

Tsukada et al.

7. Dai P, Yu F, Han B et al. The prevalence of the *c.235delC GJB2* mutation in a Chinese deaf population. *Genet Med* 2007; 9: 283–289.
8. Kelley PM, Harris DJ, Comer BC et al. Novel mutations in the connexin 26 gene (*GJB2*) that cause autosomal recessive (DFNB1) hearing loss. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 792–799.
9. Snoeckx RL, Huygen PL, Feldmann D et al. *GJB2* mutations and degree of hearing loss: a multicenter study. *Am J Hum Genet* 2005; 77: 945–957.
10. Cryns K, Orzan E, Murgia A et al. A genotype-phenotype correlation for *GJB2* (connexin 26) deafness. *J Med Genet* 2004; 41: 147–154.
11. Oguchi T, Ohtsuka A, Hashimoto S et al. 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: 76–83.
12. Huculak C, Bruyere H, Nelson TN et al. V37I connexin 26 allele in patients with sensorineural hearing loss: evidence of its pathogenicity. *Am J Med Genet* 2006; 140: 2394–2400.
13. Denoyelle F, Marlin S, Weil D et al. Clinical features of the prevalent form of childhood deafness, DFNB1, due to a connexin-26 gene defect: implications for genetic counselling. *Lancet* 1999; 353: 1298–1303.
14. Lim LH, Bradshaw JK, Guo Y et al. Genotypic and phenotypic correlations of DFNB1-related hearing impairment in the Midwestern United States. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2003; 129: 836–840.
15. Iliadou V, Eleftheriades N, Metaxas AS et al. Audiological profile of the prevalent genetic form of childhood sensorineural hearing loss due to *GJB2* mutations in northern Greece. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2004; 261: 259–261.
16. Cohn ES, Kelley PM, Fowler TW et al. Clinical studies of families with hearing loss attributable to mutations in the connexin 26 gene (*GJB2/DFNB1*). *Pediatrics* 1999; 103: 546–550.
17. Yaeger D, McCallum J, Lewis K et al. Outcomes of clinical examination and genetic testing of 500 individuals with hearing loss evaluated through a genetics of hearing loss clinic. *Am J Med Genet* 2006; 140: 827–836.
18. Abe S, Yamaguchi T, Usami S. Application of deafness diagnostic screening panel based on deafness mutation/gene database using invader assay. *Genet Test* 2007; 11: 333–340.
19. Fuse Y, Doi K, Hasegawa T et al. Three novel connexin26 gene mutations in autosomal recessive non-syndromic deafness. *Neuroreport* 1999; 10: 1853–1857.
20. Brobby GW, Müller-Myhsok B, Horstmann RD. Connexin 26 R143W mutation associated with recessive nonsyndromic sensorineural deafness in Africa. *N Engl J Med* 1998; 338: 548–550.
21. Hişmi BO, Yılmaz ST, Incesulu A et al. Effects of *GJB2* genotypes on the audiological phenotype: variability is present for all genotypes. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2006; 70: 1687–1694.
22. Estivill X, Fortina P, Surrey S et al. Connexin-26 mutations in sporadic and inherited sensorineural deafness. *Lancet* 1998; 351: 394–398.
23. Kenna MA, Wu BL, Cotanche DA et al. Connexin 26 studies in patients with sensorineural hearing loss. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2001; 127: 1037–1042.
24. Wu BL, Lindeman N, Lip V et al. Effectiveness of sequencing connexin 26 (*GJB2*) in cases of familial or sporadic childhood deafness referred for molecular diagnostic testing. *Genet Med* 2002; 4: 279–288.
25. Yuge I, Ohtsuka A, Matsunaga T et al. Identification of 605ins46, a novel *GJB2* mutation in a Japanese family. *Auris Nasus Larynx* 2002; 29: 379–382.
26. Feng Y, He C, Xiao J et al. An analysis of a large hereditary postlingually deaf families and detecting mutation of the deafness genes. *Lin Chuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi*. 2002; 16: 323–325.

Genetic background of candidates for EAS (Electric-Acoustic Stimulation)

SHIN-ICHI USAMI¹, MAIKO MIYAGAWA¹, NOBUYOSHI SUZUKI¹, HIDEAKI MOTTEKI¹, SHIN-YA NISHIO¹, YUTAKA TAKUMI¹ & SATOSHI IWASAKI²

¹Department of Otorhinolaryngology, Shinshu University School of Medicine, Matsumoto, Japan, and ²Department of Hearing Implants Sciences, Shinshu University School of Medicine, Matsumoto, Japan

Abstract

Objective: There is a certain number of patients with so-called ski-slope hearing loss, in which there is good hearing for lower frequencies in spite of little/no hearing in high frequencies. EAS (electric-acoustic stimulation) has recently been introduced for such patients with residual hearing at lower frequencies. Ski-slope hearing loss can have either a progressive nature or can be rather stable; therefore, decisions regarding timing of surgery are sometimes hampered. One advantage of genetic testing is that the possible prognosis for hearing, i.e. progressive or not, can be predicted for individual patients. The present study was performed to estimate the frequency of ski-slope hearing loss and investigate the genetic background of candidates for EAS. **Study Design:** Using a 2587 subject DNA database of sensorineural hearing loss patients, 1) frequency of patients with ski-slope hearing loss, 2) their clinical features including inheritance mode, onset ages, and progression, and 3) involvement of four common genes with mutations in Japanese hearing loss patients, were evaluated. **Results:** One hundred and fifty-one out of 2587 subjects fulfilled the audiological criteria for EAS. The frequency of patients possibly meeting the criteria for EAS was estimated to be 9.1% by restriction to probands only (139/1520). Various inheritance modes and onset ages were noted, with earlier onset in the patients with sporadic/recessive inheritance mode. Progressiveness was recognized in 56% of the patients. Genetic analysis identified mutations in 26.6% of the patients, including the mitochondrial 1555A>G mutation, and mutations in *SLC26A4*, *CDH23*, and *GJB2* genes, suggesting that at the least, these four genes may be involved in a certain group of patients, but also leaving possible genetic causes in the majority of the patients undetermined. **Conclusion:** As most of the patients showed a progressive nature in their hearing, genetic testing adds important additional information for candidates for EAS.

Key words: ski-slope hearing loss, high frequency hearing loss, partial deafness, cochlear implantation

Introduction

Cochlear implantation is currently the only available device for profound hearing loss patients and therefore has become a standard treatment choice worldwide. Although cochlear implantation has long been applied for patients with severe or profound hearing loss in all frequencies, recent advances in combined electric and acoustic stimulation (EAS) provide a chance of better speech perception for individuals with so-called ski-slope hearing loss. Selection criteria and decision making are sometimes difficult because of individual differences in progression, which is sometimes of a rather rapid progressive nature but other times rather stable. One advantage of genetic testing is that the possible prognosis for hearing, i.e. progressive or not, can be predicted for individual patients. Regarding genes responsible for hearing loss patients, to date, mutations in *GJB2* and *SLC26A4*, and the 1555A>G mutation in the

mitochondrial 12S rRNA were found to be the major causes of hearing loss in Japanese patients (1). To date, no study has treated ski-slope hearing loss from an etiological viewpoint. The present study was performed to estimate the frequency of ski-slope hearing loss, audiological characteristics, and genetic background of candidates for EAS.

Subjects and methods

A 2587 subject DNA database of bilateral sensorineural hearing loss patients established by Shinshu University in collaboration with 33 ENT departments (mostly university hospitals) in Japan was used in this study. The database comprises 1520 unrelated Japanese probands (who had made their initial visit to a hospital) and their family members, with various inheritance modes and ages of onset. The composition of the 1520 probands was as follows: 355 subjects

Correspondence: S.-I. Usami, Department of Otorhinolaryngology, Shinshu University School of Medicine, 3-1-1 Asahi, Matsumoto 390-8621, Japan. Tel: +81 263 37 2666. Fax: +81 263 36 9164. E-mail: usami@shinshu-u.ac.jp

(Accepted 13 December 2009)

ISSN 1651-386X print/ISSN 1651-3835 online © 2010 Informa UK Ltd. (Informa Healthcare, Taylor & Francis AS)
DOI: 10.3109.16513860903565214

from autosomal dominant or mitochondrial families (two or more generations affected); 282 subjects from autosomal recessive families (parents with normal hearing and two or more affected siblings); and 738 subjects with sporadic deafness (also compatible with recessive inheritance or non-genetic hearing loss). All subjects gave prior informed consent for participation in the project and the ethics committee of each hospital approved the study.

Audiological selection criteria were based on the pure tone audiogram selection criteria as follows. Pure tone hearing levels were required to be 65dB or under HL for 125 Hz, 250 Hz and 500 Hz; 80dB HL or over for 2000 Hz; 85dB HL or over for 4000 Hz and 8000 Hz. Subjects with one of the above mentioned frequencies being out of the criteria limits by 10dB were included as potential candidates.

Mutation screening for *GJB2*, *SLC26A4*, and the 1555A>G mutation in the mitochondrial 12S rRNA, was performed in all of the patients as follows. Direct sequencing was used for *GJB2* (2), and restriction fragment length polymorphism (RFLP) was used for the 1555A>G mitochondrial mutation, as previously described (3). In patients with enlarged vestibular aqueduct (EVA), direct sequencing was used for *SLC26A4* because mutations in this gene have been restricted to the patients with this particular anomaly (4,5).

