

GJB2遺伝子変異による難聴児の人工内耳術後経過と genotypeの関係に関する研究

研究分担者 山嵜達也 東京大学教授

研究要旨

人工内耳手術を受けた先天性高度難聴児のうちGJB2遺伝子に変異を認めた40名を解析した。遺伝子型はc. 235delC homozygousが14例と最も多く、c235delCの複合heterozygousが15例であった。c. 235delC以外ではG45E/Y136Xのhomozygousが2例、G45E/Y136X R143W複合heterozygous3例、G45E/Y136X T86R 複合heterozygous 2例、c299_300del R143W複合heterozygous2例、c176_191del homozygous1例であった。平衡機能検査での異常は7例に見られたが、軽微なものであり、体平衡の遅延などはなかった。遺伝子型による聴力の違いは明らかでは無く、人工内耳術後の聴性行動、発話行動の伸びにも明らかな差は無かった。

A. 研究目的

GJB2遺伝子変異は先天性難聴の原因遺伝子として一番頻度が高く、日本人の保因者は約2%であるとされる。高度先天性難聴の10人に1人はこの遺伝子変異が関与しているといわれ、Phenotype とGenotypeに関係があるとされている。本研究ではGJB2遺伝子変異を持つ先天性高度難聴児において、遺伝子型と聴覚・平衡機能検査結果を調べ、また人工内耳埋込み術後成績に関係があるか調べることを目的とした。

B. 研究方法

対象は東京大学医学部附属病院耳鼻咽喉科で2003年12月～2012年12月の間に、人工内耳手術を受けた先天性高度難聴児のうちGJB2遺伝子に変異を認めた40名で、男性19名、女性21名である。手術時の年齢は1歳6か月から9歳11か月であった。

患児および可能な場合は両親から採血を

行い、GJB2遺伝子検査を施行した。聴力は年齢に応じてCOR、遊戯聴力検査、純音聴力検査を裸耳および補聴器装用下で行い、またABR、ASSR、DPOAEも施行した。平衡機能検査は温度眼振検査、VEMP、回転検査などを施行した。聴性行動および発話行動についてはMAISおよびMUSSEで調べた。

(倫理面への配慮)

本研究では非侵襲性の検査を基本とし、通常臨床の一環として行うため、検査に関して特別な不利益は生じない。研究計画は東京大学医学部附属病院の倫理委員会の承認を得ている。遺伝子検査にあたっては特定の書式にも続き十分な説明を両親に行い、同意を得た上で施行している。

C. 研究結果

遺伝子型ではc. 235delC homozygousが14例 (14/40= 35%) と最も多く、c235delCの

複合heterozygousが15例であった。複合heterozygousはc235delCの他のアレルはG45E/Y136X3例、R143W 3例、c176_191del 3例、T86R 2例、c299_300del 2例、c379C>T 608T>C polymorphism 1例、c19C>T1例であった。1例はc235 delC heterozygousであり、病原性はないと考えられた。c. 235delC以外ではG45E/Y136Xのhomozygousが2例で、G45E/Y136X R143W複合heterozygous 3例、G45E/ Y136X T86R複合heterozygous 2例、c299_300del R143W複合heterozygous2例、c176_191del homozygous1例であった。

新生児聴覚スクリーニングは23名が受けており、17名は検査を受けていなかった。23名のうちpassしたものが4名存在していた。内耳奇形は1名のみ前庭嚢胞状拡大奇形を認めた。カロリック検査、VEMP検査、回転検査では計7名に何らかの異常が見られた。カロリックでは4名がCP、1名がDPであった。VEMPでは一側反応低下が3名、一側無反応が1名、両側無反応が1名であった。回転検査に異常の見られた症例はなかった。すべての症例で歩行開始年齢など体平衡の発達に明らかな遅延は認められなかった。平衡機能検査で異常を認めた7名中6名ではc235delC変異を認めたが、GJB2全体での平衡機能検査異常例の割合 $7/40 = 18\%$ はc235delC変異例での割合 $6/30 = 20\%$ と有意差を認めず、遺伝子型と平衡機能検査異常という表現型に明らかな相関は認めなかった。

術前聴力（四分法）はGJB2全体では裸耳で101dB、補聴器装用下で67dBであった。遺伝子型ごとに明らかな違いは認めなかつ

た。人工内耳術後のMAIS、MUSSの経過をみると、術直後の伸びはc235delC homozygousが比較的良好であり、G45E/Y136X変異を持つ症例で伸びが比較的悪い傾向にあったが、術後1年経過するとその差は明らかではなくなり、GJB2全体の平均に収束する結果であった。GJB2変異症例全体ではMAIS、MUSSともに良好に伸び、就学時の平均はそれぞれ31、33点と人工内耳の効果十分得られていた。

D. 考察

今回の対象者は人工内耳手術を受ける高度難聴症例のみであり、genotypeによってphenotypeに明らかな差は認めなかった。今回の症例は高度難聴を示したが、信州大学からの報告ではgenotypeごとで差があるとされている。

平衡機能検査では約2割に異常を認めたが、高度な平衡機能障害は見られなかった。これらの症例では自覚的な訴えは無く、代償があるため、前庭機能異常があった症例においても臨床症状を生じなかったとも考えられる。しかし体平衡の遅延は見られておらず、GJB2遺伝子異常では、顕著な平衡機能障害は生じないと考えられる。

MAIS、MUSSの人工内耳術後の経過をみると、術直後の伸びはc235delC homozygousが比較的良好であり、G45E/Y136X変異を持つ症例が比較的伸びが悪かったが、術1年たつとGJB2全体の平均に収束していた。人工内耳埋め込み後早期の成績はgenotypeの影響を受けた可能性も否定できないが、家族

環境や療育などその他の要因も影響したことも考えられる。*GJB2*変異症例全体ではMAIS、MUSSともに術後順調に伸びており、就学時の平均もそれぞれ31, 33点で、人工内耳の効果が十分に得られていた。従って*GJB2*遺伝子変異に伴う高度難聴児では、その遺伝子型に関わらず、人工内耳の良い適応と考えられた。

E. 結論

人工内耳手術を受けた先天性高度難聴児のうち*GJB2*遺伝子に変異を認めた40名を解析した。遺伝子型はc.235delC homozygousが14例と最も多く、c.235delCの複合heterozygousが15例であった。c.235delC以外ではG45E/Y136Xのhomozygousが2例、G45E/Y136X R143W複合heterozygous3例、G45E/Y136X T86R複合heterozygous 2例、c299_300del R143W複合heterozygous2例、c176_191del homozygous1例であった。

平衡機能検査での異常は7例に見られたが、軽微なものであり、体平衡の遅延などはなかった。遺伝子型による聴力の違いは明らかでは無く、人工内耳術後の聴性行動、発話行動の伸びにも明らかな差は無かった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Yamasoba T, Miller JM, Ulfendal M, Altschuler RA. Frontier in the treatment of hearing loss. LePrell CG,

Henderson D, Fay RR, Popper AN (eds) Noise-induced hearing loss: Scientific advances. Springer Handbook of Auditory Research 40. pp. 339-367, 2012.

Yasui T, Iwasaki S, Sugasawa K, Sakamoto T, Kashio A, Suzuki M, Kakigi A, Yamasoba T. Admittance tympanometry with 2-kHz probe tones in patients with low-frequency hearing loss. Laryngoscope. 2012;122:2252-5.

