

厚生労働科学研究費補助金

感覚器障害研究事業

難聴遺伝子データベース構築と 遺伝カウンセリングに関する研究

平成14年度～16年度 総合研究報告書

平成17(2005)年4月

主任研究者 宇佐美 真 一

I. 統括研究報告

難聴遺伝子データベース構築と遺伝カウンセリングに関する研究

主任研究者 宇佐美真一（信州大学医学部耳鼻咽喉科）

分担研究者 福嶋義光（信州大学医学部附属病院遺伝子診療部）

研究協力者 工 穰、大塚 明弘、浅村 賢二、鈴木 伸嘉、小口 智啓、小林 克彦、大島章、鬼頭 良輔、鈴木 宏明、福岡 久邦、我妻 道生（信州大学医学部耳鼻咽喉科）、秋田二郎、南場淳司（弘前大学医学部耳鼻咽喉科）、山口敏和、阿部聡子（ビーエムエル総合研究所）

【研究要旨】

ここ数年の分子遺伝学のめざましい発展により、すでいくつかの遺伝性難聴の原因遺伝子が特定され始めている。我々は従来から日本人難聴患者の遺伝子解析を行ってきたが、その結果日常診療で耳鼻咽喉科の外来を訪れる難聴患者にも遺伝子が深く関与していることが明らかになった。難聴の原因遺伝子は数十から百種類以上あると推測されているが、現状では原因遺伝子の特定できる難聴患者はまだ10-20%程度であると考えられ、今後新しいアプローチによるさらなる原因遺伝子の特定が必要である。現在欧米を中心に難聴の遺伝子解析が盛んに行われており毎年次々と新しい遺伝子が報告されているが、現在報告されている難聴の遺伝子のほとんどは諸外国の家系から発見されたものである。日本民族の遺伝的背景を考え合わせると日本人特有の難聴遺伝子が多数存在する可能性が考えられる。また我々は同じ原因遺伝子であっても日本人難聴患者に見出される遺伝子変異は欧米での報告とは異なることを報告してきた。従って今後、難聴患者の診断、治療、カウンセリングを行なっていく上で日本人家系を用いた遺伝子解析のデータベースが必要となることから当該研究を企画した。一方、遺伝子診断が日常診療で一般化されるにつれ、それに伴う遺伝カウンセリングの充実が求められている。現状では遺伝子検査が先行してしまっているために臨床現場で種々の問題が生じ始めている。信州大学医学部附属病院では全国に先駆け「遺伝子診療部」が設けられ、各臨床科と連携して遺伝子診療に取り組んでいる。しかし現状では生命にかかわる重篤な疾患が中心で難聴に関する遺伝子診療は十分確立できているとは言えない。そこで本研究では難聴に関連した最新の遺伝子情報を適切に医療の場で生かすために難聴の遺伝カウンセリングに焦点を絞り検討を行った。その結果、以下の成果をあげることができた。

（1）日本人難聴患者に見出される原因遺伝子の変異部位に関する検討：

GJB2 遺伝子および SLC26A4 (PDS) 遺伝子について検討した結果、日本人の変異部位は欧米人に見

出された変異部位と大きく異っていることが明らかとなった (Ohtsuka et al., 2003, Tsukamoto et al., 2003)。日本人家系を用いた遺伝子解析のデータベースは、今後、難聴患者の診断、治療、カウンセリングを行なっていく上で重要な基礎データとなると思われる。

(2) 新しい原因遺伝子の同定：

新しい原因遺伝子の同定に関しては内耳に特異的に高発現する遺伝子を中心にスクリーニングした結果、日本人難聴家系から新たな難聴の原因遺伝子として mu-crystallin (Abe et al., 2003a), KIAA1199 (Abe et al., 2003b), COL9A3 (Asamura et al., in press), ATP1A2 (Ohtsuka et al., submitted) の各遺伝子が発見された。

(3) 遺伝子型と臨床型 (表現型) との比較検討：

遺伝子型と臨床型 (表現型) に関して、高頻度で見いだされ臨床的に重要であると考えられる GJB2 (コネキシン 26) 遺伝子に関して遺伝子型と臨床型 (表現型) との比較検討を行った。その結果、遺伝子型と難聴の程度に関連があることが明らかになった。従って GJB2 遺伝子に関しては遺伝子解析によって難聴の程度が推測できる可能性が示唆された。これらの結果から遺伝子検査は正確な診断ばかりでなく予後の予想や治療法の選択にも有用であることが実証された (Oguchi et al., 2005)。また内耳奇形と関連の深い SLC26A4 (PDS) 遺伝子についてその臨床型を検討した結果、Pendred 症候群と前庭水管拡大を伴う非症候群性難聴はともに SLC26A4 (PDS) 遺伝子変異が引き起こす一連の疾患群であることが確認された (Tsukamoto et al., 2003)。

(4) 簡便なスクリーニング検査法による頻度調査：

難聴原因遺伝子の種類は数十から百種類程度と推測されているが、難聴の遺伝子検索のためには多数の遺伝子変異を同時に検出可能なスクリーニング法が必要である。最近開発されたインベーター法を用いた簡便なスクリーニング法を用いて各遺伝子変異の頻度調査を行った結果、また GJB2 遺伝子、SLC26A4 (PDS) 遺伝子、ミトコンドリア 1555 変異が高頻度で見いだされた。従ってこの 3 種類の遺伝子が日本人難聴患者の原因遺伝子として最も重要であることが明らかになった。

(5) 難聴の遺伝カウンセリングの検討：

遺伝子診断の確定した家系に対して遺伝カウンセリングを行うとともに、種々の希望で遺伝子診療部あるいは耳鼻科外来を訪れた外来患者に対して遺伝カウンセリングを行い難聴の遺伝カウンセリングの症例を重ね、各難聴原因遺伝子ごとのカウンセリングの重要点をリストアップすることが出来た。また啓蒙活動として一般向け講演会「難聴と遺伝」を開催した。

(6)「日本人難聴遺伝子データベースホームページ」の開設：

日本人における難聴遺伝子に関する情報を集積、発信するために「日本人難聴遺伝子データベースホームページ」を開設した。

A. 研究目的

1) 日本人のデータベースの構築

現在報告されている難聴遺伝子のほとんどは諸外国の家系から発見されたものであるが、日本民族の遺伝的背景を考え合わせると日本人特有の難聴遺伝子が多数存在する可能性が考えられる。また我々は同じ原因遺伝子であっても日本人難聴患者に見出される遺伝子変異は欧米での報告とは異なることを明らかにしてきた。近い将来、遺伝子診断は難聴の「正確な診断」「予後の推測」「治療法の選択」「カウンセリング」に必要不可欠なものとなっていくことが予測されるがそのためには日本人独自の難聴遺伝子のデータベースが必要である。

