

利用斑马鱼模型筛选感觉毛细胞损伤保护性药物的研究进展

姚佳¹ 钱付平^{2*} 刘东^{1,3*}

(¹南通大学生命科学学院, 南通 226019; ²南通大学特种医学研究院, 南通 226019;

³南通市发育与疾病重点实验室, 南通 226019)

摘要 感觉毛细胞损伤被广泛认为是听力损失和平衡功能障碍发生的关键病理机制。世界卫生组织预测至2050年全球将有近25亿人罹患不同程度的听力损失, 逾7亿人需听力康复干预; 因而开发高效保护感觉毛细胞的药物极为迫切。哺乳动物感觉毛细胞再生潜能微弱, 受损后难以自发修复。斑马鱼则因基因高度保守、繁殖周期短、胚胎透明且毛细胞分布于体表, 已成为解析毛细胞损伤机制与高通量药物筛选的理想模型。该文系统梳理斑马鱼模型的应用优势, 总结感觉毛细胞损伤的核心诱因及分子通路, 详细介绍毛细胞计数、声学逃逸反应等药效评价手段, 回顾已发现的具有保护作用的药物类别及其作用靶点, 并对未来研究方向予以展望, 旨在为感觉毛细胞损伤相关疾病的药物研发提供理论依据与技术支持。

关键词 斑马鱼模型; 药物筛选; 感觉毛细胞; 听力保护; 耳毒性

Research Progress in the Identification of Protective Compounds against Sensory Hair Cell Damage Using the Zebrafish Model

YAO Jia¹, QIAN Fuping^{2*}, LIU Dong^{1,3*}

(¹School of Life Sciences, Nantong University, Nantong 226019, China; ²Institute of Special Environmental Medicine, Nantong University, Nantong 226019, China; ³Nantong Laboratory of Development and Diseases, Nantong 226019, China)

Abstract Sensory hair cell damage is widely recognized as a key pathological mechanism underlying hearing loss and balance dysfunction. The World Health Organization predicts that by 2050 nearly 2.5 billion people worldwide will experience some degree of hearing loss, with more than 700 million requiring hearing rehabilitation; therefore, the development of effective pharmacological strategies to protect sensory hair cells is urgently needed. In mammals, sensory hair cells exhibit extremely limited regenerative capacity and rarely undergo spontaneous repair after injury. In contrast, zebrafish, owing to their high genetic conservation with humans, short reproductive cycle, optical transparency of embryos, and superficial distribution of hair cells, have become an ideal model for elucidating the mechanisms of hair cell damage and conducting high-throughput drug screening. This review systematically summarizes the advantages of the zebrafish model, outlines the major etiological factors and molecular pathways underlying sensory hair cell damage, and describes commonly used approaches for evaluating drug efficacy, including hair cell quantification and acoustic startle response assays. Furthermore, pharmacological classes with protective effects on hair cells are reviewed, and their putative molecular targets are discussed. Finally, future research directions are proposed, with the aim of providing a theoretical framework and technical support for the development of therapeutics targeting diseases associated with sensory hair cell injury.

收稿日期: 2025-12-23 接受日期: 2026-04-13

国家自然科学基金(批准号: 82301317)资助的课题

*通信作者。E-mail: qianfuping@ntu.edu.cn; liudongtom@gmail.com

Received: December 23, 2025 Accepted: April 13, 2026

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.82301317)

*Corresponding authors. E-mail: qianfuping@ntu.edu.cn; liudongtom@gmail.com

Keywords zebrafish model; drug screening; sensory hair cells; hearing protection; ototoxicity

听觉与平衡的精准维持,有赖于内耳及侧线系统中感觉毛细胞正常的生理活动与功能完整性。药物[如氨基糖苷类(aminoglycosides, AGs)抗生素或铂类化疗药]暴露、长期噪声、衰老及遗传等因素均可造成感觉毛细胞的损伤^[1]。哺乳动物感觉毛细胞再生能力极为有限,损伤后往往难以恢复,这一特性极大限制了相关疾病的治疗手段开发。因此,建立高效的体外模型以探究毛细胞损伤机制,并筛选具有保护作用的药物,成为听觉医学领域的研究重点。

斑马鱼(*Danio rerio*)作为一种新兴的脊椎动物模式生物,近年来在听觉生理与药物研发领域展现出显著优势^[2]。其胚胎体外受精、发育过程透明,可实时观察细胞动态变化;同时,斑马鱼繁殖量大、饲养成本低,依托成熟的基因编辑技术(如CRISPR/Cas9),能够快速构建人类疾病模型^[3]。此外,斑马鱼侧线系统的感觉毛细胞与哺乳动物内耳毛细胞在结构、功能及损伤机制上高度相似,为体外模拟毛细胞损伤及药物筛选提供了理想平台^[4-5]。本文围绕斑马鱼模型在感觉毛细胞保护性药物筛选中的应用,从模型优势、药物筛选方法、毛细胞损伤机制及药物研发进展等方面展开综述,以期为该领域的深入研究提供思路。

1 斑马鱼模型在药物筛选中的优势

1.1 基因与生理机制的高度同源性

斑马鱼作为脊椎动物,其基因组与人类基因组同源性约为70%,与听觉、平衡功能相关的疾病基因[如*TMC1*(transmembrane channel-like 1)、*CDH23*(cadherin 23)等]同源性超过80%^[6],这意味着斑马鱼的毛细胞发育、信号转导及损伤应答机制与人类高度相似,例如其侧线毛细胞的机械电转导(mechano-electrical transduction, MET)通道组成[*TMC1/2*、*TMIE*(transmembrane inner ear)、*PCDH15*(protocadherin 15)等]与哺乳动物内耳毛细胞一致,均可介导机械信号向电信号的转化^[6]。此外,斑马鱼拥有完整的听觉器官(内耳)与侧线系统,且具备与人类相似的药物代谢酶系统[如细胞色素P450(cytochrome P450, CYP450)家族],能够更真实地模拟药物在体内的吸收、分布、代谢及排泄过程,弥补了细胞模型无法反映整体生理环境的局限^[7]。

1.2 实验周期短、成本低并且可视化程度高

斑马鱼胚胎在体外受精且发育过程透明,受精后24 h内即可形成如心脏、神经管等主要器官,3~5 d即可完成幼鱼发育。相比于小鼠,利用斑马鱼可在数天内完成药物对毛细胞发育与功能影响的评估,大幅缩短筛选周期。同时,斑马鱼体型小(幼鱼体长仅3~5 mm),所需饲养空间小,饲料成本仅为小鼠的1/10~1/20,且单次繁殖可产生数百枚胚胎,能够满足大规模高通量药物筛选的需求^[8]。

更为关键的是,斑马鱼早期胚胎与幼鱼身体透明,无需解剖即可通过荧光标记技术(如绿色荧光蛋白特异性标记毛细胞)结合共聚焦显微镜,实时观察药物处理后毛细胞的存活数量、形态变化及细胞内信号通路动态^[9]。例如,在研究氨基糖苷类药物的耳毒性时,可通过荧光标记直接观察药物对侧线毛细胞的损伤过程,直观评估候选药物的保护效果。

1.3 基因编辑工具成熟,便于构建疾病模型

CRISPR/Cas9、TALEN(transcription activator-like effector nuclease)等基因编辑技术在斑马鱼中已实现高效应用,可通过敲除或敲入特定基因,快速构建人类听觉疾病的同源模型^[5]。例如,敲除斑马鱼*tmc1*基因可模拟人类常染色体隐性遗传性耳聋(DFNB7/11型),该模型可用于筛选针对*TMC1*通道功能异常的修复药物;此外,通过转基因技术构建毛细胞特异性标记的转基因斑马鱼系[如*Tg(Brn3c:mGFP)*],可进一步提高药物筛选的效率与准确性。这些研究模型的建立,为针对性探究毛细胞损伤机制及筛选靶向药物提供了有力工具。

