

図3 Usher 症候群タイプ分類のためのフローチャート (案1)

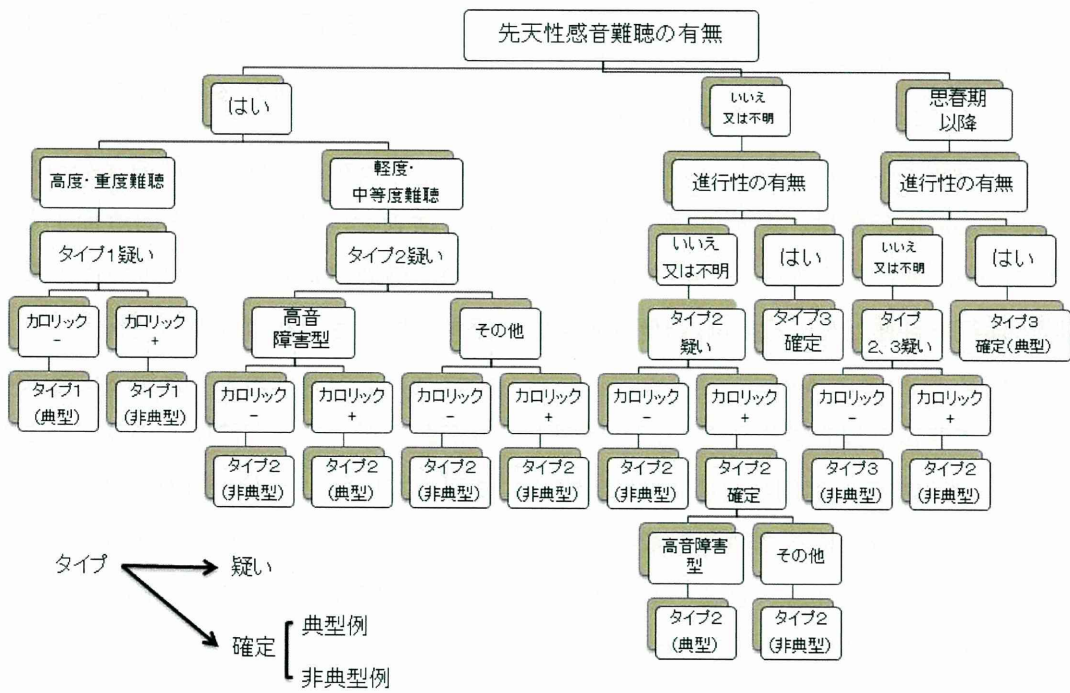


図4 Usher 症候群タイプ分類のためのフローチャート (案2)

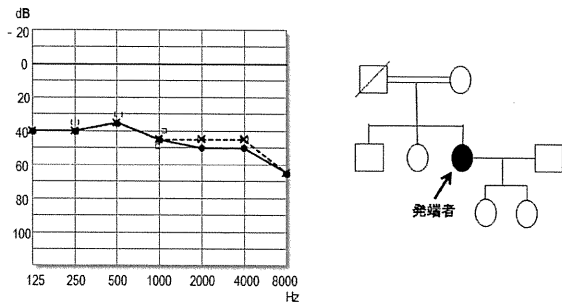


図5 症例4のオーディオグラムと家計図

表1 フローチャートによる8症例の各タイプ分類 (案1、案2)

案1	タイプ1	タイプ2	タイプ3
疑い	2	0	0
確定	1	1	4

案2	タイプ1	タイプ2	タイプ3
疑い	2	0	0
確定	1	1	4(典型3例)

表2 フローチャートによる8症例の各タイプ分類 (案1、案2)

	年齢	性別	難聴について				夜盲(歳)	RPの診断(歳)	聴力		聴力型	血縁結婚	明らかな家族歴	タイプ分類		
			自覚(歳)	診断(歳)	進行	めまい			右dB	左dB				案1	案2	信州大学での分類
1	66	女	50	55	有	無	55	60	65	56	低音漸傾	無	無	3	3	3
2	44	女	38	41	有	有	5歳以前	42	53.8	57.5	高音漸傾	無	RPの家族歴	3	3	3
3	47	女	0	0	不明	無	5歳以前	5	聾	聾	有	無	1疑	1疑	1	
4	58	女	40	20	有	無	0	5	43.8	42.5	高音漸傾	有	無	3	3	2
5	54	男	0	0	不明	無	5歳以前	高校生	聾	聾	有	兄弟	1疑	1疑	1	
6	45	男	10	10	有	無	10	10	72.5	83.8	高音漸傾	無	無	3	3	2
7	41	女	3	3	無	有	8	38	56.3	53.8	高音漸傾	無	弟同症状	2	2	2
8	44	女	3	3	不明	有	不明	36	聾	聾	無	無	1	1		

性の疾患で、その病態から3つに分類される。タイプ1は幼少期より高度難聴を呈し、めまいを伴う例が多く、視覚症状は10歳前後より生じる。タイプ2は若年期より高音障害型の難聴を呈し、視覚症状は思春期以降に生じる。めまいは伴わない例が多い。タイプ3は難聴、視覚症状ともに思春期以降に生じ、難聴は徐々に進行していくことが多い。信州大学より提示されたタイプ分類のフローチャートを参考にして、収集した臨床像をもとに今回の症例のタイプ分類を行ったところ、8症例中2症例は施設間によって異なった分類となった。またカロリック検査

