

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）

ワーデンブルグ症候群の診断基準および重症度分類
策定に関する調査研究

平成29-30年度 総合研究報告書

研究代表者 宇佐美真一

平成31（2019）年3月

目 次

I . 総合研究報告

ワーデンブルグ症候群の診断基準および重度分類策定に関する調査 研究 宇佐美 真一	----	5
--	------	---

総合研究報告

平成29-30年度厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）
総合研究報告書

ワーデンブルグ症候群の診断基準および
重症度分類策定に関する調査研究

研究代表者 宇佐美 真一（信州大学学術研究院医学系）
研究分担者 茂木 英明（信州大学学術研究院医学系）
西尾 信哉（信州大学学術研究院医学系）

研究要旨

ワーデンブルグ症候群は常染色体優性遺伝形式をとる遺伝性疾患であり、症候群性難聴の一つである。聴覚障害および色素異常症を呈することが知られており、毛髪、肌、虹彩などの全身の色素異常、部分白子症や、先天性難聴、眼角離解を呈することが特徴である。また、稀な症状として精神発達遅滞やHirschsprung病を合併する例もある。常染色体優性遺伝形式をとる症候群性難聴の内では最も頻度の高い疾患の一つであり、難聴児童の2～4%に見られると報告されているが、現在までに大規模な疫学調査は行われておらず、その実態は必ずしも明確となっていない。

ワーデンブルグ症候群は、その臨床像から4つのタイプに分類される。WS1型では内眼角離解と、突出した鼻根（鼻根部過形成）が見られ、WS2型はWS1型で内眼角離解・鼻根部過形成が無いものを指す。WS3型は眼角離解と上肢の奇形を伴う。WS4型はWaardenburg-Shah syndromeとしても知られており、Hirschsprung病を合併する。ワーデンブルグ症候群の症候のうち難聴は最も浸透率の高い症候であることが知られており、また難聴の程度も、軽度から高度難聴まで非常にばらつきが大きいことが報告されている。両側性難聴の例が多いが、まれに片側難聴例の報告もある。大部分は感音難聴であるが、伝音性・混合性難聴を呈するケース、内耳奇形を合併する例も報告されている。難聴の浸透率は30～60%程度と推測されておりメンデル遺伝性疾患としては低く、難聴の臨床的特徴に関しては不明な点も多い。

そこで、本研究ではワーデンブルグ症候群に関する疫学調査および遺伝子解析を行い、①遺伝子診断を用いた新しい診断法の確立、②遺伝子診断に基づいた診断基準の確立を目的に全国80施設の共同研究施設を対象に疫学調査研究を行うことを目的に研究を行った。

平成 29 年度は、ワーデンブルグ症候群の各種症状の臨床的特徴と重症度、また補聴器・人工内耳などの治療効果を解析可能となるよう臨床情報調査項目の選定を行った。また、選定した調査項目を元にデータベース(症例登録レジストリ)を開発し、信州大学での試験運用を開始した。今後、全国の拠点医療機関より患者データを収集するとともに、データベースより得られた臨床的所見(臨床像・随伴症状など)を基に、タイプ毎の臨床的特徴を取りまとめ、適切な治療方針(案)を示す計画である。また、診断基準(案)に合致する症例の登録を行うとともに、AMED 班との連携により遺伝子解析を実施するとともに臨床情報の分析を行った。また、ワーデンブルグ症候群では各種症状の浸透率が 100%ではないことが特徴の一つであることより、システマティックレビューを行い、各症状の浸透率の詳細に関して検討を行った。

平成 30 年度は、データベースより得られた臨床的所見(臨床像・随伴症状など)を基に、タイプ毎の臨床的特徴を取りまとめるとともに、ワーデンブルグ症候群の原因とされている 6 種類の原因遺伝子 (*PAX3*、*MITF*、*SNAI2*、*EDNRB*、*EDN3*、*SOX10*) の各変異と臨床的所見との関連を詳細に検討した結果、発端者を含む 18 家系 31 例のうち 29 例から原因となる遺伝子変異を特定したとともに、13 の新規遺伝子変異を明らかにした。また、平成 29 年度に引き続き、新たなワーデンブルグ症候群の診断基準の項目を検討した。

A. 研究目的

ワーデンブルグ症候群は 1951 年に Waardenburg が初めて報告した疾患であり、常染色体優性遺伝形式をとる症候群性難聴の一つである。聴覚障害および色素異常症を呈することが知られており、毛髪、肌、虹彩などの全身の色素異常、部分白子症や、先天性感音難聴、眼角離解、精神運動発達遅滞、Hirshsprung 病などを呈することが特徴である。常染色体優性遺伝形式をとる症候群性難聴の内では最も頻度の高い疾患の一つであり、難聴児童の 2~4%に見られると言われ、本邦では約 5 万人に 1 人の発症頻度であると考えられているが、我が国における実態は未だ不明確であり、正確な実態把握が必要な状況である。

