

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 6 月 13 日現在

機関番号：13601

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21791609

研究課題名（和文） 老人性難聴責任遺伝子多型の同定とその機能解析

研究課題名（英文） Screening of Age-related hearing impairment-responsible genes and their functional analysis.

研究代表者

橋本 繁成 (HASHIMOTO SHIGENARI)

信州大学・医学系研究科・助教

研究者番号：90359729

研究成果の概要（和文）：健康増進プログラムに参加する熟年者を対象に聴力検査と末梢血から DNA を抽出した。老人性難聴候補 15 遺伝子 30 SNPs を選別し、これらの遺伝子型と聴力との相関関係を検討した。またミトコンドリア DNA 内で日本人に高頻度に認められる SNP を含む領域をシーケンスし、遺伝子型と聴力との関連を検討した。その結果、老人性難聴と関連する遺伝子の SNP を認めたので報告する。

研究成果の概要（英文）：We have obtained significant difference of hearing in high-frequency between 70' years old persons for their SNPs genotype of *COCH*, encoding In addition, SNPs in *MyosinVIIa* (Myo7a) showed the strong involvement in ARHI. These results suggest that COCH and Myo7a are novel factors, which do not play a role in congenital hearing impairment but play a role in acquired hearing disease such as ARHI. Further studying will be necessary to confirm our finding and for their functional role in ARHI.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	600,000	180,000	780,000
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：老化、難聴、SNP

1. 研究開始当初の背景：

日本は世界一の長寿国であり、2050 年には国民の約 3 人に 1 人が 65 歳以上の超高齢

社会になると予測されている。これに伴い、慢性疾患が増大し、生活の質(QOL)の低下や医療費の増大が予想されることから、疾患の

発症予防や進行予防が重要性を増してきている。このような状況に対処すべく我々は全国に先駆けて専門機関を設立した。そのねらいは、この機関を中核として、治療を中心とした医療体制から予防を中心とした医療体制へのシフトチェンジに必要な、科学的エビデンスに基づいた予防医療体制を構築することである。すでに我々は全国に先駆けて熟年者を対象とした健康増進プログラムを立ち上げ、より効率的な健康増進方法や、病気になるづらい体作りを遺伝子レベルからサポートする試みを行ってきている。一方、耳鼻科研究領域において、老人性難聴は熟年者に最も多い慢性疾患であることから、その予防、治療を念頭にした分子生物学的研究は重要であると考えられる。

当研究室は、これまでに国内外から難聴患者およびその家族から数千の血液 DNA サンプルを収集し、主として先天性難聴の遺伝子解析について精力的に解析を行ってきた。この技術を応用し、遺伝性の疾患とは位置づけることはできない後天性難聴である、老人性難聴の遺伝的素因に関する研究を全国に先駆けて行っている。その結果、ある遺伝子型 (Single Nucleotide Polymorphism :SNP) と高音域での聴力との間に有意な相関関係があることを見出し、成果発表を行ってきた(図1)。海外でも、老人性難聴や騒音性難聴と有意な相関がある遺伝子型が幾つか報告されているが、これらが老人性難聴を惹起する分子メカニズムや、聴力に個人差が生じる機序の解明まで踏み込んだ基礎的研究成果は未だない。

以上の背景から、本研究における我々の構想は、(1)大量サンプルより抽出した大量の遺伝子(型)と聴力像を収集し、データベースを構築する。(2)老人性難聴に関与する遺伝子(型)を同定する。(3)見出された遺伝子(型)が

老人性難聴を惹起するメカニズムを分子レベルで解明する。(4)老化促進モデルマウス等を使い、*in vitro* で見出されたメカニズムが生理条件下でも認められることを観察する。以上から得られた結果は老人性難聴のみならず、広く体質に関わる遺伝子(型)としても重要な意味を持つことから、慢性疾患に対する予防医療体制の構築を分子レベルの研究から貢献できると考えられる。以上の試みと期待される成果は、他の研究機関にない革新的、独創的な研究であると考えられる。

2. 研究の目的

(1) 被験者DNAサンプルを用いて難聴とSNPsの相関を明らかにする

- 老人性難聴候補遺伝子を選出し、NCBI SNPsデータベース及びJ-SNPデータベースから遺伝子型に偏りが無いSNPsを選定する。
- 熟年者の聴力検査及び血液よりDNAを抽出し、選出したSNPsと聴力間の相関解析を行う。
- 統計解析を用いて老人性難聴と有意に相関があるSNPを同定する。

