



計畫編號：DOH93-HP-GM-03

國民健康局九十三年度科技研究發展計畫

遺傳性聽障之基因檢查及遺傳諮詢服務第二年計畫：
聽障患者之基因檢查與家族追蹤及遺傳諮詢研究

研究報告

執行機構：中山醫學大學 生命科學系

計畫主持人：李宣佑

研究人員：楊建洲、吳彩鳳、蘇本華、陳素珍

執行期間：93年03月01日~93年12月31日

本研究報告僅供參考，不代表本局意見

目 錄

頁 碼

封面

目錄

一、中文摘要	(3)
二、英文摘要	(5)
三、前言	(7)
四、材料與方法	(13)
五、結果	(18)
六、討論	(22)
七、結論	(24)
八、參考文獻	(25)
九、圖、表	(28)
十、附件	(42)

共 (79)頁

中文摘要

自 1996 年聽障 (hearing loss) 的基因陸續被發現，到目前為止已有五十九個基因涉及聽障。約有 1/1000 嬰兒再出生時或在小孩早期 (即學習語言前 prelingual period) 罹患重度 (severe or profound) 聽障，其中約有 60 % 個案是遺傳因素。目前已知許多基因的突變會導致聽障，各基因的致病機制不盡相同，非常複雜。本研究計畫將集中全力著重於 *CLDN14* 及 *TMPRSS3* 等基因的篩檢，以獲得 *CLDN14* 及 *TMPRSS3* 基因在台灣地區學習語言前非症候群感音神經聽障患者中所佔的比例和突變點之較完整的資料，並可作為遺傳諮詢之參考。同時將利用已完成之 *Cx* 基因族的資料庫進行全國性聽障基因篩檢服務。

我們仍以學習語言前非症候群感音神經聽障患者為研究對象。樣本來自(1)聽力正常的人 120 位(2) 台中啟聰學校聽障學童約有 230 名，先由耳鼻喉科醫師進行聽力鑑定及相關檢查排除環境及症候群因素。如有基因異常者，再進行家族追蹤研究。本計畫研究的方法主要利用 PCR 的方法將 *CLDN14* 及 *TMPRSS3* 擴增出來，並針對這些基因進行序列分析比對。本計畫的目的是希望能建立台灣地區 *CLDN14*、*TMPRSS3* 基因族在學習語言前聽障中所佔的比例，尋找一個快速的分子生物學診斷方法，建立一個全國性聽障基因篩檢模式，以降低台灣地區學習語言前聽障患者的發生。

我們針對台中啟聰學校 230 位語言學習前非症候群聽障 (prelingual non- syndromic deafness) 的學童作 *CLDN14*、*TMPRSS3* 基因分析發現有 17 位聽障學童有突變的發生，所佔的比例為 7.39 % (17/230)。在這 17 位病人中，有 5 位是 *CLDN14* 基因的突變所佔的比例為 29.41% (5/17)、12 位是 *TMPRSS3* 基因的突變所佔的比例為 70.59 % (12/17)。另外對於遺傳諮詢服務方面我們也完成了 8 個案例，在全國性聽障基因篩檢服務方面我們共收

集了 25 個個案並完成了 13 個個案的分析，其中有 5 個個案在 Cx 基因族中有突變的發生，其餘的個案我們持續分析中。

本研究的結論是我們已建立台灣地區語言學習前非症候群聽障孩童的 *CLDN14* 和 *TMPRSS3* 基因多型性和突變的資料庫，加上我們先前的對 Cx 基因族的分析結果，對於學習語言前費症候群聽障患者的研究有重大意義，綜合這些結果到目前為止合計發現有 67 位聽障患者在這些基因有突變的發生，所佔的比例為 29.13 % (67/230)。我們也開始利用所建立的資料庫進行 Cx 基因族的篩檢服務並完成遺傳諮詢手冊的建立，相信這些結果、技術和諮詢模式的建立將可提供學習語言前聽障患者的服務管道，以降低台灣地區學習語言前聽障患者的發生。

關鍵詞：語言學習前聽障、遺傳諮詢、遺傳基因

英文摘要

Approximately 1 in 1000 children at birth or before 2 years of age (the prelingual period) are affected by severe deafness, the prelingual non-syndromic deafness. In developed countries, 60% of children with such deafness has been determined to be of genetic origin.

In order to evaluate the extent to which the *CLDN14* and *TMPRSS3* genes contributes to non-syndromic prelingual deafness in Taiwan, we have searched for mutations of these genes in 230 affected schoolchildren from National Taichung Deafness School. These children have also been referred to genetic counseling for deafness at Chung Shan Medical university Hospital. Of the 230 children with deafness, 17 patients carry mutated genes. We found that 5 patients possess mutations in the *CLDN14* gene. These are 52A→G/WT(M18V), 167-168delGG, 243C→T/WT (R81R), 424G→A/WT(D142N), and 687G→A/WT(T229T). In the case of *TMPRSS3* gene, we found that 12 patients with different mutations. These are 406+38C→T/WT, 752 T→C/WT (L184S), 822T→C/WT(C207C), 1395+15C→A/WT, 1454C→T/WT(A418V), 1470C→T/WT(A311A), 1134C→T/WT(I423I), and 1548+11C→T/WT.

In addition, we have also completed analysis of 8 deafness families carrying mutations in *Cx* gene family for genetic counseling and have collected 25 samples of deafness patients from 3 hospitals for *Cx* gene family screening. Currently, we have already finished 13 deafness patients in *Cx* gene family screening. Of the 13 patients, 5 patients carry mutated genes. These are 370 C→T/WT in *Cx30.3* gene, 396 C→T/WT in *Cx30* gene, 368C→A/WT in *Cx26* gene, 807A→T/WT in *Cx29* gene, and 976 C→T/WT in *Cx43* gene, respectively. We aim to continue screening for *Cx* gene family in deafness patients for the use in genetic counseling.

Our data are clearly informative for understanding the weight of genetic factors in prelingual non-syndromic sensorineural deafness in Taiwan and in genetic counseling of hearing loss.

Keywords: prelingual hereditary hearing loss, *CLDN14* , *TMPRSS3* ,genetic counseling

前言

聽障可因遺傳基因突變或環境因素，或兩者兼之引起的，環境因子主要是腦膜炎(meningitis)、腮腺炎(mumps)、週產併發症(perinatal complications)、母子感染(materofetal infection)【如：毒漿體(toxoplasma)、德國麻疹(rubella)和巨細胞病毒(cytomegalovirus)感染】、聽覺創傷(acoustic trauma)及耳毒藥品(ototoxic drug)。約有 1/1000 嬰兒再出生時或在小孩早期(即學習語言前時期 prelingual period)罹患重度聽障(severe or profound)，在已開發國家約有 60% 個案是遺傳因素(Marazita 等 1993)。另有 1/1000 到成年前聽障，此型較不嚴重且為漸進性，遺傳因素佔多少比例仍未清楚。另外為晚發型(late onset)，聽力損失大於 65 分貝(dBHL)，年齡 30~50 歲間佔全人之 0.3%，而 60~70 歲約佔 2.3%，一般認為此類型是遺傳與環境因素之共同作用而產生(Kalatzis 和 Petit,1998)。聽障依數個標準來分類，如耳朵缺陷種類、優耳聽障程度、發病年齡與其他症狀有否關聯等來分類，在遺傳學上常以是否與其他症候群有關聯來區分為兩大類：(一) 症候群聽障(syndromic hearing loss)：依估計學習語言前聽障(prelingual deafness)30% 是屬於此類，有數十種症候群涉及，除聽障外尚有各種異常(如眼睛、肌肉、骨骼、腎臟、神經和色素的異常)，此型有許多型之遺傳方式，包含源自粒線體突變的母系遺傳。(二) 非症候群聽障(nonsyndromic hearing loss)：此型僅有聽障而沒有其他症候群出現佔 70%，DFN 表示性聯遺傳，DFNA 表示體染色體顯性遺傳(autosomal dominant form)，DFNB 表示體染色體隱性遺傳(autosomal recessive form)，在學習語言前聽障(prelingual deafness)中 DFNB 佔 77% 的個案，而 DFNA 佔 22%，DFN 約 1% 為粒線體基因突變(Kalatzis 和 Petit 1998, Morton 2002)。體染色體隱性遺傳之聽障常

是最嚴重的，大部分為先天性重度聽障(congenital deafness)，幾乎是因耳蝸缺陷(cochlear defect)而產生之感音神經(sensorineural)聽障，而語言學習後聽障(postlingual deafness)由許多家族譜(pedigrees)判斷可能為體染色體顯性遺傳或因粒線體基因突變之母系遺傳，隱性遺傳非常稀少，主要也是感音神經缺陷的且常為漸進性(progressive)。在晚發型(late-onset form)，耳硬化為聽障最普遍之原因(約佔成人族群 0.2~1%)。

根據教育部特殊教育統計年報 88 年度國民小學特殊教育有顯著聽覺障礙人數為 1610 人(教育部特殊教育統計年報 88 年度)而國民小學全體人數約為 1910681 人，聽障者佔 0.084% 此一數據為美國聽障學會(profound, early-onset deafness)的統計 4~11/10,000(0.04~0.11%)數值相近 (Marazita et al., 1993)，此篇報告統計 62.8% 為遺傳源性(genetic causes)，47.1% 為隱性，15.7% 為顯性，另外歐洲國家孩童聽障比率義大利為 5/4408=0.11% (< 50dBHL) (Luppari et al., 1996)，法國為 0.054% (> 70dBHL) (Baille et al., 1996)，而 Naeem 和 Newton (1996) 對亞洲與非亞洲 5~16 歲孩童感音神經性聽障危險度的調查研究(risk of having sensorineural hearing loss)顯示，亞洲地區聽障 (hearing impairment) 輕度至中度為 0.351%，此結果顯示亞洲地區孩童有較高的聽障危險性約比非亞洲地區孩童高 2.42~3.61 倍。

自 1996 年聽障 (hearing loss) 的基因陸續被發現，到目前為止已有五十九個基因涉及聽障。約有 1/1000 嬰兒再出生時或在小孩早期 (即學習語言前時期 prelingual period) 罹患重度 (severe or profound) 聽障，其中約有 50% 個案是遺傳因素。而非症候群聽障 (nonsyndromic hearing loss, NSHL) 的基因座 (loci) 被定位 (mapped) 及聽障基因 (deafness genes) 的選殖 (cloning) 有顯著的進展。至今，非症候群聽障的基因座 (loci) 有七十七個。四十個體染色體顯性 (Autosomal dominant)，三十個體染色體隱性

(Autosomal recessive) 和七個 X-linked (Hereditary hearing homepage) 而有 59 個聽障基因已被鑑定出：17 個為體染色體顯性，14 個為體染色體隱性，1 個性聯遺傳，6 個粒線體基因和至少 33 個症候群聽障基因(Morton 2002, Naz et al., 2002)。

由於耳蝸是一種非常精緻的器官，包含數十種細胞及正常聽力所需的特化區域。在涉及聽覺的基因中，有許多基因所編碼的蛋白質 (encoded protein) 會在耳蝸中表現，而在耳蝸內的許多聽障基因主要會影響離子的恒定性 (ionic homeostasis)。毛細胞之上半部表面浸在內淋巴液 (endolymph) 具有高濃度 K^+ 和低濃度 Na^+ ，在老鼠是維持正靜止電位的 +100mv，此種高靜止電位是正常毛細胞功能所需，因為當此靜止電位減少至零，會造成耳聾 (Steel et al., 1987)。柯蒂氏器 (organ of Corti) 包括感音毛細胞和支持細胞 (supporting cells) 座落於較有通透性的基膜 (basilar membrane) 上，在此基膜下面為內含 perilymph 之管道，具有高 Na^+ 及低 K^+ 濃度，很像正常的細胞外液 (extracellular fluid)。在柯蒂氏器內，內毛細胞 (inner hair cells) 的基側膜 (basolateral membrane) 為支持細胞所包圍，但外毛細胞 (outer hair cell) 則暴露於 Cortilymph， K^+ 離子濃度，略高於 perilymph 內之 K^+ 離子濃度，當大的聲音 (loud sound) 傳到毛細胞，Cortilymph 內之 K^+ 濃度會累積，其他圍繞在內毛細胞之外細胞液也有較高之 K^+ 濃度。毛細胞的特殊離子環境對其功能是非常重要的，因為影響內淋巴液 (endolymph) 之離子濃度的基因突變會導致聽障。

我們已知 K^+ 泵進入 (pumped into) 內淋巴液並不是來自 stria vascularis 之血液供應 (Konishi et al. 1978, Wada et al., 1979)。有學者認為 K^+ 離子可能是在耳蝸管 (Cochlear duct) 之再循環 (recycling) (Kikuchi et al., 1995, Spicer & Schulte 1998)。 K^+ 離開毛細胞會被柯蒂氏器之支持細胞攝取，運回 stria

vascularis，再泵回 (pump back) 內淋巴液。K⁺再循環 (recycling) 有幾條路徑。(1) 側面途徑 (lateral route): 經由支持細胞間的網狀 gap junction 流到 spiral ligament 的 fibrocyte，再回到 stria vascularis (Kikuch et al, 1995)，(2) 在內淋巴液部位的上下經由 perilymph 到達 spiral ligament，然後再到 stria vascularis (Schulte & Steel 1994)，(3) 利用中間支持細胞 (medial supporting cell)，spiral limbus fibrocyte 及 interdental cell 間的 gap junction 而在 interdental cell 膜上 Na-K-ATPase pumps 泵出，進入 endolymph (Kikuch et al., 1995, Spicer & Schulte 1998, Schulte & Steel 1994)。

耳蝸 (cochlea) 含有感音的毛細胞 (hair cell) 負責將聲波 (sound wave) 轉導 (transduce) 為電衝動 (electric impulse)，毛細胞的上緣 (upper surface) 有硬纖毛 (stereocilia) 突出於內淋巴 (endolymph) 腔，聲波到達內耳會偏轉 (deflect) 硬纖毛，使毛細胞頂端之轉導管道 (transducer channel) 打開，K⁺離子由內淋巴流入毛細胞，使細胞膜去極化 (depolarization)，引起電訊號 (electric signal) 沿著聽神經傳到腦部。Scala media 之內淋巴含高濃度的 K⁺離子和低濃度的 Na⁺離子 (Ferrary and Sterkers, 1998) 因而耳蝸之內淋巴是維持在高靜電位 (high resting potential) 即所謂的耳蝸內電位 (endocochlear potential) 約為 +80~100 mV，此種電化學梯度差 (electrochemical gradient) 對感音毛細胞的去極化是非常重要的，可增加毛細胞頂端之轉導管道對機械刺激的敏感度。

為維持內淋巴高靜止電位，在內淋巴的周圍細胞間須用各種 tight junction 將其緊密連接起來，而 *CLDN14* 所編碼之 claudin14 是存在於柯蒂氏器的 tight junction，其分佈如 Figure 3 (Wilcox et al., 2001)，維持內淋巴與其周圍組織間的電化學梯度差 (electrochemical gradient) 是非常重要的，如果 *CLDN14* 基因突變無法製造出 claudin14，會造成先天性重度聽障 (profound congenital deafness)。另一方面在內淋巴 Na⁺離子需要維持一定的低濃度，

而 *TMPRSS3* 基因所編碼出的蛋白質可以活化 EnaC(epithelial amiloride-sensitive sodium channel)，使瀕臨內淋巴的 stria vascularis 細胞及柯蒂氏器的支持細胞進行鈉再吸收；*TMPRSS3* 基因如有突變無法剪切 (cleavage)來活化 EnaC 會造成耳聾 (Guipponi et al., 2002)。*TMPRSS3* 基因有 13 exons，編碼出 454 個胺基酸之 transmembrane serine protease，此種酶有三個 domains：LDLRA(low density lipoprotein receptor class A)、SRCR(scavenger receptor cysteine-rich)及 serine protease(catalytic) domains。而 EnaC(epithelial amiloride-sensitive sodium channel)主要分布在許多鈉再吸收的組織(sodium-reabsorbing tissue)包括內耳。

目前已知五十九個基因的突變會導致聽障，各基因的致病機制不盡相同，非常複雜。在之前的研究中我們已經針對耳蝸內影響離子濃度的恆定性之 *Cx* 基因族如 *Cx26*、*Cx29*、*Cx30*、*Cx30.3*、*Cx31* 及 *Cx43* 等基因(以上基因可形成 gap junction)進行篩檢，也進行了家族追蹤並建立了遺傳諮詢的模式。為了更清楚的瞭解聽障的致病成因和進行聽障基因篩檢的推廣為本研究之動機，本研究計畫將著重於上述二個基因的篩檢(*CLDN14* 及 *TMPRSS3*)，期望能獲得這些基因在台灣地區學習語言前非症候群感音神經聽障患者中較完整的資料和將進行全國性 *Cx* 基因族(*Cx26*、*Cx29*、*Cx30*、*Cx30.3*、*Cx31* 及 *Cx43*)之篩檢和遺傳諮詢模式的建立。

我們仍以學習語言前非症候群感音神經聽障患者為研究對象。樣本來自(1)聽力正常的人 120 位(2) 台中啟聰學校聽障學童約有 230 名，先由耳鼻喉科醫師進行聽力鑑定及相關檢查排除環境及症候群因素。如有基因異常者，再進行家族追蹤研究。另外對於遺傳聽障 *Cx* 基因族的篩檢樣本來源將來自全國 10 個遺傳諮詢中心(表一)。本計畫研究的方法主要利用 PCR 的方法將 *CLDN14*、*TMPRSS3* 及 *Cx* 基因擴增出來，並針對這些基因進行序

列分析比對。本計劃的目的是希望能建立台灣地區 Cx 基因族在學習語言前聽障中所佔的比例，並尋找一個快速的分子生物學診斷方法和提供遺傳諮詢服務，以降低台灣地區學習語言前聽障患者的發生。

材料與方法

一、 檢體來源：

1. 120 位正常人的血液檢體係透過自願的方式，抽取周邊血液 10 ml。
2. 230 位病人為台中啟聰學校學生，平均年齡為 2-18 歲，經家屬同意後，抽取周邊血液 10 ml。聽障學童經由中山醫學大學耳鼻喉科醫師詳細檢查，排除環境因素及學習後語言聽障(postlingual deafness)，主要以非症候群學習語言前聽障(nonsyndromic prelingual hearing loss)為對象，此包含家族性聽障及偶發性個案(sporadic deafness)，並依空氣導平均聽閾(500, 1000 及 2000Hz)(ACPTA)結果區分聽障輕重程度：

Degree	ACPTA range
Mild	$20 < \text{ACPTA} \leq 39$ dBHL
Moderate	$40 < \text{ACPTA} \leq 69$ dBHL
Severe	$70 < \text{ACPTA} \leq 89$ dBHL
Profound	$\text{ACPTA} \geq 90$ dBHL