ワーデンブルグ症候群は、その臨床像から 4 つのタイプに分かれる。WS1 型では内眼角離解と、突出した鼻根(鼻根部過形成)が見られ、WS2 型は WS1 型で内眼角離解・鼻根部過形成が無いものを指す。WS3 型は眼角離解と上肢の奇形を伴う。WS4 型は Waardenburg-Shah syndrome としても知られており、Hirschsprung 病を合併する。現在までに 6 種類の原因遺伝子 (*PAX3*、*MITF*、*SNAI2*、*EDNRB*、*EDN3*、*SOX10*) が報告されており遺伝子型と表現型の相関があることが知られている。

このように大まかな症状の分類に関しては明らかになってきているものの、ワーデンブルグ症候群に伴う難聴は軽度から高度難聴まで様々なタイプの感音難聴が報告さ

れており、両側性が多いが時に片側難聴例の報告もある。また、伝音性・混合性難聴を呈するケースや内耳奇形を合併する例も報告されている。これに加え、難聴の浸透率は36～69%程度であり、表現型にバリエーションが大きい疾患であるため、その実態は必ずしも明確となっていない。

そこで、本研究ではワーデンブルグ症候群に関する疫学調査および遺伝子解析を行い、①遺伝子診断を用いた新しい診断法の確立、②遺伝子診断に基づいた診断基準の確立を目的に、全国80施設の共同研究施設を対象に研究を行った。本研究では(1)臨床情報データベース(症例登録レジストリ)を構築し、全国の拠点医療機関より患者データを収集するとともに、(2)データベースより得られた臨床的所見(臨床像・随伴症状など)を基に、タイプ毎の臨床的特徴を取りまとめ、適切な治療方針を示す計画である。また、(3)ワーデンブルグ症候群データベースより得られたタイプ毎の臨床的特徴(臨床像・随伴症状など)と本疾患の原因とされている6種類の原因遺伝子(*PAX3*, *MITF*, *SNAI2*, *EDNRB*, *EDN3*, *SOX10*)の各変異との関連を詳細に検討した。さらに(4)ワーデンブルグ症候群の中で、疫学的に頻度が高くまた眼角離解が報告されているWS1の診断基準を検討した。

近年の補聴器・人工内耳の発達により、聴覚障害に関しては医学的介入によるQOLの改善が可能となってきたため、遺伝子診断に基づいたタイプ分類と、分類に応じた適切な介入により聴覚障害を軽減しQOLを

向上させることが可能であると期待される。

B. 研究方法

ワーデンブルグ症候群は、聴覚障害および色素異常症を呈することが知られており、毛髪、肌、虹彩などの全身の色素異常、部分白子症や、先天性感音難聴、眼角離解、精神運動発達遅滞、Hirshsprung病などを呈するが、その表現型にはバリエーションが大きい。そのため、その実態は必ずしも明確となっていない。

そこで、本研究ではワーデンブルグ症候群に関する疫学調査ならびに遺伝子解析を行い、①遺伝子診断を用いた新しい診断法の確立、②遺伝子診断に基づいた診断基準の確立を目的に、全国80施設の共同研究施設を対象に以下調査研究を行った。

1) 臨床情報の収集およびデータベースの構築

データベースに症例登録を行うための患者選定基準のための診断基準(案)を策定するとともに、本研究における対象患者を明確にした。また、現在までに報告されている表現型を基に臨床情報調査項目の選定を行った。調査項目の選定に関しては、ワーデンブルグ症候群の各種症状の臨床的特徴と重症度、また補聴器・人工内耳などの治療効果を解析可能となるよう配慮して調査項目を選定した。選定された調査項目に関して症例登録データベース(症例登録レジストリ)を開発した。

2) ワーデンブルグ症候群の臨床的特徴に関する検討

ワーデンブルグ症候群は、聴覚障害および色素異常症を呈することが知られており、毛髪、肌、虹彩などの全身の色素異常、部分白子症や、先天性感音難聴、眼角離解、精神運動発達遅滞、Hirshsprung 病などを呈する常染色体優性遺伝形式をとる疾患である。現在までにワーデンブルグ症候群の原因遺伝子として *PAX3*、*MITF*、*SNAI2*、*EDNRB*、*EDN3*、*SOX10* が報告されている。基本的にはメンデル遺伝性疾患であるが、各症状はいずれも不完全浸透であり、全ての症状を有する症例は稀である。ワーデンブルグ症候群症例の大部分は、症候のうちの一部を有するのみであり、家系内でばらつきを認める例も報告されている。そこで、ワーデンブルグ症候群の主要な症候の浸透率（有症率）を明らかにすることを目的に、システマティックレビューを行い、過去に報告のある家系の情報を集積するとともに、原因遺伝子の種類毎の浸透率（各症候の有症率）を明らかにした。

3) 次世代シーケンサーによる原因遺伝子の特定ならびに家族 DNA 試料を含めたワーデンブルグ症候群の遺伝的・臨床的特徴に関する検討

全国 80 施設の協力によって前年度までに構築された症例登録データベースに登録されたワーデンブルグ症候群と診断された発端者、およびその家族から DNA 試料を取得し、次世代シーケンサーを用いた網羅的解析を行った。具体的には、現在までにワーデンブルグ症候群の原因遺伝子として報告されている *PAX3*、*MITF*、*SNAI2*、*EDNRB*、