2 斑马鱼作为筛药模型的固有缺陷和解决策略

斑马鱼模型通常被明确定义为连接体外细胞模型与哺乳动物体内模型的桥梁。它填补了高通量筛选缺乏生理背景与低通量哺乳动物实验成本高昂之间的空白,是现代药物研发分层策略中的关键环节。它兼具无脊椎模型的高通量特性和脊椎动物的生理相关性,适合大规模初步药物筛选和快速药效评估。

2.1 生理微环境的差异

作为水生变温动物,斑马鱼生存在25~28 °C的环境中,主要依赖鳃进行气体交换,并且可以通过皮

肤进行辅助呼吸,与外界水体环境直接暴露接触,因此斑马鱼的毛细胞接收到的刺激也直接来源于水流中的振动。而属于恒温动物的哺乳动物的内耳则位于颞骨深部,因为其存在于封闭骨腔中,只与淋巴液直接接触,毛细胞可接受20~2 000 Hz的声波刺激,并且受到血-迷路屏障(blood-labyrinth barrier, BLB)保护。血-迷路屏障是血脑屏障的特殊延伸,可严格控制药物和营养物质进入内淋巴^[10]。由于斑马鱼缺乏这一屏障,药物可通过简单扩散直接作用于侧线毛细胞,难以真实模拟哺乳动物经口服或注射给药后的药代动力学过程。因此,斑马鱼模型无法用于评估药物穿透BLB的能力,可能导致对药物在内耳中的实际暴露水平的计算结果产生偏差。

2.2 发育阶段差异

斑马鱼药筛实验主要选在幼鱼阶段[4~5 dpf (days post-fertilization)]进行,因为斑马鱼作为筛药模型最大的优势——可视化能力,在成鱼阶段基本丧失,研究人员无法实时观察药物对斑马鱼毛细胞、血管和神经系统的影响,并且针对成鱼,必须通过腹腔注射、背鳍注射等方式逐尾给药,操作耗时且容易影响实验结果。而人类耳聋多发病于成年人和老年人,这就导致两者毛细胞处于不同的发育阶段,新生的幼鱼毛细胞具有强大的再生能力,成人的毛细胞内耳毛细胞再生能力极其有限甚至是不可再生。因此,斑马鱼模型中筛选出的保护性药物极有可能促进毛细胞再生而非直接保护毛细胞,研究人员很难界定筛选出的药物是保护性药物还是促再生药物。此外,为了能在幼鱼期完成实验,一般选用急性损伤条件模拟药物损伤,与之相反,在哺乳动物模型上则可以模拟慢性损伤,筛选出对慢性退行性耳聋有效的药物。

2.3 斑马鱼与人类药物代谢差异的核心机制

斑马鱼通常生活在25~28 °C的水体中,而人类作为恒温动物体温保持在37 °C左右,这一根本差异导致两者之间的基础代谢率、酶反应效率、药物清除率和半衰期不同^[11]。酶反应效率通常受温度影响呈一定变化规律,其温度依赖性可用温度系数描述,即温度每升高10 °C时反应速率的变化倍数,一般为2~3倍,因此斑马鱼的代谢酶活性显著低于哺乳动物。

斑马鱼基因组经历了全基因组复制事件从而导致CYP450基因家族显著扩张。目前已鉴定出约90个CYP450家族基因,而人类仅有57个。这种基因重复现象带来功能冗余和分化:约20%的人类基因在斑马

鱼中存在2个旁系同源物,它们常表现出不同的表达模式和底物特异性,从而增加了药物代谢预测的复杂性。基因组的差异导致斑马鱼与人类在药物代谢酶系统及转运蛋白方面存在显著差异。其中,ABCB1是最具临床意义的转运蛋白之一。人类ABCB1是血脑屏障、肠道和肝脏的重要外排转运蛋白,限制多种药物的组织分布。斑马鱼基因组中缺乏ABCB1的直接同源物,其功能由2个旁系同源基因*abcb4*和*abcb5*替代。这种替代带来多重影响:*abcb4*和*abcb5*的表达模式、组织分布和底物特异性与ABCB1不完全一致^[12]。某些ABCB1底物(如地高辛、紫杉醇)在斑马鱼脑内的分布可能多于人类,这一现象可能与其同源转运蛋白外排效率相对较低有关。由于斑马鱼与人类之间存在ABCB1介导的药物外排能力差异,基于斑马鱼模型进行血脑屏障穿透性评估时可能出现假阳性,即某些在斑马鱼中表现出较高脑内分布的药物,在人体内实际上可能被ABCB1有效外排。

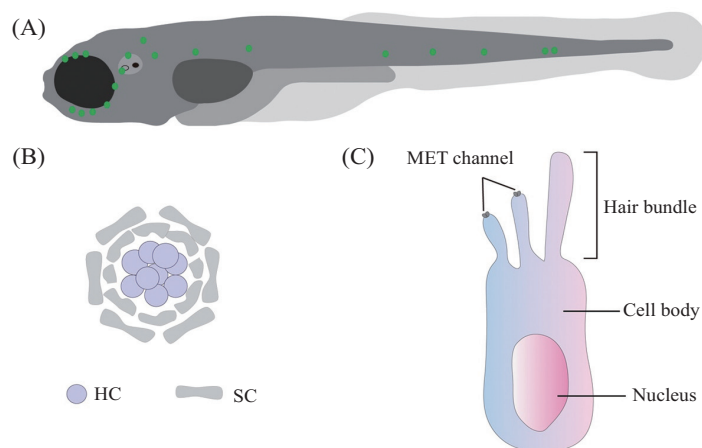
2.4 针对斑马鱼模型缺陷的有效策略

根据之前所提到的,斑马鱼作为变温动物生存于25~28 °C的环境中,而人类作为恒温动物体温常年保持在37 °C左右,因此其中一个策略是调控两种模型的温度。针对斑马鱼可以把饲养温度调升至32~34 °C,以此接近哺乳动物体温。或是同时在两种温度(28 °C和34 °C)条件下平行进行筛选从而评估药物的温度敏感性。

另外一个策略是建立斑马鱼药代动力学研究平台,通过微量采样技术、液相色谱-串联质谱联用(liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)定量分析和机制性建模,可将斑马鱼由单纯的表型筛选工具提升为具备药代动力学预测能力的整合模型^[13]。由于单条斑马鱼微量采样技术要求较高、LC-MS/MS方法开发耗时以及种属间外推方法尚缺乏统一规范等因素的限制,斑马鱼药代动力学模型尚未广泛普及应用。

3 基于斑马鱼模型筛选感觉毛细胞保护性药物的方法

在斑马鱼模型中诱导毛细胞损伤,常见的方法包括使用耳毒性药物,如氨基糖苷类抗生素(如庆大霉素)或顺铂(cisplatin),这些药物会导致毛细胞死亡。在毛细胞损伤斑马鱼模型中,使用候选药物进行处理,通过观察毛细胞的存活情况、形态变化或



A: 斑马鱼幼鱼侧线系统示意图。图中绿色点状表示侧线神经丘。B: 斑马鱼侧线神经丘的结构示意图。C: 侧线神经丘毛细胞的结构示意图。HC: 毛细胞; SC: 支持细胞; MET: 机械电转导。

A: schematic diagram of the lateral line system in zebrafish larva. The green dotted structures in the figure represent the neuromasts of the lateral line. B: schematic diagram of the structure of zebrafish lateral line neuromast. C: schematic diagram of the structure of lateral line neuromast hair cells. HC: hair cell; SC: supporting cell; MET: mechano-electrical transduction.

