·论 著·

FLCN基因突变在家族性自发性气胸的遗传分析

冯 勇[1],李 萌[2],魏 巍[3],刘俊峰[1*]

(1.河北医科大学第四医院胸外科,河北 石家庄 050011;2.河北医科大学第四医院CT/MRI科,河北 石家庄 050011;3.河北医科大学第四医院门诊部,河北 石家庄 050011)

[摘要] **目的** 研究家族性自发性气胸中folliculin(FLCN)基因的突变及其作用机制。**方法** 收集一个三代的家族性自发性气胸患者及其家属的临床数据。随后应用肺部计算机断层扫描(computed tomography,CT)扫描观察肺部情况,并使用高通量二代测序(next generation sequencing,NGS)方法检测该家族成员中是否存在FLCN基因突变情况。**结果** CT扫描发现,这个家族在没有皮肤病变或肾肿瘤的情况下出现了气胸或肺囊肿。通过基因测序还在该家族气胸患者中发现FLCN基因的外显子6的第147位氨基酸由谷氨酰胺突变为终止子(c.493C>T)。并且气胸患者及其子女均显示这种突变。**结论** 在家族性自发性气胸患者中发现了FLCN的无义突变。这个结果扩展了伯特-霍格-杜布综合征(Birt-Hogg-Dubé syndrome,BHD)患者FLCN的突变谱。这可能是一个新的突变,仍需要对更大样本进行深入研究才能了解家族性自发性气胸的发病机制。

[关键词] 气胸;基因突变;遗传 doi:10.3969/j.issn.1007-3205.2025.04.013

[中图分类号] R561.4 [文献标志码] A [文章编号] 1007-3205(2025)04-0453-06

Genetic analysis of FLCN gene mutation in familial spontaneous pneumothorax

FENG Yong[1], LI Meng[2], WEI Wei[3], LIU Jun-feng[1*]

(1.*Department of Thoracic Surgery, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang* 050011, *China*; 2.*Department of CT/MRI, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang* 050011, *China*; 3.*Department of Outpatient, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang* 050011, *China*)

[**Abstract**] **Objective** To study the mutation and mechanism of folliculin (FLCN) gene in familial spontaneous pneumothorax (FSP). **Methods** Clinical data were collected from three generations of patients with FSP. Computed tomography (CT) scans of the chest were used to observe the pulmonary condition. The mutation of FLCN gene in this family was detected by next generation sequencing (NGS) method. **Results** CT scan revealed that this family developed pneumothorax or pulmonary cysts without skin lesions or kidney tumors. Through gene sequencing, it was found that the 147th amino acid of exon 6 of the FLCN gene was mutated from glutamine to a terminator (c.493C>T) in this family of pneumothorax patients. This mutation was also shown in both patients with pneumothorax and their children. **Conclusion** A nonsense mutation of FLCN is found in patients with FSP. This result extends the mutation spectrum of FLCN in patients with Birt-Hogg-Dubé syndrome (BHD). This may be a new mutation, and further research is needed on larger samples to understand the pathogenesis of FSP.

[收稿日期]2024-05-07

[基金项目]河北省医学科学研究课题计划(20201053)

