

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791807

研究課題名(和文)先天性難聴遺伝子の運動機能・平衡機能に対する影響

研究課題名(英文)Effects of deafness genes on exercise and vestibular function

研究代表者

笠井 美里(kasai, misato)

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号：70549279

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：先天性難聴の根本的原因として遺伝子変異がその半数以上に寄与することは知られている。また先天性の難聴者は平衡機能の障害を持ち合わせることも知られている。本年遺伝性難聴で最も高頻度に検出される原因遺伝子であるコネキシン26遺伝子、GJB2の変異が聴力のみならず平衡機能にも影響を与える可能性を示唆した。本研究では先天性難聴者に対する多項目遺伝子解析(GJB2、ミトコンドリアDNA1555変異、Gjb6、COCH、SLC26A4等)を行い検出された変異に伴う運動機能、平衡機能の客観的評価を行い既存の難聴遺伝子を imbalance gene (平衡失調遺伝子)としても同定し前庭機能のメカニズムの解明を目指す

研究成果の概要(英文)：It is well known that the fundamental cause responsible for congenital deafness is brought about by the gene mutations. Furthermore, deafened subjects also suffer from disequilibrium. My previous study suggested that the gene of connexin26 (GJB2), the most prevalent form of deafness genes, influenced vestibular system as well auditory function. In the present study, I aimed to resolve the underlying mechanism of the vestibular function on the basis of objective evaluation of both exercise and vestibular function in addition to the analysis of multiple deafness genes, which may be defined as the imbalance gene.

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：先天性難聴 遺伝子変異 平衡機能障害 コネキシン26遺伝子 運動機能 平衡失調遺伝子

1. 研究開始当初の背景

(1) 蝸牛と前庭は発生学的、解剖学的にも密接な関係にあり、難聴をきたす遺伝子は平衡機能障害もきたし得る。平衡機能は人間が生きていく上で非常に重要な感覚であるが、聴覚障害者における平衡機能に関する報告は数少ない。先天性聴覚障害者の平衡機能に関しては、幼児では健常児よりも劣っているという報告が散見するのみである。一般的に、9歳前後までは先天性聴覚障害者が健常者よりも劣っているものの、その後は脳の発達に伴う中枢神経系の代償作用により健常者と変わらなくなるとされているが、成人に関する研究は皆無である。一方、近年の分子生物学の進歩により約1000出生に1人の割合で出生する先天性難聴者の根本的原因として遺伝子変異の関与が明確となった。代表的な難聴遺伝子としては、ギャップ結合蛋白をコードする *GJB2* 遺伝子の変異やミトコンドリア遺伝子変異、内耳の構成蛋白である cochlin をコードする *COCH* 遺伝子の変異、同じく内耳の構成蛋白である ペンドリン をコードする *SLC26A4* 遺伝子変異等が知られている。

(2) 我々が以前より解析を行ってきた *GJB2* 遺伝子変異が難聴をおこすメカニズム(Kudo et al. *Hum Mol genet* 2003)をはじめとして、それぞれの遺伝子が難聴を引き起こすメカニズムの研究は多く行われている。これら内耳の構成蛋白やミトコンドリアは蝸牛だけでなく前庭にも多く発現していることも病理組織学的には確認されている(Masuda et al. *Anat Rec* 2001, Robertson et al. *Hum Mol genet* 2001)。しかし、これら既存の難聴遺伝子と前庭機能の解析の報告はされていない。我々は難聴遺伝子の一部は平衡機能にも関与していることを報告してきた。以上により、前庭にも存在する各構成蛋白の機能を明らかにしようとする試みである。

2. 研究の目的

(1) 先天性難聴者では平衡機能障害の合併が生じることは知られているがその発症機序の詳細は不明であり、客観的に平衡機能を測定した報告も殆ど無い。そこで本研究では以下を目標とする。

- 1) 先天性聴覚障害者の平衡機能の評価
 - 2) 難聴遺伝子の解析によって先天性難聴の原因を検索
 - 3) 平衡障害との関連を検討
- つまり、臨床的には平衡機能障害がない場

合でも平衡機能障害を客観的に検出し、代表的難聴遺伝子である *GJB2* 遺伝子変異やミトコンドリア遺伝子 1555 変異、*COCH* 遺伝子変異、*SLC26A4* 遺伝子変異について検索する。

(2) 研究協力者の池田は内耳の基礎・臨床研究を長年にわたって行ってきており、遺伝子難聴の研究でも優れた実績がある(Ikeda. *Tohoku J Exp Med* 2004)。研究協力者の中島はデフリンピック参加選手とも親交が深く、スポーツ健康学部、医学部、および慈恵医大スポーツクリニックでスポーツ選手の運動・平衡機能の研究、報告を行っている(Jin Y, Nakajima et al. *Acta otolaryngol* 2010)。研究協力者の加我は先天性難聴児の平衡機能の研究において世界の第一人者である(Kaga. *Int J audiol* 2008)。研究協力者の林は先天性難聴の遺伝子解析に精通している(Hayashi et al. *International Journal of Pediatric Otolaryngol*, 2010)。

3. 研究の方法

(1) 対象

標準純音聴力検査にて両耳共に90db以上の無症候性高度感音難聴障害者でスポーツ競技に従事している50名(聾唖協会に属するスポーツ団体からの同意を既に取得している)

