

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2009.00043

定位于 5q31-5q32 的 DFNA52 的 20 个候选基因的突变筛查

卜枫啸¹, 彭聿¹, 王树辉³, 潘琼¹, 胡正茂¹, 龚惠勇¹, 张静¹, 邬玲仟¹, 梁德生¹, 潘乾¹, 冯永², 夏昆¹, 夏家辉¹

1. 中南大学湘雅医院医学遗传学国家重点实验室, 长沙 410078;
2. 中南大学湘雅医院耳鼻喉科, 长沙 410078;
3. 中南大学湘雅二医院耳鼻喉科, 长沙 410011

摘要: 为了克隆定位于 5 号染色体微卫星标记 *D5S2056* 和 *D5S638* 之间约 8.8 cM 的区间内的非综合征性常染色体显性遗传性耳聋 DFNA52 (OMIM: 607683) 的致病基因, 文章根据基因在耳蜗组织的表达情况, 筛选出 20 个候选基因, 设计合成了扩增 20 个基因外显子及外显子与内含子交界的引物, 用 DNA 直接测序法进行序列变异分析。结果显示, 在基因外显子及侧翼区共发现了 45 个单核苷酸多态, 其中 42 个变异在多态数据库已报道, 其余 3 个为新发现的单核苷酸多态, 序列变异与疾病表型无共分离现象, 排除了这些基因外显子突变导致遗传性耳聋的可能性。

关键词: 非综合征性遗传性耳聋; 听力下降; DFNA52; 候选基因

Mutation screening of 20 candidate genes located in chromosome 5q31-5q32 for DFNA52 locus

BU Feng-Xiao¹, PENG Yu¹, WANG Shu-Hui³, PAN Qiong¹, HU Zheng-Mao¹, GONG Hui-Yong¹, ZHANG Jing¹, WU Ling-Qian¹, LIANG De-Sheng¹, PAN Qian¹, FENG Yong², XIA Kun¹, XIA Jia-Hui¹

1. National Laboratory of Medical Genetics, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410078, China;
2. Department of Otolaryngology Affiliated Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410078, China;
3. Department of Otolaryngology Affiliated Xiangya 2nd Hospital, Central South University, Changsha 410011, China

Abstract: Previously, we mapped the DFNA52 (OMIM: 607683) locus to an 8.8 cM interval between STR *D5S2056* and *D5S638* on human chromosome 5q31.1-q32 in a large consanguineous Chinese family with congenital sensorineural hearing loss. Positional candidate cloning approach was applied to analyze the candidate genes in this region. We analyzed 20

收稿日期: 2008-05-07; 修回日期: 2008-08-21

基金项目: 国家高技术研究发展计划项目(863 计划) (编号 :2007AA02Z445)和国家重点基础研究发展规划(973 计划)项目(编号 :2004CB518601)资助

作者简介: 卜枫啸(1983-), 男, 硕士研究生, 专业方向: 疾病基因定位与克隆。E-mail: bufengxiao@sklmg.edu.cn

彭聿(1982-), 男, 博士, 研究方向: 疾病基因定位与克隆。E-mail: pengyu@sklmg.edu.cn

王树辉(1972-), 男, 博士, 研究方向: 听力学。E-mail: wangshuhuics1972@sohu.com

卜枫啸、彭聿、王树辉为并列第一作者。

通讯作者: 冯永(1962-), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 疾病基因定位与克隆。E-mail: fyong@xysm.net; Tel: 0731-4327469

夏昆(1971-), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 疾病基因定位与克隆。E-mail: xiakun48@yahoo.com.cn; Tel: 0731-4805357

genes according to cochlear expression pattern, which were also located in the DFNA52 interval as candidate genes. Sequencing of the coding and splice site regions of these genes did not reveal any potentially pathogenic mutations segregating with the disease, implying that none of these genes are likely virulence gene for DFNA52.

