

図1 VHL病における腎癌の発症年齢分布

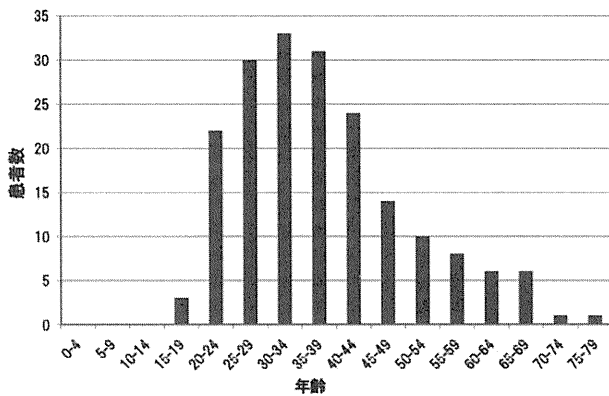


図2 VHL病における腎癌の治療回数と治療方法

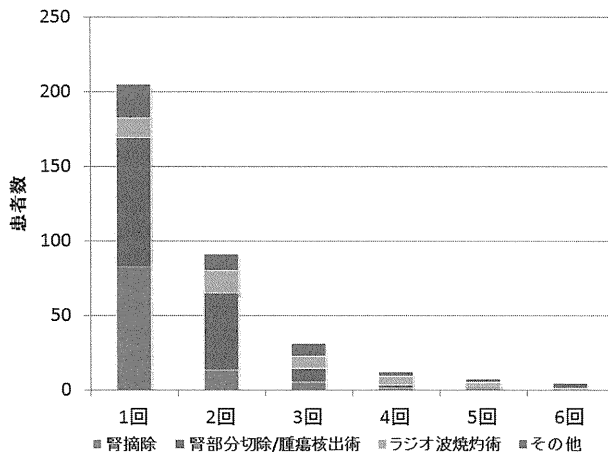
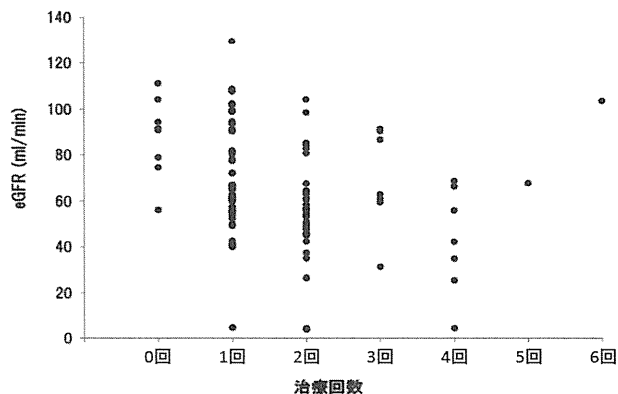


表3 他臓器転移の内訳

単発症例 (16例)	
肺	8
リンパ節	2
脳	2
膵臓	3
副腎	1
肺+リンパ節	1
肺+肝臓	1
肺+脳+甲状腺+副腎	1
肺+リンパ節+脳+骨	1
肺+肝臓+リンパ節+脳	1
肺+脳	1
不明	1
計	23

図3 VHL病患者における腎癌治療に伴う腎機能低下



合併は約50%であり、欧米では文献的には40%以下と報告されているため<sup>3)~6)</sup>、今回の調査結果では日本人ではやや高い傾向にあることが推察された。

本邦におけるVHL病腎癌の発症年齢は最も若年で15歳、発症年齢の中央値は35歳、平均年齢は37.8歳であることが明らかとなり、非遺伝性腎癌の発症年齢とは異なり若年発症の傾向が明らかとなった。この結果に基づき、我々は、CTなどの画像検査によるVHL病診断開始と経過観察の開始年齢を15歳が妥当であると考えた<sup>7)~10)</sup>。

VHL病に合併する腎癌の臨床的な特徴は若年での同時多発、異時的な発症であるとされる。今回の調査でも患者1人当たりの平均治療回数は1.6回であり、2回以上治療している患者の割合は44%、最多6回であり、多発や、異時的な発症により治療回数が増加したものと考えられた(図2)。しかし、非遺伝性腎癌に比べて他臓器転移の頻度は低く、他臓器転移は23例で腎癌を合併する患者の11.1%であった。転移部位は非遺伝性腎癌と同様であった。生命予後は10年生存率94%と比較的よい。非遺伝性の淡明細胞型腎癌ではVHL病と同じVHL病癌抑制遺伝子が発症の起点とされているが、肥満や動脈硬化、高血圧などが発症関連因子とされている<sup>11)</sup>。VHL病腎癌は、非遺伝性腎癌とはこの点で発症と進行起点が

異なると考えられた。発症の男女比についても非遺伝性腎癌と異なり、男女比は、ほぼ1対1であることが明らかとなった。非遺伝性腎癌では男女比は2~3:1とされており、VHL病腎癌は非遺伝性腎癌と異なった病態であると考えられる<sup>12)</sup>。

治療内容は腎部分切除術や核出術などの腎機能温存手術が第1選択となっていた(図2)が、我々も腫瘍径が非常に大きなVHL病での腎癌や、癌の発症部位が腎門部や腎の中心部である症例を経験しており、腫瘍径が大きい場合、または部分的に部分切除やラジオ波治療が困難で、腎摘出術を選択せざるを得ない事があると考えられる。ラジオ波焼灼などの局所療法も有効であるが、残念ながら現在は保険収載されていないため臨床試験か、自費での治療となっていることが問題点である。この点は改善されるべきと考える。

VHL病腎癌に対する複数回の治療により慢性腎機能障害(Chronic kidney disease: CKD)の状態となり(図3,表4)、維持血液透析が必要となる症例も認められた。またECOGのPSの調査結果からも、早期にVHL病の診断を行い、障害を最小限とするためにできるかぎり腎機能温存を図ることが今後とるべき方策であると考えられる。

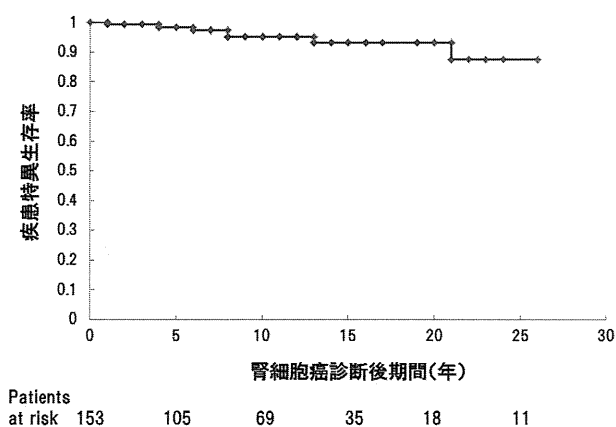
表4 治療内容と eGFR

	eGFR (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	
	平均値	標準偏差
無治療 (11 例)	81.2	21.5
治療 1 回		
腎摘除 (23 例)	56.0	15.7
腎摘除・腎部分切除 (3 例)	55.7	16.8
腎部分切除 (26 例)	86.1	17.1
その他# (9 例)	86.2	17.1
治療 2 回		
腎摘除・腎部分切除 (15 例)	48.9	14.8
腎摘除・その他 (3 例)	40.4	21.0
腎部分切除 2 回 (9 例)	66.2	19.5
その他 (4 例)	76.9	15.0
治療 3 回		
腎摘除・その他 (7 例)	* 32.9 *	18.7
腎部分切除 3 回 (3 例)	89.5	2.5
その他 (6 例)	60.4	2.5
治療 4 回		
腎摘除・その他 (1 例)	56.1	
腎部分切除・その他 (3 例)	61.8	10.1

\*t-test or 多重比較 p&lt;0.05

#その他：焼灼術 (ラジオ波, マイクロ波), 冷凍術, 腎動脈塞栓法

図4 VHL 病患者に発症した腎癌の予後



今回の調査結果はあくまでもアンケートに基づいたものであり、国内の全症例調査が行えているとはいえない。おそらく VHL 病と認識されず治療を受けている症例や、今回のアンケートに参加されなかった医師も存在すると予測される。しかし、欧米の VHL 病の特徴とは多くの点で類似しているため、本邦 VHL 病で発症する腎癌の特徴をよく反映していると思われる。今後、これを公にして VHL 病患者の診断治療、経過観察の開始時期に反映させるべきと考えている。

## 結 論

VHL 病患者の腎癌の発症と進行の特徴を全国疫学調査の結果に基づいて述べた。VHL 病症例の約 50% に発症し、若年時の同時性、または異時性の多発性発症が特徴である。頻回の治療で腎機能の低下が著しいことが明

らかとなった。

本研究は、厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業による助成を受けて行われた。本アンケート調査に協力頂いた全国の泌尿器科、脳神経外科、眼科、消化器内科、その他診療科の先生方に感謝いたします。

## 文 献

- 1) Lonser RR, Glenn GM, Walther M, Chew EY, Libutti SK, Linehan WM and Oldfield EH: von Hippel-Lindau disease. *Lancet*, **361**(9374), 2059—2067, 2003.
- 2) Maher ER, Neumann HP and Richard S: von Hippel-Lindau disease: a clinical and scientific review. *Eur J Hum Genet*, **19**(6), 617—623, 2011.
- 3) Maddock JR, Moran A, Maher ER, Teare MD, Norman A, Payne SJ, Whitehouse R, Dodd, C, Lavin M, Harley N, Super M and Evans DGR: A genetic Registry for von Hippel-Lindau disease. *J MED Genet*, **33**(2), 120—127, 1996.
- 4) Maher ER, Yates JR, Harries R, Benjamin C, Harris R, Moore AT and Ferguson-Smith MA: Clinical features and natural history of von Hippel-Lindau disease. *Q J Med*, **77**(283), 1151—1163, 1990.
- 5) Richard S, Campello C, Taillandier L, Parker F and Resche F: Haemangioblastoma of the central nervous system in von Hippel-Lindau disease. *French VHL Study Group. J Intern Med*, **243**(6), 547—553, 1998.
- 6) Richard S, Chauveau D, Chrétien Y, Beigelman C, Denys A, Fendler JP, Fromont G, Paraf F, Hélénon

- O, Nizard S, Proye C, Resche F and Plouin PF: Renal lesions and pheochromocytoma in von Hippel-Lindau disease. *Adv Nephrol Necker Hosp*, **23**, 1—27, 1994.
- 7) 執印太郎：厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「フォン・ヒッペルリンドウ病の病態調査と診断治療系確立の研究」, 平成22年度 総括・分担研究報告書.
- 8) Shinohara N, Nonomura K, Harabayashi T, Togashi M, Nagamori S and Koyanagi T: Nephron sparing surgery for renal cell carcinoma in von Hippel-Lindau disease. *J Urol*, **154**(6), 2016—2019, 1995.
- 9) Grubb RL 3rd, Choyke PL, Pinto PA, Linehan WM and Walther MM: Management of von Hippel-Lindau-associated kidney cancer. *Nat Clin Pract Urol*, **2**(5), 248—255, 2005.
- 10) Matin SF, Ahrar K, Wood CG, Daniels M and Jonasch E: Patterns of intervention for renal lesions in von Hippel-Lindau disease. *BJU Int*, **102**(8), 940—945, 2008.
- 11) Chow WH, Gridley G, Fraumeni JF Jr and Järnholm B: Obesity, hypertension, and the risk of kidney cancer in men. *N Engl J Med*, **343**(18), 1305—1311, 2000.
- 12) Naito S, Yamamoto N, Takayama T, Muramoto M, Shinohara N, Nishiyama K, Takahashi A, Maruyama R, Saika T, Hoshi S, Nagao K, Yamamoto S, Sugimura I, Uemura H, Koga S, Takahashi M, Ito F, Ozono S, Terachi T, Naito S and Tomita Y: Prognosis of Japanese metastatic renal cell carcinoma patients in the cytokine era: a cooperative group report of 1463 patients. *Eur Urol*, **57**(2), 317—325, 2010.