(2) 運動能力の評価

文部科学省新体力テスト成人対象の測定項目である、握力・上体起こし・長座位体前屈・反復横跳び・立ち幅跳びの測定を行う。また、運動能力の平衡性評価としての、開・閉眼片足立ちテストも行う。

(3) 平衡機能の評価

平坦で固い床での両脚直立検査により身体動揺の有無・程度・方向、転倒の有無・方向を記録し、開眼時と閉眼時とで比較する(ロンベルグ徴候)。重心動揺計により重心動揺面積、重心動揺移動距離、ロンベルグ率などを計測する。10mlの氷水の外耳道注入による温度刺激により外側半規管の機能評価を行う。前庭誘発頸部筋電図(Vestibular evoked myogenic potentials)により球形嚢の機能を計測する。

(4) 難聴遺伝子変異の検討

末梢採血を Iso code I.D にて採取(指先から直接塗布)。Iso code I.D とは生物学的

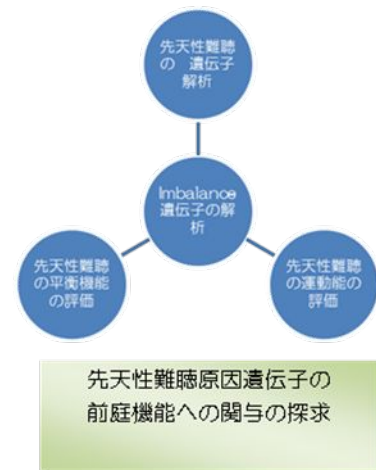
サンプルや臨床サンプルから DNA を抽出するための濾紙である。手順に従い Iso code I.D よりゲノム DNA を抽出する。次に、代表的な難聴遺伝子である *GJB2*、*GJB6*、*SLC26A4*、*COCH*、*mitochondriaA1555G* の PCR direct sequence と、ミトコンドリア DNA の RFLP (制限酵素断片長多型) によって変異の有無を検証する。以上の実験を行うにあたり必要な実験機器、すなわち PCR system、Auto sequencer、Thermometer、電気泳動装置等はほぼ当教室に揃っている。消耗品の試薬が主な必要経費となると思われる。

4. 研究成果

先天性高度難聴は1000出生に1人の頻度で発生し、先天性の感覚器障害としては非常に高頻度の疾患である。そのうち60%は遺伝的素因であり、残りは胎生期の感染、出生時の障害により内耳機能が破綻することが原因である。内耳は聴覚をつかさどる蝸牛と平衡覚である前庭から成っており、それらは発生学的、解剖学的にも類似点が多く先天性難聴は同時に前庭障害を合併している可能性がある。先天性の難聴は永続的に生じるのに反して、内耳の前庭機能が回復しなくても中枢前庭神経系の機能代償により次第に平衡障害は軽減するため、先天性難聴障害者での平衡能は軽視される傾向にあった。しかしながら、前庭機能障害では運動能力の向上に要求されるバランス感覚や空間識の認知が低下することが考えられるため運動能力の向上には前庭機能の改善が極めて重要であり、また将来的に加齢性変化により平衡機能は低下することも知られており先天性難聴者が高齢になると平衡機能障害による症状が顕著になる可能性は高いと考えられる。遺伝性の高度難聴は人工内耳の良い適応となってお

り、日本でも人工内耳埋め込み術を幼児期に施行される症例は年々増加している。人工内耳の問題点として術側の内耳機能が喪失するため、術前に平衡機能の評価が重要と考えられる。

先天性難聴者の運動能力と平衡機能を生理機能検査によって客観的に評価して、難聴原因疾患との関連を検討する極めて独創的な特徴を有する。これらの研究を通して、これまで難聴遺伝子としてのみ認識されていた分子が imbalance gene (平衡失調遺伝子) として同定することが可能となり蝸牛においては高度な難聴を引き起こす内耳蛋白の前庭における機能を明らかにできる初めての試みである。この研究成果によって、先天性聴覚障害者の平衡障害の実態が明確になるとともに、原因となる imbalance gene がコードする内耳蛋白の働きとそれに標的を当てた新たな平衡機能障害の治療戦略の開発につながる事が推察される。



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)

1. Kasai M, Hayashi C, Iizuka T, Inoshita A, Kamiya K, Okada H, Nakajima Y, Kaga K, Ikeda K. Vestibular function of patients with profound deafness related to *GJB2* mutation. *Acta Otolaryngologica*, 2010, 130(9):990-5.
2. 就学前の子供の問題 乳幼児の

耳鼻咽喉科疾患
笠井美里
順天堂医学(0022-6769)56 巻 1 号
Page24-28(2010.02)

3. GJB2 遺伝子変異の前庭機能におよぼす影響

笠井美里, 林千江里, 飯塚崇, 井下綾子, 神谷和作, 岡田弘子, 中島幸則, 加我君孝, 池田勝久
日本耳鼻咽喉科学会会報
(0030-6622)112 巻 4 号
Page348(2009.04)

4. 先天性聴覚障害者の平衡機能失調解析による imbalance gene の探索

笠井美里, 池田勝久, 中島幸則, 林千江里
順天堂医学(0022-6769)54 巻 4 号
Page553(2008.12)

〔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)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

取得状況 (計 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

笠井 美里 (kasai, misato)
順天堂大学・医学部・助教
研究者番号 : 70549279

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :