

## 難聴遺伝子研究の現況と展望

松 永 達 雄

**要旨** 聴覚と聴覚障害の分子生物学的メカニズムは近年飛躍的に進歩を遂げた。これには、難聴遺伝子の発見が果たした役割が大きい。聴覚受容機構は聴覚特異的に発達したメカニズムを多く持つが、難聴のみを呈する難聴遺伝子の多くはそのメカニズムを担う分子の異常を生じるものであった。難聴遺伝子の研究により、多数の分子が複雑に関わりあって聴覚受容機構を維持している状態が徐々に解明されている。難聴遺伝子検査は、その遺伝形式、随伴する他の障害の有無などによりアプローチは大きく異なり、研究段階のものから日常臨床診断の一環の段階までさまざまな用いられ方をしている。今後の研究は、さらに多くの難聴遺伝子同定、遺伝子の機能解析、細胞・組織・動物モデルでの病態と治療の検討、そして難聴医療、遺伝カウンセリングへの応用といった方向へ進んでいくと考えられる。

(キーワード：難聴遺伝子，聴覚受容機構，遺伝子診断)

## PRESENT AND FUTURE IN THE DEAFNESS GENE RESEARCH

Tatsuo MATSUNAGA

**Abstract** In the past several years, significant progress has been made in the field of molecular biology of hearing and deafness, and the identification of deafness genes has played a major role in this progress. Auditory function is maintained by a number of molecules which are specific to hearing. In these molecules, many deafness genes that cause hearing loss without causing any other dysfunction were detected. In parallel with the identification of deafness genes, the complex mechanism of auditory function has been gradually uncovered. Approaches for the genetic testing of deafness genes are diverse depending on the type of transmission and whether there is any other associated dysfunction. Furthermore, the application of genetic testing ranges from research levels to conventional clinical practice levels. Future study will be directed toward the identification of more deafness genes, functional analysis of each deafness gene, study on the pathophysiology and treatment of deafness genes related to hearing loss in various models, and the development of more sophisticated and practical application of molecular diagnosis.

(Key Words : deafness gene, auditory function, molecular diagnosis)

近年の生命科学における目覚ましい進歩は、聴覚研究にも大きな影響を及ぼした。聴覚、言語認知といった主観的な現象を、functional MRI, PET, MEG といった画像解析機器を用いて他覚的に評価できるようになり、高次脳機能における聴覚の理解が進んできた。また聴覚障害に対する医療としてすでに本特集で述べられたデジタル補聴器、人工内耳などの機器が開発され、低下あるい

は失われた聴覚を取り戻すことが可能となってきた。とくに飛躍的に進歩を遂げたのは、聴覚と聴覚障害の分子生物学的メカニズムの解明である。正常な聴覚機能の発達と維持に働く数多くの分子が発見されるとともに、これまで原因不明とされてきた難聴の患者の多くで、その原因が遺伝子にあることが判明し、そしてそのような遺伝子（難聴遺伝子）が多数同定された（最新情報は Van

国立病院東京医療センター National Tokyo Medical Center 耳鼻咽喉科／臨床研究センター聴覚障害研究室  
Address for reprints : Tatsuo Matsunaga, Department of Otolaryngology/Laboratory of Auditory Disorders, National Institute of Sensory Organs, National Hospital Organization Tokyo Medical Center, 2-5-1 Higashigaoka, Meguro-ku, Tokyo 152-8902 JAPAN

Received March 25, 2004

Accepted May 21, 2004

Camp G, Smith RJH : Hereditary Hearing Loss Homepage. World Wide Web URL : <http://dnalab-www.uia.ac.be/dnalab/hhh/> を参照). 本総説では, 主としてこの難聴遺伝子に関する研究の現状と今後の展望を記す.