#### THE CURRENT CLINICAL STATUS OF KIDNEY CANCERS IN PATIENTS WITH THE VHL DISEASE IN JAPAN: A NATIONWIDE EPIDEMIOLOGICAL SURVEY

Taro Shuin<sup>1)</sup>, Nobuo Shinohara<sup>2)</sup>, Masahiro Yao<sup>3)</sup>, Ichiro Yamasaki<sup>1)</sup>, Kenji Tamura<sup>1)</sup> and Masayuki Kamada<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>*Department of Urology, Kochi University School of Medicine*

<sup>2)</sup>*Department of Renal and Genitourinary Surgery, Hokkaido University Graduate School of Medicine*

<sup>3)</sup>*Department of Urology, Yokohama City University Graduate School of Medicine*

#### Abstract:

(Purpose) To understand the current clinical features of kidney cancers in patients with von Hippel-Lindau (VHL) disease in Japan.

(Subject and result) We performed a nationwide epidemiological survey of patients with VHL disease using the epidemiology program for incurable disease by the Ministry of Health, Labour and Welfare. The content of the survey included age of onset of VHL disease, sex, residential area, treatment modalities, kidney function, ECOG performance status, and prognosis. Here, we report the results of kidney cancer. The incidence rate of kidney cancer in VHL disease in Japan is 50.3% (206/409). Males and females are equally affected. The mean age of onset is  $37.8 \pm 0.92$  years. The median age of onset is 35 years. The ages of onset are distributed between 15 and 75 years. The mostly affected age of onset is between 20 and 50 years. The incidence rate of patients with metastasis is 11.1% (23/206). The most common site for metastasis is the lung (60%, 14/23). Due to multiple numbers of tumors at initial diagnosis and the metachronous development of tumors, patients received treatment on multiple occasions (mean 1.6 times), including partial nephrectomy (46%), total nephrectomy (31%) or radiofrequency ablation (14%) up to 6 times. The multiple treatments resulted in deterioration of the kidney function, causing chronic dialyses in 7 cases (3%). The ECOG performance status was scored as more than 1 in 42% of patients. The ten-year survival rate in VHL patients with kidney cancer was 94%, which is relatively high compared with that survival rates in sporadic kidney cancers.

(Conclusion) The current study indicates that the age of onset of kidney cancers in VHL disease is relatively young, and kidney cancers have features of metachronous development. The clinical features of kidney cancer developed in VHL disease among Japanese population are very similar with those in European countries. Multiple treatments result in deterioration of the kidney function.

(Jpn. J. Urol 103(3): 552-556, 2012)

**Keywords:** von Hippel-Lindau (VHL) disease, kidney cancer, nationwide epidemiological survey

Received: September 29, 2011, Accepted: December 15, 2011

© 2012 Japanese Urological Association

## 本邦 von Hippel-Lindau 病に伴う褐色細胞腫の特徴：全国疫学調査とその解析結果

<sup>1)</sup> 高知大学医学部泌尿器科学教室, <sup>2)</sup> 横浜市立大学医学部泌尿器病態学, <sup>3)</sup> 北海道大学大学院医学研究科腎泌尿器外科学分野

執印 太郎<sup>1)</sup> 矢尾 正祐<sup>2)</sup> 篠原 信雄<sup>3)</sup>  
山崎 一郎<sup>1)</sup> 田村 賢司<sup>1)</sup>

### 要旨：

(目的) 本邦 von Hippel-Lindau (VHL) 病に伴う褐色細胞腫の臨床的特徴を明らかにする。

(対象と方法) 平成 21～23 年度厚生労働科学研究費補助金難治疾患克服研究事業にて VHL 病患者全国疫学調査を本邦で初めて施行し、発症年齢、性別、居住県、治療内容、副腎不全の有無、予後等の臨床情報を集積し VHL 病に伴う褐色細胞腫の特徴を明らかにした。

(結果) 褐色細胞腫は全患者 409 例中 62 例 (15.1%) に合併していた。発症率は欧米と同等で性差なく、発症年齢は平均  $29.7 \pm 2.0$  歳、中央値 31.5 歳、年齢分布は 10～75 歳で、最多発症年齢は 15～20 歳と 35～40 歳の二峰性を示した。両側 26 例 (41.9%)、副腎外発症 8 例 (12.9%)、悪性 4 例 (6.4%) であった。手術回数は 1 回が 65%、2～3 回が 19.3% で、6 例 (10%) は無症候性で経過観察がなされ、両側例 26 例中 14 例 (56%) で術後のステロイド補充療法が行われていた。褐色細胞腫関連死は 5 例で、内訳は悪性転移 4 例、術後ステロイド補充中の感染症 1 例で循環器系合併による死亡例はなかった。

(結論) 本邦 VHL 病褐色細胞腫の特徴は、発症頻度 15% で、若年例、多発性異時性に発症、両側例、悪性例等、多彩な特徴が明らかとなった。

(日泌尿会誌 103(3) : 557～561, 2012)

キーワード：von Hippel-Lindau 病, 褐色細胞腫, 全国疫学調査

### 緒 言

von Hippel-Lindau 病 (以下、VHL 病) は、染色体 3 番短腕に原因遺伝子が存在する常染色体優性遺伝性の腫瘍多発症候群である。欧米ではその発症頻度は 36,000～53,000 に 1 人といわれている。VHL 病では中枢神経系、内耳、網膜、副腎、腎臓、膵臓、精巣上体、子宮間膜等の多数の臓器に腫瘍や嚢胞性病変を、10 歳未満という幼少児期から 70 歳までのほぼ生涯に渡り発症する。そのため、全ての患者で外科的治療回数が必然的に多くなることが容易に推定される。さらには治療に伴い多くの後遺症も残るため QOL の悪い難治性疾患とされる<sup>1)2)</sup>。また、過去には腎癌の進行、転移による死亡例や、中枢神経系血管芽腫で麻痺や致死的な合併症を起こす症例も少なからずみられた。

VHL 病の臨床診断基準は、現在表 1 のようにまとめられており<sup>1)2)</sup>、さらにその臨床病型は、褐色細胞腫の発症の有無により、褐色細胞腫がみられない VHL 病 1 型とこれを発症する VHL 病 2 型 A, B, C に分けられている (表 2)。VHL 病に伴う褐色細胞腫は、VHL 病患者全体では 10～20% に起こるとされているが、2 型家系患者に限れば、70～80% という高頻度で若年性に発症することが

知られている。高血圧発作などを含む特有の症状や複数回の手術、また術後の副腎機能不全などで、やはり QOL を大きく損なう可能性が考えられる。欧米諸国では過去に VHL 病の疫学的な病態調査が行われてその臨床的特徴が明らかにされている<sup>3)～5)</sup>。一方、本邦では大規模な病態調査はこれまで全くなされておらず、特に褐色細胞腫は 10 歳以下の発症もみられるため長期の経過観察が必要とされるが、一般の疾患における診療ガイドラインなどの様に手引きとなるものも全く存在しなかった。

今回、我々は本邦で初めて、平成 21～23 年度に厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業の研究奨励疾患として、泌尿器科、脳神経外科、眼科、消化器内科の専門医を対象に VHL 病の病態に関する全国的な疫学調査を行ったが、特にそのうちの褐色細胞腫について解析を行い報告する。

### 対象と方法

平成 21～23 年度にかけて厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業の研究奨励疾患として VHL 病の疫学調査を全国の泌尿器科 (1,200 施設)、脳神経外科 (1,141 名)、眼科 (1,149 名)、消化器内科 (1,055 名) を対象に行った。泌尿器科、脳神経外科、眼科は全国の各教

表1 VHL 病の臨床診断基準

VHL 病の家族歴が明らかである場合
中枢神経系血管芽腫、網膜血管腫、腎癌、褐色細胞腫、膵臓の病気（膵嚢胞・膵神経内分泌腫瘍）、精巣上体嚢胞腺腫があることが診断されている。
VHL 病の家族歴がはっきりしない場合
・中枢神経系血管芽腫あるいは網膜血管腫を複数個（2 個以上）発症
・中枢神経系血管芽腫または網膜血管腫と以下にのべる病気がある
腎癌
褐色細胞腫
膵臓の病気（膵嚢胞・膵臓の神経内分泌腫瘍）
精巣上体嚢胞腺腫

表2 VHL 病の臨床的病型と調査における症例数

分類	腎癌	褐色細胞腫	網膜血管腫	中枢神経系血管芽腫	症例数
VHL 病 1 型	+	-	+	+	
VHL 病 2 型 A	-	+	+	+	31
VHL 病 2 型 B	+	+	+	+	20
VHL 病 2 型 C	-	+	-	-	11

