

doi: 10.3969/j.issn.1672-4933.2023.04.015

遗传性听力障碍的基因治疗研究进展

Recent Development of Gene Therapy for Hereditary Deafness

令娜娜^{1,2} 郭玉芬¹ 徐百成¹

LING Na-na, GUO Yu-fen, XU Bai-cheng

【摘要】 听力障碍是常见的感觉障碍性疾病之一,目前用于治疗遗传性听力障碍的临床选择有限,主要是通过配戴助听器或植入人工耳蜗等补偿或重建听力,并不能恢复自然听力。从病理学来说,恢复生理听觉是听力障碍治疗的必然目标,因此基因治疗才是听力障碍康复的最终方法。目前遗传性听力障碍的基因治疗还处在动物实验阶段,如何强化该基础研究并促进其向临床转化,是未来研究的重点。本文对遗传性听力障碍基因治疗的现状、发展前景和挑战等进行文献复习和发展展望。

【关键词】 遗传性听力障碍;基因治疗;靶细胞;基因载体;载体导入途径;基因置换;基因沉默;基因编辑

【Abstract】 Deafness is one of the common sensory disorders. At present, the clinical options for the treatment of hereditary deafness are still very limited, mainly by wearing hearing aids or undergoing cochlear implant surgery to compensate the hearing. In fact, natural hearing cannot be restored. From the pathological point of view, restoring physiological hearing is the inevitable goal of deafness treatment, so in this sense, a gene therapy is the ultimate method of deafness rehabilitation. At present, the gene therapy of hereditary deafness is still in the stage of animal experiments. How to strengthen this basic research and promote its transformation into clinical are the focus of future research. This article reviews the current status, development prospects and challenges of gene therapy for hereditary deafness.

【Key words】 Hereditary deafness; Gene therapy; Target cell; Gene vector; Routes for delivery; Gene replacement; Gene silencing; Gene editing

据WHO分析,全世界范围内约有4.66亿听力障碍患者^[1]。由遗传因素引起的遗传性聋约占所有听力障碍的60%。听力障碍的致病基因极其复杂,目前已知的致聋基因超过250个,更多的聋病基因还有待发现。某些听力障碍与遗传物质改变导致个体对环境致聋因素(如噪声、耳毒性药物、年龄等)的遗传易感性增强有关^[1]。对人类遗传性听力障碍动物模型的构建成功扩展了基因治疗领域的原理验证研究,目前用于聋病基因研究的模式动物有鼠类、斑马鱼、小型猪及灵长类动物等,但由于发育及生理特征的差异,动物实验研究成果有待进一步临床研究验证^[2],未来的研究重点应是推动听力障碍的基因治疗向临床转化。本文就遗传性听力障碍基因治疗的现状、发展前景和挑战等方面进行文献复习和展望。

1 遗传性听力障碍基因治疗的靶细胞和时机

绝大多数遗传性听力障碍与基因结构或功能障碍导致的内耳发育异常有关,针对不同的内耳细胞和基因表达模式,准确选择靶细胞和治疗时机至关重要。目前研

究表明,听力障碍基因治疗的靶细胞主要有毛细胞、血管纹细胞、支持细胞、螺旋神经节神经元,针对这些靶细胞的干预存在一定时间窗,一般认为早期基因治疗对听力恢复更为有益^[3,4]。

1.1 毛细胞(hair cells, HCs)

HCs是非分裂细胞,分为外毛细胞(outer HCs, OHCs)和内毛细胞(inner HCs, IHCs)两类,OHCs放大声音信号,IHCs将声波承载的机械信息转换成电信号,然后释放神经递质引起神经纤维兴奋^[5]。位于毛细胞顶端的纤毛在听觉传导过程中起关键作用,是毛细胞最脆弱、最易受损的部分。纤毛发育所需的基因在发育早期表达,存在窗口期的限制,导致毛细胞死亡的基因突变会限制基因治疗的可能性^[6]。研究证实,超过50%的致聋基因在HCs中表达,HCs是听力障碍基因治疗中重要的靶细胞^[7]。