EDN3、*SOX10* のスクリーニング解析を AMED のデータベース事業「感覚器障害領域を対象とした統合型臨床ゲノム情報データストレージの構築に関する研究班」との連携で行った。

ワーデンブルグ症候群は、上述のように様々な症候のうちの一部を有するのみであり、家系内でばらつきを認める例も報告されている。そこで、発端者の家族に対しても DNA 試料を用いた次世代シーケンサーによる原因遺伝子の特定を行うと共に、家系における発端者の表現型との関係を明らかにした。

4) ワーデンブルグ症候群の診断基準の検討

平成 29 年度までに作成したワーデンブルグ症候群診断基準(案)に対し、新たな診断基準の適切性を、収集された症例の臨床情報を基に検討した。ワーデンブルグ症候群の中で、WS1 は疫学的に頻度が高くまた眼角離解が報告されているため、その表現型から診断基準を設けることができると考えられる。本村(1969, *Audiol. Jpn.*)に基づき、日本人における W index の検討を行った。具体的には、ワーデンブルグ症候群 WS1 に対し、内眼角間、瞳孔間、外眼角間の各距離を測定し、報告されている数式に当てはめることで W index を算出し、それをワーデンブルグ症候群と健常者群間で比較した。

(倫理面への配慮)

- ・ 当該疫学調査に関しては信州大学医学部および各施設の倫理委員会で承認を

得ている。また、匿名化など疫学研究に関する倫理指針を遵守している。

- ・ 遺伝子診断に関しては信州大学医学部および各施設の遺伝子解析倫理委員会で承認を得ている。また、実施に当たりヒトゲノム遺伝子解析に関する倫理指針を遵守している。
- ・ 臨床情報の収集および遺伝子診断に際しては、研究協力者に対する十分な説明の後、書面で同意を得てから解析を行っている。また、サンプルにはID番号を付加して匿名化することで個人情報の漏洩を防止する手順を遵守して行っている。

C. 研究結果

1) 臨床情報の収集およびデータベースの構築

全国 80 施設の共同研究施設を対象に疫学調査研究を行うとともに、臨床情報データベース(症例登録レジストリ)を構築した。全国の拠点医療機関より患者データを収集し、データベースより得られた臨床的所見(臨床像・随伴症状など)を基に、タイプ毎の臨床的特徴を取りまとめ、適切な治療方針(案)を検討した。

まず、海外の診断基準を参考に臨床症状を基盤にした診断基準(案)を作成した(参考資料1)。この際、臨床診断に遺伝子診断を加えることで、確実例の特異度を高めるよう海外の基準をモディファイして作成を行った。この基準案をもとに「疑い例」以上の臨床情報、DNA 試料を収集した。また、現

在までに報告されている表現型を基に臨床情報調査項目の選定を行った。調査項目の選定に関しては、ワーデンブルグ症候群の各種症状の臨床的特徴と重症度、また補聴器・人工内耳などの治療効果を解析可能となるよう配慮して調査項目を選定した。選定された調査項目をもとに、18 家系 50 例(うちワーデンブルグ症候群、もしくはその疑いと診断されたものは 31 例)を症例登録レジストリ(電子レジストリシステム)へ登録した。

2) ワーデンブルグ症候群の臨床的特徴に関する検討

ワーデンブルグ症候群の症候である、聴覚障害、毛髪、肌、虹彩などの全身の色素異常、部分白子症や、先天性感音難聴、眼角離解、精神運動発達遅滞、Hirshsprung 病などの症候はいずれも不完全浸透であり、症候のうちの一部を有するケースが大部分であり、家系内でばらつきを認める。そこで、ワーデンブルグ症候群の主要な症候の浸透率(有症率)を明らかにすることを目的に、システムティックレビューを行い、過去に遺伝子解析の報告のある家系の情報を集積するとともに、原因遺伝子の種類毎の浸透率(各症候の有症率)を明らかにした(表1)。その結果、最も罹患者頻度の高い *PAX3* 遺伝子変異症例では、難聴の浸透率が 55%、虹彩色素異常が 55%、毛髪色素異常が 46%、皮膚色素異常が 18%、内眼角離開が 100%であることが明らかとなった。また、原因遺伝子毎に症状を有する割合が大きく異なることが明らかとなり、遺伝子診断を行うこ

表1 ワーデンブルグ症候群の原因遺伝子の種類と各症状の浸透率（有症率）（Ideura et al., submitted)

