

9. Sun Y, Chen J, Sun H, Cheng J, Li J, Lu Y, Lu Y, Jin Z, Zhu Y, Ouyang X, Yan D, Dai P, Han D, Yang W, Wang R, Liu X, Yuan H. Novel missense mutations in MYO7A underlying postlingual high- or low-frequency non-syndromic hearing impairment in two large families from China. *J Hum Genet.* 2011 Jan;56(1):64-70.

6 CRYM 遺伝子変異による難聴

(1) 概説

研究代表者らのグループが、新規難聴原因遺伝子を見つけるため DNA マイクロアレイ解析を用いて内耳に高発現している遺伝子群を明らかにし、難聴患者に対し変異スクリーニングを行った。内耳に高発現する遺伝子の一つである *CRYM*(μ -crystallin) 遺伝子のスクリーニングを行ったところ、*CRYM* 遺伝子の変異が認められた。*CRYM* 遺伝子の mRNA は蝸牛全回転のラセン靭帯とラセン板縁の繊維細胞に発現が認められ、免疫組織化学的検討ではラセン靭帯の線維細胞に強いシグナルが認められた。*CRYM* 遺伝子がコードする μ -crystallin は、NADP-regulated thyroid hormone-binding protein という甲状腺ホルモン結合タンパクであることがわかっており、甲状腺ホルモンを介して内耳の機能にかかわっている可能性が考えられている。*In vitro* の実験では、*CRYM* 変異は μ -crystallin と甲状腺ホルモン (T3) は全く T3 と結合能を示さず、聴覚の維持に必要な遺伝子の転写が行われない可能性が考えられている。

(2) 診断基準

(臨床的診断基準)

先天性～小児期発症の両側感音難聴。聴力レベルは高度から中等度を示す。前庭機能障害や聴力悪化はない。非症候群性難聴である。

(遺伝子診断)*

CRYM 遺伝子のエクソン 8 (最終エクソン) に 2 種類のミスセンス変異 (p.K314T, p.X315Y) が報告されている。変異を持つ家系は少なく、比較的稀な難聴原因遺伝子ではないかと考えられる。

(3) 治療 (エビデンスレベル V, 推奨グレード A ~ B)

補聴器、人工内耳を用いて療育を行う。内服による治療は行われていない。

(4) 参考文献:

1. Identification of *CRYM* as a candidate responsible for nonsyndromic deafness, through cDNA microarray analysis of human cochlear and vestibular tissues. Abe S, et al. *Am J Hum Genet.* 2003 72:73-82.
2. *CRYM* mutations cause deafness through thyroid hormone binding properties in the fibrocytes of the cochlea. Oshima A, et al. *J Med Genet.* 2006 43: e25

* 保険診療外: オフファンネットで実施可能

7 優性遺伝形式をとる難聴を伴う症候群性の疾患

タイプ分類の項でも取り上げたように、優性遺伝形式をとる遺伝性難聴は、難聴以外に明確な臨床症状を有さない「非症候群性難聴（non-syndromic hearing loss）」と、難聴以外の臨床症状を有する「症候群性難聴（syndromic hearing loss）」に大別される。

症候群性難聴は頻度は低いものの各種の特徴的な症候の組み合わせを有しているため、非症候群性難聴と比較し、その診断は容易である。臨床では難聴以外の随伴症状（耳瘻孔、頸部瘻孔、腎機能障害、青色強膜、多発骨折歴、指骨癒合、幼少期からの白髪化など）を見逃さないことが肝要である。本ガイドラインでは、優性遺伝形式をとる症候群性難聴のうち比較的頻度の高い疾患について取り上げた。

7-1 EYA1 遺伝子変異による難聴（BOR 症候群）

(1) 概説

鰓弓耳腎（Branchio-oto-renal (BOR)）症候群は、1975年に Melnick ら¹⁾により報告された鰓原性奇形（branchiogenic dysplasia：側頸瘻、耳瘻孔、外耳奇形など）、難聴（otodysplasia：内耳奇形、中耳奇形など）、腎形成不全（renal dysplasia）を特徴とする症候群で、常染色体優性遺伝を示すまれな疾患である。欧米では出生4万人あたり1人²⁾に見られるとされ、本邦においても数家系の報告がある^{3,4,5)}。本症候群の亜型として腎形成不全を伴わないものを branchio-oto (BO) syndrome と呼ぶ。原因として、最も多いのが EYA1 遺伝子の異常によるもので⁶⁾、そのほか SIX1, SIX5, SIX6, SALL1^{7,8,9)}などの遺伝子変異が原因とされているが、いまなお BOR 症候群の発症原因は未解明の部分が多い。

(2) 診断基準

（臨床的診断基準）

家族歴のない患者では、以下の主症状を3つかそれ以上、あるいは主症状を2つと副症状を2つかそれ以上。家族歴のある患者では、主症状を1つかそれ以上で診断する。

主症状

- 第2鰓弓奇形（鰓溝性瘻孔あるいは鰓溝性嚢胞がある。鰓溝性瘻孔は胸鎖乳突筋の前方で、通常は頸部の下方1/3の部位の微小な開口。鰓溝性嚢胞は胸鎖乳突筋の奥で、通常は舌骨の上方に触知する腫瘤。）
- 難聴（程度は軽度から高度まで様々であり、種類も伝音難聴、感音難聴、混合性難聴のいずれもありうる。）
- 耳小窩（耳輪の前方、耳珠の上方の陥凹）
- 耳介奇形（耳介上部の欠損）
- 腎奇形（腎無形成、腎低形成、腎異形成、腎盂尿管移行部狭窄、水腎症、膀胱尿管逆流症など）

副症状

- 外耳道奇形（外耳道閉鎖、狭窄）
- 中耳奇形（耳小骨の奇形、変位、脱臼、固着。中耳腔の狭小化、奇形）

- 内耳奇形(蝸牛低形成、蝸牛小管拡大、前庭水管拡大、外側半規管低形成)
- 副耳
- その他(顔面非対象、口蓋奇形)

(遺伝子診断)*

常染色体優性遺伝形式をとり、EYA1 遺伝子変異が約 40%の頻度で認められる⁶⁾。SIX1, SIX5, SIX6, SALL1 遺伝子変異も原因のひとつであるが極めて頻度は低い^{7,8,9)}。半数以上の症例では原因遺伝子は依然として不明である¹⁰⁾。

* 保険診療外: オーフアンネットで実施可能

(3) 治療(エビデンスレベルV, 推奨グレードA~B)

先天性高度難聴に対しては補聴器装用や人工内耳。腎不全に進行した場合には、透析や腎移植が必要。頸瘻・耳瘻孔などに感染を繰り返す場合には瘻孔切除術を行う。耳科領域においては、頻度は必ずしも高くはないが本疾患に先天性真珠腫の合併の報告が有り^{3,11)}、慎重な観察が必要である。