Sugasawa K, Iwasaki S, Fujimoto C, Kinoshita M, Inoue A, Egami N, Ushio M, Chihara Y, Yamasoba T. Diagnostic Usefulness of Multifrequency Tympanometry for Ménière's Disease. Audiol Neurootol. 2013;18:152-160.

Inoue A, Iwasaki S, Ushio M, Chihara Y, Fujimoto C, Egami N, Yamasoba T. Effect of Vestibular Dysfunction on the Development of Gross Motor Function in Children with Profound Hearing Loss. Audiol Neurootol. 2013;18:143-151.

Makizumi Y, Kashio A, Sakamoto T, Karino S, Kakigi A, Iwasaki S, Yamasoba T. Cochlear implantation in a patient with osteogenesis imperfecta. Auris Nasus Larynx

山嵜達也. 疾患と病態生理. 老人性難聴. JOHNS 28: 113-119, 2012

2. 学会発表

山嵜達也. 耳の老化とアンチエイジング: 酸化ストレス、ミトコンドリア. 第22回日本耳科学会

樫尾 明憲、安達のどか、尾形エリカ、赤松裕介、山嵜達也. 当科における先天性サイトメガロウイルス感染症に伴う難聴症例 第22回日本耳科学会

鴨頭 輝、樫尾 明憲、尾形エリカ、赤松裕介、狩野章太郎、坂本 幸士、柿木 章伸、岩崎 真一、山嵜達也. 内耳奇形症例に対する人工内耳埋め込み術の検討 第22回日本耳科学会

赤松裕介、尾形エリカ、山嵜達也. 早期人工内耳装用小児例における聴性行動と

音声発話行動の経時的変化. 第57回日本聴覚医学会

浅沼聡、安達のどか、坂田英明、山嵜達也、加我君孝. 蝸牛神経低形成. 第57回日本聴覚医学会

赤松裕介、尾形エリカ、山嵜達也. 人工内耳装用者の単音節聴取能の検討. 第57回日本音声言語医学会

山嵜達也. 小児に対する人工内耳の抱える諸問題. 大阪人工内耳フォーラム. 2012

Tatsuya Yamasoba, Ken Ito, Akinori Kashio, Takuya Yasui, Nodoka Asanuma, Hideaki Sakata, Katsumi Doi, Kozo Kumakawa, Erika Ogata, Yusuke Akamatsu. Factors that influence speech and language development in deaf Japanese children after cochlear Implantation. Collegium ORLAS

浅沼聡、安達のどか、横田進、坂田英明、山嵜達也、加我君孝. 新生児期から乳児期の軽・中等度難聴の検討. 第7回日本小児耳鼻咽喉科学会

赤松裕介、尾形エリカ、樫尾明憲、狩野章太郎、加我君孝、山嵜達也. 小児人工内耳装用者における環境音聴取能の検討. 第7回日本小児耳鼻咽喉科学会

樫尾明憲、尾形エリカ、赤松裕介、安達のどか、狩野章太郎、山嵜達也. 一定の補聴効果を認めた上で5歳以降に人工内耳を施行した先天性重度難聴児4例の検討. 第7回日本小児耳鼻咽喉科学会.

安達のどか、浅沼聡、横田進、坂田英明、山嵜達也、加我君孝. 先天性難聴児の聴力改善群におけるABR波形と特徴. 第7回日本小児耳鼻咽喉科学会

今井直子、熊川孝三、安達のどか、浅沼聡、坂田英明、山嵜達也、宇佐美真一. 難聴の進行を認めたGJB2遺伝子変異の4例. 第7回日本小児耳鼻咽喉科学会

(予定を含む。)

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

KCNQ4遺伝子pore helix N末端のnon-truncating変異で 中等度難聴を呈した1症例

渡部高久¹⁾ 松永達夫²⁾ 神崎晶¹⁾ 井上泰宏¹⁾ 小川郁¹⁾

1) 慶応義塾大学医学部耳鼻咽喉科

2) 国立病院機構東京医療センター耳鼻咽喉科

はじめに

原因不明の進行する両側性感音難聴は特発性難聴としてその分類がなされるが、その中に遺伝的素因によるものが含まれている事が分かっている。常染色体優性遺伝形式をとる非症候性難聴の原因としてKCNQ4遺伝子変異が挙げられる。KCNQ4遺伝子はPotassium voltage-gated channel subfamily KQT member 4をコードしており、蝸牛の有毛細胞が脱分極した後に蝸牛内のカリウムイオンの排出に重要な役割を果たす。その変異は、外有毛細胞の脱分極異常による変性につながり、難聴を起こすと考えられている。これまでにKCNQ4遺伝子変異として16タイプの報告がなされている。

今回、我々は非症候性難聴の家族歴を有する両側進行性高音障害型感音難聴の症例を遺伝子解析した結果、新たなKCNQ4遺伝子変異を確認した。

症例

発端者は25歳女性で、8歳時に右真珠種中耳炎に対し鼓室形成術の既往があるが、その後、聴力は安定していた。20代に入り、両側の難聴の悪化を自覚する進行性中等度高音障害型難聴を示した(図1)。右は真珠種性中耳炎の影響と思われる気骨導差を有し、骨導閾値も左に比して上昇を認めた。母型3世代に渡る進行性難聴の既往歴を有する(図1)。画像所見上、明らかな奇形は有さない。

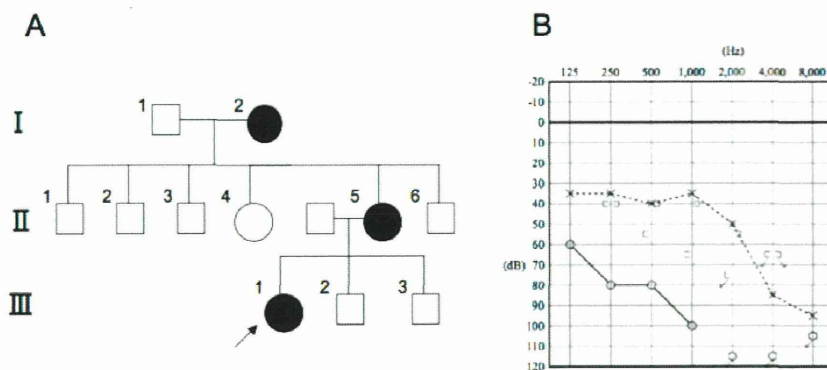


図 1

方法

遺伝子解析：

血液より抽出したゲノムDNAを臨床情報に基づき選択した候補遺伝子についてPCR法にて増殖後、ダイレクトシーケンシングした。

分子構造解析：

Gapped Blast、PDBsumによりシーケンスに類似する構造テンプレートを選択し、それを基にSWISS model workplacにおいて遺伝子解析で得られたシーケンシングの

分子構造モデルを作成した。Verify 3D Structure Evaluation serverにて分子構造モデルの妥当性を評価した。

結果

遺伝子解析：

KCNQ4遺伝子において、S5とpore helixの間の領域でのp. Ser269delにつながる806-808del CCT non-truncating mutationをHeterozygousに認めた。

