

報告された、④側頭骨病理が報告された、など脚光を浴びるようになったのである。

乳幼児の症例に新たな問題がわかった。

DPAOE が正常で ABR が無反応であった症例では、その後消失する例があることである。そのような場合は補聴器や人工内耳埋込術が効果的である。しかし、最初の DPOAE は本当に真の反応であるかどうか迷うことが多い。小児神経学的には auditory verbal agnosia に類似しているという報告もある。

小児の Auditory neuropathy に補聴器ではなく、人工内耳埋込術が聴覚の獲得のために効果的という報告が多い。

現在、海外では人工内耳を使用した報告が少なくないが、わが国では小児のこのような人工内耳の報告はわれわれの報告を含む数例があるにすぎない。一方、Manson は、幼児、成人 4 例の病因の異なる症例に対して人工内耳埋込術を行い、良い成績の理由として dyssynchrony 状態の蝸牛神経に人工内耳により電気刺激を与えることで synchronous neural activity をもたらすためであろうと考察している。

本疾患について遺伝子解析をはじめに行ったのは Verga と Starr らである。非症候群性劣性型 auditory neuropathy と呼ばれる非症候群性の劣性遺伝型難聴のユニークなタイプの 4 家系を調べ、共通して Otoferlin (*OTOF*) gene を見出した。*OTOF* はもともと非症候群性劣性遺伝子難聴の原因遺伝子 *DFNB9* として知られていたものである。Otoferlin は、成体マウスでは内有毛細胞に発現されているタンパクで、シナプス小胞のシナプス前膜への結合に関与する遺伝子といわれている。

本疾患はまだまだ不明な点が多く、今後の解明が期待される。ただし、近年の報告は真の Auditory neuropathy か疑問の症例の報告が多いので注意を要する。そのような報告は Bendo Auditory Neuropathy と呼ぶことにした。確定診断には蝸電図が必要である。

E. 結論

幼児の先天性 Auditory Neuropathy 症例に対し、人工内耳手術を行った結果、術前の補聴器装用では効果がなかったが、聴覚も言語の発達も著しく改善した。

F. 危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Kaga K, Starr A: Neuropathies of the auditory and vestibular eighth cranial nerves. Springer. 2009.

加我君孝 : Auditory nerve disease あるいは Auditory neuropathy. 医学のあゆみ p.219 2009

2. 学会発表

安達のどか、井上雄太、浅沼聡、坂田英明、山唄達也、加我君孝 : NHS refer 児における Auditory Nerve Disease (AN) の頻度の検討. 第 4 回日本小児耳鼻咽喉科学会総会. 名古屋. 2009.6.27

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Matsunaga T	Trends in genetic research on auditory neuropathy.	Kaga K, Starr A (Eds)	Neuropathies of the Auditory and Vestibular Eighth Cranial Nerves	Springer	London	2009	43-50
松永達雄	中等度難聴の遺伝子	加我君孝、内山勉、新正由紀子	小児の中等度難聴ハンドブック	金原出版	東京	2009	51-57

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Matsunaga T	Value of genetic testing in the otological approach for sensorineural hearing loss.	Keio J Med	58(4)	216-222	2009
泰地秀信、守本倫子、南修司郎	新生児聴覚スクリーニング偽陰性例についての検討	小児耳鼻咽喉科	30	47-53	2009
泰地秀信、守本倫子、松永達雄	Auditory neuropathy spectrum disorderの乳幼児期におけるASSR閾値	Audiology Japan	53 (1)	76-83	2010

IV. 研究成果の刊行物・別刷

1. 論文
2. 書籍
3. 別刷
4. 講演要旨
5. その他

Trends in Genetic Research on Auditory Neuropathy

Tatsuo Matsunaga

Summary

Various etiologies of auditory neuropathy (AN) have been reported, including genetic causes. Genes such as *OTOF* and *pejvakin* cause AN without other associated symptoms, that is, nonsyndromic auditory neuropathy. Syndromic AN, in which AN is associated with other related symptoms, has been frequently reported in hereditary neurological disorders such as Charcot–Marie–Tooth disease and mitochondrial disease. In these neurological disorders, specific genes and mutations that are related to AN are being revealed. AN may be caused by dysfunction of synapses in inner hair cells. For an example, function of inner hair cells is impaired but that of spiral ganglion cells is maintained in knockout mice of the *OTOF* gene. This finding implies that surgery for cochlear implants may be indicated in patients with AN caused by *OTOF* gene mutations because the spiral ganglion cells are preserved.

Key words Auditory neuropathy, Cochlea, Spiral ganglion, Hereditary hearing loss, Genetic test

History of Genetic Research on Auditory Neuropathy

Auditory neuropathy (AN) is a novel clinical concept of auditory disorder that is distinguished from general sensorineural hearing loss and is characterized by audiological test results indicating normal function of outer hair cells and impairment of auditory neurons [1,2]. Various causes have been reported for AN. In approximately half of AN patients, hearing loss is syndromic as a part of symptoms associated with known causes such as hyperbilirubinemia, anoxia, viral infection, high

Laboratory of Auditory Disorders, National Institute of Sensory Organs, National Tokyo Medical Center, 2-5-1 Higashigaoka, Meguro-ku, Tokyo 152-8902, Japan

Table 1. Genetic causes related to nonsyndromic auditory neuropathy (AN)

Autosomal recessive	<i>OTOF</i> <i>Pejvakin</i> <i>GJB2</i>
Autosomal dominant	AUNA1 locus (13q14–21)
X related	AUNX1 locus (Xq23–27.3)
Mitochondrial	T1095C in 12S ribosomal RNA

fever, hereditary neurological disorders, and immunological disorders [3]. In the other half, hearing loss is nonsyndromic, that is, the symptom is isolated. In some of the latter patients, autosomal recessive inheritance has been noted. Recently, *OTOF* gene mutations were found as the cause of such autosomal recessive nonsyndromic AN [4]. Then, various mutations, genes, or loci such as the *pejvakin* gene [5], *GJB2* gene, T1095C mutation in mitochondrial 12S ribosomal RNA gene, and AUNA1 locus (13q14–21), were also found to be related to nonsyndromic AN (Table 1).

