

Figure 1. Pedigrees, mutations, and audiograms of the patients with homozygous *CDH23* mutations.
doi:10.1371/journal.pone.0040366.g001

Results

The first screening using 304 Japanese probands compatible with autosomal recessive inheritance identified 26 candidates for

disease causing mutations. These include four previously reported pathologic mutations: p.P240L, p.R301Q, p.Q1716P, and p.R2029W, as well as 6 possible pathologic variants in the coding region of *CDH23*. All of the mutations were missense mutations.

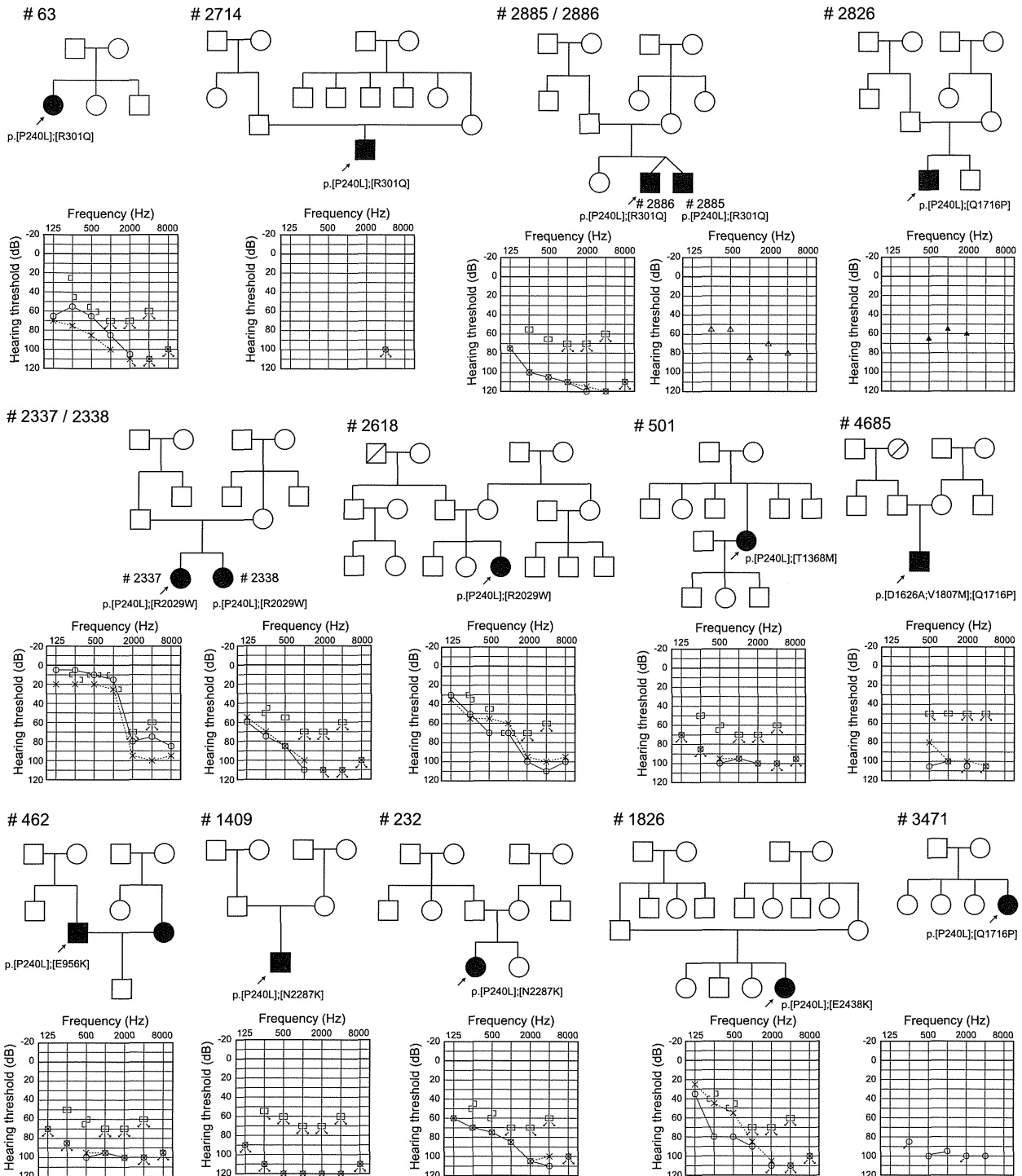


Figure 2. Pedigrees, mutations, and audiograms of the patients with compound heterozygous *CDH23* mutations.
doi:10.1371/journal.pone.0040366.g002

The following second screening based on TaqMan assay followed by Sanger sequencing confirmed 10 “possibly pathologic” mutations (Table 1) and 17 variants with uncertain pathogenicity (Table 2) in a large cohort of the patients. “Possible pathologic” mutations were defined as 1) mutations found to be homozygotes

or compound heterozygotes (and determined by segregation study), 2) variants which were not found or were very few in 192 control subjects, 3) amino acids that were well-conserved among various species, 4) compatible with next generation sequencing database, and 5) compatible with the predicted effect

Table 3. Details of phenotype and genotype of 11 patients in 10 families with homozygous *CDH23* mutation.

Sample No	relationship	Amino acid Change	Hereditary form	Threshold* (Rt)(dB)	Threshold* (Lt)(dB)	severity	Residual hearing in the lower frequencies** (dB)	Hearing in the higher frequencies*** (dB)	Age	Age of awareness	Progressiveness	Hearing aid/cochlear implant	Vertigo	Tinnitus
#2113		p.[P240L]; [P240L]	sporadic	91.3	90	severe	44.2	104.2	12	6	+	HA	–	–
#2235		p.[P240L]; [P240L]	AR	97.5	96.3	profound	85.0	104.2	22	0	–	HA	–	–
#2308		p.[P240L]; [P240L]	AR	88.8	95	severe	67.5	110.0	11	0****	–	HA	–	–
#2309	sibling of #2308	p.[P240L]; [P240L]	AR	92.5	86.3	severe	50.0	105.0	9	0****	–	HA	–	–
#2959		p.[P240L]; [P240L]	sporadic	81.3	85	severe	75.8	96.7	8	0****	–	HA	–	–
#4266		p.[P240L]; [P240L]	sporadic	96.3	96.3	severe	70.0	91.3	3	0****	+	CI	–	–
#4580		p.[P240L]; [P240L]	sporadic	102.5	97.5	profound	88.3	106.7	1	0****	–	CI	–	N/A
#4874		p.[P240L]; [P240L]	sporadic	102.5	102.5	profound	80.8	106.7	38	2	+	HA	–	–
#2806		p.[R2029W]; [R2029W]	sporadic	92.5	80	severe	56.7	104.2	53	48	+	HA	–	+
#3255		p.[R2029W]; [R2029W]	AR	96.3	85	severe	59.2	104.2	71	60	+	HA	–	+
#289		p.[V1417W]; [V1417W]	sporadic	31.3	26.3	mild	10.0	85.0	34	14	+	HA	–	–

*average of 500, 1000, 2000 and 4000 Hz.

**average of 125, 250, and 500 Hz.

***average of 2000, 4000, and 8000 Hz.

****found by newborn hearing screening.

doi:10.1371/journal.pone.0040366.t003

Table 4. Details of phenotype and genotype of 15 patients in 13 families with compound heterozygous *CDH23* mutation.

Sample No	relationship	Amino acid Change	Hereditary form	Threshold* (Rt)(dB)	Threshold* (Lt)(dB)	severity	Residual hearing in the lower frequencies** (dB)	Hearing in the higher frequencies*** (dB)	Age	Age of awareness	Progressiveness	Hearing aid/cochlear implant	Vertigo	Tinnitus
#63		p.[P240L]; [R301Q]	sporadic	85	98.8	severe	69.2	105.8	27	0	–	HA	–	+
#2714		p.[P240L]; [R301Q]	sporadic	97.5	97.5	profound	71.7	105.0	2	0****	+	HA	–	–
#2885		p.[P240L]; [R301Q]	AR	90	108.7	profound	55.0	75.0	13	3	+	CI	–	–
#2886	sibling of #2885	p.[P240L]; [R301Q]	AR	115	110	profound	93.3	115.8	13	2	+	CI	–	–
#2337		p.[P240L]; [R2029W]	AR	30	41.3	mild	13.3	88.3	13	11	+	HA	–	+
#2338	sibling of #2337	p.[P240L]; [R2029W]	AR	103.8	98.8	profound	71.7	106.7	8	2	+	HA	–	–
#2618		p.[P240L]; [R2029W]	sporadic	77.5	67.5	moderate	49.2	100.0	8	3	+	CI	–	–
#2826		p.[P240L]; [Q1716P]	sporadic	91.3	95	profound	66.7	112.5	6	0	+	HA	–	–
#3471		p.[P240L]; [Q1716P]	sporadic	97.5	97.5	profound	92.5	100.0	4	0	–	CI	–	–
#462		p.[P240L]; [E956K]	sporadic	97.5	97.3	profound	84.2	98.3	38	10	–	HA	–	–
#501		p.[P240L]; [T1368M]	sporadic	>90	>90	profound	N/A	N/A	68	44	+	HA	+	+
#1409		p.[P240L]; [N2287K]	sporadic	120	120	profound	107.5	123.3	17	0	+	HA	–	–
#232		p.[P240L]; [N2287K]	sporadic	87.5	86.3	severe	67.5	104.2	15	0	–	HA	–	+
#1826		p.[P240L]; [E2438K]	sporadic	91.3	106.3	severe	70.8	105.8	11	3	+	HA	–	–
#4685		p.[D1626A; V1807M]; [Q1716P]	sporadic	97.5	103.8	severe	96.3	105.0	1	0*	–	CI	–	N/A

*average of 500, 1000, 2000 and 4000 Hz.
 **average of 125, 250, and 500 Hz.
 ***average of 2000, 4000, and 8000 Hz.
 ****found by newborn hearing screening.
 doi:10.1371/journal.pone.0040366.t004

Table 5. Details of phenotype and genotype of 29 patients with heterozygous *CDH23* mutation.

