

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：「家族性がん」（バート・ホッグ・デュベ症候群の分子病態解明と新規の診断マーカー及び治療標的分子の探索研究）
2. 研究開発代表者： 矢尾 正祐（公立大学法人横浜市立大学 大学院医学研究科 教授）
3. 研究開発の成果： バート・ホッグ・デュベ（BHD）症候群は常染色体優性遺伝性の腫瘍多発疾患で、フォリクリン（FLCN）遺伝子の胚細胞性変異により発症する。本疾患では合併症として腎がん、皮膚腫瘍、肺の嚢胞性病変が高率にみられるほか、大腸癌や甲状腺癌の発症も報告されている。本症候群は1977年に初めて報告された比較的新しい疾患であり、腎がんをはじめとした合併疾患の発症に関してもまだ多くが不明でありその疾患認知度は低く、適正な診断法や治療法、フォロー法も確立されていない。本研究開発では、本邦の BHD 症候群患者に発症した FLCN 関連腎がんを集積し、次世代シーケンサーによる全エクソン解析を行い、1) FLCN 関連腎がんの発症に関わる新規の腫瘍関連遺伝子を同定する、2) 発症に関わるシグナル経路に存在する新規の診断マーカーあるいは治療標的候補分子を探索する、3) 本解析研究を通じて、本邦の BHD 症候群の疫学や臨床的特徴、合併病変の特徴を明らかにして、家系患者の最適な診断、治療、フォロー法を考察することを目標とした。

本邦の BHD 症候群あるいはその疑いの家系患者について診療、病理診断及び遺伝子診断を進め本研究開発期間終了時点までにスクリーニングを行った家系数は 157 例に達し、このうちの 137 例で FLCN 遺伝子の胚細胞性遺伝子変異検出法による遺伝子診断を行い 120 例で遺伝子変異が確認されたため最終的な確定診断に至った。この間患者 300 名以上の腎病変、肺、皮膚等の合併疾患に関する臨床病理学的情報を集積し、これを検証した。また BHD 症候群確定診断患者 20 名より腎がんの手術検体 39 個を収集した。収集した腎がん検体および対となる正常コントロール検体より DNA を調整後、研究支援基盤に送付し次世代シーケンサーによる全エクソン解析を依頼した。研究開発期間の終了時点で、FLCN 関連腎がん 30 検体と対となる正常コントロール 16 検体の全エクソン解析データを取得し、FLCN 遺伝子変異とともにそれ以外の腫瘍発症に関わる可能性が高い遺伝子群の変異（ドライバー遺伝子変異候補）を複数検出した。得られた全エクソン解析データは匿名化後にバイオサイエンスデータベースセンター（NBDC）に登録手続きを進めている。

疾患遺伝子群の機能解析では、まず Flcnf/d 遺伝子型のマウス不死化腎上皮細胞株と Flcn 欠損（Flcnd/d）腎上皮細胞株を作成樹立した。Flcn ノックアウトマウスの解析から明らかになっている Flcn と PPARGC1a, mTORC1 シグナルの解析を行い、Flcn 欠損腎上皮細胞株においては、PPARGC1a の発現が亢進しており、ミトコンドリアの活性化による ROS の増加を認めた。また mTORC1 の活性化を示す S6R のリン酸化の亢進を Flcn 欠損腎上皮細胞株で認めた。さらに Flcn 欠損腎上皮細胞株において TFE3 の活性化によると思われるライソゾーム・バイオジェネシスの亢進を認めた。これらの結果より、樹立した不死化腎上皮細胞株は Flcn 欠損による表現型を示し、今後の更なる機能解析に有効利用できることを確認した。一方 FLCN 関連腎がんの全エクソン解析で得られたドライバー遺伝子候補のうち、クロマチンリモデリング制御因子である SWI/SNF 複合体の構成因子である遺伝子 X に着目した。熊本大学生命資源研究・支援センターで作製された可変型遺伝子トラップ ES クローンのうち、X1 の遺伝子トラップクローンが樹立済みであったためキメラマウスの作製を開始した。また X2 のトラップ ES クローンからの遺伝子改変マウスもバッククロス中であったため、Flcn フロックスマウス（Flcnf/f）と交配を開始した。