



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



**저작자표시.** 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



**비영리.** 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



**변경금지.** 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

의학 석사학위 논문

한국인 선천성 난청의 임상적  
특성 및 분자 유전학적 분석

아 주 대 학 교 대 학 원

의 학 과

송 정 환

# 한국인 선천성 난청의 임상적 특성 및 분자 유전학적 분석

지도교수 박홍준

이 논문을 의학 석사학위 논문으로  
제출함.

2001年 2月

아주대학교대학원

의학과

송정환

송정환의 의학 석사학위 논문을  
인준함.

심사위원장 (인)

심사위원 (인)

심사위원 (인)

아주대학교대학원

2000년 12월 22일

- 감사의 글 -

의과대학 합격자 발표가 있던 날, 왜 그렇게 즐겁고 신이 났던지. 지금 생각하면 그날이 내 삶의 시작의 날이었는데, 마치 모든 것을 끝낸 것처럼, 세상을 다 얻은 것 같은 기분이었습니다.

수 없이 많은 시험과 많은 밤샘을 하면서 학부를 졸업하던 날, 이제는 정말로 다 끝낸 것 같았습니다. 하지만 아직도 많이 모자란 저의 모습을 보면서, 조금만 더 라는 조그만 욕심이 생겼죠..

이제는 끝이라는 생각이 들지 않습니다. 또 작은 시작이 되겠지요. 아직 이루어 놓은 것이 너무나 적기에 조금 더 큰 모습의 제가 될 수 있도록 하루하루 새로운 다짐으로 살아갈 수 있는 제가 될 수 있도록 도와주신 제 주위의 모든 분들께 감사하고 싶습니다.

이 논문이 완성되는데 가장 큰 도움을 주시고 또 이 논문이 대한이비인후과학회 전공의 최우수연제상이라는, 저에게는 너무나도 과분한 상을 받게 해주신 박홍준 선생님께 먼저 큰 감사드립니다. 또 언제나 저에게 더욱 더 공부하는 전공의가 될 수 있는 길을 이끌어 주신 박기현 학장님, 인자한 모습으로 배움과 인생의 모범이 되어주시는 전영명 선생님, 항상 전공의의 배움의 길에 새로운 아이디어로 큰 도움을 주시는 서경식 선생님, 지치지 않는 열정으로 환자의 치료와 학문에 정진하시는 고중화 선생님 모든 선생님들께 감사의 마음을 전하고 싶습니다.

저의 공부를 위하여 크고 작은 폐를 끼치게 되더라도 늘 웃는 모습으로 저를 지켜봐 주고 힘이 되어준 이비인후과 의국원 여러분, 특히 많은 폐를 끼친 신지철 선생님과 유영준 선생님께 진심으로 감사합니다.

마지막으로 저의 삶을 올바른 길로 인도해 주시고 적잖은 걱정을 끼쳐드려 항상 죄송한 마음을 갖고 있는 부모님과 언제나 저의 곁에서 모든 짜증을 받아주고 작은 기쁨도 큰 기쁨으로 여겨주고 사랑의 가정을 만들어 주는 영원한 내 편, 민주 엄마에게 가장 큰 감사의 마음을 전하고 싶습니다.

그리고 우리 깜찍이 민주에게도.

2000년10월 저자 씀

## -국문 요약-

선천성 난청은 비교적 흔한 질환으로 정상 신생아 1000명당 1명의 발병율을 갖는다. 선천성 난청의 50%는 유전적 원인에 의하며 이중 80%는 열성 유전의 형태를 나타낸다. 현재까지 20개 이상의 상염색체 열성 유전자가 보고되었으며 1997년, gap-junction 단백질중 하나인 connexin 26가 비증후군성 열성 감음신경성 난청의 주된 돌연변이 유전자로 밝혀졌다. 본 연구의 목적은 한국의 선천성 난청 환자들에게 있어 임상적 특성 및 connexin 26 유전자 변이의 특징을 알아보고자 한다. 아주대학교 병원 이비인후과를 방문한 51명의 선천성 난청 환자와 두 곳의 청각장애자 특수학교의 선천성 난청아 125명에 대하여 가족력 청취 및 이학적 검사를 시행하였다. 청력검사상 정상으로 확인된 100명의 신생아를 대조군으로 삼았다. 이들의 혈액을 이용하여 DNA 추출과 PCR산물을 이용하여 염기서열의 분석을 시행하였다. 176명의 환자 중 53명이 난청의 가족력을 갖고 있었으며, 16명의 환자는 증후군성 난청의 양상을 나타내었다. 본 연구에서는 총 121명의 선천성 비증후군성 감음신경성 난청 환자를 대상으로 connexin 26 유전자에 대한 염기서열 분석을 시행하였고, 35delG의 경우 2개의 이형접합체, 235delC의 경우 3개의 이형접합체와 4개의 동형접합체, E114G의 경우 35개의 이형접합체와 4개의 동형접합체를 관찰할 수 있었다. 선천성 난청환자들에게 있어서 가족력은 비교적 흔히 관찰되며 이는 난청에서 유전적 원인이 중요함을 알수있었다. 증후성 난청은 선천성 난청에서 적은 수를 차지한다. connexin 26 유전자 변이에 있어서 35delG가 서양에서는 주된 변이였으나, 본 연구에서는 단지 2명의 환자에서 이 유전자 변이가 관찰되었고 235delC형태의 변이가 한국인 유전성 난청의 원인이었다. 이 결과는 유전성 특징이 인종에 따라서 다르며 한국인 고유의 난청 원인 유전자 발굴에 대한 필요성을 제시하였다.