(4) 参考文献

1. Melnick M, Bixler D, Silk K, Yune H, Nance WE. Autosomal dominant Branchiootorenal dysplasia. Birth Defects Orig Artic Ser 11:121-128, 1975
2. Fraser FC, Sproule JR, Halal F. Frequency of the branchio-oto-renal (BOR) syndrome in children with profound hearing loss. Am J Med Genet 7: 341-349, 1980
3. Kusano H, Murai K, Chiba H et al. Three cases of branchio-oto renal dysplasia. Otol JPN 7: 1-7, 1997
4. Usami S, Abe S, Shinkawa H, Deffenbacher K, Kumar S, Kimberling WJ. EYA1 nonsense mutation in a Japanese branchio-oto-renal syndrome family. J Hum Genet 44: 261-265, 1999
5. Fukuda S, Kuroda T, Chida E, Shimizu R, Usami S, Koda E, Abe S, Namba A, Kitamura K, Inuyama Y. A family affected by branchio-oto syndrome with EYA1 mutations. Auris Nasus Larynx 28: S7-11, 2001
6. Abdelhak S, Kalatzis V, Heilig R et al. A human homologue of the Drosophila eyes absent gene underlies branchio-oto-renal (BOR) syndrome and identifies a novel gene family. Nat Genet 15: 157-164, 1997
7. Ruf RG, Xu PX, Silivius D et al. SIX1 mutations cause branchio-oto-renal syndrome by disruption of EYA1-SIX1-DNA complexes. Proc Natl Acad Sci USA 101: 8090-8095, 2004
8. Hoskins BE, Cramer CH, Silivius D et al. Transcription factor SIX5 is mutated in patients with branchio-oto-renal syndrome. Am J Hum Genet 80: 800-804, 2007
9. Kochhar A, Orten DJ, Sorensen JL et al. SIX6 mutation screening in 247 branchio-oto-renal syndrome families: A recurrent missense mutation associated with BOR. Hum Mutat 29: 565, 2008

10. Milunsky JM, Maher TM, Zhao G et al. Genotype-phenotype analysis of the branchio-oculo-facial syndrome. *Am J Med Genet Part A* 155: 22-32, 2010
11. Lipkin DF, Coker NJ, Jenkins HA. Hereditary congenital cholesteatoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 112: 1097-1100, 1986

7-2 NOG 遺伝子変異による難聴

(1) 概説

Noggin は骨誘導因子 (BMP : bone morphogenetic protein) に拮抗的に作用し、骨形成や関節形成に重要な役割を果たす調節因子である。NOG 遺伝子 (MIM# 602991) は第 17 番染色体長腕領域にあり、同部の遺伝子変異は骨や関節の形成異常をもたらす¹⁾。四肢末節骨の癒合、半円柱状外鼻、アブミ骨固着による伝音難聴、遠視など多彩な臨床症状を呈する遺伝性疾患が報告されてきた²⁾。これまで種々の症候群の名称が用いられてきたが、症状が overlap するため疾患概念の整理が求められてきた³⁾。近年の遺伝子解析から、NOG 遺伝子変異による症候群は以下の 5 つの表現型にまとめられている。

- ①指短縮症 B2 型 : Brachydactyly, type B2 (BDB2)
- ②多発性骨癒合症候群 1 : Multiple synostosis syndrome 1 (SYNS1)
- ③幅広い拇指と拇趾を伴うアブミ骨固着症 : Stapes ankylosis with broad thumb and toes (SABTT)
- ④近位指骨癒合症 : Proximal symphalangism (SYM1)
- ⑤手根・足根骨癒合症候群 : Tarsal-carpal coalition syndrome (TCC)

これらの症候群は症状が互いに overlap しており、NOG 遺伝子異常による症候群を包括的に取扱う名称として、NOG-related-symphalangism spectrum disorder (NOG-SSD) が提唱されている⁴⁾。

伝音難聴の浸透率は報告により差がある。BDB2 の難聴の詳細な検討は無く、TCC では伝音難聴は少ないとされる。一方 SYM1、SYNS1、SABTT においてアブミ骨固着による伝音難聴は特徴的所見である⁵⁾。

(2) 診断基準

(臨床的診断基準)

関節癒合、(アブミ骨固着による) 伝音難聴、手足の異常があれば本症候群を強く疑う。

- ・手 足 : 近位指骨癒合、末節骨短縮あるいは消失、幅広いかつ／または短い
 拇指、合指症、手根骨／足根骨癒合など
- ・顔 面 : 半円柱状外鼻、鼻翼低形成など
- ・眼 : 遠視、斜視
- ・耳 : 伝音難聴 (一側または両側)
- ・その他 : 頸椎癒合、肘関節や股関節可動制限など

これらの特徴的所見を踏まえ、SYM1、SYNS1、および SABTT に分類される。SABTT では遠視が特徴的であり、同症状は SYM1 および SYNS1 の報告例では 3% 未満

であること、SYNS1 は facio-audio-symphalangism の別名称に示されるように特徴的顔貌を呈することなどから、相互の症候群を区別する⁵⁾。

(遺伝子診断) *

常染色体優性遺伝形式をとる。家族歴のない症例でも *de novo* 変異の可能性があるので、*NOG* 遺伝子変異を同定して診断を確定する⁶⁾。これまでに複数のミスセンス変異、フレームシフト等が確認されている。^{4,6)}

* 保険診療外: オーフアンネットで実施可能

(3) 治療 (エビデンスレベルIV b ~ V, 推奨グレード B ~ C)

手術療法が有効である。アブミ骨手術により著明な聴力改善が得られる⁷⁾。しかしながら無効例も少数ながら存在する。ツチキヌタ関節固着、アブミ骨底板の再固着などが原因とされる⁸⁾。したがって術後成績は非症候性の耳硬化症より劣る。

(4) 参考文献

- 1) Valenzuela DM, Economides AN, Rojas E, et al. Identification of mammalian noggin and its expression in the adult nervous system. *J Neurosci* 15: 6077-6084, 1995.
- 2) Teunissen B, Cremers WR. An autosomal dominant inherited syndrome with congenital stapes ankylosis. *Laryngoscope* 100: 380-384, 1990.
- 3) 東野哲也、中島崇博、河野浩万、他. 遠視と指骨異常を伴う遺伝性伝音難聴. *Audiol Jpn* 45: 131-136, 2002.
- 4) Tommy A. Potti, Elizabeth M. Petty, Marci M. Lesperance. A Comprehensive review of reported heritable noggin-associated syndromes and proposed clinical utility of one broadly inclusive diagnostic term: *NOG*-related-symphalangism spectrum disorder (*NOG*-SSD). *Hum Mutat* 32: 877-886, 2011.
- 5) Weekamp HH, Kremer H, Hoefsloot LH, et al. Teunissen Cremers syndrome: a clinical, surgical, and genetic report. *Otol Neurotol* 26: 38-51, 2005.
- 6) Usami S, Abe S, Nishio S, et al. Mutation in the *NOG* gene are commonly found in congenital stapes ankylosis with symphalangism, but not in otosclerosis. *Clin Genet*, 2012 [Epub ahead of print], in print.
- 7) Massey BL, Hillman TA, Shelton C. Stapedectomy in congenital stapes fixation: are hearing outcomes poorer? *Otolaryngol Head Neck Surg* 134: 816-818, 2006.
- 8) Brown DJ, Kim TB, Petty EM, et al. Characterization of a stapes ankylosis family with a *NOG* mutation. *Oto Neurotol* 24: 210-215, 2003.

