

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.201801001

· 专家论坛 ·

## 精准医疗在耳聋治疗中的作用

刘学忠<sup>1,2</sup>, 桑树山<sup>1</sup>, 刘亚兰<sup>1</sup>

(1. 中南大学湘雅医院耳鼻咽喉头颈外科耳鼻咽喉重大疾病湖南省重点实验室, 湖南长沙 410008; 2. 迈阿密大学米勒医学院耳鼻咽喉科, 美国佛罗里达 33136)



**专家简介** 刘学忠, 美国籍华人, 籍贯为重庆綦江, 华西医科大学医学系本科, 英国曼彻斯特大学医学遗传与听力学博士, 英国牛津国家医学科学研究院(MRC)基因研究所及帝国理工大学博士后, 美国迈阿密大学耳鼻咽喉及外科住院医师专训、国际著名的遗传与耳病专家。美国迈阿密大学终身教授和讲席教授(Miller Endowed Professor)、美国外科学院院士、迈阿密大学耳鼻咽喉头颈外科系科研主任和系副主任、迈阿密大学遗传性耳聋中心主任、美洲华人遗传协会(ACGA)会长(2013-15)、中国杰出海外青年基金获得者、湖南省“芙蓉学者计划”讲座教授及“百人计划”特聘教授。迈阿密大学校长学术奖获得者(Provost's Award for Scholarly Activity), 并以第一作者及通讯作者身份在 Nature Genetics、Lancet、Am J Hum Genet、Hum Mol Genet、PNAS 等 20 种科学期刊发表了 200 余篇 SCI 科研论文。

了 200 余篇 SCI 科研论文。

**摘要:** 精准医疗(precision medicine, PM)根据患者独特的遗传物质、生物标记、环境和生活经历, 提出个体化的医疗服务。耳聋(hearing loss, HL)是最常见的感觉神经性疾病, 并多为由单基因突变引起。目前, 耳聋治疗策略主要依靠助听器或人工耳蜗植入, 然而这种非个性化的治疗策略在不同患者中的效果差异较大。随着基因测序等精准医疗工具的发展, 耳聋已成为应用精准医疗策略的理想病种。本文首先回顾了目前及未来耳聋精准医疗的应用状况。然后, 提出一种策略, 将耳聋的精准医疗融入到未来科学研究和临床实践中, 以及提高诊断、预后的临床实践中, 最终实现个体化治疗服务。最后, 讨论了在这个日益增长的基于基因组进行耳聋治疗时代未来可能发生的伦理问题。

**关键词:** 精准医疗; 耳聋, 个性化治疗

中图分类号: R764.43 文献标识码: A

[中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2018, 24(1): 1-6]

## Precision medicine in the treatment of deafness

LIU Xue-zhong<sup>1,2</sup>, SANG Shu-shan<sup>1</sup>, LIU Ya-lan<sup>1</sup>

(1. Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Key Laboratory of Otolaryngology Major Disease Research of Hunan Province, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, 410008, China; 2. Department of Otolaryngology, University of Miami Miller School of Medicine, Miami, FL 33136, US)

**Abstract:** Precision medicine (PM) provides individual medical care according to unique genetic, biomarkers, environment and experience. Hearing loss (HL) is the most frequent sensorineural disease in the world, which is usually caused by single gene mutation. At present, the major therapeutic strategy of hearing loss relies on wearing hearing aid or implanting cochlear implant. However, the effect of this unpersonalized strategy varies from person to person. With the development of precision medicine tools such as next generation sequencing, hearing loss has become the optimal disorder to adopt strategies of precision medicine. The authors review current and future applications of precision medicine in hearing loss. Then, we propose a strategy that incorporates precision medicine of hearing loss into scientific research and

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81771024)。

作者简介: 刘学忠, 男, 讲习教授。

通信作者: 刘学忠, Email: x.liu1@med.miami.edu

clinical practices in the future, so as to improve the level of diagnosis and prognosis in the clinical practices and realize the objective of individual treatment finally. In the end, the ethical problems that may occur in the growing era of genomics-based hearing loss treatment are discussed.