GJB2遺伝子、ミトコンドリア遺伝子には変異を認めなかった(図2)。

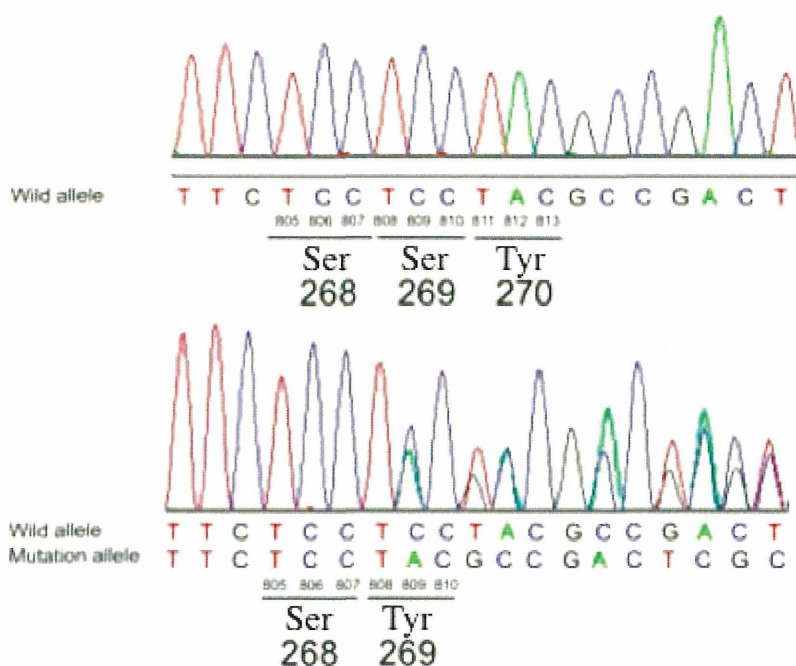


図2

分子構造解析：

Pore 領域において負に帯電するSerが欠損する事により負の帯電の減少という電気的変化を認めた。また、pore helixの短縮、p-loop末端付近の水素結合の欠損という構

造的変化を認めた。これら電気的変化と構造的変化によりカリウム透過性の異常につながった可能性が示唆され、本変異における難聴の病態として考慮された(図3)

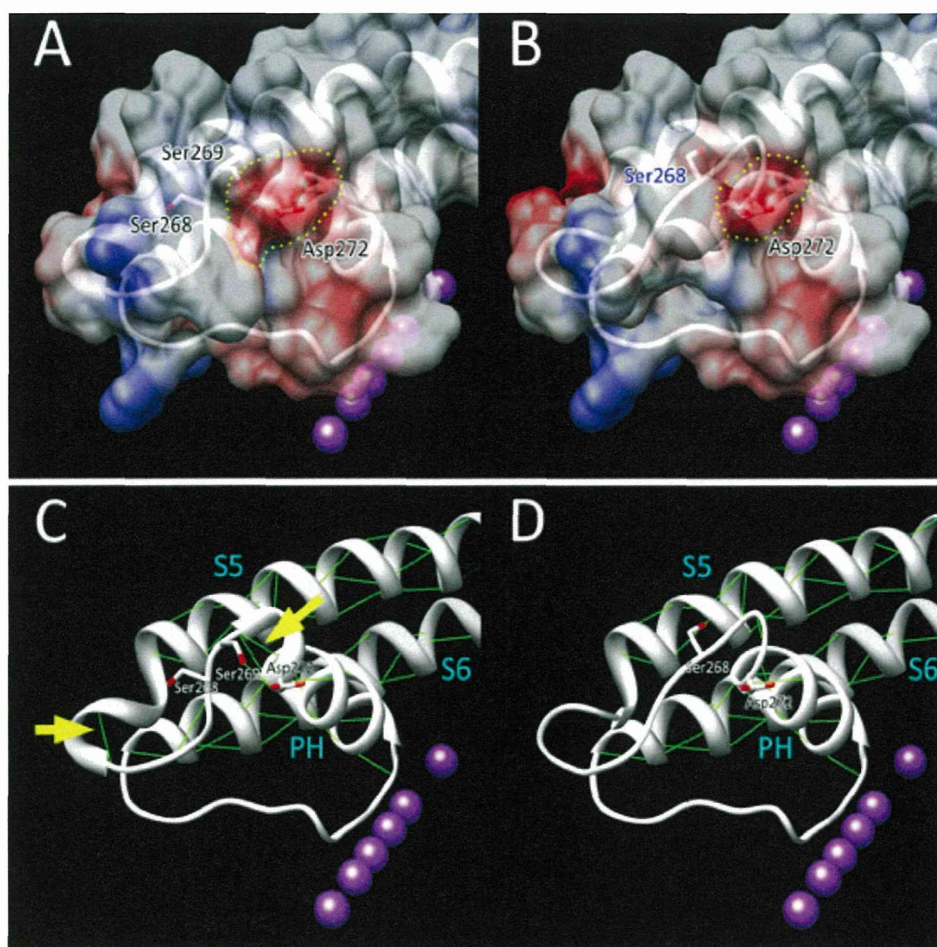


図 3

考察

*KCNQ4*遺伝子は695個のアミノ酸をコードし6個の膜貫通領域 (S1~S6) とカリウムイオン選択的チャネルポアを形成するp-loopを構成している。これまでの報告では、pore領域のミスセンス変異によるnon-truncating mutationが大半を占め、早期発症で重度難聴を示す例が多かったが、以前、当グループが報告したTry270His同様、本症例は中等度難聴を示した(図4)。本症例とTry270Hisはpore helixのN末端部位に位置する隣り合った変異であり、同部位は、その変異により中等度難聴を示す特徴を持

つ部位の可能性が考慮された。しかし、今後悪化を示す事も予想され、聴力経過を継続的に確かめる事は重要である。

結論

今回、我々は両側進行性中等度感音難聴を示す新しい*KCNQ4*遺伝子変異p.Ser269delを経験した。分子構造解析の結果、この変異による電気的変化、構造的変化が*KCNQ4*カリウムイオンチャネルの機能的異常につながった可能性を示唆した。他のpore領域変異が重度難聴につながるのとは異なり、Pore helix N末端付近の変異は中等度難聴

を示す特徴を持つ部位の可能性が考慮された。

Waardenburg症候群の遺伝子診断に関する研究

研究分担者 松永 達雄 国立病院機構東京医療センター聴覚障害研究室

研究要旨

Waardenburg症候群は感音難聴と色素異常を特徴とする優性遺伝性疾患であり、臨床症状の違いからI-IV型の4型に分けられている。各タイプとも表現型は多様であり、同一家系内でも表現度に大きな差異が認められる場合も多い。このため症状が軽いWaardenburg症候群の患者では確定診断が困難な場合がある。Waardenburg症候群の原因遺伝子は現在までに7遺伝子が解明されており、遺伝子診断が確定診断に役立つ可能性が考えられる。本研究では臨床症状からWaardenburg症候群I型と診断された2家系の遺伝子診断について検討した。1家系においては既知ミスセンス変異 (p. I59F) のヘテロ接合体を認め、他の1家系においては新規大欠失 (PAX3全エクソンを含む1759-2554kbの領域) のヘテロ接合体を認めた。既知ミスセンス変異の家系では、受診者の症状がとても軽度であったが、遺伝子検査でPAX3遺伝子変異を確認できたことで、臨床診断の確認と正確な遺伝相談が可能となった。新規大欠失の家系では、受診した3人の症状が異なっていたが、本研究で行われた遺伝子検査で3人だけに共通した変異が認められたことから、優性遺伝を正しく理解して頂くことが可能になった。このようにWaardenburg症候群の遺伝子診断は、原因診断、病態の理解に有用であると考えられた。

