

- Long-term complications after cochlear implantation. *Auris Nasus Larynx* 40: 525-529, 2013
- [30] 河野 淳, 西山信宏, 河口幸江, 白井杏湖, 富澤文子, 芥野由美子, 野波尚子, 鈴木 衛, 齋藤友介: 0歳時受診難聴児の現状と対応—聴覚・人工内耳センター開設3年間の経過. *Audiology Japan* 56: : 73-81, 2013
- [31] Kaga K: *Vertigo and Balance Disorders in Children*. Springer, Germany, 2014.2
- [32] Kaga K, Asato H(Ed): *Microtia and Atresia Combined Approach by Plastic and Otologic Surgery*. KARGER, Switzerland, 2013
- [33] 加我君孝編: 新生児・幼小児の難聴. 診断と治療社、東京、2014.2
- [34] Minami S, Kaga K, Matsunaga T, et al : GJB2-associated hearing loss undetected by hearing screening of newborns. *Gene* 2013; 532:41-45
- [35] 木戸口正典, 南修司郎, 竹腰英樹, 加我君孝: 鼓室に逸脱する内頸動脈走行異常を合併する人工内耳手術の経験. *Otology Japan* 2013.7.25; 23(3):243-247
- [36] 加我君孝, 新正由紀子, 関口香代子, 内山勉, 坂田英明: 新生児聴覚スクリーニング. *日本マス・スクリーニング学会誌* 2013.6.1 ; 23(1) : 25-38
- [37] 加我君孝: 新生児聴覚スクリーニングと小児の人工内耳と脳の可塑性. *コミュニケーション障害学 日本コミュニケーション障害学会* 2013;30(3):171-177
- [38] 加我君孝編: 新生児・幼小児の耳音響放射と ABR. 診断と治療社、東京、2012
- [39] 加我君孝編: 新耳鼻咽喉科学. 南山堂、東京、2013.1
- [40] 加我君孝, 竹腰英樹, 加地展之, 朝戸裕貴: 両側小耳症・外耳道閉鎖症に対する手術—2つの耳の形と機能を再建する—. *都耳鼻会報* 2012, No.138, pp50-56
- [41] 増田毅, 加我君孝: 両側内耳奇形児の平衡機能と運動の発達について. *Equilibrium Res.*2012、71(4):270-75
- [42] 加我君孝: 中耳・内耳・中枢聴覚伝導路の発達. *チャイルドヘルス* 2012, 15(10):696-700
- [43] Mutai H, Suzuki N, Shimizu A, Torii C, Namba K, Morimoto N, Kudoh J, Kaga K, Kosaki K, Matsunaga T. Diverse spectrum of rare deafness genes underlies early-childhood hearing loss in Japanese patients: A cross-sectional, multi-center next-generation sequencing study. *Orphanet J. Rare Dis.* 2013;8(1):172
- [44] Minami SB, Mutai H, Nakano A, Arimoto, Y, Taiji H, Morimoto N, Sakata H, Adachi N, Masuda S, Sakamoto H, Yoshida H, Tanaka F, Sugiuchi T, Kaga K, Matsunaga T. GJB2-associated hearing loss undetected by hearing screening of newborns. *Gene* 2013; 532(1):41-45

- [45] Okamoto Y, Mutai H, Nakano A, Arimoto Y, Sugiuchi T, Masuda S, Morimoto N, Sakamoto H, Ogahara N, Takagi A, Taiji H, Kaga K, Ogawa K, Matsunaga T. Subgroups of enlarged vestibular aqueduct in relation with *SLC26A4* mutations and hearing loss. *Laryngoscope* 2013[Epub ahead of print]
- [45] Takiguchi Y, Sun G, Ogawa K, Matsunaga T. Long-lasting changes in the cochlear K⁺ recycling structures after acute energy failure. *Neurosci Res* 2013;77(1-2):33-41
- [46] Matsunaga T, Mutai H, Namba K, Morita N, Masuda S. Genetic analysis of PAX3 for diagnosis of Waardenburg syndrome type I. *Acta Otolaryngol* 2013;133(4):345-351
- [47] 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
- [48] 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
- [49] 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
- [50] Arimoto Y, Namba K, Nakano A, Matsunaga T. Chronic constipation recognized as a sign of a SOX10 mutation in a patient with Waardenburg syndrome. *Gene*(in press)
- [51] Fujioka M, Okamoto Y, Shinden S, Okano HJ, Okano H, Ogawa K, Matsunaga T. Pharmacological inhibition of cochlear mitochondrial respiratory chain induces secondary inflammation in the lateral wall: a potential therapeutic target for sensorineural hearing loss. *PLOS ONE* (in press)
- [52] 鴨頭輝、狩野章太郎、山嵜達也. 視床-正常機能各論 聴覚. *Clinical Neuroscience* 31 : 66-67, 2013
- [53] 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*. 40:510-3, 2013

学会発表

- [1] 内藤武彦、宮川麻衣子、西尾信哉、宇佐美真一：次世代シーケンサーによる難聴の遺伝子解析～同定された原因遺伝子と遺伝疫学～. 第 114 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 2013.5.15～18. 札幌
- [2] 宮川麻衣子、内藤武彦、西尾信哉、宇佐美真一：次世代シーケンサーによって見出された難聴患者の臨床像について. 第 114 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 2013.5.15～18. 札幌
- [3] 岩佐陽一郎、吉村豪兼、工 穰、宇佐美真一： *OTOF* 遺伝子変異による Auditory neuropathy 症例の臨床像と人工内耳の効果に関する検討. 第 8 回日本小児耳鼻咽喉科学会総会 2013.6.20～21. 前橋
- [4] 宮川麻衣子、西尾信哉、池田卓生、福島邦博、宇佐美真一：次世代シーケンサーによって原因が見出された *TECTA* および *MYO15A* 遺伝子変異による先天性難聴. 第 8 回日本小児耳鼻咽喉科学会総会 2013.6.20～21. 前橋
- [5] Usami S, Miyagawa M, Naito T, Moteki H, Nishio S. Screening strategy for molecular diagnosis of deafness: From social health insurance based screening massively parallel DNA sequencing. 9th Molecular Biology of Hearing and Deafness Conference. 2013.6.22-25. Stanford University.
- [6] Moteki H, H.Azaiez, K.Booth, A.E. Shearer, R.J.H. Smith, Usami S. Comprehensive genetic testing in a Japanese hearing impaired population using otoscope. 9th Molecular Biology of Hearing and Deafness Conference. 2013.6.22-25. Stanford University.
- [7] Naito T, Nishio S, Iwasa Y, Yano T, Kumakawa K, Abe S, Ishikawa K, Kojima H, Namba A, Oshikawa C, Usami S. Comprehensive genetic screening of *KCNQ4* in a large autosomal dominant nonsyndromic hearing loss cohort; genotype-phenotype correlations and a founder mutation. 9th Molecular Biology of Hearing and Deafness Conference. 2013.6.22-25. Stanford University.
- [8] Miyagawa M, Nishi S, Ikeda T, Fukushima K, Usami S. Massively parallel DNA sequencing successfully discovers new causative mutations in deafness genes in patients with cochlear implantation. 9th Molecular Biology of Hearing and Deafness Conference. 2013.6.22-25. Stanford University.
- [9] Nishio S, Miyagawa M, Naito T, Nakazono K, Kamatani N, usami S. Targeted exon sequencing successfully discovers rare causative