2) 遺伝カウンセリングの必要性

遺伝子診断が日常診療で一般化される一方で、それに伴う遺伝カウンセリングの充実が求められている。本研究では難聴に関連した最新の遺伝子情報を適切に医療の場で生かすために難聴の遺伝カウンセリングのガイドラインの作成、遺伝相談のシステム、ネットワーク整備、啓蒙活動、などを行う必要がある。

B. 研究方法

研究目的を達成するために以下の研究を行った。

- 1) 日本人と欧米人の難聴遺伝子変異の比較
- 2) 新しい難聴原因遺伝子の同定
- 3) 遺伝子型と臨床型（表現型）との比較検討
- 4) 簡便なスクリーニング検査法による頻度調査
- 5) 難聴の遺伝カウンセリングのガイドラインの作成と啓蒙活動

[倫理面への配慮]

「難聴の遺伝子解析」に関しては3省（文部科学省、厚生労働省、経済産業省）合同「ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針」にもとづき、患者の文書による同意を得て実施している。また「難聴の遺伝子解析」に関しては信州大学医学部倫理委員会の承認を得ている。

1) 変異部位に関する検討

頻度の高い遺伝子 (GJB2 遺伝子、SLC26A4 (PDS) 遺伝子) に関して外来を受診した難聴患者を対象に検討を行った。インフォームドコンセントの後に採血を行い DNA を抽出した。GJB2 遺伝子、SLC26A4 (PDS) 遺伝子のエクソン部分を特異的なプライマーにより増幅し直接シーケンス法により遺伝子変異を検索した。

2) 新しい原因遺伝子の同定

新しい原因遺伝子の同定を目的として東京大学医科学研究所との共同研究を行い内耳に特異的に発現する遺伝子に関して直接シーケンス法により遺伝子変異を検索した。

3) 遺伝子型と臨床型 (表現型) との比較検討

GJB2, SLC26A4 (PDS) の各遺伝子に関し多施設の共同研究を行い、遺伝子型と臨床型 (表現型) を比較検討した。GJB2 遺伝子に関しては日本人難聴家系に見出された変異を細胞に導入し細胞内局在を観察し臨床型 (難聴の程度) と比較検討した。

C. D. 研究結果および考察

(1) 日本人と欧米人の変異の比較 :

GJB2 遺伝子、SLC26A4 (PDS) 遺伝子における変異に関して検討を行った結果、日本人の変異部位は欧米人に見出された変異部位と大きく異っていることが明らかとなった (図 1、図 2) (Ohtsuka et al., 2003, Tsukamoto et al., 2003)。最近の報告では各民族に異なる変異を持った共通先祖の存在が示唆されているが、今回の我々の解析でも日本人に高頻度で見出される GJB2 遺伝子の 235delC 変異や SLC26A4 (PDS) 遺伝子の H723R 変異は founder effect である可能性が示唆された (Ohtsuka et al., 2003, Park et al., 2003)。このようなデータの蓄積は今後我が国で難聴患者の診断、治療、カウンセリングを行なっていく上で重要な基礎データとなると思われる。

図 1 日本人と欧米人における GJB2 遺伝子部位の相違 (Ohtsuka et al., 2003)

上段に欧米人で報告されている変異部位、下段に日本人に見いだされた変異部位を示す。共通する変異部位はわずか 2 箇所のみで、人種により変異部位は大きく異なることが分かる。

図 2 日本人と欧米人における、SLC26A4 (PDS) 遺伝子部位の相違 (Tsukamoto et al., 2003)

(2) 新しい原因遺伝子の同定：

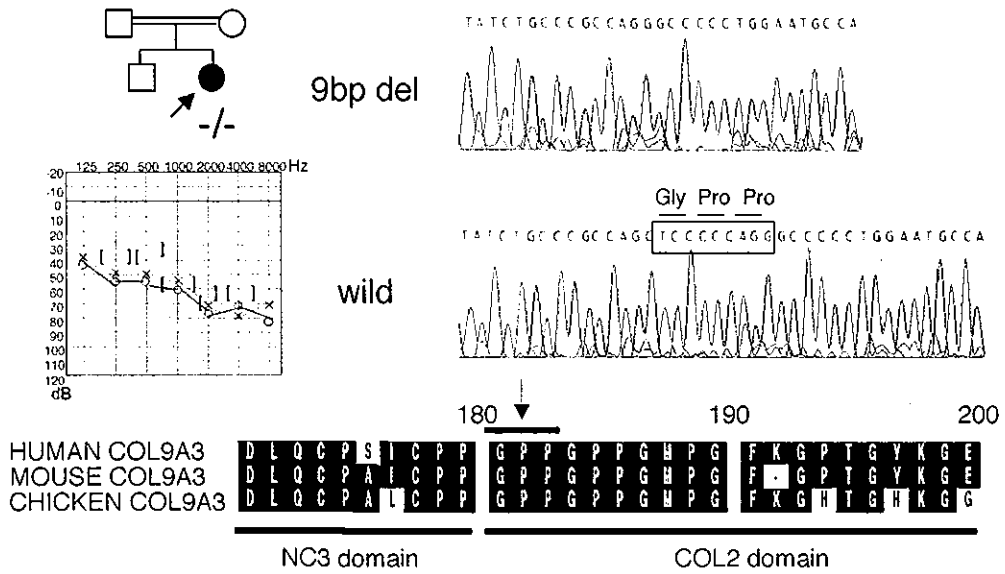
内耳に高発現する遺伝子 (Abe et al., 2003a) を中心にスクリーニングした結果、日本人難聴家系から新たな難聴の原因遺伝子として mu-crystallin (Abe et al., 2003a) , KIAA1199 (Abe et al., 2003b) , COL9A3 (Asamura et al., in press) , ATP1A2 (Ohtsuka et al, submitted) の各遺伝子が発見された。詳細に関しては各発表論文に記載されているが、動物モデルも含め検討できた COL9A3 遺伝子変異について以下に概説する。