[作者简介]冯勇(1981-),男,河北藁城人,河北医科大学第四医院副主任医师,医学博士,从事肺部和食管病变诊治研究。

* 通信作者。E-mail:liujf@hebmu.edu.cn

[Key words] pneumothorax; gene mutation; heredity

自发性气胸是指在无外伤或人为因素的情况下,肺组织及脏层胸膜突然破裂而引起的胸腔积气。尽管吸烟习惯和创伤可能是其易感因素,但大多数患有自发性气胸的患者既往都没有肺部疾病史[1-2]。这些自发性气胸患者的计算机断层扫描(computed tomography,CT)可能都显示肺部的肺囊肿或胸膜下囊肿,这个被定义为原发性自发性气胸[3]。而家族性自发性气胸(familial spontaneous pneumothorax,FSP)首次报道于1921年[4],其为常染色体显性遗传模式,具有不完全外显率。与自发性气胸相关的一些遗传性疾病是α1抗胰蛋白酶缺乏症、囊性纤维化、Marfan综合征、Ehlers-Danlos综合征、结节性硬化症和伯特-霍格-杜布综合征(Birt-Hogg-Dubé syndrome,BHD综合征)(MIM 135150)[4-5]。其中BHD综合征是一种常染色体显性遗传疾病,最早于1977年由Birt等报道[6]。BHD综合征的临床表现差异很大,这种疾病的特征通常是皮肤纤维滤泡瘤、肾肿瘤、肺囊肿和复发性气胸[7]。此前大多数报道的BHD病例来自西方国家,近几年亚洲人群对此病的报告明显增多[8-9]。这种疾病被认为是一种单基因疾病,已经被定位到一个基因,folliculin(FLCN)[genbank登录号AF517523],染色体17p11.2[10]。FLCN由14个外显子组成,并且在53%的BHD综合征家族中检测到外显子11中高度可变的聚-C区(C8)中的胞嘧啶的插入突变[11]。先前的研究预测这种种系突变会导致卵泡蛋白的移码和截短,FLCN基因已知其在许多组织中表达,如基质细胞、肾的远端肾单位、肺的Ⅰ型肺细胞,也在重要的代谢途径中发挥关键作用[12-13]。但它如何促成BHD综合征中的囊肿发展仍然是未知的。截止到目前,突变基因型与表型之间的相关性仍不清楚,本研究检测了一个家族患有自发性气胸的FLCN基因情况,初步研究遗传数据与其表型之间的相关性,研究发现了一个新的突变,这个突变是否导致气胸有待进一步研究证实,希望为后续临床治疗提供帮助。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究招募一个三代家族(图1),其中先证者和其姐姐患有自发性气胸。自发性气胸是通过胸部X线片或CT扫描诊断的。先证者父亲69岁,先证者母亲68岁,兄弟姐妹和先证者年龄29~48岁和第三代年龄7~20岁。纳入标准:①该家族中需存在≥2例气胸患者;②该家族成员同意进行相关CT的检查及基因检测。排除标准:①该家族中气胸患者<2例;②该家族成员不同意进行相关的检查及基因检测。该家族中气胸患者经彻底的皮肤病学检查和腹部CT检查,分别证实了没有皮肤毛囊瘤和肾脏肿瘤。

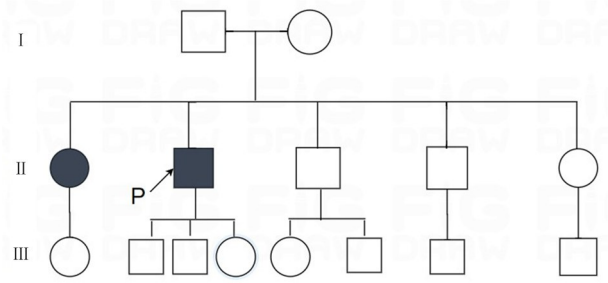


图1 患者家族的谱系

圆圈代表女性,正方形代表男性;世代由罗马数字标出;先证者用箭头标出

Figure 1 Genealogy of the patient's family

本研究经河北医科大学第四医院医院伦理委员会批准通过,所有参与者均知情同意并签署知情同意书。

1.2 方法 对4例成员(气胸患者为Ⅱ-1和Ⅱ-2,和他们的子女Ⅲ-1和Ⅲ-4)的胸部使用256层CT扫描仪(SOMATOM Definition Flash,Germany)进行扫描,采取仰卧位,呼吸保持从肺部顶端到肋膈角的深层吸气。扫描结果由有经验的影像学医师评估,皮肤病变由有经验的皮肤科医师评估。由于其他一些家属不愿意进行相关检查,所以无法进行CT扫描和后续检测。在后期的FSP患者的招募中减少这一类情况发生。

