

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202323084

· 耳科疾病专栏 ·

不同种属实验动物耳蜗毛细胞年龄相关性缺失的不同模式

丁大连^{1,2,3,4}, 李鹏², 亓卫东⁵, 张建辉³, 蒋海燕¹, 宣伟军⁴

(1. 纽约州立大学布法罗大学, 纽约 布法罗 14214; 2. 中山大学附属第三医院耳鼻咽喉头颈外科, 广东 广州 510230; 3. 成都市第三人民医院耳鼻咽喉头颈外科, 四川 成都 610014; 4. 广西中医药大学第一临床医学院耳鼻咽喉头颈外科, 广西 南宁 530023; 5. 复旦大学附属华山医院耳鼻咽喉头颈外科, 上海 200040)

摘要: **目的** 展示自然衰老和耳聋相关基因遗传缺陷之间耳蜗毛细胞缺失的不同模式。**方法** 用不同龄的长尾猴、南美栗鼠、豚鼠、Sprague-Dawley大鼠、CBA/CaJ小鼠、C57BL/6J小鼠、A/J小鼠、DBA/2J小鼠和侏儒灰色突变纯合子(dwg/dwg)小鼠作为受试对象。所有测试动物的耳蜗基底膜都被制作成平坦的耳蜗基底膜铺片。沿着耳蜗基底膜的全长,基底膜上所有的内外毛细胞都被完整计数,毛细胞的计数结果被输入到耳蜗图软件并自动生成每组实验条件的平均耳蜗图。**结果** 在天然衰老的动物中,耳蜗毛细胞的缺失总是发生在老年阶段。与此不同的是,在耳聋相关基因缺陷的动物中,耳蜗毛细胞的缺失却是发生在青年阶段甚至幼年阶段。发生在天然老化动物的耳蜗毛细胞缺失总是呈均匀分布或从耳蜗的顶回向底回扩展。但是,发生在具有耳聋相关基因遗传缺陷动物的耳蜗毛细胞缺失却通常表现为从耳蜗的底回向顶回扩展。**结论** 本实验观察结果表明,发生在天然衰老的不具备耳聋相关基因缺陷动物身上的年龄相关性耳蜗毛细胞缺失反映的是真正由衰老引起的耳蜗退化性病变,而发生在伴有耳聋相关基因遗传缺陷的年幼动物身上的年龄相关性耳蜗毛细胞缺失可能与耳聋相关基因的遗传缺陷有关。

关键词: 耳聋;耳蜗毛细胞图;毛细胞缺失;年龄相关性耳蜗毛细胞缺失;耳聋相关基因缺陷
中图分类号:R764.3

Different patterns of age-related damage to cochlear hair cells in different species of experimental animals

DING Dalian^{1,2,3,4}, LI Peng², QI Weidong⁵, ZHANG Jianhui³, JIANG Haiyan¹, XUAN Weijun⁴

(1. State University of New York at Buffalo, NY 14214, USA; 2. Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510230, China; 3. Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, Chengdu Third People's Hospital, Chengdu 610014, China; 4. Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, the First Clinical Medical College of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China; 5. Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China)

Abstract: **Objective** To demonstrate distinct patterns of cochlear hair cell loss between aging and genetic defects of deafness-associated genes. **Methods** Vervet monkeys, chinchillas, guinea pigs, Sprague-Dawley rats, CBA/CaJ mice, C57BL/6 mice, DBA/2J mice, and dwarf gray mutant homozygous (dwg/dwg) mice with different ages were used as experimental subjects. The cochlear basilar membranes of all tested animals were prepared as flat surface preparations. All inner and outer hair cells on the cochlear basilar membrane were counted along entire length of the basilar membrane. The hair cell counts were then input into the cochleogram software to generate the averaged cochleogram for each group. **Results** In natural aging animals, cochlear hair cell loss occurred in the elderly stage. In contrast, in the deaf-related genetic defective animals, cochlear hair cell loss occurred in the younger stage or even in the childhood. The cochlear hair cell loss in natural aging animals was always evenly distributed or expanded from the cochlear apical turn to the basal turn.

基金项目:国家自然科学基金面上项目(82171147,82071050,81973913);四川省医学科研课题计划(S20006)。

第一作者简介:丁大连,男,博士,教授。

通信作者:宣伟军,Email: xuan5352100@hotmail.com; 亓卫东,Email: drqiweidong@126.com; 李鹏,Email: lp76@163.net

However, the cochlear hair cell loss in the animals with genetic defects of deafness-associated genes often manifested an extension from the cochlear basal turn to the apical turn. **Conclusion** The age-related cochlear hair cell loss on elderly animals without deafness-related genetic defects reflects the degenerative lesions caused by real aging, while the age-related cochlear hair cell loss on young animals with deafness-related genetic defects is likely related to the genetic defects of deafness-related genes.

