研 究

非症候性感音難聴における遺伝子解析

— GJB2 遺伝子スクリーニング法の開発 —

布施 愉香・土井 勝美・松代 直樹・日比野 浩
川島 貴之・澤田亜也子・久保 武

Genetic Testing to Identify the Common GJB2 233delC Mutation

Yuka Fuse, Katsumi Doi, Naoki Matsushiro, Hiroshi Hibino,
Takayuki Kawashima, Ayako Sawada and Takeshi Kubo
(Osaka University)

Mutations in the GJB2 gene are the most common cause of prelingual deafness, accounting for approximately half of all nonsyndromic recessive deafness. Among Japanese, the 233delC mutation, in which one cytosine (C) residue is deleted from a run of 3 Cs at nucleotide position 233–235, with a carrier frequency of 1% is particularly common. The 233delC mutation is found in 50–70% Japanese patients with nonsyndromic recessive deafness. We have developed a genetic testing/technique that consists of Apa I and Bsp1286 I restriction analysis of polymerase chain reaction (PCR)-amplified 371 base pair DNA fragment of GJB2 gene, to identify this common mutation. This test provides a quick and reliable screening method for the common 233delC mutation. Genetic testing should be added to audiometric screening to identify children with prelingual deafness.

Key words : GJB2, connexin 26, nonsyndromic deafness, gene mutation analysis

はじめに

先天性高度難聴の発症率は出生約1000児に1例の割合であり、そのうちの約50%を遺伝性難聴が占めるものと推察されている。遺伝性難聴の約70%は、難聴が唯一の症状である非症候性遺伝性難聴であり、70~100個存在すると推定されている難聴の原因遺伝子に変異が生じることにより難聴が発症するものと考えられている^{1)~3)}。

欧米では、ギャップ結合を構成するコネキシン26をコードする遺伝子であるGJB2遺伝子の変異が、常染色体劣性遺伝形式を示す非症候性感音難聴全体の約70~80%の症例において、その原因であることが報告されている^{4)~6)}。これまでに、先天性および後天性感音難聴症例

において、実に47種類ものGJB2遺伝子変異が同定されているが、特にコネキシン26 cDNAの30~35番目に6つ並ぶG (Guanine)塩基のうちの1つが欠損する30delG (35delGとも称される)変異は、GJB2遺伝子変異の約70%を占めるというきわめて重要な遺伝子変異であり、同遺伝子変異のスクリーニング法がいくつか開発・報告され^{7)~9)}、GJB2遺伝子変異による感音難聴児の早期発見に役立てられようとしている。欧米における臨床的な発現型の特徴としては、30delGのホモ接合体、ヘテロ接合体がいずれも、全く同じ遺伝子発現型を有していないながら、同じ家系内においてさえ、その難聴の程度は一樣ではなく、きわめて高度な感音難聴から軽度難聴ま

での多様性が観察される⁶⁾。

日本国内においては、常染色体劣性遺伝形式を示す非症候性感音難聴の発症に関連する GJB2 遺伝子変異として、233delC 変異、408C→A 変異、134G→A 変異、176-191del16 変異などが報告されてきた^{10)~12)}。これらの遺伝子変異のなかで最も重要なものは、233delC 変異 (コネキシン26 cDNA の233~235番目に3つ並ぶ C (Cytosine) 塩基のうちの1つが欠損するので235delCとも称される)であり、国内での解析結果を総合的に評価すると、日本国内の常染色体劣性遺伝形式を示す非症候性感音難聴家系の10~20%は233delC変異を原因としており、また、GJB2 遺伝子変異アリルの50~70%を同遺伝子変異が占めていることになる。233delC 変異と欧米における30delG 変異との決定的な違いは、233delC 変異のホモ接合体のほとんどが、先天性の両側性、高度感音難聴(聾)であることであり、したがってこれらの症例をできる限り早期に発見し、人工内耳医療による治療を開始することに臨床的な意義がある。日本国内において、先天性の高度感音難聴児を対象とした GJB2 遺伝子変異、特に233delC 変異に関して、高感度で特異的に検出可能なスクリーニング法を確立することがきわめて重要と考えられる。