	Hearing loss	Heterochromia /blue eyes	White forelock /early gray hair /hair discoloration	Skin depigmentation	freckles	Dystopia canthorum
<i>PAX3</i> (hetero) (175 cases)	94(55%)	97(55%)	81(46%)	32(18%)	4(2%)	175(100%)
<i>MITF</i> (hetero) (127 cases)	115(91%)	82(65%)	63(50%)	15(12%)	43(34%)	0(0%)
<i>SOX10</i> (hetero) (57cases)	53(93%)	42(74%)	25(44%)	17(30%)	0(0%)	0(0%)
<i>EDNRB</i> (hetero) (56 cases)	15(27%)	27(48%)	4(7%)	2(4%)	0(0%)	0(0%)
<i>EDNRB</i> (homo) (24cases)	8(33%)	11(46%)	9(38%)	10(42%)	0	1(4%)
<i>EDN3</i> (hetero) (22cases)	2(9%)	1(5%)	6(27%)	1(5%)	0	0
<i>EDN3</i> (homo) (4cases)	4(100%)	4(100%)	3(75%)	1(25%)	0	0

との有用性が強く示唆される結果が得られた。

3) 次世代シーケンサーによる原因遺伝子の特定ならびに家族 DNA 試料を含めたワーデンブルグ症候群の遺伝的・臨床的特徴に関する検討

全国 80 施設から収集されワーデンブルグ症候群のデータベースに登録された 18 家系 50 例（うちワーデンブルグ症候群、もしくはその疑いと診断されたものは 31 例）を対象に 6 種類の原因遺伝子 (*PAX3*, *MITF*, *SNAI2*, *EDNRB*, *EDN3*, *SOX10*) を標的とした次世代シーケンサーによるスクリーニングを行った。初年度は 18 家系 50 例（うちワーデンブルグ症候群、もしくはその疑いと診断されたものは 31 例）のうちワーデンブルグ症候群確実例 18 家系 27 例を対象に、また次年度では、残りの未解析の症例の解析を、AMED のデータベース事業「感覚器障害領域を対象とした統合型臨床ゲノム情報

データストレージの構築に関する研究班」と連携して行なった。その結果、ワーデンブルグ症候群の原因となる遺伝子変異、*PAX3* 6 例、*MITF* 11 例、*SOX10* 10 例、*EDNRB* 2 例を同定した（表 1）。

PAX3 では、難聴の原因となる新規遺伝子変異が 1 例、既報告である遺伝子変異が 5 例検出された。*MITF* では、難聴の原因となる 4 つの新規遺伝子変異が 10 例から、既報告である遺伝子変異が 1 例検出された。*SOX10* では難聴の原因となる 4 つの新規遺伝子変異が 4 例から、既報告である遺伝子変異が 1 例検出されるとともに、Copy number variation (CNV) が原因とされる 5 例が検出された。*EDNRB* では難聴の原因となる 1 つの新規遺伝子変異が 2 例から検出された。今回、既知遺伝子である *SNAI2*, *EDN3* での変異は検出されなかった（表 2）。

ワーデンブルグ症候群の家系間での表現型をみてみると、*PAX3* の 1 例では、娘は高度難聴および虹彩異色症を示すのに対し、

表2 日本人ワーデンブルグ症候群患者から見出された遺伝子変異の種類と臨床像の一部 (Ideura et al., submitted)

Sample#	Family#	Amino Acid change	exon	hereditary form	de novo mutation compound both parents	Level of Hearing disturbance		other clinical feature				
						rt.ear	lt.ear	dystopia canthorum	heterochromia	hair discoloration	hirsching	malformation of inner ear
JHLB1588	15-1	1	PAX3:p.[R223X][=]	exon5	sporadic	moderate	(COR)	+	+	unknown	-	-
JHLB1655	16-1	2	PAX3:c.[c792+1G>A][=]	exon6	AD	profound	(COR)	+	+	unknown	-	-
JHLB2469	17-1	4	MITF:p.[A111V][=]	exon3	sporadic	normal(no data)	normal(no data)	-	-	unknown	-	-
JHLB1623	18-1	5	MITF:p.[Y130fs][=]	exon4	AD	normal(no data)	HL(no data)	+	+	unknown	-	unknown
	18-2	6				profound	profound	-	+	-	-	unknown
	18-3	7				profound	normal	-	+	-	-	unknown
JHLB1593	19-1	8	MITF:p.[E184X][=]	exon5	AD	severe	severe	-	+	unknown	-	unknown
	19-2	9				profound(no data)	profound(no data)	-	+	unknown	-	unknown
JHLB2091	20-1	10	MITF:p.[S109fs][=]	exon3	AD	profound	(COR)	-	+	-	-	unknown
	20-2	11				profound	(COR)	-	+	-	-	unknown
	20-3	12				profound(no data)	profound(no data)	-	+	+	-	unknown
JHLB175	21-1	13	SOX10:p.[134_139del.][=]	exon2	sporadic	profound	profound	-	+	+	-	+(hypoplasia)
JHLB1632	22-1	14	SOX10:p.[W142C][=]	exon2	sporadic	profound	profound	-	+	unknown	-	-
JHLB2350	24-1	15	EDNRB:p.[D75fs][=]	exon2	AD	moderate	severe	-	+	unknown	-	unknown
	24-2	16				unilateral HL	(no data)	-	+	unknown	-	unknown
JHLB2343	23-1	17	PAX3:p.[R271H][=]	exon6	AD	severe	(COR)	-	+	unknown	-	unknown
	23-2	18				mild	mild	-	+	unknown	-	unknown
JHLB3480	26-1	19	SOX10:p.[S267fs][=]	exon4	sporadic	severe	severe	-	+	-	+	+(EVA, SCC, hypoplasia)
JHLB4270	25-1	20	SOX10:p.[R261fs][=]	exon4	sporadic	severe	severe	-	+	-	+	unknown

