

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 19 日現在

機関番号：13601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24791766

研究課題名(和文)難聴原因遺伝子変異が前庭機能に及ぼす影響に関する研究

研究課題名(英文)The vestibular function of hereditary hearing loss patients

研究代表者

塚田 景大(TSUKADA, Keita)

信州大学・学術系研究院医学系(医学部附属病院)・助教

研究者番号：90419375

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：現在、難聴の遺伝子変異を解析の進歩により30～35%の先天性難聴患者が遺伝性難聴と診断することが可能となり、難聴の遺伝子診断は日常診療においても臨床検査として確立されつつある。多くの難聴の原因遺伝子は蝸牛で強く発現しているのと同時に前庭末梢器官でも発現している。しかし、臨床的に前庭機能について詳細に検討し、評価している研究がほとんどないのが現状である。そのため、遺伝性難聴で頻度が多いとされるGJB2、SLC26A4、CDH23遺伝子変異症例の前庭機能を検討した結果、GJB2では球形嚢機能障害、SLC26A4では半規管機能が障害されやすい可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Recently, by the development of mutation screening, 30-35% of congenital hearing loss patients could be diagnosed as genetic cause. The detailed audiologic features, including genotype-phenotype correlations and progression in patients with genetic mutations, have been well studied. However, there have been only a few reports on vestibular function of hereditary hearing loss patients despite abundant gene and protein expression of causative genes in the vestibular end organs. We summarize the results of our comprehensive study on vestibular function in patients with hearing loss caused by GJB2, SLC26A4, CDH23 mutation. In this study, we found the high incidence of saccular defects in patients with GJB2 mutations and semicircular canal dysfunction in patients with SLC26A4 mutations. This result will also facilitate the clinical application of genetic counseling for these patients and their families.

研究分野：耳鼻咽喉科学

キーワード：平衡 遺伝子 前庭機能 難聴

1. 研究開始当初の背景

先天性難聴の少なくとも50%は遺伝子の関与によるものと推測されており、ここ数年で多くの遺伝子変異が報告されており、*GJB2* 遺伝子、*SLC26A4* 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が明らかになった。

既知の難聴の遺伝子変異を解析することで現在30~35%の先天性難聴患者が遺伝性難聴と診断することが可能であり、2008年には「先天性難聴の遺伝子診断」が先進医療として認められ、日常診療においても臨床検査として確立されつつある。このため、難聴の診断を進める際には遺伝子診断は欠かせないものになってきている。

難聴の原因検索が可能となることにより、原因遺伝子により聴力像など臨床像の特徴を捉えることができるようになり、当教室でも日本人における *GJB2* 変異を持つ難聴患者の聴力像 (Tsukada et al. 2010)、*SLC26A4* 変異症例の遺伝子型と聴力像 (Suzuki et al. 2007、Miyagawa et al. 2014) および *CDH23* 遺伝子変異を持つ非症候群性難聴の聴力の検討 (Wagatsuma et al. 2007) など数多くの遺伝性難聴の臨床像について報告してきた。

遺伝子診断の発展と共に臨床像の特徴を捉えることは、難聴に関する正確な診断が可能になり、難聴の進行や変動など予後の推測、合併症の予測、治療法の選択さらには予防や遺伝カウンセリングといった情報提供に非常に有用になると考えられる。

難聴の原因遺伝子の多くは蝸牛で強く発現しているのと同時に前庭末梢器官でも発現している。

例えば、遺伝性難聴の原因遺伝子の中で最も頻度が多いとされる *GJB2* 遺伝子 (コネキシン26 Cx26) は、蝸牛の支持組織に広く分布しているのと同時に半規管膨大部や耳石器の感覚上皮の支持組織にも広く分布している。(図1)

内耳で Cx26 と共に共発現している Cx30 のノックアウトマウスによる前庭末梢器官の研究では、Cx30 ノックアウトマウスは、半規管膨大部および卵形囊の形態が保たれるが球形囊の勇猛細胞は消失すると報告している (Qu et al. 2007)。Cx26 も同様に球形囊の機能が障害される可能性があることが推察することができる一方で、臨床的に前庭機能について詳細に検討し、評価している研究がほとんどないのが現状である。

