

綜 説

難聴医療の進歩 —遺伝子診断, 人工内耳の将来展望—

茂木 英明* 宇佐美真一

信州大学医学部耳鼻咽喉科学教室

Progress in Treating Hearing Loss —Future of Genetic Diagnosis and Cochlear Implant—

Hideaki MOTEKI and Shin-ichi USAMI

Department of Otorhinolaryngology, Shinshu University School of Medicine

Key words : severe hearing loss, genetic testing, Next generation sequencer, cochlear implant, EAS (electric acoustic stimulation)

高度難聴, 遺伝子診断, 次世代シーケンサー, 人工内耳, 残存聴力活用型人工内耳

I はじめに

音は空気の振動として外耳道から入り, 鼓膜に達する。鼓膜の振動は耳小骨(ツチ骨, キヌタ骨, アブミ骨)を介し増幅され内耳に伝えられている。内耳において音は機械的エネルギー(振動)から電気的エネルギー(電気信号)に変換され中枢のニューロンを経て大脳まで伝えられ, ここで初めて音として認識される。これらの音の伝導路のうちどの部分が障害されても難聴という症状が出る。このうち近年の医療の進歩が大きいのが内耳性難聴である。本綜説では, 当教室が展開して来た難聴の遺伝子診断と, その治療法としての人工内耳治療の進歩と将来展望について概説する。

A 内耳性難聴の分子メカニズム

内耳の働きは前述のように「機械的エネルギー(振動)を電気的エネルギー(電気信号)に変換する」ことであるが, そのために多くの遺伝子が発現し聴覚に必要なタンパク質が作り出されている(図1)¹⁾。

内耳(蝸牛)の生検が不可能であることから, 感音難聴のほとんどを占める内耳性難聴については, 実際どのような病態が蝸牛内で起こっているのかわからないことが病態解明への大きな障壁であった。近年のゲノム解析の大きな成果は, 蝸牛に発現する遺伝子の

変異があると聴覚に必要なタンパク質が作られないため難聴になるという, 直接目で見ることのできない蝸牛内の病態が推測できることである。遺伝子診断の進歩により内耳性難聴患者の原因がピンポイントで明らかになってきている。

B 難聴と遺伝子

先天性難聴は出生1,000人あたり1~2人に発症する, 比較的頻度の高い先天性疾患である。小児期までに発症する感音難聴のうち, 60~70%は遺伝子が関与していると考えられている²⁾。したがって, 先天性あるいは幼小児期の感音難聴と診断された際には, まず遺伝子の関与を考慮することが重要であり, 診断のための遺伝学的検査が必要となる。これらの先天性遺伝性難聴は, 遺伝形式から, 常染色体優性遺伝形式, 常染色体劣性遺伝形式, X連鎖遺伝, ミトコンドリア遺伝に分類される。同一家系内に難聴者が複数存在する常染色体優性遺伝形式の場合, 容易に遺伝子の関与が推測されるが, 実際には難聴の場合, 70%は両親ともに難聴がなく子に難聴が発症する常染色体劣性遺伝形式を呈する³⁾。また最近では少子化により一見遺伝子とは関連のない孤発性の難聴症例に対しても遺伝学的検査を行うと, 常染色体劣性遺伝形式をとる遺伝性難聴と診断される症例が多く経験される。

先天性難聴の原因として, 現在まで90以上の遺伝子が報告され今後も報告が増えると予想される。非常に

* 別刷請求先: 茂木英明 〒390-8321

松本市旭3-1-1 信州大学医学部耳鼻咽喉科学教室

E-mail: moteki@shinshu-u.ac.jp

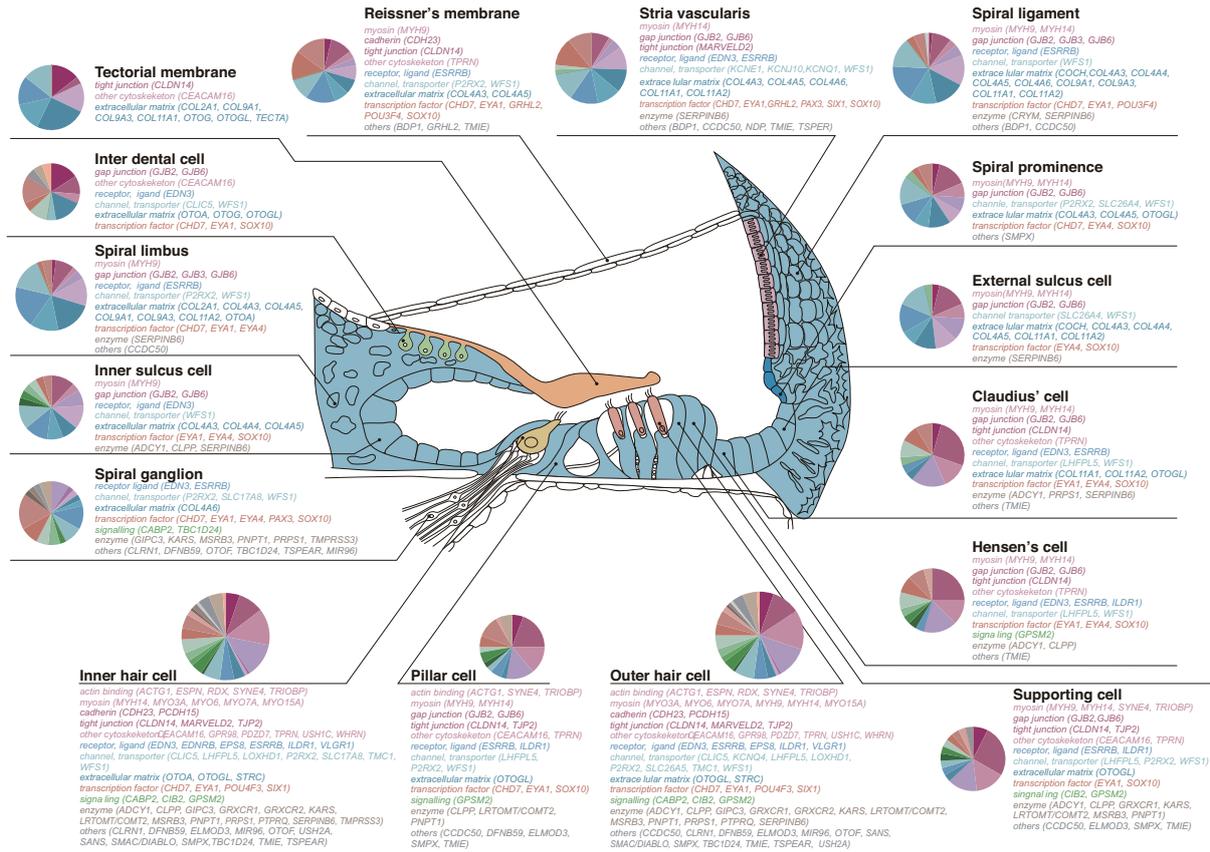


図1 蝸牛に発現する遺伝子 (文献3より一部改変)

