

の塩基配列も解読できるが、それには時間もかかり、費用も高い。全ゲノム中でタンパク質をコードしているのは約2%であり、その領域に遺伝性疾患の原因となる変異の85%が存在していると推測されている⁶⁾。そこで、ゲノム上の特定の領域にターゲットを絞り解析するターゲットリシーケンシングという技術を用いて、タンパク質コード領域のみにターゲットを絞り解析するエクソーム解析が、遺伝性疾患の効率的・網羅的ゲノム解析法として報告されている^{7),8)}。さらに難聴遺伝子のみにターゲットを絞ったターゲットリシーケンシングも報告されている^{9)~13)}。

我々は難聴遺伝子検査をより高い感度で短時間で安価に行うことを目指して、既知の全難聴遺伝子のタンパク質コード領域のみに解析のターゲットを絞ったNGS検査の確立を目指して研究を進めている(図2)。NGSを用いた遺伝子解析では、例えば既知難聴遺伝子のターゲットリシーケンシングであっても1人の難聴者に対して多数の原因候補となる遺伝子変異が見つかり、その中から一つに絞る(つまり難聴の原因を確定する)ことが困難である場合が多い。我々は図3に示した多段階の解析

を行って絞り込みを行うことで、高い確率で原因を確定できると考えている。

以上のようなNGSを用いたシーケンスとそのデータ解析は膨大かつ複雑であるため、適正な遺伝子診断につなげるためには遺伝診療の専門家、分子生物学の専門家、バイオインフォマティクスの専門家が連携して進める必要がある。我々は、慶應義塾大学医学部臨床遺伝学センターおよび分子生物学教室、理化学研究所ゲノム医科学センター情報解析研究チームとの連携により本研究を進めている。

今後の展望

分子遺伝学的検査の臨床活用には、分析的妥当性、臨床的妥当性、臨床的有用性、倫理的法的社会的問題の検討と問題点の解決が必要とされている。我々は、分子遺伝学的検査及びNGSの診療活用に関するガイドライン(表1)に沿って、NGSを用いた難聴遺伝子検査の確立のための検討と問題点の解決に取り組んでいる。さらに、NGS検査を効果的に医療に活用できるための総合的なチーム医療体制の確立と、効果的な臨床活用を進めるた

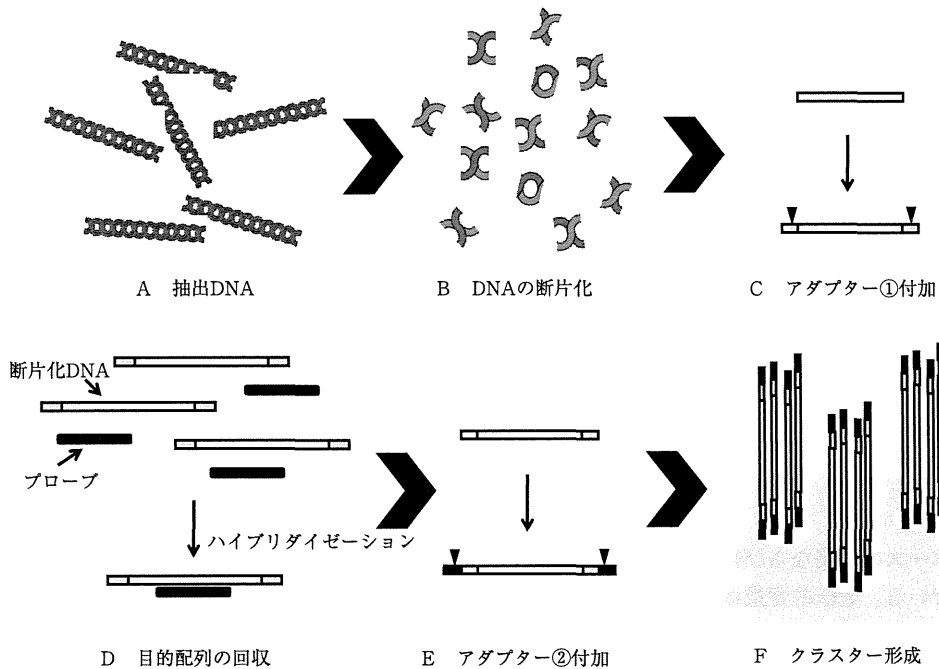


図2 当施設における難聴遺伝子のNGS解析

- A: 血液検体からDNAを抽出
- B: 超音波によりDNAを断片化
- C: 断片化DNAにシーケンス用塩基配列(アダプター①)を付加
- D: 目的の遺伝子塩基配列を特異的プローブとのハイブリダイゼーションにより回収
- E: 回収したDNAにクラスター形成用塩基配列(アダプター②)を付加
- F: チップ上でクラスター形成、その後NGSでシーケンス