3. Cx 基因族篩檢的檢體的收集

Prelingual deafness 病人，主要以非症候群學習語言前聽障(nonsyndromic prelingual hearing loss)為對象，此包含家族性聽障及偶發性個案(sporadic deafness)，經家屬同意後，抽取周邊血液 10 ml 以進行分析，此檢體由各大遺傳諮詢中心提供並附上相關資料(附件一和附件二)；由於檢體收集不易，我們儘可能將 prelingual deafness 病人之淋巴球細胞轉型為 lymphoblastoid cell，以備將來其他基因分析之用。

二、Genomic DNA 的抽取：

以含有 heparin 的 10 ml 血液，利用 PUREGENE DNA Isolation Kit (Genetra) 進行全血 Genomic DNA 的抽取。將抽取出的 DNA 溶於 250 μ l TE buffer，再以光度比色儀(Spectrophotometer；DU-640，Beckman)測波長 260nm 的相對吸光值及 260nm/280nm 吸光比值，由此得知 DNA 的量與質。此方法較省時、簡單，可以快速取得 DNA 已進行 PCR 反應，同時將 DNA 長期保存於-20 $^{\circ}$ C。

三、分析造成聽障之 *CLDN14* 和 *TMPRSS3* 基因

1. *CLDN14* 基因突變點之偵測：

我們主要針對 *CLDN14* 基因整個 coding region 進行突變點的偵測，primer 主要參考 Wilcox et al., 2001 發表而設計如表二。在 25 μ l 的 PCR 反應溶液中，含有 1.5 mM MgCl₂，0.2 mM dNTP, 1 mM primer, 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl (pH 9.0), 0.1% Triton X-100, 0.01% gelatin 和 1 unit 的 pro Taq DNA polymerase (Promega)。將此反應溶液置於迴溫反應器(Perkin-Elmer 9700)中，擴增出整段完整的 coding region，PCR 反應產物利用 Gel extraction Kit (Viogen)和 Clean-Up Purification Kit (VIOGEN)進行純化，再進一步利用兩端 forward 和 reverse primer 運用 Perkin-Elmer Big Dye Primer Cycle Sequencing Ready Reaction Kit 以及 ABI310 或 ABI3100-Avant Genetic Analyzer (Perkin Elmer) (由本系自備提供和委託本校貴儀中心)進行兩端序列比對並定序。

2. *TMPRSS3* 基因突變點之偵測：

TMPRSS3 基因含有 13 個 Exons，我們參考 Ben-Yosef et al.,

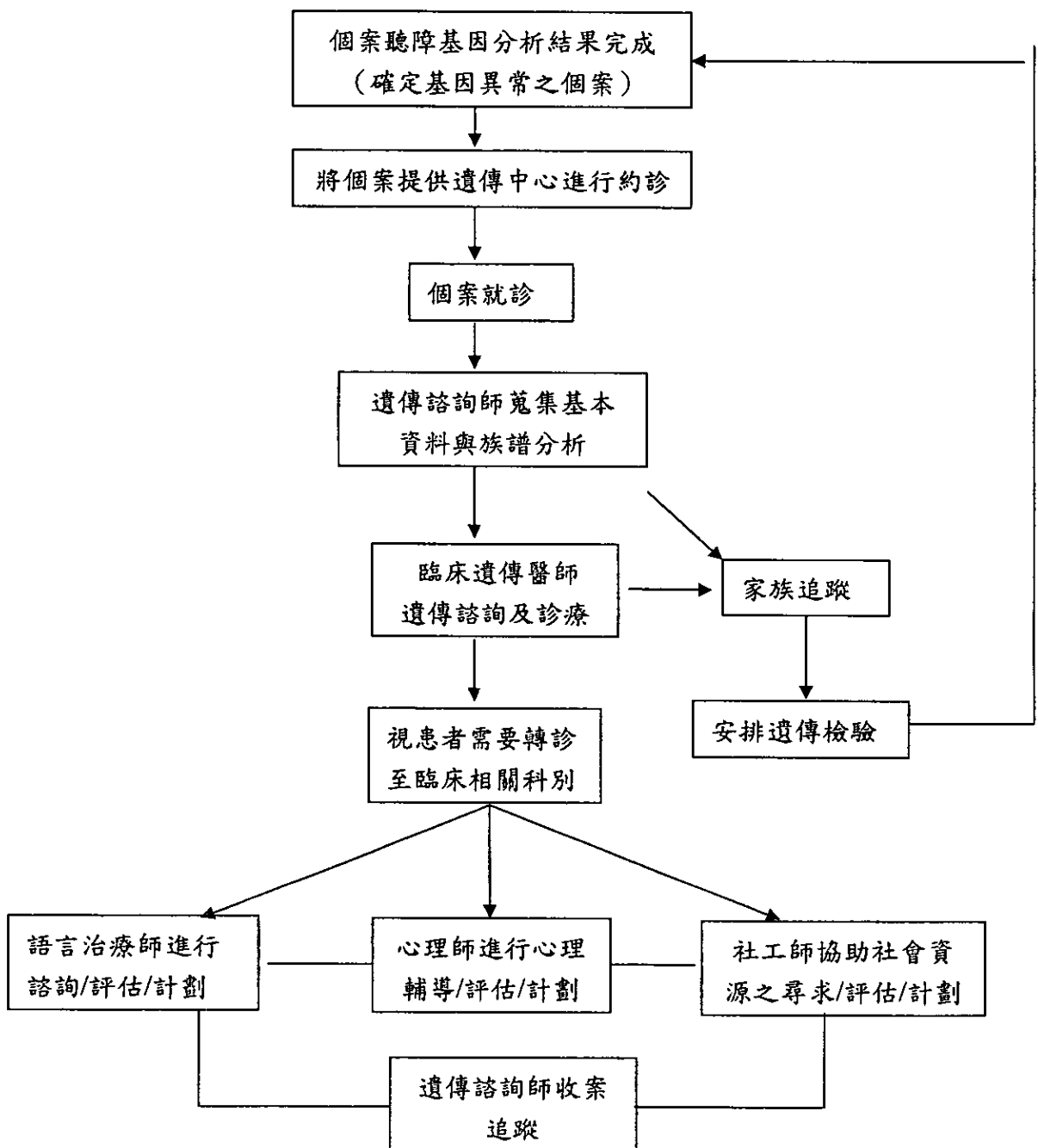
2001 所發表的設計 primer 如表三，進行 13 個 exons 的分析。在 25 μ l 的 PCR 反應溶液中，含有 1.5 mM MgCl₂，0.2 mM dNTP, 1 mM primer, 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl (pH 9.0), 0.1% Triton X-100, 0.01% gelatin 和 1 unit 的 pro Taq DNA polymerase (Promega)。將此反應溶液置於迴溫反應器(Perkin-Elmer 9700)中，擴增出整段完整的 coding region，PCR 反應產物利用 Gel extraction Kit (Viogen)和 Clean-Up Purification Kit (VIOGEN)進行純化，再進一步利用兩端 forward 和 reverse primer 運用 Perkin-Elmer Big Dye Primer Cycle Sequencing Ready Reaction Kit 以及 ABI310 或 ABI3100-Avant Genetic Analyzer (Perkin Elmer)(由本系自備提供和委託本校貴儀中心)進行兩端序列比對並定序。

四、分析造成聽障之 *Connexin* 基因族(*Cx family*)--- (*Cx26*、*Cx29*、*Cx30*、*Cx30.3*、*Cx31* 及 *Cx43*)

我們主要針對 *Cx* 基因族整個 coding region 進行突變點的偵測，各種 *Cx* 基因族 primer 的設計如表四。在 25 μ l 的 PCR 反應溶液中，含有 1.5 mM MgCl₂，0.2 mM dNTP, 1 mM primer, 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl (pH 9.0), 0.1% Triton X-100, 0.01% gelatin 和 1 unit 的 pro Taq DNA polymerase (Promega)。將此反應溶液置於迴溫反應器(Perkin-Elmer 9700)中，各種 *Cx* 基因族反應之條件如表五。擴增出整段完整的 coding region，PCR 反應產物利用 Gel extraction Kit (Viogen)進行純化，在進一步利用兩端 forward 和 reverse primer 運用 Perkin-Elmer Big Dye Primer Cycle Sequencing Ready Reaction Kit 以及 ABI310 Genetic Analyzer (Perkin Elmer)(由本系自備提供)進行兩端序列比對並定序。

五、Cx 基因族個案家族追蹤及其家族之遺傳諮詢服務

主要針對第一年計畫發現在 Cx 基因族有異常之病患聯絡家屬進行抽取血液 DNA，利用已建立的篩檢模式進行篩檢，來確定該突變是否是遺傳或 *de novo*，並且將建立遺傳諮詢模式來減少聽障的發生。與本校附設醫院遺傳諮詢中心遺傳專科醫師與遺傳諮詢人員合作進行家族遺傳諮詢服務。服務流程如下：



六、 利用 RFLP 快速診斷方法：

針對已知的突變點 *Cx26* 235delC 利用限制酶的專一性，發展出快速、簡便的方法。運用 PCR 以擴增出整段完整的 *Cx26* coding sequences，PCR 產物再以 *Apa* I 限制酶於 25°C 下作用 60 分鐘，取反應溶液 10 μ l 以 2 % 洋菜膠(agarose)電泳分析，以片段長度來區分是否為 235delC 位置核苷酸突變。

結果

一、*CLDN14* 和 *TMPRSS3* 基因的篩檢結果：

本研究針對 *CLDN14* 和 *TMPRSS3* 基因的篩檢一共分析 120 位聽力正常人和 230 位台中啟聰學校學生經耳鼻喉科醫師檢查確定為非症候群聽障 (non-syndromic hearing loss) 患者，其結果分述如下：

(一) *CLDN14* 和 *TMPRSS3* 基因的多型性 (polymorphism)

針對此次研究中 *TMPRSS3* 基因共篩檢出 22 種多型性 (polymorphism) (表六和表七)，124T→A/wt(heterozygous)、166G→C/wt(heterozygous)、358G→A、358G→A/wt(heterozygous)、648-13A→G、648-13A→G/wt(heterozygous)、654G→A、654G→A/wt(heterozygous)、818-4_818-5insAT、818-4_818-5insAT/wt(heterozygous)、882G→A/wt(heterozygous)、958A→G、958A→G/wt(heterozygous)、964G→T/wt(heterozygous)、1146G→A/wt(heterozygous)、1153+18T→C/wt(heterozygous)、1249+56C→T/wt(heterozygous)、1322 A→G/wt(heterozygous)、1323 C→T/wt(heterozygous)、1536C→T/wt(heterozygous)、1568 G→A、1568 G→A/wt(heterozygous)，其所佔比例在 120 位聽力正常人分別為：1/120 (0.83%)、1/120 (0.83%)、3/120 (2.50%)、27/120 (22.50%)、26/120 (21.67%)、47/120 (39.17%)、9/120 (7.50%)、41/120 (34.17%)、5/120 (4.17%)、48/120 (40%)、3/120 (2.50%)、5/120 (4.17%)、1/120 (0.83%)、1/120 (0.83%)、1/120 (0.83%)、2/120 (1.67%)、2/120 (1.67%)、1/120 (0.83%)、3/120 (2.50%)、25/120 (20.83%) 及 49/120 (40.83%)；而在 230 位聽障患者中所佔的比例分別為：1/230 (0.43%)、2/230 (0.87%)、8/230 (3.48%)、72/230 (31.30%)、55/230 (23.91%)、110/230 (47.83%)、25/230 (10.87%)、95/230 (41.30%)、18/230 (7.83%)、94/230 (40.87%)、4/230 (1.74%)、19/230 (8.26%)、100/230 (43.48%)、0/230

(0%)、0/230 (0%)、0/230 (0%)、7/230 (3.04%)、3/230 (1.30%)、2/230 (0.87%)、9/230 (3.91%)、75/230 (32.61%)及 93/230 (40.43%)。然而在 *CLDN14* 基因在此次 120 位正常人和 230 位聽障患者研究中出並無發現任何多型性 (polymorphism)。

(二) *CLDN14*和*TMPRSS3*基因的突變(mutation)

針對 *CLDN14* 和 *TMPRSS3* 基因在已分析的 230 位聽障患者中合計發現有 17 位聽障患者有突變的發生，所佔的比例為 7.39% (17/230)(表八)。在這 17 位病人中，*CLDN14* 和 *TMPRSS3* 基因的突變所佔的比例各為 29.41 % (5/17)和 70.59 % (12/17)。

在 *CLDN14* 基因發現了 5 種突變點分別為 52A→G/WT(M18V)、167-168delGG(W56S, frameshift)、243C → T/WT (R81R)、424G → A/WT(D142N)、687G→A/WT(T229T)其所佔的比例分別為 0.43% (1/230)、0.43% (1/230)、0.87% (2/230)、0.43% (1/230)和 0.43% (1/230)，其中有一位病人是屬於 243C→T /687G→A (compound heterozygous)突變(圖一)。在 *CLDN14* 基因第 52 個核苷酸由 A 變成 G (52A→G/WT)，造成第 18 個胺基酸由 Methionine 變成 Valine (M18V)，是一種 missence mutation；第 424 個核苷酸由 G 變成 A (424G→A/WT)，形成第 142 個胺基酸由 Aspartic acid 變成 Asparagine (D142N)，是一種 missence mutation；第 243 個核苷酸由 C 變成 T (243C→T/WT)和第 687 個核苷酸由 G 變成 A (687G→A/WT)，此兩種突變並不會造成胺基酸的改變，是一種 silent mutation；及第 167-168 個核苷酸 GG 發生了 deletion (167-168delGG)，此突變會造成第 56 個胺基酸由 Tryptphan 變成 Serine 並造成胺基酸 frameshift 而形成一個 premature 的蛋白停止在第 186 個胺基酸。

在 *TMPRSS3* 基因方面，發現有 8 個突變點在 12 位聽障患者中，分別

為 406+38C→ T/WT、752T→ C/WT(L184S)、822T→ C/WT(C207C)、1395+15 C→ A/WT、1454 C→ T/WT(A418V)、1470C→ T/WT(A311A)、1134C→ T/WT(I423I) and 1548+11C→ T/WT，所佔的比例除了 406+38C→ T/WT 為 2.17% (5/230)外其餘皆為 0.43% (1/230)(圖二和圖三)。當 752 個核苷酸由 T 變為 C 時，造成第 184 個胺基酸由 Leucine 變為 Serine，是一種 missence mutation；當 *TMPRSS3* 基因第 1454 個核苷酸由 C 變為 T 時，造成第 418 個胺基酸由 Alanine 變為 Valine (A418V)，是一種 missence mutation；當第 822 個核苷酸由 T 變為 C 的突變點、第 1470 個核苷酸由 C 變為 T 的突變點和第 1134 個核苷酸由 C 變為 T 的突變點，這些突變點並沒有造成胺基酸的改變因此是一種 silent mutation。而 406+38C→ T/WT、1395+15 C→ A/WT 和 1548+11C→ T/WT 的突變位於 intron 是否會影響 splicing 需要進一步的研究來探討其造成影響。

二、Cx 基因族個案家族追蹤及其家族之遺傳諮詢服務

先前本實驗室針對 Cx 基因族的篩檢，在 190 位學習語言前聽障患者中合計發現 42 位聽障患者在 Cx 基因族發生突變。加上在今年增加分析 40 位學習語言前聽障患者的 Cx 基因族突變的情形，共發現了 8 位聽障患者在這些基因上有突變的發生。本研究針對這 50 位聽障患者延續去年的研究持續進行家族追蹤和遺傳諮詢的服務。在 Cx26 235delC 的家族追蹤我們利用 RFLP 的快速診斷技術來了解其家族中之遺傳性。(圖四) 在遺傳諮詢的服務方面，今年完成了八位患者的遺傳諮詢工作加上之前的研究一共完成了 17 位聽障患者的遺傳諮詢工作。其結果以四個家族為例如附件三至附件六。其餘的患者我們也將持續進行追蹤聯絡進行遺傳諮詢工作。另外針對這 Cx 基因族個案家族追蹤及其家族之遺傳諮詢服務模式的建立我們也完成了參考手冊和案例分享的撰寫將可提供全國各遺傳諮詢中心參考(附件七和附件

八)。

三、全國性 Cx 基因族篩檢服務結果：

本實驗室於今年已經建立好整個 Cx 基因族的多形性資料庫(表十和表十一)，因此我們已經開始利用本資料庫將他推廣針對學習語言前非症候群聽障患者進行 Cx 基因族的篩檢和遺傳諮詢服務，到目前為止我們一共收集了 25 個聽障篩檢檢體，來源包括 1 個從嘉義天主教聖馬爾定醫院、15 個從成功大學附設醫院和 9 個從高雄醫學大學附設醫院。我們針對這些檢體的 Cx 基因族篩檢，到目前為止完成了 13 個個案的篩檢並寄發報告，其餘的個案持續分析中。在這 13 個個案我們一共發現了 5 個個案在 Cx 基因族發生了突變，其突變點分別在 Cx30.3 基因 370C→T/WT、Cx30 基因 396 C→T/WT、Cx26 基因 368C→A/ WT、Cx29 基因 807A→T/ WT 和 Cx43 基因 976C→T/WT(表十二)，在發現突變的個案中我們已經通知送檢單位抽取家屬的血液檢體進行家族追蹤。其餘的個案我也正陸續分析中。

討論

本研究針對台中啟聰學校 230 位語言學習前非症候群聽障(prelingual non- syndromic deafness)的學童作 *CLDN14* 和 *TMPRSS3* 基因分析發現有 15 位聽障學童有突變的發生，所佔的比例為 6.52 % (15/230)，在這 15 位病人中，*CLDN14* 和 *TMPRSS3* 基因的突變所佔的比例各為 33.33% (5/15)和 66.67%(10/15)。我們也成功的利用 *Apa I* 限制酶快速診斷方法(RFLP)來進行帶有 *Cx26* 基因 235delC 突變的家屬分析，在針對已知突變的聽障患者進行遺傳諮詢服務方面我們也完成了 8 個案例，並且完成了 *Cx* 基因族聽障遺傳諮詢參考手冊。另外我們也利用現有的 *Cx* 基因族的資料庫進行聽障患者的基因篩檢和遺傳諮詢服務到目前為止共收集了 22 個個案並完成了 5 個個案並寄發篩檢結果。

在 *CLDN14* 的篩檢研究中，我們發現了 5 個新的突變點包括 52A→G/WT、167-168delGG、243C→T/WT、424G→A/WT、687G→A/WT。在 Wilcox(2001)等人對 *CLDN14* 的研究報告指出 *CLDN14* 的突變是一種 autosomal recessive(AR)，在他們對 consanguineous Parkistani 聽障家族的分析中發現了兩個突變點 398delT 和 254T→A。但在本次研究中並沒有發現。另外此次研究中除了 167-168delGG 的突變是 homozygous 外其餘都是 heterozygous，這些可能是因為區域性和人種不同的因素所影響，因此這些 heterozygous 的突變是否會造成聽障值得我們進一步的探討。

在 *TMPRSS3* 基因的篩檢研究中，我們發現了 8 個新的突變點包括 406+38C→T/WT、752T→C/WT(L184S)、822T→C/WT(C207C)、1395+15C→A/WT、1454 C→T/WT(A418V)、1470C→T/WT(A311A)、1134C→T/WT(I423I) and 1548+11C→T/WT 等。然而這些突變點和國外的一些報告都不一樣，如 Scott(2001)等人在帶有 DFNB8 的 Pakistani 家族中發