Some types of hereditary neurological disorders are known to be associated with AN, and these include Charcot–Marie–Tooth disease, Friedreich’s ataxia, Refsum syndrome, Mohr–Tranebjaerg syndrome, mitochondrial disease, and autosomal dominant optic atrophy (ADOA). Recent progress in genetics has changed the classification of these neurological disorders. Details about subtypes of neurological disorders in association with AN are now becoming clear. As an instance, *peripheral myelin protein 22 (PMP22)*, *myelin protein zero (MPZ)*, *gap junction protein beta-1 (GJB1)*, *early growth response 2 (EGR2)*, and *N-myc downstream regulated gene (NDRG1)* were found as the genes causing Charcot–Marie–Tooth disease [6]. *PMP22*, *MPZ*, and *NDRG1*, at least, have been reported to be associated with AN.

Epidemiology of Genetic AN

The prevalence of AN in children with severe or profound hearing loss has been reported to be 7% to 15%. AN occurs in bilateral ears in most patients. According to a study about the causes of AN, 42% of patients are associated with hereditary neurological disorders, 10% with toxic, metabolic, immunological, and infectious causes (anoxia, hyperbilirubinemia, drug reaction, demyelination, viral infection), and 48% with no known causes [3]. Many nonsyndromic AN cases with no known causes probably have a genetic basis. The inheritance pattern of such AN is mostly sporadic or autosomal recessive [4], rarely X-linked or autosomal dominant.

Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment for Genetic AN

Pathophysiology

Because AN is diagnosed on the basis of audiological test results showing normal function of outer hair cells and impairment of auditory neurons, the pathophysiology of AN may be impairment of synapses in inner hair cells, auditory neurons, or both. In addition, impairment of central auditory pathways may be associated with such disorders. Hearing loss caused by impairment of inner hair cells is not compatible with the term “auditory neuropathy.” However, impairment of inner hair cells is usually referred to as auditory neuropathy because current clinical tests cannot discriminate impairment of synapses in inner hair cells and auditory neurons.

Among nonsyndromic AN, some mutations in the *OTOF* gene cause impairment of inner hair cells [7], some mutations in the *pejvakin* gene may cause impairment of the organ of Corti and peripheral and central auditory neurons [5], and some mutations in the *GJB2* gene may cause impairment of inner hair cells and nerve endings beneath the hair cells. Among syndromic AN, studies on temporal bones from Friedreich’s ataxia and Charcot–Marie–Tooth disease showed degeneration of spiral ganglion cells with or without degeneration of inner hair cells and demyelination of auditory neurons. A recent study on the temporal bones from an AN patient having a mutation in the *MPZ* gene revealed prominent loss of spiral ganglion cells and auditory neurons, and incomplete remyelination, as well as almost normal inner and outer hair cells. In this patient, detailed audiological evaluation demonstrated that hearing loss is mainly caused by decreased auditory input through a diminished number of auditory neurons [8].

Diagnosis

In clinical diagnosis of genetic AN, patients first undergo audiological evaluation to detect AN, followed by otological, genetic, and neurological evaluation of the etiology of AN. For audiological evaluation, diagnosis of sensorineural hearing loss is made by pure tone audiometry. A loss of speech comprehension that is out of proportion with pure tone hearing thresholds raises a suspicion of AN. Identification of preserved outer hair cell function by transient evoked otoacoustic emissions (TEOAE) or distortion product otoacoustic emissions (DPOAE), and confirmation of absent or prominently abnormal auditory brainstem response (ABR), lead to the diagnosis of AN. For diagnosis of etiology, patients or parents of AN children are first carefully asked about nongenetic factors, that is, risk factors during pregnancy, delivery, and neonatal and infantile periods such as anoxia, hyperbilirubinemia, prematurity, low birth weight, use of drugs, demyelinating disorders, or viral infection. Then, hereditary neurological disorders such as Charcot–Marie–Tooth disease,

Friedreich's ataxia, and mitochondrial disease are evaluated by neurological examination to make diagnosis of syndromic AN or nonsyndromic AN. Genetic tests for appropriate genes are conducted to identify genetic cause after obtaining informed consent.

Treatment

There has been no fundamental treatment for AN. Thus, auditory rehabilitation using hearing aids or cochlear implants plays a central role for most AN patients. However, hearing aids are not as effective in AN patients compared to non-AN patients with equivalent level of pure tone thresholds because of poor speech comprehension, which is a characteristic feature of AN. Furthermore, in general, cochlear implants have also been thought to be ineffective for AN patients because auditory neurons cannot respond correctly upon stimulation. However, this is not the case for AN caused by *OTOF* gene mutations because the auditory neurons are normal in this type of AN. Theoretically, a cochlear implant, which directly stimulates auditory neurons within the cochlea, should be effective in AN caused by *OTOF* gene mutations. In fact, successful results of cochlear implants have been reported in this type of AN [4,9]. Cochlear implant was also reported to be effective for a family with AN mapping to the AUNA1 locus.

Representative Genes Causing Nonsyndromic Auditory Neuropathy

OTOF Gene

The *OTOF* gene is the first gene identified as the cause of nonsyndromic AN. The *OTOF* gene was originally found as a locus (DFNB9: 2p22–23) that is linked to autosomal recessive, congenital, severe to profound hearing loss. Then, it was identified as a gene coding the cell membrane protein otoferlin, which is expressed in the cochlea, vestibule, and brain [10]. *OTOF* consists of 48 exons, and has multiple isoforms, by alternative splicing combined with the use of several translation initiation sites. Otoferlin belongs to a family of membrane-anchored cytosolic proteins containing six repeats of a structural module that binds calcium (the C2 domain), and they are involved in vesicle membrane fusion.

