

200930011A

厚生労働科学研究費補助金

感覚器障害研究事業

# サブタイプ分類に基づく小児難聴診断 療育システムの構築に関する研究

平成21年度 総括研究報告書

研究代表者 宇佐美 真一

平成 22 (2010) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

感覚器障害研究事業

# サブタイプ分類に基づく小児難聴診断 療育システムの構築に関する研究

平成21年度 総括研究報告書

研究代表者 宇佐美 真一

平成 22 (2010) 年 3 月

# 目 次

I. 総括研究報告	
サブタイプ分類に基づく小児難聴診断療育システムの 構築に関する研究-----	1
宇佐美 真一	
II. 研究成果の刊行に関する一覧表-----	25
III. 研究成果の刊行物・別刷-----	29

# I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）

総括研究報告書

サブタイプ分類に基づく小児難聴診断、療育システムの構築に関する研究

研究代表者 宇佐美 真一（信州大学医学部耳鼻咽喉科・教授）

研究要旨

近年、新生児聴覚スクリーニングの普及により、早期に難聴が発見されるようになってきたが、難聴の原因に関しては多くの場合不明であり、予後の推測や随伴症状の予測などは不可能である。また、乳児の聴力検査に関しては、技術的には確立しているものの測定の際の様々な条件の影響を受けるため、同様の測定を数回繰り返して行い、難聴を確定していくのが一般的である。当研究室では全国 33 施設との共同研究により「All Japan」の研究体制で難聴の遺伝子解析を行っており、多数の難聴原因遺伝子変異を見出し報告してきた。その結果、原因遺伝子の種類あるいは変異部位の種類によって、臨床型（聴力・予後・随伴症状など）が異なることが明らかになってきた (Oguchi et al., 2005 ; Suzuki et al., 2007 ; Tsukada et al., in press)。このように、原因となる遺伝子変異の種類により、臨床像が異なることより、従来の聴力検査に遺伝子診断を組み合わせることで、より正確に、より早期に聴力の程度を予測することが可能になることが期待される。また、遺伝子診断を組み合わせるによって、難聴をサブタイプに分類することが可能となり、サブタイプごとに適切なフォローアップや適切な介入法などのオーダーメイド医療の実現につながることを期待される。

本研究では、（１）先天性難聴患者を対象に、従来の聴覚検査に、遺伝子解析や先天サイトメガロウイルス感染の検査を組み合わせることで、難聴の原因を特定し、難聴の程度や進行性、随伴症状などの臨床情報、言語獲得の成績などの情報をデータベース化し、難聴のサブタイプ分類を行う。（２）サブタイプごとに、介入方法（補聴器、人工内耳）、装用年齢、その他の因子と言語獲得成績をデータベース化し、適切な介入、装用開始年齢、療育方法について検討する。（３）遺伝子検査、先天性サイトメガロウイルス感染検査については、臨床応用した場合のメリットが報告されているが、日常臨床の現場では診断ツールとして用いられていない。遺伝学的検査の分析的妥当性、臨床的妥当性、臨床的有用性、倫理的法的社会的課題について検討するとともに、問題点を整理し、臨床の現場で日常的に利用可能な検査手法として定着させることを目的に研究を行っている。

平成 21 年度は今までに集められた約 4000 人(1500 家系)の難聴患者とその家族に

に関して、EAS(補聴器併用型)人工内耳の適応となる遺伝性難聴患者の遺伝的背景に関する調査を行った。その結果、欧州でのEASの適応基準を満たす高音急墜型難聴症例は139家系151例(全体の約3%)であった。また、対象聴力像を呈する症例のうち、難聴の原因遺伝子変異が明らかとなった症例は26.6%であり、*GJB2* 遺伝子変異 2.2%、*SLC26A4* 遺伝子変異 7.2%、ミトコンドリア 1555A>G 変異 12.9%、*CDH23* 遺伝子変異 4.3%であった。今後さらに検討をおこなうことで、サブタイプ分類に応じた適切な介入に関する研究が進展することが期待される。本研究により得られた結果に関してとりまとめを行い、論文にて報告した (Usami et al. in press)。

また、新規難聴原因遺伝子の解析に先天サイトメガロウイルス感染による難聴の検査を組み合わせることで、診断率をより向上させることを目的に、新規の難聴原因遺伝子変異の候補として *CDH23* 遺伝子の解析を行った。当研究室で従来報告した日本人家系より見出された *CDH23* 遺伝子変異 4 種類 (Wagatuma et al. 2007) の頻度調査を、従来の検査により遺伝子変異の認められなかった先天性難聴患者 1845 例に実施した。その結果、劣性ホモ変異 8 検体、劣性コンパウンドヘテロ変異 9 検体、劣性ヘテロ変異 31 検体で変異が認められた。これは難聴患者全体の 2.6%に相当する。また先天性サイトメガロウイルス感染の検討に関しては、乾燥臍帯の収集を開始するとともに、非症候群性の難聴患者 (両側感音難聴児 34 例中、2 例 (6%)・一側性感音難聴 56 例中 5 例 (8.9%)) であった。また、平成 20 年に厚生労働省に申請し承認を受け臨床応用を具体的に開始した先進医療「先天性難聴の遺伝子診断」に関して結果のとりまとめを行った。その結果、期間中に信州大学医学部附属病院、虎の門病院の 2 施設併せて 85 例の実施があり 45%の患者から遺伝子変異が検出された。従って、先進医療の実施においても共同研究時とほぼ同程度の有効性が認められた。また、先進医療と新規遺伝子変異、先天 CMV 感染症の診断を組み合わせることで診断率 50%を超えることが出来た。また、サブタイプ分類に応じた治療法の検討を開始することが出来た。

分担研究者:

工 穰 (信州大学医学部耳鼻咽喉科・准教授、  
橋本繁成 (信州大学附属病院先端予防医療  
センター・助教)

研究協力者:

鈴木伸嘉、茂木英明、我妻道生、鬼頭良輔、  
福岡久邦、鈴木宏明、呂旭原、塚田景大、  
菊池景子、古舘佐起子、内藤武彦、宮川麻  
衣子、西尾信哉 (信州大学医学部耳鼻咽喉  
科)

