KISEP Otology Korean J Otolaryngol 2000;43:357-62

한국인 선천성 난청에서 Connexin 26의 분자유전학적 분석

아주대학교 의과대학 이비인후과학교실
박홍준 · 박기현 · 송정환 · 정연훈 · 최호석

Molecular Genetic Analysis of Connexin 26 in Korean Congenital Hearing Loss

Hong-Joon Park, MD, Kee Hyun Park, MD, Jung-Whan Song, MD, Yun Hoon Choung, MD and Ho Seok Choi, MD
Department of Otolaryngology, Ajou University School of Medicine, Suwon, Korea

ABSTRACT

Background and Objectives : Congenital deafness is a relatively common disorder and its' incidence is as high as 1 per every 1,000 newborn infants. In developed countries, genetic hearing loss accounts for 50% of all hearing losses. A least 20 autosomal recessive loci had been identified, and in 1997, Connexin 26, one of the gap-junction proteins, was found to be the 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 Methods** : Fifty-one patients who have visited the out-patient department of Ajou University Hospital and 125 patients attending two special schools for deafness were physically examined. Family history of each patient was also examined. One hundred normal hearing infants who were audiologically approved were selected as a control group. With their blood samples, we performed DNA extraction and sequenced PCR products. **Results** : Among 176 patients, 53 patients had family history of hearing impairment, and 16 patients actually showed syndromic features. We sequenced Connexin 26 in 121 patients who have congenital non-syndromic sensorineural hearing loss. Two heterozygotes of 35delG, three heterozygotes, four homozygotes of 235 delC, 35 heterozygotes, and four homozygotes of E114G were observed. **Conclusion** : Family history of deafness was relatively common among the patients and therefore it was an important factor in deciding that hearing loss was due to genetic origin. Syndromic hearing loss occupies a relatively minor portion of congenital deafness. With regard to Connexin 26 mutation, 35 delG is reported as the major gene mutation in the western countries, but in our study, only 2 patients had this type of mutation. Therefore, 235 delC and E114G can be considered as race specific gene mutations, even though further studies are needed. **(Korean J Otolaryngol 2000;43:357-62)**

KEY WORDS : Congenital non-syndromic sensorineural hearing loss · Autosomal recessive · Connexin 26.

서 론

난청은 비교적 우리 주위에서 흔히 접하게 되는 질환으로 정확한 국내의 통계는 보고되고 있지 않지만, Nadol[1]이 1993 년 보고한 자료에 의하면 신생아 출생 1000명당 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),[2] 페닐케토산뇨증(PKU)의 발병률(신생아 출생 14000명에서 75000명당 1명)[3]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 Lee[4]에 의해 가족에서 나타나는 난청에 대하여 보고된 바 있으며, 1973년 Kim[5]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 연구로써 상염색체 열성 유전의 대표적

논문접수일 : 1999년 11월 26일 / 심사완료일 : 2000년 3월 14일
교신저자 : 박홍준, 442 - 721 경기도 수원시 팔달구 원천동 산 5번지 아주대학교 의과대학 이비인후과학교실
전화 (0331) 219 - 5267 · 전송 (0331) 219 - 5264
E - mail : hjpark@madang.ajou.ac.kr

원인유전자인 Connexin 26(GJB2)에 대한 이상 유무를 파악하고자 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

대 상

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, 선별검사로 시행하고 있는 유발이음향반사(transient evoked otoacoustic emmision) 검사를 통하여 정상청력을 확인하였다.

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.