Sample No	relationship	Amino acid Change	Hereditary form	Threshold* (Rt)(dB)	Threshold* (Lt)(dB)	severity	Residual hearing in the lower frequencies** (dB)	Hearing in the higher frequencies*** (dB)	Age	Age of awareness	Progressiveness	Hearing aid/cochlear implant	Vertigo	Tinnitus
#334		p.[P240L];[-]	AD	96.25	83.75	severe	63.3	96.7	23	0	+	HA	N/A	+
#340		p.[P240L];[-]	sporadic	>90	>90	profound	N/A	N/A	54	14	+	HA	N/A	N/A
#569		p.[P240L];[-]	sporadic	86.25	90	severe	75.0	98.3	26	3	+	HA	-	-
#653		p.[P240L];[-]	sporadic	53.75	57.5	moderate	44.2	71.7	36	33	+	HA	-	+
#754		p.[P240L];[-]	sporadic	110	101.25	profound	87.5	104.2	57	0	+	HA	N/A	N/A
#1039		p.[P240L];[-]	sporadic	48.75	56.25	moderate	33.3	74.2	76	76	-	HA	+	-
#1598		p.[P240L];[-]	sporadic	56.25	10	unilateral	34.2	41.7	60	49	-	-	+	+
#1807		p.[P240L];[-]	sporadic	110	8.75	unilateral	50.8	60.0	50	9	-	-	-	-
#1846		p.[P240L];[-]	AD	100	96.25	profound	83.3	98.3	62	6	+	HA	+	+
#2159		p.[P240L];[-]	AR	67.5	66.25	moderate	60.0	69.2	10	65	+	HA	-	-
#2374		p.[P240L];[-]	AR	86.25	90	severe	78.3	78.3	5	0	-	HA	-	-
#2835		p.[P240L];[-]	sporadic	85	91.25	severe	65.8	101.7	12	3	+	HA	+	-
#3492		p.[P240L];[-]	AD	103.75	103.75	profound	88.8	107.5	1	0	-	HA	-	-
#3499		p.[P240L];[-]	AD	96.25	110	severe	84.2	105.8	57	50	-	CI	-	+
#3761		p.[P240L];[-]	AR	32.5	40	mild	43.3	75.8	71	0	-	-	-	+
#4040		p.[P240L];[-]	AR	S/O	S/O	profound	S/O	S/O	2	0	+	HA	-	-
#4159		p.[P240L];[-]	AR	97.5	71.25	severe	71.7	95.0	38	38	+	HA	+	+
#4313		p.[P240L];[-]	AD/Mit	130	102.5	profound	107.5	116.7	6	0	-	CI	-	-
#4615		p.[P240L];[-]	sporadic	90	90	profound	90.0	90.0	0	0****	-	CI	-	-
#265		p.[E956K];[-]	sporadic	110	6.25	unilateral	57.5	59.2	16	0	-	-	-	-
#3116		p.[E956K];[-]	AD	47.5	53.75	moderate	58.3	40.8	63	N/A	+	HA	-	+
#280		p.[R1417W];[-]	sporadic	110	6.25	unilateral	50.0	55.8	8	3	-	-	N/A	N/A
#2649		p.[R1417W];[-]	sporadic	95	110	profound	87.5	105.0	11	0	+	CI	-	N/A
#1131		p.[R2029W];[-]	sporadic	73.75	72.5	severe	55.0	93.3	24	17	+	HA	-	-
#1539		p.[R2029W];[-]	AD	53.75	110	moderate	70.0	83.3	71	60	+	HA	-	+
#1618		p.[R2029W];[-]	sporadic	26.25	61.25	mild	31.7	60.8	67	N/A	-	-	-	+
#1919		p.[R2029W];[-]	AD	38.75	36.25	mild	20.8	75.0	25	3	+	-	N/A	N/A
#2271		p.[R2029W];[-]	AD	58.75	62.5	moderate	41.7	50.0	6	N/A	N/A	HA	N/A	N/A
#4138		p.[R2029W];[-]	AR	71.25	53.75	moderate	50.8	65.8	10	3	+	HA	+	-

*average of 500, 1000, 2000 and 4000 Hz.

**average of 125, 250, and 500 Hz.

***average of 2000, 4000, and 8000 Hz.

****found by newborn hearing screening.

doi:10.1371/journal.pone.0040366.t005

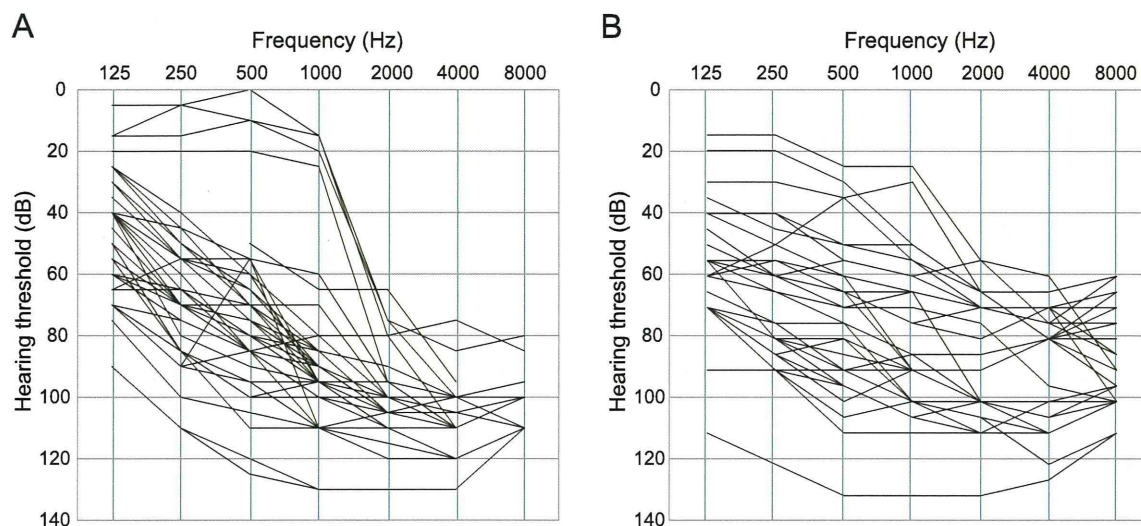


Figure 3. Overlapping audiograms of the patients with *CDH23* mutations. A: patients with hearing loss caused by the *CDH23* mutations (homozygous or compound heterozygous cases), B: patients potentially caused by the *CDH23* mutations (heterozygous cases). doi:10.1371/journal.pone.0040366.g003

of missense mutations on *CDH23* protein function. Results of the compatibility of the next generation sequence database, the SIFT and PolyPhen2 score for prediction are shown in Tables 1 and 2.

The 17 variants found as heterozygous and therefore with uncertain pathogenicity did not fulfill all the above criteria. For example, p.A1443G was uncertain because DNA samples from family members were not available and we could not confirm its pathogenicity by segregation study. p.R1588W was found to be homozygous in 4 patients and heterozygous in 16 patients, but only 1 was found in 384 control alleles. However, a member of the patient's family (#2841) showed normal hearing instead of being homozygous. Also p.V803I, p.V1807M and p.I2669V are obscure from the functional prediction analysis.

In one family (#4685), three mutation were found in proband and two of them were found in same allele p.[D16126A;V1807M] confirmed by segregation analysis.

As p.V1807M predicted to have no effect on *CDH23* structure, p.D1626A might be a pathogenic mutation.

For 10 possible pathologic mutations, amino acids were well-conserved among various species, including *Homo sapiens*, *P. troglodytes*, *B. traurus*, *M. musculus*, *R. norvegicus*, *G. gallus*, and *D. rerio*. Many mutations (5 out of 10 possible pathologic mutations, 2 out of 17 uncertain variants) were found in DRE, DXNDN, and DXD motif (Table 1 and 2). Ten possible pathologic mutations were found to be either homozygotes ($n = 11$, Table 3, Fig. 1) or compound heterozygotes ($n = 15$) (Table 4, Fig. 2). Twenty-nine patients were found to be heterozygous without a second mutation (Table 5).

Tables 3 and 4 summarize 23 families with hearing loss caused by the *CDH23* mutations (homozygous or compound heterozygous cases) and Table 5 summarizes 29 families with hearing loss potentially caused by the *CDH23* mutations (heterozygous cases). The frequency was 1.6% (23/1396) or 2.1% (29/1396) of the overall hearing loss population. When restricted to patients compatible with recessive inheritance, the frequency was increased to 2.5% (23/919) or 3.2% (29/919). Table 3, 4 and 5 also summarize clinical characteristics including hereditary form, hearing threshold, severity, residual hearing in the lower frequencies, hearing in the higher frequencies, onset age (age of

awareness), progressiveness of hearing loss, use of hearing aid/cochlear implantation, visual impairment, and vestibular symptoms. The ages of these patients were from 1 to 71 years. Age of onset (awareness of hearing loss) ranged from congenital to 60 years old, though the majority was congenital or early onset. There were some correlations between genotype and phenotype (onset age). The patients associated with p.P240L showed congenital and severe hearing loss regardless of whether associated with one more mutation, whereas the patients with p.R2029W or p.T1368M showed late-onset moderate hearing loss (Tables 3 and 4). Concerning type of hearing loss, the majority of the patients had some residual hearing in the lower frequencies, and overlapping audiograms showed characteristic high frequency involved hearing loss (Fig. 3). The majority of the patients showed progressive nature of hearing loss evaluated by serial audiogram (Fig. 4). No patients had associated visual impairment or vestibular symptoms (Tables 3, 4 and 5). Seven patients received cochlear implantation due to the insufficient amplification of hearing aids (Tables 3, 4 and 5).