- genes and clarifies the molecular epidemiology of Japanese deafness patients. 9th Molecular Biology of Hearing and Deafness Conference. 2013.6.22-25. Stanford University
- [10] 市瀬彩、宇佐美真一: 次世代シーケンスにより *COCH* 遺伝子変異が特定された進行性難聴の一家系. 第 75 回耳鼻咽喉科臨床学会 2013.7.11-12. 神戸
- [11] S Nishio, S Usami. Comprehensive genetic screening of hearing loss for efficient clinical molecular diagnosis. Life Technologies Asia Pacific Japan 2013 Genetic Analysis Summit. 2013.9.28-30. Bali
- [12] 工 穰: 難聴の遺伝子診断とカウンセリング 第 58 回日本音声言語医学会学術講演会 2013.10.17-18. 高知
- [13] 熊川孝三、熊谷文愛、射場恵、三澤建、阿部聡子、眞岩智道、加藤央、武田英彦、原田綾、山田奈保子、鈴木雪恵、大森孝一、宇佐美真一: 既存補聴器併用による小児の残存聴力活用型人工内耳症例—遺伝学的検査による治療戦略の有用性—. 第 58 回 日本聴覚医学会・学術講演会 2013.10.24-25. 松本
- [14] 三澤建、熊川孝三、阿部聡子、松田絵美、眞岩智道、加藤央、武田英彦、宇佐美真一: 当院におけるインベーターパネル法による難聴遺伝子解析結果と難聴治療への応用. 第 58 回 日本聴覚医学会・学術講演会 2013.10.24-25. 松本
- [15] 小林有美子、佐藤宏昭、村井和夫、村井盛子、岩井詔子、宇佐美真一: 難聴の遺伝子診断が有用であった感音難聴と糖尿病合併症例. 第 58 回 日本聴覚医学会・学術講演会 2013.10.24-25. 松本
- [16] 永野由起、近藤香菜子、池ノ上あゆみ、松田圭二、牛迫泰明、東野哲也、宇佐美真一: 聴覚管理に遺伝学的検査が有用であった優勢遺伝形式の branchio-oto-renal syndrome の一家系. 第 58 回 日本聴覚医学会・学術講演会 2013.10.24-25. 松本
- [17] 岩佐陽一郎、吉村豪兼、宮川麻衣子、西尾信哉、工 穰、宇佐美真一: Auditory neuropathy spectrum disorder に対する遺伝子診断の有用性及び遺伝カウンセリング. 第 58 回 日本聴覚医学会・学術講演会 2013.10.24-25. 松本
- [18] 宮川麻衣子、西尾信哉、宇佐美真一、長野誠、山口敏和: 保険収載後の難聴遺伝子診断の現況. 第 58 回 日本聴覚医学会・学術講演会 2013.10.24-25. 松本
- [19] 工 穰、塚田景大、宮川麻衣子、宇佐美真一: 乳幼児期の ASSR 推定聴力閾値と成長後の純音聴力検査閾値の比較—*GJB2* 遺伝子変異症例の検討—. 第 58 回 日本聴覚医学会・学術講演会 2013.10.24-25. 松本
- [20] 市瀬彩、西尾信哉、宇佐美真一: 軽中等度難聴の遺伝形式・臨床像の検討. 第 58 回 日本聴覚医学会・学術講演会

- 2013.10.24-25. 松本
- [21] 岸本逸平、篠原尚吾、藤原敬三、十名理沙、緒頭三郎、山本輪子、宇佐美真一、吉村豪兼、内藤泰: 当科における Usher 症候群例、難聴遺伝子検査の検討. 第 58 回 日本聴覚医学会・学術講演会 2013.10.24-25. 松本
- [22] 吉村豪兼、岩崎聡、西尾信哉、宇佐美真一、熊川孝三、東野哲也、佐藤宏昭、長井今日子、石川浩太郎、池園哲郎、内藤泰、福島邦博、中西啓: Usher 症候群タイプ 1 における遺伝子検査と耳鼻咽喉科医の役割. 第 58 回 日本聴覚医学会・学術講演会 2013.10.24-25. 松本
- [23] 塚田景大、福岡久邦、宮川麻衣子、工藤、宇佐美真一: *GJB2* 遺伝子変異症例における前庭機能評価について. 第 72 回 日本めまい平衡医学会 2013.11.13-15. 大阪
- [24] 西尾信哉、宮川麻衣子、内藤武彦、鎌谷直之、宇佐美真一: 次世代シーケンサーによる難聴の遺伝子解析～同定された原因遺伝子と遺伝疫学～. 第 58 回 日本人類遺伝学会 2013.11.20-23. 仙台
- [25] 宮川麻衣子、西尾信哉、池田卓生、福島邦博、宇佐美真一: 次世代シーケンサーを用いた人工内耳装用患者の遺伝子解析. 第 58 回 日本人類遺伝学会 2013.11.20-23. 仙台
- [26] 宇佐美真一: Ion PGM シーケンサーを用いた難聴遺伝子解析の臨床応用. 第 58 回 日本人類遺伝学会
- 2013.11.20-23. 仙台
- [27] 宮川麻衣子、内藤武彦、西尾信哉、宇佐美真一: 次世代シーケンサーにより同定された *MYO15A*, *TECTA*, *TMPRSS3*, *ACTG1* 変異を伴う人工内耳症例. 第 23 回 日本耳科学会 2013.11.24-26. 宮崎
- [28] 西尾信哉、宮川麻衣子、内藤武彦、宇佐美真一: 次世代シーケンサーによる難聴の遺伝子解析および遺伝的背景の解. 第 23 回 日本耳科学会 2013.11.24-26. 宮崎
- [29] 岩佐陽一郎、市瀬彩、宮川麻衣子、西尾信哉、宇佐美真一: 次世代シーケンサーで見出された *TMC1* 遺伝子変異例. 第 23 回 日本耳科学会 2013.11.24-26 宮崎
- [30] 市瀬彩、西尾信哉、宇佐美真一: 次世代シーケンサーにより *LRTOMT* 遺伝子変異が見出された一家系. 第 23 回 日本耳科学会 2013.11.24-26. 宮崎
- [31] 吉村豪兼、岩崎聡、西尾信哉、宇佐美真一、熊川孝三、東野哲也、佐藤宏昭、長井今日子、武市紀人、石川浩太郎、池園哲郎、内藤泰、福島邦博、松本希、中西啓: Usher 症候群タイプ 1 遺伝子解析における次世代シーケンサーの有用性 第 23 回 日本耳科学会 2013.11.24-26. 宮崎
- [32] Usami S. Application of genetic testing for cochlear implantation candidates. APSCI2013 2013.11.26-29.インド