図1 VHL 病褐色細胞腫の発症年齢分布

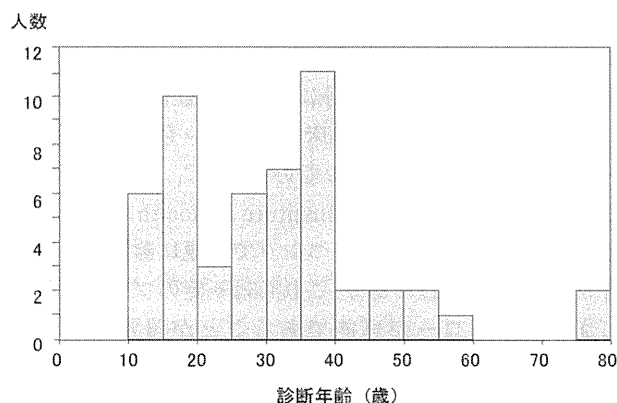
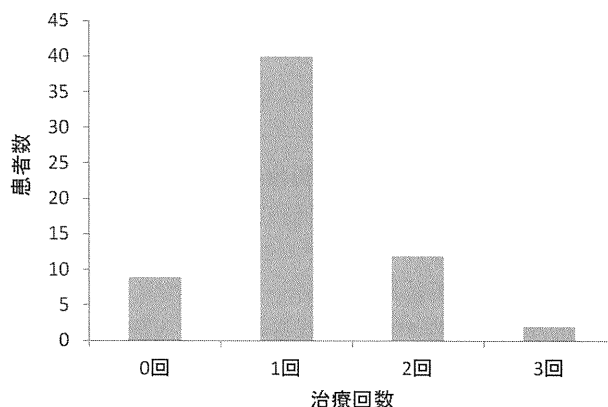


図2 VHL 病褐色細胞腫の治療回数別患者数



育施設及び教育関連施設の専門医施設長に対して、消化器内科は、日本膵臓学会員に調査を依頼した。本調査は、日本泌尿器科学会および日本膵臓病学会の学術委員会の許諾を得て、その他の関連学会は事務局の了解を得て行った。一次調査として、VHL 病の診断治療経験の有無を調査し、その結果、診療経験ありと回答のあった医師(240 名)に対し、二次調査として疾患ごとの個別調査項目を提示しアンケート調査を行った。二次調査の回答率は 70.4% であった。褐色細胞腫に関する調査項目は、発症年齢、性別、居住県、治療内容、副腎不全の有無、予後情報等を集積した。本疫学調査研究は高知大学医学部の倫理委員会にて審査、承認を得た。

## 結 果

### 1) 発症病態調査の結果

VHL 病の診断治療の経験があった各科専門医師より回答された今回の調査で VHL 病褐色細胞腫の発症者数は 62 例で、VHL 病全登録患者 409 例の 15.4% に発症が

みられた。この発症頻度は欧米報告とほぼ同様であった。発症平均年齢  $29.7 \pm 2.0$  歳、中央値 31.5 歳、発症年齢は 10 歳から 75 歳までと幅広く、15~20 歳と、35~40 歳に二峰性の発症ピークを示した(図 1)。両側副腎褐色細胞腫が 26 例(41.9%)、副腎外発症のいわゆる傍神経節腫(paraganglioma)が 8 例(12.9%)であった。性別では男性、女性患者がともに 31 例ずつで、性差はなかった。転移が確認された悪性例が 4 例(6.5%)あったが、これは欧米報告(1.6~3.6%)よりやや高頻度であった<sup>1)4)5)</sup>。図 1 上で悪性例は 20 歳代、50 歳代の発症頻度が低い年代で発症がみられた。

### 2) 治療内容と予後についての調査結果

褐色細胞腫に対する手術回数は、1 回のみが 65%、複数回(2, 3 回)のものが 19.3% であった(図 2)。4 回以上手術を受けた症例はなかった。

術後のステロイド補充療法については、両側例 26 例中 14 例(56%)で手術後にステロイド補充が行われていた。一方残りの 12 例では補充は不要で、8 例が機能温存手術

表3 VHL病褐色細胞腫の外科的治療とステロイド補充療法について

	ステロイド 補充療法あり	ステロイド 補充療法なし
両側副腎摘除	5	0
一側副腎摘除+対側副腎部分切除・腫瘍核出術	2	7
一側副腎摘除	1	27
両側副腎部分切除・腫瘍核出術	0	1
一側副腎部分切除・腫瘍核出術	0	3

施行, 3例は片側のみの手術で対側は経過観察がなされていた(表3).

死亡例については褐色細胞腫に関連した死亡例は5例で, その内訳は悪性褐色細胞腫で転移によるもの4例, 手術後ステロイド補充を行い経過観察中に重症感染症(胆嚢炎)を併発したものの1例であった. 褐色細胞腫発作による循環器系の致死合併症を起こした症例は今回みられなかった.

調査施行時点で経過観察中の症例については, 10例で経過観察が行われており, このうち4例は降圧剤投与が行われていた. 一方残りの6例(2型A, 4例, 2型B, 2例)は, 無症候性, 非機能性と考えられ, 無治療で経過観察がなされていた.

## 考 察

VHL病のうち2型家系で褐色細胞腫が好発することが, 欧米での中心的な施設や研究グループによる疫学的解析報告から知られてきた<sup>1)2)</sup>. これらは数十例規模の症例を集積した解析結果である. 一方本邦では, これまで単発的な症例報告が散見されるのみで, VHL病のまとまった疫学調査はなされておらず, 日本人でのVHL病患者における褐色細胞腫の頻度, 発症経過や治療法, 予後などの詳細はまったく不明であった. そこで今回我々は, 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業の研究奨励疾患として, 平成21~23年度にかけて本邦のVHL病の全国疫学調査を行い, さらにそこで集計されたVHL病に伴う褐色細胞腫62例について臨床的特徴を解析した.

過去の成瀬班で詳細な褐色細胞腫の研究がなされ, 「褐色細胞腫診療指針2010年度版」が発表されているが<sup>9)</sup>, その報告書では2例にのみにVHL病の合併する褐色細胞腫が報告されていた. 本研究との間の重複については不明であり, 本研究では別の褐色細胞腫の症例を調査した可能性が高いと考えられた<sup>7)</sup>.

従来の欧米例の報告ではVHL患者内での褐色細胞腫症例の頻度は10~20%で, 診断年齢は3~60歳, 性差はなく, 両側副腎例が約50%, 副腎外発症が14~20%, 悪性転化例1.6~3.6%などが知られている<sup>1)4)5)8)</sup>. 本調査では本邦における褐色細胞腫の発症年齢は最若年で10歳, 発症年齢の平均年齢 $29.7 \pm 2.0$ 歳, 中央値31.5歳であることが明らかとなった. また, 興味深いことは15~19

歳と35~39歳の2つの発症診断のピークを示した(図1). 2型Aは10~19歳に発症が多い傾向があり, 2型Bは35~39歳に発症が多い傾向があったが, はっきりとした有意差は認めなかった. このような特徴は網膜血管芽腫, 腓神経内分泌腫瘍にも類似する傾向があった. これらの特徴は全体としては欧米と類似した傾向で, その中で本邦例では診断年齢が10~75歳とやや高齢側に偏っている点, また悪性例の頻度が本邦では6.4%とやや高い傾向が観察された.

遺伝性褐色細胞腫の原因疾患としてはVHL病, Pheochromocytomas and Paragangliomas syndromes, Multiple Endocrine Neoplasia type2等の疾患がある<sup>9)</sup>. その中ではVHL病の褐色細胞腫の特徴の一つに, 孤発例や多発性内分泌腺腫症(MEN)等に合併した症例と比較して, よりホルモン活性が低く臨床症状が軽いものの頻度が高いことが欧米例で知られている<sup>4)10)~12)</sup>. 米国National Cancer Institute/National Institute of Healthのデータでは, VHL家系のスクリーニングで新規に診断された場合35%が非機能性であり, これらは一定のプロトコールに従ってフォローが可能であることが報告されている<sup>2)4)5)10)</sup>. 今回の集計からも, 10人の経過観察症例中6人が非機能性と考えられ無治療でフォローされていた. これらについてのカテコールアミンの検査値や腫瘍サイズ, 観察期間等の細かな情報は今回集計できていないが, 欧米例と同様にホルモン活性の低い症例が存在することを示すと考えられた.

今回, VHL病における褐色細胞腫の病態の複雑な点が明らかとなった. カテコールアミン分泌能による機能性か非機能性かの判断や, 機能性の場合の早期手術による副腎機能の温存の可能性が示唆された. これらの結果に基づき, VHL病患者におけるCTなどの画像検査による診断と経過観察の開始年齢は10歳が妥当と考えた<sup>9)</sup>.

今回のアンケート調査では中枢神経系血管芽腫と網膜血管腫の発症中央値は約28歳, 腎癌の発症中央値は約35歳, 腓神経内分泌腫瘍の発症中央値は34歳であることも判明した. 褐色細胞腫の発症中央値は約31.5歳と発症年齢の中央値に差があるため, 治療を受ける時期がずれることが考えられる<sup>13)</sup>. それぞれの腫瘍を早期に発見できれば, 腎癌や褐色細胞腫では腹腔鏡手術, さらに腎癌にはラジオ波焼灼という手段もあるため, より侵襲の少ない治療を受けることが可能と考えられる.

VHL 病に伴う褐色細胞腫は本来非常に頻度が低く、本邦ではこれまで単一の症例が散発的に報告されてきたのが実情である。今回初めて全国規模での集積が行われ、その臨床的特徴がある程度明らかになった。欧米の中心的な機関での報告も、今回の集計とほぼ同様の 50~60 例程度の解析結果であり<sup>3)~5)</sup>、今後さらに全国調査を継続し症例を集積し、本邦例の特徴、欧米例との差異を明らかにしていくことが肝要と考えられる。

今回、厚生労働省難治疾患克服研究事業、平成 21 年度「褐色細胞腫の実態調査と診断指針の作成に関する研究」および平成 22 年度「褐色細胞腫の診断および治療法の推進に関する研究」の報告書の内容を検討したが、その中には VHL に関連する褐色細胞腫の記載は 2 例のみであった。そのため我々の調査結果は「褐色細胞腫の実態調査と診断指針の作成に関する研究」とは重複が少なく、ほぼ別の対象を調査している可能性が示唆された。今後、褐色細胞腫の実態調査と診断指針も参考にして VHL 病の調査を進めて診療指針も改変する必要があると考えられた<sup>14)</sup>。

## 結 論

我々は平成 21~23 年度にかけて VHL 病に伴う褐色細胞腫とその治療内容について国内泌尿器科、脳神経外科、眼科、膵臓内科の各専門医を対象に厚生労働科学研究費補助金難治疾患克服研究事業の研究奨励疾患として本邦で初めて全国疫学調査を行った。その結果では VHL 病で発症する褐色細胞腫の発症の特徴はほぼ欧米と同様であり、若年発症で且つ一生涯発症し、発症頻度 15% で、若年例、多発性異時に発症、両側例、悪性例等、多彩な特徴が明らかとなった。

本研究は、厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業による助成を受けて行われた。本アンケート調査に協力頂いた全国の泌尿器科、脳神経外科、眼科、消化器内科、その他診療科の先生方に感謝いたします。