**Key words:** Precision medicine; Hearing loss; Individual treatment

[Chinese Journal of Otorhinolaryngology-Skull Base Surgery, 2018, 24(1): 1-6]

## 1 耳聋治疗的现状

耳聋是最常见的感觉障碍,全球有3.6亿耳聋患者<sup>[1]</sup>,据我国第二次残疾人普查的数据显示,我国听力残疾人群2780万,居我国各类残疾之首,约占残疾人总数的33%,而这个数字仍在不断攀升,我国每年2000万新生儿中,严重听力障碍发生率为(1~3)%。耳聋是一种遗传和表型异质性极高的疾病<sup>[2]</sup>。无论是先天性还是后天获得的耳聋,对儿童和成人患者都有深远的影响。在儿童中,听力对言语的发展至关重要,影响儿童的社会、教育和情感发展<sup>[3]</sup>。成人可能因为他们的残疾而在工作中面临困难,并且获得的收入比听力正常的同龄人更低<sup>[4]</sup>。

“精准医疗”是一个相对较新的术语,是一种基于个体在遗传学、环境和经历等方面的差异进行疾病治疗和预防的新兴方法。而事实上,有关这一术语的概念和实践已经演变了一段时间,例如,有框眼镜和隐形眼镜的配制表现出高度的个体化要求,器官移植需要供体与受体的主要组织相容性抗原相兼容。最近,在癌症治疗中使用的单克隆抗体也是个性化治疗的一个典型例子。例如,在人表皮生长因子受体2基因(HER2)表达上调的恶性乳腺癌肿瘤患者中使用一种HER2定向的单克隆抗体曲妥珠单抗(trastuzumab),已成为现在的标准治疗方法<sup>[1,5]</sup>。

精准医疗的主要目标是解决医疗实践中的一大挑战——由特异的遗传和环境变化所决定的患者病理生理的复杂性。即使在相似的疾病表型中,潜在的遗传变异也会导致不同的药物反应和疾病后果。例如,一项大规模遗传分析研究显示,携带有共济失调毛细血管扩张突变基因变异的患者对一种用于治疗2型糖尿病的药物——二甲双胍的治疗反应不同<sup>[6]</sup>。考虑到这些信息,医生可能更倾向于将这种药物用于治疗携带有特定遗传变异的患者。这体现了当前“一刀切”的医疗方法的缺点,并强调了精准医疗在对抗这种简化医疗中的重要性。遗传学领域的焦点以及基因组学领域的新工具和技术,强调了

精准医疗通过识别和适应疾病的多样性来预防和治疗疾病的策略。

新的研究进展推动了精准医疗的发展,以HER2为例,更快的数据收集,以及分析收集患者的基因组和蛋白质组数据的能力使得HER2成为一种预后和治疗的辅助诊断工具<sup>[7]</sup>,此外,产生抗体的快速重组技术联合上述所有这些新进展都推动了个体化治疗方案的发展。更快、更便宜的基因测序工具、基于人口数据的流行病学观察和生物信息学的发展,加快了精准医疗的发展步伐。随着诸如蛋白质组学、代谢组学和其他大规模系统信息分析等的“组学”研究策略的发展,从事精准医疗的医生和研究人员处于改善对个体患者的了解和治疗的前沿。此外,通过应用以患者遗传信息为核心的大型数据库,精准医疗能够处理目前现有的治疗策略难以处理的疾病,例如耳聋。二代测序技术的发展、耳聋基因筛查芯片的大量涌现以及对患者数据更深入的分析,都加深了我们对这些疾病病因的理解。本文的目的是总结在精准医疗和二代测序技术背景下,耳聋个性化治疗方案的最新进展,并探讨随着进一步采用和改进精准医疗工具,耳聋领域未来的发展。

