

より分類される Class 1 と Class 2 の 2 種類の経路がある。Class 1 経路は主要な聴覚情報を伝達する役割を持っていると考えられ、この経路のシナプスは樹状突起は密で、軸索は太く、神経終末は大きく、大きな EPSP によりイオンチャンネル型グルタミン酸受容体 (iGluR) を興奮・抑制する。Class 2 経路のシナプスは Class 1 で伝達される情報を修飾する役割を持っていると考えられ、シナプスは Class 1 に比べ樹状突起は粗で、軸索は細く、神経終末は小さく、EPSP は小さく、iGluR や代謝型グルタミン酸受容体 (mGluR) を興奮・抑制する¹⁶⁾。

下丘から内側膝状体に至る経路では、下丘中心核 (ICc) から MGBv に投射する Class 1 の経路と、下丘背側核 (ICd)・下丘外側核 (ICl)・下丘尾側核 (ICca) から MGBd・MGBm に投射する Class 2 との異なった経路が認められ、毛帯・非毛帯経路に分けられる^{16, 17)}。

内側膝状体から聴覚野への投射でも 2 種の経路が認められる。MGBv・MGBd から聴覚野の 4 層と 6 層に至る経路が Class 1 経路にあたり、主要な聴覚情報を伝達している。もう一つは MGBm から聴覚野の 2 層と 3 層に至る経路であり、聴覚情報を修飾する Class 2 経路にあたる^{16, 18, 19)}。

聴覚野から内側膝状体へ至る下行性の投射でも同様に 2 種の経路があると考えられる。聴覚野の 5 層から MGBd に至る経路では Class 1 経路の生理学的特徴が認められるのに対し、聴覚野の 6 層から MGBv に至る経路では Class 2 経路の特徴が認められる²⁰⁾。

聴覚野の各層間や聴覚野間での経路の中にも同種の経路があると考えられており、徐々に明らかになってきている。

むすび

以上に述べたような働きにより、空気の疎密波が音の強弱、音源の左右の定位、音色、音声言語、空間等として認知される。従来は聴覚のみに特化していると考えられてきた視床や聴覚野において、異種の感覚に対する応答が確認されるようになり、視覚・体性感覚といった異種の感覚が統合され、聴覚が認識されていることも分かってきている。

文 献

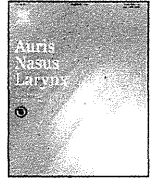
- 1) Furness DN, Hackney CM. Cross-links between stereocilia in the guinea pig cochlea. *Hear Res.* 1985; 18: 177-88.
- 2) Glowatzki E, Fuchs PA. Transmitter release at the hair cell ribbon synapse. *Nat Neurosci.* 2002; 5: 147-54.
- 3) Gillespie PG, Müller U. Mechanotransduction by hair cells: models, molecules, and mechanisms. *Cell.* 2009; 139: 33-44.
- 4) Kitajiri S, Sakamoto T, Belyantseva IA, et al. Actin-bundling protein TRIOBP forms resilient rootlets of hair cell stereocilia essential for hearing. *Cell.* 2010; 141: 786-98.
- 5) Von Békésy G. DC resting potentials inside the cochlear partition. *J Acoust Soc Am.* 1952; 24: 72-6.
- 6) Salt AN, Melichar I, Thalmann R. Mechanisms of endocochlear potential generation by stria vascularis. *Laryngoscope.* 1987; 97: 984-91.
- 7) Ikeda K, Morizono T. Electrochemical profiles for monovalent ions in the stria vascularis: cellular model of ion transport mechanisms. *Hear Res.* 1989; 39: 279-86.
- 8) Nin F, Hibino H, Doi K, et al. The endocochlear potential depends on two K⁺ diffusion potentials and an electrical barrier in the stria vascularis of the inner ear. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008; 105: 1751-6.
- 9) Jeffress LA. A place theory of sound localization. *J Comp Physiol Psychol.* 1948; 41: 35-9.
- 10) Mogdans J, Knudsen EL. Representation of interaural level difference in the VLVp, the first site of binaural comparison in the barn owl's auditory system. *Hear Res.* 1994; 74: 148-64.
- 11) Nelken I, Young ED. Two separate inhibitory mechanisms shape the responses of dorsal cochlear nucleus type IV units to narrowband and wideband stimuli. *J Neurophysiol.* 1994; 71: 2446-62.
- 12) Huguenard JR, Prince DA. Intrathalamic rhythmicity studied in vitro: nominal T-current modulation causes robust antioscillatory effects. *J Neurosci.* 1994; 14: 5485-502.
- 13) Smith PH, Bartlett EL, Kowalkowski A. Unique combination of anatomy and physiology in cells of the rat paralaminar thalamic nuclei adjacent to the medial geniculate body. *J Comp Neurol.* 2006; 496: 314-34.
- 14) Donishi T, Kimura A, Imbe H, et al. Sub-threshold cross-modal sensory interaction in the thalamus: lemniscal auditory response in the medial geniculate nucleus is modulated by somatosensory stimulation. *Neuroscience.* 2011; 174: 200-15.
- 15) Lakatos P, Chen CM, O'Connell MN, et al. Neuronal oscillations and multisensory interaction in primary auditory cortex. *Neuron.* 2007; 53: 279-92.
- 16) Lee CC, Sherman SM. On the classification of pathways in the auditory midbrain, thalamus, and cortex. *Hear Res.* 2011; 276: 79-87.
- 17) Bartlett EL, Smith PH. Effects of paired-pulse and repetitive stimulation on neurons in the rat medial geniculate body. *Neuroscience.* 2002; 113: 957-74.
- 18) Huang CL, Winer JA. Auditory thalamocortical projections in the cat: laminar and areal patterns of input. *J Comp Neurol.* 2000; 427: 302-31.
- 19) Viana AN, Petrof I, Sherman SM. Synaptic properties of thalamic input to layers 2/3 and 4 of primary somatosensory and auditory cortices. *J Neurophysiol.* 2011; 105: 279-92.
- 20) Winer JA, Diehl JJ, Larue DT. Projections of auditory cortex to the medial geniculate body of the cat. *J Comp Neurol.* 2001; 430: 27-55.



ELSEVIER

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Auris Nasus Larynx

journal homepage: www.elsevier.com/locate/anl

Cochlear implantation in a patient with osteogenesis imperfecta

Yoshimi Makizumi, Akinori Kashio, Takashi Sakamoto, Shotaro Karino, Akinobu Kakigi, Shinichi Iwasaki, Tatsuya Yamasoba*

Department of Otolaryngology and Head and Neck Surgery, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Japan

ARTICLE INFO

Article history:

Received 18 May 2012

Accepted 9 November 2012

Available online 6 December 2012

Keywords:

Cochlear implantation
Osteogenesis imperfecta
Facial nerve stimulation

ABSTRACT

Osteogenesis imperfecta (OI) is a connective tissue disorder characterized by a deficit in the synthesis of type I collagen. Hearing loss affects 42–58% of OI patients and progresses to deafness in 35–60% of these patients. For OI patients, cochlear implantation (CI) is the only promising treatment option. However, literature on CI in patients with OI is relatively rare. After CI, speech perception is generally good. However, among patients with severe demineralization of the cochlea, most patients are reported to have complications of facial nerve stimulation (FNS), preventing some patients from using the cochlear implant on a daily basis. Here we report a successful CI using a Nucleus CI24 Contour Advance cochlear implant in a patient with OI. Although high-resolution computed tomography (HRCT) showed extensive demineralization of the cochlea, intracochlear electrodes were inserted properly. The use of a modiolus-hugging device and the advance off-stylet technique contributed to the successful implantation, with no complications such as FNS or misplacement of electrodes. Therefore, CI can be used for treating deaf patients with OI.

© 2012 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Osteogenesis imperfecta (OI) is a connective tissue disorder characterized by a deficit in the synthesis of type I collagen [1]. OI was first described by van der Hoeve and de Kleyn in 1917 [2] and, therefore, is also known as van der Hoeve–de Kleyn syndrome. The disease is characterized by brittle bones, blue sclerae, defective dentition and hearing loss [3]. Progressive hearing loss has been reported, including conductive, sensorineural, or mixed types [4]. Conductive hearing loss may be the result of a fracture or localized dehiscence of the stapedial arch, distal atrophy of the long process of the incus, or fixation of the stapedial footplate [1]. Sensorineural hearing loss is caused by microfractures, hemorrhage, and encroachment of reparative vascular and fibrous tissue in and around the cochlea [1]. Previous studies have reported hearing loss in 42–58% of OI patients and profound deafness in 35–60% of OI patients [5–9]. Hearing loss usually begins in the late teens in OI patients. The sensorineural component appears and progresses gradually in the third decade, resulting in profound deafness by the end of the fourth to fifth decade [7]. Cochlear implantation (CI) is the only treatment option for profound sensorineural hearing loss. However, the scientific and medical literature on CI in patients

with OI is relatively rare [5–10]. After CI, speech perception is generally good. However, most patients with severe demineralization of the cochlea are reported to have complications of facial nerve stimulation (FNS). Several cases of electrode mis-insertion have also been reported. Some patients with such complications give up daily use of the cochlear implant [7,11].

Here, we report a successful CI using a Nucleus CI24 Contour Advance (CA) cochlear implant in a patient with OI. Although high-resolution computed tomography (HRCT) showed extensive demineralization of the cochlea, intracochlear electrodes were properly inserted without any of the common complications.

2. Case presentation

A female patient had several episodes of bone fractures due to minor trauma from childhood. At 18-years of age, she began to complain of bilateral hearing loss. A clinical examination revealed blue sclerae with hearing loss, and the patient was diagnosed as OI based on the clinical criteria [12] at the age of 21 years. The patient had no family history of OI or hearing loss, except for her grandfather who had presbycusis. At the age of 27 years, the patient underwent an ossiculoplasty of the left ear that unfortunately resulted in deafness. Subsequently, she began to wear a hearing aid in the right ear. At the age of 52 years, the patient consulted our department when her hearing acuity in the right ear worsened. An otoscopy examination revealed normal tympanic membranes in both ears. A pure-tone audiogram demonstrated

* Corresponding author at: Department of Otolaryngology and Head and Neck Surgery, Faculty of Medicine, The University of Tokyo, Hongo 7-3-1, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8655, Japan. Tel.: +81 3 5800 8924; fax: +81 3 3814 9486.

E-mail address: tyamasoba-tky@umin.ac.jp (T. Yamasoba).

