

Molecular Genetic Diagnosis of Deafness: Current and Future

Seung-Ha Oh^{1,2} and Byung Yoon Choi^{2,3}

¹Department of Otolaryngology, Seoul National University Hospital, Seoul National University College of Medicine, Seoul; and

²Sensory Organ Research Institute, Seoul National University Medical Research Center, Seoul; and

³Department of Otorhinolaryngology, Seoul National University Bundang Hospital, Seoul National University College of Medicine, Seongnam, Korea

난청 분자유전진단의 현재 그리고 미래

오승하^{1,2} · 최병윤^{2,3}

서울대학교 의과대학 서울대학교병원 이비인후과학교실¹ 서울대학교 의과대학 의생명연구소 감각기관연구소²

서울대학교 의과대학 분당서울대학교병원 이비인후과학교실³

Advances in molecular biology and molecular genetic technologies have revealed extreme etiologic heterogeneity of genetic hearing loss. Genes known to contribute to deafness have been reported to be involved with a variety of function and structures in the cochlea of the inner ear. Genetic alteration in deafness genes manifests hearing loss either in syndromic or in nonsyndromic forms, albeit much more frequently in latter forms. Molecular genetic diagnosis in this nonsyndromic hearing loss is challenging in majority of cases. *GJB2* is the most frequent etiology of severe to profound nonsyndromic hearing loss in most of the ethnic backgrounds. When no potentially pathogenic *GJB2* mutation is detected, characteristic audiogram profiles and radiologic markers help us to select next candidate deafness genes. Mutations in *SLC26A4* and *POU3F4* causes enlarged vestibular aqueduct and incomplete partition type III anomaly, respectively. *TECTA*, *TMPRSS3*, *WFS1*, *COCH*, *KCNQ4* and *DIAPH1* give rise to a characteristic audiolologic configuration, if mutated. This phenotype-driven candidate gene approach has been successful not infrequently. With the advent of next generation sequencing technologies, molecular genetic diagnosis of hearing impaired subjects even without any characteristic markers is being widely tried. Targeted resequencing of known deafness genes appears to be effective in as high as 50–60% in making molecular genetic diagnosis at least for multiplex families where there are two or more affected hearing impaired subjects. Whole exome sequencing has been successful in revealing molecular genetic etiology anecdotally. More sophisticated pipeline and platform for revealing pathogenicity of detected variants both genetically and biologically is necessary to incorporate the advent of cutting edge sequencing technologies to the big step toward a personalized rehabilitation for hearing impaired subjects.

Korean J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg 2014;57:1-6

Key Words Deafness · Genes · Next generation sequencing · Phenotype-driven.

서 론

최근 들어 청각과 난청에 대한 분자생물학적 혹은 분자유전학적 이해가 높아지면서 비증후군성 난청의 진단과 환자의

청각재활이 보다 효율적으로 이루어지게 되었다. 이러한 분자생물학적 혹은 분자유전학적 발전이 있기 이전에는 전통적으로 비증후군성 유전성 난청(nonsyndromic genetic hearing loss)의 진단은 비유전적인 원인(non genetic cause)으로 없는 경

우에 내려지는 일종의 배제진단(diagnosis of exclusion)의 형태로 이루어져 왔다. 실제로 선천성 난청의 대부분이 비증후군성 유전성 난청의 범주에 속함에도 불구하고 이런 형태의 진단이 내려져 왔던 이유는 정확한 분자유전진단이 불가능했기 때문이다. 현재 각종 난청 유전자 검사는 비증후군성 난청의 많은 예에 있어서 명확한 진단이 가능하도록 만들었다. 최근 20~30년에 걸쳐서 많은 난청 유전좌(locus)과 유전자가 발견되었다. 현재까지 상염색체 열성 유전성 난청에 대해서 약 70개의 유전자 좌(loci)과 40개의 유전자가 밝혀졌으며 상염색체 우성 유전성 난청에 대해서는 약 54개 유전자 좌(loci)과 27개의 유전자가(<http://hereditaryhearingloss.org/>), 그리고 성염색체(X-염색체) 관련 난청으로는 4개의 좌(DFNX1, 2, 4, 5)와 3개의 유전자가 발견되었다.¹⁾