を積極的に施行していくことが課題で、特にタイプ3ではめまいに関してはさまざまな報告があり、一定していない。Usher症候群はさまざまな臨床経過をとるため、今後は遺伝子解析によりタイプ分類を行うことで、タイプ分類と臨床像との関連付けができるものとする。

### E. 結論

本研究のため、網膜色素変性と両感音難聴の症状を有する8症例を収集した。遺伝学的解析の導入により、Usher症候群の臨床像や診断基準、タイプ分類がより明確になる

ことがなることが予測され、早期に適切な医療が選択できることにより、本疾患を有する患者および家族にとって有用と考えられる。

**G. 研究発表**

なし

**H. 知的財産権の出願・登録状況**

なし

# 本邦アッシャー症候群タイプ2患者における 変異スペクトラムの検討

研究分担者 中西 啓 浜松医科大学耳鼻咽喉科助教

## 研究要旨

アッシャー症候群の早期診断に有効な遺伝子診断システムの構築を目指し、臨床症状によりタイプ2と診断した患者19人を対象として、*USH2A*の遺伝子解析を行った。15人の患者において23種の疾患原因と考えられる変異を同定し、園中で19種は新規であった。1種(c.8559-2A>G)は4人に共通する変異であり、本邦アッシャー症候群タイプ2患者における高頻度変異である可能性が示唆された。ハプロタイプ解析にて、c.8559-2Gアリルは635kbにわたってハプロタイプが同じであり、本変異は創始者効果によるものであると思われた。

## A. 研究目的

アッシャー症候群(USH)は、感音難聴に網膜色素変性症を合併する常染色体劣性遺伝性疾患である。現在までに、難聴に視覚障害を合併する疾患は約40種類知られているが、本疾患は園中で全患者数の約半数(5/10万人)を占める最多の疾患である。

USHは、難聴の程度と前庭機能障害の有無などの臨床症状により、タイプ1~3の3つのタイプに分類され、それぞれのタイプにより難聴に対する治療法が異なっている。タイプ1は、難聴が高度であるため言語獲得には人口内耳埋込術が必要であるのに対し、タイプ2、3では、補聴器装用で十分であることが多い。難聴を主訴に医療機関を受診した際に、USHの早期診断およびタイプ分類が可能であれば、資格・聴覚に対して効果的な治療が可能になると思われる。そこで、USHの早期診断に有効な遺伝子診断システムの構築を目指し、本邦患者における高頻度変

異の探索と変異スペクトラムの検討を行った。

## B. 研究方法

臨床症状よりアッシャー症候群タイプ2と診断した患者19人を対象として、タイプ2Aの原因遺伝子である*USH2A*の遺伝子解析を行った。遺伝子解析は、白血球より抽出したゲノムDNAをテンプレートとして、原因遺伝子の全エキソン1~73をPCRダイレクトシーケンス法にて解析した。

現在までに報告されていない塩基変化については、難聴・視覚障害のない日本人正常コントロール135人の検体を用いて、当該塩基変化の存否の解析を行った。

(論理面への配慮)

本遺伝子解析研究は、浜松医科大学「ヒトゲノム・遺伝子解析研究論理審査委員会」および「医の論理委員会」にて審査・承認されている。

本研究に参加する患者には、文書を用いて十分な説明を行い、インフォームド・コンセントを得た後、検体として血液を採取した。解析を開始する前に検体は全て凍結可能匿名化し、匿名化した符号と患者を結びつける対応表は個人情報分担管理者を設け別に保管した。遺伝子解析は全て匿名化した符号を用いて行った。

### C. 研究結果

19人の患者においてUSH2Aの遺伝子解析を行い、15人の患者で23種の疾患原因と考えられる変異を同定した(表1)。23種の疾患原因変異の中で19種は新規であり、そのうち1種(c. 8559-2A>G)は4人に共通する変異であった。疾患原因変異の内訳は、ナンセンス変異:6種、フレームシフト変異:6種、スプライシング変異:3種、ミスセンス変異:8種であった。これらの疾患原因変異は、いずれも日本人正常コントロールでは1人にも認めなかった。

c. 8559-2A>Gは、19人中4人に同定され、日本人における高頻度変異である可能性が示唆された。この変異が創始者効果によるものか検討するため、変異を同定することができた15人の患者において、c. 8559-2Gアレルとc. 8559-2Aアレルのハプロタイプ解析を行った。C. 8559-2Gアレルでは、同塩基の前後635kbにわたってハプロタイプが同じであったが、c. 8559-2Aアレルではそれぞれのアレルにおいてハプロタイプは全く異なっていた(表2)。

### D. 考察

USHは難聴の程度と前庭機能障害の有無などの臨床症状により、タイプ1~3に分類され、さらに原因遺伝子がマップまたはクローニングされたものはサブタイプに分類されている。現在までに、タイプ1B~1H、2A、2C、2D、3A、3Bの12のサブタイプが知られており、MYO7A(タイプ1Bの原因遺伝子)、USH1C(タイプ1C)、CDH23(タイプ1D)、PCDH15(タイプ1F)、USH1G(タイプ1G)、USH2A(タイプ2A)、GPR98(タイプ2C)、DFNB31(タイプ2D)、CLRN1(タイプ3A)の9種の原因遺伝子が同定されている。欧米におけるアッシャー症候群タイプ2患者の遺伝子解析では、約70~80%の患者がUSH2Aに遺伝子変異を持つことが報告されている。