[COL9A3 遺伝子変異と難聴]

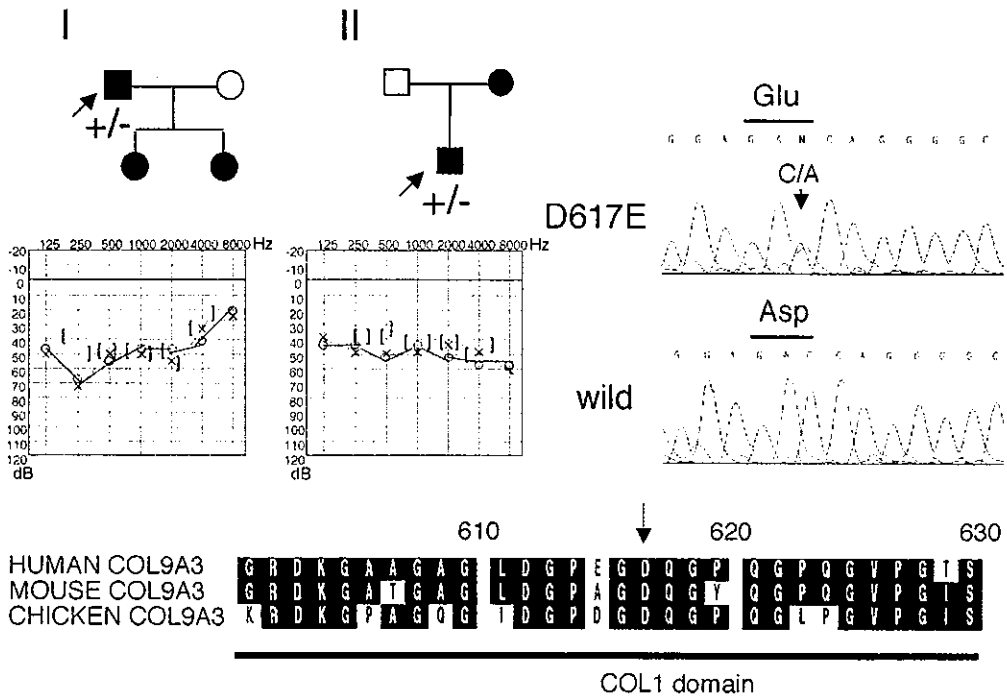
内耳に特異的あるいは高発現している遺伝子は難聴の原因遺伝子である可能性が高く、実際にいくつかの難聴原因遺伝子が同定されている。COL9A3 遺伝子は内耳に高発現している遺伝子群の1つであることが cDNA マイクロアレイによって確認された。COL9A3 遺伝子がコードする IX 型コラーゲン蛋白は内耳コルチ器の蓋膜において、II 型および V 型コラーゲンと共に重要な構成成分であることが知られており、重要な役割を担っていると予想される。今回この COL9A3 遺伝子について、非症候群性難聴患者を対象に変異スクリーニングを行った。変異解析の結果、2つの病的変異と 5 つの polymorphism が同定された。病的変異が疑われる 1 つはエクソン 11 に 9bp deletion のホモ変異として同定された。この変異は両側中等度進行性感音難聴をもつ家系に見つかり、両親が近親婚であることから劣性遺伝である可能性が示唆された (図 3)。もう 1 つはエクソン 31 にミスセンス変異として日本人と韓国人の 2 家系より同定され、優性遺伝である可能性が示唆された (図 4)。いずれの変異もこれまでに報告がなく、コントロール群に発見されなかったことや、変異部位がマウスやニワトリなどの種を越えて保存されており機能的に重要であると考えられること、難聴のパターンが IX 型コラーゲンのノックアウトマウスで認められた難聴のパターンと類似していることなどから難聴の原因遺伝子である可能性が示唆された。これまでに難聴との関連で II 型コラーゲンや XI 型コラーゲンの異常による Stickler 症候群や、IV 型コラーゲンの異常による Alport 症候群などが報告されており、コラーゲンと難聴との関連が注目されてきている。IX 型コラーゲンは II、IV、V、XI 型コラーゲンとともに、内耳における構成要素として重要な役割を担っていると考えられている。本研究では IX 型コラーゲンと難聴との関連性を検討するために IX 型コラーゲンノックアウトマウスを用い蓋膜の形態学的異常の有無を観察するとともに聴性脳幹反応検査 (ABR : auditory brainstem response) を用いて難聴の経時的変化を検討した。ノックアウトマウスは 1 ヶ月齢で難聴が認められ、月齢が進むにつれて難聴は進行し 6 ヶ月齢のノックアウトマウスでは高度感音難聴をきたすことが明らかになった (図 5)。光学顕微鏡にて内耳の蓋膜を観察したところ、ノックアウトマウスの蓋膜はコントロールのマウスの蓋膜に比べて、収縮、肥厚していた。この蓋膜の変化は内耳の basal turn で特に顕著に認められた。また蓋膜の形態異常は basal turn から始まり、徐々に頂部方向に進んでいることが明らかになった (図 6)。月齢とともに蓋膜の形態異常の範囲が拡大する所見は、進行する感音難聴と関連があると考えられた。電子顕微鏡学的検討では蓋膜のコラーゲン繊維の

不整が認められ、それが原因となって蓋膜の形態異常が引き起こされていると考えられた (Suzuki et al., 2005, Asamura et al., in press)。