Discussion

Mutations in the *CDH23* gene are known to be responsible for both Usher syndrome type ID (USH1D) as well as non-syndromic hearing loss (DFNB12), and molecular confirmation of *CDH23* mutations is clinically important for diagnosis of these conditions. However, clinical application of the detection of *CDH23* mutations has lagged because of the size of the gene. Especially for DFNB12, which is not associated with visual impairment, screening is comparatively difficult, and therefore, little is known about frequencies among the hearing loss population as well as clinical characteristics.

In this study, we have applied two-step screening and identified a significant number of novel pathologic mutations of *CDH23* responsible for non-syndromic hearing loss in a large cohort of patients. All of the possible pathologic mutations identified in this study (Table 1) were missense mutations, being consistent with previous reports that DFNB12 patients associated with missense mutations have milder hearing impairment than in USH1D, which is associated with nonsense, splice-site, or frameshift

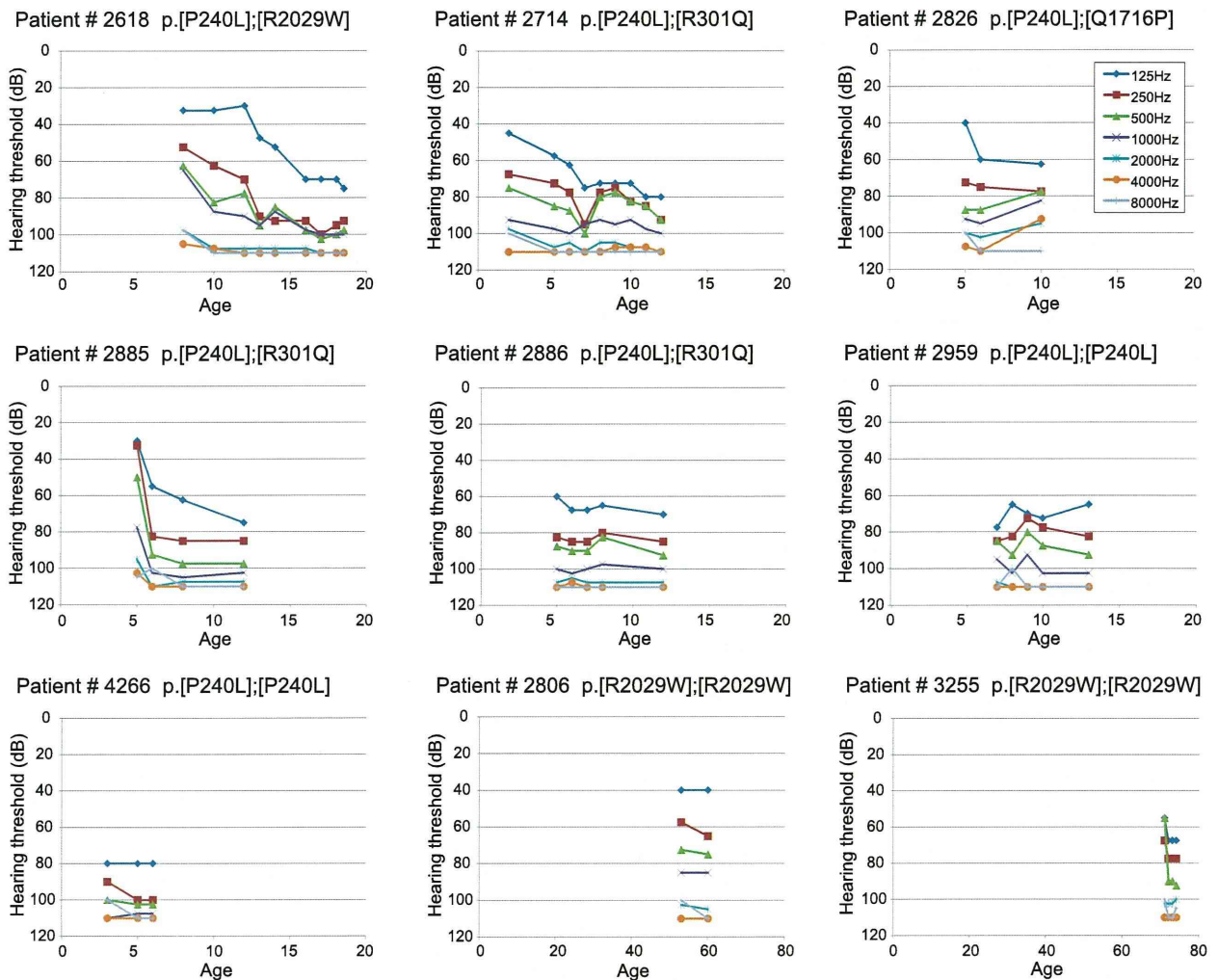


Figure 4. Hearing progression of the patients with *CDH23* mutations. Note that the high frequency portion was already worsened, and the low frequency portion was deteriorated by ages. doi:10.1371/journal.pone.0040366.g004

mutations [2,5–7]. None had visual impairment, also supporting this rule. That the majority was found in the EC domain with only one exception found in the cytoplasmic domain, was also in line with the previous reports on DFNB12 [2,5–7]. Of these 26 mutations, five out of 10 possible pathologic mutations were found in DRE, DXNDN, and DXD motifs, which are thought to be important for calcium binding property. These highly conserved EC calcium binding motifs are thought to be essential for linearization, rigidification, and dimerization of the cadherin molecules [9,10]. And the results of computer analysis to predict the impact of amino acid change, all of 10 possible pathologic mutations predicted to cause a severe damage for protein function of *CDH23*.

As a result, 26 patients (from 23 families) had two mutations (in a homozygous or compound heterozygous state), and met criteria for recessive inheritance. A hallmark of recessive mutations is the detection of two mutations in the paternal and maternal alleles and the parents having normal hearing. As seen in previous mutation screening reports, including those for *CDH23* [6,7] as well as *GJB2* and *SLC26A4* [11,12], we encountered a significant number of

heterozygous cases without a second mutation even after direct sequencing of the coding region of the gene. Possible explanations are: 1) the existence of a second mutation in the intron or regulatory region of *CDH23*, which has not been explored, 2) the observed mutations are rare polymorphisms, 3) the screening method fails to detect the second mutation, and 4) an additional modulatory gene may contribute to hearing loss (for example, *PCDH15*). Although we have not reached the final conclusion, it is most likely that these heterozygous cases are also related to *CDH23* mutations because: 1) allele frequencies are found to be higher in the hearing loss group (Table 2), and 2) the phenotype is similar to that of the patients with two mutations. As shown in Fig. 3, overlapping audiograms of the patients with only one mutation was similar to that with the patients with two mutations (high frequency involved sensorineural hearing loss with residual hearing at the lower frequencies).

Based on the frequencies of 3.7% (including heterozygous cases) of the hearing loss population and 5.7% (including heterozygous cases) of the recessive inherited cases in this study, we confirmed that mutations of *CDH23* are an important cause for non-

syndromic hearing loss and should be borne in mind next to *GJB2* or *SLC26A4* screening. This study revealed that p.P240L account for nearly 43.3%(45/104) of all *CDH23* mutated families in Japan. Common mutations, such as c.35delG or c.235delC in *GJB2* or p.H723R in the *SLC26A4* gene, have been reported in many recessive deafness genes, and usually they are population-specific [12–14]. It is an interesting question whether p.P240L is frequent because of a founder effect or mutational hot spot, but the existence of such a common mutation makes mutation screening easier. Additional frequent mutations found in this study together with TaqMan procedures will facilitate genetic testing for deafness patients.

Concerning mutation spectrum, as in our previous report [6], the *CDH23* mutation spectrum in Japanese is very different from that found in Caucasians and may be representative of those in Eastern Asian populations. Its elucidation is expected to facilitate the molecular diagnosis of DFNB12 and USH1D. It has also been known that prevalent *GJB2* mutations are highly ethnic-specific (see The connexin-deafness homepage; <http://davinci.crg.es/deafness/>): c.35delG is common in the Caucasoid population, c.167delT was reported as prevalent in Ashkenazi Jews, p.R143W in a restricted village in Africa, and c.235delC in East Asian populations. A series of studies proved a founder effect for these frequent mutations [11,15].

In the present study, using a large cohort of patients, clinical characteristics (onset age, progression, audiograms) of patients with *CDH23* mutations were clarified.

Concerning genotype/phenotype correlations, hearing of the patients with p.[P240L];[P240L] is worse than in those with the other mutations, and tends to be congenital and severe. In contrast, the patients with p.[R2029W];[R2029W] showed a milder phenotype of middle age onset. Overlapping audiograms showed typical high frequency involved sensorineural hearing loss with residual hearing at the lower frequencies.

Concerning age of onset (awareness of hearing loss), the majority was congenital or early onset. But rather later-onset was seen in three patients (#2806, 3255, 501), and they were associated with some particular mutations (p.R2029W and p.T1368M). Their phenotype was rather mild and gradually progressive. It is interesting to note that their phenotype was similar to presbycusis. Actually, *CDH23* mutations have been reported as responsible for age-related hearing loss in mice [16,17].

Progressive nature of hearing loss and the presence of residual hearing are particular phenotypic features of the patients with *CDH23* mutations. Our previous genetic analysis for the patients with high frequency involved hearing loss successfully identified *CDH23* mutations [18]. Seven patients received cochlear implantation and showed good performance after implantation. For the patients with residual hearing, newly developed cochlear implantation; EAS (Electric Acoustic Stimulation) is a good therapeutic option and therefore much attention should be paid to the etiology when considering individual intervention, i.e., regular cochlear implantation or EAS. Genetic testing will be very important prognostic information together with various hearing tests.

In conclusion, a large cohort study using Taqman amplification-based mutation analysis indicated that mutations of the *CDH23* gene are important causes of non-syndromic hearing loss. A mutation screening strategy using TaqMan assay based on the ethnic-specific frequent mutations is a powerful and effective method for such a large gene. Clinical characteristics of patients with *CDH23* mutations is that hearing loss is progressive, high frequency involved sensorineural hearing loss with residual hearing in the lower frequencies. Most cases are congenital but

care is needed because some patients show presbycusis-like hearing loss. Cochlear implantation (including EAS) is a good therapeutic intervention for the patients with *CDH23* mutations.