Keywords: nonsyndromic hereditary hearing; hearing impairment; DFNA52; candidate genes

听力丧失是人类最常见的感觉障碍之一, 新生儿耳聋的发病率约为 1/1 000, 其中遗传因素导致的听力丧失占 50% 以上^[1,2]。遗传性耳聋根据是否伴有耳外组织的异常或病变可分为综合征性耳聋 (Syndromic hearing loss, SHL) 和非综合征性耳聋 (Nonsyndromic hearing loss, NSHL), 80% 的遗传性耳聋为非综合征性耳聋。在非综合征性耳聋中, 常染色体显性遗传性耳聋约占 22%。截止 2008 年 3 月, 已定位了 50 个常染色体显性遗传非综合征性耳聋 (Autosomal dominant non-syndromic sensorineural hearing loss, ADNSSL) 位点并克隆了 22 个编码各种蛋白质的 ADNSSL 基因^[3], 但大多数耳聋基因致病机制目前仍不清楚。

Xia 等^[4]应用全基因组扫描技术及单倍型分析的方法, 将一个常染色体显性遗传耳聋家系致病基因定位于 5 号染色体微卫星标记 *D5S2056* 和 *D5S638* 之间约 8.8 cM 的区间内, 对区间内两个已知耳聋基因 *POU4F3* (OMIM: 602460)^[5] 和 *DIAPH1* (OMIM: 602121)^[6] 进行突变检测未发现突变, 为一个新的 ADNSSL 疾病位点, 命名为 DFNA52 (OMIM:

607683)。由于 DFNA52 定位区间与未克隆的 DFNA54 区间有重叠, 因此在 5q31 区间很可能存在一个新的 ADNSSL 致病基因。本研究通过对该区域 20 候选基因外显子区进行突变筛查, 以期找到并克隆该致病基因, 从而有助于遗传性耳聋发病机理的阐明, 为该疾病的预防及治疗奠定基础。

1 对象与方法

1.1 对象

遗传了 5 代的常染色体显性遗传的 NSHL 家系来自湖南怀化, 共 38 人, 其中病人 17 个, 包括 6 名男性和 9 名女性, 见图 1。经中南大学湘雅医院耳鼻喉科诊断, 家系成员中耳聋患者的起病年龄在 16~30 岁, 均表现为双侧耳鸣, 听力减退为双耳对称性, 以高频听力下降为主的感觉神经性耳聋, 逐渐发展到累及所有频率的重度听力减退。患者的临床资料见表 1。曾患中耳炎、曾用过氨基糖甙类药物、有长期的噪音接触史的耳聋病人不纳入本研究。并选择了 100 名家系外正常人作为对照。