---

핵심되는 말: 유전성 난청, 상염색체 열성, connexin 26

## 차 례

논문인준서.....	i
감사의 글.....	ii
국문 요약.....	iii
차례.....	iv
그림 차례.....	vi
표 차례.....	vii
I. 서론 .....	1
II. 재료 및 방법 .....	2
A. 대상.....	2
B. 혈액채취.....	2
C. Genomic DNA의 추출.....	3
D. 효소중합반응(PCR).....	4
E. 염기서열 분석.....	4
III. 결과 .....	5
A. 분자유전학적 분석.....	6
IV. 고찰 .....	6
V. 결론 .....	9

참고문헌 .....	20
영문요약 .....	23



## 그림 차례

Fig. 1. Age distribution of congenital hearing loss patients.....	12
Fig. 2. Sequencing chromatographs of connexin 26 mutations.....	18
Fig. 3. The 235delC type of mutation.....	19

## 표 차례

Table 1. Gender distribution of congenital hearing loss patients.....	11
Table 2. Family history of congenital hearing loss patients.....	13
Table 3. Syndromic hearing loss Vs. non-syndromic hearing loss.....	14
Table 4. Syndromes associated with hearing loss patients.....	15
Table 5. Variations of connexin 26 in 100 normal infants.....	16
Table 6. Mutations and polymorphism of connexin 26 found in Korean congenital hearing loss patients.....	17

# 한국인 선천성 난청의 임상적 특성 및 분자 유전학적 분석

지도교수 박홍준

아주대학교 대학원 의학과

송정환

## I. 서론

난청은 비교적 우리 주위에서 흔히 접하게 되는 질환으로 정확한 국내의 통계는 보고되고 있지 않지만, Nadol<sup>1</sup> 이 1993년 보고한 자료에 의하면 신생아 출생 1000명 당 1명, 그리고 45세 이상의 성인에서 4%의 이환율을 갖는 질환이다. 이는 비교적 흔한 선천성 질환인 갑상선 기능 저하증 (Cretinism)의 발병률(신생아 출생 4000명에서 6000명당 1명)<sup>2</sup>, 페닐케토산뇨증 (PKU)의 발병률(신생아 출생 14000명에서 75000명당 1명)<sup>3</sup>과 비교하여 월등히 높은 발병률을 보인다.

이에 불구하고 난청은 조기 발견이 어렵고 평균 2세 이후에 발견되어 언어발달에 가장 중요한 시기를 놓치게 되므로, 적절한 언어재활이 이루어지지 못하고, 환자 본인의 개인적 장애와 사회적, 경제적인 손실을 초래하게 된다.

한국의 청각장애자들에 대하여 1970년 이<sup>4</sup>에 의해 가족에서 나타나는 난청에 대하여 보고된 바 있으며, 1973년 김<sup>5</sup>에 의해 청각장애자들의 임상 양상 및 실태에 대한 보고가 있으나 정확한 원인규명에 대한 연구는 부족한 실정이다.

이에 저자들은 국내 선천성 난청에 대하여 가족력을 중심으로 임상적 특성을 분석하고, 선천성 난청의 분자 유전학적 원인에 대한 연구로서 상염색체 열성 유전의 대표적 원인유전자인 connexin 26 (GJB2)에 대한 변이 형태를 파악하고자 본 연구를 시행하였다.

## II. 재료 및 방법

### A. 대상:

원인을 알 수 없는 선천성 청각장애자들을 대상으로 하였다. 청각장애자 특수 교육학교 2곳을 방문하여 S학교에서 67명, E학교에서 58명의 난청아와, 아주대학교 이비인후과 외래로 1998년 3월 1일부터 1999년 3월 1일까지 내원한 선천성 청각장애자 51명을 대상으로 하였다.

청각장애자 특수학교의 경우 환자들의 신체 검사 및 병력 청취를 실시하였고, 이경을 이용한 고막 검사와 함께 동반된 기형이나 장애를 검사하였다. 대상자는 바로 귀 옆에서 큰 소리를 듣지 못하는 고도난청의 환자만을 선정하였다. 자세한 병력을 알기 위하여 환자들의 생활 기록 및 지도교사의 도움으로 과거력과 가족력을 조사하였다.

외래로 내원한 청각장애자의 경우, 자세한 가족들과의 병력청취를 통해 선천성 청각장애자 환자들만을 대상으로 하였다. 난청의 확인은 순음 및 뇌간유발전위검사를 사용하였고, 고도 이상의 난청환자를 대상으로 하였고 고막검사상 중이염 또는 천공 등의 병변이 있는 경우는 제외하였다. 대조군으로는 아주대학교병원에서 정상 출생한 신생아 100명을 대상으로 하였으며, 선별검사로써 시행하고 있는 유발이음향반사(transient evoked otoacoustic emission)검사를 통하여 정상청력을 확인하였다.