Mutant mice lacking otoferlin are profoundly deaf, with no detectable ABR across all sound frequencies tested. However, DPOAE show that outer hair cell function is maintained, as was seen in human AN patients. In these mice, the structure of the inner ear including hair cells and spiral ganglion cells is normal, but complete abolition of inner hair cell synaptic exocytosis in response to cell depolarization is detected, which is consistent with a failure of inner hair cell neurotransmitter release.

Genetic tests of *OTOF* gene were conducted in 65 American families with autosomal recessive nonsyndromic hearing loss, including 9 families with AN. Eight mutations that were related to hearing loss were found in 6 families, including 5 families with AN. One of these families, which had the I515T mutation, showed temperature-sensitive AN in which hearing loss is aggravated with elevation of body temperature and returns to mild hearing loss with normalization of the temperature. A nonsense mutation Q829X in *OTOF* gene was first identified in a Spanish population and was found in approximately 3% of autosomal recessive hearing loss in Spanish children, making it the third most frequent mutation in this population [11]. Later studies in other populations showed that the Q829X mutation also caused dysfunction of outer hair cells. Thus, it is necessary to explore the significance of this frequent mutation in both AN and non-AN sensorineural hearing loss.

Pejvakin gene

Pejvakin gene is the second gene to be identified as the cause of nonsyndromic AN [5]. This gene was identified in the DFNB59 (2q31.1-q31.3) locus by linkage analysis in two Iranian families with autosomal recessive, severe to profound, congenital hearing loss, in which T54I and R183W missense mutations were detected. *Pejvakin* protein consists of 352 amino acids, but its function has been unknown. *Pejvakin* protein is localized in the cochlear hair cells, supporting cells, spiral ganglion cells, and the first three relays of the central auditory pathway. On the other hand, dysfunction of outer hair cells was reported in a Moroccan family with insertion of T at 113–114 as well as in a Turkish family with homozygous nonsense mutation R167X and another Turkish family with homozygous missense mutation R183W which is the same mutation as in the Iranian family with non-syndromic AN. Furthermore, mutant mice that have an abnormal *pejvakin* gene demonstrated progressive hearing loss with or without the loss of otoacoustic emissions (OAE), depending on the mutation introduced in the *pejvakin* gene. These findings indicate that the *pejvakin* gene may cause both AN and non-AN sensorineural hearing loss, depending on the type of mutation and different background factors.

Representative Genes Causing Syndromic Auditory Neuropathy

Charcot–Marie–Tooth Disease

Charcot–Marie–Tooth disease is the most common hereditary peripheral neuropathy, characterized by slowly progressive weakness, muscle atrophy, and sensory impairment, all most marked in the distal part of the legs. Charcot–Marie–Tooth disease is classified into subtypes based on clinical features and causative genes, and hearing loss has been known to be associated with some of these

subtypes. Recently, AN was found in some of such Charcot–Marie–Tooth disease patients with hearing loss and established as a syndromic AN. The following three subtypes of Charcot–Marie–Tooth disease have been reported in association with syndromic AN.

Mutations in *PMP22* genes cause the CMT1A subtype of Charcot–Marie–Tooth disease, which shows autosomal dominant inheritance. PMP22 protein encoded by *PMP22* gene is a cell membrane protein that consists of approximately 5% of components of myelin sheath. AN has been reported in an American CMT1A family in which the A67P mutation was identified [12].

Mutations in the *MPZ* gene cause the CMT1B subtype of Charcot–Marie–Tooth disease, which shows autosomal dominant inheritance. MPZ protein coded by *MPZ* gene is a glycoprotein specific to Schwann cells, consists of approximately 50% myelin sheath components, and constitutes the myelin sheath as a complex with myelin basic protein and PMP22 protein. AN with an onset after 40 years of age has been reported in an American CMT1B family in which the Y145S mutation was identified. A study of temporal bone pathology in one member of this family revealed prominent loss of spiral ganglion cells and auditory neurons as well as well-preserved inner and outer hair cells [8].

Mutation in the *NDRG1* gene causes the CMT4D subtype of Charcot–Marie–Tooth disease, which shows autosomal recessive inheritance [13]. The *NDRG1* gene is highly expressed in Schwann cells and is expected to play a role in inhibition of mitosis and promotion of differentiation. R148X mutation in the *NDRG1* gene was identified in many European families in which AN was also found. In a CMT4D family, 25 of 39 family members complained of hearing loss that developed between 13 and 26 years of age.

Autosomal Dominant Optic Atrophy (ADOA) with Sensorineural Deafness

ADOA is a dominantly inherited disorder characterized by symmetrical optic atrophy, central visual impairment, and color vision defect. Although ADOA generally appears as an isolated disorder, it is sometimes associated with sensorineural deafness. Furthermore, some ADOA patients may be associated with not only sensorineural deafness but also several other phenotypes such as ataxia and peripheral neuropathy. Mutations in the *OPA1* gene have been found in a majority of patients with ADOA, and such mutations have also been reported in ADOA with sensorineural deafness and ADOA with deafness and other phenotypes.

The *OPA1* gene encodes a dynamin-related GTPase, which is targeted to mitochondria by an N-terminus import sequence motif and is anchored to the inner ear membrane facing the intermembrane space [14,15]. OPA1 protein is involved in the regulation of mitochondrial fusion and remodeling of mitochondrial cristae, the apoptotic process through the control of cytochrome C redistribution, and the

maintenance of mitochondrial DNA [16]. The OPA1 protein is expressed in all tissues examined, but most strongly in the retina and brain. In the ear, OPA1 protein was found to be widely expressed in the sensory and neural cochlear cells. Although the exact pathological mechanism is unknown, an abnormality of the OPA1 protein may cause an abnormality of the mitochondria, leading to insufficient energy support. This lack could then result in a dysfunction of axoplasmic transport in the nerve fibers.

