

201027034A

厚生労働科学研究費補助金  
障害者対策総合研究事業（感覚器障害分野）

# 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 22 年度 総括研究報告書

研究代表者 宇佐美 真一  
平成 23 (2011) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

障害者対策総合研究事業（感覚器障害分野）

# 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22年度 総括研究報告書

研究代表者 宇佐美 真一

平成 23（2011）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-----	21
III. 研究成果の刊行物・別刷-----	25

# I. 総括研究報告

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., 2010)。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、遺伝子解析や先天性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 22 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を

対象に、新規難聴原因遺伝子の解析を実施するとともに、先天サイトメガロウイルス感染による難聴の検査系の改良を実施した。

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。平成 21 年度に、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ため、本年度は劣性ヘテロ接合体にて変異の検出された 31 例に関して全エクソン領域の直接シーケンスによる解析を実施した。

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、昨年度まで CMV-DNA を PCR 法により検出していたが、PCR 法では増幅がプラトーに達した段階で評価を行っているため、微量のコンタミネーションにより混入した CMV-DNA も検出してしまうという問題点、および最後の検出のステップを電気泳動で行うため検査効率が悪く、多量の検体を検査することが困難という問題点が残っていた。そこで、本年度はリアルタイム PCR 装置を用いた TaqMan 定量 PCR 法を用いる事で、定量解析を可能とすることで、コンタミネーションに起因する CMV-DNA の可能性を排除するカットオフ値の設定を行った。また、96well フォーマットでの解析を実施し、多数の検体を効率よく検査する手法の確立を行った。さらに、昨年度までに収集した乾燥臍帯に今年度新たに収集した乾燥臍帯を併せて、非症候群性の難聴患者 134 例の解析を実施した。その結果、両側感音難聴児 46 例中、4 例 (8.7%)・一側性感音難聴 88 例中 8 例 (9.1%) の保存臍帯より CMV-DNA を検出した。

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、平成 22 年度より先進医療の共同実施が承認され、全国の 18 施設との共同実施が開始したため、その結果のとりまとめを行った。その結果、期間中に信州大学病院など自施設で検査を実施している 4 施設と、共同実施をしている 18 施設の両施設を併せて 185 例の実施があり 37.2%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。

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：

茂木英明、鬼頭良輔、福岡久邦、鈴木宏明、  
古舘佐起子、内藤武彦、宮川麻衣子、矢野  
卓也、西尾信哉(信州大学医学部耳鼻咽喉  
科)

共同研究施設：

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）、原晃、田淵経司（筑波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）、伊藤壽一、北尻真一郎（京都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）、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., 2010）。

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を目的とした。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ため、サブタイプに応じたより適切な医療の提供を目的とした。

平成 22 年度は、高音急墜型の聴力を呈する感音難聴に対する治療法として、欧州を中心に臨床応用されている残存聴力活用型人工内耳の日本における有用性の検討を行った。

### （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、平成 20 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、先進医療「先天性難聴の遺伝子診断」として厚生労働省の認可を受けて研究成果を臨床に還元した。

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、約 60%は原因が不明のままである。

平成 22 年度は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、平成 22 年度は、先進医療「先天性難聴の遺伝子診断」および共同実施として全国 22 施設で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。

## 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 年の残存聴力用型人工内耳（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。

平成 22 年度は、今後、高音急墜型難聴に対する標準的な治療となることが考えられる残存聴力活用型人工内耳について、高度医療として厚生労働省に申請して承認を得るとともに、実際に臨床研究を行う事により、日本人難聴患者に対する有用性および安全性に関する検討を開始した。

## (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による難聴の調査

新規遺伝子変異の探索に関しては、作年度までに、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 *CDH23* 遺伝子変異の 4 種類：P240L、R301Q、Q1716P、R2029W (Wagatuma et al., 2007) に関して、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うとともに、ヘテロ例に関しては直接シーケンス法による解析を実施した。

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 2010 年 9 月の 30 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 134 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。134 例のうち、両側性が 46 例、一側性が 88 例であった。

平成 20 年度は、先天性 CMV 感染症の診断技術基盤の確立を目的に、収集した保存臍帯を用いる検査方法を検討した。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。

平成 22 年度には、PCR 法による CMV-DNA 検出系の改良を試み、TaqMan 法を用いた定量 PCR 法による検出系の確立を行った。

## (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、先進医療「先天性難聴の遺伝子診断」および共同実施として全国 22 施設で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