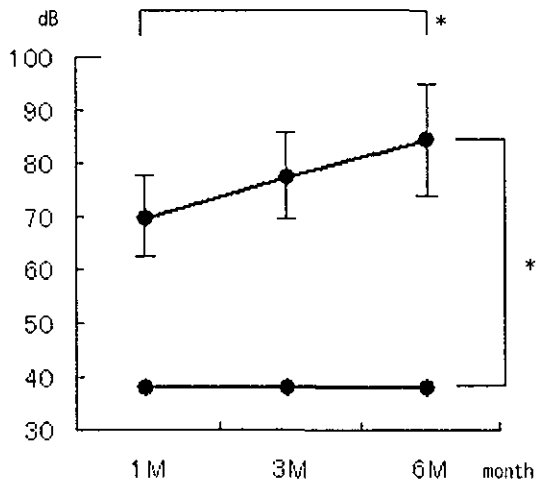
(図3) 劣性遺伝形式をとる家系に見いだされた COL9A3 遺伝子変異



(図4) 優性遺伝形式をとる家系に見いだされた COL9A3 遺伝子変異

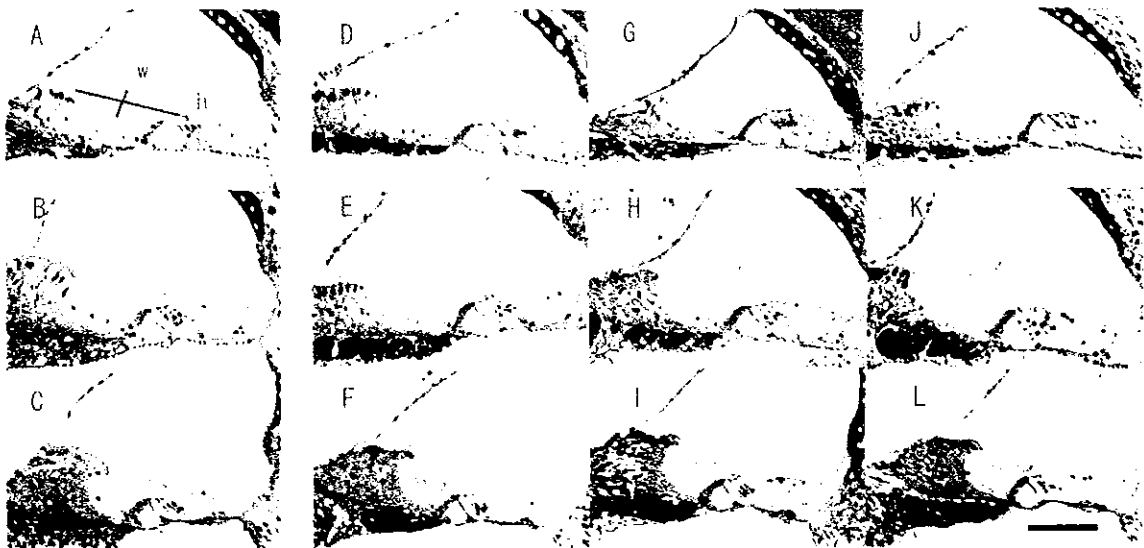


(図5) Type IX コラーゲンノックアウトマウスに見られた進行性難聴



(図6) Type IX コラーゲンノックアウトマウスに見られた蓋膜の形態変化

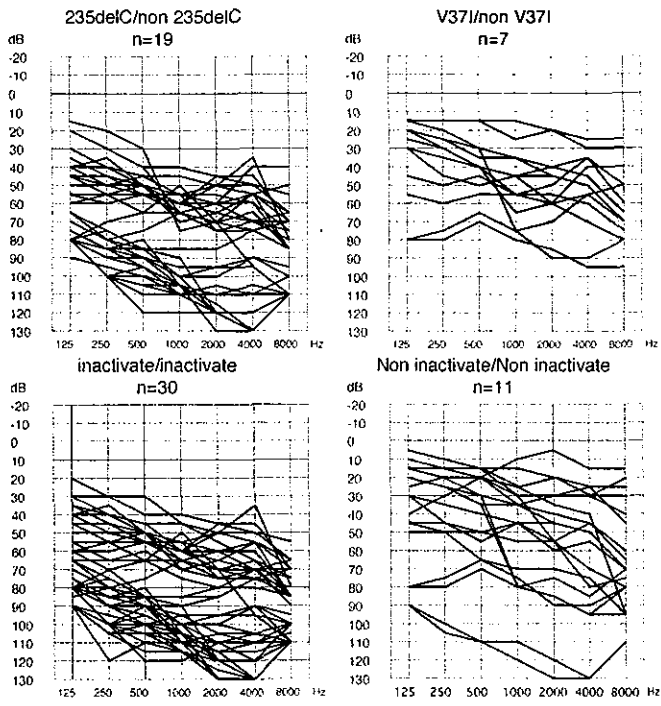
ABC: 正常マウス (1M)、DEF: ノックアウトマウス (1M)、GHI: ノックアウトマウス (3M)、JKL: ノックアウトマウス (6M)