图1 斑马鱼侧线系统

Fig.1 The lateral line system in zebrafish

功能恢复情况来评估候选药物的保护作用。

3.1 毛细胞计数

斑马鱼的听觉器官主要由内耳、韦伯氏器与侧线系统组成。其中,侧线系统是水生脊椎动物特有的皮肤感觉器官,能感受较低频率的振动,具有控制趋流性、协助视觉测定远近物体位置的作用。神经丘是斑马鱼侧线系统的基本功能单位,如图1所示,每个神经丘中央都包含一簇受神经支配的感觉毛细胞,其功能主要为探测低频振动和局部水流,调控斑马鱼学习、逃避和捕食等行为^[14]。此外,斑马鱼的侧线感觉毛细胞在结构、功能、基因调控和对耳毒性药物的反应等方面均与人类内耳感觉毛细胞非常类似。在5 dpf时,斑马鱼侧线感觉毛细胞已基本发育成熟。神经丘毛细胞位于斑马鱼皮肤表面,非常便于活体观察^[15]。目前,斑马鱼的侧线感觉毛细胞已广泛应用于毛细胞的发育、再生和听觉障碍等研究中。通过统计毛细胞数量,可以评估药物对毛细胞的损伤作用,且毛细胞计数结果可以与行为学实验(如惊跳反应实验)相结合,进一步验证药物对毛细胞功能的影响^[16]。

3.2 行为学检测

行为学检测技术常用于评估实验动物的运动能力、高级中枢神经功能及精神状态,能全面地反映动物的整体生理与行为状态^[8]。斑马鱼具有完整的听觉功能,可通过记录其对声音刺激作出的应答

行为,从而对其听觉功能进行评估。此类方法不仅经济、可靠,而且操作简单、效果显著,为斑马鱼听觉系统功能的研究提供了一种高效的技术手段。

3.3 其他方法

除了上述两种主要方法外,还有一些其他方法可用于筛选感觉毛细胞保护性药物。例如,利用转基因技术构建听觉相关基因表达缺陷的斑马鱼模型,观察待筛选药物对其听觉功能的影响^[17]。在斑马鱼体内转入特定的编码荧光蛋白的基因,使其听觉器官或毛细胞特异性表达荧光蛋白,便于观察药物对毛细胞发育、存活及功能的影响。此外,还可以通过检测斑马鱼体内与感觉毛细胞损伤和保护相关的基因和蛋白表达水平,来评估药物的作用机制^[18]。例如,检测抗氧化酶基因、凋亡相关基因以及炎症相关因子的表达变化,了解药物是否通过调节这些基因和蛋白的表达来发挥保护作用。

4 感觉毛细胞损伤的原因及机制

临床上常见的耳毒性药物涉及多种治疗领域,其共同特点是可直接或间接损伤内耳感觉毛细胞并引发听觉或前庭功能障碍(表1)。氨基糖苷类抗生素是研究最为充分的一类耳毒性药物,常导致以高频感音神经性听力损失和前庭功能受损为特征的不可逆损伤。铂类化疗药物,尤其是顺铂,具有明确的剂量依赖性和累积性耳毒作用,其耳毒性的不良反应临床发生

率较高,常伴随耳鸣并以永久性听力下降为主要特征。袪利尿剂多引起一过性、可逆的听力下降,但在与氨基糖苷类药物联合使用时,可显著增大毛细胞损伤风险。此外,非甾体抗炎药以及抗疟药和抗风湿药在长期或大剂量应用条件下亦可诱发耳鸣和听力下降,部分病例可进展为不可逆性损伤。除上述药物外,某些其他的抗生素及抗肿瘤药物同样具有潜在耳毒性,且在肾功能不全患者或新生儿等易感人群中耳毒性的发生风险显著增加。总体而言,不同耳毒性药物在损伤靶点、严重程度及可逆性方面存在差异,但均以感觉毛细胞为关键损伤对象,凸显了系统评估药物耳毒性及开发毛细胞保护策略的重要性。

4.1 氨基糖苷类化合物

氨基糖苷类化合物是一类由氨基糖与氨基环醇通过氧桥连接而成的广谱杀菌性抗生素,于20世纪40年代被发现,由于其成本低、耐药风险低的特点,在很多情况下,尤其是在发展中国家,被认为是治疗结核病和晚期细菌感染的首选药物^[19]。在链霉素首次用于治疗结核病后,它的耳毒性和肾毒性才被发现和重视。其中的耳毒性,就是指药物引起的内耳组织损伤,主要是由药物的细胞毒性作用引起的^[25]。在临床上已经证实,使用氨基糖苷类药物治疗的患者会出现肾损伤,但是大约有20%的患者会出现永久性听力损失。

氨基糖苷类分子本身并没有毒性,如图2所示,其耳毒性主要依赖于与过渡金属离子的相互作用。氨基糖苷类分子末端的氨基糖环中,氨基氮及去质子化的羟基能够参与金属离子的络合,形成具有氧

化还原活性的螯合复合物。这些螯合复合物可催化产生活性氧(reactive oxygen species, ROS),进而诱导生物大分子的氧化损伤^[26]。耳毒性研究已证实,ROS的过量生成及氧化应激在氨基糖苷类药物诱导的毛细胞损伤中发挥关键作用^[27]。例如,铁-氨基糖苷复合物通常被认为可以加剧ROS诱导产生的内耳细胞损伤^[28]。此外,氨基糖苷类的转运还与MET通道息息相关^[9]。由于氨基糖苷类化合物是极性分子,它们不能直接穿过毛细胞的含脂质膜,但有可能通过MET通道或者内吞作用进入毛细胞内部,因此MET通道不仅是理解听觉传导过程的中心课题,也是研究耳聋及相关治疗策略的关键。

4.2 铂类化合物

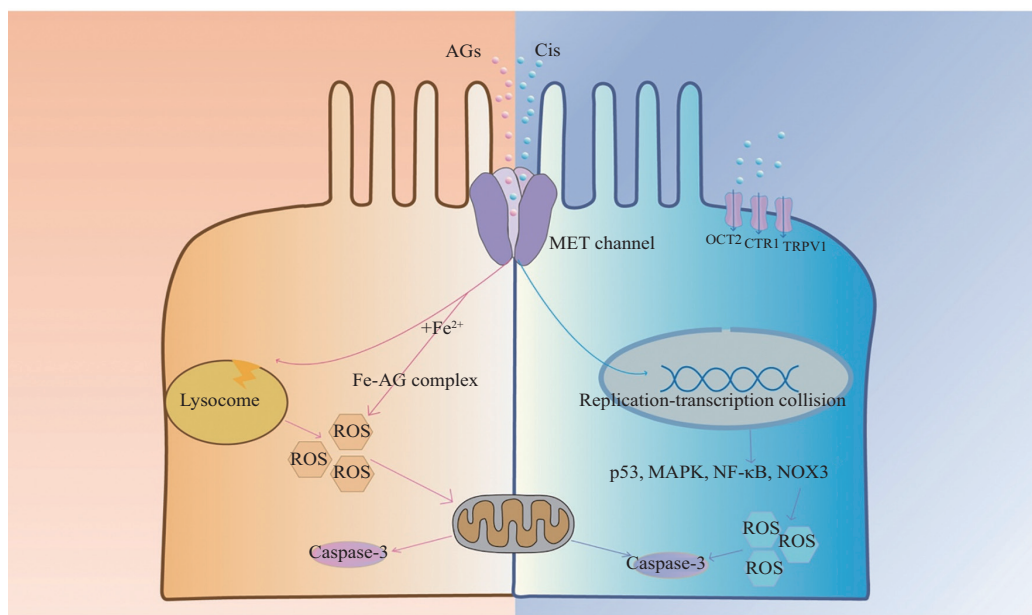
自1978年被FDA批准上市以来,顺铂作为第一代铂类抗肿瘤药物,被广泛用于卵巢癌、睾丸癌、肺癌等常见恶性肿瘤的化疗^[20]。然而,其毒性谱同样广泛:胃肠道、血液系统、肾脏、听觉系统、神经元乃至DNA均可受损,其中耳毒性是最严重、最不可逆的不良反应之一^[29]。临床统计显示,40%~80%的患者在接受顺铂化疗后出现永久性、进行性、累积性的双侧听力下降;且毒性程度与给药剂量及药物蓄积量呈正相关,治疗结束后很长时间内顺铂仍可在内耳残留^[30]。

