

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月24日現在

機関番号：82643

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21592172

研究課題名（和文） Auditory neuropathy の日本人特異的遺伝背景の解明

研究課題名（英文） Elucidation of genetic backgrounds of auditory neuropathy specific to Japanese population

研究代表者

松永 達雄（MATSUNAGA TATSUO）

国立病院機構東京医療センター・臨床研究センター・聴覚障害研究室・室長

研究者番号：90245580

研究成果の概要（和文）：日本人 Auditory neuropathy 患者 23 家系 23 人の OTOF 遺伝子解析では 16 人で変異が同定され、特に R1939Q ミスセンス変異は 13 人に認められた。それ以外の変異アレルはすべて 1 人のみで認められた。さらに R1939Q ミスセンス変異の近傍 SNP のハプロタイプ解析からこの変異には日本人における創始者効果があることが明らかとなった。以上の結果から日本人特異的な Auditory neuropathy の遺伝背景が初めて明らかになった。

研究成果の概要（英文）：Genetic analysis of unrelated 23 Japanese patients with auditory neuropathy revealed that mutations of OTOF were identified in 16 patients and 13 of them had p.R1939Q missense mutation. Other than p.R1939Q mutation, each mutation was identified in only one patient. Haplotype analysis of p.R1939Q missense mutation of OTOF using adjacent SNPs demonstrated a founder effect for this mutation. These results first revealed genetic backgrounds of auditory neuropathy specific to Japanese.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：耳科学

## 1. 研究開始当初の背景

Auditory neuropathy は 1996 年に初めて報告された難聴の新しい疾患概念であり、耳音響放射（OAE）などで測定する外有毛細胞の機能が正常であるにもかかわらず、聴性脳幹反応（ABR）が無反応となる感音難聴である。症状の特徴は、他の感音難聴と比べて著しく言語聴取力が低いため補聴器の効果が乏しい点であり、このため小児では言語獲得がで

きない。欧米の小児の高度感音難聴において Auditory neuropathy の頻度は比較的高い（7-15%）ことが近年明らかとなり、社会にとっても重要な問題である。近年の研究から Auditory neuropathy では、約半数が全身的疾患に合併する症候群性であり、約半数は難聴以外の疾患がない原因不明の非症候群性であることが明らかとなった。症候群性 Auditory neuropathy としては、

Charcot-Marie-Tooth 病などが知られており、我々は日本人の視神経萎縮症に伴う

Auditory neuropathy 患者で初めて原因遺伝子変異 (OPA1 遺伝子) を報告している。これらは難聴以外の症状から原因をある程度推測することが可能である。一方、難聴以外の症状がない非症候群性では原因を類推することが困難である。非症候群性の多くは遺伝性で、特に OTOF 遺伝子変異の頻度が高い。聴神経が変性、消失する Auditory neuropathy では人工内耳の効果が低いが、この OTOF 遺伝子変異による Auditory neuropathy は内有毛細胞障害であり、聴神経は正常のため人工内耳で良好な効果が得られるという特徴があり、Auditory neuropathy の遺伝背景を知ることが、言語聴覚リハビリテーションの適切な選択にも重要な情報となる。日本では Auditory neuropathy の概念がまだ十分普及していないこともあり、本難聴の診断数が極めて少ない。また難聴の遺伝子解析の体制も十分普及していないため、OTOF 遺伝子変異も現在まで報告がない。このため日本人 Auditory neuropathy の遺伝背景は全く未知である。主任研究者らは高効率の系統的遺伝子解析法を開発し、これまでに 900 人以上で難聴遺伝子解析を実施している。検体は、当院小児聴覚言語クリニックを初めとして、成育医療センター、千葉こども病院、埼玉県立小児医療センターなどの先天性難聴を多数診療する施設を含め国内の 20 以上の難聴診療施設から送付される。既に日本人先天性 Auditory neuropathy 患者においても新規 OTOF 遺伝子変異を同定しており (未報告データ、下図参照)、日本人では欧米とは異なる変異の頻度が高い可能性を示している。OTOF 遺伝子変異による先天性難聴では、先天性の内有毛細胞障害に加えて外有毛細胞も先天性あるいは生後 2-3 年までに障害され OAE 陰性となるため、それ以後では Auditory neuropathy の診断がつかず、多くの患者が未発見である可能性を考えている。実際にスペインでは先天的感音難聴全体の約 5% に OTOF 遺伝子変異が認められている。

## 2. 研究の目的

日本人 Auditory neuropathy 患者の遺伝背景の探索として、非症候群性 Auditory neuropathy の原因候補遺伝子である OTOF、pejvakin、GJB2、12S ribosomal RNA 遺伝子の変異を解析する。日本人先天性高度感音難聴患者における潜在的 Auditory neuropathy 患者の探索として、孤発例および劣性遺伝例の OTOF 遺伝子を解析する。また、同定された遺伝子変異に対して、病的意義の検討、日本人における変異データベースの構築、欧米人における報告との比較、そして変異遺伝子の種類、変異部位、頻度、聴覚障害の特徴を