- [33] Miyagawa M. Massively parallel DNA sequencing successfully discovers new causative mutations in deafness genes in patients with cochlear implantation. APSCI2013 2013.11.26-29. インド
- [34] Iwasa Y. *OTOF* mutation screening in Japanese severe to profound recessive hearing loss patients 12th Taiwan-Japan Conference on Otolaryngology Head and Neck surgery 2013.12.5-7 Taiwan
- [35] Yoshimuya Y. Massively parallel DNA sequencing facilitates diagnosis of patients with Usher syndrome type1 12th Taiwan-Japan Conference on Otolaryngology Head and Neck surgery. 2013.12.5-7. Taiwan
- [36] 野口佳裕, 西尾綾子, 武田憲昭, 島田亜紀, 千田いづみ, 喜多村 健: 常染色体優性遺伝形式の Auditory neuropathy spectrum disorder の 1 家系. 第 114 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 2013 年 5 月 15 日～18 日 札幌
- [37] 喜多村 健: メニエール病の予後-30 年以上経過観察した症例の検討から-. 第 10 回東京メニエール病カンファレンス 2013 年 7 月 13 日 東京
- [38] 喜多村 健, 渡邊勲, 角卓郎, 角田篤信, 西尾綾子, 小松崎篤: 東京都地方部会元部会長 渡邊 勲東京医科歯科大学名誉教授が 10 年以上経過観察したメニエール病の縦断的研究. 日本耳鼻咽喉科学会東京都地方部会例会 第 200 回学術講演会 2013 年 7 月 20 日 東京
- [39] 野口佳裕, 高橋正時, 吉本亮一, 本田圭司, 川島慶之, 喜多村 健: 前庭水管拡大症に関する全国調査の検討. 第 23 回日本耳科学会総会学術講演会 2013 年 11 月 24～26 日 宮崎
- [40] Taku Ito, Byung Yoon Choi, Philine Wangemann, and Andrew J Griffith. Mouse Model Of Fluctuating Hearing Loss Associated With Enlargement of The Vestibular Aqueduct. 36th ARO meeting, 2013.
- [41] 坂田阿希、熊川孝三、阿部聡子、宇佐美真一、山嵜達也: GJB2 と SLC26A4 の複合ヘテロ遺伝子変異が見出された先天性難聴の一家系. 第 58 回日本聴覚医学会総会・学術講演会, 2013.10.24.
- [42] 熊川孝三、熊谷文愛、射場恵、三澤建、阿部聡子、眞岩智道、加藤央、武田英彦、原田綾、山田奈保子、鈴木雪恵、大森孝一、宇佐美真一: 既存補聴器併用による小児の残存聴力活用型人工内耳症例—遺伝学的検査による治療戦略の有用性—. 第 58 回日本聴覚医学会総会・学術講演会, 2013.10.24.
- [43] 三澤建、熊川孝三、阿部聡子、松田絵美、眞岩智道、加藤央、武田英彦、宇佐美真一: 当院におけるイペーグパ 補法による難聴遺伝子解析結果と難聴治療への応用. 第 58 回日本聴覚医学会総

- 会・学術講演会,2013.10.24.
- [44] 射場恵、熊谷文愛、加藤央、鈴木久美子、武田英彦、熊川孝三：片側外耳道閉鎖例と片側高度感音難聴例における埋め込み型骨導補聴器（BAHA）の装用効果。第 57 回日本聴覚医学会 2012 年 10 月 11,12 日 京都
- [45] 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 回小児耳鼻咽喉科学会 2012 年 6 月 21, 22 日 岡山
- [46] 石川浩太郎、市村恵一：耳鼻咽喉科専門医と遺伝カウンセリング。第 114 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会（札幌）2013 年 5 月 15-18 日
- [47] 石川浩太郎：遺伝性難聴家系に対し遺伝カウンセリングを行う際の問題点。第 58 回日本聴覚医学会総会・学術講演会（松本）2013 年 10 月 24-25 日
- [48] 石川浩太郎：当科における Usher 症候群 5 例の臨床像。第 23 回日本耳科学会総会・学術講演会（宮崎）2013 年 5 月 24-26 日
- [49] 池園哲郎：（教育講演）外リンパ瘻の臨床－診断のバイオマーカーCTP の診断性能と診断基準改定：第 114 回日本耳鼻咽喉科学会総会（札幌市）2013.5.15-18
- [50] 池園哲郎：（International Panel discussion）Decision making in ear surgery：第 23 回日本耳科学会総会（宮崎）2013.11.24-26
- [51] 池園哲郎：（公募インストラクションコース）外リンパ瘻（CTP 検査の有用性）第 23 回日本耳科学会総会（宮崎県宮崎市）2013.11.24-26
- [52] 杉崎一樹、松田帆、新藤晋、池園哲郎、加瀬康弘：滲出性中耳炎治療中に発症した外リンパ瘻確実症例：第 114 回日本耳鼻咽喉科学会総会（札幌市）2013.5.15-18
- [53] 坂本圭、小渕千絵、城間将江、松田帆、池園哲郎：人工内耳装用者の聴覚情報処理に関する研究－倍速音声と背景要因に関する検討－：第 58 回日本聴覚医学会総会（松本市）2013.10.24-25
- [54] 池園哲郎：外リンパ瘻診断基準の改定と診断精度評価：第 58 回日本聴覚医学会総会（松本市）2013.10.24-25
- [55] 小林泰輔、伊藤広明、兵頭政光、池園哲郎：当科における外リンパ瘻手術例の検討：第 72 回日本めまい平衡医学会総会（大阪市）2013.11.13-15
- [56] 杉崎一樹、新藤晋、池園哲郎、伊藤彰紀、柴崎修、水野正浩、井上智恵、加瀬康弘：CT から予想された所見と異なる MRI、前庭機能所見を呈した内耳奇形症例：第 72 回日本めまい平衡医学会総会（大阪府大阪市）2013.11.13-15
- [57] 松田帆、杉崎一樹、新藤晋、池園哲郎、加瀬康弘：CTP 検出法による迷路瘻孔の診断：第 23 回日本耳科学会総会（宮崎県宮崎市）2013.11.24-26
- [58] Kaga K: New classification of Auditory Nerve Disease (Dr. Kaga)/

