

であることが示され、*in vitro*モデル作製の為の有用なツールとなりうることが示唆された。さらに、Koehler らの分化誘導法の再現性確認実験の結果から内耳有毛細胞誘導が可能であるということが確認された。これらの結果から、TRIOBP KO iPS 細胞を用いた内耳 *in vitro* モデルの作製に必要な技術が確立されたと考えられる。

#### 4. 健康診断サンプルの解析

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サンプルの収集する体制を構築できたことより、難聴の保因者頻度に関する解析のみならず、遺伝性難聴（単一遺伝子疾患）や騒音性難聴（多因子疾患）を含む難聴の病態解明のための研究リソースと研究基盤の構築を進めることができた。現在進めているiPS研究については、当初は単一遺伝子変異が対象となるが、将来的には、複数の変異をもつ遺伝性難聴や騒音性難聴を含む多因子疾患も理想的なターゲットになることが期待されている。KOマウスでは、単一遺伝子疾患の解析は可能であるが、iPSはヒト細胞である特徴のみならず、多因子の全てを受継ぐ事になるため、個人差を有するヒト疾患の解析において他の研究手段にはない特徴と利点がある。そのため、健康診断サンプルの解析による取り組みは、今後のiPS研究の進展の際の病態解明のための研究アプローチにおいても大いに役立つことが期待できる。

### E. 結論

#### 1. 疾患特異的 iPS 細胞の構築

患者由来 iPS 細胞の多分化能を確認した。

#### 2. iPS 細胞からの内耳分化誘導法の確立

iPS 細胞からの高効率な内耳前駆細胞分化誘導法が確立された。

#### 3. iPS 細胞を用いた疾患モデルの作製と解析

TRIOBP KO iPS 細胞が樹立された。また *in vitro* 疾患モデルを作製するために必要な内耳分化誘導法の再現実験に成功した。

#### 4. 健康診断サンプルの解析

オーディオグラム等の詳細なデータが利用可能な健康診断サンプルの収集を開始することができ、保因者頻度や難聴の病態解明のための研究基盤を構築することができた。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

なし

#### 2. 学会発表

なし

### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

#### 1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

参考文献

1. Dimos JT et al., Induced pluripotent stem cells generated from patients with ALS can be differentiated into motor neurons. *Science* 2008; 321:1218-1221.
2. Egashira T et al., Disease characterization using LQTS-specific induced pluripotent stem cells. *Cardiovasc Res.* 2012; 95(4): 419-429.
3. Oshima K et al., Mechanosensitive hair cell-like cells from embryonic and induced pluripotent stem cell. *Cell.* 2010; 141(4): 704-716.
4. Chen W et al., Restoration of auditory evoked responses by human ES-cell-derived otic progenitors. *Regen Med.* 2012; 490(7419): 278-82.
5. Kitajiri S et al., Actin-bundling protein TRIOBP forms resilient rootlets of hair cell stereocilia essential for hearing. *Cell* 2010; 141(5): 786-798.
6. Koehler KR et al., Generation of inner ear sensory epithelia from pluripotent stem cells in 3D culture. *Nature* 2013; 500(7461): 217-221.

## SLC26A4遺伝子変異を伴う前庭水管拡大と 感音難聴の関係に関する研究

分担研究者：喜多村健（東京医科歯科大学耳鼻咽喉科）

共同研究者：伊藤 卓（土浦協同病院耳鼻咽喉科）

### 研究要旨

Pendred症候群のモデルマウスを用いて、前庭水管拡大という内耳奇形が難聴の発症や変動に必須か否かについての検討を行った。Tet-on systemを応用したbinary transgenic mouseと*Slc26a4*-null mouseを組み合わせることで、さまざまな前庭水管径を示すマウスを作成することが出来た。SLC26A4の発現時期と前庭水管径の大きさは強く相関していたが、難聴の発症に前庭水管拡大は必ずしも必要でないことが示された。また、難聴の変動にも前庭水管拡大は必須でないことが判明した。

### A. 研究目的

SLC26A4はペンドレッド症候群と前庭水管拡大を伴う感音難聴の原因遺伝子として広く知られており、本遺伝子の変異は本邦でも数多く報告されている。難聴の発症機序については、古くには頭部外傷や頭蓋内圧の変化が拡大した前庭水管を通じて内耳に障害を与えるとされてきたが、現在では内リンパのホメオスタシスの破たんが最も有力な原因だろうと考えられている。このことは前庭水管のサイズや合併する蝸牛奇形の有無と難聴の程度が相関しない、という数多くの報告と一致する。そこで、われわれはペンドレッド症候群のモデルマウスを用いて、前庭水管拡大と感音難聴の関係について検討した。

### B. 研究方法

Tet-on system を用いた binary

transgenic mouse (Tg[E];Tg[R]) と *Slc26a4*-null mouse (*Slc26a4*<sup>ΔA</sup>) を組み合わせて作成した、SLC26A4機能不全マウス (Tg[E];Tg[R];*Slc26a4*<sup>ΔA</sup>) を用いて実験を行った。本マウスでは、ドキシサイクリンの投与時期を調節することで、SLC26A4タンパクの発現時期を生理的な範囲の枠内で自由に誘導することが出来る。このマウスを用いて、ドキシサイクリンの投与を胎生16.5日、あるいは胎生18.5日からスタートするようなモデル、initiate model (IE16.5、IE18.5) と、逆に発現が胎生17.5日でストップするようなモデル、discontinued model (DE17.5) を作成した。それぞれのモデルにおいて、生後1カ月の時点でABRを行って聴力レベルを測定した。さらに Discontinued model については、2,3,4,5,6,9,12カ月の時点においてもABR測定を行った。また、膜迷路と骨迷路の形態