現 IVS4-6G→A，此突變會造成產生一個新的 alternative splice acceptor site 而影響此基因的功能，另外 Masmoudi(2001)等人在 Tunisian 的家族中發現一個 1221C→T 的突變，此突變會造成第 404 個胺基酸由 proline 變為 Leucine，是一種 missense mutation 可能影響到此基因的功能，但在本次研究中亦沒有發現這情形。這些可能是因為區域性和人種不同的因素所影響。另外我們所發現的突變都是 heterozygous 且有些是屬於 silent mutation 如 822T→ C/WT(C207C)、1470C→ T/WT(A311A)和 1134C→ T/WT(I423I)或者是在 intron 中 mutation 如 406+38C→ T/WT、1395+15C→ A/WT 和 1548+11C→ T/WT，因此這些 heterozygous 的突變是否會造成聽障需進一步的進行功能研究來加以證明。

在本研究中我們已成功的應用快速、簡便、正確的臨床分子生物診斷方法，利用限制酶的特性針對已知的突變點進行篩檢，這些方法的建立對於家族中只有單一聽障患者區分遺傳或環境的成因有實質的幫助。在遺傳諮詢方面由於患者的聯絡不易，本年度只完成 8 個個案加上之前的研究我們一共完成了 17 個個案，其餘的個案我們將持續追蹤聯絡。

針對本次研究所發現的突變我們目前正在著手進行建立快速、簡便、正確的臨床分子生物診斷方法、家族的追蹤和遺傳諮詢工作，由於時間的因素在本研究報告中尚無法提供這些結果。針對這些基因的突變我們將進一步的探討其功能上的影響，將可對這些成因有更深入的了解。

結論

本篇研究已建立台灣地區語言學習前非症候群聽障孩童的 *CLDN14* 和 *TMPRSS3* 基因多型性和突變的資料庫，加上我們先前的對 *Cx* 基因族的分析結果在 230 位學習語言前聽障患者約有 50 位在 *Cx* 基因族有突變，綜合這些結果到目前為止合計發現有 67 位聽障患者在這些基因有突變的發生，所佔的比例為 29.13% (67/230)。這些完整的資料和這些分子診斷技術的發展，可以讓我們對於遺傳性聽障的成因有更深入的瞭解、對已知遺傳成因的學習語言前期非症候群聽障家屬提供遺傳諮詢和對優生保健具有實質幫助及深遠影響。另外我們將持續的進行這些基因的篩檢工作，使得資料庫更完整、更準確將可提供全省性遺傳性聽障基因之篩檢法的基礎。我們也開始利用所建立的資料庫進行 *Cx* 基因族的篩檢服務並完成遺傳諮詢手冊的建立，相信這些結果、技術和諮詢模式的建立將可提供學習語言前聽障患者的服務管道，以降低台灣地區學習語言前聽障患者的發生。

參考文獻

- Ben-Yosef T, Wattenhofer M, Riazuddin S, Ahmed ZM, Scott HS, Kudoh J, Shibuya K, Antonarakis SE, Bonne-Tamir B, Radhakrishna U, Naz S, Ahmed Z, Riazuddin S, Pandya A, Nance WE, Wilcox ER, Friedman TB, and Morell RJ. Novel mutations of TMPRSS3 in four DFN8/B10 families segregating congenital autosomal recessive deafness. (Letter) *J. Med. Genet.* 38: 396-400, 2001.
- Ferrary E and Sterkers O (1998) Mechanisms of endolymph secretion. *Kidney Int. Suppl.* 65, S98-S103
- Guipponi M, Vuagniaux GG, Wattenhofer M, Shibuya K, Vazquez M, Dougherty L, Scamuffa N, Guida E, Okui M, Rossier C, Hancock M, Buchet K, Reymond A, Hummler E, Marzella PL, Kudoh J, Shimizu N, Scott HS, Antonarakis SE, and Rossier BC. (2002) The transmembrane serine protease(TMPRSS3)mutated in deafness DFN8/10 activates the epithelia sodium channel(ENaC) in vitro. *Hum. Mol. Genet.* 11, 2829-2836
- Kalatzis V and Petit C (1998) The fundamental and medical impacts of recent progress in research on hereditary hearing loss. *Hum. Mol. Genet.* 7, 1589-1597
- Kikuchi T, Kimura RS, Paul DL and Adams JC (1995) Gap junctions in the rat cochlea: immunohistochemical and ultrastructural analysis. *Anat Embryol* 191, 101-118
- Konishi T, Harick DE and Walsh PJ (1978) Ion transport in guinea pig cochlea. I. Potassium and sodium transport. *Acta Otolaryngol* 86, 22-34
- Luppari R and Arslan E (1996) Neonatal screening: risk factors and outcome in 4400 children. *Acta Otorhinolaryngologia Italica* 16, 501-507
- Marazita ML, Ploughman LM, Rawling B, Remington E, Amos KS and Nance

- WE (1993) Genetic epidemiological studies of early-onset deafness in the U.S school-age population. *Am. J. Med. Genet.* 46, 486-491
- Masmoudi S, Antonarakis SE, Schwede T, Ghorbel AM, Gratri M, Pappasavas MP, Drira M, Elgaied-Boulila A, Wattenhofer M, Rossier C, Scott HS, Ayadi H, and Guipponi M. Novel missense mutations of TMPRSS3 in two consanguineous Tunisian families with nonsyndromic autosomal recessive deafness. *Hum. Mutat.* 18: 101-108, 2001.
- Morton CC (2002) Genetics, genomics and gene discovery in the auditory system. *Hum. Mol. Genet.* 11, 1229-1240
- Schulte BA and Steel KP (1994) Expression of α and β subunit isoforms of Na, K-ATPase in the mouse inner ear and changes with mutations at the W^v or Si^d loci. *Hear. Res.* 78, 65-76
- Scott DA, Kraft ML, Carmi R, Ramesh A, Elbedour K, Yairi Y, Srisailapathy CR, Rosengren SS, Markham AF, Mueller RF, Lench NJ, Van Camp G, Smith RJ and Scheffield VC(1998) Identification of mutations in the connexin 26 gene that cause autosomal recessive nonsyndromic hearing loss. *Hum. Mutat.* 11, 387-394
- Spicer SS and Schulte BA (1998) Evidence for a medial K^+ recycling pathway from inner hair cell. *Hear Res.* 118, 1-12
- Steel KP, Barkway C and Bock GR (1987) Strial dysfunction in mice with cochleo-saccular abnormalities. *Hear. Res.* 27, 11-26
- Naz S, Giguere CM, Kohrman DC, Mitchem KL, Riazuddin S, Morell RJ, Ramesh A, Srisailapathy S, Deshmukh D, Riazuddin S, Griffith AJ, Friedman TB, Smith RJH and Wilcox ER (2002) Mutations in a novel gene, TMIE, are associated with hearing loss linked to the DFNB6 locus. *Am. J. Hum. Genet.* 71, 632-636
- Wada J, Kambayashi J, Marais DC and Thaimann R, (1979) Vascular perfusion of the cochlea: effect of potassium-free and rubidium-substituted media.

Arch Otorhinolaryngol 225, 79-81

Wilcox ER, Burton QL, Naz S, Riazuddin S, Smith TN, Ploplis B, Belyatseva I, Ben-Yosef T, Liburd NA, Morell RJ, Kachar B, Wu DK, Griffith AJ, Riazuddin S, Friedman TB.(2001) Mutation in the gene encoding tight junction claudin-14 cause recessive deafness DFNB29. Cell 104, 165-172

表一 行政院衛生署 國民健康局認證通過之遺傳諮詢中心服務窗口

申請單位	電話	聯絡人員
台灣大學醫學院附設醫院	02-23123456-6708	黃愛珠小姐
台北榮民總醫院	02-28712121-3292	陳玲招小姐
長庚紀念醫院林口分院	03-3281200-8278	林毓婷小姐
臺中榮民總醫院	04-23592525-4026 04-23509615	簡 淑小姐
中國醫藥大學附設醫院	04-22502121-2128	李慧美小姐
成功大學醫學院附設醫院	06-2353535-4740	廖翠碧小姐
高雄醫學大學附設中和紀念醫院	03-3121101-6465 03-3114995	佘家音小姐
慈濟綜合醫院	03-8563092	林思瑋小姐
馬偕紀念醫院	(02)25433535-2547、 2548 或撥 9 請總機代 call 0748	林美玲小姐
中山醫學大學附設醫院	04-24739595-2203	陳素珍小姐

表二 *CLDN14* 基因族 primer 設計

名稱	序列	名稱	序列	size	Tm°C
F1	AGGAGCGGC GTG ACC C	R1	TGCCACCAATGA GCGAGAG	598bp	60
F2	CGCGCCCTCATGGT C ATC T	R2	CCCCCTCTGTCC CTG TGCT	639bp	62

F: forward ; R: reverse ; size: PCR 放大產物大小

表三 <i>TMPRSS3</i> 基因 primer 設計					
名稱	序列	名稱	序列	size	Tm°C
Exon 1F	CTCTGGTCTCCTT GGCATTGTG	Exon 1R	CTCTCAAAGCCCTT TCCATTGC	387 bp	60
Exon 2F	GATGCACCTGAT GCTACAAG	Exon 2R	GGACAGTCAGTCA CATTGGTC	286 bp	55
Exon 3F	GGACTIONACTAG AGAATGTGCC	Exon 3R	GACAAAGCCATGA GCATGGC	510 bp	55
Exon 4F	AGGGGGACAGTT GTTAGTGTTC	Exon 4R	TACAGATGGGAAG GGTCAGGGTTG	261 bp	60
Exon 5F	TGTGGAGAAACC CCTGCCTATG	Exon 5R	GATGTGAGGATGT AATCTGAGAGCG	323 bp	55
Exon 6F	GACTCGCACATC GGTTGAATG	Exon 6R	ATACTCCCTCAGGT TCTCACACCC	387 bp	55
Exon 7F	GTGTGACCTCATC CTCATGG	Exon 7R	CTCTGAGGGCAAG GAGATAG	293 bp	60
Exon 8F	TAGAGCTGCTGT GAGCTCTG	Exon 8R	AGACTCCTCTCCA ACTGTAC	438 bp	55
Exon 9F	GGACCACATCTT GCCTGATAACC	Exon 9R	AAAGCACACAGCC CACGAAG	694 bp	60
Exon 10F	CTCCTGCTGTGAG CTGATCG	Exon 10R	CGAGCAGCTGACA TGCACTC	393 bp	55
Exon 11F	GTCTCAGCATGC GCCTTCTG	Exon 11R	CCCACGCAGAGCC AGATCAC	407 bp	60
Exon 12F	TGGGTCATCCATT GGGACATC	Exon 12R	TCTCTGTTTTTCAGC ACAAGCGTC	460 bp	55
Exon 13F	TACGGAAGTGAC GGAAGTGTGCG	Exon 13R	CTTGAAGGTTGTGC TGGAATCAG	442 bp	60

F: forward ; R: reverse ; size: PCR 放大產物大小

名稱	序列	名稱	序列	size	Tm°C
Cx26-F	GTAAGAGTTGG TGTTTGCTC	Cx26-R	GGCCTACAGG GGTTTCAAAT	964 bp	60
Cx29-F1	GGAGTGACAA GGTGGACTGG	Cx29-R1	GTGGCGGTCA GAACACATC	100 8 bP	64
Cx29-F2	GGGTCCTTGGG TTTTGGGTA	Cx29-R2	GTCCCAGTTGT C GGTTATGC	260 bP	64
Cx30-F	GGCAGGGAGT TGAAGTTGTA	Cx30-R	ACGTTGTGTAT GAATGGAGCA	110 4 bp	60
Cx30.3-F	GCATTAAGGGT GCCCATCTC	Cx30.3-R	TTTTCCTGGGT GGCCTCAT	975 bp	58
Cx31-F	ATTCTCTCAGG TAGGCACGG	Cx31-R	CCTGCCTGTGG TCAGAT	859 bp	58
Cx43-F	CGTGAAACCGT TGGTAGTATT	Cx43-R	CCTCCACCGGA TCAAATA	134 2 bP	60

F: forward ; R: reverse ; size: PCR 放大產物大小

Cx26	94°C 5 min , 94°C 30 sec ---60°C 40 sec--72°C 60 sec, 35 cycles , 72 °C 7 min
Cx29-1	94°C 5 min , 94°C 30sec---64°C 30 sec--- 72°C 60 sec, 35 cycle , 72°C 10 min
Cx29-2	94°C 5 min, 94°C 30 sec---64°C 30 sec---72°C 60 sec, 35 cycle , 72°C 10 min
Cx30	94°C 5 min , 94°C 30 sec ---60°C 40 sec--72°C 60 sec, 35 cycles , 72 °C 7 min
Cx30.3-F	94°C 5 min , 94°C 30 sec ---58°C 45 sec--72°C 90 sec , 35 cycles , 72 °C 10 min
Cx31-F	94°C 5 min , 94°C 30 sec ---58°C 30sec--72°C 60 sec, 35 cycles , 72 °C 7 min
Cx43-F	94°C 5 min , 94°C 30 sec--60°C 45 sec--72°C 90 sec , 35 cycles , 72 °C 10 min

表六. 120 位正常人中 *TMPRSS3* 的多型性頻率

核苷酸位置改變	人數	比例(%)
124 T→ A/WT	1	0.83%
166 G→ C/WT	1	0.83%
358 G→ A/358 G→ A	3	2.50%
358 G→ A/WT	27	22.50%
648-13 A→ G/648-13 A→ G	26	21.67%
648-13 A→ G/WT	47	39.17%
654 G→ A/654 G→ A	9	7.50%
654 G→ A/WT	41	34.17%
818-4 818-5insAT/818-4 818-5insAT	5	4.17%
818-4 818-5insAT/WT	48	40.00%
882G→ A /WT	3	2.50%
958A→ G/958A→ G	5	4.17%
958A→ G/WT	51	42.50%
964G→ T/WT	1	0.83%
1146 G→ A/WT	1	0.83%
1153+18T→ C/WT	1	0.83%
1249+56 C→ T /WT	2	1.67%
1322 A→ G/WT	2	1.67%
1323 C→ T/WT	1	0.83%
1536 C→ T /WT	3	2.50%
1568 G→ A /1568 G→ A	25	20.83%
1568 G→ A/WT	49	40.83%

WT: wild type

表七 230 位學習語言前感音神經性聽障患者 *TMPRSS3* 多型性頻率

核苷酸位置改變	人數	比例(%)
124 T→ A/WT	1	0.43%
166 G→ C/WT	2	0.87%
358 G→ A/358 G→ A	8	3.48%
358 G→ A/WT	72	31.30%
648-13 A→ G/648-13 A→ G	55	23.91%
648-13 A→ G/WT	110	47.83%
654 G→ A/654 G→ A	25	10.87%
654 G→ A/WT	95	41.30%
818-4_818-5insAT/818-4_818-5insAT	18	7.83%
818-4_818-5insAT/WT	94	40.87%
882G→ A /WT	4	1.74%
958A→ G/958A→ G	19	8.26%
958A→ G/WT	100	43.48%
1249+56 C→ T /WT	7	3.04%
1322 A→ G/WT	3	1.30%
1323 C→ T/WT	2	0.87%
1536 C→ T /WT	9	3.91%
1568 G→ A/1568 G→ A	75	32.61%
1568 G→ A/WT	93	40.43%

WT: wild type

表八 230 位聽障患者中 *CLDN14* 和 *TMPRSS3* 基因族的突變之盛行率 (prevalence)

基因	基因型	氨基酸改變	預測突變效應	人數	百分比
<i>CLDN14</i>	52A→G/WT	M 18 V	missense mutation	1	0.43%
	167-168delGG	W 56 S	Frameshift stop at codon 186	1	0.43%
	243C→T/WT	R81R	silence mutation	1	0.43%
	424G→A/WT	D 142 N	missense mutation	1	0.43%
	243C→T /687G→A	R 81 R / T 229 T	silence mutation / silence mutation	1	0.43%
<i>TMPRSS3</i>	406+38 C→ T/WT	-	.	5	2.17%
	752 T→ C/WT	L 184 S	Missense mutation	1	0.43%
	822T→ C/WT	C 207 C	Silence mutation	1	0.43%
	1134C→ T/WT	A 311 A	Silence mutation	1	0.43%
	1395+15 C→ A/WT			1	0.43%
	1454 C→T/WT	A 418 V	Missense mutation	1	0.43%
	1470 C→ T/WT	I 423 I	Silence mutation	1	0.43%
	1548+11 C→ T/WT	-		1	0.43%
總計				17	7.39%

WT: wild type

表九 92~93 年度完成遺傳諮詢案例

年度	編號	基因	基因型
92	THL036	Cx26	235delC/235delC
	THL047		235delC/235delC
	THL055		235delC/235delC
	THL166		235delC/WT
	THL180		235delC/299-300delAT
	THL020	Cx43	932delC/WT
	THL071		932delC/WT
	THL083		932delC/WT
	THL158		932delC/WT
93	THL064	Cx26	235delC/235delC
	THL154		235delC/WT
	THL219		235delC/235delC
	THL220		235delC/235delC
	THL012	Cx30.3	507C→G/507C→G
	THL155		292C→T/WT
	THL233	Cx29 CLDN14	807A→T/WT 243C→T/687G→A
	D5	TMPRSS3	233 C→T/WT

WT: wild type

表十 120 位正常人中 Cx 基因族的多型性頻率

gene	Nucleotide change	Individual found.	Percentage (%)
Cx26	79G→ A/79G→ A	1	38.33
	79G→ A/WT	45	
	109G→ A/109G→ A	17	14.17
	341G→ A/341G→ A	8	6.66
	608T→ C/608T→ C	5	4.16
Cx43	112A→ C/WT	3	2.5
Cx31	359C→ T/WT	25	20.83
Cx30.3	174C→ T/WT	4	3.33
	507C→ G/WT	3	2.5
	611A→ C/WT	22	18.33
	611A→ C/611A→ C	1	0.83
	451C→ A/WT	1	0.83
Cx29	780+63 C→ T/WT	1	0.83
	842 T→ G/WT	2	1.67