父親からは虹彩異色症のみが見られる。また、MITF 遺伝子の 1 例をみると、発端者娘は両側ともに重度難聴、虹彩異色症、白皮症を示すが、弟は両側高度難聴のみを、父親は一側重度難聴および白皮症を示していた。SOX10 の CNV (1 copy loss) が見られた 2 例をみると、同様の変異であるにも関わらず難聴の程度が異なるなど、同一変異を有する家系内においても臨床像が異なることが示された (図 1)。

ワーデンブルグ症候群は臨床像から、WS1、WS2、WS3、WS4 の 4 タイプに分けられているが、今回の遺伝子解析と臨床像を比較した結果、原因となる遺伝子変異によってタイプ分類されることはなかった。今回の解析

の結果、WS1 の原因となった遺伝子は PAX3、MITF、SOX10、WS2 では MITF、EDNRB、SOX10、そして WS4 では SOX10 であった。今回収集された試料の中には WS3 と診断された例はなかった。また WS1 または WS2 と診断できない例の原因遺伝子として PAX3 が同定された。

今回同定された遺伝子変異ごとに聴力像をまとめたところ、MITF、SOX10 遺伝子変異症例では重度難聴になる傾向があった。一方 PAX3 では軽度から重度までの難聴の程度を示し、多様であることが明らかになった。EDNRB 遺伝子変異例は高度難聴であった (図 2)。

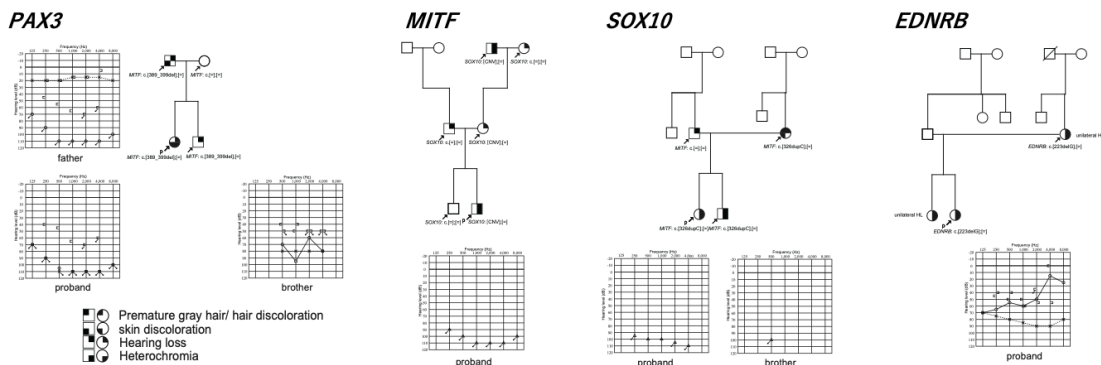


図1 ワーデンブルグ症候群の原因となる遺伝子変異が発見された家系の例 (Ideura et al. submitted)

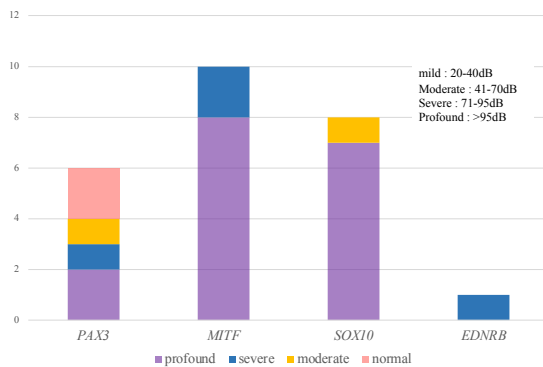


図2 見出されたワーデンプルグ症候群の原因となる遺伝子変異ごとの難聴における臨床像 (Ideura et al. submitted)

4) ワーデンプルグ症候群の診断基準の検討

今回収集したワーデンプルグ症候群のタイプの中で、疫学的に頻度の高いWS1症例に対し、本村(1969, *AudioL. Jpn.*)の報告に基づき日本人健常者のW indexを算出すると、平均値で2を超える値となった。この結果は、W indexが1.95以上であるとされる諸外国でのワーデンプルグ症候群の診断基準と合致しなかったため、その基準をそのまま日本人に適用することは困難である可能性が示された。また、これまでWS1はPAX3の遺伝子変異によるもののみ報告されていたが、本研究の結果、MTF、SOX10がさらなる原因遺伝子変異となっていることが明らかになった。