**聴覚受容機構**

聴覚受容機構の解明は難聴遺伝子研究の進展と密接に関連している. 聴覚受容機構は, 大きく分けて伝音系の外耳, 中耳と, 感音系の内耳から構成される. 遺伝子変異による聴覚障害は, その大部分が内耳の蝸牛が障害されることにより生じる. 蝸牛は, 音刺激を受容し, 周波数と強さの時間的パターンを持つ情報として, 聴神経を介して脳へ伝える感覚器であり, その構造は, 隣接する3つの管(外リンパを含む前庭階, 鼓室階と, 内リンパを含む蝸牛管)が, ラセン状に巻いた構造を持つ. 音が外耳, 中耳を経て蝸牛へ伝わると蝸牛管と鼓室階の境界をなす基底板が振動し, その上面に位置するコルチ器も振動する. 音の周波数に応じて基底板振動の位置が変化し, これにより周波数特性が生じる. コルチ器には, 音受容細胞である内有毛細胞および外有毛細胞が存在する. 各有毛細胞の頂側膜には不動毛があり, その上面は蓋膜で覆われている. 不動毛が基底板の振動により蓋膜との間で傾斜すると, 不動毛のチャンネルが開いて内リンパからカリウムイオンが有毛細胞内へ流入し, 基底側膜が脱分極する. これにより内有毛細胞では, 電位依存性カルシウムチャンネルを介して外リンパからカルシウムイオンが流入して, シナプスにおいて神経伝達物質であるグルタミン酸が放出されて, 蝸牛神経に活動電位が発生し, 聴覚中枢へ求心性信号が送られる.

外有毛細胞では, 膜電位の変化により伸縮が起こり, 蓋膜との位置関係を変化させて基底板の振動を制御し, 内有毛細胞の感受性と周波数特性を高める. 内リンパは, 高カリウム濃度, 内リンパ直流電位という特徴を有し, これにより, 音刺激によるカリウムイオンの有毛細胞内への流入が可能となっている. 蝸牛には, 内リンパの高カリウム濃度と内リンパ直流電位を維持するためのイオン輸送機構とバリア機構が備わっている.

**主な難聴遺伝子**

遺伝性難聴は随伴症状の有無から, 難聴のみを呈する非症候群性難聴(遺伝性難聴の約70%)と, 難聴以外にも障害を呈する症候群性難聴(約30%)に分けられるが(Fig. 1), これまでに同定された非症候群性の難聴遺伝子の多くは, 聴覚特異的に発達した特徴を持つ聴覚受容機構に働く分子をコードするものである. 核染色体上の非症候群性の難聴遺伝子は, 座位が報告された順に, 常染色体優性遺伝ではDFNAとそれに続く番号, 常染色体劣性遺伝ではDFNBとそれに続く番号, X連鎖性遺伝ではDFNとそれに続く番号で, それぞれ表記されている. 現在までにDFNA1-51, DFNB1-39, DFN1-8まで報告されている. これまでに同定された遺伝子の数は, 優性遺伝が20, 劣性遺伝が21, X連鎖性遺伝が1である(Table 1). これらの難聴遺伝子の発見により,

