

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：13601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2017

課題番号：26861365

研究課題名(和文)人工内耳装用者の遺伝的背景に関する研究

研究課題名(英文)Genetic background among cochlear implant patients

研究代表者

宮川 麻衣子(Miyagawa, Maiko)

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：60467165

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：人工内耳・残存聴力活用型人工内耳手術を行った患者の遺伝学的背景を検討し、効率的に内耳に発現する遺伝子の変異を同定した。それらの遺伝子変異による難聴患者の方が、人工内耳術後の効果が高い傾向が認められた。次世代シーケンサーによる解析は人工内耳装用患者の遺伝学的背景を明らかにし、その原因がどこにあるのかを明確にすることができる非常に有効な診断方法である。これによりその患者の術後成績の予測、リハビリのオーダーメイド化ができるようになると期待されている。

研究成果の概要(英文)：The present study intended to clarify the genetic etiology of the CI/EAS patients and compared CI/EAS outcomes between each etiology. We performed comprehensive massively parallel sequencing analysis for previously reported deafness causative genes (63 genes) for CI/EAS patients and identified many novel gene mutations among these patients. Patients with mutations in deafness genes predominantly expressed within inner ear, showed relatively good auditory performance after CI/EAS surgery. This result suggest that the identification of the genetic background will be useful information to predict the post-operative CI performance. Massively parallel sequencing analysis is a powerful tool to identify the causative deafness genes mutations in patients receiving cochlear implantation.

研究分野：耳鼻咽喉科学 遺伝学 耳科学

キーワード：人工内耳 遺伝性難聴 Littlears

1. 研究開始当初の背景

(1) 人工内耳の効果

難聴の治療において、軽度～中等度難聴の場合は補聴器の適応となるが、高度～重度難聴の場合には、補聴器では十分な補聴ができない。人工内耳は電極を内耳に挿入し、蝸牛神経へ直接電気信号を送る医療機器であり高度～重度難聴であっても補聴可能である。

人工内耳の装用により、重度難聴であっても会話が聞き取れるようになる十分な閾値の補聴が可能となるなど、非常に画期的な治療法ではあるが、その効果には個人差が大きいことが知られている。人工内耳の装用効果がばらつく要因としては、失聴期間や年齢、発達障害の有無、術前の補聴器装用の状況などが考えられているが、最も大きな要因の一つに「難聴の原因」が関与することが考えられていた。

(2) 難聴の原因診断の発達

先天性難聴は新生児 1,000 人に 1 人の割合で認められる比較的頻度の高い疾患である。従来は一部の奇形による難聴が画像検査で同定されるのみで、ほとんどの場合、原因も発症メカニズムも不明であった。しかし、近年の分子遺伝学的検査技術の進歩により、多くの先天性難聴の原因が同定され、それとともに発症メカニズムも明らかになってきている。

疫学調査によると、難聴の原因のうち最も頻度の高いものは遺伝子によるものであり、原因のうちの 50%～60%を占めると考えられていた。しかしながら、難聴の原因遺伝子としては 100 種類程度の原因遺伝子が関与することが報告されており、従来はこれらの原因遺伝子を網羅的に解析することは困難であった。近年の遺伝子解析技術の発達、特に次世代シーケンサーの臨床応用により、過去に報告のあるすべての難聴原因遺伝子を網羅的に解析することが可能になり、従来では検出困難であった、稀な原因遺伝子を見出すことが可能となってきていた。我々の研究室でも、人工内耳装用者 8 名の解析を行い、*MYO15A*、*TECTA*、*ACTG1*、*TMPRSS3* など頻度の低い、比較的稀な原因遺伝子変異を検出することができていた。

2. 研究の目的

本研究では、日本人人工内耳装用者に対して、次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析を行い、原因遺伝子変異の種類、頻度、臨床的特徴を明らかにすること、また、人工内耳患者の遺伝子変異ごとに人工内耳後の聴取能を詳細に検討し、遺伝子変異ごとの個別化医療の基盤データを確立することを目的とした。

遺伝子変異が同定された患者の人工内耳の

聴取能を正確に評価することで、今後は遺伝子変異ごとに人工内耳前後のマネジメント、術後のハビリテーションの介入法を個別に検討することができると期待される。

3. 研究の方法

当施設および共同研究施設より人工内耳装用を対象に研究に関する十分な説明を行った上で、書面で同意を得て、DNA を採取し、次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子解析を行った。具体的には、原因遺伝子としては文献情報などを参照し、過去に難聴との関連が報告されている 68 遺伝子を対象としている ThermoFisher Scientific 社の AmpliSeq カスタムパネルを用いて候補遺伝子領域を含む DNA 領域の網羅的増幅を行い、次世代シーケンサー (Ion Proton) により塩基配列の決定を行なった。得られた塩基配列から、遺伝子変異領域を抽出し、ANNOVAR を用いてアノテーション付けを行い、医療用家系図、聴力像などを参考に、候補となる遺伝子変異の絞り込みを行うとともに、家族サンプルを用いたセグリゲーション解析を行った。候補遺伝子変異の確認および家族サンプルのセグリゲーション解析は直接シーケンシング法により実施した。