明らかにする。

## 3. 研究の方法

非症候群性 Auditory neuropathy における原因候補遺伝子の解析  
対象) 対象は原因不明の両側性難聴、難聴発症時の年齢が 15 歳以下、ABR および OAE により Auditory Neuropathy の診断が確定して、遺伝子解析が行われた 23 家系 23 人とした。本研究では症候群性 Auditory Neuropathy の症例は除外された。

方法) 上記対象のうち先天性難聴の原因として頻度の高い A1555G および A3243G ミトコンドリア DNA 変異をもたない患者 DNA に対して、既存の Auditory neuropathy 原因遺伝子である OTOF、pejvakin、GJB2、12S ribosomal RNA の各遺伝子の変異解析を行う。解析には直接シーケンス法で塩基配列を決定し、SeqScape ソフトウェアで変異を同定する。核遺伝子では全エクソンと各エクソンの前後 10 塩基 (スプライス部位) を、ミトコンドリア遺伝子では各遺伝子全範囲を解析する。OTOF 遺伝子には大別して 4 種類の isoform があるがそのすべてを解析する。

Auditory neuropathy の原因遺伝子の種類、変異型と臨床所見との関係を明らかにするために、病的変異が同定された患者の臨床データを検討して、聴覚検査結果、一般臨床症状、言語聴覚リハビリテーション効果について調べる。この結果に基づいて、臨床活用可能な Auditory neuropathy 遺伝子データベースを構築し、原因別に新生児期の難聴診断、聴覚検査、言語聴覚リハビリテーションの適正な選択の指針を確立する。OTOF 遺伝子変異が認められた先天性難聴に対しても、同様の検討を行い指針を確立する。

## 4. 研究成果

日本人 Auditory neuropathy 患者 23 人の OTOF 遺伝子解析では 16 人で変異が同定され、その中の一つの変異アレル (R1939Q ミスセンス変異) が 13 人に認められた。それ以外の病的な変異アレルはすべて 1 人のみで認められた。この高頻度に同定されたミスセンス変異が日本人特有の創始者効果で生じたものであるかどうかを解明するために、本遺伝子近傍に存在する 45 種類の多型マーカーの各家系内でのハプロタイプ解析を行った。この結果、近傍 SNP が全ての家系で同一であり、創始者効果であることが明らかとなった。OTOF 遺伝子変異の認められなかった Auditory neuropathy 患者 7 人では、さらに既知 Auditory neuropathy 遺伝子の Pejvakin 遺伝子について直接シーケンス法による解析を行い、全員で蛋白質コード領域には病的変異を認めなかった。GJB2 遺伝子変異を 2

アレルで認めて難聴の原因と確定した患者が1人認められた。以上の結果より、日本人 Auditory neuropathy では OTOF 遺伝子検査が診断上の意義が高いと考えられた。また R1939Q ミスセンス変異とナンセンス変異、フレームシフト変異、スプライス変異を2アレル持つ場合は高度あるいは重度難聴を呈し、上記以外のミスセンス変異、ストップコドン変異を持つ場合は軽度あるいは中等度難聴を呈した。この結果から日本人 Auditory neuropathy に対する OTOF 遺伝子検査では聴力レベルをある程度推測可能で、言語聴覚ハビリテーションに役立つ場合があると考えられた。

日本人 Auditory neuropathy 患者 23 人の臨床的特徴としては、まず難聴発症はほぼ全例で 0 才であった。家族歴は全員が劣性遺伝であり、補聴器装用による言語発達はデータを得られた 23 例全例で効果無しあるいは低く、通常の小児難聴と比べると補聴器の効果が低いのは明らかであった。人工内耳埋め込み手術が行われた症例では、効果良好が 10 例、効果不良が 2 例であった。OTOF 遺伝子変異陽性で人工内耳を実施した 8 例はいずれも効果良好であった。このことから OTOF 遺伝子変異の同定は、人工内耳手術適応の決定に重要な情報を提供できることが明らかになった。そして OTOF 遺伝子変異を認める患者と認めない患者の臨床所見に大きく異なる特徴はなく、両者の鑑別には遺伝子診断が必要であることが明らかになった。

#### 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 6 件)

- ① 仲野敦子、有本友季子、松永達雄、工藤典代、Otoferlin 遺伝子変異が確認された小児難聴症例の検討、*Otol Jpn*、査読有、22(1)、2012、47-52
- ② Minami SB, Masuda S, Usui S, Mutai H, Matsunaga T, Comorbidity of GJB2 and WFS1 mutations in one family, *Gene*, 査読有, (in press)
- ③ Matsunaga T, Mutai H, Kunishima S, Namba K, Morimoto N, Shinjo Y, Arimoto Y, Kataoka Y, Shintani T, Morita N, Sugiuchi T, Masuda S, Nakano A, Taiji H, Kaga K, A prevalent founder mutation and genotype-phenotype correlations of *OTOF* in Japanese patients with auditory neuropathy, *Clin Genet*, 査読無, (in press)
- ④ 大原卓哉、泰地秀信、守本倫子、本村朋子、松永達雄、OTOF 遺伝子変異を認める Auditory neuropathy spectrum disorder の乳幼児例における人工内耳装用効果、*Audiology Japan*、査読有、54(4)、2011、