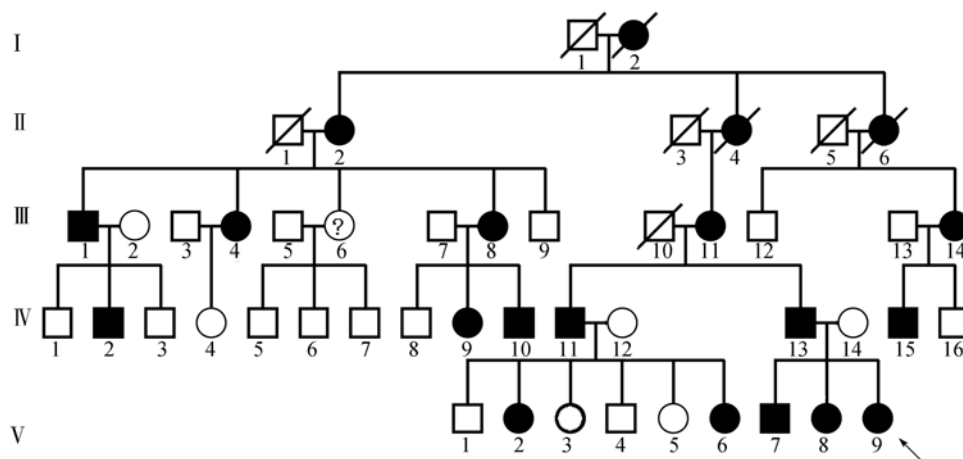


图 1 怀化籍耳聋家系图

箭头所示为先证者。

表 1 怀化籍耳聋家系患者的临床资料

编号	年龄	临床症状及纯音测听结果
-2	92	双耳听力严重减退, 交谈困难, 双耳 30~55 dB 下降, 累及所有频率。
-1	71	30~40 岁起耳鸣, 听力逐渐下降。双耳所有频率中-重度(50~90 dB)下降。
-4	68	双耳耳鸣、耳聋 30 年, 无明显自觉诱因。双耳所有频率中-重度下降。
-6	60	无自觉听力下降。双耳所有频率中-重度下降。
-8	62	双耳耳鸣耳聋 10 余年。双耳所有频率重度下降。
-14	52	双耳鸣, 耳聋 7~8 年。无外伤史、注射史。双耳从 1 000 Hz 以上开始下降 30~60 dB。
-10	26	无自觉听力障碍。双耳 4 000 Hz 处下降 35~60 dB。
-11	60	年青时听力好, 40 岁以后听力逐渐下降, 出现交谈困难。双耳重度神经性耳聋, 累及所有频率。
-13	56	20 岁起间歇性双耳鸣, 40 岁觉听力下降, 50 岁时严重。双耳重度听力下降, 累及所有频率。
-15	37	自觉听力下降 2 年。
-2	40	无自觉听力减退, 偶有耳鸣。双耳从 4 000 Hz 以上中-重度下降。
-9	32	自觉听力不好 2~3 年, 偶有耳鸣。双耳 500 Hz 以上轻-中度下降。
-2	36	双耳间歇性耳鸣, 听力下降 10 年。双耳所有频率中-重度下降。
-6	26	无自觉听力下降。左耳 1 000~2 000 Hz 以上轻度下降, 右耳 2000 Hz 以上轻度下降。
-7	25	双耳鸣 10 年, 自觉听力稍减退。双耳从 1 000 Hz 以上下降, 轻-重度的下降。
-8	25	年幼时即觉右耳鸣, 左耳听力下降。双耳从 4 000 Hz 以上中度下降。
-9	23	从 15~16 岁起双耳听力逐渐下降。双耳重度听力减退, 累及所有频率, 平均听阈在 60~90 dB。

1.2 方法

1.2.1 候选基因的选择

在 UCSC 数据库^[7]查询 *D5S2056~D5S638* 之间的基因信息, 这个区间总计有 Known Genes 199 个, RefSeq Genes 173 个。研究分析了 UniGene 中的基因表达谱^[8], 人类耳蜗 cDNA 文库和 EST 数据库 (Human cochlear cDNA library and EST database)^[9], NEIBank 的耳文库(Ear libraries of NEIBank)^[10], 以及相关基因的动物模型信息, 选取了在数据库中位于 *D5S2056* 和 *D5S638* 区间的基因作为候选基因。共筛选 20 个候选基因进行突变检测。

1.2.2 PCR 扩增

使用 Primer3 在线软件^[11]设计引物, 由上海博亚生物技术有限公司合成。引物参数设定: GC 含量设定在 40 %~60 %; 复性温度设定在 57~63 之间。扩增片段一般设定在 200~500 bp 之间。以完整扩增在耳蜗表达的剪接本和最大剪接本为目标, 合成了扩增 20 个基因外显子及外显子与内含子交界的引物共 289 对。PCR 反应体系为 10 μ L, 其中 dNTPs 20 μ mol/L, 引物各 0.25 μ mol/L, MgCl₂ 1.5~2.0 mmol/L, gDNA 为 50 ng, Hot Star Taq DNA 聚合酶 0.25