For other minor responsible genes, frequencies are relatively small, and therefore one-by-one gene screening was performed in limited numbers of patients (64–319 patients depending on the gene) (see reference (1)). For *CDH23*, 64 probands were analyzed using direct sequencing (6).

Results

One hundred and fifty-one (5.8%) out of the 2587 subjects registered in our database fulfilled the audiological criteria for EAS. The frequency of bilateral sensorineural hearing loss patients in the basic clinical population who may meet the criteria for EAS was estimated to be 9.1% by restriction to probands only (139/1520).

Regarding inheritance mode, 53% (74/139) of these patients had sporadic/recessive inheritance, 28% (39/139) dominant/mitochondrial inheritance, and in 19% (26/139) family history was unavailable (Table I).

Onset ages are shown in Table II. Onset ages were varied, and earlier onset ages were evident in the patients with sporadic/recessive inheritance mode.

Progressiveness was recognized in 56% (78/139) of the patients, regardless of inheritance mode (54% for sporadic/recessive inheritance, and 56% for dominant/mitochondrial) (Table III).

Table I. Inheritance mode of candidates for EAS ($n=139$).

Inheritance mode	Number (%)
Sporadic/recessive	74 (53%)
Dominant/mitochondrial	39 (28%)
Data unavailable	26 (19%)

Genetic analysis identified mutations in approximately 27% of the 145 patients, including the mitochondrial 1555A>G mutation ($n=18$, 12.9%), *SLC26A4* ($n=10$, 7.2%), *CDH23* ($n=6$, 4.3%) and *GJB2* mutations ($n=3$, 2.2%) (Table IV). Among the 2587 subjects, 178 were associated with the 1555>G mitochondrial mutation, 153 subjects harbored biallelic *GJB2* mutations, 61 subjects biallelic *SLC26A4* mutations, and eight biallelic *CDH23* mutations. Overlapped audiograms as well as average audiograms are shown in Figure 1A–D. Candidates rates (number of candidates/total patients with mutations) were high among the patients with the 1555A>G mitochondrial mutation (10.1%, 18/178), *SLC26A4* (16.4%, 10/61) and *CDH23* mutations (75%, 6/8) and low among the patients with *GJB2* mutations (2.0%, 3/153).

Discussion

There is a certain number of patients with residual hearing (sometimes normal or slightly elevated thresholds) at the lower frequencies, and profound deafness at the higher frequencies (the so-called ski-slope type hearing loss or partial deafness). Most of these patients do not show any abnormal pronunciation of consonants, indicating that they likely acquired progressive hearing loss at the higher frequencies. In spite of being hard of hearing due to the high-frequency involved hearing loss, they usually do not use hearing aids or use only standard hearing aids with limited efficiency. These cases also do not meet criteria for traditional cochlear implantation.

Recent advances in surgical technique, and electrode design, and newly developed devices enable preservation of residual hearing (see reference 7, for review). The concept of EAS has expanded indications for cochlear implantation from profoundly deaf patients in all frequencies to patients with residual hearing at the lower frequencies. According to the present data based on a multicenter collaborative study, 9.1% of the patients who visited the academic referral center were estimated to fulfill the audiological criteria for EAS.

There has been no aetiological study of ski-slope hearing loss, and although symmetrical audiograms strongly indicate the majority of cases are due to genetic causes, there have been few reports

Table II. Onset ages of the candidates for EAS ($n = 139$).

Inheritance mode	Number (%)					
	-2 y.o	3-10	11-30	31-50	51-	Unknown
Sporadic/recessive	24 (32%)	12 (16%)	16 (22%)	7 (9%)	5 (7%)	10 (13%)
Dominant/mitochondrial	7 (18%)	12 (30%)	9 (23%)	6 (16%)	1 (2%)	4 (11%)

discussing the genetic background. According to Liu and Xu (1994) (8), non-syndromic hearing loss can be classified into several types on the basis of audiograms. In the autosomal dominant group there are three types of audiograms – sharply sloping, flat, and gently sloping; and two types in autosomal recessive – residual and sharply sloping. The present study is in agreement with their report where cases with a sharply sloping audiogram (which may correspond with ski-slope type) are either autosomal dominantly or autosomal recessively inherited. Dominant high-frequency sensorineural hearing loss can be classified into four types – steepest, less steep, gently sloping, and horizontal (9). Together with similarity of audiograms within the same family, Higashi hypothesized heterogeneity of dominant high-frequency sensorineural hearing loss, and actually the former two types may correspond with ski-slope hearing loss.

In the present study, to understand the etiology of ski-slope hearing loss, genetic as well as clinical feature analyses were performed in the patients who fulfilled the audiological criteria. With regard to inheritance mode of these patients, 53% had sporadic/recessive inheritance, and 28% dominant/mitochondrial inheritance (Table I), indicating that various genes are involved in this category of hearing loss.

A high rate of patients with progressiveness was noted (56%) compared to overall (48%), and progressive nature was observed regardless of inheritance mode, indicating that progressiveness is one of the characteristic features of ski-slope hearing loss.

Onset ages were of great variation, also suggesting there are many responsible genes for this category of hearing loss. Earlier onset ages were noted in the patients with sporadic/recessive inheritance mode.

Table III. Progressiveness in the candidates for EAS ($n = 139$).

Inheritance mode	Number (%)		
	Progressive	Non-progressive	Unknown
Overall	78 (56%)	44 (32%)	17 (12%)
Sporadic/recessive ($n = 74$)	40 (54%)	24 (32%)	10 (14%)
Dominant/ mitochondrial ($n = 39$)	22 (56%)	10 (26%)	7 (18%)

Ski-slope hearing loss may occur at various ages, and can have either a progressive nature or be rather stable; therefore, decisions regarding timing of surgery are sometimes hampered. There may be a great inter-individual variation regarding progressiveness, indicating that many different etiological differences may interact. Screening for commonly found responsible genes, proved at least four genes, including mitochondrial 12SrRNA, *SLC26A4*, *CDH23*, and *GJB2* are involved in this type of hearing loss, although candidate rates were different among the genes.

The 1555A>G mitochondrial mutation, which is known to result in high susceptibility to aminoglycoside antibiotics, has been identified as the most prevalent mitochondrial mutation (10). Hearing loss is usually high-frequency involved and progressive (3). Therefore, the present higher candidacy rate (10.1%) among the patients with this mutation, together with overlapped audiograms as well as average audiograms (Figure 1A), is consistent with the previously reported phenotype and there is a certain number of candidates for EAS in patients with this mutation.

The *SLC26A4* gene was initially identified as the gene responsible for Pendred syndrome, and is known to be involved in transportation of the chloride ion (11). The phenotype associated with the mutations is known to range from Pendred syndrome to non-syndromic hearing loss associated with EVA (enlarged vestibular aqueduct) (12). Hearing is congenital/progressive, and usually high-frequency involved hearing loss (13). Patients acquire language but sometimes have incomplete pronunciation of consonants, indicating they may already have hearing loss at higher frequencies at the earlier (peri-lingual) ages. Overlapping audiograms (Figure 1B) suggested that some patients with this mutation are good candidates for EAS, but generally the slope is rather gentle. However, from the recent concept of preserving residual hearing it is still worth

Table IV. Responsible genes in the candidates for EAS ($n = 139$).

Genes identified	Number (%)
Mitochondrial 1555A>G	18 (12.9%)
<i>SLC26A4</i>	10 (7.2%)
<i>CDH23</i>	6 (4.3%)
<i>GJB2</i>	3 (2.2%)

