

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	宮 嶋 宏 樹
論文審査担当者	主 査 古庄 知己 副 査 関島 良樹・田淵 克彦・松原 篤 (弘前大学)
論文題目 Novel <i>ACTG1</i> mutations in patients identified by massively parallel DNA sequencing cause progressive hearing loss (超並列 DNA シーケンシングにより同定された <i>ACTG1</i> 新規変異による難聴患者は進行性難聴を引き起こす)	
(論文の内容の要旨) 【背景と目的】 <i>ACTG1</i> 遺伝子は常染色体優性遺伝形式をとる非症候群性難聴の原因の一つ (DFNA20/26) である。 <i>ACTG1</i> 遺伝子にコードされている gamma(γ)-actin は内耳有毛細胞の不動毛に局在しており、細胞骨格の形成・修復に関与していると考えられている。 <i>ACTG1</i> 遺伝子変異による難聴の臨床像としては、高音域の難聴が徐々に進行していくことが報告されていたが、多症例で検討した報告はなく詳細な臨床像は不明であった。そこで本研究では全国の共同研究施設から集められた日本人難聴患者 7,408 例を対象に次世代シーケンス解析を実施し、 <i>ACTG1</i> 遺伝子変異による難聴患者を同定するとともに頻度と臨床像を明らかにすることを目的に研究を実施した。 【対象と方法】 信州大学および全国の共同研究施設から収集された日本人難聴患者 7,408 例を対象に、次世代シーケンサーを用いて既知難聴原因遺伝子 68 遺伝子の網羅的解析をおこなった。常染色体優性遺伝形式をとる難聴患者 1,336 例から <i>ACTG1</i> 遺伝子バリエーションを持つ患者を抽出し、バリエーションの病原性や難聴患者の臨床的特徴について検討を行った。また本研究で見出した新規変異を NIH/3T3 線維芽細胞株に導入し変異型 γ -actin の細胞内局在の変化に関して検討を行なった。 【結果】 常染色体優性遺伝形式をとる難聴患者 1,336 例中、15 例より <i>ACTG1</i> 遺伝子変異を同定し、常染色体優性遺伝形式をとる日本人難聴患者における頻度は 1.1% (15/1336) であることを明らかにした。見出された 13 種類の遺伝子変異のうち 7 種類は過去に報告のある変異であり、6 種類が新規変異であった。 <i>ACTG1</i> 遺伝子変異による難聴症例の聴力像については、10 歳頃より発症し、高音域は 40 歳代までに高度まで障害されるのに対し、低音域は徐々に障害されていく傾向が認められた。純音聴力検査の結果、中音域 4 周波数 (500Hz, 1000Hz, 2000Hz, 4000Hz) の難聴の進行度合いは平均 1.7dB/年であるのに対し、低音域 (125Hz, 250Hz, 500Hz) は 0.8-1.0dB/年、高音域 (2000Hz, 4000Hz, 8000Hz) は 1.9dB/年であり、高音部の方が難聴の進行速度が速いことを明らかにした。また、60 歳以上の症例は全例、高度～重度難聴まで進行していた。人工内耳を施行している症例は 2 例認めた。また、見出された新規変異の機能を調べることを目的に、NIH/3T3 線維芽細胞株に野生型および変異型 γ -actin 発現ベクターを導入し、細胞内局在を調べた。その結果、 <i>ACTG1</i> 変異体 p.I34M、p.M82I、p.K118M および p.I165V は細胞内で小さな凝集体を形成したが、野生型、および p.R37H、p.G48R、p.E241K、p.H275Y 変異はアクチンネットワークに広く分布していた。これらの結果から、 <i>ACTG1</i> 遺伝子変異による難聴の病因の一部は、変異型 γ -actin が F-actin に重合できないことによって不動毛形成に必要なアクチンネットワークに組み込まれず、その結果 Stereocilia の変性が生じて難聴が引き起こされる可能性が示唆された。 【結論】 本研究により <i>ACTG1</i> 遺伝子変異による難聴の頻度、詳細な臨床像を明らかにすることができた。また、培養細胞系を用いることで発症メカニズムの推定を行うことができた。本研究で得られた情報は、難聴の遺伝学的検査の診断率向上に寄与するとともに、 <i>ACTG1</i> 遺伝子変異による難聴患者の予後の予測や、適切な介入手法の選択に有用である。	