Keywords: Deafness; Cochleogram; Hair cell loss; Age-related cochlear hair cell loss; Deafness-related genetic defects

伴随人口老龄化而来的各种老年病正在成为影响人类健康和社会发展的最重要不利因素之一。和其他老年病一样,老年性聋的发病率也随着人口老龄化而不断增长。耳聋引起的老年人交流障碍和认知障碍日益成为造成老年人与社会隔绝进而导致忧郁甚至痴呆的重要原因。因此,研究老年性聋的病因及其预防和治疗方法成为耳科研究工作者的重要研究方向之一和义不容辞的责任。

在各种研究老年性耳蜗损害的实验动物模型中,耳聋相关基因缺陷和天然衰老引起的耳蜗损害是两大类病因不同的实验动物模型。本文报道发生在几种常用于研究老年性内耳损害的不同实验动物中所发生的不同耳蜗毛细胞损害模式,以期说明单纯衰老引起的耳蜗毛细胞损害模式与耳聋相关基因缺陷引起的耳蜗毛细胞损害模式并不相同。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究选择不具备耳聋相关基因缺陷的不同龄长尾猴、南美栗鼠、豚鼠、Sprague-Dawley 大鼠和 CBA/CaJ 小鼠作为天然衰老导致耳蜗毛细胞损害的实验动物对象,选择具有耳聋相关基因缺陷的不同龄 C57BL/6 小鼠、A/J 小鼠、DBA/2J 小鼠及侏儒灰色突变纯合子(dwg/dwg)小鼠作为耳聋相关基因遗传缺陷导致耳蜗毛细胞损害的实验动物对象。所有受试动物的颞骨取材方法均得到中山大学附属第三医院、复旦大学附属华山医院、成都市第三人民医院以及广西中医药大学和美国纽约州立大学布法罗大学动物实验伦理委员会的批准。

1.2 方法

各种受试动物的耳蜗基底膜取材、染色、铺片步骤和耳蜗毛细胞计数方法以及耳蜗图制备方法与我们在先前发表文章中的报道基本相同^[1-14]。简而言之,在解剖显微镜下,所有受试动物的颞骨在经10%福尔马林溶液充分固定之后,全耳蜗基底膜都被常规取出并制作成全耳蜗基底膜铺片。在光学显微镜下,从耳蜗顶回朝着耳蜗底回对逐个视野范围

内的内外毛细胞进行计数,直至抵达耳蜗基底膜起始端钩端的最后一个视野。应用耳蜗图制作软件,将毛细胞计数结果依次输入到耳蜗图软件的表格中并与相对应动物品种的耳蜗毛细胞正常参考数值在基底膜上的每一个位点进行一一比较,耳蜗图软件自动生成反映全耳蜗毛细胞在各个位点上缺失百分比的耳蜗图。最后将每个种属实验动物相同实验条件的单个耳蜗图应用 GraphPad Prism 5 软件生成每个种属实验动物在出生后不同时间的平均耳蜗图,并对全耳蜗基底膜铺片上的毛细胞缺失范围和程度进行评估。

2 结果

2.1 不同龄长尾猴耳蜗毛细胞的损害模式

根据 Joris 等^[15]报道的测试结果,我们将猕猴的耳蜗频率反应位置标注在长尾猴的耳蜗图软件中。通过对不同龄长尾猴全耳蜗铺片的观察(图1),我们发现从出生后1~8年,长尾猴耳蜗基底膜上的毛细胞完整无缺(图1B、C;2A、B)。但是在出生后13年,长尾猴耳蜗基底膜上开始发生均匀散布的外毛细胞缺失,在这个年龄阶段,长尾猴耳蜗外毛细胞的缺失程度在15%~20%,但内毛细胞并无缺损(图1D、2C)。在出生后22年,长尾猴全耳蜗基底膜上发生的均匀外毛细胞散在性缺失的程度略有增加(图1E)。在出生后26年,长尾猴全耳蜗基底膜上的外毛细胞缺失程度增加到50%左右(图1F、2D),同时可见个别散在性内毛细胞缺失。各个年龄组的平均耳蜗图显示,出生后13年和26年长尾猴的耳蜗毛细胞缺失程度虽然不同,但是在全耳蜗基底膜铺片上均呈现出平坦型曲线,提示长尾猴耳蜗毛细胞的缺失程度在全耳蜗基底膜的各个部位均无显著性差异(图2)。

2.2 不同龄南美栗鼠耳蜗毛细胞的损害模式

本实验通过对出生后1~3年和出生后13~15年两组南美栗鼠全耳蜗铺片毛细胞的定位定量观察,初步判定南美栗鼠在出生后3年之内不会发生耳蜗年龄相关性毛细胞缺失,在出生后13~

15年,全耳蜗基底膜上各个部位呈均匀分布的外毛细胞缺失在25%~35%,但绝大部分内毛细胞并未发生明显缺失(图3A、B)。

2.3 不同龄豚鼠耳蜗毛细胞的损害模式

本实验通过对出生后1~2年和5~7年两组豚鼠全耳蜗铺片毛细胞的定位定量观察,初步可以判

定豚鼠在出生后2年之内不会发生耳蜗年龄相关性毛细胞缺失,但在出生后5~7年,豚鼠耳蜗顶回外毛细胞的缺失程度明显比耳蜗底回严重,但内毛细胞并无明显缺失(图4A、B)。说明豚鼠年龄相关性耳蜗外毛细胞缺失呈现一个从顶回开始发生并逐渐向耳蜗底回扩展的趋势。

