

様 式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

科学研究費助成事業

研究成果報告書



平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460671

研究課題名(和文) 褐色細胞腫の遺伝子診断法の推進とコンパニオン診断法開発を含む分子標的薬の研究

研究課題名(英文) Genetic testing of Pheochromocytoma in Japan

研究代表者

川上 康(Kawakami, Yasushi)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：70234028

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：1)現時点で226例解析済みである発端者178例中変異陽性は65例で、変異陽性率は36.5%(65/178)(内訳:SDHB.31例, SDHD.7例, VHL.14例, RET.4例, TMEM1127.4例, MAX.5例)。本邦においても遺伝性は10%を遥かに上回る。

2)悪性例41例中17例がSDHB変異陽性であった(41.5%)。SDHB変異陽性患者31例中29例が腹部パラングリオ - マが初発(93.5%)であり、悪性化した例が13例(13/31=41.9%)であった。日本においてもSDHB変異は、腹部パラングリオ - マが初発で悪性化しやすい。

研究成果の概要(英文)：1) Since 2007, we have carried out genetic testing in 226 cases in Japan. In 178 index cases, we found 65 cases whose genetic mutations are positive and summarized herein: SDHB 31 cases, SDHD 7 cases, VHL 14 cases, RET 4 cases, TMEM 127 4 cases, MAX 5 cases. Consequently, notably high degree (65/178=36.5%) of patients carry genetic mutation.

2) In the present study, analysis of blood taken from 41 cases of malignant pheochromocytomas in Japanese subjects led to the identification of 17 SDHB mutations (17/41=41.5%). It should be noted that these SDHB mutations were detected mainly from abdominal paraganglioma-derived malignant cases (29/31=93.5%). Conclusion and perspective: Also in Japan, 1) remarkable high degree of patients (around 40%) carry genetic mutation and 2)SDHB is highly involved in malignant pheochromocytomas. Thus, genetic testing is prerequisite for diagnosis and treatment of pheochromocytomas/ paragangliomas in our country.

研究分野：代謝内分泌

キーワード：褐色細胞腫 遺伝子診断 SDHB

1. 研究開始当初の背景

研究の学術的背景

1) 今世紀に入り、褐色細胞腫の遺伝的なバックグラウンドが急速に解明され、遺伝性 (germline 遺伝子変異) は 30-40% とされる。

褐色細胞腫・パラングリオーマ (PPGL) の原因遺伝子は20世紀までは、*NF1*. *RET*. *VHL* の3種類しか知られていなかった。他方、21世紀に入り2005までに *SDHB*. *SDHC*. *SDHD*、最近で *SDHA*. *SDHAF2*. *TMEM127*. *MAX* と4つ、少なくとも現時点で計15類の遺伝子が同定されている。かつて褐色細胞腫は10%病とも呼ばれたが、最近の研究の急速な進展により、遺伝性の頻度はこの有名な古典的な法則よりもはるかに高いとされている。最新のコンセンサスとしては、褐色細胞腫の全体の30%が遺伝性 (germline mutation を有する) である。すなわち、遺伝性の頻度に関して既にこの有名な古典的な10%ルールは現在の実情に沿わない。

2) *SDHB* の変異は褐色細胞腫の悪性化の診断マーカーになる。

悪性褐色細胞腫は比較的若年で遠隔転移を来し、確立した治療法はなく進行性に増悪する罹病期間の長い予後不良な疾患である。悪性褐色細胞腫診断の最大の課題は良性との鑑別診断が不可能な点である。*SDHB* の変異のある場合は腹部のパラングリオーマを 90% で初発とし、その後高率 (45%) で遠隔転移 (悪性化) することから悪性褐色細胞腫の早期診断マーカーになる。

2. 研究の目的

遺伝子解析研究 2007 年遺伝子解析開始以来、全国からの検体を 200 検体以上解析し

ている。日本において *SDHB* を初めとする多種類の褐色細胞腫遺伝子解析の集中解析体制を整えているのは、筑波大学の申請者のグループのみである。本研究では、それらの遺伝子の中でも悪性化と関連する *SDHB* の臨床的評価およびそれに引き続く臨床的対応法の確立を第一目標とする。並行して、他の関連遺伝子の解析も行うことで、それぞれの遺伝子の日本人における頻度や症状などの病態を明らかにする。

(基礎研究) 悪性褐色細胞腫の治療に効果がある Sunitinib の腫瘍細胞での直接効果を、申請者らは明らかにしている。一方、Sunitinib は約半数の悪性患者で有効でしかなく、かつ使用を続けていくうちに効果が減弱することが知られている。副作用も重篤な例が報告されている。従って、副作用軽減など安全な使用の実現を目標として、Sunitinib 抵抗性解除とコンパニオン診断法開発を主とする分子標的薬の基礎研究を行う。

3. 研究の方法

(1) 筑波大学での遺伝子 集中解析体制の推進と (2) 分子標的薬の抵抗性解除とコンパニオン診断法開発を含む分子標的薬の基礎研究の2つのパートから構成される。1) については、ハイスループットなミュレーションのスクリーニングを目指す。今後、新規な変異も次々に同定され、筑波大学における褐色細胞腫の遺伝子解析検体数は益々増加が見込まれていることから、対応可能な態勢作りを目指す。さらに、連帯研究者との共同研究で、臨床データと遺伝子のデータと比較研究を行う。このようなデータの蓄積により遺伝マーカー *SDHB* を用いた臨床的対応法の確立を目指す。