を評価するために、*paint filling analysis*と組織切片を用いた前庭水管径の測定を行った。

### C. 研究結果

Initiation modelにおけるABRの結果では、胎生16.5日でドキシサイクリンの投与を開始すると(IE16.5)、聴力レベルはほぼ正常に保たれたが、ドキシサイクリンの投与が2日遅れて胎生18.5日から開始すると(IE18.5)、聴力レベルは高度難聴となった。また、内リンパ管、前庭水管のサイズは投与開始時期と強い相関を示していた。

Discontinued modelでは、胎生17.5日でドキシサイクリンの投与を終了すると(IE17.5)聴力レベルは高度難聴を示したが、内リンパ管の拡大は認められなかった。胎生17.5日でドキシサイクリンの投与を終了した

discontinued model (DE17.5) のABRを経時的に観察すると、生後9カ月以降に難聴の進行が認められ、約3割の耳においては、聴力の変動も確認された。

### D. 考察

*SLC26A4* 機能不全マウス (Tg[E]; Tg[R];*Slc26a4<sup>ΔA</sup>*) を用いてさまざまなサイズの前庭水管を持ったマウスを作成した結果、聴力レベルは前庭水管のサイズと強く相関することが確認された。このことは、*SLC26A4*が前庭水管の形成に大きく関わっていることを改めて示していた。逆に、前庭水管拡大がないマウスにおいても高度

難聴が発症したことから、前庭水管拡大が難聴を引き起こす唯一の原因ではないことが分かった。また、本マウスにおける難聴は長期経過で変動や進行を認めることから、人における表現型を非常に良く再現していると考えられた。今後、前庭水管拡大に伴う難聴において、その変動や進行のメカニズム解明や予防法の開発などに本マウスは役立つと考えられた。

### E. 結論

Tet-on system を用いた binary transgenic mouse と *Slc26a4*-null mouse を組み合わせて作成した *SLC26A4* 機能不全マウスは、人におけるペンドレッド症候群や前庭水管拡大を伴う難聴の表現型を非常に良く再現していた。前庭水管拡大は、本疾患に伴う難聴の原因ではなく一つの合併症に過ぎないことが確認された。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. Kimura Y, Kubo S, Koda H, Shigemoto K, Sawabe M, Kitamura K. RNA analysis of inner ear cells from formalin fixed paraffin embedded (FFPE) archival human temporal bone section using laser microdissection. A technical report. *Hear Res* 302:26-31, 2013

2. Nishio A, Noguchi Y, Sato T, Naruse T, Kimura A, Takagi A, Kitamura K. A *DFNA5* Mutation Found in Japanese Families with Autosomal Dominant Hereditary Hearing Loss. *Ann Hum Genet*(in press)
3. 本田圭司、野口佳裕、加藤智史、奥野秀次、喜多村 健：網羅的解析により診断された耳小骨奇形を合併したミトコンドリア 3243 変異例. *Otol Jpn* 23:227-32, 2013
4. 野口佳裕、伊藤卓、川島慶之、西尾綾子、本田圭司、喜多村 健：前庭水管拡大症を伴う SLC26A4、ATP6V1B1、SIX1 変異例の聴平衡覚所見の検討. *Equilibrium Res* 72:97-106, 2013
5. Ito T, Li X, Kurima K, Choi BY, Wangemann P, Griffith AJ.: *Slc26a4*-insufficiency causes fluctuating hearing loss and stria vascularis dysfunction. *Neurobiol Dis*. 2014(in press).
6. Ito T, Choi BY, King KA, Zalewski CK, Muskett J, Chattaraj P, Shawker T, Reynolds JC, Butman JA, Brewer CC, Wangemann P, Alper SL, Griffith AJ.: SLC26A4 genotypes and phenotypes associated with enlargement of the vestibular aqueduct. *Cell Physiol Biochem*. 2011;28:545-52.
7. Choi BY, Kim HM, Ito T, Lee KY, Li X, Monahan K, Wen Y, Wilson E, Kurima K, Saunders TL, Petralia RS, Wangemann P, Friedman TB, Griffith AJ.: Mouse model of enlarged vestibular aqueducts defines temporal requirement of *Slc26a4* expression for hearing acquisition. *J Clin Invest*. 2011 Nov;121:4516-25.
2. 学会発表
1. 野口佳裕、西尾綾子、武田憲昭、島田亜紀、千田いつみ、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
2. 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
3. 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
4. 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

5. Taku Ito, Byung Yoon Choi, Philine Wangemann, and Andrew J Griffith.:  
Mouse Model Of Fluctuating Hearing Loss Associated With Enlargement of The Vestibular Aqueduct. 36<sup>th</sup> ARO meeting, 2013.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 外片側小耳症・外耳道閉鎖症例に対する耳介・外耳道形成、 耳小骨連鎖再建術後のカナル型補聴器装用と方向感検査成績