난청 분자유전진단의 현재

개요

서두에서 언급하였듯이, 유전성 난청의 분자유전학적 etiology는 매우 다양하다. 그리고 난청의 segregation 역시 알려진 유전 방식(inheritance pattern) 모두가 다 관찰될 정도로 다양한 방식에 의해 유전된다. 즉 상염색체 열성, 상염색체 우성, 성염색체, 미토콘드리아, 심지어 digenic inheritance가 난청에 관련되어서 관찰된다. 뿐만 아니라 알려진 난청 유전자들은 서로 다른 기능을 수행하는 매우 다양한 종류의 단백질을 coding한다: gap junction 단백질(*GJB2*, *GJB3*, *GJB6* 등), tight junction 단백질(*CLDN14* 등), 구조 단백질(*MYO7A*, *ACTG1*, *COL11A1*, *MYH14*, *CDH23* 등), 효소 단백질(*PRPS1*, *LRTOMT* 등), 전사인자(*POU3F4*, *POU4F3*, *GATA3* 등), 이온 채널과 transporter 단백질(*SLC26A4*, *KCNQ4*, *KCNQ1*, *SLC29A3* 등), 성장인자 단백질(*HGF*), ribosomal RNA(*MT-RNR1*), transfer RNA(*MTTS1*, *MTTL1* 등), 그리고 microRNA(miR-96).

증후군성 난청

난청을 보이는 여러 가지 증후군은 다양한 기관의 이상을 동반하는데, 피부, 눈, 쭈장, 심장, 갑상선, 중추신경계, 치아, 부갑상선, 신장, 그리고, 골격계 등의 이상이 보고된 바 있다. 증후군성 난청은 이러한 다른 기관의 이상을 통하여 비증후군성 난청에 비하여 보다 용이하게 분자유전진단이 가능할 수 있다. 난청을 가지는 주요 증후군을 살펴보면 branchio-oto-renal 증후군(BOR syndrome), Jervell&Lange-Nielsen 증후군, CHARGE 증후군, Pendred 증후군, Alport 증후군, Waardenburg 증후군, Usher 증후군, Wolfram 증후군, Stickler

증후군, Treacher-Collins 증후군 등이 있으며 이들은 모두 많은 경우에 분자유전검사를 통하여 분자유전진단이 가능하다. 이들 중 Pendred 증후군, Usher 증후군, 그리고 Wolfram 증후군을 일으키는 원인 유전자들의 경우는 돌연변이의 pathogenic potential에 따라 비증후군성 난청을 유발할 수도 있다.

비증후군성 난청

다른 기관의 이상 없이 난청만 있는 비증후군성 난청의 경우, 유전적인 background에 따라 다양한 분자유전진단 프로토콜이 적용된다. 유전 방식, 난청이 언제 시작되었는지, 그리고 주로 이환되는 주파수, 동반되는 내이 기형 여부, 혹은 청각신경병증의 소견을 보이는지 등등에 따라 몇몇 유전자를 우선적으로 분자유전검사의 대상으로 삼을 수 있다.