### B. 혈액채취:

유전자 분석검사에 필요한 혈액을 채취하기 위하여 청각장애자 특수학교 및 정상 신생아의 경우, 혈액 채취용지(blotting paper)를 사용하여 손가락 끝의 말초 혈액을 채취하였으며, 외래 환자의 경우는 헤파린(Heparin) 튜브를 사용하여 정맥혈을 채취하였다.

### C. Genomic DNA의 추출:

전혈의 경우 적혈구 용해를 위하여  $\text{NH}_4\text{Cl}$  7.5g과 Tris base 10g을 넣고 증류수를 첨가하여 전체 1L로 만든 혈구 용해 완충액을 채취한 혈액과 혼합하여 15ml로 만들어 10분간 흔들어 투명액이 될 때까지 기다린다. 원심분리기를 이용하여 분당 1200에서 1500회로 10분간 처리한 뒤 상층액을 버리고 혈구 용해 완충액 10ml로 세척을 시행한다. 같은 속도로 10분간 원심분리기를 이용하여 분리한다. 상층액을 버리고 1M Tris base (pH 8.0) 10ml, 5M NaCl 0.8ml, 0.5M EDTA (pH 8.0) 0.4ml과 증류수로 100ml의 용량으로 맞춘 핵 용해 완충액을 3ml 취하여 피펫으로 침전물을 녹인다. 여기에  $50\mu\text{l}$ 의 Proteinase K( $20\mu\text{g}/\mu\text{l}$ )와  $200\mu\text{l}$ 의 10% SDS를 첨가하여 잘 흔들고  $35^\circ\text{C}$ 의 온수에 16시간 놓아둔다. 이 검체에 5M NaCl  $1060\mu\text{l}$ 를 넣고 15초 동안 잘 흔들어 변성된 단백질이 충분히 침전될 수 있도록 한다. 15분간 분당 2500회의 속도로 원심분리를 한 후 검체의 상층액을 15ml 튜브에서 8ml 100% ethanol과 혼합한다. 뚜껑을 닫고 뒤집으며 서서히 혼합하면, 흰 실오라기 같은 DNA가 관찰된다. DNA를 1.5ml 미세원심분리 튜브에 건져서 넣고, 상온에서 약 15분간 건조시킨다. DNA의 양에 따라 20에서  $200\mu\text{l}$ 의 증류수를 첨가하고  $50^\circ\text{C}$ 에서 5분동안 녹여 DNA를 용해시키고, Spectrophotometer를 이용하여 O.D. 값을 측정하여 용량을 확인한다.

채취 용지 혈액의 경우, 소독된 펀치를 이용하여 5개의 spot을 채취한다. 이 종이를  $200\mu\text{l}$ 의 0.05N의 NaOH를 첨가하여 15분간 끓인뒤 동량의 0.15M Tris-HCl로 상온에서 5분간 중화시키고 분당 14000회의 속도로 10분간 원심 분리후 상층액을 새 튜브에 넣는다. DNA 침전을 위하여 상층액  $100\mu\text{l}$ 와 증류수  $200\mu\text{l}$ 를 혼합액  $300\mu\text{l}$ 에  $30\mu\text{l}$ 의 3M NaOAc와  $600\mu\text{l}$ 의 100% ethanol을 첨가하여 잘 흔들고, 10분간 분당 14000회의 속도로 원심분

리한 뒤 상층액을 제거하고 다시 70%의 ethanol을 600  $\mu$ l 첨가하여 10분간 분당 14000회의 속도로 원심분리한다. 이 검체를 상온에서 10분간 건조시키고 증류수 20  $\mu$ l를 첨가하여 피펫을 이용하여 용해 시키고 50°C에서 20분간 녹인다.

#### D. 효소중합반응(PCR):

효소중합반응은 AccuPower™ PCR PreMix (Bioneer, Seoul)를 사용하였다. 사용한 primer는 connexin 26 유전자의 전체 coding 염기서열을 포함하는 upper (5'-TCTTTTCCAGAGCAAACCGC-3')와 lower (5'-CTGGGCAATGCGTTAAACTGG-3')이며 전혈에서 채취한 DNA의 경우 1  $\mu$ l의 DNA(100ng/ $\mu$ l)와 2개의 primer 각각 1  $\mu$ l, 증류수 17  $\mu$ l를 첨가하여 전체 검체가 20  $\mu$ l가 되도록 한다. 검체 용지에서 추출한 DNA의 경우 5  $\mu$ l의 검체와 각각 1  $\mu$ l의 primer, 증류수 13  $\mu$ l를 첨가하여 마찬가지로 전체 검체가 20  $\mu$ l가 되도록 만든다. 효소중합반응의 조건은 95°C에서 5분간 유지시킨 뒤, denaturation, annealing, polymerization을 위하여 각각 95°C에서 30초, 60°C에서 30초, 72°C에서 30초를 1 cycle로 30 cycle 시행하고 마지막으로 72°C에서 5분간 유지시킨다.