D. 考察

海外の診断基準を参考に臨床症状を基盤にした診断基準(案)を作成した。この際、臨床診断に遺伝子診断を加えることで、確実例の特異度を高めるよう、海外の基準を

参考にして改定を加えた。これは、ワーデンプルグ症候群の各症候の浸透率(有症率)が100%の完全浸透にならない場合が多いことより、臨床症状の組み合わせだけで診断を行うと、部分的に症候を有している症例を見逃す恐れがあると考えられることより、大症状1つ+遺伝子変異が認められた例を確実例に加えることとした。

また、信州大学にて症例登録レジストリに登録した18家系50例(うちワーデンプルグ症候群、もしくはその疑いと診断されたものは31例)のうち、ワーデンプルグ症候群確実例18家系27例を対象に初年度行なった既知ワーデンプルグ症候群の原因遺伝子(PAX3, MTF, SNAI2, EDNRB, EDN3, SOX10)のスクリーニング解析を行った結果、12家系(67%)より原因遺伝子変異を同定することに成功した。ここでは、大症状を2つ以上有するワーデンプルグ症候群確実例のみを対象にしたこともあり、比較的高い診断率をえることができた。また、その後の検討により、Copy Number Variationによるワーデンプルグ症候群症例も新たに見出しており、今後全国規模で症例収集を行うことで、効率的にサブタイプ分類が行われ、重症度分類の確立や治療方針確立のためのエビデンスが得られると期待される。

ワーデンプルグ症候群の主要な症候がいずれも不完全浸透であることより、システムティックレビューを行い、過去に遺伝子解析の報告のある家系の情報を集積するとともに、原因遺伝子の種類毎の浸透率(各症候の有症率)を明らかにした。その結果、

原因遺伝子の種類により、症候の浸透率が大きく異なることが明らかとなったことから（表1）、遺伝子診断を行うことの有用性が強く示唆された。

確実例に絞った前述の次世代シーケンサーによるスクリーニングに引き続き、二年目では非ワーデンプルグ症候群発端者の家族サンプルのスクリーニングを行なった。2年間を通して、全体で18家系50例（うちワーデンプルグ症候群、もしくはその疑いと診断されたものは31例）のDNAを解析した。ワーデンプルグ症候群の原因とされる6種類の遺伝子（*PAX3*、*MITF*、*SNAI2*、*EDNRB*、*EDN3*、*SOX10*）を標的とした次世代シーケンサーによるスクリーニングの結果、ワーデンプルグ症候群の原因となる遺伝子変異を特定した。見出された遺伝子変異には既知変異のものとともに、13の新規遺伝子変異（2例のCNV 1 copy lossを含む）を明らかにした（表2；図2）。

平成29年度までに、海外の診断基準を参考に臨床症状を基盤に作成したワーデンプルグ症候群診断基準（案）では、既知の遺伝子変異を診断基準として加えているが、今回明らかになったワーデンプルグ症候群の原因となる新規遺伝子変異を加える必要がある。今回、ワーデンプルグ症候群症例の中から発見された新規遺伝子変異の中には、Copy Number Variation (1 copy loss) によるものもあり、既知である挿入や欠失だけでなく様々な遺伝子変異がワーデンプルグ症候群の原因となっていることが明らかになったため、今後の遺伝子診断の際には

CNV解析も合わせて行うことの重要性が示唆された。

ワーデンプルグ症候群は、同一の家系内で同じ原因遺伝子変異を共有していても各症状はいずれも不完全浸透であり、多様な臨床像を呈することが明らかとなった。さらに、*PAX3*変異の見つかった家系で、遺伝子変異を有するものの、ワーデンプルグ症候群様の症状をひとつも伴わない症例などを経験しており（図3）、臨床症状のみからワーデンプルグ症候群と診断することが困難な症例があることが明らかとなった。したがって、遺伝子診断を行うことが非常に重要であることが示された。

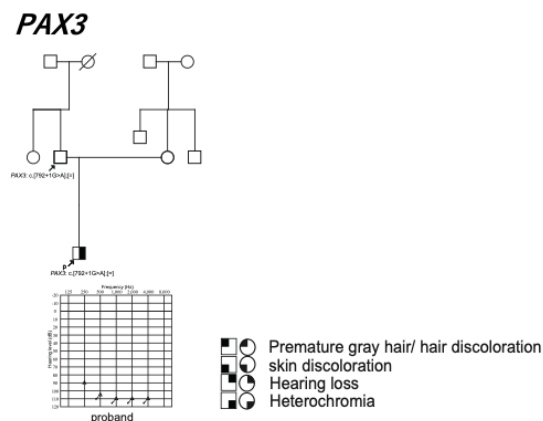


図3 *PAX3*変異の見つかった家系で、遺伝子変異を有するもののワーデンプルグ症候群様の症状を伴わない例 (Ideura et al. submitted)

また、原因となる遺伝子変異とタイプ分類が一致しない例があった。具体的には、WS1の原因としてこれまで*PAX3*の遺伝子変異によるもののみ報告されていたが、今回の研究の結果、*MITF*、*SOX10*が原因として

