

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 26 日現在

機関番号：13601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26861364

研究課題名(和文) ANSDに対する遺伝子解析とその臨床像に関する検討

研究課題名(英文) Genetic analysis and clinical features of auditory neuropathy spectrum disorder patients

研究代表者

岩佐 陽一郎 (IWASA, Yoh-ishi)

信州大学・医学部・助教(特定雇用)

研究者番号：10613002

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：Auditory neuropathy spectrum disorder (ANSD)とは、OAEが正常でABRが無反応もしくは異常反応となる新しい疾患である。本研究では、ANSD患者に対する遺伝学的背景を明らかにし、遺伝子変異が明らかとなった症例に対する人工内耳の効果の詳細に検討した。ANSD患者25名中19例(76.0%)に原因遺伝子と思われる変異を同定することができた。原因遺伝子の内訳はOTOF遺伝子が大多数(～72.0%)であることが確認された。また、OTOF遺伝子変異によるANSD患者の発達状況は一般的な人工内耳装用児と同等であった。

研究成果の概要(英文)：Auditory neuropathy spectrum disorder involves absence or severe abnormality of auditory brainstem response (ABR) but presence of otoacoustic emissions (OAE). However, it is not unclear that how much Japanese ANSD patients are associated with gene mutations and how much cochlear implants are beneficial for ANSD patients with gene mutations. The goal of this study was to reveal the gene mutation frequency in Japanese ANSD patients and to analyze the effectiveness of cochlear implants for ANSD patients. The present study showed that 76.0% of ANSD patients had at least one causative gene mutations. Majority of them were OTOF mutations (72.0%). ANSD patients with OTOF mutations developed their language ability as much as patients with sensorineural hearing loss.

研究分野：耳鼻咽喉科学

キーワード：遺伝子 耳科学 難聴 Auditory neuropathy

1. 研究開始当初の背景

1996年にKagaら、StarらはそれぞれAuditory Nerve Disease、Auditory neuropathyというタイトルでこれまでになかった新しい聴覚障害があることを報告し、現在それらはAuditory neuropathy spectrum disorder（以下ANSD）と呼称されている。ANSDは、OAE（耳音響反射）が正常でABR（聴性脳幹反応）が無反応もしくは異常反応となることが特徴である。従来、ANSDは蝸牛神経の機能が低下している可能性があることから、人工内耳は敬遠されがちであり、なおかつ人工内耳の効果は不明確であった。しかし、最近ではANSD症例の人工内耳装用効果が必ずしも悪くない事が報告され、ANSDの原因遺伝子も徐々に明らかになってきた。

これまでに報告のあるANSDの原因遺伝子としては、常染色体劣性遺伝形式をとる非症候群性ANSDの原因として*OTOF*、*PJVK*、*GJB2*遺伝子の報告がある。

*OTOF*遺伝子変異においては、内毛細胞のシナプス小胞のエクソサイトーシス機能がされる病態であることが予測されるため、より中枢に近い領域の機能低下により引き起こされる他のANSDと比較して人工内耳の効果が良好と言われている。また、*GJB2*遺伝子変異による難聴に対する人工内耳効果が良好であることもこれまでに報告されているが、その他の遺伝子変異によるANSD症例に対する人工内耳の効果に関しては必ずしも明確となっていなかった。

2. 研究の目的

本研究では、日本人ANSD患者に対して*OTOF*、*PJVK*、*GJB2*遺伝子の変異解析を行い、日本人ANSD患者における遺伝子変異の種類、頻度を明らかにすること、また、ANSD患者の遺伝子変異ごとに人工内耳後の聴取能を詳細に検討し、遺伝子変異毎の個別化医療の基盤データを確立することを目的とした。遺伝子変異が同定されたANSD患者の人工内耳の聴取能を正確に評価することで、今後は遺伝子変異ごとにANSD患者の人工内耳前後のマネジメント、術後のハビリテーションの介入法を個別に検討することができると期待される。

3. 研究の方法

当施設および共同研究施設より常染色体劣性遺伝形式をとる非症候群性ANSD患者を対象として、*OTOF*、*PJVK*、*GJB2*遺伝子の変異解析を行った。末梢血より抽出されたDNAを用い、*OTOF*、*PJVK*、*GJB2*遺伝子のスプライシング部位を含む全エクソン領域を直接シーケンシング法により解析した。病的変異の判断は、

