当科小児難聴外来の過去10年間における難聴の遺伝学的検討

小林有美子¹⁾, 佐藤宏昭¹⁾, 岩井詔子²⁾, 村井盛子³⁾, 宇佐美真一⁴⁾

¹⁾岩手医科大学耳鼻咽喉科, ²⁾耳鼻咽喉科 岩井クリニック

³⁾盛岡市立病院耳鼻咽喉科, ⁴⁾信州大学耳鼻咽喉科

要旨：今回我々は、1997年から2007年までの間に岩手医科大学耳鼻咽喉科小児難聴外来を受診した、明らかな外因のない両側感音難聴患者64例を対象とし、*GJB2* 変異、*SLC26A4* 変異、ミトコンドリア A1555G 変異について解析を行った結果と、それ以前に本人及び家族の聴力検査、オーディオグラムの特徴などから遺伝性難聴と診断されていた例と比較検討し、遺伝性難聴の頻度がどの程度変化したのか、またそのオーディオグラムの特徴について検討を行った。両側感音難聴64例のうち、難聴の病因と考えられる遺伝子変異が見つかったのは11例（17.2%）であった（*GJB2* 変異9例、*SLC26A4*2例）。遺伝性難聴の頻度は遺伝子検査以外の検査から診断した例に遺伝子検査で確認された例を加えることによって、全体の45.3%となった。遺伝子変異例のオーディオグラムの特徴は、その左右対称性などこれまで知られている遺伝性難聴の特徴と一致することが多いことがわかった。

キーワード

遺伝性難聴, *GJB2*, 非症候性感音難聴

はじめに

遺伝性難聴は従来、症状や随伴する他の異常所見、遺伝形式などによって分類、診断されてきた。2001年時点での当科小児難聴外来の1432例の統計では、感音難聴児のうち遺伝性は約30%で、原因不明は約60%であった¹⁾。しかし、原因不明例の両側感音難聴児の両親における難聴発現率は一般成人に比べ有意に高いことから²⁾、原因不明例の中には遺伝性難聴が少なからず含まれている可能性がある¹⁾。実際、近年難聴の遺伝子座の報告が相次ぎ、1999年には Kimberling により、先天性感音難聴の約50%が遺伝性難聴と報告されるようになった³⁾。しかし、2006年より信州大学で行われている、日本人難聴者に高頻度にみられる10遺伝子44変異を対象としたインベダー法による網羅的解析における変異同定率は30%程度⁴⁾で、これまでより多くの変異患者

が見つかるようになったが、遺伝性難聴の疑われる患者すべての原因特定には至っていない。

日常の外来診療においては、難聴の確定診断のためには周産期からの生育歴、聴覚検査、家族歴聴取と家族の聴力検査が重要である。特に、遺伝性難聴におけるオーディオグラムの聴力型に関する研究は、しばしばその遺伝性を推定する上で役立ってきた。1936年 Langenbeck⁵⁾ は両側罹患で左右のオーディオグラムが一致しているものを左右対称性オーディオグラムと呼び、この難聴の原因に遺伝性素因の関与していることを示す所見と考えた。また家系内に難聴者がいる場合、そのオーディオグラムの相似性は遺伝性難聴の大きな特徴とされてきたが、立木⁶⁾ は家系内難聴者のオーディオグラムを重ね合わせて検討することにより、「遺伝性難聴の家系内難聴者オーディオグラムの三原則」、すなわち非交叉の原則、一致の原則、分離の原則を提唱し、Langenbeck によって

発表された「左右対称性の法則⁵⁾」とともに、遺伝性難聴の臨床診断をする上で一つの試金石となりうるとした。これらのうち特に充足率の高いのは非交叉原則であるが、これは遺伝性難聴の家系内難聴者のオーディオグラムを重ね合わせると、交叉する部分がないという原則である。このような特徴が、遺伝子検査導入後も遺伝性難聴を特徴づける所見として有用であるかどうか検討することは興味深いと思われる。