研究分担者 加我 君孝 東京医療センター・名誉臨床研究センター長  
研究協力者 朝戸 裕貴 獨協医科大学病院形成外科教授  
新正 由紀子 東京医療センター・臨床研究センター 医師  
松永 達雄 東京医療センター・臨床研究センター 室長

### 研究要旨

両耳聴の検査法には、スピーカ法による音源定位法とレーザー法による方向感検査がある。前者は音源を角度を用いて表示し、その検査にはスピーカを円周上に配置するため無響室を必要とする。後者は音圧差と時間差を別々に表示することが出来、防音室で検査が狭いスペースで可能である。われわれは片側小耳症・外耳道閉鎖症例に対して、耳介・外耳道形成、耳小骨連鎖再建術を10年以上獨協大学病院形成外科と合同手術に取り組んできた。各症例の術前聴力は平均60～70dBの聴力レベルであり、術後の聴力改善の程度は、多くの症例で日本耳科学会の術後の改善レベルの判定基準の15dBに達するが、それでも自覚的には十分なレベルとは言えない。そのため、われわれは平成25年より、術側にカナル型補聴器を装用させ、不足する聴力を補うプロジェクトを開始した。対象症例の年齢は13歳～18歳の8例で、カナル型補聴器装用期間は0～6ヶ月である。方向感検査にはリオン社製のTC-01を用いた。良聴側には50dBの500Hzバンドノイズを用いた。補聴器側には頭蓋内の正中に聴こえるように与える音圧を調整した。被験者はバーチャルに頭蓋内を移動する音像が右へ偏倚するとスイッチボックスのボタンの右を押し、左に偏倚すると左を押しように指示した。結果は、8症例中7例が音圧差による頭蓋内の音像の移動をフォローアップ可能であった。しかし時間差については4症例でフォローアップが可能であった。各症例ともカナル型補聴器を装用によって授業や生活での聴き取りの向上したことを強調しており、このような主観と方向感検査による客観的データは関連があると考えられる。

### A. 研究目的

われわれは、片側（両側）小耳症・外耳道閉鎖症に対して、耳介・外耳道形成、耳小骨連鎖再建術を、獨協医科大学病院形成外科と合同手術に取り組んできた。各症例の術前聴力は平均60～70dBであり、術後の聴

力改善の程度は多くの症例で日本耳科学会の術後の改善レベルの判定基準の15dBに達するが、それでも自覚的には十分なレベルとは言えないため、今年度（平成25年度）より、片側小耳症・外耳道症例に対し、術側にカナル型補聴器を装用させ、方向感検

査を行い、聴き取りの向上と方向感の実現について調べる（図1）

1. 両耳気導補聴と方向感検査（武田、加我）
2. 両耳骨導補聴と方向感検査（Kaga, et al.）

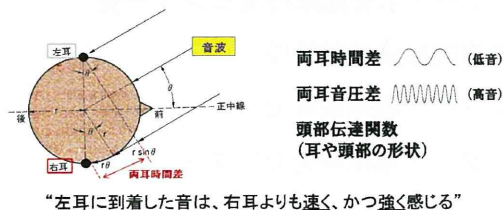


図1. 補聴と方向感検査

表1. 片側小耳症・外耳道閉鎖症 8例のプロフィール

症例	手術年齢	現在の年齢	聴力検査(4分法) dB		聴力検査(6分法) dB	
			右	左	右	左
1	11	16	12.5	83.8	11.7	83.8
2	10	19	11.3	86.3	11.7	84.2
3	10	14	7.5	66.3	4.2	60.0
4	10	17	63.8	6.3	60.8	6.7
5	9	17	11.3	62.5	6.7	62.5
6	10	13	63.8	3.8	65.8	3.3
7	11	15	7.5	57.5	6.7	60.0
8	14	15	62.5	8.8	62.5	6.7



図2. カナル型補聴器装用



佐藤恒正博士とリオン社によって開発された方向感自動記録装置(TD-01)



方向感検査の方法と記録の例



(右)耳掛型補聴器装用下の方向感検査のために作製したレシーブ (左)通常の検査のためのレシーブ

図3. 検査方法

## B. 研究方法

片側小耳症の13~18歳の8例（表1）に術後耳にカナル型補聴器を装用させ（図2）、方向感検査をする。同時に小耳症の遺伝子検査も実施する。

\* レシーバ法による方向感検査（リオン社 TD-01）（図3）

1. 音圧差の閾値（5波形の平均dBで表す）を測定する。
2. 時間差の閾値（5波形の平均  $\mu$  secで表す）を測定する。

（倫理面への配慮）

検査はInformed consentを個々に得て、聴覚検査と小耳症遺伝子検査を行った。

## C. 研究結果

結果を表2にまとめた。これを3群に分けた。第1群：音圧差と時間差の両方が成立。8例中4例、50%であった（図4）。第2群：音圧差は成立するが、時間差は不成立。8例中3例、38%であった（図5）。第3群：音圧差も時間差も成立しない。8例中1例、12%であった。結果を表2にまとめた。これを3群に分けた。第1群：音圧差と時間差の両方が成立。8例中4例、50%であった（図

- 4). 第2群：音圧差は成立するが、時間差は不成立。8例中3例、38%であった（図5）。
- 第3群：音圧差も時間差も成立しない。8例中1例、12%であった。