本論文では、日本国内におけるこれまでの GJB2 遺伝子の解析結果について解説するとともに、GJB2 遺伝子変異のマス・スクリーニング法の開発、同スクリーニング法による正常聴力者の233delC 変異の保因率の解析結果などについて報告する。

対象と方法

1) 直接シーケンス法による GJB2 遺伝子解析

常染色体劣性遺伝形式を示す非症候性高度感音難聴20家系、先天性高度感音難聴の孤発症例を含む30家系、正常聴力者50名を対象として、十分なインフォームドコンセントを得た後、末梢血を約5 ml 採取した。リンパ球からのゲノム抽出は GenTLE キット (TAKARA Biomedicals 社) を用いて行った。

GJB2 遺伝子は2つのエクソンより構成され、1つはプロモーター領域を含む5' 末端の非蛋白翻訳部分であり、他の1つは蛋白翻訳部分と3' 末端の非蛋白翻訳部分である。今回解析を行ったのは、全長678塩基長の蛋白翻訳部分である。PCR 法における塩基読み取りの誤り出現率を極力低下させるため、全長を3分割する形で、

お互いに重複する部分を持つ3つの DNA 断片を、Ex-Taq (TAKARA Biomedicals 社) を用いた PCR 法によりゲノムから増幅した。プライマー A により317塩基長 (コネキシン26 cDNA 167~187の TCTTTTCCAGAG-CAAACCGCC から466~483の CTAGTGGCCATGCA-CGTG まで)、プライマー B により416塩基長 (384~402の CGTGTGCTACGATCACTAC から780~799の CATG-ATTGCAGTGTCTGGAA まで)、プライマー C により239塩基長 (661~679の TATGTCATGTACGACGGCT から881~899の GCATTGCCCAGTTGTTAGA まで) の DNA 断片が、PCR 法によりゲノムから増幅される。それぞれの DNA 断片は、2% Seakem GTG agarose gel (FMC Bioproducts 社) 上で電気泳動により分離され、QIA quick Gel Extraction キット (QIAGEN 社) を用いて抽出、精製された。

2) 制限酵素による GJB2 遺伝子変異の検出

直接シーケンス法により同定された GJB2 遺伝子の変異を、より簡便にかつ鋭敏に検出することを可能とするために、PCR 法により増幅した DNA 断片をいくつかの制限酵素により消化・切断した後、電気泳動によるゲル上の泳動パターンを観察することで、遺伝子変異を容易に同定する GJB2 遺伝子変異スクリーニング法の開発を試みた。

本研究により同定された3種類の遺伝子変異 (233delC 変異、408C→A 変異、134G→A 変異) はすべて、プライマー A により増幅される317塩基長の DNA 断片中に含まれていた。DNAsis (Hitachi Software Engineering 社) を用いて、これら3種類の遺伝子変異を含む DNA 断片の制限酵素地図と、正常なコネキシン26 cDNA の制限酵素地図とを比較解析した。その結果、233delC 変異に関しては、制限酵素 Apa I, Ban II, Eco0109 I (Dra II), Nla IV, Bsp1286 I の5種類による消化、134G→A 変異に関しては、制限酵素 Mbo II による消化の後、ポリアクリルアミドゲル上で DNA 断片を電気泳動した際に、正常 GJB2 遺伝子とは異なる泳動パターンを示すことが予測された。一方、408C→A 変異に関しては、正常コネキシン26 cDNA の制限酵素地図と比較して、制限酵素地図上に差異はみられないことから、直接シーケンス法以外の制限酵素による簡易スクリーニング法の開発は現時点では困難と判断した。

233delC 変異、134G→A 変異のホモ接合体、ヘテロ接合体ゲノム、正常 GJB2 遺伝子からプライマー A によ

り増幅することで得られた DNA 断片を前述の制限酵素により消化・切断した後、ポリアクリルアミドゲル上で電気泳動し、その泳動パターンをサイバークリーン (BMA 社) により可視化して比較検討した。さらに、非症候性感音難聴家系ゲノムおよび 305 名の正常聴力者ゲノムについて、本法による GJB2 遺伝子変異のスクリーニングを行い、遺伝子変異の存在が示唆されるゲノムに関しては、直接シーケンス法により、最終的な遺伝子変異の確認を行った。