## 2 耳聋精准医疗的现有技术

目前,应用于遗传性疾病致病基因鉴定的技术主要包括连锁分析<sup>[8]</sup>、基因芯片<sup>[9]</sup>、靶向基因测序<sup>[10]</sup>和全外显子组测序<sup>[11]</sup>等。新的耳聋致病突变的快速鉴定以及单细胞功能生理检测技术的出现,使得针对耳聋进行定向诊断以及应用基因治疗和其他基因特异性药物进行靶向治疗成为可能。这些生理测量技术包括测量外毛细胞功能的耳蜗微音器电位(CM)和耳声发射,测量内毛细胞功能的复合动作电位(CAPs),以及用于一般诊断的听觉脑干反应(ABR)测试。此外,内耳电位有助于确定内淋巴液离子平衡,通过使用这些技术来追踪结果,基于载体的内耳注射和耳蜗的干细胞治疗成为潜在的精准医疗技术,可能很快就会在临床上应用于耳聋治疗。

耳蜗是个体化基因治疗的理想选择部位,因为

它可被进行外科手术,并能被解剖隔离。这允许转染试剂能够到达功能重要的细胞而同时最大限度减少对其他组织中基因的不必要影响。耳蜗中包含两个可用于载体注射或输注的部位:圆窗和直接穿过迷路的骨质,圆窗入路创伤小,但迷路切入入路的基因传递更有效。内耳基因治疗中的载体包括非病毒和病毒载体。非病毒载体,如脂质体,很容易制备,可以用任意大小的 DNA 合成。它们导致插入突变或者将外源 DNA 插入宿主基因组中的风险很低<sup>[12]</sup>。然而,大多数内耳基因治疗研究都是用病毒载体进行的,特别是腺病毒相关的载体(adeno-associated viral vectors, AAV)。最近,针对新生儿和成年哺乳动物内耳细胞类型的 AAVs 的特性描述增加了在体动物模型基因传递的信息<sup>[13-14]</sup>。此外,一种合成的 AAV——Anc80L65,最近被证明能够通过圆窗注射,成功在哺乳动物内耳进行安全有效的基因传递,并成功进行了感觉细胞、听觉和前庭功能,以及注射后的免疫参数测试。Anc80L65 载体以高速率靶向注入外毛细胞的能力使得其在未来成为有效的基因疗法成为可能<sup>[15]</sup>。

目前,已有研究在眼睛中成功进行了基因治疗的人类试验,诸如先天性黑蒙(leber congenital amaurosis, LCA)、无脉络膜症(leber congenital amaurosis, CHM)、视网膜色素变性(retinitis pigmentosa, RP)等失明疾病的基因治疗,得到了缓慢而稳步的进展,目前这些治疗都处于不同的临床试验阶段。这些成功经验为耳蜗中基因治疗的潜在使用提供了乐观的前景。存在 RPE65 突变的 LCA 患者在接受了带有 RPE65 基因的 AAV2 载体单侧注射后发现,在治疗后的最初几个月里取得了临床改善并在 3 年的随访中继续保持稳定<sup>[16]</sup>。在 LCA 中进行基因治疗的三期临床试验正在进行。同样,与未经治疗的对照组相比,应用带有非突变 CHM 的 AAV 载体治疗的 6 个 CHM 患者中有 2 个被观察到早期的临床改善,并且该改善状况在治疗后 3 年半时间仍然存在<sup>[17]</sup>。RP 和耳聋一样,是一种遗传异质性疾病,面对这种独特的挑战,适合基因治疗。一项针对 6 例 RP 患者应用 AAV2 载体的一期临床试验研究表明,有 3 名患者治疗后视力得到提高,尽管在 2 年随访中提高的视力又恢复到基线水平<sup>[18]</sup>。眼睛和耳蜗都可以通过外科手术进行直接注射,这些相似之处为耳聋的基因治疗在人体试验中能够取得进展并最终应用于临床提供了希望。