## D. 考察

表3にわれわれが過去約20年間に組みこんできた方向感研究の論文リストを示した。これを背景に本研究の成果を考察する。全症例ともカナル型補聴器装用により授業



や生活での聴き取りが向上したことを強調しており、このような主観と方向感検査による客観的データは関連があると考えられる。いずれの症例も学校でカナル型補聴器を装着し、両耳聴により実現された聴覚を活用して学んでいる。

外耳道形成術後の耳穴式（カナル型）補聴によって方向感を実現する。

2. 実現される方向感は、音圧差による両耳聴は実現するが、時間差は少数例で可能となった。
3. 片側カナル型補聴器の装着によって、学校生活および日常生活で両耳聴の世界に親しむことが出来るようになる。

## E. 結論

### 1. 片側小耳症・外耳道閉鎖症例に対する

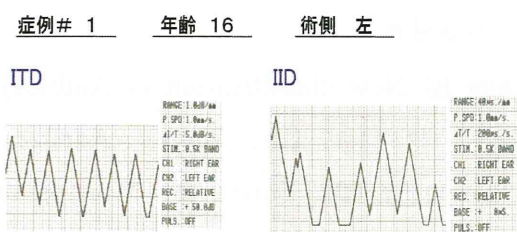


図4. 第1群.  
音圧差と時間差の両方が成立 (4/8)

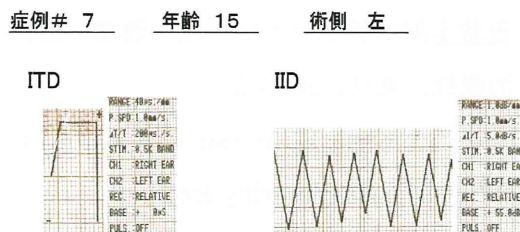


図5. 第2群.  
音圧差は成立するが時間差は不成立 (3/8)

表2. 結果のまとめ

症例	時間差平均	音圧差平均
1	668 $\mu$ sec	15.1 dB
2	Scale out	36.8 dB
3	1204 $\mu$ sec	17.7 dB
4	Scale out	15.2 dB
5	Scale out	Scale out
6	1396 $\mu$ sec	29.0 dB
7	Scale out	16.8 dB
8	1972 $\mu$ sec	17.3 dB
Control	200 $\mu$ sec	6.0 dB

表3. 本研究の背景

(過去20年間のわれわれの方向感研究の論文リスト)

<b>1. 気導処理</b>
岡本ら、中村正一、加我君孝: (両側)外耳道形成術後の補聴器装着下の音像定位. 耳鼻臨 90:277-283, 1997
加我君孝: 方向感検査の臨床応用. 耳鼻臨 92:1263-1269, 1999
加我君孝、朝戸裕貴: 両側小耳症・外耳道閉鎖に対する手術. 耳鼻臨 90:607-619, 2006
武田英彦(指導・加我君孝): 片側あるいは両側の難聴者における両耳聴の研究. 東大医学系研究科 博士論文 1996
<b>2. 骨導処理</b>
Kaga K, Setou M, et al: Bone conducted sound lateralization of ITD and IID in children with bilateral microtia and atresia. Acta Otolaryngol 121:274-227, 2001
Setou M, Kaga K: Binaural interaction of bone conducted Auditory Brainstem Responses. Acta Otolaryngol 121:486-489, 2001
Schmerber S, Kaga K, et al: Time-intensity trade of bilaterally bone-conducted sounds in normal hearing subjects. Rev Laryngol Otol Rhinol 124:179-185, 2003
黒木聡三(指導・加我君孝): 骨導による両耳聴に関する研究—方向感と音源定位. 東大医学系研究科 博士論文 2007
Kuroki S, Kaga K: Better time-intensity trade revealed by bilateral giant magnetostrictive bone conduction. Neuroreport 17:27-31, 2006
<b>3. 中枢処理</b>
Yamada K, Kaga K, et al: Sound lateralization in patients with lesions including auditory cortex. Hearing Res 101:173-180, 1996
Yabe T, Kaga K: Sound lateralization test in adolescent blind individuals. Neuroreport 16:939-942, 2005
Dekio-Hotta S, Kaga K: Comparative study of fixed time versus intensity trade and fixed intensity versus time trade tests in sound lateralization. ANL 33:265-269, 2006

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Kaga K: Vertigo and Balance Disorders in Children. Springer, Germany, 2014.2

Kaga K, Asato H(Ed): Microtia and Atresia Combined Approach by Plastic and Otologic Surgery. KARGER, Switzerland, 2013

加我君孝編：新生児・幼小児の難聴. 診断と治療社、東京、2014.2

Minami S, Kaga K, Matsunaga T., et al : GJB2-associated hearing loss

undetected by hearing screening of newborns. Gene 2013; 532:41-45

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

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

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

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

加我君孝編：新耳鼻咽喉科学. 南山堂、東京、2013.1

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

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

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

### 2. 学会発表

Kaga K: New classification of Auditory Nerve Disease (Dr. Kaga)/ Auditory Neuropathy (Dr. Starr). 2<sup>nd</sup> Meeting of European Academy of ORL-HNS and CE ORL-HNS 2013.4.29 Nice