多くの遺伝子が、「難聴」という同一の表現型を示すために (遺伝的異質性: Genetic heterogeneity), 原因遺伝子の特定は必ずしも容易ではない。すなわち、難聴の遺伝子解析/遺伝子診断の難しさは、「難聴」という同じ症状に対して多数の遺伝子を解析しなければならないことにある。

II 効率的な遺伝子スクリーニング法

遺伝子診断を臨床応用する場合、コストおよびスピードを考えた検査法の確立が重要である。遺伝子をつ一つ解析していたのではコストと時間がかかりすぎるため、まず考案されたのが日本人難聴患者に頻度が高く見出される13遺伝子46変異をターゲットとし、短時間、低コストで行うことができるインバーダー法を用いて解析する遺伝学的検査法である。この方法は信州大学が (株) ビーエムエル社と共同開発し、信州大学が2008年から先進医療として申請し、全国の施設で実施した結果、約30%の症例で遺伝子変異を同定することが明らかとなった⁴⁾。先進医療での有用性が確認され、2012年より保険収載され、難聴の診断に必須の検査として全国に定着した。

遺伝子解析技術の急速な発展により、次世代シーケンサー、Next generation sequencer (NGS) が登場し 従来よりもはるかに大量の遺伝子解析を行うことが可能となった。超並列シーケンサーとも呼ばれるこの解析技術は、1回の解析で1,000億塩基 (ヒトゲノム: 30億塩基) まで解析データを産出する能力がある。本手法を難聴遺伝子解析に応用、その有効性が示されている⁵⁾。我々は、NGSを用いた遺伝学的検査法を臨床検査として実施するために、(株) サーマフィッシャー、(株) ビーエムエル社との共同研究により、63の難聴遺伝子を同時に解析する方法を開発、精度および特異度の検証を行った。その結果、臨床検査として用いることができる精度、特異度を得ることができた⁶⁾⁷⁾。2015年からは次世代シーケンサー解析を加えた遺伝学的検査が保険診療の中で実施可能になった。これにより、従来のインバーダー法のみによる解析と比較して10%程度の診断率の向上が認められている⁸⁾⁹⁾。我々は現在、この次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析について、多施設共同研究も同時並行で行っている。難聴の原因である63遺伝子をターゲットに解析を行い、新規変異を同定しているほ

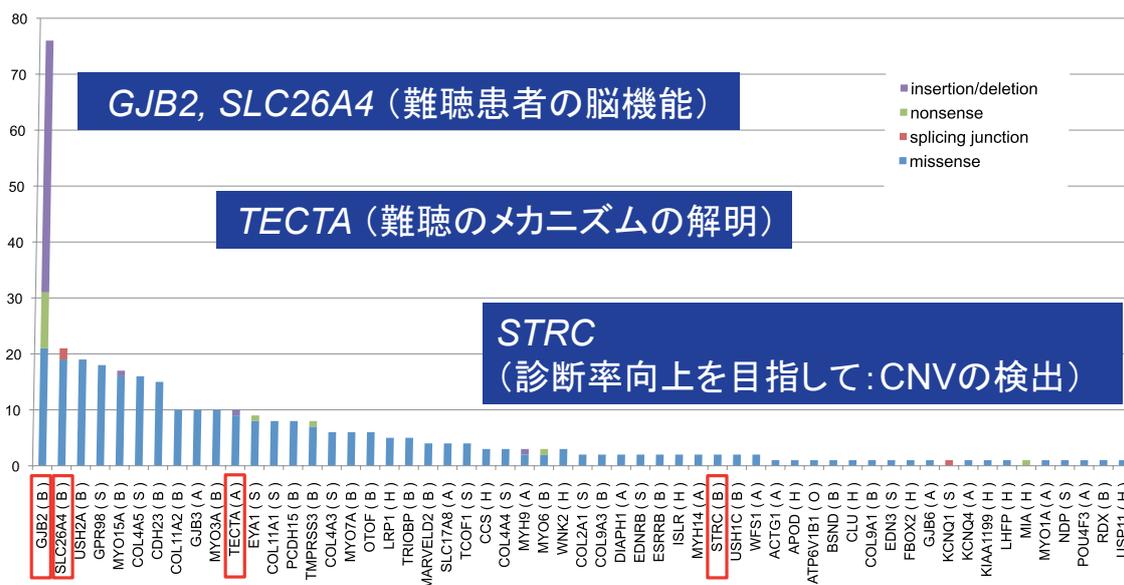


図2 難聴の原因遺伝子とその頻度

縦軸：アレル頻度。横軸：難聴の原因遺伝子。赤枠で示す遺伝子を本稿で解説する。(文献14, 17より一部改変)

か、全エクソーム解析も必要に応じて行っている。これらの追加解析により現時点でおよそ45%程度の診断率が得られている。今後、解析対象とする遺伝子を現在の63遺伝子から100以上に拡大するべく、新たなプラットフォームを開発中である。

現在までに、90以上の難聴の原因遺伝子が報告されているが、我々が日本人難聴患者における難聴遺伝子変異の頻度を検討した結果、GJB2やSLC26A4、CDH23遺伝子など、劣性遺伝形式をとる原因遺伝子の頻度が高く、そのほかに多くの稀な遺伝子が原因となることが明らかになってきた(図2)。図2の赤枠で示したものが本総説で紹介する遺伝子である。