結 果

1) 直接シーケンス法により同定された GJB2 遺伝子変異

日本人の常染色体劣性遺伝形式を示す非症候性感音難聴の発症に関連する遺伝子変異として、233delC 変異、408C→A 変異、134G→A 変異の 3 種類が同定された¹⁰⁾。国内の他施設から報告¹¹⁾¹²⁾ のあった 176-191del16 変異などは、地域差、発端者効果のためか、われわれの解析したゲノム中には確認されなかった。

3 種類の遺伝子変異では、233delC 変異は 20 家系中の 4 家系、40 染色体中の 7 染色体で同定され、染色体全体の 17.5% を占めていた。233delC 変異により、コネキシン 26 蛋白の 79 番目のアミノ酸であるロイシン (Leu) はシステイン (Cys) に転換され、また、同変異によりもたらされるフレームシフトにより、81 番目のアミノ酸部位に翻訳終止コドンが挿入されることで同部位より C 末端側の蛋白翻訳が欠落して、アミノ酸数 80 個の短いコネキシン 26 蛋白が生成される。233delC 変異を持つ 4 家系中、3 家系では同遺伝子変異をホモ接合体で、残り 1 家系ではヘテロ接合体で保有していた。233delC 変異のヘテロ接合体における難聴発症機構に関しては、GJB2 遺伝子の非蛋白翻訳部分あるいは GJB2 遺伝子以外の遺伝子 (他のコネキシン・ファミリー遺伝子を含む) に別の変異が重複して存在する可能性が推察されている^{10)~12)}。

残り 2 種類の遺伝子変異である 408C→A 変異、134G→A 変異は、20 家系中の 1 家系において 233delC 変異とともに同定された。これら 2 種類の遺伝子変異は、それぞれ 40 染色体中の 2 染色体で同定され、それぞれ染色体全体の 5% を占めていた。408C→A 変異により、136 番目のアミノ酸であるチロシン (Tyr) の部位に新たに翻訳終止コドンが挿入され、結果として、アミノ酸数 135 個の短いコネキシン 26 蛋白が生成される。また、134G

→A 変異により、45 番目のアミノ酸であるグリシン (Gly) がグルタミン酸 (Glu) に転換される。この家系内での高度感音難聴の発症には、233delC 変異、408C→A 変異および 134G→A 変異のいずれか 1 つをホモ接合体で保有するか、もしくは 3 種類すべての遺伝子変異を同時にヘテロ接合体で保有することが必要条件と考えられ、1~2 種類の遺伝子変異をヘテロ接合体で保有しても難聴の発症は認められなかった。

2) 制限酵素による GJB2 遺伝子変異の検出

プライマー A により増幅される 233delC 変異を含む 316 塩基長 (本来、プライマー A を用いた PCR 法により増幅される 317 塩基長より 1 塩基長短い) の DNA 断片では、制限酵素 Apa I, Ban II による認識部位が消失するため、これらの制限酵素による消化・切断を受けず、電気泳動では 316 塩基長の断片がそのままゲル上に観察されるのに対して、正常 GJB2 遺伝子からプライマー A により増幅される 317 塩基長の DNA 断片では、制限酵素 Apa I, Ban II による消化・切断を受けて、いずれも 266 塩基長、51 塩基長の 2 つの DNA 断片となり泳動されると予測された。同様に、制限酵素 Eco0109 I (Dra II), Nla IV による消化・切断では 233delC 変異を含む 316 塩基長の DNA 断片は、認識部位が消失するため消化・切断を受けず、316 塩基長の断片がそのままゲノム上に観察されるのに対して、正常 GJB2 遺伝子から増幅される 317 塩基長の DNA 断片では、Eco0109 I (Dra II) では 263 塩基長、54 塩基長の 2 つの DNA 断片、Nla IV では 264 塩基長、53 塩基長の 2 つの DNA 断片となり泳動されると予測された。制限酵素 Bsp1286 I による消化・切断では、233delC 変異を含む 316 塩基長の DNA 断片は 271 塩基長と 45 塩基長の 2 つの DNA 断片となり、一方、正常 GJB2 遺伝子から増幅される 317 塩基長の DNA 断片は 221 塩基長、51 塩基長、45 塩基長の 3 つの DNA 断片となり泳動されると予測された。