7 - 3 van der Hoeve 症候群

(1) 概説：

骨形成不全症 (osteogenesis imperfecta、以下 OI) はコラーゲンの合成異常により結合組織に種々の病態が生じる遺伝性疾患で、2.5~3 万人に一人の頻度で発生し骨系統疾患の中で最も頻度の高い疾患である。I~IV 型の 4 つに分類されるが¹⁾、青色強膜と難聴を伴うものは I 型に分類され、1918 年 van der Hoeve と de Kleyn²⁾ が初めてその家系を報告したことから Van der Hoeve 症候群と呼ばれる。

(2) 診断基準

(臨床的診断基準)

本症候群の三主徴は難聴、易骨折性、青色強膜である。三主徴がすべて揃う例はそれほど多くない。青色強膜の頻度が 90% と最も高く、難聴、易骨折性はそれぞれ 60% と報告されている³⁾。

本症候群の聴覚障害の特徴は、①耳硬化症類似の伝音難聴もしくは混合性難聴、感音難聴で、②左右対称性を示し、③難聴の程度は伝音難聴成分を示すものでは中等度難聴、感音難聴を示すものでは高度難聴である^{4, 5)}。感音難聴は約 11% にみられるが、多くは 20 代から緩慢に進行する伝音難聴もしくは混合性難聴である⁶⁾。

めまいを伴う例もあり、原因は末梢前庭障害と考えられている^{7, 8)}。耳鳴を訴える例もみられる。

難聴に関して、家族歴の聴取のみでは発端者以外に難聴者がいない場合でも、聴力検査を行うと軽度難聴が判明したり、将来混合性難聴が出現したりする場合がある⁵⁾。先に述べたとおり青色強膜は本疾患において最も高頻度に認められる症状であり³⁾、その診断に重要であると考えられるため、OI 家系内メンバーにおいて特に青色強膜を呈する者に関しては、実際の聴力検査や経過観察が必要である。

(遺伝子診断)

OI の原因のほとんどはタイプ 1 コラーゲン遺伝子異変異である。本症候群は主に COL1A1 遺伝子が原因とされている⁹⁾。

遺伝形式は他の OI の多くと同様、常染色体優性遺伝であるが、前述のように家系内のメンバーにおいては三主徴が揃わない例も少なくない。

(3) 治療 (エビデンスレベル IV b ~ V, 推奨グレード A)

伝音成分を呈するものは手術の適応となる。感音難聴に対しては高度難聴であることが多いため、補聴器装用となる。人工内耳症例の報告は多くはないが散見される。OI 患者の人工内耳手術では、骨がもろく硬化肥厚しており蝸牛内電極刺激が顔面神経を刺激しやすいためプログラミングの調整を要する¹⁰⁾。また骨病変が高度な例では電極の誤挿入の可能性もあるため、術前の側頭骨病変の画像評価が必須である¹¹⁾。

伝音難聴の病態は耳硬化症類似のアブミ骨底の固着、及び骨形成不全症の骨脆弱性としてのアブミ骨上部構造の脆弱性による骨折が原因^{12, 13)}とされ、術式は stapedotomy が選択される。本症候群では通常の耳硬化症と比べアブミ骨の強度が弱く、血管増生が盛んであるため、術創の出血、floating footplate などに留意する必要がある^{12, 13)}。術後成績はおおむね良好である。

(4) 参考文献

1. Silience DO, Senn A, Danks M: Genetic heterogeneity in osteogenesis imperfecta. *J Med Genet* 16 : 101-116, 1979
2. Van der Hoeve J unt de Kleyn A: Blaue Sclera, Knochenbrüchigkeit und Schwerhörigkeit . *Albrecht van Graefes Arch Klin Ophthalmol* 95: 81-93, 1918
3. Königsmark BW, Gorlin RJ: Osteogenesis imperfecta. Genetic and metabolic deafness. *Genetic and metabolic deafness*, Königsmark BW and Gorlin RJ (eds). Saunders ;1976:pp202-205
4. 村井盛子、立木孝、小笠原真弓 : van der Hoeve 症候群の 1 例 . *耳喉* 58 : 127-132, 1986.
5. Riedner ED, Levin LS, Holliday MJ: Hearing patterns in dominant osteogenesis imperfecta. *Arch Otolaryngol* 106: 737-740, 1980.
6. Pedersen U: Hearing loss in patients with osteogenesis imperfecta. A clinical and audiological study of 201 patients. *Scand Audiol* 13:67-74, 1984
7. 小野寿之、西村秀夫、高田憲ら . : 眩暈を主訴とした van der Hoeve 症候群の 2 症例 . *耳喉* 58: 393-396, 1986.
8. Kuurila K, Kentala E, Karjalainen S, et al: Vestibular dysfunction in adult patients with osteogenesis imperfect. *Am J Med Genet A* 120A:350-358, 2003
9. Sykes B, Ogilvie D, Wordsworth P, et al: Consistent linkage of dominantly inherited osteogenesis imperfecta to the type 1 collagen loci: *COL1A1* and *COL1A2*. *Am J Hum Genet*, 46: 293-307, 1990.
10. Szilvassy J, Jori J, Czigner J, et al: Cochlear implantation in osteogenesis imperfecta. *Acta Otorhinolaryngol Belg* 52:253-256, 1998
11. Rotteveel LJ, Beynon AJ, Mens LH, et al: Cochlear implantation in 3 patients with osteogenesis imperfecta: imaging, surgery and programming issues. *Audiol Neurotol* 13:73-85, 2008.
12. Kuurila K, Pynneönen S, Grönman R: Stapes surgery in osteogenesis imperfecta in Finland. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 113:187-193, 2004
13. 高橋姿、和田匡史、山本裕ら . : van der Hoeve 症候群のアブミ骨手術 3 症例 . *耳展* 37: 424-430, 1994.

7 - 4 Waardenburg 症候群

(1) 概説

Waardenburg 症候群(以下 WS)は 1951 年に Waardenburg が初めて報告したもので、常染色体優性遺伝性症候群性難聴の一つである¹⁾。臨床的には聴覚および色素異常症を呈することが知られ、毛髪、肌、虹彩などの全身の色素異常、部分白子症や、先天性神経性難聴、眼角離解を呈する。常染色体優性遺伝性症候群性難聴の内では最も頻度の高いものの一つで、難聴児童の 2～4%²⁻⁴⁾に見られると言われ、本邦では約 50000 人に一人と言われている⁵⁾。

難聴は軽度から高度難聴まで様々なタイプの感音難聴が報告されており、両側性が多いが時に一側難聴例の報告もある。難聴の浸透率は36から69%とさまざまに特に高度難聴は全体の23%程度とされる。一部に auditory neuropathy を呈する報告もある。前庭機能異常も報告されており、特に画像的な後半規管の無形性が比較的特異的所見として知られている。

毛髪の変異では、特に白色の前髪や幼小児期からの白髪化が特徴的である。虹彩は左右での虹彩の色が異なり(虹彩異色)、時に鮮やかな青色を呈する。外表奇形ではこの他に、頭部の生え際が低く、眉が中央で癒合(眉毛叢生症)していることがある。また、まれに口蓋裂を合併する場合もある。

基本的には常染色体優性の遺伝形式を取るが、孤発例も多い。

(2) 診断基準

(臨床的診断基準)

WSはその臨床像から4つのタイプに分かれる。WS1型では内眼角離解と、突出した鼻根(鼻根部過形成)が見られ、WS2型はWS1型で内眼角離解・鼻根部過形成が無いものを指す。WS3型は眼角離解と上肢の奇形を伴う。WS4型はWaardenburg-Shah syndromeとしても知られており、Hirschsprung病を合併する。(レベルIV b)

W index : 内眼角、瞳孔の正中側と外眼角の距離を測定し、内眼角乖離の臨床診断としている。

正常 : 1.76 +/- 0.16 (+/- SD)

異所性 : 2.61 +/- 0.19 (+/- SD) ⑩

診断閾値 : 2.07 (Waardenburg Consrtium recommendation)

(遺伝子診断)

現在までに下記の遺伝子が報告されている

タイプ		OMIM	遺伝子	遺伝子座	文献
I	WS1	193500	<i>PAX3</i>	2q35	5
II	a WSIIa	193510	<i>MITF</i>	3p14-p12.3	6
	b WSIIb	600193		1p21-p13.3	7
	c WSIIc	606662		8p23	8
	d WSII d	608890	<i>SNAI2</i>	8q11	9
III	WS3	148820	<i>PAX3</i>	2q35	10
IV	a WS4a	277580	<i>EDNRB</i>	13q22.3	11
	b WS4b	131242	<i>EDN3</i>	20q13.22	12
	c WS4c	602229	<i>SOX10</i>	22q13.1	13