对于遗传分析,使用QIAamp血液提取试剂盒(QIAGEN Inc.,Valencia,CA)从静脉血(2 mL)中分离基因组DNA。随后使用高通量二代测序(next generation sequencing,NGS),测序反应如前所述进行[14],随后分析分子遗传学特征。

2 结 果

2.1 病史和临床特征 第一代中先证者(Ⅱ-2)的父亲(Ⅰ-1)和母亲(Ⅰ-2)没有BHD综合征的临床表现(图1)。第二代由5个兄弟姐妹组成其中气胸患者2例(Ⅱ-1,Ⅱ-2)、第三代中(Ⅲ-1,Ⅲ-4)的病史如下。

2.1.1 Ⅱ-2(先证者) 男性,45岁,有吸烟史,曾有急性呼吸急促和左侧胸痛病史。根据病史,临床检

查和胸部X线片证实左侧气胸诊断。随后于当地医院行胸腔闭式引流术后改善了症状。在随后的胸部CT扫描(图2A)显示右肺可见肺大疱,左胸腔可见气体影及左侧肺叶被压向肺门。

2.1.2　Ⅱ-1(第2个有症状的个体)　女性,48岁,无吸烟史,有复发性左侧自发性气胸病史,曾在2年前就诊于当地医院住院治疗,随后行左肺肺大泡切除术+胸膜固定术。该患者的胸部CT扫描(图2B)显示右肺有肺囊肿、肺大疱。

2.1.3　Ⅲ-1(第2个有症状的个体的孩子)　女性,20岁,无吸烟史,没有肺气肿或气胸病史,胸部CT显示在心脏区域(即BHD综合征的肺部特征区域)出现肺囊肿(图2C)。

2.1.4　Ⅲ-4(先证者的孩子)　女性,16岁,没有BHD综合征的临床表现,胸部CT检查显示正常的肺部影像(图2D)。

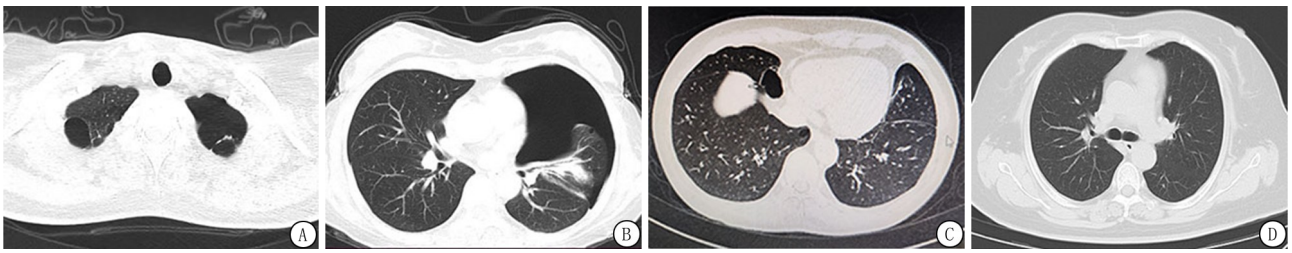


图2　患者和家属的高分辨率CT扫描

A.Ⅱ-2,有自发性气胸;B.Ⅱ-1,有自发性气胸;C.Ⅲ-1,心房囊肿(箭头示);D.Ⅲ-4,肺部没有囊肿或气囊

Figure 2　High-resolution CT scans of patients and their families

家庭成员中没有已知的遗传性疾病或结缔组织病。此外,没有成员表现出Marfan综合征或Ehlers-Danlos综合征的任何临床体征或症状。

所有患者均存在肺囊肿,肺囊肿的形态变化很大,多以圆形、椭圆形或不规则形为主,没有发现皮肤病变(图3)。



图3　患者颈胸部的临床表现

Figure 3　Clinical manifestations of the patient′s neck and chest

2.2　突变分析　NGS测序分析显示,FLCN基因外显子6的第147位氨基酸由谷氨酰胺突变为终止子(图4)。这是一个新的突变,提前发生的终止子可能引起无义介导的mRNA降解,从而导致蛋白表达缺失。气胸患者及其子女均显示此类突变。其他家族成员是否存在该突变,仍需要进一步检测。