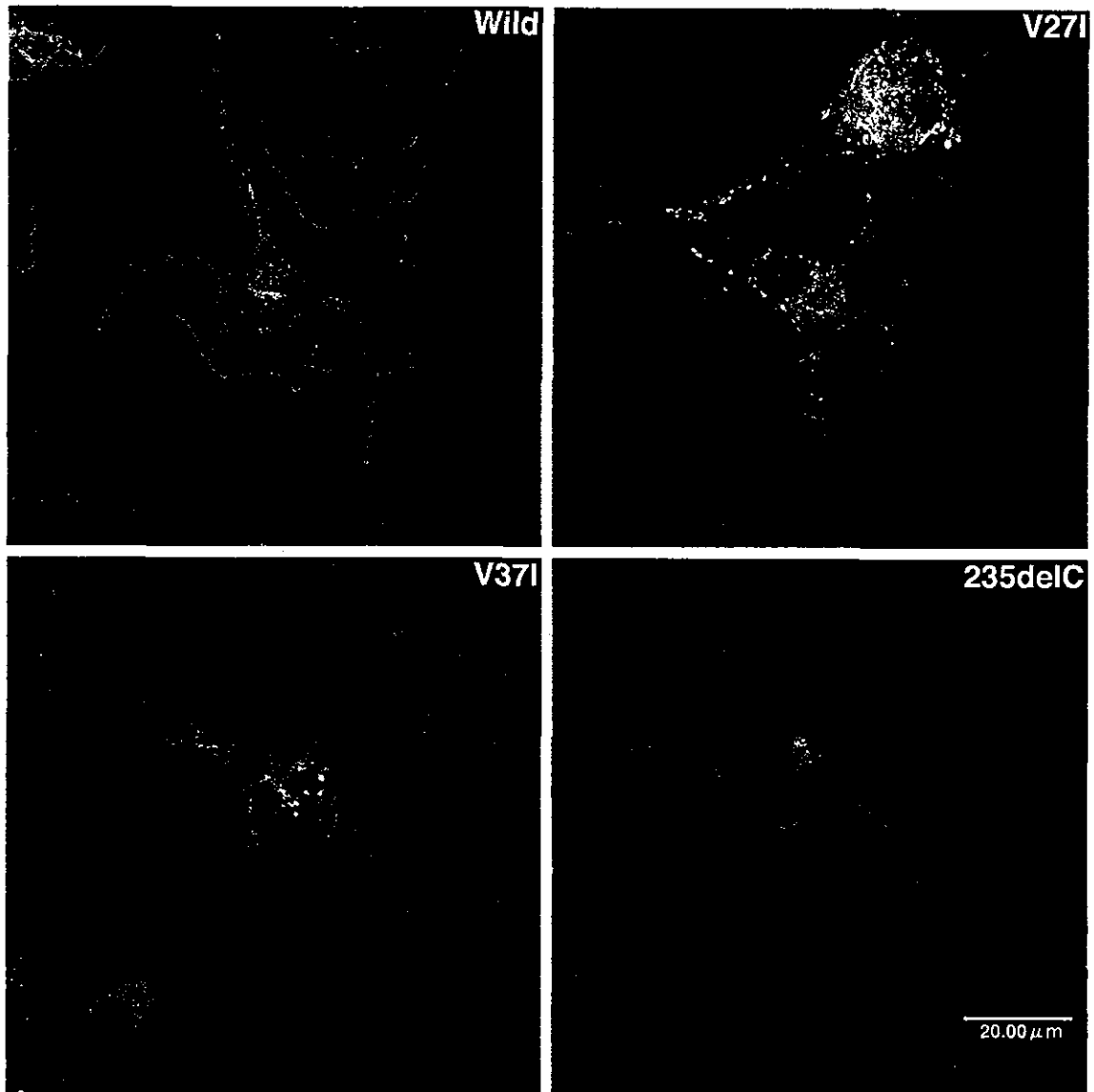
(3) 遺伝子型と臨床型（表現型）との比較検討：

先天性難聴の主たる原因として注目されている GJB2（コネクシン 26）遺伝子変異について、日本人難聴患者に見いだされた変異と臨床像との関連性を比較検討した。また日本人に高頻度で検出される遺伝子変異を細胞導入することで変異蛋白の細胞内局在について比較検討した。biallelic な変異が見出された 60 症例の遺伝子型/表現型の関連について比較検討した結果、遺伝子変異の組み合わせにより、難聴の重症度に差が見られることが明らかになった。すなわち 235delC が関与する症例では高度難聴症例が多数を占めており、V37I が関与する症例では難聴は軽度～中等度であった。また inactivating mutation（欠失変異およびナンセンス変異）が関与する症例では non-inactivating mutation（ミスセンス変異）が関与する症例に比較して難聴の程度が高度であることが明らかになった（図7）。細胞導入による検討では wt を導入した細胞では細胞膜上に斑点状に蛋白の局在が認められた。多型と知られている V27I、及び軽度～中等度難聴を示す V37I も wt と類似した細胞内局在を示した。一方 235delC では、蛋白は細胞膜状には発現せず核周辺に凝集して認められた。今回の結果から、変異の種類によって蛋白発現様式、すなわちギャップ結合の機能に差が生じ、それが難聴の程度の差になっている可能性が推測された（図8）。本研究の結果、GJB2 遺伝子に関しては遺伝子解析によって難聴の程度が推測できる可能性が示唆された。これらの結果から遺伝子検査は正確な診断ばかりでなく予後の予想や治療法の選択にも有用であることが実証された（Oguchi et al., 2005）。また内耳奇形と関連の深い SLC26A4（PDS）遺伝子についてその臨床型を検討した結果、Pendred 症候群と前庭水管拡大を伴う非症候群性難聴はともに SLC26A4(PDS)遺伝子変異が引き起こす一連の疾患群であることが確認された（Tsukamoto et al., 2003）。さらにアミノ配糖体抗生物質による難聴との関連でミトコンドリア遺伝子変異の検討を行った。その結果、961delT 変異は関連がないものの、1555A>G 変異は高感受性に関連していることが再確認された（Kobayashi et al., in press）。

(図7) 遺伝子型・臨床型の相関関係



(図 8) GJB2 遺伝子の細胞導入による蛋白発現様式



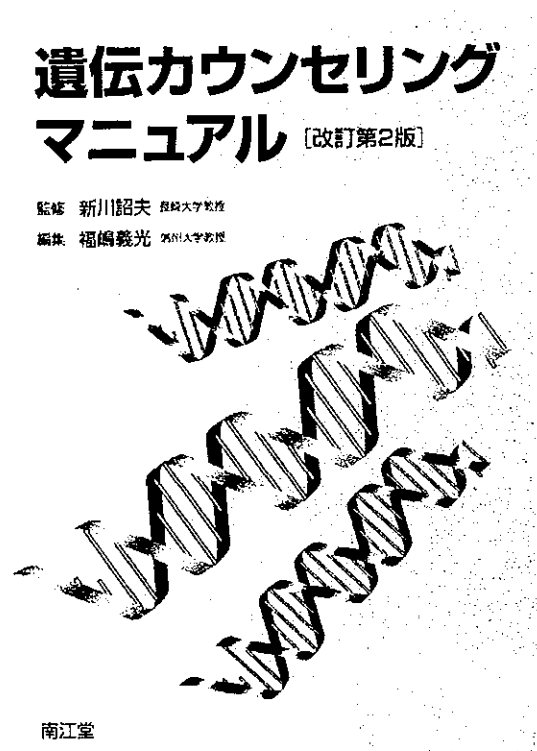
(4) 簡便なスクリーニング検査法による頻度調査：

難聴原因遺伝子の種類は数十から百種類程度と推測されているが、難聴の遺伝子検索のためには多数の遺伝子変異を同時に検出可能なスクリーニング法が必要である。最近開発されたインベーター法を用いた簡便なスクリーニング法を用いて各遺伝子変異の頻度調査を行った結果、また GJB2 遺伝子、SLC26A4(PDS)遺伝子、ミトコンドリア 1555 変異が高頻度で見いだされた。従ってこの3種類の遺伝子が日本人難聴患者の原因遺伝子として最も重要であることが明らかになった。