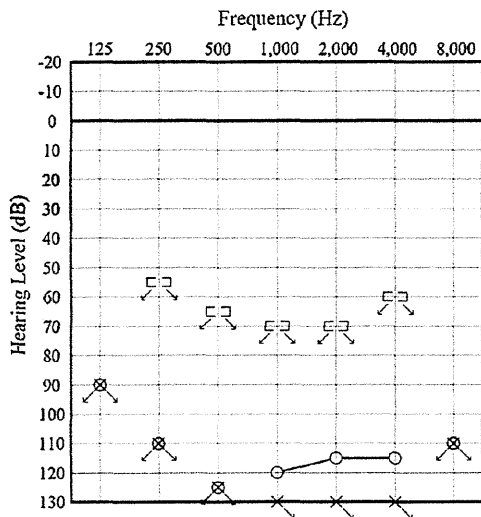


Fig. 1. Preoperative audiogram. A pure-tone audiogram demonstrated profound sensorineural hearing loss in both ears.

profound sensorineural hearing loss in both ears (Fig. 1). A speech discrimination test revealed no identification ability in both ears. Speech recognition scores with a hearing aid showed that only 10% of phonemes were recognized in the open set condition and 24%

were recognized with verbal cues. The vestibular evoked myogenic potential (VEMP) was absent in both sides. A caloric test did not evoke nystagmus in either ear. A promontory stimulation test produced good auditory perception in both ears. HRCT revealed severe demineralization of the pericochlear and vestibular areas in both sides, and the outline of the cochlea was almost unrecognizable (Fig. 2). Magnetic resonance imaging (MRI) showed fluid intensity in the entire cavity of the right cochlea. However, fluid intensity in the scala tympani of the basal turn was decreased in the left cochlea (Fig. 3). The right and left cochlear nerves were well recognized on MRI.

Because there was a long period of auditory deprivation of the left ear and the MRI suggested partial occlusion in the basal turn, we decided to perform CI for the right ear. At the age of 54 years, the patient underwent surgery in the right ear to implant the Nucleus CI24R Contour Advance device. A mastoidectomy and a posterior tympanotomy were performed uneventfully. The foramen obturatum and the oval window were obliterated, and the round window was barely identified by the new bone formation of the promontory. We performed cochleostomy using the location of stapes as a landmark. The bone of the cochlear capsule was spongiotic and fragile; however, a cochleostomy was easily performed and the scala tympani was identified. All of the 22 electrodes were inserted successfully using the advanced off-stylet (AOS) technique. Postoperative neural response telemetry (NRT) showed good responses in all electrodes without FNS. Postoperative radiography and HRCT revealed the fully inserted electrodes inside the cochlea (Fig. 4). All of the electrodes showed normal impedance at first stimulation, and

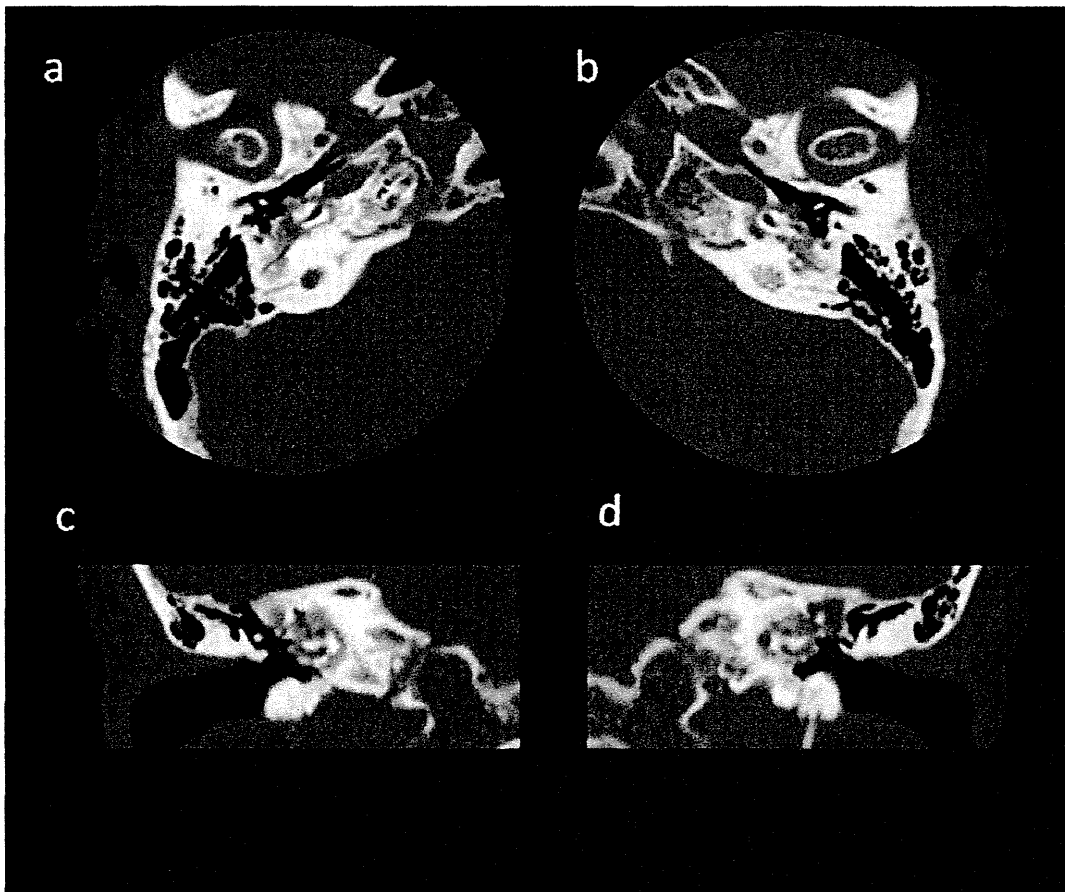


Fig. 2. Preoperative CT image of the cochlea. High resolution computed tomography (HRCT) revealed significant demineralization of the right and left pericochlear and vestibular areas, and the structures of the cochleae were almost unrecognizable.

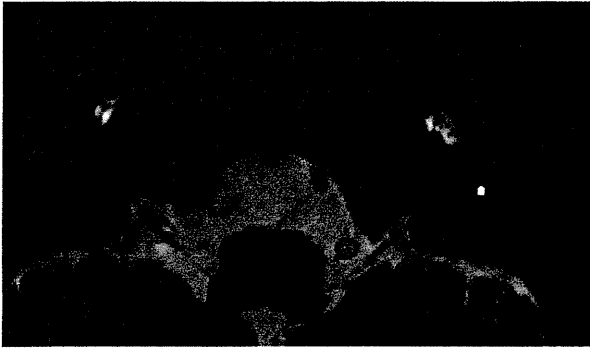


Fig. 3. Preoperative MRI image of the cochlea. MRI demonstrated fluid content in the entire right cochlea. However, in the left cochlea, the fluid content in the scala tympani of the basal turn showed a defect, which suggested a partial occlusion.

no FNS was found during the stimulation. At the 6-month postoperative evaluation, the perception scores of monosyllables, words, and sentences using the CI and without any other cues were 62%, 70%, and 91%, respectively. These results indicated that the patient had good speech perception.

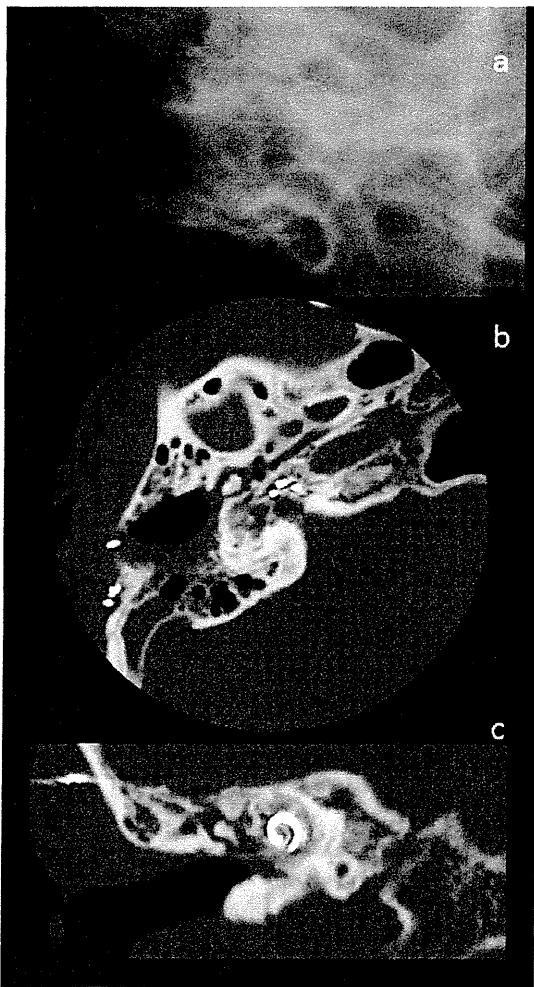


Fig. 4. Intraoperative radiograph and postoperative HRCT images of the cochlea. Intraoperative radiograph (a) and postoperative HRCT images (b and c) showed fully inserted electrodes.

3. Discussion

We have reported the case of an OI patient with a severely demineralized cochlea who underwent a successful operation for CI, resulting in good speech perception. No complications such as FNS and misplacement of electrodes were observed following the operation.

OI is a heterogeneous disease of the connective tissue caused by defective genes (*COL1A1* and *COL1A2*). *COL1A1* and *COL1A2* are responsible for the production of collagen type I, and mutations lead to defects in the bone matrix and connective tissue [7]. Recent studies have shown that reduced bone mineral density as a feature of OI and examining bone mineral density using the devices such as X-ray absorptiometry and peripheral quantitative computed tomography as well as genetic screening are becoming another powerful tool for the diagnosis of OI [13]. In this case, however, we made the diagnosis of OI based on the traditional criteria introduced by Silience et al. [12]. Previous studies have reported various results for the prevalence of OI, ranging from 1/10,000 to 1/30,000 [6,14]. It has been reported that 2–35% of OI patients progress to deafness, with CI being the only promising treatment option [7–9]. To date, only 10 cases of CI with OI have been reported, including the present case. The HRCT findings of OI are as follows: (1) extensive demineralized bone involving all or part of the otic capsule and extending as high as the upper margin of the superior semicircular canal; (2) fenestral manifestations caused by proliferation of bone, such as a narrow middle ear cavity, an enveloped stapes footplate, and obliterated windows with irregular and indistinct margins; and (3) involvement of the facial nerve canal in the dysplastic process [15]. These clear findings can lead surgeons to underestimate the remaining cochlear structure and space for electrodes thus improperly limiting the scope of CI. This may be the reason for the relatively small number of CIs reported for OI. In the present case, HRCT demonstrated extensive demineralization of the bony labyrinth, and the structure of cochlea was barely distinguishable. In contrast, a T2-weighted fast spin-echo (3D-FSE) MRI revealed a distinct fluid signal in the right cochlea. Based on this additional information provided by the MRI, we confidently decided to carry out CI.

In the present case, MRI showed a partial occlusion of the basal turn in the left ear. The previous ossiculoplasty might have elicited the occlusion, but we cannot deny the possibility that this occlusion was the result of ossification due to OI. Occlusion of the cochlea has also been reported in patients with otosclerosis, who have shown a similar proliferation of bones around the cochlea [16]. The genetic association with *COL1A1* has been reported also in otosclerosis. Chen et al. suggested that otosclerosis has an association with single nucleotide polymorphisms in the regulatory regions of *COL1A1*, whereas OI is caused by a reduction in total *COL1A1* mRNA secondary to mutations in *COL1A1* [17]. It is possible that the association with *COL1A1* in both of two diseases may cause the similar demineralization of the cochlea and that the difference in the mechanisms of *COL1A1* disorder may determine the characteristics of each disease. As the present report shows, the condition of the cochlea should be carefully examined preoperatively by both HRCT and MRI. Otherwise, an evaluation by CT alone may lead to a misunderstanding of the operative indication for CI.