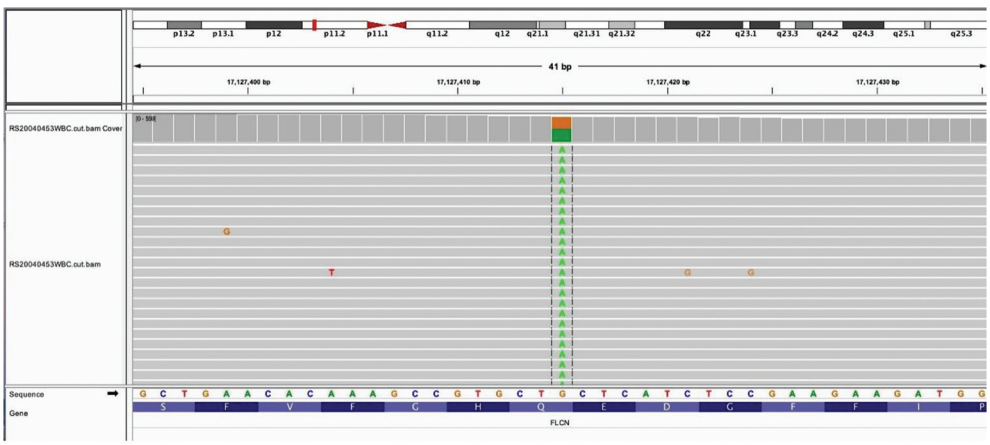


图4　FLCN基因分析

Figure 4　FLCN gene analysis

3　讨　论

对FSP的遗传基础至今尚未完全了解。在2002年,FLCN基因的突变被鉴定为引起BHD综合征的原因[13]。从那以后,少数FSP病例通过FLCN基因检测被诊断为BHD综合征,但大多数

研究是白人患者的病例报告[15]。不久前，国内也有病例报告出现[16]。近几十年来，中国在罕见病的诊断和治疗方面取得了令人瞩目的进展。可以通过基因检测技术发现 FLCN 基因突变情况[17]。截至2020年12月，中国已报告222例与BHD综合征病例相关的FSP；这些病例主要分布在医疗资源先进，经济条件较好的省市[18-19]。

本研究发现，与原发性自发性气胸散发病例相比，FSP男性发病高于女性，但女性发病率明显升高；气胸发病年龄较晚，多为两代发病，可能与遗传相关；手术治疗FSP效果最好[17]。北京的一项研究结果显示，与手术干预相比，BHD综合征相关气胸在非手术治疗后出现较高的复发率[19]。美国胸科学会/日本呼吸学会临床实践指南推荐采用外科胸膜固定术（机械磨损）来治疗另一种弥漫性囊性肺疾病如淋巴管肌瘤病的气胸[20]。本研究结果与这些研究相似，因此，对于出现BHD综合征相关FSP的患者应考虑早期手术治疗以减少复发。

BHD综合征的不完全外显率已被广泛报道[21-22]。一些基因型被认为与某些临床表现有关。例如，Toro等[11]报道，外显子9和12中的FLCN突变与更高数量的肺囊肿、更大的囊肿直径和更多的气胸发作相关。Schmidt等[7]报道，外显子11中缺失胞嘧啶的患者肾肿瘤发生率明显低于外显子中插入胞嘧啶的患者。有研究[23]发现，11例外显子1～3缺失的患者中检测到肾肿瘤2例，1例38岁的患者因透明细胞肾细胞癌接受了部分肾切除术，而另1例73岁女性因体力状况不佳，经正电子发射计算机断层显像（positron emission tomography PET）-CT临床诊断为双侧多灶性肾肿瘤；该患者接受了3次肾动脉栓塞，17个月后死于晚期肾癌。这个结果正如之前所描述的，2例点突变患者发现肾肿瘤，与点突变携带者相比，基因内缺失携带者往往更容易发生肾肿瘤[14,24]。然而，通常不接受这些基因型－表型相关性，这需要进一步研究证实。已经报道了一些不常见的突变，例如基因内缺失/重复或大的重排，但是这些突变无法通过Sanger方法检测到[25]。此次，本研究通过NGS方法发现一个新的FLCN基因突变即外显子6的第147位氨基酸由谷氨酰胺突变为终止子，这可能导致提前发生的终止子可能引起无义介导的mRNA降解，从而导致蛋白表达缺失。这个结果是否证实该突变导致肺泡破裂仍需要进一步研究，并需要通过更多病例研究才能明确基因型－表型相关性的关系，这是下一步研究重点。