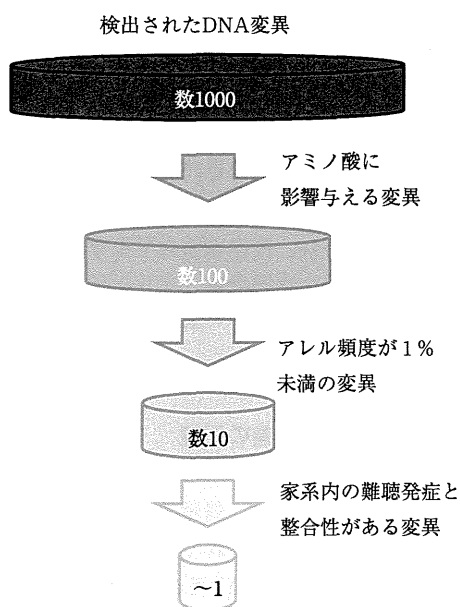


図3 当施設におけるNGS解析データの絞り込み工程

表1 分子遺伝学的検査及びNGSの診療活用に関するガイドライン

- ・「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン（日本医学会、2011）」
- ・「稀少遺伝性疾患の分子遺伝学的検査を実施する際のベストプラクティス・ガイドライン（日本人類遺伝学会遺伝学的検査標準化準備委員会、2010）」
- ・「遺伝学的検査に関するガイドライン（遺伝医学関連学会、2003）」
- ・「全ゲノムシーケンシング・全エクソンシーケンシングを診療に活用する際の留意点（アメリカ臨床遺伝専門医会、2012）」[Points to consider the clinical application of genomic sequencing (American College of Medical Genetics and Genomics, 2012)]

めの基盤データベースの構築ならびにガイドラインの検討にも取り組んでいる。遺伝的背景は人種によって大きく異なるため、日本人の遺伝性難聴の遺伝子変異と臨床像を解明していく必要がある。このように、今後取り組むべき課題が多く残されているが、疫学的な研究には多施設共同研究による集団的アプローチが適しており、個別化された研究や独創的アイデアの研究には個別のチームによるアプローチが適している。今後、この両方のアプローチをバランス良く進めることで、我が国の難聴の

遺伝子診断研究が世界をリードできると考えている。

謝 辞

発表の機会を頂いた第22回日本耳科学会総会会長の村上信五先生、座長の森望先生、川瀬哲明先生に感謝致します。本研究にご協力頂いた難聴者およびそのご家族の方に感謝申し上げます。また、本研究にご協力頂きました慶應義塾大学医学部臨床遺伝学センター、小崎健次郎教授、慶應義塾大学医学部分子生物学教室、清水厚志講師、慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科学教室小川郁教授、国立病院機構東京医療センター臨床研究センター藤井正人部長に感謝申し上げます。本研究は厚生労働科学研究補助金（H23－実用化（難病）－一般－013）により行った。

付 記

本稿の受理後に関連する論文が掲載された。

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 Oct 28; 8 (1): 172.

参考文献

- 1) Morton CC, Nance WE : Newborn hearing screening -a silent revolution. *N Engl J Med* 18 : 2151-2164, 2006.
- 2) Smith RJ, Bale JF Jr, White KR : Sensorineural hearing loss in children. *Lancet* 365 : 879-890, 2005.
- 3) 松永達雄、幸池浩子、務台英樹：難聴の遺伝子検査. *神経内科* 68 : 415-421, 2008.
- 4) Matsunaga T : Value of genetic testing in the otological approach for sensorineural hearing loss. *Keio J Med* 58 : 216-222, 2009.
- 5) Mardis ER : The impact of next-generation sequencing technology on genetics. *Trends Genet* 24 : 133-141, 2008.
- 6) Majewski J, Schwartzenuber J, Lalonde E, et al. : What can exome sequencing do for you? *J Med Genet* 48 : 580-589, 2011.
- 7) Choi M, Scholl UI, Ji W, et al. : Genetic diagnosis by whole exome capture and massively parallel DNA sequencing. *Proc Natl Acad Sci USA* 106 : 19096-19101, 2009.