本研究に協力いただいた施設:

福田諭、武市紀人 (北海道大学医学部耳鼻  
咽喉科)、新川秀一、南場淳司 (弘前大学医  
学部耳鼻咽喉科)、佐藤宏昭、小林有美子 (岩  
手医科大学医学部耳鼻咽喉科)、青柳優、渡  
辺知緒 (山形大学医学部耳鼻咽喉科)、小林  
俊光、川瀬哲明 (東北大学医学部耳鼻咽喉  
科)、古屋信彦、長井今日子 (群馬大学医学  
部耳鼻咽喉科)、森山寛、小島博己、櫻井結  
華 (東京慈恵会医科大学医学部耳鼻咽喉科)、

池田稔、嶋原俊太郎、野村泰之（日本大学医学部耳鼻咽喉科）、岡本牧人、佐野肇（北里大学医学部耳鼻咽喉科）、八木聰明、池園哲郎（日本医科大学医学部耳鼻咽喉科）、阪上雅史、齋藤優子（兵庫医科大学医学部耳鼻咽喉科）、竹内万彦（三重大学医学部耳鼻咽喉科）、西崎和則、福島邦博（岡山大学医学部耳鼻咽喉科）、暁清文、羽藤直人（愛媛大学医学部耳鼻咽喉科）、山中昇、藤原啓次（和歌山県立医科大学医学部耳鼻咽喉科）、山下裕司、菅原一真（山口大学医学部耳鼻咽喉科）、小宗静男、賀数康弘（九州大学医学部耳鼻咽喉科）、中川尚志、菅村真由美（福岡大学医学部耳鼻咽喉科）、高橋晴雄（長崎大学医学部耳鼻咽喉科）、東野哲也、河野浩万（宮崎大学医学部耳鼻咽喉科）、黒野祐一、宮之原郁代（鹿児島大学医学部耳鼻咽喉科）、鈴木幹男、我那覇章（琉球大学医学部耳鼻咽喉科）、村井盛子（盛岡市民病院）、阿部聡子（あべ耳鼻咽喉科）、熊川孝三（虎ノ門病院）、富山俊一（日本医大多摩永山病院）、岩崎聡（浜松赤十字病院耳鼻咽喉科）、内藤泰（神戸市立医療センター中央病院）、神田幸彦（神田耳鼻咽喉科）

## A. 研究目的

### (1) 原因遺伝子変異に基づく難聴のサブタイプ分類

先天性難聴は出生児 1000 人に 1 人の割合で認められる頻度の高い先天性障害のひとつである。従来、難聴の多くは原因不明であったが、近年の分子遺伝学的な解析手法の進歩により難聴の原因遺伝子変異が多数見出されるとともに、その原因遺伝子変異の種類と難聴の程度、聴力像、めまい等の随伴症状の有無などの臨床型の間に関連が

あることが明らかとなってきた (Oguchi et al., 2005 ; Suzuki et al., 2007 ; Tsukada et al., in press)。このように、原因となる遺伝子変異の種類により、臨床像が異なることより、従来の聴力検査に遺伝子診断を組み合わせることで、より正確に、より早期に聴力の程度を予測することが可能になることが期待される。また、遺伝子診断を組み合わせるによって、難聴をサブタイプに分類することが可能となり、サブタイプごとに適切なフォローアップや適切な介入法などのオーダーメイド医療の実現につながることを期待される。

平成 21 年度は、今までに集められた約 4000 人(1500 家系)の難聴患者とその家族に関して、臨床像から遺伝子型を推定するアプローチの研究を開始し、高音急墜型の難聴の遺伝的背景を明らかにすることを目的に検討を行った。

### (2) 新規難聴原因遺伝子の探索および先天サイトメガロウイルス感染による難聴の調査

2007 年時点で日本人から見出されている難聴遺伝子 (10 遺伝子 47 変異) の網羅的な解析により、おおよそ 30%の難聴患者の原因遺伝子を特定可能であることが明らかとなっている (Abe et al., Genetic testing 11:334-341, 2007)。また、昨年度までの全国 33 施設との共同研究から、約 35%の難聴患者の原因遺伝子変異を特定可能であることが示され有用性が確かめられた。しかしながら、原因の特定できない遺伝子変異や、症例数が少なく臨床上有用な情報の得られていない遺伝子も多く存在しており、未だ約 60%は原因が不明のままである。診断率

をより向上させることを目的に、本研究では新規難聴原因遺伝子の解析および先天サイトメガロウイルス感染の検査を組み合わせ実施した。新規の難聴原因遺伝子変異の候補として *CDH23* の解析を行った。また、乾燥臍帯を用いた先天サイトメガロウイルス感染症の検査技術の確立と大規模解析を実施し、陽性率や頻度、臨床的特徴についてまとめた。

### (3) 先天性難聴の遺伝子診断の臨床応用

先天性難聴の遺伝子診断を、日常的に診療で利用可能なツールとして定着させるためには、遺伝学的検査の Analytic validity：分析的妥当性、Clinical validity：臨床的妥当性、Clinical utility：臨床的有用性、Ethical, legal and social issues：倫理的法的社会的課題の4つ (ACCE) について検討するとともに、問題点を整理する必要がある。

本研究で利用しているインベーター法および直接シーケンス法は、既に他の疾患の診断にも利用されている技術であるため、分析的妥当性に関しては問題は無いことが明らかであるため、信州大学医学部附属病院および虎の門病院で先進医療「先天性難聴の遺伝子診断」として実施した症例に関して、遺伝学的検査の臨床的妥当性(感度、特異度、陽性的中率など)、臨床的有用性、倫理的法的社会的問題(先天性難聴の遺伝学検査に関する倫理的な諸問題)について検討を行い日常的に診療で利用可能なツールとして定着させる上での問題点などの検討を行った。