WT: wild type

表十一 190 位學習語言前感音神經性聽障患者 Cx 基因族的多型性頻率

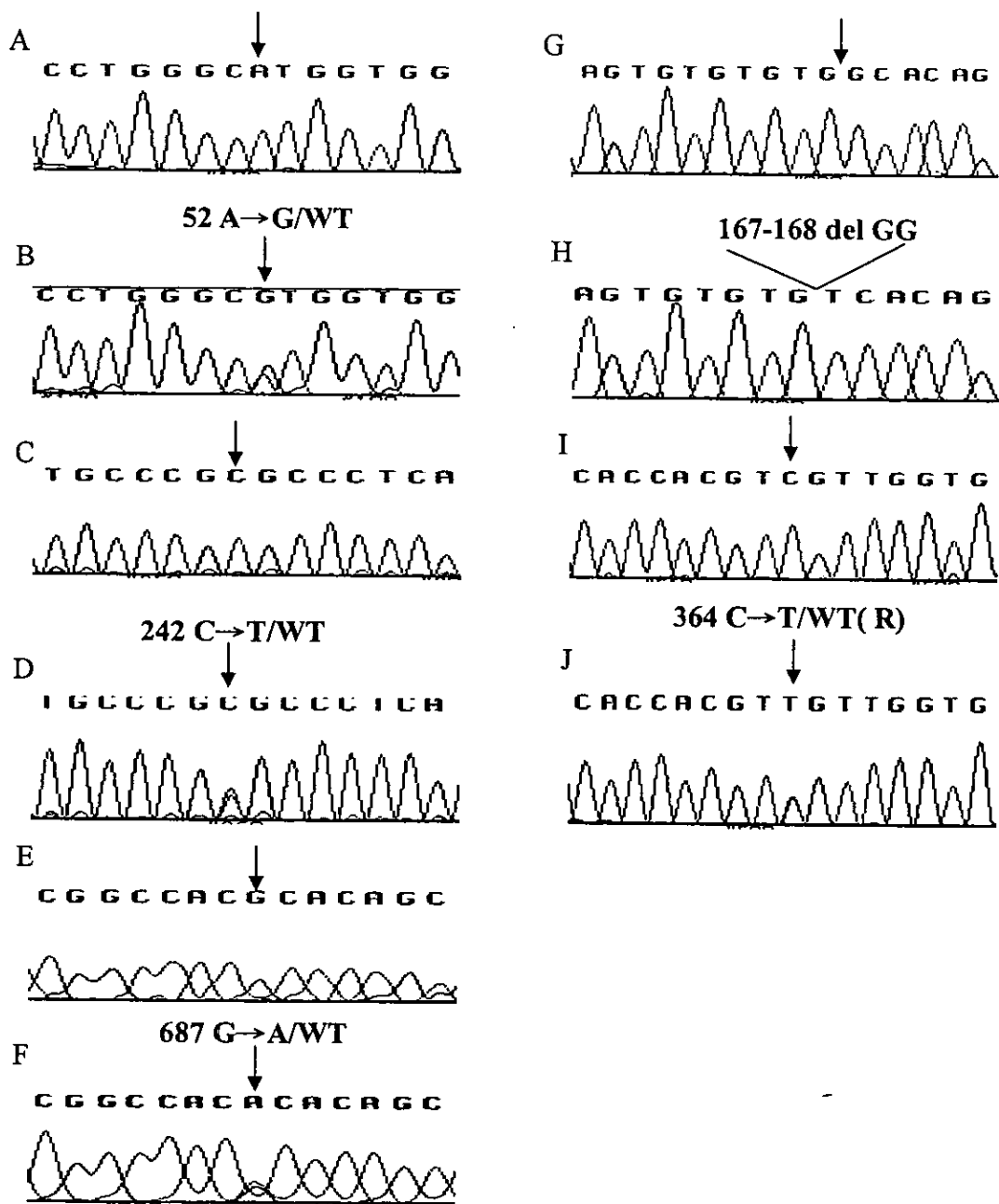
gene	Nucleotide change	Individual found.	Percentage (%)
Cx26	79G→A/79G→A	18	34.74
	79G→A/WT	48	
	109G→A/109G→A	22	19.47
	109G→A/WT	15	
	341G→A/341G→A	8	22.11
	341G→A/WT	34	
	608T→C/608T→C	5	7.89
	608T→C/WT	10	
	558G→A/WT	1	0.53
Cx43	112A→C/WT	7	3.68
Cx31	359C→T/WT	38	20.00
Cx30.3	174C→T/WT	3	1.58
	507C→G/WT	14	7.37
	611A→C/WT	40	21.05
	611A→C	2	1.05
Cx29	780+63 C→T/WT	8	4.21
	842 T→G/WT	4	2.11

WT: wild type

表十二 全國性 Cx 基因族篩檢服務結果

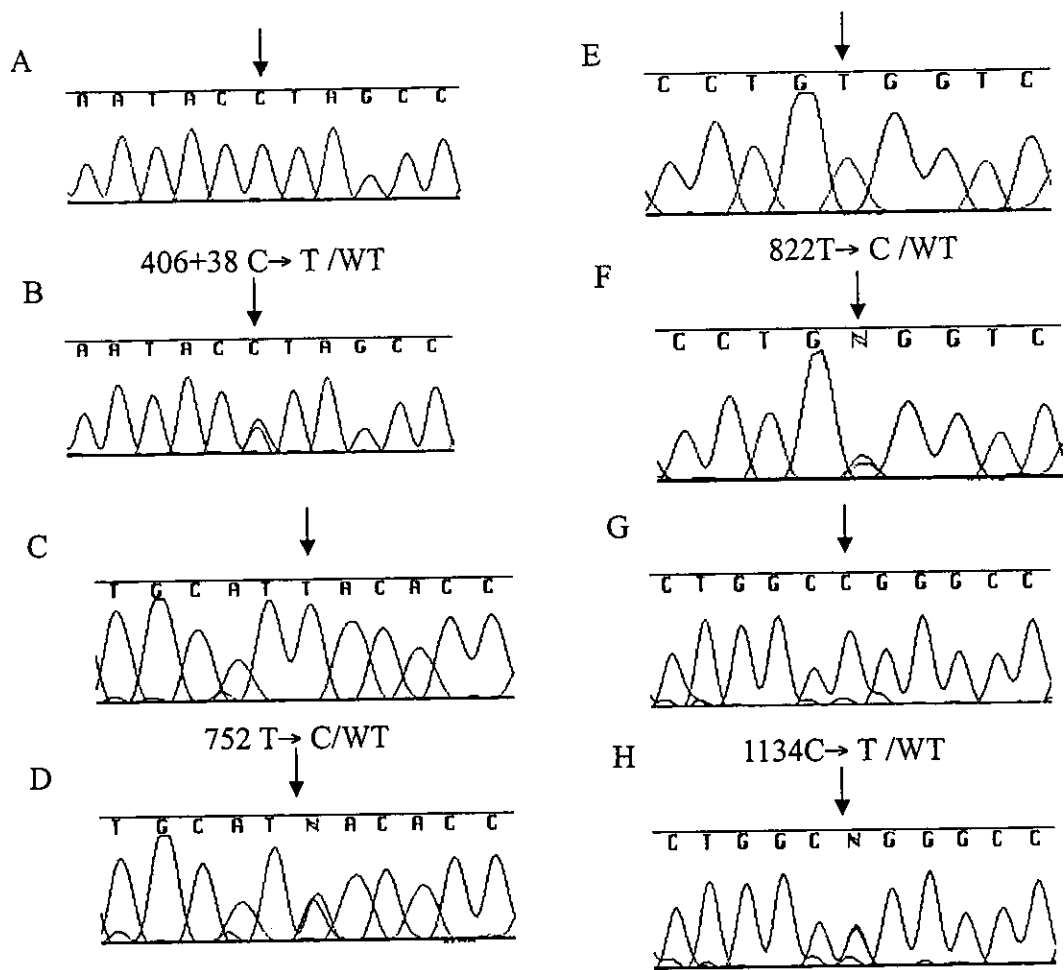
編號	Cx26	Cx29	Cx30	Cx30.3	Cx31	Cx43
Con001	WT	WT	WT	370C→T/ WT	WT	WT
Con002	WT	WT	396C→T/ WT	WT	WT	976C→T/ WT
Con003	WT	WT	396C→T/ WT	WT	WT	976C→T/ WT
Con004	WT	WT	WT	WT	WT	WT
Con005	WT	WT	WT	WT	WT	WT
Con006	WT	WT	WT	WT	WT	WT
Con007	WT	WT	WT	WT	WT	WT
Con008	WT	WT	WT	WT	WT	WT
Con009	368C→A/ WT	WT	WT	WT	WT	WT
Con010	WT	WT	WT	WT	WT	WT
Con011	WT	WT	WT	WT	WT	WT
Con012	WT	WT	WT	WT	WT	WT
Con013	WT	807A→T/ WT	WT	WT	WT	WT

WT: wild type



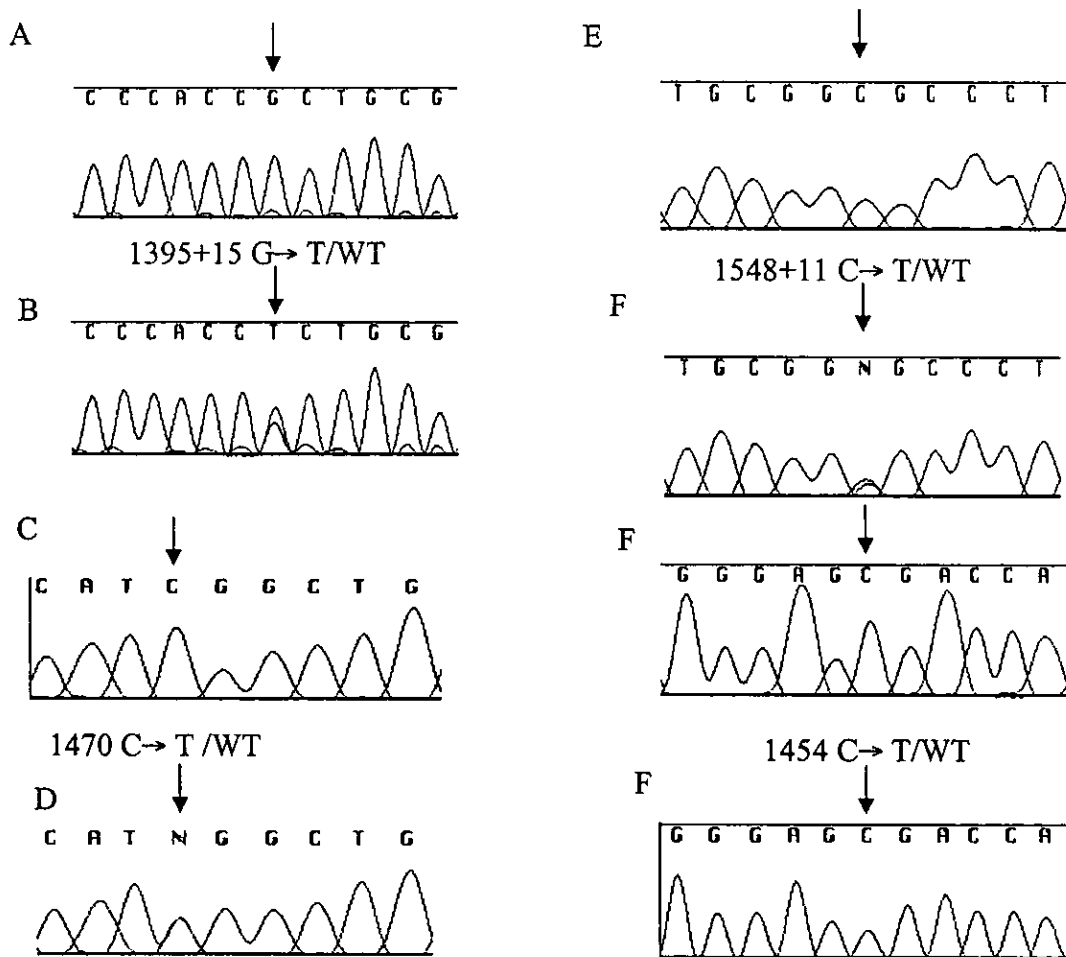
圖一 CLDN14 基因突變定序結果

A、C、E、G 和 I：正常的序列；B：Heterozygous 突變：52A→G/wt；D：Heterozygous 突變：242 C→T/WT；F：Heterozygous 突變：687 G→A/WT；H：Heterozygous 突變：167-168 del GG；J：Heterozygous 突變：364 C→T/WT(R: reverse)；箭頭指的是突變的位置；WT: wild type



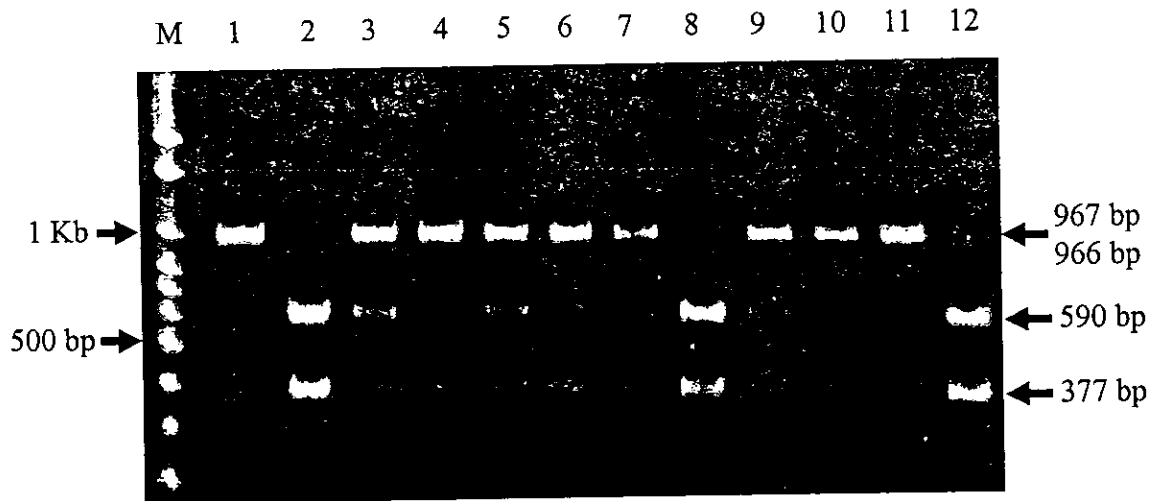
圖二 *TMPRSS3* 基因突變定序結果

A、C、E 和 G：正常的序列；B：Hetrozygous 突變：406+38 C → T / WT；
 D：Hetrozygous 突變：752 T → C / WT；F：Hetrozygous 突變：822 T → C / WT；
 箭頭指的是突變的位置；H：Hetrozygous 突變：1134 C → T / WT；WT: wild type



圖三 *TMPRSS3* 基因突變定序結果

A、C、E和G: 正常的序列; B: Hetrozygous 突變: 1395G→ T /WT(reverse sequence); D: Hetrozygous 突變: 1470 C→ T /WT; F: Hetrozygous 突變: 1548+11 C→ T; 箭頭指的是突變的位置; H: Hetrozygous 突變: 1454 C→ T /WT WT: wild type



圖四 Cx26 基因利用 Apa I 限制酶快速診斷 235delC 之突變

1. 正常人未用 Apa I 限制酶切割含 Cx26 基因全長 967 bp
2. THL220 兄利用 Apa I 限制酶切割成 590 bp 及 377 bp 兩片段
3. THL 220 父被 Apa I 限制酶切割成三種片段(966 bp、590 bp 和 377 bp)，是屬於 heterozygous 235delC/wt
4. THL 220 無法被 Apa I 限制酶切割，是屬於 homozygous 235delC
5. THL 219 母被 Apa I 限制酶切割成三種片段 966 bp、590 bp 和 377 bp，是屬於 heterozygous 235delC/wt
6. THL 219 無法被 Apa I 限制酶切割，是屬於 homozygous 235delC
7. THL 154 母被 Apa I 限制酶切割成三種片段 966 bp、590 bp 和 377 bp，是屬於 heterozygous 235delC/wt
8. THL154 父利用 Apa I 限制酶切割成 590 bp 及 377 bp 兩片段
9. THL 154 被 Apa I 限制酶切割成三種片段 966 bp、590 bp 和 377 bp，是屬於 heterozygous 235delC/wt
10. THL 064 弟被 Apa I 限制酶切割成三種片段 966 bp、590 bp 和 377 bp，是屬於 heterozygous 235delC/wt
11. THL 047 姐無法被 Apa I 限制酶切割，是屬於 homozygous 235delC
12. 為正常人利用 Apa I 限制酶切割成 590 bp 及 377 bp 兩片段

病人基本資料

一、基本資料：

姓名：_____ 性別：_____ 出生日期：____年__月__日
實際年齡：足__歲__月 身高__cm 體重__kg 頭圍__cm
教育程度：_1.研究所以上 2.大專 3.高中職 4.初中 5.小學 6.無
職業：_____ 婚姻狀況：____ 1.未婚 2.已婚 3.離婚 4.鰥寡
通訊地址：_____
聯絡電話：公_____宅_____ 手機_____

二、既往病歷：(一)無 (十)有 (?)不詳

近親通婚 () 初生體重 () 懷孕史：G__P__A__ 懷孕週數：足
月____ 有無懷孕合併症：窒息 () 黃疸 () 其他
(_____)

預防接種：

卡介苗 B型肝炎 白喉、百日咳、破傷風 德國麻疹 小兒
麻痺：口服 () 注射 () MMR 日本腦炎

其他曾接種疫苗：_____

月經：初潮____最終月經____規則性____期間____出血量____經痛____

嗜好：酒 (量： /天，共 年) 煙 (量： 支/天，共 年)
檳榔 (量： /天，共 年) 藥物()

既往疾病：麻疹 白喉 百日咳 瘧疾 傷寒 結核 阿
米巴痢疾 風濕熱 關節炎 哮喘 藥物過敏
高血壓 心臟病 糖尿病 肝臟病 出血
傾向 受傷 避孕藥
手術

若有其他疾病請詳述於下：

三、家族病史：

1.家族中有無出生就有下列先天性缺陷疾病個案：兔唇、先天性心臟
病、腦性麻痺、代謝異常、顎裂、唐氏症。無 有 (請註
明：_____)

2.家族內有無一歲內死亡的個案。無 有 (請註明疾
病：_____)

3. 家族中有無曾經被診斷為習慣性流產的個案。 無 有
4. 家族中有無智能不足的案例。 無 有
5. 家族中有無罹患抽搐（如癲癇、頭部外傷或其他）的個案
無 有
6. 家族中有無生長發展異常的個案。 無 有
7. 家族中有無精神異常的個案。 無 有

四、家族史

稱謂	姓名	生日	疾病史	存/歿	死亡年齡	死因	備註
父							
母							
配偶							

※家族圖譜 (Pedigree)



1
2
3
4

五、主訴

六、診斷

七、遺傳諮詢內容：

諮詢者： /

日期： 年 月 日

附件二

聽障基因檢查申請單

檢體編號：_____ 送檢日期：_____年_____月_____日

患者姓名：_____ 病歷號碼：_____

出生日期：_____年_____月_____日

檢體類別： 血液 其他

性別： 男 女

患者父親姓名：_____ 出生日期：_____年_____月_____日

母親姓名：_____ 出生日期：_____年_____月_____日

聽障發生時期： prelingual
 postlingual

符合下列項目打勾

- 家族史有先天性或兒童期發生之感音神經性聽障
- 屬於 non-syndromic 之聽障
- 母親懷孕期及出生前、後無下列聽障高危險因素。如：Maternofetal infection, Perinatal complications, Meningitis, Mumps, Prenatal or postnatal ototoxic medication, Acoustic trauma, Very low birth weight