本研究では、タイプ2患者19人を対象としてUSH2A遺伝子解析を行い、15人において疾患原因変異を同定した。本邦でも欧米人と同様にUSH2A変異により発症するタイプ2患者が多いと思われる。その一方で、同定した23種中19種は新規の変異であり、欧米人における高頻度変異(p. Glu767fs)は、本邦では1人に同定することができなかった。これらのことより、本邦におけるUSH2Aの変異スペクトラムは欧米人とは全く異なっていると思われた。

c. 8559-2A>Gは、19人中4人に同定され、日本人における高頻度変異である可能性が示唆された。ハプロタイプ解析において、c. 8559-2Gアレルでは、635kbにわたってはプロタイプが同じであり、本変異は創始者効果によるものと思われた。変異を同定す

ることができた15人の患者の出生地を検討したところ、c. 8559-2A>Gをもつ4人の患者は全て出生地が西日本であったのに対し、その他の11人の多くは出生地が東日本であった。これらのことは、本変異が西日本を

中心として分布している可能性を示唆している。さらに、c. 8559-2A>Gは、2人の中国人患者においても同定されており、本変異が西日本のみならず東アジアにも分布していることが考えられ大変興味深い。

表1 USH2A に遺伝子変異を同定することができた 15 人の患者の遺伝子型

患者	疾患原因変異	
	アリル1	アリル2
ホモ接合体		
C696	p. Cya4236X	p. Cys4236X
C122	p. Arg4526X	p. Arg4526X
複合ヘテロ接合体		
C712	p. Ser180Pro	p. Leu1720X
C664	c. 1840+1G>A	p. Tyr3776X
C116	p. Gln1298ArgfsX12	P. Pro2628GlnfsX13
C552	p. Arg1777Trp	p. Ile3055MetfsX2
C152	c. 6485+5G>A	C8559-2A>G
C452	c. 8559-2A>G	p. Asp3515Gly
C557	c. 8559-2A>G	p. Thr3571Met
C187 <sup>a</sup>	p. Arg1777Trp;p. Pro2404ValfsX9	
C237 <sup>a</sup>	c. 8559-2A>G;p. Trp3150X	
C212 <sup>a</sup>	p. Cys691Tyr;p. Gly2752Arg;pTyr3447Cys	
ヘテロ接合体		
C185 <sup>b</sup>	p. Gln3157X	Unknown
C332 <sup>b</sup>	P. Ser1369del;p. Ala4611Val	Unknown
C406 <sup>a</sup>	p. Leu2079X:Unknown	

<sup>a</sup>C187, C237, C212, C406 では家族の検体を用いることができなかったため、変異と発症の対応解析を行うことができなかった。

<sup>b</sup>C185, C332 では、家族の検体を用いて変異と発症の対応解析を行ったが、片側アリル上にある変異しか同定することができなかった。

表2 c. 8559-2G アリルのハプロタイプ

ヌクレオチド の変化	エキソン/イ ントロン番号	c. 8559-2A>Gか らの距離(kb)	C152	C452	C557	C237 <sup>a</sup>
			アリル2	アリル1	アリル1	
C. 373A>G	エキソン2	544.1	A	A	A	A
c. 504C>A	エキソン3	540.8	C	C	C	C
c. 1419C>T	エキソン8	445.7	C	C	C	C
c. 1644+34C>A	イントロン9	444	A	A	A	A
c. 3157+35A>G	イントロン15	339.5	A	A	A	A
c. 3812-8T>G	イントロン17	320.7	T	T	T	T
c. 4457G>A	エキソン21	297.5	A	A	A	A
c. 6317T>C	エキソン32	168.6	T	T	T	T
c. 6506T>C	イントロン34	121.2	T	T	T	T
C. 7300+43C>T	イントロン38	56.7	C	C	C	C
c. 8559-2A>G	イントロン42		G	G	G	A/G
c. 8656C>T	エキソン43	0.067	C	C	C	C
c. 9343A>G	エキソン47	39.9	A	A	A	A
c. 9595A>G	エキソン49	64	A	A	A	A
c. 10232A>C	エキソン52	91.1	C	C	C	C
c. 10388-27T>C	イントロン52	94.9	C	C	C	T/C
c. 11231;45C>T	イントロン57	118.3	C	C	C	C
c. 11504C>T	エキソン59	134.7	C	C	C	C
c. 11602A>G	エキソン60	136.4	A	A	A	A
c. 11711+71A>T	イントロン60	136.6	T	T	T	A/T
c. 12066+73A>G	イントロン61	149.9	A	A	A	A
c. 12612A>G	エキソン63	202.6	G	A	G	G
12666A>G	エキソン63	202.6	A	A	A	A
c. 13191G>A	エキソン63	203.2	G	A	G	G

635kb

<sup>†</sup>他の塩基と異なっている塩基をイタリック体で示した。

<sup>a</sup>C237では家族の検体を用いることができずハプロタイプを完全に決定することができなかった。

## E. 結論

アッシャー症候群タイプ2患者19人を対象としてUSH2A遺伝子解析を行い、15人において疾患原因変異を同定した。同定した変異は23種であり、その中で19種は新規であった。1種 (c. 8559-2A>G) は4人に共通する変異であり、本邦患者における高頻度変異である可能性が示唆された。ハプロタイプ解析において、c. 8559-2Gアレルは635kbにわたってハプロタイプが同じであり、本変異は創始者効果によるものであると思われた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1)Nakanishi H, Ohtsubo M, iwasaki S, Hotta Y, Usami S, Mizuta K, Mineta Y, Minoshima S. Novel USH2A mutations in Japanese Usher syndrome

type2patients : marked differences in the mutation spectrum between the Japanese and other populations. J Hum Genet 56: 484-490, 2011.