### (4) サブタイプ分類に基づいたオーダー

### メイドの療育システムの構築

疫学調査によると高度難聴児は1000人にひとりの割合で生まれ、少なくとも50%以上は遺伝子が関与していると考えられている (Kimberling 1999)。

本研究では、難聴のサブタイプ分類に応じたオーダーメイドの療育システムの構築を目的、その基盤情報となる原因遺伝子の違いが難聴児の言語成績や認知発達に及ぼす影響に関して検討を行う。また、発症年齢、裸耳聴力、補聴器装用開始、補聴閾値などの諸要因が難聴児の言語・認知発達に及ぼす影響についても検討を行うとともに、難聴児のニーズにあったオーダーメイドの療育プログラム作成のために遺伝学的検査が果たす役割についての考察を行った。

## B. 研究方法

### (1) 原因遺伝子変異に基づく難聴のサブタイプ分類

近年、補聴器の発達や人工内耳の普及により、個々の症例に対し、より良い補聴効果が提供できるようになってきた。

しかし、高音急墜型難聴については補聴器の調整が比較的困難であり、また、低音域の聴力が残存しているため人工内耳の適応にはならないため、現在の保険診療の枠内には適切な治療法が無いのが現状であり、患者の望む補聴効果、語音弁別能の改善は得られないことが多い。このような症例では治療をあきらめて通院をやめてしまうケースが多いため、その結果、高音急墜型難聴の原因や治療法についての研究があまり進んでいない。

しかし、1999年の補聴器併用型人工内耳



(以下、EAS)の登場により状況は変わりつつある。欧米ではすでに高音急墜型難聴症例へEASを埋め込むことにより十分な効果が確認されている。実際、EASにより語音弁別能が50%以上改善したという報告がある。また、EASは日本で用いられている通常の人工内耳とほぼ同じ形状で、埋め込み手術の術式やリスクも同様であり、今後、日本でもEASのニーズが高まると思われる。今回の研究では、今後、このような形で治療の対象となると思われる高音急墜型難聴について、臨床像(遺伝形式、進行性、発症年齢、既知の原因遺伝子)について検討した。対象は信州大学耳鼻咽喉科教室の難聴遺伝子データベース(現在、4494例)のうち、欧州でのEASの適応基準である下記の聴力像を有する症例、151例について検討した。

- ① 125Hz, 250Hz, 500Hzの聴力閾値が65dB以下
- ② 2000Hzの聴力閾値が80dB以上
- ③ 4000Hz, 8000Hzの聴力閾値が85dB以上(ただし、上記に示す周波数のうち1箇所が10dB以内の幅で外れる場合には対象とする)

(2) 新規難聴原因遺伝子の探索および先天サイトメガロウイルスによる難聴の調査  
新規遺伝子変異の探索に関しては、日本人家系より見出された*CDH23*遺伝子変異のうち、難聴の原因遺伝子変異であることが明らかとなっている4種類：P240L、R301Q、Q1716P、R2029W (Wagatuma et al., 2007) に関して頻度調査を実施した。この4つの変異に関しては、昨年度までに原因遺伝子変異の見つかっていない192名に対して4種の変異の有無の検査を行い12名(6%)

に*CDH23*遺伝子変異を認めている。そこで、本年度は、従来の検査により遺伝子変異の認められなかった先天性難聴患者1845家系に上記の4種類の変異の有無をインベーター法および直接シーケンス法を用いて検証を行い、大規模での正確な遺伝子変異頻度の解析を行った。

また、先天性サイトメガロウイルス感染の検討に関しては、2008年5月から2009年9月の16ヶ月間に当科小児難聴外来を受診し、検査への同意が得られた、難聴以外に明らかな合併症のない、0から12歳の小児感音難聴児90例を対象にした。難聴の診断には標準純音聴力検査、ABR、ASSRを用いた。

90例のうち、両側性が34例、一側性が56例。両側性難聴児は0～11歳(平均年齢3.2歳)で男児22例、女児11例であった。一側性難聴児は0～12歳(平均年齢4.6歳)で男児28例、女児28例であった。難聴の程度としては、一側性高度難聴が47例、一側性軽度～中等度難聴は9例、両側性高度難聴は22例、両側性軽度～中等度難聴は12例であった。

先天性CMV感染症の診断としては、昨年度までに技術基盤を確立した保存臍帯を用いる検査方法を採用した。保存臍帯の一部(5mm片)を採取し、QIAGEN-QIAamp DNA Miniを用いてDNAを抽出、CMV検出用プライマーを用いてPCRを行い、電気泳動にて判定を行い、感染が疑われたものについては直接シーケンスを行って確認した。

CMV検出用プライマーは3種類のCMV UL144領域に設計したプライマーとDNA抽出のクオリティチェックとなるゲノムをターゲットにしたコントロールプライマーを用いた。また、検査時には、ポジティブコントロー

ルとネガティブコントロールを同時に行い、ポジティブコントロールとネガティブコントロールのバンドパターンと比較して判定を行った。

### (3) 先天性難聴の遺伝子診断の臨床応用

昨年度までに遺伝学的検査の Analytic validity : 分析的妥当性、Clinical validity : 臨床的妥当性、Clinical utility: 臨床的有用性、Ethical, legal and social issues : 倫理的法的社会的課題の4つ (ACCE) について十分確認の得られた10遺伝子47変異に関して、平成20年に厚生労働省に先進医療「先天性難聴の遺伝子診断」として申請し承認を受け、具体的に臨床応用を開始した。本年度は、平成20年9月より「先天性難聴の遺伝子診断」を開始した信州大学と平成21年3月より開始した虎の門病院の症例数および結果のとりまとめを行い、診断陽性率、陽性的中率および臨床型との相関に関する検討、臨床的有用性に関する検討を行った。

### (4) サブタイプ分類に基づいたオーダーメイドの療育システムの構築

対象は、①両側感音難聴で補聴器または人工内耳を装用、②5歳までに診断、あるいは難聴を疑うエピソードが確認されている、③診断後、現在まで(過去に)ろう学校または医療機関において指導されている、④純音聴力検査が可能で、言語発達評価を受けた5歳から11歳までの難聴児15名(男子5名、女子9名)を対象にした。