有研究发现[18]，胸部CT检测到的多发性肺囊肿是BHD综合征最常见的表现。肺囊性病变的数量、形状、大小和分布有助于区分BHD综合征与其他囊性肺疾病，在胸部CT上，BHD综合征的特点是存在多个大小不一、形状不规则的囊肿，以内侧和基底为主分布[26]。最近的研究表明[17]，60%～90%的FSP可能归因于BHD综合征。本研究中患者都观察到了这些特征。通过影像学在无症状个体的肺基底区域发现了肺囊肿，这个情况不像原发性气胸在肺部顶端出现囊肿，因此，表明该家族可能存在BHD综合征[27]。携带FLCN突变的儿童影像学中存在肺囊肿，但临床的发病年龄是在成年以后[28-29]。本研究也发现在该家族的第三代成员影像学中未见明显异常，说明该家族成员可能有患BHD综合征的风险。因此，该家族中未发病的儿童需要定期评估任何肺部不适或肾脏异常，以便尽早采取干预措施避免疾病进展。

皮肤受累被认为是亚洲和白人人群中BHD综合征的一个共同特征，在3～40岁期间表现为多发性、圆顶状和无症状丘疹[14,30]，皮肤病变的患病率较低（18%）[18]。但在本研究中未发现皮肤相关病变，可能与病例数较少有关，也可能与基因突变类型有关，这需要增加研究例数进一步判断这个相关性。

最近，BHD综合征的机制研究成为了热点，卵泡蛋白在关键代谢途径中起重要作用，如雷帕霉素靶蛋白（mammalian target of rapamycin，mTOR）和腺苷酸活化蛋白激酶（adenosine 5′-monophosphate-activated protein kinase，AMPK）[31]，截短的FLCN可能由于细胞凋亡而导致上皮细胞的损失，从而导致BHD综合征中肺功能的改变。最近的一项研究提出了一个模型，其中突变的FLCN下调E钙黏蛋白和肝激酶B1（liver kinase B1，LKB1）的膜定位，削弱AMPK活化，从而阻碍细胞存活，导致表面张力增加，肺泡萎陷和肺功能受损[32-33]。然而，另一项研究表明，FLCN的缺失导致AMPK的组成性激活，其诱导自噬并抑制细胞凋亡，从而改善肾肿瘤中的细胞生物能量[34]。FLCN的外显子基因缺失（即截短的蛋白质）如何参与2种不同的表现（即癌症和气胸）是令人费解的。在癌症中，观察到细胞凋亡的丧失，而在气胸中，细胞凋亡导致上皮细胞的丧失，导致肺萎陷。这些也

都是需要研究去证实，只有具有更大样本进行全面的分子和功能检测才能帮助解决这个问题，希望为临床治疗提供新思路。

本研究存在一些局限性。首先，病例数量不多。由于该疾病的罕见性，正在联系多个中心进行多中心多病例随机试验研究。其次，本研究是回顾性研究，一些结果可能需要前瞻性研究进一步证实。第三，由于该家族中有人拒绝接受复查和随访治疗，可能会导致数据不完整，在将来的研究中尽量避免这种情况发生。总之，需要进行长期、多中心前瞻性研究，这样可以更好地了解这种罕见疾病，明确基因型－表型相关性的关系，从而进一步对这部分患者有更佳的针对性治疗方案。

随着对罕见肺病更加重视和基因检测越来越普遍，中国认可的BHD综合征患者数量会不断增加。肺囊肿和气胸是其常见的特征，但皮肤病变在中国受试者中随着重视程度会被发现的越来越普遍。

[参考文献]

[1] Jordan KG, Kwong JS, Flint J, et al. Surgically treated pneumothorax. Radiologic and pathologic findingst [J]. Chest, 1997, 111(2): 280-285.