また、解析結果を元に、遺伝子変異の種類、頻度およびその臨床的特徴について検討を行った。また、人工内耳術前後の聴取能や人工内耳の装用閾値や、重複障害の有無、幼小児人工内耳の標準的評価方法である IT-MAIS、LittleEARs、発達検査や知能検査 (新版 K 式発達検査、WISC- 知能検査)、小児期の言語評価 (PVT-R など) を用いて人工内耳患者の原因ごとの臨床像の評価を行った。

4. 研究成果

(1) 日本人人工内耳患者における遺伝子解析

信州大学医学部付属病院耳鼻咽喉科にて人工内耳、残存聴力活用型人工内耳を装用した先天性難聴 88 名、後天性難聴 77 名を対象に次世代シーケンサーを用いた難聴の原因を解析したところ、先天性難聴患者では 55% に原因遺伝子変異を同定することができた (図 1)。

原因遺伝子の種類としては、従来より多く認められていた *GJB2* 遺伝子、*SLC26A4* 遺伝子、*CDH23* 遺伝子変異が高頻度に認められた。また、さらに *OTOF* 遺伝子、*MYO7A* 遺伝子、*MYO15A* 遺伝子、*LOXHD1* 遺伝子変異も新たに認められ、これまでに人工内耳装用者では報告があまりなかった遺伝子変異を同定することができた。

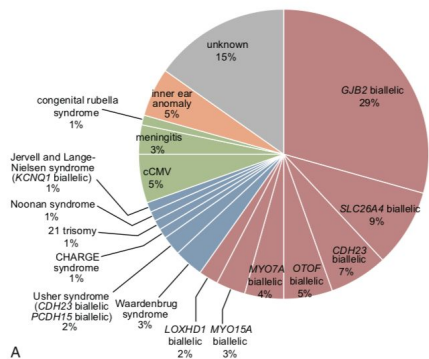


図1 人工内耳手術を行った先天性難聴 88 症例の原因の内訳

また、これらの症例について、LittleARs という評価法に基づき初期の聴性行動の伸びを原因別（遺伝子、症候群、先天性サイトメガロウイルス感染症、内耳奇形）に検討したところ、遺伝子変異による先天性難聴が最も良好な結果を示した（図2）。これは遺伝子変異による難聴は内耳の障害のみで、他の神経発達の障害を伴うことなく、人工内耳の効果が出やすいことを示していると考えられた。

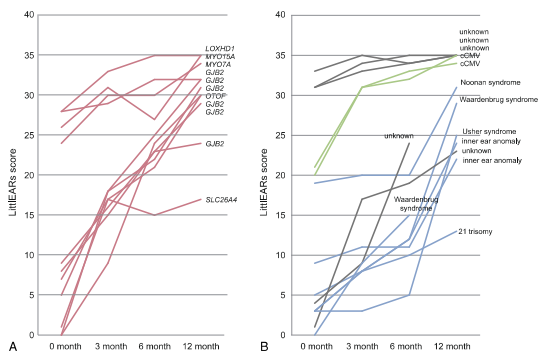


図2 原因別に見た人工内耳装用効果 (LittleARs)
左：難聴遺伝子変異同定群、右：その他群

また、後天性難聴患者でも同じように検討したところ、34%に遺伝子変異を認めた。こちらでは先天性難聴の GJB2 遺伝子、SLC26A4 遺伝子のような高頻度に認められる遺伝子変異はなく、頻度が低い遺伝子が数多く認められた（図3）。

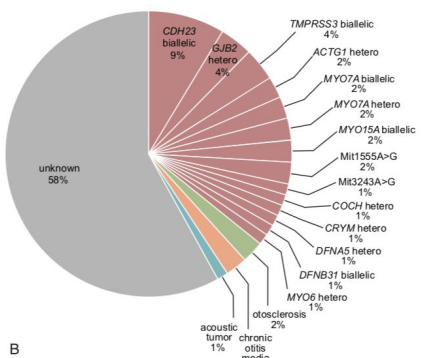


図3 人工内耳手術を行った後天性難聴 77 症例の原因の内訳

また、COCH 遺伝子、CRYM 遺伝子、DFNA5 遺伝子、DFNB31 遺伝子、MYO6 遺伝子など、非常に稀な遺伝子変異を同定することができた。

後天性難聴において、術後の単音節聴取能 (CI2004) を検討したところ、原因による傾向は認められなかった。これは、成人の場合、失聴期間や手術年齢、術前の補聴器装用状況などの原因以外の要因が複数あるため、原因ごとの傾向が明確にはならなかったと考えられた（図4）。

