

機関番号：11101
研究種目：若手研究（B）
研究期間：2009～2010
課題番号：21791585
研究課題名（和文） GJB2 遺伝子変異保因率に関する大規模研究
研究課題名（英文） Large-scale study on GJB2 gene mutation
研究代表者
南場 淳司（NAMBA ATSUSHI）
弘前大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：50361027

研究成果の概要（和文）：

平成21年5月31日から6月8日に岩木健康増進プロジェクト健診を実施し、参加者832名から採血を行い、さらに純音聴力検査を行った。抽出したDNAからGJB2遺伝子解析を行い、解析の終了した358例では6種類の変異が27例（7.54%）で認められ、その27例すべてが保因者であり発症者はいなかった。この結果から発生率は約0.14%と考えられ、予想された発生率よりも高いものと考えられ、地域における傾向と考えた。

研究成果の概要（英文）：

In the Iwaki Health Promotional Project executed on May 31st - June 8th of 2009, we collected blood samples from 832 participants and performed Pure-tone audiometry. Six GJB2 mutations were detected in 27 (7.54%) cases in the gene analysis performed on 358 samples from the participants. All of the 27 individuals were gene carriers and none had any symptoms. From this result the incidence of hearing loss caused by GJB2 mutation would be thought to be about 0.14%, higher than our previous assumption. We believe this high tendency may be a characteristic of this particular region.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

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：GJB2 難聴 保因率

1. 研究開始当初の背景

先天性高度難聴児は、約 1000 人に 1 人の割合で生まれると考えられており、他の先天性疾患と比較しても頻度の高い疾患である。近年の技術革新により、従来原因不明とされてきた難聴も、原因遺伝子が多数発見されてきており、先天性難聴の少なくとも半数は遺伝子が関与していると推測されている。また、その難聴それぞれについて、遺伝学的特徴や臨床における特異的な経過が知られるようになり、一部では既に遺伝子診断やカウンセリングなどが開始されている。

遺伝子の関与する先天性難聴のうち、約 7 割が非症候群性難聴であるが、その大多数は劣性遺伝形式を取ることが知られている (75~85%)。劣性遺伝形式をとる非症候群性難聴の約半数の原因遺伝子は *GJB2* であり、日本人家系でも高頻度に同定されている。*GJB2* 変異による難聴は中等度~高度難聴を呈し、幼少時より補聴器の装用を必要とすることが多く、最高度難聴児においては人工内耳の装用が有効であるとされている。

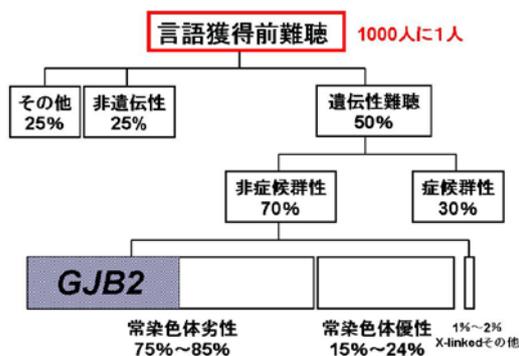


図 1

しかしこれまで、病院を受診した症例を対象とした遺伝子疾患の保因率の報告や遺伝性難聴の報告は散見されるが、一般人口を対象とした大規模研究において聴力と遺伝子変異との関連を調査した報告は極めて少ない。

一方、我々は平成 18 年より岩木健康増進プロジェクトに参加し、難聴をテーマとして主に聴力検診を行うことで参加しており、19 年度からは難聴の遺伝子検索も実施する検査の 1 項目として組み込まれ、これまでのべ 3000 症例を超える症例の遺伝子サンプルを集めることに成功している。

これらを用いて *GJB2* の変異解析を行うことで、これまでに無かった大規模な研究が可能となる。

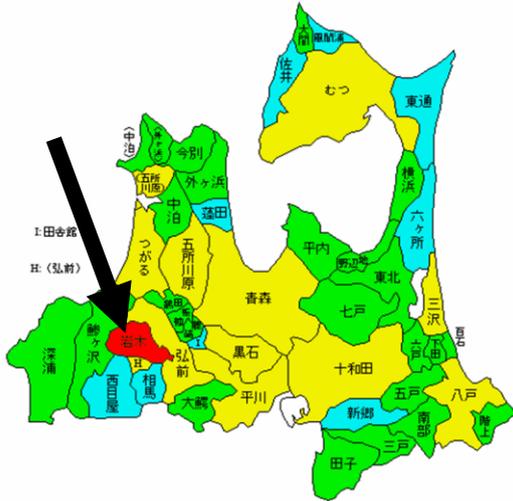
2. 研究の目的

大規模な症例数を対象に、非症候群性難聴の原因遺伝子として最も頻度の多い *GJB2* 変異の保因者頻度を算出し、*GJB2* による難聴の発生率を求めることが第 1 の目的である。これにより、現在全国へ広がりを見せる遺伝相談やカウンセリングの場において、有益な情報の一つとなることが予想される。