### 3 耳聋的个体化治疗研究

#### 3.1 耳聋的基因治疗研究

在过去的 20 年里,耳聋的靶向基因治疗是在氨基糖苷类耳毒性耳聋的背景下进行的研究,这是一种众所周知的获得性耳聋的病因。氨基糖苷类抗生素通常用于对抗细菌感染,但也会在内耳内产生自由基,对感觉细胞和神经元造成永久性损伤,导致永久性的耳聋<sup>[19]</sup>。过去的研究表明,超氧化物歧化酶基因(Sod1)的靶向删除会增加噪声诱导耳聋的易感性。此外,这种酶的诱导过度表达可以保护 Sod1 敲除小鼠免受氨基糖苷类抗生素耳毒性的影响<sup>[20]</sup>。研究还发现,其他的遗传变异,如线粒体 12SrRNA 基因的遗传性缺失,容易受到氨基糖苷类抗生素耳毒性的影响<sup>[21]</sup>。尽管早期识别这些变异可以阻止氨基糖苷类抗生素的摄入及随后的耳毒性,但更实用的目标是氨基糖苷类抗生素暴露后细胞死亡的级联反应。因此,有研究提出了几种防止氨基糖苷类抗生素暴露后细胞死亡的治疗模型,包括细胞凋亡抑制和神经营养因子的应用。例如,在转基因小鼠中,抗凋亡基因 bcl-2 的过度表达可以显著减少毛细胞损失,并保留氨基糖苷类抗生素暴露后的听力功能<sup>[22]</sup>。此外,在小鼠耳蜗内注射带有 bcl-xL 的腺病毒载体可以预防氨基糖苷类抗生素诱导的耳聋<sup>[23]</sup>。神经营养因子是内耳发育中的重要蛋白质,并且在成人内耳中可以保护内耳免受外源性损伤,已有研究证明其对氨基糖苷类抗生素的耳毒性有保护作用<sup>[12]</sup>。

目前,耳聋基因治疗的大多数研究还处在动物试验阶段。这些研究成果为我们进一步在人类中进行靶向耳聋治疗带来了希望。例如,存在 Pou4f3 功能丧失的老鼠是一种听细胞完全缺失的遗传性耳聋模型,被发现在注射带有 BDNF 基因的 AAV 载体后,增加了对听觉神经元的保留。尽管没有出现毛细胞,单这些存活下来的神经元随后发出了明显的神经纤维进入听觉上皮细胞<sup>[24]</sup>。在另一个例子中,存在 WHRN 致病基因的 whirler 小鼠是一种 Usher 综合症和非综合征型感音神经性耳聋(DFNB31 型)的模型,用 AAV8-whirlin 的基因治疗可以挽救听觉和平衡功能<sup>[25]</sup>。基因治疗的好处最近也在存在 USH1C 变异的 Usher 综合症小鼠模型中得到验证,该变异编码 harmonin 蛋白。编码野生型 harmonin 蛋白的 Anc80L65 载体可以有效地靶向进入内毛细

胞和外毛细胞,并被证明在 USH1C 小鼠模型中提高了听觉灵敏度和改善了听觉脑干反应<sup>[26]</sup>。因此,小鼠模型的基因治疗有利于研究耳聋的遗传形式。随着基因治疗在每一种特定遗传变异中的潜在功效被了解得越来越多,精准医疗方案在耳聋中的应用将继续蓬勃发展并产生强大的靶向药物。

### 3.2 耳聋干细胞研究

另一个激动人心的遗传性耳聋精准医疗研究计划是使用 CRISPR/Cas9 介导的基因编辑系统。CRISPR/Cas9 技术可以通过设计一个 20 bp 的向导 RNA (guide RNA, gRNA) 目标序列来编码任何基因组序列,同时还能有效地利用多个向导 RNA 实现多个基因目标。这个新的基因编辑系统在耳聋中有许多令人兴奋的价值,包括加速生成转基因动物耳聋模型。此外,这项技术正在被探索作为一种方法来实现对显性改变的干扰或者对听力功能隐性原因的修复<sup>[27]</sup>。在蛋白质 Cas9 和核酸 gRNA 之间形成的复合物被直接传递到小鼠内耳的毛细胞中,尽管只有外毛细胞被有效地“攻击”。这些复合物被证明能有效地诱导基因编辑,并具有最小的毒性。由于 Cas9 蛋白和 gRNAs 的迅速降解,整个过程的持续时间很短。然而,基因编辑却是永久的<sup>[28]</sup>。随着研究的深入,该技术有望真正实现针对遗传性耳聋的基因水平和细胞水平的治疗。