언어습득기전 고도 혹은 심도 난청인 경우, 산발성이나 열성 유전성 난청이 의심되면 임상적으로는 일단 대부분 connexins 26을 만드는 *GJB2* 유전자를 먼저 스크리닝한다. 이 유전자의 돌연변이는 일부 인종에서는 상염색체 열성 유전 난청의 약 절반 가까이의 원인으로 보고되며(*DFNB1*), 여러 인종에서 열성 유전성 난청의 약 15~40%를 설명할 정도로 유병률이 높기 때문이다.^{2,3)} 현재까지 이 유전자에서 발견된 돌연변이만 하더라도 100개가 넘는다. 인종별로 이 *GJB2* 돌연변이의 스펙트럼은 판이하게 달라서 분자유전 검사시에 이에 대한 고려가 반드시 필요하다. 예를 들면 Caucasian에서는 c.35delG가 전체 *GJB2* 돌연변이의 85% 가까이를 차지하는 반면 한국을 포함한 동아시아 *DFNB1* 환자에서는 c.235delC가 매우 흔한 돌연변이이다.⁴⁻⁷⁾ 이러한 언어습득기전(prelinguinal) 심도 혹은 고도 난청뿐 아니라, 최근 들어 동아시아인에서 *GJB2*의 p.V37I 돌연변이가 소아에서 언어습득기후(postlingual)에 발견되는 경도 혹은 중등도 난청의 약 20% 정도에 기여한다는 것이 보고되었다.^{8,9)} 따라서 적어도 동아시아의 소아에서는 산발성인 혹은 열성 유전 방식을 따르는 경도 혹은 중등도 난청이 발견될 경우, *GJB2*를 검사하는 것이 의미를 가질 수 있다.⁹⁾ *GJB2* 유전검사 결과를 해석할 시에 한 가지 주의할 점은 상당수의 *DFNB1* 환자들에서 두 개의 *GJB2* 돌연변이 대립형질 유전자(mutant allele) 대신에 한 개의 돌연변이 대립형질 유전자만 발견이 된다는 점이다. 발견이 안 되는 나머지 돌연변이 대립형질 유전자에 대해서는, *GJB2*의 단백질을 코딩하는 영역 이외의 *DFNB1* locus에 *GJB6*를 침범하는 유전자 대결실과 같이 일반 Sanger 염기서열방식으로는 발견할 수 없는 유전자 이상이 있을 것으로 생각하고 있다.^{10,11)} 또한 일부 연구자들은 *GJB2*의 한 돌연변이가 반대편 대립형질 염색체의 *GJB3*(encoding connexin 31), *GJB4*(encoding connexin 30.3), 혹은 *GJB6*(encoding connexin 30)의 돌연

변이와 digenic pattern으로 난청을 일으킬 수 있다고 보고하고 있으나 이에 대해서는 보다 많은 연구가 필요한 실정이다.¹²⁻¹⁴⁾

난청의 여러 가지 특징, 즉 청각 표현형(auditory phenotype)이나 동반된 내이 기형, 혹은 특징적인 임상 증상에 의거하여 우선적으로 관련된 유전자를 선별적으로 검사하는 phenotype driven candidate gene approach는 *GJB2* 돌연변이 음성인 임상적으로 적용하기에 무난한 방법이다. 우선 현재 상염색체 우성 유전 방식을 따르는 난청 유전자는 대개 고주파수를 주로 침범하는 언어습득기후 난청을 일으킨다. 현재까지 54개의 loci와 27개의 상염색체 유전자들이 발견되었다(<http://hereditaryhearingloss.org>). *TECTA*의 zona adhesin domain 혹은 Entactin domain, *KCNQ4*, *COCH*의 돌연변이들이 고주파 청력 저하 환자에서 주로 발견되나, 워낙 다양한 유전자들이 현재까지 알려져 있고 각각 유전자 난청에의 기여도가 높지 않기 때문에 특히 고주파수(high frequency)를 주로 침범하는 경우, 임상적으로 특정 유전자를 선별해서 검사하기는 용이하지 않다.

다만 특징적으로 중주파수(mid frequency) 혹은 저주파수(low frequency)에 주로 청력저하를 나타내는 특정 유전자들이 있기에, 청력 저하 유형에 합당하는 특정 유전자들을 먼저 선별검사 할 수 있겠다. 즉 중주파수를 주로 침범하는 경우, *TECTA*의 zona pellucida domain이나 Entactin domain 혹은 *COL1A2*, 저주파수의 경우는 *WFS1*, *DIAPH1*, *POU4F3* 등의 유전자를 스크리닝 해 볼 수 있겠다. *ACTG1*의 돌연변이에 의한 난청(DFNA20/26)은 20~30대에 시작하여 불과 10년에서 20년 사이에 고도 혹은 심도 난청에 도달하여 결국은 와우이식이 필요하게 되므로,^{15,16)} 우성 유전방식을 나타내며, 짧은 기간에 고도나 심도 난청에 도달하는 경우, *ACTG1*의 돌연변이를 생각해볼 수 있겠다. 상염색체 열성 유전방식을 따르는 비증후군성 난청(arNSHI) 역시 매우 다양한 유전자에 의하여 발생할 수 있는데, 현재까지 90개의 loci와 40개의 상염색체 유전자가 발견되었다(<http://hereditaryhearingloss.org/>). 이러한 다양한 원인 유전자에 의한 난청이지만 상염색체 열성유전자의 돌연변이에 의한 난청은 대체로 언어습득기전(prelingual)에 발견되며, 비진행성의 양상을 보이며, 우성 유전자의 돌연변이에 의한 그 정도가 심하여 고도 혹은 심도의 난청을 보인다는 공통점이 있다. 위에서 언급하였듯이 상염색체 열성 유전방식의 난청에서 *GJB2* 돌연변이에 의한 난청(DFNB1)이 가장 흔하므로 우선 *GJB2*에 대한 염기서열분석을 먼저 시행하게 되는데 여기서 음성이 나오게 될 경우에, 각종 방사선학적 소견이나 청각신경병증의 유무에 따라 phenotype driven candidate gene approach를 하게 된다. 가장 흔하게 보이는 소견은 *SLC26A4* 돌연변이에 의한 nonsyndromic