顺铂主要靶向耳蜗感觉毛细胞,也可累及螺旋神经节神经元。如图2所示,其耳毒性机制可概括为三方面:①直接损伤听神经——通过氧化应激与细胞凋亡阻断神经传导;②在内耳组织中蓄积——诱发毛细胞氧化损伤与凋亡;③耳蜗微环境

表1 常见耳毒性药物分类

Table 1 Classification of common ototoxic drugs

药物类别 Drug category	代表性药物 Representative drugs	主要耳毒性表现 Main ototoxicity manifestations
Aminoglycoside antibiotics	Gentamicin, streptomycin, amikacin, tobramycin	Irreversible high-frequency sensorineural hearing loss and vestibular dysfunction ^[19]
Platinum-based chemotherapeutic agents	Cisplatin, carboplatin, oxaliplatin	High-frequency hearing loss and tinnitus occur in up to 31%-50% of cases and are often permanent ^[20]
Loop diuretics	Furosemide, bumetanide	Dose-dependent transient hearing loss, usually reversible; risk significantly increases when combined with aminoglycosides ^[21]
Nonsteroidal anti-inflammatory drugs	Salicylate, paracetamol, naproxen	Tinnitus and temporary hearing loss; may become irreversible with long-term high-dose use ^[22]
Antimalarial and antirheumatic drugs	Chloroquine, hydroxychloroquine, quinine	Tinnitus and hearing loss, mostly reversible; however, high-dose or long-term use may cause permanent damage ^[23]
Non-platinum chemotherapeutic agents and non-aminoglycoside antibiotics	Erythromycin, vancomycin, vincristine	Cochleotoxicity or vestibulotoxicity, with increased risk in patients with renal insufficiency or in neonates ^[24]



AGs: 氨基糖苷类; Cis: 顺铂。

AGs: aminoglycosides; Cis: cisplatin.

图2 氨基糖苷类和铂类药物损伤毛细胞的机制

Fig.2 Mechanisms of hair cell damage induced by aminoglycosides and platinum-based drugs

破坏——激活 TRPV1(transient receptor potential vanilloid 1)、NOX3(NADPH oxidase 3)等信号轴, 引发水肿、炎症及细胞损伤。高水平 ROS 是驱动上述过程的核心因素^[31-36]。

第二代铂类药物卡铂(carboplatin)通过引入环丁烷-1,1-二羧酸配体, 降低了其水解速率, 从而显著降低了其毒性; 第三代铂类药物奥沙利铂(oxaliplatin)则通过二氨基环己烷(diaminocyclohexane, DACH)配体实现化学结构、作用机制与毒性谱的全面升级^[32]。尽管三代铂类药物均通过与 DNA 形成链间及链内交联, 阻断了 DNA 复制与转录, 且其分子作用靶点具有高度一致性, 但不同药物在耳毒性表现上仍存在显著差异。当前铂类药物的耳保护策略主要聚焦于: ①抑制药物摄取过程[阻断铂类药物通过 OCT2(organic cation transporter 2)、CTR1(copper transporter 1)、MET、TRPV1 等通道进入内耳毛细胞的途径]; ②抗氧化干预——清除 ROS、抑制铁死亡(ferroptosis)及减轻线粒体损伤。上述策略为铂类药物耳毒性的防治提供了重要的潜在干预靶点^[35]。

4.3 噪声

噪声性听力减退(noise-induced hearing loss, NIHL)是人类因长期暴露于噪声环境而出现的缓慢、进行性、感音神经性听力下降, 位列全球听力损伤

原因的第二位, 仅次于老年性耳聋^[37]。持续噪声可诱发毛细胞凋亡与螺旋神经节神经元变性, 导致言语识别率下降、听阈升高, 最终诱发不可逆的听力障碍^[38]。社会进步虽带来生活便利, 却也显著增加了噪声接触机会。研究表明, 日均声压级 ≥ 85 dB 的长期暴露即可引起 NIHL; 高强度噪声主要来源于职业场景(工厂、建筑工地)及娱乐设备(个人音乐播放器)^[39]。当下, 耳机的高频使用正使年轻群体面临前所未有的听力风险——LIU 等^[40]的研究指出, 每周累计暴露于超过 89 dB 的噪声环境 5 h 以上, 随时间推移即可导致永久性听力损伤。

近三十年的机制研究明确, NIHL 的核心病理环节是氧化应激: 噪声诱导 ROS 爆发, 打破机体氧化-抗氧化平衡。ROS 可直接作用于膜脂质的不饱和脂肪酸, 触发脂质过氧化, 进而损伤 DNA、线粒体及亚细胞器; 同时激活 Caspase 级联反应, 驱动毛细胞凋亡。值得注意的是, 即使脱离噪声环境, 氧化应激仍可延续, 对毛细胞造成持续伤害^[41]。迄今, NIHL 尚缺乏根治药物, 临床仅依赖外源性抗氧化剂、钙拮抗剂或糖皮质激素进行症状缓解。鉴于人类毛细胞不可再生, 噪声所致损伤几乎不可逆。

4.4 其他因素

除了噪声外, 还有许多其他风险因素可能会导致听力损伤, 而这些因素会与噪声和药物共同作用加快

听力损失的进程。这些风险大致可分为两类:可改变因素和不可改变因素。其中,可改变的因素包括吸烟、糖尿病和缺乏运动等习惯因素,不可改变因素包括年龄、种族和遗传等。另外,性别虽然不会影响这些因素的影响程度,但是性别会带来一些不同的行为,从而影响听力损失的概率,譬如:男性相较于女性,会从事更多存在高风险罹患听力损失的活动和工作^[42]。

5 基于斑马鱼模型筛选的感觉毛细胞保护性药物

5.1 MET通道阻断剂

在听觉系统的核心机制中,耳蜗毛细胞的MET通道举足轻重。MET通道位于毛细胞顶端的静纤毛束中,是由TMC1/2、TMIE及PCDH15等蛋白共同组成的多蛋白复合体,可将机械刺激(声波/水流)转化为电信号,是听觉和平衡觉的第一级换能装置。声波传入耳蜗后,推动毛细胞顶端静纤毛束偏斜,瞬间牵拉顶端连接(tip-link),触发MET通道开放;K⁺与Ca²⁺随之涌入,毛细胞去极化并产生可被听觉神经编码的电信号。换言之,MET通道将声音的机械能转化为神经电脉冲,是“听得到”的第一关。

该通道由TMC1/2、TMIE、PCDH15、CDH23、CIB2(calcium and integrin binding family member 2)、LHFPL5(LHFPL tetraspan subfamily member 5)等蛋白构成的超分子复合体组成,各亚基协同完成机械-电耦合,并参与平衡觉感知^[43]。MET通道的活性不仅决定信号转导效率,其介导的Ca²⁺内流还可进一步调控毛细胞的生长、迁移等多种生物学过程。因此,阐明MET通道的正常功能与调控网络,是揭示听觉感知奥秘、解析耳聋分子机制的关键切入点^[44]。