289-297

⑤ Mutai H, Kouike H, Teruya E, Takahashi-Kodomoari I, Kakishima H, Taiji H, Usami SI, Okuyama T, Matsunaga T, Systematic analysis of mitochondrial genes associated with hearing loss in the Japanese population: dHPLC reveals a new candidate mutation., *BMC Med Genet*, 査読有, 12, 2011, 135,  
DOI:10.1186/1471-2350-12-135

⑥ 松永達雄、Auditory Neuropathy の遺伝子、*Clinical Neuroscience*、査読無、29(12)、2011、1409-1411

[学会発表] (計 13 件)

- ① 松永達雄、小児 Auditory Neuropathy (AN) における OTOF 遺伝子の遺伝子型と表現型の相関、第 113 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会、2012 年 5 月 10-12 日、新潟市
- ② 南修司郎、GJB2 遺伝子変異の遺伝子型と表現型の相関についての検討、第 113 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会、2012 年 5 月 10-12 日、新潟市
- ③ 松永達雄、Auditory Neuropathy の遺伝子診断の治療法選択へのインパクト、第 116 回日本眼科学会総会、シンポジウム 1 (眼科・耳鼻咽喉科領域における研究プロジェクト)、2012 年 4 月 5 日、東京
- ④ Minami S, Genotype and phenotype correlation in GJB2 mutations (DFNB1) and structural analysis of non-inactivating mutations 35 th annual midwinter research meeting of ARO, 2012 年 2 月 25-29 日, San Diego, California, USA
- ⑤ 浅沼聡、蝸牛神経形成不全症例の検討、第 21 回日本耳科学会、2011 年 11 月 24-26 日、沖縄県宜野湾市
- ⑥ 仲野敦子、両側性難聴と一側性難聴における画像所見の相違—蝸牛神経管狭窄を中心の一、第 21 回日本耳科学会、2011 年 11 月 24-26 日、沖縄県宜野湾市
- ⑦ 務台英樹、dHPLC 法を用いた日本人難聴者におけるミトコンドリア遺伝子多型解析、第 21 回日本耳科学会、2011 年 11 月 24-26 日、沖縄県宜野湾市
- ⑧ 難波一徳、Auditory Neuropathy の原因として同定された新規変異型 OPA1 蛋白質の予測構造を用いた病的メカニズムの解明、第 21 回日本耳科学会、2011 年 11 月 24-26 日、沖縄県宜野湾市
- ⑨ 松永達雄、温度感受性 Auditory Neuropathy における OTOF 遺伝子の新規特異的変異の同定、第 21 回日本耳科学会、2011 年 11 月 24-26 日、沖縄県宜野湾市
- ⑩ 松永達雄、シンポジウム「難聴治療に対する遺伝学的検査の impact」、補聴器に関して、第 3 回難聴遺伝子の研究会、2011 年 7 月

2日、東京

⑪ 南修司郎、WFS1 遺伝子変異と GJB2 遺伝子変異を併せもった遺伝性管音難聴の1家系、第112回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会、2011年5月19-21日、京都市

⑫ 守本倫子、両側蝸牛神経低形成による小児難聴症例の検討、第112回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会、2011年5月19-21日、京都市

⑬ 仲野敦子、側頭骨 CT で両側蝸牛神経管狭窄を認めた小児難聴症例の検討、第112回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会、2011年5月19-21日、京都市

〔図書〕(計 1 件)

① 松永達雄、日経メディカル開発、ガイドライン外来診療 2012 今日の診療のために、2012、505-507

〔産業財産権〕

○出願状況(計1 件)

名称：難聴疾患の予防又は治療剤

発明者：務台英樹、藤井正人、松永達雄

権利者：独立行政法人国立病院機構

種類：特許権

番号：2011-7581

出願年月日：2011年1月18日

国内外の別：国内

○取得状況(計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：特願

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

[http://www.kankakuki.go.jp/lab\\_c-1.html](http://www.kankakuki.go.jp/lab_c-1.html)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

松永 達雄 (MATSUNAGA TATSUO)

国立病院機構東京医療センター・臨床研究センター・聴覚障害研究室・室長

研究者番号：90245580

### (2) 研究分担者

務台 英樹 (MUTAI HIDEKI)

国立病院機構東京医療センター・臨床研究センター・聴覚障害研究室・研究員

研究者番号：60415891

### (3) 連携研究者

加我 君孝 (KAGA KIMITAKA)

国立病院機構東京医療センター・臨床研究センター・名誉臨床研究センター長

研究者番号：80082238