In patients with ADOA and sensorineural deafness, AN was first identified in two subjects by audiological evaluation including OAE and ABR in a study of five subjects from four families having this disorder [17]. Skin fibroblasts from these subjects showed hyperfragmentation of the mitochondrial network, decreased mitochondrial membrane potential, and ATP synthesis defect, indicating that AN in these patients may be related to energy defects caused by a fragmented mitochondrial network.

References

1. Kaga K, Nakamura M, Shinogami M, et al (1996) Auditory nerve disease of both ears revealed by auditory brainstem responses, electrocochleography and otoacoustic emissions. *Scand Audiol* 25:233–238
2. Starr A, Picton TW, Sininger Y, et al (1996) Auditory neuropathy. *Brain* 119:741–753
3. Starr A, Sininger YS, Pratt H, et al (2000) The varieties of auditory neuropathy. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 11:215–230
4. Varga R, Kelley PM, Keats BJ, et al (2003) Non-syndromic recessive auditory neuropathy is the result of mutations in the otoferlin (OTOF) gene. *J Med Genet* 40:45–50
5. Delmaghani S, del Castillo FJ, Michel V, et al (2006) Mutations in the gene encoding pejva-kin, a newly identified protein of the afferent auditory pathway, cause DFNB59 auditory neuropathy. *Nat Genet* 38:770–778
6. Boerkoel CF, Takashima H, Garcia CA, et al (2002) Charcot-Marie-Tooth disease and related neuropathies: mutation distribution and genotype-phenotype correlation. *Ann Neurol* 51:190–201
7. Roux I, Safieddine S, Nouvian R, et al (2006) Otoferlin, defective in a human deafness form, is essential for exocytosis at the auditory ribbon synapse. *Cell* 127:277–289
8. Starr A, Michalewski HJ, Zeng F, et al (2003) Pathology and physiology of auditory neuropathy with a novel mutation in the MPZ gene (Tyr145->Ser). *Brain* 126:1604–1619
9. Rouillon I, Marcolla A, Roux I, et al (2006) Results of cochlear implantation in two children with mutations in the OTOF gene. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 70:689–696
10. Yasunaga S, Grati M, Cohen-Salmon M, et al (1999) A mutation in OTOF, encoding otoferlin, a FER-1-like protein, causes DFNB9, a nonsyndromic form of deafness. *Nat Genet* 21:363–369
11. Migliosi V, Modamio-Hoybjor S, Moreno-Pelayo MA, et al (2002) Q829X, a novel mutation in the gene encoding otoferlin (OTOF), is frequently found in Spanish patients with prelingual non-syndromic hearing loss. *J Med Genet* 39:502–506
12. Kovach MJ, Lin J, Boyadjiev S, et al (1999) A unique point mutation in the PMP22 gene is associated with Charcot-Marie-Tooth disease and deafness. *Am J Hum Genet* 64:1580–1593
13. Kalaydjieva L, Gresham D, Gooding R, et al (2000) N-myc downstream-regulated gene 1 is mutated in hereditary motor and sensory neuropathy-Lom. *Am J Hum Genet* 67:47–58

14. Delettre C, Lenaers G, Griffoin J, et al (2000) Nuclear gene OPA1, encoding a mitochondrial dynamin-related protein, is mutated in dominant optic atrophy. *Nat Genet* 26:207–210
15. Alexander C, Votruba M, Pesch UEA, et al (2000) OPA1, encoding a dynamin-related GTPase, is mutated in autosomal dominant optic atrophy linked to chromosome 3q28. *Nat Genet* 26:211–215
16. Zeviani M (2008) OPA1 mutations and mitochondrial DNA damage: keeping the magic in shape. *Brain* 131:314–317
17. Amati-Bonneau P, Guichet A, Olichon A, et al (2005) OPA1 R445H mutation in optic atrophy associated with sensorineural deafness. *Ann Neurol* 58:958–963

8. 中等度難聴の遺伝子

はじめに

中等度難聴をもつ患者は、小児期には言語発達、学習、友人関係などにおいて、成人してからは職場や地域における社会生活などにおいて、さまざまな困難を経験している。そして、その困難は、高度難聴の患者の場合とは異なる性質の場合も多い。中等度難聴の患者に対して適切な診療を行ううえで、その原因を理解することは重要なワンステップである。先天性難聴の約50~70%が遺伝性難聴であり^{1,2)}、小児の中等度難聴においても遺伝は重要な原因の1つである。難聴に対する遺伝子検査、遺伝子診断、遺伝カウンセリングは、既に一部の施設で行われており^{3~5)}、今後、中等度難聴の診療においても、遺伝子の理解がより求められていくと考えられる。

1 難聴遺伝子とその分類

先天性の遺伝性難聴は、約30%が難聴以外にも症状を伴う症候群性難聴であり、それ以外の約70%は難聴のみを症状とする非症候群性難聴である。また、非症候群性難聴の約80%は常染色体劣性遺伝で、約20%は常染色体優性遺伝、そしてごく一部がX連鎖遺伝あるいはミトコンドリア遺伝である⁶⁾。遺伝形式別の臨床像の特徴としては、劣性遺伝では、親類に患者以外に難聴者が全くいないか、兄弟姉妹の難聴例で、先天性の比較的高度の難聴の場合が多い。優性遺伝では、家系内の各世代に難聴者がいて、難聴は進行性の場合が多い。X連鎖遺伝では、男児のみが難聴、あるいは女兒と比べて男児の難聴が高度の場合が多い。ミトコンドリア遺伝では、母方の家系に難聴者がいる進行性難聴が典型的である。

