

200936163A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

Wolfram 症候群の実態把握および診断法確立のための  
調査研究

平成 21 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者

谷 澤 幸 生

平成 22(2010)年 5 月

# 目 次

I. 総括研究報告	
Wolfram 症候群の実態把握および診断法確立のための調査研究	----- 1
谷澤 幸生	
II. 分担研究報告	
1. Wolfram 症候群の実態把握および診断法確立のための調査研究	----- 5
岡 芳知	
2. Wolfram 症候群の実態把握および診断法確立のための調査研究	----- 10
山田 祐一郎	
3. Wolfram 症候群の実態把握および診断法確立のための調査研究	----- 12
和田 安彦	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 15
IV. 研究成果の刊行物・別刷	----- 17

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
総括研究報告書

Wolfram 症候群の実態把握および診断法確立のための調査研究  
研究代表者 谷澤 幸生 山口大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨

Wolfram症候群(WFS)は糖尿病(DM)、視神経萎縮(OA)、尿崩症(DI)、難聴(D)、尿路異常、多彩な神経・精神症状を合併する進行性の遺伝性難病で、治療法は確立されていない。原因遺伝子*WFS1*の同定により、遺伝子診断が可能となったが、発症メカニズムは依然不明である。また、*WFS1*遺伝子変異によらないWFSも存在し、多様性をもつ。英国では770,000人に1人と推計されているが日本での実態は全く不明である。

当研究班では、先ず日本での実態を明らかにするための調査を行った。WFS診断のminimal criteriaと考えられているDM + OAの合併例について過去10年間での経験の有無、その患者の他の随伴症候について質問した。また、OAは診断されていないが、WFSを特徴付ける他の症候とDMの合併例についても「疑い例」として調査した。調査票は糖尿病専門医・内分泌代謝専門医（内科、小児科）5,632名に送付した。

1,578名から回答を得、92人のDMとOAの合併例が報告された。このうち、46症例が他の主要徴候を合併していた。その内訳は、DI 76.0%、D 84.7%、尿路異常56.5%、神経・精神症状65.2%であった。4徴候すべて揃っている症例が40.9%、2つ以上有している症例が81.8%であった。この他に、DMとOAを合併した6症例が集計された。

*WFS1*遺伝子検査は、今回依頼を受けたものを合わせて、現在までに17例(家系)について行なっている。変異が同定されたのは10例(59%)であった。変異と表現型の関連について、また*WFS1*遺伝子によるWFSとそれ以外のWFSの特徴の差異については、今後、詳細に検討して行く。

本邦においてもWFSは希少である。報告例の重複、網羅性についての課題はあるが、人口比では英国とほぼ同程度、日本での患者数は150から200例程度と推定した。各症候の頻度については、欧米における報告に比べDの発現頻度が高い傾向にあったものの、他の徴候については同等であった。

患者および患者家族からの聞き取り調査では、WFSが進行性の経過を取り、本人、家族の負担が大きく、また、疾患についての情報が医療関係者に周知されていないため患者や家族への支援体制も十分でない実態が明らかになった。今後、さらに日本でのWFSの実態を明らかにし、診療指針を確立していく必要があると同時に、疾患についての啓発活動を行うことにより患者家族への支援体制も充実させることが必要であることが明らかになった。

一方、WFSの成因に関する研究では、WFS1蛋白は小胞体に存在する膜蛋白であることが知られているが、膵β細胞では、小胞体のみならずインスリン分泌顆粒にも存在し、顆粒内の酸性化に関与することを明らかにした。WFS1蛋白の機能やWFS発症の分子メカニズムの解明は、新規治療法の開発のために重要である。

研究分担者

岡 芳知  
東北大学大学院医学系研究科 教授  
山田祐一郎  
秋田大学大学院医学系研究科 教授  
和田 一彦  
高知女子大学健康栄養学部 教授

A. 研究目的

Wolfram 症候群は別名、DIDMOAD 症候群とも呼ばれ、尿崩症(Diabetes Insipidus)、糖尿病

(Diabetes Mellitus)、視神経萎縮(Optic Atrophy)、難聴(Deafness)等を合併し常染色体性に劣性遺伝する。10歳前後で発症し、インスリン依存状態に至る糖尿病が初発症状となる。次いで視神経萎縮を併発し、失明に至ることも多い。この2つの症候は必発で、その後、尿崩症(51-71%)、難聴(51-83%)、尿路異常(42-75%)、脳幹・小脳失調や躁鬱病などの多彩な神経・精神症状(28-69%)を合併するなど、進行性で、確立された治療法もなく生活の質は大きく損なわれる。

英国における全国調査(Barret他、Lancet 19

95) では頻度は770,000に1人と極めて希少であることが報告されている。一方、日本では個々の症例や家系についての報告のみで、組織だった全国調査は行われておらず、発症頻度、症候の組み合わせや重症度、予後等について、実態は全く不明である。

申請者らは、Wolfram症候群の原因遺伝子*WFS1*を世界に先駆けて同定することでWolfram症候群の診断に大きく貢献した(Inoue他 Nature Genet 1998)。*WFS1*によりコードされる蛋白の機能は急速に解明されつつあるものの、*WFS1*遺伝子変異により多彩な症候を惹起するメカニズムはいまだ不明である。さらに*WFS1*遺伝子変異によらないWolfram症候群も存在することが示唆されている(Amr S他 Am J Hum Genet 2007)。

このような背景にあって、世界をリードするWolfram症候群研究者が研究班を組織して日本におけるWFSの実態調査を行い、診断(基準)の妥当性、治療や予後の実態を明らかにすることは適切な治療を開発し、患者の福祉を向上する上で必須である。今回の研究は、糖尿病、視神経萎縮など多彩な症候を合併し、生活の質を著しく低下させる予後不良の遺伝性難病であるWolfram症候群(WFS)について、日本人での発症率・有病率、発症年齢、症候と治療の実態、経過、予後を明らかにし、正確な診断法を確立、ならびに診療指針を作成することを目的とする。さらに、Wolfram症候群の分子病態を明らかにすることにより新規治療の開発、患者の福祉向上を目指すものである。

## B. 研究方法

日本での実態を明らかにするためのアンケート調査を行った。WFS診断のminimal criteriaと考えられているDM + OAの合併例について過去10年間での経験の有無、その患者の他の随伴症候について質問した。また、OAは診断されていないが、WFSを特徴付ける他の症候とDMの合併例についても「疑い例」として調査した。調査票は糖尿病・内分泌専門医(内科、小児科)5,632名に送付した。

また、研究分担者および協力者が直接診療にあたっている患者についてより詳細な病歴、合併症、治療的糖について調査を行った。また、患者および家族から直接聞き取り調査を行い、療養上の問題点等について調査を行った。

アンケート調査は全て匿名化し、個人を特定できる情報は収集しなかった。患者および患者家族への調査は、今回の研究の趣旨について十分な説明を行い、同意の下に調査に協力いただいた。遺伝子診断は遺伝医学関連学会による遺伝学的検査に関するガイドラインに従い、倫理委員会の許可のもとに実施した。

WFS1蛋白の細胞内局在は、免疫電顕法により行い、インスリン分泌顆粒のpHは、DAMP (Invitrogen, OR, USA)およびLysoTracker (Molecular Probes)を用いて、既報の方法により測定した。動物実験は山口大学医学部における動物実験に関する倫理委員会の審査、承認を受けて行った。

## C. 研究結果

### (1) Wolfram症候群に関する実態調査

全国の糖尿病専門医および内分泌代謝専門医に対して実施したアンケート調査に対しては、1,578名から回答を得、92人の糖尿病と視神経萎縮の合併例が報告された。このうち、46症例が他の主要徴候を合併していた。その内訳は、尿崩症 76.0%、難聴 84.7%、尿路異常56.5%、神経・精神症状65.2%であった。4徴候すべて揃っている症例が40.9%、2つ以上有している症例が81.8%であった。この他に、糖尿病と尿崩症を合併した6症例が集計された。

*WFS1*遺伝子検査は、今回依頼を受けたものを合わせて、現在までに17例(家系)について行なっている。変異が同定されたのは10例(59%)であった。変異と表現型の関連について、また*WFS1*遺伝子によるWFSとそれ以外のWFSの特徴の差異については、今後、詳細に検討して行く。

患者および患者家族からの聞き取り調査では、WFSが進行性の経過を取り、本人、家族の負担が大きく、また、疾患についての情報が医療関係者に周知されていないため患者や家族への支援体制も十分でない実態が明らかになった。

### (2) マウス臍組織における*wfs1*蛋白の発現とその役割

WFS1蛋白は小胞体に発現され、細胞内カルシウムホメオスターシス、小胞体ストレス応答に関与することが現在までの研究で明らかになっている。しかしながら、これまでの研究は全て線維芽細胞など培養細胞におけるもので、膵β細胞内での局在は詳細に検討されていない。抗WFS1抗体を用いた免疫電顕法による検討で、マウス膵β細胞においてはWFS1蛋白が小胞体に加えて、インスリン分泌顆粒に存在することを見いだした。*Wfs1*遺伝子欠損マウスのβ細胞では、インスリン分泌顆粒の酸性化が低下し、インスリンのプロセッシングが障害されていた。さらに興味深いことに、*wfs1*欠損マウスではインスリン分泌顆粒自体の細胞内での局在が変化していることが観察された。つまり、β細胞内のインスリン分泌顆粒の総数は変化していないが、細胞膜直下で、膜に接する分泌顆粒の数が減少していた。