### 2. 学会発表

- 1)中西啓、大坪正史、岩崎聡、堀田喜裕、宇佐美真一、水田邦博、峯田周幸、蓑島伸生：本邦アッシャー症候群タイプ2患者における変異スペクトラムの検討. 第56回日本人類遺伝学会・第11回東アジア人類遺伝学会：2011, 11, 9-12.
- 2)中西啓、大和谷崇、瀧澤義徳、泉智沙子、岩崎聡、宇佐美真一、水田邦博、峯田周幸：本邦アッシャー症候群タイプ2患者における変異スペクトラムの検討. 第21回日本耳科学会総会・学術講演会:2011, 11, 24-26.

## G. 知的財産権の出願・登録状況

なし



## Usher症候群に関する調査研究

研究分担者 鎌谷直之 東京女子医科大学教授

(2011年12月まで、理化学研究所ゲノム医科学研究センター・センター長)

### 研究要旨

最近では遺伝学的研究が高度化し、遺伝学的、統計学的、あるいは遺伝統計学的知識や技術が極めて重要になりつつある。Usher症候群は耳鼻科、眼科に関連する疾患であるが、それらを研究する医師、研究者に対し、当センターにおける研究から得られた、遺伝学的、統計学的、あるいは遺伝統計学的方面からの知識、技術の提供を目的とする。更に、手法や解釈の問題点、不明点の解決法などのポイントの手助けを行う。会議への出席、講演などにより以上の目的を達することができた。

### A. 研究目的

色素性網膜変性症と難聴をきたすUsher症候群の原因遺伝子解明を行う研究者、臨床医に対し、遺伝学、遺伝統計学、情報学の立場から知識、技術の提供、更には研究成果を得るための注意、手法や解釈の問題点、不明点の解決法などを提供する。

### B. 研究方法

会議への出席、直接の面談、メールなどにより研究者や臨床医に対し、アドバイスを行う。内容は、私の著書である「実感と納得の統計学」「遺伝統計学入門」などに書かれている内容である。

(倫理面への配慮)

ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針(三省指針)に従う。

### C. 研究結果

近年の遺伝学的研究のほとんどはDNA解析を含む。Usher症候群の場合も同様である。更に、最近のGWASや次世代シーケンサーによる解析では膨大なデータを正当な方法で解析する必要がある。また、見つかった変異をUsher症候群の原因と推定、確定するための論理は容易ではない。それには、単なる膨大なデータの情報解析だけではなく、遺伝統計学、分子進化学などの高度な理論の理解と応用が必要である。それらについて研究班の研究者に様々な情報提供や注意を行い、十分な成果が得られた。

### D. 考察

いずれの遺伝的要因を取り扱う研究であっても、遺伝統計学的知識や技術を十分に持つ研究者の助言などが必要である。

## E. 結論

Usher症候群の研究についても、他の遺伝疾患と同様に、ゲノム変異と表現型を結びつけるための数学的論理が必要である。

## F. 健康危険情報

特になし

(分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入)

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Gieger C, Radhakrishnan A, Cvejic A, Tang W, Porcu E, Pistis G, Kamatani N, Soranzo N. New gene functions in megakaryopoiesis and platelet formation. *Nature*. 2011 Nov 30;480(7376):201-8.
- 2) Hirota T, Saeki H, Tomita K, Tanaka S, Ebe K, Sakashita M, Yamada T, Fujieda S, Miyatake A, Doi S, Enomoto T, Hizawa N, Sakamoto T, Masuko H, Sasaki T, Ebihara T, Amagai M, Esaki H, Takeuchi S, Furue M, Noguchi E, Kamatani N, Nakamura Y, Kubo M, Tamari M. Variants of C-C Motif Chemokine 22 (CCL22) Are Associated with Susceptibility to Atopic Dermatitis: Case-Control Studies. *PLoS One*. 2011;6(11):e26987.
- 3) Kumasaka N, Fujisawa H, Hosono N, Okada Y, Takahashi A, Nakamura Y, Kubo M, Kamatani N. PlatinumCNV: A Bayesian Gaussian mixture model for genotyping copy number polymorphisms using SNP array signal intensity data. *Genet Epidemiol*. 2011 Dec;35(8):831-44.
- 4) Ochi H, Hayes CN, Abe H, Hayashida Y, Uchiyama T, Kamatani N, Nakamura Y, Chayama K. Toward the Establishment of a Prediction System for the Personalized Treatment of Chronic Hepatitis C. *J Infect Dis*. 2011 Nov 28. [Epub ahead of print]
- 5) Umeno J, Asano K, Matsushita T, Matsumoto T, Kiyohara Y, Iida M, Nakamura Y, Kamatani N, Kubo M. Meta-analysis of published studies identified eight additional common susceptibility loci for Crohn's disease and ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2011 Dec;17(12):2407-15.
- 6) Takahashi Y, Kou I, Takahashi A, Johnson TA, Kono K, Kawakami N, Uno K, Ito M, Minami S, Yanagida H, Taneichi H, Tsuji T, Suzuki T, Sudo H, Kotani T, Watanabe K, Chiba K, Hosono N, Kamatani N, Tsunoda T, Toyama Y, Kubo M, Matsumoto M, Ikegawa S. A genome-wide association study identifies common variants near LBOX1 associated with adolescent idiopathic scoliosis. *Nat Genet*. 2011 Oct 23.
- 7) Mbarek H, Ochi H, Urabe Y, Kumar V, Kubo M, Hosono N, Takahashi A,