明らかになった。これまで WS1 の診断基準とされる W index は、WS1 の原因が *PAX3* の遺伝子変異のみであるという前提のもとに診断基準の一つとされてきた。しかし今回、日本人症例の中から、新たに WS1 の原因遺伝子 (*MITF*, *SOX10*) が同定された。この理由として、日本人では健常者であっても W index の値が 2 を超える例が多く、W index が 1.95 以上という現在の診断基準の値が適切でないことに由来する可能性がある。そのため今後 W index の閾値の見直しが必要と考えられる。

今後、ワーデンブルグ症候群に関わる様々な遺伝子変異の情報を蓄積していくとともに、症例登録レジストリのさらなる充実を通してワーデンブルグ症候群の臨床像を明らかにすることが必要と考えられる。

E. 結論

平成 29 年度は、ワーデンブルグ症候群の各種症状の臨床的特徴と重症度、また補聴器・人工内耳などの治療効果を解析可能となるよう臨床情報調査項目の選定を行った。また、選定した調査項目を元にデータベース(症例登録レジストリ)を開発し、信州大学での試験運用を開始した。今後、全国の拠点医療機関より患者データを収集するとともに、データベースより得られた臨床的所見(臨床像・随伴症状など)を基に、タイプ毎の臨床的特徴を取りまとめ、適切な治療方針を示すことが可能であると期待される。

平成 30 年度は、ワーデンブルグ症候群の

原因とされる 6 種類の遺伝子 (*PAX3*, *MITF*, *SNAI2*, *EDNRB*, *EDN3*, *SOX10*) において、ワーデンブルグ症候群の原因となる遺伝子変異を特定した。特定された遺伝子変異は既知のものとともに、13 の新規遺伝子変異を明らかにした。データベースより得られた臨床的所見(臨床像・随伴症状など)、遺伝子変異を基に、タイプ毎の臨床的特徴を取りまとめ、適切な治療方針を示すことが可能であると期待される。また、診断基準(案)に新たに加える計画である新規遺伝子変異は、本症例のより確実な診断に寄与すると考えられる。全国の共同研究施設から症例登録をとりまとめ、レジストリに集積されたデータを基に詳細な検討が行われることで得られた成果は、発症メカニズムの解明や、今後の新たな治療法開発のための重要な基盤情報となることが示唆される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 北尻真一郎, 西尾信哉, 宮川麻衣子, 宇佐美真一. <遺伝子変異による耳鼻咽喉科疾患>感音難聴. *耳喉頭頸* 90:632-638, 2018
- 2) Nishio SY, Moteki H, Usami SI. Simple and efficient germline copy number variant visualization method for the Ion AmpliSeq™ custom panel. *Mol. Genet Genomic Med.* 6:678-686, 2018
- 3) Nishio SY, Usami SI. Outcomes of cochlear implantation for the

- patients with specific genetic etiologies: a systematic literature review. *Acta Otolaryngol.* 137:730-742, 2017.
- 4) 西尾信哉, 宇佐美真一. 最新の遺伝学的検査. *耳喉頭頸* 90:606-615, 2018
 - 5) 野口佳裕, 西尾信哉, 宇佐美真一. 次世代シーケンサーを用いた遺伝子診断のピットフォール. *Audiology Japan* 61:129-135, 2018
 2. 学会発表
 - 1) 宇佐美真一. 耳鼻咽喉科領域の遺伝子診断. 第118回日本耳鼻咽喉科学会学術講演会, 2017.5.17-20 (広島国際会議場, 広島市)
 - 2) Usami SI. Genetics of deafness. ENT WORLD CONGRESS 2017. 2017.6.24-28 (Paris)
 - 3) Nishio SY, Usami SI. NGS-Based Genetic Testing for Deafness. AAO-HNSF 2017, 2017.9.10-13 (Chicago, USA)
 - 4) Gonda A, Miyagawa M, Moteki H, Usami SI. Relationship between etiology and early auditory development after pediatric cochlear implantation. APCSLH 2017, 2017.9.17-19 (国際医療福祉大学成田キャンパス)
 - 5) 権田綾子, 宮川麻衣子, 茂木英明, 宇佐美真一. 小児人工内耳装用児における初期聴性行動の発達について. 第62回日本音言語医学会, 2017.10.5-6 (仙台国際センター, 仙台市)
 - 6) 西尾信哉, 宇佐美真一. 遺伝性難聴患者を対象とした臨床ゲノムデータベースの構築. 第62回日本人類遺伝学会, 2017.11.15-18 (神戸国際会議場, 神戸市)
 - 7) 宇佐美真一. 患者のための遺伝子診断を目指して～難聴医療での実践～ Genetic diagnosis for patients～ practice in hearing-impaired medical care～. 第37回医療情報学連合大会, 2017.11.20-23 (大阪国際会議場, 大阪)
 - 8) 出浦美智恵, 西尾信哉, 宇佐美真一. Waardenburg症候群日本人患者の遺伝子変異と臨床症状について. 第27回日本耳科学会, 2017.11.22-24 (横浜国際平和会議場, 横浜市)
 - 9) 西尾信哉, 宇佐美真一. 遺伝性難聴患者を対象とした臨床ゲノムデータベースの構築. 第27回日本耳科学会, 2017.11.22-24 (横浜国際平和会議場, 横浜市)
 - 10) 渡邊築, 塚田景大, 小林正史, 宇佐美真一. Waardenburg 症候群における平衡機能の検討. 第76回日本めまい平衡医学会, 2017.11.29-12.1 (軽井沢プリンスホテル, 軽井沢町)
 - 11) Nishio SY, Usami SI. Comprehensive analysis of alternative splicing variants identified from tonotopical differences in the mouse cochlea. Association for Research in Otolaryngology 2018,