対象児に対して書面で同意を取得後採血を行い、DNAを抽出後に、*GJB2*遺伝子、*CDH23*遺伝子の全エクソン領域およびスプライシ

ング領域をPCR法により増幅し、直接シーケンス法により解析した。また、ミトコンドリア1555A>G変異に関しては、該当領域をPCR法により増幅した後、RFLP法により変異の有無を確認した。また、先天サイトメガロウイルス感染の有無に関しては乾燥臍帯よりDNAを抽出し、PCR法によりサイトメガロウイルスの有無を確認する方法で行った。聴覚の評価としては、対象児が2008年2月から2009年12月までに信州大学医学部附属病院耳鼻咽喉科を受診した際の良聴の純音聴力検査結果(500Hz~4000Hz)から平均聴力を6分法で算出、音場での補聴器または人工内耳装用下の閾値についても便宜上、良聴耳の500Hzから4000Hzまでの値から6分法で平均値を算出した。

言語および認知の発達についての評価に関しては、言語および認知の発達についての評価はWISC-III知能検査を使用した。WISC-IIIは静寂下において1対1で実施した。課題提示はマニュアルに従い、口形を隠さず、音声言語で行った。聞き間違いのあった場合は文字または指文字で提示を行った。

### (倫理面への配慮)

- (1) 遺伝子解析に際しては、研究協力者に対する十分な説明の後、書面で同意を得てから解析を行っている。
- (2) サンプルにはID番号を付加して匿名化することで個人情報の漏洩を防止する手順を遵守して行っている。
- (3) 当該研究課題に関しては信州大学医学部遺伝子解析倫理委員会で審査を受け承認を得ている。

## C. 研究結果および考察

### (1) 原因遺伝子変異に基づく難聴のサブタイプ分類

近年登場した高音急墜型の聴力像を有する難聴患者に対する効果的な治療法である補聴器併用型人工内耳(以下、EAS)の対象となると考えられる高音急墜型難聴について、臨床像(遺伝形式、進行性、発症年齢、既知の原因遺伝子)について検討を行った。

対象は信州大学耳鼻咽喉科教室の難聴遺伝子データベース(現在、4494例)のうち、欧州でのEASの適応基準を満たす高音急墜型難聴症例は139家系151例(全体の約3%)であった。

高音急墜型の聴力像を有する症例の割合は海外での報告の難聴患者全体の2~4%(von Ilberg et al., 1999)とほぼ同程度であった。(ただし、今回の検討には加齢性難聴の症例は含まれていないため、実際の対象患者数は今回の結果より多いと考えられる。)対象聴力像を有する患者の遺伝形式は、家族歴から孤発例もしくは常染色体劣性遺伝と推測される症例が52%、常染色体優性遺伝もしくはミトコンドリア遺伝形式と推測される症例が30%、家系図が不明の症例が18%あり、常染色体劣性遺伝形式の割合が多いことが示唆された(図1)。また、進行性に関しては、問診票ベースにより、進行例が55%、非進行例が30%であり、進行性の難聴例が多いことが明らかとなった(図2)。また、優性遺伝形式と劣性遺伝形式の比較では、進行性の有無の頻度には有為差を認めなかった。発症年齢(難聴診断時年齢)は0~2歳が27%、3~10歳が21%、11~30歳が22%、31~50歳が12%、51歳以上が5%、不明13%であった(図3)。

また、*GJB2* 遺伝子変異、*SLC26A4* 遺伝子変異、ミトコンドリア 1555A>G 変異、*CDH23* 遺伝子変異について解析を行った結果、難聴の原因遺伝子変異が明らかとなった症例は26.6%であり、*GJB2* 遺伝子変異 2.2%、*SLC26A4* 遺伝子変異 7.2%、ミトコンドリア 1555A>G 変異 12.9%、*CDH23* 遺伝子変異 4.3%であった(図4)。また、各遺伝子変異が見いだされた難聴患者母集団の中での高音急墜型の聴力像を呈する難聴患者の割合に関しては、ミトコンドリア 1555A>G 変異例、*CDH23* 遺伝子変異、*SLC26A4* 遺伝子変異例では頻度が高いのに対して *GJB2* 遺伝子変異の場合には対象聴力の患者の割合が少ないことが示された(図5)。

今後さらに検討をおこなうことで、サブタイプ分類に応じた適切な介入に関する研究が進展することが期待される。特に、幼児の聴力を把握する際に用いられる ABR や ASSR などの検査手法では低音域の聴力を正確に測定することが困難であることが明らかと成っているため、今後遺伝学的検査によりあらかじめ低音域の残存聴力が予測される場合には EAS 人工内耳などを選択するなど治療法選択の際の有用な情報となると考えられる。

### (2) 新規難聴原因遺伝子の探索および先天サイトメガロウイルスによる難聴の調査

新規遺伝子変異の探索に関しては、日本人家系より見出された *CDH23* 遺伝子変異のうち、難聴の原因遺伝子変異であることが明らかとなっている4種類:P240L、R301Q、Q1716P、R2029W (Wagatuma et al., 2007) に関して頻度調査を実施した。対象としては、従来検査により遺伝子変異の認めら

れなかった先天性難聴患者 1845 家系に実施した。その結果、この 4 種類の変異解析を実施したところ、劣性ホモ変異 8 検体、劣性コンパウンドヘテロ変異 9 検体、劣性ヘテロ変異 31 検体で変異が認められた。これは難聴患者全体の 2.6%に相当する。現在、臨床症状および家系調査を実施し総合的に評価を行っているところであるが、中間のとりまとめとしては、高音急墜型の聴力像を呈する進行性の難聴を呈することが明確になりつつある。今後、遺伝学的検査によりあらかじめ低音域の残存聴力が予測される場合には EAS 人工内耳などを選択するなどの治療法選択の際の有用であると期待される。

また、認められた原因遺伝子変異の頻度に関しては P240L、R2029W の頻度が多く、R301Q、Q1716P は少ないことが明らかとなった。これは、*CDH23* 遺伝子変異の founder effect (創始者効果) によるものであることが示唆される。また、日本人難聴患者から比較的高頻度で見つかる P240L、R2029W 変異はヨーロッパ・アメリカ人からは見出されないことより日本人の民族的な背景を反映したものであることが示唆された (図 6)。

