

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25年 5月 30日現在

機関番号：13601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22791587

研究課題名（和文） SLC26A4 遺伝子変異による難聴のデータベース構築と平衡機能解析

研究課題名（英文） Genotype phenotype correlation analysis of the hearing loss patients with SLC26A4 mutation.

研究代表者

鈴木 宏明 (SUZUKI HIROAKI)

信州大学・医学部・委嘱講師

研究者番号：00419368

研究成果の概要（和文）：

先天性難聴は newborn 1000 人に 1 人に認められる頻度の高い先天性障害の一つである。その原因の 50% は遺伝子によるものと報告されている。*SLC26A4* 遺伝子変異は難聴に甲状腺腫を伴う Pendred 症候群および前庭水管拡大を伴う非症候性難聴の両疾患の原因遺伝子変異であることが報告されている。しかしながら、遺伝子型と臨床型の相関の有無に関しては必ずしも明らかでは無い。本研究では、日本人難聴患者を対象に *SLC26A4* 遺伝子の直接シーケンス解析を行い、その変異の種類と頻度を明らかにした。また、変異の種類ごとに臨床像のとりまとめを行ったが、明確な遺伝子型と臨床型の相関については認められないことを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

Mutations in *SLC26A4* can cause a broad phenotypic spectrum, from typical Pendred syndrome to non-syndromic hearing loss associated with EVA (enlarged vestibular aqueduct). The identification of *SLC26A4* mutations has become more important for highly accurate diagnosis, proper medical management and more appropriate genetic counseling for these patients. In this study, we analyzed one-hundred hearing patients with bilateral EVA registered in our gene bank. Fifteen had Pendred syndrome and 64 had non-syndromic hearing loss. Mutation analysis for *SLC26A4* was performed to clarify the mutation spectrum. We confirmed the clinical characteristics of patients with *SLC26A4* mutations: congenital, fluctuating, and progressive hearing loss usually associated with vertigo and/or goiter. But we could not find any genotype-phenotype correlations.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

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、遺伝子、SLC26A4、難聴

1. 研究開始当初の背景

先天性難聴は newborn 1000 人に 1 人に認

められる比較的頻度の高い障害のひとつである。我々は従来より日本人難聴患者の遺伝

子解析を行い、*SLC26A4* 遺伝子、*GJB2* 遺伝子など多数の難聴遺伝子が日本人難聴患者にも関与していることを報告してきた。また、2008年には「先天性難聴の遺伝子診断」を先進医療として申請し、日常診療においても難聴の原因検索としての遺伝子検査が行なわれ、正確な診断に基づき、予後の推測、適切な治療法の選択などが可能になってきている。

先天性難聴のうち、Pendred 症候群および前庭水管拡大を伴う非症候性難聴は、従来は異なる疾患群と区別されていたが、近年の遺伝子検索の進歩により両者は *SLC26A4* 遺伝子変異が引き起こす同一の疾患群であることが明らかになってきた。Pendred 症候群および前庭水管拡大を伴う非症候性難聴両疾患は 1) 前庭水管拡大、2) 変動する難聴という共通の臨床的特徴をもつが、患者の臨床像とくに聴力型、めまい、甲状腺腫の有無には大きなバリエーションがあることが知られている。

当研究室では、日本人におけるbiallelicな*SLC26A4*変異を持つ難聴患者（ホモ接合体もしくは複合ヘテロ接合体）39名の遺伝子型と臨床像（聴力レベル、聴力の変動、進行、めまいの有無、甲状腺腫の有無）を詳細に比較検討しており、平均聴力は74.6dB、中等度から高度難聴と個人差が大きい年齢とともに進行する傾向が認められた。また、いずれの症例においても言語習得前の難聴と考えられ、高率で聴力の変動（92.3%）、難聴の進行（88.0%）を認めた。さらにまた、24人（70.6%）の患者でめまいの合併を認めた。また、聴力像と遺伝子型においても明らかな相関関係は認められなかった。

しかしながら、臨床像と遺伝子型の間に相関があるとする報告もあるため、今後、遺伝子診断で得られた情報を適切に臨床にフィードバックするためには、さらに多くの症例にて日本人における*SLC26A4*遺伝子変異のデータベース化を行い、日本人における遺伝子変異の種類と頻度、遺伝子型と表現型の関連性につき明らかにすることが必要な状況であった。

2. 研究の目的

先天性難聴は新生児 1000 人に 1 人に認められる比較的頻度の高い先天性障害の一つである。疫学的検討より、先天性難聴の原因のうち少なくとも 50%は遺伝子の関与によるものであることが示唆されており、原因の中で最も頻度が高いのが遺伝子であると言える。