Genomic DNA의 추출

전혈의 경우 적혈구 용해를 위하여 NH 4Cl 7.5 g과 Tris base 1.0 g을 넣고 증류수를 첨가하여 전체 1 L로 만든 혈구 용해 완충액을 채취한 혈액과 혼합하여 15 ml로 만들어 10분간 흔들어 투명액이 될 때까지 기다린다. 원심분리기를 이용하여 분당 1200에서 1500회로 10분간 처리한 뒤 상층액을 버리고 혈구 용해 완충액 10 ml로 세척을 시행한다. 같은 속도로 10분간 원심분리기를 이용하여 분리한다. 상층액을 버리고 1 M Tris base(pH 8.0) 10 ml, 5 M NaCl 0.8 ml, 0.5 M EDTA(pH 8.0) 0.4 ml과 증류수로 100 ml의 용량으로 맞춘 핵 용해 완충액을 3 ml 취하여 피펫으로 침전물을 녹인다. 여기에 50 μl의 Proteinase K (20 μg/μl)와 200 μl의 10% SDS를 첨가하여 잘 흔들고 35℃의 온수에 16시간 놓아둔다. 이 검체에 5 M NaCl 1060 μl를 넣고 15초 동안 잘 흔들어 변성된 단백질이 충분히 침전될 수 있도록 한다. 15분간 분당 2500회의 속도로 원심분리를 한 후 검체의 상층액을 15 ml 튜브에서 8 ml 100% ethanol과 혼합한다. 뚜껑을 닫고 뒤집으며 서서히 혼합하면, 흰 실오라기 같은 DNA가 관찰된다. DNA를 1.5 ml 미세원심분리 튜브에 건져서 넣고, 상온에서 약 15분간 건조시킨다. DNA의 양에 따라 20에서 200 μl의 증류수를 첨가하고 50℃에서 5분동안 녹여 DNA를 용해시키고, Spectrophotometer를 이용하여 OD 값을 측정하여 용량을 확인한다.

채취 용지 혈액의 경우, 소독된 펀치를 이용하여 5개의 spot을 채취한다. 이 종이를 200 μl의 0.05 N의 NaOH를 첨가하여 15분간 끓인뒤 동량의 0.15 M Tris-HCl로 상온에서 5분간 중화시키고 분당 14000회의 속도로 10분간 원심 분리후 상층액을 새 튜브에 넣는다. DNA 침전을 위하여 상층액 100 μl와 증류수 200 μl를 혼합액 300 μl에 30 μl의 3M NaOAc와 600 μl의 100% ethanol을 첨가하여 잘 흔들고, 10분간 분당 14000회의 속도로 원심분리한 뒤 상층액을 제거하고 다시 70%의 ethanol을 600 μl 첨가하여 10분간 분당 14000회의 속도로 원심분리한다. 이 검체를 상온에서 10분간 건조시키고 증류수 20 μl를 첨가하여 피펫을 이용하여 용해 시키고 50℃에서 20분간 녹인다.

효소중합반응(PCR)

효소중합반응은 AccuPower TM PCR PreMix(Bioneer, Seoul)를 사용하였다. 사용한 primer는 connexin 26 유전자의 전체 coding 염기서열을 포함하는 upper(5-TC-TTTTCCAGAGCAAACCGC-3')와 lower(5'-CTGG-GCAATGCGTTAAACTGG-3')이며 전혈에서 채취한 DNA의 경우 1 μl의 DNA(100 ng/μl)와 2개의 primer 각각 1 μl, 증류수 17 μl를 첨가하여 전체 검체가 20 μl가 되도록 한다. 검체 용지에서 추출한 DNA의 경우 5 μl의 검체와 각각 1 μl의 primer, 증류수 13 μl를 첨가하여 마찬가지로 전체 검체가 20 μl가 되도록 만든다. 효소중합반응의 조건은 95℃에서 5분간 유지시킨 뒤, denaturation, annealing, polymerization을 위하여 각각 95℃에서 30초, 60℃에서 30초, 72℃에서 30초를 1 cycle로 30

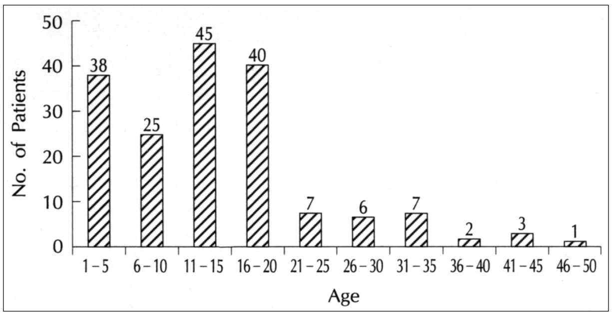
cycle 시행하고 마지막으로 72℃에서 5분간 유지시킨다.