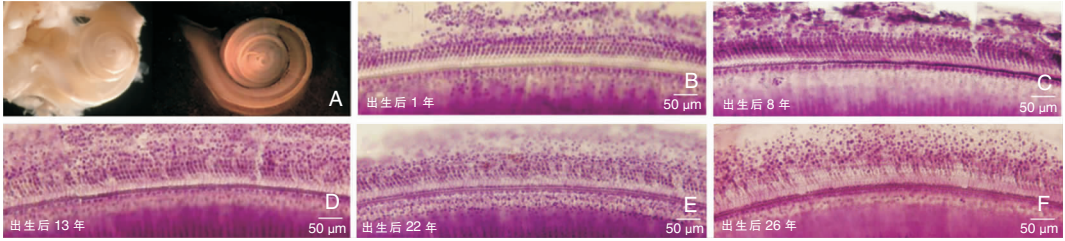


图1 长尾猴耳蜗中回基底膜铺片的典型图像 A:左侧图像显示剥除蜗壳暴露耳蜗膜迷路解剖图像,右侧图像显示从蜗轴上分离取出的全耳蜗基底膜;B、C:分别显示出生后1年和8年长尾猴的耳蜗毛细胞完整无缺;D:出生后13年长尾猴的耳蜗外毛细胞发生均匀的散在性缺失;E:出生后22年长尾猴耳蜗外毛细胞的缺失数量比出生后13年略有增加;F:出生后26年长尾猴耳蜗外毛细胞的缺失程度大约在50%

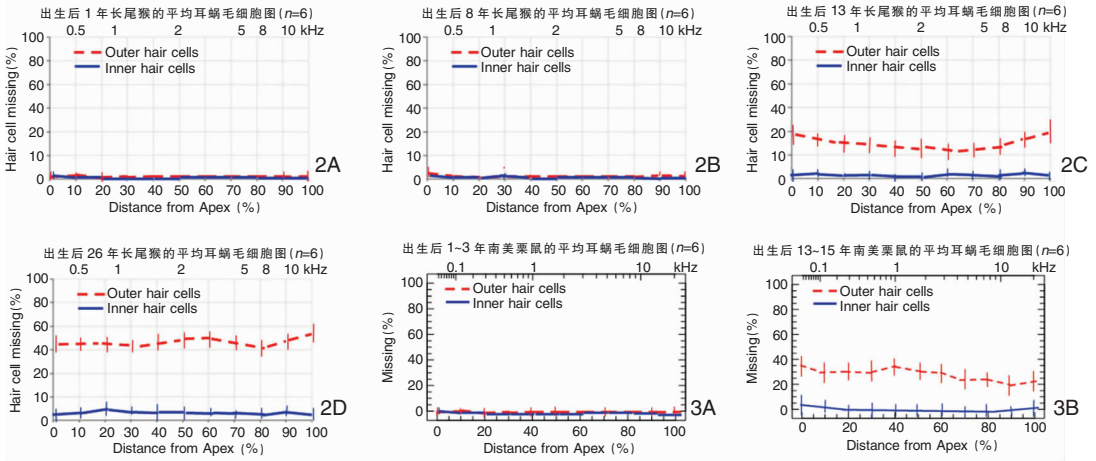


图2 不同年龄组长尾猴全耳蜗铺片的平均耳蜗毛细胞图 2A:出生后1年长尾猴的全耳蜗内外毛细胞完整无缺;2B:出生后8年长尾猴的全耳蜗内外毛细胞完整无缺;2C:出生后13年长尾猴的全耳蜗内毛细胞无明显缺失,但外毛细胞的均匀缺失在全耳蜗基底膜上呈平坦曲线,基底膜上不同位置的外毛细胞缺失程度在15%~20%;2D:出生后26年长尾猴的全耳蜗内毛细胞偶见缺失,基底膜上不同位置的外毛细胞缺失程度扩展到40%~55%

图3 不同年龄组南美栗鼠全耳蜗铺片的平均耳蜗毛细胞图 3A:出生后1~3年南美栗鼠的内外毛细胞无明显缺失;3B:出生后13~15年南美栗鼠的外毛细胞缺失呈平坦曲线

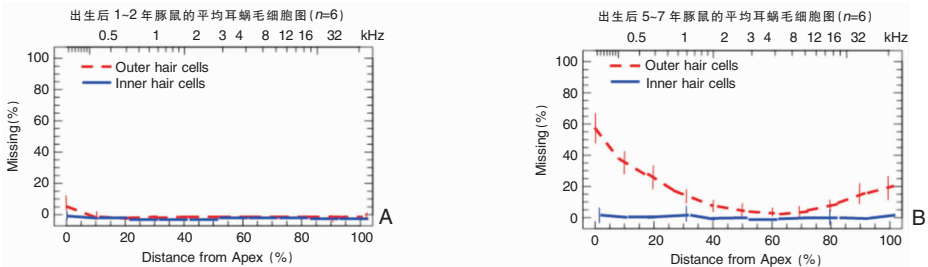


图4 不同年龄组豚鼠全耳蜗铺片的平均耳蜗毛细胞图 A:出生后1~2年豚鼠的内外毛细胞基本上完整无缺;B:出生后5~7年豚鼠的内毛细胞偶见个别缺失,但耳蜗顶回外毛细胞的缺失程度明显高于耳蜗中回和耳蜗底回