5.1.1 ORC-13661 ORC-13661是由先导化合物PROTO-1优化而来的新一代高亲和力MET通道阻断剂,可快速、可逆地封闭外毛细胞机械-电转导通道,从而减轻氨基糖苷类抗生素和顺铂的耳毒性^[45]。在1.3 mmol/L Ca²⁺条件下,ORC-13661半阻断浓度仅为0.14 μmol/L,将其洗脱后电流即刻恢复,提示其阻断作用迅速且完全可逆。电生理与成像实验证实,ORC-13661通过竞争性占据MET通道,显著抑制新霉素-德州红(neomycin-Texas red, neo-TR)及顺铂进入毛细胞,从源头降低药物蓄积。斑马鱼模型显示,该化合物几乎完全阻断neo-TR内流;在大鼠体内实验中,即使给予200 mg/kg

的高剂量处理,亦未观察到听阈变化,提示其在治疗剂量范围内对听觉功能无明显不良影响。

目前,ORC-13661已获美国FDA批准进入人类临床试验,有望成为全球首个针对MET通道的临床级耳保护剂,为接受铂类或氨基糖苷类化疗的患者提供精准的听力保护方案。I期研究显示200 mg/kg剂量下ORC-13661对听力无不良影响,II期临床试验仍在进行中。

5.1.2 UoS-7692 UoS-7692是一种新近发现的小分子抑制剂,其结构以环状胺连接苯并咪唑与二氟苯基两大芳香基团,可精准嵌入MET通道结合位点,阻断氨基糖苷类药物经MET通道内流。体内外实验显示,该化合物使庆大霉素诱导的毛细胞损失显著下降,且不影响抗生素的抗菌活性,兼具耳保护效力与治疗安全性^[46]。UoS-7692因此成为首个可与氨基糖苷类联合使用、不削弱杀菌效果的潜在耳保护剂,为临床耳保护性药物的设计与开发提供了关键先导结构。目前,UoS-7692正处于临床前优化阶段,在哺乳动物模型中进行慢性毒性评估。

5.1.3 d-筒箭毒碱和小檗胺 d-筒箭毒碱(d-tubocurarine, dTC)的耳保护研究源于“老药新用”,而非传统的高通量筛选策略^[46]。20世纪90年代,dTC已被证实为MET通道的“开放阻断剂”,但其应用一直局限于神经肌肉阻滞。2005年,氨基糖苷类被发现经同一通道进入毛细胞诱发耳毒性;2011年ALHARAZ-NEH等^[9]首次证明:dTC可阻断MET通道,显著减少庆大霉素-德州红(gentamicin-Texas red, GTTR)在大鼠耳蜗的蓄积,从而发挥保护作用。换言之,dTC的“筛药”本质是对已知机制的深度再挖掘,跳过了常规组合化学流程,为耳保护剂的开发提供了新范式,但尚未开展临床试验。

与之形成对照的是小檗胺(berbamine)的“经典路线”:研究者通过对502种天然产物进行高通量筛选,发现其具有最优的毛细胞保护效果;后续研究进一步证实,小檗胺同样通过阻断MET通道,减少药物内流^[47]。以该天然产物为母核,该研究团队合成了16种衍生物,并在斑马鱼模型中进一步得到了保护力更强、毒性更低的BA-6、BA-7等候选分子;部分衍生物兼具MET阻断与铁死亡抑制双重作用。

尽管两种化合物均为可穿透性MET通道阻断剂,通过竞争性抑制氨基糖苷内流实现毛细胞保护,但高浓度安全性却截然不同:dTC在小鼠耳蜗中即

使给予高剂量仍不会引起毛细胞损伤,而等浓度小檗碱已可诱发毛细胞死亡^[48]。这一差异不仅表明dTC更具临床转化潜力——无哺乳动物毒性、阻断效率高、结构稳定——也再次提醒:斑马鱼筛选结果必须在哺乳动物模型中验证,以排除种属差异导致的假阳性。

5.2 铁死亡抑制剂

铁死亡是一种铁依赖性的脂质过氧化驱动的调节性细胞死亡方式,特征为谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4)失活和脂质活性氧积累,形态学上表现为线粒体萎缩、膜密度增加。研究证实,铁死亡与耳毒性密切相关,不仅是顺铂、氨基糖苷类抗生素和噪声等致聋因素损伤毛细胞的关键机制之一,还是当前耳保护药物研发的重要干预靶点^[49]。2024年CHUANG等^[50]从天然产物库中,利用斑马鱼模型发现铁死亡抑制剂[小檗碱(berberine)、阿特匹林C(artepillin C)、补骨脂酚(bakuchiol)、甘草酸(glycyrrhizin)、补骨脂定(psoralidin)、紫柳因(butein)等]通过恢复GPX4活性或上调SLC7A11(solute carrier family 7 member 11)表达,阻断脂质过氧化链式反应。GPX4是抵御铁死亡的关键抗氧化酶,它利用谷胱甘肽(glutathione, GSH)作为还原当量,将有毒的脂质氢过氧化物还原为无毒的脂质醇,从而阻断脂质过氧化链式反应。铁死亡抑制剂主要通过两种途径发挥作用:一种是直接激活或稳定SLC7A11的表达与功能,维持GSH合成底物的充足供应;另一种是直接靶向GPX4,通过提供外源性亲脂性自由基捕获抗氧化剂来模拟GPX4的活性,或直接上调GPX4蛋白表达与酶活性,增强细胞清除脂质过氧化物的能力。此外,部分铁死亡抑制剂还可通过螯合游离铁离子(如去铁胺),减少芬顿反应产生的羟基自由基,从源头抑制脂质过氧化。目前这些药物仍处于临床前阶段,多靶点作用机制导致其特异性不足,血药浓度与内耳暴露量关系仍不明。

5.3 氧化应激抑制剂

顺铂、氨基糖苷类抗生素或噪声等刺激作用于耳蜗,会迅速打破毛细胞内的氧化还原平衡:一方面直接抑制超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶等抗氧化酶表达,另一方面激活NOX3、黄嘌呤氧化酶等产生ROS的酶系,导致ROS大量积聚^[20]。过量的ROS可攻击线粒体膜脂质,引发脂质过氧化和膜电位崩溃,进而导致细胞色素C释放并激活Caspase-3/9级联反应,最终诱导毛细胞凋

亡^[51]。此外,ROS还能与一氧化氮形成过氧亚硝酸盐,造成蛋白质硝化和DNA损伤,并触发NLRP3炎症小体活化,放大炎症反应,进一步加重耳蜗损伤^[27]。因此,氧化应激不仅是耳毒性发生的早期事件,更是连接代谢紊乱、线粒体功能障碍和细胞死亡的关键桥梁,针对ROS的抗氧化干预已成为防治耳毒性听力损失的重要策略。目前,抗氧化应激的药物主要包括ROS清除剂、抗氧化酶激活剂、线粒体靶向抗氧化剂、铁死亡抑制剂等(表2)。2024年YANG等^[52]从800种植物多酚的多酚库中筛选出如下三种药物:槲皮素、儿茶素、单宁酸。这三种药物显著下调线粒体ROS水平与信号转导及转录激活因子1(signal transducer and activator of transcription 1, STAT1)磷酸化水平,减少新霉素或顺铂诱导的毛细胞凋亡;目前临床上槲皮素等氧化应激抑制剂常作为膳食补充剂应用,因为其生物利用度极低,在内耳难以达到有效的应用浓度。未来,可能通过纳米制剂递送、结构修饰改善膜通透性等方法提高其生物利用度。