一方、プライマー A により増幅される 134G→A 変異を含む 317 塩基長の DNA 断片では、制限酵素 Mbo II による認識部位が新たに 1 カ所出現するため、同酵素による消化・切断を受けて、92 塩基長、70 塩基長、66 塩基長、48 塩基長、41 塩基長の 5 つの DNA 断片となり、一方、正常 GJB2 遺伝子から増幅される 317 塩基長の DNA 断片では、162 塩基長、66 塩基長、48 塩基長、41 塩基長の 4 つの DNA 断片となり泳動されると予測された。

直接シーケンス法により同定された 233delC 変異、

134G→A 変異について, それぞれの遺伝子変異のホモ接合体, ヘテロ接合体のゲノム, および正常 GJB2 遺伝子を有するゲノムからプライマー A により増幅された 317塩基長(または316塩基長)の DNA 断片に対して, 233 delC 変異に関しては制限酵素 Apa I, Ban II, Eco0109 I (Dra II), Nla IV, Bsp1286 I による消化・切断, 134G→A 変異に関しては制限酵素 Mbo II による消化・切断の後, DNA 断片を電気泳動した(図 1). いずれの制限酵素による消化・切断においても, 233delC 変異,

134G→A 変異のホモ接合体, ヘテロ接合体, および正常ゲノムからの DNA 断片は, 異なる電気泳動パターンを示し, かつ電気泳動により分離される DNA 断片は, いずれも予測された長さを正確に有していた.

3) 制限酵素 Apa I, Bsp1286 I 消化・切断による GJB2 遺伝子変異のスクリーニング

次に, 前述の制限酵素のなかから Apa I, Bsp1286 I を選択して, 常染色体劣性遺伝形式を示す非症候性感音難聴の家系および正常聴力者を対象として, GJB2

図 1 制限酵素による GJB2 遺伝子変異の検出

233delC 変異を有するゲノムからの PCR 産物は制限酵素 Apa I, Ban II, Eco0109 I, Nla IV, Bsp1286 I による消化・切断後, また 134G→A 変異を有するゲノムからの PCR 産物は制限酵素 Mbo II による消化・切断後のゲル上の電気泳動パターンが, 正常 GJB2 遺伝子からの PCR 産物と比較して, 明らかに異なる. 正常 GJB2 遺伝子からの DNA 断片は C, ヘテロ接合体からの DNA 断片は he, ホモ接合体からの DNA 断片は ho.

図2 感音難聴ゲノムでの 233delC 変異スクリーニング

ゲノム番号293～299からPCR法により増幅された317塩基長のDNA断片を、制限酵素Apa I (上段), Bsp1286 I (下段)で消化・切断後、ポリアクリルアミドゲル上で電気泳動したもの。正常GJB2遺伝子であれば、Apa I 消化・切断により、266塩基長、51塩基長の2つのDNA断片となり、Bsp1286 I 消化・切断により、221塩基長、51塩基長、45塩基長の3つのDNA断片となり泳動される。ゲノム番号293～299は、すべて正常GJB2遺伝子を有することが示唆される。

遺伝子の 233delC 変異のスクリーニングを施行した(図2)。

常染色体劣性遺伝形式を示す非症候性感音難聴の家系から、233delC 変異のホモ接合体、ヘテロ接合体の存在が示唆される新たな1家系が同定された(図3)。直接シーケンス法により解析した結果、スクリーニングの結果と全く一致する内容で、233delC 変異のホモ接合体、ヘテロ接合体が同家系内で確認された。