Because of severe demineralization of the otic capsule, CI in OI is challenging and is often accompanied by several complications. One such complication is FNS, and another is the misplacement of electrodes. Six patients with severe demineralization of the otic capsule have been reported to experience FNS as a complication after CI [5–8]. Most of the patients continued using the implant after switching off several

electrodes that caused the FNS. However, 2 patients discontinued use of the cochlear implant due to severe discomfort. It has been postulated that FNS is induced by deviant current spread throughout dehiscent or otospongiotic bone, where impedance is low, resulting in an electrical field in the proximity of the facial nerve [18]. Perimodiolar electrodes of the Nucleus CI24R CA device are tightly shielded against the lateral spread of current and theoretically are less likely to elicit FNS [19]. A CI study of patients with otosclerosis who had histopathologically similar demineralization of the cochlea showed a higher incidence (44%) of FNS in patients implanted with non modioli-hugging devices than in those implanted with modioli-hugging devices (10%) [20]. In the present case, no FNS occurred despite severe demineralization of the otic capsule. This is the first report of a successful CI with a perimodiolar designed electrode in an OI patient with severe demineralization of the cochlea. Additional cases are needed to establish the efficacy of the perimodiolar electrode for preventing FNS. However, perimodiolar designed electrodes may be preferable for OI patients to prevent FNS complications.

Another significant complication of CI in OI patients is misplacement of the electrodes. Two cases of misplacement have been reported. The risk of misplacement of the electrode array in a spongiotic otic capsule has also been described in patients with otosclerosis [20]. Cochlear otosclerosis is similar to OI because otospongiotic changes of the otic capsule and abnormal bone proliferation around a promontory of the otic capsule are observed in both conditions. In an OI patient, it is difficult to identify the round window niche or oval window [5]. Therefore, cochleostomy is challenging due to a lack of anatomical landmarks. Even when cochleostomy is performed in the proper place, the electrode can easily destroy the capsule and penetrate into the surrounding structures during insertion due to the soft and brittle nature of the cochlear bone. Recently, CI devices have been developed to minimize insertion trauma. The CA electrode may be used as an alternative to the traditional straight electrode, applying the AOS insertion technique so that the electrode does not touch the outer wall of the cochlea, thus reducing the risk of trauma to the cochlea [21]. With this technique, the slower insertion speed of the electrodes is also reported to impact the insertion force and reduce the risk of trauma [22]. Therefore, using this new, less traumatic device with a slower electrode insertion speed can prevent misplacement.

Our patient could recognize of 62% of phonemes, 70% of words, and 91% of sentences. Therefore, we concluded that the CI was successful. Berger et al. [23] reviewed the histopathology of the temporal bone in OI and suggested that progressive sensorineural hearing loss results from hemorrhage into the inner ear spaces. Subsequently, the accumulated cells and plasma proteins may disturb the inner ear dynamics and alter the electrolyte gradients. In this pathological condition, the spiral ganglion cells are assumed to be well preserved; therefore, good performance can be expected after CI. Nevertheless, 3 patients had an unsuccessful result in previous report. Two of these unsuccessful results were attributed to misplacement of the electrodes and severe FNS [7]. Another case involved a 6-year-old child who had profound sensorineural hearing loss from 6 months of age [8]. The poor result observed in this case can be attributed to the late age of implantation. These results show that if the electrodes are inserted properly within the appropriate period, sufficient speech perception can be expected and that CI surgery is a promising choice of treatment for OI.

4. Conclusion

We reported the case of an OI patient showing severe demineralization of the cochlea on HRCT. Preoperative MRI showed sufficient space for the CI in the basal turn of the right cochlea. All 22 intracochlear electrodes were successfully inserted, and no complications, such as FNS and mis-insertion, occurred. We attribute this success to the use of modioli-hugging electrodes. The results of postoperative speech perception were good and consistent with those of previous reports.

Conflict of interest

None.

References

- [1] Nager GT. Osteogenesis imperfecta of the temporal bone and its relation to otosclerosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1988;97:585–93.
- [2] van der Hoeve J, de Kleyn A. Blauwe sclerae, knochenbruechigkeit und schwerhoerigheid. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 1918;95:81–93.
- [3] Proscop DJ, Kuivaniemi H, Tromp G. Hereditary disorders of connective tissue. In: Isselbacher E, Braunwald JD, Wilson JB, Martin AS, Fauci DL, Kasper, editors. *Harrison's principles of internal medicine*. 13th ed. McGraw-Hill International; 1994. p. 2111–3.
- [4] Pedersen U. Hearing loss in patients with osteogenesis imperfecta. A clinical and audiological study of 201 patients. *Scand Audiol* 1984;13:67–74.
- [5] Streubel SO, Lustig LR. Cochlear implantation in patients with osteogenesis imperfecta. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2005;132:735–40.
- [6] Cohen BJ. Osteogenesis imperfecta and hearing loss. *Ear Nose Throat J* 1984;63:283–8.
- [7] Rotteveel LJ, Beynon AJ, Mens LH, Snik AF, Mulder JJ, Mylanus EA. Cochlear implantation in 3 patients with osteogenesis imperfecta: imaging, surgery and programming issues. *Audiol Neurootol* 2009;13:73–85.
- [8] Migirov L, Henkin Y, Hildesheimer M, Kronenberg J. Cochlear implantation in a child with osteogenesis imperfecta. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2003;67:677–80.
- [9] Huang TS, Yen PT, Liu SY. Cochlear implantation in a patient with osteogenesis imperfecta and otospongiosis. *Am J Otolaryngol* 1998;19:209–12.
- [10] Szilvassy J, Jóri J, Czigner J, Tóth F, Szilvassy Z, Kiss JG. Cochlear implantation in osteogenesis imperfecta. *Acta Otorhinolaryngol Belg* 1998;52:253–6.
- [11] Mens LH, Mulder JJ. Averaged electrode voltages in users of the Clarion cochlear implant device. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2002;111:370–5.
- [12] Silience DO, Senn A, Danks DM. Genetic heterogeneity in osteogenesis imperfecta. *J Med Genet* 1979;16:101–16.
- [13] Swinnen FK, De Leenheer EM, Goemaere S, Cremers CW, Coucke PJ, Dhooge IJ. Association between bone mineral density and hearing loss in osteogenesis imperfecta. *Laryngoscope* 2012;122:401–8.
- [14] Kuurila K, Grenman R, Johansson R, Kaitila I. Hearing loss in children with osteogenesis imperfecta. *Eur J Pediatr* 2000;159:515–9.
- [15] Taber EK, Curtin HD, Hirsch BE, May M. Osteogenesis imperfecta tarda: appearance of the temporal bones at CT. *Radiology* 1990;175:181–3.
- [16] Ruckenstein MJ, Rafter KO, Montes M, Bigelow DC. Management of far advanced otosclerosis in the era of cochlear implantation. *Otol Neurotol* 2001;22:471–4.
- [17] Chen W, Meyer NC, McKenna MJ, Pfister M, McBride Jr DJ, Fukushima K, et al. Single-nucleotide polymorphisms in the COL1A1 regulatory regions are associated with otosclerosis. *Clin Genet* 2007;71:406–14.
- [18] Bigelow DC, Kay DJ, Rafter KO, Montes M, Knox GW, Yousem DM. Facial nerve stimulation from cochlear implants. *Am J Otol* 1998;19:163–9.
- [19] Cohen LT, Richardson LM, Saunders E, Cowan RS. Spatial spread of neural excitation on cochlear implant recipients: comparison of improved ECAP method and psychophysical forward masking. *Hear Res* 2003;179:72–87.
- [20] Rotteveel LJ, Proops DW, Ramsden RT, Saeed SR, van Olphen AF, Mylanus EA. Cochlear implantation in 53 patients with otosclerosis: demographics, computed tomographic scanning, surgery, and complications. *Otol Neurotol* 2004;25:943–52.
- [21] Roland Jr JT. A model for cochlear implant electrode insertion and force evaluation: results with a new electrode design and insertion technique. *Laryngoscope* 2005;115:1325–39.
- [22] Kontorinis G, Lenarz T, Stöver T, Paasche G. Impact of the insertion speed of cochlear implant electrodes on the insertion forces. *Otol Neurotol* 2011;32:565–70.
- [23] Berger G, Hawke M, Johnson A, Proops D. Histopathology of the temporal bone in osteogenesis imperfecta congenita: a report of 5 cases. *Laryngoscope* 1985;95:193–9.

原 著

GJB2 変異例における進行性難聴の特徴と 遺伝子型の検討

今井直子^{1,2)}, 熊川孝三^{1,3)}, 安達のどか⁴⁾, 浅沼 聡⁴⁾,
大橋博文⁵⁾, 坂田英明⁶⁾, 山嵜達也⁷⁾, 宇佐美真一⁸⁾

- 1) 虎の門病院耳鼻咽喉科
- 2) 社会保険中央総合病院耳鼻咽喉科
- 3) 公益財団法人冲中記念成人病研究所
- 4) 埼玉県立小児医療センター耳鼻咽喉科
- 5) 埼玉県立小児医療センター遺伝科
- 6) 目白大学保健医療学部言語聴覚学科
- 7) 東京大学医学部耳鼻咽喉科
- 8) 信州大学医学部耳鼻咽喉科

【目的と方法】

先天性難聴の原因として最も頻度が高いのは *GJB2* 遺伝子変異であり、一般的に非進行性難聴を呈するとされる。今回我々は *GJB2* 変異97例について遺伝子型と難聴の進行の有無について検討した。

【結果】

遺伝子型は従来アジア人に多いとされている235 delC が最も多く、欧米人に多い35 delG は認められなかった。当初からの重度難聴例を除いた41例のうち、1年以上の間隔で聴力が2回以上測定されている症例は32例であった。明らかな難聴の進行例は1例、進行疑い例は3例であったが、遺伝子型の特定の傾向は認められなかった。

【結論】

GJB2 変異においては難聴の進行は稀であり、進行性難聴を呈する特定の遺伝子型は指摘できなかった。しかし乳幼児では特に難聴の程度が言語発達に大きく影響を与えるため、*GJB2* 遺伝子変異例であっても稀に難聴が進行するということをふまえて注意深く難聴の経過を追う必要がある。

キーワード : *GJB2* 変異, コネキシン26, 進行性難聴, 遺伝子型, 先天性難聴

はじめに

先天性難聴は出生約1000人に1人の割合で

発生すると言われており、原因のうち遺伝子要因が占める割合は、少ない報告で40%¹⁾, 多い報告では50%以上^{2,3)}と言われる。遺伝性難聴

のうち約70%が非症候性難聴であり、そのうち約80%は常染色体劣性遺伝形式である。これらの約半数を占めており、遺伝性難聴で最多の原因となっているものが GJB2 変異である²⁾。

GJB2 遺伝子は、コネキシン26をコードする遺伝子である。蝸牛においてコネキシン26はその他のコネキシンタンパクと共にギャップジャンクションチャンネルを形成しており、細胞間のカリウムイオンの誘導的な通路となることで蝸牛内電位を維持しており、有毛細胞の興奮と機能に不可欠である⁴⁾。そのため、GJB2 遺伝子に変異が生じると、生成されるタンパクの変性の割合によって軽度～高度難聴を呈する。現在世界で100種類以上の GJB2 変異が報告されており、遺伝子型によって難聴の程度が決まると言われる³⁾。