## 文 献

- 1) Lonsler RR, Glenn GM, Walther M, Chew EY, Libutti SK, Linehan WM and Oldfield EH: von Hippel-Lindau disease. *Lancet*, **361**(9374), 2059—2067, 2003.
- 2) Maher ER, Neumann HP and Richard S: von Hippel-Lindau disease: clinical and scientific review. *Eur J Hum Genet*, **19**(6), 617—623, 2011.
- 3) Richard S, Chauveau D, Chretien Y, Beigelman C, Denys A, Fendler JP, Fromont G, Paraf F, Helenon O, Nizard S, Proye C, Resche F and Plouin PF: Renal Lesions and Pheochromocytoma in von Hippel-Lindau Disease. *Advance in Nephrology*, **23**, 1—27, 1994.
- 4) Walther MM, Reiter R, Keiser HR, Choyke PL, Venzon D, Hurley K, Gnarr JR, Reynolds JC, Glenn GM, Zbar B and Linehan WM: Clinical and genetic characterization of pheochromocytoma in von Hippel-Lindau families: comparison with sporadic pheochromocytoma gives insight into natural history of pheochromocytoma. *J Urol*, **162**(3 Pt 1), 659—664, 1999.
- 5) Gimenez-Roqueplo AP, Lehnert H, Mannelli M, Neumann H, Opocher G, Maher ER and Plouin PF: European Network for the Study of Adrenal Tumours (ENS@T) Pheochromocytoma Working Group: Pheochromocytoma, new genes and screening strategies. *Clin Endocrinol*, **65**(6), 699—705, 2006.
- 6) 厚生労働省難治性疾患研究事業「褐色細胞腫の実態調査と診療指針の作成」研究班：褐色細胞腫診療指針 2010, 2010.
- 7) 成瀬光栄：厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業 褐色細胞腫の実態調査と診断指針の作成に関する研究 平成 21 年度 総括・分担研究報告書, 2010.
- 8) Eisenhofer G, Bornstein SR, Brouwers FM, Cheung NK, Dahia PL, de Krijger RR, Giordano TJ, Greene LA, Goldstein DS, Lehnert H, Manger WM, Maris JM, Neumann HP, Pacak K, Shulkin BL, Smith DI, Tischler AS and Young WF Jr: Malignant pheochromocytoma: current status and initiatives for future progress. *Endocr Relat Cancer*, **11**(3), 423—436, 2004.
- 9) Neumann HP, Bausch B, McWhinney SR, Bender BU, Gimm O, Franke G, Schipper J, Klisch J, Althoefer C, Zerres K, Januszewicz A, Eng C, Smith WM, Munk R, Manz T, Glaesker S, Apel TW, Treier M, Reineke M, Walz MK, Hoang-Vu C, Brauckhoff M, Klein-Franke A, Klose P, Schmidt H, Maier-Woelfle M, Peczkowska M, Szmigielski C and Eng C; Freiburg-Warsaw-Columbus Pheochromocytoma Study Group: Germ-line mutations in nonsyndromic pheochromocytoma. *N Engl J Med*, **346**(19), 1459—1466, 2002.
- 10) Eisenhofer G, Lenders JW, Linehan WM, Walther MM, Goldstein DS and Keiser HR: Plasma normetanephrine and metanephrine for detecting pheochromocytoma in von Hippel-Lindau disease and multiple endocrine neoplasia type 2. *N Engl J Med*, **340**(24), 1872—1879, 1999.
- 11) Eisenhofer G, Walther MM, Huynh TT, Li ST, Bornstein SR, Vortmeyer A, Mannelli M, Goldstein DS, Linehan WM, Lenders JW and Pacak K: Pheochromocytomas in von Hippel-Lindau syndrome and multiple endocrine neoplasia type 2 display distinct biochemical and clinical phenotypes. *J Clin Endocri-*

- nol Metab, **86**(5), 1999—2008, 2001.
- 12) Eisenhofer G, Huynh TT, Elkahlon A, Morris JC, Bratslavsky G, Linehan WM, Zhuang Z, Balgley BM, Lee CS, Mannelli M, Lenders JW, Bornstein SR and Pacak K: Differential expression of the regulated catecholamine secretory pathway in different hereditary forms of pheochromocytoma. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, **295**(5), E1223—1233, 2008.
- 13) 執印太郎：厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業 フォン・ヒッペルリンドウ病の病態調査と診断治療系確立の研究 平成22年度 総括・分担研究報告書, p 139—140, p 154, 2011.
- 14) 成瀬光栄：厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業 褐色細胞腫の診断及び治療法の推進に関する研究 平成22年度 総括・分担研究報告書, 2011.

## CLINICAL STATUS OF VON HIPPEL-LINDAU DISEASE ASSOCIATED PHEOCHROMOCYTOMA IN JAPAN: A NATIONAL EPIDEMIOLOGIC SURVEY

Taro Shuin<sup>1)</sup>, Masahiro Yao<sup>2)</sup>, Nobuo Shinohara<sup>3)</sup>, Ichiro Yamasaki<sup>1)</sup> and Kenji Tamura<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>*Department of Urology, Kochi University School of Medicine*

<sup>2)</sup>*Department of Urology, Yokohama City University Graduate School of Medicine*

<sup>3)</sup>*Department of Renal and Genitourinary Surgery, Hokkaido University Graduate School of Medicine*

### Abstract:

(Purpose) To understand the current clinical status of pheochromocytoma (Pheo) in patients with von Hippel-Lindau disease (VHL) in Japan.

(Patients and methods) We picked up and summarized Pheos from a nationwide epidemiologic survey for VHL disease based on the epidemiologic study program for incurable disease by the Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare. The details of the survey included age of onset, sex, living area, treatment modalities, functional status of the adrenal gland after surgical treatment, and patient outcome.

(Results) The incidence rate of Pheo in VHL disease in Japan was 15.1% (62/409). Males and females were equally affected. The mean and median ages of onset were 29.7 and 31.5 years, respectively. The age of onset was distributed between 10 and 75 years and presented two large peaks between 15–20 and 35–40 years. Twenty-six (41.9%) bilateral cases, 8 (12.9%) paragangliomas, and 4 (6.4%) malignant cases were found. Forty-one (65%) patients underwent surgical resection once and 13 (9%) underwent 2 or 3 times surgeries whereas six (10%) nonfunctional cases were surveyed without surgical treatment. Fourteen of 26 bilateral Pheos (56%) received steroid replacement therapy following surgery. Four cases died from metastases of malignant Pheos and one from a severe infection during steroid replacement therapy. None of the patients died of cardiovascular complication due to Pheo crisis.

(Conclusion) It is concluded that Pheos in VHL disease developed from a relatively young age and was associated with 15% of all patients, including a small ratio of malignant cases. More than 40% of cases suffered bilateral adrenal tumors. The clinical features in Japan appear to be similar to those in the Western countries according to the current survey.

(*Jpn. J. Urol* 103(3): 557-561, 2012)

**Keywords:** von Hippel-Lindau disease, pheochromocytoma, nationwide epidemiological survey

Received: September 29, 2011, Accepted: December 19, 2011

© 2012 Japanese Urological Association



# von Hippel-Lindau (VHL) 病における網膜血管腫発症の 全国疫学調査結果

松下恵理子\*1 福島敦樹\*1 石田 晋\*2 白木邦彦\*3 米谷 新\*4 執印太郎\*5

(「VHL 病の病態調査と診断治療系確立の研究」班)

\*1 高知大学医学部眼科学講座 \*2 北海道大学大学院医学研究科眼科学分野 \*3 大阪市立大学大学院医学研究科視覚病態学  
\*4 埼玉医科大学眼科学教室 \*5 高知大学医学部泌尿器科学講座

## Epidemiological Investigation of Retinal Angioma of von Hippel-Lindau Disease in Japan

Eriko Matsushita<sup>1)</sup>, Atsuki Fukushima<sup>1)</sup>, Susumu Ishida<sup>2)</sup>, Kunihiko Shiraki<sup>3)</sup>, Shin Yoneya<sup>4)</sup> and Taro Shuin<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup> Department of Ophthalmology, Kochi Medical School, <sup>2)</sup> Department of Ophthalmology, Hokkaido University Graduate School of Medicine, <sup>3)</sup> Department of Ophthalmology and Visual Sciences, Osaka City University, Graduate School of Medicine, <sup>4)</sup> Department of Ophthalmology, Saitama Medical University, <sup>5)</sup> Department of Urology, Kochi Medical School

過去における欧米の文献では、von Hippel-Lindau (VHL) 病に一定の割合で網膜血管腫が発症することが知られている。しかし、わが国では正確な疫学調査がされておらず、VHL 病患者の網膜血管腫の頻度や病態は明らかではない。平成 21 年から 23 年にかけて、筆者らは VHL 病に合併する網膜血管腫について、国内脳神経外科、眼科、泌尿器科、膵臓病内科の各専門医を対象に疫学調査を行った。その結果、VHL 病患者の網膜血管腫の発症数は 140 名で、VHL 病全患者の 34% に合併していた。男女比は 1 : 1 で、発症年齢は 5~68 歳で、平均値 28.5 歳であった。患者分布は北海道、太平洋沿岸から瀬戸内海地域に帯状に多い傾向にあった。治療に関しては網膜光凝固術を施行されている症例が最も多く、ついで冷凍凝固術が施行されていた。抗 vascular endothelial growth factor (VEGF) 抗体硝子体注射など新たな治療に取り組む施設もあった。

Previous reports demonstrate that retinal angioma is observed in a certain percentage of patients with von Hippel-Lindau disease (VHL) patients in Europe and the United States. However, because no epidemiological investigation has yet been conducted in Japan, the frequency and conditions of retinal angioma remain obscure in Japan. From 2009 to 2011, we conducted an epidemiological investigation using questionnaires for neurosurgeons, ophthalmologists, urologists and physicians specialized in pancreatic diseases. Of 409 VHL patients, 140 had retinal angioma, a frequency of 34%. The ratio between males and females was 1 : the mean (range) age at the diagnosis was 28.5 (5~68) years. Geographically, distribution of patients is likely to be in a belt-shaped pattern along the coast of Hokkaido, from the Pacific Ocean to the Inland Sea. Most of the patients received laser photocoagulation. New therapeutic approaches, such as intravitreal injection of anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) antibody, were tried in some institutions.

(Atarashii Ganka (Journal of the Eye) 28(12) : 1773~1775, 2011)

**Key words :** フォン・ヒッペル・リンドウ病, 網膜血管腫, 疫学調査, 治療. von Hippel-Lindau disease, retinal angioma, epidemiological investigation, therapy.