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。

#### （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、欧州を中心に臨床応用の開始された残存聴力活用型人工内耳は、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。昨年度までの検討により、難聴患者のおおよそ 3%程度（家系では 9%程度）がこのサブタイプに分類されることが考えられる。

平成 22 年度は、今後、高音急墜型難聴に対する標準的な治療となることが考えられる残存聴力活用型人工内耳について、高度医療として厚生労働省に申請して承認を得るとともに、実際に臨床研究を行う事により、日本人難聴患者に対する有用性および安全性に関する検討を開始した。

対象は信州大学耳鼻咽喉科教室を受診し、

残存聴力活用型人工内耳挿入術を希望した難聴患者に、十分な説明の上、書面で同意を取得して実施した。

また、残存聴力活用型人工内耳挿入後の聴力の測定、語音聴力の測定、画像検査を行った。その結果、残存聴力活用型人工内耳挿入術を受けたケースで、低音部の残存聴力は維持された（図 1）。また、画像的検査により、人工内耳電極の位置を確認したところ、残存聴力のある領域まで電極が挿入されていても、残存聴力は維持されることが確認された。

また、残存聴力活用型人工内耳の装用後の聴力閾値はおおむね 30-40dB と十分な聴力を得る事が出来た（図 2）。さらに語音聴取能に関しても装用後 6～12 ヶ月かかり徐々に向上して、術前と比較して大幅に聴取能が改善することが明らかとなってきた（図 3）。

今後さらに詳細に検討をおこなうことで難聴の進行を遺伝子診断で予測して、人工内耳を使い分けるオーダーメイド医療を実現する事が可能である事が示唆される有用な結果を得る事ができた。

#### （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。

また、ヘテロ例に関しては直接シーケンス法を用いて変異の解析を行った。その結果、新規遺伝子変異を含む複数の変異を見出した。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、多く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の治療法選択の際の有用であると期待される。

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改良し、TaqMan 法による定量 PCR 法を用いた解析系を確立した。定量の際には、ゲノム上の遺伝子として、GJB2 領域のプライマーも併せて用いる事で、抽出された DNA 量に依存せずに相対的に定量できる解析系とした。また、確立した検出系を用いて、2008 年 5 月から 2010 年 9 月の 30 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 134 例の解析を行った。難聴の診断には標準純音聴力検査、ABR, ASSR を用いた。134 例のうち、両側性が 46 例、一側性が 88 例であった。その結果、両側感音難聴児 46 例中、CMV 陽性は 4 例認められ、8.7%で陽性であった。

また、一側性感音難聴 88 例中、CMV 陽性例は 8 例認められ 9.1%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の抗体価から、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 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、一側とも約 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図 4 のようであった。

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5～12はいずれも一側性難聴であった。これら一側性難聴のうち、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。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、今回の検討より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。

また、平成22年度からは先進医療の共同

実施が認可され、全国の18施設から信州大学に検体を搬送して委託による検査を開始した(北海道大学、山形大学、自治医科大学、筑波大学、群馬大学、北里大学、京都大学、京都府立医科大学、兵庫医科大学、和歌山県立医科大学、神戸市立医療センター中央市民病院、広島大学、山口大学、九州大学、福岡大学、長崎大学、鹿児島大学、琉球大学)。

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信州大学から検査キットの提供を受けて自施設で検査を実施している虎の門病院、岡山大学医学部附属病院、宮崎大学医学部附属病院の症例および、信州大学が全国の共同実施を行っている18施設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85名であり、うち33名(39%)に変異が見出された(図5)。また、虎の門病院、岡山大学、宮崎大学において期間中に先進医療を受診した患者数は76名であり、うち30名(40%)に変異が認められた(図6)。

また、共同実施施設では期間中に先進医療を受診した患者数は24名であり、うち5名(21%)に変異が認められた(図7)。各施設で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上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、SLC26A4 遺伝子変異、ミトコンドリア 1555A>G 変異、ミトコンドリア 3243A>G 変異、ミトコンドリア 8296A>G 変異であった。一昨年度までに、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 40% に変異が見いだされており 5%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。以上のように先進医療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、先進医療の共同実施として 18 施設が承認を受けて実施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。