2.4 不同龄 Sprague-Dawley 大鼠耳蜗毛细胞的损害模式

通过分别对出生后 12、24、30 个月的 Sprague-Dawley 大鼠全耳蜗铺片毛细胞的定位定量观察,可以看出 Sprague-Dawley 大鼠在出生后 2 年之内不会发生耳蜗年龄相关性毛细胞缺失(图 5A、B)。但在出生后 30 个月也就是大约相当于暮年阶段,才开始发生衰老引起的耳蜗毛细胞破坏,Sprague-Dawley 大鼠年龄相关性耳蜗外毛细胞缺失呈现从顶回开始发生并逐渐向耳蜗底回扩展的趋势(图 5C)。

2.5 不同龄 CBA/CaJ 小鼠耳蜗毛细胞的损害模式

通过分别对出生后 12、18、24 个月的 CBA/CaJ 小鼠全耳蜗铺片毛细胞的定位定量观察,可以看出 CBA/CaJ 小鼠外毛细胞的缺失在出生后 12 个月仅仅出现在耳蜗顶回的终端,但内毛细胞完整无缺(图 6A)。在出生后 18 个月,CBA/CaJ 小鼠耳蜗顶回外毛细胞的缺失程度达到 50% 左右,但内毛细胞未见缺失(图 6B)。在出生后 24 个月,CBA/CaJ 小鼠外毛细胞的缺失已经从耳蜗的顶回扩散到耳蜗的底回,内毛细胞缺失则刚刚开始发生在耳蜗的顶回(图 6C)。显然,CBA/CaJ 小鼠年龄相关性耳蜗毛细胞缺失也是遵循着一个从耳蜗顶回开始发生逐渐向耳蜗底回扩展的模式。

2.6 不同龄 C57BL/6 小鼠耳蜗毛细胞的损害模式

导致 C57BL/6 小鼠较早发生年龄相关性耳蜗毛细胞缺失的遗传因素是 10 号染色体上的 *ahl* 基因位点发生了突变,这个基因突变的原因已经被证实是由 *cadherin 23* 基因(*cdh23*)的剪接变体所造成。通过分别对出生后 6、12、18、24 个月的 C57BL/6 小鼠全耳蜗铺片毛细胞的定位定量观察,我们发现出生后 6 个月 C57BL/6 小鼠耳蜗内外毛细胞的缺失开始发生在耳蜗的底回钩端区域,相当于占基底膜全长的 20% ~ 30%。出生后 12 个月,C57BL/6 小鼠耳蜗内外毛细胞的缺失从耳蜗底回扩展到占基底膜全长 50% 的位置。出生后 18 个月,C57BL/6 小鼠的耳蜗内外毛细胞缺失从耳蜗底回扩散到了耳蜗的顶回,其中内毛细胞的缺失程度约占内毛细胞总数的 50%,外毛细胞的缺失程度超过外毛细胞总数的 70%。出生后 24 个月,C57BL/6 小鼠全耳蜗外毛细胞缺失超过 95%,内毛细胞的缺失程度也基本超过内毛细胞总数的 65%。显而易见,C57BL/6 小鼠年龄相关性耳蜗内外毛细胞的缺失是遵循着一个从耳蜗底回开始发生逐渐向耳蜗顶回扩展的模式(图 7)。这一点显然与无耳聋相关基因缺陷的 CBA/CaJ 小鼠的年龄相关性耳蜗毛细胞缺失模式截然相反。

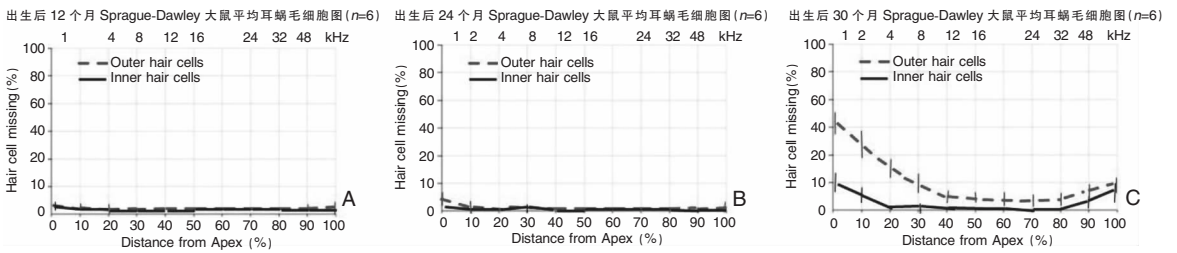


图 5 不同年龄组 Sprague-Dawley 大鼠全耳蜗铺片的平均耳蜗毛细胞图 A: 出生后 12 个月大鼠的内外毛细胞完整无缺; B: 出生后 24 个月大鼠的内外毛细胞未见明显缺失; C: 出生后 30 个月的 Sprague-Dawley 大鼠年龄相关性耳蜗毛细胞缺失呈现从顶回开始发生逐渐向底回扩展的模式