日本人難聴患者の中で最も高頻度で見出されるのが *GJB2* 遺伝子変異であり、*SLC26A4* 遺伝子変異は *GJB2* に次ぐ頻度の

高い原因遺伝子である。

Pendred 症候群および前庭水管拡大を伴う非症候性難聴は、従来は異なる疾患群と区別されていたが、両者は *SLC26A4* 遺伝子変異が引き起こす同一の疾患群であることが明らかになってきた。Pendred 症候群および前庭水管拡大を伴う非症候性難聴両疾患は 1) 前庭水管拡大、2) 変動する難聴という共通の臨床的特長をもつが、聴力型、めまい、甲状腺腫の有無には大きなバリエーションがある。

我々が日本人難聴患者の遺伝子解析を行い、*SLC26A4* 変異による難聴患者（ホモ接合体もしくは複合ヘテロ接合体で *SLC26A4* 遺伝子変異を持つ患者）39名の遺伝子型と臨床像（聴力レベル、聴力の変動、進行、めまいの有無、甲状腺腫の有無）を詳細に比較検討したところ、聴力に関しては中等度から高度難聴と個人差が大きい年齢とともに進行する傾向が認められた。また、いずれの症例においても言語習得前の難聴と考えられ、高率で聴力の変動、難聴の進行を認めた。さらにまた、71%の患者でめまいの合併を認めた。このように全体的な特徴は共通しているものの、難聴の程度や甲状腺腫の有無などの臨床像と遺伝子型に明らかな相関関係は認められなかった。

しかし、海外の報告では、ナンセンス変異、欠失・挿入などのフレームシフト変異、スプライシングジャンクションの変異などタンパク質の欠失を伴う truncating 変異と、アミノ酸置換のみのミスセンス変異 = non truncating 変異では truncating 変異の方が重症度が高く、難聴の程度が重度であり、前庭機能障害や甲状腺腫などの随伴症状を引き起こし易いと報告されており、遺伝子型と臨床型の相関の有無に関しては必ずしも明らかでは無い。今後、遺伝子診断で得られた情報を適切に臨床にフィードバックするためには、さらに多くの症例にて日本人難聴患者における *SLC26A4* 遺伝子の解析を行い、*SLC26A4* 遺伝子変異のスペクトラム（種類・頻度）を明らかにするとともに、臨床像のデータベース化を行い、日本人における遺伝子変異の種類と頻度、遺伝子型と表現型の関連性につき明らかにすることが必要である。本研究では、日本人難聴患者を対象に *SLC26A4* 遺伝子の直接シーケンス解析を行い、その変異の種類と頻度を明らかにするとともに、変異の種類ごとに臨床像のとりまとめを行い、遺伝子型と臨床型の相関について詳細に検討を行う事を目的とした。

3. 研究の方法

先天性難聴は新生児 1000 人に 1 人に認められる頻度の高い先天性障害の一つであ

る。その原因の 50%は遺伝子によるものと報告されており、現在までにおおよそ 60 種類の原因遺伝子が同定されており、一部が遺伝子診断として臨床で実施されている。

遺伝子診断で得られた情報を適切に臨床にフィードバックするためには、さらに多くの症例にて日本人における *SLC26A4* 遺伝子変異のデータベース化を行い、日本人における遺伝子変異の種類と頻度、遺伝子型と表現型の関連性につき明らかにすることが必要である。

本研究では、先天性難聴患者を対象にインベーター法による遺伝子解析を行い、*SLC26A4* 遺伝子変異が認められた症例に対して臨床情報を収集するとともに、インベーター法によるスクリーニング検査でヘテロ接合体変異のみ検出された症例を対象に、直接シーケンス法を用いて *SLC26A4* 遺伝子の全エクソンの配列を決定することで新規遺伝子変異の探索を行った。

また、我々の研究室の過去の報告から、*SLC26A4* 遺伝子変異による難聴の場合、全例で前庭水管拡大を伴うことが明らかと成っていた事より、信州大学医学部耳鼻咽喉科の管理する日本人難聴患者データベースに登録されている難聴患者のうち、側頭骨精密 CT を施行してあり、前庭水管拡大であることが確認された 100 名（男性 51 名、女性 49 名）を対象に、*SLC26A4* 遺伝子の全エクソン領域の直接シーケンス解析を行うとともに、変異の種類毎に、難聴の程度、難聴の進行性、耳鳴、めまいの有無、甲状腺腫の有無に関して検討を行った。特に、海外より報告されている **truncating** 変異と、**non truncating** 変異を比較し、本邦においても、**truncating** 変異重症度が高く、難聴の程度が重度であり、前庭機能障害や甲状腺腫などの随伴症状を引き起こし易い遺伝子型—臨床型の相関が認められるかに関して詳細に検討を行った。

4. 研究成果

本研究では、先天性難聴患者を対象にインベーター法による遺伝子解析を行い、*SLC26A4* 遺伝子変異が認められた症例に対して臨床情報を収集するとともに、インベーター法によるスクリーニング検査でヘテロ接合体変異のみ検出された症例を対象に、直接シーケンス法を用いて *SLC26A4* 遺伝子の全エクソンの配列を決定することで新規遺伝子変異の探索を行った。