U, 10 \times 缓冲液 1 μ L, Q-缓冲液 2 μ L。扩增条件: 95 15 min 热启动; 94 30 s, 60 30 s, 72 1 min, 10 个循环; 94 30 s, 56 30 s, 72 1 min, 25 个循环; 72 10 min; 4 保存。选取先证者进行 PCR 扩增。

1.2.3 测序和序列分析

酶切后的 PCR 产物经 ABI 3130x/ Genetic Analyzer 自动测序仪正反向测序, 测序结果分析使用 DNASTAR (version 4.02)中的 SeqMan 程序包。

1.2.4 序列变异的判断

发现的序列变异先在 NCBI 和 Hapmap 的多态数据库^[12, 13]进行查询, 排除已知单核苷酸多态 (Single nucleotide polymorphism, SNP)。如果序列变异未见报道, 再检测家系内其他患者、家系内正常人及家系外正常对照的序列, 鉴定序列变异与疾病表型有无共分离现象。

2 结果与分析

2.1 20 个候选基因的生物学信息

通过生物信息学查询, 筛选了 *D5S2056~D5S638* 区间的 20 个基因进行基因突变分析(表 2)。

表 2 利用生物信息资源选择的 20 个候选基因

候选基因名称	OMIM 编号	候选基因在内耳中的表达情况		
		UniGene	人类耳蜗 cDNA 文库和 EST 数据库	NEIBank 耳文库
<i>CDC23</i>	603462	+	+	+
<i>CTNNA1</i>	116805	+	+	+
<i>EGR</i>	128990	+	+	+
<i>FGF1</i>	131220	—	+	—
<i>GFRA3</i>	605710	+	+	+
<i>HDAC3</i>	605166	+	+	+
<i>HNRNPA0</i>	609409	+	+	+
<i>HSPA9B</i>	600548	+	+	+
<i>KLHL3</i>	605775	+	+	+
<i>MATR3</i>	164015	+	+	+
<i>NEUROG1</i>	601726	—	+	+
<i>NR3C1</i>	138040	+	+	+
<i>PAIP2</i>	605604	+	+	+
<i>PCDHB5</i>	606331	+	—	+
<i>PPP2R2B</i>	604325	+	+	+
<i>SMAD5</i>	603110	+	—	+
<i>SPOCK1</i>	602264	+	+	+
<i>TCERG1</i>	605409	+	+	+
<i>TGFB1</i>	601692	+	+	+
<i>UBE2D2</i>	602962	+	—	+

注: +: 有表达; —: 无表达。

2.2 基因突变分析结果

对 20 个候选基因的 PCR 产物进行测序, 共发现 45 个序列变异, 涉及 11 个基因, 序列变异情况见表 3。其中已报道的多态 42 个, 新发现的变异 3 个, 新发现的变异测序结果见图 2。家系内其他患者、家系内正常人及家系外正常对照的检测表明所有序列变异与疾病表型无共分离现象。

3 讨论

ADNSSHL 具有很强的遗传异质性。目前已克隆了 20 个致病基因, 包括间隙连接蛋白基因(*GJB2*、*GJB3*、*GJB6*), 细胞骨架蛋白基因(*COCH*、*COL11A2*、*TECTA*), 肌球蛋白基因(*MYO7A*、*MYH9*), 离子通道(*KCNQ4*), 转录因子(*POU4F3*)和其他功能未知的基因, 这些基因均在内耳组织中表达。已克隆的致病基因表明, 细胞间隙连接通道的功能缺陷、不稳定的细胞骨架结构、离子通道的功能障碍、异常的转录因子以及其他参与听觉系统发生的基因的异常都有可能致非综合征性耳聋。

在总结已克隆致病基因生物学特点和功能的基础

上, 我们综合分析了 DFNA52 区间内基因的表达谱、动物模型等信息, 优先选择了 20 个基因来进行突变筛查。

NEUROG1(Neurogenin 1)是较好的候选基因, 该基因是内耳感觉神经元发育所必需的基因之一。Ma 等^[15]的研究发现, *ngn1* 无义突变体小鼠耳的感觉上皮较野生型小鼠小, 毛细胞形态正常, 但顺序紊乱且数目减少。我们测序了 *NEUROG1* 基因的整个编码区, UTR 区及上游的保守序列^[16], 以期寻找致病性变异。但突变分析结果仅在 5' UTR 区发现一个 SNP(rs8192558), 且此变异在家系内与疾病不分离。