- Kamatani Y, Miki D, Abe H, Tsunoda T, Kamatani N, Chayama K, Nakamura Y, Matsuda K. A genome-wide association study of chronic hepatitis B identified novel risk locus in a Japanese population. *Hum Mol Genet.* 2011 Oct 1;20(19):3884-92.
- 8)Yosifova A, Mushi roda T, Kubo M, Takahashi A, Kamatani Y, Kamatani N, Stoianov D, Vazharova R, Karachanak S, Zaharieva I, Dimova I, Hadjidekova S, Milanova V, Madjirova N, Gerdjikov I, Tolev T, Poryazova N, O'Donovan MC, Owen MJ, Kirov G, Toncheva D, Nakamura Y. Genome-wide association study on bipolar disorder in the Bulgarian population. *Genes Brain Behav.* 2011 Oct;10(7):789-97.
- 9)Srinivasan Y, Sasa M, Honda J, Takahashi A, Uno S, Kamatani N, Kubo M, Nakamura Y, Zembutsu H. Genome-wide association study of epirubicin-induced leukopenia in Japanese patients. *Pharmacogenet Genomics.* 2011 Sep;21(9):552-8.
- 10)Iida A, Takahashi A, Kubo M, Saito S, Hosono N, Ohnishi Y, Kiyotani K, Mushiroda T, Nakajima M, Ozaki K, Tanaka T, Tsunoda T, Oshima S, Sano M, Kamei T, Tokuda T, Aoki M, Hasegawa K, Mizoguchi K, Morita M, Takahashi Y, Katsuno M, Atsuta N, Watanabe H, Tanaka F, Kaji R, Nakano I, Kamatani N, Tsuji S, Sobue G, Nakamura Y, Ikegawa S. A functional variant in ZNF512B is associated with susceptibility to amyotrophic lateral sclerosis in Japanese. *Hum Mol Genet.* 2011 Sep 15;20(18):3684-92.
- 11)Kim YJ, Go MJ, Hu C, Hong CB, Kim YK, Lee JY, Hwang JY, Oh JH, Kim DJ, Kim NH, Kim S, Hong EJ, Kim JH, Min H, Kim Y, Zhang R, Jia W, Okada Y, Takahashi A, Kubo M, Tanaka T, Kamatani N, Matsuda K; MAGIC consortium, Park T, Oh B, Kimm K, Kang D, Shin C, Cho NH, Kim HL, Han BG, Lee JY, Cho YS. Large-scale genome-wide association studies in East Asians identify new genetic loci influencing metabolic traits. *Nat Genet.* 2011 Sep 11;43(10):990-5.
- 12)Arakawa S, Takahashi A, Ashikawa K, Hosono N, Aoi T, Yasuda M, Oshima Y, Yoshida S, Enaida H, Tsuchihashi T, Mori K, Honda S, Negi A, Arakawa A, Kadonosono K, Kiyohara Y, Kamatani N, Nakamura Y, Ishibashi T, Kubo M. Genome-wide association study identifies two susceptibility loci for exudative age-related macular degeneration in the Japanese population. *Nat Genet.* 2011 Sep 11;43(10):1001-4.
- 13)Nakabayashi K, Tajima A, Yamamoto K, Takahashi A, Hata K, Takashima Y,

- Koyanagi M, Nakaoka H, Akamizu T, Ishikawa N, Kubota S, Maeda S, Tsunoda T, Kubo M, Kamatani N, Nakamura Y, Sasazuki T, Shirasawa S. Identification of independent risk loci for Graves' disease within the MHC in the Japanese population. *J Hum Genet.* 2011 Sep 8.
- 14) Abe H, Hayes CN, Ochi H, Tsuge M, Miki D, Hiraga N, Imamura M, Takahashi S, Kubo M, Nakamura Y, Kamatani N, Chayama K. Inverse association of IL28B genotype and liver mRNA expression of genes promoting or suppressing antiviral state. *J Med Virol.* 2011 Sep;83(9):1597-607.
- 15) Okada Y, Yamazaki K, Umeno J, Takahashi A, Kumasaka N, Ashikawa K, Aoi T, Takazoe M, Matsui T, Hirano A, Matsumoto T, Kamatani N, Nakamura Y, Yamamoto K, Kubo M. HLA-Cw\*1202-B\*5201-DRB1\*1502 haplotype increases risk for ulcerative colitis but reduces risk for Crohn's disease. *Gastroenterology.* 2011 Sep;141(3):864-871.
- 16) Maekawa K, Hamaguchi T, Saito Y, Tatewaki N, Kurose K, Kaniwa N, Nakajima TE, Kato K, Yamada Y, Shimada Y, Yoshida T, Kamatani N, Ura T, Saito M, Muro K, Fuse N, Yoshino T, Doi T, Otsu A, Saijo N, Sawada JI, Okuda H, Matsumura Y. Genetic variation and haplotype structures of the glutathione S-transferase genes, GSTA1 and GSTA2, in Japanese colorectal cancer patients. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2011 Aug 16.
- 17) Chantarangsu S, Mushiroda T, Mahasirimongkol S, Kiertiburanakul S, Sungkanuparph S, Manosuthi W, Tantisiriwat W, Charoenyingwattana A, Sura T, Takahashi A, Kubo M, Kamatani N, Chantratita W, Nakamura Y. Genome-wide association study identifies variations in 6p21.3 associated with nevirapine-induced rash. *Clin Infect Dis.* 2011 Aug;53(4):341-8.
- 18) Hirota T, Takahashi A, Kubo M, Tsunoda T, Tomita K, Doi S, Fujita K, Miyatake A, Enomoto T, Miyagawa T, Adachi M, Tanaka H, Niimi A, Matsumoto H, Ito I, Masuko H, Sakamoto T, Hizawa N, Taniguchi M, Lima JJ, Irvin CG, Peters SP, Himes BE, Litonjua AA, Tantisira KG, Weiss ST, Kamatani N, Nakamura Y, Tamari M. Genome-wide association study identifies three new susceptibility loci for adult asthma in the Japanese population. *Nat Genet.* 2011 Jul 31;43(9):893-6.
- 19) Nyberg F, Barratt BJ, Mushiroda T, Takahashi A, Jawaid A, Hada S, Umemura T, Fukuoka M, Nakata K, Ohe Y, Kato H, Kudoh S, March R, Nakamura Y, Kamatani