enlarged vestibular aqueduct(비증후군성 전정수도관 확장증)이다. 두 개의 *SLC26A4* 돌연변이 대립형질 유전자는 비증후군성 전정수도관확장증(DFNB4) 혹은 Pendred 증후군을 일으킬 수 있다. 이 둘의 감별은 갑상선의 이상 유무, 보다 정확히 말하면, iodine organification의 defect의 유무를 통하여 이루어지는데 Perchlorate discharge test에 의해서 진단할 수 있다. 즉 전정수도관확장증이 존재하는 난청 환자의 경우, *SLC26A4*에 대한 분자유전진단과 Perchlorate discharge test를 통하여 DFNB4인지 Pendred 증후군인지를 정확히 구별할 수 있다. 한 가지 유념할 것은 전정수도관확장증 환자에서 드물지 않게 오직 1개의 *SLC26A4* 돌연변이 대립형질 유전자만 관찰되는 경우가 있다. 이 경우 역시 DFNB4로 생각할 수 있으며, 갑상선의 이상을 보이는 경우는 매우 드물다.¹⁷⁻¹⁹⁾ 발견되지 않은 나머지 하나의 돌연변이 대립형질 유전자는 *SLC26A4* 유전자의 deep intronic sequence나 아니면 *SLC26A4*로부터 멀리 떨어져 DFNB4 locus 어딘가에 있을 것으로 여겨지며, *SLC26A4*의 coding region의 돌연변이에 비하여 그 pathogenic potential이 약할 것으로 추측된다.¹⁹⁾

상염색체 열성 유전자 중에서 그 청각표현형으로 흥미를 끄는 또 하나의 유전자는 *OTOF*이다. Auditory neuropathy/auditory dys-synchrony(AN/AD)로 알려진 청각신경병증은 임상적으로 이음향방사(emission)가 존재하고, 특별히 청신경의 integrity에 문제가 없는데도 청성뇌간반응(auditory brainstem response)이 존재하지 않는 난청으로 규정되는데, 이런 AN/AD의 가장 대표적인 원인 유전자가 *OTOF*이다. 이 유전자는 전체 열성 유전자 중에서도 2.4%의 유병률을 보여서 *GJB2*, *SLC26A4*, *TMCI*, *MYO15A*에 이어 높은 빈도를 보이는 것으로 보고되며,²⁰⁾ 일부 인종에서는 가장 흔한 열성 난청 유전자 중의 하나로까지 거론되지만,²¹⁾ 정작 우리 한국을 포함한 동아시아의 청각신경병증에서의 유병률은 그다지 높지 않은 것으로 생각된다. *OTOF*의 돌연변이에 의한 난청(DFNB9) 중 일부는 온도에 민감하게 난청의 정도가 달라지는 특이한 표현형을 보이므로 문진시에 이에 대한 고려가 필요하다.²²⁾ *OTOF*는 otoferlin이라는 단백질을 만드는데, 많은 연구자들이 내이 내유모세포(inner hair cell)의 신경연접부위(synapse)에서 일어나는 exocytosis가 otoferlin의 이상으로 인하여 제대로 이루어지지 않는 것이 DFNB9에 의한 난청의 기전이라고 믿고 있다.²³⁾ 이 가설은 DFNB9 난청 환자에서 와우이식의 결과가 좋은 것에 대한 이론적인 배경을 제시해 준다.