(3) 治療方針 (エビデンスレベルIV b, 推奨グレード B)

根本的な治療法は存在しないが、難聴に対しては、その程度に応じて補聴器や人工内耳が用いられることが多い。人工内耳の術後聴取¹⁷⁻¹⁹⁾については、その他の人工内耳例と同等かそれ以上とする報告が多いが、一部に存在する Auditory neuropathy では人工内耳の効果が乏しいという報告¹⁹⁾もある。虹彩異色や部分白子症に対しては、サングラス等の紫外線防御が指導される。口蓋裂やHirschsprung病を合併する場合には、それぞれの病態に応じた治療が必要になる。

(4) 参考文献

1. Waardenburg PJ: A new syndrome combining developmental anomalies of the eyelids, eyebrows and nose root with pigmentary defects of the iris and head hair and with congenital deafness. *Am J Hum Genet* 3 195-253 1951
2. 木村美雄: Waardenburg-Klein 症候群の症候学のおよび遺伝学的検討 *Audiol Jpn* 12 57-92 1969
3. DiGeorge AM, Olmsted RW, Harley RD: Waardenburg synd *J Pediatr* 57 649-669, 1960
4. 玉田彰、小林敏代: 静岡県下における Waardenburg 症候群の 4 家系図 *日耳鼻* 83 1616-1619 1980
5. 半田順俊: 金眼銀眼の猫と人 *遺伝* 21 41-45 1967
6. Kirkpatrick, S. J., Kent, C. M., Laxova, R., Sekhon, G. S. Waardenburg syndrome type I in a child with deletion (2)(q35q36.2). (Letter) *Am. J. Med. Genet.* 44: 699-700, 1992.
7. Lalwani, A. K., Baldwin, C. T., Morell, R., Friedman, T. B., San Agustin, T. B., Milunsky, A., Adair, R., Asher, J. H., Wilcox, E. R., Farrer, L. A. A locus for Waardenburg syndrome type II maps to chromosome 1p13.3-2.1. (Abstract) *Am. J. Hum. Genet.* 55 (suppl.): A14 only, 1994.
8. Lalwani, A. K., Baldwin, C. T., Morell, R., Friedman, T. B., San Agustin, T. B., Milunsky, A., Adair, R., Asher, J. H., Wilcox, E. R., Farrer, L. A. A locus for Waardenburg syndrome type II maps to chromosome 1p13.3-2.1. (Abstract) *Am. J. Hum. Genet.* 55 (suppl.): A14 only, 1994.
9. Selicorni, A., Gueneri, S., Ratti, A., Pizzuti, A. Cytogenetic mapping of a novel locus for type II Waardenburg syndrome. *Hum. Genet.* 110: 64-67, 2002.
10. Sanchez-Martin, M., Rodriguez-Garcia, A., Perez-Losada, J., Sagraera, A., Read, A. P., Sanchez-Garcia, I. *SLUG (SNAI2)* deletions in patients with Waardenburg disease. *Hum. Molec. Genet.* 11: 3231-3236, 2002.
11. Tassabehji, M., Newton, V. E., Liu, X.-Z., Brady, A., Donnai, D., Krajewska-Walasek, M., Murday, V., Norman, A., Obersztyn, E., Reardon, W., Rice, J. C., Trembath, R., Wieacker, P., Whiteford, M., Winter, R., Read, A. P. The mutational spectrum in Waardenburg syndrome. *Hum. Molec. Genet.* 4: 2131-2137, 1995.
12. Syrris, P., Carter, N. D., Patton, M. A. Novel nonsense mutation of the endothelin-B receptor gene in a family with Waardenburg-Hirschsprung disease. *Am. J. Med. Genet.* 87: 69-71, 1999.
13. Hofstra, R. M. W., Osinga, J., Tan-Sindhunata, G., Wu, Y., Kamsteeg, E.-J., Stulp, R. P., van Ravenswaaij-Arts, C., Majoor-Krakauer, D., Angrist, M., Chakravarti, A., Meijers, C., Buys, C. H. C. M. A homozygous mutation in the endothelin-3 gene associated with a combined Hirschsprung type 2 and Hirschsprung phenotype (Shah-Waardenburg syndrome). *Nature Genet.* 12: 445-447, 1996.
14. Bondurand, N., Dastot-Le Moal, F., Stanchina, L., Collot, N., Baral, V., Marlin, S., Attie-Bitach, T., Giurgea, I., Skopinski, L., Reardon, W., Toutain, A., Sarda, P., Echaieb, A., Lackmy-Port-Lis, M., Touraine, R., Amiel, J., Goossens, M., Pingault, V. Deletions at the *SOX10* gene locus gene Waardenburg syndrome types 2 and 4. *Am. J. Hum.*

- Genet. 81: 1169-1185, 2007.
15. Pardono, E., van Bever, Y., van den Ende, J., Havrenne, P. C., Iughetti, P., Maestrelli, S. R. P., Costa F, O., Richieri-Costa, A., Frota-Pessoa, O., Otto, P. A. Waardenburg syndrome: clinical differentiation between types I and II. Am. J. Med. Genet. 117A: 223-235, 2003.
 16. Newton, V. E. Waardenburg's syndrome: a comparison of biometric indices used to diagnose lateral displacement of the inner canthi. Scand. Audiol. 18: 221-223, 1989
 17. Kontorinis G, Lenarz T, Giourgas A, Durisin M, Lesinski-Schiedat A : Outcomes and special considerations of cochlear implantation in waardenburg syndrome. Otol Neurotol. 2011; 32(6):951-955.
 18. Deka RC, Sikka K, Chaturvedy G, Singh CA, Venkat Karthikeyan C, Kumar R, Agarwal S: Cochlear implantation in Waardenburg syndrome: The Indian scenario Acta Otolaryngol. 2010; 130: 1097-1100.
 19. Pau H, Gibson WP, Gardner-Berry K, Sanli H. Cochlear implantations in children with Waardenburg syndrome: an electrophysiological and psychophysical review. Cochlear Implants Int. 2006; 7: 202-206.

7 - 5 Treacher Collins 症候群

(1) 概説

Treacher Collins 症候群 (TCS; OMIM#154500) は頭蓋顔面骨の形成不全が特徴的な症状としてみられる疾患で、常染色体優性の遺伝性を示す¹⁾²⁾。発生頻度は約 50000 人あたり 1 人³⁾とされるが、そのうち 60%程度は孤発例である。耳科領域の臨床症状としては、高頻度に両側性外耳道閉鎖症および耳小骨奇形に伴う伝音難聴を呈する。

(2) 診断基準

(臨床的診断基準)

典型的な症状としては特徴的な顔貌があげられる。眼瞼の形成異常(斜めに下がった眼、下眼瞼内側の欠損、下睫毛欠損)、頬骨部の陥凹(側頭骨頬骨突起の形成不全)、小顎症等を認める。小耳症などの外耳奇形は 77%にみられ、また患者の約 40～50%に伝音難聴を認める。^{4)~9)}。他にも、脳ヘルニア、甲状腺・胸腺・心臓・副脾の奇形、異所性副腎、外性器発育不全、口蓋裂、口唇裂、後鼻孔狭窄や閉鎖などの症例も報告されている^{4), 10)}。

(遺伝子診断)

タイプ	遺伝子	遺伝子座	頻度
TCS1(154500)	<i>TCOF1</i> (606847)	5q32	78%-93% ^{8),11)}
TCS2(613717)	<i>POLRID</i> (613717)	13q12.2	8% ¹²⁾
TCS3(248390)	<i>POLR2C</i> (610060)	6921.1	