(5) 難聴の遺伝カウンセリングのガイドラインの作成：

遺伝子診断が日常診療で一般化されるにつれ、それに伴う遺伝カウンセリングの充実が求められている。現状では遺伝子検査が先行してしまっているために臨床現場で種々の問題が生じ始めている。信州大学医学部附属病院では全国に先駆け「遺伝子診療部」が設けられ、各臨床科と連携して遺伝子診療に取り組んでいる。本研究では難聴に関連した最新の遺伝子情報を適切に医療の場で生かすために、難聴の遺伝カウンセリングのガイドラインの作成、遺伝相談のシステム、ネットワーク整備、啓蒙活動などを行った。遺伝子診断の確定した家系に対して遺伝カウンセリングを行い症例を重ね、本研究での遺伝子解析および遺伝カウンセリングの実績をもとに難聴遺伝子ごとにカウンセリングに必要な事項をまとめた(図9)(宇佐美：「遺伝カウンセリングマニュアル；各論3.耳鼻咽喉科疾患」福嶋義光編)。また一般向けの啓蒙のためのパンフレット「難聴と遺伝」(図10)を作成するとともに、平成17年3月26日には一般向けの講演会「難聴と遺伝」を開催した。

(図9)



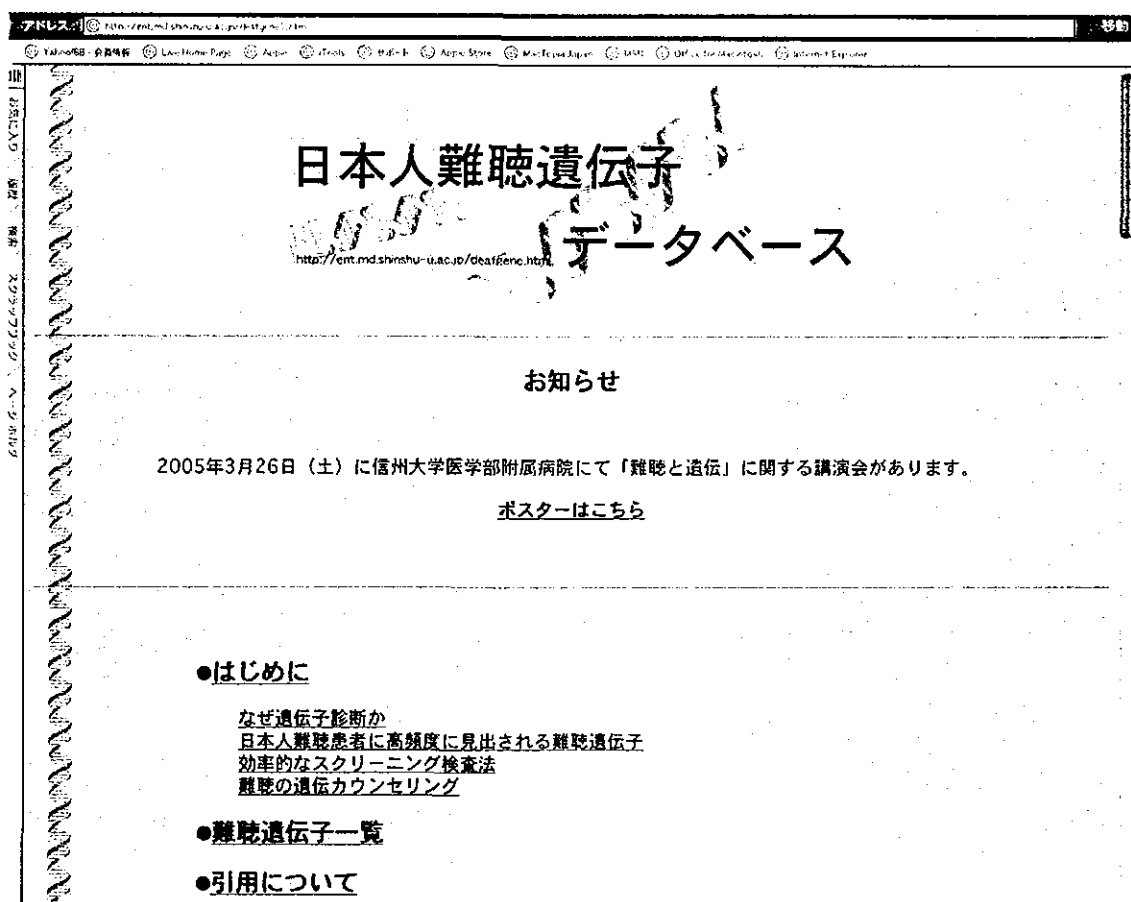
(図10)



(6) 「日本人難聴遺伝子データベースホームページ」の開設：

日本人における難聴遺伝子に関する情報を集積、発信するために「日本人難聴遺伝子データベースホームページ」を開設した (URL: <http://ent.md.shinshu-u.ac.jp/dcafgenc.html>) (図11)。「日本人難聴遺伝子データベースホームページ」ではまず「一般の方」向けと「医療従事者」向けに分けた。「一般の方」向けでは遺伝子に関する最新の知識を平易に説明した。また「医療従事者」向けでは以下の項目について詳細なデータを掲載した。総論(なぜ遺伝子診断か/日本人難聴患者に高頻度に見出される難聴遺伝子/効率的なスクリーニング検査法/難聴の遺伝カウンセリング)で難聴の遺伝子検索の重要性をリストアップし、日本人に高頻度で見出される難聴遺伝子を概説、効率的なスクリーニング検査法について紹介し、遺伝子検査と車の両輪にたとえられる遺伝カウンセリングについて紹介した。また各論として日本人難聴患者から報告のある難聴遺伝子一覧を示し(図12)、クリックすると遺伝子ごとに、内耳における局在と機能、日本人で報告された遺伝子変異(図13)、臨床像、カウンセリング、参考文献(図14)などの情報を見ることが出来るようになっている。

(図11)



(図 1 2)

難聴遺伝子一覧

非症候群性難聴 (12遺伝子)	症候群性難聴 (6遺伝子)
<u>SLC26A4 (PDS)</u>	<u>SLC26A4 (PDS)</u>
<u>GJB2 (connexin 26)</u>	<u>GJB2 (connexin 26)</u>
KCNQ4	EYA1
COC1	GATA3
TECTA	NOG
MYO7A	MPZ
WFS1	
POU3F4	
CRYM	
KIAA1199	
COL9A3	
Mitochondria 1555A->G	
Mitochondria 3243A->G	
Mitochondria 7445A->G	
Mitochondria 961delT	

それぞれをクリックすると詳細のページに移動します

(図 1 3)