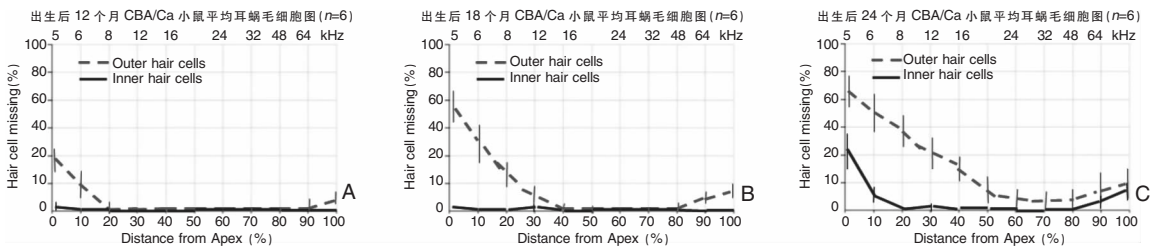


图 6 不同年龄组 CBA/CaJ 小鼠全耳蜗铺片的平均耳蜗毛细胞图 A: 出生后 12 个月 CBA/CaJ 小鼠耳蜗外毛细胞的缺失开始出现在耳蜗顶回; B: 出生后 18 个月 CBA/CaJ 小鼠的外毛细胞缺失开始扩散到耳蜗中回; C: 出生后 24 个月 CBA/CaJ 小鼠的外毛细胞缺失逐渐蔓延到耳蜗底回

2.7 不同龄 A/J 小鼠耳蜗毛细胞的损害模式

通过分别对出生后2周、2个月及5个月的A/J小鼠全耳蜗铺片上毛细胞的定位定量观察,我们发现在10号染色体远端 *ah14* 位点突变的A/J小鼠的耳蜗内外毛细胞缺失模式与发生 *cadhering 23* 基因剪接变体的C57BL/6小鼠十分相似,但是耳蜗内外毛细胞缺失的发生时间和程度都比C57BL/6小鼠更早也更严重(图8)^[4]。

2.8 不同龄 DBA/2J 小鼠耳蜗毛细胞的损害模式

通过分别对出生后1、3、6个月的DBA/2J小鼠全耳蜗铺片上毛细胞的定位定量观察,我们发现DBA/2J小鼠的内毛细胞年龄相关性缺失是从耳蜗底回开始逐渐向耳蜗顶回扩展,但外毛细胞的缺失却是同时发生在耳蜗底回的末端和顶回的顶端,

说明DBA/2J小鼠的耳蜗外毛细胞缺失是从基底膜两端开始发生并逐渐向耳蜗基底膜的中部扩展(图9)。

2.9 不同龄 dwg/dwg 小鼠耳蜗毛细胞的损害模式

通过对出生后1、3、6个月和9个月的dwg/dwg小鼠全耳蜗铺片上毛细胞的定位定量观察,我们发现 γ -谷氨酰转氨酶1基因缺失的Dwarf grey小鼠中的Ggt1 dwg/dwg纯合子小鼠竟然发生了年龄相关性内毛细胞缺失,但是外毛细胞却并未发生年龄相关性缺失,发生在dwg/dwg纯合子小鼠的这种选择性内毛细胞缺失首先在耳蜗底回末端与顶回起始端的交界处开始发生,然后分别向耳蜗的顶回和底回扩展(图10)^[1]。

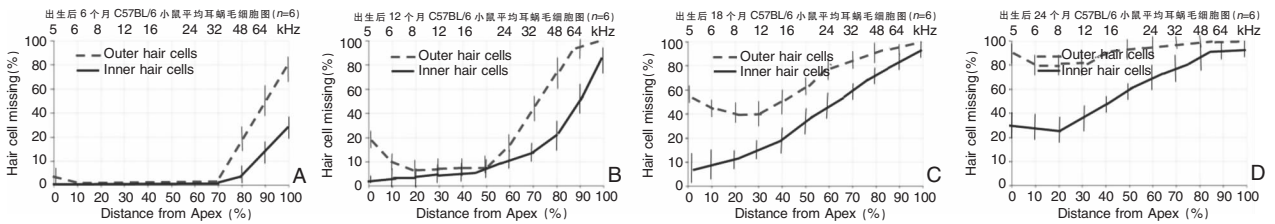


图7 不同年龄组C57BL/6小鼠全耳蜗铺片的平均耳蜗毛细胞图 A:出生后6个月C57BL/6小鼠耳蜗内外毛细胞缺失仅发生在耳蜗底回的钩端; B:出生后12个月C57BL/6小鼠耳蜗内外毛细胞缺失扩展到基底膜的中部; C:出生后18个月C57BL/6小鼠的耳蜗内外毛细胞缺失扩散到耳蜗顶回; D:出生后24个月C57BL/6小鼠的外毛细胞几乎丧失殆尽,内毛细胞的缺失程度也基本超过内毛细胞总数的65%

