

機関番号：13601

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20791188

研究課題名（和文） 低音障害型感音難聴のメカニズムに関する研究

研究課題名（英文） Gene association study for the low tone hearing loss related diseases.

研究代表者

福岡 久邦（FUKUOKA HISAKUNI）

信州大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90419391

研究成果の概要（和文）：「メニエール病」や最近注目されている「急性低音障害型感音難聴」などの低音部が中心に障害される感音難聴に関しては、どのようなメカニズムで発症するかに関しては不明である。また、*WFS1* 遺伝子変異においても、同様に低音部の難聴という類似の臨床像を示すため、何らかの関連が示唆された。そこで、本研究ではメニエール病患者 100 名を対象に、*WFS1* 遺伝子および過去に関連の報告されている複数の遺伝子多型の解析を行い、コントロール群と比較を行った。その結果、アレル頻度に偏りのある SNP は存在したものの、有為差の認められた SNP は存在しなかった。

研究成果の概要（英文）：Some diseases including Meniere's disease and acute low tone sensory neural hearing loss indicate typical clinical feature, low tone hearing loss. *WFS1* gene mutation which reported as a genetic cause of autosomal dominant type low tone sensory neural hearing loss. In this study, we perform gene association study of Meniere's disease. We determine 12 reported Meniere's disease associated SNPs and *WFS1* gene SNP for 100 Meniere's disease patients, but we cannot find any statistical significant SNPs.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009 年度	600,000	180,000	780,000
2010 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：耳鼻咽喉科学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：遺伝子・難聴・内耳・聴覚

## 1. 研究開始当初の背景

「メニエール病」や最近注目されている「急性低音障害型感音難聴」などの低音部が中心に障害される感音難聴は、その他の感音難聴と発症メカニズムや病態が異なると考えられているが、現在までのところその発症メカニズムは良く分かっていないのが現状であ

る。

一方、近年の分子遺伝学の発達により、難聴の原因遺伝子が次々と明らかになってきている。*WFS1* 遺伝子変異は低音障害型の感音難聴を起こす原因遺伝子変異として 2001 年に報告された遺伝子変異であるが、最近我々は日本人難聴家系から 3 家系に *WFS1* 遺伝子変異を見だし報告した

(Fukuoka et al. 2007)。したがって日本人難聴患者においても *WFS1* 遺伝子が深く関与していることが考えられる。

*WFS1* 遺伝子変異による難聴は低音障害という特徴的な難聴を呈する。しかしそのメカニズムについては未だ解明されていない。一般に内耳において基底回転では高音部を、頂回転では低音部を感受しておいるため、各部位での遺伝子の発現パターンや、タンパクの機能の差異により、低音部分のみ障害されるような臨床像を呈することが予想されていた。

## 2. 研究の目的

*WFS1* 遺伝子変異は常染色体優性遺伝形式をとる感音難聴 *DFNA6/14/18* の原因遺伝子であり、小胞体の蛋白 *wolframin* をコードしている。*wolframin* は小胞体ストレスに関与しており、遺伝子変異の種類により常染色体劣性遺伝形式をとる糖尿病、視神経萎縮などの症状を呈する。

一方、遺伝子変異の種類によっては、常染色体優性遺伝形式をとる低音障害型感音難聴を呈する。

一般的な感音難聴と比較して、低音部分のみが障害される非常に特徴的な聴力像を呈するがそのメカニズムは未だ明らかと成っていない。

また、同様にめまいと難聴を臨床的特徴とするメニエール病でも、初期の段階においては、低音部の難聴が特徴とされており、難聴のメカニズムとして同一の病態が存在することが強く示唆される。

我々はこれまでに日本人における低音障害型感音難聴患者の原因遺伝子変異として *WFS1* 遺伝子変異を報告してきた。(J Hum Genet. 2007;52(6):510-5)

本研究では、低音障害型難聴の発症するメカニズムの解明を目的に、同じ低音障害型感音難聴という臨床的特徴を有するメニエール病患者において、疾患の発症関連遺伝子あるいは原因遺伝子を行った。また、*WFS1* 遺伝子変異の解析を継続して実施した。