### はじめに

von Hippel-Lindau (VHL) 病は、染色体 3 番短腕に原因遺伝子が存在する常染色体優性遺伝性疾患である。欧米では発症頻度は 3 万 6 千人に 1 人、または 100 万人に 1 家系の発症であるとされる。中枢神経系、内耳、網膜、副腎、腎

臓、膵臓、精巣上体、子宮などの多数の臓器に腫瘍、嚢胞を発症するとされる。10 歳未満という幼少児期から 70 歳までの長期間にわたって発症し<sup>1,2)</sup>、治療は各臓器の合計で平均 5 回以上の手術に及ぶ患者も多い。その結果、多くの後遺症を残すため quality of life (QOL) の悪い難治性疾患とされる。

〔別刷請求先〕 福島敦樹 : 〒783-8505 南国市岡豊町小廻 高知大学医学部眼科学講座

Reprint requests : Atsuki Fukushima, M.D., Department of Ophthalmology, Kochi Medical School, Kohasu, Oko-cho, Nankoku 783-8505, JAPAN

欧米では過去にVHL病の詳細な病態調査が行われている<sup>3,4)</sup>が、わが国では大規模な病態調査はまったくなされていなかった。特に網膜病変は幼児期から発症するため、早期からの経過観察が必要とされるが、調査結果に基づく診療のガイドラインとなるものはわが国には存在しなかった。今回、筆者らは平成21年から23年にかけて厚生労働省難治疾患克服研究事業研究奨励疾患の一つとして、全国の脳神経外科、眼科、泌尿器科、腫瘍病の専門医を対象に疫学調査を行うことにより、日本におけるVHL病網膜血管腫の現状を把握したので報告する。

## I 研究対象および方法

平成21年から23年にかけて厚生労働省難治疾患克服研究事業研究奨励疾患としてVHL病に合併する網膜血管腫について、国内の脳神経外科(1,141名)、眼科(1,149名)、泌尿器科(1,200名)、腫瘍病内科(1,055名)の各専門医を対象に疫学調査を行った。全国の専門医に対して、VHL病の診断治療経験の有無を調査した。VHL病患者を診療していると回答のあった医師に対して、調査項目を提示してアンケート調査を行った。網膜血管腫についての調査項目は性別、発症年齢、現在の居住県、治療法と、視力障害と視野障害の有無、死亡情報などであった。治療法と治療回数に関するアンケートでは、各患者について、10回分の治療を報告していただき、その何回目にとどの治療を行ったかを記載してもらった。これらの疫学調査は高知大学医学部の倫理委員会審査で許可を得て匿名調査で行った。回収された結果から、わが国の網膜血管腫の実態を把握することにより経過観察、診断・治療指針のアルゴリズムを作成した。

## II 結果

### 1. 発症病態の調査結果

アンケートの回収率は全体で約50%であった。VHL病の

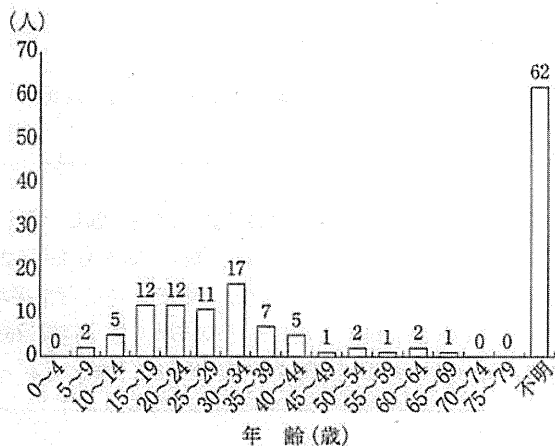


図1 発症年齢分布

診断治療の経験があった各科専門医師より回答されたVHL病網膜血管腫の発症数は140名で、VHL病全患者409名の34%に合併していた。男性：女性は70：70で性差はなかった。発症年齢は5～68歳で発症年齢の平均値28.5歳、中央値28歳であった。発症年齢は小児から高齢者まで幅広いが、15歳から35歳までの若年発症が多かった(図1)。患者の分布は、北海道、太平洋沿岸から瀬戸内海地域にかけて帯状に広がって分布する傾向がみられた(図2)。死亡例については、VHL全体と網膜血管腫で明らかな差はなかった。

### 2. 治療内容についての調査結果

治療についてはレーザー治療が最も多く行われていた。レーザー治療について冷凍凝固術が施行されていた。抗vascular endothelial growth factor (VEGF)抗体硝子体注射、光線力学的療法あるいは硝子体手術が施行された症例もあった

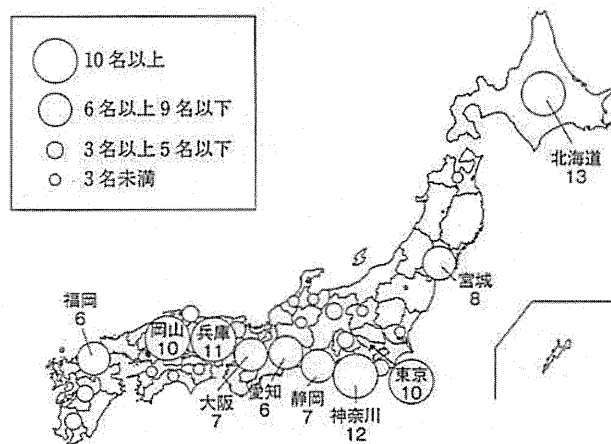


図2 地域分布

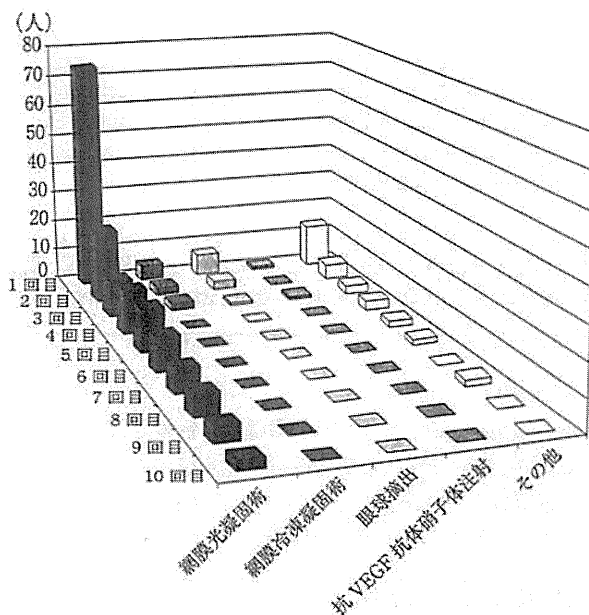


図3 治療法と治療回数

表1 VHL病網膜血管腫診療ガイドラインの要約

- 1) 可能であれば新生児より経過観察を開始する。
- 2) 眼底検査により診断するが、蛍光眼底造影検査などの補助検査も重要である。
- 3) 治療の基本は網膜光凝固であり合併症に対して手術を行う。傍視神経乳頭型では網膜光凝固が不可能な場合もある。その場合には抗VEGF抗体硝子体注射や光線力学的療法を考慮する。

(図3)。

### 3. 経過観察、診断・治療指針のアルゴリズム

発症病態の調査結果と治療内容についての調査結果に基づき、VHL病患者の早期経過観察による診断と治療の指針とアルゴリズムを作成した<sup>5)</sup>。その要約を表1に示す。

## III 考 察

平成21年から23年にかけて厚生労働省難治疾患克服研究事業研究奨励疾患としてVHL病に合併する網膜血管腫について、国内の脳神経外科、眼科、泌尿器科、腎臓病内科の各専門医を対象に疫学調査を行った。今回の調査結果から、わが国のVHL病における網膜血管腫の合併率は34%であることが判明した。白色人種での調査結果による海外の既報では40~70%とされている<sup>4,6)</sup>。VHL病の各病態の発症頻度についての報告は白色人種のみでなされており、黄色人種では網膜血管腫の発症頻度の報告は初めてである。今回の結果は、白色人種と比較し、日本人では網膜血管腫の発症頻度はやや低かった。しかし、性差はなく、青壮年期に発症する傾向については、海外の既報と同様の結果であった<sup>4,6)</sup>。分布に関し、アンケート調査では「現在の居住県」を尋ねており、必ずしも発症県ではないことにも注意を払う必要がある。また、人口の多い地域により多くの患者が分布する傾向にあり、人口当たり換算し、地域差を検討する必要もあると考えられた。

VHL病の網膜血管腫に対する治療として、VHL病以外の血管腫でも第一選択である網膜光凝固術が最も行われている。今回の調査の結果、抗VEGF療法や光線力学的療法など新たな治療に取り組む施設もあった。網膜血管腫の組織学検討からVEGFをはじめとする種々の血管増殖因子が網膜血管腫の発生に関与する可能性が示唆されている<sup>7)</sup>。欧米では、傍視神経乳頭型に対し抗VEGF抗体硝子体注射を含む抗VEGF療法<sup>8,9)</sup>や光線力学的療法<sup>10)</sup>を試み、一定の効果が得られた報告がある。今回の調査では治療法選択に関する詳細な情報は得られていないが、黄斑部に影響を与えている網膜血管腫に施行されたと考えられる。今後の詳細な調査と多施設での検討が期待される。筆者らが昨年作成した網膜血管

腫の診療アルゴリズムでも傍視神経乳頭型の網膜血管腫で網膜光凝固術が不可能な症例には抗VEGF抗体硝子体注射や光線力学的療法を考慮するとした<sup>5)</sup>。今回の調査結果により、本アルゴリズムの妥当性が示され、今後のVHL診療に役立つものと考えられた。

死亡例にVHL病全体と網膜血管腫で特に差がなかったことから、網膜血管腫の合併の有無が生命予後に与える影響は少ないと考えられた。しかし、本調査で得られた範囲では23名の患者で片眼もしくは両眼が失明していたことから、視力障害、視野障害という観点からQOLは著しく障害されていると考えられる。今回の調査結果から、5歳で診断された症例がいることが判明した。アルゴリズムにも記載するように<sup>5)</sup>、家族歴がある場合は可能であれば新生児より眼底検査を行うことにより早期発見・早期治療が可能となり、視力・視野障害の進行予防に役立つと考えられる。