A. 研究目的

Waardenburg症候群は感音難聴と色素異常を特徴とする優性遺伝性疾患である。本症候群は臨床症状の違いからI-IV型の4型に臨床分類されている (表1)。Waardenburg症候群I型には診断基準があり (表2)、これを基準に各タイプが分類される。各タイプとも表現型は多様であり、同一家系内でも表現度に大きな差異が認められる場合も多い。このため症状が軽い場合、特異性の低い症状の場合 (鼻翼の低形成、30歳以前の白髪など)、孤発例の場合などでは、受診し

ている患者個人に対するWaardenburg症候群の確定診断あるいは臨床分類が困難な場合がある。

Waardenburg症候群の原因遺伝子は現在までに7遺伝子が解明されており、原因遺伝子に基づいた分子分類も確立している (表1)。我々は遺伝子検査に基づいた遺伝子診断がWaardenburg症候群の確定診断、臨床分類に役立つのではないかと考え、この点を実際の症例で検討して明らかにすることを本研究の目的とした。

臨床分類		分子分類
I型	内眼角乖離	PAX3
II型	内眼角乖離なし	MITF (IIA)、SNAI2 (IID)、SOX10 (IIE)
III型	I型 + 上肢の奇形	PAX3
IV型	II型 + Hirschsprung病	EDNRB (IVA)、EDN3 (IVB)、SOX10 (IVC)

1. 大症状 ・先天性感音難聴 ・前頭部中央の白髪、頭髪の色素脱失 ・虹彩異色症 ・内眼角乖離 W index > 1.95 ・第1近親者に罹患者有り。	2. 小症状 ・皮膚の色素脱失 ・眉毛癒合 ・高く広い鼻梁、突出した鼻口唇 ・鼻翼の低形成 ・早期の白髪(30歳以前)
(2つの大症状 または 1つの大症状と2つの小症状でWS1)	

B. 研究方法

対本研究ではWaardenburg症候群I型の2家系の遺伝子診断について、臨床所見および遺伝学的検査を検討した。遺伝学的検査では、末梢血DNAを抽出して、臨床的特徴から可能性が高いと予測される候補遺伝子を解析した。まずは全エクソンの直接シーケンシング法による解析を行い、これで異常が検出されない場合はさらにMLPA (multiple ligation-dependent probe amplification) 法による解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究では難聴者、その親族および健聴者(正常コントロール)の遺伝子解析を行なうため、「ヘルシンキ宣言」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(文

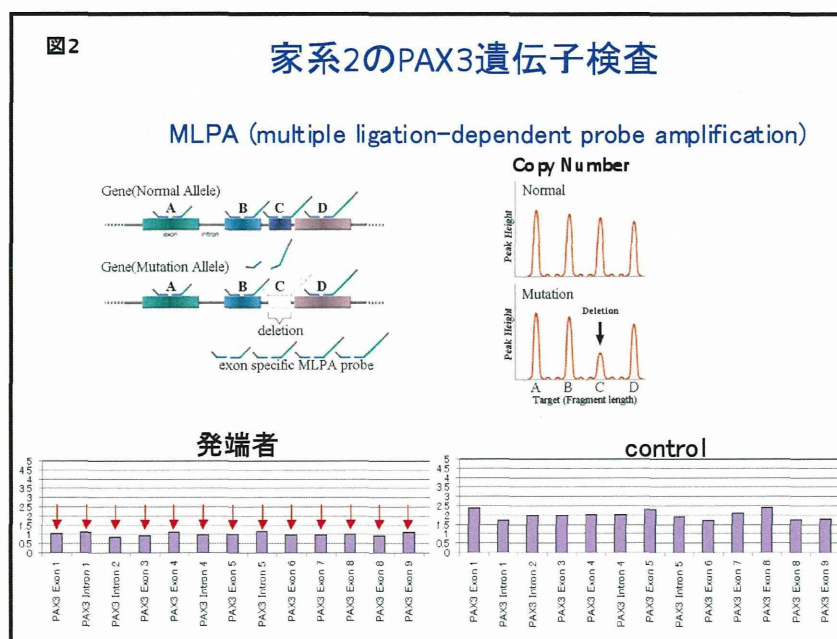
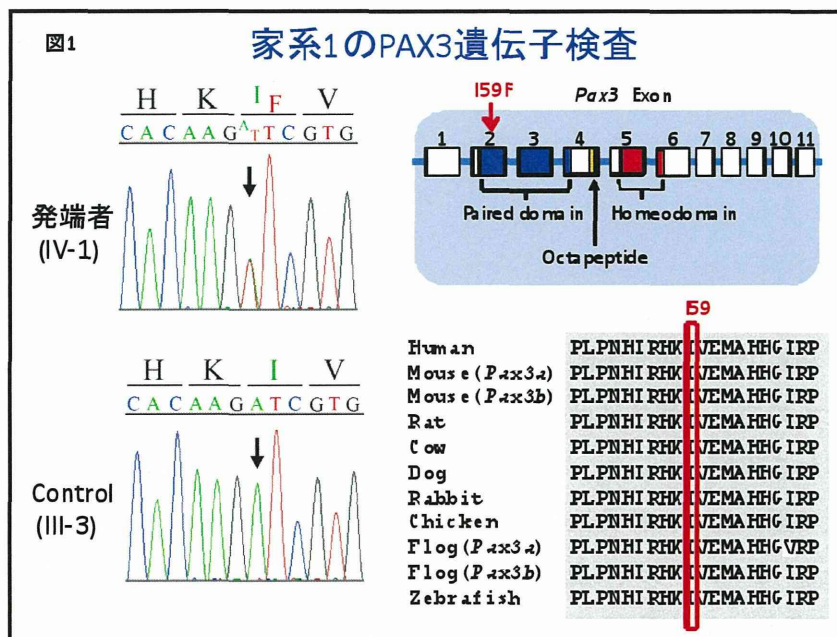
部科学省、厚生労働省、経済産業省)」、「疫学研究に関する倫理指針(平成19年文部科学省・厚生労働省告示第1号)」、「国立病院機構東京医療センター倫理委員会規定」を遵守して進めた。国立病院機構東京医療センター倫理委員会において承認を受けて行われた。

C. 研究結果

症家系1の発端者は0歳9ヶ月の男児、主訴は左難聴であった。新生児聴覚スクリーニングで発見され、ABRで難聴診断となり、当科を遺伝相談を目的として受診した。受診時の身体所見で内眼角乖離を認めた。母は早期の白髪(16歳から)と内眼角乖離があるがそれ以外の症状を持たなかった。母への問診から、母方祖母に早期の白髪のみが

あり、母の従姉妹でのWaardenburg症候群の診断が判明した。臨床症状からWaardenburg症候群I型と診断され、発端者と両親でPAX3遺伝子検査が行われ、発端者と母に既知ミスセンス変異 (p. I59F) のヘテロ接合体を認めた (図1)。本変異はPAX3のPrimed domainにあり、種差を越えて保存されてお