未经改变的患者来源干细胞,或携带有患者特异性识别缺陷敲入基因的患者来源干细胞正被用于肥胖症和心血管疾病等许多临床领域的精准医疗研究。干细胞(SC)植入作为耳聋的另一种治疗方法正在被研究。最近一项研究研发了一种使用人类胚胎干细胞(human embryonic SCs, hESCs)依次产生耳神经祖细胞(otic neuronal progenitors, ONPs)和螺旋神经节神经元(spiral ganglion neuron, SGN)类似细胞的方法,这些细胞有可能被应用于细胞替代疗法并在未来非综合征型耳聋治疗中使用<sup>[29]</sup>。该研究中使用的方法模拟了神经元发育过程中自然发生的事件,从而有效地促进 hESCs 在体外分化为 SGNs。该方法由相互独立的小的标准操作程序组成,这些子程序以一个框架的形式来进一步改进实验流程。神经生长因子(nerve growth factor, NGF),是一种神经营养因子,已被证明能提高神经干细胞(neural SCs, NSCs)在体外的生存能力,表明其对神经元听力损失的保护作用。此外,有研究表明 NGF 辅助 NSCs 对庆大霉素耳毒性耳聋的小鼠进行治疗,增加了对小鼠转导能力的保护,并恢复了听觉

脑干反应阈值<sup>[30]</sup>。在另一项研究中,从人类胎盘中提取的间充质基质细胞(mesenchymal stromal cells, MSCs)可以提高听觉脑干反应阈值、畸变产物耳声发射(distortion product otoacoustic emissions, DPOAE)水平、以及豚鼠螺旋神经节细胞的数量<sup>[31]</sup>。研究者还提出使用羊水间充质干细胞(amniotic fluid mesenchymal SCs, hAFMSCs)再生螺旋神经节细胞,因为它具有较高的多潜能能力,并能恢复内毛细胞功能<sup>[32]</sup>。这一概念及其研究工作已经在该领域进行,表明了耳聋治疗中干细胞研究的发展势头和潜力。

### 3.3 耳聋的植入前遗传学诊断(PGD)

植入前遗传学诊断(preimplantation genetic diagnosis, PGD)是在子宫植入之前检测和选择受精卵的特定性状或针对特定性状的精确遗传方法,为后期遗传诊断提供了替代方案。其过程包括辅助生殖技术,如体外受精(in vitro fertilization, IVF),以获得一个可用的胚胎,然后从胚胎中取出 1 或 2 个细胞用于评估有问题的基因。PGD 以前只用于一些有害的单基因突变和染色体异常,如可能导致妊娠终止的非整倍体突变<sup>[33]</sup>。然而,它的用途现在已经扩展到了晚发疾病、轻微残疾甚至非医学用途(如性别选择)的遗传分析上<sup>[34]</sup>。耳聋作为疾病易感性的主要例子之一,虽然不致命,但它可以被 PGD 技术选择或删除,这是在进行耳聋精准医疗研究时需讨论的一个重要问题。