[2] Sahn SA, Heffner JE. Spontaneous pneumothorax[J]. N Engl J Med, 2000, 342(12): 868-874.

[3] Frohlich BA, Zeitz C, Matyas G, et al. Novel mutations in the folliculin gene associated with spontaneous pneumothorax[J]. Eur Respir J, 2008, 32(5): 1316-1320.

[4] Faber E. Spontaneous pneumothorax in 2 siblings [J]. Hospital Stidende, 1921, 64: 573-574.

[5] Abolnik IZ, Lossos IS, Zlotogora J, et al. On the inheritance of primary spontaneous pneumothorax[J]. Am J Med Genet, 1991, 40(2): 155-158.

[6] Birt AR, Hogg GR, Dube WJ. Hereditary multiple fibrofolliculomas with trichodiscomas and acrochordons[J]. Arch Dermatol, 1977, 113(12): 1674-1677.

[7] Schmidt LS, Nickerson ML, Warren MB, et al. Germline BHD-mutation spectrum and phenotype analysis of a large cohort of families with Birt-Hogg-Dube syndrome[J]. Am J Hum Genet, 2005, 76(6): 1023-1033.

[8] Namba Y, Ebana H, Okamoto S, et al. Clinical and genetic features of 334 Asian patients with Birt-Hogg-Dubé syndrome (BHDS) who presented with pulmonary cysts with or without a history of pneumothorax, with special reference to BHDS-associated pneumothorax[J]. PLoS One, 2023, 18(7): e0289175.

[9] Hu D, Wang R, Liu J, et al. Clinical and genetic characteristics of 100 consecutive patients with Birt-Hogg-Dubé syndrome in Eastern Chinese Region[J]. Orphanet J Rare Dis, 2024, 19(1): 348.

[10] Schmidt LS, Warren MB, Nickerson ML, et al. Birt-Hogg-Dube syndrome, a genodermatosis associated with spontaneous pneumothorax and kidney neoplasia, maps to chromosome 17p11.2[J]. Am J Hum Genet, 2001, 69(4): 876-882.

[11] Toro JR, Pautler SE, Stewart L, et al. Lung cysts, spontaneous pneumothorax, and genetic associations in 89 families with Birt-Hogg-Dube syndrome[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2007, 175(10): 1044-1053.

[12] Nahorski MS, Reiman A, Lim DH, et al. Birt Hogg-Dube syndrome-associated FLCN mutations disrupt protein stability[J]. Hum Mutat, 2011, 32(8): 921-929.

[13] Nickerson ML, Warren MB, Toro JR, et al. Mutations in a novel gene lead to kidney tumors, lung wall defects, and benign tumors of the hair follicle in patients with the Birt-Hogg-Dube syndrome[J]. Cancer Cell, 2002, 2(2): 157-164.

[14] Zhang G, Liu J, Wang Y, et al. Birt-Hogg-Dubésyndrome encountered at rare lung disease clinic in Anhui province, China[J]. Orphanet J Rare Dis, 2022, 17(1): 203.

[15] Lagerstedt-Robinson K, Baranowska Körberg I, Tsiaprazis S, et al. A retrospective two centre study of Birt-Hogg-Dubé syndrome reveals a pathogenic founder mutation in FLCN in the Swedish population [J]. PLoS One, 2022, 17(2): e0264056.

[16] Cai M, Zhang X, Fan L, et al. A Novel FLCN intragenic deletion identifed by NGS in a BHDS family and literature review[J]. Front Genet, 2021, 12: 636900.

[17] 冯勇，李保庆，曹富民，等.家族性自发性气胸8例临床分析并文献复习[J].中华胸心血管外科杂志，2020，36(8)：486-488.

