: 242-A
- [3] Pepermans E, Petit C. The tip-link molecular complex of the auditory mechano-electrical transduction machinery. *Hear Res*, 2015, 330: 10-7
- [4] Choi SW, Abitbol JM, Cheng AG, et al. Hair cell regeneration: from animals to humans. *Clin Exp Otorhinolaryngol*, 2024, 17: 1-14
- [5] Jiang LL, Xu JC, Jin R, et al. Transcriptomic analysis of chicken cochleae after gentamicin damage and the involvement of four signaling pathways (Notch, FGF, Wnt and BMP) in hair cell regeneration. *Hear Res*, 2018, 361: 66-79
- [6] Jiang LL, Jin R, Xu J, et al. Hair cell regeneration or the expression of related factors that regulate the fate specification of supporting cells in the cochlear ducts of embryonic and posthatch chickens. *Hear Res*, 2016, 332: 17-28
- [7] Bai H, Jiang L, Wang X, et al. Transcriptomic analysis of mouse cochleae suffering from gentamicin damage reveals the signalling pathways involved in hair cell regeneration. *Sci Rep*, 2019, 9: 10494
- [8] Lye J, Delaney DS, Leith FK, et al. Recent therapeutic progress and future perspectives for the treatment of hearing loss. *Biomedicines*, 2023, 11: 3347
- [9] Kelleci K, Golebetmaz E. Regenerative therapy approaches and encountered problems in sensorineural hearing loss. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2023, 18: 186-201
- [10] Elliott KL, Pavlínková G, Chizhikov VV, et al. Development in the mammalian auditory system depends on transcription factors. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 4189
- [11] Atkinson PJ, Huarcaya NE, Sayyid ZN, et al. Sensory hair cell development and regeneration: similarities and differences. *Development*, 2015, 142: 1561-71
- [12] Cotanche DA, Kaiser CL. Hair cell fate decisions in cochlear development and regeneration. *Hear Res*, 2010, 266: 18-25
- [13] Driver EC, Kelley MW. Development of the cochlea. *Development*, 2020, 147: 162263
- [14] Sato MP, Benkafadar N, Heller S. Hair cell regeneration, reinnervation, and restoration of hearing thresholds in the avian hearing organ. *Cell Rep*, 2024, 43: 113822
- [15] Janesick A, Scheibinger M, Benkafadar N, et al. Cell-type identity of the avian cochlea. *Cell Rep*, 2021, 34: 108900
- [16] Stone JS, Cotanche DA. Hair cell regeneration in the avian auditory epithelium. *Int J Dev Biol*, 2007, 51: 633-47
- [17] Cafaro J, Lee GS, Stone JS. *Atoh1* expression defines activated progenitors and differentiating hair cells during avian hair cell regeneration. *Dev Dyn*, 2007, 236: 156-70
- [18] Bai H, Wan X, Gao X, et al. Study of the mechanisms by which aminoglycoside damage is prevented in chick embryonic hair cells. *J Assoc Res Otolaryngol*, 2019, 20:

- 21-35
- [19] Marcotti W, van Netten SM, Kros CJ. The aminoglycoside antibiotic dihydrostreptomycin enters mouse outer hair cells through the mechano-electrical transducer channels. *J Physiol*, 2005, 567: 505-21
- [20] Alharazneh A, Luk L, Huth M, et al. Functional hair cell mechanotransducer channels are required for aminoglycoside ototoxicity. *PLoS One*, 2011, 6: e2234
- [21] Si F, Brodie H, Gillespie PG, et al. Development assembly of transduction apparatus in chick basilar papilla. *J Neurosci*, 2003, 23: 10815-26
- [22] Bai H, Yang S, Xi C, et al. Signaling pathways (Notch, Wnt, Bmp and Fgf) have additive effects on hair cell regeneration in the chick basilar papilla after streptomycin injury *in vitro* additive effects of signaling pathways on hair cell regeneration. *Hear Res*, 2021, 401: 1-15
- [23] 杨思远, 曾少举, 张信文, 等. Notch和Wnt信号通路联合对雏鸡听觉毛细胞再生的影响. *北京师范大学学报(自然科学版)*, 2019, 55: 215-20
- [24] Weng M, Zhao R, Niu Q, et al. Adenovirus-mediated effects of Wnt and Notch signalling pathways on hair cell regeneration in mice. *Biochem Biophys Res Commun*, 2023, 658: 44-54
- [25] Housley GD, Marcotti W, Navaratnam D, et al. Hair cells-beyond the transducer. *J Membr Biol*, 2006, 209: 89-118