また、今回の 4 変異の解析によりヘテロ接合体で変異の認められた症例 31、例に関しては、他の変異とのコンパウンドヘテロ例となっている可能性が考えられるため、直接シーケンス法により、*CDH23* 遺伝子の全エクソン解析を進めている。

また、先天性サイトメガロウイルス感染の検討に関しては、乾燥臍帯の収集を開始するとともに、昨年度までに技術確立した乾燥臍帯からの DNA 抽出およびサイトメガロ

ウイルスの検出技術を用いた (図 7)。その結果、両側感音難聴児 34 例中、CMV 陽性は 2 例認められ、6%であった。また、一側性感音難聴 56 例中、CMV 陽性例は 5 例認められ 8.9%であった。また、一側性感音難聴 56 例中、病歴や既感染パターン抗体価から、臨床上 Mumps 感染に関連する難聴が疑われたものを Mumps 疑い例とした。Mumps 疑い例は 4 例あり、7.1%であった。先天性 CMV 感染症が関連難聴の頻度は、本邦での報告は約 5~20%であり、国外での報告では 7~25%とばらつきがある。報告されている先天性 CMV 感染症による難聴の頻度が大きくばらつく理由として、報告によって解析している母集団が、症候群性の難聴を含む場合や先天性の非症候群性難聴に限定した場合など統一されていないことおよび解析対象の人数が少ないことが理由と考えられる。今回我々は先天性感音難聴に限らず、無症候性小児感音難聴について検討を行い、両側性では約 6%、一側性では約 9%の CMV 陽性の結果を得た。

CMV 陽性症例は、両側性・一側性ともに遅発性・進行性の経過が認められ、先天性 CMV 感染症関連難聴の特徴とされている所見が確認された。先天 CMV 感染陽性であった難聴患者の臨床的特徴を症例毎にまとめると以下のものであった。

症例 1、2 は両側高度感音難聴の 2 例であり、特に症例 1 は新生児スクリーニングを PASS しており遅発性であることが確認できている。また症例 2 もエピソードより遅発性、進行性の難聴であることが示唆される。また、2 例とも頭部 MRI では異常所見を認めず、精神発達遅滞や運動発達遅滞は認められていない。2 症例とも難聴の進行

により人工内耳の適応となり、人工内耳埋め込み術を施行、術後の経過は良好である。症例3～7はいずれも一側性難聴で、うち一側性高度難聴が3例、一側性中等度が1例、一側性軽度が1例難聴であった。

これら5例の一側性難聴のうち、2例は新生児スクリーニングをPASSしており、遅発性難聴が考えられた。この2症例については当院小児科より、いずれも軽度の遅発性運動障害の可能性を指摘されており、前庭機能の障害も考えられる。

両側性の難聴と比較した場合、一側性難聴の症例のほうが先天CMV感染陽性の割合が多いが、この理由としては遺伝子の関与する難聴では、基本的に両側性の難聴と成るのに対して、一側性の難聴の場合、遺伝子以外の原因である可能性が高い。従って、一側性難聴の母集団には、先天性CMV感染による難聴や、Mumpsによる難聴の比率が高いとが考えられる。しかしながら、今回見いだされた先天性CMV感染陽性症例において、両側性・一側性の両方が存在し、また難聴の程度も高度、軽度～中等度難聴の症例が含まれており臨床像は多様であるため、慎重な原因診断や経過観察が必要であることが示唆される。

また、今回の検討では、2008年5月の調査開始以前に、新生児スクリーニングで両側難聴を指摘され遺伝子スクリーニングを受け、遺伝子変異の診断を受けている小児は含まれていないため、小児感音難聴児において遺伝子スクリーニング検査と先天性CMV感染症検査を併用することで40～50%の原因診断が可能となると考えられる。今後、診断陽性患者の臨床的特徴をさらに詳細に調べて行くとともに、診断陽性率、診

断的中率などの検査としての信頼性に関する情報を蓄積していき臨床での応用を行う必要がある。

### (3) 先天性難聴の遺伝子診断の臨床応用

昨年度までに遺伝学的検査の

Analytic validity : 分析的妥当性、

Clinical validity : 臨床的妥当性、

Clinical utility : 臨床的有用性、

Ethical, legal and social issues :

倫理的法的社会的課題

の4つ(ACCE)について十分確認の得られた10遺伝子47変異に関して、平成20年に厚生労働省に先進医療「先天性難聴の遺伝子診断」として申請し承認を受け、具体的に臨床応用を開始した。本年度は、平成20年9月より「先天性難聴の遺伝子診断」を開始した信州大学と平成21年3月より開始した虎の門病院の症例数および結果のとりまとめを行い、診断陽性率、陽性的中率および臨床型との相関に関する検討、臨床的有用性に関する検討を行った。

信州大学医学部附属病院において、期間中に先進医療「先天性難聴の遺伝子診断」を受診した難聴患者は52名であり、うち23名(44.2%)に変異が見出された(図8)。

また、虎の門病院において期間中に先進医療を受診した患者数は33名であり、うち15名(45.5%)に変異が認められた(図9)。

信州大学医学部附属病院においても虎の門病院においてもほぼ同一の高い診断率であったため、本検査の有効性が複数の機関で同程度であることが確認されたことより、本遺伝学的検査が本邦において臨床に非常に有用であるというデータが得られたと考えている。また、検出された遺伝