聽障程度：優耳之氣導平均聽閾(500,1000 及 2000Hz)(PTA)

- mild ($20 < PTA \leq 39$ dBHL)
- moderate ($40 < PTA \leq 69$ dBHL)
- severe ($70 < PTA \leq 89$ dBHL)
- profound ($PTA \geq 90$ dBHL)

ENT Exam :

送檢單位：

_____ 醫院 _____ 科 _____ 醫師

電話：_____

其他相關單位_____

人員：_____

電話：_____

中山醫學大學 生命科學系遺傳室

地址：台中市南區 40203 建國北路一段 110 號

電話：(04)24730022 ext 1809 (04)24757412

中山醫學大學 生命科學系

基因篩檢結果

編號	姓名	基因	基因型
180	XX	Cx26 基因	235delC/299-300delAT Frameshift

說明

1. 目前已知許多基因突變會導致聽障，且各基因之致病機轉不盡相同，非常複雜。目前我們集中力量篩檢耳蝸內影響離子濃度恆定性之相關基因：Cx 基因族—包括 Cx26、Cx29、Cx30、Cx30.3、Cx31 及 Cx43。
2. 本報告僅針對上述 Cx26 基因部份進行分析，屬研究性質，其結果僅供醫師臨床參考。
3. 本實驗主要篩檢單一基因突變，因此不能排除患者無合併其他突變之可能性。

中山醫學大學 生命科學系遺傳室
地址：台中市南區 40203 建國北路一段 110 號
電話：(04)24730022 ext 1809 (04)24757412

中山醫學大學附設醫院

遺傳諮詢記錄

一、基本資料：

姓名：XX 性別：女 出生日期：85年8月31日
 實際年齡：足7歲3月 身高 cm 體重 kg 頭圍 cm
 教育程度：5 1.研究所以上 2.大專 3.高中職 4.初中 5.小學 6.無
 職業： 婚姻狀況： 1.未婚 2.已婚 3.離婚 4.鰥寡
 通訊地址：台中縣龍井鄉
 聯絡電話：公 宅04-2263xxxx 手機093580xxxx

二、既往病歷：(-)無 (+)有 (?)不詳

近親通婚 (-) 初生體重 (2500g) 懷孕史：G1P1A0 懷孕週數：

有無懷孕合併症：窒息 (-) 黃疸 (-) 其他 ()

預防接種：

卡介苗 () B型肝炎 () 白喉、百日咳、破傷風 () 德國麻疹 ()

小兒麻痺：口服 () 注射 () MMR () 日本腦炎 ()

其他曾接種疫苗：

月經：初潮 最終月經 規則性 期間 出血量 經痛

嗜好：酒 (量： /天，共 年) 煙 (量： 支/天，共 年)

檳榔 (量： /天，共 年) 藥物 ()

既往疾病：

麻疹 () 白喉 () 百日咳 () 瘧疾 () 傷寒 () 結核 ()

阿米巴痢疾 () 風濕熱 () 關節炎 () 哮喘 () 藥物過敏 ()

高血壓 () 心臟病 () 糖尿病 () 肝臟病 () 出血傾向 ()

受傷 () 避孕藥 () 手術 ()

若有其他疾病請詳述於下：

三、家族史：

1. 家族中有無出生就有下列先天性缺陷疾病個案：兔唇、先天性心臟病、腦性麻痺、代謝異常、顎裂、唐氏症。 無 有 (請註明：兔唇顎裂)

2. 家族內有無一歲內死亡的個案。 無 有 (請註明疾病：)

3. 家族中有無曾經被診斷為習慣性流產的個案。 無 有

4. 家族中有無智能不足的案例。 無 有

5. 家族中有無罹患抽搐 (如癲癇、頭部外傷或其他) 的個案 無 有

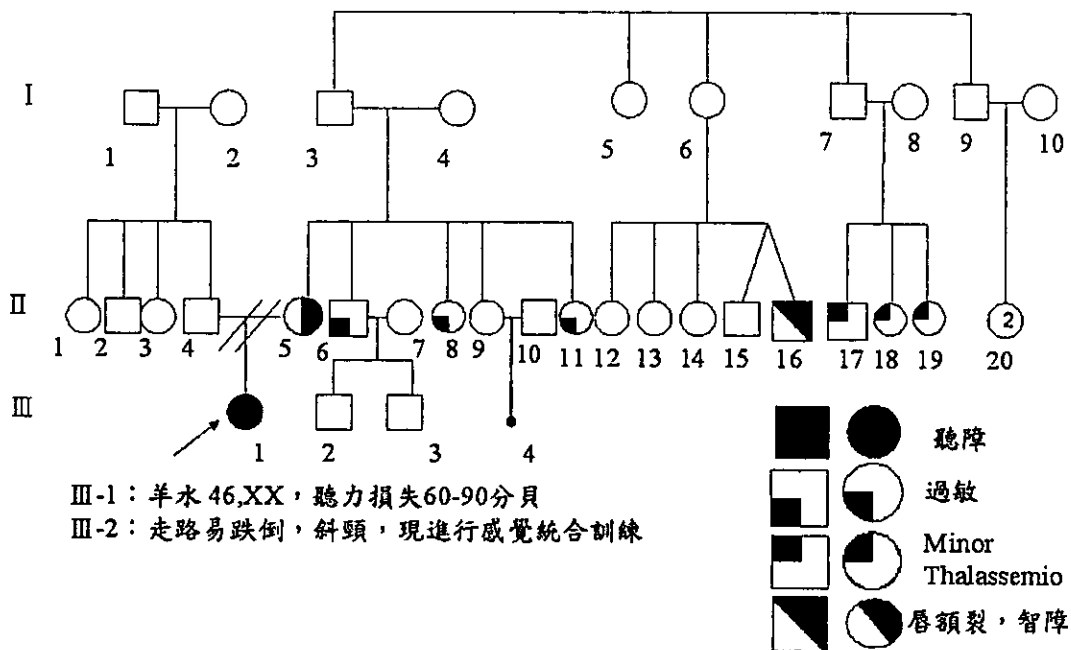
6. 家族中有無生長發展異常的個案。 無 有 (與1是同一人)

7. 家族中有無精神異常的個案。 無 有

四、家族史

稱謂	姓名	生日	疾病史	存/歿	死亡年齡	死因	備註
父	XXX						
母	XXX						

※家族圖譜 (Pedigree)



五、主訴

據病患母親主訴，個案於三歲時突然聽力下降至 60-70 分貝急於想瞭解造成其聽力影響之原因，及未來可能之影響。

六、診斷

Cx26 235delC/299-300delAT

七、遺傳諮詢內容

- 1.告知此次基因篩檢之主要目的，給予聽覺障礙及其發生原因衛教單。
- 2.解釋聽障之可能造成原因。
- 3.解釋目前聽障基因之檢驗結果。
- 4.告知目前本計劃之進度，及其餘篩檢仍持續進行中，若有進一步結果會再連絡病人回院看報告。
- 5.告知本報告結果無法排除病人是否有其餘異常之可能性。
- 6.告知家族中若有家屬想針對此突變點進行檢測，可與本中心連絡檢驗之相關事宜。
- 7.告知遺傳諮詢中心之連絡方式、諮詢時間及負責人。

諮詢者：蘇本華/ 陳素珍

日期： 92 年 12 月 4 日

備註：母親於諮詢當天已接受採血，並表示非常願意配合本研究計劃。

中山醫學大學 生命科學系

家屬基因篩檢結果

Cx26 基因

編號	姓名	基因	基因型	家屬	基因型	聽力狀況
180	XX	Cx26 基因	235delC/299-300delAT Frameshift	父	未檢驗	正常
				母	299-300delAT/wt	正常

中山醫學大學 生命科學系遺傳室

地址：台中市南區 40203 建國北路一段 110 號

電話：(04)24730022 ext 1809 (04)24757412

蕭小姐您好：

93年5月26日您至本院遺傳諮詢門診進行聽障基因檢驗結果諮詢，當天我們進行了大約1小時的討論，雖然當時您表示對於檢驗結果已大致瞭解，但我想應再就當天所討論的結果再給您一個較簡要的書面說明，或許未來對您及陳諺會有一些幫助。

這份報告(已先交由您簽名帶回，請妥善保存)是針對Cx基因族所做的檢驗結果，Cx基因族—包括Cx26、Cx43、Cx30、Cx31、Cx32及Cx30.3、Cx29，目前完成之基因檢測包括Cx26、Cx43、Cx30、Cx31、Cx32及Cx30.3之基因篩檢，Cx29基因篩檢仍進行中，若有其他發現會再通知您回院諮詢。陳諺的基因突變點是位於Cx26上，此基因突變影響耳蝸內離子的恆定性，因而造成聽力障礙。

除了報告結果的資料外，我了解到您對XX的學習、人際關係交往能力、發展與教養的情形非常關心與用心，適時協助她成長，很慶幸XX有一個這麼愛她的媽媽，她真是一個幸福的孩子。當天媽媽也表示很願意將您的經驗提供給其他家長，並幫助他們，此種行為是很值得大家學習的。

目前XX的基因缺失有一部份是確定來自您的遺傳，但另一部分因XX的爸爸並未接受檢驗，因此無法確定是經由遺傳或是基因突變。但提醒您或陳諺未來若有計畫生育時，懷孕前可先針對此突變基因進行配偶雙方之檢驗，可降低由此基因突變所造成的聽障問題。但有一點我必須再三強調，因聽障之遺傳型式相當複雜，目前我們所能提供的只針對Cx基因族，無法同時檢驗其他的突變點，這是目前檢驗之限制。

XX的聽力狀況原則上需要按照醫師的建議，定期追蹤以了解器官的功能。倘若您閱讀後有任何疑問或需要服務之處請惠撥 04-24739595 轉 2203

敬祝

平安

中山醫學大學附設醫院

遺傳諮詢中心護理師陳素珍 敬上

基因篩檢結果

編號	姓名	基因	基因型
THL219	XXX	Cx26 基因	235delC/235delC Frameshift

說明

1. 目前已知許多基因突變會導致聽障，且各基因之致病機轉不盡相同，非常複雜。目前我們集中力量篩檢耳蝸內影響離子濃度恆定性之相關基因：Cx 基因族—包括 Cx26、Cx29、Cx30、Cx30.3、Cx31 及 Cx43。
2. 本報告僅針對上述 Cx26 基因部份進行分析，屬研究性質，其結果僅供醫師臨床參考。
3. 本實驗主要篩檢單一基因突變，因此不能排除患者無合併其他突變之可能性。

中山醫學大學 生命科學系遺傳室

地址：台中市南區 40203 建國北路一段 110 號

電話：(04)24730022 ext 1809 (04)24757412

中山醫學大學附設醫院
遺傳諮詢記錄

一、基本資料：

姓名：XXX 性別：男 出生日期：88年9月21日
 實際年齡：足4歲7月 身高 cm 體重 kg 頭圍 cm
 教育程度：6 1.研究所以上 2.大專 3.高中職 4.初中 5.小學 6.無
 職業： 婚姻狀況： 1.未婚 2.已婚 3.離婚 4.鰥寡
 通訊地址：台中縣大肚鄉
 聯絡電話：公 宅2699xxxx 手機0911-xxxxxx

二、既往病歷：(－)無 (＋)有 (？)不詳

近親通婚 (－) 初生體重 () 母親懷孕史：G2P2A 懷孕週數：
 有無懷孕合併症：窒息 () 黃疸 () 其他 ()
 預防接種：

卡介苗 (＋) B型肝炎 (＋) 白喉、百日咳、破傷風 (＋) 德國麻疹 (＋) 小兒
 麻痺：口服 (＋) 注射 () MMR (＋) 日本腦炎 (＋)

其他曾接種疫苗：

月經：初潮 最終月經 規則性 期間 出血量 經痛

嗜好：酒 (量： /天，共 年) 煙 (量： 支/天，共 年)
檳榔 (量： /天，共 年) 藥物 ()

既往疾病：

麻疹 () 白喉 () 百日咳 () 瘧疾 () 傷寒 () 結核 ()
 阿米巴痢疾 () 風濕熱 () 關節炎 () 哮喘 () 藥物過敏 ()
 高血壓 () 心臟病 () 糖尿病 () 肝臟病 () 出血傾向 ()
 受傷 () 避孕藥 () 手術 ()

若有其他疾病請詳述於下：

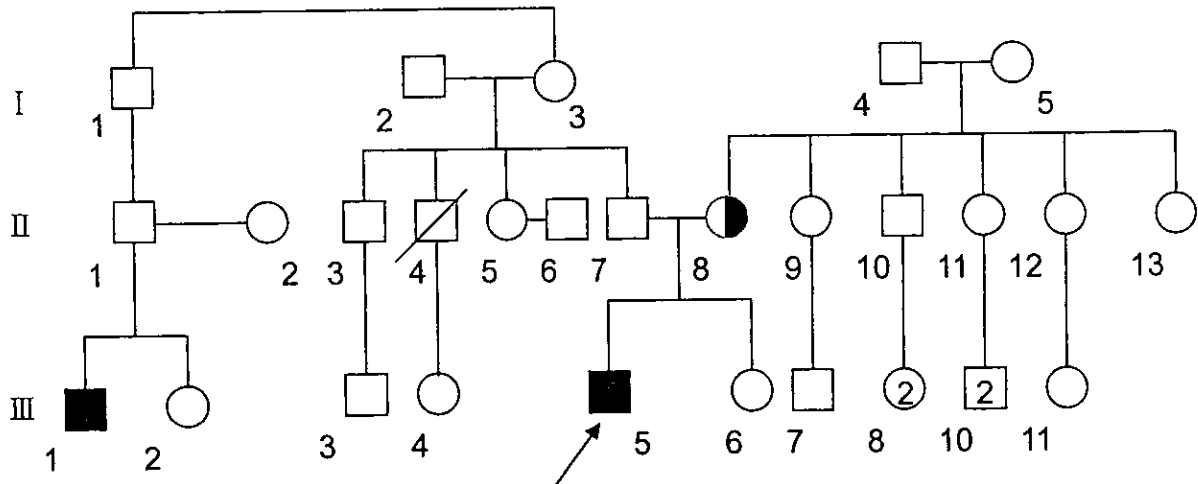
三、家族史：

- 1.家族中有無出生就有下列先天性缺陷疾病個案：兔唇、先天性心臟病、腦性麻痺、代謝異常、顎裂、唐氏症。■無□有 (請註明：)
- 2.家族內有無一歲內死亡的個案。■無□有 (請註明疾病：)
- 3.家族中有無曾經被診斷為習慣性流產的個案。■無□有
- 4.家族中有無智能不足的案例。■無□有
- 5.家族中有無罹患抽搐 (如癲癇、頭部外傷或其他) 的個案 ■無□有
- 6.家族中有無生長發展異常的個案。■無□有
- 7.家族中有無精神異常的個案。■無□有

四、家族史

稱謂	姓名	生日	疾病史	存/歿	死亡年齡	死因	備註
父	XXX	53年次					
母	XXX	60年次					93/5/3 血已抽

※家族圖譜 (Pedigree)



III-1：母親懷孕2個月左右感染Rubella，patients有聽障和輕微學習障礙

III-4：B肝carrier

III-5：右耳100分貝，左耳88-90分貝，配戴助聽器

II-13：未婚

五、主訴

病人於一歲六個月左右因語言發展遲緩，家屬經介紹至台中榮總進行遲緩兒評估，聽力檢查後發現有聽障情形，之後家屬又至台大醫院求診，耳鼻喉科醫師建議應配戴助聽器。此次因配合聽障基因篩檢而來院看報告，並進行諮詢。病人目前聽力狀況右耳 100 分貝，左耳 88-90 分貝。

六、診斷

Cx26 235delC/ 235delC

七、遺傳諮詢內容：

- 1.告知此次基因篩檢之主要目的，給予聽覺障礙及其發生原因衛教單。
- 2.解釋聽障之可能造成原因。
- 3.解釋目前聽障基因之檢驗結果。
- 4.告知目前本計劃之進度，及其餘篩檢仍持續進行中，若有進一步結果會再連絡病人回院看報告。
- 5.告知本報告結果無法排除病人是否有其餘異常之可能性。
- 6.告知家族中若有家屬想針對此突變點進行檢測，可與本中心連絡檢驗之相關事宜。
- 7.告知遺傳諮詢中心之連絡方式、諮詢時間及負責人。

諮詢者：蘇本華/ 陳素珍

日期：93年5月6日

中山醫學大學 生命科學系

家屬基因篩檢結果

Cx26 基因

編號	姓名	基因	基因型	家屬	基因型	聽力狀況
THL219	XXX	Cx26 基因	235delC/235delC Frameshift	父	未檢驗	正常
				母	235delC/wt	正常

中山醫學大學 生命科學系遺傳室

地址：台中市南區 40203 建國北路一段 110 號

電話：(04)24730022 ext 1809 (04)24757412

基因篩檢結果

編號	姓名	基因	基因型
154	XXX	Cx26 基因	235delC/WT Frameshift

說明

1. 目前已知許多基因突變會導致聽障，且各基因之致病機轉不盡相同，非常複雜。目前我們集中力量篩檢耳蝸內影響離子濃度恆定性之相關基因：Cx 基因族—包括 Cx26、Cx29、Cx30、Cx30.3、Cx31 及 Cx43。
2. 本報告僅針對上述 Cx26 基因部份進行分析，屬研究性質，其結果僅供醫師臨床參考。
3. 本實驗主要篩檢單一基因突變，因此不能排除患者無合併其他突變之可能性。

中山醫學大學 生命科學系遺傳室

地址：台中市南區 40203 建國北路一段 110 號

電話：(04)24730022 ext 1809 (04)24757412

中山醫學大學附設醫院
遺傳諮詢記錄

一、基本資料：

姓名：XXX 性別：男 出生日期：88年5月24日
 實際年齡：足 歲 月 身高 cm 體重 kg 頭圍 cm
 教育程度： 1.研究所以上 2.大專 3.高中職 4.初中 5.小學 6.無
 職業： 婚姻狀況： 1.未婚 2.已婚 3.離婚 4.鰥寡
 通訊地址：台中市西區
 聯絡電話：公 宅04-2372XXXX 手機

二、既往病歷：(－)無 (＋)有 (?)不詳

近親通婚 () 初生體重 () 懷孕史：G2P3A0 懷孕週數：37

有無懷孕合併症：窒息 () 黃疸 () 其他(住保溫箱45天)

預防接種：

卡介苗 () B型肝炎 () 白喉、百日咳、破傷風 () 德國麻疹 () 小兒麻痺：
 口服 () 注射 () MMR () 日本腦炎 ()

其他曾接種疫苗：

月經：初潮 最終月經 規則性 期間 出血量 經痛

嗜好：酒 (量： /天，共 年) 煙 (量： 支/天，共 年)

檳榔 (量： /天，共 年) 藥物 ()

既往疾病：

麻疹 () 白喉 () 百日咳 () 瘧疾 () 傷寒 () 結核 ()

阿米巴痢疾 () 風濕熱 () 關節炎 () 哮喘 () 藥物過敏 ()