正常聴力者のゲノム・スクリーニングでは、305人中の3人において、233delC 変異のヘテロ接合体の存在を示唆する電気泳動パターンが得られた。直接シーケンス法により解析した結果、スクリーニングの結果と全く一致する内容で、これら3名がいずれも233delC 変異のヘテロ接合体を有することが確認された。したがって日本人におけるGJB2遺伝子233delC変異アレルの検出率は0.5%(3/610アレル)であり、正常聴力者が、同変異をヘテロ接合体として有する保因率は、約1%(0.98%)であると考えられる。

図3 233delC 変異スクリーニング法により同定された難聴家系

制限酵素Apa I, Bsp1286 Iでの消化・切断後、ポリアクリルアミドゲル上での電気泳動により233delC変異の存在が示唆された家系。黒丸、黒四角は感音難聴あり、白丸、白四角は正常聴力であることを示し、感音難聴の発現が常染色体性劣性遺伝形式であることが推察される。直接シーケンス法による解析から、ゲノム番号303は233delC変異のホモ接合体、ゲノム番号304はヘテロ接合体であることが確認された。

考 察

日本人における常染色体劣性遺伝形式を示す非症候性感音難聴の発症に関連する遺伝子変異として, 233delC 変異, 408C→A 変異, 134G→A 変異の 3 種類の GJB2 (コネキシン26) 遺伝子変異を同定してきた¹⁰⁾. また, これら以外に, 2 種類の遺伝子変異(341A→G 変異, 79G→A 変異)を同定したが, これらの変異は非症候性感音難聴家系, 正常聴力者の両群に確認されることから, 難聴の発症には直接関連しない遺伝子多型 (polymorphism) であると現時点では推察された.

欧米の非症候性感音難聴において同定された GJB2 遺伝子変異のうち, 最も頻度の高い(70~80%)とされる 30delG 変異を含め, これまでに報告されていた同遺伝子変異は, 解析を行った日本人の非症候性感音難聴のゲノム中には全く確認されなかった. したがって GJB2 遺伝子の変異は, 欧米においても日本においても, 難聴の原因遺伝子としてきわめて重要な地位を占めるものではあるが, その遺伝子変異の内容には厳然とした人種差があることが示唆された. 欧米では, いくつかの異なった人種において 30delG 変異がほぼ一致して高率に検出^{4)~6)}されることから, 同変異部位がいわゆる GJB2 遺伝子変異の hot spot に相当すると推察されているのに対し, 233delC 変異, 408C→A 変異, 134G→A 変異など, 日本人に特異的に発現する GJB2 遺伝子変異は, 日本人(あるいはアジア人種)における発端者効果 (founder effect) を示唆するものと理解される^{10)~12)}.

国内の他施設での解析も含めて, 日本人における GJB2 遺伝子変異として, われわれも報告した 233delC 変異, 408C→A 変異, 134G→A 変異以外に, 176-191del16 変異, 299-300delAT 変異, 427C→T 変異, 608T→C 変異などが同定されている¹¹⁾¹²⁾. これらのなかで, 最も頻度が高く, その遺伝子変異のスクリーニング法の確立が強く求められている変異は, やはり 233delC 変異である. すなわち, われわれの解析では, 常染色体劣性遺伝形式を示す非症候性感音難聴家系20家系中4家系(4/20, 20%)で 233delC 変異が確認され, また, 解析した40染色体のうちで変異が存在した11アリル中, 実に7個(7/11, 63.6%)が 233delC 変異であった¹⁰⁾. Abe ら¹¹⁾の報告では, 非症候性感音難聴家系35家系中8家系(8/35, 22.9%)で 233delC 変異が確認され, また, 解析した70染色体のうち変異が存在した20アリル中の10個(10/20, 50.0%)が 233delC 変異であり, Kudo ら¹²⁾の報告でも,

非症候性感音難聴家系39家系中4家系(4/39, 10.3%)で 233delC 変異が確認され, 変異が存在した10アリル中の7個(7/10, 70.0%)が 233delC 変異であったとされる. これらを総合的に評価すると, 日本国内の常染色体劣性遺伝形式を示す非症候性感音難聴家系の10~20%は 233delC 変異を原因としており, また, 同定された GJB2 遺伝子変異のかかなりの部分(50~70%)を 233delC 変異が占めていることが理解できる. したがって先天性の高度感音難聴者(児)を対象として, GJB2 遺伝子変異, 特に 233delC 変異を高感度で特異的に検出可能なスクリーニング法を確立することがきわめて重要となる.