子変異は、*GJB2* 遺伝子変異 24 例、*SLC26A4* 遺伝子変異 8 例、ミトコンドリア 1555A>G 変異 1 例、ミトコンドリア 3243A>G 変異 4 例、ミトコンドリア 8296A>G 変異 1 例であった。昨年度までに、全国の 33 施設と行った多施設共同研のデータと先進医療の結果を比較すると、変異検出率に関しては、昨年度が難聴患者 256 名のうち 89 名 (34.7%) に変異が認められたのに対して、先進医療で実施した場合には約 45% に変異が見いだされており 10% ほど陽性率が高くなっている。これは、昨年度の他施設共同研究の際は難聴全般を対象としたため、後天性の非遺伝要因による難聴患者が含まれることで、陽性率が低くなっていたと考えられ、昨年度のデータも発症年齢が 6 歳以下の先天性難聴患者に限ると検出率は 44.7% であり、先進医療と同程度であることが確認された。以上のように信州大学医学部附属病院と虎の門病院の 2 機関で有効性が確かめられたことより、本検査が日本人難聴患者のスクリーニング検査として非常に有用であることが明らかとなった。また、虎の門病院に引き続き岡山大学附属病院、宮崎大学附属病院でも先進医療としての実施が承認され今後症例のさらなる増加が見込まれる。また、遺伝子検査などの希少な検体検査を外部施設（既に先進医療を実施している施設）に委託して実施することが昨年 4 月の先進医療専門家会議で認められたため、北海道大学医学部附属病院と信州大学医学部附属病院との共同実施による先進医療を厚生労働省に申請し、本年 3 月に承認を受けて実施の準備を進めている状況であり、当初の目的である、臨床の現場で日常的に利用可能な

診断ツールとしての遺伝子診断を定着させることが出来たと考えられる。

また、共同研究施設を中心に「第 1 回 難聴遺伝子の研究会」を開催し、遺伝子検査の有用性・問題点に関する検討を行なった。

#### (4) サブタイプ分類に基づいたオーダーメイドの療育システムの構築

遺伝学的検査の結果、9 名に *GJB2* 遺伝子、*CDH23* 遺伝子の変異が同定された。この 9 名を原因遺伝子変異特定群（以下、特定群）とし、サイトメガロウイルス感染、髄膜炎など他の疾患が難聴の原因である対象児を含め、*GJB2* 遺伝子、*CDH23* 遺伝子、ミトコンドリア 1555A>G のいずれにも変異が特定されなかった 6 名を原因遺伝子変異非特定・非遺伝性難聴群（以下、非特定群）とした。

言語および認知の発達についての評価として、特定群、非特定群の WISC-III の成績の平均を比較した結果、動作性 IQ は両群とも健聴児の平均的なレベルと同程度であり、かつ有意差が認められなかった。一方、言語性 IQ に関しては、特定群の方が成績が有為に高いことが明らかとなった。また、群指数や下位検査項目も同様に特定群と非特定群の比較を行い、同様に言語理解など言語の発達を示す指標でのみ有為差を認めた。今回の対象症例は全例とも、聴覚的な機能に依存しない動作性の検査項目に関連した項目では差が認められないため、特定群と非特定群で言語性 IQ に有為差が認められたのは、全体的な発達の遅れにより言語発達が遅れているのではなく、難聴が起因となって言語発達に遅れが生じていることが示された (図 10)。

特定群と非特定群の言語成績の間に有意差が認められた原因として、*GJB2*遺伝子、*CDH23*遺伝子の変異が直接脳機能に影響を及ぼしているとは考えにくいことより、遺伝子変異による難聴とその他の難聴では、難聴の程度や進行性などの臨床症状が異なるために、その違いにより言語成績に差が生じていると考える方が妥当である。そこで、両群の発症年齢、診断時年齢、補聴器開始年齢を比較した。その結果、特定群の方が、早期に難聴の診断がされており、また早期に補聴器装用を開始していることが明らかとなった。また、特定群、非特定群の間で有意差が認められたWISC-IIIの成績と、発症年齢、補聴器開始年齢といった因子との間には有意な相関が認められた(図11)。そのため、このような言語成績に影響を与える因子が等しくなるように成績の補正を行ったところ、両群間に有意差は認められなくなった。

一般的に特定群は、難聴が重度かつ先天発症であるケースが多いのに対し、非特定群では、後天性の難聴や進行性の難聴、軽度～中等度の難聴が含まれているケースが多いため、非特定群よりも難聴の発見や診断が早く、補聴や療育など介入の開始が早まるため、結果的に言語成績の伸びにつながったと考えられる。従って予測通り、遺伝子変異による難聴の臨床症状(重症度や進行性、発症時期)が、により早期介入が行われ、結果として言語成績が非特定群よりも高いことが明らかとなった。

また、健聴群との比較より、WISC-IIIにおける言語性検査の成績は、特定群、非特定群ともに有意に低いことが明らかとなった。このことより、健聴児が聴くことで獲得す

る語彙や知識、言語による概念化、推理し表現する力を獲得することが早期からの介入があっても困難であることを示している。今後これらの能力を伸ばすためのハビリテーションの効果に関して検討を進める必要がある。

#### D. 結論

平成21年度は今までに集められた約4000人(1500家系)の難聴患者とその家族に関して、EAS(補聴器併用型)人工内耳の適応となる遺伝性難聴患者の遺伝的背景に関する調査を行った。その結果、欧州でのEASの適応基準を満たす高音急墜型難聴症例は139家系151例(全体の約3%)であった。また、対象聴力像を呈する症例のうち、難聴の原因遺伝子変異が明らかとなった症例は26.6%であり、*GJB2*遺伝子変異2.2%、*SLC26A4*遺伝子変異7.2%、ミトコンドリア1555A→G変異12.9%、*CDH23*遺伝子変異4.3%であった。今後さらに検討をおこなうことで、サブタイプ分類に応じた適切な介入に関する研究が進展することが期待される。

また、新規難聴原因遺伝子の解析に先天サイトメガロウイルス感染による難聴の検査を組み合わせることで、診断率をより向上させることを目的に、新規の難聴原因遺伝子変異の候補として*CDH23*遺伝子の解析を行った。当研究室で従来報告した日本人家系より見出された*CDH23*遺伝子変異4種類(Wagatuma et al., 2007)の頻度調査を、従来の検査により遺伝子変異の認められなかった先天性難聴患者1845例に実施した。その結果、劣性ホモ変異8検体、劣性コンパウンドヘテロ変