研究期間に信州大学医学部耳鼻咽喉科および共同研究施設より収集された難聴患者 185 例を対象にインベーター法を用いた遺伝子スクリーニング解析を行った所、過去の報告と同様に *GJB2* 遺伝子変異がもっとも高頻度に認められ、全体の 25%を占めていた。*SLC26A4* は、*GJB2* の次に多く全体の 8%を占め

ており、日本人難聴患者の主要な原因遺伝子変異であることが改めて確認された。

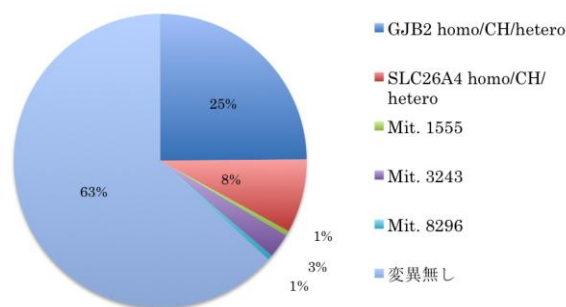


図 1：共同研究施設より収集されたサンプルをインベーター法によりスクリーニング検査を行った結果

過去の報告と同様に *GJB2* がもっとも高頻度で認められ、*SLC26A4* 遺伝子変異はその次に頻度の高い日本人難聴患者における主要な難聴の原因遺伝子であることが確認された。

また、遺伝子変異がヘテロで見出された症例に関して直接シーケンス法による解析を行った所、新規遺伝子変異を同定した（論文投稿中）。見出された変異の中で、c. 1707+5G>A 変異は関西～沖縄までの難聴患者に比較的高頻度で認められる遺伝子変異であった。また、これらの症例を対象に、カリック検査および VEMP 検査を施行し、*SLC26A4* 遺伝子変異による難聴症例の前庭機能（特に半規管機能および球形嚢の機能）に関するデータの収集を行った。また、各遺伝子変異の種類ごとにその聴力像・前庭機能評価結果のとりまとめを行い、遺伝子変異の種類と臨床像との相関解析を実施したが、著明な相関は認められなかった。

また、信州大学医学部耳鼻咽喉科の管理する日本人難聴患者データベースに登録されている難聴患者のうち、側頭骨精密 CT を施行してあり、前庭水管拡大であることが確認された 100 名（男性 51 名、女性 49 名）を対象に、*SLC26A4* 遺伝子の全エクソン領域の直接シーケンス解析を行ったところ、82 例（82.0%）より新規遺伝子変異を含む *SLC26A4* 遺伝子変異を見出すことができた（論文投稿中）。

また、その臨床像に関して **truncating** 変異と、**non truncating** 変異に分けて難聴の程度、難聴の進行性、耳鳴、めまいの有無、甲状腺腫の有無に関して詳細な検討を行ったところ、いずれの項目においても、**truncating** 変異と、**non truncating** 変異の間に有意差は認められなかった。

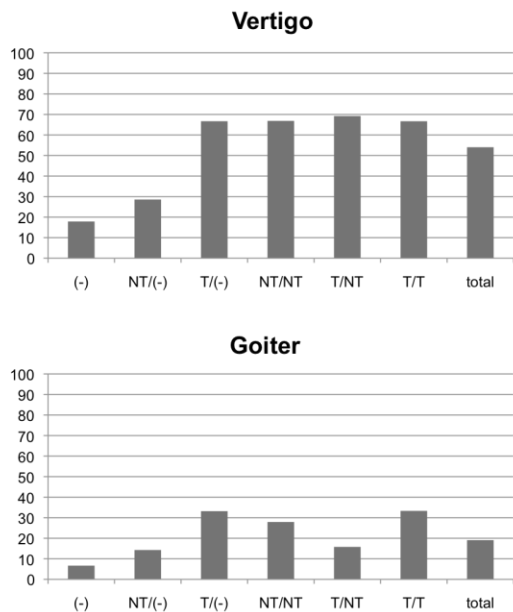


図 2 : *SLC26A4* 遺伝子変異の種類と臨床像の相関

SLC26A4 遺伝子変異を truncating 変異と、non truncating 変異に分けて、組み合わせごとに臨床症状の比較検討を行った。上がめまい、下が甲状腺腫を随伴する症例の割合を示す。truncating 変異と、non truncating 変異の間に有意な頻度差は認められず、海外で報告されているような遺伝子型-臨床型の相関が認められない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)

[学会発表] (計 1 件)

① 鈴木宏明、福岡久邦、塚田景太、宇佐美真一 *SLC26A4* 遺伝子変異における平衡機能評価 第 69 回日本めまい平衡医学会総会 2010. 11. 17~19 京都国際会館

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 宏明 (SUZUKI HIROAKI)
信州大学・医学部・委嘱講師
研究者番号：00419368