1.2 血管纹细胞(stria vascularis, SVs)

SVs是排列在蜗管外侧壁的上皮细胞,包括边缘细胞(marginal cells, MCs)、中间细胞(intermediate cells, ICs)和基底细胞(basal cells, BCs),主要功能是维持内淋巴液

基金项目:国家自然科学基金项目(31960132);甘肃省卫生行业计划项目(GSWSKY2018-40)

作者单位:1 兰州大学第二医院耳鼻咽喉头颈外科 兰州 730000

2 西安市人民医院(西安市第四医院)耳鼻咽喉头颈外科 西安 710000

作者简介:令娜娜 硕士研究生;研究方向:听力障碍的基础与临床

通讯作者:徐百成, E-mail: xbsuc@126.com

的 K^+ 平衡和耳蜗内电位(endocochlear potential, EP)^[8]。MCs中的*KCNQ1*和*KCNE1*基因编码的蛋白质共同形成 K^+ 通道,将 K^+ 转运出SVs进入富含 K^+ 的内淋巴液,*KCNQ1*和*KCNE1*基因突变引起常染色体隐性遗传的Jervell-Lange-Nielsen综合征(jervell and lange-nielsen syndrome, JLNS)^[9]。Chang等^[10]利用外源*kcq1*基因成功使JLNS小鼠的听力恢复,表明血管纹细胞是听力障碍干预的重要靶细胞之一。

1.3 支持细胞(supporting cells, SCs)

SCs是位于毛细胞周围的非感觉细胞,通过缝隙连接相互耦合,在保护和维持毛细胞周围环境的稳态中起重要作用^[11]。*GJB2*基因突变会影响SCs的缝隙连接,是人类常见的致聋基因之一^[12]。Yu等^[13]成功在*gjb2*基因敲除小鼠的耳蜗中重建了细胞间的缝隙连接网络,促进了细胞间扩散的恢复。很长一段时间学术界认为哺乳动物毛细胞的损伤是永久性的,而最新的研究成果发现具有祖细胞特性的SCs可再生为毛细胞。因此,SCs是听力障碍基因治疗的靶细胞,可用于毛细胞再生和纠正遗传性听力障碍。

1.4 螺旋神经节神经元(spiral ganglion neurons, SGNs)

SGNs是听觉传入神经元,将来自毛细胞的传入信号编码成动作电位后,通过听神经传输到听觉皮层产生听觉。包括两种类型的SGNs,I型约占SGNs的90%,仅接受来源于IHCs的信号;II型约占5%~10%,可接受来源于绝大多数OHCs信号^[14]。噪声、耳毒性药物、遗传因素、神经营养因子3(neurotrophin 3, NT-3)和脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)的缺乏均可引起SGNs的损伤导致听力障碍^[15]。促进SGNs存活和再生的基因治疗措施,对SGNs损伤导致的听力障碍患者有益。人工耳蜗将听觉信息传递到中枢神经系统依赖于存活的SGNs,防止SGNs的损伤对人工耳蜗植入患者至关重要^[16]。因此,SGNs也是听力障碍基因治疗的重要靶细胞。

2 听力障碍基因治疗的载体系统

基因治疗的开展首先需要理想的基因治疗载体,已有多在耳蜗中递送遗传物质的病毒和非病毒载体。

2.1 病毒载体

病毒载体是内耳基因治疗中使用最多的载体,逆转录病毒(retroviruses)载体、慢病毒(lentivirus, LVs)载体以及单纯疱疹病毒(herpes simplex virus, HSVs)载体因转染率低、表达低等原因导致其应用逐渐减少^[17]。腺病毒(adenovirus, AVs)载体的转染率高、DNA插入区大(可达

