

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：26861366

研究課題名(和文) 老人性難聴発症に關与するSNPsの探索に關する研究

研究課題名(英文) Replication study of candidate genes associated with Age-Related Hearing Impairment in the Japanese population

研究代表者

鈴木 伸嘉 (SUZUKI, Nobuyoshi)

信州大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：20377641

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)：本研究では、先行研究で老人性難聴との關連が報告されているSNPsの近傍のSNPsについて日本人サンプルを用いて検討し、同一遺伝子(KCNQ4, NAT2, GRHL2, GRM7, IQGAP2)の關与について検討を行うとともに、遅発性の難聴を引き起こす遺伝性難聴の原因遺伝子のSNPsを解析し、新規の老人性難聴の原因を見出すことを目的に検討を行った。その結果、海外および国内において過去に老人性難聴との關連が報告されていた遺伝子(GRHL2, NAT2, GRM7, IQGAP2, MTHFR、MTR)に関しては、本研究で対象とした母集団では有意な關連を認めず、replicationが得られなかった。

研究成果の概要(英文)：Age-related hearing impairment (ARHI) or presbycusis is the most common sensory neural impairment in the elderly. Several genes have been reported as susceptibility genes for ARHI in the European population: GRHL2, NAT2, GRM7 and IQGAP2, and in the Japanese population: MTHFR and MTR. We tried to replicate previously reported associated SNPs in Age related hearing loss. We tried to replicate previously reported associated SNPs in 620 samples from a Japanese population, aged 50-75 years. None of the previously found SNPs showed significant associations with ARHI in our Japanese population. Until now, all previous association results remain un-replicated. ARHI is a highly complex disorder, involving many variants with small effect sizes, which require larger studies with more power.

研究分野：耳鼻咽喉科学

キーワード：遺伝子 老人性難聴 SNP 候補遺伝子關連解析

1. 研究開始当初の背景

老人性難聴は、老年期における感覚障害で最も一般的な障害であり、65歳以上では30%以上が罹患するとされる。本邦においては急速な高齢化社会が進んでおり、言語コミュニケーションに著しい障害をもたらす、社会活動に深刻な悪影響を及ぼす老人性難聴の克服が期待されている。しかしながら、老人性難聴の程度に関しては個人差が非常に大きく、その個人差がどこから来ているのかを明らかにすることは、今後の治療や予防的介入の基盤となる可能性がある。

老人性難聴における個人差をもたらす原因として遺伝子の僅かな違いである Single Nucleotide Polymorphism (SNP) が考えられる。遺伝子配列の僅かな違いが、遺伝子発現量やスプライシングに変化を与えることで、多因子疾患や老人性難聴のような Common Disease の原因となりうるということが知られており、老人性難聴に関しては、欧州を中心に大規模コホート研究が行われており、老人性難聴に関連する SNP が報告されていた。

EU からの報告では、3000 例以上の大規模なサンプルを用い全ゲノムの SNP を網羅的に探索する GWAS (Genome Wide Association Study) の手法を用い *KCNQ4* や *NAT2*, *GRHL2*, *GRM7*, *IQGAP2* (Fransen et al., 2008; Unal et al., 2005; Van Laer et al., 2008; Friedman et al., 2009) といった遺伝子の SNP が老人性難聴と関連があることを報告している。また、本邦においては Uchida らが、*MTR* や *MTHFR* 遺伝子の SNP が老人性難聴に関連があると日本人サンプルを用いて報告している。

しかしながら、EU の報告も、日本人集団を対象にした報告のいずれにおいても replication study が他の民族母集団で行われておらず、これら遺伝子の関与に関しては必ずしも確立したものでは無いという状況であった。これに加え、老人性難聴は遺伝子の違いと環境要因で発症する多因子疾患であると考えられていることより、生活環境が発症に大きな影響を及ぼす。実際、EU からの報告では喫煙習慣が老人性難聴発症のリスクファクターであることが報告されており、遺伝子だけで説明がつかない点においても解析が難しいと考えられる状況であった。