鉴于耳聋的异质性特性,PGD 在耳聋中的应用受到限制。目前,耳聋突变的 PGD 分析通常局限于 GJB2 基因,GJB2 基因是导致遗传性耳聋的最主要的已知因素<sup>[35]</sup>。2015 年,有研究团队将 PGD 与多重巢式 PCR 和基于短串联重复(short tandem repeat, STR)序列的连锁分析相结合,在一对有一个 GJB2 c.235delC 听力障碍孩子的中国夫妇中,成功移植了一个听力正常的 GJB2 c.235delC 杂合的胚胎。应用孕妇血浆中的游离 DNA 进行非侵入性产前诊断(noninvasive prenatal testing, NIPT)得到确认<sup>[36]</sup>。其他研究人员使用单细胞巢式 PCR 限制性片段长度多态性聚合酶链反应(single cell nested PCR-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)技术和 PGD 的序列分析,得到了类似的结果<sup>[37]</sup>。最近的研究已经将筛查扩展到常见的 GJB6 缺失以及线粒体突变<sup>[38]</sup>。研究人员还将 PGD 技术应用于耳聋相关的 SLC26A4 基因突变,该基因突变可导致非综合征型感音神经性耳聋和 Pendred 综合

症,并与前庭导水管扩大(enlarged vestibular aqueduct, EVA)畸形相关<sup>[39]</sup>。该研究针对一对已有一个携带 SLC26A4c. 919A > G 纯合突变耳聋孩子但自己表型正常的夫妇,进行了单细胞测试,在一个单个淋巴细胞中,突变位点被放大,随后这一突变位点在 12 个卵母细胞中进行了同样的测试。通过一种引物扩展方法进行突变检测,成功获得了一个 SLC26A4 突变阴性的胚胎,在胚胎 11 周的时候进行绒毛膜绒毛取样及对新生儿进行了耳声发射和听觉脑干反应测试,进一步证实了其基因型和表型的正常<sup>[39]</sup>。目前有研究已通过卵母细胞极体中应用 GJB2 和 GJB6 多态性遗传标记以避免对胚胎的操纵,但是尽管有了更多的信息标记评估,胚胎活检仍然是耳聋 PGD 的最佳选择<sup>[40]</sup>。这些策略在耳聋预防上的成功显示了将它扩展到其他耳聋单基因病的潜力。尽管如此,这种筛查形式仅限于存在耳聋遗传病因的有家族遗传病史的家系,而且不推荐进行广泛的人群筛查。

近年来,PGD 作为一种生殖工具的使用急剧增加。PGD 的成功可以归因于它选择性地植入基因型已知胚胎的能力,以及减少了绒毛膜绒毛取样和羊膜穿刺术等侵入性产前基因检测的需求,而这些侵入性诊断对母亲和胎儿均存在风险。尽管有这些优点,PGD 仍然面临选择阳性特征时(如性别选择)和避免危及生命的疾病的伦理方面的担忧。随着最近 PGD 技术的进步,父母们面临的决定是抛弃那些看似存在微小疾病的孩子,而选择那些没有任何可测试疾病的“设计者”的孩子。即使选择一种像蓝眼睛这样看上去无害的性状,也会引起人们对永久改变人类基因库的关注,在个体中产生意想不到的表型后果,并引入优生学类型的实践。

#### 4 结论

精准医疗在耳聋的治疗中发挥了重要作用。通过将精准医疗的原则整合到耳聋转化医学研究和临床实践中,耳科专家可以在个性化的基础上有效地治疗不同病因和临床表现的耳聋。通过二代测序和基因治疗等精准医疗新技术,临床医生将能够比以往更准确、更有效率地了解耳聋。患者将接受个体化的、量身定制的治疗方法,以提高预防意识并加深目前对疾病治疗的理解。尽管在伦理等方面,全面实施精准医疗仍面临挑战,但随着研究人员、临床医生和患者的参与以及正在进行的精准医疗在耳聋治