#### E. 염기서열 분석:

1.2%의 agarose gel을 만들어 앞서 시행한 효소중합반응 산물을 100Volt에서 20분간 전기영동을 실시한다. 이후 우리가 얻고자하는 725 base pair의 band를 절제하여 미세원심분리 튜브에 담는다. 절제해 낸 gel용량의 3배인 300  $\mu$ l의 NaI를 첨가하여 50°C에서 10분간 녹인 후, Glassmilk 5  $\mu$ l를 첨가하여 5분간 4°C에서 반응시킨다. 이후에 5초간 회전침전 시키고 상층액을 제거한다(Bio101, CA, USA). 세척원액 0.7 ml, 100% ethanol 15.5ml, 증류수

14ml를 혼합하여 만든 세척혼합액 200  $\mu$ l를 첨가하여 조심스럽게 세척하고, 다시 5초간 회전침전 시킨다. 세척과 침전의 과정을 2차례 더 반복한 후 10분간 상온에서 건조시킨다. 이 검체에 15  $\mu$ l의 증류수를 첨가하여 세척하고 50°C에서 3분간 방치 후 30초간 원심분리를 시행하고 상층액을 13  $\mu$ l 채취한다. 이 채취한 용액을 다시 3분간 원심분리하고 최종적으로 10  $\mu$ l를 채취하여 염기서열 분석을 위한 connexin 26의 PCR 산물을 준비한다. 염기서열 분석을 위해서는 PE Applied Biosystems사의 ABI Prism BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit과 ABI prism 377DNA sequencer를 이용하였다. 효소중합반응은 한 검체당 upper와 lower 두가지 primer를 사용하였으며 denaturation, annealing, elongation을 위하여 각각, 96°C에서 10초, 50°C에서 5초, 60°C에서 4분을 한 cycle로 하여 총 25 cycle을 시행하였다.

### III. 결과

외래 환자 51명, S학교 67명, E학교 58명 등 총 176명의 선천성 난청에 대한 남녀 성비는 남자 108명, 여자 68명으로 남자에서 더 많이 관찰되었으며 연령별 분포는 청각장애 특수교육기관을 대상으로 하였기 때문에 10대 이하가 대부분을 차지하였다(Table 1, Fig 1).

대상 환자들에 대하여 가족력의 유무를 조사하였으며 친가 및 외가의 4촌 이내에서 선천성 난청의 가족력이 있는 경우만 인정하였고, 전체 176명 중 53명에서 가족력이 있는 것으로 조사되었다(Table 2). 또한 증후군에 의한 난청이나, 동반 장애의 유무에 대하여도 조사하였다. 관찰된 증후군으로는 Waardenburg 증후군이 7명, Pendred 증후군이 3명, Hunter 증후군이 1명, mucopolysacchalidosis가 1명, 기타 선천성 뇌성마비 등 동반장애가 심하거나 정확한 분류가 불가능하였던 환자가 4명이었다(Table 3, Table 4).

## A. 분자유전학적 분석

증후군과 동반되거나, 다른 동반장애가 있었던 경우를 제외한 청각장애만을 나타내는 160명의 환자들 중 121명에 대하여 connexin 26 유전자에 이상을 조사하였고, 발견된 유전자 이상은 V27I의 경우 21개의 동형접합체(homozygote), 41개의 이종접합체(heterozygote)가 발견되었고, E114G는 4개의 동형접합체, 35개의 이종접합체, 235delC는 4개의 동형접합체, 3개의 이종접합체, 35delG는 2개의 이종접합체가 발견되었다. 정상인의 자료를 얻기 위하여, 정상 신생아 100명의 유전자의 이상도 함께 조사하였고, 검사 결과 V27I는 12개의 동형접합체, 56개의 이종접합체, E114G는 2개의 동형접합체, 36개의 이종접합체, 235delC는 1개의 이종접합체가 발견되었다(Table 5, Table 6, Fig. 2.). 235delC 변이의 동형접합체가 발견되었던 한 환자에서는 난청의 특징적인 발현이 가족력과 함께 관찰되었다 (Fig. 3.).

## IV. 고찰

전 인구의 4%에서 10%의 유병률을 보이는 청각장애의 원인에 대하여 많은 연구들이 있었으나, 선천적인 난청인 경우 그 원인이 정확하게 밝혀지지 않은 실정이다. 신생아 천명당 한 명의 발병률을 보이는 이 질환은 96년의 보건복지부의 통계에 의한 인구 천명당 15.2명의 국내 출생률을 근거로 할 때, 국내에서도 매년 2,000명의 난청신생아가 새로 태어난다고 추정된다. 선진국의 경우 난청의 60%는 선천적 원인으로 알려져 있으며, 이는 다른 장애를 동반하는 증후군의 양상으로 나타나는 경우와, 비증후군적 양상으로 나타나는 난청으로 구분한다. 선천성 난청의 약 85%는 비증후군적, 상염색체 열성유전(DFNB)을 하며, 상염색체 우성 유전(DFNA)은 12-15%, 성염색체 유



전(DFN)을 하는 경우는 1-3% 정도를 차지하는 것으로 알려져 있다<sup>6</sup>.