- N. Interstitial lung disease in gefitinib-treated Japanese patients with non-small-cell lung cancer: genome-wide analysis of genetic data. *Pharmacogenomics*. 2011 Jul;12(7):965-75.
- 20) Miki D, Ochi H, Hayes CN, Abe H, Yoshima T, Aikata H, Ikeda K, Kumada H, Toyota J, Morizono T, Tsunoda T, Kubo M, Nakamura Y, Kamatani N, Chayama K. Variation in the DEPDC5 locus is associated with progression to hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C virus carriers. *Nat Genet*. 2011 Jul 3;43(8):797-800.
- 21) Chayama K, Hayes CN, Abe H, Miki D, Ochi H, Karino Y, Toyota J, Nakamura Y, Kamatani N, Sezaki H, Kobayashi M, Akuta N, Suzuki F, Kumada H. IL28B but not ITPA polymorphism is predictive of response to pegylated interferon, ribavirin, and telaprevir triple therapy in patients with genotype 1 hepatitis C. *J Infect Dis*. 2011 Jul 1;204(1):84-93.
- 22) Kamatani N, Fujimori S, Hada T, Hosoya T, Kohri K, Nakamura T, Ueda T, Yamamoto T, Yamanaka H, Matsuzawa Y. Multicenter, open-label study of long-term administration of febuxostat (TMX-67) in Japanese patients with hyperuricemia including gout. *J Clin Rheumatol*. 2011 Jun;17(4 Suppl 2):S50-6.
- 23) Kamatani N, Fujimori S, Hada T, Hosoya T, Kohri K, Nakamura T, Ueda T, Yamamoto T, Yamanaka H, Matsuzawa Y. An allopurinol-controlled, randomized, double-blind, parallel between-group, comparative study of febuxostat (TMX-67), a non-purine-selective inhibitor of xanthine oxidase, in patients with hyperuricemia including those with gout in Japan: phase 3 clinical study. *J Clin Rheumatol*. 2011 Jun;17(4 Suppl 2):S13-8.
- 24) Nalls MA, Couper DJ, Tanaka T, van Rooij FJ, Chen MH, Smith AV, Toniolo D, Zakai NA, Yang Q, Greinacher A, Wood AR, Garcia M, Gasparini P, Liu Y, Lumley T, Folsom AR, Reiner AP, Gieger C, Lagou V, Felix JF, Völzke H, Gouskova NA, Biffi A, Döring A, Völker U, Chong S, Wiggins KL, Rendon A, Dehghan A, Moore M, Taylor K, Wilson JG, Lettre G, Hofman A, Bis JC, Pirastu N, Fox CS, Meisinger C, Sambrook J, Arepalli S, Nauck M, Prokisch H, Stephens J, Glazer NL, Cupples LA, Okada Y, Takahashi A, Kamatani Y, Matsuda K, Tsunoda T, Tanaka T, Kubo M, Nakamura Y, Yamamoto K, Kamatani N, Stumvoll M, Tönjes A, Prokopenko I, Illig T, Patel KV, Garner SF, Kuhnel B, Mangino M, Oostra BA, Thein SL,