TMPRSS3 유전자는 여러가지 점에서 요사이 많은 관심을 받고 있다. *TMPRSS3* 유전자는 serine protease를 coding하는데, 이는 난청과 관련이 있다고 알려져 있는 첫 번째 protease이다.

흥미롭게도 이 유전자의 상염색체 돌연변이는 그 돌연변이의 pathogenic potential에 따라 언어습득기 전 난청(DFNB10) 혹은 언어습득기 후 난청(DFNB8)을 일으킨다. 즉 한 유전자가 완전히 다른 두 개의 청각 표현형을 나타내는데, 이에 대한 설명으로 두 개의 *TMPRSS3* 돌연변이 대립형질유전자가 그 독성에 있어서 어떤 조합을 보이느냐에 따라 DFNB8과 DFNB10 중 어떤 표현형을 가질 지가 결정된다고 최근의 청각학적인 분석 연구를 통하여 보고되었다.²⁴⁾ 돌연변이 *TMPRSS3* 단백질의 남아 있는 proteolytic activity가 정상 단백질과 비교하여 어느 정도인지에 따라서 청각 표현형이 달라진다는 것은 이전에 유전학적으로 변형된 yeast cell 시스템에서도 증명된 바 있다.²⁵⁾ 저자의 최근 연구에 의하면 한국인에서 언어습득기 후 난청을 보이는 산발성 혹은 열성 유전방식을 따르는 한국인 난청 환자의 12%에서 *TMPRSS3* 돌연변이가 발견되어 유병률이 낮지 않음을 보여준 바 있다(unpublished data).

비증후군성 난청 중 성염색체(X-염색체) 관련 난청으로, DFNX2가 대표적인데, *POU3F4*의 돌연변이로 인하여 발생하며, incomplete partition type III(IP type III) 내이 기형을 유발하여 혼합성 혹은 감각신경성 난청을 일으킨다. 언어습득기 전이나 후에 진행성의 혼합성 난청을 보이면서 성염색체 관련 유전방식을 보이는 경우 측두골 CT를 통하여 내이 기형 유무를 확인하여, DFNX2를 진단하는 것이 필요하다. 상당수의 DFNX2 환자에서 발견되는 DFNX2 좌 내의 유전자 대결실(large genomic deletion)은 *POU3F4*에 대한 염기서열분석이 IP type III 환자에서 음성으로 나왔을 경우에 가장 먼저 고려할 점이다. 저자의 연구에 의하면 적어도 한국인에서는 IP type III 내이 기형의 분자유전학적인 병인은 DFNX2의 단일 etiology이며, sporadic한 경우, 이러한 유전자 대결실이 DFNX2의 원인으로 밝혀지는 경우가 보다 흔한 경향을 보였다(unpublished data). DFNX2에서 발견되는 air-bone gap은 third window로 인한 영향이며, *POU3F4*의 점돌연변이나 유전자 대결실 등 돌연변이의 유형에 관계없이 존재하는 것으로 최근에 보고되었다.²⁶⁾ DFNX2에서는 정확한 분자유전 상담이 반드시 필요한데, 이를 위해서는 환자의 친모(biological mother)에 대한 유전검사를 통하여 보인자 상태(carrier status)를 파악하는 것이 무엇보다 중요하다. 비용과 방법적인 면에서 효과적으로 이를 파악하는 방법이 우리나라 연구진에 의해서 보고된 바 있다.²⁷⁾

지금까지 언급된 유전자와 달리 이러한 청각학적인 혹은 방사선학적 marker가 존재하지 않는 경우는 phenotype driven candidate approach의 사용이 매우 제한적이다. 최근 들어 기존의 Sanger sequencing보다 훨씬 많은 양의 유전자를 차세대 염기서열분석(Next Generation Sequencing, NGS)의 도

입으로 더 빠르고 저렴하게 분석할 수 있게 되었다. 기존의 알려져 있는 난청 유전자를 target하여 한꺼번에 80~200여 개의 유전자를 분석한 연구가 속속 발표되고 있으며,^{28,29)} 저자들은 특히 한 가족 내에 난청 환자가 한 명 이상 존재하는 multiplex 난청 가계에서 이러한 targeted resequencing으로 70%에 근접하는 가계에서 분자유전진단이 가능함을 최근에 밝혔다(manuscript under review).