り、正常コントロール96人に認めなかった。家系2の発端者は4歳4ヶ月の女兒、主訴は右難聴であった。新生児聴覚スクリーニングで発見され、ABRで難聴診断となり、経過観察されていたが、遺伝子検査を希望されたため実施された。難聴以外の所見として内眼角乖離、眉毛叢生、前頭部白髪を認めた。



家族歴として、母は内眼角乖離と虹彩異色、祖母は内眼角乖離と早期の白髪を認めた。臨床症状から Waardenburg 症候群 I 型と診断され、発端者と両親で *PAX3* 遺伝子検査が行われた。直接シーケンス法では異常を認めなかったが、続けて行った MLPA 法 (図2) で発端者、母、祖母が *PAX3* 全エクソン欠失のヘテロ接合体であることが判明した。欠失領域の探索を行ったところ、1759-2554kb の領域 (*PAX3* を含めて18遺伝子が存在) の欠失が判明した (図3)。

D. 考察

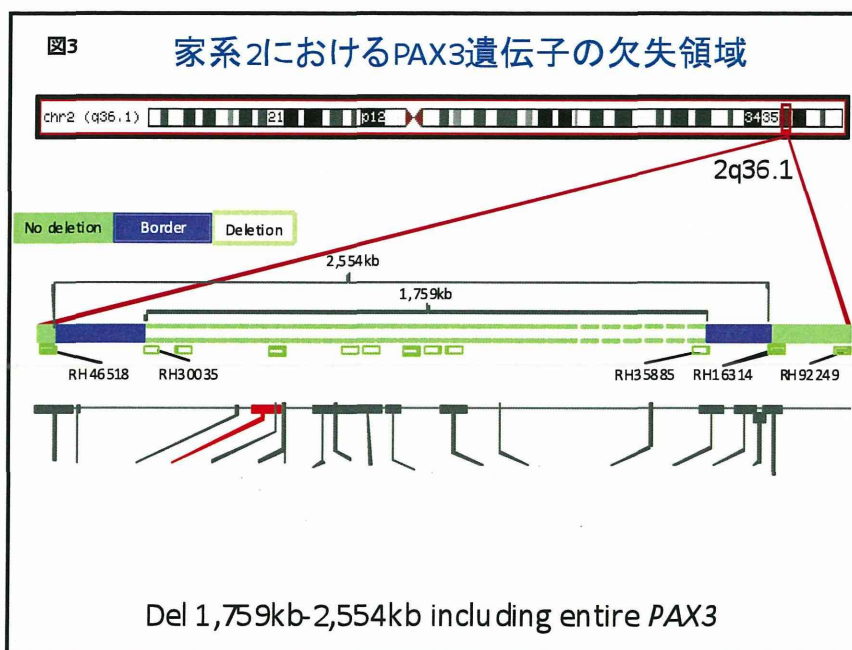
家系1では受診した発端者と母の症状が軽度であり、測定上は内眼角乖離が判定基準に合致したものの、主観的には個人差の範疇とみなされる程度であった。母と祖母で認められた早期白髪も、特異性の低い特徴であった。このため、血縁者に Waardenburg 症候群の確定診断があるにも

関わらず、当科受診まで発端者、母、祖母では本症候群を診断されていなかった。遺伝相談を希望されて当科受診となり、遺伝子検査で *PAX3* 遺伝子変異を確認できたことで、臨床診断の確認と正確な遺伝相談が可能となった。

家系2では臨床診断は明確に可能であったが、家系内の3人の罹患者に共通する症状は内眼角乖離のみで、それ以外の症状が異なることから、遺伝性疾患の理解が乏しかった。本研究で行われた遺伝子検査で3人だけに共通した変異が認められたことから、優性遺伝を正しく理解して頂くことが可能になった。

E. 結論

Waardenburg 症候群の遺伝子検査に基づいた遺伝子診断が、2家系での原因診断および遺伝相談において有用であった。



F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Sun G, Fujii M, Matsunaga T.
Functional Interaction between Mesenchymal Stem Cells (MSCs) and Spiral Ligament Fibrocytes (SLFs)
J Neurosci Res 2012; 90(9):1713-22
- Minami SB, Masuda S, Usui S, Mutai H, Matsunaga T.
Comorbidity of GJB2 and WFS1 mutations in one family.
Gene 2012; 501(2):193-197 Erratum in: Gene 2012; 504(2):313
- Matsunaga T, Mutai H, Kunishima S, Namba K, Morimoto N, Shinjo Y, Arimoto Y, Kataoka Y, Shintani T, Morita N, Sugiuchi T, Masuda S, Nakano A, Taiji H, Kaga K.
A prevalent founder mutation and genotype-phenotype correlations of OTOF in Japanese patients with auditory neuropathy.
Clin Genet 2012; 82:425-432
- Taiji H, Morimoto N, Matsunaga T.
Unilateral cochlear nerve hypoplasia in children with mild to moderate hearing loss. Acta Otolaryngol 2012; 132(11):1160-7
- Masuda S, Usui S, Matsunaga T.
High prevalence of inner-ear and/or internal auditory canal malformations in children with unilateral sensorineural hearing loss.
Int J Pediatr Otorhinolaryngol 2013; 77:228-232
- Nakano A, Arimoto Y, Matsunaga T.
Cochlear nerve deficiency and associated clinical features in patients with bilateral and unilateral hearing loss.
Otol Neurotol 2013; 34(3):554-558

- Watabe T, Matsunaga T, Namba K, Mutai H, Inoue Y, Ogawa K.
Moderate hearing loss associated with a novel KCNQ4 non-truncating mutation located near the N-terminus of the pore helix.
Biochem Biophys Res Commun 2013; 432(3):475-479
- Matsunaga T, Mutai H, Namba K, Morita N, Masuda S.
Genetic analysis of PAX3 for diagnosis of Waardenburg syndrome type I.
Acta Otolaryngol [2012 Nov 20, Epub ahead of print]
- 仲野敦子、有本有季子、松永達雄、工藤典代
側頭骨CTで両側蝸牛神経管狭窄を認めた小児難聴症例の検討
日耳鼻会報2012; 115(9):849-854

2. 学会発表

- Matsunaga T, Mutai H, Suzuki N, Morita N, Masuda S.
Genetic diagnosis of Waardenburg syndrome type I by molecular analysis of PAX3 in Japanese patients
The annual meeting of the Collegium Oto-Rhino-Laryngologicum Amicitiae Sacrum
2012年8月26-29日 Rome, Italy
- Shimizu A, Torii C, Suzuki N, Mutai H, Kudoh J, Kosaki R, Matsunaga T, Kosaki K.
Rapid and efficient mutation detection in the hundreds of target genes by bench-top next generation sequencer with custom target capture method.
62nd Annual Meeting of the American Society of Human Genetics (ASHG)
2012年11月6-10日
San Francisco, California, USA
- 松永達雄
Auditory Neuropathyの遺伝子診断の治療法選択へのインパクト