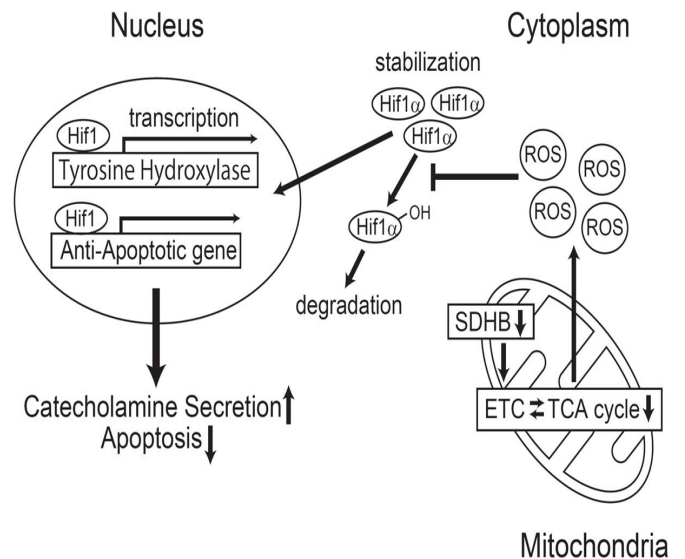
(2) 申請者らは、悪性褐色細胞腫の治療に

効果があると報告されている分子標的薬 Sunitinib の腫瘍細胞での直接効果を明らかにしている。副作用軽減など安全な使用の実現を目標として、Sunitinib 抵抗性解除とコンパニオン診断法開発を主とする分子標的薬の基礎研究を行う。

4. 研究成果

(1) 全体で 226 例解析済である(家系診断者の 43 例を含む)。発端者 178 例中変異陽例は 65 例で、変異陽性率は 36.5% (内訳:SDHB.31 例, SDHD.7 例, VHL.14 例, RET.4 例, TMEM112.4 例, MAX.5 例)。また SDHB 変異陽性例中の 41%が悪性である(13/31)。すなわち、本邦においても遺伝性は 40%近くと高率で、さらに SDHB 変異例は悪性化と密接に関連することが初めて証明された(投稿準備中)。

(2) 分子標的薬の基礎的な検討につながる発症機序の解析を行い英文論文として下記論文 1 が受理された。すなわち本論文では SDHB ノックダウンで TCA 回路のコハク酸脱水素酵素活性を低下させると、ROS 発生と引き続き HIF 安定化(偽低酸素反応)がみられ、カテコールアミン合成の促進・抗アポトーシスがみられることを明らかにしたものである。本研究から分子標的薬のターゲットとして、ROS 発生と引き続き HIF 安定化(偽低酸素反応)の抑制が示唆された。以下の図に示す。



(Saito Y et al Neurochem Res. 2016 Apr;41(4):696-706) より引用

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 7 件)

2015 以降

1. Saito Y, Ishii KA, Aita Y, Ikeda T, Kawakami Y, Shimano H, Hara H, Takekoshi K. Loss of SDHB elevates catecholamine synthesis and secretion depending on ROS production and HIF stabilization. *Neurochemical Research*. 41(4):696-706, 2016. (査読あり)
2. Imamura H, (6 名略), Takekoshi K, Nuno H Sporadic paraganglioma caused by de novo SDHB mutations in a 6-year-old girl. *Eur J Pediatr*. 175(1):137-141, 2016. (査読あり)
3. Youngju Choi, 8 名省略, Kawakami Y, Shimano H, (6 名省略), Takekoshi K. A common genetic variant of the chromogranin a-derived peptide catestatin is associated with atherogenesis and hypertension in a Japanese population. *Endocrine Journal*. 62 (9), 797-804, 2015. (査読あり)

4. Kimura N, Takekoshi K, (17 名略), Naruse M. Clinicopathological study of SDHB mutation-related pheochromocytoma and sympathetic paraganglioma. *Endocr Relat Cancer* 21(3):L13-16, 2014. (査読あり)
5. Tanaka Y, 以下 2 名略, Kawakami K, Takekoshi K. Plasma free metanephrines in the diagnosis of pheochromocytoma: diagnostic accuracy and strategies for Japanese patients. *Endocr J* 61(7):667-673, 2014(査読あり) .
6. Nakagawa Y, 以下 2 名略, Kawakami K, Takekoshi K, Kobayashi K, Yatoh S, Takahashi A, Yahagi N, Suzuki H, Yamada N, Shimano H. Hepatic CREB3L3 controls whole-body energy homeostasis and improves obesity and diabetes. *Endocrinology* 155(12):4706-4719, 2014(査読あり)
7. 竹越 一博, 川上 康. pheochromocytoma/paraganglioma と遺伝子異常. *BIO Clinica* 29(11):1062-1066, 2014(査読なし)

研究者番号： 40261804

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川上 康 (Kawakami Yasushi)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：70234028

(2) 研究分担者

島野 仁 (Shimano Hitoshi)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：20251241

(3) 連携研究者

竹越 一博 (Takekoshi Kazuhiro)

筑波大学・医学医療系・教授