日本人で報告された遺伝子変異

exon	塩基変化	アミノ酸変化	家系数	日本人における報告
2	235delC	-	96	Fuse et al. 1999, Abe et al. 2000, Kudo et al. 2000, Ohtsuka et al. 2003
2	109G->A	V37I	61	Abe et al. 2000, Ohtsuka et al. 2003
2	134G->A	G45E	45	Fuse et al. 1999, Abe et al. 2000, Ohtsuka et al. 2003
2	408C->A	Y136X	30	Fuse et al. 1999, Abe et al. 2000, Ohtsuka et al. 2003
2	176-191del16	-	12	Abe et al. 2000, Ohtsuka et al. 2003
2	368C->A	T123N	11	Ohtsuka et al. 2003
2	299-300del1AT	-	8	Abe et al. 2000, Ohtsuka et al. 2003
2	427C->T	R143W	8	Ohtsuka et al. 2003
2	212T->C	I71T	4	Ohtsuka et al. 2003
2	570T->C	F191L	4	Ohtsuka et al. 2003
2	257C->G	T86R	3	Ohtsuka et al. 2003
2	146C->T	A49V	1	Ohtsuka et al. 2003
2	605ins46	-	1	Yuge et al. 2002, Ohtsuka et al. 2003

(多型とされているV27I, T114G, I203Tは表から除外した)

日本人と欧米人における変異部位(Ohtsuka et al., 2003)

(図 1 4)

参考文献

Abe S, Usami S, Shinkawa H, Kelley PM, Kimberling WJ. Prevalent connexin 26 gene (GJB2) mutations in Japanese. *J Med Genet* 2000;37:41-3.

Abe S, Kelley PM, Kimberling WJ, Usami S. A Connexin 26 Gene (GJB2) Mutation Modulates the Severity of Hearing Loss Associated With the 1555A>G Mitochondrial Mutation. *Am J Med Genet* 2001;103:334-338.

Fukushima K, Sugata K, Kasai N, Fukuda S, Nagayasu R, Toida N, Kimura N, Takishita T, Gunduz M, Nishizaki K. Better speech performance in cochlear implant patients with GJB2-related deafness. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2002 Feb 1;62(2):151-7.

Fuse Y, Doi K, Hasegawa T, Sugii A, Hibino H, Kubo T. Three novel connexin26 gene mutations in autosomal recessive non-syndromic deafness. *Neuroreport*. 1999 Jun 23;10(9):1853-7.

Kelsell DP, Durlop J, Stevens HP, Lench NJ, Liang JN, Parry G, Mueller RF, Leigh IM. Connexin 26 mutations in hereditary non-syndromic sensorineural deafness. *Nature*. 1998 Aug 13;394(6694):630-1

Kudo T, Ikeda K, Kure S, Matsubara Y, Oshima T, Watanabe K, Kawase T, Narisawa K, Takagaka T. Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2) responsible for childhood deafness in the Japanese population. *Am J Med Genet*. 2000 Jan 17;90(2):141-5.

Matsushiro N, Doi K, Fuse Y, Nagai K, Yamamoto K, Iwaki T, Kawashima T, Sawada A, Hibino H, Kubo T. Successful cochlear implantation in prelingual profound deafness resulting from the common 233delC mutation of the GJB2 gene in the Japanese. *Laryngoscope*. 2002 Feb;112(2):255-61.

Oguchi T, Ohtsuka A, Hashimoto S, Oshima A, Abe S, Kobayashi Y, Nagai K, Matsunaga T, Iwasaki S, Nakagawa T, Usami SI. Clinical features of patients with GJB2 (connexin 26) mutations: severity of hearing loss is correlated with genotypes and protein expression patterns. *J Hum Genet*. 2005 in press.

Ohtsuka A, Yuge I, Kimura S, Namba A, Abe S, Van Laer L, Van Camp G, Usami S. GJB2 deafness gene shows a specific spectrum of mutations in Japan, including a frequent founder mutation. *Hum Genet* 2003;112(4):329-33.

Sugata A, Fukushima K, Sugata K, Fukuda S, Kimura N, Gunduz M, Kasai N, Usami S, Smith RJ, Nishizaki K. High-throughput screening for GJB2 mutations—its clinical application to genetic testing in prelingual deafness screening for GJB2 mutations. *Auris Nasus Larynx*. 2002 Jul;29(3):231-9.

Usami SI, Koda E, Tsukamoto K, Otsuka A, Yuge I, Asamura K, Abe S, Akita J, Namba A. Molecular diagnosis of deafness: impact of gene identification. *Audiol Neurootol* 2002;7(3):185-90.

Yuge I, Ohtsuka A, Matsunaga T, Usami S. Identification of 605ins46, a novel GJB2 mutation in a Japanese family. *Auris Nasus Larynx* 2002;29(4):379-82.

E. 結論

本研究によって明らかになった日本人における難聴遺伝子データベースは今後我が国で効率的に遺伝子検索や遺伝子診断を行っていく上で重要なデータになると思われる。また本研究によって確立された難聴の遺伝カウンセリングのマニュアル、遺伝相談システムのモデルは今後の難聴遺伝カウンセリングのモデルになると思われる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- [1] Suzuki N, Asamura K, Kikuchi Y, Takumi Y, Abe S, Imamura Y, Hayashi T, Aszodi A, Fassler R, Usami S. Type IX collagen knock-out mouse shows progressive hearing loss. *Neurosci Res* 2005;51(3):293-8. Epub 2005 Jan 08.