(3) 治療 (エビデンスレベルⅣ b, 推奨グレード A～B)

新生児期には、閉塞性睡眠時無呼吸を生じることが多く、気道確保の必要から気管切開

を要することもある¹³⁾。

難聴に対しては鼓室形成術を含む外科的治療が用いられる事もあるが、各種の奇形が合併するため術後成績は他疾患より劣るとされるのが一般的である¹⁷⁾⁻¹⁹⁾。(IV b)手術所見では様々なタイプの耳小骨奇形が報告されており、耳小骨欠損、単脚アブミ骨、アブミ骨底板固着、卵円窓閉鎖なども報告されている。内耳は正常なことも多く、骨固定型補聴器(Bone anchored hearing aid: BAHA)の適応^{21)、22)}も多く報告されている。非外科的には通常の骨伝導補聴器を用いた介入も多数報告されている¹⁴⁾。

頭蓋顔面骨の形成術は多くの症例で必要とされる^{4)、15)}。口蓋裂の治療が必要な場合には1歳~2歳時に、頬骨・眼窩の形成術は5歳~7歳時の実施が望ましいとされる¹⁶⁾。上下顎の形成術に関しては症状の程度によって実施される年齢は様々である。

(4)参考文献

1. Dixon MJ. Treacher Collins syndrome. Hum Mol Genet 1996; 5 Spec No: 1391-1396.
2. Conte C, D' Apice MR, Rinaldi F, Gambardella S, Sangiuolo F, Novelli G. Novel mutations of TCOF1 gene in European patients with Treacher Collins syndrome. BMC Med Genet; 12: 125.
3. Splendore A, Jabs EW, Felix TM, Passos-Bueno MR. Parental origin of mutations in sporadic cases of Treacher Collins syndrome. Eur J Hum Genet 2003; 11: 718-722.
4. Posnick JC. Treacher Collins syndrome: perspectives in evaluation and treatment. J Oral Maxillofac Surg 1997; 55: 1120-1133.
5. Hertle RW, Ziylan S, Katowitz JA. Ophthalmic features and visual prognosis in the Treacher-Collins syndrome. Br J Ophthalmol 1993; 77: 642-645.
6. Posnick JC, Ruiz RL. Treacher Collins syndrome: current evaluation, treatment, and future directions. Cleft Palate Craniofac J 2000; 37: 434.
7. Marszalek B, Wojcicki P, Kobus K, Trzeciak WH. Clinical features, treatment and genetic background of Treacher Collins syndrome. J Appl Genet 2002; 43: 223-233.
8. Teber OA, Gillessen-Kaesbach G, Fischer S, Bohringer S, Albrecht B, Albert A et al. Genotyping in 46 patients with tentative diagnosis of Treacher Collins syndrome revealed unexpected phenotypic variation. Eur J Hum Genet 2004; 12: 879-890
9. Trainor PA, Dixon J, Dixon MJ. Treacher Collins syndrome: etiology, pathogenesis and prevention. Eur J Hum Genet 2009; 17: 275-283.
10. Li C, Mernagh J, Bourgeois J. Novel craniofacial and extracraniofacial findings in a case of Treacher Collins syndrome with a pathogenic mutation and a missense variant in the *TCOF1* gene. Clin Dysmorphol 2009; 18: 63-66.
11. Splendore A, Silva EO, Alonso LG, Richieri-Costa A, Alonso N, Rosa A et al. High mutation detection rate in *TCOF1* among Treacher Collins syndrome patients reveals clustering of mutations and 16 novel pathogenic changes. Hum Mutat 2000; 16: 315-322.
12. Dauwerse JG, Dixon J, Seland S, Ruivenkamp CA, van Haeringen A, Hoefsloot LH et al. Mutations in genes encoding subunits of RNA polymerases I and III cause Treacher Collins syndrome. Nat Genet; 43: 20-22.

13. Morillas P, Fornet I, De Miguel I, Palacio FJ, Lopez MA. Airway management in a patient with Treacher Collins syndrome requiring emergent cesarean section. *Anesth Analg* 2007; 105: 294.
14. Marres HA. Hearing loss in the Treacher-Collins syndrome. *Adv Otorhinolaryngol* 2002; 61: 209-215.
15. Zhang Z, Niu F, Tang X, Yu B, Liu J, Gui L. Staged reconstruction for adult complete Treacher Collins syndrome. *J Craniofac Surg* 2009; 20: 1433-1438.
16. Kobus K, Wojcicki P. Surgical treatment of Treacher Collins syndrome. *Ann Plast Surg* 2006; 56: 549-554.
17. Marres HA, Cremers CW, Marres EH: Treacher-Collins syndrome. Management of major and minor anomalies of the ear. *Rev Laryngolo Otol Rhinol(Bord)* 1995 116 105-108
18. Taylor DJ, Phelps PD: Imaging of ear deformities in Treacher Collins syndrome *Clin Otolaryngol* 18 263-267 1993
19. Marres HA, Cremers CW, Marres EH, Huygen PL. Ear surgery in Treacher Collins syndrome. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1995; 104: 31-41.
20. Marsella P, Scorpecci A, Pacific C, Tieri L. Bone anchored hearing aid (BAHA) in patients with treacher Collins syndrome: tip and pitfalls. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2011 75 1308-1312
21. van der Pouw KT, Snik AF, Cremers CW. Audiometric results of bilateral bone-anchored hearing aid application in patients with bilateral congenital aural atresia. *Laryngoscope.* 1998 ; 108: 548-553.

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

- [1] 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)」 難聴 日本臨床社 68 : 417-422. 2010

雑誌

- [1] Moteki H, Naito Y, Fujiwara K, Kitoh R, Nishio S Y, Oguchi K, Takumi Y, Usami SI. Different cortical metabolic activation by visual stimuli possibly due to different time courses of hearing loss in patients with GJB2 and SLC26A4 mutations. *Acta Oto-Laryngol.* 131: 1232-1236. 2011
- [2] Usami, S. Nishio, S. Nagano, M. Abe, S. Yamaguchi, T. Simultaneous Screening of Multiple Mutations by Invader Assay Improves Molecular Diagnosis of Hereditary Hearing Loss: A Multicenter Study. *PLoS One.* 7: e31276. 2012
- [3] Usami, S. Abe, S. Nishio, S. Sakurai, Y. Kojima, H. Tono, T. Suzuki, N. Mutations in the NOG gene are commonly found in congenital stapes ankylosis with symphalangism, but not in otosclerosis. *Clin Genet.* 2012. in press.
- [4] Usami S. Miyagawa M. Nishio S. Moteki H. Takumi Y. Suzuki M. Kitano Y. Iwasaki S. Patients with CDH23 mutations and the 1555A>G mitochondrial mutations are good candidates for electric acoustic stimulation(EAS). *Acta Otolaryngol.* 132: 377-384. 2012
- [5] 宇佐美真一 難聴の遺伝子診断 日本臨床 69: 357-367. 2011
- [6] 宇佐美真一 難聴の遺伝子診断 *Audiology Japan* 54:44-55. 2011
- [7] 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. *Acta Oto-Laryngol* 131: 405-412. 2011
- [8] 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-Laryngol* 131:976-982. 2011
- [9] Mutai H, Kouike H, Teruya E, Takahashi-Kodomoari I, Kakishima H, Tajji H, Usami SI, Okuyama T, Matsunaga T. Systematic analysis of mitochondrial genes associated with hearing loss in the Japanese population: dHPLC reveals a new candidate mutation. *BMC Med Genet.* 12: 135. 2011
- [10] 茂木英明、西尾信哉、工籾、岩崎聡、宇佐美真一：残存聴力活用型人工内耳 (EAS: electric acoustic stimulation)：術後聴取能における検討 *Otol Jpn* 2011 *in press*
- [11] 宇佐美真一、茂木英明、宮川麻衣子、内藤武彦、西尾信哉、工籾、岩崎聡、：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～ *Otol Jpn* 2011 *in press*
- [12] 茂木英明、西尾信哉、宮川麻衣子、工籾、岩崎聡、宇佐美真一：残存聴力活用型人工内耳 (EAS: electric acoustic stimulation) の長期装用者 3 症例における術後成績 *Audiology Japan* 2011 *in press*