## D. 考察

本邦においてもWFSは希少である。報告例の重複、網羅性についての課題はあるが、日本での患者数



は150から200例程度、人口比では英国とほぼ同程度と推定した。各症候の頻度については、欧米における報告に比べ難聴の発現頻度が高い傾向にあったものの、他の徴候については同等であった。

臨床的には、正確な診断は予後の予測、予防法、治療法確立の第一歩となる。英国ではWolfram症候群と臨床的に診断された患者の95%に $WFS1$ 遺伝子変異が同定されているが、その他の国・地域では $WFS1$ 遺伝子の変異によるものは24%~75%とさまざまである。今回の日本人での検討では遺伝子検査が実施されていたものは17例(家系)で、そのうち変異が同定されたのは10例(59%)であった。日本人においてもWolfram症候群の成因は多様であることが示唆される。Jordanの患者で第2のWolfram症候群遺伝子 $WFS2$ として $ZCD2$ 遺伝子が同定されている。この患者では出血傾向が特徴的所見として報告されているが、今回日本人患者ではそのような症状の報告はなかった。分子基盤に基づく診断と分類は患者のケアのために必須である。今後、2次調査を通して日本人患者の臨床上をより詳細に検討していくと同時に、遺伝的多様性、また、 $WFS1$ 遺伝子変異によるものでも症候の多様性、phenotype-genotype relationshipを明らかにしてゆく必要がある。

Wolfram症候群の成因を、WFS1蛋白機能との関連で明らかにしてゆくことは新規の治療法を開発する上で重要である。 $WFS1$ 遺伝子変異では、糖尿病の発症に $\beta$ 細胞での小胞体ストレスが重要な役割を担っている。これに加えて、WFS1蛋白がインスリン分泌顆粒にも存在し、顆粒内の酸性を司るとの今回の知見は、WFS1蛋白の新たな機能を示唆する。細胞膜直下に存在する分泌顆粒の減少も得意な所見である。インスリン分泌顆粒の酸性化はインスリンのプロセッシングに重要であると同時に、インスリンのエクソサイトーシスにおいて、「プライミング現象」に関与することが示唆されている。細胞膜直下に存在するインスリン顆粒とそれらが「プライミング」されているか否かは同義ではないが、両者の関連を推測することは理にかなったことである。 $wfs1$ 欠損マウスでは、 $\beta$ 細胞量が進行性に減少すると同時に、あるいは、それ以前からブドウ糖応答性のインスリン分泌が障害されている。WFS1蛋白がインスリン分泌顆粒にも存在するという今回の知見は、WFS1蛋白の $\beta$ 細胞での新たな機能を示唆するものであり、その異常が $\beta$ 細胞機能障害をも説明しうる。

## E. 結論

日本でのWolfram症候群の実態は、さらに2次調査以降の研究で明らかにする必要があるが、頻度は英国とほぼ同じと推測される。しかし、WFS1遺伝子異常による頻度は英国に比べると少なく、遺

伝的により多様であることが示唆された。患者の症候性は進行性で、家族も含めて負担が大きい。疾患がまれで認知度も低いことから、患者支援の体制も不十分であることが明らかになってきている。確実な早期診断法の確立と、診療指針の提案、医療関係者、行政担当者への周知が必要である。

疾患発症機序の解明は新規治療法の開発に重要である。我々はこれまでに $Wfs1$ 遺伝子ノックアウトマウスをモデルに、糖尿病発症予防にpioglitazoneが有効であることを示した。希少疾患では新規治療薬を実用化するための臨床試験は困難である。今後この研究を通して、同意を得て患者登録を進めて行くことも必要であろう。国際的にも日、米、欧でWolfram症候群の成因解明と治療法開発に向けてコンソーシアムが形成されている([http://asso.orpha.net/ASW/PP\\_5.html](http://asso.orpha.net/ASW/PP_5.html))。本研究班は上記活動の日本での核としても期待されている。

## F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- Akiyama M, Hatanaka M, Ohta Y, Ueda K, Yanai A, Uehara Y, Tanabe K, Tsuru M, Miyazaki M, Saeki S, Saito T, Shinoda K, Oka Y, Tanizawa Y. Increased insulin demand promotes while pioglitazone prevents pancreatic beta cell apoptosis in *Wfs1* knockout mice. *Diabetologia*. 52:653-663, 2009.
- Tanimura A, Yujiri T, Tanaka Y, Hatanaka M, Mitani N, Nakamura Y, Mori K, Tanizawa Y. The anti-apoptotic role of the unfolded protein response in Bcr-Abl-positive leukemia cells. *Leuk Res* 33: 924-928, 2009.
- Miyazaki M, Emoto M, Fukuda N, Hatanaka M, Taguchi A, Miyamoto S, Tanizawa Y. DOC2b is a SNARE regulator of glucose-stimulated delayed insulin secretion. *Biochem Biophys Res Commun*. Jul 10;384:461-5, 2009.
- Kawano J, Fujinaga R, Yamamoto-Hanada K, Oka Y, Tanizawa Y, Shinoda K. Wolfram syndrome 1 (*Wfs1*) mRNA expression in the normal mouse brain during postnatal development. *Neurosci Res*. 64:213-230, 2009.
- 谷澤幸生 WFS1遺伝子と糖尿病 医学のあゆみ 232:1209-1210, 2010.

### 2. 学会発表

- Masayuki Hatanaka, Katsuya Tanabe, Yasuharu

- u Ohta, Akie Yanai, Masaru Akiyama, Manabu Kondo, Koh Shinoda, Yoshitomo Oka, Yukio Tanizawa. Wolfram Syndrome 1 Gene (*wfs1*) Product Localizes to Secretory Granule and Determines Acidification of Granule in Pancreatic Beta Cells. The 15<sup>th</sup> Korea-Japan Symposium on Diabetes Mellitus, Nov.20-21, 2009, Jeju, Korea.
- Manabu Kondo, Yasuharu Ohta, Masayuki Hatanaka, Katsuya Tanabe, Yukio Tanizawa. Long-term administration of exendin-4 improves glucose tolerance in *Wfs1*-deficient mice. The 11<sup>th</sup> Symposium on Molecular Diabetology in Asia, Dec. 19, 2009, Taipei, TAIWAN.
  - 田部勝也、M Alan Permutt、谷澤幸生 GSK-3 $\beta$ の欠損は、IRS2欠損マウスにおける糖尿病を改善させる 第82回日本内分泌学会学術総会(平成21年4月23日、24日、25日 前橋市)
  - 幡中雅行、太田康晴、柳井章江、田部勝也、秋山 優、近藤 学、篠田 晃、谷澤幸生 WFS1蛋白はインスリン分泌顆粒に局在する 第82回日本内分泌学会学術総会(平成21年4月23-25日 前橋市)
  - 有好香子、野見山隆太、松永仁恵、永尾優子、中空達樹、福田尚文、竹田孔明、鶴 政俊、奥屋 茂、谷澤幸生 糖尿病患者におけるテストミール負荷後血糖および中性脂肪と動脈硬化指標との関連性の検討 第52回日本糖尿病学会年次学術集会(平成21年5月21-24日 大阪)
  - 下斗米孝之、谷澤幸生、田部勝也、山田祐一郎 WFS-1 遺伝子のG736D変異を認めたWolfram症候群の1例 第52回日本糖尿病学会年次学術集会(平成21年5月21-24日 大阪)
  - 田部勝也、幡中雅行、近藤 学、太田康晴、Mashall Alan Permutt 谷澤幸生 GSK-3 $\beta$ は膵 $\beta$ 細胞においてインスリン情報伝達を抑制的に制御する 第52回日本糖尿病学会年次学術集会(平成21年5月21-24日 大阪)
  - 幡中雅行、太田康晴、柳井章江、田部勝也、秋山 優、近藤 学、鶴 政俊、篠田 晃、谷澤幸生 WFS1蛋白はインスリン分泌顆粒に局在する 第52回日本糖尿病学会年次学術集会(平成21年5月21-24日 大阪)
  - 松井久未子、奥屋 茂、宮本幸子、江本政広、谷澤幸生 SNARE結合蛋白p34は脂肪細胞における糖輸送を調節する 第52回日本糖尿病学会年次学術集会(平成21年5月21-24日 大阪)
  - 幡中雅行、田部勝也、太田康晴、柳井章江、秋山 優、近藤 学、篠田 晃、岡 芳知、谷澤幸生 WFS1蛋白はインスリン分泌顆粒に局在し、顆粒内酸性化能維持に重要である 第21回分子糖尿病学シンポジウム(平成21年12月12日 和歌山市)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他(研究に関する新聞記事等)  
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

Wolfram 症候群の実態把握および診断法確立のための調査研究  
分担研究者 岡 芳知 東北大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨

日本でのWolfram症候群(WFS)の発症率・有病率、発症年齢と症候、治療の実態、経過、予後を明らかにし、正確な診断法の確立と適切な治療の開発を目的とした。治療の確立のためには、Wolfram症候群(WFS)の原因遺伝子が何をしているか、どのような機構で我々が糖尿病になるのを防いでいるのかを明らかにする必要がある。原因遺伝子の機能解明も本研究の目的のひとつである。Wolfram症候群(WFS)は糖尿病、視神経萎縮、尿崩症、難聴などに多彩な神経・精神症状を合併する遺伝性難病で、小児期に発症するインスリン依存性糖尿病が初発症状となる。次いで視神経萎縮により失明に至る。この2つの特徴的な症候の合併によりWFSが診断されているが、発症すると進行性で、確立された治療法もない。その頻度は、日本では組織的な調査は行われておらず、頻度、症候、重症度、予後等の実態は全く不明である。我々は原因遺伝子 *WFS1* を世界に先駆けて同定し、遺伝子診断が可能となったが、発症メカニズムは依然不明である。また、*WFS1* 遺伝子変異によらないWFSも存在し、疾患の多様性も明らかになってきた。事実、最近第2のWFS遺伝子 *WFS2* として *ZCD2* 遺伝子が同定されている。

以上を背景として、今回の研究ではWFSの全国調査を行っている。まだpreliminaryな結果ではあるが、罹患者には自殺者が多いようであり、わが国で組織的な調査・研究が行われて来なかったことを反映しているのではと危惧している。さらに我々は、WFS1蛋白が細胞内のたんぱく質の処理機構の一端を担い、これが欠損すると細胞内に異常な蛋白が蓄積し小胞体ストレスが増大することを明らかにした。

A. 研究目的

糖尿病、視神経萎縮など多彩な症候を合併し、生活の質を著しく低下させる予後不良の遺伝性難病であるWolfram症候群(WFS)について、わが国での事態調査を行い、日本人での発症率・有病率、発症年齢、症候と治療の実態、経過、予後を明らかにし、正確な診断法を確立するとともに、適切な治療の開発、患者の福祉向上を目指すものである。

WFS は別名、DIDMOAD症候群とも呼ばれ、尿崩症(Diabetes Insipidus)、糖尿病(Diabetes Mellitus)、視神経萎縮(Optic Atrophy)、難聴(Deafness)等が小児期に発症し、インスリン依存状態に至る糖尿病が初発症状となることが多い。そのほか、尿崩症(51-71%)、難聴(51-83%)、尿路異常(42-75%)、脳幹・小脳失調や躁鬱病などの多彩な神経・精神症状(28-69%)を合併するなど、進行性で、確立された治療法もなく生活の質は大きく損

なわれる。

我々は、WFSの原因遺伝子 *WFS1* を世界に先駆けて同定することでWFSの診断に大きく貢献した(Iinoue他 Nature Genet 1998)。*WFS1*によりコードされる蛋白の機能は急速に解明されつつあるものの、いまだ不明である。なお、WFS1はほとんどすべての細胞に発現しているにもかかわらず、WFS1欠損で障害されるのは、膵β細胞とある種の神経細胞に限られる。これは、膵β細胞に特異な小胞体ストレス応答シグナル経路が存在する可能性を示唆しており、我々は翻訳抑制因子4E-BP1を見出した(*Cell Metabolism* 2008)。この上流には転写因子ATF4があるが、膵β細胞障害を起こすことでよく知られている酸化ストレスでも同様にATF4は増加するのに対し、4E-BP1の反応は異なることをpreliminaryだが認めている。この分子機構を解明する。

B. 研究方法

Wolfram症候群についてのアンケート調査

全国の主要な病院の内分泌代謝科、眼科の診療責任者、日本糖尿病学会評議員及び認定教育施設教育責任者に対して、それぞれの施設でのWolfram症候群疑い患者（おおむね30歳以下発症の糖尿病と視神経萎縮の合併例）の有無、その症例数、病歴・治療歴、予後等についてアンケート調査を行う。

膵β細胞に特異的な小胞体ストレス反応機構の解明

我々は、翻訳抑制因子4E-BP1の発現増加によって膵β細胞をアポトーシスから保護することを見出した (*Cell Metabolism* 2008)。この研究では、WFS1欠損によりウオルフラム症候群モデルマウスを作成できたが、たとえば心筋もWFS1を欠損しているにもかかわらず障害をきたさず4E-BP1の発現増加も見られない。また、患者でも同様に心筋の障害はおこらない。これは膵β細胞あるいは非膵β細胞に特異的な因子が存在し、4E-BP1の発現に関与していることを示している。ウオルフラム症候群のモデルであるWFS1KOマウスの膵を用いて解析を進める。

本研究の中のヒト遺伝子解析研究は、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に準拠して計画、実施され、東北大学医学部倫理委員会で承認されている（承認番号2003-265）。すなわち、人権擁護に十分な配慮がなされており、DNA検体はインフォームドコンセントのもとに取得され、非連結匿名化されている。WFS1ノックアウトマウス作製ならびにWFS1機能解析のための組換えDNA実験は東北大学倫理委員会にて承認されている。また、マウス動物実験については、麻酔薬を用いるなど疼痛除去に充分配慮している。

### C. 研究結果

日本でのWolfram症候群(WFS)の全国調査を行った。まだpreliminaryな結果ではあるが、罹患患者には自殺者が多いようであり、わが国で組織的な調査・研究が行われて来なかったことを反映しているのではと危惧している。

また、Wolfram症候群(WFS)の主要な原因遺伝子WFS1はubiquitin-proteasome経路で細胞内の蛋白を分解しているという斬新な説を提唱した。この作用が低下すると細胞内に異常蛋白が蓄積し、小胞体ストレスが増加してインスリン分泌が低下するのである (*J Clin Invest* 120(3):744-55, 2010)。

していた。

### D. E. 考察および結論

今回企画されたアンケート調査はWolfram症候群(WFS)の病型に対して適切な治療法を選択・開発して行く基盤となる。preliminaryな結果ではあるが、調査では罹患患者には自殺者が多いようであり、わが国でこれまで組織的な調査・研究が行われて来なかったことを反映しているのではと危惧している。また、我々が提唱したWolfram症候群(WFS)の主要な原因遺伝子WFS1の機構 (*J Clin Invest* 120(3):744-55, 2010)からは、WFS1は糖尿病を防ぐターゲットのひとつと考えられる。

### F. 健康危険情報

特になし。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- Fonseca SG, Ishigaki S, Oslowski CM, Lu S, Lipson KL, Ghosh R, Hayashi E, Ishihara H, Oka Y, Permutt MA, Urano F. Wolfram syndrome 1 gene negatively regulates ER stress signaling in rodent and human cells. *J Clin Invest*.120(3):744-55, 2010
- Yoshida S, Hirai M, Suzuki S, Awata S, Oka Y. Neuropathy is associated with depression independently of health-related quality of life in Japanese patients with diabetes. *Psychiatry and Clinical Neurosciences* 63(1): 65-72, 2009
- Fukuda N, Emoto M, Nakamori Y, Taguchi A, Miyamoto S, Uraki S, Oka Y, Tanizawa Y. DOC2B: A novel syntaxin-4 binding protein mediating insulin-regulated GLUT4 vesicle fusion in adipocytes. *Diabetes* 58(2): 377-384, 2009
- Akiyama M, Hatanaka M, Ohta Y, Ueda K, Yanai A, Uehara Y, Tanabe K, Tsuru M, Miyazaki M, Saeki S, Saito T, Shinoda K, Oka Y, Tanizawa Y. Increased insulin demand promotes while pioglitazone prevents pancreatic beta cell apoptosis in Wfs1 knockout mice. *Diabetologia*. 52(4):653-63, 2009 (Epub ahead 2009 Feb 4)
- Tokita A, Ishigaki Y, Okimoto H, Hasegawa H, Koiwa Y, Kato M, Ishihara H, Hinokio Y, Katagiri H, Kanai H, Oka Y. Carotid arterial elasticity is a sensitive atherosclerosis value reflecting visceral fat accumulation in obese subjects. *Atherosclerosis* 206: 168-72, 2009 (Epub 2009 Feb 20)
- Kaneko K, Yamada T, Tsukita S, Takahashi K, Ishigaki Y, Oka Y, Katagiri H. Obesity Alters Circadian Expressions of Molecular Clock Genes in



the Brainstem. Brain Res. 1263: 58-68, 2009 (Epub 2009 Jan 15)

- Kawano J, Fujinaga R, Yamamoto-Hanada K, Oka Y, Tanizawa Y, Shinoda K. Wolfram syndrome 1(Wfs1) mRNA expression in the normal mouse brain during postnatal development. Neuroscience Research 64: 213-230, 2009
- Fujiwara M, Kobayashi T, Jomori T, Maruyama Y, Oka Y, Sekino H, Imai Y, Takeuchi K. Pattern recognition analysis for <sup>1</sup>H NMR spectra of plasma from hemodialysis patients. Anal Bioanal Chem 394: 1655-1660, 2009
- Miyake K, Yang W, Hara K, Yasuda K, Horikawa Y, Osawa H, Furuta H, CY Ng M, Hirota Y, Mori H, Ido K, Yamagata K, Hinokio Y, Oka Y, Iwasaki N, Iwamoto Y, Yamada Y, Seino Y, Maegawa H, Kashiwagi A, Wang H, Tanahashi T, Nakamura N, Takeda J, Maeda E, Yamamoto K, Tokunaga K, CW Ma R, S Wing-Yee, Juliana CN Chan, Kamatani N, Makino H, Nanjo K, Kadowaki T, Kasuga M. Construction of a prediction model for type 2 diabetes mellitus in the Japanese population based on 11 genes with strong evidence of the association. Journal of Human Genetics 54: 236-241, 2009
- Ogihara T, Katagiri H, Yamada T, Kudo H, Imai J, Hinokio Y, Yamagiwa Y, Ueno Y, Shimosegawa T, Oka Y. Peginterferon(PEG-IFN)Plus ribavirin combination therapy, but neither interferon nor PGE-IFN alone, induced Type 1 diabetes in a patient with chronic hepatitis C. Internal Medicine 48: 1387-1390, 2009
- Imai J, Oka Y, Katagiri H. Identification of a novel mechanism regulating  $\beta$ -cell mass. Islets 1(1), 73-75, 2009
- Imai J, Yamada T, Saito T, Ishigaki Y, Hinokio Y, Kotake H, Oka Y, Katagiri H. Eradication of insulin resistance. Lancet. 374:264, 2009
- Ishigaki Y, Oka Y, Katagiri H. Circulating oxidized LDL-a biomarker and a pathogenic factor. Current Opinion in Lipidology 20:363-369, 2009