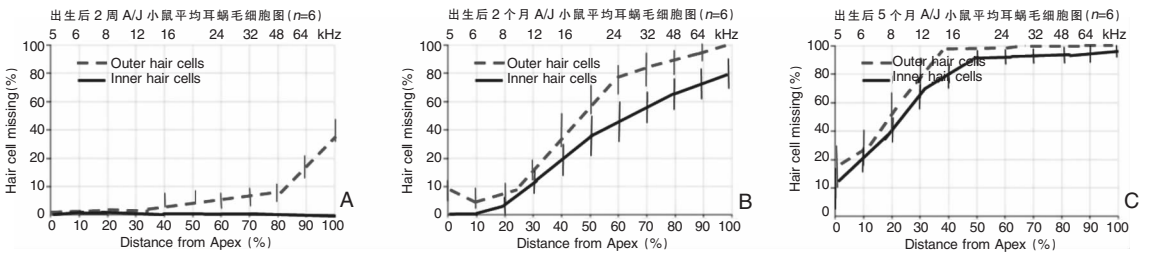


图8 不同年龄组A/J小鼠全耳蜗铺片的平均耳蜗毛细胞图 A:出生后2周A/J小鼠耳蜗底回的外毛细胞开始发生缺失; B:在出生后2个月A/J小鼠的耳蜗内外毛细胞缺失从耳蜗底回蔓延到耳蜗的顶回,内外毛细胞的缺失程度分别达到45%和55%; C:在出生后5个月,A/J小鼠全耳蜗内外毛细胞的缺失程度均超过80%

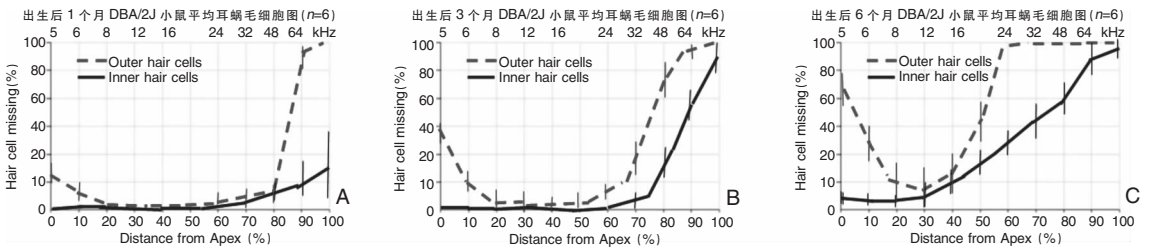


图9 不同年龄组DBA/2J小鼠全耳蜗铺片的平均耳蜗毛细胞图 A:出生后1个月,耳蜗外毛细胞的缺失开始发生在基底膜的两端; B:出生后2个月,耳蜗内外毛细胞缺失从耳蜗底回钩端扩散到耳蜗底回的中部,耳蜗顶回的外毛细胞缺失达到30%; C:出生后6个月,耳蜗内毛细胞缺失从底回扩展到顶回,外毛细胞的缺失呈现一个分别从耳蜗底回和顶回向耳蜗中回扩展的模式

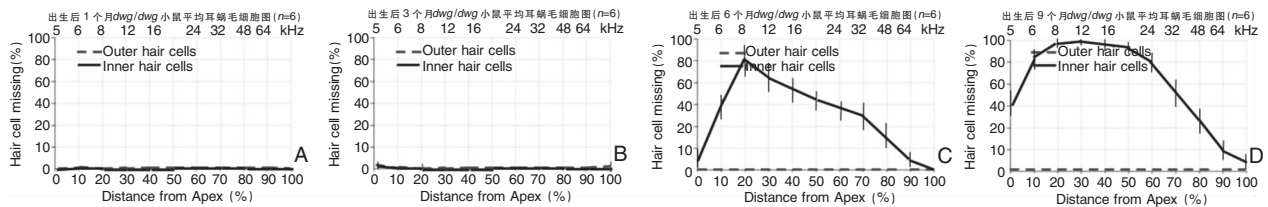


图 10 不同年龄组 dwg/dwg 小鼠全耳蜗铺片的平均耳蜗毛细胞图 A: 出生后 1 个月, 全耳蜗内外毛细胞完整无缺; B: 出生后 3 个月, 全耳蜗内外毛细胞完整无缺; C: 出生后 6 个月, 在耳蜗底回与顶回交界处发生最严重的内毛细胞缺失, 但外毛细胞无缺失; D: 出生后 9 个月, 全耳蜗外毛细胞完整无缺, 但内毛细胞缺失的范围从耳蜗底回末端与顶回起始端的交界处分别向底回和顶回扩散