난청 분자유전진단의 미래

Targeted resequencing이나 whole exome sequencing 등 NGS technique을 이용한 염기서열분석방법이 나오면서, 난청 환자들에 대한 분자유전진단은 비약적인 발전을 보일 것으로 기대된다. 이미 알려진 난청 유전자 외에 새로운 난청 유전자들도 이러한 NGS를 이용한 염기서열분석으로 발견되었다.^{30,31)} Whole exome sequencing의 가격이 빠른 속도로 낮아지면서 앞으로 임상적으로 흔히 이용될 가능성도 그만큼 높아지고 있다. 저자들은 whole exome sequencing 데이터를 효율적으로 분석하여 copy number variation과 single nucleotide variation을 모두 효율적으로 찾아내는 프로토콜을 제시하였다.³²⁾ 이 프로토콜은 한 가족 내에 여러 명의 DNA를 얻을 수 있을 경우에는 whole exome sequencing 데이터의 효율적인 분석을 통하여 기존의 염기서열분석(linkage analysis)을 대신하여 candidate 유전자가 위치하는 유전자 좌(locus)를 지정할 수 있음을 보여주었다. 최근에 저자들은 또 다른 연구를 통하여 whole exome sequencing의 genotype to phenotype correlation, 더 나아가 variant to phenotype correlation의 정립에 매우 효과적으로 쓰일 수 있음을 보여주었다(unpublished data). 물론 NGS를 통하여 얻어지는 방대한 양의 변이들에 대한 정확한 해석은 쉽지 않은 문제이다. 쏟아져 나오는 각 유전자들의 변이들에 대한 유전학적 그리고 생화학적 분석을 통하여 그 pathogenic potential을 예측하고 평가할 수 있는 platform과 pipeline의 마련되어야 한다. 이렇게 얻어진 data들은 난청 환자들에 대한 맞춤형 청각 재활(personalized auditory rehabilitation)에 매우 중요한 자료로 활용될 것이다. 다양한 청각재활의 방법들 중 환자에게 가장 적합한 것을 선택하는데 이러한 원인 유전자에 대한 정보는 많은 도움을 줄 수 있다.

결 론

감각신경성 난청은 다양한 유전자의 이상에 의해서 발생하는데, 청각기관 이외에 다른 기관의 이상을 동반하는 종후

군성 난청과 달리 비증후군성 난청은 정확한 분자유전진단이 쉽지 않은 경우가 많다. 청각 표현형이나 내이 기형 등과 같은 특징적인 표현형이 있으면 그에 해당하는 candidate 유전자들을 우선적으로 screening하는 phenotype driven candidate gene approach를 통하여 분자유전진단을 시도해 볼 수 있고 실제로 많은 경우에, 분자유전진단이 이루어지고 있다. 최근 들어 차세대염기서열분석 방법이 도입되면서 특징적인 표현형이 없어 candidate gene approach가 어려운 난청의 경우에도 분자유전진단이 가능해지는 경우가 늘어나고 있다. 난청 환자들에 대한 분자유전진단은 향후 환자별 맞춤형 청각재활의 확립에 많은 기여를 할 것으로 기대된다.