異 9 検体、劣性ヘテロ変異 31 検体で変異が認められた。これは難聴患者全体の 2.6%に相当する。また先天性サイトメガロウイルス感染の検討に関しては、乾燥臍帯の収集を開始するとともに、非症候群性の難聴患者(両側感音難聴児 34 例中、2 例 (6%)・一側性感音難聴 56 例中 5 例 (8.9%) )であった。また、平成 20 年に厚生労働省に申請し承認を受け臨床応用を具体的に開始した先進医療「先天性難聴の遺伝子診断」に関して結果のとりまとめを行った。その結果、期間中に信州大学医学部附属病院、虎の門病院の 2 施設併せて 85 例の実施があり 45%の患者から遺伝子変異が検出された。従って、先進医療の実施においても共同研究時とほぼ同程度の有効性が認められた。先進医療と、本研究の成果である遺伝学的検査と CMV 検査を組み合わせることで小児感音難聴の 50~60%難聴の診断が可能になりうると予想される。

今後、難聴の遺伝子診断を従来の聴力検査と組み合わせることで、より正確に、より早期に聴力の程度を予測することが可能になることが期待される。また、遺伝子診断を組み合わせるによって、難聴をサブタイプに分類することが可能となり、サブタイプごとに適切なフォローアップや適切な介入法などのオーダーメイド医療の実現につながることを期待される。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

#### 1. 論文発表

- 1) Tsukada K, Nishio S, Usami S. A large cohort study of GJB2 mutations in Japanese hearing loss patients. Clin. Genet. 2010 (in press)
- 2) Usami S, Miyagawa M, Suzuki N, Moteki H, Nishio S, Takumi Y, Iwasaki S. Genetic background of candidates for EAS (electric acoustic stimulation). Audiological Medicine. 2010 in press.
- 2) Lu SY, Nishio S, Tsukada K, Oguchi T, Kobayashi K, Abe S, Usami S. Factors that affect hearing level in individuals with the mitochondrial 1555A>G mutation. 2009 May;75(5):480-4.
- 3) 宇佐美真一 難聴とウイルス感染 MB ENT 99:8-16, 2009
- 4) 宇佐美真一 先天性難聴 小児科 50:1182-1185, 2009
- 5) 武市紀人、柏村正明、中丸裕爾、津府久崇、福田諭、鈴木美華、宇佐美真一 難聴遺伝子診断が有用であった人工内耳一症例 Audiology Japan 52: 214-219, 2009
- 6) 宇佐美真一 薬剤と遺伝子 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 81: 759-767 2009
- 7) 宇佐美 真一 予防医学からみた遺伝性難聴 JOHNS 25: 1719-1723 2009

#### 2. 学会発表

- 1) 菊池景子, 塚田景大, 長井今日子, 宇佐美真一, 難聴患者におけるプレスチン遺伝子の変異解析, 日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会, 東京 (2009年5月)



- 2) 宇佐美真一, 遺伝性難聴の診断と取り扱い, 第 71 回耳鼻咽喉科臨床学会, 旭川 (2009 年 7 月)
- 3) 古舘佐起子, 茂木英明, 鬼頭良輔, 菊池景子, 工 穰, 宇佐美真一, 人工内耳埋め込み術を行った無症候性先天サイトメガロウイルス-難聴児の 2 症例-, 第 71 回耳鼻咽喉科臨床学会, 旭川 (2009 年 7 月)
- 4) 宇佐美真一, 難聴の遺伝子診断, 日本人類遺伝学会第 54 回大会, 東京 (2009 年 9 月)
- 5) 宇佐美真一, 鈴木伸嘉, 茂木英明, 工 穰, 人工内耳手術における残存聴力保存の試み, 第 19 回日本耳科学会総会学術講演会, 東京 (2009. 10 月)
- 6) 橋本繁成, 鈴木伸嘉, 西尾信哉, 宇佐美真一, 新規難聴候補遺伝子 ATPase, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>transporting, alpha2(+) polypeptide (ATP1A2) 変異の機能解析, 第 19 回日本耳科学会総会学術講演会, 東京 (2009. 10 月)
- 7) 古舘佐起子, 茂木英明, 西尾信哉, 工 穰, 宇佐美真一, 小児感音難聴における無症候性先天性サイトメガロウイルス感染の関与について, 第 19 回日本耳科学会総会学術講演会, 東京 (2009. 10 月)
- 8) 塚田景大, 鈴木宏明, 工 穰, 宇佐美真一, 両側進行性感音難聴患者における遺伝的背景についての検討, 第 54 回日本聴覚医学会総会学術講演会, 横浜 (2009 年 10 月)
- 9) 宮川麻衣子, 鈴木伸嘉, 茂木英明, 工 穰, 宇佐美真一, 高音急墜型/高音漸傾型感音難聴症例の臨床像と遺伝的背景, 第 54 回日本聴覚医学会総会学術講演会, 横浜 (2009 年 10 月)
- 10) 北野庸子, 宇佐美真一, 工 穰, 茂木英明, 鈴木美華, 前田麻貴, 信州大学病院人工内耳センターにおける早期ハビリテーション-前言語聴覚学習プログラムの実施とその評価-, 第 54 回日本聴覚医学会総会学術講演会, 横浜 (2009 年 10 月)
- 11) 鈴木美華, 茂木英明, 工 穰, 宇佐美真一, 内藤泰, 前田麻貴, 北野庸子, 遺伝子と脳機能が評価できた人工内耳装用児のコミュニケーション行動と発生の変化, 第 54 回日本聴覚医学会総会学術講演会, 横浜 (2009 年 10 月)
- 12) 茂木英明, 古舘佐起子, 鬼頭良輔, 工 穰, 宇佐美真一, 小児一側性難聴 120 例の検討, 第 54 回日本聴覚医学会総会学術講演会, 横浜 (2009 年 10 月)
- 13) 宇佐美真一, 難聴の遺伝子診断の現況, 第 1 回難聴遺伝子の研究会, 横浜 (2009 年 10 月), 第 54 回日本聴覚医学会総会学術講演会, 横浜 (2009 年 10 月)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

図1 高音急墜型の聴力像を呈する難聴患者の遺伝形式

(Usami et al., 2010 より改変)

