

令和元年6月13日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16949

研究課題名(和文) エクソソームが内包するマイクロRNAに着眼した聴神経腫瘍による難聴の病態解明

研究課題名(英文) The molecular mechanism of hearing loss in acoustic neuroma patients.

研究代表者

藤田 岳 (Fujita, Takeshi)

神戸大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：90533711

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、聴神経腫瘍の聴力悪化や増大に関わる因子を探ることにある。聴神経腫瘍手術を行った腫瘍組織に対して、癌および肉腫において高頻度に変異を認める遺伝子を、次世代シーケンサーを用いてターゲットシーケンシングを行った。聴神経腫瘍の発生にはNF2遺伝子の異常が最も重要であると考えられている。本研究でも、NF2遺伝子変異は、10例中4例(40%)に認められ、その他にもいくつかの遺伝子に変異が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

聴神経腫瘍の発生にはNF2遺伝子の異常が最も重要であると考えられている。NF2遺伝子は22番染色体長腕に存在し、腫瘍抑制タンパクであるMerlinをコードする。このMerlinの働きが失われることにより、腫瘍が発生すると考えられている。

このMerlinタンパクは多くの重要なシグナル伝達系との関わりが報告され、複雑なパスウェイを形成している。本研究でもNF2遺伝子の変異が最も多くみられ、重要な因子であることは間違いないが、全ての症例でNF2遺伝子変異が認められるわけではない。どのような仕組みで腫瘍が増大や聴力悪化を引き起こすのかについて、現在さらに解析を進めている。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to elucidate the mechanism of hearing loss and tumor growth in acoustic neuromas, known as vestibular schwannoma. We performed target sequencing using Next Generation Sequencer (NGS). Four patients out of 10 patients (40%) showed NF2 gene mutations.

研究分野：難聴

キーワード：聴神経腫瘍 遺伝子 難聴

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

聴神経腫瘍は主に前庭神経から発生する神経鞘腫である。ほとんどは良性腫瘍であるが、難聴やめまい症状を引き起こし、増大すると小脳や脳幹を圧迫して死に至ることもある。頭蓋内腫瘍のうち8%程度を占め、1万人に1人程度の発生率と言われているが、近年MRIの普及により、無症状の聴神経腫瘍が偶然発見されることが増えている。

聴神経腫瘍に効果的な薬物治療はなく、手術や放射線治療が選択されるが、いずれも侵襲が大きい。そこに、抗 VEGF 抗体である Bevacizumab が、致死的な神経線維腫症 II 型の両側性 VS に対して有効性であるという報告がなされた (Plotkin SR et al., NEJM. 2009)。薬物治療という新たな可能性を示した報告であるが、Bevacizumab は高額な薬価の問題や、長期使用による腎障害などの副作用の観点から、孤発性の聴神経腫瘍症例に対して用いるのは現実的とは言えない。

そのため多くの症例では聴力が著しく悪化したり、腫瘍サイズが増大するまで、経過を観察する以外に介入方法がないのが実情である。

聴力の悪化原因については、これまで腫瘍による蝸牛神経の圧迫や内耳の血流障害が原因と考えられていたが、腫瘍の大きさと聴力は相関しないことが近年報告されている。また腫瘍から分泌されるサイトカイン等が聴力障害を起こすなど、腫瘍から分泌された何らかの分子が内耳を障害していると考え、私たちは研究を行ってきた。

聴力障害は聴神経腫瘍患者の95%に生じ、それ以外の症状には乏しいことが多い。聴神経腫瘍患者の多くが手術など負担の大きな治療を受けずにすむことが期待される。聴力障害に大きく関わる遺伝子の働きから聴神経腫瘍が難聴を起こすメカニズムが解明されれば、腫瘍組織の遺伝情報により将来の聴力悪化が予測できる可能性がある。

2. 研究の目的

本研究の目的は、聴神経腫瘍の聴力悪化や増大に関わる因子を探ることにある。また現在世界各国で VS に対する薬物治療について多くの臨床研究が行われている。がん研究と同様、そのほとんどは分子標的薬であり、遺伝的なバックグラウンドの違いが効果の差となることがある。そのため諸外国の臨床研究の結果が本邦へも適応可能かどうか、本申請研究の成果が参考になることが期待される。さらに腫瘍の増殖に関わる遺伝子が明らかとなれば、積極的に手術や放射線治療を行うべき患者と、経過観察のみでよい患者を選別することが可能になることが期待される。