#### D. 結論

本研究では平成 20 年度～平成 22 年度の研究期間を通じて下記の研究成果を得た。

1) 4000 人を超える大規模解析を行い、GJB2 変異、ミトコンドリア A1555G 変異による難聴の臨床像を改めて解析することにより、いくつかの新知見が得られた。これらの知見は今後、サブタイプ分類に応じた適切な

介入法の検討を行う際に有用な情報となるであろう。

2) 先天性難聴の遺伝子診断の診断率を向上させるために CDH23 遺伝子および先天サイトメガロウイルス感染の頻度調査を実施した。いままでの先天性難聴の遺伝子スクリーニング検査 (10 遺伝子 47 変異) の解析に CDH23 遺伝子および先天性サイトメガロウイルス検査を組み合わせることで、診断率がさらに 10%程度向上することが示唆された。

3) 全国 33 施設との共同研究により、416 名を対象に遺伝子検査および臨床情報調査を行なった結果、先天性難聴の約 35%から変異を見出すことが可能であることが明らかとなり、臨床的に有用であることが明らかとなった。本共同研究により 10 遺伝子 47 変異に関しては、遺伝子検査によりもたらされる情報が、臨床の現場で有用であること等が確認されたため、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、臨床応用を開始することが出来た。

4) 約 4000 人(1500 家系)の難聴患者とその家族に関して、残存聴力活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%、家系では 9%)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。本研究の成果である難聴のサブタイプ分類により、

おおよそ3%の難聴患者が高音急墜型の聴力を持つことが示唆されたため、高音急墜型の感音難聴に対するより効果的な治療法として平成21年に厚生労働省に高度医療「残存聴力活用型人工内耳挿入術」として申請し承認を受け、臨床応用を開始することが出来た。

5) 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い40%の患者から遺伝子変異が検出されることを明らかにし、共同研究時とほぼ同程度の有効性が認められることを示した。また、平成22年度からは、全国の18施設と先進医療の共同実施を開始し、当初の目標であった、臨床の現場で利用可能な診断ツールを提供することを実現することができた。

今後、難聴の遺伝子診断を従来の聴力検査と組み合わせて実施することで、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 78 : 464-470.

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 8 : 28-32.

3) Usami S, Moteki H, Suzuki N, Fukuoka H, Miyagawa M, Nishio S, Takumi Y, Iwasaki S, Jolly C. Achievement of hearing preservation in the presence of an electrode covering the residual hearing region. 2011. In press

4) Furutate S, Iwasaki S, Nishio S, Moteki H, Usami S. Clinical profile of hearing loss in children with congenital cytomegalovirus (CMV) infection: CMV DNA diagnosis using preserved umbilical cord. Acta Oto-Laryngologica 2011 in press.

5) 宇佐美真一 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— 日本耳鼻咽喉科学会会報 113:34-37, 2010

6) 小林有美子、佐藤宏昭、岩井詔子、村井盛子、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 Audiology Japan 53:192-198, 2010

7) 宇佐美真一 難聴の遺伝子診断と治療 日本医師会雑誌 139: 600-603 2010

8) 宇佐美 真一 疾患群の遺伝学的検査 (Genetic Testing) と遺伝子検査 (Gene-Based Testing) 日本臨床 68: 417-422 2010

9) 宇佐美真一 難聴の遺伝子診断 日本

## 2. 学会発表

- 1) 宇佐美真一, 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, 感覚器障害研究成果発表会, 東京 (2010年2月)
- 2) 宮川麻衣子, 鈴木伸嘉, 茂木英明, 西尾信哉, 工 穰, 宇佐美真一, 高音急墜型/高音漸傾型難聴症例の臨床像と遺伝的背景, 第2回厚生労働省急性高度感音難聴 調査研究班会議, 東京 (2010年2月)
- 3) 内藤武彦, 石井正則, 東野哲也, 宇佐美真一, KCNQ4 遺伝子変異による難聴一変異部位と臨床型について一, 第111回日本耳鼻咽喉科科学会総会・学術講演会, 仙台 (2010年5月)
- 4) 宇佐美真一, 熊川孝三, 東野哲也, 福島邦博, 先進医療(先天性難聴の遺伝子診断)の現況, 第111回日本耳鼻咽喉科科学会総会・学術講演会, 仙台 (2010年5月)
- 5) 宮川麻衣子, 茂木英明, 工 穰, 宇佐美真一, 人工内耳埋め込み術を行った CDH23 遺伝子変異による難聴症例, 第5回日本小児耳鼻咽喉科科学会総会, 札幌 (2010年6月)
- 6) 工 穰, シンポジウム「各施設における難聴遺伝子診療の現況と将来展望」, 第2回難聴遺伝子の研究会, 東京 (2010年7月)
- 7) 岡部真理子, 宮川麻衣子, 福岡久邦, 工 穰, 宇佐美真一, Round Window Approach で人工内耳挿入を行った先天難聴児の一例, 第58回中部地方部会連合会, 名古屋 (2010年7月)
- 8) Shin-ichi Usami, Hideki Moteki, Nobuyoshi Suzuki, Hisakuni Fukuoka, Maiko Miyagawa, Yutaka Takumi, Satoshi Iwasaki, Claude Jolly, Achievement of