염기서열 분석

1.2%의 agarose gel을 만들어 앞서 시행한 효소중합반응 산물을 100 Volt에서 20분간 전기영동을 실시한다. 이후 우리가 얻고자하는 725 base pair의 band를 절제하여 미세원심분리 튜브에 담는다. 절제해 낸 gel 용량의 3배인 300 μl의 NaI를 첨가하여 50℃에서 10분간 녹인 후, Glassmilk 5 μl를 첨가하여 5분간 4℃에서 반응시킨다. 이후에 5초간 회전 침전시키고 상층액을 제거한다(Bio101, CA, USA). 세척원액 0.7 ml, 100% ethanol 15.5 ml, 증류수 14 ml를 혼합하여 만든 세척혼합액 200 μl를 첨가하여 조심스럽게 세척하고, 다시 5초간 회전침전 시킨다. 세척과 침전의 과정을 2차례 더 반복한 후 10분간 상온에서 건조시킨다. 이 검체에 15 μl의 증류수를 첨가하여 세척하고 50℃에서 3분간 방치 후 30초간 원심분리를 시행하고 상층액을 13 μl 채취한다. 이 채취한 용액을 다시 3분간 원심분리하고 최종적으로 10 μl를 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℃에서 10초, 50℃에서 5초, 60℃에서 4분을 한 cycle로 하여 총 25 cycle을 시행하였다.

Table 1. Gender distribution of congenital hearing loss paients

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



Fg. 1. Age distribution of congenital hearing loss patients.

결 과

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, 4).

Table 2. Family history of congenital hearing loss patients

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

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

	Syndromic	Non-syndromic
S school	5	62
E school	10	48
OPD	1	50
Total	16 (9.0%)	160 (91.0%)

Table 4. Syndromes associated with hearing loss patients

Syndrome	No. of patients
Waardenburg	7
Pendred	3
Hunter	1
Mucopolysacchalidosis	1
Unclassified	4
Total	16

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)
235 delC	0	1	1/200 (0.5)

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, 35 delG는 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, 6,

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

	Homozygote	Heterozygote	Total/Allele (%)
V271	21	41	82/242 (34.3)
E114G	4	35	43/242 (17.8)
235 delC	4	3	11/242 (4.5)
35 delG	0	2	2/242 (0.8)

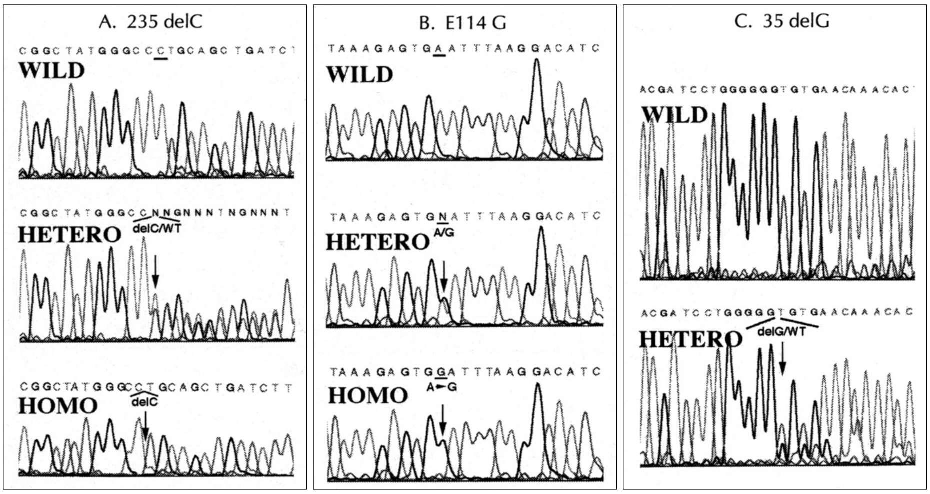


Fig. 2. Sequencing chromatographs of Connexin 26 mutations.