Materials and Methods

To identify additional pathologic *CDH23* mutations, two-step screening was applied in this study. Subjects from independent families were collected from 33 ENT departments nationwide in Japan. All subjects gave prior informed consent for participation in the project, which was approved by the ethical committee of each hospital. Genomic DNA was isolated from peripheral blood by DNeasy Blood and Tissue Kit (QIAGEN, Düsseldorf, Germany) according to the manufacturer's procedure.

First screening (Direct sequencing)

First, we sequenced the *CDH23* gene in 304 Japanese non-syndromic sensorineural hearing loss probands (including our previously reported 64 samples [6]) compatible with autosomal recessive inheritance or sporadic cases. None of the subjects had any other associated neurological signs, vestibular or visual dysfunction. Sanger sequencing was applied to these samples to find mutations responsible for deafness. Detailed procedures were described in our previous report [6]. 26 candidates for disease causing mutations were collected according to the following criteria; 1) non-synonymous variants, and 2) allele carrier rates were less than 2% in control subjects.

Second screening (TaqMan genotyping assay based screening and Direct sequencing)

For the second screening, probes of these 26 mutations selected in the first screening was applied for a custom TaqMan® SNP Genotyping Assays (Applied Biosystems, Foster City, CA) [19]. 1396 probands of sensorineural hearing loss patients including 304 probands used in the first screening were used for the second assay. Of them, 1347 had bilateral sensorineural hearing loss and 49 had unilateral sensorineural hearing loss. The inheritance composition of the subjects was as follows: 298 subjects from autosomal dominant or maternally inherited families (two or more generations affected); 919 subjects from autosomal recessive families (parents with normal hearing and two or more affected siblings) or subjects with sporadic deafness (compatible with recessive inheritance or non-genetic hearing loss); the rest had unknown inheritance mode. After TaqMan assay, Sanger sequencing was performed: 1) to confirm these mutations found in TaqMan genotyping assays, 2) to confirm whether mutations were homozygotes or heterozygote, and 3) in cases found in heterozygous state, direct sequencing of the coding region of the *CDH23* was performed.

Controls

The control group consisted of 192 unrelated Japanese individuals without any noticeable hearing loss evaluated by auditory testing.

Next generation sequencing and computer analysis

To elucidate the allele frequency of 26 mutations, comparison was made between allele frequency found in 216 deafness patients and 72 controls based on a next generation sequencing database that is currently being established at Shinshu University (unpublished). In brief, exome sequencing was performed with SureSelect target DNA enrichment (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) and Illumina GAIx sequencing (Illumina, San Diego, CA) according to the manufacturers' procedures. In the SureSelect

library, 76 already reported genes responsible for sensorineural hearing loss and syndromic hearing loss were contained. After base calling, sequence results were aligned with a bowtie program [20] and allele frequencies of each *CDH23* mutation in patients and the control population were calculated. Computer analysis to predict the effect of missense variants on *CDH23* protein function was performed with Sorting Intolerant from Tolerant (SIFT; <http://sift.jcvi.org/>), and Polymorphism Phenotyping (PolyPhen2; <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>) [21,22].

References

- Bolz H, von Brederlow B, Ramirez A, Bryda EC, Kutsche K, et al. (2001) Mutation of *CDH23*, encoding a new member of the cadherin gene family, causes Usher syndrome type 1D. *Nat Genet* 27: 108–112.
- Bork JM, Peters LM, Riazuddin S, Bernstein SL, Ahmed ZM, et al. (2001) Usher syndrome 1D and nonsyndromic autosomal recessive deafness DFNB12 are caused by allelic mutations of the novel cadherin-like gene *CDH23*. *Am J Hum Genet* 68: 26–37.
- Rowlands TM, Symonds JM, Farookhi R, Blaschuk OW (2000) Cadherins: crucial regulators of structure and function in reproductive tissues. *Rev Reprod* 5: 53–61.
- Muller U (2008) Cadherins and mechanotransduction by hair cells. *Curr Opin Cell Biol* 20: 557–566.
- Astuto LM, Bork JM, Weston MD, Askew JW, Fields RR, et al. (2002) *CDH23* mutation and phenotype heterogeneity: a profile of 107 diverse families with Usher syndrome and nonsyndromic deafness. *Am J Hum Genet* 71: 262–275.
- Wagatsuma M, Kitoh R, Suzuki H, Fukuoka H, Takumi Y, et al. (2007) Distribution and frequencies of *CDH23* mutations in Japanese patients with nonsyndromic hearing loss. *Clin Genet* 72: 339–344.
- Oshima A, Jaijo T, Aller E, Millan JM, Carney C, et al. (2008) Mutation profile of the *CDH23* gene in 56 probands with Usher syndrome type I. *Hum Mutat* 29: E37–46.
- McHugh RK, Friedman RA (2006) Genetics of hearing loss: Allelism and modifier genes produce a phenotypic continuum. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 288: 370–381.
- Nagar B, Overduin M, Ikura M, Rini JM (1996) Structural basis of calcium-induced E-cadherin rigidification and dimerization. *Nature* 380: 360–364.
- Angst BD, Marcozzi C, Magee AI (2001) The cadherin superfamily: diversity in form and function. *J Cell Sci* 114: 629–641.
- Tsukada K, Nishio S, Usami S (2010) A large cohort study of *GJB2* mutations in Japanese hearing loss patients. *Clin Genet* 78: 464–470.
- Tsukamoto K, Suzuki H, Harada D, Namba A, Abe S, et al. (2003) Distribution and frequencies of PDS (*SLC26A4*) mutations in Pendred syndrome and nonsyndromic hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct: a unique spectrum of mutations in Japanese. *Eur J Hum Genet* 11: 916–922.
- Park HJ, Shaikat S, Liu XZ, Hahn SH, Naz S, et al. (2003) Origins and frequencies of *SLC26A4* (PDS) mutations in east and south Asians: global implications for the epidemiology of deafness. *J Med Genet* 40: 242–248.
- Usami S, Wagatsuma M, Fukuoka H, Suzuki H, Tsukada K, et al. (2008) The responsible genes in Japanese deafness patients and clinical application using Invader assay. *Acta Otolaryngol* 128: 446–454.
- Van Laer L, Coucke P, Mueller RF, Caethoven G, Flothmann K, et al. (2001) A common founder for the 35delG *GJB2* gene mutation in connexin 26 hearing impairment. *J Med Genet* 38: 515–518.
- Johnson KR, Erway LC, Cook SA, Willott JF, Zheng QY (1997) A major gene affecting age-related hearing loss in C57BL/6J mice. *Hear Res* 114: 83–92.
- Zheng QY, Yan D, Ouyang XM, Du LL, Yu H, et al. (2005) Digenic inheritance of deafness caused by mutations in genes encoding cadherin 23 and protocadherin 15 in mice and humans. *Hum Mol Genet* 14: 103–111.
- Usami S, Miyagawa M, Suzuki N, Moteki H, Nishio S, et al. (2010) Genetic background of candidates for EAS (Electric-Acoustic Stimulation). *Audiological Medicine* 8: 28–32.
- de Kok JB, Wiegerinck ET, Giesendorf BA, Swinkels DW (2002) Rapid genotyping of single nucleotide polymorphisms using novel minor groove binding DNA oligonucleotides (MGB probes). *Hum Mutat* 19: 554–559.
- Langmead B, Trapnell C, Pop M, Salzberg SL (2009) Ultrafast and memory-efficient alignment of short DNA sequences to the human genome. *Genome Biol* 10: R25.
- Kumar P, Henikoff S, Ng PC (2009) Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm. *Nat Protoc* 4: 1073–1081.
- Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, Ramensky VE, Gerasimova A, et al. (2010) A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat Methods* 7: 248–249.

Acknowledgments

We thank Dr. William J Kimberling for helpful comments. We would also like to thank A. C. Apple-Matthews for help in preparing the manuscript.

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: SU. Performed the experiments: MM SN. Analyzed the data: MM SN. Wrote the paper: MM SU.

2. 内耳疾患(感音難聴)

6) Usher 症候群

[信州大学附属病院人工聴覚器学講座] 岩崎 聡

[信州大学医学部耳鼻咽喉科] 吉村豪兼

新生児・幼小児期に難聴と診断され、その後視覚障害を合併するとコミュニケーション手段の習得に大きな影響を及ぼす。その代表的な疾患が Usher 症候群であり、感音難聴に網膜色素変性症 (retinitis pigmentosa : RP) を伴い、von Graefe (1858 年) によって報告¹⁾された。遺伝性であること (常染色体劣性遺伝) が Charles Usher (1914 年) によって報告²⁾され、Usher 症候群との名称が付けられた。また、Smith ら (1994 年) によって症状と症状のみられる時期によって 3 つのタイプに分類された³⁾。それ以外に、感音難聴に虹彩色素異常を伴う Waardenburg 症候群、進行性感音難聴と腎障害および水晶体異常などを伴う Alport 症候群、進行性感音難聴に偽網膜膠腫や精神発達遅滞を伴う Norrie 病などが難聴に眼科異常を合併する症候群としてあげられる。視聴覚障害を伴う場合は、聴覚障害のみとは異なる介入方法が必要となるため、疾患の早期診断が重要となる。本項では Usher 症候群の症例を呈示し、具体的な検査の進め方を紹介する。

病態生理

A 臨床症状

1 頻度

Usher 症候群の頻度は海外では国により多少の差はあるが、人口 10 万人当たり 3.0～6.2 人と報告されている⁴⁾。わが国における Usher 症候群の頻度はタイプ 1 の小児 (19 歳以下) を対象にした大鳥ら (1978 年) の報告⁵⁾では 10 万人当たり 0.6 人と極端に少ない結果であったが、岩崎ら (2006 年) の RP 患者を対象とした自覚症状に基づいたアンケート調査⁶⁾では 10 万人当たり 6.7 人であり、諸外国と類似した頻度が報告されている。しかし、わが国においてははまだ Usher 症候群の頻度を含めた実態はわかっていない。