## 2. 学会発表

- 岡 芳知 Metabolic Information Highway -中枢と末梢をつなぐ自律神経系による代謝情報ネットワーク 第43回糖尿病学の進歩 2月20日 松本
- 岡 芳知 糖尿病研究の将来展望 第43回糖尿病学の進歩 2月20日 松本
- 岡 芳知 Metabolic Information Highway -自律神経による臓器間の協調的代謝調節機構 第1回ハイマンスリーセミナー 4月15日 神戸
- 今井 淳太、片桐 秀樹、岡 芳知 肝臓における ERK 経路活性化は膵島再生を促進する 第82回日本内分泌学会学術総会 4月23日-25日 群馬
- 高 俊弘、片桐 秀樹、石垣 泰、石原 寿光、山田 哲也、澤田正二郎、荻原 健英、今井 淳太、宇野 健司、長谷川 豊、金子 慶三、鈴木 俊伸、齋藤 徳郎、突田 壮平、高橋 圭、檜尾 好徳、森 正敬、岡 芳知 動脈硬化症・進展におけるCHOPの役割の検討 第52回日本糖尿病学会年次学術集会 5月21日-24日 大阪
- 鴫田 藍、石垣 泰、沖本 久志、長谷川英之、小岩 喜郎、加藤 真、長谷川 豊、山口 賢、澤田正二郎、今井 淳太、山田 哲也、石原 寿光、檜尾 好徳、片桐 秀樹、金井 浩、岡 芳知 腹部内臓脂肪面積の頸動脈血管弾性特性に及ぼす影響の検討 第52回日本糖尿病学会年次学術集会 5月21日-24日 大阪
- 宇野 健司、片桐 秀樹、山田 哲也、石垣 泰、今井 淳太、長谷川 豊、高 俊弘、金子 慶三、齋藤 徳郎、鈴木 俊伸、荻原 健英、岡 芳知 肝からの神経を介した、肥満に伴う高血圧の発症機序 第52回日本糖尿病学会年次学術集会 5月21日-24日 大阪
- 金子 慶三、片桐 秀樹、山田 哲也、荻原 健英、石垣 泰、今井 淳太、宇野 健司、長谷川 豊、澤田正二郎、高 俊弘、鈴木 俊伸、齋藤 徳郎、突田 壮平、高橋 圭、檜尾 好徳、岡 芳知 肥満による延髄孤束核における概日リズムの変調 第52回日本糖尿病学会年次学術集会 5月21日-24日 大阪
- 今井 淳太、片桐 秀樹、荻原 健英、石垣 泰、山田 哲也、宇野 健司、長谷川 豊、高 俊弘、金子 慶三、鈴木 俊伸、齋藤 徳郎、突田 壮平、高橋 圭、檜尾 好徳、岡 芳知 自律神経を介した肝臓-膵  $\beta$  細胞連関による膵  $\beta$  細胞増殖機構 第52回日本糖尿病学会年次学術集会 5月21日-24日 大阪
- 鈴木 俊伸、今井 淳太、片桐 秀樹、荻原 健英、石垣 泰、山田 哲也、宇野 健司、長谷川 豊、澤田正二郎、高 俊弘、金子 慶三、齋藤 徳郎、突田 壮平、高橋 圭、檜尾 好徳、岡 芳知 IL-6の持つ糖反応性インスリン分泌促進作用とそのメカニズムについて 第52回日本糖尿病学会年次学術集会 5月21日-24日 大阪
- 高橋 和眞、岡 芳知、佐藤 譲 NOD マウス骨髄由来樹状細胞におけるパターン認識分子とアクチン調節分子発現の網羅的解析 第52回日本糖尿病学会年次学術集会 5月21日-24日 大阪
- 薄井 正寛、石原 寿光、鈴木千登世、近藤 敬一、丹治 泰裕、富永 竜、佐竹 千尋、山口 賢、石垣 泰、檜尾 好徳、片桐 秀樹、森 和俊、岡 芳知 膵  $\beta$  細胞における ATF6 $\alpha$  欠損マウスを用いた検討 第52回日本糖尿病学会年次学術集会 5月21

日-24日 大阪

- Hasegawa Y, Saito T, Ogihara T, Fujita T, Oka Y, Katagiri H Blockade of Endothelial NF-kB Pathway Prevents Obesity- and Age-related Insulin Resistance and Prolongs Longevity MOVD2009-第10回血管拡張機序に関する国際シンポジウム-(10th International Symposium on Mechanisms of Vasodilatation) 6月1日-3日 宮城
- Kaneko K, Yamada T, Oka Y, Katagiri H Obesity and Insulin Resistance Alter Circadian Expressions of Molecular Clock Genes in the Brainstem The 69th Scientific Sessions of American Diabetes Associations June5-9th New Orleans, USA
- 岡 芳知 2型糖尿病の現状と課題 仙台市内科医会春季総会 6月15日 仙台
- 岡 芳知 Metabolic Information Highway -神経系も糖・エネルギー代謝に重要- 第10回徳島糖尿病フォーラム 7月10日 仙台
- 石垣 泰、鴫田 藍、片桐 秀樹、岡 芳知 超音波測定による頸動脈血管弾性は内臓肥満に伴う早期動脈硬化を評価できる 第2回日本肥満症治療学会学術集会 7月10日-11日 東京
- 石垣 泰、鴫田 藍、沖本 久志、長谷川 英之、小岩 喜郎、加藤 真、檜尾 好徳、片桐 秀樹、金井 浩、岡 芳知 頸動脈血管弾性特性による肥満、代謝異常にともなう早期動脈硬化の評価 第28回日本脳神経超音波学会 7月11日-12日 大阪
- 山田沙智子、由良有希子、鈴木 紀子、木原 弓枝、檜尾 好徳、片桐 秀樹、岡 芳知 行動変容につなげるPLCに基づいた糖尿病療養指導の試み 日本糖尿病学会第47回東北地方会 11月7日仙台
- 千葉 明美、高宮あすか、今野 朱美、檜尾 好徳、片桐 秀樹、岡 芳知 1型糖尿病と宣告された患者の感情変化と看護介入 日本糖尿病学会第47回東北地方会 11月7日仙台
- 林 殿聡、後藤 均、橋本 彰、由良有希子、多田 恵子、石垣 泰、岡 芳知、舘 正弘 東北大学病院フットケアセンター開設1年の歩み 日本糖尿病学会第47回東北地方会 11月7日仙台
- 高橋 圭、片桐 秀樹、前嶋 隆平、近藤 敬一、突田 壮平、齋藤 徳郎、鈴木 俊伸、金子 慶三、澤田正二郎、長谷川 豊、宇野 健司、今井 淳太、山田 哲也、石垣 泰、荻原 健英、檜尾 好徳、岡 芳知 若年発症の稀な膝悪性腫瘍(solid pseudopapillary tumor)術後に1型糖尿病を発症した1例 日本糖尿病学会第47回東北地方会 11月7日仙台
- 鈴木 俊伸、片桐 秀樹、前嶋 隆平、高橋 圭、近藤 敬一、突田 壮平、工藤 宏仁、齋藤 徳郎、金子 慶三、澤田正二郎、長谷川 豊、宇野 健司、今井 淳太、山田 哲也、石垣 泰、荻原 健英、檜尾 好徳、岡 芳知 ターナー症候群に合併した1型糖尿病の1例 日本糖尿病学会第47回東北地方会 11月7日仙台
- 角田 宇衣子、檜尾 好徳、工藤 宏仁、丹治 泰裕、山口 賢、石垣 泰、金澤 智美、小川 栄作、片桐 秀樹、岡 芳知 色素性痒疹を伴って発症した1型糖尿病ケトosisの1例 日本糖尿病学会第47回東北地方会 11月7日仙台
- 丹治 泰裕、山口 賢、山田友里恵、近藤 敬一、工藤 宏仁、石川 素子、薄井 正寛、富永 竜、長谷川 豊、石垣 泰、檜尾 好徳、片桐 秀樹、岡 芳知 髄膜腫術後に診断された多発性内分線種瘍症(MEN)1型が疑われるインスリノーマの1例 日本糖尿病学会第47回東北地方会 11月7日仙台
- 東海林 渉、由良有希子、藤原 幾磨、菅野 潤子、薄井 正寛、岡 芳知 2009宮城県小児糖尿病サマーキャンプの報告 日本糖尿病学会第47回東北地方会 11月7日仙台
- 突田 壮平、片桐 秀樹、前嶋 隆平、高橋 圭、近藤 敬一、齋藤 徳郎、鈴木 俊伸、金子 慶三、長谷川 豊、宇野 健司、今井 淳太、山田 哲也、石垣 泰、荻原 健英、檜尾 好徳、岡 芳知、日高 浩史 MELASと診断された後に糖尿病を発症したミトコンドリア遺伝子異常の1例 日本糖尿病学会第47回東北地方会 11月7日仙台
- 近藤 敬一、檜尾 好徳、丹治 泰裕、工藤 宏仁、突田 壮平、石川 素子、薄井 正寛、富永 竜、長谷川 豊、山口 賢、石垣 泰、荻原 健英、片桐 秀樹、元井 冬彦、江川 新一、海野 倫明、藤島 史喜、中村 保宏、渡辺 みか、岡 芳知 多発膝腫瘍により膝全摘を余儀なくされインスリン導入となったVHL病の1例 日本糖尿病学会第47回東北地方会 11月7日仙台
- 金子 慶三、片桐 秀樹、前嶋 隆平、高橋 圭、近藤 敬一、突田 壮平、齋藤 徳郎、鈴木 俊伸、澤田正二郎、長谷川 豊、宇野 健司、今井 淳太、山田 哲也、石垣 泰、荻原 健英、檜尾 好徳、岡 芳知 1型糖尿病患者のインスリンアレルギーに対し抗ヒスタミン剤2剤併用が有効であった1例 日本糖尿病学会第47回東北地方会 11月7日仙台
- 前嶋 隆平、片桐 秀樹、高橋 圭、近藤 敬一、突田 壮平、齋藤 徳郎、鈴木 俊伸、金子 慶三、澤田正二郎、長谷川 豊、宇野 健司、今井 淳太、山田 哲也、石垣 泰、荻原 健英、檜尾 好徳、岡 芳知 化膿性骨髄炎・腎盂腎炎を合併した2型糖尿病放置症例 日本糖尿病学会第47回東北地方会 11月7日仙台
- 齋藤 徳郎、片桐 秀樹、今井 淳太、山田 哲也、前嶋 隆平、高橋 圭、近藤 敬一、突田 壮平、鈴木 俊伸、金子 慶三、長谷川 豊、宇野 健司、澤田正二郎、石垣 泰、荻原 健英、檜尾 好徳、小竹 英俊、岡 芳知 ヘリコバクター・ピロリの除菌によりB型インスリン抵抗症の完治に成功した1例 日