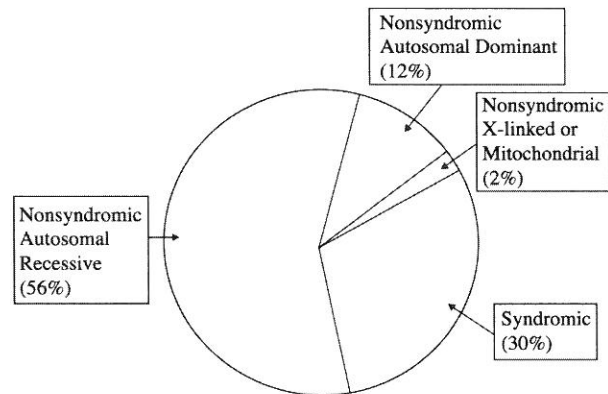


Fig. 1 Inheritance Patterns in Congenital Deafness

**Table 1 Cloned Genes for Nonsyndromic Hereditary Hearing Loss**

Autosomal Dominant		Autosomal Recessive		X-linked	
DFNA1-51		DFNB1-39		DFN1-8	
DFNA1	DIAPH1	DFNB1	Cx26, Cx30	DFN3	POU3F4
DFNA2	Cx31, KCNQ4	DFNB2	MYO7A		
DFNA3	Cx26, Cx30	DFNB3	MYO15		
DFNA5	DFNA5	DFNB4	SLC26A4		
DFNA6/14	WFS1	DFNB6	TMIE		
DFNA8/12	TECTA	DFNB7/11	TMC1		
DFNA9	COCH	DFNB8/10	TMPRSS3		
DFNA10	EYA4	DFNB9	OTOF		
DFNA11	MYO7A	DFNB12	CDH23		
DFNA13	COL11A2	DFNB16	STRC		
DFNA15	POU4F3	DFNB18	USH1C		
DFNA17	MYH9	DFNB21	TECTA		
DFNA20/26	ACTG1	DFNB22	OTOA		
DFNA22	MYO6	DFNB23	PCDH15		
DFNA28	TFCP2L3	DFNB29	CLDN14		
DFNA36	TMC1	DFNB30	MYO3A		
DFNA48	MYO1A	DFNB31	WHRN		
		DFNB37	MYO6		

正常な聴覚受容機構の分子レベルの解明は飛躍的に進歩を遂げ、多数の分子が複雑に関わりあって維持されている様子が、まだ一部ではあるが明らかとなった。今後、さらに多くの難聴遺伝子が発見されることにより、聴覚受容機構の解明もより進むことが期待される。以下に、これまでに同定された聴覚受容機構に関わる代表的な難聴遺伝子を記す。

不動毛の働きに関係する難聴遺伝子として、myosin VIIA が Usher 症候群 1B, DFNB2, DFNA11 で同定されている<sup>2) 3)</sup>。その機能はまだ明らかでないが、不動毛の cross-link と内毛細胞のクチクラ板への局在から、不動毛の維持に働いていると考えられている。

内毛細胞の働きに関係する難聴遺伝子として、OTOF が DFNB9 で同定されている<sup>4)</sup>。本遺伝子でコードされる蛋白質 otoferlin は内毛細胞の基底部に局在が認められ、シナプス小胞のリサイクルにおける働きが想定されている。

イオン輸送に関係する難聴遺伝子は、これまで特に多数同定されている。蝸牛では内リンパと外リンパの間で、カリウムイオンのリサイクリング機構が存在する。本機構では、内リンパから外毛細胞へ流入したカリウムイオンが、有毛細胞からカリウムイオン濃度の低い外リンパへ特異的カリウムチャンネル (KCNQ4) を介して排出され、その後、支持細胞、線維細胞、血管条へとコネクシン遺伝子の産物で構成される gap junction を介して輸送され、さらに血管条の辺縁細胞で特異的カリウムチャンネル (KvLQT1, KCNE1) を介して再び元の内リンパ液へ排出される。KCNQ4 の変異は DFNA2 において<sup>5)</sup>、ある特定のコネクシン遺伝子 (コネクシン26) の変異は DFNB1 において<sup>6)</sup>、KvLQT1 と KCNE1 の変異は不整脈と難聴を生じる Jervell and Lange-Nielson 症候群で同定されている<sup>7) 8)</sup>。内毛細胞から排出されるカリウムイオンは、内ラセン溝の歯間細胞で Na, K-ATPase ポンプにより直接内リンパへ戻されるリサイクル機構が存在する。本ポンプのサブユニットをコードする ATP6B1 遺伝子の変異は、難聴と腎機能障害を伴う症候群の原因として同定されている<sup>9)</sup>。さらにヨードとクロライドイオンの輸送体をコードする遺伝子 (PDS または SLC26A4) の変異は、DFNB4 と難聴と甲状腺腫を主張とする Pendred 症候群で同定されている<sup>10)</sup>。これらの分子は蝸牛の外ラセン溝および内リンパ管に局在しており、内リンパのイオン組成維持の働きが想定されている。