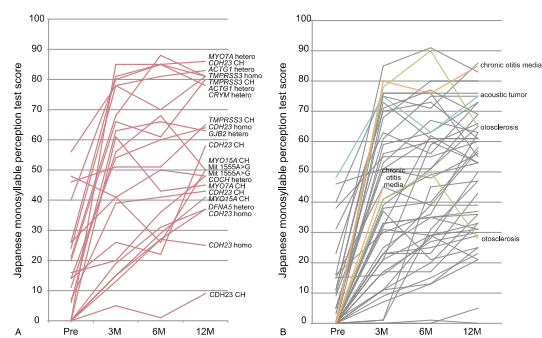


図4 原因別に見た人工内耳装用効果 (CI2004 単音節検査)
左：難聴遺伝子変異同定群、右：その他群

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

Kobayashi M, Miyagawa M, Nishio SY, Moteki H, Fujikawa T, Ohyama K, Sakaguchi H, Miyanohara I, Sugaya A, Naito Y, Morita SY, Kanda Y, Takahashi M, Ishikawa K, Nagano Y, Tono T, Oshikawa C, Kihara C, Takahashi H, Noguchi Y, Usami SI. *WFS1* mutation screening in a large series of Japanese hearing loss patients: Massively parallel DNA sequencing-based analysis.、査読有、PLoS One、Vol.13、2018、pp.e0193359、doi: 10.1371/journal.pone.0193359.

Kitano T, Miyagawa M, Nishio SY, Moteki H, Oda K, Ohyama K, Miyazaki H, Hidaka H, Nakamura KI, Murata T, Matsuoka R, Ohta Y, Nishiyama N, Kumakawa K, Furutate S, Iwasaki S, Yamada T, Ohta Y, Uehara N, Noguchi Y, Usami SI. *POU4F3* mutation screening in Japanese hearing loss patients: Massively

parallel DNA sequencing-based analysis identified novel variants associated with autosomal dominant hearing loss.、査読有、PLoS ONE、Vol.12、2017、pp.e0177636、doi: 10.1371/journal.pone.0177636.

Moteki H, Nishio S, Miyagawa M, Tsukada K, Iwasaki S, Usami S. Long-term results of hearing preservation cochlear implant surgery in patients with residual low frequency hearing.、査読有、Acta Otolaryngol.、Vol.137、2017、pp.516-521、doi: 10.1080/00016489.2016.1252061.

Mori K, Moteki H, Miyagawa M, Nishio SY, Usami S. Social Health Insurance-Based Simultaneous Screening for 154 Mutations in 19 Deafness Genes Efficiently Identified Causative Mutations in Japanese Hearing Loss Patients.、査読有、PLoS ONE、Vol.11、2016、pp.e0162230、doi: 10.1371/journal.pone.0162230.

Miyagawa M, Nishio S, Usami S. A Comprehensive Study on the Etiology of Patients Receiving Cochlear Implantation With Special Emphasis on Genetic Epidemiology.、査読有、Otol Neurotol.、Vol.37、2016、pp.e126-e134、doi: 10.1097/MAO.0000000000000936.

[学会発表](計 5 件)

西尾信哉、宮川麻衣子、内藤武彦、岩佐陽一郎、市瀬彩、宇佐美真一。次世代シーケンサーを用いた日本人難聴患者1120例の網羅的遺伝子解析。第60回日本人類遺伝学会。2015。

西尾信哉、宮川麻衣子、内藤武彦、岩佐陽一郎、市瀬彩、宇佐美真一。次世代シーケンサーを用いた日本人難聴患者1120例の網羅的遺伝子解析。第25回日本耳科学会。2015。

西尾信哉、宮川麻衣子、内藤武彦、岩佐陽一郎、市瀬彩、宇佐美真一。日本人難聴遺伝子変異データベースの構築と臨床応用。第59回日本聴覚医学会。2014。

西尾信哉、宮川麻衣子、内藤武彦、岩佐陽一郎、市瀬彩、宇佐美真一。日本人難聴遺伝子変異データベースの構築と臨床応用。第59回日本人類遺伝学会。2014。

西尾信哉、宮川麻衣子、内藤武彦、岩佐陽一郎、市瀬彩、宇佐美真一。次世代シ

ーケンサーを用いた難聴遺伝子診断システムの開発と臨床応用。第24回日本耳科学会。2014。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮川 麻衣子 (MIYAGAWA, Maiko)
信州大学・医学部・助教(特定雇用)
研究者番号: 60467165

(2) 研究協力者

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