- 本糖尿病学会第47回東北地方会 11月7日仙台
- 工藤 宏仁、檜尾 好徳、木下 知、藤澤 夏行、近藤 敬一、丹治 泰裕、石川 素子、薄井 正寛、冨永 竜、佐竹 千尋、角田 宇衣子、鵜田 藍、山口賢、石垣 泰、片桐 秀樹、岡 芳知 インスリン自己免疫症候群様インスリン抗体を有するも経口剤のみでコントロールできた1例 日本糖尿病学会第47回東北地方会 11月7日仙台
  - 澤田正二郎、片桐 秀樹、前嶋 隆平、高橋 圭、突田 壮平、齋藤 徳郎、鈴木 俊伸、金子 慶三、長谷川 豊、宇野 健司、今井 淳太、山田 哲也、森本 玲、佐藤 文俊、伊藤 貞嘉、石垣 泰、檜尾 好徳、岡 芳知 テストステロン療法が減量に奏功した低ゴナドトロピン性腺機能低下症合併の肥満症の1例 日本糖尿病学会第47回東北地方会 11月7日仙台
  - 鵜田 藍、石垣 泰、沖本 久志、長谷川英之、小岩 喜郎、加藤 真、今井 淳太、山田 哲也、檜尾 好徳、金井 浩、片桐 秀樹、佐々木 毅、岡 芳知 糖負荷試験における血糖上昇と頸動脈血管弾性特性の検討 日本糖尿病学会第47回東北地方会 11月7日仙台
  - 丹田奈緒子、檜尾 好徳、由良有希子、鷲尾 純平、高橋 信博、小関 健由、片桐 秀樹、岡 芳知 入院中に口腔環境改善を試みた治療コンプライアンスの低い2型糖尿病の1例 日本糖尿病学会第47回東北地方会 11月7日仙台
  - 荻原 健英、片桐 秀樹、山田 哲也、今井 淳太、前嶋 隆平、高橋 圭、近藤 敬一、突田 壮平、鈴木 俊伸、齋藤 徳郎、金子 慶三、澤田 正二郎、長谷川 豊、石垣泰、檜尾 好徳、岡 芳知 食事療法によるインスリン減量と血糖認識トレーニングで自覚が可能となった無自覚性低血糖 日本糖尿病学会第47回東北地方会 11月7日仙台
  - 岡 芳知 糖尿病診療の課題 社保支払基金審査委員勉強会学術講演会 11月25日仙台

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他（研究に関する新聞記事等）
  - 2009年4月21日朝刊  
読売新聞 「みやぎ健康寺子屋 メタボ予防は自己管理 東北大・岡教授が講演」
  - 2009年4月27日  
週刊医学会新聞 「第106回日本内科学会/シンポジウム」
  - 2009年7月19日朝刊  
朝日新聞 「ピロリ除菌で糖尿病完治」

Wolfram 症候群の実態把握および診断法確立のための調査研究  
分担研究者 山田祐一郎 秋田大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨

糖尿病・視神経委縮・尿崩症・聴覚障害など、多彩な症状が出現するWolfram症候群で、原因となる変異が同定された6症例について、臨床所見を検索することにより、Wolfram症候群が発症する機序は未だ不明であり、治療法がないため、進行性の経過をとり、本人ならびに家族の負担が大きく、生命予後も不良であることが示すことができた。

A. 研究目的

難治性疾患克服研究事業は、難治性疾患について、診断基準や治療ガイドラインの策定、さらに原因や臨床病態の解明などをおこなうことを主な目的としている。

難治性疾患は、原因不明で治療法が確立されていないことや、後遺症を起こすおそれが多いこと、経過が慢性で経済的・精神的に負担が大きいことが特徴である。

Wolfram症候群は、原因遺伝子の一つとしてWFS1遺伝子が同定され、小胞体ストレスとの関連が報告されているが、糖尿病・視神経委縮・尿崩症・聴覚障害など、多彩な症状がどのような機序で起こるかは、ほとんどわかっていない。

平成21年度は、秋田大学医学部附属病院ならびに関連病院に現在通院している、あるいは過去に通院していたWolfram症候群の6名の症例について臨床所見を検討し、遺伝子変異と臨床像との関連を調べることを目的とする。

B. 研究方法

①すでに遺伝子変異（15bpの欠失、Inoue et al. Nat Genet 1999）のホモであることが同定されている4名の症例（家系A、男性2名、女性2名）について、Wolfram症候群に特徴的に認められる糖尿病・視神経委縮・尿崩症・聴覚障害などの臨床所見を検索する。遺伝子検査については、倫理委員会で承認され実施している。

②インスリン依存糖尿病と尿崩症が認められた症例ならびに同胞（家系B）について、WFS1遺伝子変異を検索するとともに、臨床所見を検索する。遺伝子検査については、倫理委員会で承認さ

れ実施している。

③家系Bで認められた遺伝子変異について、変異WFS1 cDNAを作製し、小胞体での発現を検索する。

C. 研究結果

①家系A では、WFS1遺伝子の15bpの欠失が報告されているが、同一の遺伝子変異をホモで有する4名について、WFS症候群の典型的な症状である糖尿病の発症年齢は、 $4.3 \pm 1.0$ 歳（平均±標準偏差）、視神経委縮は $7.5 \pm 1.0$ 歳、尿崩症は $13.0 \pm 4.1$ 歳、聴覚障害は $8.5 \pm 3.1$ 歳であった。神経・精神症状については、2例で認められた。

また、男性の2症例は、29歳と35歳で死去され、女性の1症例は、19歳で死去された。

②家系Bの発端者について、WFS1遺伝子の736番目のグリシンをコードするGGCが、GACに変異し、コードするアミノ酸がアスパラギン酸に置換しているホモであることが明らかとなった。本症例は、糖尿病発症は1歳と家系Aと比べても早いものの、尿崩症は39歳発症と遅かった。また、姉も同様の症状を示し、すでに死去されていた。

③736番目のアミノ酸をアスパラギン酸に置換したWFS1を細胞株に発現させると、小胞体への集積が少ないことが明らかとなった。

D. 考察

Wolfram症候群は、世界的にも非常に稀であり、症例の臨床所見の蓄積が求められている。

家系Aでは、Wolfram症候群の代表的な臨床所見である糖尿病・視神経委縮・尿崩症・聴覚障害については、比較的発症年齢も同じで4症例とも認め

られたが、インスリン分泌能には違いもあり、また、Wolfram症候群でしばしば(28-69%)報告されている神経・精神症状は2症例のみであり、同一遺伝子変異にも関わらず臨床所見に差異が生じるのがどのような機序によるものかは、現時点では不明である。

家系Bでは、WFS1遺伝子の新たな遺伝子変異が同定された。機能的にも小胞体への集積が低下していることから、小胞体ストレスを十分に除去できなくなっていることが示唆された。本家系では、Wolfram症候群の主要徴候の発症年齢が家系Aとは異なり、糖尿病は早いにも関わらず、尿崩症が遅く、単にWFS1蛋白の機能低下だけでは説明できない。