変異の種類、家系内での整合性、コントロール群における頻度などを検討して行った。

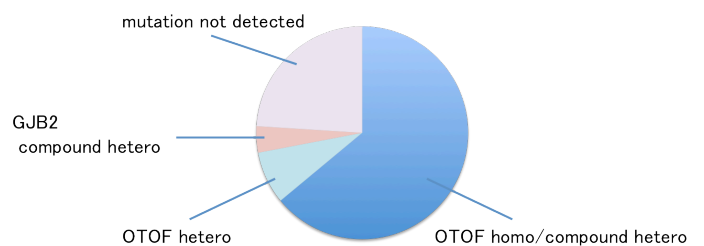
また、遺伝子変異が同定された症例に関しては、人工内耳の効果について詳細に検討した。人工内耳の装用閾値や、幼小児人工内耳の標準的評価方法であるIT-MAIS、LittleEARs、発達検査や知能検査（新版K式発達検査、WISC-IV知能検査）を用いてANSD患者の臨床像の評価を行った。

4. 研究成果

（1）日本人ANSD患者における遺伝子変異のデータベース作成

今回変異検索を行った25人中18名（72.0%）に少なくとも一つの*OTOF*遺伝子変異を認めた。変異の内訳としては7名がp.R1939Q変異のホモ接合体、9名がコンパウンドヘテロ接合体、2名がヘテロ接合体であった。1名（4.0%）に*GJB2*遺伝子変異を認め、c.35insGとc.235del1Cのコンパウンドヘテロ接合体であった。*PJVK*遺伝子変異は認めなかった。

日本人ANSD患者25名中19例（76.0%）に原因遺伝子と思われる変異を同定することができた。原因遺伝子の内訳は*OTOF*遺伝子が大多数（～72.0%）であることが確認された。また、*GJB2*遺伝子変異においてもANSD症例が同定されたのは興味深い点である。また日本人において高頻度で同定されるfounder mutationであるp.R1939Q変異は*OTOF*遺伝子変異が同定された18名のうち16名（88.9%）に認めた。ANSD患者においてはp.R1939Q変異のスクリーニングを行うことにより、効率的な診断が見込めると考えられる。



（図1）非症候群性ANSD患者における遺伝子変異の割合：76.0%に原因遺伝子と思われる変異を同定することができ、*OTOF*遺伝子がANSD患者における原因の大多数を占めることが明らかとなった。

（2）ANSD患者における人工内耳の効果について

*OTOF*遺伝子変異が同定された症例のうち、臨床データが渉猟し得た5症例に関して人工内耳の効果について検討を行った。人工内耳の装用閾値は条件詮索反応聴力検査（COR）もし

くは純音聴力検査にて評価した。装用閾値は500, 1000, 2000, 4000Hzの平均値とした。また人工内耳の効果については幼小児人工内耳の標準的評価方法であるIT-MAIS、LittlEarsを用い、発達評価としては新版K式発達検査、WISC-IVなどを用いて評価を行った。

患者1:

装用閾値: 右33.8dB 左35dB

新版K式: 姿勢・運動93、認知・適応108、言語・社会73 (3才4ヶ月)

WISC-IV: 全検査IQ96、言語理解91、知覚推理113、ワーキングメモリー73、処理速度104 (5才)

IT-MAIS: 33/40 (術後3ヶ月)、30/40 (術後6ヶ月)、36/40 (術後12ヶ月)

LittlEars: 32/35 (術後3ヶ月)、31/35 (術後6ヶ月)、34/35 (術後12ヶ月)

患者2:

装用閾値: 左40dB

新版K式: 姿勢・運動109、認知・適応112、言語・社会85 (2才10ヶ月)

IT-MAIS: 23/40 (術後3ヶ月)、24/40 (術後6ヶ月)、32/40 (術後12ヶ月)

LittlEars: 18/35 (術後3ヶ月)、26/35 (術後6ヶ月)、/3235 (術後12ヶ月)

患者3:

装用閾値: 右36.3dB 左32.5dB

新版K式: 姿勢・運動 -、認知・適応101、言語・社会82 (3才11ヶ月)

IT-MAIS: 22/40 (術後3ヶ月)、32/40 (術後6ヶ月)、34/40 (術後12ヶ月)

LittlEars: 9/35 (術後3ヶ月)、24/35 (術後6ヶ月)、30/35 (術後12ヶ月)

患者4:

装用閾値: 右35dB 左40dB

IT-MAIS: 19/40 (右術後12ヶ月)、35/40 (左術後12ヶ月)

新版K式: 姿勢・運動 -、認知・適応90、言語・社会66 (4才10ヶ月)