- Coresh J, Wichmann HE, Menzel S, Lin J, Pistis G, Uitterlinden AG, Spector TD, Teumer A, Eiriksdottir G, Gudnason V, Bandinelli S, Frayling TM, Chakravarti A, van Duijn CM, Melzer D, Ouwehand WH, Levy D, Boerwinkle E, Singleton AB, Hernandez DG, Longo DL, Soranzo N, Witteman JC, Psaty BM, Ferrucci L, Harris TB, O'Donnell CJ, Ganesh SK. Multiple loci are associated with white blood cell phenotypes. *PLoS Genet.* 2011 Jun;7(6):e1002113.
- 25) Okada Y, Hirota T, Kamatani Y, Takahashi A, Ohmiya H, Kumasaka N, Higasa K, Yamaguchi-Kabata Y, Hosono N, Nalls MA, Chen MH, van Rooij FJ, Smith AV, Tanaka T, Couper DJ, Zakai NA, Ferrucci L, Longo DL, Hernandez DG, Witteman JC, Harris TB, O'Donnell CJ, Ganesh SK, Matsuda K, Tsunoda T, Tanaka T, Kubo M, Nakamura Y, Tamari M, Yamamoto K, Kamatani N. Identification of nine novel loci associated with white blood cell subtypes in a Japanese population. *PLoS Genet.* 2011 Jun;7(6):e1002067.
- 26) Azakami T, Hayes CN, Sezaki H, Kobayashi M, Akuta N, Suzuki F, Kumada H, Abe H, Miki D, Tsuge M, Imamura M, Kawakami Y, Takahashi S, Ochi H, Nakamura Y, Kamatani N, Chayama K. Common genetic polymorphism of ITPA gene affects ribavirin-induced anemia and effect of peg-interferon plus ribavirin therapy. *J Med Virol.* 2011 Jun;83(6):1048-57.
- 27) Hashimoto Y, Ochi H, Abe H, Hayashida Y, Tsuge M, Mitsui F, Hiraga N, Imamura M, Takahashi S, Nelson Hayes C, Ohishi W, Kubo M, Tsunoda T, Kamatani N, Nakamura Y, Chayama K. Prediction of response to peginterferon -alfa-2b plus ribavirin therapy in Japanese patients infected with hepatitis C virus genotype 1b. *J Med Virol.* 2011 Jun;83(6):981-8.
- 28) Kumar V, Matsuo K, Takahashi A, Hosono N, Tsunoda T, Kamatani N, Kong SY, Nakagawa H, Cui R, Tanikawa C, Seto M, Morishima Y, Kubo M, Nakamura Y, Matsuda K. Common variants on 14q32 and 13q12 are associated with DLBCL susceptibility. *J Hum Genet.* 2011 Jun;56(6):436-9.
- 29) Cui R, Okada Y, Jang SG, Ku JL, Park JG, Kamatani Y, Hosono N, Tsunoda T, Kumar V, Tanikawa C, Kamatani N, Yamada R, Kubo M, Nakamura Y, Matsuda K. Common variant in 6q26-q27 is associated with distal colon cancer in an Asian population. *Gut.* 2011 Jun;60(6):799-805.
- 30) Hiraga N, Abe H, Imamura M, Tsuge M, Takahashi S, Hayes CN, Ochi H, Tateno C, Yoshizato K, Nakamura Y, Kamatani

- N, Chayama K. Impact of viral amino acid substitutions and host interleukin-28b polymorphism on replication and susceptibility to interferon of hepatitis C virus. *Hepatology*. 2011 May 26.
- 31) Misawa K, Kamatani N. ParaHaplo 3.0: A program package for imputation and a haplotype -based whole -genome association study using hybrid parallel computing. *Source Code Biol Med*. 2011 May 24;6(1):10.
- 32) Kou I, Takahashi A, Urano T, Fukui N, Ito H, Ozaki K, Tanaka T, Hosoi T, Shiraki M, Inoue S, Nakamura Y, Kamatani N, Kubo M, Mori S, Ikegawa S. Common variants in a novel gene, FONG on chromosome 2q33.1 confer risk of osteoporosis in Japanese. *PLoS One*. 2011 May 6;6(5):e19641.
- 33) Kumar V, Kato N, Urabe Y, Takahashi A, Muroyama R, Hosono N, Otsuka M, Tateishi R, Omata M, Nakagawa H, Koike K, Kamatani N, Kubo M, Nakamura Y, Matsuda K. Genome-wide association study identifies a susceptibility locus for HCV-induced hepatocellular carcinoma. *Nat Genet*. 2011 May;43(5):455-8.
- 34) Cha PC, Takahashi A, Hosono N, Low SK, Kamatani N, Kubo M, Nakamura Y. A genome-wide association study identifies three loci associated with susceptibility to uterine fibroids. *Nat Genet*. 2011 May;43(5):447-50.
- 35) Dai J, Kim OH, Cho TJ, Miyake N, Song HR, Karasugi T, Sakazume S, Ikema M, Matsui Y, Nagai T, Matsumoto N, Ohashi H, Kamatani N, Nishimura G, Furuichi T, Takahashi A, Ikegawa S. A founder mutation of CANT1 common in Korean and Japanese Desbuquois dysplasia. *J Hum Genet*. 2011 May;56(5):398-400.
- 36) Kumar V, Kato N, Urabe Y, Takahashi A, Muroyama R, Hosono N, Otsuka M, Tateishi R, Omata M, Nakagawa H, Koike K, Kamatani N, Kubo M, Nakamura Y, Matsuda K. Genome-wide association study identifies a susceptibility locus for HCV-induced hepatocellular carcinoma. *Nat Genet*. 2011 May;43(5):455-8.
- 37) Cha PC, Takahashi A, Hosono N, Low SK, Kamatani N, Kubo M, Nakamura Y. A genome-wide association study identifies three loci associated with susceptibility to uterine fibroids. *Nat Genet*. 2011 May;43(5):447-50.
- 38) Iida A, Takahashi A, Deng M, Zhang Y, Wang J, Atsuta N, Tanaka F, Kamei T, Sano M, Oshima S, Tokuda T, Morita M, Akimoto C, Nakajima M, Kubo M, Kamatani N, Nakano I, Sobue G, Nakamura Y, Fan D, Ikegawa S. Replication analysis of SNPs on 9p21.2 and 19p13.3 with amyotrophic lateral

sclerosis in East Asians. Neurobiol  
Aging. 2011 Apr;32(4):757.e13-4.