Kaga K: Bilateral Microtia and Atresia. Cooperated reconstructive surgery for shape and function by plastic surgeon and otologist. 20<sup>th</sup> World Congress of the International Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies, June 2, 2013 Seoul

Kaga K: New born hearing screening and its influence in Japan. 0<sup>th</sup> World Congress of the International Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies, June 3, 2013 Seoul

Kaga K: Auditory neuropathy spectrum disorders and cochlear implantation. The 29<sup>th</sup> Politzer Society Meeting, November 13-16, Antalya (Turkey)

Masuda T, Kaga K: Relationship between acquisition of motor function and vestibular function in children with bilateral severe hearing loss. The 29<sup>th</sup> Politzer Society Meeting, November 13-16, Antalya (Turkey)

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 29<sup>th</sup> Politzer Society Meeting, November 13-16, Antalya (Turkey)

Masuda T, Takegoshi H, Kaga K:

Development of the vestibular function in severe hearing loss children. The 27<sup>th</sup> Barany Society Meeting, June 10-13, Sweden

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  
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

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

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

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

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

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

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

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

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 高度難聴を呈したミトコンドリア 8296 A>G 変異の一家系

分担研究者 熊川孝三、大多和優理、阿部聡子

虎の門病院 耳鼻咽喉科・聴覚センター

### 研究要旨

難聴の原因遺伝子は 100 種類以上あると考えられているが、保険収載された難聴遺伝子検査では Invader Assay 法による解析で高頻度の 13 遺伝子 46 変異を検索している。この中でミトコンドリア遺伝子変異としてはミトコンドリア 1555A>G、3243A>G、7445A>G、8296A>G 変異の 4 つがスクリーニング変異項目として採用されており、前者 2 つに関しては日本人難聴患者で多くの報告がある。

われわれは 30 歳の先天性高度難聴を呈する発端者の男性患者に難聴遺伝子学的検査を行ったところ、8296A>G ホモプラスミー変異を認めた非症候性難聴症例を経験した。本変異での糖尿病を伴わない非症候性難聴の報告は極めてまれであるので、本家系の遺伝様式、聴覚検査および前庭機能検査の結果について報告する。

### A. 症例のプロフィール

患者 : 30 歳男性 (初診時)

生来の両側高度難聴

夫婦ともに先天聾であり、将来難聴の子供が生まれる可能について調べる目的で遺伝子検査を希望し夫婦で来院。

難聴の有無に関わらず、出産の希望あり。ただしその場合は聾学校の傍に引っ越すなど準備必要である。難聴を排除するつもりはないと。

既往 : 特になし

知的障害なし、筋力低下なし、視力障害なし、てんかん発作の既往なし

身長・体重 : 175 cm 64 kg

一般採血 : HbA1c 5.4% 空腹時血糖

91mg/dl , Cre0.89mg/dl 心電図 : 正常  
→糖尿病、腎機能障害、心電図異常は認められず。図 1 に聴力図を、図 2 に本家系の家系図を示した。