- 第116回日本眼科学会総会、シンポジウム1 (眼科・耳鼻咽喉科領域における研究プロジェクト)
2012年4月5日 東京
南修司郎、松永達雄、藤井正人、加我君孝
GJB2遺伝子変異の遺伝子型と表現型の相関についての検討
第113回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会
2012年5月10-12日 新潟市
松永達雄、守本倫子、新正由紀子、有本由紀子、片岡裕子、岡本康秀、新田清一、新谷朋子、森田訓子、杉内智子、増田佐和子、仲野敦子、泰地秀信、加我君孝
小児Auditory Neuropathy (AN) におけるOTOF遺伝子の遺伝子型と表現型の相関
第113回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会
2012年5月10-12日 新潟市
渡部高久、松永達雄、佐藤美奈子、小川郁
ミトコンドリアtRNA遺伝子T7511C変異による非症候性難聴を示す1家系
第113回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会
2012年5月10-12日 新潟市
泰地秀信、守本倫子、松永達雄
蝸牛神経低形成例における聴覚所見
日本聴覚医学会 第7回 ERA・OAE 研究会
2012年7月8日 東京
松永達雄、鈴木直大、務台英樹、難波一徳、加我君孝
次世代シーケンサーを用いた難聴の遺伝子診断に関する検討
第22回日本耳科学会総会・学術講演会
2012年10月4-6日 名古屋
鈴木直大、務台英樹、松永達雄
次世代シーケンスデータにおける難聴遺伝子変異の探索
第22回日本耳科学会総会・学術講演会
2012年10月4-6日 名古屋
務台英樹、藤井正人、松永達雄
難聴モデルDBA/2Jマウスに対するエピジェネティクス調節と聴力変化の検討
第22回日本耳科学会総会・学術講演会
2012年10月4-6日 名古屋
難波一徳、務台英樹、増田佐和子、臼井智子、藤井正人、松永達雄
Nogginタンパク質のin silico解析から推測されたSYM-1におけるアプミ骨を含む骨固着の病態
第22回日本耳科学会総会・学術講演会
2012年10月4-6日 名古屋
岡本康秀、松永達雄、加我君孝
「Pendred症候群治療実態把握のための全国調査」アンケートの検討
第22回日本耳科学会総会・学術講演会
2012年10月4-6日 名古屋
新正由紀子、増田毅、松永達雄、加我君孝、山本聡
温度依存性Auditory Nerve Diseaseの一症例
第22回日本耳科学会総会・学術講演会
2012年10月4-6日 名古屋
松永達雄、加我君孝
劣性遺伝の先天性難聴に対する次世代シーケンサーを用いた遺伝子診断の検討
第57回日本聴覚医学会総会・学術講演会
2012年10月11-12日 京都
南修司郎、松永達雄、仲野敦子、有本友季子、泰地秀信、守本倫子、坂田英明、安達のどか、浅沼聡、増田佐和子、阪本浩一、加我君孝
新生児聴覚スクリーニングで“pass”と評価されたGJB2遺伝性難聴児13症例の検討
第57回日本聴覚医学会総会・学術講演会
2012年10月11-12日 京都
鈴木直大、務台英樹、鳥居千春、清水厚志、宮冬樹、難波一徳、工藤純、小崎健次郎、松永達雄
カスタムターゲットリシーケンスによる難聴関連遺伝子の変異探索
第57回日本人類遺伝学会大会
2012年10月24-27日 東京
森貞直哉、貝藤裕史、伊藤秀一、奥山虎之、松永達雄、関根孝司、飯島一誠
本邦における鰓弓耳腎 (BOR) 症候群の全国診療実態調査と遺伝子解析

第57回日本人類遺伝学会大会

2012年10月24-27日 東京

難波一徳、金子寛生、増田佐和子、務台英樹、臼井智子、藤井正人、松永達雄

Noggin蛋白質とヘパリン糖鎖のドッキングシミュレーションから推測された骨形成異常におけるBMPシグナルの分子病態モデル

第85回日本生化学会大会

2012年12月11-14日 福岡

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

なし

遺伝性難聴および外耳、中耳、内耳奇形に関する調査研究

研究分担者 石川 浩太郎 自治医科大学医学部講師

研究要旨

自治医科大学附属病院に受診し、難聴遺伝子研究に関連して文書で遺伝子解析の承諾を取得し検体を採取できた、優性遺伝形式と考えられる遺伝性難聴家系について、遺伝子解析と臨床的解析の両者を行った。自治医科大学から信州大学医学部耳鼻咽喉科へ送付した優性遺伝形式の遺伝性難聴家系は16家系となっている。その内訳は高音漸傾型8家系、高音急墜型5家系、水平型1家系、谷型1家系、アブミ骨筋腱骨化による伝音難聴1家系となっている。遺伝子解析の結果、これまでに高音急墜型3家系から *KCNQ4* 遺伝子変異が同定されたことは昨年報告した。これらの家系について、さらなる臨床的解析が進んだので報告する。1家系目は *KCNQ4* 遺伝子の c. 229_230insGC 変異が同定された発端者は27歳女性の4世代にわたる優性遺伝形式の難聴家系である。この変異では難聴の程度に世代間でばらつきが認められた。2家系目は *KCNQ4* 遺伝子の c. 211delC 変異が同定された3世代にわたる高音急墜型難聴の家系である。この家系ではめまいが認められ、変異との関連が疑われたが確定には至らなかった。3家系目の同じく *KCNQ4* 遺伝子の c. 211delC 変異が同定された高音急墜型難聴の家系であるが、この家系では世代ごとに難聴の悪化が認められた。

A. 研究目的

この研究班では様々な遺伝性難聴や外耳、中耳、内耳奇形を来す原因遺伝子の解明と臨床診断、治療法の確立への応用を目的としている。我々はその分担研究者として、関連する症例を収集し、臨床情報と遺伝子解析を行うことで、実態を究明していくことが目的である。遺伝性難聴に対する診断法が確立されれば、これまで原因不明とされてきた難聴の発症予測や予防、早期治療などへの対応が可能となる。

B. 研究方法

自治医科大学附属病院耳鼻咽喉科外来を受診した、遺伝性難聴や遺伝性の外耳、中耳、内耳奇形を疑わせる症状、および家族歴のある症例に、説明と研究参加への同意を行った後に、詳細な家系情報、病歴聴取、精密聴覚検査、X線CTなどの画像検査などを行い、臨床情報の蓄積を行った。また通常の採血と同様な方法で、20mlを採血し、検体を(株)ビー・エム・エルへ送付。そこで核酸を抽出した後に全ての検体を信州大学医学部耳鼻咽喉科へ送付して遺伝子解

析を依頼した。

(倫理面への配慮)

自治医科大学遺伝子解析研究倫理審査会に、研究計画書、患者説明書、同意書などの資料を提出し、承認を得ている。遺伝子解析を行う信州大学も同様に倫理委員会の承認を得ており、自治医科大学と信州大学の間で難聴遺伝子解析に関する覚書の取り交わしも行われている。患者の個人情報漏洩しないように、自治医科大学から検体を送付する際は、匿名化が行われている。

C. 研究結果

自治医科大学から(株)ビー・エム・エルを経由して信州大学医学部耳鼻咽喉科へ送付した優性遺伝形式の遺伝性難聴家系は平成25年3月現在で16家系となっている。その内訳を主に聴力型で分類してみると、高音漸傾型8家系、高音急墜型5家系、水平型1家系、谷型1家系、アブミ骨筋腱骨化による伝音難聴1家系となっている。これまでの