SMAD5 基因是转化生长因子- β (Transforming growth factor- β , TGF- β)信号下游细胞质内的信号转导分子^[17], 它主要介导骨形态形成蛋白(Bone morphogenetic proteins, BMPs)的信号, 可将信号从细胞膜直接转导至细胞核, 从而对 TGF- β 胞内信号转导起着关键的作用。杨仕明等^[18,19]发现敲除了 *smad5* 基因的杂合子小鼠表现出随着月龄增加, 听力下降加重的情况。而同样条件下的野生型小鼠则听力正常。在敲除 *smad5* 基因的小鼠内耳切片的研究中, 发现了敲除鼠的内耳毛细胞存在缺失现象^[20,21], 说明内耳组织结构的病变是小鼠听力下降的原因。而其后的研

表 3 20 个候选基因突变筛查结果

候选基因	变异位置	变异碱基	编码氨基酸改变		多态数据库报道情况
<i>FGF1</i>	3 UTR	c.*1256 G>T			rs34001
	3 UTR	c.*1353 A>G			rs34000
	3 UTR	c.*1505 G>C			rs33999
<i>HDAC3</i>	5 UTR	c.-96 G>C			新发现的多态, 未见报道
	IVS1	IVS1+27 A>G			rs32954
	Ex3	c.165 A>G	Gln	Gln	rs2530223
	IVS11	IVS11-49 T>C			rs2547547
<i>HSPA9B</i>	IVS2	IVS2-79_81 del TCT			新发现的多态, 未见报道
	Ex9	c.948 A>G	Lys	Lys	rs1042665
	Ex16	c.1933 C>T	Leu	Leu	rs10117
<i>KLHL3</i>	Ex5	c.471 A>G	Ala	Ala	rs2905608
	IVS5	IVS5+21 T>A			rs2301710
	IVS8	IVS8-21 C>T			rs2074348
	Ex12	c.1383 G > A	Glu	Glu	rs2301708
	IVS12	IVS12+89 T>C			rs7713180
	IVS14	IVS14+29 C>T			rs2074345
	IVS14	IVS14+42 A>G			rs2074344
	IVS13	c.*3062 A>G			rs3813314
	3 UTR	c.*4205 A>G			rs6863414
	5 UTR	c.-60 T>G			rs8192558
<i>PAIP2</i>	3 UTR	c.*701_702 ins ATT			rs10672787
<i>PPP2R2B</i>	5 UTR	c.-118 A>T (NM_181678)			rs17524553
	5 UTR	c.-177 C>T (NM_181674)			rs11741933
<i>SMAD5</i>	IVS1	IVS1+39 T>C			rs7718415
	IVS4	IVS4+39 A>G			rs10479111
	IVS7	IVS7+37 A>G			rs4585442
	IVS7	IVS7-31 T>A			rs4146185
<i>SPOCK1</i>	Prom	c.-153 A>Tc, -51_52 ins+T			已知多态, dbQSNP [14] 中报道为 H13426、QH13427
	IVS5	Ivs5+90_91dup TAAA			rs34109254
<i>TCERG1</i>	IVS1	IVS1+90 C>T			rs10044956
	IVS2	IVS2-84 A>T			rs2304055
	IVS8	IVS8+17 T>C			rs12657671
	IVS21	IVS21-52 C>T			rs4418147
	Ex22	c.3121 A>G	Ser	Ser	rs4705103
<i>TGFBI</i>	3 UTR	c.*250 C>T			rs3822506
	IVS1	IVS1-90 C>T			rs10044956
	Ex6	c.651 G>C	Leu	Leu	rs1442
	IVS4	IVS4+57 G>A			rs3749786
	Ex7	c.45 A>C	Asn	Asn	新发现的多态, 未见报道
	Ex13	c.1803 G>A	Leu	Leu	rs35151677
	IVS13	IVS13-71 A>G			rs13168506
	IVS13	IVS13-55 A>T			rs13188659
	IVS14	IVS14+44 T>C			rs6880837
	IVS15	IVS15-73 G>A			rs3749782