2. 学会発表

なし

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

**H. 知的財産権の出願・登録状況**

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし



V. 研究成果の刊行に関する一覧表

別紙 4

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nakanishi H, Ohtsubo M, Iwasaki S, Hotta Y, Usami S, Mizuta K, Minoshima S.	Novel USH2A mutations in Japanese Usher syndrome type 2 patients: marked differences in the mutation spectrum between the Japanese and	J Hum Genet	56	484-490	2011
吉村豪兼、岩崎聡、中西啓、西尾信哉、岩佐陽一郎、工穰、宇佐美真一	Usher症候群の全国アンケート調査結果の検討	Otol Jpn	22	40-46	2012
工 穰	特集：知っておきたい耳鼻咽喉科領域における症候群 眼症状を伴うもの	MB ENT	138	7-15	2012

## V. 研究成果の刊行物・別刷

ORIGINAL ARTICLE

# Novel *USH2A* mutations in Japanese Usher syndrome type 2 patients: marked differences in the mutation spectrum between the Japanese and other populations

Hiroshi Nakanishi<sup>1,2</sup>, Masafumi Ohtsubo<sup>2</sup>, Satoshi Iwasaki<sup>3</sup>, Yoshihiro Hotta<sup>4</sup>, Shin-ichi Usami<sup>5</sup>, Kunihiro Mizuta<sup>1</sup>, Hiroyuki Mineta<sup>1</sup> and Shinsei Minoshima<sup>2</sup>

Usher syndrome (USH) is an autosomal recessive disorder characterized by retinitis pigmentosa and hearing loss. USH type 2 (USH2) is the most common type of USH and is frequently caused by mutations in *USH2A*. In a recent mutation screening of *USH2A* in Japanese USH2 patients, we identified 11 novel mutations in 10 patients and found the possible frequent mutation c.8559-2A>G in 4 of 10 patients. To obtain a more precise mutation spectrum, we analyzed further nine Japanese patients in this study. We identified nine mutations, of which eight were novel. This result indicates that the mutation spectrum for *USH2A* among Japanese patients largely differs from Caucasian, Jewish and Palestinian patients. Meanwhile, we did not find the c.8559-2A>G in this study. Haplotype analysis of the c.8559-2G (mutated) alleles using 23 single nucleotide polymorphisms surrounding the mutation revealed an identical haplotype pattern of at least 635 kb in length, strongly suggesting that the mutation originated from a common ancestor. The fact that all patients carrying c.8559-2A>G came from western Japan suggests that the mutation is mainly distributed in that area; indeed, most of the patients involved in this study came from eastern Japan, which contributed to the absence of c.8559-2A>G.

*Journal of Human Genetics* (2011) 56, 484–490; doi:10.1038/jhg.2011.45; published online 19 May 2011

**Keywords:** haplotype; hearing loss; retinitis pigmentosa; Usher syndrome; *USH2A*

## INTRODUCTION

Usher syndrome (USH) is an autosomal recessive disorder characterized by retinitis pigmentosa (RP) and hearing loss (HL), with or without vestibular dysfunction.<sup>1</sup> It is the most common cause of combined deafness and blindness in industrialized countries, with a general prevalence of 3.5–6.2 per 100 000 live births.<sup>2–7</sup> The syndrome is clinically and genetically heterogeneous and can be classified into three clinical subtypes on the basis of the severity and progression of HL and the presence or absence of vestibular dysfunction.<sup>8–10</sup>

USH type 2 (USH2) is characterized by congenital mild-to-severe HL and a normal vestibular response; it is the most common type and accounts for >50% of USH cases.<sup>6</sup> Three causative genes have been identified: Usher syndrome 2A (*USH2A*), G-protein coupled receptor 98 (*GPR98*) and deafness, autosomal recessive 31 (*DFNB31*).<sup>11–14</sup> *USH2A*, which encodes usherin, accounts for 74–90% of USH2 cases.<sup>15–17</sup> Usherin is a large protein comprising many functional domains (Figure 1a).<sup>11,12</sup>

Mutation analysis of *USH2A* for the full-length coding region (exons 1–73) in Caucasian patients has revealed the frequent mutation

p.Glu767fs (c.2299delG) in exon 13.<sup>18–21</sup> We recently analyzed *USH2A* in Japanese USH2 patients, in which the p.Glu767fs mutation was not identified, and identified 11 novel mutations in 10 patients, indicating that the mutation spectrum of *USH2A* in Japanese patients is considerably different from Caucasians.<sup>22</sup> As 8 of 10 patients had mutations in *USH2A*, the incidence of mutations in the Japanese was similar to that of Caucasians; furthermore, we found the c.8559-2A>G splicing mutation in 4 of 10 patients. We suggested that c.8559-2A>G was a possible frequent *USH2A* mutation among Japanese USH2 patients. In this study, we further performed mutation analysis of *USH2A* in nine USH2 patients to examine if our previous findings were representative of the Japanese population and to obtain a more precise mutation spectrum.

## MATERIALS AND METHODS

### Subjects and diagnosis

Nine unrelated Japanese patients were referred to Hamamatsu University School of Medicine for genetic diagnosis of USH. All these patients were not related to the previously reported patients<sup>22</sup> and met the following criteria for

<sup>1</sup>Department of Otolaryngology, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu, Japan; <sup>2</sup>Department of Photomedical Genomics, Basic Medical Photonics Laboratory, Medical Photonics Research Center, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu, Japan; <sup>3</sup>Department of Hearing Implant Sciences, Shinshu University School of Medicine, Matsumoto, Japan; <sup>4</sup>Department of Ophthalmology, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu, Japan and <sup>5</sup>Department of Otorhinolaryngology, Shinshu University School of Medicine, Matsumoto, Japan  
 Correspondence: Dr S Minoshima, Department of Photomedical Genomics, Basic Medical Photonics Laboratory, Medical Photonics Research Center, Hamamatsu University School of Medicine, 1-20-1 Handayama, Higashi-ku, Hamamatsu 431-3192, Japan.  
 E-mail: mino@hama-med.ac.jp

Received 1 February 2011; revised 30 March 2011; accepted 1 April 2011; published online 19 May 2011