35 kb)、插入突变机率小,是研究中使用较多的载体,但目的基因表达短暂、易刺激免疫反应、缺乏组织特异性等弊端限制了其在听力障碍基因治疗中的应用^[17]。

腺相关病毒(adeno-associated virus, AAVs)载体的毒性和免疫原性较低,可同时转染分裂细胞和非分裂细胞,目的基因表达稳定、易制备、成本低,是目前应用最多、最重要的内耳基因治疗载体^[18]。传统AAV载体对内耳细胞的转导率受血清型、导入途径及治疗年龄等多种因素影响,AAV1对小鼠OHCs和SCs的转导率最高,但仅在导入内淋巴时转导SCs^[19]。AAV8主要用于成年小鼠的基因治疗,导入内淋巴时可转导OHCs、IHCs和SCs,但应用到外淋巴时转导仅限于IHCs^[20]。人工合成的新型AAV载体,在内耳中表现出极强的转导能力,如Anc80L65、AAV9-PHP.B和AAV2.7m8。Anc80L65可高效转导小鼠的IHCs和OHCs,显著改善传统AAV载体对OHCs转导率低下^[21]。Bence György等^[22]对USH 3A型听力障碍小鼠进行基因治疗研究表明,应用AAV9-PHP.B载体将野生基因*clm1*成功导入内耳并恢复听力,显示出AVV的广阔应用前景,尽管该研究中小鼠的高频听力恢复不理想,由此显示AVV介导的*clm1*基因在耳蜗基底部的表达水平较低是下一步需要解决的问题。在灵长类动物中,AAV9-PHP.B可使IHCs和OHCs从蜗底到蜗顶几乎100%的转导,有望应用于人类内耳基因治疗^[2]。AAV2.7m8可同时高效转导IHCs、OHCs和SCs,极大地促进内耳基因治疗的发展^[23]。

2.2 非病毒载体

在听力障碍基因治疗中应用较多的有脂质体、纳米颗粒聚合物、基因枪和电穿孔技术。脂质体可保护核酸不被降解或中和,易与细胞膜融合,从而促进核酸向细胞质内转运。已有多项研究成功使用脂质体介导内耳的转基因表达,延缓了DFNA3听力障碍小鼠和*tm1*小鼠听力损失的进一步发展^[24, 25]。

纳米颗粒聚合物易与DNA分子结合形成复合物,通过胞吞作用进入靶细胞后释放目的基因并表达^[26]。目前已有多种用于听力障碍基因治疗的纳米颗粒聚合物,如聚乙烯亚胺(polyethylenimine, PEI)、聚赖氨酸纳米颗粒(hyperbranched polylysine nanoparticles, HPNP)、聚乳酸-羟基乙酸共聚物(poly(lactic/glycolic acid), PLGA),具有较好的生物相容性和可降解性,可通过局部应用将遗传物质递送至耳蜗^[26, 27]。经PEI转染的耳蜗具有完整的细胞和组织结构,没有炎症迹象,但转染仅限于有淋巴液流动的间隙^[28]。

基因枪(biolistic/gene gun)是一种机械方法,亦称粒子轰击(particle bombardment),通过将目的基因沉积在金

属颗粒表面,加速后发射到细胞或组织中,适用于皮肤、粘膜或经手术暴露的组织。美国学者利用基因枪技术将编码非常规肌球蛋白 XVa 的基因转染 Myo15a-EGFP-C2 小鼠,成功观察到毛细胞纤毛的顶端肌球蛋白 XVa 的选择性累积,证明基因枪技术可以用于感音神经性聋的基因治疗^[29]。

电穿孔(electroporation)是利用高压电脉冲在细胞膜上形成的瞬时穿孔吸收细胞外的 DNA,人工耳蜗植入电极可用于近场电穿孔^[16]。能够直接递送大的转基因,诱导内耳细胞的转基因表达,特别是转录因子的异位表达。例如,转录因子 Math1 可诱导毛细胞和支持细胞感觉簇的形成^[30],转录因子 Sox2、Neurog1 和 NeuroD1 可诱导神经元细胞的形成^[31]。

非病毒载体是将治疗基因导入内耳的重要补充方法,与病毒载体相比较,具有制备简单、更安全、高负载能力等优势,得到了越来越广泛的应用,但普遍存在转染率和特异性低、转基因表达短暂等弊端。