蓋膜は、ゼラチン状構造を有する無細胞性の膜であるが、その非コラーゲン性構成成分をコードするTECTA

遺伝子の変異は、DFNA8/12 および DFNB21 で同定されており<sup>11) 12)</sup>、またコラーゲン性構成成分をコードするCOL11A2 遺伝子の変異はDFNA13 遺伝子で同定されている<sup>13)</sup>。マウスのこれらの遺伝子変異モデルの解析では、蓋膜の構造上の欠陥が生じて、難聴を起こすことが確認されている。

以上は、いずれも核に存在する遺伝子であるが、遺伝子はミトコンドリアにも存在し、その変異によって難聴を生じる例も多く報告されており、聴覚受容においてミトコンドリアが重要な役割を果たしているとともに、ミトコンドリア障害は聴覚機能障害の原因となりやすいことを示している。非症候群性難聴を呈するミトコンドリア遺伝子変異の代表的なものは、ミトコンドリア DNA の1,555番目のA (アデニン) からG (グアニン) への点変異である<sup>14)</sup>。この変異を有する人では、アミノグリコシド系薬剤に対する耳毒性の感受性がきわめて高いとともに、そのような薬剤投与歴がなくても難聴を発症する。難聴発症の大部分は後天性である。

#### 難聴遺伝子診断

多くの難聴遺伝子の同定とその臨床像の解析により、難聴遺伝子検査による難聴遺伝子診断と、それに基づいた遺伝カウンセリングが、一部の遺伝性難聴において可能となってきた。難聴遺伝子診断をするにあたっては、まず臨床所見を詳細に検討して、難聴遺伝子検査を行う必要性和検査対象遺伝子を選択する必要がある。症候群性難聴では、多くは随伴症状から臨床診断が決定するので、診断のついた症候群の原因遺伝子が判明している場合には、その遺伝子検査を行ない遺伝子診断を行なうのが一般的である。そして遺伝子診断の結果に基づいて、遺伝カウンセリングを行なうことになる。症候群性難聴では遺伝的同質性が高いため (同様の表現型に対して原因となる遺伝子が単一)、難聴遺伝子検査が比較的単純に施行できる場合が多いが、Usher 症候群や Alport 症候群のように遺伝的異質性が高い (同様の表現型に対して原因となる遺伝子が複数存在する) 場合には、複数の遺伝子を対象とすることとなり、遺伝子診断が複雑化するとともに、遺伝子検査のための労力と費用もかさむ。対象とする遺伝子のサイズが大きい場合にはなおさらである。

非症候群性難聴では、難聴という表現型に対してきわめて多数の原因遺伝子が存在する (遺伝的異質性がきわめて高い) ことが、遺伝子診断の際に問題となる。実際の非症候群性難聴の難聴遺伝子診断では、難聴の遺伝形式により、それぞれに適した異なるアプローチが取られる。

以下に常染色体優性遺伝・X連鎖遺伝・ミトコンドリア遺伝、常染色体劣性遺伝に大別して記す。

常染色体優性遺伝では難聴は言語習得後に発症し、進行性で、程度や聴力型は多様であるのが一般的である。本遺伝形式が疑われる場合は、その家系の多数のメンバーで難聴遺伝子検査が可能であれば、遺伝子多型マーカーを用いた連鎖解析により遺伝子変異の座位を決め、さらに該当部位の詳細な遺伝子解析を進めることが可能である。家系内の難聴者の数が少ないなどの理由で連鎖解析ができない場合は、発症年齢、聴覚障害部位、障害の程度や進行の有無などの臨床データを基に候補遺伝子を選択して、その解析を行う方法もある。しかし、現在までに同定された遺伝子はごく一部であり、以上のようなアプローチで難聴遺伝子診断を進めても結果がでない場合も多い。また、特に連鎖解析では多数の被験者の協力（血液等の検体の提供と聴覚検査を受けること）が必要であり、遺伝子検査のための労力と費用がかさむことから、ほとんどの場合、研究として行われるのみで、一般臨床の場での実行はされていないのが現状である。

X連鎖遺伝・ミトコンドリア遺伝が疑われる場合は、これらの遺伝形式を呈する非症候群性難聴の種類が比較的限られていることより、候補遺伝子を選択して難聴遺伝子検査を行うアプローチが有効である場合が多い。頻度の高い遺伝子変異に関しては、すでに日常臨床で遺伝子診断が実施可能となっている。