2. 研究の目的

(1) 遺伝性難聴において高頻度で見出される遺伝子による難聴患者のめまい随伴症状の有無についてアンケート調査を行い、各遺伝子変異に基づく難聴患者のめまいの随伴

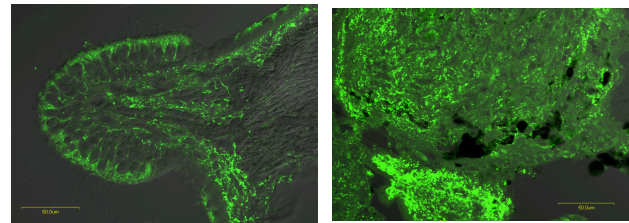


図1 前庭末梢器の Cx26 (*GJB2* 遺伝子産物) の分布 (免疫染色)

右: 半規管膨大部

左: 卵形囊

感覚上皮の支持組織に広く分布している

症状の頻度を検討し、原因遺伝子の前庭症状の特徴を明らかにする。

(2) 遺伝性難聴患者に前庭機能検査を行うことで蝸牛 (難聴の程度)、半規管機能 (球耳石器の機能について検証し、それぞれの遺伝子変異に対して他覚的に前庭機能について比較検討し、その特徴を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 遺伝性難聴を疑われる難聴患者に対して遺伝子解析を行い変異の種類とめまい症状の頻度および程度について調査しデータベースを構築する。

(2) 遺伝性難聴が明らかになった症例を対象に半規管機能を反映する検査として温度眼振検査、球形囊検査として Cervical vestibular evoked myogenic potential (cVEMP) を行い、各遺伝子変異による難聴患者に平衡機能検査を行う。各遺伝子変異に基づく難聴患者のめまいの随伴症状の頻度を検討し、原因遺伝子の前庭症状および前庭機能の特徴を明らかにする。

4. 研究成果

(1) 遺伝性難聴患者におけるめまい症状の頻度

先天性難聴として頻度の多いとされる遺伝性難聴である *GJB2* 遺伝子変異症例 75 例、*SLC26A4* 遺伝子変異症例 36 例および *CDH23* 遺伝子変異 9 例におけるめまい、平衡障害の自覚症状の頻度を検討した。その結果、*GJB2* 遺伝子変異症例で 4%、*SLC26A4* 遺伝子変異症例で 62%、*CDH23* 遺伝子変異症例で 0% のめまいの自覚症状を認め、*SLC26A4* 遺伝子変異症例でめまい頻度が高いことが明らかとなった。(図2)

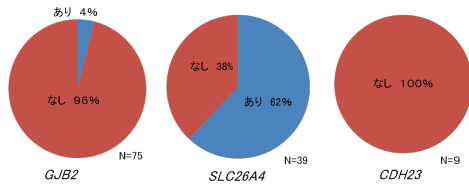


図2：遺伝性難聴患者におけるめまい症状の頻度

(2) 遺伝性難聴症例における前庭機能検査

① GJB2 遺伝子変異症例における前庭機能

半規管機能を反映する温度眼振検査は23例中21例(91%)で正常であるが、球形嚢機能を検査するcVEMPでは21例中17例(80%)で一側もしくは両側性の振幅の低下を認めた。また、GJB2遺伝子変異症例と健常コントロールと温度眼振検査の最大緩徐相およびcVEMPの補正振幅値を比較したところ(図3)、温度眼振検査では健常コントロールと比較し有意差は認めなかったが、cVEMPでは有意にGJB2遺伝子変異症例で補正振幅値の低下を認めていた。このことから、この変異を持つ症例は、半規管機能は正常であるが、球形嚢機能の異常を認める可能性が示唆された。球形嚢障害を認めるにも関わらず、めまい症状に乏しいのは、GJB2遺伝子変異は先天性難聴を呈するため、球形嚢機能も先天的に障害されていると考えられるため、幼少期から前庭代償がなされているため、めまい症状に乏しい可能性が考えられる(Tsukada et al, 2015)。

GJB2遺伝子変異における難聴は遺伝子型によって難聴の程度が異なることは非常によく知られている(genotype-phenotype correlation)。今回、難聴の程度によって前庭機能障害の程度が悪い(難聴が高度な遺伝子型においては前庭機能障害も強い)可能性を考えて、難聴の程度と前庭機能障害の程度の相関を検討した。

その結果、難聴の程度と温度眼振検査における最大緩徐相速度($R = -0.2$)、cVEMP($R = -0.1$)の補正振幅値に有意な相関を認めなかった。

② SLC26A4 遺伝子変異における前庭機能

GJB2遺伝子変異と同様、SLC26A4遺伝子変異症例10例の前庭機能検査(温度眼振検査およびcVEMP)を検討した結果、10例中6例(60%)で温度眼振検査の反

応低下を認め、10例中3例(30%)でcVEMPの反応の異常を認めた。SLC26A4遺伝子変異症例では、温度眼振検査で異常を来す症例が多く、球形嚢機能よりも半規管機能により影響を受けやすい可能性が示唆された。