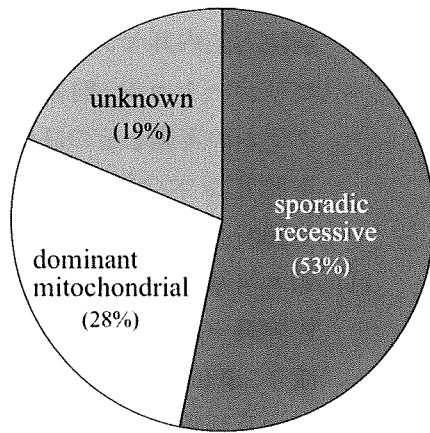


図2 難聴患者全体 (2587 例) と高音急墜型の聴力像を呈する難聴患者 (139 例) の進行性の比較 (Usami et al., 2010 より改変)

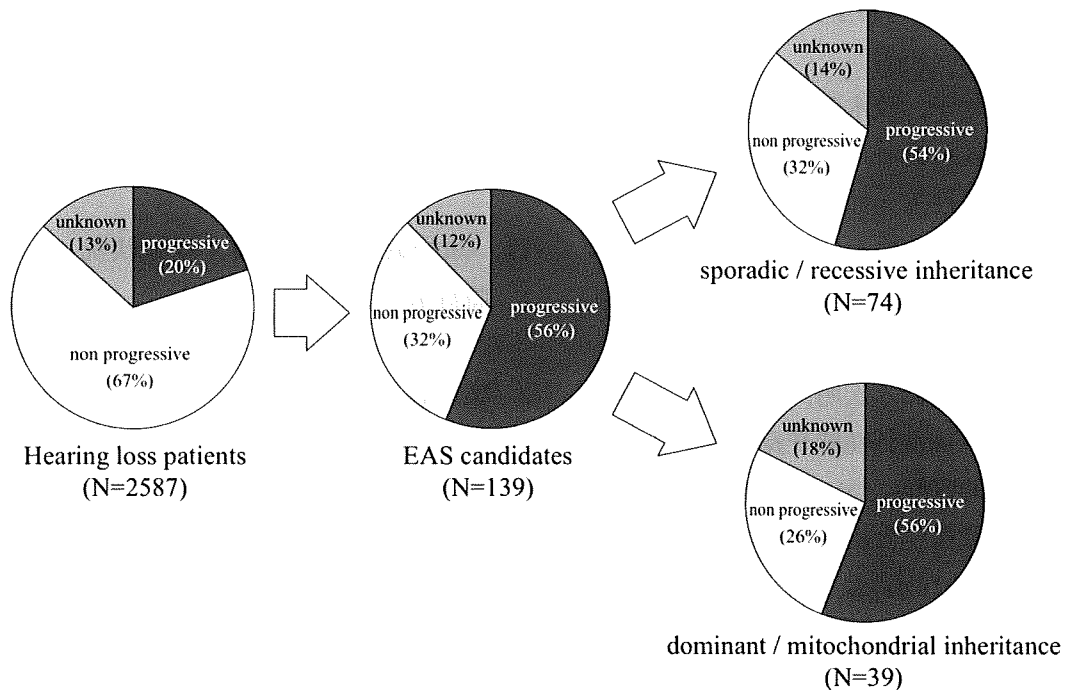


図3 遺伝形式別に見た高音急墜型の聴力像を呈する難聴患者の発症年齢  
(難聴診断時年齢) (Usami et al., 2010 より改変)

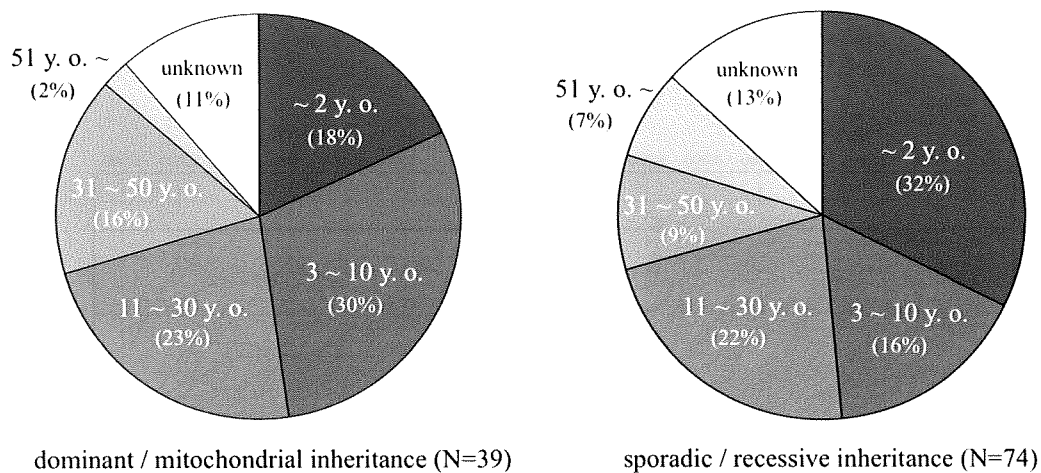


図4 遺伝形式別に見た高音急墜型の聴力像を呈する難聴患者 (139例) に認められる  
難聴原因遺伝子変異の種類と割合 (Usami et al., 2010 より改変)

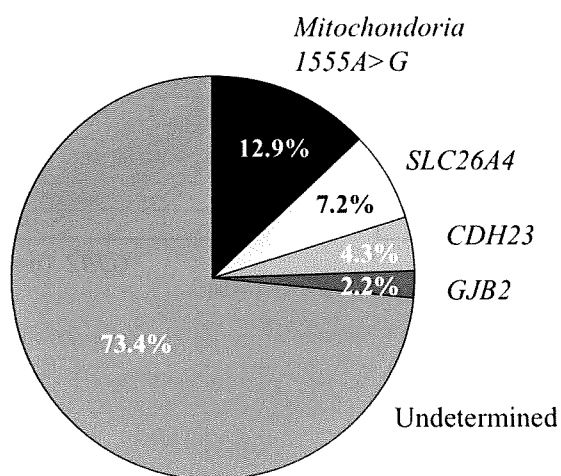


図5 難聴原因遺伝子変異の種類別に見た重ね合わせオーディオグラム  
 高音急墜型聴力像を呈する難聴患者を赤色でその他の難聴患者のオーディオグラム  
 を黒色で示す。(Usami et al., 2010)

