

(別紙1)

総括研究報告書

課題番号：29-9

課題名：小児固形腫瘍に対する白金製剤治療によって生じる難聴の易感受性遺伝子検索

主任研究者 (所属施設) 国立成育医療研究センター
(所属・職名 氏名) 感覚器形態外科部耳鼻咽喉科 診療部長 守本倫子

(研究成果の要約) シスプラチンなどの白金製剤による難聴は TPMT, COMT, ACYP2 遺伝子多型により薬剤の感受性が高くなり、生じることが報告されているものの、反証論文も少なくない。そこで日本人集団においても同様の結果であるか追試してみたところ、57 例中難聴は 36 例(61%)に認められたものの、既知の遺伝子多型が認められたのは 1 例ずつのみであった。また他の環境因子(性別、白金製剤投与積算量、年齢、併用頭蓋内照射)も含めて多因子解析を行ったが難聴のリスクを高めるものはなかった。網羅的多型解析を行ったところ、内耳に関連する多型 X が関連している可能性は示唆されており、今後検討を増やして機能解析を進める予定である。

1. 研究目的

本研究では、小児固形腫瘍に対して使用される白金製剤(シスプラチン、カルボプラチン)による難聴と難聴感受性遺伝子(遺伝子多型)を明らかにする。そこで、①白金製剤による難聴児と難聴にならなかった児の治療や病態について比較検討を行い、難聴発症に関連している因子について関連解析を行う。②既報告の易感受性遺伝子多型による難聴への影響について検討を行う。③既報告の遺伝子多型と難聴発症に関連が見いだせなかった場合は、日本人に関連すると考えられる新規遺伝子多型を検索する。これにより白金製剤による難聴発症のリスク因子を明らかにし、薬剤副作用による難聴を併発する可能性を最小限にとどめたオーダーメイドの化学療法を提案することを目的とした。

2. 研究組織

研究者 所属施設
守本倫子 (国立成育医療研究センター耳鼻咽喉科)
柳 久美子 (同、ゲノム医療研究部)
要 匡 (同、ゲノム医療研究部)
清谷 知賀子 (同、小児がんセンター)
松本公一 (同、小児がんセンター)

3. 研究成果

本年度は最終年度であるため、小児固形腫瘍に対する白金製剤を使用した患者に対して、何が難聴を誘発するトリガーとなっていたのかを今までのデータを解析して明らかにすること、さらに海外で報告されている既知の白金製剤治療惹起性難聴易感受性遺伝子多型を解析し、日本人患者家系および患者でのアリル頻度を明らかにすること、新規遺伝子多型の関与を証明し、白金製剤難聴の発症機序解明と予防方法の検討につながることを目的とした。

1) 検体および情報収集のネットワーク体制作り

全国の小児腫瘍センター(静岡子ども病院、千葉子ども病院、大阪母子医療センター、兵庫こども病院、)と連携し、シスプラチンを使用した難聴・非難聴児の血液検体を収集し、解析できるための体制作りを行い、実際に検体のやりとりを行っている。

2) 既知の遺伝子解析結果

69 例に対して白金製剤に対する易感受性遺伝子多型(ACYP, TPMT, COMT)を検索したが、ACYP, TPMT が 1 例ずつ認められたのみであり、COMT は 1 例もみられなかった。これは、日本人ならびに東アジアにおける多型の保有率が欧米に比べて非常に低いことによると考えられた。少なくとも日本人に

白金製剤による難聴の頻度が高いとされていることから、他の遺伝子多型の関与が推測された。

3) 既報告されている難聴誘発危険因子 56 例に対して①化学療法年齢 (4 歳以下)、②シスプラチン投与量 (400mg/m²)、③頭蓋内照射の有無、④性別(男>女)、⑤カルボプラチン投与有無、⑥腎毒性の有無が難聴の危険因子になりうるか検討したところ、単因子で難聴と強い関連を有するものはなかった。2つまたは3つ以上の因子でロジスティック回帰モデルに当てはめたところ、TPMT または ACYP2 の遺伝子多型を持ち、4 歳以下で化学療法を行い、シスプラチンの投与積算量が 400mg/m² 以上、と複数の因子が重なった場合に難聴との相関がしやすい傾向があった。

4) シスプラチン投与積算量について Li らは治療時期が 5 歳以下に子どもに cisplatin の積算量が 400mg/kg を越えた場合、15-20 歳の年長の子どもの比に比べて難聴になりやすかったとしている。これは、難聴の発症は 63%であり、残りの Platinum agents は reactive oxygen species (ROS) を産生し、有毛細胞を細胞死させるとされているのであるが、低年齢であると、脳血管関門が通りやすい可能性が推測されている。cisplatin 積算量 400 mg 以上 (Berg) または 300mg 以上 (ESfahani) で難聴が増加したとの報告もあるが、検討結果は報告者により異なる。

5) 新規遺伝子解析

全例について、次世代シーケンサー、マイクロアレイ (ジャポニカアレイ) を用いて感受性候補遺伝子全長 (全領域) の多型解析、網羅的多型タイピングを行っているところである。新規遺伝子多型が複数認められ、易感受性との関連解析を行っているところであるが、現在内耳に関連が深いとされている関連候補多型 ($< 5 \times 10^{-8}$) が 7 種類見出された。うち、4 つの多型

(A(chr 2), B(chr 8), C(chr 12), D(chr 12)) が感受性候補遺伝子として有力である。一般集団でのアリル頻度を検討したところ、日本人および東アジア人に頻度が多く認められ、一方欧米人での一般頻度は低かった。海外での報告のある既知の白金製剤惹起難聴の易感受性遺伝子多型は、日本人集団では非常に低く関連を見出すのは困難であったと同時に、白金製剤により引き起こされる難聴に関連する日本人での遺伝子多型は海外で報告されているものと異なる可能性が高いと考えられた。

4. 研究内容の倫理面への配慮

本研究では難聴者およびその親族の遺伝子解析を行なうため、「ヘルシンキ宣言」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、を遵守して進める。人間の尊厳に対する十分な配慮、事前の十分な説明と自由意志による同意、個人に関する情報の徹底、人類の知的基盤、健康、福祉へ貢献する社会的に有益な研究の実施、個人の人権の保障の科学的、社会的利益に対する優先、本指針に基づく研究計画の作成、遵守及び事前の倫理審査委員会の審査・承認による研究の適正性の確保、研究の実施状況の第三者による調査と研究結果の公表を通じた研究の透明性の確保に関して、十分に注意を払いながら実施する。