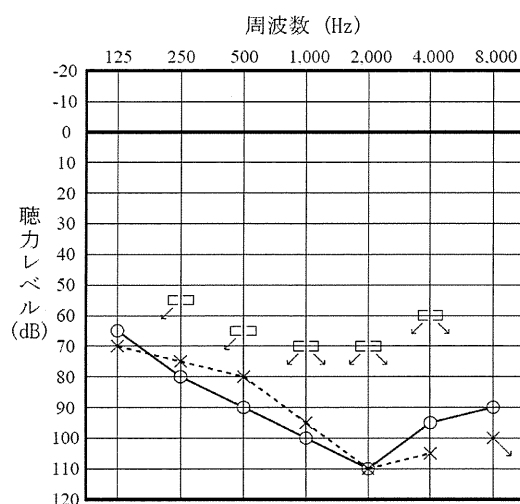


図 1 純音聴力検査

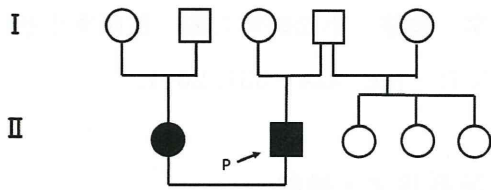


図2 本症例の家系図

## B. 遺伝学的検査結果とカウンセリング 内容

47変異についての Invader Assay ミトコンドリア遺伝子 rRNA *lys8296A>G* ホモプラスミー変異（末梢血）が認められた。

本症例も有する変異は表1に示すように、2009年3月～2013年10月に当科で遺伝学的検査を受けた発端者ならびに血縁ある難聴者106例中のわずか1例であった。

妻の検査結果 右 103.8dB 左 106.7dB

インベーター法および直接シーケンスでも変異は認めず。側頭骨 CT 内耳奇形なし LVAS なし。

発端者の母の結果 聴力検査は年齢相応の変化

遺伝学的検査では *8296A>G* 変異が検出され、ホモプラスミー変異と思われた。したがって母系遺伝である事が判明した。

カウンセリング内容

母系遺伝（子供は母親のミトコンドリアを受け継ぐ）のため、*8296A>G* 変異は父親から子供へ遺伝しない。

次子再発率は

1) パートナーが仮に未知劣性遺伝性難聴

なら、子供は必ず母から片方のアレルを受け継ぐ。難聴児の確率は一般の保因者頻度を1/100と見積もっても、約0.5%

2) 優性遺伝性難聴（両親は健聴なので）は考えにくい。

3) 統計学的な調査から、難聴者同士の結婚で第1子の場合、難聴児が生まれる確率は10%である事が知られている。

したがって次世代に難聴のお子さんが生まれる確率は、0.5%～10%程度と考えられるとカウンセリングを行った。

表1 当院での難聴遺伝学的検査の解析結果

対象:2009年3月～2013年10月に検査を受けた発端者ならびに血縁ある難聴者 n=106

変異	例数	小児期発症	成人後発症
<i>GJB2</i> homo	8	7	1
<i>GJB2</i> 複合hetero	19	17	2
<i>SLC26A4</i> homo	2	2	0
<i>SLC26A4</i> 複合hetero	6	6	0
ミトコンドリア <i>1555A&gt;G</i>	2	0	2
ミトコンドリア <i>3243A&gt;G</i>	6	1	5
ミトコンドリア <i>8296A&gt;G</i>	1	1	0
<i>KCNQ4</i>	2	0	2
変異あり	46 (43.4%)	34	12

## C. 平衡機能検査と経過

カロリック検査：10℃では

右 26.0° VS4.0 左 19.5° VS4.5°

自発眼振なし、追視正常、OKP も正常

VEMP：右>左（NRに近い） 右が反応良好

以上より左前庭機能の低下が認められた。

2年後（32歳時）のPTA： 右 98.8dB 左 98.8dB と進行性なし。

その他、DMなどの全身症状の発症を認めず。

その後、第一子が生まれた。新生児スクリーニングでは両側 pass であった。これには遺伝カウンセリングが大きな役割を果たしたと考える。

#### D. まとめ

30歳の先天性両側高度難聴患者に難聴遺伝子検査を行ったところ、8296A>Gホモプラスミーを認めた。

きわめて珍しい非症候群性の先天性高度難聴であった。前庭機能検査も左耳で低下が認められあことから、本変異による前庭病変の存在も考えられた。

母にもホモプラスミーが認められ、母系遺伝であったが、母は難聴を発症しておらず、低頻度のプラスミーと考えられた。

mit3243変異と同様に、DM、MELASなどの全身症状が成人以降に顕在化する場合も有り得ることから、長期フォローアップが必要と考えられた。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 著書

熊川孝三（分担執筆）今日の小児治療指針（大関武彦ら総編集）第15版 感音難聴（人工内耳、補聴器）pp823～824、2012年2月

熊川孝三（分担執筆）：言語聴覚士テキスト第2版 X 聴覚障害学 3人工内耳

廣瀬肇 監修 小松崎篤ら編 医師薬出版株式会社 pp. 324～331, 2011.

##### 2. 原著論文・総説

*Takehiko Naito*<sup>1</sup>, *Shin-ya Nishio*<sup>1</sup>, *Yoh-ichiro Iwasa*<sup>1</sup>, *Takuya Yano*<sup>1</sup>, *Kozo Kumakawa*<sup>2</sup>, *Satoko Abe*<sup>2</sup>, *Kotaro Ishikawa*<sup>3</sup>, *Hiromi Kojima*<sup>4</sup>, *Atsushi Namba*<sup>5</sup>, *Chie Oshikawa*<sup>6</sup>, *Shin-ichi Usami*<sup>1</sup> :

Comprehensive genetic screening of *KCNQ4* in a large autosomal dominant nonsyndromic hearing loss cohort: Geneotype-phenotype correlations and a founder mutation

PLoS ONE 8(5): e63231.

doi:10.1371/journal.pone.0063231

Published: May 23, 2013)

*Yoh-ichiro Iwasa*<sup>1</sup>, *Shin-ya Nishio*<sup>1</sup>, *Hidekane Yoshimura*<sup>1</sup>, *Yukihiko Kanda*<sup>2</sup>, *Kozo Kumakawa*<sup>3</sup>, *Satoko Abe*<sup>3</sup>, *Yasushi Naito*<sup>4</sup>, *Kyoko Nagai*<sup>5</sup> and *Shin-ichi Usami*<sup>1</sup> :

OTOF mutation screening in Japanese severe to profound recessive hearing loss patients.

BMC Medical Genetics 2013, 14:95 Published: 22 September 2013(online journal)

*Cordula Matthies*<sup>a</sup>, *Stefan Brill*<sup>b</sup>, *Kimitaka Kagac*, *Akio Morita*<sup>d</sup>,

Kozo Kumakawa, Henryk Skarzynski, Andre Claasseng, Yau Huih, Charlotte Chiongi, Joachim Müller, Robert Behr

Auditory Brainstem Implantation improves Speech Recognition in Neurofibromatosis Type II Patients  
ORL 75:282-295, 2013.

Hidekane Yoshimura<sup>1</sup>, Satoshi Iwasaki<sup>2,3</sup>, Shin-ya Nishio<sup>1</sup>, Kozo Kumakawa<sup>4</sup>, Tetsuya Tono<sup>5</sup>, Yumiko Kobayashi<sup>6</sup>, Hiroaki Sato<sup>6</sup>, Kyoko Nagai<sup>7</sup>, Kotaro Ishikawa<sup>8</sup>, Tetsuo Ikezono<sup>9</sup>, Yasushi Naito<sup>10</sup>, Kunihiro Fukushima<sup>11</sup>:

Massively parallel DNA sequencing facilitates diagnosis of patients with Usher syndrome type 1

PLoS ONE 9(3) e90688 Published: March 11, 2014 DOI: 10.1371/journal.pone.0090688

熊川孝三、三澤建、松田絵美、真岩智道、鈴木久美子、加藤央、武田英彦：新生児聴覚スクリーニングの偽陽性率を減らすための試行制度の検討。Audiology Japan 56:163-170, 2013.