- [13] Fukuoka H, Tsukada K, Miyagawa M, Oguchi T, Takumi Y, Sugiura M, Ueda H, Kadoya M, Usami S. Semi-quantitative evaluation of endolymphatic hydrops by bilateral intratympanic gadolinium-based contrast agent (GBCA) administration with MRI for Meniere's disease. *Acta Otolaryngol* 130: 10-16. 2010
- [14] Usami S, Miyagawa M, Suzuki N, Moteki H, Nishio S, Takumi Y, Iwasaki S. Genetic background of candidates for EAS (Electric-Acoustic Stimulation) *Audiol Med* 8:28-32. 2010
- [15] Tsukada K, Nishio S, Usami S. Deafness gene study consortium. A large cohort study of *GJB2* mutations in Japanese hearing loss patients. *Clin Genet* 78: 464-470. 2010
- [16] Ishihara K, Okuyama S, Kumano S, Iida K, Hamana H, Murakoshi M, Kobayashi T, Usami S, Ikeda K, Haga Y, Tsumoto K, Nakamura H, Hirasawa N, Wada H. Salicylate restores transport function and anion exchanger activity of missense pendrin mutations. *Hear Res* 270: 110-118. 2010
- [17] 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
- [18] Lu S Y, Nishio S, Tsukada K, Oguchi T, Kobayashi K, Abe S, Usami S. Factors that affect hearing level in individuals with the mitochondrial 1555A>G mutation. *Clin Genet*, 75 : 480-484. 2009
- [19] 宇佐美真一 予防医学からみた遺伝性難聴 *JOHNS* 25 : 1719-1723. 2009
- [20] 宇佐美真一 薬剤と遺伝子 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 81 : 759-767. 2009
- [21] 宇佐美真一 先天性難聴 小児科 50 : 1182-1185. 2009
- [22] 武市紀人、柏村正明、中丸裕爾、津布久崇、福田諭、鈴木美華、宇佐美真一 難聴遺伝子診断が有用であった人工内耳一症例 *Audiology Japan* 52 : 214-219. 2009
- [23] 宇佐美真一 先天性難聴の遺伝子診断 ー専門医に必要な難聴遺伝子に関する知識ー 日本耳鼻咽喉科学会会報 113: 34-37, 2010
- [24] 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
- [25] 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 20
- [26] 石川浩太郎,市村恵一 : 遺伝性高音急墜型感音難聴家系の臨床的検討. *Otol Jpn* 2011;21(4):607.

IV. 研究成果の刊行物・別刷



Original Article

Mutations in the *NOG* gene are commonly found in congenital stapes ankylosis with symphalangism, but not in otosclerosis

Usami S, Abe S, Nishio S, Sakurai Y, Kojima H, Tono T, Suzuki N. Mutations in the *NOG* gene are commonly found in congenital stapes ankylosis with symphalangism, but not in otosclerosis. *Clin Genet* 2012. © John Wiley & Sons A/S, 2012

Human noggin (*NOG*) is a responsible gene for multiple synostosis syndrome (SYNS1) and proximal symphalangism (SYM1), two conditions that are recently known to be within a wider range of clinical manifestations of stapes ankylosis with symphalangism. This study was performed to determine the range of phenotype caused by *NOG* mutations, using Japanese patients with various phenotypes including sporadic inherited SYM1, dominantly inherited SYM1, stapes ankylosis with broad thumb and toes (Teunissen and Cremer syndrome). In addition, 33 patients with typical otosclerosis (without symphalangism) were studied. Direct sequencing analysis disclosed three novel mutations of the *NOG* gene in three SYM1 families. None of the otosclerosis patients without symphalangism had *NOG* mutations, indicating that *NOG* mutations may be restrictively found within patients with various skeletal abnormalities. These results together with the literature review indicated that there are no clear genotype–phenotype correlations for *NOG* mutations. With regard to surgical outcome, most of the patients in these three families with *NOG* mutations showed remarkable air–bone gap recovery after stapes surgery. Molecular genetic testing is useful to differentiate syndromic stapes ankylosis from otosclerosis, and even mild skeletal anomalies can be a diagnostic indicator of *NOG*-associated disease.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

S Usami^a, S Abe^{a,b}, S Nishio^a, Y Sakurai^c, H Kojima^c, T Tono^d and N Suzuki^a

^aDepartment of Otorhinolaryngology, Shinshu University School of Medicine, Matsumoto, Japan, ^bDepartment of Otorhinolaryngology, Abe ENT Clinic, Ota-ku, Japan, ^cDepartment of Otorhinolaryngology, Jikei University School of Medicine, Minato-ku, Tokyo, Japan, and ^dDepartment of Otorhinolaryngology, University of Miyazaki Faculty of Medicine, Miyazaki, Japan

Key words: – otosclerosis – stapes ankylosis – stapes ankylosis with broad – SYM1 – symphalangism – Teunissen and Cremer syndrome – thumb and toes

Corresponding author: Shin-ichi Usami, Department of Otorhinolaryngology, Shinshu University School of Medicine, Matsumoto, Japan.
Tel.: +81 263 37 2666;
fax: +81 263 36 9164;
e-mail: usami@shinshu-u.ac.jp

Received 9 August 2011, revised and accepted for publication 12 December 2011

Human noggin (*NOG*) is a responsible gene for a wide range of clinical manifestations of stapes ankylosis with symphalangism. Proximal symphalangism (SYM1: MIM #185800) (1) is known as an autosomal dominant disorder with high penetrance. The most common clinical features are the immobility of the proximal interphalangea (PIP) joints of the hands and toes, and congenital conductive hearing loss due to stapes ankylosis. Multiple synostosis syndrome (SYNS1: MIM#186500) (1) is characterized by a more severe phenotype of the proximal symphalangism, such as progressive and expanded bony fusion of joints and unique facial manifestations. In addition, mutations in

NOG have been identified in Tarsal–Carpal Coalition syndrome (TCC: MIM#186570) (2), stapes ankylosis with broad thumb and toes (MIM#184460) (Teunissen and Cremer syndrome) (3), and Brachydactyly type B2 (BDB2: MIM#611377) (4).

Otosclerosis (MIM#166800) is known as the single most common cause of progressive conductive hearing loss, characterized by abnormal bone remodeling in the otic capsule. Although there are a small number of familial cases that are likely to be monogenic, the majority of cases are sporadic. A series of studies has suggested that this condition involves both genetic and environmental factors (5).

Typical otosclerosis was included in this study because it is an interesting question as to whether some of the typical otosclerosis is a continuum of a category of disease caused by *NOG* mutations. We thought this may be true because (i) within SYM1, *NOG* mutations were found in patients with minor skeletal anomalies without symphalangism (3), and (ii) stapes ankylosis is an important phenotype of the animal model for *NOG*^{+/-} mice (6).

To date, no detailed survey was available for *NOG* mutations in the stapes ankylosis patients with symphalangism in Asian populations. Therefore this study was undertaken to address whether *NOG* mutations are also causative and commonly found in those populations and if so, whether there is a different mutation spectrum.