GJB2 変異例では一般的には出生時から難聴が存在し、非進行性であると考えられているが、文献的には難聴が進行する症例の報告も散見される。特に乳幼児期における聴力の程度は、言語獲得に大きな影響を与えうるため、難聴の進行の有無は非常に重要である。今回我々の施設で経験した GJB2 変異例について、遺伝子型による難聴の程度、難聴の進行の有無について検討したので報告する。

方法と対象

(1) 対象

虎の門病院耳鼻咽喉科 (2009年～2012年)、埼玉県立小児医療センター耳鼻咽喉科 (2003年～2012年) を受診した難聴患者において、GJB2 変異の有無について遺伝子解析を行い、GJB2 変異が認められた97例 (女性57例, 男性40例, 成人例9例 (21歳～77歳, 平均38.3歳), 小児例88例 (0歳～13歳, 平均5.9歳)) について後方視的に遺伝子型と難聴の程度、難聴の進行の有無について検討した。本研究は、虎の門病院では同ヒトゲノム倫理委員会において2009年3月31日に承認され、先進医療として行われた。埼玉県立小児医療センターでは臨床研究としての臨床的検査として2003年7月

29日付で倫理委員会で承認を受けた。

(2) 遺伝解析

GJB2 変異の解析は虎の門病院では、連結可能匿名化を行い、患者の血液から DNA を抽出した。既知の難聴遺伝子変異として高頻度であることが分かっている13遺伝子46変異を用いた Abe ら⁵⁾ が開発した Invader matrix を用いて図1のフローに従って解析した。埼玉県立小児医療センターの症例については GJB2 遺伝子について蛋白翻訳領域全長 (681塩基) を PCR で増幅後に direct sequence を行った⁶⁾。Connexin Deafness Homepage に記載のある GJB2 変異の複合ヘテロ、またはホモ接合体を認めた場合、GJB2 変異による難聴と判断した。

(3) 聴力評価

乳幼児においては聴性脳幹反応検査 (ABR)、聴性定常反応検査 (ASSR)、条件詮索反応聴力検査 (COR) を測定し、結果から総合的に判断して左右の聴力レベルを判定した。小児と成人においては標準純音聴力検査または遊戯聴力検査を行い、4分法 ((500 Hz + 1000 Hz × 2 + 2000 Hz) / 4) で聴力レベルを決定した。難聴の程度は21-40 dBHL を軽度難聴, 41-55 dBHL を中等度難聴, 56-70 dBHL を中等度高度難聴, 71-90 dBHL を高度難聴, 91 dBHL 以上を重度難聴として分類した。左右の聴力で差がある場合は良聴耳の聴力で分類した。

(4) 進行性難聴の評価

1年以上の間をあけて2回以上の聴力検査を施行されている症例については難聴の進行の有無について検討した。両側にて4分法で1 dB/年以上の進行がある場合を進行例と判断した。

結 果

(1) 遺伝子型と難聴の程度

GJB2 変異 (複合ヘテロあるいはホモ接合体) を認めた97例のうち、軽度難聴例は1例, 中等度難聴例は10例, 中等度高度難聴例は14例, 高度難聴例は12例, 重度難聴例は56例, 進行例は1例, 進行疑い例は3例であった。それぞれの聴力における遺伝子型を表にまとめ

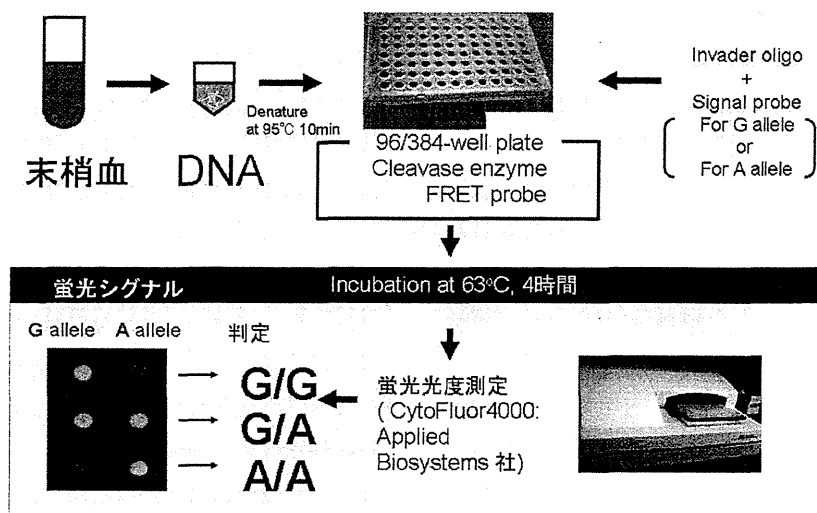


図1 Invader 法測定フロー

た。なお、進行・進行疑い例では最終聴力で分類した(表1, 2)。

(2) 進行性難聴を呈した症例

当初から重度難聴であった56例を除いた41例のうち、32例で1年以上の期間をあけて2回以上の聴力検査が施行されていた。成人例が3例(31歳~70歳, 平均50.0歳, 追跡期間72~288カ月, 平均176カ月), 小児例が29例(1歳~13歳, 平均6.3歳, 追跡期間12カ月~116カ月, 平均44カ月)であった。このうち明らかに難聴が進行したと考えられる症例は1例であり、3例においては、聴力の変化が比較的小さく「進行疑い例」とした(表3)。

以下に、進行例1例を提示する。

症例：70歳女性

既往歴：2型糖尿病

難聴の家族歴：父母, 8人兄弟のうち本人以外に難聴者なし

現病歴：

幼少期の難聴歴は詳細不明であるが、37歳頃より耳鳴、めまいをはっきり自覚するようになった。徐々に難聴が進行し、45歳時より左補聴器装用を開始した。58歳時には右55 dB, 左70 dBと言われていたが、その後66歳時に左耳失聴、70歳時に右耳失聴となったため、虎の門病院耳鼻咽喉科を紹介初診となった。遺伝

子解析にて *GJB2* 変異 (R143W, 235delC の複合ヘテロ接合体) を認めた。ミトコンドリア 3243変異も認められなかった。

聴力所見：右耳は6年間で62.5 dB, 左耳は6年間で47.5 dB の難聴の進行を認めた(図2)。

70歳時に左人工内耳埋め込み術を施行され、経過良好である。

考 察

1. 人種による *GJB2* 変異の遺伝子型

GJB2 変異はこれまでに100種類以上の遺伝子型が発見されており、人種によって遺伝子型の頻度が異なる。35 delG はアラブ民族・白色人種で最多^{2,7,8)}であり、167 delT はアシュケナージ系ユダヤ人に多い²⁾。アジア民族では235 delC, V37Iが多いと言われている^{2,9)}。

Tsukada ら⁹⁾は日本人における *GJB2* 変異について1511家系の3056名を対象に大規模調査を行っており、日本人においてはその他のアジア民族と同様に235 delG が最多であり、次いでV37Iが多かったと報告している。また、Abe ら¹⁰⁾による日本人の非症候性劣性遺伝性両側感音難聴25家系の調査によると *GJB2* 変異では235 delG のほか、Y136X, R143W が多く、白色人種に多い35 delG 変異例は認めなかった。

表1 各聴力における遺伝子型

難聴の程度	遺伝子型	例数(例)
軽度	V37I/F191L	1
中等度	235delC/235delC	3
	235delC/299-300delAT	2
	G45E/Y136X/235delC	1
	176-191del16/235delC	1
	T86R/T86R	1
	R143W/V37I	1
	G45E/G45E/Y136X/Y136X	1
	中等度高度	235delC/235delC
G45E/Y136X/235delC	3	
176-191del16/T86R	1	
235delC/T86R	1	
235delC/299-300delAT	1	
235delC/R143W	1	
299-300delAT/R143W	1	
G45E/Y136X/T86R	1	
G45E/Y136X/R143W	1	
高度	235delC/235delC	5
	235delC/299-300delAT	3
	G45E/Y136X/235delC	2
	235delC/R143W	2
	176-191del16/235delC	1
	G45E/Y136X/299-300delAT	1
重度	G45E/Y136X/235delC	13
	235delC/235delC	11
	235delC/R143W	10
	235delC/T86R	5
	176-191del16/235delC	4
	G45E/Y136X/R143W	3
	235delC/299-300delAT	3
	R143W/605ins46	1
	V37I/R143W	1
	T86R/299-300delAT	1
	299-300delAT/R	1
	43W1235delC/V37I	1
	R143W/R143W	1
	G45E/Y136X/T86R	1
	G45E/299-300delAT/Y136X	1

表2 各遺伝子型の頻度

遺伝子型	検出数
235delC	102
G45E/Y136X	29
R143W	24
299_300delAT	14
T86R	12
176-191del(16)	7
V37I	4
605ins46	1
F191L	1

今回の検討においても235 delC が最も多く認められ、次いで G45E/Y136X, R143W という順に多かった(表1)。Abe らの検討と同様、35 delG は皆無であった。

2. GJB2 変異における難聴の程度と遺伝子型

GJB2 変異においては遺伝子型によって難聴の程度が決まるとされている。フレームシフトを起こす変異であるナンセンス変異、欠失変異、挿入変異、重複変異やスプライス部位の変異を truncating mutation, アミノ酸置換や in-frame deletion などの変異を nontruncating mutation と分類すると難聴の程度は truncating mutation のホモ接合体, truncating/nontruncating mutation の複合ヘテロ, nontruncating mutation のホモ接合体の順に軽くなると報告されている^{2,11)}。また、遺伝子型でみると M34T, V37I, L90P は比較的軽度(平均25~40 dB)の難聴になると言われる^{2,11,12)}。欠失変異のホモ接合体は一般に高度難聴になるが、35 delG / R143W, 35 delG / del (GJB6 - D13S1830) の2つの複合ヘテロに関しては35 delG ホモ接合体よりさらに重度になると報告されている²⁾。Tsukada ら⁹⁾の報告においても235 delC を含む変異の中では235 delC/R143W が最も重度の難聴を示す傾向を認めており、R143W を含む変異は他の GJB2 遺伝子変異と比較して高度の難聴になる傾向があると考えら

表 3 進行例・進行疑い例の遺伝子型と聴力変化

	進行例		進行疑い例					
	症例 1		症例 2		症例 3		症例 4	
年齢 (歳)	70		12		49		31	
genotype	235delC deletion R143W missense 複合ヘテロ		235delC deletion R143W missense 複合ヘテロ		235delC deletion 235delC deletion ホモ		176-191del16 deletion T86R missense 複合ヘテロ	
患側	右	左	右	左	右	左	右	左
初診時聴力 (dB) (4 分法)	61.3	78.8	80.0	80.0	71.3	63.8	66.0	61.0
最終聴力 (dB) (4 分法)	123.8	126.3	110.0	83.8	75.0	75.0	83.8	68.8
初診時からの聴力変化 (dB)	62.5	47.5	30.0	3.8	3.7	11.2	17.8	7.8
観察年数 (年)	6	6	8.0	8.0	14	14	24.0	24.0
難聴進行開始年齢 (推定)	37	37	4.0			33	4.0	
難聴進行速度 (dB/年)	10.4	7.9	1.3	0.2	0.26	0.8	0.7	0.3