- [26] Lewis RM, KellerJJ, Wan L, et al. Bone morphogenetic protein 4 antagonizes hair cell regeneration in the avian auditory epithelium. *Hear Res*, 2018, 364: 1-11
- [27] Tao L, Segil N. Early transcriptional response to aminoglycoside antibiotic suggests alternate pathways leading to apoptosis in sensory hair cells in the mouse inner ear. *Front Cell Neurosci*, 2015, 9: 190
- [28] Yang Z, Jun Y, Cao X. Roles of the FGF signaling pathway in regulating inner ear development and hair cell regeneration. *Hereditas*, 2018, 40: 515-24
- [29] Gu Y, Huang Y, Jia G, et al. Generation of p27<sup>icreER</sup> transgenic mice: a tool for inducible gene expression in supporting cells in the cochlea. *Hear Res*, 2023, 431: 108727
- [30] Wang J, Zheng J, Wang H, et al. Gene therapy: an emerging therapy for hair cells regeneration in the cochlea. *Front Neurosci*, 2023, 17: 1177791
- [31] Luebke AE, Steiger JD, Hodges BL, et al. A modified adenovirus can transfect cochlear hair cells *in vivo* without compromising cochlear function. *Gene Ther*, 2001, 8: 789-94
- [32] Kesser BW, Hashisaki GT, Fletcher K, et al. An *in vitro* model system to study gene therapy in the human inner ear. *Gene Ther*, 2007, 14: 1121-31
- [33] Gu X, Wang D, Xu Z, et al. Prevention of acquired sensorineural hearing loss in mice by *in vivo* Htra2 gene editing. *Genome Biol*, 2021, 22: 86
- [34] Chen Y, Gu Y, Li Y, et al. Generation of mature and functional hair cells by co-expression of Gfi1, Pou4f3, and Atoh1 in the postnatal mouse cochleas. *Cell Rep*, 2021, 35: 109016
- [35] Lv J, Wang H, Cheng X, et al. AAV1-hOTOF gene therapy for autosomal recessive deafness 9: a single-arm trial. *Lancet*, 2024, 403: 2317-25
- [36] Duan B, Peng KA, Wang L. Injury and protection of spiral ganglion neurons. *Chin Med J (Engl)*, 2024, 137: 651-6
- [37] Qi J, Huang W, Lu Y, et al. Stem cell-based hair cell regeneration and therapy in the inner ear. *Neurosci Bull*, 2024, 40: 113-26
- [38] Maharajan N, Cho GW, Jang CH. Therapeutic application of mesenchymal stem cells for cochlear regeneration. *In Vivo*, 2021, 35: 13-22
- [39] Hinton AS, Yang-Hood A, Schrader AD, et al. Approaches to treat sensorineural hearing loss by hair-cell regeneration: the current state of therapeutic developments and their potential impact on audiological clinical practice. *J Am Acad Audiol*, 2021, 32: 661-9
- [40] Fang Q, Wei Y, Zhang Y, et al. Stem cells as potential therapeutics for hearing loss. *Front Neurosci*, 2023, 17: 1259889
- [41] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006, 126: 663-76
- [42] Oshima K, Shin K, Diensthuber M, et al. Mechanosensitive hair cell-like cells from embryonic and induced pluripotent stem cells. *Cell* 2010, 141: 704-16
- [43] Czajkowski A, Mounier A, Delacroix L, et al. Pluripotent stem cell-derived cochlear cells: a challenge in constant progress. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76: 627-35
- [44] Ronaghi M, Nasr M, Ealy M, et al. Inner ear hair cell-like cells from human embryonic stem cells. *Stem Cells Dev*, 2014, 23: 1275-84
- [45] Jacques E, Suuronen EJ. The progression of regenerative medicine and its impact on therapy translation. *Clin Transl Sci*, 2020, 13: 440-50
- [46] McKinley KL, Longaker MT, Naik S. Emerging frontiers in regenerative medicine. *Science*, 2023, 380: 796-8
- [47] Matsunaga M, Yamamoto R, Kita T, et al. Stepwise fate conversion of supporting cells to sensory hair cells in the chick auditory epithelium. *iScience*, 2023, 26: 106046
- [48] Scarsella L, Ehrke-Schulz E, Paulussen M, et al. Advances of recombinant adenoviral vectors in preclinical and clinical applications. *Viruses*, 2024, 16: 377
- [49] Lee MY, Park YH. Potential of gene and cell therapy for inner ear hair cells. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 8137614