## 文 献

- 1) Lonser RR, Glenn GM, Walther M et al : von Hippel-Lindau disease. *Lancet* 361 : 2059-2067, 2003
- 2) Maher ER, Hartmut HP, Neumann S : von Hippel-Lindau disease : clinical and scientific review. *Eur J Hum Genet* 19 : 617-623, 2011
- 3) Maddock JR, Moran A, Maher ER et al : A genetic registry for von Hippel-Lindau disease. *J Med Genet* 33 : 120-127, 1996
- 4) Maher ER, Yates JR, Harries R et al : Clinical features and natural history of von Hippel-Lindau disease. *Q J Med* 283 : 1151-1163, 1990
- 5) 執印太郎 : 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業 フォン・ヒッペルリンドウ病の病態調査と診断治療系確立の研究。平成22年度 総括・分担研究報告書 150 : 135-136, 2011
- 6) Richard S, Chauveau D, Chrétien Y et al : Renal lesions and pheochromocytoma in von Hippel-Lindau disease. *Adv Nephrol Necker Hosp* 23 : 1-27, 1994
- 7) Chan CC, Collins AB, Chew EY : Molecular pathology of eyes with von Hippel-Lindau (VHL) disease : a review. *Retina* 27 : 1-7, 2007
- 8) Aiello LP, George DJ, Cahill MT et al : Rapid and durable recovery of visual function in a patient with von Hippel-Lindau syndrome after systemic therapy with vascular endothelial growth factor receptor inhibitor su5416. *Ophthalmology* 109 : 1745-1751, 2002
- 9) Dahr SS, Cusick M, Rodriguez-Coleman H et al : Intravitreal anti-vascular endothelial growth factor therapy with pegaptanib for advanced von Hippel-Lindau disease of the retina. *Retina* 27 : 150-158, 2007
- 10) Sachdeva R, Dadgostar H, Kaiser PK et al : Verteporfin photodynamic therapy of six eyes with retinal capillary haemangioma. *Acta Ophthalmol* 88 : 334-340, 2010



かかりつけ医から  
専門医への質問

## 家族性に腎がんを発症する VHL病に関して教えてください

腎がんの大部分は散発性に発症します。しかし、家族性・遺伝性の腎腫瘍症候群は全体の2～3%とまれですが複数知られており、そのなかで von Hippel-Lindau (VHL) 病は最も頻度が高く代表的な疾患です。VHL病は常染色体優性遺伝性で、VHLがん抑制遺伝子の遺伝的変異により生来腫瘍ができやすい体質をもち、腎がん以外では、中枢神経系の血管芽腫、網膜血管腫、脾の嚢胞・神経内分泌腫瘍、腎嚢胞、褐色細胞腫、精巣上体嚢胞腺腫などを発症します。腎がんはVHL患者の25～50%にみられ、20歳以後に同時性あるいは異時性に多発傾向があります。病理組織型は淡明細胞型でその特性は非遺伝性の孤発例と差がないと考えられ、治療法も病変を手術的に切除するのが基本ですが、生涯にわたり発症を繰り返す可能性が高いため、正常腎機能を可能な限り温存する核出術や部分切除術などが勧められます。

矢尾正祐

横浜市立大学医学部泌尿器科学教室 准教授

### 解説

VHL病は、常染色体優性遺伝性の疾患で、複数の臓器に血管に富む腫瘍あるいは嚢胞性病変を多発する。代表的な発症病変を表1に示す。このうち、褐色細胞腫の発症がない家系(VHL1型家系と呼ばれ、家系全体の約80%)と、好発する家系(2型家系、約20%)が知られており、後者では80～90%の患者で褐色細胞腫が発症する。VHL病以外では、家族性乳頭状腎がん、遺伝性平滑筋腫症・腎がん、Birt-Hogg-Dubé病などの遺伝性腎がん症候群がまれであるが知られている。

### ■ VHL 遺伝子およびその機能

VHL遺伝子はがん抑制遺伝子(tumor suppressor gene)に分類され、Knudsonが提唱した2-hitの機構で2つのアレル(allele)に変異が起こりその機能が消失し、細胞の腫瘍化が始まると考えられる。VHL家系患者では、遺伝的変異(germline mutation)により、出生時にすでに片側のVHL遺伝子の不

活性化が起こっており(1-hit)、その後対立アレルに体細胞変異(somatic mutation)が起こることで(2-hit)、遺伝子機能が完全に消失する。一方、散発例の淡明細胞型腎がんでもVHL遺伝子の高頻度(50～80%)の変異、不活性化が検出されるが、この場合には2回の体細胞変異が起きている。臨床的にVHL病と診断された家系患者においては80～90%でVHL遺伝子の遺伝的変異が検出できるので、この変異を指標とした遺伝子診断(DNA test)が行われている。また、VHL患者の約20%はその患者から疾患が始まる、いわゆる new mutation である。

VHL遺伝子は3つのexonより構成され、ヒトでは染色体3p25.3上の約13,000bpの領域に存在し、そこから全長約4.5kbのmRNAが転写される。mRNAのタンパク翻訳領域は639塩基であるが、アミノ酸1番と54番の2カ所のメチオニンより翻訳が開始され、213と160アミノ酸(それぞれ約

表1 VHL病の主な病変と発症年齢・頻度

臓器	病変	発症年齢(歳)	頻度(%)
網膜	血管腫	1~67	40~70
中枢神経系	血管芽腫	9~78	60~80
小脳			
脳幹			
脊髄			
内耳	内耳リンパ嚢腫	12~50	11~16
膵	嚢胞	13~80	17~61
	神経内分泌腫瘍	16~68	8~17
腎	嚢胞	15~	60~80
	淡明細胞腎がん	20~60	25~50
副腎, パラガングリオン	褐色細胞腫	3~60	10~20
精巣上体(男性)	嚢腫腺腫	思春期以降	25~60
子宮広間膜(女性)	嚢腫腺腫	16~46	~10

30kdと19kdのサイズ)の2種類のVHLタンパクが作られ、両者ともに腫瘍抑制機能を示す。

VHLタンパク(pVHL)はElongin C, Elongin B, CUL2, RBX1と結合し、E3 ubiquitin ligase複合体を形成し、HIF prolyl hydroxylase (HPH)により翻訳後修飾(プロリン残基の水酸化)をうけたHIF(hypoxia-inducible factor)(低酸素誘導因子) $\alpha$ をポリユビキチン化する。ユビキチン化されたHIF $\alpha$ タンパクは、その後26S proteasomeで速やかに分解される。HPHは正常酸素圧下では活性化してHIFの分解を誘導するが、一方低酸素状態や一酸化窒素(NO)、活性酸素(ROS)、コバルトの存在下ではHPHに抑制がかかり、HIF $\alpha$ の蓄積・転写促進が進む。

HIFにより転写促進される遺伝子はこれまでに100個以上が知られており、①血管新生(VEGF, PDGFBなど)、②アシドーシス補正(CA9など)、③グルコースの取り込み・嫌氣的解糖系の促進、クエン酸回路の抑制(GLUT1, LDHなど)、④細胞の接着性低下、運動性・転移能促進、マトリックスの再構成(TGF $\alpha$ , CXCR4, MET, MMP2, CTSD, FN1, VCAM1など)が知られている。一方、VHLが不活性化した細胞では、正常酸素圧状態においてもHIF $\alpha$ の分解ができず、HIFは上記遺伝子群を非生理的・恒常的に発現させ、細胞の腫瘍化に結びついていることが想定されている。

さらにVHLタンパクは、①神経細胞のアポトーシス抑制と褐色細胞腫の発生機構、②fibronectin(FN1)、type IV collagenとの結合と細胞外マトリックスの構成調節、③細胞のprimary ciliaの形成と嚢胞形成、など多様な機能にかかわることが明らかになりつつある。

## ■ 診断基準

VHL病の家族歴が明らかな場合、表1の典型的な腫瘍病変が1つでも発症すれば診断できる。一方、家族歴がない場合は、①中枢神経系あるいは網膜の血管芽腫が複数個発症、②中枢神経系あるいは網膜の血管芽腫が1ヵ所とほかの典型的な腫瘍病変発症で臨床的に診断する。さらに、VHL遺伝子診断で変異が確認できれば確実である。

## ■ 治療法, スクリーニング

発症する腫瘍の治療法は基本的に散发例のものと同様であるが、VHL病では、より若年層から複数臓器に病変を繰り返すので、患者のQOLおよび罹患臓器の機能を可能な限り温存しつつ病変のコントロールを行うことが肝要である。腎では15歳すぎからダイナミックCTによるスクリーニングを開始し、腫瘍がない場合には、~1x/3年で画像フォローを行う。腫瘍がある場合は、サイズがおおむね2cmになった時点で外科的治療を考慮

する。核出術，部分切除，ラジオ波焼却術など残腎機能を温存する術式がまず推奨される。腎嚢胞は症状がない場合は経過観察でよいが，腫瘍切除術に際しては，筆者らは切除ないし電気メスによる焼却処置を同時に行っている。腎がん以外では

膵神経内分泌腫瘍と，まれに褐色細胞腫が悪性所見を示すので留意する。わが国におけるVHL病の研究班が組織され，診療ガイドラインが間もなく上梓される予定である。



#### 参考文献

---

- 1) Lonser R, Glenn GM, Walther M, et al: von Hippel-Lindau disease. *Lancet*, 361: 2059-2067, 2003.
- 2) Kaelin WG Jr: The von Hippel-Lindau tumour suppressor protein: O<sub>2</sub> sensing and cancer. *Nat Rev Cancer*, 8: 865-873, 2008.
- 3) 矢尾正祐, 他: 腎腫瘍の分子生物学. *病理と臨床*, (28): 1037-1042, 2010.