In addition, previously reported *NOG* mutations were reviewed to determine their spectrum as well as whether there are any particular genotype–phenotype correlations caused by *NOG* mutations.

Materials and methods

Subjects

We ascertained three Japanese families to be associated with conductive hearing loss and symphalangism, including an autosomal dominant SYM1 family, a sporadic SYM1 case with normal parents, and an autosomal dominant stapes ankylosis with broad thumb and toes (Teunissen and Cremer syndrome) family. Thirty-three Japanese otosclerosis patients, who underwent stapes surgery, were also screened for mutations in the *NOG* gene. Their clinical symptoms, including ages at surgery (36–77 years old: average 54.4 years old), onset age (15–57 years old: average 37.3 years old), gender (10 male and 23 female), laterality (9 unilateral and 24 bilateral), and hearing threshold (average 63.1 dB), are summarized in Table 1. Average onset age, was hearing threshold, was evaluated using pure-tone audiometry classified by a pure-tone average over 250, 500, 1000, 2000, and 4000 Hz. By detailed anamnestic and medical examination, no patients had any associated skeletal abnormalities. All of the patients were sporadic cases and no similar condition was observed within their familial members. Satisfactory outcomes after stapes surgery were obtained in all 33 subjects.

We obtained informed consent for participation in this project from each subject and also from 192 normal control subjects who were unrelated Japanese individuals without any noticeable hearing loss evaluated by auditory testing. Otologic examination, audiometric analysis, and radiologic imaging were carried out for each patient.

Family 1

As shown in the pedigree (Fig. S1a), patient #991 was diagnosed with symmetric conductive hearing loss of 50 dB (Fig. 1b) at the age of 6 years. Tympanography indicated type A sclerosis and absence of the stapedius reflex, whereas otomicroscopy results were

Table 1. Clinical symptoms of Otosclerosis patients

Patient number	Age	Gender	Onset age	Affected side	Hearing threshold (right)	Hearing threshold (left)
1	48	M	36	Bilateral	68.3	56.3
2	59	F	45	Bilateral	56.3	56.3
3	43	F	38	Left	10.8	64.0
4	36	M	25	Bilateral	61.3	66.3
5	46	F	40	Right	38.0	19.0
6	44	F	33	Bilateral	59.0	66.0
7	65	F	49	Bilateral	81.0	63.0
8	77	F	57	Bilateral	104.0	105.0
9	45	F	41	Bilateral	56.0	69.0
10	44	F	30	Left	30.0	80.0
11	61	F	44	Bilateral	23.0	68.0
12	58	F	49	Right	76.0	35.0
13	43	M	25	Left	14.0	49.0
14	58	F	47	Bilateral	53.0	50.0
15	54	F	38	Bilateral	57.0	45.0
16	53	F	40	Right	58.0	6.0
17	44	F	25	Bilateral	53.0	56.0
18	62	F	48	Bilateral	42.5	52.5
19	43	F	33	Bilateral	27.0	45.0
20	57	F	40	Left	26.0	65.0
21	65	F	15	Bilateral	53.0	50.0
22	54	M	46	Bilateral	50.0	30.0
23	48	F	23	Bilateral	71.0	56.0
24	62	F	39	Bilateral	38.0	37.0
25	76	F	43	Bilateral	78.0	75.0
26	71	M	41	Bilateral	91.3	97.5
27	71	F	40	Bilateral	126.3	110.0
28	45	M	45	Left	42.5	73.75
29	41	F	30	Bilateral	98.8	95
30	44	M	30	Left	30.0	76.3
31	44	M	30	Right	58.8	38.8
32	64	M	35	Bilateral	51.0	46.0
33	70	M	30	Bilateral	48.8	53.8

F, female; M, male.

normal. Temporal bone computed tomography (CT) scan revealed no inner or middle ear malformations. Her hearing level was stable and non-progressive, and she received hearing aids in both ears. At the age of 17, exploratory tympanotomy of the left ear showed bony fixation of the footplate without any other deformities in the middle ear and stapedotomy using a Teflon piston and wire was performed, resulting in a remarkable improvement in hearing. One year later, stapedotomy was undertaken in her right ear also. After the surgery, the postoperative hearing levels showed 20–30 dB and she did not use her hearing aids. The X-ray presented in Fig. 1 shows symphalangism in the PIP joints of the second to fifth fingers of both hands and in the distal interphalangeal (DIP) joints of the left second and fifth fingers and of the right fifth finger. There was symphalangism in both hands, resulting in limited mobility of the fingers. Symphalangism (fixation of the proximal interphalangeal joint) in both feet was also found. The ankylosis was confirmed by X-ray examination

Stapes ankylosis with *NOG* mutation

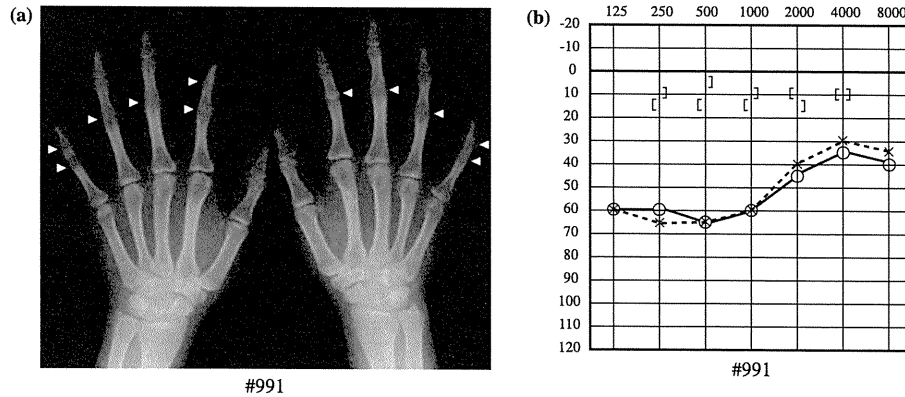


Fig. 1. (a) Photograph with arrowheads indicating symphalangism in the hands of patient #991. (b) Audiograms from patient #991 showing conductive hearing loss.