[18] Hu X, Zhang G, Chen X, et al. Birt-Hogg-Dubésyndrome in Chinese patients: a literature review of 120 families [J]. Orphanet J Rare Dis, 2021, 16(1): 223.

[19] Liu Y, Xing H, Huang Y, et al. Familial spontaneous pneumothorax: importance of screening for Birt-Hogg-Dube syndrome[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2020, 57(1): 39-45.

[20] Gupta N, Finlay GA, Kotloff RM, et al. Lymphangioleiomyomatosis diagnosis and management: high-resolution chest computed tomography, transbronchial lung biopsy, and pleural disease management an official American Thoracic Society/Japanese Respiratory Society clinical practice guideline[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2017, 196(10): 1337-1348.

[21] Sattler EC, Syunyaeva Z, Reithmair M, et al. Colorectal cancer risk in families with Birt-Hogg-Dubé syndrome increased[J]. Eur J Cancer, 2021, 151: 168-174.

[22] Alkundi A, Momoh R. Phaeochromocytoma in a patient with a Birt-Hogg-Dubé syndrome phenotype[J]. BMJ Case Rep, 2023, 16(3): e252362.

[23] Wang Y, Cai M, Jiang X, et al. Exons 1-3 deletion in FLCN is

associated with increased risk of pneumothorax in Chinese patients with Birt-Hogg-Dubé syndrome[J]. Orphanet J Rare Dis,2023,18(1):115.

[24] Wu J, Lu J, Wu CL, et al. Birt-Hogg-Dubé syndrome in an overall view: focus on the clinicopathological prospects in renal tumors[J].Semin Diagn Pathol,2024,41(3):119-124.

[25] Benhammou JN, Vocke CD, Santani A, et al. Identification of intragenic deletions and duplication in the FLCN gene in Birt-Hogg-Dube syndrome [J]. Genes Chromosomes Cancer, 2011,50(6):466-477.

[26] Xu W, Xu Z, Liu Y, et al. Characterization of CT scans of patients with Birt-Hogg-Dubésyndrome compared with those of Chinese patients with non-BHD diffuse cyst lung diseases [J]. Orphanet J Rare Dis,2020,15(1):176.

[27] Lakhani DA, Winkler L, Lisle M. Birt-Hogg-Dubé syndrome: case report and brief review of the literature[J]. Radiol Case Rep,2021,17(1):250-253.

[28] Sattler EC, Syunyaeva Z, Mansmann U, et al. Genetic risk factors for spontaneous pneumothorax in Birt-Hogg-Dube syndrome[J]. Chest,2020,157(5):1199-1206.

[29] Steinlein OK, Reithmair M, Syunyaeva Z, et al. Delayed diagnosis of Birt-Hogg-Dube syndrome might be aggra-vated by gender bias[J]. EClinicalMedicine,2022,51:101572.

[30] Hasal E, Baskan EB, Gul S, et al. Birt-Hogg-Dubésyndrome: diagnostic journey of three cases from skin to gene[J]. Ann Dermatol,2022,34(1):66-71.

[31] Ramirez Reyes JMJ, Cuesta R, Pause A. Folliculin: A regulator of transcription through ampk and mtor signaling pathways[J]. Front Cell Dev Biol,2021,9:667311.

[32] Goncharova EA, Goncharov DA, James ML, et al. Folliculin controls lung alveolar enlargement and epithelial cell survival through E-cadherin, LKB1, and AMPK[J]. Cell Rep,2014,7(2):412-423.

[33] Shouichi O, Hiroki E, Masatoshi K, et al. Folliculin haploinsufficiency causes cellular dysfunction of pleural mesothelial cells[J]. Sci Rep,2021,11(1):10814.

[34] Caterina C, Marc F, Maria D, et al. AMPK promotes induction of the tumor suppressor FLCN through activation of TFEB independently of mTOR[J]. FASEB J,2019,33(11):12374-12391.

(本文编辑:赵丽洁)