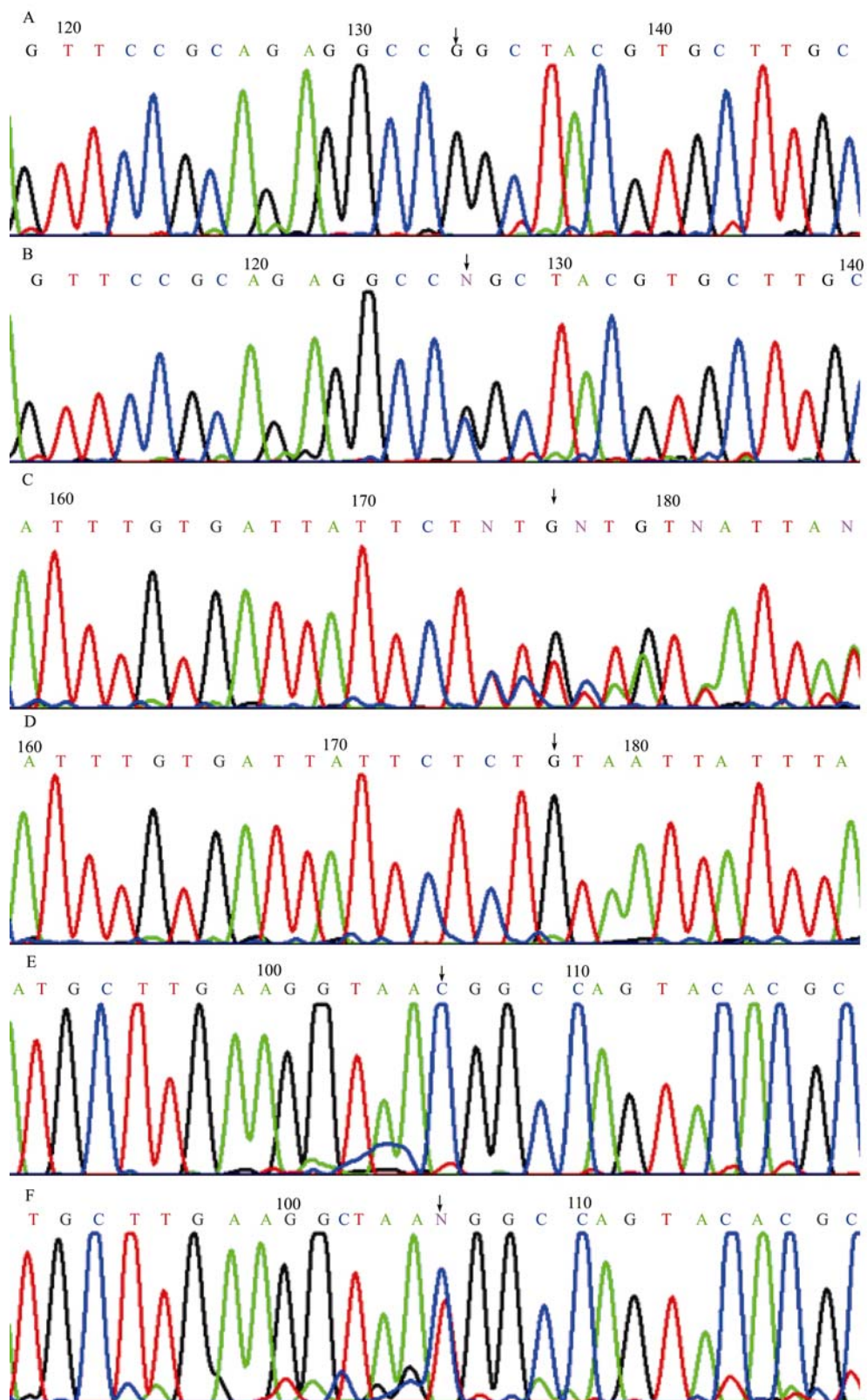


图 2 新发现的变异测序结果图

A: *HDAC3* 基因 5' UTR 区 c.-96G 野生型; B: *HDAC3* 基因 5' UTR 区 c.-96G>C 突变杂合子; C: *HSPA9* 基因 IVS2-79_81 del tct 突变杂合子; D: *HSPA9* 基因 IVS2-79_81 del tct 突变纯合子; E: *TGFBI* 基因 c.45 C 野生型; F: *TGFBI* 基因 c.45 C>T 突变杂合子。箭头示突变位点。

究发现 *smad5* 基因在鼠内耳组织中确有表达, 说明 *smad5* 基因在内耳听觉功能中可能具有一定的作用^[19]。并且有研究显示 *smad4* 基因敲除后小鼠由于基因的缺陷而出现了重度感音神经性耳聋, 纯合子小鼠出现全聋^[22]。王秋菊等^[23]在对 *SMAD5* 基因在中国 143 名耳聋患者中的突变筛查研究中, 也表明 *SMAD5* 可能不是中国人群耳聋的危险因素。我们在怀化籍耳聋家系中对该基因的分析发现了 4 个已知 SNP, 这些 SNP 未引起氨基酸的改变, 且这些 SNP 在家系内与疾病不分离。