2 タイプ分類(表 1)

Usher 症候群タイプ 1 は新生児・幼小児期より高度～重度難聴を呈し、前庭機能障害を伴う例が多く、視覚症状は思春期前から生じる。タイプ 2 も新生児・幼小児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が、前庭機能障害は伴わない例が多い。タイプ 3 は進行性の難聴を伴うのが特徴である。したがって、タイプ 1 は新生児・幼小児期に高度～重度難聴が診断されても Usher 症候群との鑑別は困難である。Usher 症候群は一般的に先に難聴が発症し、その後夜盲や視野狭窄などの視覚症状がみられる⁶⁾。これまでの海外の報告では、タイプ 1 が 25～39.3%、タイプ 2 が 12.2～75%、タイプ 3 は 0～20% の頻度であり、国によりばらつきがみられたが、わが国における調査結果⁷⁾ (タイプ 1 は 25.4%、タイプ 2 は 45.8%、タイプ 3 は

表 1 Usher 症候群のタイプ分類(Usher 症候群に関する調査研究班 2010 年)

タイプ 1	幼少期より高度難聴を呈す。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	若年期より高音障害型の難聴を呈する。視覚症状は思春期以降に生じる。めまいを伴わない例が多い。
タイプ 3	難聴、視覚症状とも思春期以降に生じ、難聴は徐々に進行。

表 2 Usher 症候群タイプ別の原因遺伝子と頻度

タイプ	原因遺伝子	タイプ別頻度
タイプ 1	<i>MYO7A</i>	33 ~ 50 %
	<i>USH1C</i>	まれ
	<i>CDH23</i>	10 ~ 35 %
	<i>PCDH15</i>	11 %
	<i>USH1G</i>	まれ
タイプ 2	<i>USH2A</i>	85% 以上
	<i>GPR98</i>	まれ
	<i>DFNB31</i>	まれ
タイプ 3	<i>CLRN1</i>	—

28.8%)は諸外国と大きく相違ない頻度であった。

B 内耳の病態

1 原因遺伝子(表 2)

Usher 症候群はいずれのタイプにおいても常染色体劣性遺伝形式をとり、原因遺伝子としては現在までに 9 つが同定されている⁸⁾。それぞれの遺伝子とタイプ別の頻度を表 2 に示す。表に示した遺伝子以外にも *USH2A* の修飾遺伝子として *PDZD7* が報告されている。わが国の Usher 症候群患者においても *MYO7A*, *CDH23*, *USH2A* の変異報告があり、今後さらに遺伝子検査が進むことが期待される。Usher 症候群は新生児・幼小児期における表現型は非症候群性難聴であり、遺伝子検査は早期診断に非常に有用である。また、上記の遺伝子は Usher 症候群だけではなく、非症候群性難聴の原因遺伝子(*MYO7A*, *USH1C*, *CDH23*, *PCDH15*, *DFNB31*)や非症候群性網膜色素変性症の原因遺伝子(*USH2A*)であることも注目すべき点である。変異と表現型の関連性(genotype-phenotype correlation)がある遺伝子(*CDH23*)や明らかでないもの(*MYO7A*)もある。

2 遺伝子変異からみた内耳病態

Usher 症候群の原因遺伝子はいずれも内耳の stereocilia, および tip-link や ankle-link などの hair bundle におもに発現し、変異により hair bundle の形態異常がみられる⁸⁾。有毛細胞の変性を引き起こし、内耳性難聴となる。タイプ 1, タイプ 2 はそれぞれ複数の遺伝子が原因であるが、表現型は同じであり、遺伝的異質性(genetic heterogeneity)をもつ。しかし、原因遺伝子はそれぞれ異なるクラスやファミリーからなる蛋白をコードしており、内耳や網膜においてそれぞれの蛋白がネットワークを形成していることが予想され、詳細が明らかとなってきた。

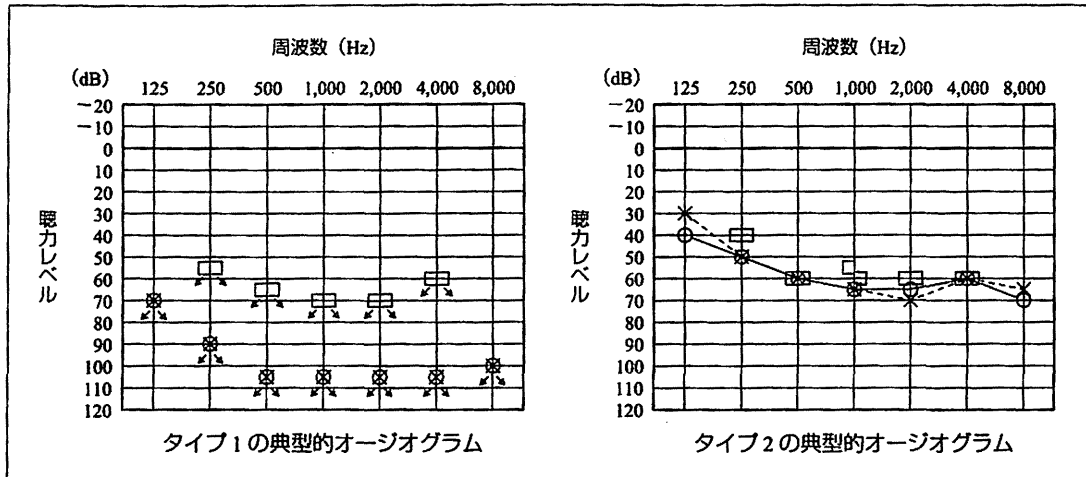


図1 Usher 症候群タイプ1, 2のオーディオグラム

検査法とその組み合わせ

聴覚障害に対する検査(図1)：タイプ1, 2の聴力図

Usher 症候群タイプ1は先天性もしくは幼少時にすでに高度難聴を認めるため、新生児聴覚スクリーニングで要再検査(refer)と判定される場合もある。難聴が最初の段階で認められる症状のため、ABR 検査で両耳の高度閾値上昇を確認する必要がある。また内耳性難聴であるので OAE (耳音響放射)の反応も認められない。補聴器による補聴効果が望めないことが多く、10 歳前後から RP による視覚障害を生じてくるため、補聴器による効果がみられない場合は、早期の人工内耳とさらに両耳装用を考慮すべきと考える。タイプ2は軽度～中等度難聴の場合もあり、難聴の発見が遅れることがあるので注意を要する。

平衡機能に対する検査

Usher 症候群のタイプ1は前庭機能障害を伴い、タイプ2は伴わない。タイプ3は前庭機能障害を伴う場合と伴わない場合がある。前庭機能障害の評価法は一般的にはカロリックテストが行われている。カロリックテストは、日本めまい平衡医学会の指針によれば冷水刺激の最大緩徐相速度で評価することが望ましいとしている。RP の患者でめまい・ふらつきを感じている方は割合多いようで、40.5% に認められたとの報告がある⁷⁾。しかし、岩崎らの調査⁹⁾では、めまいの自覚の有無と前庭機能障害とは必ずしも一致しないことが指摘されている。また、RP による視覚障害が進むと弱視眼振がみられるため、カロリックテストによる評価が困難となり、新生児・幼児に施行することも困難なため、臨床的にタイプ1を早期に診断するためにはいろいろと問題がある。幼小児に実施できる前庭機能評価法には回転椅子検査があるが、まだ Usher 症候群における定まった指針は出ておらず、今後の課題と思われる。

眼科の検査

RP はまず暗いと物が見えにくい夜盲を認め、その後視野狭窄を伴ってくる。しかし、中心視

力は保たれているので視力検査では異常を認めない。RPの診断は眼底検査と視野検査になるが、初期の段階ではその判定が困難となる。早期にRPを診断するためにはERG(electroretinogram: 網膜電図)検査が有用である。しかし、幼小児には鎮静下で実施する必要がある、また、RPは難聴よりも遅れて発症するため、臨床的にUsher症候群を新生児・幼児期に診断することは困難である¹⁰⁾。

症例呈示

A 患者プロフィールと検査

年齢・性別	5歳, 男児
検査法	ABR, ASSR, OAE, COR, 遺伝子検査, ERG
検査のコツ	OAEは新生児聴覚スクリーニングでpassした症例もあり, ほかの検査と組み合わせて聴覚評価を行うことが重要である。 夜盲, Usher症候群原因遺伝子変異が認められた場合は眼科を受診。

B 検査所見

1 聴覚検査

患者は新生児聴覚スクリーニングの自動聴性脳幹反応(automated auditory brainstem response: AABR)で要再検査と指摘されたため、生後1か月で精密聴力検査指定施設を受診。ABR検査は90 dBで両側無反応。ASSR(auditory steady-state response: 聴性定常反応)、COR(conditioned orientation response audiometry: 条件詮索反応聴力検査)とも両側110 dB以上。DPOAE(distortion product otoacoustic emission: 歪成分耳音響放射)は両側無反応。両側先天性高度感音難聴と診断された。そのほか全身的に特記すべき事項は認められなかったため、非症候群性難聴として生後3か月から補聴器装用を開始した。1歳8か月に人工内耳埋め込み術を受けた。

タイプ1、タイプ2ともに新生児・幼小児期より難聴を呈するため、AABRにより新生児聴覚スクリーニングでは要再検査となる。またタイプ1は高度感音難聴、タイプ2は「高音障害型」の感音難聴であるため、ABRではそれぞれ高度～重度、中等度～高度難聴となる。OAEについては新生児聴覚スクリーニングとして検査された場合にpassした症例もあり、その評価はCORやASSRも組みあわせて評価することが望まれる。

2 平衡機能検査

患者は歩行開始年齢が遅かった(24か月齢)が、平衡機能検査は実施していなかった。いずれのタイプにおいても、新生児・幼小児期においては表現型として「感音難聴のみ」であり、Usher症候群を疑うのは困難である。タイプ1では両側前庭機能障害を伴うが、疑う契機としては独歩開始年齢(約20か月齢)の遅延がある。