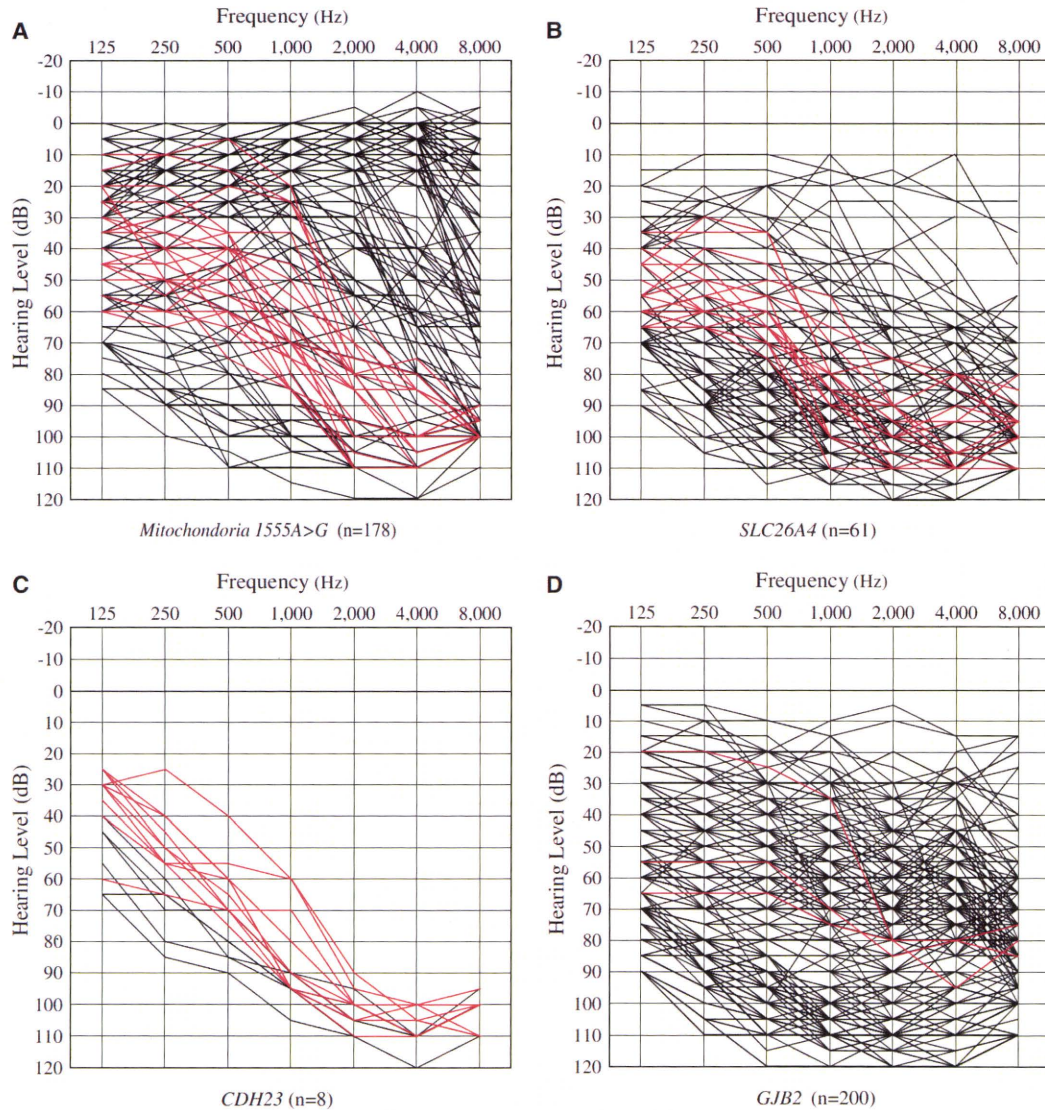


Figure 1. Overlapping audiograms of the patients with mutations. Candidates for EAS are indicated with red lines (A, mitochondrial 1555A>G; B, *SLC26A4*; C, *CDH23*; D, *GJB2*).

trying EAS for such patients with some (but not much) residual hearing at the lower frequencies.

CDH23 is known as the responsible gene for USH1D and DFNB12.

Encoded protein cadherin 23 is important for maintaining tip links (14). Patients with this mutation have high-frequency involved progressive hearing loss (6), suggesting that there is a significant number of EAS candidates. Although only a limited number of patients ($n=64$) with *CDH23* mutations were analyzed in this study, overlapping audiograms also indicated that they are good candidates for EAS (Figure 1C).

GJB2 is known to be the most prevalent gene responsible for congenital hearing loss worldwide (see reference 15, for review). Encoded protein, Connexin 26, is known to participate in potassium ion recycling in the inner ear. Currently, more than 100 different *GJB2* mutations are associated with recessive forms of non-syndromic hearing loss (see reference 15, for review). Overlapping audiograms of the 153 patients with bi-allelic *GJB2* mutations showed rather flat or gently sloping audiograms (Figure 1D). As hearing loss is usually reported to be non-progressive, there may be only a small number of the patients with *GJB2* mutations who are indicative

for EAS. Only 2.0% of the patients with *GJB2* mutations in this study fit the criteria for EAS.

The present study clearly revealed some genes responsible for ski-slope hearing loss, and genetic testing is potentially useful for estimating progressiveness and decision making for EAS in the future.

However, at the same time, in the majority of patients the cause is still unknown, and screening for various genes should be continued to understand the aetiology of this type of hearing loss. In the literature, there have been many genes described as being responsible for high-frequency involved hearing loss (16).

In the present study, progression is based on anamnestic information; therefore the actual rate of progression should be determined by future studies.

Acknowledgements

We thank the participants of the Deafness Gene Study Consortium. We also thank A. C. Apple-Mathews for help in preparing the manuscript. This work was supported by the Ministry of Health and Welfare, Japan, and a grant-in-aid for scientific research from the Ministry of Education, Science and Culture of Japan.

Declaration of interest: The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

References

- Usami S, Wagatsuma M, Fukuoka H, Suzuki H, Tsukada K, Nishio S, et al. The responsible genes in Japanese deafness patients and clinical application using Invader assay. *Acta Otolaryngol.* 2008;128:446–54.
- 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.
- Usami S, Abe S, Kasai M, Shinkawa H, Moeller B, Kenyon JB, et al. Genetic and clinical features of sensorineural hearing loss associated with the 1555A>G mitochondrial mutation. *Laryngoscope.* 1997;107:483–90.
- Usami S, Abe S, Weston MD, Shinkawa H, van Camp G, Kimberling WJ. Non-syndromic hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct is caused by PDS mutations. *Hum Genet.* 1999;104:188–92.
- Abe S, Yamaguchi T, Usami S. Application of deafness diagnostic screening panel based on deafness mutation/gene database using Invader assay. *Genetic Testing.* 2007;11:333–40.
- Wagatsuma M, Kitoh R, Suzuki H, Fukuoka H, Takumi Y, Usami S. Distribution and frequencies of *CDH23* mutations in Japanese patients with non-syndromic hearing loss. *Clin Genet.* 2007;72:339–44.
- Talbot KN, Hartley DE. Combined electric-acoustic stimulation: a beneficial union? *Clin Otolaryngol.* 2008;33:536–45.
- Liu X, Xu L. Non-syndromic hearing loss: an analysis of audiograms. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1994;103:428–33.
- Higashi K. Heterogeneity of dominant high-frequency sensorineural deafness. *Clin Genet.* 1988;33:424–8.
- Usami S, Abe S, Akita J, Namba A, Shinkawa H, Ishii M, et al. Prevalence of mitochondrial gene mutations among hearing impaired patients. *J Med Genet.* 2000;37:38–40.
- Everett LA, Glaser B, Beck JC, Idol JR, Buchs A, Heyman M, et al. Pendred syndrome is caused by mutations in a putative sulphate transporter gene (*PDS*). *Nat Genet.* 1997;17:411–22.
- Usami S, Abe S, Weston MD, Shinkawa H, van Camp G, Kimberling WJ. Non-syndromic hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct is caused by PDS mutations. *Hum Genet.* 1999;104:188–92.
- Suzuki H, Oshima A, Tsukamoto K, Abe S, Kumakawa K, Nagai K, et al. Clinical characteristics and genotype-phenotype correlation of hearing loss patients with *SLC26A4* mutations. *Acta Otolaryngol.* 2007;127:1292–7.
- Bork JM, Peters LM, Riazuddin S, Bernstein SL, Ahmed ZM, Ness SL, et al. Usher syndrome 1D and non-syndromic autosomal recessive deafness *DFNB12* are caused by allelic mutations of the novel cadherin-like gene *CDH23*. *Am J Hum Genet.* 2001;68:26–37.
- Smith RJ, Bale JF Jr, White KR. Sensorineural hearing loss in children. *Lancet.* 2005;365:879–90.
- Hilgert N, Smith RJ, van Camp G. Forty-six genes causing non-syndromic hearing impairment: which ones should be analyzed in DNA diagnostics? *Mutat Res.* 2009;681:189–96.

先天性難聴の遺伝子診断 —専門医に必要な難聴遺伝子に関する知識—

信州大学医学部耳鼻咽喉科
宇佐美 真 一

小児難聴の原因と頻度 (Moton and Nance, 2006)

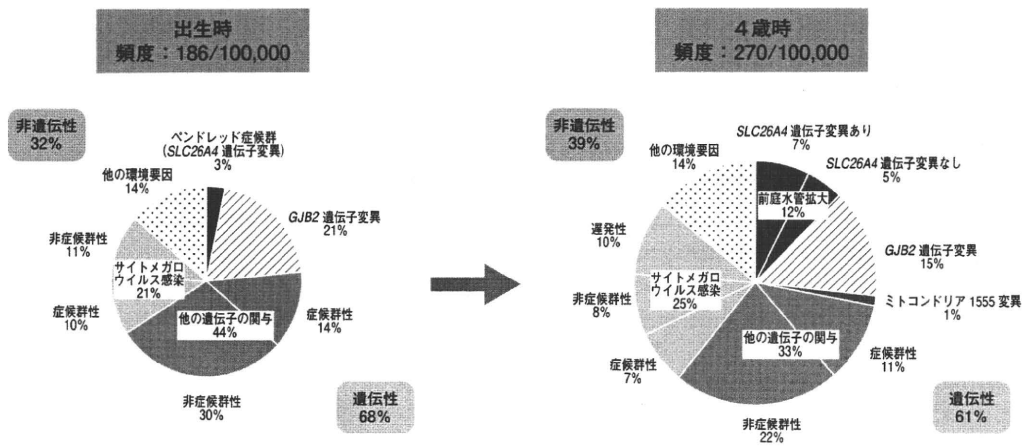


図1 小児期発症の難聴の原因 (Morton and Nance, 2006)