2. 研究の目的

老人性難聴の原因遺伝子に関しては、ベルギーアントワープ大学を中心とした欧州のグループによる 3000 例以上の大規模なサンプルを用いた検討により、*KCNQ4* や *NAT2*, *GRHL2*, *GRM7*, *IQGAP2* などの SNPs が老人性難聴と関連することが明らかとなったが、現在までに、コーカソイドで老人性難聴に有意に関連があると報告された SNPs に関して、日本人を含め他の民族母集団において老人性難聴患者との関連が認められた遺伝子は報

告されておらず、その関与に関しては必ずしも明らかになっていない。

そこで、本研究では日本人老人性難聴患者を対象に、日本人において老人性難聴と関連する SNPs を探索するために下記の 2 つを実施することを目的とした。

(1) 先行研究で老人性難聴との関連が報告されている SNPs の近傍の SNPs について日本人サンプルを用いて検討し、同一遺伝子 (*KCNQ4*, *NAT2*, *GRHL2*, *GRM7*, *IQGAP2*) の関与について検討を行う。

(2) 遅発性の難聴を引き起こす遺伝性難聴の原因遺伝子の SNPs を解析し、新規の老人性難聴の原因を見出す。

3. 研究の方法

(1) 過去に報告のある老人性難聴原因候補遺伝子多型の遺伝子相関解析

日本人高齢者 700 例を対象に遺伝子解析に関する十分な説明の上、書面で同意を取得した後に、採血を行うとともに、耳鼻咽喉科医による鼓膜所見の取得と聴力検査を実施した。聴力検査は標準純音聴力検査により 125Hz、250Hz、500Hz、1000Hz、2000Hz、4000Hz、8000Hz の閾値を用いた。左右差を認める症例では、良聴耳の聴力閾値を採用した。また、15dB 以上の気骨導差を認める症例は解析から除外した。

QIAGEN 社の DNA blood and Tissue Kit を用いて DNA 抽出を行った後、海外のコホートスタディで老人性難聴と関連があると報告されている遺伝子 (*GRHL2*, *NAT2*, *GRM7*, *IQGAP2*)、国内のコホートスタディで老人性難聴との関連が報告されている遺伝子 (*EDN1*, *UCP2*, *FAB2*, *MTHFR*, *MTR*) および騒音性難聴との関連が報告されている遺伝子 (*KCNE1*) の SNP の遺伝子型を TaqMan genotyping assay および Step One Plus を用いて決定した。遺伝子解析を実施した症例に関して、平均聴力閾値 (250Hz、500Hz、1000Hz、2000Hz、4000Hz、8000Hz の平均値) を基に標準化 (Z スコア化) を行い、老人性難聴を有する群と老人性難聴を有さない群におけるオッズ比を求めるとともに有意差検定を行った。

(2) 新規老人性難聴原因候補遺伝子多型の探索

遺伝性難聴の原因としては、現在までに 100 種類程度の遺伝子が報告されており、これらの遺伝子の中には遅発性の難聴を呈する遺伝子が報告されている。本研究では新規の老人性難聴原因遺伝子の候補遺伝子として、遅発性の遺伝性難聴との関連が報告されている *CDH23* 遺伝子および *COCH* 遺伝子の多型に

関しても同様に検討を行った。

4. 研究の結果

(1) 過去に報告のある老人性難聴原因候補遺伝子多型の遺伝子相関解析

日本人高齢者 700 例を対象に、海外のコホートスタディで老人性難聴と関連があると報告されている遺伝子 (*GRHL2*, *NAT2*, *GRM7*, *QGAP2*)、国内のコホートスタディで老人性難聴との関連が報告されている遺伝子 (*EDN1*, *UCP2*, *FAB2*, *MTHFR*, *MTR*) および騒音性難聴との関連が報告されている遺伝子 (*KCNE1*) の遺伝子型と平均聴力閾値 (250Hz、500Hz、1000Hz、2000Hz、4000Hz、8000Hz の平均値) を基に標準化 (Z スコア化) を行い、老人性難聴を有する群と老人性難聴を有さない群における SNP 型の頻度に関して統計学的検討を行った。

その結果、海外および国内において過去に老人性難聴との相関が報告されていた遺伝子 (*GRHL2*, *NAT2*, *GRM7*, *QGAP2*, *EDN1*, *UCP2*, *FAB2*, *MTHFR*, *MTR*) に関しては、本研究で対象とした母集団では有意な相関を認めず、replication が得られなかった。