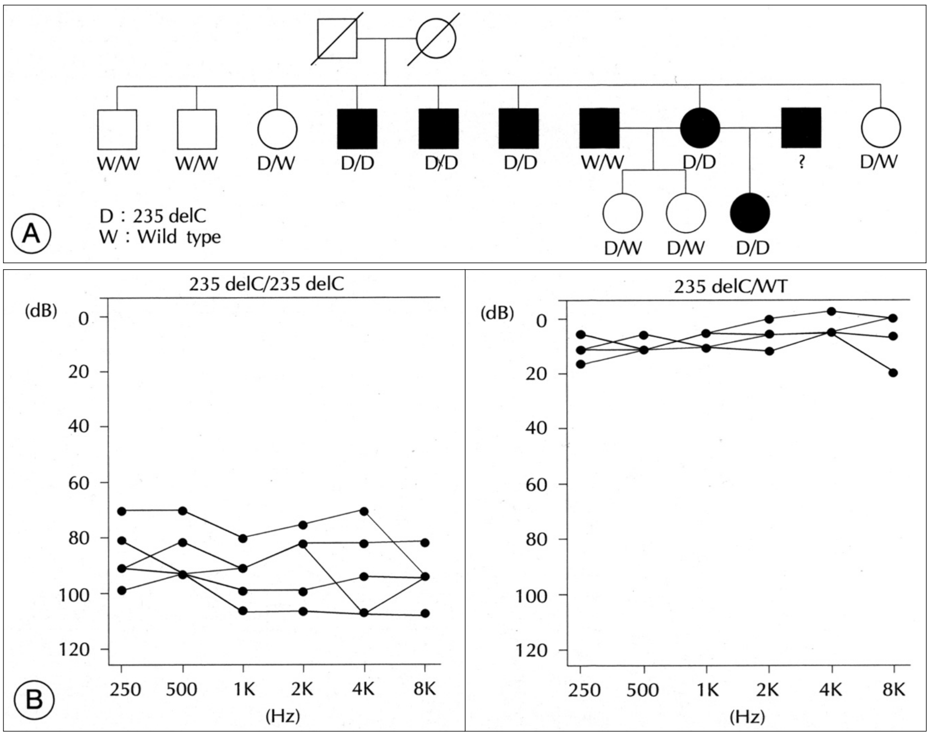


Fig. 3. The 235 delC type of mutation. A) Pedigree of the 235 delC family is shown. Open symbols ; individuals with normal hearing, filled symbols indicate hearing impaired persons. B) Pure tone audiograms of 235 delC family members. Individuals with hearing loss showed homozygous 235 delC mutation whereas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

Fig. 2). 235 delC 변이의 동형접합체가 발견되었던 한 환자에서는 난청의 특징적인 발현이 가족력과 함께 관찰되었다(Fig. 3).

고 찰

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 유전(DFNX)을 하는 경우는 1 3% 정도를 차지하는 것으로 알려져 있다.[6]

이번 연구의 대상이 되었던 환자들의 경우, 동반질환을 갖는 증후군에 의한 난청환자들이 관찰되었으며, 7명의 환자에서 발견되었던 Waardenburg 증후군의 경우 1978년도 Kim 등[7]에 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 Kim 등[8]에 의하여 보고된 바가 있다.

1997년 Kelsell 등[9]은 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 등[10]은 50%이상의 상염색체 열성 유전에 의한 난청의 원인이 바로 이 GJB2 유전자의 이상에서 기인된 것임을 보고하였다. 주로 이탈리아인과 스페인인를 대상으로 한 그들의 연구에서 85%의 돌연변이는 35번째 codon인 guanine이 deletion(35 delG) 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,[11][12] 이를 통하여 내림프 칼륨이온의 순환이 이루어짐을 알게 되었다.[13][14] 특히 connexin 26는 와우의 지지세포와 섬유세포에서 발현된다고 알려져 있다.[13] Gap-junction의 이상으로 재순환이 억제될 경우, 내림프액 전위에 이상을 초래하여 난청을 유발하게 된다.