高血壓 () 心臟病 () 糖尿病 () 肝臟病 () 出血傾向 ()

受傷 () 避孕藥 () 手術 ()

若有其他疾病請詳述於下：

曾因臍部疝氣手術

三、家族史：

1.家族中有無出生就有下列先天性缺陷疾病個案：兔唇、先天性心臟病、腦性麻痺、代謝異常、顎裂、唐氏症。■無□有(請註明：)

2.家族內有無一歲內死亡的個案。■無□有(請註明疾病：)

3.家族中有無曾經被診斷為習慣性流產的個案。■無□有

4.家族中有無智能不足的案例。■無□有

5.家族中有無罹患抽搐(如癲癇、頭部外傷或其他)的個案■無□有

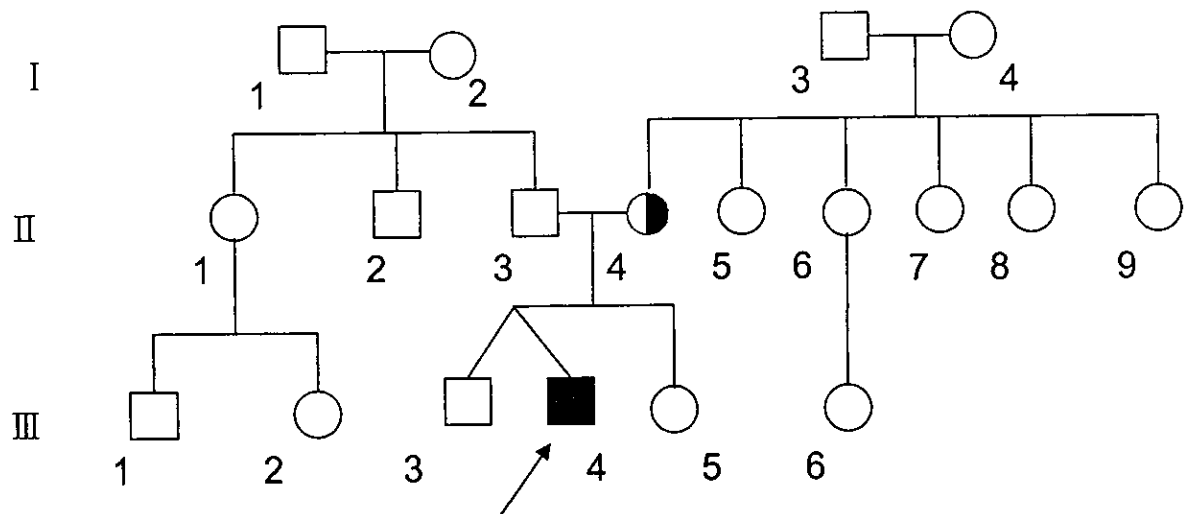
6.家族中有無生長發展異常的個案。■無□有

7.家族中有無精神異常的個案。■無□有

四、家族史

稱謂	姓名	生日	疾病史	存/歿	死亡年齡	死因	備註
父	XXX						
母	XXX						

※ 家族圖譜 (Pedigree)



五、主訴

據家屬主訴個案父母因婚後三年皆無法受孕，而至不孕症門診求診，進行治療後懷孕，案母於懷孕 28 週即因出血安胎至 37 週產下一對雙胞胎男嬰，個案為雙胞胎老二，出生狀況可，曾於保溫箱中觀察治療，一歲左右發現有發展遲緩狀況，至台中榮總求診，發現聽力異常（中度）並合併多重發展障礙，目前進行復健治療中（職能、物理、語言）今來院進行遺傳諮詢，想瞭解個案之聽障基因篩檢結果。

六、診斷

Cx26 235delC / WT

七、遺傳諮詢內容：

- 1.告知此次基因篩檢之主要目的，給予聽覺障礙及其發生原因衛教單。
- 2.解釋聽障之可能造成原因。
- 3.解釋目前聽障基因之檢驗結果。
- 4.告知目前本計劃之進度，及其餘篩檢仍持續進行中，若有進一步結果會再連絡病人回院看報告。
- 5.告知本報告結果無法排除病人是否有其餘異常之可能性。
- 6.告知家族中若有家屬想針對此突變點進行檢測，可與本中心連絡檢驗之相關事宜。
- 7.告知遺傳諮詢中心之連絡方式、諮詢時間及負責人。

諮詢者：蘇本華/ 陳素珍

日期： 93 年 7 月 1 日

中山醫學大學 生命科學系

家屬基因篩檢結果

編號	姓名	基因	基因型	家屬	基因型	聽力狀況
THL154	XXX	Cx26 基因	235delC/WT Frameshift	父	WT	正常
				母	235delC/wt	正常

中山醫學大學 生命科學系遺傳室

地址：台中市南區 40203 建國北路一段 110 號

電話：(04)24730022 ext 1809 (04)24757412

基因篩檢結果

編號	姓名	基因	基因型
THL012	XXX	Cx30.3 基因	507C→G/507C→G C169W

說明

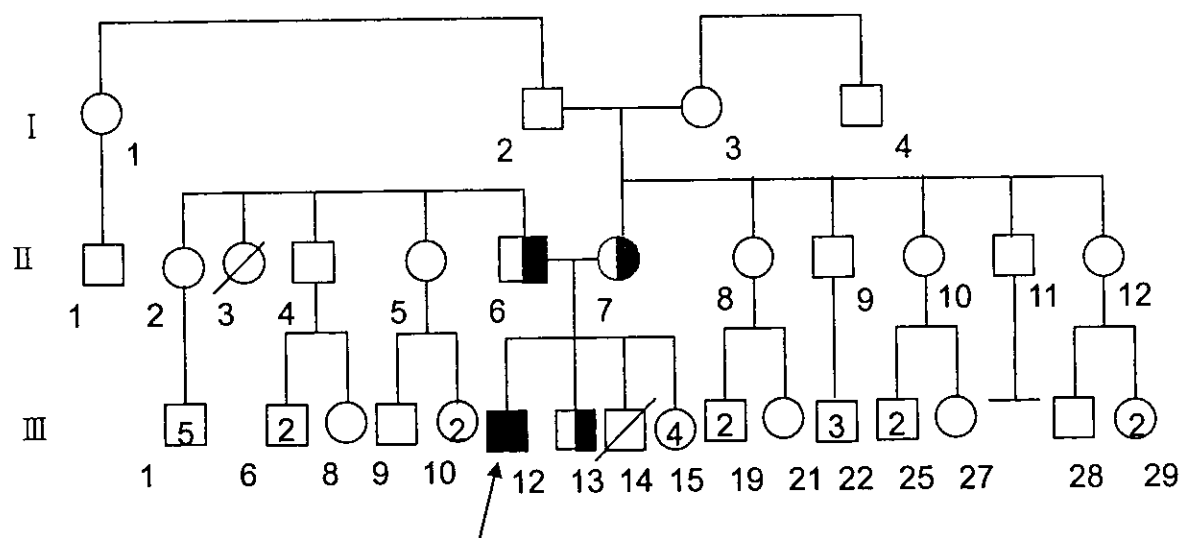
1. 目前已知許多基因突變會導致聽障，且各基因之致病機轉不盡相同，非常複雜。目前我們集中力量篩檢耳蝸內影響離子濃度恆定性之相關基因：Cx 基因族—包括 Cx26、Cx29、Cx30、Cx30.3、Cx31 及 Cx43。
2. 本報告僅針對上述 Cx30.3 基因部份進行分析，屬研究性質，其結果僅供醫師臨床參考。
3. 本實驗主要篩檢單一基因突變，因此不能排除患者無合併其他突變之可能性。

中山醫學大學 生命科學系遺傳室

地址：台中市南區 40203 建國北路一段 110 號

電話：(04)24730022 ext 1809 (04)24757412

※家族圖譜 (Pedigree)



III-12：重度聽障

III-13：在啓聰學校，表達能力欠佳

II-1：啞巴

五、主訴

據家屬主訴，因接獲通知而來院看個案之基因篩檢報告。

六、診斷

Cx30.3 507C→G/507C→G

七、遺傳諮詢內容：

- 1.告知此次基因篩檢之主要目的，給予聽覺障礙及其發生原因衛教單。
- 2.解釋聽障之可能造成原因。
- 3.解釋目前聽障基因之檢驗結果。
- 4.告知目前本計劃之進度，及其餘篩檢仍持續進行中，若有進一步結果會再連絡病人回院看報告。
- 5.告知本報告結果無法排除病人是否有其餘異常之可能性。
- 6.告知家族中若有家屬想針對此突變點進行檢測，可與本中心連絡檢驗之相關事宜。
- 7.今安排父母親抽血，進行相關之DNA檢驗。
- 8.告知遺傳諮詢中心之連絡方式、諮詢時間及負責人。

諮詢者：蘇本華 / 陳素珍

諮詢日期：93年6月28日

中山醫學大學 生命科學系

家屬基因篩檢結果

編號	姓名	基因	基因型	家屬	基因型	聽力狀況
THL012	XXX	Cx30.3 基因	507C→G/507C→G C169W	父	507C→ G/WT	正常
				母	507C→ G/WT	正常

中山醫學大學 生命科學系遺傳室

地址：台中市南區 40203 建國北路一段 110 號

電話：(04)24730022 ext 1809 (04)24757412

附件七

學習語言前非症候群感音神經聽障患者
之基因檢查與遺傳諮詢手冊

**Mutation detection of prelingual sensori-neural non-syndromic hearing loss
and genetic counseling**

摘要

聽障對於個人所造成的影響，首先在於其嚴重程度，其次在於其發病年齡。假若是嚴重且發生於兒童早期，它的傷害包括個人的語言學習、認知及身心社會的發展；若是屬於晚發且嚴重之型態，則會影響個人的生活品質，甚至導致社交隔離 (social isolation) 的發生。而遺傳諮詢的基礎需要建立於正確的臨床診斷，如此才能提供個案更有效而正確的處置與預防方法。

從母體懷孕、生產到孩子的成長過程甚至到老年，聽障可能隨時發生，可能的發生原因有遺傳基因突變或環境因素，或兩者兼之引起的。根據文獻上之統計資料顯示：約有 1/1000 嬰兒再出生時或在小孩早期（即學習語言前時期 prelingual period）罹患重度聽障 (severe or profound)，在已開發國家約有 60% 個案是遺傳因素 (Marazita 等 1993) 而學習語言前時期聽障是由許多單基因突變所造成的，發病機轉亦非常的複雜。其中最為常見的是一種隱性基因 *Cx26* 異常，所佔比例最高，*Cx26* 基因目前至少有數種突變包括誤意突變 (missense mutation)、無意義突變 (nonsense mutation)、缺失突變 (deletion mutation)、插入突變 (insertion mutation) 及取代型突變 (nucleotide substitution [splicing]) 等。以我們的研究結果顯示，目前台灣最常見為 235delC。其他與此相關之基因尚包括 *Cx30*、*Cx31*、*Cx29*、*Cx30.3* 及 *Cx43* 等，瞭解這些基因在學習語言前感音神經聽障所佔之比例，可提供患者及其家屬遺傳諮詢之根據，本實驗室已完成台灣地區上述六個 *Cx* 基因的多型性和突變的資料庫，將可針對學習語言前時期聽障患者進行 *Cx* 基因族之基因篩檢並提供給臨床醫師和遺傳諮詢師參考。

聽力障礙之發生原因

聽障可因遺傳基因突變或環境因素，或兩者兼之引起的，環境因子主要是腦膜炎 (meningitis)、腮腺炎 (mumps)、週產併發症 (perinatal complications)、母子感染 (materofetal infection)【如：毒漿體 (toxoplasma)、德國麻疹 (rubella) 和巨細胞病毒 (cytomegalovirus) 感染】、聽覺創傷 (acoustic trauma) 及耳毒藥品 (ototoxic drug)。約有 1/1000 嬰兒再出生時或在小孩早期 (即學習語言前時期 prelingual period) 罹患重度聽障 (severe or profound)，在已開發國家約有 60% 個案是遺傳因素 (Marazita 等 1993)。另有 1/1000 到成年前聽障，此型較不嚴重且為漸進性，遺傳因素佔多少比例仍未清楚。另外為晚發型 (late onset)，聽力損失大於 65 分貝 (dBHL)，年齡 30~50 歲間佔全人之 0.3%，而 60~70 歲約佔 2.3%，一般認為此類型是遺傳與環境因素之共同作用而產生 (Kalatzis 和 Petit, 1998)。聽障依數個標準來分類，如耳朵缺陷種類、優耳聽障程度、發病年齡與其他症狀有否關聯等來分類，在遺傳學上常以是否與其他症候群有關聯來區分為兩大類：

一、症候群聽障 (syndromic hearing loss)

依估計學習語言前聽障 (prelingual deafness) 30% 是屬於此類，有數十種症候群涉及，除聽障外尚有各種異常 (如眼睛、肌肉、骨骼、腎臟、神經和色素的異常)，此型有許多型之遺傳方式，包含源自粒線體突變的母系遺傳。

二、非症候群聽障 (nonsyndromic hearing loss)

此型僅有聽障而沒有其他症候群出現佔 70%，DFN 表示性聯遺傳，DFNA 表示體染色體顯性遺傳 (autosomal dominant form)，DFNB 表示體染色體隱性遺傳 (autosomal recessive form)，在學習語言前聽障 (prelingual deafness) 中 DFNB 佔 77% 的個案，而 DFNA 佔 22%，DFN 約 1% 為粒線體基因突變 (Kalatzis 和 Petit 1998, Morton 2002)。體染色體隱性遺傳之聽障常是最嚴重的，大部分為先天性重度聽障 (congenital deafness)，幾乎是因耳蝸缺陷 (cochlear defect) 而產生之感音神經 (sensorineural) 聽障，而語言學習後聽障 (postlingual deafness) 由許多家族譜 (pedigrees) 判斷可能為體染色體顯性遺傳或因粒線體基因突變之母系遺傳，隱性遺傳非常稀少，主要也是感音神經缺陷的且常為漸進性 (progressive)。在晚發型 (late-onset form)，耳硬化為聽障最普遍之原因 (約佔成人族群 0.2~1%)。

過去幾年，非症候群聽障 (nonsyndromic hearing loss, NSHL) 的基因座 (loci) 被定位 (mapped) 及聽障基因 (deafness genes) 的選殖 (cloning) 有顯著的進展。至今，非症候群聽障的基因座 (loci) 有七十七個。四十個體染色體顯性 (Autosomal dominant)，三十個體染色體隱性 (Autosomal recessive) 和七個 X-linked (Hereditary hearing homepage) 而有 59 個聽障基因已被鑑定出：17 個為體染色體顯性，14 個為體染色體隱性，1 個性聯遺傳，6 個粒線體基因和至少 33 個症候群聽障基因 (Morton 2002, Naz 等.,

2002)。

由於耳蝸是一種非常精緻的器官，包含數十種細胞及正常聽力所需的特化區域。在涉及聽覺的基因中，有許多基因所編碼的蛋白質 (encoded protein) 會在耳蝸中表現 (Figure 1)，而在耳蝸內的許多聽障基因主要會影響離子的恆定性 (ionic homeostasis)。毛細胞之上半部表面浸在內淋巴液 (endolymph) 具有高濃度 K^+ 和低濃度 Na^+ ，在老鼠是維持正靜止電位的 +100mv，此種高靜止電位是正常毛細胞功能所需，因為當此靜止電位減少至零，會造成耳聾 (Steel et al., 1987)。柯蒂氏器 (organ of Corti) 包括感音毛細胞和支持細胞 (supporting cells) 座落於較有通透性的基膜 (basilar membrane) 上，在此基膜下面為內含 perilymph 之管道，具有高 Na^+ 及低 K^+ 濃度，很像正常的細胞外液 (extracellular fluid)。在柯蒂氏器內，內毛細胞 (inner hair cells) 的基側膜 (basolateral membrane) 為支持細胞所包圍，但外毛細胞 (outer hair cell) 則暴露於 Cortilymph， K^+ 離子濃度，略高於 perilymph 內之 K^+ 離子濃度，當大的聲音 (loud sound) 傳到毛細胞，Cortilymph 內之 K^+ 濃度會累積，其他圍繞在內毛細胞之外細胞液也有較高之 K^+ 濃度。毛細胞的特殊離子環境對其功能是非常重要的，因為影響內淋巴液 (endolymph) 之離子濃度的基因突變會導致聽障。

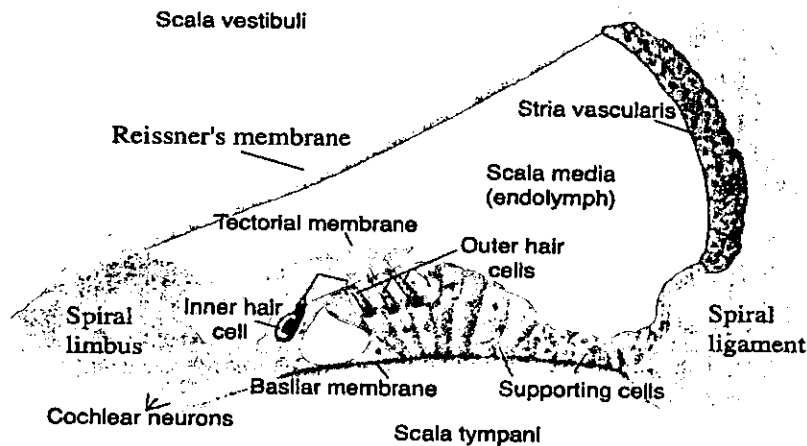


Figure 1 Cross section of the cochlear duct, showing the major regions found within the cochlea. Selected genes and the regions in which they are expressed are as follows: endolymphatic duct: *PDS*; hair cells: *DIAPH1*, *POU4F3*, *MYO6*, *MYO7A*, *MYO15*, *KCNQ4*, *OTOF*, *USH1C*, *MYH9*, *CDH23*, and *CLDN14*; extracellular matrix: *USH2A*; Reissner's membrane: *MYH9* and *CDH23*; spiral ligament: *COCH*, *MYH9*, and *NDP*; spiral limbus: *COCH*, *GJB2*, *GJB3*, *GJB6*, and *ATP6B1* (interdental cells); stria vascularis: *NDP*, *KCNE1* (marginal cells), and *KVLQT1* (marginal cells); supporting cells: *GJB2*, *GJB3*, and *GJB6*; and tectorial membrane: *TECTA*.