2 難聴の遺伝子診断

1) 症候群性難聴

難聴以外にも症状を伴う症候群性難聴では、その症状の組み合わせから症候群の臨床診断が可能である場合が多い。しかし、難聴以外の症状が乳幼児期になく、成長とともに現

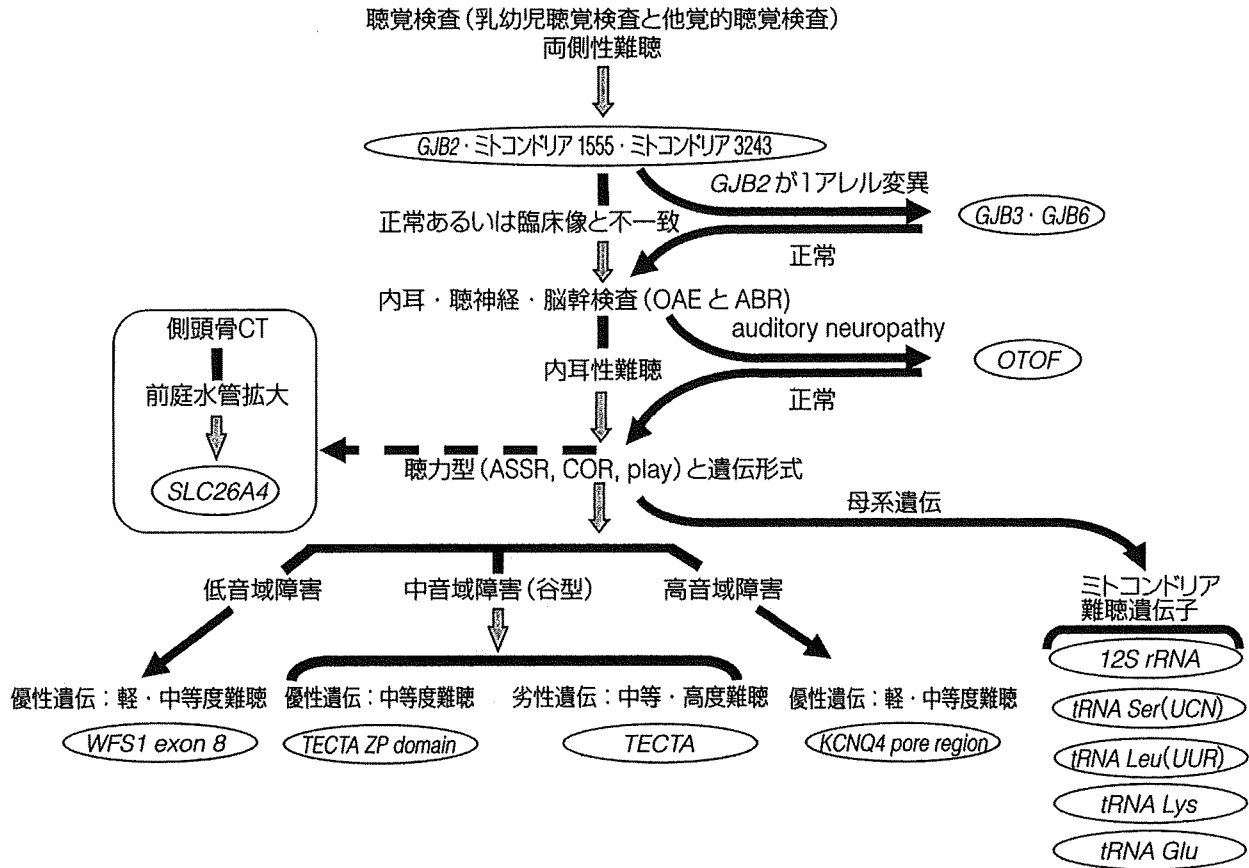


図1 東京医療センターにおける難聴遺伝子検査

0~4歳で難聴を発症した場合を示した(他の年齢層は、文献を参照)。一般的な診察と検査結果がそろった時点で、遺伝以外の原因が除外された非症候群性難聴の患者に対して、本フローチャートに沿って検査する遺伝子を決定する。側頭骨CTは、乳幼児期では実施されない場合もあるため、点線で示した。ミトコンドリア 1555 とミトコンドリア 3243 は、それぞれ A1555G および A3243G ミトコンドリア DNA 変異を示す。

(松永達雄, 幸池浩子, 務台英樹: 難聴の遺伝子検査. 神経内科 68: 415-21, 2008 より一部引用)

れる場合、症状が軽くて明確に認識できない場合、あるいは合併症が一般的な疾患であるために難聴との遺伝的関係に気づき難い場合などがあり、遺伝子診断が症候群を確定するために必要となる。

2) 非症候群性難聴

難聴以外に症状がない非症候群性難聴では、聴覚の臨床的特徴のみから原因を推測する必要がある。一部の遺伝子は、発症時期、遺伝形式、聴覚検査やその他の検査の特徴などから原因遺伝子を推測することがある程度可能である。日本においても新生児聴覚スクリーニングが普及し、聴覚の特徴を把握し難い新生児期の難聴診断が増加しているが、近年の聴性定常反応 (auditory steady-state response; ASSR) の普及で、新生児でもかなり詳細に聴覚の特徴が判明している例が増えている。

軽度難聴は、聴覚検査において閾値上昇が少ないために、病態の詳細を捉えることができない場合がある。また、高度難聴は、多くの周波数において、閾値が検査装置の限界を

超えているため、やはり障害の病態の詳細を知ることが困難な場合が多い。一方、中等度難聴は、検査で聴覚障害の特徴が明瞭に検出されやすいため、病態を推測して原因遺伝子を推測するための情報を得やすい。筆者らの施設(国立病院機構東京医療センター感覚器センター;連絡先:matsunagatatsuo@kankakuki.go.jp 松永達雄)では、年齢別の聴覚検査所見、画像検査所見、遺伝形式などを基にしたフローチャート(図1)に沿った系統的遺伝子診断を実施している⁷⁾。