今回, われわれが開発したゲノム PCR 法, 制限酵素消化・切断, ポリアクリルアミドゲル上での電気泳動による GJB2 遺伝子変異の検出法は, ゲノムの調整さえ完了していれば, 短時間(約6時間)で簡便に行えるスクリーニング法であり, その信頼性はきわめて高い. 直接シーケンス法により確認された 233delC 変異のホモ接合体, ヘテロ接合体に対して, 同スクリーニング法を試みたところ, それぞれのゲノムからの DNA 断片は, 正常ゲノムからのものと比較して, 明らかに異なった泳動パターンを示し, かつ電気泳動により分離される DNA 断片は, いずれも予測された長さを正確に有していた. 直接シーケンス法により GJB2 遺伝子の解析を完了した20家系のゲノムに関して, 同スクリーニング法により変異の有無を再度検討した結果, その変異検出率は100%(疑陽性, 偽陰性はともに0%)であることが確認された. また, 同スクリーニング法により 233delC 変異のホモ接合体, ヘテロ接合体の存在が示唆された家系について, 直接シーケンス法による解析を加えたところ, スクリーニングの結果に全く一致して 233delC 変異のホモ接合体, ヘテロ接合体が新たに同定された. したがって本論文に示した 233delC 変異の検出法は, GJB2 遺伝子のマス・スクリーニング法としての条件(鋭感性, 特異性)を満たしており, きわめて有用性が高いものと考えられる. 最近, 韓国においても, 常染色体劣性遺伝形式を示す非症候性感音難聴家系内に 233delC 変異が高率に存在することが報告された¹³⁾. 日本国内のみならず, 広くアジア人種全体を対象として, こうしたマス・スクリーニング法が確立, 実施されることの重要性が社会的に十分に認識されるべきと考える.

臨床的な表現型として, 大部分の 233delC 変異のホモ接合体は, 先天性, 両側性の高度感音難聴(聾)を示す.

これらの症例の一部に対して、すでに人工内耳医療が施行され、機能的な聴覚神経回路網の存在、良好な言語聴取能の獲得が確認された症例もある。したがって新生児期～乳児期に GJB2 遺伝子変異のマス・スクリーニングを実施することで、233delC 変異のホモ接合体を早期に発見し、臨界期前に人工内耳医療により治療可能となるよう、社会的なシステムの確立が早急に検討されるべきである。

一方、本スクリーニング法において、末梢血の採取、ゲノム抽出、ゲノム PCR、制限酵素による消化・切断、ポリアクリルアミドゲル上での電気泳動、そして直接シーケンス法による GJB2 遺伝子変異同定までのすべてのステップを完了するのに要する費用は、1 症例当たり 2,300 円と算出された。したがって新生児全例に本遺伝子スクリーニングを施行することは適切ではなく、保険医療の面からも容認されるものではない。今後、新生児の難聴スクリーニングが確立され、遺伝子解析へ進むべき症例の選別が機能的かつ円滑に可能となるよう努力していくこともきわめて重要と考える。

正常聴力者における GJB2 遺伝子変異、特に 233delC 変異の保因率については、Abe ら¹¹⁾ は 96 人中 2 人 (2.1%) に、Kudo ら¹²⁾ は 203 人中 2 人 (0.98%) に、Park ら¹³⁾ も 100 人中 1 人 (1%) に 233delC 変異のヘテロ接合体を同定しており、同変異アリルの検出率は、おおむね 0.5～1% ということになる。本スクリーニング法を用いた正常聴力者における 233delC 変異のヘテロ接合体の同定数は 305 人中 3 人 (保因率 0.98%) であり、上記の他施設での報告とおおむね一致する結果であった。他の 2 施設が、東日本 (東北地方) での保因率を示すものと考え、西日本において、日本国内で、あるいはアジア人種全体でも、平均的に人口約 100 人に 1 人の割合で 233delC 変異の保因者が存在することが推察され、それらの保因者同士の結婚により、理論的にはその子供の 4 人に 1 人が、233delC 変異のホモ接合体を有することで、両側高度難聴を発症することが予測される。