6 基于哺乳动物-斑马鱼模型的感觉毛细胞保护性药物验证研究

除由斑马鱼侧线模型筛选出的耳保护化合物外,大量候选药物是由哺乳动物耳蜗外植体或整体模型完成初筛与构效优化后,才在斑马鱼模型上进行验证与毒性复核,从而构成“哺乳动物-斑马鱼”双向验证的筛选闭环。在此框架下,FM1-43及其衍生物^[60-61]、硫代硫酸钠^[62-64]、D-蛋氨酸^[65-67]、N-乙酰半胱氨酸^[68-72]、甲泼尼龙^[73]、地塞米松^[74-78]与辅酶Q10^[79-81]等经典抗氧化剂均已通过斑马鱼模型证实其耳保护活性,进一步丰富了跨物种验证的化合物库,并为临床转化提供了可靠的安全性数据。

7 结语

斑马鱼侧线神经丘已发展为当前最成熟、通量最高的“体内毛细胞损伤-保护”筛选平台:其毛细胞在发育遗传、结构功能及耳毒敏感性方面与哺乳动物耳蜗高度保守,因位于体表而可实现活体、实时、无创成像;配合96孔微板与自动化共聚焦计数,仅需3~5 d,即可同步完成形态与行为学双评估,显著压缩了传统啮齿类模型数月乃至数年的研发时长。过去十余年的研究已证明,该平台不仅能复现临床上由氨基糖苷类抗生素、顺铂、噪声等因素引起的典型耳

表2 抗氧化应激的药物分类
Table 2 Classification of antioxidant drugs

干预类型 Intervention type	作用靶点 Target	作用机制 Mechanism of action	代表性药物 Representative drugs	优势与局限 Advantages and limitations
ROS scavengers	Hydroxyl radical, superoxide anion	Directly neutralize excessive ROS	<i>N</i> -acetylcysteine, glutathione	Broad-spectrum antioxidant activity; however, may interfere with physiological redox signaling ^[53]
Antioxidant enzyme activators	Nrf2/ARE pathway, SOD, CAT, GPX	Enhance endogenous antioxidant defense systems	Sulforaphane ^[54] , curcumin ^[55]	Strengthen cellular defense capacity; however, effects may be delayed
Mitochondria-targeted antioxidants	Mitochondrial electron transport chain complex I/III	Selectively scavenge mitochondrial ROS	MitoQ ^[56] , SKQ1 ^[57]	Precisely target the primary source of ROS; however, require efficient membrane permeability
Ferroptosis inhibitors	GPX4, SLC7A11, Fe ³⁺	Inhibit lipid peroxidation chain reactions	Ferrostatin-1 ^[58] , liproxstatin-1 ^[59]	Target a novel cell death pathway with high specificity

毒性损伤, 还可用于筛选多种已上市药物的毛细胞保护作用, 并进一步解析其作用靶点及最佳干预窗口。

斑马鱼与人类药物代谢速率的差异是客观存在且不可完全消除的, 但通过系统性的应对策略, 可以量化、管理和最小化这一差异的影响。斑马鱼药物筛选的价值不在于完全模拟人类代谢, 而在于以最高效率识别具有进一步验证潜力的候选化合物, 而对物种间代谢差异的合理管理是实现这一转化价值的关键。

尽管如此, 但随着 CRISPR/Cas9、转基因报告系统、单细胞转录组及微流控-类器官联用技术的发展, 斑马鱼模型正从“表型导向”的快速筛选转向“机制驱动”的靶点验证, 为发现新型耳保护药物、筛选个体化用药标志物及探索基因-药物联合干预策略提供了低成本、高效率的研究途径。其中, 基于单细胞多组学的个体化耳保护药物开发值得关注: 通过比较斑马鱼与哺乳动物毛细胞损伤的差异, 可识别细胞特异性标志物, 并结合患者内耳的蛋白质组特征, 构建跨物种保守的损伤响应数据库。在此基础上, 有望开发用于预测个体药物敏感性的诊断工具, 并进一步推动耳保护策略由统一预防向个体化治疗转变。未来, 建立幼鱼到成鱼的连续观察体系、整合内耳与侧线的同步评估方法, 以及免疫-代谢多组学的标准化方案, 将进一步发挥斑马鱼在听觉药理学研究中的价值, 推动耳保护药物更快进入临床, 为听力损失患者提供更有效的治疗选择。

参考文献 (References)

- [1] TUDEEN M, WILLIAMS M P, ORLANDO F A, et al. Otology: hearing loss [J]. *FP Essent*, 2024, 542: 7-13.
- [2] MACRAE C A, PETERSON R T. Zebrafish as tools for drug discovery [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2015, 14(10): 721-31.
- [3] TAN J L, ZON L I. Chemical screening in zebrafish for novel biological and therapeutic discovery [J]. *Methods Cell Biol*, 2011, 105: 493-516.
- [4] ZHENG L, SHEN Q S, ZHAO T, et al. A novel functional method of protector screening for zebrafish lateral line hair cells via the acoustic escape response [J]. *Neurosci Bull*, 2025, 41(9): 1537-52.
- [5] ABLAIN J, DURAND E M, YANG S, et al. A CRISPR/Cas9 vector system for tissue-specific gene disruption in zebrafish [J]. *Dev Cell*, 2015, 32(6): 756-64.
- [6] YANG S Z, CAI Q F, BARD J, et al. Variation analysis of transcriptome changes reveals cochlear genes and their associated functions in cochlear susceptibility to acoustic overstimulation [J]. *Hear Res*, 2015, 330(Pt A): 78-89.
- [7] SILVA BRITO R, CANEDO A, FARIAS D, et al. Transgenic zebrafish (*Danio rerio*) as an emerging model system in ecotoxicology and toxicology: historical review, recent advances, and trends [J]. *Sci Total Environ*, 2022, 848: 157665.
- [8] SANTOS F, MACDONALD G, RUBEL E W, et al. Lateral line hair cell maturation is a determinant of aminoglycoside susceptibility in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Hear Res*, 2006, 213(1/2): 25-33.
- [9] ALHARAZNEH A, LUK L, HUTH M, et al. Functional hair cell mechanotransducer channels are required for aminoglycoside ototoxicity [J]. *PLoS One*, 2011, 6(7): e22347.
- [10] QUIÑONEZ-SILVERO C, HÜBNER K, HERZOG W. Development of the brain vasculature and the blood-brain barrier in zebrafish [J]. *Dev Biol*, 2020, 457(2): 181-90.
- [11] LAHIRI K, VALLONE D, GONDI S B, et al. Temperature regulates transcription in the zebrafish circadian clock [J]. *PLoS Biol*, 2005, 3(11): e351.
- [12] SCHULZ J A, HARTZ A M S, BAUER B. ABCB1 and ABCG2 regulation at the blood-brain barrier: potential new targets to improve brain drug delivery [J]. *Pharmacol Rev*, 2023, 75(5): 815-53.
- [13] KANTAE V, KREKELS E H, ORDAS A, et al. Pharmacokinetic modeling of paracetamol uptake and clearance in zebrafish larvae: expanding the allometric scale in vertebrates with five orders of magnitude [J]. *Zebrafish*, 2016, 13(6): 504-10.
- [14] GHYSEN A, DAMBLY-CHAUDIERE C. Development of the zebrafish lateral line [J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2004, 14(1): 67-73.

