

令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16944

研究課題名(和文)日本人における神経線維腫症2型の遺伝子解析と治療薬選択の検討

研究課題名(英文)Molecular genetical examination and genotype-phenotype correlation for Japanese cases of neurofibromatosis type 2

研究代表者

野口 勝(Noguchi, Masaru)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・共同研究員

研究者番号：50626760

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文):日本人の神経線維腫症2型(NF2)症例を対象に、遺伝子変異とその臨床経過について検討した。孤発性のNF2と診断された11例に対し、末梢血のDNAを次世代シーケンスを用いて解析した。その結果5例はnonsense変異例、2例はframeshift変異例、1例はsplice site変異例、1例はinframe deletion例であった。2例は病的バリエントが未判明であり、これらに対しMLPA解析を行ったが、Copy Number Variationは認められなかった。NGSの結果と臨床経過との対比を行ったところ、臨床経過については、truncating変異例の発症年齢が低い傾向にあった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

欧米諸国から神経線維腫症2型においては遺伝的背景が臨床経過に影響する事が報告されていたが、今回日本人を対象として遺伝的背景と、臨床経過や新たな治療法との関連性について検討することができた。

研究成果の概要(英文):We evaluated whole-exome sequencing of NF2 gene of 11 Japanese NF2 cases with next generation sequencing. DNA from patients with NF2 was obtained from peripheral blood leucocytes. In the 11 cases, 8 were pathogenic variants and 1 was likely pathogenic variant in the NF2 gene. 5 nonsense variants, 2 frameshift variants, 1 splice site variant, and 1 inframe deletion were discovered. 2 novel NF2 variants were identified in these cases. No large deletion or duplication was identified in our series by multiplex ligation-dependent probe amplification. Truncating variants were associated with earlier onset.

研究分野: 耳科学

キーワード: 神経線維腫症2型 NF2 次世代シーケンス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

神経線維腫症 2 型 (Neurofibromatosis type 2, 以下 NF2) は、多くが 20 代の若年者に発症し、発症頻度はおよそ 3.3 万人に 1 人とされている。ほとんどの症例で 30 歳までに両側聴神経腫瘍 (Vestibular schwannoma, 以下 VS) が認められるようになることが最大の特徴である。多くの症例で進行性であり、良性疾患ではあるものの、腫瘍による脳幹圧迫などで 50 歳までに 40% 以上が死亡するとされ、予後不良な疾患である (大石、2015)。

一般的に発症年齢が若年である若年発症型は、腫瘍が多発し重症化しやすいことが知られているが、これには NF2 腫瘍制御遺伝子の遺伝子型が影響していると言われている。欧米諸国からの報告では、変異によりタンパク合成が中断される truncating 変異 (nonsense 変異、frameshift 変異) は遺伝子内の変異の場所に関わらず、重症型と関連があるとされている。また一方で、遺伝子の大きな欠失や missense 変異、splice site 変異などは軽症型と関連があるとされている (Evans, 2009)。しかしながら、本邦における NF2 患者の遺伝的背景はいままでにほとんど検討されていなかった。

NF2 における VS に対する治療としては手術治療や放射線治療が行われてきたが、孤発性 VS における治療成績と比較して、いずれの治療法でも腫瘍制御率や聴力温存率は残念ながら低い。その現状を打破すべく、近年分子標的薬を中心とした臨床試験が欧米諸国で実施されている。NF2 腫瘍制御遺伝子は Merlin というタンパク質をコードしているが、分子標的薬は Merlin の下流へのシグナル伝達に関わる物質をターゲットとしている。特に近年注目されているターゲットは vascular endothelial growth factor (VEGF) である。VEGF は血管新生により、NF2 の腫瘍増殖に関与していると思われる。抗 VEGF 抗体である Bevacizumab を用いた臨床試験が行われ、一定の腫瘍制御率および聴力温存率が報告されている。しかし全例に効果があるわけではなく、症例によって治療効果は様々である。本学脳神経外科学教室においても、NF2 症例に対して、VEGF 受容体 1/2 (VEGFR1/2) ペプチドワクチンによる治療を行なっているが、一般に分子標的治療は高価なものであり、NF2 が良性疾患かつ若年発症であるため、治療が長期にわたることを考慮すると、症例ごとに感受性があると予測されるものを選定し、治療の個別化を行うことは臨床的に極めて意義が大きい。