3 载体导入途径

内耳处于骨迷路的包绕之中,存在血迷路屏障(blood-labyrinthine barrier, BLB),导入内耳的外源基因向其他组织扩散的风险小。治疗载体通过内耳淋巴循环在耳蜗内扩散,有助于转染靶细胞,使得内耳基因治疗具有独特优势^[32]。但耳蜗是充满淋巴液的螺旋空间,对内部液体量和成分的改变具有极高的抵抗力,给基因治疗带来了一定困难。

目前听力障碍基因治疗中常用的载体导入途径有以下几种:①鼓阶途径:包括两种导入路径,一是经耳蜗底转开窗注入鼓阶外淋巴^[33];二是经圆窗膜(round window membrane, RWM)穿刺直接注入鼓阶外淋巴^[34, 35]。两种方式均有破坏耳蜗鼓阶、损伤残余听力的危险,因淋巴液外漏引起的残余听力下降,可用筋膜堵塞 RWM 穿孔消除^[33, 34]。②半规管开窗途径:多用后半规管开窗法实现最小范围的转导,主要限于前庭器官,可能会引起短暂的前庭功能障碍^[34]。③中阶途径:可直接将目的基因导入内淋巴间隙^[13, 20],对血管纹细胞的转染率较高。中阶途径对毛细胞的转染率较高,在完成转染的同时仅高频(≥ 32 kHz)有轻微的听力损失^[20]。有些研究认为,该途径对毛细胞的转导率与圆窗膜穿刺途径相似,更易引起听力损失^[10],关于这种差异有待进一步验证。④前庭椭圆囊途径:经此途径 AAV9-PHP.B 载体对乳鼠 IHCs 和 OHCs 的转导率最高^[3]。⑤圆窗膜渗透途径:由脂质体及聚合物纳米颗粒介导的内耳基因治疗多用此途径,对听力影响较小,但治疗载体不易进入内耳、转染率低^[27, 28]。⑥全身

应用:操作简单,前提是治疗剂可以穿过 BLB 到达内耳,脱靶风险较高^[4, 36]。

载体导入途径的选择主要取决于靶细胞的部位和类型。例如, JLN 综合征的治疗以 SVs 为靶点,需将载体导入内淋巴间隙^[10]。同样如果靶细胞是 SGNs,则需要导入外淋巴间隙。对于某些类型的细胞,特别是位于内外淋巴交界处的细胞,可能需要尝试联合应用两种不同的途径,以达到最佳效果,例如 RWM 穿刺联合半规管开窗途径可提高成年小鼠 IHCs 转导的效率^[34]。

4 遗传性听力障碍基因治疗的方法

听力障碍的基因治疗方法很大程度上取决于其遗传形式,目前常用的基因治疗方法有以下三种。

4.1 基因置换(gene replacement)

基因置换是基因治疗最直接的方式,在确定致病基因后用正常或野生型基因替换缺陷基因,由此恢复缺陷基因造成的功能障碍。该方法适用于双等位基因的隐性突变和功能丧失的显性突变,对能够抑制治疗序列的显性突变效果不理想^[37]。首次成功的基因置换治疗是对 *vglut3* 基因敲除小鼠的研究,通过导入功能性 *vglut3* 基因的方法,成功恢复了治疗小鼠的听力,几乎 100% 的 IHCs 被转导^[38]。目前已有数项研究利用该方法成功使 Usher 综合征(Usher syndrome, VSH)小鼠的听力恢复,包括编码 harmonin 蛋白、sans 蛋白和 whirlin 蛋白的基因缺陷引起的 USH1C^[23]、USH1G^[35] 和 USH2D^[39]。

4.2 基因抑制(gene suppression)/基因沉默(gene silencing)