- Auditory Neuropathy (Dr. Starr). 2nd Meeting of European Academy of ORL-HNS and CE ORL-HNS 2013.4.29 Nice
- [59] Kaga K: Bilateral Microtia and Atresia. Cooperated reconstructive surgery for shape and function by plastic surgeon and otologist. 20th World Congress of the International Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies, June 2, 2013 Seoul
- [60] Kaga K: New born hearing screening and its influence in Japan. 0th World Congress of the International Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies, June 3, 2013 Seoul
- [61] Kaga K: Auditory neuropathy spectrum disorders and cochlear implantation. The 29th Politzer Society Meeting, November 13-16, Antalya (Turkey)
- [62] Masuda T, Kaga K: Relationship between acquisition of motor function and vestibular function in children with bilateral severe hearing loss. The 29th Politzer Society Meeting, November 13-16, Antalya (Turkey)
- [63] Minami S, Yamamoto N, Takegoshi H, Shinjo Y, Enomoto C, Kaga K: Intracochlear electrically evoked auditory brainstem responses in cochlear implantation of children with inner ear malformations during surgery. The 29th Politzer Society Meeting, November 13-16, Antalya (Turkey)
- [61] Masuda T, Takegoshi H, Kaga K: Development of the vestibular function in severe hearing loss children. The 27th Barany Society Meeting, June 10-13, Sweden
- [62] 朝戸裕貴：小耳症・外耳道閉鎖症の耳介・外耳道形成術の新しい動き．第9回青空の会、第8回TCの会 2013.1.19 千代田区
- [63] 増田毅、加我君孝：前庭機能低下を呈した高度難聴児の前庭機能の発達的变化．第114回日本耳鼻咽喉科学会 2013.5.16-18 札幌市
- [64] 新正由紀子、加我君孝：新生児聴覚スクリーニングを経た5～7歳児の状況について．第114回日本耳鼻咽喉科学会 2013.5.16-18 札幌市
- [65] 木戸口正典、南修司郎、竹腰英樹、加我君孝：人工内耳埋込術を施行した Noonan 症候群の2症例．第114回日本耳鼻咽喉科学会 2013.5.16-18 札幌市
- [66] 南修司郎、山本修子、永井遼斗、加我君孝：内耳奇形24例の人工内耳手術の検討．第24回日本頭頸部外科学会 2014.1.31 高松市
- [67] 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 2012.10.12 京都市
- [68] 加我君孝：両側小耳症・外耳道閉鎖に対する手術～2つの耳の形と機能を再建する～. 東京都耳鼻咽喉科医会学術講演会 2012.6.9 新宿区
- [69] 朝戸裕貴：小耳症の手術の新たな工夫. 第 8 回青空の会、第 7 回 TC の会 2013.1.20
- [70] 加我君孝：小耳症・外耳道閉鎖症と術後の骨導補聴器から気導補聴器へ. 第 8 回青空の会、第 7 回 TC の会 2013.1.20
- [71] Mutai H, Suzuki N, Shimizu A, Torii C, Namba K, Kudoh J, Kosaki K, Matsunaga T. Target-captured next generation sequencing of reported deafness genes reveals variability of genetic background of hereditary hearing loss in Japan. 9th Molecular Biology of Hearing & Deafness Conference the Stanford School of Medicine in Stanford, California, USA 2013 年 6 月 22-25 日
- [72] Namba K, Kaneko H, Masuda S, Mutai H, Usui S, Matsunaga T. Novel pathological model of Proximal symphalangism and conductive hearing loss revealed by docking simulation of Noggin and heparin. 9th Molecular Biology of Hearing & Deafness Conference the Stanford School of Medicine in Stanford, California, USA 2013 年 6 月 22-25 日
- [73] Fujioka M, Morimoto N, Sakamoto K, Ohtsu M, Nakano A, Arimoto Y, Masuda S, Sugiuchi T, Masuda S, Kaga K, Matsunaga T. Spectrum of hearing level discrepancy in siblings with the same GJB2 mutation in Japanese. 9th Molecular Biology of Hearing & Deafness Conference the Stanford School of Medicine in Stanford, California, USA 2013 年 6 月 22-25 日
- [74] 阪本浩一、大津雅秀、松永達雄. 長期の聴力経過が観察可能であった Pendred 症候群の 3 例 第 114 回 日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 札幌市 2013 年 5 月 15-18 日
- [75] 松永達雄、渡部高久、南修司郎、守本倫子、阪本浩一、杉内智子、小川郁、加我君孝. 次世代シーケンサーを用いた難聴遺伝子解析と原因診断への活用 第 114 回 日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 札幌市 2013 年 5 月 15-18 日
- [76] 水足邦雄、仲野敦子、有本友季子、増田佐和子、阪本浩一、守本倫子、瀧口哲也、小河原 昇、加我君孝、松永達雄. *CDH23* 遺伝子変異による遺伝性難聴の臨床像 第 114 回 日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 札幌市 2013 年 5 月 15-18 日

- [77] 松永達雄、加我君孝、仲野敦子、有本友季子、杉内智子、泰地秀信、守本倫子、阪本浩一、大津雅秀、増田佐和子、小河原昇. 前庭水管拡大症で認められた *SLC26A4* 遺伝子変異と臨床的特徴 第 8 回日本小児耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 前橋市 2013 年 6 月 20-21 日
- [78] 藤岡正人、守本倫子、阪本浩一、大津雅秀、仲野敦子、有本友季子、増田佐和子、杉内智子、益田慎、加我君孝、松永達雄. 同一の *GJB2* 遺伝子変異を有する同胞 (兄弟姉妹) の聴覚 第 8 回日本小児耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 前橋市 2013 年 6 月 20-21 日
- [79] 中村奈津子、藤波芳、野田徹、松永達雄、加我君孝、林孝彰、角田和繁. Auditory neuropathy を伴う常染色体優性視神経萎縮症の 1 例 第 61 回日本臨床視覚電気生理学会 大阪 2013 年 10 月 4-5 日
- [80] 松永達雄、藤岡正人、加我君孝. 次世代シーケンシングで *MYO15A* 遺伝子変異が認められた先天性難聴の孤発例の 1 例 第 58 回日本聴覚医学会総会・学術講演会 松本市 2013 年 10 月 24-25 日
- [81] 高橋優宏、荒井康裕、植草智子、中川辰雄、松永達雄、宇佐美真一. 遺伝子診断と術中 EABR が人工内耳に有効であった Auditory neuropathy spectrum disorder 症例 第 58 回日本聴覚医学会総会・学術講演会 松本市 2013 年 10 月 24-25 日
- [82] 有本友季子、仲野敦子、工藤典代、松永達雄. 難聴遺伝子解析を行った当科難聴症例の検討 第 58 回日本聴覚医学会総会・学術講演会 松本市 2013 年 10 月 24-25 日
- [83] 務台英樹、難波一徳、加我君孝、松永達雄. 孤発例の先天性難聴患者における稀少難聴原因候補の同定 第 23 回日本耳科学会総会・学術講演会 宮崎市 2013 年 11 月 24-26 日
- [84] 難波一徳、加我君孝、新谷朋子、藤井正人、松永達雄. Auditory Neuropathy 患者で新たに同定された 2 種類の変異型 *OPA1* 蛋白質の構造予測と分子病態 第 23 回日本耳科学会総会・学術講演会 宮崎市 2013 年 11 月 24-26 日
- [85] 福本一郎、仲野敦子、有本友季子、松永達雄、工藤典代. *CDH23* 遺伝子変異が検出された難聴 5 症例の検討 第 23 回日本耳科学会総会・学術講演会 宮崎市 2013 年 11 月 24-26 日
- [86] 高橋優宏、植草智子、中川辰夫、松永達雄、宇佐美真一. 人工内耳埋め込み術中に EABR を施行した Auditory neuropathy spectrum disorder 症例 第 23 回日本耳科学会総会・学術講演会 宮崎市 2013 年 11 月 24-26 日
- [87] 大友章子、南修司郎、永井遼斗、榎本千江子、松永達雄、藤井正人、新正由紀子、加我君孝、坂田英明. Waardenburg 症候群 II 型に対する小児人工内耳埋め込み術後の聴覚・言語