遺伝子診断の有用性

いくつかの難聴遺伝子は、特徴的な表現型(聴力像, 進行性の有無, 随伴症状)を示すことが知られている。たとえば、KCNQ4遺伝子変異では高音部の難聴、WFS1遺伝子変異では低音部の難聴を呈することが知られている¹⁰⁾¹¹⁾。またSLC26A4遺伝子変異、KCNQ4遺伝子変異、CDH23遺伝子変異では進行性を呈することが知られている⁴⁾⁶⁾⁸⁾。したがって、遺伝子診断をすることでその患者の聴力型、難聴の程度や進行性の有無などの予測が可能となる。また、SLC26A4遺伝子変異では甲状腺腫を伴う可能性があること、Usher症候群の原因遺伝子ともなるCDH23、MYO7A、GPR98遺伝子変異などでは難聴に加え網膜色素変性症を発症する可能性があることが知られて

おり、随伴症状の早期診断やその早期対応に有用である¹²⁾⁻¹⁶⁾。

遺伝子解析により、蝸牛のどの部位が難聴の原因となっているかを突き止めることで、難聴がなぜ起きているかというメカニズムを理解することができる。治療法を検討する際に、例えばGJB2遺伝子変異による難聴では、人工内耳による聴取が良好であることが多くの研究から示唆されており、遺伝子診断を行うことにより、治療法の選択に有用な情報を得ることができる¹⁷⁾¹⁸⁾。

III 遺伝子診断の進歩と将来展望

A 難聴のメカニズムの解明

難聴患者の蝸牛を生検することはできないが、原因遺伝子が明らかになれば、その患者でどのような現象が起きているかが推測できる。我々はTECTA遺伝子について、*in vitro*での機能解析を行った。TECTA遺伝子は常染色体優性遺伝形式をとる難聴の中では比較的高頻度(2.8%)に認められる原因遺伝子である¹⁹⁾。我々が経験した症例を図3に示すが、蝸牛の蓋膜(図3右 矢印)を構成する糖タンパクであるα-テクトリンをコードしており、変異によって蓋膜の形態異常が起こるとされている。我々は、難聴者から見出されたTECTA遺伝子変異を導入したコンストラクトを作成し、野生型と比較する細胞導入実験を行った。野生型では細胞膜に発現されるのに対し、変異型

TECTA (難聴のメカニズムの解明)

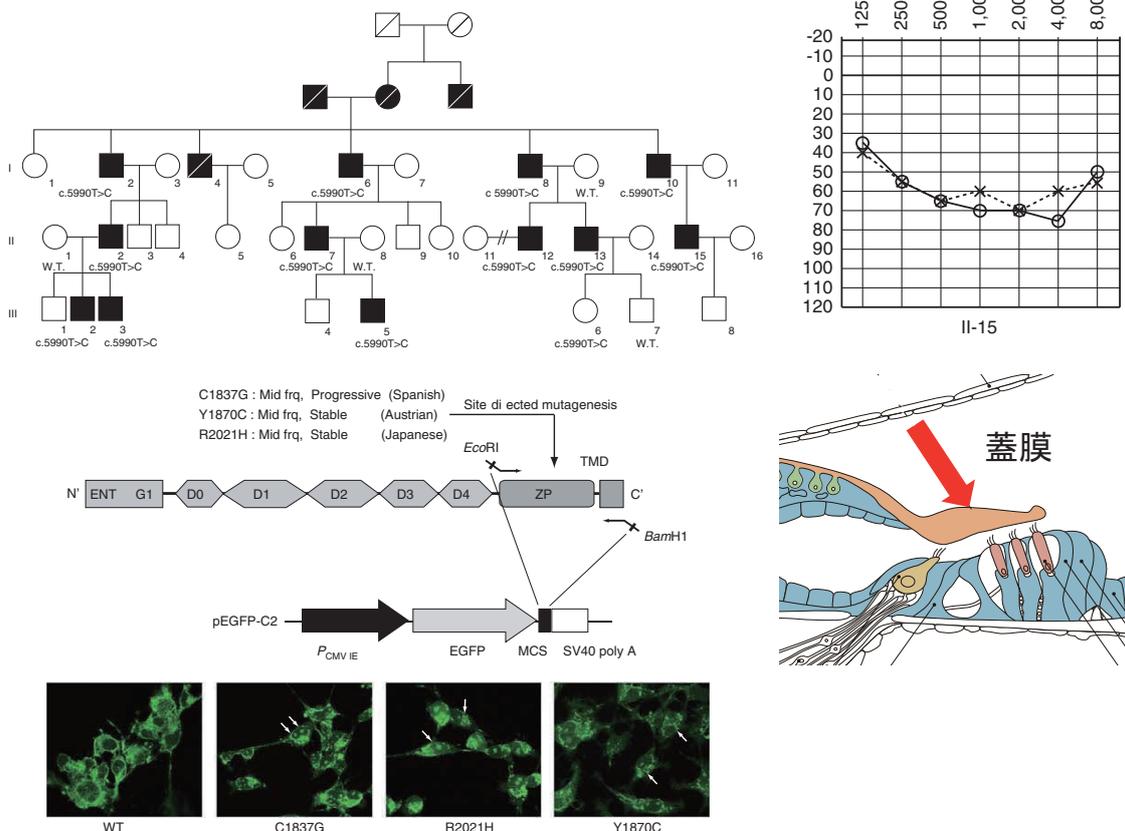


図3 (図上段) *TECTA* 遺伝子による難聴家系家系と発端者の聴力像。常染色体優性遺伝形式を示し、中音域の難聴を認めた。(図下段) *TECTA* 遺伝子のドメイン構造 および細胞導入コンストラクト。スペイン オーストリア 日本からそれぞれ報告された変異を導入した。WT (野生型) では細胞膜に発現が認められる一方 各変異を導入したものは細胞質内に凝集している。(文献13より一部改変 筆者作成)

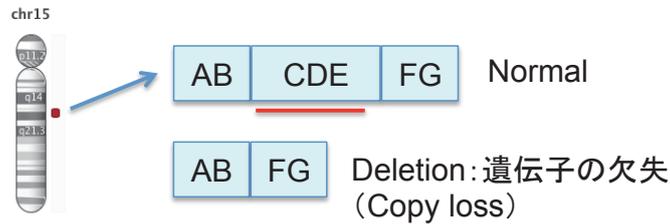
では細胞質内に凝集し、タンパク分泌が阻害されていることを明らかにした(図3下)¹⁹⁾。おそらくこの変異を持つ患者では正常な α -テクトリンが作られないために蓋膜が変形し、音の振動をうまく有毛細胞に伝達できないために難聴が起きていることが推測される。従って、補聴器で音を増幅して内耳に入れることにより音を認識できる可能性が高いことがメカニズムから理解できる良い例である。このように、間接的ではあるが、難聴の原因として患者の蝸牛の中でどのような現象が起こっているか推測することができるのは、遺伝子診断の大きなメリットであり、治療法や将来的な根本治療につながる可能性がある。近年、遺伝子診断により原因が特定された難聴患者の皮膚などから iPS 細胞の樹立が試みられており、より直接的な解析が可能になれば、治療方法の開発が加速されると思われる。

**B 遺伝学的検査のさらなる診断率向上に向けて
～遺伝子コピー数変化による難聴～**

近年、1塩基～数塩基の変異とは異なる、イントロン領域まで含んだ、数十ないし数万塩基にわたる大きなゲノムの構造変化 コピー数変化 (Copy Number Variation: CNV) が、難聴の原因として注目されている(図4)。CNVによる難聴で、最も報告例が多いのが、*STRC* 遺伝子である。通常は我々、遺伝子を2コピー持つが、この遺伝子そのものの欠失によっても難聴は発症する。CNVはヒトの全ゲノム中、約13%の領域に認められるが、病的なゲノムの構造異常を捉えることは必ずしも容易ではない。次世代シーケンサーによるCNV解析が多く試みられているが、臨床診断としての解析方法はまだ確立されていない。現在 臨床でも応用されているCNV解析のスタンダードな手法のひとつに アレイCGH (比較ゲノムハイブリダイゼーション) がある。患者サンプルとコピー数正常な対照DNAを異なる蛍光色素でラベリングし、アレイ上で競合的に結合させ、そのシグナル強度の差

Copy Number Variations (CNV)

1kbp～数Mbのゲノム構造異常によるコピー数変化



STRC遺伝子

STRC 遺伝子の欠失により、中等度難聴を発症する。

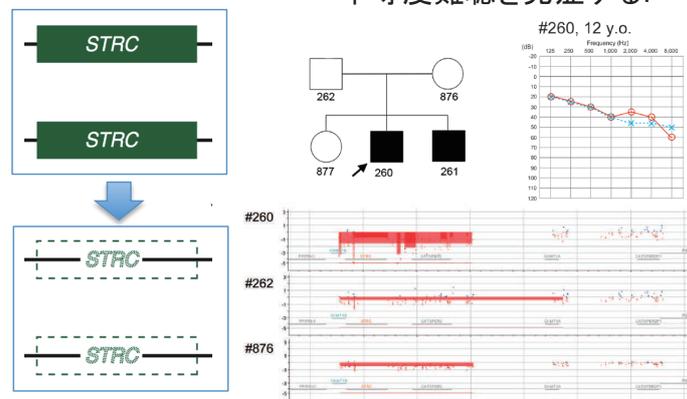


図4 日本人難聴者より見出された STRC 遺伝子における遺伝子コピー数変化 (CNV: copy number variants) 両親はともに1コピー欠失(保因者)。難聴の患者は STRC 遺伝子の2コピー欠失。aCGH: 比較ゲノムハイブリダイゼーションによる解析結果。(文献21より一部改変, 筆者作成)

からコピー数変化を捉えるものである。現在、我々はさらなる診断率の向上を目指し、次世代シーケンサー解析による CNV の検出を一次解析とし、アレイ CGH での確認を行っている。これにより、日本人家系で初めて、難聴の原因となる STRC 遺伝子の CNV、巨大な遺伝子欠失を見出し報告した²⁰⁾。

次世代シーケンサーのメリットは、大量のサンプルを解析できることであるが、同時に、その拡張性と発展性があげられる。わが国では2015年から保険診療で我々の開発した次世代シーケンサーの解析プラットフォームを用いた63遺伝子の解析が行われている。現在、保険診療と併行して全国80施設と共同研究を行っており、新たな原因遺伝子および変異が見出されている。これら次世代シーケンサーから産出される膨大な解析データをデータベース化することで、新規遺伝子変異が見出された際に、それが原因遺伝子変異である可能性が高いかどうか検討することができる²¹⁾。さらに、今後 CNV 解析を加えることで、同一の診断プ

ラットホームを利用した、1塩基変異から CNV まで解析することが可能になり、さらなる診断率の向上が見込まれる。

IV もっとも成功した人工臓器：人工内耳

内耳の働きは最初に述べたように「機械的エネルギー(振動)を電気的エネルギー(電気信号)に変換する」ことであるが、単に音を増幅して内耳に送り込んだだけでは(補聴器装用でも)効果のない患者に対する治療方法として、人工内耳がある。人工内耳は、蝸牛神経に直接電気信号を送り込むことにより音を聴取させるものである。人工内耳は、補聴器では効果を得ることができない高度～重度難聴の患者に対しても聴覚を獲得させることができる、近年最も成功した人工臓器といえる。本邦では1994年に保険適用となり、その効果に関するエビデンスの集積とともに、日常的に行われる医療として定着している。手術方法は全身麻酔下に、耳後部に5cm程度の切開を行い、インプラン

トを側頭部皮下に埋め込み、インプラントから伸びる電極を蝸牛内に挿入するものである。オーディオプロセッサと呼ばれる体外装置を装着し、送信コイルからの信号を、埋め込んだインプラントに伝達することで蝸牛内に挿入した電極から電気刺激を直接、蝸牛神経に伝え、聴覚を獲得させる仕組みとなっている。

A 人工内耳と遺伝子

人工内耳の適応に関しては、1998年の適応基準では2歳以上で両側の聴力が100 dBとされていたが、多くの研究により早期の人工内耳手術が、先天性難聴児に対する言語獲得に良好な結果をもたらすことが示された結果、基準が段階的に見直され、2014年の改訂では、1歳以上で両側90 dB以上と引き下げられた。加えて、補聴器装用でも補聴レベルが45 dB以上、語音明瞭度が50%未満の場合や、高音障害型難聴で子音の構音獲得が困難な場合、高度難聴を来しうる遺伝子変異を有する場合は人工内耳の適応になることが付記事項として記載された。

低年齢化に伴い聴力の評価や人工内耳の効果の予測が難しくなる。従来用いられる ABR（聴性脳幹反応）や、音に対する幼児の反応を確認する COR（条件詮索反応聴力検査）は、難聴の程度は評価できるが、原因を特定するものではない。難聴の遺伝子診断は、その原因を特定することで、蝸牛内のどの部位が障害されているのか、またその遺伝子型から難聴の程度も推測可能である。例えば、前述の GJB2 遺伝子では、原因が内耳にあるため、人工内耳の効果が期待されるが、遺伝子変異による障害部位が蝸牛よりも中枢側にある場合、人工内耳が電気刺激を行っても、聴取能が限定的となる可能性がある。現在我々は人工内耳の聴取成績と遺伝子解析の比較を行っているが、内耳に原因がある場合、人工内耳が有効であることが確認できている^{22) 23)}。

B 人工内耳と脳機能～音は脳で聴く～

生まれつき高度難聴の先天性難聴児とは異なり、若年発症や、進行性の難聴の場合、人工内耳の効果を術前に推測することは難しい。これは、進行する難聴の経過に伴い、聴覚中枢での処理能力、コミュニケーションスキルなど多くの要素が語音聴取に複雑に絡み合っているためである。難聴の経過に伴い、その患者の主たるコミュニケーションモードに依存して、聴覚情報を処理する側頭葉の聴覚野が正常に働かなくなる、または別の感覚モダリティーである視覚情報処理に置き換わる、脳の可塑性変化（cross modal plasticity）

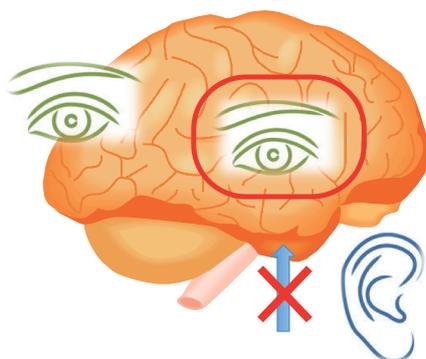
が起こるためである。我々は、人工内耳の効果を予測するため、難聴の原因診断とともに、脳の可塑性変化がどのように起こるか、ポジトロン断層法（PET）による脳でのブドウ糖代謝の違いを検討した。GJB2 遺伝子変異による先天性高度難聴の症例では、成人に至るまでの間に聴覚を活用せず、本来聴覚情報を処理するはずの側頭葉聴覚野の機能が視覚情報処理に置き換わっていた。一方、進行性の難聴を来す SLC26A4 遺伝子変異の症例では、幼小児期に聴覚が活用されていたため、成人期に高度難聴となっても、正常な聴覚処理が行われていた（図5）²⁴⁾。前者の場合、人工内耳で音声を聴取した際に、聴覚野での処理がうまく行われず、語音聴取は限定的になる可能性がある。しかし後者の場合は、聴覚野が本来の聴覚処理を行うため、人工内耳の効果が見込まれる。また先天性サイトメガロウイルス感染による小児難聴に対する別の検討では、精神神経発達の違いにより、聴覚脳機能の違いが認められた²⁵⁾。このように難聴の原因診断と、聴覚情報処理に関する脳機能の客観的評価が可能となり、人工内耳の術後リハビリに有用な情報が得られるようになった。現在、当教室で fNIRS（近赤外分光法）を利用した新たな聴覚脳機能の検討が進められている。

C 新しい人工内耳「残存聴力活用型人工内耳」

従来の人工内耳は、補聴器装用でも効果がない、低音部から高音部までの全周波数にわたる高度～重度難聴を適応としている。一方、高音部のみが高度難聴という難聴者が多く存在し、このような症例は低音部分に残存聴力を有するため、従来の人工内耳の適応には該当せず、高音部の障害が強いため補聴器も有効でなく、治療法の「すき間」にあった患者群であった。従来、蝸牛に人工内耳の電極を挿入することにより、蝸牛の構造が破壊され、残存する低音部聴力が温存できないと考えられていた。しかし、1999年 von Ilberg らが低侵襲の人工内耳手術を行うことにより、残存聴力が保存でき、低音部は補聴器のように増幅した音を外耳道から送り込み（音響刺激）、高音部は人工内耳で直接聴神経に音（電気刺激）を送り込む EAS（electric acoustic stimulation）が臨床的に可能であることを報告した（図6）²⁶⁾。

以降、欧州を中心に、低侵襲人工内耳電極の開発と、多くの臨床研究が行われてきた。当教室では本邦初の臨床研究を2008年から開始し、2010年に高度医療（現在の先進医療B）として承認を受け、その後に多施設共同研究が行われた²⁷⁾。この研究では、EASを行った

Cross modal plasticity



先天性高度難聴の症例で、幼小児期の言語獲得期に聴覚を活用しないと、本来聴覚情報を処理するはずの側頭葉聴覚野が視覚情報処理に置き換わる。後に人工内耳で聴覚情報を入れても、言葉として聴取することが困難になる。

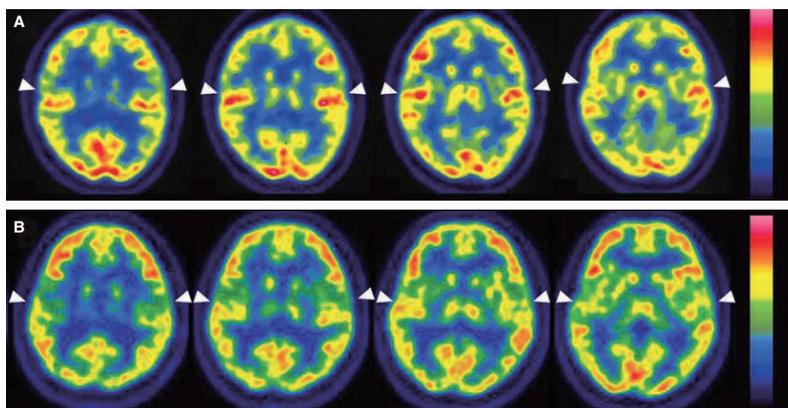
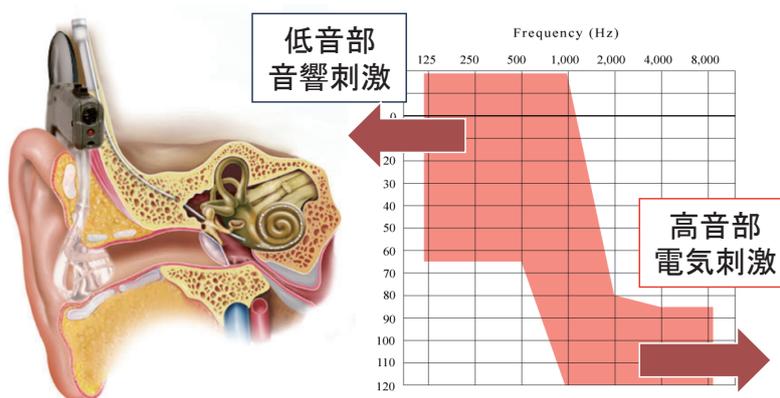


図5 原因遺伝子の異なる難聴者における視覚刺激負荷の側頭葉（一次聴覚野）の賦活状態

(A) 先天性高度難聴をきたす *GJB2* 遺伝子変異では、視覚刺激により一次聴覚野（矢頭）で代謝の賦活化が見られる一方、(B) 進行性難聴をきたす *SLC26A4* 遺伝子変異の症例ではみられず、正常に近いパターン。（文献25より一部改変，筆者作成）

EAS (Electric Acoustic Stimulation)の概念



音響刺激・電気刺激の2つを組み合わせることで、高音障害型難聴に対する補聴を行う。

図6 残存聴力活用型人工内耳（EAS: electric acoustic stimulation）

右：本人工内耳の適応聴力。高音部の高度難聴があるも低音部の聴力が65 dB 未満。

左：EAS 専用のオーディオプロセッサ（MED-EL 社）。従来の人工内耳と同じ送信コイルで体内に埋め込まれたインプラントで電気刺激を行い、イヤーフックから外耳道へ音響刺激を伝える。

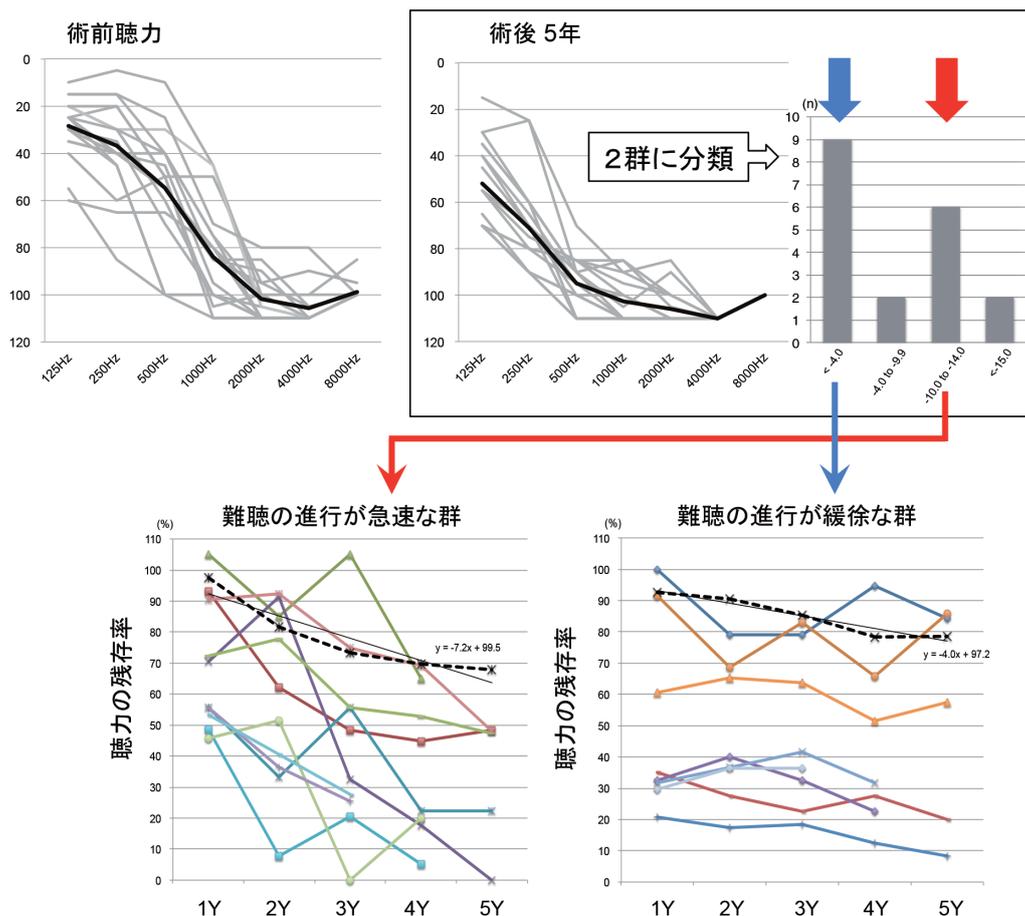


図7 (上) 残存聴力活用型人工内耳を行った症例の残存聴力の5年間の推移

難聴の進行速度から2群に分類(青矢印: 難聴の進行が緩徐, 赤矢印: 難聴の進行が急速)。黒破線は埋め込みを行っていない耳の平均聴力で, 難聴の自然経過を表す。自然経過で難聴の進行が緩徐であれば聴力の残存率が高い。