综上所述, 我们对 20 个候选基因进行了突变检测, 共在 11 个基因中发现了 45 个变异, 其中 42 个变异在多态数据库已报道, 3 个未报道的变异分别是 *HDAC3* 的 c.-96 G>C, *HSPA9B* 的 IVS2-79_81 del tct 和 *TGFB1* 的 c.45 A>C(该变异多态数据库未见报道)。在这 45 个变异中, 发生在内含子区域的变异有 23 个; 发生在编码区的变异有 9 个, 均为同义突变; 发生在 5' UTR 区的变异有 6 个; 发生在 3' UTR 区的变异有 7 个。在家系内正常对照和家系外正常对照中分析了这 45 个序列变异, 发现了相同的变异, 因此所有的序列变异与疾病表型均无共分离现象。尽管根据表达谱和功能情况, 这些基因被选择作为 DFNA52 的候选基因, 但未发现有在 DFNA52 家系内与疾病共分离的致病性突变, 提示这些基因不太可能是 DFNA52 的致病基因。但是, 由于我们未检测这些基因的启动子、内含子等非编码区域, 因此并不能完全排除这些基因是 DFNA52 的致病基因的可能。此外, 该区间内还存在其他的候选基因, 有待于作进一步的突变分析。随着基因组图谱的更新, 基因表达情况的深入研究, 将有可能发现新的在内耳表达的基因, 并成为新的候选基因。

参考文献(References):