患者5:

装用閾値: 右35dB 左35dB

5症例9耳の装用閾値の平均は35.8(±2.4)dBであり、一般的な人工内耳装用児の装用閾値との差異は認めなかった。また、*OTOF* 遺伝子変異によるANSD患者の発達状況は一般的な人工内耳装用児と同等であると考えられた。人工内耳のマッピング、ハビリテーションの方法などの介入方法も通常の感音難聴に対する人工内耳症例と同様であった。*OTOF* 遺伝子変異が同定されたANSD患者においては、人工内耳後には通常の人工内耳症例と同様に対応することで同等の発達を促すことが可能であることが明らかとなった。

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 3 件)

- ① Iwasa Y, Nishio S, Usami S. Comprehensive Genetic Analysis of Japanese Autosomal Dominant Sensorineural Hearing Loss Patients., *PLoS One*. 査読有、Vol.11、No.12、2016、pp.e0166781、doi.org/10.1371/journal.pone.0166781
- ② 岩佐陽一郎、西尾信哉、宇佐美真一、当科データベースにおける次世代シーケンサーを用いた *OTOF* 遺伝子の変異解析、*Otology Japan*、査読無、26 巻、4 号 2016、pp. 259
- ③ 西尾 信哉、宮川 麻衣子、内藤 武彦、岩佐 陽一郎、市瀬 彩、宇佐美 真一、日本人難聴遺伝子変異データベースの構築と臨床応用、*Audiology Japan*、査読無、57 巻、5号、2014、pp. 463-464.

[学会発表] (計 8 件)

- ① 岩佐陽一郎、西尾信哉、宇佐美真一、当科データベースにおける次世代シーケンサーを用いた *OTOF* 遺伝子の変異解析. 第26回日本耳科学会. 2016. 10. 5-8. ホテル国際21 (長野市)
- ② 西尾信哉、宮川麻衣子、内藤武彦、岩佐陽一郎、市瀬彩、宇佐美真一、次世代シーケンサーを用いた日本人難聴患者1120例の網羅的遺伝子解析. 第60回日本人類遺伝学会. 2015. 10. 14-17. 京王プラザホテル (東京都)
- ③ 西尾信哉、宮川麻衣子、内藤武彦、岩佐陽一郎、市瀬彩、宇佐美真一、次世代シーケンサーを用いた日本人難聴患者1120例の網羅的遺伝子解析. 第25回日本耳科学会. 2015. 10. 7-10. 長崎ブリックホール (長崎市)
- ④ 岩佐陽一郎、西尾信哉、宇佐美真一、優性遺伝形式をとる遺伝性難聴76家系に対する遺伝学的解析. 第25回日本耳科学会. 2015. 10. 7-10. 長崎ブリックホール (長崎市)
- ⑤ 岩崎聡、岩佐陽一郎、宇佐美真一、加我君孝、人工中耳の適応と今後の可能性について. 第77回耳鼻咽喉科臨床学会. 2015. 6. 25-26. オークラクトシティホテル浜松 (浜松市)

- ⑥ 西尾信哉、宮川麻衣子、内藤武彦、岩佐陽一郎、市瀬彩、宇佐美真一．日本人難聴遺伝子変異データベースの構築と臨床応用．第 59 回日本聴覚医学会．2014. 11. 27-28. 海峡メッセ下関(下関市)
- ⑦ 西尾信哉、宮川麻衣子、内藤武彦、岩佐陽一郎、市瀬彩、宇佐美真一．日本人難聴遺伝子変異データベースの構築と臨床応用．第 59 回日本人類遺伝学会．2014. 11. 19-22. タワーホール船堀（東京都）
- ⑧ 西尾信哉、宮川麻衣子、内藤武彦、岩佐陽一郎、市瀬彩、宇佐美真一．次世代シーケンサーを用いた難聴遺伝子診断システムの開発と臨床応用．第 24 回日本耳科学会．2014. 10. 5-18. 朱鷺メッセ（新潟市）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩佐 陽一郎 (IWASA, Yoh-ichiro)
信州大学・医学部・助教 (特定雇用)
研究者番号：1 0 6 1 3 0 0 2

(2) 連携研究者

宇佐美 真一 (USAMI, Shin-ichi)
信州大学・学術研究院医学系・教授
研究者番号：1 0 1 8 4 9 9 6

西尾 信哉 (NISHIO, Shin-ya)
信州大学・学術研究院医学系・助教
研究者番号：7 0 4 6 7 1 6 6