## E. 結論

Wolfram 症候群の症例を詳細に調べることで、原因遺伝子として同定されたものがあるものの、症状が発症する機序は不明であり、治療法がないため、進行性の疾患であり、本人ならびに家族の負担が大きく、予後が不良であることが示すことができた。

## F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- Takahashi I, Yamada Y, Kadowaki H, Horikoshi M, Kadowaki T, Narita T, Tsuchida S, Noguchi A, Koizumi A, Takahashi T. Phenotypical variety of insulin resistance in a family with a novel mutation of the insulin receptor gene. *Endocrinol J* (in press)
- Sato T, Narita T, Hosoba M, Kakei M, Nanjo H, Uchinami H, Satoh K, Yamamoto Y, Yamada Y. A case of insulinoma following total gastrectomy-Effects of an alpha-glucosidase inhibitor on suppressing GIP and GLP-1 elevations. *Diabetes Res Clin Pract* 88(1):e4-e6, 2010.
- Fujita H, Fujishima H, Chida S, Takahashi K, Qi Z, Kanetsuna Y, Breyer MD, Harris RC, Yamada Y, Takahashi T: Reduction of renal superoxide dismutase in a murine model of progressive diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 20(6):1303-13, 2009.
- Hosoba M, Fujita H, Miura T, Morii T, Shimotomai T, Koshimura J, Yamada Y, Narita T: Diurnal Changes in Urinary Excretion of IgG, Transferrin, and Ceruloplasmin Depen-

nd on Diurnal Changes in Systemic Blood Pressure in Normotensive, Normoalbuminuric Type 2 Diabetic Patients. *Horm Metab Res* 41(12):910-915, 2009.

### 2. 学会発表

- 下斗米孝之, 谷澤幸生, 田部勝也, 山田祐一郎 WFS-1 遺伝子の G736D 変異を認めた Wolfram 症候群の 1 例 第 52 回日本糖尿病学会年次学術集会 平成 21 年 5 月
- Sato T, Narita T, Yokoyama H, Yamada Y: Long term effects of miglitol administration on GLP-1 and GIP response after a mixed meal in Japanese type 2 diabetic patients. 14th International Congress of Endocrinology 平成 22 年 3 月

## H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他 (研究に関する新聞記事等)  
なし



## Wolfram 症候群の実態把握および診断法確立のための調査研究

分担研究者 和田安彦 高知女子大学生生活科学部 教授

### 研究要旨

患者家族からの聞き取り調査により、視神経萎縮の症状、歯周病による歯の喪失、うつ病薬の副作用情報など、病態理解や診療・支援体制改善のための示唆に富む情報がいくつか得られた。支援体制の充実のためには関係者への知識の普及が不可欠であり、そのためには標準的診療マニュアル作成や患者家族会設立が重要である。またこれらを考える上で、患者分布や診療実態の把握が前提となる。

### A. 研究目的

分担研究者らは12年前の本疾患家系調査後も、患者さん宅でお話を伺う機会が何度かあったが、患者さんとその家族への社会的支援が、本疾患の認知度が低いこともあり、不十分であることを痛感していた。本研究では医学上の課題や、社会としてのあるべき支援体制を考えるための基礎的な情報を得ることを目的とした。

### B. 研究方法

対象は東北地方在住2家族、計4人の患者さん（35歳～23歳）とその保護者の方々であった。2010年1月、患者さん宅を訪問し、ご本人およびご家族への聞き取り調査を行った。聞き取りの内容は、患者さんとご家族の療養上の課題、困難な事柄、および疑問点、ご希望・提案などである。

これまでの信頼関係を基礎に、事前に文書で研究班と調査の目的を患者ご家族へ説明し、ご協力の了解を得た上で訪問した。調査は守秘義務を負っている医師および管理栄養士が倫理面を含め多面的に配慮しながら行い、調査後もそのフォロー（研究班の調査研究概要や国内外の研究や支援体制等の状況をお伝えし、ご質問に答えるなど）を行った。

一方、医療機関、市役所、保健所等の専門職に対して、本疾患の認知の有無を質問した。

### C. 研究結果

患者ご本人または家族の経験やご指摘から、医療関係者や行政・教育関係者、社会が考慮しないし反省すべき以下のような課題が浮かび上がってきた。なお、4人とも主要症状は最初に糖尿病、

次に視神経萎縮、尿崩症、難聴、尿路障害という順番に出現してきており、年齢上昇とともにうつや筋力低下、運動失調、嚥下障害などの精神・神経症状の加わる場合もあった。

（医学的、病態上の課題）

- 視神経萎縮の症状として、視力低下より先に色覚異常が出現する。この機序が明らかになっていないと言えない。
- 歯周病で歯が失われやすいが、これは糖尿病のためか、その他の原因かが明らかでなく、そのため対策が不十分と考えられる。ほとんどの歯が喪失している例もあり、QOL低下が問題である。
- 精神科の薬（抗うつ薬）で低血糖症状（興奮などの精神症状）の増強がある可能性を家族が指摘している。この症状のため、薬物中毒と間違われたことが理由と思われる救急搬送拒否に遭いそうになった例もある。
- 精神科の薬（抗うつ薬）内服開始にともない、副作用と思われる下痢症状が頻繁に出現した。その結果、それまで可能だった一人暮らしをあきらめさせるほどのQOL低下を招いた（視力がないと便の後片づけが困難なため）。また、血圧低下の副作用の可能性もある例があった。
- 尿崩症と診断されるまで、時間がかかった。そのため、小学校卒業式ではお漏らしを避けるため飲水量を制限した結果、脱水となってしまった例もあった。
- 水中毒を低血糖発作と間違われた例もあった。
- 尿路障害のため、導尿カテーテルを20年以上入れている例もあるが、最初は結石と感染症との戦いであった。泌尿器科医師のさまざまな工夫により解決され、方法が確立した。
- むずむず脚症候群を疑わせる症状を訴える例もあった。

- 誤嚥性肺炎を時々発症している患者さんが、休日、呼吸困難を訴え救急搬送された。本症候群の診療経験の少ない他科当直医が診察し、検査からは肺炎は排除された。精神科の受診歴から、呼吸苦を精神的な「興奮」と判断し精神安定剤を投与、自宅に帰した。その後、呼吸抑制、停止を来した。

#### (支援体制上の課題)

- 会社の診療室でマッサージ師として働いていた患者さんが時に低血糖発作を起こすため、会社側が心配し、居室を診療室(個室)から大勢の目が行き届く事務室(大部屋)に移動させられた。その結果、1人で移動することが困難になった(イス、物品が定位置でないため)。これが精神的ストレスの一つとなった。それらが退職の要因となった。
- 年齢が最も高い患者さんは嚥下障害が出現してきており、食事にとろみをつけるなどの工夫が必要で、生活上最も困ることだが、医療チームとしての管理栄養士の援助は受けていなかった。
- 盲学校の寄宿舎で血糖値の自己測定をする際、測定用具のセンサー部分に血液の付いたチップを正確に差し込むことが難しかった。看護師や職員が手を添えてくれるだけでも助かるのに、医療行為になるとの理由でなかなか手伝ってくれなかった。
- 小脳萎縮などの神経系の異常によると思われる身体の傾きで歩行が困難となってきた患者さんのために、家族が車イスを借りようと思い行政に問い合わせたところ、視覚障害手帳では援助を受けられない、整形外科の診断書が必要と言われた。
- 家族はI型糖尿病の家族会にも参加していたが、病気が理解されず、辛かった(視力障害が血糖コントロール不良のせいと誤解されるなどのため)。また、盲ろう者の大会にも参加しているが、同じ病気の人となかなか会わないので、情報の共有ができないでいる。
- 医療関係者の本症候群に関する知識が圧倒的に不足していて、最初は手探り状態であった。現在でも家族の方が医療・教育関係より、病気のことをよく知っている場合がある。家族の希望としては、とにかく病気への関心を関係者は持って欲しい、とのことであった。家族のこれまでのさまざまな経験やノウハウを関係者や他の患者家族に伝えたいとの意向も持っている。
- 関係者の本症候群の認知度を探るため、患者さん宅近隣病院の放射線科医師1名、今回調査対象ではなかった患者さんが住んでいる市役所の保健師1名、管轄保健所の小児慢性疾患事務取扱職員1名に質問したが、いずれも本疾患については知らなかった。なお、後者の保健所では、視力障害の合併がある小児糖尿病症例があるかどうかを、累積リストで調べていただいた。しかし、成

人発症した患者さんであったため、小児慢性疾患のリストには無いことが後に分かった。

## D. 考察

### (医学的、病態上の課題)

- Wolfram症候群の病態の解明は症候群の分類がなされることが前提であるが、その完了前であっても共通の主要な症候と合併症状の病態を明らかにすることは、逆に本態の解明にも繋がる可能性があり、少なくとも対処法の確立に役立つと考えられる。今回、聞き取り調査でいくつかのヒントが得られたと思われる。例えば、視神経萎縮の症状としての色覚異常は、錐体細胞優位の障害を疑わせ、桿状細胞との違いから病態の詳細が明らかになる可能性がある。また、解明されるべき課題も明らかになった。歯周病、むずむず脚症候群や、精神病薬との相互作用の可能性のある低血糖時の精神症状増強、下痢、低血圧などが挙げられる。これらの解決には眼科、歯科、神経内科等の協力も必要と思われる。