常染色体劣性遺伝による遺伝性難聴は、その多くは先天性の高度難聴であり、また一方、遺伝性の先天性難聴の約半数は常染色体劣性遺伝である (Fig. 1)。先天性の高度難聴の難聴者で、遺伝以外に明らかな原因がなく、遺伝形式として劣性遺伝が疑われる場合に（孤発例も含めて）、難聴遺伝子診断を行う際には、一般的には、まずそのような難聴者において原因となる頻度が圧倒的に高いコネキシン26遺伝子検査を行う。常染色体劣性の非症候群性感音難聴の約50%は、本遺伝子変異によるものであることが知られている<sup>15)</sup>。コネキシン26遺伝子は、226アミノ酸残基からなるギャップジャンクション蛋白をコードする小さい遺伝子であることから、遺伝子解析が簡便に行える。さらに、人種によって高頻度変異部位があるため大規模なスクリーニングも効率的に可能である。日本においてまだ一般的とはいえないが、限られた専門施設においては本遺伝子の難聴遺伝子診断が行われている。

コネキシン26遺伝子変異の遺伝子診断の問題点の1つは、難聴の程度と特徴が比較的多様であり、遺伝子型と表現型の相関がまだ明確でない点である。また、1つの

アレルにのみコネキシン26遺伝子変異を認める難聴者の頻度が比較的高く、その場合にもう1つ他の遺伝子変異が同定され、重複による難聴発症が確認できる場合もあるが、そうでない場合には、同定されたコネキシン26遺伝子変異の臨床的意義が不明となる。コネキシン26遺伝子検査が行われ、変異が否定された場合には、他にきわめて高頻度の変異はないこと、そして劣性遺伝のため家系内の難聴者の数も少ないため連鎖解析も困難であること、という理由から日常臨床において、それ以上の遺伝子検査を進めることは困難なのが現状である。

### 難聴遺伝子研究の展望

これまでの、ごく一部の難聴遺伝子の同定により、聴覚障害と聴覚生理の分子機構の理解が大きく進展した。今後、さらに多数の難聴遺伝子が同定されていくにともない、聴覚の基礎と臨床の両面でさらに大きな発展が確実に予想される。難聴遺伝子の同定には、難聴家系を発見し、協力を得て、解析をするシステムの構築が必要であり、裾野の広い研究者と臨床家のネットワーク作りが肝要である。一方、家系の分析は、対象がヒトであるため研究の限界もあり、自然発症の難聴マウスなどの実験動物での検討から、ヒトの難聴遺伝子同定へ至ることも可能である。さらに、蝸牛遺伝子ライブラリーのスクリーニングといったより分子生物学的アプローチにより、新しい難聴遺伝子の同定に至る例もある。

一旦、遺伝子を同定した後は、その遺伝子の機能を細胞・組織（ベクターに組み込み遺伝子導入あるいはRNAiを用いたノックダウン）、そして個体レベル（ノックアウトマウスやトランスジェニックマウス）で解明することが求められる。特に難聴モデル動物の作成は、病態解析とともに治療実験も可能とすることから、重要な研究課題である。現時点で、遺伝性難聴を根本的に治療する方法はないが、今後、遺伝子治療や幹細胞治療により聴覚障害を改善させることができる可能性があると考えられる。

より効率的な難聴遺伝子診断を行えるようにするためには、ある程度の数の難聴遺伝子が同定された時点で、各難聴遺伝子が、実際にどの程度の頻度で難聴発症に関与しているかを、調べる必要がある。これには原因不明の難聴者におけるコホート研究が、最も適している。

難聴遺伝子による難聴者に対してより適正な医療を行なうためには、遺伝子診断のついた難聴家系での遺伝子型と表現型（聴覚障害）の関係の多様性を明らかにしていくことが重要である。これにより、実際に遺伝子診断