検索で高音急墜型3家系から *KCNQ4* 遺伝子変異が同定された。この3家系について、昨年度に報告を行ったが、さらなる臨床解析が進んだため、詳細を述べる。

1家系目の発端者は29歳女性。高校3年から高音部の耳鳴を自覚。大学の学校健診で高音域の難聴を指摘された。看護師として就職後、アラームの音が聞こえないことを主訴に受診した。家族歴としては家系図(図1)に示す通りの4世代にわたる優性遺伝形式の難聴家系である。この家系から *KCNQ4* 遺伝子の c.229_230insGC 変異が同定された。発端者の平均聴力は4分法で右21.3dB、左30.0dBであった(図2)。高音域の聴力閾値は60dB前後であった。今回この家系の母および姉の聴力検査を追加することができた。

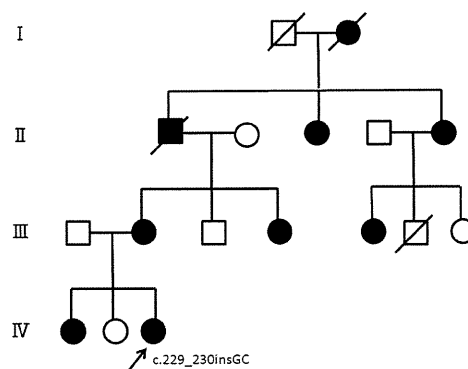


図1. 家系1 家系図

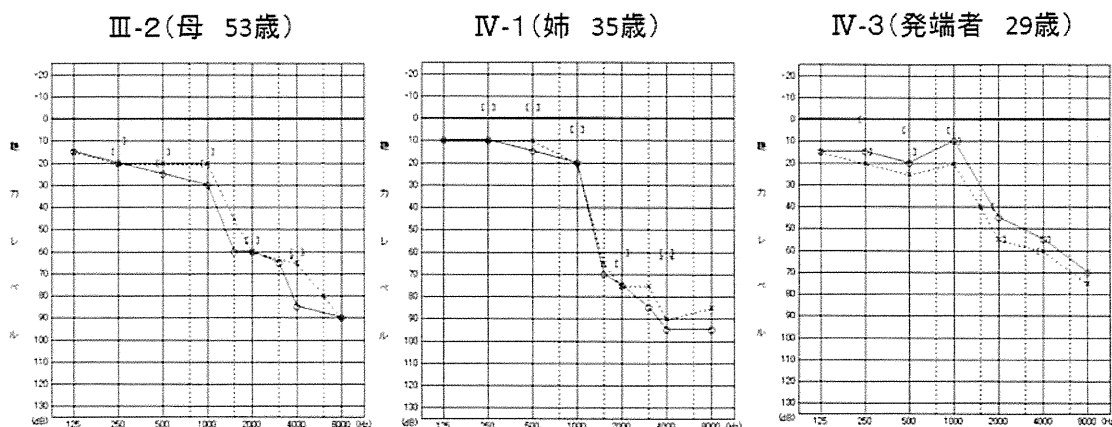


図2. 家系1 聴力図

53歳の母の平均聴力は4分法で右36.3dB、左30.0dBであり、発端者よりも難聴の程度は重度であった。一方、35歳の姉は平均聴力が右32.5dB、左31.3dBであり、中音域や高音域の難聴は世代が上での母よりも重度であり、難聴の重症度は世代間でばらつきが認められた。

2家系目は家系図(図3)に示す通りの3世代にわたる優性遺伝形式の難聴が認められた。この家系から *KCNQ4* 遺伝子の c.211delC 変異が同定された。発端者は13歳女性。小学校高学年からの難聴を自覚。両側鼓膜所見は正常。聴力は両側ともに125Hz-2kHzは

正常聴力。4kHzは右50dB・左45dB、8kHzは右45dB・左55dBと高音急墜型難聴を呈していた(図4)。SISI検査は4kHzで両耳とも補充現象陽性。DPOAEは3kHz以上で反応消失。語音弁別能は右80%、左72%。自記オーディオメトリは両側とも Jerger I型であった。母親は34歳で中学生から耳鳴を自覚、25歳から難聴を自覚し進行性。聴力は両側ともに125Hz-2kHzは正常聴力。4kHzは右75dB・左75dB、8kHzは右90dB・左80dBと、高音急墜型難聴を呈していた(図4)。語音弁別能は右74%、左78%であった。祖母は55歳で125-500Hzは両側30dB以下、1kHzで右45dB・左35dB、2-8kHzでは両側とも80dB以上であり、この家系では難聴の程度が世代を追って悪化していくことが確認された(図4)。またこの家系では発端者と母にめまいが認められた。同じ遺伝子変異を持ち難聴を呈する祖母にはめまいが認められなかった。カロリックテストを施行したところ、発端者と母に右CPが確認されたが祖母は正常所見であった(図5)。またこの家系では聴力正常

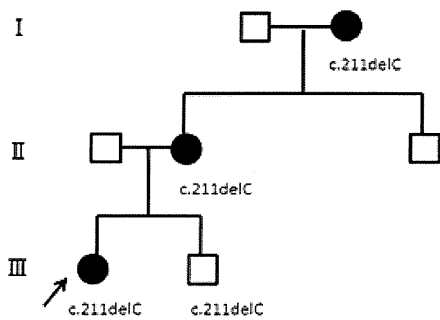


図3. 家系2 家系図

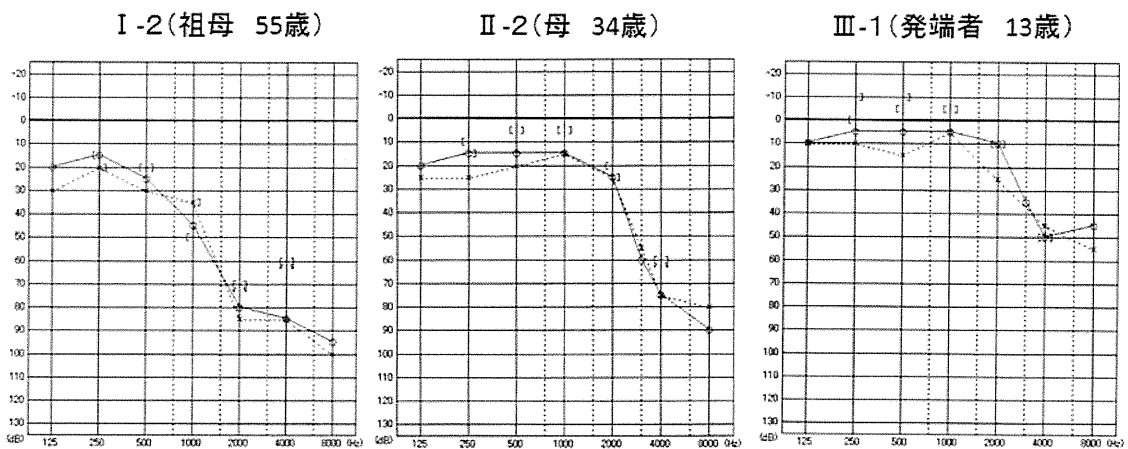
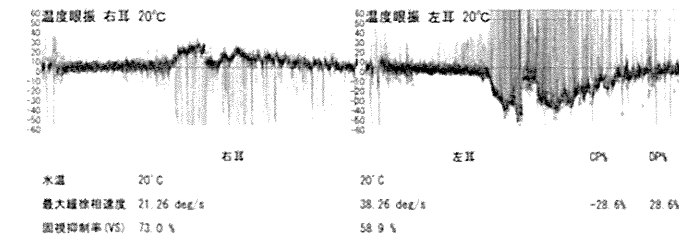
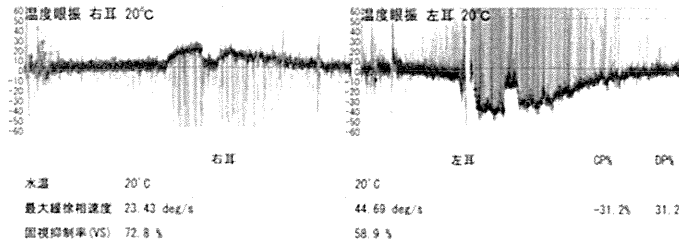