## 3. 研究の方法

### (1) メニエール病の遺伝子解析

メニエール病は、めまいと難聴を臨床的特徴とするが、特に初期の段階においては、低音部の難聴が特徴とされており、難聴のメカニズムとして同一の病態が存在することが強く示唆される。そこで、本研究では、メニエール病の発症に関連する遺伝子あるいは原因遺伝子を同定することを目的に文献的に関与が疑われる遺伝子多型を中心に遺伝子解析を行った。

遺伝子解析の試料としては、信州大学が中

心となって行っている「難治性内耳疾患の遺伝子バンク構築研究」と連携し、各協力医療機関において、研究協力に関する十分な説明の後、書面によりインフォームドコンセントを取得した上で、協力を得られたメニエール病患者約 200 例の DNA サンプルを使用した。

コントロールとしては、Hapmap Japan の多型データおよび我々の研究室において、難聴の遺伝子解析の際にコントロールとして協力を得た約 200 例の DNA サンプルを使用した。なお、コントロール群に関しては全例聴力検査を実施し、125Hz~8,000Hz の音域において正常聴力である事を確認している。

遺伝子多型の選択には、過去に論文などでメニエール病との関連が指摘されている遺伝子を中心に解析を実施した。解析を行った遺伝子は、*WFS1* 遺伝子、水チャンネル遺伝子 (アクアポリン、AQP2、AQP3、AQP4、AQP5)、カリウムイオンチャンネル遺伝子 (KCNE1、KCNE3)、ヘルペス・ウイルスに関連する遺伝子 (HSV entry/transcription: HCFC1、HSV susceptibility/reactivation: CASP3) などの遺伝子多型を中心に遺伝子相関解析を行った (下表)。

解析を行う多型としては、過去に論文等で相関があることが報告されている多型とともに、周辺に存在するマイナーアレル頻度が 10%以上の比較的相関解析に有用な多型を Hapmap Japan Project のデータベースを参考にして選択した。

表 1 解析した遺伝子のリスト

Function	Gene/protein
water channel	AQP2, AQP3, AQP4, AQP5
K <sup>+</sup> transport within stria vascularis	KCNE1, KCNE3
HSV entry/transcription	HCFC1
HSV susceptibility/reactivation	CASP3
	RENBP
others	

遺伝子型の決定には、Applied Biosystems 社の TaqMan Genotyping Assays を用い、TaqMan 法によるタイピングを行った。解析には Applied Biosystems 社の Step One Plus realtime PCR 装置を用いた。

タイピング後の解析としては、ケース群とコントロール群において、アレル頻度を基にしたカイ 2 乗検定を行うとともに、各遺伝子型を基に、優性モデル、劣性モデル、Additive モデルの 3 モデルを基に有為差検定を実施した。

## 4. 研究成果

### (1) メニエール病の遺伝子解析

メニエール病は、めまいと難聴を臨床的特徴とするが、特に初期の段階においては、低音部の難聴が特徴とされており、難聴のメカ

ニズムとして *WFS1* による難聴と同一の病態が存在することが示唆された。

そこで、本研究では文献的にメニエール病への関与が報告されている遺伝子多型および *WFS1* 遺伝子を中心に遺伝子解析を行った。

その結果、今回解析した SNPs に関してはメニエール病患者群とコントロール群との間に有為差は認められなかった（下表）。

表 2 SNPs 解析の結果

SNPs	Gene	CTRLS	X <sup>2</sup> p-value	HWE
rs467199	AQP2	SHINSHU	0.347	0.622
rs3759126	AQP2	SHINSHU	0.172	0.523
rs2227285	AQP3	HAPMAP.JPT	0.079	0.899
rs1049216	CASP3	HAPMAP.JPT	0.076	0.304
rs2270676	KCNE3	HAPMAP.JPT	0.114	0.028
rs17421	HCF1	SHINSHU	0.329	
rs2834502	KCNE1	HAPMAP.JPT	0.392	0.616
rs1805127	KCNE1	HAPMAP.JPT	0.600	0.022
rs762653	HCF1	HAPMAP.JPT	0.602	
rs3736309	AQP5	SHINSHU	0.668	0.450
rs162004	AQP4	HAPMAP.JPT	0.684	
rs3759129	AQP5	HAPMAP.JPT	0.690	0.141
rs2269372	RENBP	HAPMAP.JPT	0.842	