しかし、感音難聴に前庭機能障害を伴う疾患としてはほかにPendred症候群や内耳奇形などもありUsher症候群に限られたものではないことに注意が必要である。また先述したように、新生児・幼小児期に施行できる平衡機能検査は回転椅子検査など限られた検査であり、どの施設でも可能ではないと思われる。

3 網膜電図(ERG)

5歳時に遺伝子検査を実施した結果、Usher 症候群タイプ1原因遺伝子である *MYO7A* 遺伝子変異が確認されたため、眼科を受診。視覚症状はなく、眼底検査で明らかな RP の所見は指摘されなかったが、ERG 検査にて RP と診断された。

詳細は専門書に譲るが、夜盲などの症状が出現する前(2～3歳)においても RP の診断が可能とされる。検査は鎮静下で行う必要があるため、施行には遺伝子検査などの難聴以外の検査結果が必要と思われる。



鑑別診断のポイント

繰り返しになるが、Usher 症候群はいずれのタイプにおいても新生児・幼小児期においては非症候群性難聴としての対応となる。平衡機能検査や網膜電図は施行困難である場合が多く、早期診断のためには遺伝子検査が必須であると思われる。また RP に難聴を伴う症候群には、頻度は少ないが Refsum 症候群(魚鱗癬、多発神経障害と運動失調)、Alstrom 症候群(真性糖尿病と肥満)、Cockayne 症候群(矮小発育症、精神発達遅滞、小頭症、光線過敏による皮膚炎、歩行障害と独特な顔の特徴)などがある。いずれも進行性の難聴を伴うため、軽度難聴から高度難聴まで様々である。

見逃しやすいポイント

Usher 症候群の特にタイプ1は新生児・幼小児期に難聴のみを認め、視覚障害による自覚症状は10歳前後からみられるため、新生児・幼小児期に診断することは臨床的には大変困難となる。そのため、早期診断のためには遺伝子診断が有用となる。また、先天性または乳幼児期から難聴を認めた小児においても、平衡機能障害や夜盲を疑う症状がみられたら Usher 症候群も考慮することが重要である。RP の早期診断には ERG が有用である。

タイプ2は軽度～中等度難聴であった場合、眼科で RP のみのフォローを受けている場合があり、積極的に聴覚検査を実施していくことが重要である。

文献

- 1) Von Graefe A : Von Graefes Arch Ophthalmol 1858 ; 4 : 250-253
- 2) Usher CH : R Lond Ophthal Hosp Rep 1914 ; 19 : 130-256
- 3) Smith RJH, Berlin CI, et al. : Am J Med Genet 1994 ; 50 : 32-38
- 4) 岩崎 聡, 橋本泰幸ほか : Otol Jpn 2006 ; 16 : 37-41
- 5) 大島利文, 法基 隆ほか : 臨床眼科 1978 ; 32 : 423-430
- 6) 橋本泰幸, 岩崎 聡ほか : Audiology Japan 2005 ; 48 : 214-219
- 7) 吉村豪兼, 岩崎 聡ほか : Otology Japan 2012 ; 22 : 40-46
- 8) Yan D, Liu XZ : J Hum Genet 2010 ; 55 : 327-335
- 9) 岩崎 聡, 名倉三津佳ほか : Equilibrium Research 2005 ; 65 : 220-224
- 10) Iwasaki S, Maruyama Y, et al. : Int Ophthalmol 2006 ; 25 : 277-282

原 著

日耳鼻 115: 894-901, 2012

Usher 症候群の臨床的タイプ分類の問題点

岩崎 聡¹⁾ 吉村 豪兼²⁾
 武市 紀人³⁾ 佐藤 宏昭⁴⁾
 石川浩太郎⁵⁾ 加我 君孝⁶⁾
 熊川 孝三⁷⁾ 長井今日子⁸⁾
 古屋 信彦⁹⁾ 池園 哲郎⁹⁾
 中西 啓¹⁰⁾ 内藤 泰¹¹⁾
 福島 邦博¹²⁾ 東野 哲也¹³⁾
 君付 隆¹⁴⁾ 西尾 信哉²⁾
 工 穰¹²⁾ 宇佐美真一²⁾

¹⁾信州大学医学部附属病院
人工聴覚器学講座

²⁾信州大学耳鼻咽喉科

³⁾北海道大学耳鼻咽喉科・
頭頸部外科

⁴⁾岩手医科大学耳鼻咽喉科

⁵⁾自治医科大学耳鼻咽喉科

⁶⁾東京医療センター・
臨床研究センター

⁷⁾虎の門病院耳鼻咽喉科・
聴覚センター

⁸⁾群馬大学耳鼻咽喉科

⁹⁾埼玉医科大学耳鼻咽喉科

¹⁰⁾浜松医科大学耳鼻咽喉科

¹¹⁾神戸市立医療センター
中央市民病院耳鼻咽喉科

¹²⁾岡山大学耳鼻咽喉・頭頸部外科

¹³⁾宮崎大学耳鼻咽喉・頭頸部外科

¹⁴⁾九州大学耳鼻咽喉科

Usher 症候群のタイプ分類の診断における問題点について検討した。13施設による多施設共同研究で、6施設において平成22年11月から平成23年8月までの10カ月間で Usher 症候群と臨床診断された26症例（男性12名、女性14名）を対象とした。検査の実施率は純音聴力検査と遺伝子検査は100%（26/26例）であったが、語音聴力検査、OAE、眼振検査、眼科検査が60~70%（15~19/26例）、前庭機能検査であるカロリックテスト（50%：13/26例）と重心動揺検査（30%：8/26例）の実施率は低かった。タイプ1が10例（38.5%）、タイプ2が6例（23.1%）、タイプ3が10例（38.5%）であった。難聴の平均診断年齢は、タイプ1が1.1歳、タイプ2が25.7歳、タイプ3が44.4歳、難聴の進行を自覚している症例は13例（50%）で、うち9例（69.2%）がタイプ3であった。今回収集できたデータからタイプ分類を典型例と非典型例に分けると、診断基準が比較的是っきりしているタイプ1（70%：7/10例）、タイプ2（83.3%：5/6例）は非典型例が多かったのに対し、曖昧な表現のタイプ3（90%：9/10例）は典型例が多かった。Usher 症候群は難聴・夜盲の発症時期や難聴の進行やめまいの有無など臨床症状に多様性があるため、どの項目を重視して決めるかによって施設間でタイプ分類が異なることがあり得る。今回施設間でのタイプ分類に違いが生じたため「Usher 症候群タイプ分類のためのフローチャート」を作成し、統一したタイプ分類の実施に有用であると考えられた。

キーワード：アッシャー症候群，網膜色素変性症，感音難聴，タイプ分類

はじめに

網膜色素変性症（Retinitis Pigmentosa：RP と略す）は他の疾患を伴う場合があり、Systemic RP と呼ばれている。その中で最も頻度の高い症状が難聴である。さ

まざまな症候群があるが、頻度としては圧倒的に Usher 症候群が多くを占める。網膜色素変性症に難聴を伴うことは1858年に von Graefe によって報告¹⁾され、遺伝性であること（常染色体劣性遺伝）が1914年 Charles Usher

によって報告²⁾され、Usher 症候群との名称が付けられた。1969年 Vernon の報告³⁾では先天性難聴の13%に網膜色素変性症を伴っており、また3-6%に Usher 症候群が認められている。また、遺伝性の網膜色素変性症の29%は Usher 症候群であったとの報告⁴⁾がある。

1994年 Smith らによって、症状と症状のみられる時期によって3つのタイプが報告⁵⁾され、現在一般に使用されている分類となっている。Usher 症候群は聴覚障害と前庭機能障害によって3つのタイプに分類される。タイプ1は先天性の重度感音難聴による言語発達遅滞と前庭機能障害を伴い、網膜色素変性症は思春期前から始まる。タイプ2は非進行性の中等度から高度の感音難聴のため通常の言語発達はみられ、前庭機能は正常で、網膜色素変性症は思春期以降にみられる。タイプ3は進行性の感音難聴がみられ、前庭機能障害の有無と網膜色素変性症の発症時期には個人差がある。また、最近 Usher 症候群には各タイプ別に多くの原因遺伝子が発見され、その分類も複雑化してきた。タイプ1で5種 (*MYO7A*, *USH1C*, *CDH23*, *PCDH15*, *USH1G*)、タイプ2で3種 (*USH2A*, *GPR98*, *DFNB31*)、タイプ3で1種 (*USH3A*) の合計9種の原因遺伝子が同定されている。Usher 症候群はこのような症状の程度、出現時期などに多様性がみられるため、臨床の現場では明確なタイプ分類が困難な場合があり、施設により判断が異なる事もある。今回われわれは厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「Usher 症候群に関する調査研究」に参加している施設における Usher 症候群診断のための検査の実態と診断基準に準じて個々でタイプ分類した結果を検討し、さらにタイプ分類のためのフローチャートを作成し、比較検討した。

対象と方法

平成22年度から厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「Usher 症候群に関する調査研究」(代表者 宇佐美真一)が実施された。参加した13施設において平成22年11月から平成23年8月までの10カ月間で Usher 症候群として登録された28症例の内、一側性難聴の2症例を除いた26症例を対象とした。