3. 研究の方法

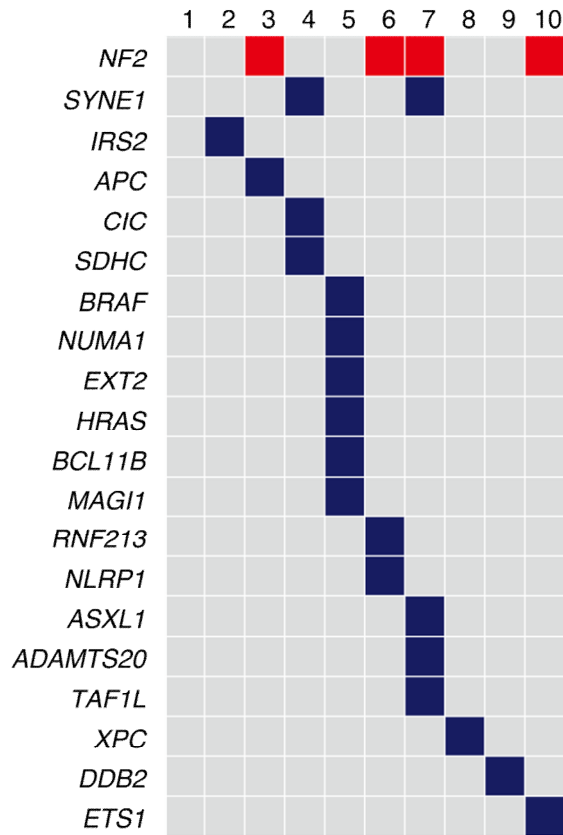
研究計画では、聴神経腫瘍から分泌されるエクソソーム中に含まれるマイクロ RNA (miRNA) を解析し、聴神経腫瘍の予後を左右する因子を探る予定であった。しかし抽出エクソソーム内の miRNA の品質が安定しないため、研究計画を修正し、より上流の遺伝子を解析することとした。

具体的には当科で聴神経腫瘍手術を行った10例について、409 遺伝子の exon 領域上で癌および肉腫において高頻度に変異を認める 15,992 ヶ所対応するプライマーセットを使用し、次世代シーケンサーを用いてターゲットシーケンシングを行った。

4. 研究成果

NF2 遺伝子は22番染色体長腕に存在し、腫瘍抑制タンパクである Merlin をコードする。この Merlin の働きが失われることにより、腫瘍が発生すると考えられている。

本研究でも、NF2 遺伝子変異は、10例中4例(40%)に認められ、その他にもいくつかの遺伝子に変異が認められた(下図)。



NF2 遺伝子にコードされる Merlin タンパクは、PAK, Rac, mTORC1, PI3K/AKT, Ras/Raf/MEK/ERK など多くの重要なシグナル伝達系との関わりが報告され、複雑なパスウェイを形成しているとされているものの、全ての症例で NF2 遺伝子変異が認められるわけではなく、また症例毎に異なる腫瘍生物学的な特徴が、単一の遺伝子変異のみで説明できるかどうかについては疑問が残るため、現在さらに解析を進めている。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

藤田 岳、土井 勝美、聴神経腫瘍の基礎研究と遺伝子解析、Otology Japan, 査読無、29号、2019、印刷中

Fujita T, Saito K, Kashiwagi N, Sato M, Seo T, Doi K. The prevalence of vestibular schwannoma among patients treated as sudden sensorineural hearing loss. *Auris Nasus Larynx*. 査読有,2019 Feb 2; 46(1):78-82.

〔学会発表〕(計 4 件)

藤田 岳、土井 勝美、聴神経腫瘍の基礎研究と遺伝子解析、第 28 回日本耳科学会総会・学術講演会、2018 年

Takeshi Fujita, Kazuya Saito, Toru Seo, Katsumi Doi, The prevalence of Vestibular Schwannoma in Patients with Sudden Sensorineural Hearing Loss, AMERICAN NEUROTOLOGY SOCIETY 53rd ANNUAL MEETING, 2018

藤田 岳 齋藤 和也 眞田 寧皓 坂井 和子 西尾 和人 土井 勝美、聴神経腫瘍の遺伝子解析、第 27 回聴神経腫瘍研究会 2018 年

藤田 岳、斉藤 和也、瀬尾 徹、土井 勝美、突発性難聴患者に聴神経腫瘍が発見された頻度、第 27 回日本耳科学会総会・学術講演会、2017 年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。