이번 연구의 대상이 되었던 환자들의 경우, 동반질환을 갖는 증후군에 의한 난청환자들이 관찰되었으며, 7명의 환자에서 발견되었던 Waardenburg 증후군의 경우 1978년도 김<sup>7</sup>등에 의하여서 국내에서도 보고된 바가 있는 질환으로, 선천성 난청의 1%에서 7%를 차지하며 선천성 난청과 함께 내안각의 측면전위, 백색증, 홍채이색증, 비근부의 편평 등을 동반하는 질환으로 알려져 있다. 또한, 3명의 환자들에게서 발견되었던 Pendred 증후군의 경우 난청과 갑상선 기능의 이상을 동반하며, 국내에서는 1973년에 김<sup>8</sup>등에 의하여 보고된 바가 있다.

1997년 Kelsell<sup>9</sup>등은 Palmoplantar keratoderma(PPK)라는 피부 질환과 난청을 갖는 가족의 유전자 분석을 통하여, gap-junction을 이루는 단백질 connexin 26(GJB2)의 유전자 이상을 보고하였다. 이후 이 유전자에 대한 많은 연구들이 이루어졌으며, 1998년 Estivill<sup>10</sup>등은 50%이상의 상염색체 열성 유전에 의한 난청의 원인이 바로 이 GJB2 유전자의 이상에서 기인된 것임을 보고하였다. 주로 이탈리아인과 스페인인을 대상으로 한 그들의 연구에서 85%의 돌연변이는 35번째 codon인 guanine이 deletion (35delG)되는 것이다. 이러한 변이는 frameshift를 초래하고 12번째 codon인 GGT가 GTG로 변환되어 glycine이 valine으로 치환되며 13번째 amino acid의 stop codon으로 작용하여 단백질의 생성을 막는 역할을 하게 된다. connexin 26는 13번째 염색체 장완의 12번째 locus에 위치한 유전자에 의해 형성되는 것으로 알려져 있으며, 신체의 여러 장기에 분포하는 세포간의 gap-junction을 구성하는 것으로 알려져 있다.

음자극의 전달에 있어서 gap-junction의 역할에 대하여서는 많은 보고가 있으며<sup>11,12</sup>. 이를 통하여 내림프 칼륨이온의 순환이 이루어짐을 알게 되었다<sup>13,14</sup>. 특히 connexin 26는 와우의 지지세포와 섬유세포에서 발현된다고 알려

져 있다<sup>13</sup>. Gap-junction의 이상으로 재순환이 억제될 경우, 내림프액 전위에 이상을 초래하여 난청을 유발하게 된다.

현재까지 난청과 관련된 여러 유전자<sup>6</sup>이 보고되고 있으나 connexin 26의 변이를 제외한 다른 염색체 이상의 경우, 광범위하게 보고되지는 못하고 있다. connexin 26에 대한 연구에서 상기한 35delG의 경우, 영국, 프랑스, 레바논, 지중해 연안과 호주, 뉴질랜드를 대상으로 한 연구에서 약 70%를 차지하는 주된 이상으로 확인이 되었다<sup>15,16</sup>. 이 염색체 이상은 종족별, 지역별 차이가 존재하는 것으로 생각되며, 유태인을 대상으로 시행한 연구에서는 167delT가 가장 흔한 변이의 형태로 보고되었고<sup>17</sup> Q124X<sup>18</sup>, Val84Met, Val95Met, Ser113Pro<sup>19</sup>등 다른 형태의 변이가 계속 발견되고 있다. 최근 보고에 의하면 일본에서도 235delC 형태의 변이가 발견되었으며<sup>20</sup> 외국에서 보고되지 않았던 변이가 한국과 일본에서 발견되는 점은 이 형태의 돌연변이가 'mutation hot spot'의 결과이기 보다는 'founder effect'라고 생각한다.

본 연구에서 특이하였던 사항은 외국에서 가장 흔한 변이 형태로 보고되었던 35delG는 드물게 나타난 점이다. 난청을 갖는 환자군 2예에서 이종접합체(heterozygote)만으로 발견되었다. 이러한 사실은 connexin 26의 변이가 지역별, 종족별로 차이가 있음을 의미한다. 정상군에서 발견된 V27I와 E114G 형태의 변이도 한국인의 polymorphic한 특징을 보여주는 결과였다. 의미있는 돌연변이로 새로 발견된 235delC의 경우, frameshift를 유발하여 connexin 26 단백질의 81번째 codon에서 stop codon을 형성하게 되고 이 결과 명확하게 난청이 열성유전됨을 보여주었다.