2. 研究の目的

日本人の NF2 症例の遺伝的背景について検討するとともに、その臨床経過について対比する。また本学脳神経外科教室にて治療を行なっている、NF2 の新たな治療法である、VEGFR1/2 ペプチドワクチンの治療効果との対比も行う。

3. 研究の方法

Manchester NF2 diagnostic criteria にて NF2 と診断された、孤発性の NF2 症例 11 例に対し、末梢血を採取し DNA を抽出した。抽出した DNA の NF2 遺伝子に対し、次世代シーケンシング (NGS) を用いて、whole-exome 解析を行なった。その結果得られた配列の病原性について、ACMG ガイドラインをもとに評価した。病的バリエーションが未判明であった症例は、重複や欠失などの Copy Number Variation (CNV) が存在する可能性を想定し、Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) 解析による解析を行った。また各症例の結果について、発症年齢や合併する腫瘍の種類、VS の腫瘍径、聴力といった臨床経過や、VEGFR1/2 ペプチドワクチンの治療効果との対比を行った。

4. 研究成果

NGS の解析と ACMG ガイドラインによる病原性評価の結果、11 例中 9 例で病的バリエーションが認められた。そのうち 5 例は nonsense 変異例、2 例は frameshift 変異例、1 例は splice site 変異例、1 例は inframe deletion 例であった。病原性評価の結果は、inframe deletion の 1 例が likely pathogenic であったが、その他の 8 例は pathogenic であった。このうち 2 例は過去に報告されていない病的バリエーションであった。11 例中 2 例においては病的バリエーションが未判明であり、これらについて MLPA 解析を行ったが、どちらも CNV は認められなかった。

臨床経過について検討すると、発症年齢については、nonsense 変異や frameshift 変異といった、変異によりタンパク質合成が中断される truncating 変異であると予測された 7 例では、全例が 20 歳未満の発症であった。この truncating 変異の症例群と、それ以外の症例群の発症年齢を比較すると、truncating 変異群の方が有意に発症年齢が低かった。合併する腫瘍については NF2 の変異の種類により、一定の傾向は認められなかった。また無治療で自然経過を追えた期間において、腫瘍径は全体的に増大傾向であり、聴力も全体的に増悪傾向であった。しかし症例により腫瘍径や聴力の経過は様々であり、また同一個体においても左右差が存在し、変異の種類によって一定の傾向は認められなかった。11 例中 7 例に対し、VEGFR1/2 ペプチドワクチン投与を行われたが、NF2 遺伝子の遺伝子型により、治療効果に一定の傾向は認められなかった。

NF2 では遺伝的背景と臨床経過との関連性が報告されているにも関わらず、過去 NF2 の日本人症例を対象として検討したものはほとんど存在していなかったため、今回その遺伝的背景と、臨床経過や新しい治療との関連性について評価を行った。発症年齢については、遺伝子型との関連性が示唆されたが、腫瘍径や聴力の臨床経過や、VEGFR1/2 ペプチドワクチンによる治療効果については、NF2 遺伝子の変異の種類により一定の傾向は得られなかった。これらについては、ま

だ 11 例と対象数が少ないため、今後症例数を増やして再検討する必要がある。また腫瘍内の対側アレルの状態や、腫瘍と聴神経との位置関係、腫瘍からの分泌因子の状況といった、今回得られた遺伝的背景以外の因子の影響についても検討しておく必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 野口勝
2. 発表標題 当院の神経線維腫症2型症例におけるNF2遺伝子の分子遺伝学的検討
3. 学会等名 第120回 日本耳鼻咽喉科学会・学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野口勝
2. 発表標題 神経線維腫症2型を呈する日本人症例におけるNF2遺伝子と臨床像の関係
3. 学会等名 第29回 日本耳科学会総会・学術講演会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考