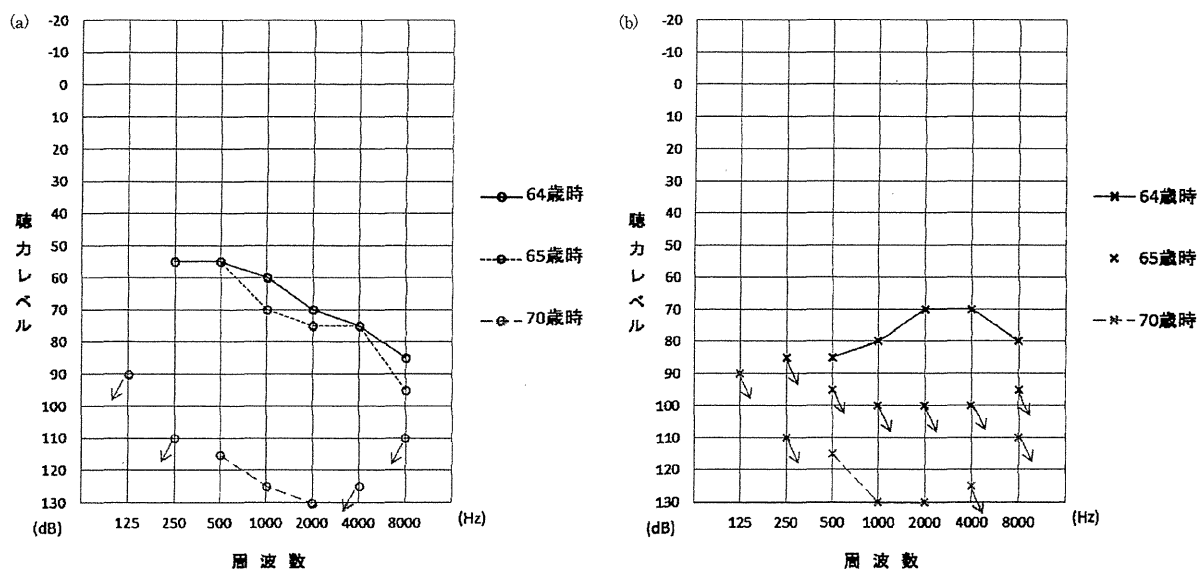


図 2 症例 1 聴力の推移(a)右聴力, (b)左聴力

れている。

本研究の結果でも R143W を含まない non-truncating mutation のみの複合ヘテロ例は 2 例のみであったが軽度, 中等度難聴であり, 難聴の程度は軽かった。重度難聴例 59 例のうち, 57 例では truncating mutation を含んでおり, これらを含んでいない 2 例はともに R143W を含む変異であった。

3. *GJB2* 変異において難聴の進行を示す割合と遺伝子型

今回認められた難聴の進行例, 進行疑い例においては明らかな遺伝子型の傾向は認められず, 難聴の進行開始年齢もさまざまであった。これまでの *GJB2* 変異における進行性難聴についての報告 (表 4) から, 現在のところ進行性難聴を示す *GJB2* 変異の遺伝子型は明確にはなっておらず, 難聴の進行時期も乳幼児期から

表 4

著者	年	症例数	進行の基準	進行例	進行様式	進行例の追跡年数	進行開始年齢	進行例の遺伝子型
Denoyelle F, et al. ¹³⁾	1999	16	4 周波数気導聴力平均で10年で10 dB 以上	2	緩徐	10年以上	不明	不明
Janecke AR, et al. ¹²⁾	2002	15		3	2 例: 突発性難聴 1 例: 緩徐に進行	10年以上	1 例は15歳以降に突発性難聴を回復 1 例は13歳で突発性難聴を起こすも回復 1 例は20年の経過で進行	突発性難聴例 2 例は35delG/L90P 緩徐例は L90P / 314del14
Santos RL, et al. ⁸⁾	2005	5		0		7~22.7年 (平均15.2年)		35delG ホモ接合体
Marlin S, et al. ¹⁴⁾	2005	93	4 周波数の気導聴力平均で10年以上離れた2回で15 dB 以上, または5年以上離れた2回で8 dB 以上	23	緩徐	5年以上	不明	nontruncating mutation が1つ以上含まれている症例においては truncating mutation のみの症例より進行しやすい
Pagarkar W, et al. ¹⁵⁾	2006	2		2	注 1	1 例: 1年4カ月 1 例: 8カ月	1 例 2歳8カ月, 1 例 6カ月以降	2 例とも35delG ホモ接合体
Orzan E, et al. ¹⁶⁾	2007	79	少なくとも4年で閾値が10-15 dB 上昇	7		4年以上		
Gopalarbo D, et al. ¹⁷⁾	2008	7	3 周波数平均で1.5 dB/年以上	3	緩徐	3~12年	進行例の初回の聴力検査は2歳6カ月, 1歳10カ月, 1歳4カ月	全例 35delG ホモ接合体
Kokotas H, et al. ¹⁸⁾	2008		1 例: 右29.3 dB 1 例: 右14.2 dB, 左13.4 dB	2	1 例: 突発性難聴 1 例: 徐々に進行	1 例: 10年 1 例: 6年	1 例: 8歳で難聴発症, 23歳で突発性難聴 1 例: 2歳で難聴発症	35delG ホモ接合体
Kenna MA, et al. ¹¹⁾	2010	84	2 周波数以上で10 dB 以上または1周波数以上で15 dB 以上	47注2	46例は緩徐, 1例は急速	平均13カ月		一定の傾向なし
Tsukada K, et al. ⁹⁾	2010	26		4注3		2年以上		

注 1 1 例: 2歳8カ月時には左右とも audiometric sweep test をパス. (20 dB) 4歳2カ月で右86.3 dB, 左100 dB
1 例: 6カ月時の ABR パス (30 dB) 14カ月時に90 dB no response

注 2 47例中3例は難聴の進行に寄与する他疾患あり

注 3 2例は片側の進行

成人後までさまざまであり, 進行速度についても突発性難聴を呈するものから緩徐に年単位で進行するものまでと考えられている。これらの報告では Kenna らの報告¹¹⁾を除いてはそれぞれの進行性難聴の症例数は少数であり, 基本的には GJB2 変異による難聴は非進行性であり, 稀に進行する場合があると考えるのが妥当

であろう。

しかし, GJB2 遺伝子変異による難聴と診断しても, 一部には進行性を呈するものがあることを前提に経過観察していくことが重要と思われる。

また, 現在報告されている GJB2 遺伝子変異例における難聴の進行については他の遺伝子や

環境因子, 薬剤などが関与している可能性も否定はできない。今後は *GJB2* 変異以外の遺伝子変異についてもさらなる検索が進むことが望まれる。

結 論

GJB2 変異による難聴症例について遺伝子型, 難聴の程度, 進行の有無について検討した。遺伝子型は従来よりアジア人に多いと言われている235 delC が最も多く, G45E/Y136X, R143W がそれに続いていた。欧米人に多い35 delC は認めなかった。*GJB2* 変異においては従来言われているように通常は非進行性難聴を呈すると考えられるが, 本論文で提示したように稀に難聴の進行を認める場合があり, 特に難聴の程度が言語発達に大きく影響する乳幼児においては定期的に聴力検査を施行することは重要であろう。

本研究は厚生労働省科学研究費, 文部科学省科学研究費, 中記記念成人病研究所の研究費助成によって行われた。

文 献

- 1) Korver AM, Admiraal RJ, Oudesluys-Murphy AM, et al., DECIBEL-collaborative study group: Causes of permanent childhood hearing impairment. *Laryngoscope* 2011; 121: 409-416.
- 2) Snoeckx RL, Huygen PL, Van Camp G, et al.: *GJB2* mutations and degree of hearing loss: multicenter study. *Am J Hum Genet* 2005; 77(6): 945-957.
- 3) 宇佐美真一: 難聴の遺伝子診断. *日本臨牀* 2011; 69(2): 357-367.
- 4) Kikuchi T, Kimura RS, Paul DL, et al.: Gap junctions in the rat cochlear: immunohistochemical and ultrastructural analysis. *Anat Embryol (Berl)* 1995; 191(2): 101-118.
- 5) Abe S, Yamaguchi T, Usami S: Application of deafness diagnosis screening panel based on deafness mutation gene database using invader assay. *Genetic Testing* 2007; 11: 333-340.
- 6) 三井規雅ら: 先天性難聴児における *GJB2* (コネキシン26) 遺伝子解析. *医学検査* 2008; 57(5): 849-853.
- 7) Gasparini P, Rabionet R, Estivill X, et al.: High carrier frequency of the 35delG deafness mutation in European populations. *Genetic Analysis Consortium of GJB2 35 delG. Eur J Hum Genet* 2000; 8(1): 19-23.
- 8) Santos RL, Aulchenko YS, Cremers CW, et al.: Hearing impairment in Dutch patients with connexin 26 (*GJB2*) and connexin 30 (*GJB6*) mutations. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2005; 69(2): 165-174.
- 9) Tsukada K, Nishio S, Usami S: Deafness Gene Study Consortium.: A large cohort study of *GJB2* mutations in Japanese hearing loss patients. *Clin Genet* 2010; 78(5): 464-470.
- 10) Abe S, Usami S, Shinkawa H, et al.: Prevalent connexin 26 gene (*GJB2*) mutations in Japanese. *J Med Genet* 2000; 37: 41-43.
- 11) Kenna MA, Feldman HA, Rehm HL, et al.: Audiologic phenotype and progression in *GJB2* (Connexin 26) hearing loss. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2010; 136(1): 81-87.
- 12) Janecke AR, Hirst-Stadlmann A, Nekahm-Heis D, et al.: Progressive hearing loss, and recurrent sudden sensorineural hearing loss associated with *GJB2* mutations--phenotypic spectrum and frequencies of *GJB2* mutations in Austria. *Hum Genet* 2002; 111(2): 145-153.
- 13) Denoyelle F, Marlin S, Petit C, et al.: Clinical features of the prevalent form of childhood deafness, DFNB1, due to a connexin-26 gene defect: implications for genetic counselling. *Lancet* 1999; 353(9161): 1298-1303.
- 14) Marlin S, Feldmann D, Denoyelle F, et al.: *GJB2* and *GJB6* mutations: genotypic and phenotypic correlations in a large cohort of hearing-impaired patients. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2005; 131(6): 481-487.
- 15) Pagarkar W, Bitner-Glindzicz M, Knight J, et al.: Late postnatal onset of hearing loss due to *GJB2* mutations. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2006; 70(6): 1119-1124.
- 16) Orzan E, Murgia A.: Connexin 26 deafness is not always congenital. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2007; 71: 501-507.
- 17) Gopal Rao D, Kimberling WJ, Cohn ES, et al.: Is hearing loss due to mutations in the Connexin 26 gene progressive? *Int J Audiol* 2008; 47(1): 11-20.
- 18) Kokotos H, Theodosiou M, Korres S, et al.: Sudden hearing loss in a family with *GJB2* related progressive deafness. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2008; 72: 1735-1740.