田中美郷、芦野聡子、小山由美、針谷しげ子、熊川孝三、武田英彦：人工内耳を装着させた自閉症スペクトラム障害及び重度知的障害を伴う難聴児の発達経過。Audiology Japan

56:153-162, 2013.

三澤建、熊川孝三、加藤央、武田英彦：人工内耳埋め込み術を施行した蝸牛型耳硬化症およびvan der Hoeve症候群の長期成績と当院における治療戦略。Otol Japan 23:841-87, 2013.

今井直子、熊川孝三、安達のどか、浅沼総、大橋博文、坂田英明、山嵜達也、宇佐美真一：GJB2変異例における進行性難聴の特徴と遺伝子型の検討。小児耳鼻咽喉科 34:352-359, 2013.

岩崎 聡、吉村豪兼、武市紀人、佐藤宏昭、石川浩太郎、加我君孝、熊川孝三、古屋信彦、池園哲郎、中西 啓、内藤 泰、福島邦博、東野哲也、君付 隆、西尾信哉、工藤、宇佐美真一：Usher症候群の臨床的タイプ分類の問題点と課題 日本耳鼻咽喉科学会会報 115: 894-901, 2012.

熊川孝三、武田英彦：

高音急墜型難聴フィルタを介した日本語と英語文の聴取成績の比較。

—EAS型人工内耳の適応基準への提言—  
耳鼻臨床 補132:13-19, 2012.

熊川孝三：アブミ骨手術—難易度が高い症例に対する手術— 頭頸部外科 22:127-132, 2012.

### 3. 学会報告

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.

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.

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:当院におけるインバードパ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 回日本聴覚医学会総会・学術講演会,2013.10.24.

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 回日本聴覚医学会総会・学術講演会,2013.10.24.

塚田景大、岩崎聡、茂木英明、工藤、西尾信哉、熊川孝三、内藤泰、高橋晴雄、東野哲也、宇佐美真一:残存聴力活用型人工内耳

(EAS : electric acoustic stimulation) の聴取能について:低音部残存聴力との相関.第 58 回日本聴覚医学会総会・学術講演会,2013.10.25.

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

加藤央、武田英彦、熊川孝三:神経線維腫症第 2 型における人工内耳と聴性脳幹インプラント治療の比較.第 22 回日本耳科学会奨励賞受賞者講演 2012 年 10 月 4, 5, 6 日 名古屋

岩佐陽一郎<sup>1)</sup>、吉村豪兼<sup>1)</sup>、宇佐美真一<sup>1)</sup>、熊川孝三<sup>2)</sup>:日本人高度感音難聴者における OTOF 遺伝子変異の検討。1) 信州大学耳鼻咽喉科、2) 虎の門病院耳鼻咽喉科 第 113 回日本耳鼻咽喉科学会 2012 年 5 月 9~12 日 新潟市

熊川孝三、武田英彦、鈴木久美子、加藤央、今井直子、眞岩智道、三澤建:鼓室型先天性真珠腫の耳内法アプローチ。第 113 回日本耳鼻咽喉科学会 2012 年 5 月 9~12 日 新潟

今井直子<sup>1)</sup>、熊川孝三<sup>1)</sup>、安達 のどか<sup>2)</sup>、浅沼 聡<sup>2)</sup>、坂田 英明<sup>3)</sup>、山嵜 達



也 4)、宇佐美 真一 5)

1) 虎の門病院 耳鼻咽喉科 2) 埼玉県立  
小児医療センター 耳鼻咽喉科、3)  
目白大学 保健医療学部 言語聴覚学  
科、4) 東京大学 医学部 耳鼻咽喉  
科、5) 信州大学 医学部 耳鼻咽喉科  
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

ry implant at Gaungzhou (広州) 2009  
年 9 月 21 日 中国 広州

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

## 岩手医科大学における過去20年間の中耳奇形症例の検討

研究分担者 佐藤 宏昭 (岩手医科大学耳鼻咽喉科)

共同研究者 大塚 尚志 (岩手医科大学耳鼻咽喉科)

共同研究者 小林有美子 (岩手医科大学耳鼻咽喉科)

### 研究要旨

厚生労働科学省難治性疾患等克服研究事業「遺伝性難聴および外耳・中耳・内耳奇形に関する調査研究」研究班として、参加施設で過去20年および本研究期間内に新規に確認された、①中耳奇形症例(先天性真珠腫・外耳道閉鎖症・内耳奇形の合併を含む)、②明確な形態異常のない先天性伝音難聴症例(アブミ骨固着症・小児耳硬化症を含む)を対象に、手術所見、臨床所見を検討し、新たな遺伝性難聴分類法と治療法確立のための多施設共同研究をおこなった。