次に示すような検査の実施状況を調べた。1) 一般臨床情報: 臨床症状、臨床経過、発症時期(難聴、夜盲)、進行の有無、めまいの有無、既往歴、診断の時期、補聴器の装用歴、治療方法、2) 遺伝的項目: 家系図、遺伝子検査、3) 聴覚検査: 純音聴力検査、語音聴力検査、自記オージオメトリ、耳音響放射(OAE)、4) 平衡検査: カロリックテスト、頭位・頭位変換眼振検査、重心動揺検査、5) 眼科検査: 視力検査、眼底検査、ERG(Elec-

troretinography: 網膜電図)、視野検査。

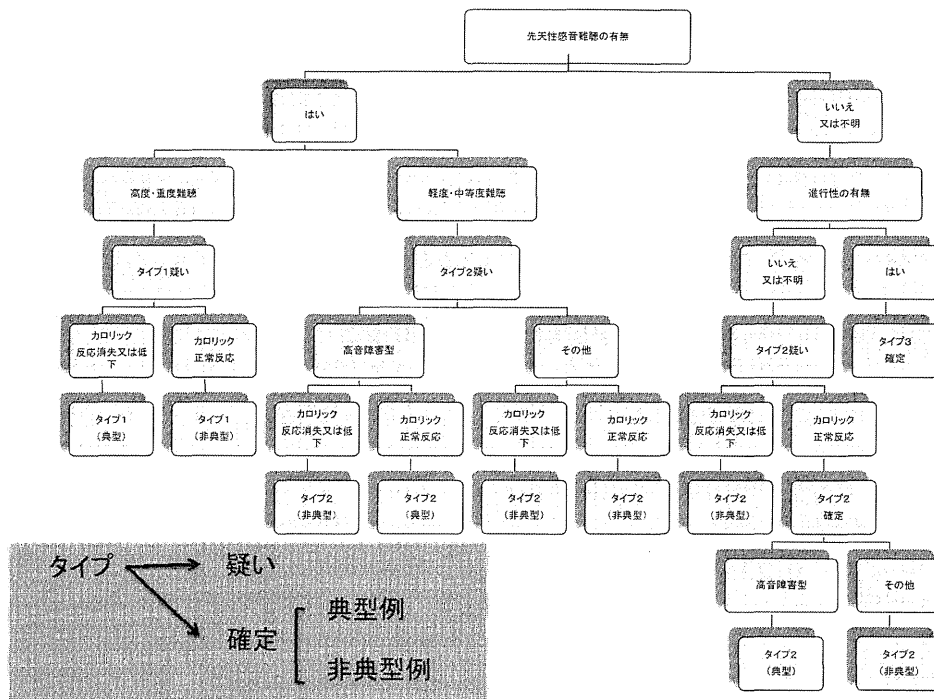
Usher 症候群の疾患定義として、「遺伝子変異が原因で、両側性感音難聴と網膜色素変性症を併発する症候群性の疾患である。」とした。また、今回疾患のタイプ分類は次のように定めた。Usher 症候群タイプ1: 幼少期より高度難聴を呈す。めまいを伴う例が多く、視覚症状は10歳前後より生じる。タイプ2: 若年期より高音障害型の難聴を呈する。視覚症状は思春期以降に生じる。めまいを伴わない例が多い。タイプ3: 難聴、視覚症状とも思春期以降に生じ、難聴は徐々に進行。また、「Usher 症候群タイプ分類のためのフローチャート」を作成し(図1)、診断基準に準じて個々でタイプ分類を判断する方法と比較検討し、その有用性を評価した。

結 果

6施設から送られて来た26症例(男性12名、女性14名)の内訳を表1に示す。年齢は21歳から81歳、平均51歳で、タイプ1が10例(38.5%)、タイプ2が6例(23.1%)、タイプ3が10例(38.5%)であった。各検査の実施率を図2に示す。純音聴力検査と遺伝子検査は26例(100%)であったが、語音聴力検査、OAE、眼振検査、眼科検査が15~19例(60~70%)であった。なお、現在遺伝子変異の有無については解析中であり、結果はまだ未定である。対象者はすべて網膜色素変性症と診断されているが、他院で診断されているなどの理由で検査データを収集できなかったため眼科検査は70%(19/26例)にとどまった。前庭機能検査であるカロリックテスト(50%: 13/26例)と重心動揺検査(30%: 8/26例)の実施率が低かった。

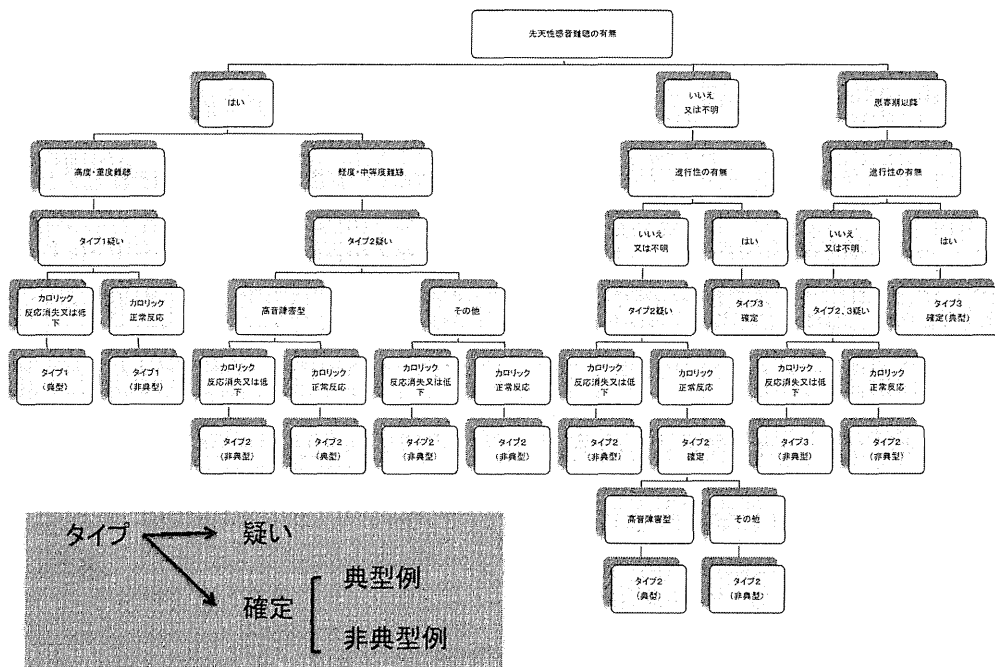
各施設で診断されたタイプ分類(表1)の中で、タイプ分類の診断基準にすべて一致する典型例と一致しない項目のある非典型例の頻度を表2に示す。タイプ分類の診断基準が比較的はっきりしているタイプ1(70%: 7/10例)、タイプ2(83.3%: 5/6例)は非典型例が多かったのに対し、曖昧な表現のタイプ3は典型例が多かった。難聴の平均診断年齢は、タイプ1: 1.1歳、タイプ2: 25.7歳、タイプ3: 44.4歳であった。難聴の進行を自覚している症例は13例(50%)で、うち9例(69.2%)がタイプ3であった。聴力はタイプ1は7例が聾、3例が高度感音難聴(高音障害型)、タイプ2は6例すべて高音漸傾型感音難聴で、タイプ3は3例が聾、5例が高音障害・漸傾型感音難聴、1例が中等度水平型感音難聴、1例が低音障害型感音難聴であった。めまいの自覚症状とカロリックテストとの関連を表3に示す。冷水刺激による反応が正常(最大緩徐相速度20°/s以上)でめまいの自覚のある症例が6例、冷水刺激によ

Usher症候群タイプ分類のためのフローチャート(案1)



A 案1

Usher症候群タイプ分類のためのフローチャート(案2)



B 案2

図1 Usher 症候群タイプ分類のためのフローチャート
各タイプを疑い例と確定例 (典型例/非典型例) に分類した。

表1 26症例の内訳

症例	施設 番号	男女	年齢	難聴の 自覚年齢	難聴の 診断年齢	難聴の 進行	めまいの 有無	夜盲	RP の 診断年齢	タイプ 分類	聴力
1	2	女	41歳	0歳	0歳	なし	あり	—	—	タイプ1	聾
2	2	女	28歳	2歳	2歳	なし	あり	—	7歳	タイプ1	高度難聴(水平)
3	2	男	30歳	2歳	3歳	なし	なし	—	16歳	タイプ1	高度難聴(高音障害)
4	2	男	56歳	なし	55歳	不明	なし	20歳	43歳	タイプ2	高音漸傾
5	2	女	71歳	59歳	59歳	あり	あり	6歳	6歳	タイプ2	高音漸傾
6	3	男	43歳	15歳	26歳	あり	あり	26歳	33歳	タイプ3	高度難聴(高音)
7	5	男	37歳	3歳	3歳	なし	あり	13歳	13歳	タイプ1	聾
8	5	女	63歳	3歳	3歳	なし	なし	20歳	40歳	タイプ1	高度難聴(高音障害)
9	5	男	52歳	15歳	15歳	あり	あり	18歳	18歳	タイプ3	聾
10	8	男	21歳	1歳	2歳	なし	なし	10歳	16歳	タイプ1	聾
11	8	女	54歳	0歳	7歳	なし	なし	0歳	7歳	タイプ1	聾
12	8	男	59歳	なし	59歳	不明	あり	30歳	40歳	タイプ3	高音障害
13	8	男	81歳	75歳	80歳	あり	なし	79歳	80歳	タイプ3	中等度(水平)
14	8	女	77歳	75歳	75歳	あり	なし	20歳	40歳	タイプ3	高音漸傾
15	10	女	37歳	なし	7歳	あり	なし	16歳	30歳	タイプ2	高音漸傾
16	12	女	52歳	0歳	0歳	なし	なし	—	43歳	タイプ1	聾
17	12	男	60歳	28歳	28歳	あり	あり	41歳	41歳	タイプ3	聾
18	12	男	55歳	16歳	16歳	あり	あり	—	32歳	タイプ3	聾
19	12	女	55歳	52歳	52歳	あり	不明	—	45歳	タイプ3	高音漸傾
20	13	女	47歳	0歳	0歳	不明	なし	5歳	5歳	タイプ1	聾
21	13	男	54歳	0歳	0歳	不明	なし	5歳	18歳	タイプ1	聾
22	13	女	58歳	40歳	20歳	あり	なし	0歳	5歳	タイプ2	高音漸傾
23	13	男	45歳	10歳	10歳	あり	なし	10歳	10歳	タイプ2	高音漸傾
24	13	女	41歳	3歳	3歳	なし	あり	10歳	38歳	タイプ2	高音漸傾
25	13	女	66歳	50歳	50歳	あり	なし	55歳	60歳	タイプ3	低音障害
26	13	女	44歳	38歳	41歳	あり	あり	42歳	42歳	タイプ3	高音漸傾