はじめに

近年、多くの難聴の原因遺伝子が同定され、難聴はもはや原因不明の疾患ではなくなりつつある。先天性難聴／小児期発症の難聴の60-70%は遺伝子の関与によるものとされており(図1)、難聴の原因を知り正確な診断を行うためには遺伝子診断が必要不可欠になってきている。また遺伝子診断は難聴の予後(重症度、進行性、

変動)、随伴症状の予測、介入法の選択、予防、遺伝カウンセリングに有用な情報を提供してくれる。

難聴の遺伝子診断や遺伝カウンセリングを行う際には耳鼻咽喉科専門医の積極的な関わりが必要であることから、本講座では耳鼻咽喉科専門医に必要な難聴遺伝子や遺伝子診断の知識について概説する。

重症度の予測／治療法の選択

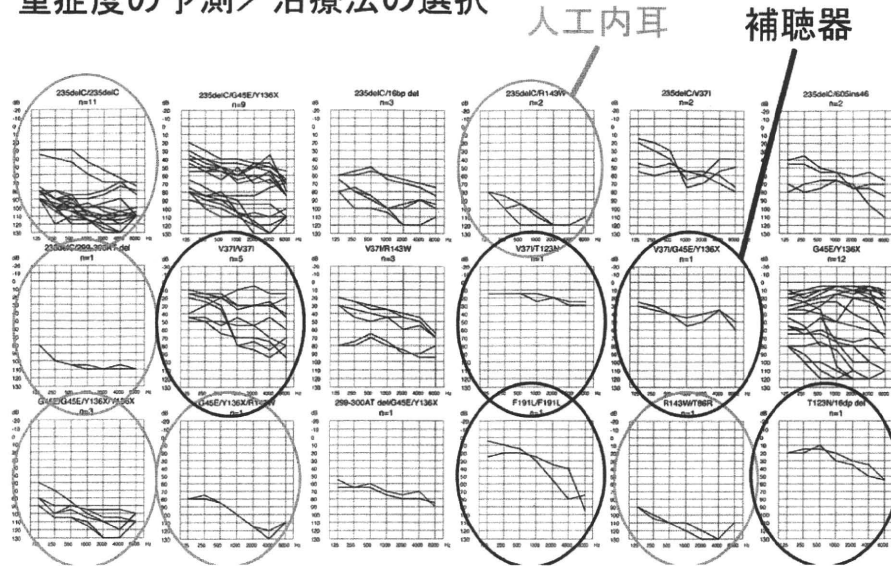


図2 GJB2 遺伝子変異による難聴患者の重症度予測 (Oguchi, et al, 2005) と治療法の選択

「先進医療」としての「先天性難聴の遺伝子診断」

日本人難聴患者には現在までに10数種類の原因遺伝子が報告されている (Usami, et al, 2008). 難聴は多種類の遺伝子が「難聴」という同じ症状を呈するために、難聴を主訴に外来を受診した患者がどの原因遺伝子が関与しているかを推測することは困難な場合が多い。インベーター法は同時に多数の変異を検出可能なスクリーニング法として優れているが (Abe, et al, 2007), インベーター法を用いた難聴遺伝子スクリーニング「先天性難聴の遺伝子診断」が2008年7月に先進医療として承認され

臨床診療として実施できることになった。近年の分子遺伝学の進歩を受けて難聴の遺伝子解析研究が進められてきたが、いよいよ難聴の遺伝子診断が臨床の現場で実施できるようになった意義は大きい。先進医療で承認された「先天性難聴の遺伝子診断」では遺伝学的検査を行い、結果を遺伝カウンセリングとともに返すまでを医療として位置づけている。今後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。

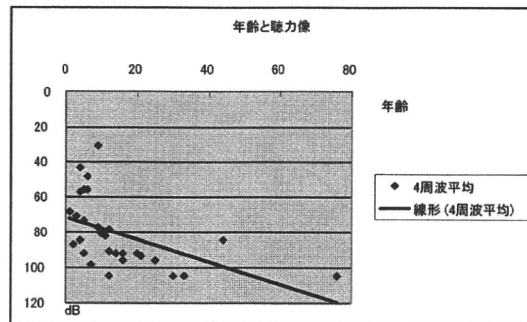
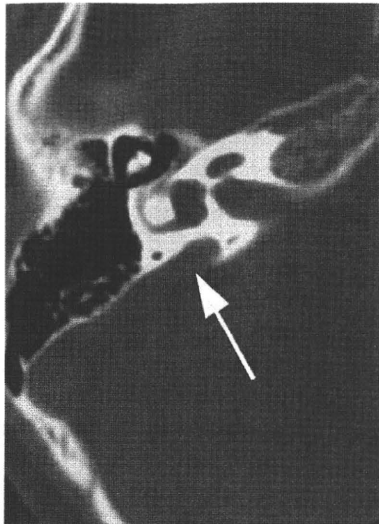


図3 SLC26A4 遺伝子変異による難聴患者のCT所見と難聴の進行度 (Suzuki, et al, 2007)

日本人難聴患者に高頻度に見出される難聴遺伝子

1) GJB2

日本人先天性難聴患者の約25%にGJB2遺伝子変異が見出されこの遺伝子変異が日本人の難聴の原因としても重要な位置を占めることが明らかとなっている。この遺伝子変異を持つ難聴児は中等度から高度難聴を呈することが多く、補聴器や人工内耳の適応となる症例が多い。われわれの検討では遺伝子型(変異の種類)と難聴の程度に相関関係があることが明らかになっており(図2)、遺伝子検査は難聴の早期診断の一助になるとともに聴力像を予想し治療法を選択する際にも参考になる。近年、

この遺伝子変異を持つ患者の人工内耳の成績が良好であることが報告されており、今後遺伝子診断が人工内耳の適応を決定する際にも重要な情報になると思われる。

2) SLC26A4

「前庭水管拡大」は最も頻度が多い内耳奇形の一つであるが(図3)、「前庭水管拡大を伴った非症候群性難聴」の原因遺伝子としてSLC26A4遺伝子変異が知られている。遺伝子診断は難聴の変動性、進行性、予想される随伴症状(めまい、甲状腺腫など)などを説明する際に有用な情報を提供してくれることが多い。

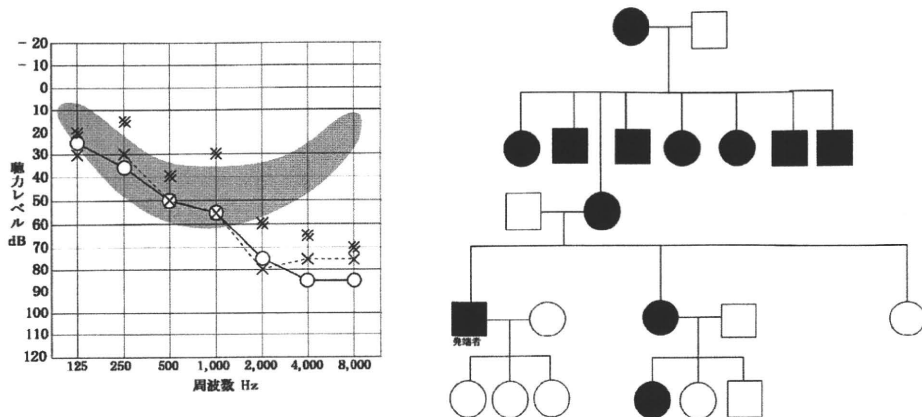


図4 ミトコンドリア1555変異による難聴症例のオージオグラム、家系図、および薬物カード

3) ミトコンドリア遺伝子 1555A>G 変異

アミノ配糖体抗生物質に対する内耳の易受傷性がミトコンドリア遺伝子 1555A>G 変異に関連することが明らかになっている。この遺伝子変異は外来を受診する感音難聴患者の約3%に、またアミノ配糖体抗生物質の投与歴がある難聴患者の約30%に見出されている。難聴の程度には個人差があるが、この遺伝子変異による難聴では進行例も認められることから定期的に聴力検査を行い経過観察することが重要である。通常、中等度以上の難聴症例には補聴器が用いられるが補聴効果の認められない高度難聴に関しては人工内耳の良い適応になることが多い。このミトコンドリア遺伝子 1555A>G 変異に伴う難聴に関してはアミノ配糖体抗生物質の投与を避けること

により高度難聴はある程度予防が可能であることから、現在われわれの施設ではミトコンドリア遺伝子変異のスクリーニングシステムを確立するとともに薬物カード(図4)を配付し予防に努めることが重要である。

参考文献

- 1) 宇佐美真一：きこえと遺伝子。金原出版；2006。
- 2) 宇佐美真一：難聴の遺伝カウンセリング—先進医療としての「先天性難聴の遺伝子診断」をふまえて—。耳鼻咽喉科臨床 2008；101：727-738。