- [2] Asamura K, Abe S, Fukuoka H, Nakamura Y, Usami S. Mutation analysis of COL9A3, a gene highly expressed in the cochlea, in hearing loss patients. *Auris Nasus Larynx* 2005.
- [3] Kobayashi K, Oguchi T, Asamura K, Miyagawa M, Horai S, Abe S, Usami S. Genetic features, clinical phenotypes, and prevalence of sensorineural hearing loss associated with the 961delT mitochondrial mutation. *Auris Nasus Larynx* 2005.
- [4] Matsunaga T, Kumanomido H, Shiroma M, Goto Y, Usami S. Audiological features and mitochondrial DNA sequence in a large family carrying mitochondrial A1555G mutation without use of aminoglycoside. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2005;**114**(2):153-60.
- [5] Asamura K, Abe S, Imamura Y, Aszodi A, Suzuki N, Hashimoto S, Takumi Y, Hayashi T, Fassler R, Nakamura Y, Usami S. Type IX collagen is crucial for normal hearing. *Neuroscience* 2005;**132**(2):493-500.
- [6] Oguchi T, Ohtsuka A, Hashimoto S, Oshima A, Abe S, Kobayashi Y, Nagai K, Matsunaga T, Iwasaki S, Nakagawa T, Usami S. Clinical features of patients with GJB2 (connexin 26) mutations: severity of hearing loss is correlated with genotypes and protein expression patterns. *J Hum Genet* 2005;**50**(2):76-83. Epub 2005 Feb 8.
- [7] Matsunaga T, Kumanomido H, Shiroma M, Ohtsuka A, Asamura K, Usami S. Deafness due to A1555G mitochondrial mutation without use of aminoglycoside. *Laryngoscope* 2004;**114**(6):1085-91.
- [8] Abe S, Katagiri T, Saito-Hisaminato A, Usami S, Inoue Y, Tsunoda T, Nakamura Y. Identification of CRYM as a candidate responsible for nonsyndromic deafness, through cDNA microarray analysis of human cochlear and vestibular tissues. *Am J Hum Genet* 2003;**72**(1):73-82.
- [9] Abe S, Koyama K, Usami S, Nakamura Y. Construction and characterization of a vestibular-specific cDNA library using T7-based RNA amplification. *J Hum Genet* 2003;**48**(3):142-9.
- [10] Ohtsuka A, Yuge I, Kimura S, Namba A, Abe S, Van Laer L, Van Camp G, Usami S. GJB2 deafness gene shows a specific spectrum of mutations in Japan, including a frequent founder mutation. *Hum Genet* 2003;**112**(4):329-33.

- [11] Park HJ, Shaikat S, Liu XZ, Hahn SH, Naz S, Ghosh M, Kim HN, Moon SK, Abe S, Tukamoto K, Riazuddin S, Kabra M, Erdenetungalag R, Radnaabazar J, Khan S, Pandya A, Usami SI, Nance WE, Wilcox ER, Griffith AJ. Origins and frequencies of SLC26A4 (PDS) mutations in east and south Asians: global implications for the epidemiology of deafness. *J Med Genet* 2003;**40**(4):242-8.
- [12] Usami S, Takahashi K, Yuge I, Ohtsuka A, Namba A, Abe S, Fransen E, Patthy L, Otting G, Van Camp G. Mutations in the COCH gene are a frequent cause of autosomal dominant progressive cochleo-vestibular dysfunction, but not of Meniere's disease. *Eur J Hum Genet* 2003;**11**(10):744-8.
- [13] Abe S, Usami S, Nakamura Y. Mutations in the gene encoding KIAA1199 protein, an inner-ear protein expressed in Deiters' cells and the fibrocytes, as the cause of nonsyndromic hearing loss. *J Hum Genet* 2003;**48**(11):564-70.
- [14] Tsukamoto K, Suzuki H, Harada D, Namba A, Abe S, Usami S. Distribution and frequencies of PDS (SLC26A4) mutations in Pendred syndrome and nonsyndromic hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct: a unique spectrum of mutations in Japanese. *Eur J Hum Genet* 2003;**11**(12):916-22.
- [15] 宇佐美真一：2.アミノ配糖体抗生物質による難聴 update-遺伝子学的アプローチ-耳鼻咽喉科・頭頸部外科 2002;**75**(2):101-5
- [16] Ishinaga H, Shimizu T, Yuta A, Tsukamoto K, Usami S, Majima Y. Pendred's syndrome with goiter and enlarged vestibular aqueducts diagnosed by PDS gene mutation. *Head Neck* 2002;**24**(7):710-3.
- [17] Van Camp G, Coucke PJ, Akita J, Fransen E, Abe S, De Leenheer EM, Huygen PL, Cremers CW, Usami S. A mutational hot spot in the KCNQ4 gene responsible for autosomal dominant hearing impairment. *Hum Mutat* 2002;**20**(1):15-9.
- [18] Yuge I, Ohtsuka A, Matsunaga T, Usami S. Identification of 605ins46, a novel GJB2 mutation in a Japanese family. *Auris Nasus Larynx* 2002;**29**(4):379-82.
- [19] Usami SI, Koda E, Tsukamoto K, Otsuka A, Yuge I, Asamura K, Abe S, Akita J, Namba A. Molecular diagnosis of deafness: impact of gene identification. *Audiol Neurootol* 2002;**7**(3):185-90.
- [20] Sugata A, Fukushima K, Sugata K, Fukuda S, Kimura N, Gunduz M, Kasai N, Usami S,

Smith R, Nishizaki K. High-throughput screening for GJB2 mutations-its clinical application to genetic testing in prelingual deafness screening for GJB2 mutations. *Auris Nasus Larynx* 2002;**29**(3):231-239.

[21] Iwasaki S, Harada D, Usami S, Nagura M, Takeshita T, Hoshino T. Association of Clinical Features With Mutation of TECTA in a Family With Autosomal Dominant Hearing Loss. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002;**128**(8):913-7.

[22] De Leenheer EM, Ensink RJ, Kunst HP, Marres HA, Talebizadeh Z, Declau F, Smith SD, Usami S, Van de Heyning PH, Van Camp G, Huygen PL, Cremers CW. DFNA2/KCNQ4 and its manifestations. *Adv Otorhinolaryngol* 2002;**61**:41-6.

[23] 宇佐美真一：「遺伝カウンセリングマニュアル；各論3. 耳鼻咽喉科疾患」
福嶋義光編、南江堂

2. 学会発表

[1] 日本人に見出された GJB2 (コネキシン 26) 遺伝子変異について：大塚明弘、大島章、宇佐美真一 他 3 名

(平成 14 年 5 月 日本耳鼻咽喉科学会総会)

[2] Genetic Aspects of Sensorineural Hearing Loss：宇佐美真一

(平成 14 年 5 月、6 月 Ajou 大学シンポジウム)

[3] 難聴の遺伝子検索に伴う倫理的問題と遺伝カウンセリング：工 稔、甲田英子、宇佐美真一

(平成 14 年 10 月 日本聴覚医学会総会)

[4] 優性遺伝形式をとる日本人非症候群性難聴家系にいける原因遺伝子について：KCNQ4, TECTA, COCH 遺伝子変異：弓削勇、大塚明弘、原田大輔、宇佐美真一 他 2 名

(平成 14 年 10 月 日本耳科学会)

[5] 日本人に見出された TECTA 遺伝子の 2 家系：原田大輔、鈴木宏明、弓削勇、宇佐美真一 他 2 名