RP: 網膜色素変性症 (retina pigmentosa の略)

る反応が消失または低下しているもめまいの自覚がない症例が3例あった。タイプ1でめまいの自覚がない症例は70% (7/10例)、タイプ2でめまいの自覚がある症例は33.3% (2/6例) にみられた。

難聴の発症時期を先天性と非先天性に分けた案1 (図1-A) とさらに思春期の3つに分けた案2 (図1-B) を作成し、それぞれのフローチャートに準じて今回の対象者を分類した結果を表4に示す。各タイプの典型

例が増え、非典型例が減少した。

考 察

Usher 症候群の発生頻度は国により異なり、人口10万人に対し2.2~6.2人と報告され、タイプの頻度も各国の報告で異なっている⁶⁾。本邦における Usher 症候群の頻度は、1978年の大島らの報告⁷⁾では人口10万人に対し0.5人、2002年に日本網膜色素変性症協会の協力で患者

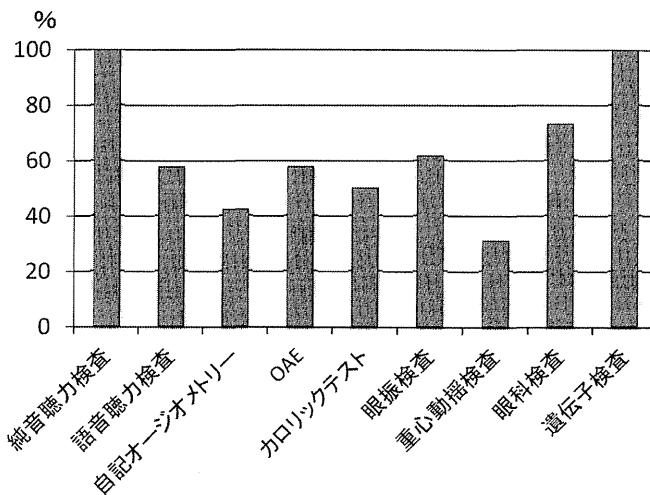


図2 検査実施率
OAE: 耳音響放射検査

表2 Usher 症候群各タイプの頻度(典型例・非典型例)
タイプ分類の診断基準に一致したものを典型例、
一致しない項目があるものを非典型例とした。

	タイプ1	タイプ2	タイプ3
典型例	3	1	9
非典型例	7	5	1

表3 カロリックテスト(冷水刺激検査)の反応と
自覚的めまいの有無
最大緩徐相速度20°/s以上を正常とし、20°/s
未満を低下とした。

	めまい(あり)	めまい(なし)
冷水刺激正常反応	6例	2例
冷水刺激反応消失 または低下	2例	3例

へのアンケート調査から推定された頻度は人口10万人に
対し6.7人と報告⁶⁾されている。しかし、本邦における
タイプ別の頻度に関する報告はない。Usher 症候群のタ
イプ2, 3を検討した橋本らの報告⁸⁾では、同じタイプ
であっても難聴やRPの発症時期にばらつきがみられ、
Usher 症候群の臨床像には多様性があり、必ずしも従来
の分類法でうまく分類できない場合があることが指摘さ
れている。今回の検討では、タイプ1が10例(38.5%)、
タイプ2が6例(23.1%)、タイプ3が10例(38.5%)
であった。高度難聴～聾の症例が12/26例(46%)を占
め、タイプ3では4/10例(40%)の症例で難聴が進行

表4 フローチャートによる26症例の各タイプ分類

A: 案1

	タイプ1	タイプ2	タイプ3
疑い例	4	4	0
典型例	4	2	10
非典型例	2	0	0

B: 案2

	タイプ1	タイプ2	タイプ3
疑い例	4	4	0
典型例	4	1	10
非典型例	2	1	0

し高度難聴～聾となっており、難聴の程度が高度の症例
が多かった。参加施設が大病院で、しかも耳鼻科医を対
象にした影響と考える。信州大学では現在眼科と連携
し、RPの患者はすべて耳鼻科で聴力検査を実施してい
る。その中には難聴の自覚がなく、聴力検査で初めて聴
力障害が指摘された症例もみられ、特に高音障害・漸傾
型の感音難聴の症例は見逃される場合があり、注意を要
する。Usher 症候群の実態調査は耳鼻科、眼科それぞれ
が行うには限界があり、両者が連携し、協力して行っ
ていく必要があり、今後の課題であると考えている。

Smithらのタイプ分類⁹⁾では、タイプ1, 2は難聴、
RPの発症時期と難聴の程度、前庭機能障害の有無が記
載されているのに対し、タイプ3はそれらに当てはまら

ない症例が分類されるような記載方法となっているため、われわれの定めた診断基準によるタイプ分類でも非典型例がタイプ1で70% (7/10例)、タイプ2で83% (5/6例)と多くを占めていた。Usher 症候群は難聴が発症した後、遅れてRPが発症するのが典型例であるが、表1の症例5や22はそれが逆転しているためタイプ分類の判定に難渋する。現在の臨床分類ではRPにたまたま難聴が合併した症例もUsher 症候群に含まれる可能性がある。症例24は難聴とRPの発症時期からはタイプ1が考えられるが、聴力は高度難聴ではなく、タイプ2の高音漸傾型であり、やはりタイプ分類に難渋する症例である。また、タイプ分類では重要な項目である前庭機能検査(カロリックテストと重心動揺検査)の実施率が低い傾向がみられた。基本的にタイプ1は前庭機能が消失し、タイプ2は正常反応となる。しかし、実際の臨床の場ではカロリックテストをすべての症例に行うことは困難であると思われ、タイプの規定の文章を前庭機能障害ではなく、あえて「めまいの自覚」とした。岩崎らのアンケート調査報告では、RPの患者でめまい・ふらつきを自覚する頻度は40.5%と高頻度であり、前庭機能障害、視覚障害、中枢性障害からもめまい・ふらつきは誘発されるため、自覚的頻度が高かったと推測している⁹⁾。今回の検討でも、カロリックテストで冷水刺激による反応が正常でもめまいの自覚のあった症例は75% (6/8例)であり、逆に冷水刺激による反応が消失または低下しているもめまいの自覚がない症例は60% (3/5例)にみられた。前庭機能障害があるタイプ1でめまいの自覚がない症例は70% (7/10例)、前庭機能障害がないタイプ2でめまいの自覚がある症例は33.3% (2/6例)にみられ、やはり前庭機能を自覚症状で評価することは困難と思われた。また、前庭機能が緩徐に低下した場合や、安静時にはめまいの自覚がないことが多く、判断に難渋する。視聴覚障害を伴うとさまざまな検査を実施するのが困難となるが、より正確にタイプ分類するためにはカロリックテストの実施率は上げる必要がある。

今回の検討により、Usher 症候群は臨床症状(視聴覚障害の発症時期、めまいの有無、聴力レベル)に多様性があるためタイプ分類に難渋する症例があり、施設によってはタイプ分類が異なることがあり得る。今後Usher 症候群の実態調査・疫学調査を進めて行くためには大きな問題となると思われる。そこで施設間によるタイプ分類の違いが生じないため「Usher 症候群タイプ分類のためのフローチャート」を作成した。検査実施率が高かった聴力検査と難聴の経過により大まかな分類を行い、さらにカロリックテストの結果で細分化する形を今回の検

討結果を参考に作成を試みた。前庭機能障害に関する記述はカロリックテストの反応の有無で判定する方法を採用した。また、カロリックテストだけでは前庭機能の一部しか評価していないが、正確なタイプ分類を行おうとすればさまざまな検査が必要となり、逆に実用的ではなくなる欠点がある。案1(図1-A)は難聴の発症時期を先天性と非先天性に分け、さらに難聴の所見でタイプ分類できるが、この段階では疑い例となる。さらにカロリックテストを実施してはじめてタイプ分類確定とし、末梢前庭所見から典型例と非典型例に分けた。案2(図1-B)は難聴の発症時期をさらに思春期以降の3つに分けたものであるが、両案で異なったのはタイプ2の1例が案1では典型例になり、案2で非典型例になるだけであった。したがって、容易な案1のフローチャートが実用的であると思われた。また今回のフローチャートを用いた分類法により、診断基準に準じて個々でタイプ分類を判断する方法に比べ典型例は1例増えただけでほとんど変化はみられなかった。非典型例の中には末梢前庭機能を評価していない症例もあり、不十分な検査で分類した症例を疑い例と分類できる利点があると思われる。RPと眼科で診断されているのが大前提である事はもちろんであるが、RPと難聴を伴う疾患はUsher 症候群以外にも存在することを忘れてはならない。欧米と比べて明らかにUsher 症候群のデータベース化が遅れているわが国ではしばらく今回のフローチャートは有用と考える。最終的にはUsher 症候群の遺伝子診断が実用化すれば正確なタイプ分類が可能となろう¹⁰⁾。今後遺伝子解析結果がまとまった時点で、臨床的タイプ分類との整合性を再評価し、報告したいと考えている。Usher 症候群の原因遺伝子変異部位も他の難聴遺伝子同様、欧米と異なることが報告¹¹⁾されているので、わが国におけるさらなるこの分野の進歩を期待する。

ま と め

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「Usher 症候群に関する調査研究」(代表者 宇佐美真一)に参加した施設におけるUsher 症候群26症例の検討を行った。臨床症状に多様性がみられ、タイプ1、2では非典型例が多くを占めた。カロリックテストを含めた前庭機能評価が課題であった。難聴の所見を中心としたUsher 症候群の統一したタイプ分類評価のためのフローチャートを作成し、タイプ分類に有効と思われた。最終的なタイプ分類の確定診断には遺伝子検査が必要と考える。