有為差の認められた遺伝子は認められなかったものの、詳細に見ていくと *AQP3* 遺伝子の rs2227285 および *CASP3* 遺伝子の rs1049216 に関しては有為傾向が認められており、今後サンプルの増加により有意差が認められる可能性が考えられる。今回使用したサンプルは 9 6 症例と少なく、また対象とした SNP の数も少なく、あくまでも予備解析の域をでない。今後、解析対象人数を増やすとともに、解析対象遺伝子を増やすことにより、メニエール病の発症に関与する遺伝子を同定することが可能となり低音障害型感音難聴のメカニズム解明が期待される。

また、今回解析を行った SNPs に関して、過去の報告においても、30 例から 200 例程度とサンプル数が少ないため、十分な信頼度がない可能性も考えられるため、今後の解析では、過去に報告のあった特定の遺伝子だけでなく、対象遺伝子の範囲を拡げて検討を行う必要がある事が示唆された。

また、メニエール病突では先行研究で遺伝的な関連が報告されているが、その遺伝的影響の強さおよび、高血圧や糖尿病など遺伝的要因+環境要因で発症することが知られている他の疾患の遺伝的な影響の強さ（オッズ比 1.5、2.0、2.5）、また一般的な薬剤の効果あるいは副作用に関する遺伝的な影響の強さと（オッズ比 3.5）のそれぞれにおいて、統計学的に意味のある正しいデータを得るために必要な、サンプル数および解析対象遺伝子数をシミュレーションを行なった。

その結果、一般的に、糖尿病や高血圧のようなありふれた疾患における遺伝的背景の影響の強さはオッズ比 1.5~1.8 と言われており、メニエール病における遺伝的背景の影響の強さが糖尿病などと同程度場合には、原因遺伝子を見つけるためには 500

~2000 人の解析を行なう必要があることが明らかになった。

一方、先行研究で報告されているオッズ比や、一般的に、薬剤の効果あるいは副作用に関する遺伝的要因の影響（オッズ比 3.5）と、突発性難聴および急性低音障害型感音難聴の薬剤の効果に関する遺伝的要因の影響を同程度と仮定すると、おおよそ 200 人を解析する必要があることが明らかになった。

臨床的には、メニエール病が遺伝するという事例は少なく、遺伝性が強いことを示唆するデータは少ないため、実際の遺伝的影響の強さはおそらく 3.5 より小さいことが予測される。

従って、本研究の目的であるメニエール病の遺伝的要因の探索を行なうためには、まず 200 名ほどの小集団を用いて遺伝的背景の強さを検討した上で、解析手法を選択することが必要であることが明らかとなった。

さらにまた、近年、R Smith らより遺伝性のメニエール病の原因遺伝子変異としてイオントランスポーター遺伝子の関与が報告されているがこのような変異は頻度が極めて低く、遺伝相関解析では検出不可能であることより、直接シーケンスによる解析も必要である。

## 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔学会発表〕（計 2 件）

① 福岡久邦、西尾信哉、鬼頭良輔、小口智啓、宇佐美真一、渡辺行雄、難治性内耳疾患の遺伝子バンクプロジェクトの現況（メニエール病患者における SNPs 関連解析）、前庭機能異常に関する調査研究班会議、2011. 1. 22

② 福岡久邦、橋本繁成、西尾信哉、工 穰、宇佐美真一、*WFS1* 変異による難聴患者の遺伝子解析と臨床像、優性遺伝形式をとる遺伝性難聴に関する調査研究班会議、2010. 2. 28、東京

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

福岡 久邦 (HISAKUNI FUKUOKA)  
信州大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号：90419391

### (2) 連携研究者

宇佐美 真一 (USAMI SHINICHI)  
信州大学・医学部・教授  
研究者番号：10184996

鬼頭 良輔 (KITO RYOUSUKE)  
信州大学・医学部・助教  
研究者番号：80419358

西尾 信哉 (NISHIO SHINYA)  
信州大学・医学部・研究員  
研究者番号：70467166