3 遺伝子診断の臨床での活用

難聴の遺伝子診断は、臨床の場において主として以下のような目的に活用される。

- ①原因の説明：難聴の原因は不明という説明に納得できずに、多数の医療機関を受診して、同じ検査を不必要に繰り返す場合も多い。原因の説明は、このような負担を減らすことに効果がある。また、両親が難聴の原因を論理的、科学的に理解することで、聴覚リハビリテーションや言語訓練などの現実的な対応に前向きに取り組みやすくなる。
- ②進行の予測：現在の聴力が、今後悪化するか、変動するか、変化しないかについて知ることは、定期的聴覚検査の理解に役立つとともに、難聴児の将来の生活設計を考えるために参考となる。
- ③難聴の増悪の予防：特定の薬剤に対する耳毒性の感受性が高い場合などに、そのような薬剤の使用を避けることで、難聴の増悪を予防する(A1555G ミトコンドリア DNA 変異によるアミノグリコシド系薬剤感受性など)。
- ④合併症の早期発見と予防：症候群性難聴の場合に、今後発症が予測される合併症(疾患)に対して、定期健診などにより早期発見に努め、発見された場合には早期に適切な医学的対応をとることで、合併症の進行を防ぐ。また、合併症に有効な日常の生活習慣(食事など)があれば、それを実施して予防に努める(A3243G 変異による糖尿病の発症など)。
- ⑤治療・リハビリテーション法の選択：中等度難聴では人工内耳の適応はないが、高度難聴に進行した場合には、遺伝子診断で内耳障害の遺伝子が同定されれば、人工内耳手術の適応が考えられる。
- ⑥遺伝カウンセリング：難聴児の両親が、次に妊娠する子に難聴が生じる確率を知りたい場合に、遺伝子の情報を知ることによって遺伝カウンセリングをよりの確に行うことができる。

4 遺伝子診断の現実的な問題点

現在、臨床検査会社が受注できる難聴の遺伝子検査はほとんどなく、限られた一部の研究施設において、研究の一環として実施されているのが現状である。このため、検査を希望する患者がいる場合、あるいは医療機関が遺伝子検査の必要を認識した場合には、そのような研究施設と連絡をとって実施されている。筆者らの施設でも、難聴の診療を行う医療機関と連携して、検査適応、検査前および検査後のカウンセリングなども含めた打ち合わせをしながら、採血による検体の送付を受けて遺伝子診断を実施している。しかし、す

すべての難聴の医療機関が、遺伝子診断を行う研究施設との連携を確立しているわけではないため、現実には難聴の遺伝子診断が実施されない場合も多い。

遺伝子検査には、高額な費用がかかる場合が多く、現時点では保険医療の適応になっていないため、患者の自己負担では負担する金額が大きすぎてしまう場合が多い。一方、研究施設の負担では、検査を希望する難聴者の数が増えると、経済的な理由で十分な検査を継続できなくなる可能性がある。このような事情を考えると、ある程度までの難聴の遺伝子検査は、保険医療の適応となることが望ましいと考えている。

5 小児の中等度難聴の原因となる代表的遺伝子の臨床像

1) 非症候群性難聴

(1) 優性遺伝

①内耳カリウムチャンネルの遺伝子 *KCNQ4* の変異による難聴 (DFNA2) では、高音域から徐々に聴覚障害が進行する。小児期には難聴は軽度から中等度であるが、成人後に加齢とともに高度の難聴へ進行する。*KCNQ4* 遺伝子のミスセンス変異 (1塩基の変化による1アミノ酸の変化) では、ヌル変異 (蛋白質検出不能の完全欠損) より早期に発症し、障害が高度になるという報告がある。

②内耳ギャップ結合蛋白質 Connexin26 の遺伝子 *GJB2* の変異により、優性遺伝の難聴 (DFNA3) が生じる。本難聴は先天性で、聴覚障害は中等度から高度であり、緩徐な進行性、あるいは非進行性、オーディオグラムは高音漸傾型が多い。本遺伝子変異の難聴は、大部分の変異は劣性遺伝 (後述) であるが、ごく一部の變異で優性遺伝が認められる。

③小胞体蛋白質 wolframin の遺伝子 *WFS1* の変異による難聴 (DFNA6/14/38) では、低音域から聴覚障害が進行する。発症は小児期からが多く、進行しても高度難聴には至らない。DFNA6/14/38 は *WFS1* 遺伝子のミスセンス変異が1アレル (父または母からの、どちらか一方の遺伝子) にある場合に発症する。一方、*WFS1* 遺伝子のミスセンス変異、ナンセンス変異 (蛋白質が途中までしか作られない)、あるいはフレームシフト変異 (蛋白質の途中から異常なペプチドが作られる) が両アレル (父および母からの、両方の遺伝子) にある場合は、難聴のほかに糖尿病、視神経萎縮、尿崩症などを伴う Wolfram 症候群を発症する。

④蝸牛蓋膜の非コラーゲン性蛋白質 α -tectorin の遺伝子 *TECTA* の変異による難聴 (DFNA8/12) では、蛋白質の zonadhesin ドメインに変異があると高音障害型難聴を呈し、zona pellucida ドメインに変異があると中音域が障害されて、いわゆる谷型オーディオグラムの難聴を呈する。さらに、変異がシステインを置換する場合は小児期発症で進行性だが、それ以外の変異では先天性で非進行性である。そして、いずれも軽度から中等度の難聴である。また、本遺伝子は、変異部位によっては劣性遺伝の難聴 (DFNB21) を呈し、やはり先天性に谷型オーディオグラムを呈するが、中等度から高度の難聴となる。