30症例32耳を検討し, 術前の単音節聴取の平均24.1%がEAS装用で67.4%と大きく改善, 雑音下の文章の聴取においては90%まで改善するという結果が得られた²⁸⁾。また術後1年間の経過でも, 低音部の聴力が温存されていることが確認された。本邦ではEASを「残存聴力活用型人工内耳」と呼称し(以降文中EASと略す), 優れた聴取能と良好な低音部聴力の温存が可能であることから, 2014年に薬事承認, 保険収載され, 現在では本邦でも広く行われるようになった。また当科ではEASを両耳装用することにより, 騒音下での聴取や音の方向感において, さらに優れた聴取能が得られることを明らかにした²⁹⁾。我々が提唱する低侵襲の人工内耳手術(蝸牛正円窓からの電極挿入+ステロイド投与)を行うことにより, 優れた残存聴力温存, 前庭機能の温存が得られることが明らかとなっている³⁰⁾⁻³²⁾。

また, EASの長期成績を検討した結果, 術後5年

の経過では, 残存聴力が低下する症例としない症例がいることが明らかとなった。対側(非人工内耳側)の聴力経過と比較検討した結果, 長期間にわたり低音部聴力が温存されていた症例は, いずれも自然経過での(対側の)難聴の進行が緩徐であった。したがって難聴の進行の有無は自然経過に影響され, 患者の難聴の進行速度の違いがあるためと推測された(図7)³³⁾。

EASの適応患者は, 高音部の難聴であるが, これらの患者のほとんどは, 進行性難聴であり, 我々は難聴の長期の経過の一断面を見ているに過ぎない。同じ「高音部の難聴」という症状を呈していたとしても, 個々の症例は「別々の原因」による難聴である³⁴⁾。我々の検討において, 術後長期間の経過で比較的難聴の進行が早かった群では難聴遺伝子として, *CDH23* 遺伝子, *TMPRSS3* 遺伝子変異が見出されたが, これらの遺伝子は進行性の難聴をとる原因遺伝子として報告されているものであった³³⁾。難聴の原因診断が可能

になることで、難聴の進行度を推測することが可能になれば、人工内耳デバイスの選択に有用な情報を得ることができる。

V ま と め

次世代シーケンサーの登場は、遺伝子解析の臨床応用に大きな革新をもたらした。従来の遺伝子解析技術を大幅に上回る規模と速度、正確性で遺伝子解析が行えるようになり、その成果を臨床にフィードバックすることにより「ゲノム医療」という新たな形の医療

の展開が可能になった。加えて、高度難聴に対する治療法としての人工内耳の進歩により、その適応が拡大されてきている。すでに日常臨床において、難聴の遺伝子診断は人工内耳の適応を判断する上で重要な役割を果たしており、今後はさらにその必要性が高まると考えられる。また将来の遺伝子治療などによる根本的な治療のためにも、難聴の原因を追究することが重要であろう³⁵⁾。今後、遺伝子診断を軸とした難聴医療の発展が期待される。

文 献

- 1) Nishio SY, Hattori M, Moteki H, Tsukada K, Miyagawa M, Naito T, Yoshimura H, Iwasa Y, Mori K, Shima Y, Sakuma N, Usami S: Gene expression profiles of the cochlea and vestibular endorgans: localization and function of genes causing deafness. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 124 Suppl 1: 6S-48S, 2015
- 2) Smith RJ, Bale JF Jr, White KR: Sensorineural hearing loss in children. *Lancet* 365: 879-890, 2005
- 3) Petersen MB, Willems PJ: Non-syndromic, autosomal-recessive deafness. *Clin Genet* 69: 371-392, 2006
- 4) Usami S, Wagatsuma M, Fukuoka H, Suzuki H, Tsukada K, Nishio S, Takumi Y, Abe S: The responsible genes in Japanese deafness patients and clinical application using Invader assay. *Acta Otolaryngol* 128: 446-454, 2008
- 5) Moteki H, Azaiez H, Booth KT, Shearer AE, Sloan CM, Kolbe DL, Nishio S, Hattori M, Usami S, Smith RJ: Comprehensive genetic testing with ethnic-specific filtering by allele frequency in a Japanese hearing-loss population. *Clin Genet* 2015
- 6) Miyagawa M, Naito T, Nishio SY, Kamatani N, Usami S: Targeted exon sequencing successfully discovers rare causative genes and clarifies the molecular epidemiology of Japanese deafness patients. *PLoS One* 8: e71381, 2013
- 7) Nishio SY, Hayashi Y, Watanabe M, Usami S: Clinical application of a custom AmpliSeq library and ion torrent PGM sequencing to comprehensive mutation screening for deafness genes. *Genet Test Mol Biomarkers* 19: 209-217, 2015
- 8) 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. *PLoS One* 11: e0162230, 2016
- 9) Sakuma N, Moteki H, Takahashi M, Nishio SY, Arai Y, Yamashita Y, Oridate N, Usami SI: An effective screening strategy for deafness in combination with a next-generation sequencing platform: a consecutive analysis. *J Hum Genet* 61: 253-261, 2016
- 10) Naito T, Nishio SY, Iwasa Y, Yano T, Kumakawa K, Abe S, Ishikawa K, Kojima H, Namba A, Oshikawa C, Usami S: Comprehensive genetic screening of KCNQ4 in a large autosomal dominant nonsyndromic hearing loss cohort: genotype-phenotype correlations and a founder mutation. *PLoS One* 8: e63231, 2013
- 11) Fukuoka H, Kanda Y, Ohta S, Usami S: Mutations in the WFS1 gene are a frequent cause of autosomal dominant nonsyndromic low-frequency hearing loss in Japanese. *J Hum Genet* 52: 510-515, 2007
- 12) Miyagawa M, Nishio SY, Usami S, Deafness Gene Study C.: Mutation spectrum and genotype-phenotype correlation of hearing loss patients caused by SLC26A4 mutations in the Japanese: a large cohort study. *J Hum Genet* 59: 262-268, 2014
- 13) Wagatsuma M, Kitoh R, Suzuki H, Fukuoka H, Takumi Y, Usami S: Distribution and frequencies of CDH23 mutations in Japanese patients with non-syndromic hearing loss. *Clin Genet* 72: 339-344, 2007
- 14) Miyagawa M, Nishio SY, Usami S: Prevalence and clinical features of hearing loss patients with CDH23 muta-