2018. 2. 10-14, San Diego, USA
- 12) Usami SI. The genetic background of the patients with cochlear implantation. International Congress of ORL-HNS 2018, 2018. 4. 27-29 (Grand Hilton Seoul, South Korea)
- 13) Usami SI. Next Generation Sequencing for Deafness Applied to Social Health Insurance-Based Genetic Testing. 6th East Asian Symposium on Otology (EASO 2018), 2018. 5. 24-26 (Millennium Hilton Hotel, Seoul, South Korea)
- 14) Nishio S, Moteki H, Usami S. Simple and efficient copy number Variant analysis method for the Ion AmpliSeq custom panel. 42nd ANNUAL Mid Winter Meeting, 2019. 9. 13 (Baltimore, Maryland, USA)
- 15) 西尾信哉, 茂木英明, 宇佐美真一. 次世代シーケンス解析データを用いた遺伝子コピー数. 第28回日本耳科学会総会・学術講演, 2018. 10. 3-6 (大阪国際会議場, 大阪)
- 16) 西尾信哉, 茂木英明, 宇佐美真一. Ion AmpliSeq データを用いた効果的な遺伝子コピー数解析手法. 第63回日本人類遺伝学会, 2018. 10. 10-13 (横浜国際平和会議場, 横浜市)
- 17) 宇佐美真一, 茂木英明, 宮川麻衣子, 西尾信哉. 難聴の遺伝学的検査と疾患得意的データストレージ構築. 第63回日本人類遺伝学会, 2018. 10. 10-13 (横浜国際平和会議場, 横浜市)
- 18) 宇佐美真一. 遺伝性難聴の診療ガイドライン改定に向けた診断・治療エビデンスの創出. 2018年度6事業合同成果報告会 (難治性疾患実用化研究事業), 2019. 2. 7-8 (東京国際フォーラム, 東京)

資料1 ワーデンブルグ症候群の診断基準 (案)

●診断基準

確実例：大症状2つ，または大症状1つ+小症状2つ
大症状1つ+原因遺伝子変異

疑い例：大症状1つ+小症状1つ

(大症状)

- 先天性感音難聴（混合性難聴の場合もあり）
- 前頭部白髪束または毛髪低色素
- 虹彩色素異常（完全虹彩異色・部分的/分節的異色）
- 低形成の青色虹彩または輝く青色虹彩
- 内眼角外方偏位：W index >1.95
- 1度近親者に患者（優性遺伝形式）
- 腕の異常（3型のみ）
- ヒルシュスプリング病（4型のみ）

(小奇形)

- 皮膚低形成（先天性白皮）
- 連続眉毛/内側眉毛フレア
- 幅広い/高い鼻根部，目立つ鼻小柱
- 鼻翼低形成
- 早期白髪（30歳未満で）

(原因遺伝子) *一部を示す

タイプ		OMIM entry	遺伝子	遺伝子座
I	WSI	193500	<i>PAX3</i>	2q35
II	WSIIa	193510	<i>MITF</i>	3p14-p12.3

	WSIIb	600193		1p21-p13.3
	WSIIc	606662		8p23
	WSIIId	608890	<i>SNAI2</i>	8q11
III	WS3	148820	<i>PAX3</i>	2q35
IV	WS4a	277580	<i>EDNRB</i>	13q22.3
	WS4b	131242	<i>EDN3</i>	20q13.22
	WS4c	602229	<i>SOX10</i>	22q13.1

平成29-30年度研究成果の刊行に関する一覧表

論文発表

- 1) 北尻真一郎, 西尾信哉, 宮川麻衣子, 宇佐美真一. < 遺伝子変異による耳鼻咽喉科疾患 > 感音難聴. *耳喉頭頸* 90:632-638, 2018
- 2) Nishio SY, Moteki H, Usami SI. Simple and efficient germline copy number variant visualization method for the Ion AmpliSeq™ custom panel. *Mol. Genet Genomic Med.* 6:678-686, 2018
- 3) Nishio SY, Usami SI. Outcomes of cochlear implantation for the patients with specific genetic etiologies: a systematic literature review. *Acta Otolaryngol.* 137:730-742, 2017.
- 4) 西尾信哉, 宇佐美真一. 最新の遺伝学的検査. *耳喉頭頸* 90:606-615, 2018
- 5) 野口佳裕, 西尾信哉, 宇佐美真一. 次世代シーケンサーを用いた遺伝子診断のピットフォール. *Audiology Japan* 61:129-135, 2018