今回我々は、感音難聴児及びその家族に対し、ミトコンドリア DNA A1555G 変異（以下、A1555G 変異）、*GJB2* 変異、*SLC26A4* 変異の有無について直接シーケンス法で解析を行い、それ以前に本人及び家族の聴力検査結果、オーディオグラムの特徴や他の臨床的特徴、画像検査などから遺伝性難聴あるいは原因不明と診断されていた例と比較検討し、遺伝性難聴の診断頻度がどの程度変化したのか、また遺伝子検査導入後、変異陽性例にどの程度オーディオグラムにおける臨床的特徴が合致するののかについて検討したので、若干の考察を加えて報告する。

対 象

1997年から2007年までの過去10年間に岩手医科大学耳鼻咽喉科小児難聴外来で遺伝学的検査を行ったのは、410例、123家系である。これらの家系の発端者の内訳は、両側感音難聴64例、一側感音難聴45例、混合難聴や伝音難聴14例であった。一側感音難聴から遺伝子変異が2例見つかったが、この変異が直接一側難聴を引き起こす原因とは現時点では確定できなかったため、今回は両側感音難聴64例（男32、女32。平均年齢11.5歳（1～34歳））を対象とした。また、発端者の難聴はすべて、明らかな外因を認めないものであった。難聴の程度は軽度難聴22例、中等度難聴19例、高度難聴23例であった。また、難聴の確定診断は純音聴力検査によるものが50例、CORが10例、ABRが4例であった。

方 法

(1) 両側感音難聴64例に対して、遺伝子解析(*GJB2* 変異、*SLC26A4* 変異、A1555G 変異)の変異同定率、変異の内訳、症候群性／非症候群性、難聴の発症様式について検討した。*GJB2* 遺伝子、

SLC26A4 遺伝子については、直接シーケンス法により翻訳領域およびイントロン・エキソン境界の解析を行った。

(2) 両側感音難聴64例を、遺伝子検査以外の検査方法（本人及び家族の聴力検査、オーディオグラムの特徴や他の臨床的特徴、画像検査など）で遺伝性難聴群と原因不明群に分類し、両群からそれぞれ遺伝子変異陽性例がどの程度みつき、またそれによって遺伝性難聴の比率がどの程度増加したかを検討した。

(3) 変異陽性例のオーディオグラム及びその臨床的特徴をみるために、オーディオグラムの左右対称性がみられるかどうか、また家系内難聴者がいる場合、それらのオーディオグラムを重ね合わせることににより、遺伝性難聴のオーディオグラムの一つの特徴である非交叉がみられるかどうかを検討した。

なお、本研究は岩手医科大学倫理委員会で審査、承認されており、事前に被験患者本人にインフォームドコンセントを行い、文書により同意を得て行った。16歳以上の未成年者及び16歳未満の者については、代諾者（親権者、後見人や保佐人が定まっているときはその人）に対してインフォームドコンセントを行い、同意を得られたものに対して採血を行った。

結 果

(1) 両側感音難聴64例のうち、遺伝子変異が同定されたのは11例（17.2%）であった。

変異の内訳は64例中 *GJB2* 変異が9例（14.1%）、*SLC26A4* 変異は2例（3.1%）で、A1555G 変異例は認められなかった。すべて非症候群性で、発症様式は孤発例5例、常染色体劣性遺伝（以下 AR）6例で優性遺伝は認められなかった。

(2) 遺伝子検査以外の臨床検査、臨床的特徴（オーディオグラムの特徴、家系図聴取、可能な限りの家族の聴力検査など）から診断した発症様式で両側感音難聴64例を分類すると、遺伝性難聴群24例（37.5%）、原因不明群40例（62.5%）であった。

これら2群から遺伝子変異陽性例は、遺伝性難聴群から6例、原因不明群から5例が同定された。従って、原因不明群から新たに遺伝性難聴と診断された5例を遺伝性難聴群24例に加えると29例となり、

図1 遺伝性難聴の割合

表1 遺伝子変異陽性例の臨床像
(AR 群：発症様式として常染色体劣性遺伝形式をとるもの、*印：症例 (図2 参照))