(From Resendes BL, Williamson RE, and Morton CC (2001) At the Speed of Sound: Gene Discovery in the Auditory System. *Am. J. Hum. Genet.* 69:923-935)

我們已知 K^+ 泵進入 (pumped into) 內淋巴液並不是來自 stria vascularis 之血液供應 (Konishetal 1978, Wada et al., 1979)。有學者認為 K^+ 離子可能是在耳蝸管 (Cochlear duct) 之再循環 (recycling) (Kikuch et al., 1995, Spicer & Schulte 1998)。 K^+ 離開毛細胞會被柯蒂氏器之支持細胞攝取，運回 stria vascularis，再泵回 (pump back) 內淋巴液。 K^+ 再循環 (recycling) 有幾條路徑。(1) 側面途徑 (lateral route)：經由支持細胞間的網狀 gap junction 流到 spiral ligament 的 fibrocyte，再回到 stria vascularis (Kikuchi et al, 1995)，(2) 在內淋巴液部位的上下經由 perilymph 到達 spiral ligament，然後再到 stria vascularis (Schulte & Steel 1994)，(3) 利用中間支持細胞 (medial supporting cell)，spiral limbus fibrocyte 及 interdental cell 間的 gap junction 而在 interdental cell 膜上 Na-K-ATPase pumps 泵出，進入 endolymph (Kikuchi et al., 1995, Spicer & Schulte 1998, Schulte & Steel 1994) (Figure 2)。

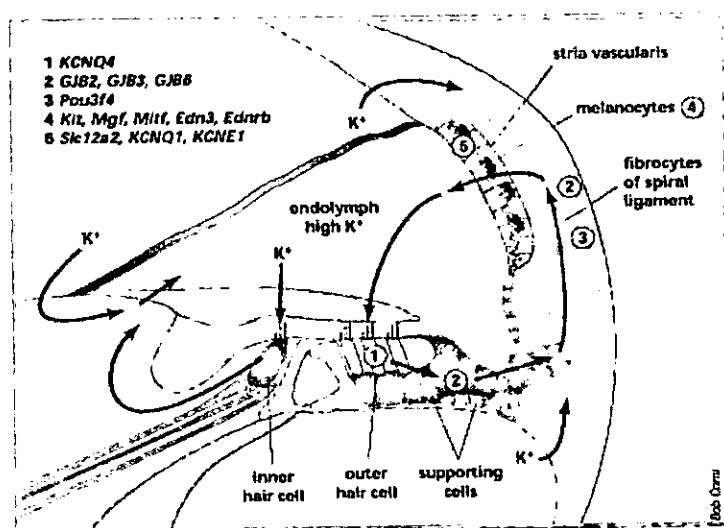


Fig. 2 Illustration of cochlear duct showing the proposed lateral (right) and medial (left) K^+ ion recycling pathways from the sensory hair cells within the organ of Corti back to the endolymph.

(From Steel K P. and Kros CJ (2001) A genetic approach to understanding auditory function. *Nature Genet* 27: 143-149)

因此在聽覺中耳蝸的功能扮演十分重要的角色，而在耳蝸內的許多聽障基因主要會影響離子的恒定性 (ionic homeostasis)。如 *connexin* (*Cx*) 基因族--- *connexin 26* (*Cx26*)、*connexin 30* (*Cx30*)、*connexin 31* (*Cx31*)、*connexin 29* (*Cx29*)、*connexin 30.3* (*Cx30.3*) 及 *connexin 43* (*Cx43*) 等。各種 *Cx* 基因表現出來的蛋白稱為 *Cx* 蛋白是形成 Gap junction 的最小組成單位。目前在哺乳類動物中已知有 20 種 *Cx* 蛋白 (Bruzzone 等 1996)，在人類的 *Cx* 蛋白可依據其核苷酸和胺基酸序列的相似性區分為 α 、 β 和 γ 三種次群體

(subgroups)。Gap junction 是細胞與鄰近細胞間的通道，其功能在於運送細胞間的離子(ions)、代謝物(metabolite)及第二訊息物(second messengers)—例如：cyclic AMP、inositol (Dermietzel and Spray, 1993；White and Bruzzone, 1996；Kumar 等 1996)。Gap junction 是由 Cx 蛋白經一連串的組合過程(assembly processes)而形成 (Bruzzone 等 1996)，connexin 在內質網(endoplasmic reticulum)被製造並被完成正確折疊(folding)並經由聚合過程(oligomerizing)將六個 connexin 次單位(subunits)聚合成半通道(half channel)，稱之 connexon，將完成組合的 connexon 插入內質網膜上，再與鈣離子結合蛋白(calcium-binding protein)結合運送至高基氏體(Golgi body)後繼續被運送至細胞膜上(plasma membrane)排列，且與鄰近細胞的 connexons 直線排列成一完整細胞間之通道(intercellular channel)。在內耳感覺神經上皮上，gap junction 在聽覺的傳導上將扮演一個重要角色，幫助 K⁺從毛細胞(hair cell)回到耳蝸內淋巴系統(cochlear endolymph)的再循環。(Kikuchi, et al., 1995)，故若是 gap junction 蛋白質的基因產生突變對聽力的敏感度具有重要的影響。在形成 gap junction 的大部分細胞中常表現出不只一種 Cx 蛋白，因此在細胞內可能會形成具有不同生理功能的 gap junction (Kumar, et al., 1996)，另外在形成 connexon 時有可能是由相同的(homomeric)或不同的(heteromeric)Cx 蛋白所組成，且在相鄰兩細胞的 connexon 的結合形成 gap junction 也有可能是同質性(homotypic junction)或異質性(heterotypic junction)的 connexon 所組成(Falk M.M. 2000a,b)。到目前為止大部分的研究發現正常只有單一次群的 Cx 會彼此互相結合形成 gap junction，不同的次群並不會互相結合，就是說 α 次群只會和 α 次群結合， β 次群只會和 β 次群結合。在最近幾年在老鼠或人類內耳的研究也證明了 Cx26 通常和 Cx30 都會共同表現在相同區域且會形成 heteromeric connexon 並造成彼此的影響 (Lautermann, et al., 1998；Forge, et al., 2002；Marziano, et al., 2003)。

依據文獻的探討，可得知先天性聽障大多是語言學習前感音神經性聽障，而 Cx 基因族[*connexin 26 (Cx26)*、*connexin 30 (Cx30)*、*connexin 31 (Cx31)*、*connexin 29 (Cx29)*、*connexin 30.3 (Cx30.3)*及 *connexin 43 (Cx43)*] 突變在其中扮演重要角色。在過去幾年本實驗室已針對學習語言前非症候群感音神經聽障患者為研究對象。樣本來自(1)聽力正常的人 120 位(2) 台中啟聰學校聽障學童約有 250 名，先由耳鼻喉科醫師進行聽力鑑定及相關檢查排除環境及症候群因素後再進行基因篩檢。到目前為止本實驗室的研究已建立台灣地區語言學習前非症候群聽障孩童的 Cx 基因族(Cx26、Cx43、Cx30、Cx31、Cx29、Cx30.3)多型性的資料庫，另外在聽障病人中整個 Cx 基因族(Cx26、Cx43、Cx30、Cx31、Cx29、Cx30.3)的研究到目前為止合計約有 25%的聽障患者在這些基因有突變的發生，由這些結果可知在台灣地區語言學習前非症候群聽障患者中 Cx 基因族的突變亦扮演重要的角色。

臨床遺傳諮詢及分子檢驗流程

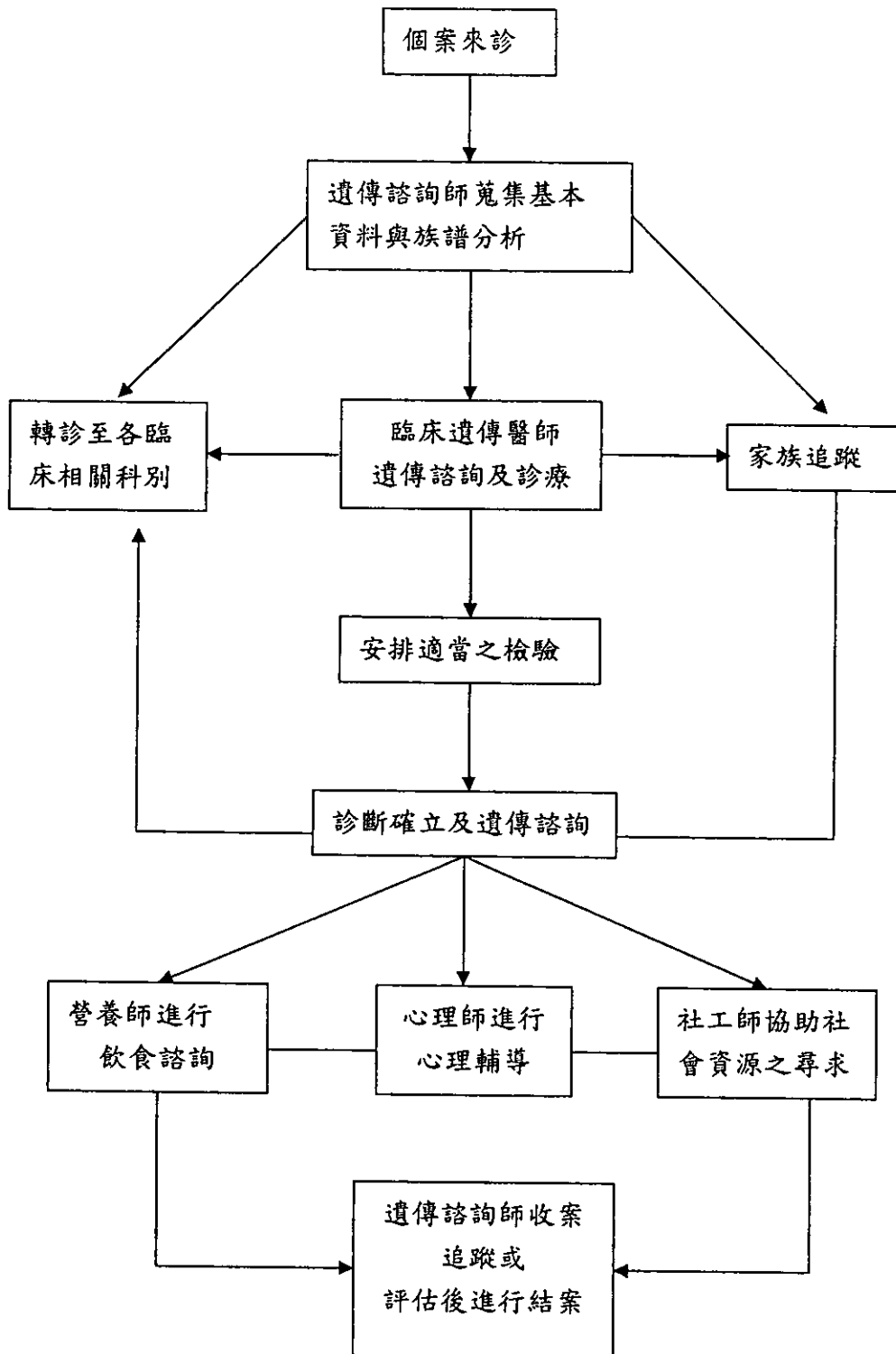
遺傳性聽障為人類疾患之一，其診斷與治療須配合遺傳諮詢團隊成員之共同合作才能提供個案最完整的諮詢服務，而團隊成員必須包括：遺傳諮詢醫師、耳鼻喉科醫師、聽力師、小兒眼科、小兒心臟科、小兒心智科醫師、遺傳諮詢師、心理師和社工師共同合作才能完成最完整之評估。個案來診經臨床的初步診斷，再配合分子生物遺傳學診斷、細胞遺傳學診斷及其他相關之檢驗醫學以確立正確臨床診斷。診斷確立後再完善之治療及遺傳諮詢服務，可積極提昇預防醫學之重要角色。

針對此問題，目前主要的服務對象為學習語言前非症候群感音神經聽障之個案，經臨床評估確定為此類個案者，於進行基因檢測前需提供充分之遺傳諮詢，告知部分需包含檢驗之過程及目前遺傳檢驗之發展與限制，並考量相關之倫理問題（以保護個案之利益與不傷害為最高指導原則），經諮詢後若患者及家屬同意進行相關基因檢測者，給予填寫篩檢同意書再進行抽血進行基因檢查。個案之診斷確立後，再次提供完整之遺傳諮詢，內容需包括相關之疾病病程發展、治療及預後，與相關醫療資源之轉介。希望能達到預防及早期發現、早期治療之目的，讓個案與家人能有更好的生活品質，也讓聽障之個案能有最佳的發展。

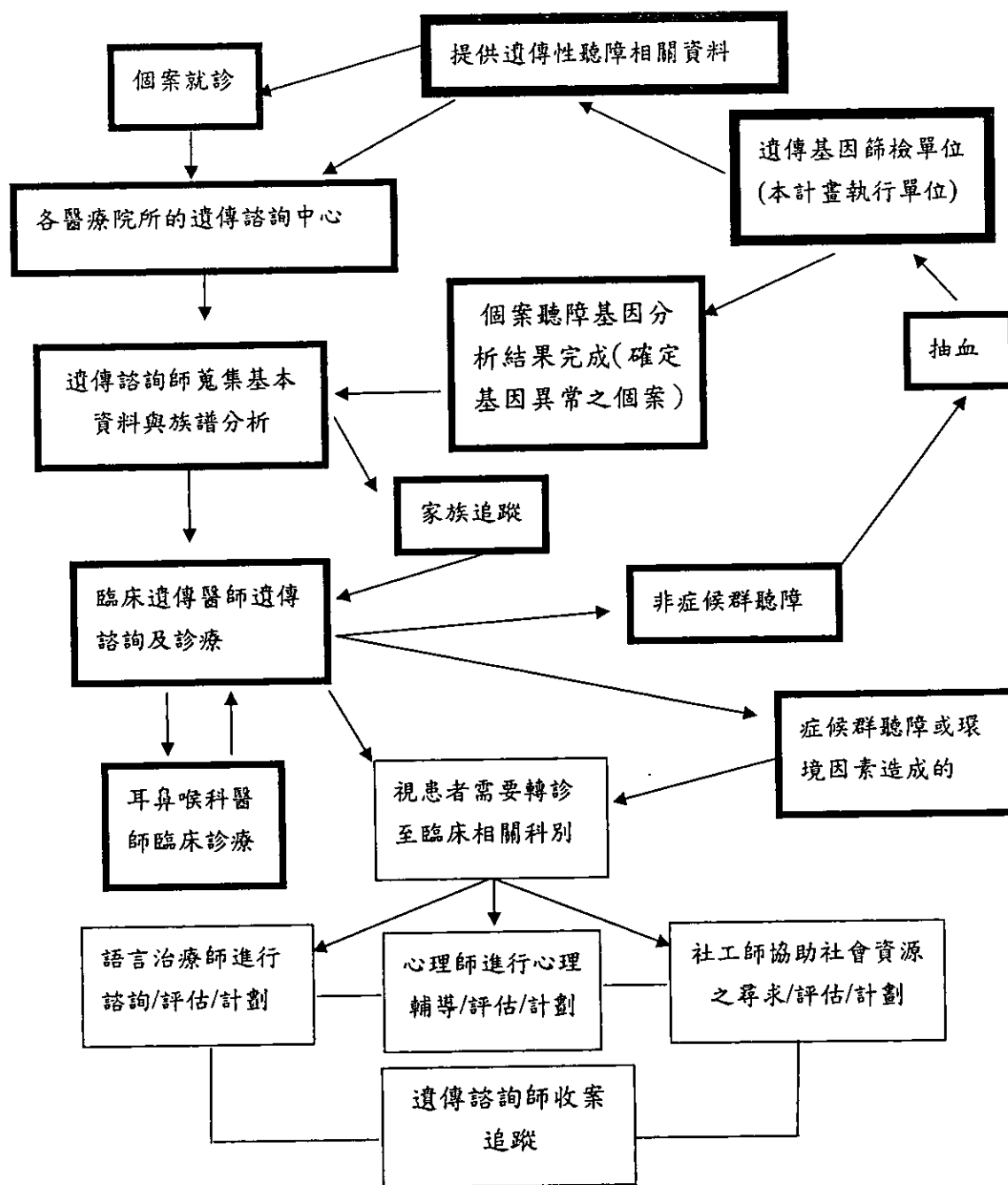
遺傳諮詢流程

1. 首先需先建立完整的醫療、家族性遺傳疾病及族譜分析：病史詢問應詳細，包括從母體懷孕、個案出生時及出生後之詳細病史，有無特殊感染，家族成員中其他成員之病史，特別是聽力、耳部之疾病。另外，與一些症候群性的病史亦要仔細蒐集，例如有無合併腎臟病、甲狀腺疾病或神經系統腫瘤等等。一般至少必須蒐集三代之族譜。
2. 診斷性的身體檢查：耳鼻喉科檢查是當然重點，其各相關科別如眼科、小兒心智科、小兒心臟科等等，為排除個案為症候群個案或環境因素引起之聽障。
3. 安排相關檢驗確立診斷，如分子遺傳檢驗及其他需要之相關檢驗。
4. 約診進行遺傳諮詢，評估與討論可能的遺傳因素和遺傳模式。
5. 依病人需要轉介復健治療。
6. 依病人需要轉介社工師，協助相關福利資源之運用。

中山醫學大學附設醫院
遺傳諮詢中心遺傳諮詢、檢查、治療及追蹤流程表



各醫療院所遺傳諮詢中心
聽障基因篩檢及遺傳諮詢建議流程圖



結論

二十一世紀初人類完成了基因圖譜的定序，讓整個生物醫學著實向前邁進了一大步，隨之而來的是各類基因檢驗與基因治療的發展，這些發展已無時無刻的影響著每個人。於遺傳門診中，有時會遇到求診個案，直接要求進行基因檢查，但其實很多人對其只是一知半解，甚至是誤解。也因此，民眾對基因檢測抱著過高期望，相關檢測後若無良好之諮詢，受測者不瞭解基因檢測之意義與限制，往往會引起醫病之間一些不必要的誤會與糾紛，因此在安排個案進行基因檢測之同時應詳盡告知之義務，讓個案及家屬能明白遺傳目前的遺傳檢仍有其限制，結果完成後遺傳諮詢應更加謹慎與完整，以確保病患及家屬的權益。

參考文獻

- Bruzzone R, White TW, and Paul DL, (1996) Connections with connexins the molecular-basis of direct intercellular signalling. *Eur. J. Biochem.* 238:1-27.
- Dermietzel R, Spary DC, (1993) Gap junction in the brain: where, what type, how many, and why? *Trends. Neurosci.* 16:186-192.
- Falk MM. (2000a) Biosynthesis and structural composition of gap junction intercellular membrane channels. *Eur. J. cell Biol.* 79, 564-574
- Falk MM.(2000b) connexin-specific distribution within gap junctions revealed in living cells. *J.cell.sci.* 113, 4109-4120
- Forge A, Becker D, Casalotti S, Edwards J, Marziano N, and Nickel R. (2002) Connexins and gap junctions in the inner ear. *Audiol. Neurootol.* 7, 141-145
- Kalatzis V and Petit C (1998) The fundamental and medical impacts of recent progress in research on hereditary hearing loss. *Hum. Mol. Genet.* 7, 1589-1597
- Kikuchi T, Kimura RS, Paul DL and Adams JC (1995) Gap junctions in the rat cochlea: immunohistochemical and ultrastructural analysis. *Anat Embryol* 191, 101-118
- Konishi T, Harick DE and Walsh PJ (1978) Ion transport in guinea pig cochlea. I. Potassium and sodium transport. *Acta Otolaryngol* 86, 22-34
- Kumar NM, Gilula NB, (1996) The gap junction communication channel. *Cell* 84:381-8.
- Lautermann J, ten Cate WJ, Altenhoff P, Grummer R, Traub O, Frank H, Jahnke K, and winterhager E.(1998) Expression of the gap-junction *connexins 26* and *30* in the rat cochlea. *Cell Tissue Res.* 294,415-420
- Marziano NK, Casalotti SO, Portelli AE, Becker DL, Forge A. (2003) Mutations in the gene for *connexin 26 (GJB2)* that cause hearing loss have a dominant negative effect on *connexin 30*. *Hum Mol Genet.* 12(8):805-812
- Marazita ML, Ploughman LM, Rawling B, Remington E, Amos KS and Nance WE (1993) Genetic epidemiological studies of early-onset deafness in the U.S school-age population. *Am. J. Med. Genet.* 46, 486-491
- Morton CC (2002) Genetics, genomics and gene discovery in the auditory system. *Hum. Mol.*

- Genet. 11, 1229-1240
- Naz S, Giguere CM, Kohrman DC, Mitchem KL, Riazuddin S, Morell RJ, Ramesh A, Srisailpathy S, Deshmukh D, Riazuddin S, Griffith AJ, Friedman TB, Smith RJH and Wilcox ER (2002) Mutations in a novel gene, TMIE, are associated with hearing loss linked to the DFNB6 locus. *Am. J. Hum. Genet.* 71, 632-636
- Schulte BA and Steel KP (1994) Expression of α and β subunit isoforms of Na, K-ATPase in the mouse inner ear and changes with mutations at the W^v or Si^d loci. *Hear. Res.* 78, 65-76
- Spicer SS and Schulte BA (1998) Evidence for a medial K^+ recycling pathway from inner hair cell. *Hear Res.* 118, 1-12
- Steel KP, Barkway C and Bock GR (1987) Strial dysfunction in mice with cochleo-saccular abnormalities. *Hear. Res.* 27, 11-26
- Wada J, Kambayashi J, Marais DC and Thaimann R, (1979) Vascular perfusion of the cochlea: effect of potassium-free and rubidium-substituted media. *Arch Otorhinolaryngol* 225, 79-81
- White TW, Bruzzone R, (1996) Multiple connexin proteins in single intercellular channels: connexin compatibility and function consequences. *J.Bioenerg.Biomembr.* 28:339-350.