- [15] NAYAK G D, RATNAYAKA H S, GOODYEAR R J, et al. Development of the hair bundle and mechanotransduction [J]. *Int J Dev Biol*, 2007, 51(6/7): 597-608.
- [16] COFFIN A B, OU H, OWENS K N, et al. Chemical screening for hair cell loss and protection in the zebrafish lateral line [J]. *Zebrafish*, 2010, 7(1): 3-11.
- [17] 冯晓, 齐麟, 孟娟. 斑马鱼耳聋基因Gfi与POU4f3的关联性[J]. 河南大学学报: 医学版 (FENG X, QI L, MENG J. The relationship between Gfi and Pou4f3 by zebrafish [J]. *Journal of Henan University, Medical Science*), 2014, 33(4): 267-9.
- [18] 杨佳颖, 王璇璇, 范纯新. 利用斑马鱼侧线神经丘鉴定虾青素和牛磺酸的毛细胞保护作用[J]. 基因组学与应用生物学 (YANG J Y, WANG X X, FAN C X. Identifying the effects of astaxanthin and taurine on hair cells protection using lateral line neuromast of zebrafish [J]. *Genomics and Applied Biology*), 2023, 42(10): 1079-87.
- [19] BAN Y H, SONG M C, PARK J W, et al. Minor components of aminoglycosides: recent advances in their biosynthesis and therapeutic potential [J]. *Nat Prod Rep*, 2020, 37(3): 301-11.
- [20] SCHACHT J, TALASKA A E, RYBAK L P. Cisplatin and aminoglycoside antibiotics: hearing loss and its prevention [J]. *Anat Rec*, 2012, 295(11): 1837-50.
- [21] LIN B M, CURHAN S G, WANG M, et al. Hypertension, diuretic use, and risk of hearing loss [J]. *Am J Med*, 2016, 129(4): 416-22.
- [22] KYLE M E, WANG J C, SHIN J J. Impact of nonaspirin nonsteroidal anti-inflammatory agents and acetaminophen on sensorineural hearing loss: a systematic review [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2015, 152(3): 393-409.
- [23] POLANSKI J F, TANAKA E A, BARROS H, et al. Chloroquine, hydroxychloroquine and hearing loss: a study in systemic lupus erythematosus patients [J]. *The Laryngoscope*, 2021, 131(3): E957-E960.
- [24] BRUMMETT R E, FOX K E. Vancomycin- and erythromycin-induced hearing loss in humans [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1989, 33(6): 791-6.
- [25] VU A A, NADARAJA G S, HUTH M E, et al. Integrity and regeneration of mechanotransduction machinery regulate aminoglycoside entry and sensory cell death [J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e54794.
- [26] SELIMOGLU E. Aminoglycoside-induced ototoxicity [J]. *Curr Pharm Des*, 2007, 13(1): 119-26.
- [27] TAN W J T, SONG L. Role of mitochondrial dysfunction and oxidative stress in sensorineural hearing loss [J]. *Hear Res*, 2023, 434: 108783.
- [28] OWENS K N, CUNNINGHAM D E, MACDONALD G, et al. Ultrastructural analysis of aminoglycoside-induced hair cell death in the zebrafish lateral line reveals an early mitochondrial response [J]. *J Comp Neurol*, 2007, 502(4): 522-43.
- [29] NAKASHIMA T, TERANISHI M, HIBI T, et al. Vestibular and cochlear toxicity of aminoglycosides: a review [J]. *Acta Otolaryngol*, 2000, 120(8): 904-11.
- [30] MCATEE D, ABDELMONEIM A. A zebrafish-based acoustic motor response (AMR) assay to evaluate chemical-induced developmental neurotoxicity [J]. *Neurotoxicology*, 2024, 103: 60-70.
- [31] KROS C J, STEYGER P S. Aminoglycoside- and cisplatin-induced ototoxicity: mechanisms and otoprotective strategies [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2019, 9(11): a033548
- [32] LI K H, ZHAO Y Y, CHENG H L, et al. Ototoxicity among cisplatin, carboplatin, and oxaliplatin in zebrafish model [J]. *Environ Toxicol*, 2024, 39(7): 4058-65.
- [33] RYBAK L P, WHITWORTH C A, MUKHERJEA D, et al. Mechanisms of cisplatin-induced ototoxicity and prevention [J]. *Hear Res*, 2007, 226(1/2): 157-67.
- [34] BERTOLINI P, LASSALLE M, MERCIER G, et al. Platinum compound-related ototoxicity in children: long-term follow-up reveals continuous worsening of hearing loss [J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2004, 26(10): 649-55.
- [35] MCKEAGE M J. Comparative adverse effect profiles of platinum drugs [J]. *Drug Saf*, 1995, 13(4): 228-44.
- [36] HAN L, WANG Z J, WANG D Q, et al. Mechanisms and otoprotective strategies of programmed cell death on aminoglycoside-induced ototoxicity [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2023, 11: 1305433.
- [37] DING T H, YAN A H, LIU K. What is noise-induced hearing loss [J]? *Br J Hosp Med*, 2019, 80(9): 525-9.
- [38] 王慧, 时海波. 噪声致听觉系统损害的研究进展 [J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志 (WANG H, SHI H B. Auditory health effects induced by noise exposure [J]. *J Clin Otorhinolaryngol Head Neck Surg*), 2019, 33(8): 700-3.
- [39] VAN EYNDE C, DENYS S, DESLOOVERE C, et al. Speech-in-noise testing as a marker for noise-induced hearing loss and tinnitus [J]. *B-ENT*, 2016, 12(Suppl.26/1): 185-91.
- [40] LIU L J, XUAN C Y, SHEN P, et al. Hippocampal mechanisms underlying impairment in spatial learning long after establishment of noise-induced hearing loss in CBA mice [J]. *Front Syst Neurosci*, 2018, 12: 35.
- [41] WU F, XIONG H, SHA S H. Noise-induced loss of sensory hair cells is mediated by ROS/AMPK α pathway [J]. *Redox Biol*, 2020, 29: 101406.
- [42] WARNER-CZYZ A D, CAIN S. Age and gender differences in children and adolescents' attitudes toward noise [J]. *Int J Audiol*, 2016, 55(2): 83-92.
- [43] PAN B F, GELEOC G S, ASAI Y, et al. TMC1 and TMC2 are components of the mechanotransduction channel in hair cells of the mammalian inner ear [J]. *Neuron*, 2013, 79(3): 504-15.
- [44] OUYANG L L, MA L, FENG Y. Protective effects of MET channels on aminoglycosides- and cisplatin-induced ototoxicity [J]. *Int J Med Sci*, 2025, 22(3): 732-44.
- [45] KITCHER S R, KIRKWOOD N K, CAMCI E D, et al. ORC-13661 protects sensory hair cells from aminoglycoside and cisplatin ototoxicity [J]. *JCI Insight*, 2019, 4(15): e126764
- [46] KENYON E J, KIRKWOOD N K, KITCHER S R, et al. Identification of a series of hair-cell MET channel blockers that protect against aminoglycoside-induced ototoxicity [J]. *JCI Insight*, 2021, 6(7): e145704
- [47] KIRKWOOD N K, O'REILLY M, DERUDAS M, et al. d-tubocurarine and berbamine: alkaloids that are permeant blockers of the hair cell's mechano-electrical transducer channel and protect from aminoglycoside toxicity [J]. *Front Cell Neurosci*, 2017, 11: 262.
- [48] HUDSON A M, LOCKARD G M, NAMJOSHI O A, et al. Berbamine analogs exhibit differential protective effects from aminoglycoside-induced hair cell death [J]. *Front Cell Neurosci*, 2020, 14: 234.
- [49] PASDELOU M P, BYELYAYEVA L, MALMSTRÖM S, et al. Ototoxicity: a high risk to auditory function that needs to be monitored in drug development [J]. *Front Mol Neurosci*, 2024, 17: 1379743.