図4. 家系2 聴力図

Ⅲ-1(発端者 13歳)



Ⅱ-2(母 34歳)



I-2(祖母 55歳)

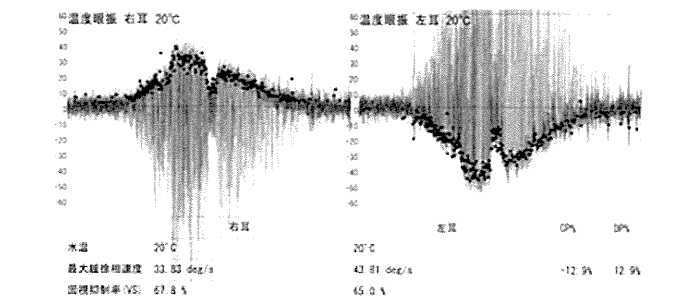


図5. 家系2 カロリックテスト

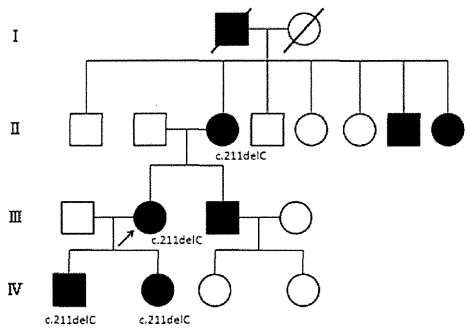


図6. 家系3 家系図

の6歳の弟にも c. 211delC 変異が同定され、今後、難聴を発症する危険性について情報提供することができ、遺伝カウンセリング上、非常に有用な結果が得られた。

3家系目は *KCNQ4* 遺伝子の c. 211delC 変異が同定された4世代にわたる高音急墜型難聴家系である(図6)。発端者は35歳女

性。22歳時に子供のおもちゃを扱っている時に難聴を自覚した。その後、難聴の進行を自覚していた。6年前の健診で右高音域の難聴を指摘され受診となった。聴力型は両側対称性高音急墜型難聴であった。平均聴力は4分法で右25.0dB、左23.8dBであった。高音域の聴力閾値は80dB前後であった(図7)。語音弁別能は右84%、左86%であった。自記オーディオメトリでは Jerger III型を呈し、歪成分耳音響放射では高音域の反応低下を認めた。この家系では母親と2人の子供において聴力検査と遺伝子採取を行うことができた。聴力は2家系目と同様に難聴の程度が世代を追って悪化していくことが確認された(図7)。

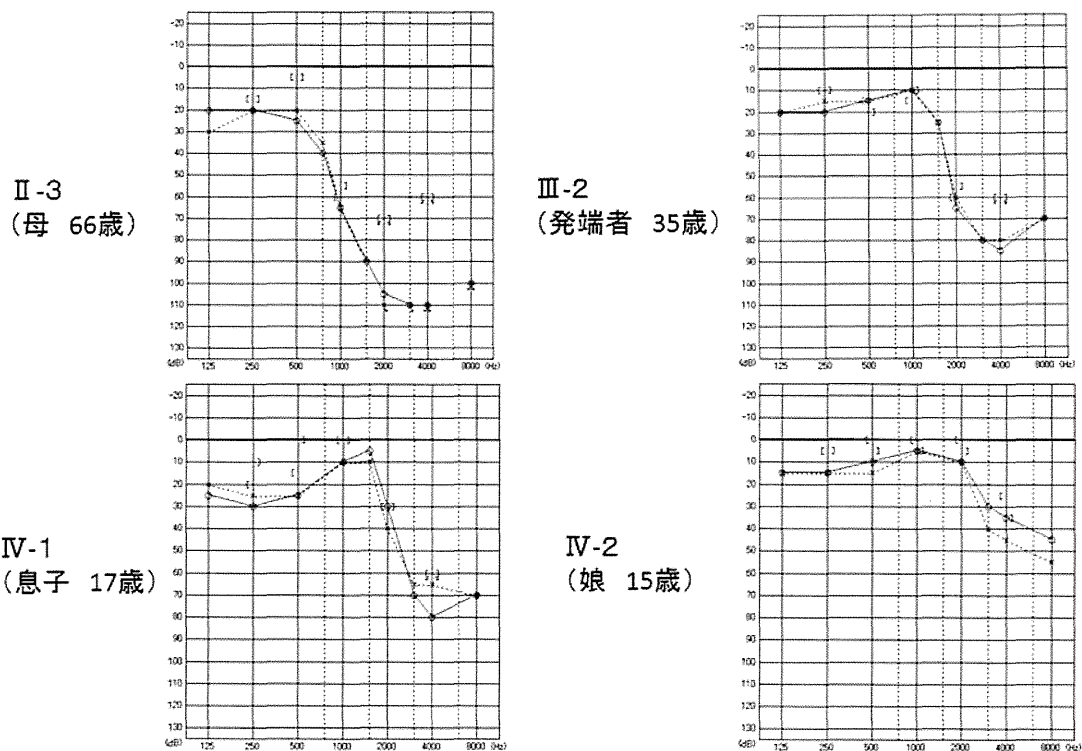


図 7. 家系 3 聴力図

D. 考察

今回、我々が収集した優性遺伝形式をとる遺伝性難聴家系は、高音漸傾型 8 家系、高音急墜型 5 家系、水平型 1 家系、谷型 1 家系、アブミ骨筋腱骨化による伝音難聴 1 家系で原因遺伝子変異が同定されたのは高音急墜型の 3 家系であった。1 家系目はこれまで報告の無かった変異で、高音急墜型感音難聴を呈しているが、世代間でその重症度が異なり、他の *KCNQ4* 遺伝子 c. 211delC 変異が同定された家系とは、異なる表現型を示した。2 家系目では難聴にめまいを伴ったことが特徴的である。めまいが遺伝子変異と強く関連するかどうかは、今回の症例では確定することはできなかった。また難聴発症前の遺伝子変異陽性者を確認することができて、遺伝カウンセリング上、非

常に有用な情報が得られた。

3 家系目は世代を経ることで難聴が高度になっていることが確認された。めまいは伴っていなかった。これらの 3 家系を通して、*KCNQ4* 遺伝子 N 末端側の変異を有する難聴は高音急墜型を呈し、年齢を重ねても低音部の聴力は比較的保たれ、重度難聴には至らないという表現型が予測されることが判明した。

他にも低音障害型や高音急墜型など特徴的な聴力型を呈した家系があり、過去の報告から難聴原因遺伝子の検索に置いて、有力な候補遺伝子をまず行うことができるものと考えられる。今後も、さらなる家系収集を行ってデータの蓄積を行うことが重要であると考えられた。