



Title	Three novel connexin26 gene mutations in autosomal recessive non-syndromic deafness
Author(s)	布施, 愉香
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/42681">https://hdl.handle.net/11094/42681</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	布施 愉 香
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 16112 号
学位授与年月日	平成13年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系専攻
学位論文名	Three novel connexin26 gene mutations in autosomal recessive non-syndromic deafness. (常染色体劣性非症候性難聴における3種の新たなコネクシン26遺伝子の変異)
論文審査委員	(主査) 教授 久保 武  (副査) 教授 田野 保雄 教授 金田 安史

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

遺伝性難聴は、約2000の出生に対し1人の頻度でおこる、比較的頻度の高い感覚器の疾患である。その中の大部分(約70%)は難聴以外に異常を示さない非症候性難聴であり、残りは難聴にその他の身体的症状を伴う症候性難聴である。遺伝性難聴の大部分を占める非症候性難聴については、30-100の遺伝子の関与が示唆されており、ヒトでは少なくとも40以上の遺伝子座がマッピングされている。その中のひとつである、connexin26 (Cx26) 遺伝子は、gap junction と呼ばれる細胞間チャンネルをコードするコネクシンファミリーのひとつで細胞間の低分子物質や、イオンの直接的な輸送に関与している。Cx26遺伝子は、内耳のコルチ器に豊富に発現しており、聴覚の発生に重要な役割を果たしていると考えられている。コーカサス人種においては、単一塩基の欠失(30delG)がCx26遺伝子変異の70-80%をしめている。

そこで我々は、日本人におけるCx26遺伝子と難聴との関連を調べる目的で、感音難聴患者に対してCx26遺伝子の解析を行った。

#### 【方法】

対象は、日本人の劣性非症候性感音難聴患者を含む20家系、孤発性の感音難聴患者30例、及び50人の正常者とし、十分なインフォームドコンセントをえた上でDNAの採取を行った。

劣性非症候性感音難聴患者を含む20家系については次の基準を満たすものとした。(1)両親は生存し、聴力は正常である、(2)難聴児が存在する、(3)難聴の評価は純音聴力検査にて行う、(4)難聴以外の症候を示さない。

DNAの調製は、全血を用いて GenTLE (TaKaRa-Biomedicals) にて行った。Cx26遺伝子の解析では、Cx26の全コード領域を含むようにデザインした3組のプライマーセットを作製した。PCR反応には、TaKaRa Ex-Taq (TaKaRa-Biomedicals) を用いた。PCR産物は、2%のアガロースゲルにて電気泳動し、目的のバンドを切り出して QIA quick Gel Extraction Kit (QIAGEN) で精製した。直接シーケンスは、ABI Prism dRhodamine Terminator Cycle Sequencing Ready reaction Kit (PE Applied Biosystems) を用い、ABI310 DNA sequencer で行った。

#### 【成績】

日本人の非症候性感音難聴患者に対してCx26遺伝子の解析を行った結果、3種類の新たな変異が同定された。劣

性非症候性感音難聴家系において、233delC 変異（ヌクレオチドの233番目から235番目の連続した3個のC塩基のうちの1個の欠損）が最も高頻度に認められた。40染色体中7個のアリールが、233delC 変異を有していた（頻度は0.175）。その他新たに2種の変異も見い出された。233delC 変異は、コドンの読み枠のずれを引き起こし、その結果、コドン79のLeuをCysへ変化させコドン81で終止コドンを生じさせて不完全なCx26タンパクができる。233delC 変異を両方のアリールにもつ3人の患者は、いずれも高度難聴であった。

233delC 変異と、他の2種の変異は、ある1つの家系に集中していた。408C→Aによってコドン136のTyrが終止コドンに置換され、134G→Aによってコドン45のGlyがGluへと置換される。この家系のなかで、難聴患者はこれら2つのミスセンス変異をホモにもつ、233delC 変異をホモにもつ、3つの変異を各々ヘテロにもつ、の3人であった。

さらに、新たな3種の変異の他に、既に欧米諸国で報告された14種のCx26遺伝子の変異に対して、日本人の感音難聴患者におけるそれらの有無を調べた。しかし、いずれの変異も認められなかった。

#### 【総括】

今回我々は、日本人の非症候性感音難聴患者に対して、非症候性難聴の原因遺伝子のひとつCx26において、日本人に特に頻度の高い変異（233delC）をはじめとする3種類の新たな変異を見出した。今回行ったCx26遺伝子の解析では、その変異は日本人の劣性非症候性難聴20家系のうち4家系に認められた。

233delC 変異は3家系でホモ接合体として、1家系でヘテロ接合体として認められ、その頻度は0.175であった。他の変異（Tyr136Stop、Gly45Glu）は1つの家系に集中しており、それぞれの頻度は0.05であった。これらの結果より、日本人の劣性非症候性難聴の27.5%（11/40染色体）が、Cx26遺伝子の変異に起因することがわかった。従って、233delC 変異は日本人におけるすべての幼児期の難聴原因の5%、すべての遺伝性難聴原因の10%を占めることとなり、233delC 変異の有無をスクリーニングすることは、日本人における劣性非症候性難聴に対する分子遺伝学的診断や遺伝的カウンセリングに役立つものと考えられる。これらの遺伝子の変異によって引き起こされる難聴を早期に診断することは、適切な治療方針を決める上でも重要である。欧米諸国で最も高頻度にみられるCx26変異である30delG 変異は、日本人の遺伝性および孤発性の感音難聴患者では検出されなかった。また、今回新たに発見された3種類の変異は欧米諸国での報告はなかった。これらの結果より、それぞれのCx26遺伝子の変異は、地域あるいは民族性に基ついた遺伝的進化の過程で生じたものと推察された。

### 論文審査の結果の要旨

本報告では、日本人における常染色体劣性遺伝型式をとる非症候性感音難聴の主たる原因遺伝子コネキシン26と、その変異部位-233delC-が明らかにされた。

コネキシン26遺伝子変異233delCの頻度ならびに遺伝子変異を有する症例での臨床像より、変異に対する早期診断・人工内耳医療の導入の重要性が示唆された。さらに遺伝子変異部位の解明と、それに続くマススクリーニング法の開発は前述の課題への大きな足掛かりとなりうる。

難聴の早期診断と治療を推進するための社会的システムづくりへの第一歩として、本報告は非常に意義深いものであり、学位の授与に値すると考えられる。