hearing preservation in the presence of an electrode covering the residual hearing region, 耳科コレgium国際学会, ハンガリー (2010年8月)

9) 宇佐美真一, 工 穰, 鈴木伸嘉, 茂木英明, 宮川麻衣子, 西尾信哉, 残存聴力活用型人工内耳 (EAS: electric acoustic stimulation) : 手術法と聴力保存成績について, 第20回日本耳科学会総会, 愛媛 (2010年10月)

10) 宮川麻衣子, 我妻道生, 西尾信哉, 宇佐美真一, CDH23 遺伝子変異による難聴一変異解析と臨床像一, 第20回日本耳科学会総会, 愛媛 (2010年10月)

11) 内藤武彦, 宮川麻衣子, 西尾信哉, 宇佐美真一, 佐藤宏昭, 熊川孝三, 古屋信彦, 東野哲也, 優性遺伝形式をとる遺伝性難聴に関する実態調査と臨床像, 愛媛 (2010年10月)

12) 宇佐美真一, 遺伝性難聴, 日本人類遺伝学会, 大宮 (2010年10月)

13) 工 穰, 茂木英明, 塚田景太, 宮川麻衣子, 鬼頭良輔, 宇佐美真一, GJB2 遺伝子変異症例における ASSR での推定聴力閾値と成長後の純音聴力検査閾値比較, 第55回日本聴覚医学会総会・学術講演会, 奈良 (2010年11月)

14) 鈴木宏明, 福岡久邦, 塚田景太, 宇佐美真一, SLC26A4 遺伝子変異における平衡機能評価, 第69回日本めまい平衡医学会総会, 京都 (2010年11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 残存聴力活用型人工内耳症例