- 発達について 日本耳鼻咽喉科学会東
京都地方部会・学術講演会 東京
2014年3月15日
- [88] 坂田阿希、熊川孝三、阿部聡子、宇佐
美真一、山嵜達也: GJB2 と SLC26A4
の複合ヘテロ遺伝子変異が見出された
先天性難聴の一家系第 58 回日本聴覚
医学会 2013.10.24-25 松本
- [89] 赤松裕介、尾形エリカ、樫尾明憲、狩
野章太郎、柿木章伸、岩崎真一、廣田
栄子、山嵜達也: 当科における Neural
Response Telemetry データの検討」第
58 回日本聴覚医学会 2013.10.24-25
松本
- [90] 尾形エリカ、赤松裕介、狩野章太郎、
樫尾明憲、柿木章伸、岩崎真一、山嵜
達也: 高音漸傾型感音難聴に対しハイブ
リッド型人工内耳埋め込みを行った 1
例」第 58 回日本聴覚医学会
2013.10.24-25 松本
- [91] 鴨頭輝、狩野章太郎、樫尾明憲、坂本
幸士、柿木章伸、岩崎真一、山嵜達也
内耳奇形症例における人工内耳埋め込
み術中の gusher の予測」第 23 回日本
耳科学会 2013.11.24-26 宮崎
- [92] 五十嵐一紀、星雄二郎、樫尾明憲、狩
野章太郎、尾形エリカ、赤松裕介、山
嵜達也: 人工内耳埋め込み術を施行した
Common Cavity の 5 症例」第 23 回日
本耳科学会 2013.11.24-26 宮崎
- [93] 狩野章太郎、宇佐美真一、熊川孝三、
高橋晴雄、東野哲也、内藤泰、土井勝
美、伊藤健、鈴木光也、坂田英明、工
穰、岩崎聡、柿木章伸、山嵜達也: 高音
急墜型感音難聴の純音聴力閾値と語音
聴取能との関係」第 23 回日本耳科学会
2013.11.24-26 宮崎
- [94] 吉川弥生、木下淳、松本有、山嵜達也:
細胞接着分子カドヘリン 11 は中耳の
正常な発達に必須である」第 23 回日本
耳科学会 2013.11.24-26 宮崎
- [95] Matsumoto Y, Kataoka K, Yamasoba
T. Intravital Imaging of Drug
Delivery Systems and Auditory Hair
Cells. 12th Taiwan-Japan Conference
on Otolaryngology Head and Neck
Surgery 2013.12.5-7 台湾
- [96] Kawano A, Nishiyama N,
Kawaguchi S, Ikeya J, Tomizawa A,
Keshino Y, Nonami N, Suzuki M:
Revision cochlear implant surgery in
children. 11th European Symposium
on Paediatric Cochlear Implantation
(Istanbul, Turkey) (2013.5.23~26)
- [97] Kawano A, Nishiyama N, Kawaguchi
S, Ikeya S, Suzuki M: A case of
atlanto-axial rotatory fixation in
cochlear implant surgery. 11th
European Symposium on Paediatric
Cochlear Implantation (Istanbul,
Turkey) (2013.5.23~26)
- [98] Ikeya J, Kawano A, Nishiyama N,
Kawaguchi S, Tomizawa A, Keshino
Y, Nonami N, Suzuki M: Cochlear
implantation after meningitis in
children. 11th European Symposium

- on Paediatric Cochlear Implantation (Istanbul, Turkey) (2013.5.23~26)
- [99] Keshino Y, Kawano A, Tomizawa A, Nonami N, Ayusawa E, Nagumo M, Matsushima T, Nishiyama N, Kawaguchi S, Ikeya J, Saito Y, Hazama M, Suzuki M: Cochlear implantation in a child with Noonan syndrome. 11th European Symposium on Paediatric Cochlear Implantation (Istanbul, Turkey) (2013.5.23~26)
- [100] Hazama M, Nakahara K, Sakota T, Kawano A, Suzuki M, Kitano H, Enomoto M: Results in monosyllabic words test of children with cochlear implants in Japan. 11th European Symposium on Paediatric Cochlear Implantation (Istanbul, Turkey) (2013.5.23~26)
- [101] Ikeya J, Kawano A, Nishiyama N, Kawaguchi S, Tomizawa A, Keshino Y, Nonami N, Sato K, Ohashi M, Suzuki M: Cochlear implantation after meningitis. The 9th Asia Pacific Symposium on Cochlear Implants and Related Sciences (Hyderabad, India) (2013.11.26~29)
- [102] Hazama m, Nakahara K, Sakoda T, Yajin S, Hojo T, Kawano A, Suzuki M, Kitano H, Enomoto T: Cochlear implant post-operative hearing response of infants provided with hearing aids with FM systems 3-4 Months after Birth-Comparison to Those without FM Systems-. The 9th Asia Pacific Symposium on Cochlear Implants and Related Sciences (Hyderabad, India) (2013.11.26~29)
- [103] 河口幸江, 河野 淳, 西山信宏, 許斐氏元, 白井杏湖, 鈴木 衛: 人工内耳装用児の聴取能と就学状況の検討. 第 114 回日本耳鼻咽喉科学会 (札幌) (2013.5.15~18)
- [104] 河野 淳, 白井杏湖, 西山信宏, 河口幸江, 鈴木 衛: 早期手術より間隔をあけて反対側に人工内耳植え込み術施行の学童例. 第 75 回耳鼻咽喉科臨床学会 (神戸) (2013.7.11~12)
- [105] 河野 淳, 白井杏湖, 富澤文子, 芥野由美子, 野波尚子, 南雲麻衣, 河口幸江, 鈴木 衛, 齋藤友介: 長期人工内耳装用者の音質、不満点についての検討. 第 58 回日本音声言語医学会 (高知) (2013.10.17~18)
- [106] 富澤文子, 河野 淳, 芥野由美子, 野波尚子, 鮎澤詠美, 西山信宏, 鈴木 衛: 成人人工内耳装用者の補聴器併用症例について. 第 58 回日本音声言語医学会 (高知) (2013.10.17~18)
- [107] 芥野由美子, 河野 淳, 富澤文子, 野波尚子, 鮎澤詠美, 南雲麻衣, 西山信宏, 河口幸江, 鈴木 衛: 人工内耳装用成人における雑音下での聴取成績と主観的評価. 第 58 回日本音声言語医