REFERENCES

- 1) Song MH, Lee KY, Choi JY, Bok J, Kim UK. Nonsyndromic X-linked hearing loss. *Front Biosci (Elite Ed)* 2012;4:924-33.
- 2) Van Camp G, Willems PJ, Smith RJ. Nonsyndromic hearing impairment: unparalleled heterogeneity. *Am J Hum Genet* 1997;60(4):758-64.
- 3) Zelante L, Gasparini P, Estivill X, Melchionda S, D'Agruma L, Govea N, et al. Connexin26 mutations associated with the most common form of non-syndromic neurosensory autosomal recessive deafness (DFNB1) in Mediterraneans. *Hum Mol Genet* 1997;6(9):1605-9.
- 4) Denoyelle F, Weil D, Maw MA, Wilcox SA, Lench NJ, Allen-Powell DR, et al. Prelingual deafness: high prevalence of a 30delG mutation in the connexin 26 gene. *Hum Mol Genet* 1997;6(12):2173-7.
- 5) Kudo T, Ikeda K, Kure S, Matsubara Y, Oshima T, Watanabe Ki, et al. Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2) responsible for childhood deafness in the Japanese population. *Am J Med Genet* 2000;90(2):141-5.
- 6) Liu XZ, Xia XJ, Ke XM, Ouyang XM, Du LL, Liu YH, et al. The prevalence of connexin 26 (GJB2) mutations in the Chinese population. *Hum Genet* 2002;111(4-5):394-7.
- 7) Park HJ, Hahn SH, Chun YM, Park K, Kim HN. Connexin26 mutations associated with nonsyndromic hearing loss. *Laryngoscope* 2000;110(9):1535-8.
- 8) Li L, Lu J, Tao Z, Huang Q, Chai Y, Li X, et al. The p.V37I exclusive genotype of GJB2: a genetic risk-indicator of postnatal permanent childhood hearing impairment. *PLoS One* 2012;7(5):e36621.
- 9) Kim SY, Park G, Han KH, Kim A, Koo JW, Chang SO, et al. Prevalence of p.V37I variant of GJB2 in mild or moderate hearing loss in a pediatric population and the interpretation of its pathogenicity. *PLoS One* 2013;8(4):e61592.
- 10) del Castillo FJ, Rodríguez-Ballesteros M, Alvarez A, Hutchin T, Leonardi E, de Oliveira CA, et al. A novel deletion involving the connexin-30 gene, del(GJB6-d13s1854), found in trans with mutations in the GJB2 gene (connexin-26) in subjects with DFNB1 non-syndromic hearing impairment. *J Med Genet* 2005;42(7):588-94.
- 11) Lerer I, Sagi M, Ben-Neriah Z, Wang T, Levi H, Abeliovich D. A deletion mutation in GJB6 cooperating with a GJB2 mutation in trans in non-syndromic deafness: a novel founder mutation in Ashkenazi Jews. *Hum Mutat* 2001;18(5):460.
- 12) Cama E, Melchionda S, Palladino T, Carella M, Santarelli R, Genovese E, et al. Hearing loss features in GJB2 biallelic mutations and GJB2/GJB6 digenic inheritance in a large Italian cohort. *Int J Audiol* 2009;48(1):12-7.
- 13) Kooshavar D, Tabatabaiefar MA, Farrokhi E, Abolhasani M, Noori-Daloii MR, Hashemzadeh-Chaleshtori M. Digenic inheritance in autosomal recessive non-syndromic hearing loss cases carrying GJB2 heterozygote mutations: assessment of GJB4, GJA1, and GJC3. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2013;77(2):189-93.
- 14) Liu XZ, Yuan Y, Yan D, Ding EH, Ouyang XM, Fei Y, et al. Digenic inheritance of non-syndromic deafness caused by mutations at the gap junction proteins Cx26 and Cx31. *Hum Genet* 2009;125(1):53-62.
- 15) Rendtorff ND, Zhu M, Fagerheim T, Antal TL, Jones M, Teslovich TM, et al. A novel missense mutation in ACTG1 causes dominant deafness in a Norwegian DFNA20/26 family, but ACTG1 mutations are not frequent among families with hereditary hearing impairment. *Eur J Hum Genet* 2006;14(10):1097-105.
- 16) Park G, Gim J, Kim AR, Han KH, Kim HS, Oh SH, et al. Multiphasic analysis of whole exome sequencing data identifies a novel mutation of ACTG1 in a nonsyndromic hearing loss family. *BMC Genomics* 2013;14:191.
- 17) Choi BY, Stewart AK, Madeo AC, Pryor SP, Lenhard S, Kittles R, et al. Hypo-functional SLC26A4 variants associated with nonsyndromic hearing loss and enlargement of the vestibular aqueduct: genotype-phenotype correlation or coincidental polymorphisms? *Hum Mutat* 2009;30(4):599-608.
- 18) Pryor SP, Madeo AC, Reynolds JC, Sarlis NJ, Arnos KS, Nance WE, et al. SLC26A4/PDS genotype-phenotype correlation in hearing loss with enlargement of the vestibular aqueduct (EVA): evidence that Pendred syndrome and non-syndromic EVA are distinct clinical and genetic entities. *J Med Genet* 2005;42(2):159-65.
- 19) Choi BY, Madeo AC, King KA, Zalewski CK, Pryor SP, Muskett JA, et al. Segregation of enlarged vestibular aqueducts in families with non-diagnostic SLC26A4 genotypes. *J Med Genet* 2009;46(12):856-61.
- 20) Choi BY, Ahmed ZM, Riazuddin S, Bhinder MA, Shahzad M, Husnain T, et al. Identities and frequencies of mutations of the otoferlin gene (OTOF) causing DFNB9 deafness in Pakistan. *Clin Genet* 2009;75(3):237-43.
- 21) Rodríguez-Ballesteros M, Reynoso R, Olarte M, Villamar M, Morera C, Santarelli R, et al. A multicenter study on the prevalence and spectrum of mutations in the otoferlin gene (OTOF) in subjects with nonsyndromic hearing impairment and auditory neuropathy. *Hum Mutat* 2008;29(6):823-31.
- 22) Varga R, Avenarius MR, Kelley PM, Keats BJ, Berlin CI, Hood LJ, et al. OTOF mutations revealed by genetic analysis of hearing loss families including a potential temperature sensitive auditory neuropathy allele. *J Med Genet* 2006;43(7):576-81.
- 23) Roux I, Safieddine S, Nouvian R, Grati M, Simmler MC, Bahloul A, et al. Otoferlin, defective in a human deafness form, is essential for exocytosis at the auditory ribbon synapse. *Cell* 2006;127(2):277-89.
- 24) Weegerink NJ, Schraders M, Oostrik J, Huygen PL, Strom TM, Granneman S, et al. Genotype-phenotype correlation in DFNB8/10 families with TMPRSS3 mutations. *J Assoc Res Otolaryngol* 2011;12(6):753-66.
- 25) Lee YJ, Park D, Kim SY, Park WJ. Pathogenic mutations but not polymorphisms in congenital and childhood onset autosomal recessive deafness disrupt the proteolytic activity of TMPRSS3. *J Med Genet* 2003;40(8):629-31.
- 26) Choi BY, An YH, Park JH, Jang JH, Chung HC, Kim AR, et al. Audiological and surgical evidence for the presence of a third window effect for the conductive hearing loss in DFNX2 deafness irrespective of types of mutations. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2013;270(12):3057-62.
- 27) Song MH, Lee HK, Choi JY, Kim S, Bok J, Kim UK. Clinical evaluation of DFNB3 patients with deletions in the POU3F4 locus and detection of carrier female using MLPA. *Clin Genet* 2010;78(6):524-32.