본 연구의 결과 235delC 형태의 변이는 한국의 난청환자들의 5.2%, 정상인의 0.5%에서 보인자 상태인 것으로 발견되었다. 또 다른 흥미로운 점은 정상군과 난청환자 모두에게서 발견된 E114G 변이이다. 이 변이는 114번째 codon의 glutamate가 glycine으로 변환되는 것으로 connexin 26 단백질에

의미있는 형태학적인 변환이 예상된다. 즉, 다형성(polymorphism)과 돌연변이가 모두 의심되는 변이형태이었다. 이런 추정이 가능하였던 것은 E114G 변이를 갖는 한 가족의 유전형태의 관찰을 한 결과 동형접합체(homozygote)환자인 경우인 경우, 고도의 난청이 동반되었고, 이형접합체(heterozygote)환자인 경우, 비교적 난청의 정도가 심하지 않았으며 모두 10대 후반에 시작된 난청을 갖는 것이 관찰되었기 때문이다. 이 변이 형태가 단독으로 진행성의 난청을 갖게하는지 아니면 다른 요인과 더불어 난청을 유발하는지는 아직 불확실하며, 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

이상의 결과들은 국내 유전성 난청환자의 진단 및 실질적인 유전상담에 진일보적인 자료로 사용될 수 있으리라 생각된다. 또한, 동물실험 등 더 많은 연구과제가 남아있지만, 유전자 치료를 통하여 정상 청력을 갖는 신생아의 탄생도 가능한 날이 올 것으로 기대한다.

## V. 결론

176명의 선천성 난청환자를 대상으로 한 본 연구에서 53명의 가족력을 갖는 환자를 찾을 수 있었으며, 이 결과는 유전적 인자에 의한 난청 발생원인의 가능성을 강하게 시사하였다. 반면 증후군과 동반된 난청 환자들은 16명을 차지하여, 증후군에 의한 난청보다는 대부분의 경우 비증후군성 난청임을 알 수 있었다.

121명의 *GJB2* 유전자를 검색한 결과 국외에서 보고된 35delG의 형태는 2 예에서만 찾을 수 있었으며, 한국의 유전성 난청에는 많은 영향을 끼치지 못한 것으로 생각된다. 이번 연구에서 의미있었던 결과는 235delC의 변이형태이었다. 235delC는 한국인에게서 난청을 유발한 변이형태였으며 상염색체 열성유전의 형태를 보여주어, 향후 국내 유전성 난청연구에 중요한 자료로

생각되는 바이다.

Table 1. Gender distribution of congenital hearing loss patients

	Male	Female	Total
<i>S school</i>	41	26	67
<i>E school</i>	32	26	58
<i>OPD</i>	35	16	51
<b>Total</b>	<b>108(61.4%)</b>	<b>68(38.6%)</b>	<b>176(100%)</b>

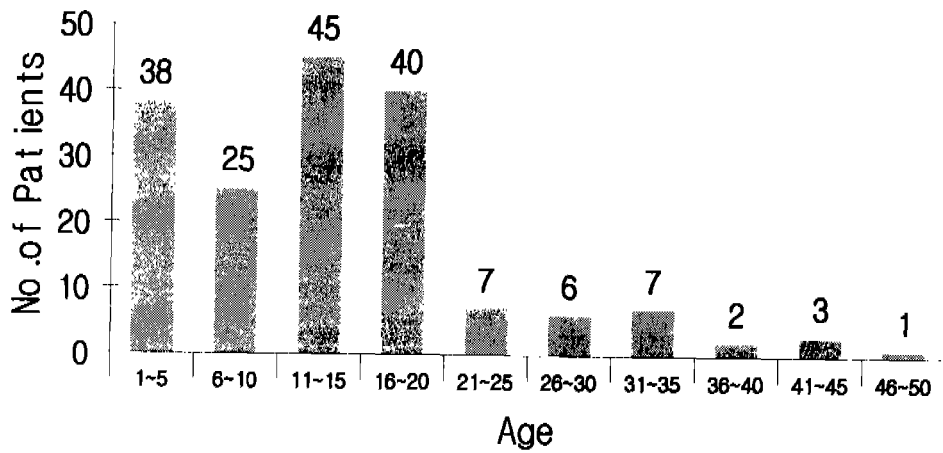


Fig. 1. Age distribution of congenital hearing loss patients

Table 2. Family history of congenital hearing loss patients

	<b>FHx(+)</b>	<b>FHx(-)</b>
<i>S school</i>	12	55
<i>E school</i>	28	30
<i>OPD</i>	13	38
<b>Total</b>	<b>53(30.1%)</b>	<b>123(69.9%)</b>

Table 3. Syndromic hearing loss Vs. non-syndromic hearing loss

	<b>syndromic</b>	<b>non-syndromic</b>
<i>S school</i>	5	62
<i>E school</i>	10	48
<i>OPD</i>	1	50
<b>Total</b>	<b>16(9.0%)</b>	<b>160(91.0%)</b>



Table 4. Syndromes associated with hearing loss patients

Syndrome	No. of patients
Waardenburg	7
Pendred	3
Hunter	1
Mucopolysacchalidosis	1
unclassified	4
<b>Total</b>	<b>16</b>