學習語言前非症候群感音神經聽障患者

家族遺傳諮詢案例分享

中山醫學大學附設醫院
遺傳諮詢中心 陳素珍

前言

一年半以前，很榮幸有機會能與李教授及蘇主任合作，一起來關心遺傳性聽障患者與家庭，在剛接獲李教授與蘇本華醫師之學習語言前非症候群感音神經聽障者基因篩檢研究之遺傳諮詢工作時甚感惶恐，只怕萬一諮詢不當造成家屬的誤解及傷害，但經過李教授與蘇主任的知識及經驗之傳授，慢慢的一些個案諮詢經驗的累積，現在有些許之諮詢經驗，希望透過這個機會與各位遺傳界先進分享，也希望大家能再給我個人多些建議與指導，期待未來能將聽障之遺傳做得更加的完善。目前篩檢結果以 Cx26 之基因異常最為常見，因此本次案例分享以此為主，主要探討基因篩檢結果與個案之實際臨床表現情形。

案例分享

案例一：THL047

基因篩檢結果：Cx26 235delC/235delC

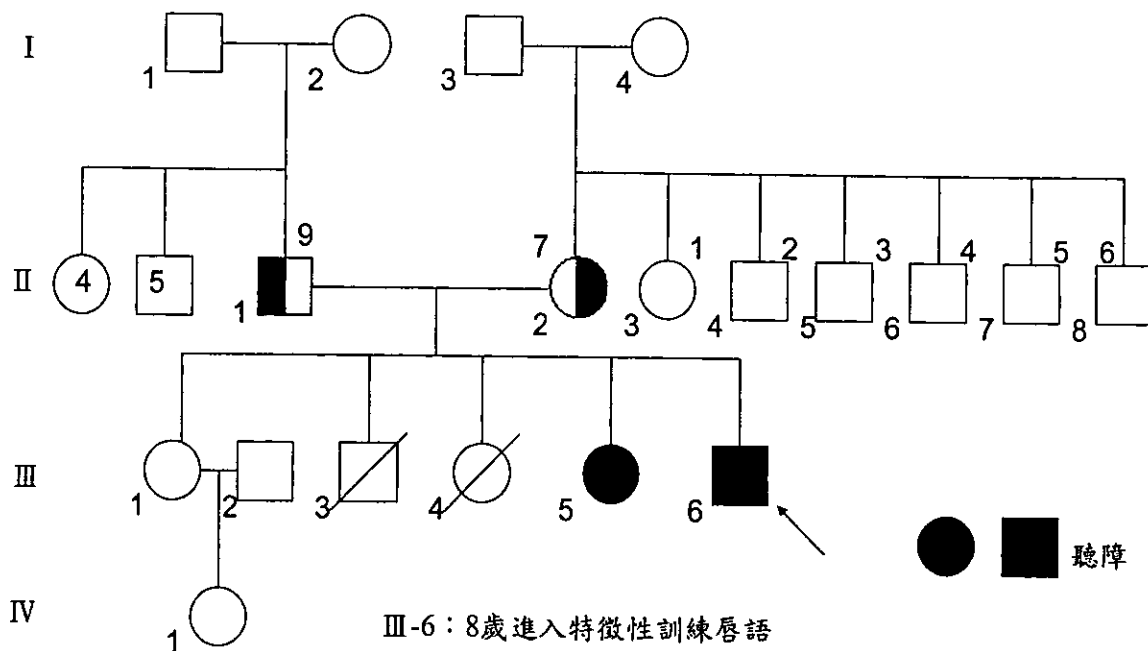
個案簡介及臨床表現：

現年22歲，據母親主訴，在個案小時候即發現其語言發展障礙及聽障問題，當時因醫療資源不足，因此無法瞭解個案究竟是生了什麼病才如此，對於教育部分更不知應如何著手，直至個案八歲時遇到一位特教班的老師，經轉介才至特教班學習，個案平時於學校中的課業很好。個案之三姐亦表示弟弟的功課是全家最好的，若不是他的聽力有問題，功課一定會更好。個案目前已由啟聰學校畢業，現於一家工廠上班，因聽力的問題，目前無升學之打算。現聽力呈現重度聽障，可讀唇語，平時以手語進行溝通，語言發展欠佳。

本個案之三姐於諮詢當日陪同母親及個案前來進行諮詢，因其左耳於國小時聽完全喪失，右耳聽力正常，因此自願參與此次之聽障基因檢驗，其結果亦為Cx26 235delC/235delC。

Cx26 235delC/235delC 於文獻中，患者之臨床表現屬於學習語言前即會造成嚴重之聽力問題，但於本家族所呈現之情況是，相同之遺傳，但所表現的臨床症狀卻明顯不同，顯然遺傳的表現潛在還受到一些未知的因素所影響，此部分於諮詢時應多加注意。

家族譜：



III-6：8歲進入特徵性訓練唇語

III-5：早產28週 2500gm，國小時左耳完全聽力喪失，右耳正常，自願參加聽障基因篩檢 (Cx26 235delC/235delC)

THL 047 (Cx26 235delC/235delC) 家族族譜

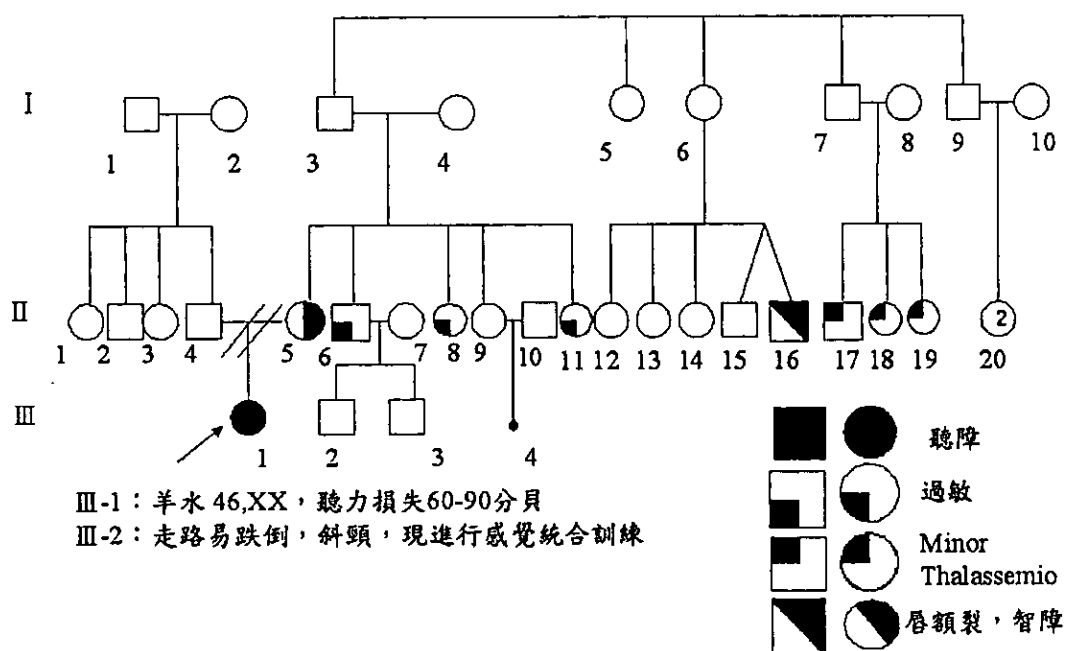
案例二：THL180

基因篩檢結果：Cx26 235delC/299-300del AT

個案之臨床表現：

現8歲，據病患母親主訴，個案於三歲時突然聽力下降至60-70分貝，母親急於想瞭解造成其聽力影響之原因，及未來可能之影響。於93年5月回診進行諮詢時，案母表示，目前個案的聽力仍有逐漸變差的跡象，是她很擔心的部分。但有時又看到個案於練習鋼琴時那種自信的模樣，常會邀請母親當她的聽眾，看她表演，在學校與同學亦相處得不錯，這點是唯一能讓案母覺得較為放心的部分，至少個案不因此於封閉自己。筆者亦提醒母親，孩子的發展與家長的態度有直接的相關，早期發現問題，早期尋求正確之療育，對孩子才是真正有幫助的，個案目前之所以有此正向的發展，其實是母親一點一滴累積的成果。在此想提醒大家的是，在遺傳諮詢之同時，也應適時的提醒與鼓勵家長，讓他們可以看到自己的努力與成果。

本個案為 compound heterozygote 之聽障患者，個案本身之語言發展尚可，表示其聽障發生時間並不像典型的 homozygote 患者，是在學習語言前，由於母親對於其復健部分非常重視與積極，因此個案目前於學習上尚未有太大的困難與自信心不足之狀態，從這裡我們可以看到，除了協助聽障患者找到原因之外，其實最重要的是發現聽障患者之後，早期療育的問題，唯有好的療育才能讓患者有更好的自信與發展。診斷於預防的層面上固然扮演了一個重要的角色，但完整的照顧患者，還必須包括一些相關療育的安排，及資源之協尋，以幫助家屬能更有方向的來處理患童的問題。



THL 180 (Cx26 235delC/299-300 delAT) 家族族譜

例三：THL036

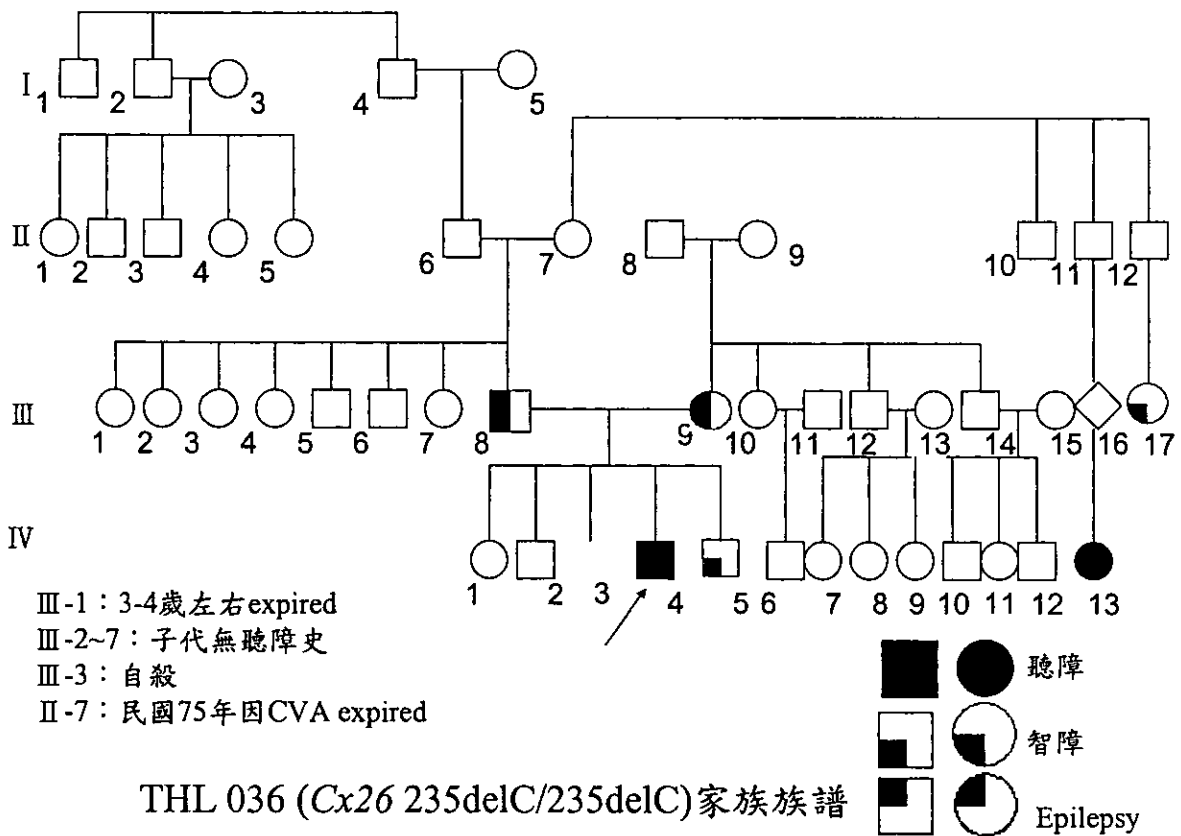
基因篩檢結果，：Cx26 235delC/235delC

個案之臨床表現：

現 16 歲 3 個月，據案父主訴在個案很小時即發現有聽障之問題，目前聽力呈現重度聽障，平時配戴助聽矯正，無語言欠佳，可讀唇語，個案平時不太喜歡戴助聽器（因覺得會影響到自己的外表）。

此個案之父系家族（IV-13）亦有聽障問題，但家屬對於其聽障之實際情形不清楚，只知道有聽障的問題，而本案個之遺傳模式屬 AR，族譜分析結果，此家族尚有其他未知的影響因素存在，因此進行遺傳諮詢時應特別注意提醒。

家族譜：



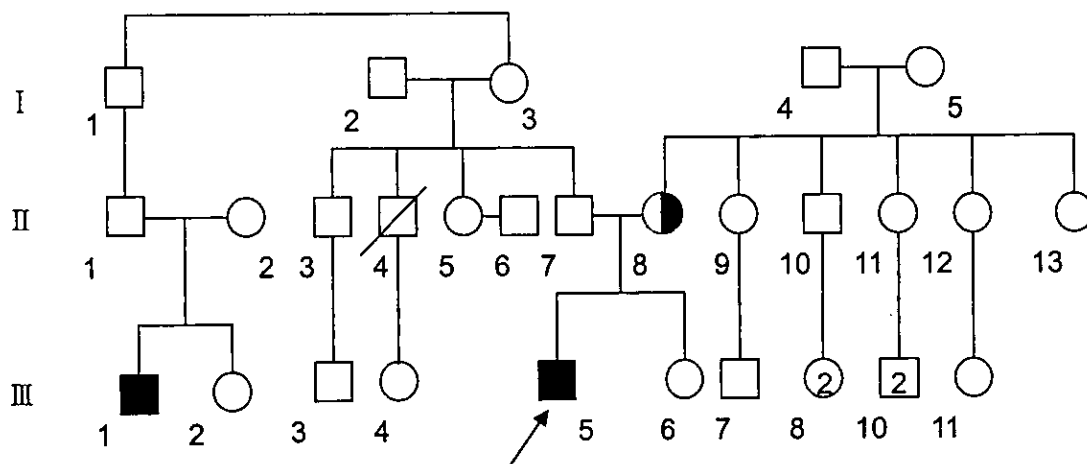
案例四：THL 219

基因篩檢結果：Cx26 235delC/235delC

個案之臨床表現：

現四歲七個月，於一歲六個月左右因語言發展遲緩，經友人介紹之後於中榮進行遲緩兒評估，聽力檢查後發現有異常情形，之後家人又自行轉診至台大求診，耳鼻喉科醫師評估後建議配戴助聽器，此次因配合聽障基因篩檢計畫而來院進行諮詢。個案目前聽力情形為右耳 100 分貝，左耳 80-90 分貝，現以助聽器矯正。

家族譜：



III-1：母親懷孕2個月左右感染Rubella，patients有聽障和輕微學習障礙

III-4：B肝carrier

III-5：右耳聽力損失100分貝，左耳聽力損失88-90分貝，配戴助



THL 219 (Cx26 235delC/235delC)家族族譜

結論

就 Cx26 而言，由於突變位點不同，其呈現之遺傳模式包括了 AD 與 AR。一般若為 AR 之型式對於其聽力之影響是呈現學習語言前（早發）及重度的聽力障礙；而 AD 之型式所呈現的則是屬於晚發及合併有進行性的聽力障礙的變化。目前已有超過 50 種的 Cx26 的突變點被確認，不同的突變點之臨床表現亦出現很多樣性的變化，未來於臨床諮詢時，應於此部分再進行更進一步之觀察。

這一年多來所接觸的家庭雖不算多，但也看到了家屬在接獲通知時的一些情緒反應，有負面，但亦有較為正向的家屬，得知結果之後，雖免不了還是會有罪惡感，但對於正向態度的家屬，得知結果之後會積極的詢問預防之道，有家屬也會主動的提供自己家人相關訊息。此次基因篩檢，筆者看到了無論在帶孩子來諮詢門診之前，父母對孩子的聽力問題瞭解多少，當父母親首次由醫師處得到基因檢查結果時，父母的感覺仍是難受的，諮詢師於諮詢過程中，除了提供專業知識協助其瞭解聽力障礙的原因之外，更應注意處理父母親的情緒問題，其他社會資源的協尋及復健資源的提供皆需完整，讓父母親感覺自己並不是孤立無援的。聽障孩子若能即早發現，即時施與適當的教育，仍會有很好的發展，協助父母儘快渡過悲傷期，並積極把握孩子聽語治療的黃金期，可激發聽障兒更大的潛能，更有助於孩子未來於生活上的學習與自立。