### (支援体制上の課題)

- 合併症が幅広いことから、チーム医療が不可欠である。診療科の連携はもちろん、救急救命士、歯科衛生士、管理栄養士等が積極的に関わらるべき事例があった。それには専門家への知識の普及が不可欠である。
- 医療関係者と患者家族が試行錯誤して確立してきた方法論を共有すべきであり、標準的診療マニュアルの作成が必要である。
- 患者家族会を設立して、経験や情報の共有をはかったり、社会への働きかけが重要である。医療関係者も患者家族の経験から学ぶ必要がある。
- 行政や医療・教育関係者の病気への理解と、弾力的な法令の運用が必要である。
- 以上の前提として、患者数(有病率)や療養の実態を把握する必要がある。今回、患者把握のため小児慢性疾患の登録リストも活用することを考慮したが、成人発症例では漏れる可能性のあることが分かった。

## E. 結論

患者家族から病態理解や診療・支援体制改善のための示唆に富む情報がいくつか得られた。支援体制の充実のためには関係者への知識の普及が不可欠であり、そのためには標準的診療マニュアル作成や患者家族会設立が重要である。またこれらを考える上で、患者分布や診療実態の把握が前提となる。

## F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- Nagura J, Iso H, Watanabe Y, Maruyama K, Date C, Toyoshima H, Yamamoto A, Kikuchi S, Koizumi A, Kondo T, Wada Y, Inaba Y, Tamakoshi A; JACC Study Group. Fruit, vegetable and bean intake and mortality from cardiovascular disease among Japanese men and women: the JACC Study. Br J Nutr. 2009,102: 285-92.
- Ikehara S, Iso H, Date C, Kikuchi S, Watanabe Y, Wada Y, Inaba Y, Tamakoshi A; JACC Study Group. Association of sleep duration with mortality from cardiovascular disease and other causes for Japanese men and women: the JACC study. Sleep 2009, 32: 295-301.

### 2. 学会発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他（研究に関する新聞記事等）

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Fonseca SG, Ishigaki S, Oslowski CM, Lu S, Lipson KL, Ghosh R, Hayashi E, Ishihara H, <u>Oka Y</u> , Permutt MA, Urano F.	Wolfram syndrome 1 gene negatively regulates ER stress signaling in rodent and human cells.	J Clin Invest	120	744-55	2010
Yoshida S, Hirai M, Suzuki S, Awata S, <u>Oka Y</u> .	Neuropathy is associated with depression independently of health-related quality of life in Japanese patients with diabetes.	Psychiatry and Clinical Neurosciences	63	65-72	2009
Fukuda N, Emoto M, Nakamori Y, Taguchi A, Miyamoto S, Uraki S, <u>Oka Y</u> , <u>Tanizawa Y</u> .	DOC2B: A novel syntaxin-4 binding protein mediating insulin-regulated GLUT4 vesicle fusion in adipocytes.	Diabetes	58	377-384	2009
Akiyama M, Hatanaka M, Ohta Y, Ueda K, Yanai A, Uehara Y, Tanabe K, Tsuru M, Miyazaki M, Saeki S, Saito T, Shinoda K, <u>Oka Y</u> , <u>Tanizawa Y</u> .	Increased insulin demand promotes while pioglitazone prevents pancreatic beta cell apoptosis in Wfs1 knockout mice.	Diabetologia	52	653-63	2009
Tokita A, Ishigaki Y, Okimoto H, Hasegawa H, Koiwa Y, Kato M, Ishihara H, Hinokio Y, Katagiri H, Kanai H, <u>Oka Y</u> .	Carotid arterial elasticity is a sensitive atherosclerosis value reflecting visceral fat accumulation in obese subjects.	Atherosclerosis	206	168-72	2009
Kaneko K, Yamada T, Tsukita S, Takahashi K, Ishigaki Y, <u>Oka Y</u> , Katagiri H.	Obesity Alters Circadian Expressions of Molecular Clock Genes in the Brainstem.	Brain Res.	1263	58-68	2009
Kawano J, Fujinaga R, Yamamoto-Hanada K, <u>Oka Y</u> , <u>Tanizawa Y</u> , Shinoda K.	Wolfram syndrome 1(Wfs1) mRNA expression in the normal mouse brain during postnatal development.	Neuroscience Research	64	213-230	2009
Miyake K, Yang W, Hara K, Yasuda K, Horikawa Y, Osawa H, Furuta H, CY Ng M, Hirota Y, Mori H, Ido K, Yamagata K, Hinokio Y, <u>Oka Y</u> , Iwasaki N, Iwamoto Y, Yamada Y, Seino Y, Maegawa H, Kashiwagi A, Wang H, Tanahashi T, Nakamura N, Takeda J, Maeda E, Yamamoto K, Tokunaga K, CW Ma R, S Wing-Yee, Juliana CN Chan, Kamatani N, Makino H, Nanjo K, Kadowaki T, Kasuga M.	Construction of a prediction model for type 2 diabetes mellitus in the Japanese population based on 11 genes with strong evidence of the association.	Journal of Human Genetics	54	236-241	2009
Ogihara T, Katagiri H, Yamada T, Kudo H, Imai J, Hinokio Y, Yamagiwa Y, Ueno Y, Shimosegawa T, <u>Oka Y</u> .	Peginterferon (PEG-IFN) Plus ribavirin combination therapy, but neither interferon nor PGE-IFN alone, induced Type 1 diabetes in a patient with chronic hepatitis C.	Internal Medicine	48	1387-1390	2009
Imai J, <u>Oka Y</u> , Katagiri H.	Identification of a novel mechanism regulating $\beta$ -cell mass.	Islets	1(1)	73-75	2009

Imai J, Yamada T, Saito T, Ishigaki Y, Hinokio Y, Kotake H, <u>Oka Y</u> , Katagiri H.	Eradication of insulin resistance.	Lancet	374	264	2009
Ishigaki Y, <u>Oka Y</u> , Katagiri H.	Circulating oxidized LDL-a biomarker and a pathogenic factor.	Current Opinion in Lipidology	20	363-369	2009
Nagura J, Iso H, Watanabe Y, Maruyama K, Date C, Toyoshima H, Yamamoto A, Kikuchi S, Koizumi A, Kondo T, <u>Wada Y</u> , Inaba Y, Tamakoshi A ACC Study Group.	Fruit, vegetable and bean intake and mortality from cardiovascular disease among Japanese men and women: the JACC Study.	Br J Nutr.	102	285-92	2009
Ikehara S, Iso H, Date C, Kikuchi S, Watanabe Y, <u>Wada Y</u> , Inaba Y, Tamakoshi A JACC Study Group.	Association of sleep duration with mortality from cardiovascular disease and other causes for Japanese men and women: the JACC study.	Sleep	32	295-301	2009
Takahashi I, <u>Yamada Y</u> , Kadowaki H, Horikoshi M, Kadowaki T, Narita T, Tsuchida S, Noguchi A, Koizumi A, Takahashi T.	Phenotypical variety of insulin resistance in a family with a novel mutation of the insulin receptor gene.	Endocrinol J			(in press)
Sato T, Narita T, Hosoba M, Kakei M, Nanjo H, Uchinami H, Satoh K, Yamamoto Y, <u>Yamada Y</u> .	A case of insulinoma following total gastrectomy- Effects of an alpha-glucosidase inhibitor on suppressing GIP and GLP-1 elevations.	Diabetes Res Clin Pract 88(1):e4-e6, 2010.	88(1)	e4-e6	2010
Fujita H, Fujishima H, Chida S, Takahashi K, Qi Z, Kanetsuna Y, Breyer MD, Harris RC, <u>Yamada Y</u> , Takahashi T	Reduction of renal superoxide dismutase in a murine model of progressive diabetic nephropathy.	J Am Soc Nephrol	20(6)	1303-13	2009
Hosoba M, Fujita H, Miura T, Morii T, Shimotomai T, Koshimura J, <u>Yamada Y</u> , Ito S, Narita T	Diurnal Changes in Urinary Excretion of IgG, Transferrin, and Ceruloplasmin Depend on Diurnal Changes in Systemic Blood Pressure in Normotensive, Normoalbuminuric Type 2 Diabetic Patients.	Horm Metab Res	41(12)	910-915	2009
Tanimura A, Yujiri T, Tanaka Y, Hatanaka M, Mitani N, Nakamura Y, Mori K, <u>Tanizawa Y</u> .	The anti-apoptotic role of the unfolded protein response in Bcr-Abl-positive leukemia cells.	Leuk Res	33	924-928	2009
Miyazaki M, Emoto M, Fukuda N, Hatanaka M, Taguchi A, Miyamoto S, <u>Tanizawa Y</u> .	DOC2b is a SNARE regulator of glucose-stimulated delayed insulin secretion.	Biochem Biophys Res Commun	384	461-465	2009
<u>谷澤幸生</u>	WFS1遺伝子と糖尿病	医学のあゆみ	232	1209-1210	2009





# Wolfram syndrome 1 gene negatively regulates ER stress signaling in rodent and human cells

Sonya G. Fonseca,<sup>1</sup> Shinsuke Ishigaki,<sup>1</sup> Christine M. Oslowski,<sup>1</sup> Simin Lu,<sup>1</sup> Kathryn L. Lipson,<sup>1,2</sup> Rajarshi Ghosh,<sup>1</sup> Emiko Hayashi,<sup>1</sup> Hisamitsu Ishihara,<sup>3</sup> Yoshitomo Oka,<sup>3</sup> M. Alan Permutt,<sup>4</sup> and Fumihiko Urano<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>Program in Gene Function and Expression, University of Massachusetts Medical School, Worcester. <sup>2</sup>Department of Physical and Biological Sciences, Western New England College, Springfield, Massachusetts. <sup>3</sup>Division of Molecular Metabolism and Diabetes, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, Japan. <sup>4</sup>Division of Endocrinology, Metabolism, and Lipid Research, Washington University School of Medicine, St. Louis, Missouri. <sup>5</sup>Program in Molecular Medicine, University of Massachusetts Medical School.