Table 5. Variations of connexin 26 in 100 normal infants

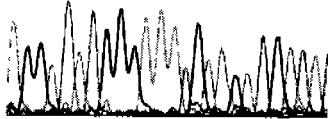
	Homozygote	Heterozygote	Total/Allele(%)
V27I	12	56	80/200(40.0)
E114G	2	36	40/200(20.0)
235delC	0	1	1/200(0.5)

Table 6. Mutations and polymorphism of connexin 26 found in Korean congenital hearing loss patients

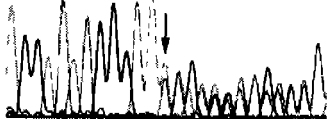
	Homozygote	Heterozygote	Total/Allele(%)
V27I	21	41	83/242(34.3)
E114G	4	35	43/242(17.8)
235delC	4	3	11/242(4.5)
35delG	0	2	2/242(0.8)

**a. 235delC**

C G G C T A T G G G G C C G C A G C T G A T C  
**WILD**



G G C T A T G G G C C N N G N N N I N G N N N T  
**HETERO** <sup>delC/WT</sup>

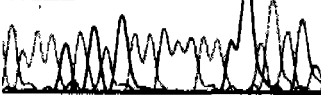


C G G C T A T G G G G C C G C A G C T G A T C T T  
**HOMO** <sup>delC</sup>



**b. E114G**

T A A A G A G T G A A T T T A A G G A C A T C  
**WILD**



T A A A G A G T G A A T T A A G G A C A T C  
**HETERO** <sup>A-G</sup>

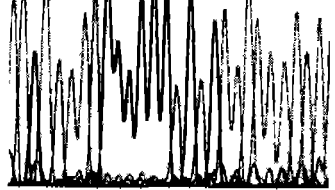


T A A A G A G T G A A T T A A G G A C A T C  
**HOMO** <sup>A-G</sup>



**c. 35delG**

A C G A T C C T G G G G G T G G A A C A A A C A C  
**WILD**



A C G A T C C T G G G G G T G G A A C A A A C A C  
**HETERO** <sup>delG/WT</sup>

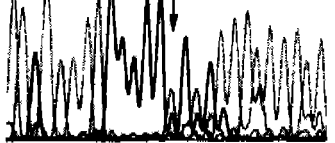


Fig. 2. Sequencing chromatographs of connexin 26 mutations

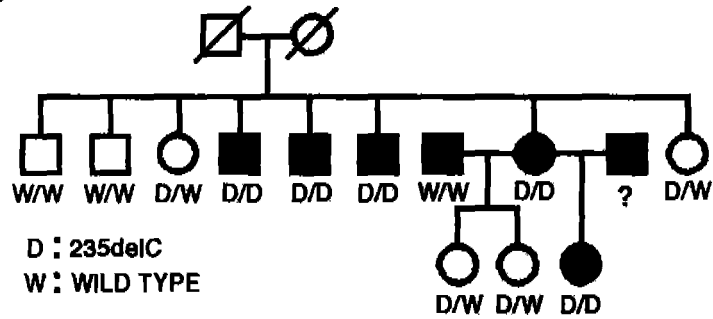
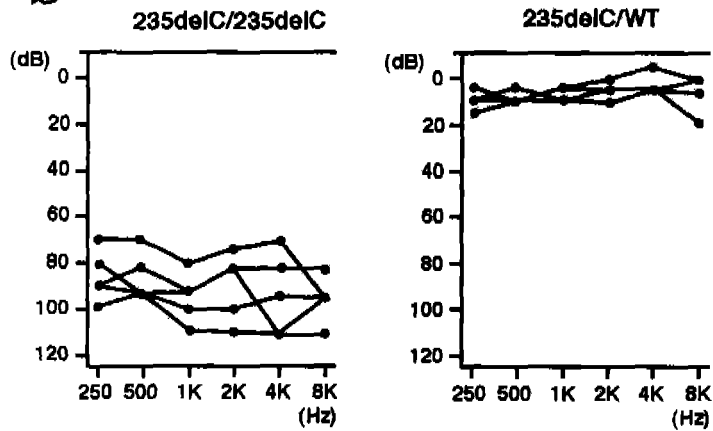
**a****b**

Fig. 3. The 235delC type of mutation. **a.** Pedigree of the 235delC family is shown. Open symbols; individuals with normal hearing, filled symbols indicate hearing impaired persons. **b.** Pure tone audiograms of 235delC family members. Individuals with hearing loss showed homozygous 235delC mutation whereas mutations carriers have normal audiologic pattern.