孤発	年齢 (才)	性別	変異	両耳性	聴力障害	聴力型	発症 様式	家族の聴力	非交叉
1	7	女	<i>GJB2</i> 235delC・V37I 複合ヘテロ	非対称	軽度	高音障害	—	—	—
2	8	男	<i>GJB2</i> 235delC・V37I 複合ヘテロ	対称	軽度	高音障害	—	—	—
3	4	女	<i>GJB2</i> 235delC・G45E・Y136X 複合ヘテロ	対称	中等度	水平型	—	—	—
4	5	女	<i>GJB2</i> 176-191del16bp・235delC 複合ヘテロ	対称	高度	ろう型	—	—	—
5	16	女	<i>SLC26A4</i> IVS7-2・A>G・H723R 複合ヘテロ	対称	高度	ろう型	—	—	—
AR 群									
1	6	男	<i>GJB2</i> G45E・Y136・F191L 複合ヘテロ	対称	軽度	谷型	AR	父軽度など	なし*
2	12	女	<i>GJB2</i> 235delC ホモ	対称	中等度	水平型	AR	姉 高度	あり
3	16	女	<i>GJB2</i> V37I ホモ	対称	中等度	高音障害	AR	弟 軽度	あり
4	2	女	<i>GJB2</i> 235delC ホモ	対称	高度	ろう型	AR	母 中等度	—
5	3	男	<i>GJB2</i> 235delC ホモ	対称	高度	ろう型	AR	姉 中等度	あり
6	21	男	<i>SLC26A4</i> T721M ヘテロ	対称	高度	高音障害	AR	姉 中等度	あり

全体に占める遺伝性難聴の割合は45.3%となった(図1)。

(3) 遺伝子変異陽性例のオーディオグラムや他の臨床的特徴を検討するために、11例をさらに、家系内難聴者を認めなかった孤発群と家系内難聴者を認めた群に分けて表に示した(家系内難聴者のいた群は遺伝形式からAR群とした)。(表1)

オーディオグラムの左右対称性についてみると、孤発群の一例を除いた10例はすべて左右対称性のオーディオグラムを呈した。聴力障害の程度は軽度(3例)、中等度(3例)、高度(5例)すべての程度がみられた。聴力型は高音障害型、谷型、ろう型がみられ、*SLC26A4* 変異の2例はこの遺伝子変異に特

徴的な、低音域に気骨導差を認める高音障害型オーディオグラムを呈し、聴器画像検査にて両耳に前庭水管拡大を認めた。AR群の症例6ではヘテロ接合しか検出されなかったが、Pryorら⁷⁾によるとその場合でも、前庭水管拡大症や特徴的な聴力型があれば遺伝子変異が難聴の発症に関与している可能性があるとしているため、遺伝子変異陽性例として検討に加えた。

AR群6例の発端者と家系内難聴者の重ね合わせオーディオグラムを作成し、遺伝性難聴のオーディオグラムの3原則として立木⁶⁾により提唱された非交叉、一致、分離の3原則のうち、一番充足率が高いとされる非交叉について調べた結果、ABRによる

1例を除いた5例中4例に非交叉が認められた。非交叉(－)と判断した、家系内に難聴者が多発していた *GJB2* 変異の一家系は、聴力検査を行った患者のすべての重ね合わせオーディオグラムは2～8kHzにわたって交叉がみられ非交叉(－)であった。遺伝子検査によって2名が発端者の難聴と無関係の老人性難聴と判明したため(オーディオグラムB)、これらを除いて検討すると谷型と高音障害型の二つのパターンに分かれた(分離)。

考 察

過去10年間に小児難聴外来で遺伝子検査を行った結果、両側感音難聴64例のうち11例(17.2%)に *GJB2* ないし *SLC26A4* の遺伝子変異が同定された。これらの遺伝子変異陽性11例中9例と最も多く検出された *GJB2* 変異は日本人先天性難聴の約20%に見られる^{8,9)}ことから、ほぼ従来の報告と一致した。また遺伝性難聴の頻度はオーディオグラムの特徴、家系図聴取、可能な限りの家族の聴力検査などから診断した例に遺伝子検査で確認された例を加えることによって、全体の45.3%となり Kimberling (1999)³⁾ の報告と同程度となることがわかった。

