

(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

主任研究者名（所属施設） 国立成育医療センター  
（所属・職名） 感覚器形態外科部耳鼻咽喉科 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

1) 検体および情報収集のネットワーク体制作り

今年度は成育医療研究センターのみではなく、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った。すべての病院において、倫理委員会申請が終了し、検体が送られ始めている。

2) 解析対象の臨床像

解析は 57 例に対して行い、男女比は 39 : 18 であった。原疾患は神経芽細胞腫 17 例、肝芽腫 12 例、髄芽腫 14 例、胚細胞腫瘍 9 例、網膜芽細胞腫 3 例、その他 2 例であった。化学療法をうけた年齢は平均 32 カ月 (1 カ月~155 カ月) であった。57 例中 51 例はシスプラチンを投与しており、6 例はカルボプラチンのみの投与であった。頭蓋内放射線

治療は28例(49%)に行われていた。難聴があったのは Chang score 1a 以上と聴力検査上で閾値の変化が認められたのは36例(63%)であり、会話などの聞き取りが困難となる2a以上では29例(51%)であった。

### 3) 既知の遺伝子解析

57例全例に対して海外で感受性に関わる可能性が報告されている COMT, TPMT, ACYP2 遺伝子多型を検索したが、TPMT および ACYP2 が難聴となった症例に1例ずつ認められたのみであった。日本人一般集団での多型頻度も欧米民族の多型頻度に比較して優位に少ない (ACYP2:0.10>(一般:0.0717)、TPMT:0.01>(一般:0.1629)、COMT:0.01>(一般:0.1723))。このことから、これらの遺伝子多型はシスプラチンの難聴発症に関する感受性に大きな影響を与えている可能性は示唆されているものの、日本人では発現頻度そのものが低く、他も関与している可能性は高いと考えられた。

	一般	日本人	欧州	米国	アフリカ	東アジア
ACYP2 (rs1872328:A)	0.072	0.014	0.039	0.043	0.199	0.011
TPMT (rs12201199:T)	0.163	0.019	0.049	0.12	0.484	0.023
COMT (rs9332377:T)	0.172	0.00	0.151	0.127	0.361	0.003

### 一般集団における多型の頻度 (1000 ゲノム解析)

### 4) 既報告のリスク因子解析

臨床研究センターの統計学専門家に依頼し、TPMT または ACYP2 遺伝子多型の有無を1つの合成変数として組み入れた上で、①化学療法年齢、②シスプラチン投与量、③頭蓋内照射の有無、④性別、⑤カルボプラチン投与有無、⑥腎毒性にて追加治療の有無、の6つのリスク因子について難聴の予測性能が高くなる因子の組み合わせをロジスティック回帰モデルを作成して検討を行った。結果として、アウトカム変数に設定した難聴

の程度を Grade2a をカットオフとし、遺伝子多型があり、シスプラチン投与量と化学療法月齢を組み合わせることで予測性能が最大0.670 (95%CI:0.508-0.833) と推定された。このことから、予後予測モデルとして既報告のリスク因子の関与は低く、今後さらに予測性能を評価するために十分な標本データの追加、予測モデルの外的妥当性を検討するための外部データの収集が必要と考えられた。

	CHANG分類	
	1b< 難聴あり	1a> 難聴なし
Total	36	24
男性	25	16
治療年齢 > 5 歳	11	7
< 5 歳	25	17
頭蓋内照射の併用	18	10
頭蓋内照射を併用していない	18	13
シスプラチン投与	35**	19
シスプラチン非投与	1	5
カルボプラチン投与	6	7
シスプラチン積算量 > 400mg/m <sup>2</sup>	24	11
シスプラチン積算量 < 400mg/m <sup>2</sup>	12	13
ACYP2 (rs1872328: A)	1	0
TPMT (rs12201199: T)	1	0
COMT (rs9332377: T)	0	0

### 難聴の有無と危険因子の関連

### 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多型 X が感受性候補遺伝子として有力である。多型 X の妥当性を検討するためにも、100-150 の検体での検討が必要である。またさらに一般集団での頻度調査や、発現変化等の機能的影響の有無についても検討が必要である。

#### 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。