岩手医科大学で過去20年間に手術を施行した中耳奇形症例44例48耳の分類内訳は船坂分類ではⅡ群, Teunissen & Cremers分類ではクラスⅢ, 宮崎大学分類(案)ではIS離断型が最も多かった。手術治療を行った48耳中42耳で聴力改善を認め、成功例は88%であった。この結果は他施設での成績とほぼ同等の成績であった。

### A. 研究目的

当科において過去20年間に手術加療を行った耳小骨奇形症例を後ろ向きに検討することで、より詳細な難聴の分類ならびに治療法の確立を目的とした調査研究に参加すること。

部位・分類、伝音再建方法、術後聴力所見等の臨床情報を検討した。

(倫理面への配慮)

なお、本研究の遂行において岩手医科大学倫理委員会の承認を得ている。

### B. 研究方法

1993年から2013年までに岩手医科大学附属病院耳鼻咽喉科・頭頸部外科にて手術加療を行った中耳奇形症例 44例48耳を対象とした。内訳は男性20例、女性23例、平均年齢は18.3(5-56歳)で、中央値は16歳であった。

対象の術前聴力所見、術中所見、奇形の

### C. 研究結果

対象の各分類の内訳は、船坂分類ではⅠ群が7例、Ⅱ群が40例、Ⅲ群が6例で、複合例が7例であった。Teunissen&Cremers分類ではクラスⅠが3例、クラスⅡが1例、クラスⅢが40例、クラスⅣが3例で分類不明が1例であった。また宮崎大分類(略称)では前庭総閉鎖型が3例、S固着型が5例、M/I固着型が9例、IS離断型が28例、分類不明が

3例であった。

手術では、鼓室形成術のⅠ型のみあるいは外耳道形成術を合わせて行った症例が6例で、伝音系の再建術式では、Ⅲ型が22例（Ⅲiが13例、Ⅲcが9例）で、Ⅳ型が9例（Ⅳiが4例、Ⅳcが5例）であった。アブミ骨手術を行ったのは8例であった。

日本耳科学会の判定基準を用いて評価した結果、気骨導差15dB以内が58%、聴力改善15dB以上が79%、聴力レベル30dB以内が65%で、成功例は88%であった。

#### D. 考察

今回の結果から、当科における鼓室形成術の術後成績は、他の報告（岡野ら(2003)、力武ら(2009)、森岡ら(2010)、金沢ら(2012)）と比し同等であった。しかしながら、良好な聴力改善得られなかった症例では、アブミ骨底板の固着や卵円窓の無形成を伴う高度形成異常を伴っており、今後の課題と考えられた。

#### E. 結論

過去20年間の中耳奇形症例の検討を行った。病態の分類では船坂分類ではⅡ群、Teunissen&Cremers分類ではクラスⅢ、宮崎大学手術例の分類ではIS離断型が最も多かった。手術治療を行った48耳中42耳で聴力改善を認め、成功例は88%を占めた。この結果は他施設での成績と比較し同等の成績であった。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

# 遺伝性難聴および外耳・中耳・内耳奇形に関する研究 内耳奇形症例での人工内耳埋め込み術中のCSF gusherの予測 難聴の遺伝子解析

研究分担者 山嵜達也 東京大学教授

## 研究要旨

内耳奇形を伴う人工内耳埋め込み術の術中において正常例より高頻度に発生するCSF gusherの予測につきCTでの画像計測による術前評価の可能性を検討した。対象の34症例中において、Welchの検定では、内耳道底の直径・蝸牛軸の存在によりCSF gusherの有無に有意差を認め、ステップワイズ法を用いた多重ロジスティック回帰分析では前庭水管径・蝸牛軸の存在が重要因子であった。術前CTにおける蝸牛軸の有無・内耳道底の直径・前庭水管径は、人工内耳手術中のCSF gusherを予測する重要な因子と考えられた。遺伝解析については難聴患者2人、その家族3人分の計5検体のヒトゲノム、遺伝子解析を行ったが、現在報告されている難聴遺伝子変異は見つからなかった。96症例では現在日本人で報告されている13遺伝子と*WFS1 KIAA1199 COL9A3 CDH23 SIX1*についてエクソーム上のターゲットリシークエンスを行い、ミトコンドリア3243A>G変異を2例で認めた。常染色体の変異については解析中である。

## A. 研究目的

新生児聴覚スクリーニングの導入により、両側高度難聴の小児に対する人工内耳埋め込み術の施行例が増加している。症例数の増加に伴い、内耳奇形を伴う症例もしばしば見られるようになってきている。従来の報告によれば、内耳奇形を伴う人工内耳埋め込み術症例では、奇形を伴わない症例に比べてCSF (cerebrospinal fluid) gusherの発生頻度が高く、術中有害事象の予測として、術前での画像等における評価が重要になる。

内耳奇形の分類として従来使われてきたMondini・Michelに代わり、近年使われる

ようになってきたJackler・Sennarogluなどの新分類によってもCSF gusherの予測は難しく、術前の画像的評価の方法については更に検討の余地がある。東京大学医学部附属病院耳鼻咽喉科で人工内耳埋め込み術を行った内耳奇形症例における術中CSF gusherについて、CTにおける画像計測等による評価方法について検討した。

また難聴が早く発見されることが多くなり、原因検索として、次世代シーケンサーを用いた包括的遺伝子変異解析（エクソーム解析）を行い、こうした症例における道の原因遺伝子の探索を行うこととした。