遺伝性難聴のオーディオグラムの特徴として知られているのは、オーディオグラムの左右対称性⁵⁾と家系内難聴者オーディオグラムの類似性⁶⁾である。類似性については、立木によると家系内メンバーのオーディオグラムが完全に「一致」する確率はそれほど高くない⁶⁾。しかし多数の遺伝性難聴患者オーディオグラムの重ね合わせの検討から、オーディオグラムに一致が見られない場合でも、それらのオーディオグラムは交叉しないことを述べた。つまり、家系内メンバーの重ね合わせオーディオグラムを作成し、そのオーディオグラムが一致していなくても軽度、中等度、高度などの難聴を示す数名のオーディオグラムは交叉しないことが多い(ただし、唯一交叉が4kHzと8kHzの間で起こることが多く、この場合は例外として「非交叉」と判定するとある)。たとえば、中等度難聴例のオーディオグラムが完全に軽度の例と高度の例の間に入っている所見などである。これは、あるメンバーの聴力が時間の経過とともに変化していく経過を、何人かのメンバーであらわしている姿と考えられる点で意義が大きく、つまりある家系の難聴の

その障害部位特異性の推察に役立つ知見であるとしている。さらに、2例以上のオーディオグラムが一致した上でそれが二つ以上のグループに分かれている場合を「分離の原則」とし、「遺伝性難聴の家系内難聴者オーディオグラムの三原則」とよんだ。この三原則の充足率は、立木の報告によると非交叉92.1%、一致48.7%、分離34.6%である。今回我々は、遺伝性難聴の臨床的特徴として高頻度にみられることを予測し、遺伝子変異陽性例に対し非交叉の有無について調べたところ、家系内難聴者のいるAR群で、オーディオグラムの得られた5家系中4家系(80%)に認められた。また、家系内に難聴者が多発していたが非交叉(－)と判断した残りの1家系については、遺伝子検査で老人性難聴と判明した2症例を除いてオーディオグラムを重ね合わせるとパターンが谷型(オーディオグラムD)と高音障害型(オーディオグラムE)の二つに分かれ、「分離」が遺伝子検査導入によって明確となった(図2)。このように遺伝子検査によって、遺伝性難聴のオーディオグラムにおける特徴がより明確になっていくかどうかは、今後このような家系内難聴者の比較的多い症例を増やして検討したい。

さらに、発端者のオーディオグラムの左右対称性をみると、孤発の一例を除いてすべて対称性であった。また一致、分離についても検討したが、一家系のオーディオグラム例数が少なく充足率を検討するまでには至らなかった。

非症候性遺伝性難聴の分類のひとつとして知られる Konigsmark¹⁰⁾ の分類を表に示す(表2)。従来から遺伝性難聴として、このような症状分類が知られていたわけであるが、今回遺伝子検査で変異が判明した例で本分類にあてはまるものは少数であった。しかし、自験例には遺伝子変異陰性例に、例えば Dominant mid-frequency sensorineural hearing loss に該当する症例があったことから、今後検索遺伝子を増やしての検討が待たれる。一方、Konigsmark の分類にはない、孤発例は遺伝子変異陽性例の半数に認められた。

GJB2 変異症例の聴力障害の程度は軽、中等度、高度と様々で、一定の傾向はなかった。これは日本人 *GJB2* 変異症例を変異の型別に検討すると、最も高頻度にみられる 235delC では両側高度感音難聴が

図2 遺伝性難聴家系のオージオグラムと家系図（オージオグラム非交叉（-）の一例）

家系図中、*印：GJB2変異陽性者。I～Ⅶ：オージオグラム左端と対応。オージオグラムAはすべての難聴者の重ね合わせオージオグラムで、非交叉（-）、分離（-）。オージオグラムBは発端者難聴発現に無関係と判明した難聴者のみ、CはBを除いたオージオグラム。このオージオグラムCはさらに二つのパターンに分けられ「分離」が明確となる（オージオグラムD、E）。

表2 Hereditary hearing loss without associated abnormality⁹⁾

1. dominant congenital severe deafness
2. dominant progressive nerve deafness
3. dominant unilateral deafness
4. dominant low frequency hearing loss
5. dominant mid-frequency hearing loss
6. otosclerosis
7. recessive congenital severe deafness
8. recessive early-onset neural deafness
9. recessive moderate neural hearing loss
10. sex-linked congenital deafness
11. sex-linked early-onset neural deafness