- 学会（高知）（2013.10.17～18）
- [108] 河口幸江，河野 淳，富澤文子，萩原 晃，西山信宏，許斐氏元，小林賀子，白井杏湖，芥野由美子，野波尚子，鈴木 衛：人工内耳装用児の就学時における聴取能力の検討. 第 58 回日本聴覚医学会（松本）（2013.10.24～25）
- [109] 富澤文子，河野 淳，芥野由美子，野波尚子，鮎澤詠美，西山信宏，河口幸江，白井杏湖，鈴木 衛，齋藤友介：当科における両耳人工内耳装用児の検討. 第 58 回日本聴覚医学会（松本）（2013.10.24～25）
- [110] 野波尚子，河野 淳，富澤文子，芥野由美子，鮎澤詠美，南雲麻衣，西山信宏，河口幸江，白井杏湖，鈴木 衛，齋藤友介：手術時年齢が 70 歳以上の人工内耳症例の検討. 第 58 回日本聴覚医学会（松本）（2013.10.24～25）
- [111] 芥野由美子，河野 淳，富澤文子，野波尚子，鮎澤詠美，南雲麻衣，西山信宏，河口幸江，白井杏湖，鈴木 衛，齋藤友介：人工内耳装用児における構音検査の成績に寄与する因子の検討. 第 58 回日本聴覚医学会（松本）（2013.10.24～25）
- [112] 齋藤友介，河野 淳，富澤文子，芥野由美子，野波尚子，西山信宏，鈴木 衛：人工内耳児を装用する小学校高学年および中学生の国語力に関する検討. 第 58 回日本聴覚医学会（松本）（2013.10.24～25）
- [113] 西尾のり子，河野 淳，富澤文子，

芥野由美子，野波尚子，鮎澤詠美，南雲麻衣，白井杏湖，鈴木 衛：当院における乳幼児補聴器外来の現状. 第 58 回日本聴覚医学会（松本）（2013.10.24～25）

- [114] 河口幸江，河野 淳，萩原 晃，西山信宏，許斐氏元，小林賀子，白井杏湖，鈴木 衛：再植込術を行った人工内耳症例の検討. 第 23 回日本耳科学会（宮崎）（2013.11.24～26）

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

【PCT】発明の名称：未変性 Cochlin-tomoprotein (CTP) に反応する抗体及びそれを用いた CTP の測定方法
出願人：学校法人埼玉医科大学
発明者：池園哲郎、志風沙登美
特許番号：取得中

公開番号：WO/2012/133898

（2012 年 10 月 4 日）

出願番号：PCT/JP2012/058988

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Ⅲ. 分担研究報告

疾患の発症メカニズムの解析・ 疾患特異的iPSの構築に関する研究

研究分担者 伊藤 壽一 京都大学教授

研究要旨

難聴は他者とのコミュニケーションに際し大きな障害となり、生活の質（QOL）の低下を引き起こす為、治療法の開発が期待される疾患の一つである。しかし、難聴を引き起こす原因は多様であり、多くの場合発症メカニズムが不明で、そのため効果的な治療法が確立されていない。そこで本研究ではこれらの問題に対応するため、遺伝性難聴の発症メカニズムの解明と治療法の開発を行うための疾患モデル作成の為の疾患特異的 iPS 細胞の構築を行った。遺伝性難聴の発症メカニズム解明のため、まずヒト疾患モデル作製に先立ち、疾患モデルマウス iPS 細胞を用いて疾患メカニズム解析の為のモデル作成に必要な検討を行った。それと並行して、疾患特異的ヒト iPS 細胞の樹立と、ヒト iPS 細胞からの内耳有毛細胞分化誘導法の検討を行った。これらの検討の結果から、難聴患者由来 iPS 細胞とこれらの iPS 細胞を用いた難聴発症メカニズム解析に必要な検討方法が確立された。

遺伝性難聴の保因者頻度の解析については、昨年までに解析した健康診断のゲノムサンプルに加えて、新たに、オージオグラムを含む詳細な健康診断データが利用可能な健康診断のゲノムサンプルの収集を今年度より開始することができた。さらには、対象集団が騒音性難聴の頻度が高いものであることから、ゲノムワイド関連解析等により、騒音性難聴の感受性遺伝子の同定、さらには、それらの遺伝子と遺伝性難聴関連遺伝子とのオーバーラップについても解析が可能となることが期待できる。今後、これらの取り組みと疾患特異的iPSの構築の技術を効果的に組み合わせることにより、遺伝性難聴の保因者頻度の把握のみならず、遺伝性難聴を含む難聴の発症メカニズムの解明に寄与できる研究成果が期待できる。

研究分担者

伊藤 壽一 京都大学教授
松尾 洋孝 防衛医科大学校講師

研究協力者

北尻真一郎 京都大学助教

A. 研究目的

難聴発症メカニズムにおける iPS 細胞の役割

難聴発生のメカニズム解析の為のモデルとして様々な遺伝子組み換えマウスが作出されているが、ヒトとマウスでは動物種の違いにより表現形が一致しない可能性が除

外できない。また、ヒト内耳有毛細胞は自発的に再生しない為、患者本人からの疾患部位サンプリングは難しく、さらに、遺伝性難聴、特に非症候性の場合には夭折することがまれであり死後に検体から疾患部位サンプルが得られたとしても、加齢による影響が懸念されるケースがほとんどである。

これらの問題を解決するツールとして、iPS細胞を用いた試験管内 (*in vitro*) モデルが有用であると考えられる。iPS細胞はES細胞と同様に、成体のほぼすべての細胞へと分化しうる多能性幹細胞である。成体の細胞を用いて人工的に作製可能であることから、遺伝性疾患のモデル作成のツールとして脚光を浴びており、既に家族性筋萎縮性側索硬化症等の神経疾患や、遺伝性QT延長症候群等の心疾患をはじめとして疾患モデルが作製され、その有効性が示されている (Ref.1, 2)。

そこで、我々は疾患特異的 iPS細胞を樹立し、これらの iPS細胞を内耳有毛細胞へ分化誘導して内耳 *in vitro* モデルを作製し、難聴発症メカニズムの解析を行う。

さらに、遺伝性難聴の保因者解析や、難聴の病態解明にむけて、オーディオグラム等の詳細な臨床データが利用可能な健康診断のゲノムサンプルの収集を開始する。

2012年度までの進捗

疾患 iPS細胞の樹立

日本難聴データベースに登録されている 鯉・耳・腎症候群の患者由来皮膚線維芽細胞を用いて iPS細胞の樹立を行った。樹立

方法はエピソーマルプラスミドベクターを用いた、*OCT3/4*、*SOX2*、*KLF4*、*LIN28*、*L-MYC*、*P53 shRNA* の6因子の導入によるもので、レトロウイルスを用いた樹立法と異なり、ゲノムへの外来遺伝子挿入がない iPS細胞を得ることができる。得られたコロニーで未分化マーカーの発現と原因遺伝子の一つである *EYA1* 変異が保持されていることが確認された。