A : 電極の挿入の様子、B : Xp 画像、C 推定される電極の位置  
 D : 術前聴力、E 術後聴力

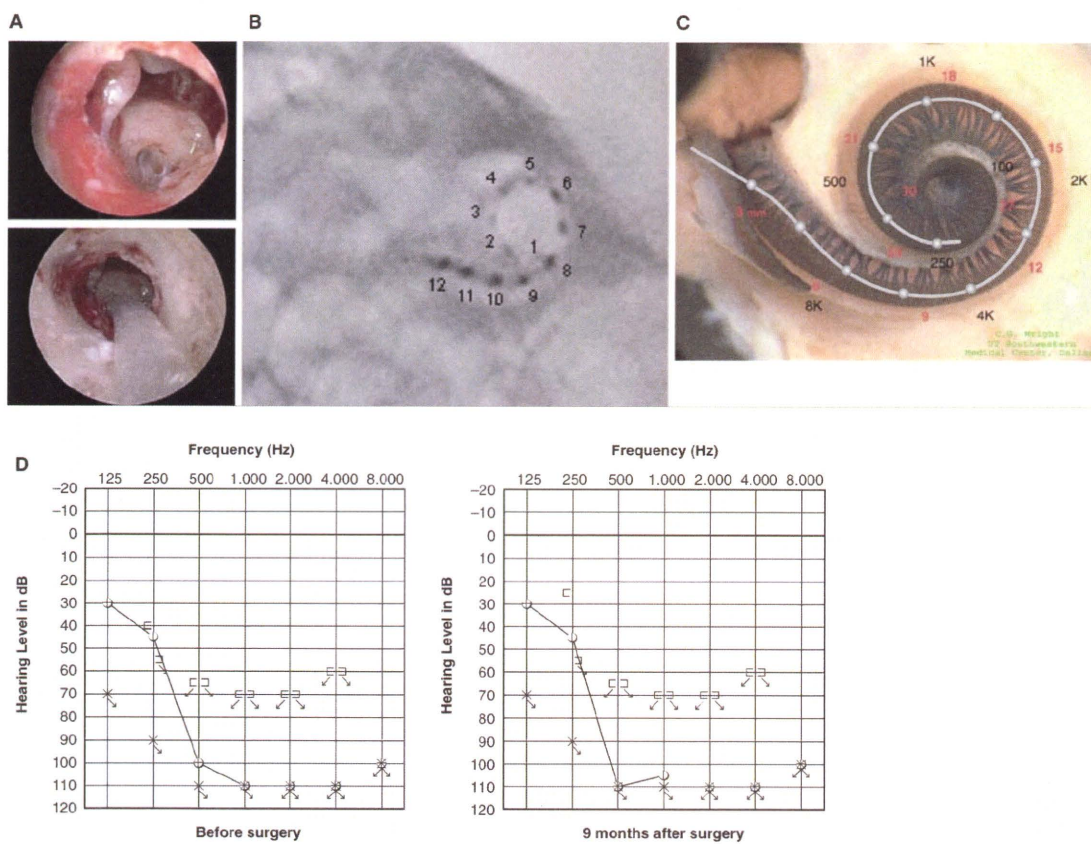


図2 残存聴力活用型人工内耳装用後の聴力

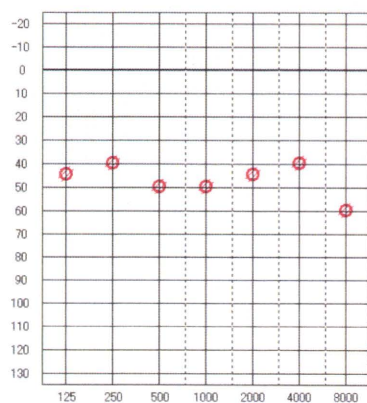


図3 残存聴力活用型人工内耳挿入術後の語音弁別能の改善

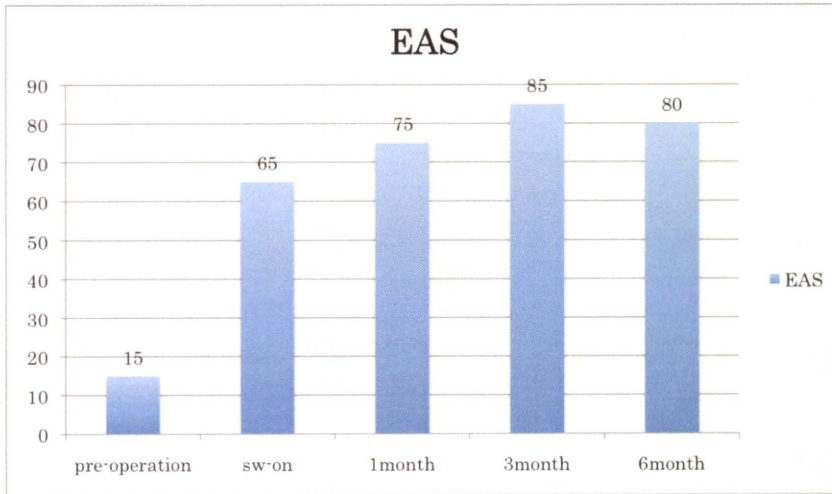


図4 CMV-DNA の検出された症例

Table IV. Clinical data of children positive for CMV DNA.

Case no.	Sex	Age at diagnosis (months)	Bilateral/unilateral	Affected side	Severity	Average HL (R/L) (dB)	FL/P/NA	Onset	NHS	Delta Ct
1	F	60	Bilateral	R/L	Profound	87.5/108.8	FL/P	Late	Pass	7.52
2	F	52	Bilateral	R/L	Profound	87.5/110	FL/P	Late	Pass	8.58
3	M	50	Bilateral	R/L	Profound	100.0/100.0	P	Late	Pass	12.94
4	M	62	Bilateral	R/L	Profound	110/46.3	-	Likely late	-	0.07
5	M	6	Unilateral	L	Profound	32.5/103.8	-	Congenital	Refer (L)	8.01
6	M	65	Unilateral	R	Profound	107.5/17.5	-	Unknown	-	11.64
7	M	50	Unilateral	L	Profound	6.3/100.0	-	Unknown	-	13.59
8	F	98	Unilateral	R	Profound	110/15	-	Unknown	-	11.67
9	F	55	Unilateral	L	Profound	15.0/92.5	-	Late	Pass	8.3
11	F	2	Unilateral	R	Profound	90.0/18.3	NA	Congenital	Refer (R)	0.46
10	M	80	Unilateral	L	Severe	13.3/70.0	-	Unknown	-	14.32
12	F	44	Unilateral	L	Moderate	15.0/58.3	FL/P	Late	Pass	9.41