主要用于显性突变引起的听力障碍,可在转录或转录后水平上发挥作用。在转录水平上,诱导组蛋白修饰或改变 RNA 聚合酶、转录因子等转录复合物的结合,从而抑制转录延伸,例如 gRNA-dCas9DNA 复合物、Kruppel 相关抑制子盒(kruppel-associated box repressor, KRAB)等^[40]。在转录后水平,主要是通过反义寡核苷酸(antisense oligonucleotides, ASO)和 RNA 干扰(RNA interference, RNAi)途径阻止基因表达。ASO 可选择性结合 mRNA,阻止 mRNA 加工或使之降解^[36]。Lentz 等^[36]向 USH1C 216G>A 突变小鼠的腹腔内注射 ASO-29,使其前庭和听觉功能恢复,但关于 ASO 的作用机理及其转移到内耳的方式,仍然有许多悬而未决的问题。RNAi 途径是一个生物过程,常用小干扰 RNA(siRNA)和 microRNA(miRNA),siRNA 比 miRNA 更具特异性,但 miRNA 可同时调节多个基因的表达^[41]。已成功用于听力障碍的基因治疗领域, Maeda 等^[24]利用特异性 siRNAs 成功抑制了小鼠 *gjb2* 基因的表达,避免了进一步听力损失。针对 *tmc1*

小鼠和Beethoven小鼠的特异性miRNA,可延缓治疗小鼠进行性听力下降的表型^[33]。总之,基于RNAi在显性遗传性听力障碍的防治中具有令人鼓舞的特异性和有效性,标志着将这种方法向临床的转换迈出了重要的一步。

4.3 基因编辑(gene editing)

基因编辑是生物治疗的新技术,目前应用较多的基因工程酶有锌指核酸酶(zinc finger nucleases,ZFN)、转录激活因子样效应核酸酶(transcription activator-like effector nucleases,TALEN)、簇状规则间隔的短回文重复序列(clustered regularly interspaced short palindromic repeats,CRISPR)和CRISPR相关蛋白9(CRISPR-associated protein 9,Cas9)^[25,42]。在听觉研究中,基因编辑主要用于单核苷酸突变引起的显性遗传性听力障碍的基因治疗。Gao等^[25]首次证明了RISPR/Cas9治疗遗传性听力障碍的巨大潜力,针对*tmc1*小鼠的Cas9 gRNA脂质体复合物成功延缓了其听力损失的进展。最新研究发现,AAV介导的SaCas9-KKH-gRNA(AAV-mediated SaCas9-KKH-gRNA)可预防*tmc1*^{B^h/WT}小鼠的听力下降^[42]。这些研究显示遗传性听力障碍基因治疗的多种可能,随着这些方法的广泛使用和深入研究,正在革新听力障碍的基因治疗方法。

5 小结与展望

尽管听力障碍的基因治疗目前尚处于动物实验阶段,但系列动物模型的成功尝试为我们展示了遗传性听力障碍基因治疗的广阔前景,听力障碍动物模型的建立仍面临巨大的挑战。随着临床前研究和临床研究的深入,转化医学的进步使听力障碍的临床基因治疗呼之欲出。人类遗传性听力障碍涉及数百种不同的基因和临床表型,应依据致聋基因、靶细胞、致病机理等选择对应的基因治疗方法。尽管目前听力障碍的基因治疗仍面临诸多挑战,但随着科学技术的进步,相信听力障碍的临床治疗将不会太遥远。