連絡先 〒390-8621 松本市旭3-1-1

信州大学医学部耳鼻咽喉科 宇佐美真一

当科小児難聴外来の過去10年間における難聴の遺伝学的検討

小林有美子¹⁾, 佐藤宏昭¹⁾, 岩井詔子²⁾, 村井盛子³⁾, 宇佐美真一⁴⁾

¹⁾岩手医科大学耳鼻咽喉科, ²⁾耳鼻咽喉科 岩井クリニック

³⁾盛岡市立病院耳鼻咽喉科, ⁴⁾信州大学耳鼻咽喉科

要旨: 今回我々は, 1997年から2007年までの間に岩手医科大学耳鼻咽喉科小児難聴外来を受診した, 明らかな外因のない両側感音難聴患者64例を対象とし, *GJB2* 変異, *SLC26A4* 変異, ミトコンドリア A1555G 変異について解析を行った結果と, それ以前に本人及び家族の聴力検査, オーディオグラムの特徴などから遺伝性難聴と診断されていた例と比較検討し, 遺伝性難聴の頻度がどの程度変化したのか, またそのオーディオグラムの特徴について検討を行った。両側感音難聴64例のうち, 難聴の病因と考えられる遺伝子変異が見つかったのは11例 (17.2%) であった (*GJB2* 変異9例, *SLC26A4* 2例)。遺伝性難聴の頻度は遺伝子検査以外の検査から診断した例に遺伝子検査で確認された例を加えることによって, 全体の45.3%となった。遺伝子変異例のオーディオグラムの特徴は, その左右対称性などこれまでに知られている遺伝性難聴の特徴と一致することが多いことがわかった。

キーワード

遺伝性難聴, *GJB2*, 非症候性感音難聴

はじめに

遺伝性難聴は従来, 症状や随伴する他の異常所見, 遺伝形式などによって分類, 診断されてきた。2001年時点での当科小児難聴外来の1432例の統計では, 感音難聴児のうち遺伝性は約30%で, 原因不明は約60%であった¹⁾。しかし, 原因不明例の両側感音難聴児の両親における難聴発現率は一般成人に比べ有意に高いことから²⁾, 原因不明例の中には遺伝性難聴が少なからず含まれている可能性がある¹⁾。実際, 近年難聴の遺伝子座の報告が相次ぎ, 1999年には Kimberling により, 先天性感音難聴の約50%が遺伝性難聴と報告されるようになった³⁾。しかし, 2006年より信州大学で行われている, 日本人難聴者に高頻度にみられる10遺伝子44変異を対象としたインベーター法による網羅的解析における変異同定率は30%程度⁴⁾で, これまでより多くの変異患者

が見つかるようになったが, 遺伝性難聴の疑われる患者すべての原因特定には至っていない。

日常の外来診療においては, 難聴の確定診断のためには周産期からの生育歴, 聴覚検査, 家族歴聴取と家族の聴力検査が重要である。特に, 遺伝性難聴におけるオーディオグラムの聴力型に関する研究は, しばしばその遺伝性を推定する上で役立ってきた。1936年 Langenbeck⁵⁾ は両側罹患で左右のオーディオグラムが一致しているものを左右対称性オーディオグラムと呼び, この難聴の原因に遺伝性素因の関与していることを示す所見と考えた。また家系内に難聴者がいる場合, そのオーディオグラムの相似性は遺伝性難聴の大きな特徴とされてきたが, 立木⁶⁾ は家系内難聴者のオーディオグラムを重ね合わせて検討することにより, 「遺伝性難聴の家系内難聴者オーディオグラムの三原則」, すなわち非交叉の原則, 一致の原則, 分離の原則を提唱し, Langenbeck によって

発表された「左右対称性の法則⁵⁾」とともに、遺伝性難聴の臨床診断をする上で一つの試金石となりうるとした。これらのうち特に充足率の高いのは非交叉原則であるが、これは遺伝性難聴の家系内難聴者のオージオグラムを重ね合わせると、交叉する部分がないという原則である。このような特徴が、遺伝子検査導入後も遺伝性難聴を特徴づける所見として有用であるかどうか検討することは興味深いと思われた。

今回我々は、感音難聴児及びその家族に対し、ミトコンドリア DNA A1555G 変異（以下、A1555G 変異）、*GJB2* 変異、*SLC26A4* 変異の有無について直接シーケンス法で解析を行い、それ以前に本人及び家族の聴力検査結果、オージオグラムの特徴や他の臨床的特徴、画像検査などから遺伝性難聴あるいは原因不明と診断されていた例と比較検討し、遺伝性難聴の診断頻度がどの程度変化したのか、また遺伝子検査導入後、変異陽性例にどの程度オージオグラムにおける臨床的特徴が合致するののかについて検討したので、若干の考察を加えて報告する。

対 象

1997年から2007年までの過去10年間に岩手医科大学耳鼻咽喉科小児難聴外来で遺伝学的検査を行ったのは、410例、123家系である。これらの家系の発端者の内訳は、両側感音難聴64例、一側感音難聴45例、混合難聴や伝音難聴14例であった。一側感音難聴から遺伝子変異が2例見つかったが、この変異が直接一側難聴を引き起こす原因とは現時点では確定できなかったため、今回は両側感音難聴64例（男32、女32。平均年齢11.5歳（1～34歳））を対象とした。また、発端者の難聴はすべて、明らかな外因を認めないものであった。難聴の程度は軽度難聴22例、中等度難聴19例、高度難聴23例であった。また、難聴の確定診断は純音聴力検査によるものが50例、CORが10例、ABRが4例であった。

方 法

(1) 両側感音難聴64例に対して、遺伝子解析(*GJB2* 変異、*SLC26A4* 変異、A1555G 変異)の変異同定率、変異の内訳、症候群性/非症候群性、難聴の発症様式について検討した。*GJB2* 遺伝子、

SLC26A4 遺伝子については、直接シーケンス法により翻訳領域およびイントロン・エキソン境界の解析を行った。

(2) 両側感音難聴64例を、遺伝子検査以外の検査方法（本人及び家族の聴力検査、オージオグラムの特徴や他の臨床的特徴、画像検査など）で遺伝性難聴群と原因不明群に分類し、両群からそれぞれ遺伝子変異陽性例がどの程度みつかり、またそれによって遺伝性難聴の比率がどの程度増加したかを検討した。

(3) 変異陽性例のオージオグラム及びその臨床的特徴をみるために、オージオグラムの左右対称性がみられるかどうか、また家系内難聴者がいる場合、それらのオージオグラムを重ね合わせるにより、遺伝性難聴のオージオグラムの一つの特徴である非交叉がみられるかどうかを検討した。

なお、本研究は岩手医科大学倫理委員会で審査、承認されており、事前に被験患者本人にインフォームドコンセントを行い、文書により同意を得て行った。16歳以上の未成年者及び16歳未満の者については、代諾者（親権者、後見人や保佐人が定まっているときはその人）に対してインフォームドコンセントを行い、同意を得られたものに対して採血を行った。

結 果

(1) 両側感音難聴64例のうち、遺伝子変異が同定されたのは11例（17.2%）であった。

変異の内訳は64例中 *GJB2* 変異が9例（14.1%）、*SLC26A4* 変異は2例（3.1%）で、A1555G 変異例は認められなかった。すべて非症候群性で、発症様式は孤発例5例、常染色体劣性遺伝（以下AR）6例で優性遺伝は認められなかった。

(2) 遺伝子検査以外の臨床検査、臨床的特徴（オージオグラムの特徴、家系図聴取、可能な限りの家族の聴力検査など）から診断した発症様式で両側感音難聴64例を分類すると、遺伝性難聴群24例（37.5%）、原因不明群40例（62.5%）であった。

これら2群から遺伝子変異陽性例は、遺伝性難聴群から6例、原因不明群から5例が同定された。従って、原因不明群から新たに遺伝性難聴と診断された5例を遺伝性難聴群24例に加えると29例となり、

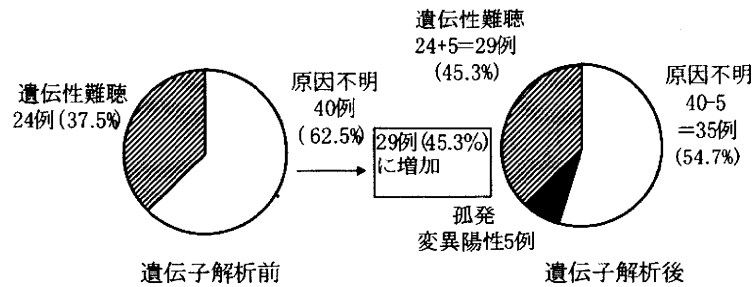


図1 遺伝性難聴の割合

表1 遺伝子変異陽性例の臨床像
(AR群：発症様式として常染色体劣性遺伝形式をとるもの、*印：症例(図2参照))