- 8) Ng SB, Buckingham KJ, Lee C, et al. : Exome sequencing identifies the cause of a mendelian disorder. *Nat Genet* 42 : 30–35, 2010.
- 9) Brownstein Z, Friedman LM, Shahin H, et al. : Targeted genomic capture and massively parallel sequencing to identify genes for hereditary hearing loss in Middle Eastern families. *Genome Biol* 12 : R89, 2011.
- 10) Diaz-Horta O, Duman D, Foster II J, et al. : Whole-exome sequencing efficiently detects rare mutations in autosomal recessive nonsyndromic hearing loss. *PLoS One* 7 : e50628, 2012.
- 11) Baek JI, Oh SK, Kim DB, et al. : Targeted massive parallel sequencing: the effective detection of novel causative mutations associated with hearing loss in small families. *Orphanet J Rare Dis* 7 : 60, 2012.
- 12) Shearer AE, DeLuca AP, Hildebrand MS, et al. : Comprehensive genetic testing for hereditary hearing loss using massively parallel sequencing. *Proc Natl Acad Sci USA* 107 : 21104–21109, 2010.
- 13) De Keulenaer S, Hellemans J, Lefever S, et al. : Molecular diagnostics for congenital hearing loss including 15 deafness genes using a next generation sequencing platform. *BMC Med Genomics* 5 : 17, 2012.

論文受付 25年1月15日
論文受理 25年1月15日

別刷請求先：〒152-8902 東京都目黒区東が丘2-5-1
国立病院機構東京医療センター臨床研究センター聴覚障害研究室 松永 達雄



Pendred 症候群の診断と治療

国立病院機構東京医療センター耳鼻咽喉科
松永達雄

はじめに

Pendred 症候群は感音難聴と甲状腺腫を特徴とする常染色体劣性遺伝の症候群性難聴である。本症候群は最も頻度の高い症候群性難聴であり、小児難聴の主要な原因の一つである。近年、本症候群の原因として *SLC26A4* 遺伝子が発見され、それは前庭水管拡大を伴う非症候群性難聴 *DFNB4* と同一の原因遺伝子であることも明らかになった。このため、この2つの疾患を同一の病態とみなす場合もある¹⁾。

疫学・病態

SLC26A4 遺伝子変異による難聴の割合は、先天性難聴では3%、小児難聴(4歳の時点)では7%である²⁾。*SLC26A4* 遺伝子はタンパク質 pendrin を産生し、これは内耳においては $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ の交換輸送、甲状腺においては Cl^-/I^- の交換輸送に働く。変異による内リンパへの HCO_3^- 排出の低下から *KCNJ10* 発現の低下、蝸牛内静止電位の低下と続き難聴になる^{3,4)}。甲状腺腫の病態はまだ不明である。

症状と経過

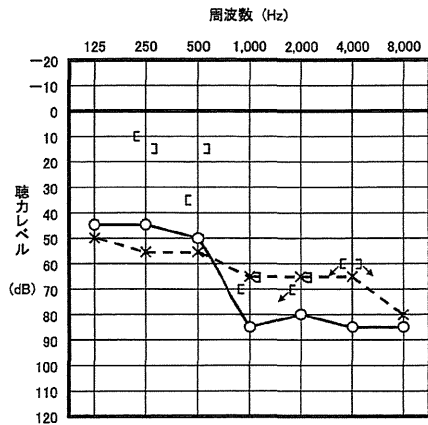
難聴は大部分が先天性であり、進行・変動する場合も多いが、その頻度は報告によりさまざまである。オーディオグラムの特徴は高音域の障害が強く、低音域に気骨導差を認める(図1A)。頭部への衝撃あるいは重量物を持ち上げるなどにより急性増悪する場合が多いが、誘因がなくても急性増悪する場合もある。急性増悪後の経過は回復することが多いが、残存する場合もある。難聴の急性増悪時に回転性めまい発作が随伴することも多く、眼振、悪心、嘔吐を伴うことも多い。本症の幼少児が突然倒れて動けず、泣きだすような場合には、めまい発作を疑う。めまいは1日から数日で回復するが、反復する場合もある。また、持続性の平衡機能障害を呈する場合もある。甲状腺腫の発症はほぼ全例で10歳前後かそれ以後であり、成人後の発症も少なくない。約25%は甲状腺腫を発症しないが、甲状腺 perchlorate 放出検査では異