- tions : a large cohort study. *PLoS One* 7 : e40366, 2012
- 15) Yoshimura H, Iwasaki S, Kanda Y, Nakanishi H, Murata T, Iwasa Y, Nishio SY, Takumi Y, Usami S : An Usher syndrome type 1 patient diagnosed before the appearance of visual symptoms by MYO7A mutation analysis. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 77 : 298-302, 2013
 - 16) Moteki H, Yoshimura H, Azaiez H, Booth KT, Shearer AE, Sloan CM, Kolbe DL, Murata T, Smith RJ, Usami S : USH2 Caused by GPR98 Mutation Diagnosed by Massively Parallel Sequencing in Advance of the Occurrence of Visual Symptoms. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 124 Suppl 1 : 123S-128S, 2015
 - 17) Oguchi T, Ohtsuka A, Hashimoto S, Oshima A, Abe S, Kobayashi Y, Nagai K, Matsunaga T, Iwasaki S, Nakagawa T, Usami S : Clinical features of patients with GJB2 (connexin 26) mutations : severity of hearing loss is correlated with genotypes and protein expression patterns. *J Hum Genet* 50 : 76-83, 2005
 - 18) Tsukada K, Nishio S, Usami S : A large cohort study of GJB2 mutations in Japanese hearing loss patients. *Clin Genet* 78 : 464-470, 2010
 - 19) Moteki H, Nishio SY, Hashimoto S, Takumi Y, Iwasaki S, Takeichi N, Fukuda S, Usami S : TECTA mutations in Japanese with mid-frequency hearing loss affected by zona pellucida domain protein secretion. *J Hum Genet* 57 : 587-592, 2012
 - 20) Moteki H, Azaiez H, Sloan-Heggen CM, Booth K, Nishio SY, Wakui K, Yamaguchi T, Kolbe DL, Iwasa YI, Shearer AE, Fukushima Y, Smith RJ, Usami SI : Detection and Confirmation of Deafness-Causing Copy Number Variations in the STRC Gene by Massively Parallel Sequencing and Comparative Genomic Hybridization. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 125 : 918-923, 2016
 - 21) Nishio SY, Usami SI : The Clinical Next-Generation Sequencing Database : A Tool for the Unified Management of Clinical Information and Genetic Variants to Accelerate Variant Pathogenicity Classification. *Hum Mutat* 38 : 252-259, 2017
 - 22) Miyagawa M, Nishio SY, Usami S : A Comprehensive Study on the Etiology of Patients Receiving Cochlear Implantation With Special Emphasis on Genetic Epidemiology. *Otol Neurotol* 37 : e126-134, 2016
 - 23) Miyagawa M, Nishio SY, Sakurai Y, Hattori M, Tsukada K, Moteki H, Kojima H, Usami S : The patients associated with TMPRSS3 mutations are good candidates for electric acoustic stimulation. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 124 Suppl 1 : 193S-204S, 2015
 - 24) Moteki H, Naito Y, Fujiwara K, Kitoh R, Nishio SY, Oguchi K, Takumi Y, Usami S : Different cortical metabolic activation by visual stimuli possibly due to different time courses of hearing loss in patients with GJB2 and SLC26A4 mutations. *Acta Otolaryngol* 131 : 1232-1236, 2011
 - 25) Moteki H, Suzuki M, Naito Y, Fujiwara K, Oguchi K, Nishio SY, Iwasaki S, Usami S : Evaluation of cortical processing of language by use of positron emission tomography in hearing loss children with congenital cytomegalovirus infection. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 78 : 285-289, 2014
 - 26) von Ilberg C, Kiefer J, Tillein J, Pfenningdorff T, Hartmann R, Sturzebecher E, Klinke R : Electric-acoustic stimulation of the auditory system. New technology for severe hearing loss. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 61 : 334-340, 1999
 - 27) Usami S, Miyagawa M, Nishio SY, Moteki H, Takumi Y, Suzuki M, Kitano Y, Iwasaki S : Patients with CDH23 mutations and the 1555A>G mitochondrial mutation are good candidates for electric acoustic stimulation (EAS). *Acta Otolaryngol* 132 : 377-384, 2012
 - 28) Usami S, Moteki H, Tsukada K, Miyagawa M, Nishio SY, Takumi Y, Iwasaki S, Kumakawa K, Naito Y, Takahashi H, Kanda Y, Tono T : Hearing preservation and clinical outcome of 32 consecutive electric acoustic stimulation (EAS) surgeries. *Acta Otolaryngol* 134 : 717-727, 2014
 - 29) Moteki H, Kitoh R, Tsukada K, Iwasaki S, Nishio SY, Usami SI : The advantages of sound localization and speech perception of bilateral electric acoustic stimulation. *Acta Otolaryngol* 135 : 1-7, 2014

- 30) Hochmair I, Hochmair E, Nopp P, Waller M, Jolly C : Deep electrode insertion and sound coding in cochlear implants. *Hear Res* 322 : 14-23, 2015
- 31) Tsukada K, Moteki H, Fukuoka H, Iwasaki S, Usami SI : Effects of EAS cochlear implantation surgery on vestibular function. *Acta Otolaryngol* 133 : 1128-1132, 2013
- 32) Usami S, Moteki H, Suzuki N, Fukuoka H, Miyagawa M, Nishio SY, Takumi Y, Iwasaki S, Jolly C : Achievement of hearing preservation in the presence of an electrode covering the residual hearing region. *Acta Otolaryngol* 131 : 405-412, 2011
- 33) Moteki H, Nishio SY, Miyagawa M, Tsukada K, Iwasaki S, Usami SI : Long-term results of hearing preservation cochlear implant surgery in patients with residual low frequency hearing. *Acta Otolaryngol* 137 : 516-521, 2017
- 34) Usami S, Miyagawa M, Suzuki N, Moteki H : Genetic background of candidates for EAS (electric-acoustic stimulation). *Audiological Medicine* 8 : 28-32, 2010
- 35) Shibata SB, Ranum PT, Moteki H, Pan B, Goodwin AT, Goodman SS, Abbas PJ, Holt JR, Smith RJ : RNA Interference Prevents Autosomal-Dominant Hearing Loss. *Am J Hum Genet* 98 : 1101-1113, 2016

(H 29. 10. 3 受稿)