海外で報告された老人性難聴関連遺伝子に関しては、日本人集団との間で周辺のプロブブロックが異なることにより再現が得られなかった可能性が考えられる。一方、国内の報告との比較であれば、本来であれば replication が得られるはずであるが、実際には、喫煙習慣などの環境要因の調整方法などの統計解析手法の違いもあり replication が得られず、老人性難聴の原因遺伝子であることを積極的に支持しないという結果であることが明らかとなった。

(2) 新規老人性難聴原因候補遺伝子多型の探索

遺伝性難聴の原因としては、現在までに 100 種類程度の遺伝子が報告されているが、これらの遺伝子の中には遅発性の難聴を呈する遺伝子が報告されている。これら遺伝子変異の中には 50 歳代、60 歳代発症のものも報告されており、老人性難聴とも関連する可能性が考えられる。そこで、本研究では遅発性の遺伝性難聴との関連が報告されている *CDH23* 遺伝子および *COCH* 遺伝子の多型に関しても同様に検討を行った。その結果、*COCH* 遺伝子の多型と老人性難聴の間に有意な相関を認めることが明らかとなった。現在、得られた成果を取りまとめて投稿論文として報告を行う準備をしている。

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)

[雑誌論文] (計 5 件)

- ① Suzuki N, Okamura K, Yano T, Moteki H, Kitoh R, Takumi Y, Usami S., Silicone impression material foreign body in the middle ear: Two case reports and literature review. *Auris Nasus Larynx*, 査読有, Vol. 42, No. 5, 2015, pp. 419-23. doi: 10.1016/j.anl.2015.03.010.
- ② Takumi Y, Nishio S, Mugridge K, Oguchi T, Hashimoto S, Suzuki N, Iwasaki S, Jolly C, Usami S., Gene expression pattern after Insertion of Dexamethasone-Eluting electrode into the Guinea Pig Cochlea. *PLoS ONE*, 査読有, Vol. 9, 2014, pp. e110238. doi: 10.1371/journal.pone.0110238.
- ③ Yoshimura H, Takumi Y, Nishio SY, Suzuki N, Iwasa Y, Usami S., Deafness gene expression patterns in the mouse cochlea found by microarray analysis. *PLoS One*, 査読有, Vol. 27, 2014, pp. e92547. doi: 10.1371/journal.pone.0092547.
- ④ Tian G, Sawashita J, Kubo J, Nishio S, Hashimoto S, Suzuki N, Yoshimura H, Tsuruoka M, Wang Y, Liu H, Xu Z, Mori M, Kitano M, Hosoe K, Takeda T, Usami S, Higuchi K. Ubiquinol-10 supplementation activates mitochondria functions to decelerate senescence in senescence-accelerated mice. *Antioxid Redox Signal*, 査読有, Vol. 20, 2014, pp. 2606-2620. doi: 10.1089/ars.2013.5406.
- ⑤ 田澤真奈美、岩崎聡、鈴木伸嘉、佐藤梨里子、塚田景大、工 穰、宇佐美真一、補聴器適合検査の指針 (2010) による両耳装用と片耳装用の傾向、*Audiology Japan*, 査読有, Vol. 57, 2014, pp. 202-208.

[学会発表] (計 3 件)

- ① 鈴木伸嘉、佐藤梨里子、鈴木宏明、塚田景大、岩佐陽一郎、工 穰、岩崎聡、宇佐美真一、補聴器適合検査の指針 (2010) における検査結果の変化、第 59 回日本聴覚医学会、2014. 11. 27-28、海峡メッセ下関 (下関市)
- ② 佐藤梨里子、鈴木伸嘉、工 穰、宇佐美真一、*KCNQ4* 遺伝子変異による難聴患者の補聴器装用効果についての検討、第 59 回日本聴覚医学会、2014. 11. 27-28、海峡メッセ下関 (下関市)

- ③ 岩佐陽一郎、西尾信哉、宮川麻衣子、鈴木伸嘉、工 穰、宇佐美真一、次世代シーケンサーにより *COL11A2* 遺伝子変異が同定された Binder 症候群を伴う難聴家系の一例、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

鈴木 伸嘉 (SUZUKI, Nobuyoshi)
信州大学・医学部附属病院・医員
研究者番号：20377641

(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：10184996

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：70467166