原稿受理日 2013年9月20日

別刷請求先:

〒169-0073 東京都新宿区百人町3-22-1

社会保険中央総合病院耳鼻咽喉科 今井直子

Characteristics and genotype of GJB2 mutation with progressive hearing loss

Naoko Imai^{1,2)}, Kozo Kumakawa^{1,3)}, Nodoka Aadachi⁴⁾, Satoshi Asanuma⁴⁾, Hirofumi Ohashi⁵⁾, Hideaki Sakata⁶⁾, Tatsuya Yamasoba⁷⁾, Shin-ichi Usami⁸⁾

- 1) Department of Otorhinolaryngology, Toranomon Hospital
- 2) Department of Otorhinolaryngology, Social Insurance Chuo General Hospital
- 3) Okinaka Memorial Institute for Medical Research
- 4) Department of Otorhinolaryngology, Saitama Children's Medical Center
- 5) Department of Medical Genetics, Saitama Children's Medical Center
- 6) Department of Speech, Language and Hearing Therapy, Faculty of Health Science, Mejiro University
- 7) Department of Otolaryngology and Head and Neck Surgery, University of Tokyo
- 8) Department of Otorhinolaryngology, Shinshu University School of Medicine

GJB2 gene mutations are the most common cause of congenital hearing loss. These mutations generally cause non-progressive hearing loss. In the present study, we examined the relationship between genotypes and progressive hearing loss in 97 patients diagnosed with *GJB2* mutations. The genotype 235 delC, common among Asians, was the most frequent, while no 35 delG, common among Westerners, was observed. Of 41 patients, excluding those presenting with severe hearing loss from the beginning, hearing was measured twice or more at 1-year or longer intervals in 32. One apparent case and three suspected cases of advanced hearing loss were identified. No specific trend in genotypes was observed. Progressive hearing loss is rarely seen in patients with *GJB2* mutations. No specific genotype causing progressive hearing loss was identified. However, severe hearing loss significantly affects language development in infants. Hearing loss should be carefully followed up, given that it progresses in some cases with *GJB2* gene mutations.

Key words: *GJB2* mutation, connexin 26, progressive hearing loss, genotype, congenital hearing loss

難聴の遺伝子診断と次世代シーケンス解析

—保険収載された遺伝子診断からターゲットリシーケンシングとエクソーム解析

Genetic diagnosis of deafness

—From SNPs based invader analysis to the target resequencing and exome analysis



西尾信哉(写真左) 宇佐美真一(写真右)

Shin-ya NISHIO and Shin-ichi USAMI

信州大学医学部耳鼻咽喉科学

◎先天性難聴は、新生児 1,000 名に 1 名に認められる比較的頻度の高い先天性疾患である。疫学調査の結果より先天性難聴の 60~70% に遺伝子が関与することが推測されているため、正確な診断のためには遺伝子診断が重要であるが、遺伝的異質性が高く 100 程度の遺伝子が関与するため、効率的な遺伝子診断手法が必要である。2012 年 4 月の診療報酬改定により日本人難聴患者に高頻度に認められる原因遺伝子変異を網羅的にスクリーニングする検査が保険収載され、日常の診断ツールとして遺伝子診断が利用可能となった。本稿では保険収載された遺伝子診断とその有用性について概説するとともに、保険収載された遺伝子診断を補完する検査として実施している次世代シーケンサーを用いたターゲットリシーケンシング解析およびエクソーム解析の現状について概説する。



遺伝学的検査, 保険診療, 先天性難聴, 次世代シーケンサー, Usher症候群

先天性難聴は新生児 1,000 名に 1 名に認められる頻度の高い先天性疾患であり、他の先天性疾患と比較しても非常に頻度の高い疾患のひとつであるといえる。疫学調査の結果より先天性難聴あるいは小児期発症の難聴の 60~70% に遺伝子が関与することが推測されているため(図 1)¹⁾、先天性難聴の原因として最も可能性が高いのが遺伝子変異であり、正確な診断のためには遺伝子診断が必要不可欠である。

遺伝性難聴は、①難聴以外の症状を伴う“症候群性難聴”と、②難聴のみを症状とする“非症候群性難聴”に大別される。“症候群性難聴”は遺伝性難聴の約 30% を占めるとされており、難聴以外に筋肉骨格系、腎尿路系、神経系、視覚障害、色素異常、代謝異常や種々の奇形を伴う 400 以上の疾患群が報告されている。これら“症候群性難聴”に関しては難聴以外の随伴症状より確定診断が比較的容易である。また、いくつかの症候群に関してはその原因遺伝子が明らかとなっている。一

方、遺伝性難聴の約 70% は難聴のみを症状とする“非症候群性難聴”である。分子遺伝学的解析手法の進歩により、“非症候群性難聴”の原因遺伝子は 2013 年現在で 54 種類報告されている²⁾が(表 1)、難聴以外の随伴症状を伴わないことより、臨床症状だけから原因遺伝子を特定することは困難である。



保険収載された“先天性難聴の遺伝子診断”

前述のように、先天性難聴の大部分に遺伝子が関与することが知られているが、遺伝的異質性が高く 100 程度の遺伝子が関与するため、効率的な遺伝子診断手法が必要となる。著者らは日本人難聴患者の遺伝子解析を精力的に行ってきたが、その結果、日本人難聴患者より見出される難聴の原因遺伝子変異部位は欧米人難聴患者に見出される部位と大きく異なっており、民族に特有の変異が存在することが明らかとなってきた³⁻⁷⁾。これら日本人難聴患者に特徴的な原因遺伝子変異を網羅的かつ効率的にスクリーニングを行うことが難聴

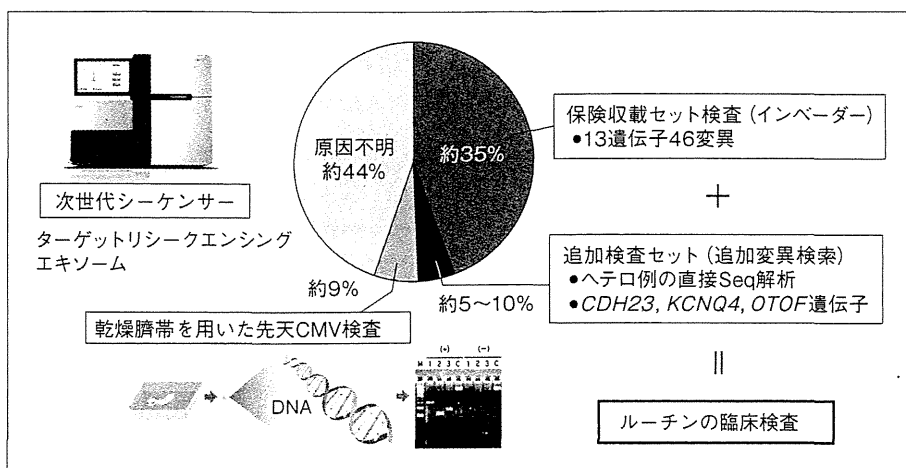


図1 難聴遺伝子解析の現況

平成24年度より保険収載されたインベダー法を用いた13遺伝子46変異のスクリーニング検査では、およそ35%の原因が特定可能である。現在、スクリーニング検査により原因遺伝子変異が同定されなかった症例を対象に、①追加変異解析の検査セット、②先天性CMV感染症の検査、③次世代シーケンサーを用いた解析を追加で行っている。※追加の検査を希望される施設は著者までご連絡いただきたい。

(西尾: nishio@shinshu-u.ac.jp, 宇佐美: usami@shinshu-u.ac.jp)

の原因を特定するためには効率的であるため、日本人難聴患者に高頻度で認められる13遺伝子46変異をインベダー法により網羅的にスクリーニングする検査を開発し、その臨床応用に関する検討を行ってきた。全国33施設と行った共同研究では、難聴患者の35% (発症年齢が6歳以下の先天性難聴に限ると44.3%)の検出率が得られ、スクリーニング検査として有用であることが明らかとなった⁸⁾。この方法を用いた“先天性難聴の遺伝子診断”が2008年7月より先進医療として承認を受けて臨床応用が開始された。さらに、先進医療での実績数と有用性が評価され、2012年4月の診療報酬改定により“遺伝学的検査(先天性難聴)”として保険収載され、日常の診断ツールとして遺伝子診断が利用可能となった。

難聴の遺伝子診断のメリット

難聴では原因遺伝子変異の種類により臨床像がすこしずつ異なるため、遺伝子診断により原因遺伝子変異を特定することで、原因遺伝子ごとにサブタイプ分類が可能となり、難聴のタイプや重症度、進行性や変動の有無、随伴症状の予防、発症・増悪の予防が可能となる。また、これら臨床像の予測に基づき、より適切な医療を提供するこ

とが可能となる。

1. 難聴のタイプ・重症度の予測

遺伝子変異の種類や変異の部位によってコードする蛋白質に及ぼす影響が異なるため、最終的な表現型である難聴のタイプが異なってくるものが知られている^{4,9)}。

新生児聴覚スクリーニングの普及により、難聴のスクリーニング検査が生後1週間以内に可能となってきたが、乳幼児の正確な聴力評価には聴性脳幹反応(ABR)や聴性定常反応(ASSR)などの聴覚検査を繰り返し行う必要がある。しかし、これら聴覚検査に加えて遺伝子診断を組み合わせることで、より多くの情報が得られ難聴のタイプや重症度に関して予測可能となるため、より早期に、より正確な診断が可能となる。

また、原因遺伝子種類により聴力像が異なることが知られているため、遺伝子診断を行うことによりあらかじめ聴力像を予測することが可能である。とくにCDH23, KCNQ4, ミトコンドリア遺伝子1555 A>G変異による難聴の場合には高音障害型の感音難聴となるが、近年高音障害型感音難聴に対する新しい治療法として、残存聴力活用型人工内耳が臨床応用されており、遺伝子診断に基づいて人工内耳の種類を使い分けるオーダー

表 1 非症候群性難聴の原因遺伝子²⁾

常染色体優性遺伝形式

Locus(OMIM)	Gene(OMIM)	Reference
	<i>CRYM</i>	Abe ら(2003)
DFNA1	<i>DIAPH1</i>	Lynch ら(1997)
DFNA2A	<i>KCNQ4</i>	Kubisch ら(1999)
DFNA2B	<i>GJB3</i>	Xia ら(1998)
DFNA3A	<i>GJB2</i>	Kelsell ら(1997)
DFNA3B	<i>GJB6</i>	Grifa ら(1999)
DFNA4	<i>MYH14</i>	Donaudy ら(2004)
	<i>CEACAM16</i>	Zheng ら(2011)
DFNA5	<i>DFNA5</i>	Van Laer ら(1998)
DFNA6/14/38	<i>WFS1</i>	Bespalova ら(2001), Young ら(2001)
DFNA8/12	<i>TECTA</i>	Verhoeven ら(1998)
DFNA9	<i>COCH</i>	Robertson ら(1998)
DFNA10	<i>EYA4</i>	Wayne ら(2001)
DFNA11	<i>MYO7A</i>	Liu ら(1997)
DFNA13	<i>COL11A2</i>	McGuirt ら(1999)
DFNA15	<i>POU4F3</i>	Vahava ら(1998)
DFNA17	<i>MYH9</i>	Lalwani ら(2000)
DFNA20/26	<i>ACTG1</i>	Zhu ら(2003), van Wijk ら(2003)
DFNA22	<i>MYO6</i>	Melchionda ら(2001)
DFNA25	<i>SLC17A8</i>	Ruel ら(2008)
DFNA28	<i>GRHL2</i>	Peters ら(2002)
DFNA36	<i>TMCI</i>	Kurima ら(2002)
DFNA44	<i>CCDC50</i>	Modamio-Hoybjor ら (2007)
DFNA48	<i>MYO1A</i>	Donaudy ら(2003)
DFNA50	<i>MIRN96</i>	Mencia ら(2009)
DFNA51	<i>TJP2</i>	Walsh ら(2010)
DFNA64	<i>SMAC/ DIABLO</i>	Chen ら(2011)