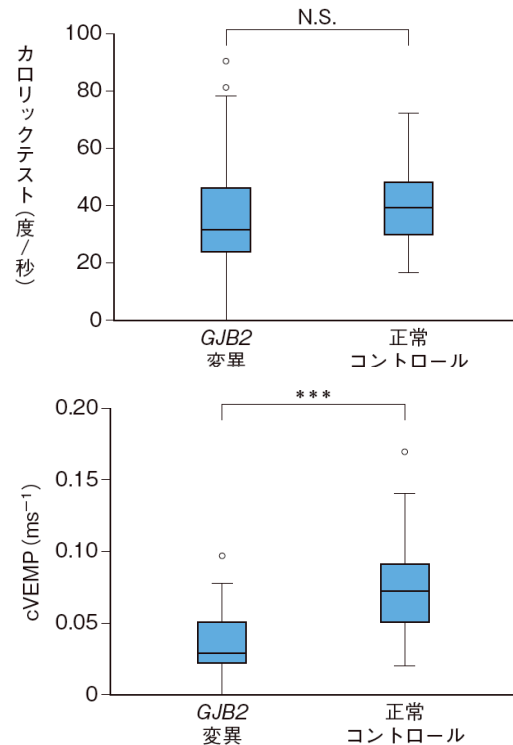


図3：GJB2 遺伝子変異症例の前庭機能(正常コントロールとの比較) N.S. : 有意差なし, ***: $P < 0.01$, いずれも Mann-Whitney

③ CDH23 遺伝子変異症例における前庭機能

CDH23遺伝子変異による非症候群性難聴症例9例の前庭機能検査を施行した結果、温度眼振検査では1例のみに前庭機能検査を認め、cVEMPでは明らかな機能異常を来した症例は認めなかった。

これらの結果から、遺伝子変異の種類によって、難聴の表現型の特徴と同様に前庭機能についても特徴がある可能性があり、今後、さらに多くの種類の遺伝子変異の前庭機能を検討し、遺伝性難聴の特徴をより明らかにすることで、遺伝性難聴の病態の解明と患者に対するより詳細なカウンセリングが可能になると考えられる。今後さらに遺伝性難聴患者に対する前庭機能検査を積み重ねその特徴を明らかにしたいと考える。

<引用文献>

Tsukada K, Nishio S, Usami S; Deafness Gene

Study Consortium. A large cohort study of GJB2 mutations in Japanese hearing loss patients. *Clin Genet.* 2010;78:464-470.

Suzuki H, Oshima A, Tsukamoto K, Abe S, Kumakawa K, Nagai K, Satoh H, Kanda Y, Iwasaki S, Usami S. Clinical characteristics and genotype-phenotype correlation of hearing loss patients with SLC26A4 mutations. *Acta Otolaryngol.* 2007 Dec;127(12):1292-7.

Miyagawa M, Nishio SY, Usami S; Deafness Gene Study Consortium. Mutation spectrum and genotype-phenotype correlation of hearing loss patients caused by SLC26A4 mutations in the Japanese: a large cohort study. *J Hum Genet.* 2014;59:262-268.

Wagatsuma M, Kitoh R, Suzuki H, Fukuoka H, Takumi Y, Usami S. Distribution and frequencies of CDH23 mutations in Japanese patients with non-syndromic hearing loss. *Clin Genet.* 2007 Oct;72(4):339-44

Qu Y, Tang W, Dahlke I, Ding D, Salvi R, Söhl G, Willecke K, Chen P, Lin X: Analysis of connexin subunits required for the survival of vestibular hair cells. *J Comp Neurol* 2007; 504:499-507.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 9 件)

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

① Tsukada K, Fukuoka H, Usami SI. Vestibular Functions of Hereditary Hearing Loss Patients with GJB2 Mutations. *Audiol Neurootol.* 2015 Mar 25;20(3):147-152. 査読あり

② Tsukada K, Ichinose A, Miyagawa M, Mori K, Hattori M, Nishio SY, Naito Y, Kitajiri SI, Usami SI. Detailed Hearing and Vestibular Profiles in the Patients with COCH Mutations. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2015 Mar 16. pii: 0003489415573074. [Epub ahead of print]. 査読あり

③ Tsukada K, Nishio S, Hattori M, Usami S. Ethnic-specific spectrum of GJB2 and SLC26A4 mutations: Their origin and a literature review. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2015, vol. 124(5S) 61S-76S. 査読あり

④ Nishio SY, Hattori M, Moteki H, Tsukada K, Miyagawa M, Naito T, Yoshimura H, Iwasa YI, Mori K, Shima Y, Sakuma N, Usami SI.