ヒト iPS細胞からの内耳有毛細胞分化誘導法の確立

過去の報告を参考に、ヒト iPS細胞から内耳有毛細胞分化誘導を行った。初めに2010年 Oshimaらによって報告された方法 (Ref.3)を参考に成長因子の濃度や添加時期、培養日数など分化誘導条件の検討を行い、内耳前駆細胞マーカーである *PAX2* 陽性の細胞を誘導することに成功した。しかしながら、*PAX2* 陽性細胞が得られる確率は50%で、全細胞に占める割合は0~30%と低い確率であった。また、2012年に Chenらによって報告されたヒト ES細胞からの内耳有毛細胞分化誘導法(Ref. 4)の再現実験を行い、内耳前駆細胞誘導までは再現できたが、内耳有毛細胞誘導には至らなかった。

2013年度の目標

2012年度の成果を踏まえ、2013年度は3つの目標を設定した。一つ目は昨年度から継続して構築中の疾患特異的 iPS細胞の品質評価を行うこと。

次に、現在まで多能性幹細胞からの内耳有毛細胞分化誘導法の報告は神経などに比べて非常に少なく、また効率も低い。加えて、これらの分化誘導法は続報や他研究グループによる引用も見られず、再現性の低さがうかがえる。疾患モデル作製の為にはより効率のよい内耳分化誘導法が必要であると考えられた。

さらに *in vitro* で分化誘導された内耳組織を解析するためには解析方法を確立することも重要である。このために、過去に報告のあった効率の低い分化誘導法でも分化誘導を行えるよう、ヒト iPS 細胞より分化誘導効率が良いとされているマウス iPS 細胞を用いる。さらに、既存のノックアウトマウスで難聴の表現形を示し、詳細な解析がなされているものがあれば、*in vivo* と *in vitro* での解析結果を比較することも可能であり、*in vitro* 難聴モデルの有効性を確認することが可能である。そこで我々のグループで解析を進めている TRIOBP ノックアウトマウス (Ref. 5) から iPS 細胞を作製し、この iPS 細胞から内耳組織を分化誘導して *in vitro* モデルを作製し、疾患メカニズムの解析を行う。

以上のことから、2013 年度の目標として下記 4 点の遂行を目指した。

1. 疾患特異的 iPS 細胞の構築
2. iPS 細胞からの内耳有毛細胞分化誘導法の確立
3. iPS 細胞を用いた疾患モデルの作製と解析
4. 健康診断サンプルの解析

B. 研究方法

本研究において、患者由来細胞を用いた研究に関しては、京都大学大学院医学研究科・医学部及び医学部附属病院 医の倫理委員会の審査、承認を受けた上で遂行された。また実験動物を用いた研究に関しては、京都大学動物実験委員会の審査、承認を受けたうえで遂行された。

1. 疾患特異的 iPS 細胞の構築

昨年度、鰓・耳・腎症候群の患者由来から iPS 細胞の樹立を行い、20 コロニーをピックアップし、品質解析を行っている。

今年度は、それらのなかから 2 株を選び、*in vivo* での分化能検討として、免疫不全マウス (NOG マウス ; NOD/Shi-scid, IL-2R γ null) への移植によるテラトーマ形成能の検討を行った。皮下に形成された腫瘍塊を回収し HE 染色により検討した。

2. iPS 細胞からの内耳分化誘導法の確立

内耳発生過程では、外胚葉→プレプラコード→耳プラコード→耳胞→内耳と発生が進む。これらの発生過程を模した方法でヒト iPS 細胞からの内耳有毛細胞分化誘導を行った。まず、ヒト iPS 細胞から無血清培養によりプレプラコード細胞を誘導した。プレプラコード誘導後、耳プラコード誘導時に作用する細胞増殖因子を添加し、一定期間培養することで耳プラコードを誘導した。それぞれのステップで免疫細胞染色法によって目的とする分化細胞の存在を検討

した。

プレプラコードマーカーとして、SIX1, E-CADHERIN を、耳プラコードマーカーとして、PAX2 をそれぞれ染色した。

3. iPS 細胞を用いた疾患モデルの作製と解析

TRIOBP ノックアウトマウスから MEF を調製し、レトロウイルスを用いて *Oct3/4*, *Sox2*, *Klf4*, *c-myc* を導入し、TRIOBP KO iPS 細胞樹立を試みた。得られたコロニーで外来遺伝子が不活化されていることを RT-PCR 法に及び Ds-Red の発色により検討した。さらにこれらのコロニーの未分化マーカー発現を免疫細胞染色法により確認した。EB を介した *in vitro* 三胚葉分化誘導及び SCID-mouse への移植によるテラトーマ形成試験によって、多分化能の検証を行った。さらに、PCR 法による genotyping により、これらの細胞が TRIOBP KO mouse 由来であるかどうか検討した。

さらに、これらのマウス iPS 細胞から内耳有毛細胞の分化誘導を試みた。最初に Oshima らの方法 (Ref. 3) を用いた分化誘導を行い、Pax2 陽性内耳前駆細胞を得た。次に 2013 年 8 月に Koehler らによって新しい内耳有毛細胞の分化誘導法が報告されたため (Ref. 6)、この方法による誘導が可能であるかどうか、まず、有毛細胞マーカー遺伝子 *Math1* に GFP を融合させた遺伝子を持つ、*Math1*-GFP ES 細胞を用いて再現性の検討を行った。

4. 健康診断サンプルの解析

これまでに収集した健康診断サンプルに加えて、新たに、詳細な健康診断データが利用可能な健康診断のゲノムサンプルの収集を今年度より開始した。とくに、オージオグラムその他、生活習慣病を含む詳細な対象者のデータが利用可能な集団を対象とした。

C. 研究結果

1. 疾患特異的 iPS 細胞の構築

患者由来 iPS 細胞が三胚葉への分化能をもつことが確認された (図 1)。図中の略語は以下の様である。N; neural rosette, M; muscle, A; adipose tissue, E: epithelium.

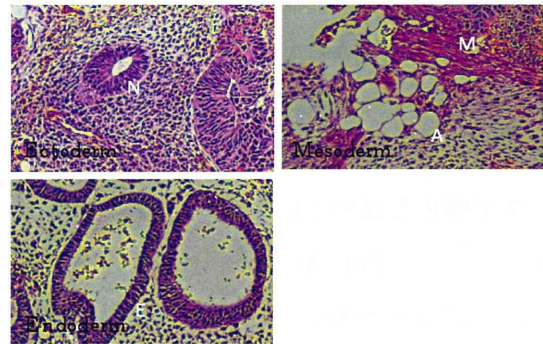


図 1. 疾患特異的 iPS 細胞の *in vivo* 三胚葉分化能検討



図 2. ヒト iPS 細胞由来プレプラコード細胞様細胞

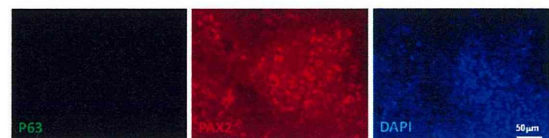


図 3. ヒト iPS 細胞由来内耳前駆細胞様細胞

2. iPS 細胞からの内耳分化誘導法の確立

ヒト iPS 細胞から無血清培養により、プレプラコード細胞を誘導した。これらの細胞を抗 SIX1 抗体、及び抗 E-CADHERIN 抗体を用いて染色したところ、SIX1、E-CADHERIN 共陽性のプレプラコード様細胞が観察された(図 2)。