- 28) Baek JI, Oh SK, Kim DB, Choi SY, Kim UK, Lee KY, et al. Targeted massive parallel sequencing: the effective detection of novel causative mutations associated with hearing loss in small families. *Orphanet J Rare Dis* 2012;7:60.
- 29) Brownstein Z, Friedman LM, Shahin H, Oron-Karni V, Kol N, Abu Rayyan A, et al. Targeted genomic capture and massively parallel sequencing to identify genes for hereditary hearing loss in Middle Eastern families. *Genome Biol* 2011;12(9):R89.
- 30) Rehman AU, Morell RJ, Belyantseva IA, Khan SY, Boger ET, Shahzad M, et al. Targeted capture and next-generation sequencing identifies C9orf75, encoding taperin, as the mutated gene in nonsyndromic deafness DFNB79. *Am J Hum Genet* 2010;86(3): 378-88.
- 31) Walsh T, Shahin H, Elkan-Miller T, Lee MK, Thornton AM, Roeb W, et al. Whole exome sequencing and homozygosity mapping identify mutation in the cell polarity protein GPSM2 as the cause of nonsyndromic hearing loss DFNB82. *Am J Hum Genet* 2010;87 (1):90-4.

정답 및 해설

답 ④

해설 Masticator space infection(저작근 공간 감염)으로 4개의 공간 모두 염증이 파급되었다.

참고) 대한이비인후과학 p.1795