参考文献

- [1] Liberman MC. Noise-induced and age-related hearing loss: new perspectives and potential therapies [J]. *F1000Research*, 2017, 6:927.
- [2] Ivanchenko MV, Hanlon KS, Devine MK, et al. Preclinical testing of AAV9-PHP.B for transgene expression in the non-human primate cochlea [J]. *Hearing research*, 2020, 394:107930.
- [3] Lee J, Nist-Lund C, Solanes P, et al. Efficient viral transduction in mouse inner ear hair cells with utricle injection and AAV9-PHP.B [J]. *Hearing research*, 2020, 394:107882.
- [4] Ponnath A, Depreux FF, Jodelka FM, et al. Rescue of Outer Hair Cells with Antisense Oligonucleotides in Usher Mice Is Dependent on Age of Treatment [J]. *Journal of the Association for Research in Otolaryngology:JARO*, 2018, 19(1):1-16.
- [5] Fettiplace R. Hair Cell Transduction, Tuning, and Synaptic Transmission in the Mammalian Cochlea [J]. *Comprehensive Physiology*, 2017, 7(4):1197-1227.
- [6] Vélez-Ortega AC, Frolenkov GI. Building and repairing the stereocilia cytoskeleton in mammalian auditory hair cells [J]. *Hearing research*, 2019, 376:47-57.
- [7] Carpena NT, Lee MY. Genetic Hearing Loss and Gene Therapy [J]. *Genomics & informatics*, 2018, 16(4):e20.
- [8] Chen W, Hao QQ, Ren LL, et al. Cochlear morphology in the developing inner ear of the porcine model of spontaneous deafness [J]. *BMC neuroscience*, 2018, 19(1):28-28.
- [9] Vojdani S, Amirsalari S, Milanizadeh S, et al. Mutation Screening of KCNQ1 and KCNE1 Genes in Iranian Patients With Jervell and Lange-Nielsen Syndrome [J]. *Fetal and pediatric pathology*, 2019, 38(4): 273-281.
- [10] Chang Q, Wang J, Li Q, et al. Virally mediated Kcnq1 gene replacement therapy in the immature scala media restores hearing in a mouse model of human Jervell and Lange-Nielsen deafness syndrome [J]. *EMBO molecular medicine*, 2015, 7(8):1077-1086.
- [11] Mammano F. Inner Ear Connexin Channels: Roles in Development and Maintenance of Cochlear Function [J]. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2019, 9(7):a033233.
- [12] Dai P, Huang LH, Wang GJ, et al. Concurrent Hearing and Genetic Screening of 180,469 Neonates with Follow-up in Beijing, China [J]. *American journal of human genetics*, 2019, 105(4):803-812.
- [13] Yu Q, Wang Y, Chang Q, et al. Virally expressed connexin26 restores gap junction function in the cochlea of conditional Gjb2 knockout mice [J]. *Gene therapy*, 2014, 21(1):71-80.
- [14] Carricondo F, Romero-Gómez B. The Cochlear Spiral Ganglion Neurons: The Auditory Portion of the VIII Nerve [J]. *Anatomical record*, 2019, 302(3):463-471.
- [15] Wagner EL, Shin JB. Mechanisms of Hair Cell Damage and Repair [J]. *Trends in neurosciences*, 2019, 42(6):414-424.
- [16] Pinyon JL, Tadros SF, Froud KE, et al. Close-field electroporation gene delivery using the cochlear implant electrode array enhances the bionic ear [J]. *Science translational medicine*, 2014, 6(233):233ra54.
- [17] Devare J, Gubbels S, Raphael Y. Outlook and future of inner ear therapy [J]. *Hearing research*, 2018, 368:127-135.
- [18] Askew C, Chien WW. Adeno-associated virus gene replacement for recessive inner ear dysfunction: Progress and challenges [J]. *Hearing research*, 2020, 394:107947.
- [19] Gu X, Chai R, Guo L, et al. Transduction of Adeno-Associated Virus Vectors Targeting Hair Cells and Supporting Cells in the Neonatal Mouse Cochlea [J]. *Frontiers in cellular neuroscience*, 2019, 13:8-8.
- [20] Kilpatrick LA, Li Q, Yang J, et al. Adeno-associated virus-mediated gene delivery into the scala media of the normal and deafened adult mouse ear [J]. *Gene therapy*, 2011, 18(6):569-578.
- [21] Landegger LD, Pan B, Askew C, et al. A synthetic AAV vector enables safe and efficient gene transfer to the mammalian inner ear [J]. *Nature biotechnology*, 2017, 35(3):280-284.
- [22] György B, Meijer EJ, Ivanchenko MV, et al. Gene Transfer with AAV9-PHP.B Rescues Hearing in a Mouse Model of Usher Syndrome 3A and