孤発	年齢(才)	性別	変異	両耳性	聴力障害	聴力型	発症様式	家族の聴力	非交叉
1	7	女	<i>GJB2</i> 235delC・V37I 複合ヘテロ	非対称	軽度	高音障害	—	—	—
2	8	男	<i>GJB2</i> 235delC・V37I 複合ヘテロ	対称	軽度	高音障害	—	—	—
3	4	女	<i>GJB2</i> 235delC・G45E・Y136X 複合ヘテロ	対称	中等度	水平型	—	—	—
4	5	女	<i>GJB2</i> 176-191del16bp・235delC 複合ヘテロ	対称	高度	ろう型	—	—	—
5	16	女	<i>SLC26A4</i> IVS7-2・A>G・H723R 複合ヘテロ	対称	高度	ろう型	—	—	—
AR群									
1	6	男	<i>GJB2</i> G45E・Y136・F191L 複合ヘテロ	対称	軽度	谷型	AR	父軽度など	なし*
2	12	女	<i>GJB2</i> 235delC ホモ	対称	中等度	水平型	AR	姉 高度	あり
3	16	女	<i>GJB2</i> V37I ホモ	対称	中等度	高音障害	AR	弟 軽度	あり
4	2	女	<i>GJB2</i> 235delC ホモ	対称	高度	ろう型	AR	母 中等度	—
5	3	男	<i>GJB2</i> 235delC ホモ	対称	高度	ろう型	AR	姉 中等度	あり
6	21	男	<i>SLC26A4</i> T721M ヘテロ	対称	高度	高音障害	AR	姉 中等度	あり

全体に占める遺伝性難聴の割合は45.3%となった(図1)。

(3) 遺伝子変異陽性例のオージオグラムや他の臨床的特徴を検討するために、11例をさらに、家系内難聴者を認めなかった孤発群と家系内難聴者を認めた群に分けて表に示した(家系内難聴者のいた群は遺伝形式からAR群とした)。(表1)

オージオグラムの左右対称性についてみると、孤発群の一例を除いた10例はすべて左右対称性のオージオグラムを呈した。聴力障害の程度は軽度(3例)、中等度(3例)、高度(5例)すべての程度がみられた。聴力型は高音障害型、谷型、ろう型がみられ、*SLC26A4* 変異の2例はこの遺伝子変異に特

徴的な、低音域に気骨導差を認める高音障害型オージオグラムを呈し、聴器画像検査にて両耳に前庭水管拡大を認めた。AR群の症例6ではヘテロ接合しか検出されなかったが、Pryorら⁷⁾によるとその場合でも、前庭水管拡大症や特徴的な聴力型があれば遺伝子変異が難聴の発症に関与している可能性があるとしているため、遺伝子変異陽性例として検討に加えた。

AR群6例の発端者と家系内難聴者の重ね合わせオージオグラムを作成し、遺伝性難聴のオージオグラムの3原則として立木⁸⁾により提唱された非交叉、一致、分離の3原則のうち、一番充足率が高いとされる非交叉について調べた結果、ABRによる

1例を除いた5例中4例に非交叉が認められた。非交叉(-)と判断した、家系内に難聴者が多発していた *GJB2* 変異の一家系は、聴力検査を行った患者のすべての重ね合わせオーディオグラムは2~8kHzにわたって交叉がみられ非交叉(-)であった。遺伝子検査によって2名が発端者の難聴と無関係の老人性難聴と判明したため(オーディオグラムB)、これらを除いて検討すると谷型と高音障害型の二つのパターンに分かれた(分離)。

考 察

過去10年間に小児難聴外来で遺伝子検査を行った結果、両側感音難聴64例のうち11例(17.2%)に *GJB2* ないし *SLC26A4* の遺伝子変異が同定された。これらの遺伝子変異陽性11例中9例と最も多く検出された *GJB2* 変異は日本人先天性難聴の約20%に見られる^{8,9)} ことから、ほぼ従来の報告と一致した。また遺伝性難聴の頻度はオーディオグラムの特徴、家系図聴取、可能な限りの家族の聴力検査などから診断した例に遺伝子検査で確認された例を加えることによって、全体の45.3%となり Kimberling (1999)⁹⁾ の報告と同程度となることがわかった。

遺伝性難聴のオーディオグラムの特徴として知られているのは、オーディオグラムの左右対称性³⁾ と家系内難聴者オーディオグラムの類似性⁶⁾ である。類似性については、立木によると家系内メンバーのオーディオグラムが完全に「一致」する確率はそれほど高くない⁶⁾。しかし多数の遺伝性難聴患者オーディオグラムの重ね合わせの検討から、オーディオグラムに一致が見られない場合でも、それらのオーディオグラムは交叉しないことを述べた。つまり、家系内メンバーの重ね合わせオーディオグラムを作成し、そのオーディオグラムが一致していなくても軽度、中等度、高度などの難聴を示す数名のオーディオグラムは交叉しないことが多い(ただし、唯一交叉が4kHzと8kHzの間で起こることが多く、この場合は例外として「非交叉」と判定するとある)。たとえば、中等度難聴例のオーディオグラムが完全に軽度の例と高度の例の間に入っている所見などである。これは、あるメンバーの聴力が時間の経過とともに変化していく経過を、何人かのメンバーであらわしている姿と考えられる点で意義が大きく、つまりある家系の難聴の

その障害部位特異性の推察に役立つ知見であるとしている。さらに、2例以上のオーディオグラムが一致した上でそれが二つ以上のグループに分かれている場合を「分離の原則」とし、「遺伝性難聴の家系内難聴者オーディオグラムの三原則」とよんだ。この三原則の充足率は、立木の報告によると非交叉92.1%、一致48.7%、分離34.6%である。今回我々は、遺伝性難聴の臨床的特徴として高頻度にみられることを予測し、遺伝子変異陽性例に対し非交叉の有無について調べたところ、家系内難聴者のいるAR群で、オーディオグラムの得られた5家系中4家系(80%)に認められた。また、家系内に難聴者が多発していたが非交叉(-)と判断した残りの1家系については、遺伝子検査で老人性難聴と判明した2症例を除いてオーディオグラムを重ね合わせるとパターンが谷型(オーディオグラムD)と高音障害型(オーディオグラムE)の二つに分かれ、「分離」が遺伝子検査導入によって明確となった(図2)。このように遺伝子検査によって、遺伝性難聴のオーディオグラムにおける特徴がより明確になっていくかどうかは、今後このような家系内難聴者の比較的多い症例を増やして検討したい。

さらに、発端者のオーディオグラムの左右対称性をみると、孤発の一例を除いてすべて対称性であった。また一致、分離についても検討したが、一家系のオーディオグラム例数が少なく充足率を検討するまでには至らなかった。

非症候性遺伝性難聴の分類のひとつとして知られる Konigsmark¹⁰⁾ の分類を表に示す(表2)。従来から遺伝性難聴として、このような症状分類が知られていたわけであるが、今回遺伝子検査で変異が判明した例で本分類にあてはまるものは少数であった。しかし、自験例には遺伝子変異陰性例に、例えば Dominant mid-frequency sensorineural hearing loss に該当する症例があったことから、今後検索遺伝子を増やしての検討が待たれる。一方、Konigsmark の分類にはない、孤発例は遺伝子変異陽性例の半数に認められた。

GJB2 変異症例の聴力障害の程度は軽、中等度、高度と様々で、一定の傾向はなかった。これは日本人 *GJB2* 変異症例を変異の型別に検討すると、最も高頻度にみられる 235delC では両側高度感音難聴が

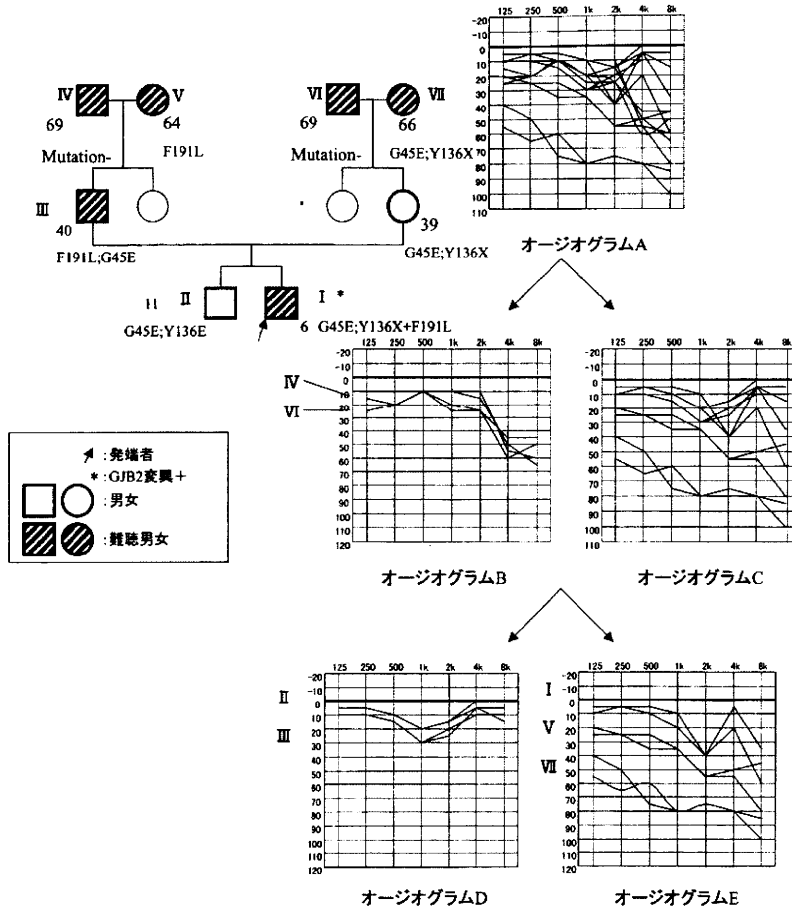


図2 遺伝性難聴家系のオージオグラムと家系図（オージオグラム非交叉(-)の一例)
 家系図中、*印: *GJB2* 変異陽性者。I~VII: オージオグラム左端と対応。オージオグラムAはすべての難聴者の重ね合わせオージオグラムで、非交叉(-)、分離(-)。オージオグラムBは発端者難聴発現に無関係と判明した難聴者のみ、CはBを除いたオージオグラム。このオージオグラムCはさらに二つのパターンに分けられ「分離」が明確となる(オージオグラムD, E)。

表2 Hereditary hearing loss without associated abnormality⁹⁾

1. dominant congenital severe deafness
2. dominant progressive nerve deafness
3. dominant unilateral deafness
4. dominant low frequency hearing loss
5. dominant mid-frequency hearing loss
6. otosclerosis
7. recessive congenital severe deafness
8. recessive early-onset neural deafness
9. recessive moderate neural hearing loss
10. sex-linked congenital deafness
11. sex-linked early-onset neural deafness

みられるが、型によって軽度、中等度と様々認められるという報告¹¹⁾を裏付ける結果と考えられた。

オージオグラムの特徴などからの分類は、先に述べた Konigsmark¹⁰⁾の分類も含めこれまでも報告がある。なかでも先天性聾と家族性進行性感音難聴は頻度が多く、よく知られている^{12), 13), 14)}。先天性聾は *GJB2* に代表される、劣性遺伝形式をとる非症候群性難聴の臨床的症状に比較的合致している。常染色体優性遺伝型の家族性感音難聴は Konigsmark¹⁰⁾の分類では、Dominant progressive nerve deafness, Dominant low-frequency hearing loss, Domi-

nant mid-frequency hearing loss に該当する¹⁴⁾。これらの臨床像をもつ家系の遺伝子座は後に判明しており、たとえば *WFS1* は低音障害型感音難聴が優性遺伝形式で家族内に多発している¹⁵⁾。*TECTA* では非進行性の中音域の感音難聴を呈し、常染色体優性遺伝形式をとることが多い¹⁶⁾。いずれも頻度は少ないが、その診断には従来の分類の知識が有用と思われた。

自験例の変異陰性症例には Konigsmark の分類に合致する例が数例あることから、検索遺伝子の増加により今後さらに遺伝性難聴と診断される症例が発見される可能性があると考えられる。また、このような家族性難聴の患者は自らの家系に難聴者が多発していることを認識しており、原因解明を望んでいることが多い。難聴の遺伝子検索はこのような要望にこたえることのできる、有用な手段のひとつであると思われる。

まとめ

1. 1997年から2007年までの過去10年間に、岩手医科大学小児難聴外来において、明らかな外因のない両側感音難聴児64例に対し遺伝子検査を行った。11例 (17.2%) に遺伝子変異を認め、うち *GJB2* 変異は9例 (14.1%)、*SLC26A4* 変異は2例 (3.1%) と従来の報告通りの頻度であった。遺伝性難聴の頻度はオージオグラムの特徴、家系図聴取、可能な限りの家族の聴力検査などから診断した例に遺伝子検査で確認された例を加えることによって、全体の45.3%となった。
2. 遺伝子変異例11例のオージオグラムにおける特徴をみると、一例を除いて左右対称性であった。重ね合わせオージオグラムを作成すると、発端者のオージオグラムの得られた5家系中4家系 (80%) に非交叉が認められた。
3. *GJB2* 変異例における聴力障害の程度、聴力型は様々で、本変異の臨床的特徴を反映しているものと考えられた。
4. 自験例中の変異陰性例には Konigsmark の遺伝性難聴の分類に該当するような症状をもつ家系もあり、検索遺伝子を増やしての検討は、家族性難聴患者及び家族の原因究明の希望にこたえられる有用な手段のひとつと思われた。

謝 辞

本稿の研究に関しましてご指導いただきました。岩手医科大学耳鼻咽喉科名誉教授村井和夫先生に深く感謝いたします。

本論分の要旨は第52回日本聴覚医学会学術講演 (2007年10月、名古屋市) で口演した。

本研究の一部は、難治性疾患克服研究事業「優性遺伝形式をとる遺伝性難聴に関する調査研究」への厚生労働科学研究費補助金により行われた。

A study of genetic testing in patients with hereditary hearing loss—Ten years' experience at Iwate Medical University—

Yumiko Kobayashi¹⁾, Hiroaki Sato¹⁾, Noriko Iwai²⁾, Seiko Murai³⁾, Shin-ichi Usami⁴⁾

¹⁾Iwate Medical University

²⁾Iwai ENT Clinic

³⁾Morioka Municipal Hospital

⁴⁾Department of Otorhinolaryngology, Shinshu University School of Medicine

Hereditary hearing loss is the most frequent cause of congenital sensorineural hearing loss (SNHL), and advances in genetic testing have revealed various phenotypes of SNHL according to each gene mutation. On the other hand, clinical examinations, such as a history of development, family history, and various kinds of auditory examinations are also required for the diagnosis of hereditary hearing loss. In this paper, we reviewed 64 patients with bilateral congenital SNHL who visited Iwate Medical University between 1997 and 2007. Genetic testing (*GJB2*, *SLC26A4* and mt. A1555G mutations) revealed 11 (17.2%) patients with positive results for genetic mutation: 9 with *GJB2* mutation and 2 with *SLC26A4* mutation. Among these 11 patients, 5 had a negative family history. Patients with hereditary hearing loss increased from 24 patients

(37.5%) diagnosed by family history to 29 patients (45.3%) diagnosed by additional genetic testing. Furthermore, audiograms were found to be symmetrical in 10 of the 11 patients (90.9%) with *GJB2* or *SLC26A4* mutation.

参考文献

- 1) 村井盛子: 先天性感音難聴。(川城信子編) 耳鼻咽喉科診療プラクティス9 小児の耳鼻咽喉科診療. 文光堂. 104-108, 2002
- 2) 亀井昌代: 小児感音難聴の成因に関する研究—両親の聴力検査成績について。岩手医誌 48: 181-189, 1996
- 3) Kimberling WJ: Genetic testing of hearing loss disorders: in Hashimoto I, et al. (eds), Novel findings of gene diagnosis, regulation of gene expression, and gene therapy. Molecular Medicine. Elsevier Science B.V., Amsterdam, pp21-30, 1999
- 4) Abe S, Yamaguchi T, Usami S: Application of deafness diagnostic screening panel based on deafness mutation/gene database using invader assay. Genet Test 11: 333-340, 2007
- 5) Langenbeck B: Das Symmetriegesetz der erblichen Taubheit. Ztschr. Hals usw Heilk 39: 223, 1936
- 6) 立木孝: 感音難聴, 特にその成因。日耳鼻 79: 1454-1460, 1976
- 7) Pryor SP, Madeo AC, Reynolds JC, et al: SLC26A4/PDS genotype-phenotype correlation in hearing loss with enlargement of the vestibular aqueduct (EVA): evidence that Pendred syndrome and non-syndromic EVA are distinct clinical and genetic entities. J Med Genet 42: 159-165, 2005
- 8) Abe S, Usami S, Shinkawa H, et al: Prevalent connexin 26 gene (*GJB2*) mutations in Japanese. J Med Genet 37: 41-43, 2000
- 9) Ohtsuka A, Yuge I, Kimura S, et al: *GJB2* deafness gene shows a specific spectrum of mutations in Japan, including a frequent founder mutation. Hum Genet 112: 329-333, 2003
- 10) Konigsmark BW, Mengel MC, Haskins H: Familial congenital moderate neural hearing loss. J Laryngol Otol 84: 495-505, 1970
- 11) Oguchi T, Ohtshka A, Hashimoto S, et al: Clinical features of patients with *GJB2* (connexin 26) mutations: severity of hearing loss is correlated with genotypes and protein expression patterns. J Hum Genet 50: 76-83, 2005
- 12) 切替一郎, 松崎力: 家族性難聴の臨床的観察。耳喉 40: 107-119, 1968
- 13) 竹下達也, 日高眞: 遺伝性難聴。JOHNS 6: 70-74, 1990
- 14) 村井盛子, 立木孝: 感音難聴の遺伝。JOHNS 8: 1263-1270, 1992
- 15) Cryns K, Pfister M, Pennings RJ, et al: Mutations in the *WFS1* gene that cause low-frequency sensorineural hearing loss are small non-inactivating mutations. Hum Genet 110: 389-394, 2002
- 16) Govaerts PJ, De Ceulaer G, Daemers K, et al: A new autosomal-dominant locus (*DFNA12*) is responsible for a nonsyndromic, midfrequency, prelingual and nonprogressive sensorineural hearing loss. Am J Otol 19: 718-723, 1998

(原稿受付 平成21.1.15)

別冊請求先: 〒020-8505

岩手県盛岡市内丸19-1

岩手医科大学医学部耳鼻咽喉科学講座

小林有美子

Reprint request:

Yumiko Kobayashi

Department of Otorhinolaryngology, Iwate Medical University, 19-1 Uchimarui Morioka, Iwate, 020-8505, Japan

I. 遺伝子診断 (Genetic Diagnosis) B. 各論

疾患群の遺伝学的検査 (Genetic Testing) と遺伝子検査 (Gene-Based Testing)

難 聴

Molecular diagnosis of deafness

宇佐美真一

Key words : 難聴, めまい, 内耳, 遺伝子診断

1. 概 念

疫学調査によれば出生1,000人に1人の割合で高度難聴児が生まれてくるとされるが、これは他の先天性疾患に比較しても極めて頻度が高く、難聴はすべての先天性の疾患のうちでも最も多い疾患の一つであるともいうことができる。新生児聴覚スクリーニングの普及に伴い難聴の早期診断、早期療育の必要性が高まってきている。先天性難聴あるいは小児期発症の難聴の60-70%は遺伝子の関与によるものと推測されており¹⁾、難聴の正確な診断にはもはや遺伝子を抜きには考えられないようになってきつつある。ここ数年で多くの難聴の原因遺伝子が明らかにされた結果、遺伝子診断は難聴の正確な診断、治療法の選択、予後の推測、合併症の予測、更には予防や遺伝カウンセリングといったものに関して重要な情報を提供してくれるようになってきた。2008年7月に‘先天性難聴の遺伝子診断’が先進医療として承認され臨床診療として実施できることになったが、難聴の遺伝子診断が臨床の現場で実施できるようになった意義は大きい。

2. 難聴の原因遺伝子

遺伝性難聴は難聴のほかに症候を伴うか否か

によって‘症候群性難聴’と‘非症候群性難聴’に分類されている。

遺伝性難聴の約30%を占めるとされている‘症候群性難聴’に関しては現在までに400種類を超える疾患群が知られ、難聴のほか筋肉骨格系、腎尿路系、神経系、眼の異常、色素異常、代謝異常など種々の奇形や他の疾患を伴う症候群が報告されている。‘症候群性難聴’の中では幾つかの症候群で既に原因遺伝子が特定されている(表1)。

遺伝性難聴の大半は難聴のみが症状である‘非症候群性難聴’であり、現在までに40数種類の原因遺伝子が特定されている(Hereditary Hearing Home Page : <http://webh01.ua.ac.be/hhh/>)。日本人難聴患者に現在までに報告されている原因遺伝子と頻度を表2にまとめたが²⁾、*GJB2* 遺伝子変異による難聴、*SLC26A4* 遺伝子変異による難聴、ミトコンドリア変異による難聴が高頻度で見いだされている。

3. 難聴の遺伝子診断

難聴の原因遺伝子は数10-100種類程度あるといわれるが臨床的には難聴という同じ症状をきたすため、受診した患者の原因遺伝子を見いだすのは必ずしも容易でない。また難聴の原因遺伝子すべてをスクリーニングするのは実際に

Shin-ichi Usami: Department of Otorhinolaryngology, Shinshu University School of Medicine 信州大学医学部耳鼻咽喉科学教室

表 1 既に原因遺伝子が特定されている主な症候群性難聴

症候群	随伴症状	原因遺伝子
Alport 症候群	腎障害	<i>COL4A3, COL4A4, COL4A5</i>
Branchio-Oto-Renal (BOR) 症候群	耳瘻孔, 頸部瘻孔, 内耳, 中耳奇形, 尿路奇形	<i>EYA1, SIX5, SIX1</i>
Jervell and Lange-Nielsen 症候群	心電図異常 (QT 延長)	<i>KCNQ1, KCNE1</i>
Norrie 症候群	視覚障害 (硝子体腔内白色腫瘍)	<i>NDP</i>
Pendred 症候群	甲状腺腫	<i>SLC26A4, FOXI1</i>
Usher 症候群	視覚障害 (網膜色素変性)	<i>MYO7A, USH1C, CDH23, PCDH15, SANS, USH2A, VLGR1, WHRN, USH3</i>
Waardenburg 症候群	色素異常 (白色の前髪, 虹彩異色, 白斑)	<i>PAX3, MITF, SNAI2, EDNRB, EDN3, SOX10</i>
Treacher Collins 症候群	下眼瞼の欠損, 小顎症, 小耳症, 口蓋裂	<i>TCOF1</i>
Stickler 症候群	近視, 硝子体網膜変性, 関節変性, 顔面正中部の低形成, 脊椎体の不整, 口蓋裂	<i>COL2A1, COL9A1, COL11A2, COL11A1</i>
ミトコンドリア症候群		ミトコンドリア遺伝子

は困難である。日本人の遺伝的背景を考えると日本人に特徴的なあるいは頻度の多い遺伝子変異を網羅的、効果的にスクリーニングしていくことが重要であると考えられる。著者らは同時に多数の変異を検出可能なインベーター法を用い日本人先天性・小児期発症難聴患者 300 余人における各々の変異の出現頻度の検討を行ったところ約 30% の患者で遺伝子変異の検出が可能であった³⁾。現在、このインベーター法を用いて 10 遺伝子 47 変異をスクリーニングする‘先天性難聴の遺伝子診断’が先進医療として承認され臨床診療として実施されている。先進医療で承認された‘先天性難聴の遺伝子診断’では遺伝学的検査を行い、結果を遺伝カウンセリングとともに返すまでを医療として位置付けている^{4,5)}。

4. 日本人難聴患者に高頻度に見いだされる難聴遺伝子

日本人難聴患者に高頻度に見いだされ臨床的に遺伝子診断の価値が定着している 3 つの遺伝子とその臨床症状の特徴について概説する。

a. *GJB2*

GJB2 遺伝子は細胞間の結合様式の一つであるギャップ結合タンパク (コネキシン 26) をコードする遺伝子で、現時点で最も高頻度で見いだされる先天性難聴の原因遺伝子として全世界で研究が進められている。著者らの検討では日本人先天性難聴患者のうち約 25% に *GJB2* 遺伝子変異が見いだされ、この遺伝子変異が日本人の難聴の原因としても重要な位置を占めることが明らかとなっている⁶⁾。現在までに全世界で 100 以上の変異が報告されているが日本人患者からは合計 15 の変異が見いだされており、なかでも 235delC と呼ばれる変異が最も頻度が多

表2 日本人難聴患者に報告された難聴の原因遺伝子とその頻度(報告順)(文献²⁾より引用)

AD: 常染色体優性遺伝, AR: 常染色体劣性遺伝

	参考文献	頻度
ミトコンドリア 3243A>G	Goto ら, 1990 Oshima ら, 1999	0.3% (1/319 Usami ら, 2000)-3% (3/100 Oshima ら, 1999) 外来受診した感音難聴
ミトコンドリア 1555A>G	Hutchin ら, 1993 Usami ら, 1997	3% (11/319 Usami ら, 2000)-5% (7/138 Noguchi ら, 2004) 外来受診した感音難聴 33% (7/21, 2/6) アミノ配糖体抗生物質の投与歴のある患者 10% (14/140) 人工内耳患者 57% (13/22) アミノ配糖体抗生物質の投与歴のある人工内耳患者 (Usami ら, 2000)
<i>MYO7A</i>	Liu ら, 1997	(single DFNA11 family)
<i>POU3F4</i>	Hagiwara ら, 1998	(single DFN3 family)
<i>GJB2</i>	Fuse ら, 1999 Abe ら, 2000 Kudo ら, 2000	11.3% (259/2,454) 外来受診した感音難聴 (n=1,227) (Ohtsuka ら, 2003) 18.3% (62/338) 先天性難聴患者 (Abe ら, 2007)
<i>SLC26A4</i>	Usami ら, 1999 Kitamura ら, 2000 Tsukamoto ら, 2003	90% (9/10) Pendred 症候群患者 78% (25/32) 前庭水管拡大を伴う難聴患者 (Tsukamoto ら, 2003)
<i>KCNQ4</i>	Akita ら, 2001	1/16 AD 感音難聴患者 (Akita ら, 2001)
ミトコンドリア 7511T>C	Ishikawa ら, 2002	(single maternally inherited family)
<i>TECTA</i>	Iwasaki ら, 2002	(single mid-frequency involved family)
<i>WFS1</i>	Komatsu ら, 2002 Noguchi ら, 2006 Fukuoka ら, 2007	3/182 AD 感音難聴患者 3/10 AD 低音障害型感音難聴患者 0/64 AR 感音難聴患者 (Fukuoka ら, 2007)
<i>COCH</i>	Usami ら, 2003	1/23 AD 感音難聴患者 0/20 Ménière 病患者 (Usami ら, 2002)
<i>CRYM</i>	Abe ら, 2003	2/192 先天性難聴患者 (Abe ら, 2003)
<i>KIAA1199</i>	Abe ら, 2003	4/192 先天性難聴患者 (Abe ら, 2003)
<i>COL9A3</i>	Asamura ら, 2005	2/147 感音難聴患者 (Asamura ら, 2005)
<i>CDH23</i>	Wagatsuma ら, 2007	5/64 AR 先天性難聴患者 (Wagatsuma ら, 2007)

いことが知られている⁶⁾。著者らの検討では遺伝子型と難聴の程度に相関関係があることが明らかになっており^{6,7)}(図1), 遺伝子検査は難聴の早期診断の一助になるとともに聴力像を予想

し治療法を選択する際にも参考になる。

b. *SLC26A4*

画像診断も原因遺伝子を絞りこむために重要な役割をもつ(図2)。先天性難聴児の数-20%