ま と め

1) 日本人における常染色体劣性遺伝形式を示す非症候性感音難聴の発症には、GJB2 遺伝子の変異 (233delC 変異, 408C→A 変異, 134G→A 変異) が関与することを示した。

2) 日本国内の常染色体劣性遺伝形式を示す非症候性

感音難聴家系の 10～20% は GJB2 遺伝子変異を原因としており、その遺伝子変異の 50～70% を 233delC 変異が占めると考えられる。

3) ゲノム PCR、制限酵素消化・切断、ポリアクリルアミドゲル上での電気泳動による GJB2 遺伝子変異の検出法は、同遺伝子のマス・スクリーニング法としての条件 (鋭敏性, 特異性) を満たしており、きわめて有用性が高いものと考えられる。

4) 日本人における 233delC 変異のヘテロ接合体の保因率は人口約 100 人に 1 人 (1%) である。

5) 難聴の存在が疑われる新生児・乳幼児に対する GJB2 遺伝子変異のマス・スクリーニングを推進し、両側高度感音難聴 (聾) の早期診断、人工内耳医療による治療を確立するための社会的なシステム作りが重要である。

参考文献

- 1) Sundstrom RA, Van Laer L, Van Camp G, et al : Autosomal recessive nonsyndromic hearing loss. *Am J Med Genet* 24 : 123～129, 1999.
- 2) Skvorak AB and Morton CC : Genetic causes of nonsyndromic hearing loss. *Curr Opin Pediatr* 11 : 551～557, 1999.
- 3) Steel KP : Science, medicine, and the future ; new investigations in hearing impairment. *BMJ* 320 : 622～625, 2000.
- 4) Kelsell DP, Dunlop J, Stevens HP, et al : Connexin 26 mutations in hereditary non-syndromic sensorineural deafness. *Nature* 387 : 80～83, 1997.
- 5) Kikuchi T, Kimura RS, Paul DL, et al : Gap junction systems in the mammalian cochlea. *Brain Res Brain Res Rev* 32 : 163～166, 2000.
- 6) Kelley PM, Cohn E and Kimberling WJ : Connexin 26 ; required for normal auditory function. *Brain Res Brain Res Rev* 32 : 184～188, 2000.
- 7) Storm K, Willocx S, Flothmann K, et al : Determination of the carrier frequency of the common GJB2 (connexin-26) 35 delG mutation in the Belgian population using an easy and reliable screening method. *Hum Mutat* 14 : 263～266, 1999.
- 8) Green GE, Smith RJ, Bent JP, et al : Genetic testing to identify deaf newborns. *JAMA* 284 : 1245, 2000.
- 9) Wilcox SA, Osborn A and Dahl HH : A simple PCR test to detect the common 35 delG mutation in the connexin 26 gene. *Mol Diagn* 5 : 75～78, 2000.
- 10) Fuse Y, Doi K, Hasegawa T, et al : Three novel connexin 26 gene mutations in autosomal recessive non-syndromic

deafness. *Neuroreport* **10** : 1853~1857, 1999.

- 11) Abe S, Usami S, Shinkawa H, et al : Prevalent connexin 26 gene (GJB2) mutations in Japanese. *J Med Genet* **37** : 41~43, 2000.
- 12) Kudo T, Ikeda K, Kure S, et al : Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2) responsible for childhood deafness in the Japanese population. *Am J Med Genet* **90** : 141~145, 2000.
- 13) Park HJ, Hahn SH, Chun YM, et al : Connexin 26 muta-

tions associated with nonsyndromic hearing loss. *Laryngoscope* **110** : 1535~1538, 2000.

(原稿受付 : 平成12年11月30日
原稿採択 : 平成13年 1 月10日
別刷請求先 : 土井勝美
〒565-0871 吹田市山田丘2-2
大阪大学大学院医学研究科感覚器外科
耳鼻咽喉科学教室)