- Transduces Hair Cells in a Non-human Primate [J]. *Molecular therapy. Methods & clinical development*, 2018, 13:1-13.
- [23] 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.
- [24] Maeda Y, Sheffield AM, Smith RJH. Therapeutic regulation of gene expression in the inner ear using RNA interference [J]. *Advances in oto-rhino-laryngology*, 2009, 66(1): 13-36.
- [25] Gao X, Tao Y, Lamas V, et al. Treatment of autosomal dominant hearing loss by in vivo delivery of genome editing agents [J]. *Nature*, 2018, 553(7687):217-221.
- [26] Dai J, Long W, Liang Z, et al. A novel vehicle for local protein delivery to the inner ear: injectable and biodegradable thermosensitive hydrogel loaded with PLGA nanoparticles [J]. *Drug development and industrial pharmacy*, 2018, 44(1):89-98.
- [27] Zou J, Pyykkö I, Hyttinen J. Inner ear barriers to nanomedicine-augmented drug delivery and imaging [J]. *Journal of otology*, 2016, 11(4):165-177.
- [28] Tan BT, Foong KH, Lee MM, et al. Polyethylenimine-mediated cochlear gene transfer in guinea pigs [J]. *Archives of otolaryngology-head & neck surgery*, 2008, 134(8):884-891.
- [29] Belyantseva IA, Boger ET, Friedman TB. Myosin XVa localizes to the tips of inner ear sensory cell stereocilia and is essential for staircase formation of the hair bundle [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100(24): 13958-13963.
- [30] Li S, Qian W, Jiang G, et al. Transcription factors in the development of inner ear hair cells [J]. *Frontiers in bioscience (Landmark edition)*, 2016, 21(6):1118-1125.
- [31] Packard AI, Lin B, Schwob JE. Sox2 and Pax6 Play Counteracting Roles in Regulating Neurogenesis within the Murine Olfactory Epithelium [J]. *PLoS One*, 2016, 11(5):e0155167.
- [32] Shibata SB, Yoshimura H, Ranum PT, et al. Intravenous rAAV2/9 injection for murine cochlear gene delivery [J]. *Scientific reports*, 2017, 7(1):9609.
- [33] Shibata SB, Ranum PT, Moteki H, et al. RNA Interference Prevents Autosomal-Dominant Hearing Loss [J]. *American journal of human genetics*, 2016, 98(6):1101-1113.
- [34] Yoshimura H, Shibata SB, Ranum PT, et al. Enhanced viral-mediated cochlear gene delivery in adult mice by combining canal fenestration with round window membrane inoculation [J]. *Scientific reports*, 2018, 8(1):2980-2980.
- [35] Emptoz A, Michel V, Lelli A, et al. Local gene therapy durably restores vestibular function in a mouse model of Usher syndrome type 1G [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114(36):9695-9700.
- [36] Lentz JJ, Jodelka FM, Hinrich AJ, et al. Rescue of hearing and vestibular function by antisense oligonucleotides in a mouse model of human deafness [J]. *Nature medicine*, 2013, 19(3):345-350.
- [37] Pipe SW. Gene therapy for hemophilia [J]. *Pediatric blood & cancer*, 2018, 65(2): e26865.
- [38] Akil O, Seal RP, Burke K, et al. Restoration of hearing in the VGLUT3 knockout mouse using virally mediated gene therapy [J]. *Neuron*, 2012, 75(2):283-293.
- [39] Mathur P, Yang J. Usher syndrome: Hearing loss, retinal degeneration and associated abnormalities [J]. *Biochimica et biophysica acta*, 2015, 1852(3):406-420.
- [40] Luo H, Schmidt JA, Lee YS, et al. Targeted epigenetic repression of a lymphoma oncogene by sequence-specific histone modifiers induces apoptosis in DLBCL [J]. *Leukemia & lymphoma*, 2017, 58(2):445-456.
- [41] Abedini F, Ebrahimi M, Hosseinkhani H. Technology of RNA Interference in Advanced Medicine [J]. *MicroRNA (Sharqah, United Arab Emirates)*, 2018, 7(2):74-84.
- [42] György B, Nist-Lund C, Pan B, et al. Allele-specific gene editing prevents deafness in a model of dominant progressive hearing loss [J]. *Nature medicine*, 2019, 25(7):1123-1130.

收稿日期 2022-04-15
责任编辑 蒋 春