3 讨论

根据中国“老年人权益保障法”第 2 条, 中国老年人的定义是指年龄超过 60 周岁的人。长尾猴在野外生存环境的寿命约为 17 年, 在圈养生存环境的寿命可达 30 年, 本实验结果提示超过 10 岁的长尾猴可以用作研究老年性内耳损害的猴子实验模型。野外生存南美栗鼠的寿命最多只有 8 年, 但是在动物饲养室或者在宠物饲养条件下生存的南美栗鼠的平均寿命可以延长到 15 ~ 20 年, 一般来说, 将超过 10 岁的圈养南美栗鼠用于研究老年性听觉损害的南美栗鼠模型比较理想^[16-17]。豚鼠的寿命大约在 5 ~ 8 岁, 一般认为超过 4 岁的豚鼠可能开始发生老年性内耳损害等多种老年疾病^[18-19]。大鼠的寿命大约在 2.5 ~ 3 岁, 大鼠的老年性耳蜗毛细胞破坏发生较晚, 一般认为直至暮年或至少超过 30 个月的大鼠才适用于作为老年性耳蜗损害的大鼠实验模型^[20-22]。小鼠的平均寿命在 24 ~ 38 个月, 依据衰老相关生物学标志的改变, 诸如被毛变色, 肥胖超重, 嗜睡, 脱肛, 白内障, 自发性肿瘤, 骨密度降低, II 型糖尿病, 动脉粥样硬化等, 18 月龄以上的小鼠被定义为老年小鼠^[23]。本实验观察的这些受试动物年龄基本覆盖了不同种属实验动物从年幼或年轻到发生年龄相关性或基因缺陷性耳蜗毛细胞缺失的病变扩展进程, 通过对这些不同龄实验动物全耳蜗毛细胞的定位和定量观察与比较, 基本上可以反映不同种属实验动物的耳蜗毛细胞缺失的病变扩展趋势。

老年性聋理应是天然衰老导致的听觉衰退。然而, 老年性聋的发生原因却被认为是多种因素相互作用的结果, 这些因素除了包括天然衰老之外, 耳聋遗传基因缺陷、耳毒性药物的接触、高血糖或高血脂引起的内耳血管病变、各种损害因素引起的内耳氧化应激损害、爆震和强噪声的暴露、重金属污染环

境的暴露、农药污染环境的暴露、杀虫剂污染环境的暴露等^[21]。如果按照这样的多因素相互作用来定义老年性耳蜗毛细胞缺失的病因, 似乎只要年龄进入老年阶段, 无论哪种原因引起的耳聋和耳蜗毛细胞损害岂不都可以定义为老年性聋和老年性耳蜗毛细胞损害? 这种把其他各种病因造成的耳聋和耳蜗毛细胞损害仅仅因为年老就统统归因于老年性聋和老年性耳蜗毛细胞损害的观点是否合理? 还有待商榷。为了精准研究老年性耳蜗损害, 我们认为应该把已经确诊的遗传性耳蜗损害、药物性耳蜗损害、噪声性耳蜗损害、爆震性耳蜗损害、外伤性耳蜗损害等各种内耳损害疾病与天然衰老引起的老年性耳蜗损害区分开来。

在本实验观察的各类种属实验动物中, 不具有耳聋相关基因缺陷的实验动物, 如本实验观察到的长尾猴、南美栗鼠、豚鼠、Sprague-Dawley 大鼠和 CBA/CaJ 小鼠耳蜗毛细胞缺失的时间都是发生在老年阶段, 但是在伴有耳聋相关基因缺陷的实验动物, 如 C57BL/6 小鼠、A/J 小鼠、DBA/2J 小鼠及 dwg/dwg 小鼠耳蜗毛细胞发生缺失的时间都不是在老年阶段, 例如, A/J 小鼠耳蜗毛细胞缺失开始发生的时间是在出生后 15 d, DBA/2J 小鼠耳蜗毛细胞缺失开始发生的时间是在出生后 1 个月, C57BL/6 小鼠和 dwg/dwg 小鼠的耳蜗毛细胞缺失发生的时间均明显早于出生后 6 个月。显然, 这些发生耳蜗毛细胞缺失的伴有耳聋相关基因缺陷的动物年龄都还处于青年甚至幼年阶段, 把发生在这么年轻的实验动物身上的耳蜗毛细胞退行性改变归因于衰老, 是不是为时过早? 我们还发现那些没有耳聋相关基因缺陷动物的年龄相关性耳蜗毛细胞缺失模式与耳聋相关基因缺陷动物的毛细胞缺失模式截然不同, 前者的耳蜗毛细胞缺失模式基本呈现均匀分布或者从顶回向底回扩展的模式, 后者的耳蜗毛细胞缺失模式除了 dwg/dwg 纯合子小鼠表现出独特的内毛

细胞损害之外,其余伴有耳聋相关基因缺陷的小鼠如 C57BL/6 小鼠和 A/J 小鼠均呈现出耳蜗底回毛细胞的缺失程度比耳蜗顶回严重的模式。提示发生在不具有耳聋相关基因缺陷的老年动物身上的年龄相关性耳蜗毛细胞缺失可能反映的是单纯衰老引起的耳蜗退行性病变,而那些发生在具有耳聋相关基因缺陷的青年甚至幼年动物身上的耳蜗毛细胞缺失却很可能与耳聋相关基因的遗传缺陷有着更密切的关系,而非年老所致。

参考文献:

- [1] Ding D, Jiang H, Chen G, et al. N-acetyl-cysteine prevents age-related hearing loss and the progressive loss of inner hair cells in gamma-glutamyl transferase 1 deficient mice[J]. *Aging (Albany NY)*, 2016,8(4): 730 - 750.
- [2] Ding D, McFadden SL, Salvi R. Cochlear hair cell densities and inner-ear staining techniques [A]//Willott JF. *Handbook of Mouse Auditory Research from Behavior to Molecular Biology* [M]. Florida:CRS Press,Boca Raton, 2001:189 - 204.
- [3] Kane KL, Longo-Guess CM, Gagnon LH, et al. Genetic background effects on age-related hearing loss associated with Cdh23 variants in mice[J]. *Hear Res*, 2012,283(1 - 2): 80 - 88.
- [4] Zheng Q, Ding D, Yu H, et al. A locus on distal chromosome 10 (ahl4) affecting age-related hearing loss in A/J mice[J]. *Neurobiol Aging*, 2009,30(10):1693 - 1705.
- [5] 丁大连,王坚,郑向阳,等.耳蜗毛细胞和螺旋神经节及其神经纤维的联合定量观察[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 1998,4(4): 200 - 204.
- [6] 丁大连,蒋海燕,McFadden SL,等. SOD1 基因缺陷型小鼠耳蜗毛细胞和螺旋神经节及神经纤维的定量观察[J]. *耳鼻喉学报*, 1999,13(1):1 - 3.
- [7] 亓卫东,丁大连,蒋海燕,等.全耳蜗毛细胞定量分析系统[J]. *听力学及言语疾病杂志*, 2007,15(2):158 - 160.
- [8] 丁大连,赵纪余,皇甫慕三.改良耳蜗铺片术[J]. *中华耳鼻咽喉科杂志*, 1981,16(4): 207 - 209.
- [9] Ding D, Prolla T, Someya S, et al. Roles of bak and sirt3 in paraquat-induced cochlear hair cell damage [J]. *Neurotox Res*, 2021,39(4):1227 - 1237.
- [10] Ding D, Qi W, Yu D, et al. Addition of exogenous NAD⁺ prevents mefloquine-induced neuroaxonal and hair cell degeneration through reduction of caspase-3-mediated apoptosis in cochlear organotypic cultures[J]. *PLoS One*, 2013,8(11): e79817.
- [11] 丁大连,李鹏,亓卫东,等.耳蜗毛细胞死亡引发耳蜗内延迟性继发病变的研究[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2022,28(6):1 - 10.
- [12] Ding D, Jiang H, Salvi R. Cochlear spiral ganglion neuron degen-

eration following cyclodextrin-induced hearing loss[J]. *Hear Res*, 2021,400:108125.

- [13] Ding D, Manohar S, Jiang H, et al. Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin causes massive damage to the developing auditory and vestibular system[J]. *Hear Res*, 2020,396:108073.
- [14] Ding D, Manohar S, Jiang H, et al. Major differences in 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin ototoxicity in adult and postnatal rats [J]. *Abstr Assoc Res Otolaryngol*, 2020, Abs: PS985: 630 - 631.
- [15] Joris PX, Bergevin C, Kalluri R, et al. Frequency selectivity in Old-World monkeys corroborates sharp cochlear tuning in humans [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011,108(42):17516 - 17520.
- [16] McFadden SL, Campo P, Ding D, et al. Effects of noise on inferior colliculus evoked potentials and cochlear anatomy in young and aged chinchillas[J]. *Hear Res*, 1998,117(1 - 2): 81 - 96.
- [17] Bohne BA, Gruner MM, Harding GW. Morphological correlates of aging in the chinchilla cochlea[J]. *Hear Res*, 1990,48(1 - 2): 79 - 91.
- [18] Nozawa I, Imamura S, Fujimori I, et al. Age-related alterations in the auditory brainstem responses and the compound action potentials in guinea pigs[J]. *Laryngoscope*, 1996,106(8):1034 - 1039.
- [19] Ingham NJ, Comis SD, Withington DJ. Hair cell loss in the aged guinea pig cochlea[J]. *Acta Otolaryngol*, 1999,119(1):42 - 47.
- [20] Godfrey DA, Chen K, O'Toole TR, et al. Amino acid and acetylcholine chemistry in the central auditory system of young, middle-aged and old rats[J]. *Hear Res*, 2017,350:173 - 188.
- [21] Salvi R, Ding D, Eddins AC, et al. Age, Noise, and Ototoxic Agents[A]//Patrick R, Hof & barles V, Mobbs. *Functional Neurobiology of Aging* [M]. San Diego: San Diego, Academic Press, 2001: 549 - 563.
- [22] Keithley EM, Feldman ML. Hair cell counts in an age-graded series of rat cochleas[J]. *Hear Res*, 1982,8(3):249 - 262.
- [23] Flurkey KM, Curren J, Harrison DE. Chapter 20 - Mouse Models in Aging Research [A]//Fox JG. *The Mouse in Biomedical Research (Second Edition)* [M]. Burlington: Burlington, Academic Press, 2007:637 - 672.

(收稿日期:2023 - 05 - 09)

本文引用格式:丁大连,李鹏,亓卫东,等.不同种属实验动物耳蜗毛细胞年龄相关性缺失的不同模式[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2023,29(4):7 - 13. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202323084

Cite this article as: DING Dalian, LI Peng, QI Weidong, et al. Different patterns of age-related damage to cochlear hair cells in different species of experimental animals [J]. *Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg*, 2023,29(4):7 - 13. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202323084