# Copy Number Profiling in Von Hippel-Lindau Disease Renal Cell Carcinoma

Salwati Shuib,<sup>1</sup> Wenbin Wei,<sup>2</sup> Hariom Sur,<sup>1</sup> Mark R. Morris,<sup>1,3</sup> Dominic McMullan,<sup>4</sup> Eleanor Rattenberry,<sup>4</sup> Esther Meyer,<sup>1</sup> Patrick H. Maxwell,<sup>5</sup> Takeshi Kishida,<sup>6</sup> Masahiro Yao,<sup>7</sup> Farida Latif,<sup>1,3</sup> and Eamonn R. Maher<sup>1,3,4\*</sup>

<sup>1</sup>Medical and Molecular Genetics, School of Clinical and Experimental Medicine, College of Medical and Dental Sciences, University of Birmingham, Birmingham, UK

<sup>2</sup>School of Cancer Sciences, University of Birmingham, Birmingham, UK

<sup>3</sup>Centre for Rare Diseases and Personalized Medicine, University of Birmingham, Birmingham, UK

<sup>4</sup>West Midlands Regional Genetics Service, Birmingham Women's Hospital, Birmingham, UK

<sup>5</sup>Division of Medicine, University College London, London, UK

<sup>6</sup>Department of Urology, Kanagawa Cancer Center, Yokohama City, Kanagawa, Japan

<sup>7</sup>Department of Urology, Yokohama City University School of Medicine, Yokohama, Japan

Germline mutations in the *VHL* tumor suppressor gene cause von Hippel-Lindau (VHL) disease and somatic *VHL* mutations occur in the majority of clear cell renal cell carcinoma (cRCC). To compare copy number abnormalities (CNAs) between cRCC from VHL patients and sporadic cRCC cases without detectable somatic *VHL* mutations, we analyzed 34 cRCC with Affymetrix 250K arrays. To increase the power of the study, we then combined our results with those of a previously published study and compared CNAs in VHL and non-VHL related cRCC using the genomic identification of significant targets in cancer (GISTIC) program. In VHL, cRCC GISTIC analysis identified four statistically significant regions of copy number gain and four statistically significant regions of deletion that occurred in >10% of tumors analyzed. Sporadic cRCC without detectable *VHL* mutations had, on average, more copy number abnormalities than VHL cRCC though the most common regions of loss/gain (e.g., 3p and 14q loss and 5q gain) were present in both tumor sets. However, CNAs on chromosome arms 7p (gain) and 8p (loss) were only detected in VHL RCC. Although individual copy number abnormality peaks contained clear candidate cancer genes in some cases (e.g., the 3p loss peak in VHL cRCC contained only six genes including *VHL*), most peaks contained many genes. To date, only a minority of the candidate genes included in these peaks have been analyzed for mutation or epigenetic inactivation in cRCC but *TNFRSF10C* and *DUSP4* map to the 8p region deleted in VHL cRCC and *TP53* and *HIF2A* (*EPAS1*) mapped to CNA loss and gain peaks (chromosomes 17 and 2, respectively) detected in sporadic *VHL* wild-type cRCC. © 2011 Wiley-Liss, Inc.

## INTRODUCTION

Von Hippel-Lindau (VHL) disease is a dominantly inherited familial cancer syndrome characterized by the development of retinal and central nervous system hemangioblastomas, clear cell renal cell carcinoma (cRCC), pheochromocytoma, and pancreatic tumors. VHL disease is a rare disorder with a birth incidence of ~1 in 36,000 (Maher et al., 1990a,b; Kaelin, 2007) whereas RCC accounts for 2–3% of all cancers. Investigations of the molecular basis of VHL disease have provided seminal insights into the pathogenesis of sporadic RCC. Statistical analysis of the age incidence curves for RCC in VHL disease and sporadic renal cell carcinoma were compatible with a single rate-limiting step mutation model for VHL disease and a two rate limiting mutation model for sporadic

RCC (Maher et al., 1990a,b). Subsequently, (a) VHL disease was shown to result from inactivating mutations in the *VHL* tumor suppressor gene (TSG) and RCC from patients with VHL disease demonstrated somatic inactivation of the wild-type allele (Latif et al., 1993; Prowse et al., 1997) and (b) most sporadic clear cell RCC (the most

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article.

Supported by the Ministry of Higher Education of Malaysia, Universiti Kebangsaan Malaysia and Tantara's Wish.

\*Correspondence to: Eamonn R. Maher, The University of Birmingham School of Medicine, Institute of Biomedical Research, Edgbaston, Birmingham B15 2TT, UK.

E-mail: e.r.maher@bham.ac.uk

Received 27 September 2010; Accepted 8 February 2011.

DOI 10.1002/gcc.20865

Published online 31 March 2011 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com).

common form of RCC) were found to harbor biallelic *VHL* TSG inactivation (Foster et al., 1994; Gnarr et al., 1994; Banks et al., 2006). Biallelic inactivation of the *VHL* TSG is a critical and early event in the pathogenesis of cRCC in VHL disease and in many sporadic cRCC; however, additional genetic and epigenetic events are required for the development of cRCC. Recently high resolution genome wide copy number analysis and high throughput sequencing of candidate genes have been employed to delineate the “post-*VHL* inactivation events” that occur in the development of sporadic RCC (Beroukhim et al., 2009; Dalglish et al., 2010; Tan et al., 2010). However, RCC is clinically and histopathologically heterogeneous. Familial RCC, such as those seen in patients with VHL disease, provide an opportunity to investigate a more homogeneous group of cancers. Only one previous study (Beroukhim et al., 2009) has reported high resolution copy number analysis of cRCC from patients with VHL disease.

To further define the role of large-scale copy number abnormalities in cRCC tumorigenesis in VHL disease and in *VHL*-wild-type sporadic cRCC, we analyzed tumor DNA for copy number abnormalities from 21 cRCC from VHL disease patients and 13 sporadic cRCC without evidence of somatic *VHL* inactivation and undertook an in silico analysis using the genomic identification of significant targets in cancer (GISTIC) program of our own results and those previously published by Beroukhim et al. (2009).

## MATERIALS AND METHODS

### Tumor Samples

Genomic DNA was extracted from primary renal cancers and cell lines by standard methods, and stored at -80°C. Three groups of renal cancers were investigated: (a) 21 clear cell RCC from 18 patients with von Hippel-Lindau disease, (b) 13 sporadic clear cell RCC without evidence of somatic *VHL* mutations or promoter methylation [details of mutation and methylation analyses have been reported previously (McRonal et al., 2009)]. In addition, normal constitutional DNA from two VHL disease patients was analyzed by SNP arrays. Ethical approval for collection of clinical material was obtained from the South Birmingham Ethics Committee and relevant local ethics committees. DNA concentrations were measured with Nanodrop model ND-1000 spectrophotometer (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE).

### Copy Number Analysis

Experiments were performed according to standard protocols for Affymetrix GeneChip Mapping 250K Sty arrays (Gene Chip Mapping 500K Assay Manual, P/N 701930 Rev2., Affymetrix Santa Clara, CA). Genotype analysis was performed using Affymetrix Genotyping Console version 4.0 with the default settings. QC call rates of the 34 cRCC samples ranged from 87.9% to 98.7%. The array signal intensity CEL files of the 34 cRCC and 268 hapmap samples ([www.hapmap.org/downloads/raw\\_data/affy500k/](http://www.hapmap.org/downloads/raw_data/affy500k/)) were analyzed together using dchip (Li and Wong, 2001) with invariant set normalization and the PM/MM difference model. SNP-level raw log<sub>2</sub> ratios relative to the average of the hapmap samples were exported from dchip. Data within copy number variation regions (Affymetrix Mapping250K\_Sty Annotations release 29, July 2009) were removed. Raw log<sub>2</sub> ratios were centered to a median of zero and segmented using GLAD (Hupe et al., 2004) with the HaarSeg algorithm (Ben-Yaacov and Eldar, 2008). GISTIC analysis (Beroukhim et al., 2007) was performed using GenePattern public server (Reich et al., 2006) with the default settings of amplifications threshold of 0.1, deletions threshold of 0.1, join segment size of 4, and qv threshold of 0.25. SNP, gene, and cytogenetic band locations are based on the hg18 (March, 2006) genome build (<http://genome.ucsc.edu>). Raw log<sub>2</sub> ratio data of previously published cRCC samples (Beroukhim et al., 2009) were kindly provided by Dr. Rameen Beroukhim.

## RESULTS

### GISTIC Analysis of Copy Number Analysis Data

The GISTIC software program was developed to distinguish “driver” (functionally important) copy number alterations (CNAs) from associated “passenger alterations.” Thus, the GISTIC method aims to identify genomic regions that are aberrant more often than would be expected by chance and to give greater weight to high amplitude events (e.g., amplifications or homozygous deletions) that are less likely to represent random events (Beroukhim et al., 2007). GISTIC calculates (a) a *G* score that takes into account the frequency and the amplitude of the CNAs and (b) a *q* value to that reflects the probability that the specific CNA results from chance fluctuation (based on the overall pattern of CNAs across the genome and taking into account multiple-



hypothesis testing and possible false-discovery). We considered all events with  $q$  values  $<0.25$  to be statistically significant.

### Comparison of GISTIC Copy Number Analysis in VHL and Sporadic Non-VHL cRCC

To most effectively compare the GISTIC copy number profiles of *VHL* cRCC tumors with sporadic *VHL* wild-type (*VHL*-wt) cRCC, we combined our data on 34 cRCC with that previously reported by Beroukhi et al. (2009), who analyzed 36 primary tumors from 12 patients with VHL disease and nine sporadic *VHL*-wt cRCC using the same the Sty I (250K) single nucleotide polymorphism (SNP) arrays used in our study. Thus, in total, copy number analysis data was available for 57 VHL disease cRCC and 22 sporadic *VHL*-wt cRCC.

### GISTIC copy number analysis in VHL cRCC

GISTIC analysis of the combined data set of VHL cRCC revealed four statistically significant peaks for copy number gains: on chromosome 2 (21% of tumors; peak at 2q31.1), 5 (56%; 5q34), 7 (18%; 7p14.1), and 12 (11%; 12q12) (Table 1 and Fig. 1). The peaks on chromosomes 7 and 12 were wide (~15.9 Mb and ~9.1 Mb, respectively) and contained large numbers of genes (862 and 695, respectively). However, the peaks on chromosomes 2 and 5 contained smaller numbers of genes (~ 2.8 Mb and 131 genes and ~1.85 Mb and 133 genes, respectively).

GISTIC analysis identified five statistically significant peaks for deletions: on chromosomes 3 (86%; 3p25.3), 4 (14%; 4q28.3), 8 (21%; 8p21.2), 12 (5%; 12q12), and 14 (25%; 14q23.3). The chromosome 3 peak (at 3p25.3) contained only six genes including the *VHL* TSG. The next most significant peak on chromosome 14 contained 67 genes whereas those on chromosomes 4 and 8 contained  $>200$  genes (297 and 220 genes, respectively). The chromosome 12 peak was narrow and did not contain any known genes (the closest was *KIF21A*).

The median number of significant events (gain or loss) per VHL disease tumor was 2 (range: 0–7) (Fig. 3). The most common early event was 3p loss (present in 9/10 tumors with a single gain/loss event), followed by 5q gain (of 18 tumors with only two events all had 3p loss and 16 had 5q gain). The other changes were all most commonly seen in tumors with three or more changes though 2q gain was present in two tumors with only two changes and a 12q deletion, though rare, was present as the only change in one tumor.