## 참고문헌

1. Nadol JP Jr: *Hearing loss. N Engl J Med* 329:1092-1102,1993
2. 홍창의: 내분비 질환. 소아과학. 대한 교과서, 제 6판, 1999. pp948-950
3. 홍창의: 유전성 대사 질환. 소아과학. 대한 교과서, 제 6판, 1999. pp160
4. 이종달: 가족성 난청의 1례. 대한이비인후과학회지 13:73-76,1973
5. 김희남: 농아학생에 대한 청각학적 고찰, 대한이비인후과학회지 16:275-287,1973
6. van Camp G, Willems PJ, Smith RJH: *Nonsyndromic hearing impairment: unparalleled heterogeneity. Am J Hum Genet* 60:758-764, 1997
7. 김영명, 조경열, 이만응, 김상기, 박기현: Waardenburg 증후군의 3예. 대한이비인후과학회지 21:75-78,1978
8. 김재선, 김원섭, 김영명, 김기령: Pendred's Syndrome 1례. 대한이비인후과학회지 16:293-298,1973
9. Kelsell DP, Dunlop J, Stevens HP, Lench NJ, Liang JN, Parry G, et al. :*connexin 26 mutation in hereditary non-syndromic sensorineural deafness. Nature* 387:80-83,1997
10. Estivill X, Fortina P, Surrey S, Rabionet R, Melchionda S, D'Agruma L, et al.: *connexin-26 mutation in sporadic and inherited sensorineural deafness. Lancet* 35: 394-398,1998
11. Nadol JB, Mulroy MJ, Godenough DA, Weiss TF.: *Tight and gap junction in a vertebrate inner ear. Am J Anat* 147:281-301,1976
12. Dunn RA, Morest DK.: *Receptor synapsis without synaptic ribbons in the cochlea of the cat. Proc Natl Acad Sci USA* 72:3599-3603,1975
13. Kikuchi T, Kimura RS, Paul DL, Adams JC.: *Gap junctions in the rat*

- cochlea: immunohistochemical and ultrastructural analysis. Anat Embryol 191:101-118,1995*
14. Ichimiya T, Adams JC, Kimura RS.: *Changes in immunostaining of cochleas with experimentally induced endolymphatic hydrops. Ann Otol Rhinol Laryngol 103:457-468,1994*
  15. Denoyelle F, Weil D, Maw MA.: *Prelingual deafness: high prevalence of a 30delG mutation in the connexin 26 gene. Hum Mol Gen 6:2173-2177,1997*
  16. Zelante L, Gasparini P, Estivill X: *connexin 26 mutations associated with the most common form of non-syndromic neurosensory autosomal recessive deafness(DNFB1) in Mediterraneans. Hum Mol Genet 6:1605-1609,1997*
  17. Morell RJ, Kim HJ, Hood LJ.: *Mutation in the connexin 26 gene(GJB2) among Ashkenazi Jews with nonsyndromic recessive deafness. N Engl J Med 339:1500-1505,1998*
  18. Scott DA, Kraft ML, Carmi R, Ramesh A, Elbedour K, Yairi Y, et al.: *Identification of mutation in the connexin 26 gene that cause autosomal recessive nonsyndromic hearing loss. Hum Mut. 11:387-394,1998*
  19. Kelley PM, Harris DJ, Comer BC, Askew JW, Fowler T, Smith SD, et al. *Novel mutations in the connexin 26 gene(GJB2) that cause autosomal recessive(DFNB1) hearing loss. Am J Hum Genet 62:792-799,1998*
  20. Fuse Y, Doi K, Hasegawa T, Sugii A, Hibino H, Kubo T: *Three novel connexin 26 gene mutations in autosomal recessive*

*non-syndromic deafness. Neuroreport 10:1853-1857,1999*



-ABSTRACT-

Clinical characteristics and molecular genetic analysis  
of connexin 26 in Korean congenital hearing loss

Jung-Whan Song

Department of Medicine  
The graduate school, Ajou University

(Directed by Associate Professor Hong-Joon Park)

**Background and Objectives** Congenital deafness is relatively common disorder and its' incidence is as high as 1 per every 1,000 newborn infants. In developed countries, genetic hearing loss is estimated 50% of the cause of hearing loss and at least 20 autosomal recessive loci were identified. In 1997, connexin 26, one of the gap-junction proteins, was considered as main mutant gene of non-syndromic congenital sensorineural hearing loss. The objective of this study is the investigation of the clinical features and characteristics of connexin 26 mutation in congenital deaf patients in Korea. **Materials and Method** Fifty-one patients who have visited out patient department of Ajou university hospital and 125 patients attending two special schools for deafness were physically examined including their family history. Audiologically approved one hundred normal hearing infants were selected as a control group. With their blood samples, we have performed DNA

extraction and sequenced PCR products **Results** Among 176 patients, 53 patients had their family history of hearing impairment, and 16 patients showed syndromic features. We have sequenced connexin 26 in 121 patients who have congenital non-syndromic sensorineural hearing loss. Two heterozygotes of 35delG, three heterozygotes and four homozygotes of 235delC and 35 heterozygotes and four homozygotes of E114G were observed. **Conclusion** Deafness family history was relatively common among the patients and it accounts for the importance of genetic origin of hearing loss. Syndromic hearing loss occupies relatively minor portion of congenital deafness. In connexin 26 mutation, 35delG is reported as major gene mutation in western country but in our study only 2 patients had this type of mutation. 235delC, E114G can be considered as race specific gene mutation, even though further studies are needed.

---

Key Words: congenital non-syndromic sensorineural hearing loss, autosomal recessive, connexin 26