みられるが、型によって軽度、中等度と様々認められるという報告¹¹⁾を裏付ける結果と考えられた。

オージオグラムの特徴などからの分類は、先に述べた Konigsmark¹⁰⁾の分類も含めこれまでも報告がある。なかでも先天性聾と家族性進行性感音難聴は頻度が多く、よく知られている^{12), 13), 14)}。先天性聾はGJB2に代表される、劣性遺伝形式をとる非症候群性難聴の臨床的症狀に比較的合致している。常染色体優性遺伝型の家族性感音難聴はKonigsmark¹⁰⁾の分類では、Dominant progressive nerve deafness, Dominant low-frequency hearing loss, Domi-

nant mid-frequency hearing loss に該当する¹⁴⁾。これらの臨床像をもつ家系の遺伝子座は後に判明しており、たとえば *WFS1* は低音障害型感音難聴が優性遺伝形式で家族内に多発している¹⁵⁾。*TECTA* では非進行性の中音域の感音難聴を呈し、常染色体優性遺伝形式をとることが多い¹⁶⁾。いずれも頻度は少ないが、その診断には従来の分類の知識が有用と思われた。

自験例の変異陰性症例には Konigsmark の分類に合致する例が数例あることから、検索遺伝子の増加により今後さらに遺伝性難聴と診断される症例が発見される可能性があると考えられる。また、このような家族性難聴の患者は自らの家系に難聴者が多発していることを認識しており、原因解明を望んでいることが多い。難聴の遺伝子検索はこのような要望にこたえることのできる、有用な手段のひとつであると思われる。

ま と め

1. 1997年から2007年までの過去10年間に、岩手医科大学小児難聴外来において、明らかな外因のない両側感音難聴児64例に対し遺伝子検査を行った。11例（17.2%）に遺伝子変異を認め、うち *GJB2* 変異は9例（14.1%）、*SLC26A4* 変異は2例（3.1%）と従来の報告通りの頻度であった。遺伝性難聴の頻度はオーディオグラムの特徴、家系図聴取、可能な限りの家族の聴力検査などから診断した例に遺伝子検査で確認された例を加えることによって、全体の45.3%となった。

2. 遺伝子変異例11例のオーディオグラムにおける特徴をみると、一例を除いて左右対称性であった。重ね合わせオーディオグラムを作成すると、発端者のオーディオグラムの得られた5家系中4家系（80%）に非交叉が認められた。

3. *GJB2* 変異例における聴力障害の程度、聴力型は様々で、本変異の臨床的特徴を反映しているものと考えられた。

4. 自験例中の変異陰性例には Konigsmark の遺伝性難聴の分類に該当するような症状をもつ家系もあり、検索遺伝子を増やしての検討は、家族性難聴患者及び家族の原因究明の希望にこたえられる有用な手段のひとつと思われた。

謝 辞

本稿の研究に関しましてご指導いただきました、岩手医科大学耳鼻咽喉科名誉教授村井和夫先生に深く感謝いたします。

本論分の要旨は第52回日本聴覚医学会学術講演（2007年10月、名古屋市）で口演した。

本研究の一部は、難治性疾患克服研究事業「優性遺伝形式をとる遺伝性難聴に関する調査研究」への厚生労働科学研究費補助金により行われた。

A study of genetic testing in patients with hereditary hearing loss—Ten years' experience at Iwate Medical University—

Yumiko Kobayashi¹⁾, Hiroaki Sato¹⁾, Noriko Iwai²⁾, Seiko Murai³⁾, Shin-ichi Usami⁴⁾

¹⁾Iwate Medical University

²⁾Iwai ENT Clinic

³⁾Morioka Municipal Hospital

⁴⁾Department of Otorhinolaryngology, Shinshu University School of Medicine

Hereditary hearing loss is the most frequent cause of congenital sensorineural hearing loss (SNHL), and advances in genetic testing have revealed various phenotypes of SNHL according to each gene mutation. On the other hand, clinical examinations, such as a history of development, family history, and various kinds of auditory examinations are also required for the diagnosis of hereditary hearing loss. In this paper, we reviewed 64 patients with bilateral congenital SNHL who visited Iwate Medical University between 1997 and 2007. Genetic testing (*GJB2*, *SLC26A4* and mt. A1555G mutations) revealed 11 (17.2%) patients with positive results for genetic mutation: 9 with *GJB2* mutation and 2 with *SLC26A4* mutation. Among these 11 patients, 5 had a negative family history. Patients with hereditary hearing loss increased from 24 patients