To identify potential candidate tumor suppressor or oncogenic genes in areas of copy loss and gain we interrogated the results of high throughput sequencing of 3,544 genes in RCC Dalgliesh et al. (2010) and our previously reported Illumina Goldengate methylation array profiling results for VHL cRCC analyzed in this study McDonald et al. (2009). Lists of the genes in the nine candidate statistically significant regions (Table 1) are recorded in Supplementary Tables 1 and 2. Strikingly, the identified region for the most frequent copy number abnormality, chromosome arm 3p loss, contained only six genes including the *VHL* TSG. However, none of the genes that had been sequenced by Dalgliesh et al. (2010) and that mapped within other significant regions of copy loss or gain were mutated in  $>2\%$  of samples (Table 1). Epigenetic inactivation of TSG by promoter region hypermethylation is a frequent finding in human cancer including RCC. We reviewed our previously reported data on the methylation status of 807 genes (assessed by Illumina Goldengate methylation assay) by McDonald et al. (2009) to determine if any genes that showed evidence of frequent tumor specific hypermethylation mapped within significant regions of copy number loss. Three genes had previously been demonstrated to acquire frequent ( $>10\%$ ) tumor-specific promoter region CpG methylation in our previous study of VHL RCC mapped within significant regions of number loss region: *PITX* (within the 4q region) was methylated in 24% of VHL RCC and *TNFRSF10C* (8p22-p21) and *DUSP4* (8p22) were methylated in 24% and 17%, respectively.

### GISTIC copy number analysis in VHL wild-type cRCC

GISTIC analysis of the 22 cRCC without detectable *VHL* mutations revealed seven statistically significant peaks for copy number gains: on chromosomes 2 (2q14.3; 18% of tumors), 5 [5p15.31 (32%), 5q13.3 (23%), and 5q35.2 (50%)], 6 (6p21.1; 9%), 8 (8q24.3; 23%), and 12 (12q24.32; 32%) (Table 2 and Fig. 2). GISTIC analysis identified six statistically significant peaks for deletions: on chromosomes 1 (1p22.2; 32%), 3 (3p25.3; 50%), 11 (11q23.3; 18%), 14 (14q11.2; 41%), 16 (16q23.2; 14%), and 17 (17p11.2; 27%).

The median number of significant events (gain or loss) per VHL wild-type cRCC tumor was 3 (range: 0–10) (Fig. 3). Although 3p loss was the joint most frequent event in tumors with only one or two copy number abnormalities, in contrast to the VHL tumors, it was found in only 2/5 such cases and in tumors with three or less copy number

TABLE I. GISTIC Analysis Results of 57 VHL RCC

	Cytoband	Q value	Residual q value after removing segments shared with higher peaks	Frequency of gain or loss	Wide peak boundaries	Number of genes within wide peak boundaries	Number of genes sequenced in RCC*	Genes mutated (frequency) in RCC*
Regions of copy number gain	2q31.1	0.0013382	0.0013382	21%	chr2: 151155310-179077227	131	19	RAPGEF4 (1%) RIFI (1%)
	5q34	2.60E-26	2.60E-26	56%	chr5: 162372772-180857866	133	24	—
	7p14.1	0.02291	0.022911	18%	chr7: 1-158821424	862	132	CARD11 (2%); DGKI, LRGUK, NCAPG2, PTRZI, TRIM4, ZRF1, PRKAG2, BRAF, CHST12, GLI3, SNX13, TRIM56, GNG11 and PHF14 (all 1%)
	12q12	0.15793	0.15793	11%	chr12: 1-91047873	695	161	AKAP3, ASB8, CCND2, E2F7, GDF11, LRP6, NAV3, NCAPD2, PDZRN4, PFKM, PRKAG1, SPSB2, PLEKHAF5 and ZNF384 (all 1%)
Regions of Copy Number Losses	3p25.3	2.70E-39	2.70E-39	86%	chr3: 10062639-10276299	6	3	VHL (55%)
	4q28.3	0.19804	0.19804	14%	chr4:62126311-132023141	297	51	ADH6, COPS4, HERC6, PTPN3 and USP53 (all 1%)
	8p21.2	0.0066086	0.0066086	21%	chr8: 1-40668448	220	39	ASAM7, ASDAM18, ADAM32, DLC1, PPP2R2A, TNKS and XPO7 (all 1%)
	12q12	0.0017333	0.0017333	5%	chr12: 37843161-37882927	0	—	—
	14q23.3	0.0008957	0.0008957	25%	chr14: 31759308-50375581	67	27	NIN (1%)

\*Data derived from Dalglish et al. (2010).

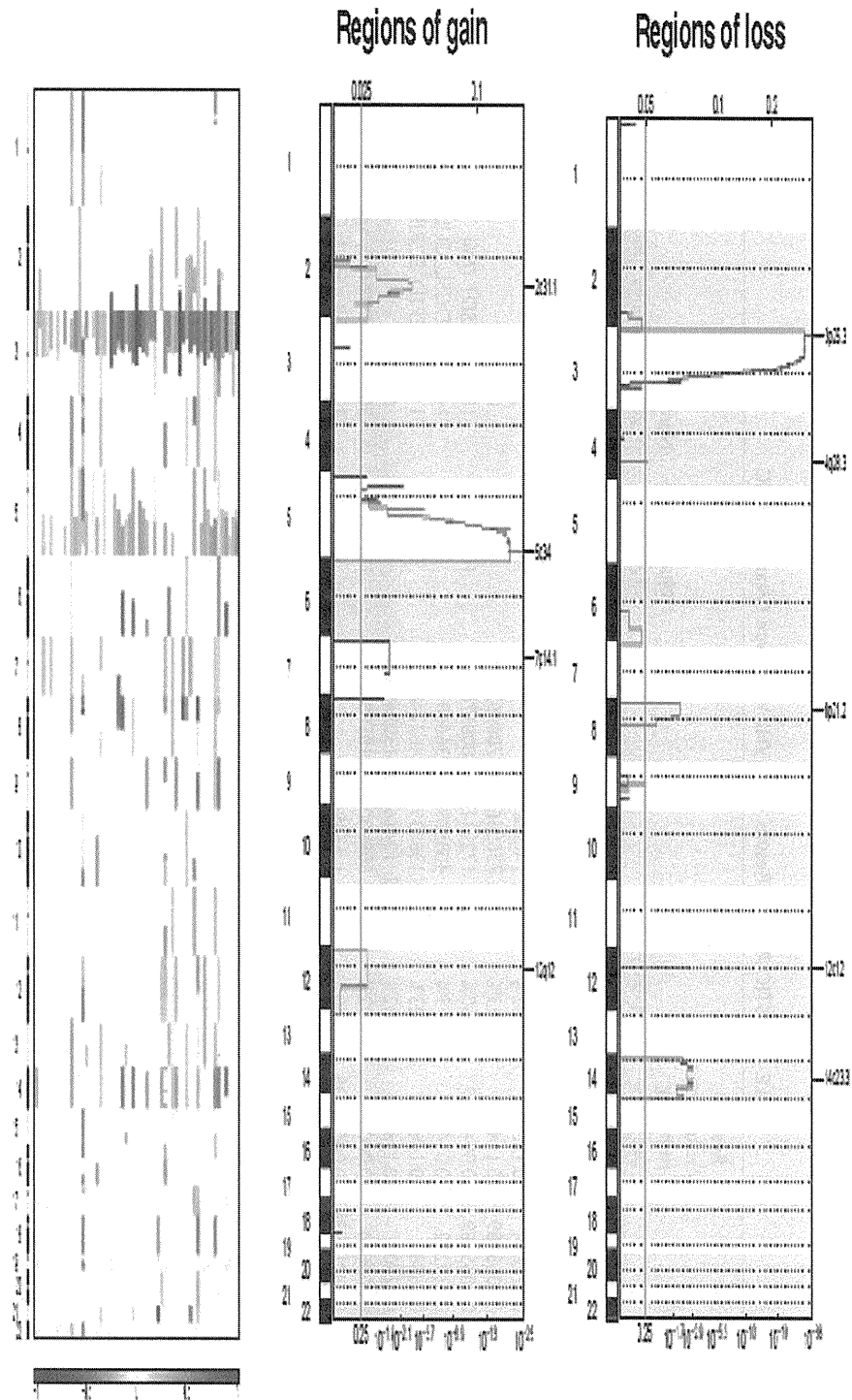


Figure 1. Left panel: GISTIC analysis results for copy number alterations in 57 renal cancers from patients with von Hippel-Lindau disease (see text for details) determined by segmentation analysis of normalized signal intensities from 250K SNP arrays. Amplifications (red) and deletions (blue) are displayed across the genome (chromosome positions, indicated along the y axis). Middle panel: the statistical significance of the copy gain aberrations identified as FDR  $q$  values to account for multiple-hypothesis testing. Chromo-

some positions are indicated along the y axis with centromere positions indicated by dotted lines. Statistically significant copy gain events exceeded the significance threshold (green line). Right panel: the statistical significance of the copy gain losses identified is displayed. Four statistically significant peaks for copy number gains and five for deletions were detected. [Color figure can be viewed in the online issue, which is available at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com).]

TABLE 2. GISTIC Analysis Results of 22 VHL Wild-Type Clear Cell RCC

	Cytoband	Q value	Residual q value after removing segments shared with higher peaks	Frequency of gain or loss	Wide peak boundaries	Number of genes within wide peak boundaries	Number of genes sequenced in RCC*	Genes contained in copy number abnormality regions that are mutated (frequency) in RCC*
Regions of copy number gain	2q14.3	0.041496	0.041496	18%	chr2: 1-216445899	967	170	TPO, RNF144 (each 1%)
	5p15.31	0.011634	0.13857	32%	chr5: 1-6698146	34	9	–
	5q13.3	0.0045289	0.15441	23%	chr5: 73655673-73706663	0	0	–
	5q35.2	0.0045289	0.0045289	50%	chr5: 172211671-180857866	104	18	NSD1 (1%)
	6p21.1	0.034212	0.034212	9%	chr6: 40850964-47366681	92	14	CDC5L, CUL7, XPO5 (each 1%)
	8q24.3	0.16884	0.16884	23%	chr8: 138939588-146274826	99	11	EEF1D, SCRIB (each 1%)
	12q24.32	0.12806	0.12806	32%	chr12: 124163345-132349534	32	6	–
Regions of copy number losses	1p22.2	0.000834	0.000834	32%	chr1: 50860054-92105006	197	30	CDKN2C, and PGM1 (each 1%)
	3p25.3	0.00011935	0.00011935	50%	chr3: 1-13494937	67	13	VHL (55%), ITPR1 and PPARG (each 1%)
	11q23.3	0.18897	0.18897	18%	chr11: 101247817-129938942	255	61	ATM (3%), MLL (3%), ARHGAP20 (2%), MMP10, MMP3, PAFAH1B2, POU2AF1, TRIM29 and UBE4A (each 1%)
	14q11.2	0.019341	0.019341	41%	chr14: 1-20715172	49	5	–
	16q23.2	0.0081492	0.0081491	14%	chr16: 77757916-80539342	14	2	–
	17p11.2	0.10166	0.10166	27%	chr17: 1-22479311	321	61	TP53, NCOR1, NUP88, PER1 and TNFRSF13B (each 1%),