疗中有效性的论证,精准医疗策略将继续蓬勃发展。

#### 参考文献:

- [1] WHO. Deafness and hearing loss [online] [DB/OL]. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs300/en/>.
- [2] Yan D, Tekin D, Bademci G, et al. Spectrum of DNA variants for non-syndromic deafness in a large cohort from multiple continents [J]. *Human genetics*, 2016, 135(8): 953–961.
- [3] Lieu JE. Speech-language and educational consequences of unilateral hearing loss in children [J]. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 2004, 130(5): 524–530.
- [4] Punch R, Hyde M, Creed PA. Issues in the school-to-work transition of hard of hearing adolescents [J]. *Am Ann Deaf*, 2004, 149(1): 28–38.
- [5] Khozin S, Blumenthal G. Personalized medicine: on the brink of revolutionizing cancer care [J]. *AJMC*, 2015, 21(12): 398–401.
- [6] van Leeuwen N, Nijpels G, Becker ML, et al. A gene variant near ATM is significantly associated with metformin treatment response in type 2 diabetes: a replication and meta-analysis of five cohorts [J]. *Diabetologia*, 2012, 55(7): 1971–1977.
- [7] Shah S, Chen B. Testing for HER2 in breast cancer: a continuing evolution [J]. *Patholog Res Int*, 2010, 2011: 903202.
- [8] Pulst SM. Genetic linkage analysis [J]. *Archives of neurology*, 1999, 56(6): 667–672.
- [9] Yan D, Xiang G, Chai X, et al. Screening of deafness-causing DNA variants that are common in patients of European ancestry using a microarray-based approach [J]. *PloS one*, 2017, 12(3): e0169219.
- [10] Tekin D, Yan D, Bademci G, et al. A next-generation sequencing gene panel (MiamiOtoGenes) for comprehensive analysis of deafness genes [J]. *Hearing research*, 2016, 333: 179–184.
- [11] Yang Y, Muzny DM, Xia F, et al. Molecular findings among patients referred for clinical whole-exome sequencing [J]. *Jama*, 2014, 312(18): 1870–1879.
- [12] Duan M, Venail F, Spencer N, Mezzina M. Treatment of peripheral sensorineural hearing loss: gene therapy [J]. *Gene Ther*, 2004, 11(Suppl 1): S51–56.
- [13] Shu Y, Tao Y, Li W, et al. Adenovirus vectors target several cell subtypes of mammalian inner ear in vivo [J]. *Neural Plast*, 2016, 2016: 9409846.
- [14] Shu Y, Tao Y, Wang Z, et al. Identification of adeno-associated viral vectors that target neonatal and adult mammalian inner ear cell subtypes [J]. *Hum Gene Ther*, 2016, 27(9): 687–699.
- [15] Landegger LD, Pan B, Askew C, et al. A synthetic AAV vector enables safe and efficient gene transfer to the mammalian inner ear [J]. *Nat Biotechnol*, 2017, 35(3): 280–284.
- [16] Testa F, Maguire AM, Rossi S, et al. Three-year follow-up after unilateral subretinal delivery of adeno-associated virus in patients with Leber congenital Amaurosis type 2 [J]. *Ophthalmology*, 2013, 120(6): 1283–1291.