- [50] CHUANG Y T, YEN C Y, CHIEN T M, et al. Ferroptosis-regulated natural products and miRNAs and their potential targeting to ferroptosis and exosome biogenesis [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(11): 6083.
- [51] 顾晓娜, 戴艳红, 余万东. 抗氧化应激防治噪声性聋的研究进展 [J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*(GU X N, DAI Y H, SHE W D. Research progress on antioxidant therapy and prevention in noise-induced hearing loss [J]. *J Clin Otorhinolaryngol Head Neck Surg*), 2021, 35(9): 850-3.
- [52] YANG H M, ZONG T, LIU J, et al. Rutin attenuates gentamycin-induced hair cell injury in the zebrafish lateral line via suppressing STAT1 [J]. *Mol Neurobiol*, 2024, 61(11): 9548-61.
- [53] LIU J T, HAN X Y, ZHANG T Y, et al. Reactive oxygen species (ROS) scavenging biomaterials for anti-inflammatory diseases: from mechanism to therapy [J]. *J Hematol Oncol*, 2023, 16(1): 116.
- [54] SCHEPICI G, BRAMANTI P, MAZZON E. Efficacy of sulforaphane in neurodegenerative diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(22): 8637.
- [55] SADEGHI M, DEHNAVI S, ASADIRAD A, et al. Curcumin and chemokines: mechanism of action and therapeutic potential in inflammatory diseases [J]. *Inflammopharmacology*, 2023, 31(3): 1069-93.
- [56] XIAO L, XU X X, ZHANG F, et al. The mitochondria-targeted antioxidant MitoQ ameliorated tubular injury mediated by mitophagy in diabetic kidney disease via Nrf2/PINK1 [J]. *Redox Biol*, 2017, 11: 297-311.
- [57] LIU B L, CHEN L, GAO M, et al. A comparative study of the efficiency of mitochondria-targeted antioxidants MitoTEMPO and SKQ1 under oxidative stress [J]. *Free Radic Biol Med*, 2024, 224: 117-29.
- [58] MIOTTO G, ROSSETTO M, DI PAOLO M L, et al. Insight into the mechanism of ferroptosis inhibition by ferrostatin-1 [J]. *Redox Biol*, 2020, 28: 101328.
- [59] COSTA I, BARBOSA D J, BENFEITO S, et al. Molecular mechanisms of ferroptosis and their involvement in brain diseases [J]. *Pharmacol Ther*, 2023, 244: 108373.
- [60] COCHILLA A J, ANGLESON J K, BETZ W J. Monitoring secretory membrane with FM1-43 fluorescence [J]. *Annu Rev Neurosci*, 1999, 2: 1-10.
- [61] GALE J E, MARCOTTI W, KENNEDY H J, et al. FM1-43 dye behaves as a permeant blocker of the hair-cell mechanotransducer channel [J]. *J Neurosci*, 2001, 21(18): 7013-25.
- [62] DHILLON S. Sodium thiosulfate: pediatric first approval [J]. *Paediatr Drugs*, 2023, 25(2): 239-44.
- [63] BROCK P R, YEOMANS E C, BELLMAN S C, et al. Cisplatin therapy in infants: short and long-term morbidity [J]. *Br J Cancer*, 1992, 18: S36-S40.
- [64] BROCK P, MEIJER A, KOGNER P, et al. Sodium thiosulfate as cisplatin otoprotectant in children: the challenge of when to use it [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2023, 70(5): e30248.
- [65] CAMPBELL K C, MEECH R P, RYBAK L P, et al. The effect of D-methionine on cochlear oxidative state with and without cisplatin administration: mechanisms of otoprotection [J]. *J Am Acad Audiol*, 2003, 14(3): 144-56.
- [66] CAMPBELL K C, MEECH R P, KLEMENS J J, et al. Prevention of noise- and drug-induced hearing loss with D-methionine [J]. *Hear Res*, 2007, 226(1/2): 92-103.
- [67] FOX D J, COOPER M D, SPEIL C A, et al. D-methionine reduces tobramycin-induced ototoxicity without antimicrobial interference in animal models [J]. *J Cyst Fibros*, 2016, 15(4): 518-30.
- [68] RUSHWORTH G F, MEGSON I L. Existing and potential therapeutic uses for N-acetylcysteine: the need for conversion to intracellular glutathione for antioxidant benefits [J]. *Pharmacol Ther*, 2014, 141(2): 150-9.
- [69] RAGHU G, BERK M, CAMPOCHIARO P A, et al. The multifaceted therapeutic role of N-acetylcysteine (NAC) in disorders characterized by oxidative stress [J]. *Curr Neuropharmacol*, 2021, 19(8): 1202-24.
- [70] ROSENHALL U, SKOOG B, MUHR P. Treatment of military acoustic accidents with N-acetyl-L-cysteine (NAC) [J]. *Int J Audiol*, 2019, 58(3): 151-7.
- [71] CHEN C H, YOUNG Y H. N-acetylcysteine as a single therapy for sudden deafness [J]. *Acta Oto-laryngol*, 2017, 137(1): 58-62.
- [72] FELDMAN L, SHERMAN R A, WEISSGARTEN J. N-acetylcysteine use for amelioration of aminoglycoside-induced ototoxicity in dialysis patients [J]. *Semin Dialysis*, 2012, 25(5): 491-4.
- [73] CHEN L C, CHEN H H, CHAN M H. Calcium channel inhibitor and extracellular calcium improve aminoglycoside-induced hair cell loss in zebrafish [J]. *Arch Toxicol*, 2024, 98(6): 1827-42.
- [74] TAŞ B M, ŞİMŞEK G, AZMAN M, et al. Efficacy of 2 different intratympanic steroid regimen on prevention of cisplatin ototoxicity: an experimental study [J]. *ENT-Ear Nose Throat*, 2021, 100(6): 417-22.
- [75] ÖZEL H E, ÖZDOĞAN F, GÜRGEN S G, et al. Comparison of the protective effects of intratympanic dexamethasone and methylprednisolone against cisplatin-induced ototoxicity [J]. *J Laryngol Otol*, 2016, 130(3): 225-34.
- [76] QIN J Y, HUANG G, LIN X Y, et al. Efficacy of methylprednisolone sodium succinate combined with acoustic resonance therapy on inflammatory response indicators and cerebral microcirculation in patients with sudden sensorineural hearing loss [J]. *Eur J Med Res*, 2025, 30(1): 547.
- [77] GAO Z W, SCHWIEGER J, MATIN-MANN F, et al. Dexamethasone for inner ear therapy: biocompatibility and bio-efficacy of different dexamethasone formulations *in vitro* [J]. *Biomolecules*, 2021, 11(12): 1896.
- [78] LEE J H, OH S H, KIM T H, et al. Anti-apoptotic effect of dexamethasone in an ototoxicity model [J]. *Biomater Res*, 2017, 21: 4.
- [79] GARRIDO-MARAVÉ J, CORDERO M D, OROPESA-AVILA M, et al. Clinical applications of coenzyme Q10 [J]. *Front Biosci*, 2014, 19(4): 619-33.
- [80] ASTOLFI L, SIMONI E, VALENTE F, et al. Coenzyme Q10 plus multivitamin treatment prevents cisplatin ototoxicity in rats [J]. *PLoS One*, 2016, 11(9): e0162106.
- [81] OJANO-DIRAIN C P, ANTONELLI P J, LE PRELL C G. Mitochondria-targeted antioxidant MitoQ reduces gentamicin-induced ototoxicity [J]. *Otol Neurotol*, 2014, 35(3): 533-9.