(37.5%) diagnosed by family history to 29 patients (45.3%) diagnosed by additional genetic testing. Furthermore, audiograms were found to be symmetrical in 10 of the 11 patients (90.9%) with *GJB2* or *SLC26A4* mutation.

参考文献

- 1) 村井盛子：先天性感音難聴。(川城信子編) 耳鼻咽喉科診療プラクティス9 小児の耳鼻咽喉科診療, 文光堂, 104-108, 2002
- 2) 亀井昌代：小児感音難聴の成因に関する研究—両親の聴力検査成績について。岩手医誌 **48**: 181-189, 1996
- 3) Kimberling WJ: Genetic testing of hearing loss disorders: in Hashimoto I, et al. (eds), Novel findings of gene diagnosis, regulation of gene expression, and gene therapy. Molecular Medicine. Elsevier Science B.V., Amsterdam, pp21-30, 1999
- 4) Abe S, Yamaguchi T, Usami S: Application of deafness diagnostic screening panel based on deafness mutation/gene database using invader assay. Genet Test **11**: 333-340, 2007
- 5) Langenbeck B: Das Symmetriegesetz der erblichen Taubheit. Ztschr. Hals usw Heilk **39**: 223, 1936
- 6) 立木孝：感音難聴, 特にその成因。日耳鼻 **79**: 1454-1460, 1976
- 7) Pryor SP, Madeo AC, Reynolds JC, et al: SLC26A4/PDS genotype-phenotype correlation in hearing loss with enlargement of the vestibular aqueduct (EVA): evidence that Pendred syndrome and non-syndromic EVA are distinct clinical and genetic entities. J Med Genet **42**: 159-165, 2005
- 8) Abe S, Usami S, Shinkawa H, et al: Prevalent connexin 26 gene (*GJB2*) mutations in Japanese. J Med Genet **37**: 41-43, 2000
- 9) Ohtsuka A, Yuge I, Kimura S, et al: *GJB2* deafness gene shows a specific spectrum of mutations in Japan, including a frequent founder mutation. Hum Genet **112**: 329-333, 2003
- 10) Konigsmark BW, Mengel MC, Haskins H: Familial congenital moderate neural hearing loss. J Laryngol Otol **84**: 495-505, 1970
- 11) Oguchi T, Ohtshka A, Hashimoto S, et al: Clinical features of patients with *GJB2* (connexin 26) mutations: severity of hearing loss is correlated with genotypes and protein expression patterns. J Hum Genet **50**: 76-83, 2005
- 12) 切替一郎, 松崎力：家族性難聴の臨床的観察。耳喉 **40**: 107-119, 1968
- 13) 竹下達也, 日高真：遺伝性難聴。JOHNS **6**: 70-74, 1990
- 14) 村井盛子, 立木孝：感音難聴の遺伝。JOHNS **8**: 1263-1270, 1992
- 15) Cryns K, Pfister M, Pennings RJ, et al: Mutations in the *WFS1* gene that cause low-frequency sensorineural hearing loss are small non-inactivating mutations. Hum Genet **110**: 389-394, 2002
- 16) Govaerts PJ, De Ceulaer G, Daemers K, et al: A new autosomal-dominant locus (DFNA12) is responsible for a nonsyndromic, midfrequency, prelingual and nonprogressive sensorineural hearing loss. Am J Otol **19**: 718-723, 1998

(原稿受付 平成21.1.15)

別冊請求先：〒020-8505

岩手県盛岡市内丸19-1

岩手医科大学医学部耳鼻咽喉科学講座

小林有美子

Reprint request:

Yumiko Kobayashi

Department of Otorhinolaryngology, Iwate Medical University, 19-1 Uchimarui Morioka, Iwate, 020-8505, Japan