- [1] Morton NE. Genetic epidemiology of hearing impairment. *Ann N Y Acad Sci*, 1991, 630: 16-31. [\[DOI\]](#)
- [2] Marazita ML, Ploughman LM, Rawlings B, Remington E, Arnos KS. Genetic epidemiological studies of early-onset deafness in the US school-age population. *Am J Med Genet*, 1993, 46(5): 486-491. [\[DOI\]](#)
- [3] Hereditary Hearing Loss Homepage, <http://dnalab-www.Uia.ac.be/dnalab/hhh/>.
- [4] Xia J, Deng H, Feng Y, Zhang H, Pan Q, Dai H, Long Z, Tang B, Deng H, Chen Y, Zhang R, Zheng D, He Y, Xia K. A novel locus for autosomal dominant nonsyndromic hearing loss identified at 5q31.1-32 in a Chinese pedigree. *J Hum Genet*, 2002, 47(12): 635-640. [\[DOI\]](#)
- [5] Vahava O, Morell R, Lynch ED, Weiss S, Kagan ME, Ahituv N, Morrow JE, Lee MK, Skvorak AB, Morton CC, Blumenfeld A, Frydman M, Friedman TB, King MC, Avraham KB. Mutation in transcription factor *POU4F3* associated with inherited progressive hearing loss in humans. *Science*, 1998, 279(5358): 1950-1954. [\[DOI\]](#)
- [6] Lynch ED, Lee MK, Morrow JE, Welsh PL, Leon PE, King MC. Nonsyndromic deafness DFNA1 associated with mutation of the human homolog of the Drosophila gene diaphanous. *Science*, 1997, 278(5341): 1315-1318. [\[DOI\]](#)
- [7] UCSC Genome Browser, <http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway>.
- [8] UniGene, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=unigene>.
- [9] Human Cochlear cDNA library and EST database, <http://hearing.bwh.harvard.edu/estinfo.htm>.
- [10] Ear Libraries of NEIBank, <http://neibank.nei.nih.gov/cgi-bin/libList.cgi?-tissue=ear>.
- [11] Primer3, <http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3-www.cgi>.
- [12] dbSNP, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>.
- [13] International HapMap Project, <http://snp.cshl.org/>.
- [14] dbQSNP, <http://qsnp.gen.kyushu-u.ac.jp/>.
- [15] Ma Q, Anderson DJ, Fritsch B. Neurogenin 1 null mutant ears develop fewer, morphologically normal hair cells in smaller sensory epithelia devoid of innervation. *J Assoc Res Otolaryngol*, 2000, 1(2): 129-143. [\[DOI\]](#)
- [16] Blader P, Lam CS, Rastegar S, Scardigli R, Nicod JC, Simplicio N, Plessy C, Fischer N, Schuurmans C, Guillemot F, Strähle U. Conserved and acquired features of neurogenin1 regulation. *Development*, 2004, 131(22): 5627-5637. [\[DOI\]](#)
- [17] Ten-Dijke P, Hill CS. New insights into TGF-beta-Smad signalling. *Trends Biochem Sci*, 2004, 29(5): 265-273. [\[DOI\]](#)
- [18] 杨仕明, 刘清明, 郭维, 胡吟燕, 卢云, 杨伟炎, 杨晓. *Smad5* 基因敲除小鼠听生理和耳蜗形态实验观察. 解放军医学杂志, 2005, 30(7): 579-581.
- [19] 郭维, 杨仕明, 刘清明, 孙彦询, 杨晓, 韩东一, 杨伟炎. *Smad5* 基因缺陷导致小鼠听力重度损失. 中华耳科学杂志, 2006, 4(3): 190-193.
- [20] 郭维, 杨仕明, 胡吟燕, 杨伟炎. *Smad5* 基因在小鼠耳蜗中的表达及定位. 解放军医学杂志, 2005, 30(7): 585-586.
- [21] 孙建和, 杨仕明, 孙彦询, 杨晓, 韩东一, 杨伟炎. *Smad5* 基因敲除小鼠耳蜗扫描电镜观察. 中华耳科学杂志, 2006, 4(3): 194-196.
- [22] 侯昭晖, 杨仕明, 郭维, 胡吟燕, 孙建和, 于宁, 张继帅, 杨晓, 韩东一, 杨伟炎. *Smad4* 条件基因敲除小鼠听功能初步研究. 中华耳科学杂志, 2006, 4(3): 176-180.
- [23] 王秋菊, 李庆忠, 纵亮, 郭维, 兰兰, 袁虎, 赵亚丽, 刘穹, 饶绍奇, 韩东一, 杨伟炎, 杨仕明. *SMAD5* 基因在中国耳聋患者中的突变筛查研究. 中华耳科学杂志, 2006, 4(3): 200-204.