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

본 연구에서 특이하였던 사항은 외국에서 가장 흔한 변이 형태로 보고되었던 35 delG는 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 235 delC의 경우, frameshift를 유발하여 Connexin 26 단백질의 81번째 codon에서 stop codon을 형성하게 되고 이 결과 명확하게 난청이 열성유전됨을 보여주었다.

본 연구의 결과 235 delC 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 남아 있지만, 유전자 치료를 통하여 정상 청력을 갖는 신생아의 탄생도 가능한 날이 올 것으로 기대한다.

결 론

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 35 delG의 형태는 2예에서만 찾을 수 있었으며, 한국의 유전성 난청에는 많은 영향을 끼치지 못한 것으로 생각된다. 이번 연구에서 의미있었던 결과는 235 delC의 변이형태이었다. 235 delC는 한국인에게서 난청을 유발한 변이형태였으며 상염색체 열성유전의 형태를 보여주어, 향후 국내 유전성 난청연구에 중요한 자료로 생각되는 바이다.

중심 단어 : 선천성 난청 · Connexin 26 · 돌연변이.

본 논문은 분자의과학 연구사업단(과제번호 98 - MM - 01 - 01 - A - 01)의 연구비 지원에 의함.

REFERENCES

1) Nadol JP Jr. *Hearing loss. N Egnl J Med 1993;329:1092-102.*
2) Hong CY. *Pediatirics. 6th ed. Daehan printing & publishing Co. Ltd;1999. p.948-50.*
3) Hong CY. *Pediatrics. 6th ed. Daehan printing & publising Co. Ltd;1999. p.160.*
4) Lee JD. *A case of Familial Nerve Deafness. Korean J Otolaryngol 1970;13:73-6.*
5) Kim HN. *Audiologic Survey of Deaf-School Children. Korean J Otolaryngol 1973;16:275-87.*
6) van Camp G, Willems PJ, Smith RJH. *Nonsyndromic hearing impairment: Unparalleled heterogeneity. Am J Hum Genet 1997; 60:758-64.*
7) Kim YM, Cho KY, Lee ME, Kim SK, Park KH. *3 cases of Waarenburg syndrome. Korean J Otolaryngol 1978;21:75-8.*
8) Kim JS, Kim WS, Kim YM, Kim GR. *A case of Pendred's Syndrome. Korean J Otolaryngol 1973;16:47-52.*
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 1997;387:80-3.*
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 1998;35:394-8.*
11) Nadol JB, Mulroy MJ, Godenough DA, Weiss TF. *Tight and gap junction in a vertebrate inner ear. Am J Anat 1976;147:281-301.*
12) Dunn RA, Morest DK. *Receptor synapsis without synaptic ribbons in the cochlea of the cat. Proc Natl Acad Sci USA 1975;72: 3599-603.*
13) Kikuchi T, Kimura RS, Paul DL, Adams JC. *Gap junctions in the rat cochlea: Immunohistochemical and ultrastructural analysis. Anat Embryol 1995;191:101-18.*
14) Ichimiya T, Adams JC, Kimura RS. *Changes in immunostaining of cochleas with experimentally induced endolymphatic hydrops. Ann Otol Rhinol Laryngol 1994;103:457-68.*
15) Denoyelle F, Weil D, Maw MA. *Prelingual deafness: High prevalence of a 30 delG mutation in the connexin 26 gene. Hum Mol Gen 1997;6:2173-7.*
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 1997;6:1605-9.*
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 1998;339:1500-5.*
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 1998;11:387-94.*
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 1998;62:792-9.*
20) Fuse Y, Doi K, Hasegawa T, Sugii A, Hibino H, Kubo T. *Three novel connexin 26 gene mutations in autosomal recessive nonsyndromic deafness. Neuroreport 1999;10:1853-7.*