(2) 老人性難聴責任遺伝子(SNPs)の内耳における機能を明らかにする

- 老人性難聴と有意に相関が認められたSNPsがタンパク質レベルでどのように影響しているかを明らかにする。
- (1)で見出されたSNPもしくはそれと類似するSNPが内耳においてどのように影響しているかを明らかにする。

以上から老人性難聴責任SNPの同定をし、見出されたSNPの遺伝子産物に対する質的、量的変化を明らかにする。さらに、その変化が実際内耳においてどのような影響をおよぼ

すかを、老人性難聴を呈するモデルマウスを使って明らかにすることで、老人性難聴を引き起こすメカニズムを考察する。

3. 研究の方法

328名（41から87歳(平均年齢65.98歳)）を対象に聴力検査を行い、インフォームドコンセントを得て末梢血からDNAを抽出した。老人性難聴候補15遺伝子、計30SNPsを選別し、taqman-sequence-analysis法を用いて遺伝子型と聴力との相関関係を検討した。データベースを下に、Cochのpromoter領域を推定し、これを3グループに分け各グループのフルシーケンスを行い、各患者のSNPを同定し聴力および認められたSNPとの相関を検討した。

4. 研究成果:

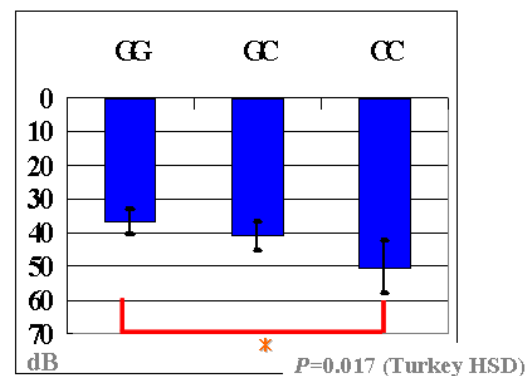
40歳代以上239名を対象に加齢性難聴責任候補遺伝子14個を選出し一遺伝子につき2つのSNPsを解析した。得られたSNP解析と聴力像の結果から、内耳で豊富に発現し、その変異が難聴を惹起することで知られるCOCH(cogulation factor C homology, choclin)内に存在するSNPで、ある遺伝子型をもつ被験者は他の遺伝子型をもつ被験者に比して聴力が統計的に有意に良いことが認められた。更に、内耳に発現しその変異がUsher syndromeの原因として知られるMyosin VIIa(MY07a)内に存在するSNPで、ある遺伝子型をもつ被験者は他の遺伝子型をもつ被験者に比して聴力が良い傾向が認められた。また、ミトコンドリアDNAをほぼ全領域にわたってシーケンスを試み、SNPの遺伝子型と聴力との関連を検討した。

その結果70歳代の被験者において、あるSNPの遺伝子型をもつ被験者は聴力が良い傾向が認められた。信州大学では熟年体育大学プログラム(JTP)と称して、予防医療の促進

に念頭をおいた活動を行っている。熟年者を対象に聴力、血糖値、血中コレステロール、筋肉量などを定期的に測定管理するとともに、これらを指標として運動処方による改善促進を指示している。

今後更に増加するJTP参加者を利用して、得られた結果の再現性、統計的有意性を確立したいと考えている。

本研究結果より、COCHとMY07aは先天性難聴責任遺伝子のみならず、加齢性難聴にも関与することが示唆された。老化現象の典型的な表現型の一つである加齢性難聴は老科学を研究する上で、良いモデルであると考えられる。本研究結果から加齢性難聴が遺伝的素因に関与することが認められたことから、老化の分子生物学的作用機序の解明を念頭に、内耳での作用機序を分子レベルで解析することが重要であると考えられた。



COCH遺伝子内に存在するSNPと8000Hzの聴力遺伝子型により聴力に有意差がある。

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 橋本繁成、鈴木伸嘉、西尾信哉、宇佐美真一 新規難聴候補遺伝子 ATPase, Na⁺/K⁺ transporting alpha2(+) polypeptide (ATP1A2) 変異の機能解析、第19回日本耳科

学会総会・学術講演会 2009.10.8

② Shigenari Hashimoto Jyukunen Taiiku
Research Consortium, Shin-ya
Nishio, Shin-ich Usami SNP Frequency in
COCH is Involved in Age-Related Hearing
Impairment in Aged Japanese, 第三回 熟
年体育大学 国際シンポジウム 2009.8.3 長
野

6. 研究組織

(1) 研究代表者

橋本 繁成 (HASHIMOTO SHIGENARI)
信州大学・医学系研究科・助教
研究者番号：90359729

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：