常染色体劣性遺伝形式

Locus(OMIM)	Gene(OMIM)	Reference(OMIM)
DFNB1A	<i>GJB2</i>	Kelsell ら(1997)
DFNB1B	<i>GJB6</i>	Del Castillo ら(2002)
DFNB2	<i>MYO7A</i>	Liu ら(1997), Weil ら(1997)
DFNB3	<i>MYO15A</i>	Wang ら(1998)
DFNB4	<i>SLC26A4</i>	Li ら(1998)
DFNB6	<i>TMIE</i>	Naz ら(2002)
DFNB7/11	<i>TMCI</i>	Kurima ら(2002)
DFNB8/10	<i>TMPRSS3</i>	Scott ら(2001)
DFNB9	<i>OTOF</i>	Yasunaga ら(1999)
DFNB12	<i>CDH23</i>	Bork ら(2001)

DFNB15/72/95	<i>GIPC3</i>	Ain ら(2007), Rehman ら(2011), Charizopoulou ら(2011)
DFNB16	<i>STRC</i>	Verpy ら(2001)
DFNB18	<i>USH1C</i>	Ouyang ら(2002), Ahmed ら(2002)
DFNB21	<i>TECTA</i>	Mustapha ら(1999)
DFNB22	<i>OTOA</i>	Zwaenepoel ら(2002)
DFNB23	<i>PCDH15</i>	Ahmed ら(2003)
DFNB24	<i>RDX</i>	Khan ら(2007)
DFNB25	<i>GRXCR1</i>	Schraders ら(2010)
DFNB28	<i>TRIOBP</i>	Shahin ら(2006), Riazuddin ら(2006)
DFNB29	<i>CLDN14</i>	Wilcox ら(2001)
DFNB30	<i>MYO3A</i>	Walsh ら(2002)
DFNB31	<i>WHRN</i>	Mburu ら(2003)
DFNB35	<i>ESRRB</i>	Collin ら(2008)
DFNB36	<i>ESPN</i>	Naz ら(2004)
DFNB37	<i>MYO6</i>	Ahmed ら(2003)
DFNB39	<i>HGF</i>	Schultz ら(2009)
DFNB42	<i>ILDR1</i>	Borck ら(2011)
DFNB49	<i>MARVELD2</i>	Riazuddin ら(2006)
DFNB53	<i>COL11A2</i>	Chen ら(2005)
DFNB59	<i>PJVK</i>	Delmaghani ら(2006)
DFNB61	<i>SLC26A5</i>	Liu ら(2003)
DFNB63	<i>LRTOMT/ COMT2</i>	Ahmed ら(2008), Du ら(2008)
DFNB66/67	<i>LHFPL5</i>	Tlili ら(2005), Shabbir ら(2006), Kalay ら(2006)
DFNB74	<i>MSRB3</i>	Waryah ら(2009), Ahmed ら(2011)
DFNB77	<i>LOXHD1</i>	Grillet ら(2009)
DFNB79	<i>TPRN</i>	Rehman ら(2010), Li ら(2010)
DFNB82	<i>GPSM2</i>	Walsh ら(2010)
DFNB84	<i>PTRPQ</i>	Schraders ら(2010)
DFNB91	<i>GJB3 SERPINB6</i>	Liu ら(2000) Sirmaci ら(2010)

X連鎖性

Locus(OMIM)	Gene(OMIM)	Reference
DFNX1(DFN2)	<i>PRPS1</i>	Liu ら(2010)
DFNX2(DFN3)	<i>POU3F4</i>	De Kok ら(1995)
DFNX4(DFN6)	<i>SMPX</i>	Schraders ら(2011), Huebner ら(2011)

メイト医療が実現可能となってきた¹⁰⁾。

2. 進行性や変動の有無の予測

通常の聴力検査ではその後の難聴の進行や変動の有無を予測することは困難であるが、遺伝子診断を行うことにより進行の有無や変動の有無を予測することが可能である。たとえば、同じ常染色

体劣性遺伝形式をとる難聴原因遺伝子変異であっても、*GJB2* 遺伝子変異症例では難聴の進行を認めることは稀である^{4,11)}のに対して、*SLC26A4* 遺伝子変異による難聴症例ではめまい発作を伴い、変動しながら難聴が増悪することが明らかとなっている⁵⁾。また、常染色体優性遺伝形式をとる

KCNQ4, *TECTA*, *WFS1*などの遺伝子変異による難聴症例およびミトコンドリア遺伝子変異による難聴症例も進行性の難聴を呈することが知られている¹²⁻¹⁵⁾。進行性の難聴を特徴とする原因遺伝子変異が同定された場合には定期的に聴力を測定するとともに、補聴器・人工内耳などの機器の調整を行い、十分な聴取能を確保することが必要である。また、高度難聴への進行が予測される遺伝子変異の場合には将来的に人工内耳を視野に入れた経過観察が必要となる。

3. 随伴症状の有無の予測

Pendred症候群やUsher症候群のように症候群性の難聴であっても随伴症状の発症時期が小児期以降発症の場合には、生後～小児期にかけては難聴以外の症状を呈さないため非症候群性難聴と区別がつかない。このような遅発性の随伴症状を伴う症候群性難聴の場合、遺伝子診断が予後の予測や適切な介入法選択のための有用な情報となる。*SLC26A4* 遺伝子変異は難聴と甲状腺腫を伴うPendred症候群の原因遺伝子でもあるため、*SLC26A4* 遺伝子変異が認められた場合には甲状腺機能を含めた経過観察が重要である⁵⁾。

また、*MYO7A*, *CDH23*, *PCDH15*などの遺伝子変異により発症するUsher症候群では先天性の高度難聴+後天性の網膜色素変性症を発症することが知られており、10歳前後で夜盲を自覚するまでは視覚症状に気がつかない場合が多い。遺伝子診断を行うことで、網膜色素変性症を予測可能となるため、両側人工内耳を行うなど将来の視覚障害に対応するために聴覚を積極的に活用するなどの治療計画を立てることが可能となる¹⁶⁾。

4. 発症・増悪の予防

近年、分子遺伝学的・分子生物学的解析より、ミトコンドリア 1555 A>G 変異, 1,494 C>T 変異をもつ場合にはアミノ配糖体抗菌薬に高感受性となることが明らかとなってきた。この変異を伴う難聴が診断された場合には、①罹患者の難聴の進行予防、および②非罹患者の同胞の発症予防、が可能となる。いったん難聴を発症すると非可逆的であるが、アミノ配糖体抗菌薬を避けることで、罹患者の場合には難聴の進行を、非罹患者の場合には高度難聴の発症を予防できるというメリッ

トがあるため、薬物カードを配布して予防に努めている^{15,17)}。

遺伝性難聴の

ターゲットリシーケンシング解析

保険収載された先天性難聴の遺伝子診断は、正確な診断を行うという意味だけでなく、予後の予測、随伴症状の予測、難聴の進行予防、治療法選択に有用な情報が得られるなど多くのメリットのある検査である。遺伝子診断に基づいた難聴のサブタイプ分類と、サブタイプに応じたオーダーメイド医療の提供はこれからの難聴医療に必須となると思われるが、現在保険診療で行われているインベーター法を用いたスクリーニング検査の診断率は30~40%程度であり、今後の診断率の向上のためには新規原因遺伝子変異の追加が必要である。しかし、①難聴の原因遺伝子として100以上の遺伝子が関与するため、原因となる遺伝子変異の探索は容易ではない、②日本人難聴患者に高頻度で認められる主要な変異はすでにインベーター法によるスクリーニング検査に取り込まれているため、遺伝子変異を追加することによるコストの増加に対し診断率向上の程度はわずかであるため、費用対効果に乏しい、という問題点があった。しかし、次世代シーケンサーが実用化され、多数の原因遺伝子を網羅的に解析することが可能となり、また解析費用の低下により、現実的にすべての難聴原因遺伝子を網羅的に解析することが可能となってきた。

難聴の原因を探索する際の効率を考えると、①インベーター法に搭載されている日本人難聴患者に高頻度で認められる変異のスクリーニング検査、②既報告の難聴原因遺伝子のターゲットリシーケンシング解析、③新規の難聴原因遺伝子の探索を目的としたエクソーム解析、④エクソン領域以外に原因のある難聴遺伝子変異を見出すためのゲノム解析、の順に検索を進めるのがよいと考えられる。インベーター法によるスクリーニング検査などで遺伝子変異が同定されないケースでは、難聴の原因遺伝子であることが報告されている54遺伝子を網羅的に解析するターゲットリシーケンシングが有用である。とくに、劣性遺伝形式を

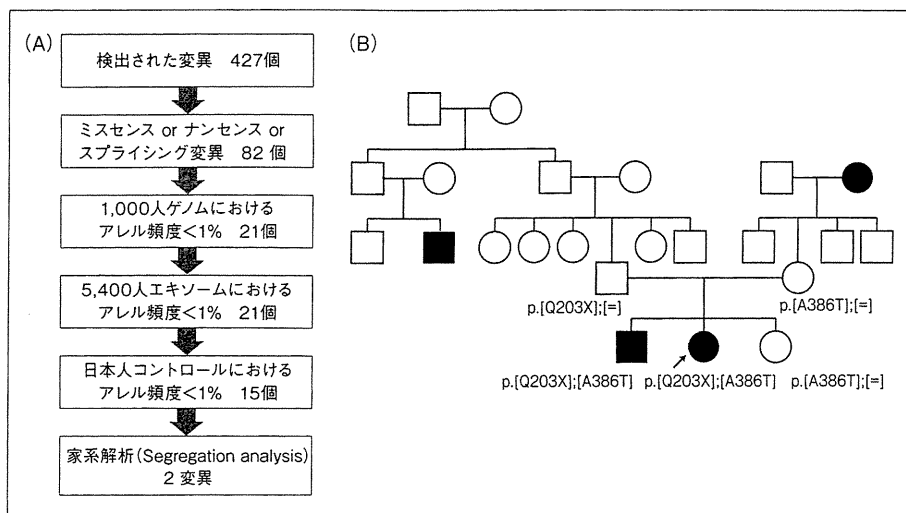


図 2 難聴のターゲットリシーケンシング解析による遺伝子変異の絞込み
 実際に行われた遺伝子解析による遺伝子変異の絞込みの様子(A)と遺伝子 X の複合ヘテロ接合体変異の見出された非症候群性難聴家系(B)を示す。(Miyagawa, et al., submitted)

とる遺伝性難聴では、founder effectによると考えられる民族共通の遺伝子変異が高頻度で認められるため、インバーダー法や TaqMan Genotyping 法による診断が有効であるが、優性遺伝形式をとる遺伝性難聴の場合、家系ごとに変異の部位が異なる場合が多く、効率的なスクリーニング法が確立していないため、既知遺伝子の網羅的ターゲットリシーケンシング解析が非常に有用である。