また、これまで日本人において *GJB2* 遺伝子変異は 13 種類報告されており、235delC, V37I, G45E, Y136X の順に頻度が高いと報告されている。一般の保因者の変異形式に関する報告はこれまでに無く、本研究で保因者における変異形式の頻度を導き出すことを第 2 の目的としている。

3. 研究の方法

社会医学講座にて行っている岩木健康増進プロジェクトに参加し、純音聴力検査及び採血を行う。その後血液からは DNA を抽出する。遺伝子解析を行い *GJB2* 遺伝子の解析を行う。その結果から、変異の頻度を調査し、また保因率と発生率を算出する。



岩木健康増進プロジェクト

青森県の旧岩木町の平均寿命が全国平均に比較し短いことを受け、平成 17 年より弘前大学医学部社会医学講座の主催で 10 年間、毎年 4 月に実施されている。旧岩木町に在住する町民を対象に、健康状態の現状と問題点を医学的観点から調査すること、また今後の旧岩木町町民における疾病の予防及び健康の保持、増進、この 2 つを目的としている。

4. 研究成果

平成 21 年 5 月 31 日から 6 月 8 日に岩木健康増進プロジェクト健診を実施し、参加者 832 名から採血を行い、さらに純音聴力検査を行った。

その得られた血液サンプルから DNA を個別に抽出した後に、GJB2 遺伝子に対する特異的なプライマーを用いて PCR 法により DNA を増幅した。

その後 GJB2 遺伝子の塩基配列を直接シーケンス法を用いて検索し解析を行った。

使用したプライマー

GJB2-AF	CCTGTTCTGTCTAGCTAGTGATTCC
GJB3-AR	CCTTCTGGGTTTTGATCTCCTCGATG
GJB4-BF	CCGGAGACATGAGAAGAAGAGG
GJB5-BR	TTGCCTCATCCCTCTCATGCTG

解析結果から GJB2 遺伝子変異の頻度を算出した。

これまでに遺伝子解析の終了した 358 例では 12 種類の変異が認められた。そのうちすでに遺伝的多型と考えられている 3 種の変異のアリル頻度は

V27I : 38.27%

E114G : 7.54%

I203T : 8.24%

であった。

2 症例で複合ヘテロ接合体 (G45E, Y136X) の発症者を認めた。

病因となることが認められている変異の保因頻度は

V37I:12 例 (3.35%)

235delC:5 例 (1.4%)

T123N:5 例 (1.4%)

I71T:2 例 (0.56%)

F191L:2 例 (0.56%)

A49V:1 例 (0.28%)

であり、358 例中 27 例 (7.54%) だった。

上記の病因になると考えられている変異の種類については、これまでに日本人家系に見いだされてことのある遺伝子変異である。さらに得られた聴力検査データを参照比較しキャリアであることを確認した。

岩木健康増進プロジェクトの際には、125Hz~8000Hz までの周波数帯での純音聴力検査結果を全症例に対して行い、その聴力検査結果と上記遺伝子解析結果を比較検討したが、キャリアと考えられる 27 症例において高度難聴者を認めず、正常~年齢相応の聴力を呈しており、遺伝性難聴を疑うような聴力レベルの症例は認めなかった。

一方、今回新たに同定された変異として

F106L: 1 例 (0.28%)

が認められた。F106L はこれまでに論文などにおいて報告されたことのない、新しい変異であり、現在のところ遺伝的多型なのか、病因となる新しい変異であるかは判断できない。

今回の研究結果を総合すると、GJB2 遺伝子変異のキャリア率は 7.54% であり、そこから

導き出される GJB2 遺伝子変異による難聴者の発生頻度は約 0.14 %となる。

ゆえに GJB2 変異による難聴者は出生 1000 人あたり 1.4 人と考えられた。(キャリア同士が会う確立は 0.0754×0.0754 で求められ、その子供がホモで受け継ぐ確立が 4 分の 1)

この結果は日本以外の国々での頻度報告と比較し、我々の予想を遙かに超える結果となった。これは地域における傾向であり、今後も症例数を増やして検討していくことを考えている。

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)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

南場 淳司 (NAMBA ATSUSHI)

弘前大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：50361027