- [17] Edwards TL, Jolly JK, Groppe M, et al. Visual Acuity after Retinal Gene Therapy for Choroideremia[J]. *N Engl J Med*, 2016, 374(20):1996–1998.
- [18] Sengillo JD, Justus S, Cabral T, et al. Correction of Monogenic and Common Retinal Disorders with Gene Therapy[J]. *Genes (Basel)*, 2017,8(2):E53.
- [19] Selimoglu E. Aminoglycoside-induced ototoxicity[J]. *Curr Pharm Des*, 2007,13(1):119–126.
- [20] Ohlemiller KK, McFadden SL, Ding DL, et al. Targeted deletion of the cytosolic Cu/Zn-superoxide dismutase gene (Sod1) increases susceptibility to noise-induced hearing loss[J]. *Audiol Neurotol*, 1999,4(5):237–246.
- [21] Jing W, Zong JH, Deng GE, et al. Mitochondrial mutations associated with aminoglycoside ototoxicity and hearing loss susceptibility identified by meta-analysis[J]. *J Med Genet*, 2015,52(2):95–103.
- [22] Cunningham LL, Matsui JI, Warchol ME, et al. Overexpression of Bcl-2 prevents neomycin-induced hair cell death and caspase-9 activation in the adult mouse utricle in vitro[J]. *J Neurobiol*, 2004, 60(1):89–100.
- [23] Liu YH, Ke XM, Qin Y, et al. Adeno-associated virus-mediated Bcl-xL prevents aminoglycoside-induced hearing loss in mice[J]. *Chinese medical journal*, 2007,120(14):1236–1240.
- [24] Fukui H, Wong HT, Beyer LA, et al. BDNF gene therapy induces auditory nerve survival and fiber sprouting in deaf Pou4f3 mutant mice[J]. *Sci Rep*, 2012,2(11):838.
- [25] Isgrig K, Shteamer JW, Belyantseva IA, et al. Gene Therapy Restores Balance and Auditory Functions in a Mouse Model of Usher Syndrome[J]. *Mol Ther*, 2017,25(3):780–791.
- [26] Pan B, Askew C, Galvin A, et al. Gene therapy restores auditory and vestibular function in a mouse model of Usher syndrome type 1c[J]. *Nature biotechnology*, 2017,35(3):264–272.
- [27] Zou B, Mittal R, Grati M, et al. The application of genome editing in studying hearing loss[J]. *Hear Res*, 2015,327:102–108.
- [28] Zuris JA, Thompson DB, Shu Y, et al. Cationic lipid-mediated delivery of proteins enables efficient protein-based genome editing in vitro and in vivo[J]. *Nature biotechnology*, 2015,33(1):73–80.
- [29] Matsuoka AJ, Morrissey ZD, Zhang C, et al. Directed differentiation of human embryonic stem cells toward placode-derived spiral ganglion-like sensory neurons[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6(3):923–936.
- [30] Han Z, Wang CP, Cong N, et al. Therapeutic value of nerve growth factor in promoting neural stem cell survival and differentiation and protecting against neuronal hearing loss[J]. *Mol Cell Biochem*, 2017,428(1–2):149–159.
- [31] Kil K, Choi MY, Kong JS, et al. Regenerative efficacy of mesenchymal stromal cells from human placenta in sensorineural hearing loss[J]. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*, 2016,91:72–81.
- [32] Mohammadian F, Eatemadi A, Daraee H. Application of stem cell for the regeneration of spiral ganglion neurons[J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2017,63(1):6–12.
- [33] Wilton L. Preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in early human embryos: a review[J]. *Prenat Diagn*, 2002, 22(6):512–518.
- [34] Cote S, Ravitsky V, Hamet P, et al. Between usage and polemic, an argument in favour of clarifying the terminology for preimplantation genetic diagnosis[J]. *J Int Bioethique*, 2015,26(4):137–150, 160.
- [35] Robertson J. PGD: new ethical challenges[J]. *Nat Rev Genet*, 2002,4(1):6.
- [36] Xiong W, Wang D, Gao Y, et al. Reproductive management through integration of PGD and MPS-based noninvasive prenatal screening/diagnosis for a family with GJB2-associated hearing impairment[J]. *Sci China Life Sci*, 2015,58(9):829–838.
- [37] Liss J, Mirecka A, Kitowska K, et al. Preimplantation genetic diagnosis of hearing loss with 35delG mutation in GJB2 gene—preliminary report[J]. *Otolaryngol Pol*, 2011,65(6):443–446.
- [38] Kafle S, Guan B, Huang X, et al. Establishment of preimplantation genetic diagnostic technique for hereditary hearing impairment[J]. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, 2016,15(4):72–75.
- [39] Wu CC, Lin SY, Su YN, et al. Preimplantation genetic diagnosis (embryo screening) for enlarged vestibular aqueduct due to SLC26A4 mutation[J]. *Audiol Neurotol*, 2010,15(5):311–317.
- [40] Altarescu G, Eldar-Geva T, Brooks B, et al. Preimplantation genetic diagnosis (PGD) for nonsyndromic deafness by polar body and blastomere biopsy[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2009,26(7):391–397.

(收稿日期:2017-12-20)