Gene Expression Profiles of the Cochlea and Vestibular Endorgans: Localization and Function of Genes Causing Deafness. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2015 Mar 26. pii: 0003489415575549. [Epub ahead of print] 査読あり

⑤ Miyagawa M, Nishio SY, Sakurai Y, Hattori M, Tsukada K, Moteki H, Kojima H, Usami SI. The Patients Associated With TMPRSS3 Mutations Are Good Candidates for Electric Acoustic Stimulation. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2015 Mar 13. pii: 0003489415575056. [Epub ahead of print] 査読あり

⑥ Moteki H, Kitoh R, Tsukada K, Iwasaki S, Nishio SY, Usami S. The advantages of sound localization and speech perception of bilateral electric acoustic stimulation. *Acta Otolaryngol.* 2015 Feb;135(2):147-53. doi: 10.3109/00016489.2014.951453. Epub 2014 Nov 25. 査読あり

⑦ Usami S, Moteki H, Tsukada K, Miyagawa M, Nishio SY, Takumi Y, Iwasaki S, Kumakawa K, Naito Y, Takahashi H, Kanda Y, Tono T. Hearing preservation and clinical outcome of 32 consecutive electric acoustic stimulation (EAS) surgeries. *Acta Otolaryngol.* 2014 Jul;134(7):717-27. doi: 10.3109/00016489.2014.894254. 査読あり

⑧ Tsukada K, Moteki H, Fukuoka H, Iwasaki S, Usami S. Effects of EAS cochlear implantation surgery on vestibular function. *Acta Otolaryngol.* 2013 Nov;133(11):1128-32. doi: 10.3109/00016489.2013.824110. 査読あり

⑨ 吉村 豪兼, 岩崎 聡, 熊川 孝三, 小林 有美子, 佐藤 宏昭, 福島 邦博, 福岡 久邦, 塚田 景大, 工 穰, 宇佐美 真一, Usher 症候群タイプ1の原因遺伝子と前庭機能評価についての検討, *Equilibrium Research* (0385-5716)72巻6号 Page467-471(2013.12) 査読あり

〔学会発表〕(計 7 件)

① 塚田 景大, 宮川 麻衣子, 福岡 久邦, 森 健太郎, 宇佐美 真一, 前庭機能障害合併する遺伝性難聴(COCH 遺伝子変異)症例の1家系, 第73回日本めまい平衡医学会総会, パシフィコ横浜, 2014年11月6日

②森 健太郎, 塚田 景大, 小林 正史, 宇佐美 真一, 当科における video head impulse test 有用性の検討, 第 73 回日本めまい平衡医学会総会, パシフィコ横浜, 2014 年 11 月 6 日

③Keita Tsukada, Hideaki Moteki, Hisakuni Fukuoka, Satoshi Iwasaki, Shin-ichi Usami, The effects of EAS cochlear implantation surgery on vestibular function. The 9th Asia Pacific Symposium on Cochlear Implant and Related Sciences (APSCI 2013), 2013 November 29, Hyderabad, India

④塚田 景大, 福岡 久邦, 宮川 麻衣子, 工 穰, 宇佐美 真一, GJB2 遺伝子変異症例における前庭機能評価について, 第 72 回日本めまい平衡医学会, 大阪, 2013 年 11 月 13 日

⑤塚田 景大, 福岡 久邦, 吉村 豪兼, 岩佐陽一郎, 小口 智啓, 工 穰, 宇佐美 真一, 小児一側性感音難聴患者における前庭機能の検討 原因別検討, 第 71 回日本めまい平衡医学会総会, 東京, 2012 年 11 月 29 日

⑥吉村 豪兼, 福岡 久邦, 塚田 景大, 工 穰, 宇佐美 真一, Usher 症候群タイプ 1 の原因遺伝子と前庭機能評価についての検討, 第 71 回日本めまい平衡医学会総会, 東京, 2012 年 11 月 29 日

⑦福岡 久邦, 塚田 景大, 渡辺 行雄, 鈴木 衛, 小川 郁, 宇佐美 真一, 難治性内耳疾患の遺伝子バンクプロジェクトの現況, 第 71 回日本めまい平衡医学会総会, 東京, 2012 年 11 月 29 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

塚田 景大 (TSUKADA, Keita)

信州大学・学術研究院医学系 (医学部附属病院)・助教

研究者番号: 90419375