現在、わが国も含めて既知難聴遺伝子を網羅的に解析するターゲットリシーケンシングが行われており、成果が得られつつある¹⁸⁻²⁰⁾。現在までに報告されている難聴の原因遺伝子をすべて合わせるとおおよそ 0.5~0.6 Mbase となるため、エンリッチメントの方法としては SureSelect などのシーケンシングキャプチャーによるものが多く用いられている。また最近では、micro droplet PCR や HaloPlex, IonAmpliSeq などの Amplicon ベースのエンリッチメント法も徐々に用いられはじめている。

Shearer ら (2010) は、既知の難聴原因遺伝子 54 種類の全エクソン領域を SureSelect により網羅的にキャプチャーする手法を利用して、難聴患者 8 例(陽性コントロール 2 例を含む)の遺伝子解析を行った。陽性コントロール 2 例とも既報告の変異が同定され、また、原因不明であった 6 家系中

5 家系より難聴の原因と考えられる遺伝子変異を同定し報告している¹⁸⁾。

また著者らが、難聴患者 216 例(陽性コントロール 62 例を含む)を対象に、既知の非症候群性難聴の原因遺伝子 54 遺伝子および既知の症候群性難聴原因遺伝子および内耳で高発現の認められる遺伝子を含めた 121 遺伝子の全エクソン領域を SureSelect Custom+Illumina GA IIx により網羅的に解析を行ったところ、陽性コントロールにおける変異検出率は 93% 以上と非常に高効率で検出可能であり、また、全体の約 70% より何らかの遺伝子変異が見出されることが明らかとなった。このことから、新規の原因遺伝子探索手法としても非常に有用であることが明らかとなってきている(Miyagawa ら, submitted)。

その後、著者らのグループでは新規の原因遺伝子変異を同定する目的で、前述 216 名に加え 296 名の追加の解析を SureSelect Custom+Illumina HiSeq2000 で行い、合計 512 名のターゲットリシーケンシング解析を完了している。ターゲットリシーケンシング解析においては多数の SNPs が検出されるため、見出された変異が病的変異かまれな多型かを判断するのは非常に困難である。見出された遺伝子変異に関して、①1,000 人ゲノムおよび 5,400 エキソームのアレル頻度によ

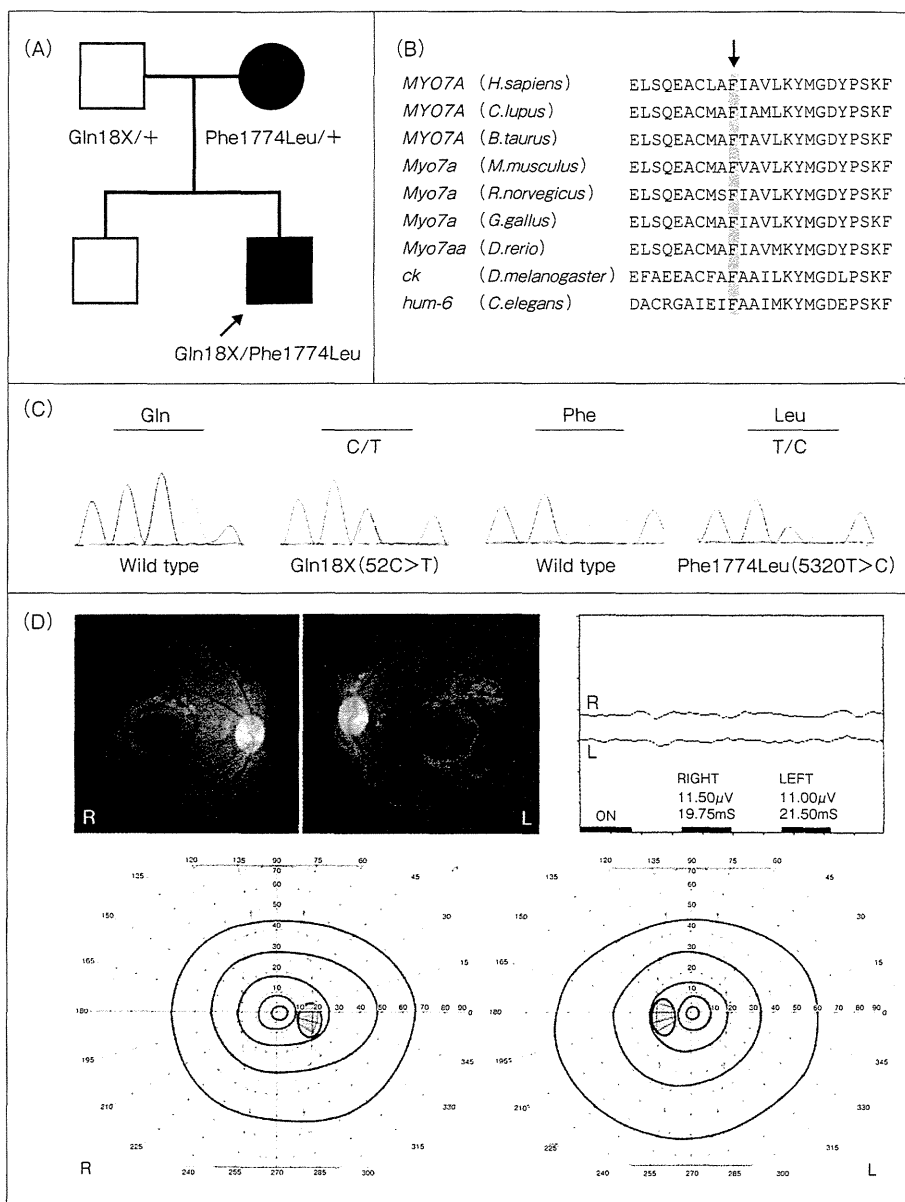


図 3 遺伝子診断により網膜色素変性症自覚前にUsher症候群を診断された症例¹⁶⁾

- A: 遺伝子診断により網膜色素変性症発症前に遺伝子診断された症例の家系図および見出された *MYO7A* 変異。
 B: 変異部位の種間の保存性。
 C: サンガーシーケンスによるクロマトグラム。
 D: 眼底所見, 網膜電図検査 (ERG 検査) の結果および視野検査 (Goldman visual field examination) の結果。

るフィルター, ②日本人コントロールにおけるアレル頻度によるフィルターをかけることにより候補となる遺伝子変異が 10 個以下のレベルまで絞り込まれる。とくに, 遺伝性難聴の場合, 極少数のケースを除き浸透率 100% の単一遺伝子の Mendel 遺伝形式をとるため, ③家系サンプルに

よるセグリゲーション解析を行うことにより原因候補遺伝子変異は数個レベルまで絞り込むことが可能であり, 原因遺伝子変異を同定できる場合も多い(図 2)。

また著者らは, 平成 22 年度~24 年度厚生労働科学研究「Usher 症候群に関する調査研究班」と

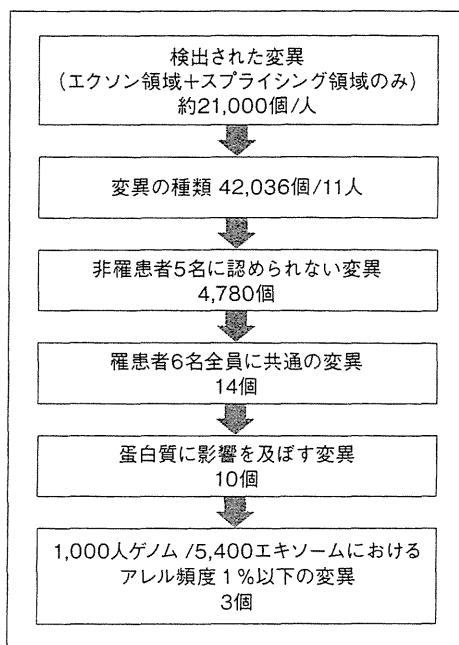


図 4 難聴のエクソーム解析による遺伝子変異の絞り込み

優性遺伝形式をとる遺伝性難聴家系(罹患者6名, 非罹患者5名)を対象に行ったエクソーム解析による遺伝子変異の絞り込みの様子を示す。十分に大きな家系の場合には同一家系内の複数サンプルのエクソーム解析を行うことにより候補遺伝子を数個レベルまで絞り込むことが可能である。

して、全国の共同研究施設より収集した Usher 症候群症例 46 例中、Usher 症候群 type 1 症例 16 例を対象に IonAmpliSeq を用いて、Usher 症候群の原因遺伝子として知られる 9 遺伝子 (*MYO7A*, *CDH23*, *PCDH15*, *USH1C*, *USH1G*, *USH2A*, *GPR98*, *DFNB31*, *CLRN1*) を増幅し、IonTorrent を用いての網羅的解析を行ったところ、14 例 (87.5%) よりホモ接合体または複合ヘテロ接合体で原因遺伝子変異を検出し原因を同定することができた。また、検出された変異の種類は欧米人の変異とは異なるものであり民族特異性があることが明らかとなった¹⁶⁾。興味深いことに、変異の検出された遺伝子は *MYO7A* が 7 例 (50%)、*CDH23* が 4 例 (28%)、*PCDH15* が 3 例 (21%) であり、海外と同程度の頻度であることが明らかとなった。このことより Usher 症候群においても難聴と同様、原因遺伝子の種類や頻度は民族間で共通しているが、変異の種類に関しては民族特異性

があることが明らかとなった。Usher 症候群の原因として知られる 9 遺伝子は数多くのエクソンからなる大きな遺伝子が多く、エクソンの合計が 326 にもなる。従来のサンガーシーケンス法を用いた解析では膨大な作業量が必要であったが、パーソナル型の次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析により大幅に効率化を行うことが可能となってきた。

また、Usher 症候群は先天性高度難聴に後天性の網膜色素変性症を随伴するため、生下時～幼少期には非症候群性の難聴と診断されている症例があるものと考えられる。そこで、非症候群性難聴症例を対象に Usher 症候群の原因遺伝子を網羅的に解析したところ、網膜色素変性症を発症する前に遺伝子変異が同定され、その後眼底検査や網膜電図検査 (ERG 検査) により網膜色素変性症と診断された症例を経験した¹⁶⁾。このように、遺伝子診断は Usher 症候群の早期診断および早期介入のために非常に有用な情報となりうることが期待される (図 3)。

遺伝性難聴のエクソーム解析の実際

難聴の原因であることが報告されている遺伝子を網羅的に解析するターゲットリシーケンシング解析を行ってもなお原因遺伝子変異が同定されない場合には、全遺伝子のエクソン領域を対象としたエクソーム解析を行うことにより難聴の原因が特定可能である。

海外でも新規難聴原因遺伝子の探索の一環としてのエクソーム解析が行われはじめているが、現時点では連鎖解析や homozygous mapping などの他の遺伝子解析手法と組み合わせて実施することで、変異の絞り込みを行うなどの工夫を行った解析が行われている²¹⁻²³⁾。

Walsh ら (2010) は、連鎖解析により遺伝子座 *DFNB85* が同定されていた劣性遺伝形式をとる近親婚難聴家系 1 家系を対象に、SureSelect+IlluminaGA II x を用いたエクソーム解析を行い、*DFNB85* 座近傍の遺伝子に関して homozygous mapping と組み合わせることにより、新規の難聴原因遺伝子 *GPSM2* を同定し報告している。また、内耳における局在を調べるとともに発生段階での