次に細胞増殖因子添加後の細胞を抗 PAX2 抗体及び抗 P63 抗体(表皮マーカー)を用いて染色したところ、PAX2 陽性、P63 陰性の内耳前駆細胞様細胞の存在が確認された(図 3)。7 回の独立した実験で、同様の結果が得られている。

3. iPS 細胞を用いた疾患モデルの作製と解析

TRIOBP KO マウス MEF から得られたコロニーが iPS 細胞であることを検討した。得られたコロニーにおける外来遺伝子の不活化を RT-PCR 法及び Ds-Red 遺伝子の不活化により確認した。その後、これらのコロニーを免疫細胞染色法により検討し、未分化マーカーの発現を確認した(図 4)。

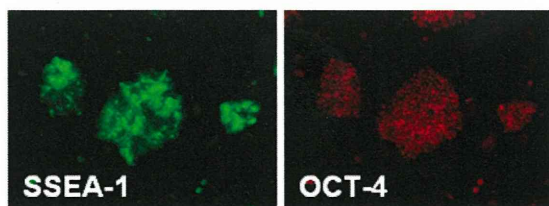


図 4. TRIOBP KO iPS 細胞における未分化マーカーの発現

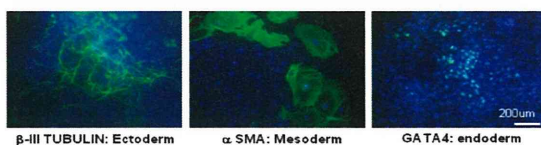


図 5. TRIOBP KO iPS 細胞の *in vitro* 三胚葉分化能検討

embryoid body (EB)を介した *in vitro* 三胚葉分化誘導及び SCID-mouse への移植によるテラトーマ形成試験によって、多分化能の検証を行い、これらの細胞が *in vivo*(図 5) 及び *in vitro* (図 6) で 3 胚葉への分化能をもつことを確認した。

これらの細胞が TRIOBP KO mouse 由来であることは PCR 法による genotyping で確認された。

さらに、これらのマウス iPS 細胞から Oshima らの方法 (Ref. 3) を用いた分化誘導を用いて Pax2 陽性内耳前駆細胞様細胞を得た(図 7)。

次に Koehler らの分化誘導法 (Ref. 6) を用いて、Math1-GFP ES 細胞から hair cell 様細胞が誘導された。これらの細胞は有毛細胞マーカー、MyosinVIIa、Math1 が陽性であり、phalloidin 染色によって、不動毛様の構造体をもつことが示された(図 8)。

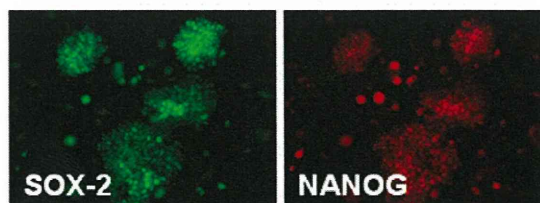


図 6. TRIOBP KO iPS 細胞の *in vivo* 三胚葉分化能検討

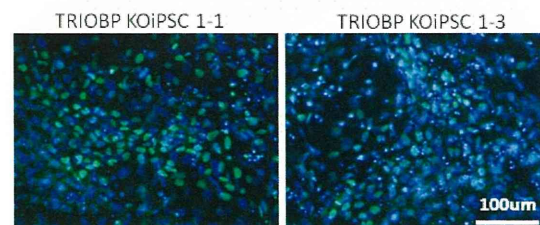


図 7. TRIOBP KO iPS 細胞の *in vitro* 三胚葉分化能検討

図 7. TRIOBP KO iPS 細胞由来内耳前駆細胞様細胞

4. 健康診断サンプルの解析

難聴の保因者頻度の解析については、昨年度までに解析した健康診断サンプル509名に加えて、新たに、オーディオグラムを含む詳細な健康診断データが利用可能な健康診断のゲノムサンプルの収集を今年度より開始することができた。対象集団が騒音性難聴の頻度が高いものであることから、ゲノムワイド関連解析・候補遺伝子解析等により、騒音性難聴の感受性遺伝子の同定、さらには、それらの遺伝子と遺伝性難聴関連遺伝子とのオーバーラップについても解析が可能なサンプルであることも分かった。今後、これらの取り組みと疾患特異的iPSの構築の技術を効果的に組み合わせることにより、遺伝性難聴の保因者頻度の把握のみならず、遺伝性難聴を含む難聴の発症メカニズムの解明に寄与できる研究成果が期待できる。

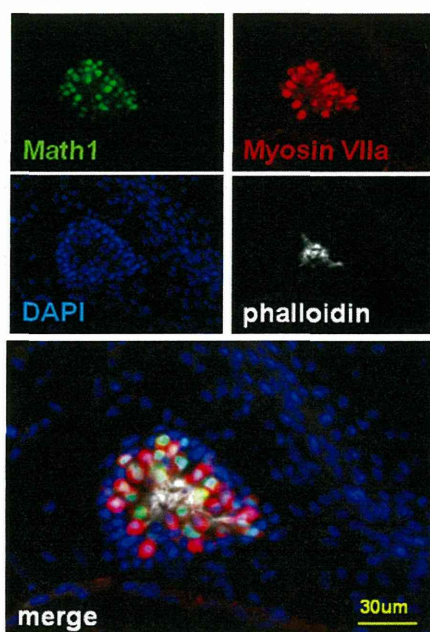


図 8. Math1-GFP mouse ES 細胞由来内耳有毛細胞様細胞

D. 考察

1. 疾患特異的 iPS 細胞の構築

疾患患者由来 iPS 細胞から三つの胚葉を含むテラトーマが得られた。このことからこれらの iPS 細胞は多分化能をもつ、品質の良い iPS 細胞であることが示唆された。

2. iPS 細胞からの内耳分化誘導法の確立

ヒト iPS 細胞から、再現性良く内耳前駆細胞様細胞誘導を行う為の方法が確立された。

過去の方法に比べ再現性が良いことから、有毛細胞誘導を行うための大きなブレイクスルーであると考えられる。また、本研究においては iPS 細胞からの分化誘導が可能であることが必須であるが、過去の多能性幹細胞からの内耳細胞誘導法はすべてヒト ES 細胞を用いたものであり、ヒト iPS 細胞からの分化誘導ははまだ報告されていない。その点から考えても本研究で得られた分化誘導法は大変インパクトの高い成果であると考えられる。

3. iPS 細胞を用いた疾患モデルの作製と解析

前述の様々な解析により、TRIOBP KO MEF から得られたコロニーが未分化性、多分化能をもつ品質の良いマウス iPS 細胞であることが確認された。さらにこれらの iPS 細胞は内耳前駆細胞様細胞へ分化可能