(2) 劣性遺伝

- ①内耳ギャップ結合蛋白質 Connexin26 の遺伝子 *GJB2* の変異による劣性遺伝の難聴 (DFNB1) は、先天性難聴であり、中等度から高度の難聴が大部分である。本難聴は非症候群性劣性遺伝の難聴のおよそ 1/3 から半数近くと、極めて頻度が高い。非進行性で、オーディオグラムは主に水平型あるいは高音漸傾型である。遺伝子変異のタイプ(遺伝子型)により、聴覚障害の程度をある程度推測可能である。聴覚言語リハビリテーション効果も良好である⁸⁾。
- ②内耳陰イオン輸送体 Pendrin の遺伝子である *SLC26A4* の変異による難聴 (DFNB4) は、先天性難聴であり、進行性、変動性の経過を呈する。小児期より中等度難聴あるいは高度難聴であり、中等度難聴の場合も成長とともに高度難聴となる場合が多い。CT あるいは MRI による画像検査で、前庭水管拡大の内耳奇形が認められる。頭部への衝撃により難聴の悪化が生じやすいため、そのような行為を回避する。オーディオグラムは、傾斜が強い高音漸傾型であり、低音域では気骨導差が認められる。この気骨導差は中耳障害ではなく、内耳性と考えられている。本遺伝子変異は、後述する症候群性難聴の Pendred 症候群の原因にもなる。

(3) ミトコンドリア遺伝

ミトコンドリア DNA に存在する 12S リボゾーム RNA 遺伝子の A1555G 変異では、軽度から高度難聴までさまざまな内耳性難聴を生じる。オーディオグラムは、高音急墜型から始まり、進行すると低音域も含めて全周波数で高度の閾値上昇となる⁹⁾。本遺伝子変異を有すると、アミノグリコシド系薬剤の耳毒性に高い感受性があり、1度の投与でも高度の難聴となる場合があるので使用を回避すべきである。また、アミノグリコシド系薬剤の投与がなくて難聴を発症する場合も多い。発症の大部分は後天性で徐々に進行するが、非進行性の場合もある。10歳以前で発症の場合は急性進行性で高度難聴となり、10歳以後で発症の場合は緩徐進行性で軽度から中等度難聴である¹⁰⁾。難聴は母系遺伝であり、大部分の症例では、ミトコンドリア DNA がすべて本変異を有するホモプラスミーである。変異を有する人の難聴発症の頻度は家系によって異なり、数%から数十%である。

2) 症候群性難聴

(1) 優性遺伝

BOR 症候群は難聴、外耳奇形、頸部瘻孔、腎奇形などを呈し、難聴は軽度から高度までさまざまであり、感音難聴、伝音難聴、混合性難聴のいずれも生じ得る。約 40% の BOR 症候群の患者で、*EYAI* 遺伝子変異が原因として同定される。BOR 症候群では、中耳奇形および内耳奇形を伴う頻度が高いが、中耳奇形の手術を行っても気骨導差が改善しない場合が多い。これは、気骨導差が内耳奇形と関連するためと考えられている。このため、中耳手術は慎重に検討する必要がある¹¹⁾。腎奇形により腎不全が進行する場合があるため、本症候群が疑われた場合には腎臓の形態と機能の検査を実施すべきである。

(2) 劣性遺伝

Pendred 症候群は難聴と甲状腺腫を呈し、症候群性難聴の約 10% を占めている。非症候群性難聴 DFNB4 と同じく *SLC26A4* 遺伝子の変異が原因であり、前庭水管拡大が認められることが多い。蝸牛や前庭の奇形も伴う Mondini 型内耳奇形を呈する場合もある。難聴は先天性で、DFNB4 と同様の特徴がある。甲状腺腫は思春期から発症し、甲状腺機能低下症の頻度は低い。非症候群性難聴との鑑別は、Perchlorate 放出試験で陽性が Pendred 症候群である。しかし、境界値を示すなど、判断が困難な場合も多い。近年、前庭水管拡大の患者において *SLC26A4* 遺伝子変異を両アレルに認めると Pendred 症候群で、1 アレルのみか、全く変異を認めないと非症候群性難聴との報告がある。

(3) X 連鎖遺伝

Alport 症候群は難聴と腎炎を呈する疾患で、約 85% が *COL4A5* 遺伝子変異による X 連鎖遺伝であり、他の約 15% は *COL4A3* または *COL4A4* 遺伝子の変異による常染色体優性遺伝または劣性遺伝である。これらの遺伝子は、IV 型コラーゲンの $\alpha 5$ 鎖、 $\alpha 3$ 鎖、 $\alpha 4$ 鎖をそれぞれコードしている。本疾患の頻度は約 5,000 人に 1 人であり、幼児期に血尿で発症し、10 歳以後から腎機能が低下する。難聴は約 40% で認められ、内耳障害である。小児期以後に発症し、軽度難聴から徐々に進行する。オーディオグラムは水平型、谷型、高音漸傾型に分類される。

(4) ミトコンドリア遺伝

ミトコンドリア DNA の A3243GtRNA^{Leu} (UR) 遺伝子変異は、感音難聴のみ、感音難聴と糖尿病の MIDD (maternally inherited diabetes and deafness)、そしてミトコンドリア脳筋症の MELAS (mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes) の原因となる。母系遺伝であり、ミトコンドリア DNA の一部が変異しているヘテロプラスミーである。難聴は主として内耳性であり、中枢性障害が加わる場合もある。難聴の発症は後天性が多く、オーディオグラムは高音漸傾型で、軽度あるいは中等度難聴から進行して、高度難聴に至る場合も多い。本遺伝子変異を有する人では、難聴を早期に発症する機会が多いため、原因が判明した場合には定期健診などで他の合併症の早期発見と治療、可能であれば生活習慣の改善による予防に努める必要がある。

6 臨床と研究における今後の展開

現時点では、遺伝性難聴が疑われて遺伝子検査を行っても、原因を解明できない場合も多い。この理由の 1 つは、検査可能な遺伝子ごく一部に限定されているためである^{6,12)}。解析する遺伝子の対象を増やせば、同定できる可能性は高くなるが、それに伴って費用、労力が増してしまう。このため、精度を落とさずに、経済的かつ迅速に結果を出せる遺伝子検査技術の開発が望まれている。また、検査が普及するためには、遺伝子検査を受ける時点で、原因が解明できる可能性をある程度予測できることも重要である。さらに、各遺