常を認める。血液中の甲状腺ホルモン値が低下する頻度は低く、10%以下である。

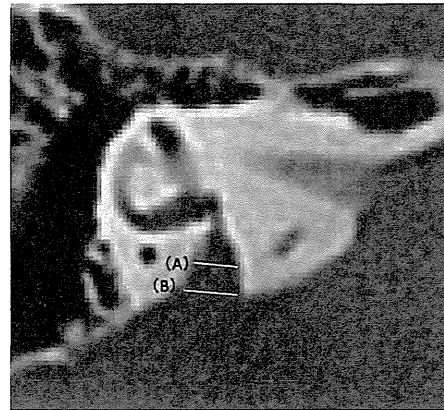
診 断

Pendred 症候群の国際的な診断基準は、1) 感音難聴(通常は先天性、非進行性、高度あるいは重度の聴力低下)、2) 両側性前庭水管拡大(蝸牛低形成(Mondini 奇形)を伴う場合と伴わない場合がある)、3) 甲状腺腫または甲状腺 perchlorate 放出検査で異常、である¹⁾。一方、*DFNB4* の診断基準は、1) 感音難聴(多くは先天性、進行性に高度あるいは重度となる場合もある)、2) 前庭水管拡大(蝸牛奇形を伴わない)、3) 甲状腺機能が正常、である。

まず問診で、難聴の有無、発症時期、経過、家族歴、そしてめまいや甲状腺腫に関する情報を確認する。その後、発達年齢に応じた乳幼児聴力検査、純音聴力検査、他覚的聴力検査で、本症に特徴的な聴覚所見を評価する。難聴を認める場合には、側頭骨 CT または内耳 MRI による画像検査で前庭水管拡大と蝸牛低形成を検討する。前庭水管の中間部が1.5mm以上あるいは中頭蓋窩への開口部が2mm以上で拡大ありと判定する場合が多い(図1B)。蝸牛低形成では蝸牛の頂回転と第2回転の境界が確認できない。甲状腺は視診、触診、超音波検査、必要があれば CT、MRI などで評価する。甲状腺機能は血液検査(T3、T4、TSH、サイログロブリン)、perchlorate 放出検査で評価する。しかし、perchlorate 放出検査は放射性物質を用いることから現在は国内での実施施設が限られている。*SLC26A4* 遺伝子の検討も診断に有用である。ただし、本遺伝子のミスセンス変異の判定には機能解析などを含めた慎重な検討が求められる。鑑別診断としては、他の原因による感音難聴と甲状腺腫の合併、あるいは perchlorate 放出検査で偽陽性を呈する橋本病などの疾患の合併を考慮する。



A) Pendred 症候群症例のオーディオグラム.



B) Pendred 症候群症例の側頭骨 CT. 右耳の拡大した前庭水管に中間部径 (A) および中頭蓋窩への開口部径 (B) を白線で示した.

図 1

管理と治療

Pendred 症候群の診断の際には長期的な症状の経過について十分に説明する。これにより、1) 難聴の進行、変動に対する不安の緩和、2) 成長してからの甲状腺腫の早期診断と不要な検査、治療の回避、3) めまい発作時の対応、に備える。難聴に対しては定期的に聴力検査を行う。また、急性増悪の誘因となりうる頭部への衝撃と重量物の持ち上げなどはなるべく避けるように説明する。

難聴・めまいの急性増悪時は突発性難聴に準じた経口あるいは経静脈のステロイド投与を行う。頻回の場合はステロイドによる副作用を考慮して投与しない場合もある。聴力の回復は突発性難聴と異なり、急性増悪から数カ月以上経過して認められる場合がある。めまい発作に対しては危険な病態でないことを確認の上、そのことを説明して自然回復を待つ。慢性難聴では、程度に応じて補聴器あるいは人工内耳を用い、小児では療育を行う。通常、適応例における人工内耳の効果は高い。甲状腺腫が増大して、生活に支障が出る場合には手術的に摘出する場合もある。甲状腺ホルモンが低下した場合には、甲状腺ホルモン製剤の内服を開始する。

遺伝カウンセリング

両親（患者が小児の場合）あるいは本人（患者が成人の場合）の希望に応じて遺伝カウンセリングを行う。Pendred 症候群では、保因者である両親の子が発症する確率は25%である。

参考文献

- 1) Alasti F, Van Camp G, Smith RJH: Pendred Syndrome/DFNB4. GeneReviews™ [Internet]. updated 2012 Dec 20, Pagon RA, Bird TD, Dolan CR (eds). University of Washington, Seattle; 1993.
- 2) Morton CC, Nance WE: Newborn hearing screening—a silent revolution. N Engl J Med 2006; 354: 2151-2164.
- 3) Singh R, Wangemann P: Free radical stress-mediated loss of Kcnj 10 protein expression in stria vascularis contributes to deafness in Pendred syndrome mouse model. Am J Physiol Renal Physiol 2008 Jan; 294: F139-148.
- 4) 松永達雄, 藤岡正人, 細谷 誠: Pendred 症候群研究の現況と展望. 日本臨牀 2013; 71: 2215-2222.

連絡先 〒152-8902 東京都目黒区東が丘 2-5-1

国立病院機構東京医療センター耳鼻咽喉科 松永達雄