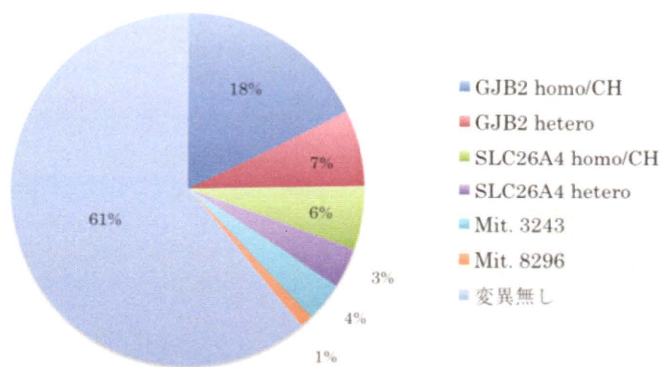
NHS, Newborn Hearing Screening; FL, fluctuation of hearing loss; P, progressive hearing loss; NA, not applicable.

図5 先進医療実施症例のまとめ (信州大学)

信州大学:検査受付 87例 → 解析完了 85例

検出された変異

<i>GJB2</i> homo/CH	15例
<i>GJB2</i> hetero	6例
<i>SLC26A4</i> homo/CH	5例
<i>SLC26A4</i> hetero	3例
ミトコンドリア3243A>G	3例
ミトコンドリア8296A>G	1例



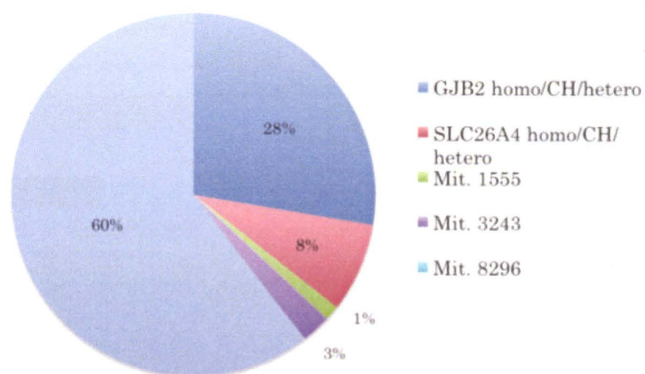
変異検出率:39% (確定診断率:28%)  
→共同研究時と同程度の有効性が確認できた。

図6 先進医療実施症例のまとめ (自施設検査施設)

自施設で検査を実施している3施設:検査合計 76例

検査依頼施設

虎の門Hsp	60例 (うち24例)
岡山大学	12例 (うち5例)
宮崎大学	4例 (うち1例)



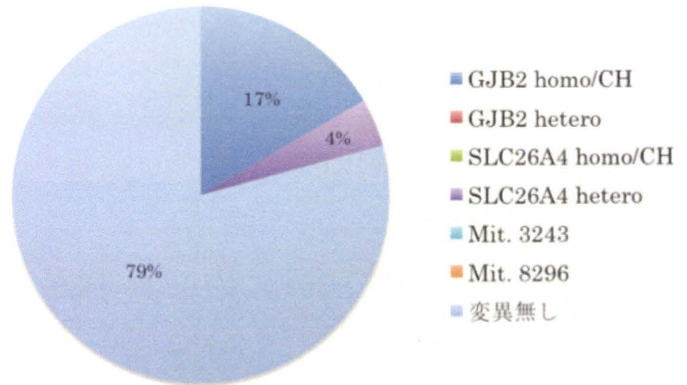
変異検出率:39.5%  
→共同研究時とほぼ同程度の検出率。

図7 先進医療実施症例のまとめ（受託検査施設）

他施設からの受託：検査受付 28例 → 解析完了 24例

検査依頼施設

京都大学	11例
群馬大学	9例
神戸市民Hsp	3例
筑波大学	1例
北海道大学	1例
九州大学	1例
山口大学	1例
福岡大学	1例



変異検出率：21%（確定診断率：17%）  
→共同研究時よりやや検出率が低い。