伝子変異による難聴の病態の解明や、その後の診療への活用がより具体的に確立されることも重要である。

中等度難聴の治療には、デジタル補聴器の開発などの進歩があるが、高度難聴の治療における人工内耳のような劇的な手段がまだない。中等度難聴は、高度難聴と比較して内耳障害は軽度で、細胞の機能低下があっても残存している病態が多いと推測される。このため、薬剤などによる根本的な治療法を開発できる可能性も高いと考えられる。多数の難聴遺伝子の発見により個々の難聴の病態が明らかになりつつあり、今後、病態解析に基づいた根本的治療法が開発が期待される。

(松永達雄)

文 献

- 1) Smith RJH, Bale Jr JF, White KR : Sensorineural hearing loss in children. *Lancet* 365 : 879-90, 2005
- 2) Morton CC, Nance WE : Newborn hearing screening—a silent revolution. *N Eng J Med* 354 : 2151-64, 2006
- 3) 八島隆敏 : 遺伝カウンセリング. 内耳病態の解明と展開—分子遺伝学の立場より (喜多村健編), 善光堂印刷所, p160-4, 2006
- 4) 宇佐美真一 : 難聴の原因と遺伝子診断. きこえと遺伝子 難聴の遺伝子診断と遺伝カウンセリング (宇佐美真一編), 金原出版, p.7-8, 2006
- 5) 松永達雄 : 難聴の遺伝相談とその言語聴覚リハビリテーションへの応用. *Audiology Japan* 49 : 339-45, 2006
- 6) Kochlar A, Hildebrand MS, Smith RJH : Clinical aspects of hereditary hearing loss. *Genet Med* 9 : 393-408, 2007
- 7) 松永達雄, 幸池浩子, 務台英樹 : 難聴の遺伝子検査. *神経内科* 68 : 415-21, 2008
- 8) Matsunaga T, Hirota E, Bitō S, et al : Clinical course of hearing and language development in *GJB2* and non-*GJB2* deafness following habilitation with hearing aids. *Audiol Neurootol* 11 : 59-68, 2006
- 9) Matsunaga T, Kumanomido H, Shiroma M, et al : Audiological features and mitochondrial DNA sequence in a large family carrying mitochondrial A1555G mutation without use of aminoglycoside. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 114 : 153-60, 2005
- 10) Matsunaga T, Kumanomido H, Shiroma M, et al : Deafness due to A1555G mitochondrial mutation without use of aminoglycoside. *Laryngoscope* 114 : 1085-91, 2004
- 11) Matsunaga T, Okada M, Usami S, et al : Phenotypic consequences in a Japanese family having branchio-oto-renal syndrome with a novel frameshift mutation in the gene *EYA1*. *Acta Otolaryngologica* 127 : 98-104, 2007
- 12) 松永達雄 : 先天性難聴と遺伝子スクリーニング. *医療* 62 : 104-8, 2008

REVIEW

Value of Genetic Testing in the Otological Approach for Sensorineural Hearing Loss

Tatsuo Matsunaga

*Department of Otolaryngology, Laboratory of Auditory Disorders,
National Institute of Sensory Organs, National Tokyo Medical Center, Tokyo, Japan*

(Received for publication on January 13, 2009)

(Revised for publication on May 10, 2009)

(Accepted for publication on June 25, 2009)

Abstract

Sensorineural hearing loss (SNHL) is one of the most common disabilities in human, and genetics is an important aspect for SNHL, especially in children. In recent 10 years, our knowledge in genetic causes of SNHL has made a significant advance, and now it is used for diagnosis and other clinical practices. Hereditary hearing loss can be classified into syndromic and nonsyndromic hearing loss. As the nonsyndromic deafness genes, more than 100 loci for deafness genes have been determined, and more than 40 genes were identified. Furthermore, more than 300 forms of syndromic hearing loss have been characterized, and each syndrome may have several causative genes. In childhood hearing loss, early educational intervention is required in addition to medical intervention for normal development of speech and language. In addition, even severe to profound hearing loss may be restored very effectively by hearing aids or cochlear implants. Because of these features of SNHL, genetic testing has exceptionally high value in the medical practice for hereditary hearing loss. Several strategies are used for genetic testing of SNHL for accurate and efficient identification of the genetic causes, and the results were used for explanation of the cause, prediction of auditory features, prevention of deafness, management of associated symptoms, determination of therapy, and genetic counseling. Identification of damaged cells in the inner ear and the underlying mechanism by genetic testing undoubtedly facilitates development and introduction of novel and specific therapies to distinct types of SNHL. (Keio J Med 58 (4) : 216–222, December 2009).

Keywords: hereditary hearing loss, deafness gene, inner ear, cochlea

Introduction

Sensorineural hearing loss (SNHL) is one of the most common disabilities in human, and genetics is an important aspect in research and clinical practice for SNHL. One child in 1000 is born with bilateral SNHL, and 50-70% of them have monogenic causes.^{1,2} In addition, 10% of the people over 65 years have SNHL that interfere speech communication.³ Although most of them have polygenic causes associated with aging and various environmental causes, some of them have monogenic causes. In recent 10 years, our knowledge in monogenic

causes of SNHL has made a significant advance. The knowledge of genetics in SNHL was originally established in the laboratory, but it is now used for genetic testing and following clinical procedures for patients with SNHL.

Classification of Hereditary Hearing Loss

Hereditary hearing loss can be classified into syndromic and nonsyndromic hearing loss.⁴ Syndromic type which is associated with distinctive clinical features accounts for 30% of hereditary congenital hearing loss, and

Presented at the 1589th meeting of The Keio Medical Society in Tokyo, October 14, 2008.

Reprint requests to: Tatsuo Matsunaga, MD, PhD, Department of Otolaryngology, Laboratory of Auditory Disorders, National Institute of Sensory Organs, National Tokyo Medical Center, 2-5-1 Higashigaoka, Meguro, Tokyo 152-8902, Japan, E-mail: matsunagatatsuo@kankakuki.go.jp