を聴覚管理, リハビリテーション, 治療, 遺伝カウンセリングへ有効に活用することが可能になっていく。この際, 多くの難聴遺伝子では, 人種により表現型, 遺伝子型の特徴が大きく異なっているため, 解析も各人種ごとに行う必要がある。また, 同じ難聴遺伝子を共有する同一家系であっても難聴の程度や発症時期が異なることがあり, その要因として環境因子の関与と遺伝子背景の違いが考えられている。近年, 難聴修飾遺伝子が同定されたが, 今後, より適正な遺伝カウンセリングの実施には難聴修飾遺伝子の遺伝子検査も重要であろう。難聴遺伝子診断を日常臨床において実用化するための大きな障壁は, 多数存在する難聴遺伝子を短時間で, 経済的に解析できる技術の開発である。DNA microarray のような high throughput の技術の利用が有望である。また遺伝子診断を臨床で有効に活用するためには, 関係する医療関係者が遺伝子検査や遺伝カウンセリングの技術, 医学的背景, 倫理的事項などについて適切な知識と経験を備える点が最も重要であり, それに対する教育システムを充実させる必要がある。

#### 文 献

- 1) Liu XZ, Walsh J, Mburu P et al : Mutations in the myosin VII A gene cause non-syndromic recessive deafness. *Nat Genet* **16** : 188-190, 1997
- 2) Weil D, Kussel P, Blanchard S et al : The autosomal recessive isolated deafness, DFNB2, and the Usher 1B syndrome are allelic defects of the myosin VII A gene. *Nat Genet* **16** : 191-193, 1997
- 3) Yasunaga S, Grati M, Cohen-Salmon et al : A mutation in OTOF, encoding otoferlin, a FER-1-like protein, causes DFNB9, a nonsyndromic form of deafness. *Nat Genet* **21** : 363-369, 1999
- 4) Kubisch C, Schroeder BC, Friedrich T et al : KCNQ4, a novel potassium channel expressed in sensory outer hair cells, is mutated in dominant deafness. *Cell* **96** : 437-446, 1999
- 5) Kelsell DP, Dunlop J, Stevens HP et al : Connexin 26 mutations in hereditary non-syndromic sensorineural deafness. *Nature* **387** : 80-83, 1997
- 6) Neyroud N, Tesson F, Denjoy I et al : A novel mutation in the potassium channel gene KVLQT1 causes the Jervell and Lange-Nielsen cardioauditory syndrome. *Nat Genet* **15** : 186-189, 1997
- 7) Schulze-Bahr E, Wang Q, Wedekind H et al : KCNE1 mutations cause Jervell and Lange-Nielsen syndrome. *Nat Genet* **17** : 267-268, 1997
- 8) Karet FE, Finberg KE, Nelson RD et al : Mutations in the gene encoding B1 subunit of H-ATPase cause renal tubular acidosis with sensorineural deafness. *Nat Genet* **21** : 84-90, 1999
- 9) Li XC, Everett LA, Lalwani AK et al : A mutation in PDS causes non-syndromic recessive deafness. *Nat Genet* **18** : 215-217, 1998
- 10) Mustapha M, Weil D, Chardenoux S et al : AN $\alpha$ -tectorin gene defect causes a newly identified autosomal recessive form of sensorineural prelingual non-syndromic deafness, DFNB21. *Hum Mol Genet* **8** : 409-412, 1999
- 11) Verhoeven K, Van Laer L, Kirschhofer K et al : Mutations in the human  $\alpha$ -tectorin cause autosomal dominant hearing impairment. *Nat Genet* **19** : 60-62, 1998
- 12) McGuirt W, Prasad S, Griffith AJ et al : Mutations in COL11A2 cause non-syndromic hearing loss (DFNA13). *Nat Genet* **23** : 413-419, 1999
- 13) Prezant TR, Agopian JV, Bohlman MC et al : Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. *Nat Genet* **4** : 289-294, 1993
- 14) Denoyelle F, Weil D, Maw MA et al : Prelingual deafness : High prevalence of 30del G mutation in the connexin 26 gene. *Hum Mol Genet* **6** : 2173-2177, 1997

(平成16年3月25日受付)

(平成16年5月21日受理)