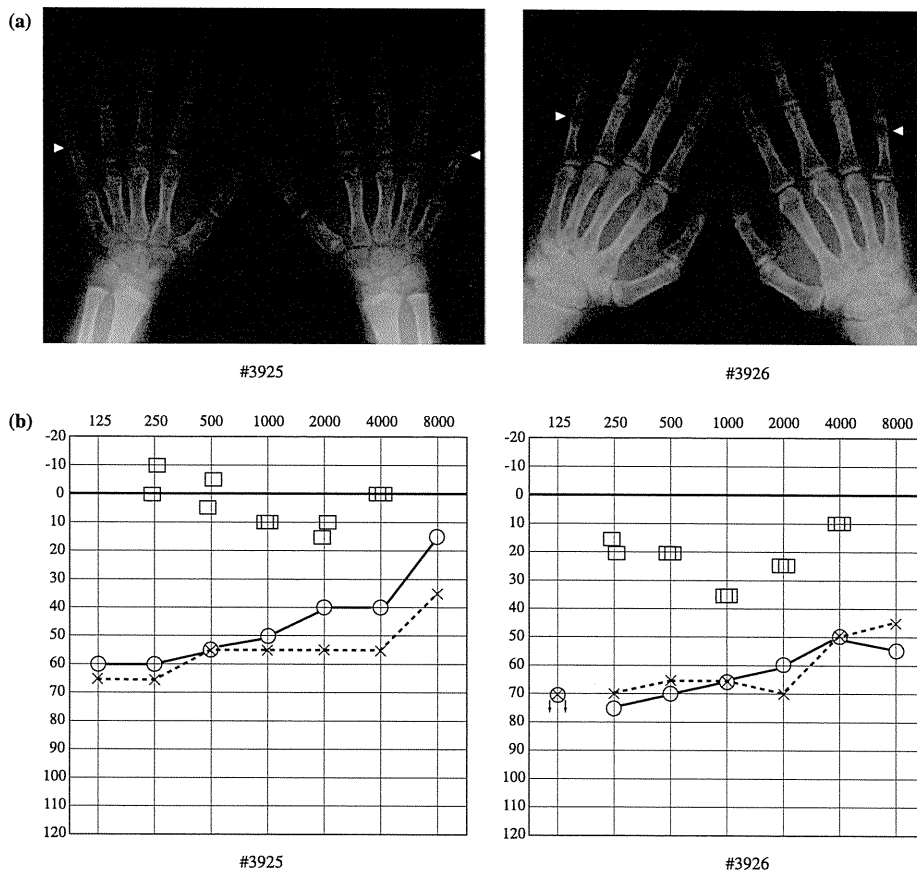


Fig. 2. (a) Photograph with arrowheads indicating symphalangism in the hands of patients #3925 and #3926. (b) Audiograms from patients #3925 and #3926 showing conductive hearing loss.

(Fig. 1a). Congenital hyperopia (only in this patient within the family) was also present.

Family 2

As shown in the pedigree (Fig. S2a), a girl and her father (patients #3925 and #3926) visited our hospital due to bilateral hearing loss. Audiograms indicated bilateral mixed hearing loss (Fig. 2b). Anamnestic

evaluation suggested that the hearing loss was non-progressive without any associated symptoms such as ear fullness, tinnitus or vertigo. Patient #3926 underwent stapedotomy at the age of 42, achieving significant recovery of his hearing. There was symphalangism in the PIP joint of both fifth fingers, resulting in limited mobility of the fingers. Fixation of the proximal interphalangeal joint was not found in either foot. The ankylosis was confirmed by X-ray examination

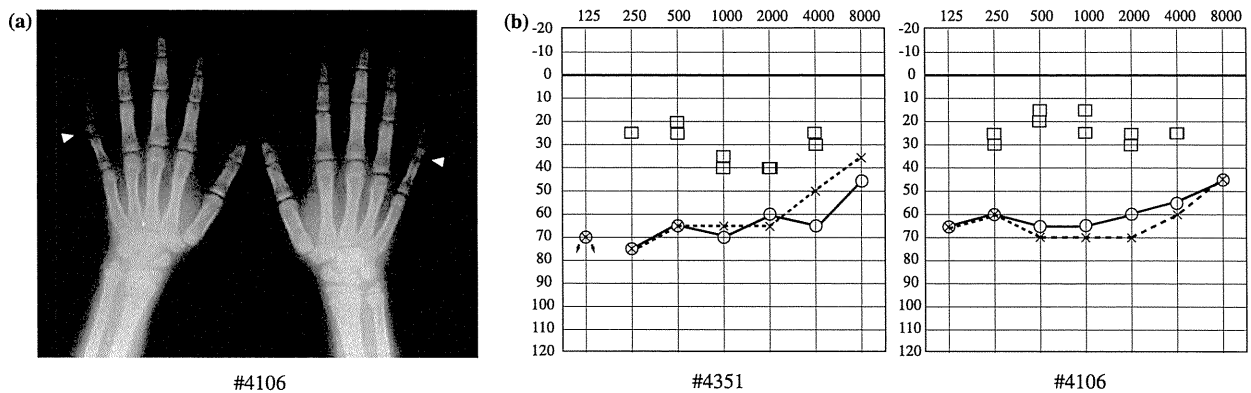


Fig. 3. (a) Photograph with arrowheads indicating symphalangism in the hands of patients #4106. (b) Audiograms from patients #4106 and #4351 showing conductive hearing loss.

(Fig. 2a). Congenital hyperopia was not present in this family.

Family 3

The pedigree shows hearing loss was inherited in four generations, indicating autosomal dominant inheritance (Fig. S3a). In addition to conductive hearing loss (Fig. 3b), the family members were associated with the following clinical phenotype in various degrees: hyperopia, broad thumbs and first toes, symphalangism, syndactyly, and fused cervical vertebrae (Fig. S3a). The clinical diagnosis was therefore stapes ankylosis with broad thumb and toes (3) or Teunissen and Cremer syndrome (7). Patient #4351 had conductive hearing loss, hyperopia, broad thumbs and first toes, symphalangism, and syndactyly. She noted her hearing loss around age 10. Stapedotomy was performed when she was 37 (right) and 38 (left) years old, achieving significant recovery of hearing. Patient #4106 had conductive hearing loss, hyperopia, broad thumbs and first toes, and fused cervical vertebrae. His hearing loss was noted around age 3 and was diagnosed at the age of 8. Stapedotomy was performed when he was 9 (right) and 10 (left) years old, achieving significant recovery of hearing.

Mutation identification

Human *NOG* gene coding is constituted of one single exon, in which an open reading frame of 696 nucleotides encodes a *NOG* polypeptide of 232 amino acids. A sequence obtained from GeneBank U31202 was used to design primers containing the entire coding region of *NOG*. Two fragments to entirely cover the coding region of *NOG* were amplified with polymerase chain reaction (PCR) and two specific primer pairs, as follows: F1, 5'-CTTGTGTGCTTTTCTCCGC-3'; R1, 5'-TACTGGATGGGAATCCAGCC-3'; and F2, 5'-TACGACCCAGGCTTCATGGC-3'; R2, 5'-TAGCAGCAGCACTGCACTC-3'.

PCR reactions were carried out in 25 μ l total volume containing 40 ng of genomic DNA, 10 pmol of each

primer, 2 mM dNTPs, $\times 10$ PCR buffer and 0.2 U of ExTaq polymerase (Takara, Tokyo, Japan). PCR conditions were denaturing at 94°C for 2 min; 35 cycles at 96°C for 30 s, 60°C for 30 s, 72°C for 1 min extension, with a final extension step at 72°C for 5 min in a Perkin-Elmer 9600 thermal cycler (Perkin-Elmer, Foster City, CA). PCR products were purified with a Suprec filter (Takara) and sequenced directly, using four primers (F1, R1, F2, and R2) and ABI BigDye terminators, on an ABI 3100 sequencer (Perkin-Elmer).

Results

Three novel mutations of the *NOG* gene were found by direct sequencing analysis in three families, whose common clinical features were compatible with SYM1, i.e. immobility of the PIP joints of the hands and toes, and congenital conductive hearing loss due to stapes ankylosis. Patient #991 of family 1 had a heterozygous G>T transversion at nucleotide 551 (Fig. S1b), predicting a cysteine (C) for phenylalanine (F) substitution at amino acid 184 (C184F) in the coding region of *NOG*. Since the C184F mutation was not found in either parent and was found only in the proband (patient #991), it was suggested that the mutation arose *de novo* in only the affected individual. Patients #3925 and #3926 of family 2 had a heterozygous T>A transversion at nucleotide 463 (Fig. S2b), predicting a cysteine (C) for serine (S) substitution at amino acid 155 (C155F) in the coding region of *NOG*. Patients #4106 and #4351 had a heterozygous C215X mutation.

None of the otosclerosis patients had *NOG* mutations. These three mutations were not observed in any of the other family members nor in the 192 unrelated Japanese controls (384 chromosomes).

Discussion

This study identified three novel mutations in the *NOG* gene in families with symphalangism, being consistent with the previous work showing that *NOG* is the responsible gene for SYM1 and stapes ankylosis with