**Wolfram syndrome is an autosomal-recessive disorder characterized by insulin-dependent diabetes mellitus, caused by nonautoimmune loss of  $\beta$  cells, and neurological dysfunctions. We have previously shown that mutations in the Wolfram syndrome 1 (*WFS1*) gene cause Wolfram syndrome and that *WFS1* has a protective function against ER stress. However, it remained to be determined how *WFS1* mitigates ER stress. Here we have shown in rodent and human cell lines that *WFS1* negatively regulates a key transcription factor involved in ER stress signaling, activating transcription factor 6 $\alpha$  (*ATF6 $\alpha$* ), through the ubiquitin-proteasome pathway. *WFS1* suppressed expression of *ATF6 $\alpha$*  target genes and repressed *ATF6 $\alpha$* -mediated activation of the ER stress response element (ERSE) promoter. Moreover, *WFS1* stabilized the E3 ubiquitin ligase *HRD1*, brought *ATF6 $\alpha$*  to the proteasome, and enhanced its ubiquitination and proteasome-mediated degradation, leading to suppression of ER stress signaling. Consistent with these data,  $\beta$  cells from *WFS1*-deficient mice and lymphocytes from patients with Wolfram syndrome exhibited dysregulated ER stress signaling through upregulation of *ATF6 $\alpha$*  and downregulation of *HRD1*. These results reveal a role for *WFS1* in the negative regulation of ER stress signaling and in the pathogenesis of diseases involving chronic, unresolvable ER stress, such as pancreatic  $\beta$  cell death in diabetes.**

## Introduction

Productive folding of secretory proteins and degradation of misfolded proteins are essential to ensure normal cell function. Both these processes occur in the ER. Perturbations in ER function cause an imbalance between these processes, leading to accumulation of misfolded and unfolded proteins in the organelle, a state called ER stress. Cells cope with ER stress by activating an ER stress signaling network, also called the unfolded protein response (UPR). Activation of the UPR not only results in the upregulation of gene expression for molecular chaperones, but expands the size of the ER, decreases general protein translation to reduce the ER workload, and degrades abnormal proteins accumulated in the ER (1, 2). As long as the UPR can mitigate ER stress, cells can produce proper amounts of proteins in response to the need for them and perform their normal functions.

Activating transcription factor 6 $\alpha$  (*ATF6 $\alpha$* ) is 1 of the 3 master regulators of the UPR (1). *ATF6* encodes a bZIP-containing transcription factor localized to the ER membrane (3). Under ER stress, the N-terminal DNA binding domain of *ATF6 $\alpha$*  is cleaved and released from the ER (3–5). The bZIP domain of *ATF6 $\alpha$*  then translocates into the nucleus and upregulates downstream target genes, such as *BiP* and *XBP-1*, that function in protein folding and processing (3, 4, 6). Therefore, deletion of *ATF6 $\alpha$*  compromises the secretory pathway during ER stress (7, 8). It has been reported that the noncleaved form of *ATF6 $\alpha$*  is unstable and quickly degraded by the ubiquitin-proteasome pathway

to prevent hyperactivation of the UPR (9). However, the mechanism underlying this phenomenon has yet to be elucidated.

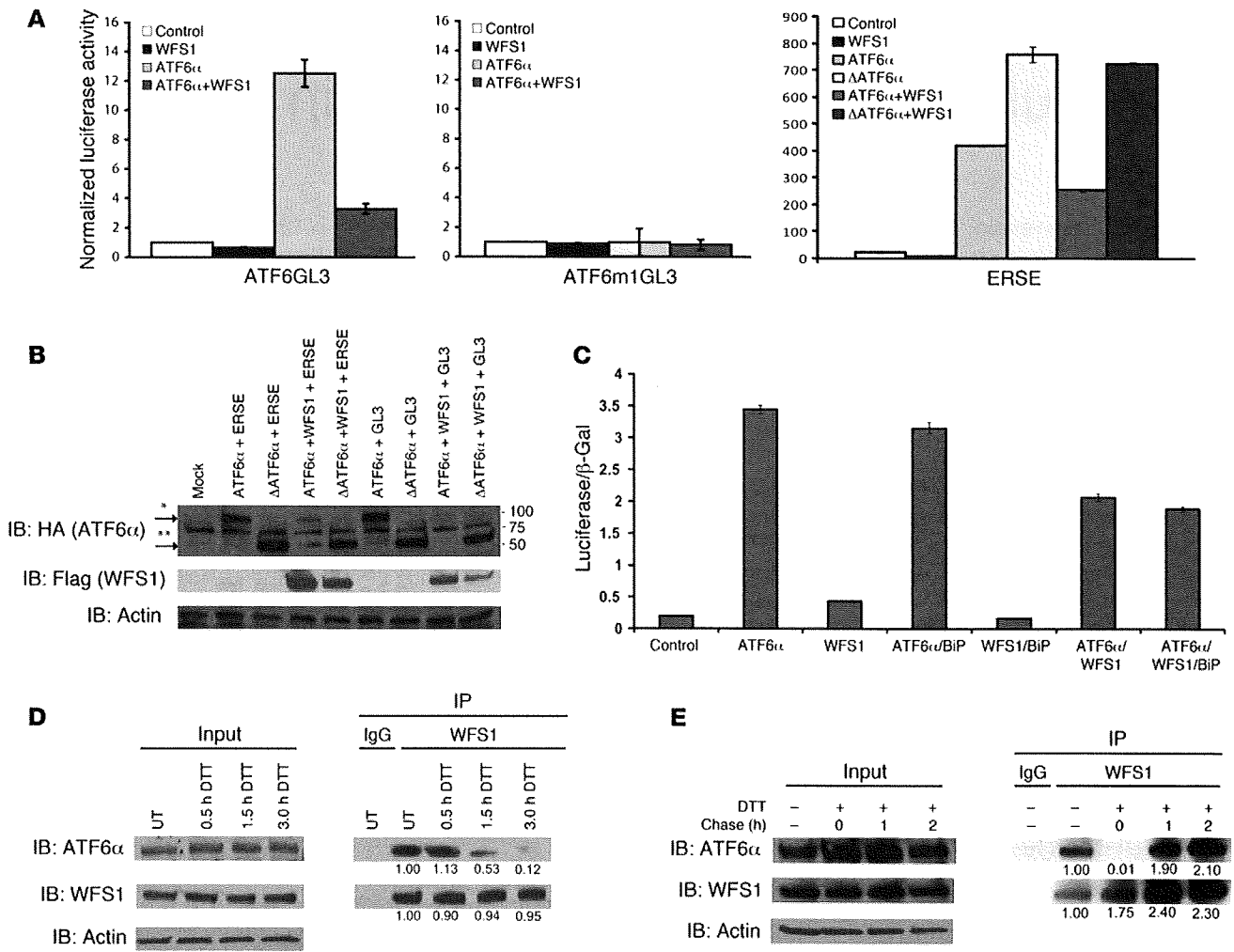
*WFS1*, a transmembrane protein localized to the ER (10), has previously been shown to be a UPR component that mitigates ER stress response in cells (11). Mutations in the gene encoding *WFS1* cause Wolfram syndrome, a genetic form of diabetes, optic atrophy, neurodegeneration, and psychiatric illness (12, 13). Recent reports also indicated that *WFS1* polymorphisms are associated with type 2 diabetes (14–16). Accumulating evidence indicates that  $\beta$  cell death and neuronal cell dysfunction in Wolfram syndrome are attributed to high levels of ER stress signaling in affected cells (11, 17–19). However, the function of *WFS1* in the UPR has been unclear. Here we showed that *WFS1* controls a regulatory feedback loop of the ER stress signaling network. Activation of the ER stress response element (ERSE) by *ATF6 $\alpha$*  was attenuated by *WFS1* expression. *WFS1* recruited *ATF6 $\alpha$*  to an E3 ligase, *HRD1*, and the proteasome, where it enhanced *ATF6 $\alpha$*  degradation, thus suppressing the UPR. Inducible overexpression of *WFS1* thereby decreased expression levels of *ATF6 $\alpha$*  target genes, such as *BiP* and *XBP-1*. These results indicate that *WFS1* has an important function in the negative regulation of a feedback loop of the ER stress signaling network and prevents secretory cells from death caused by dysregulation of this signaling pathway.

## Results

*WFS1* forms an ER stress-mediated complex with *ATF6 $\alpha$*  and suppresses its activity. In order to further define the role of *WFS1* in the UPR, we assessed whether *WFS1* expression affects the function of UPR

**Conflict of interest:** The authors have declared that no conflict of interest exists.

**Citation for this article:** *J Clin Invest.* 2010;120(3):xxxx–yyyy. doi:10.1172/JCI39678.



**Figure 1** WFS1 interacts with ATF6 $\alpha$  in an ER stress–dependent manner and suppresses ATF6 $\alpha$  transcriptional activation. **(A)** COS7 cells were transfected with a full-length ATF6 $\alpha$  expression plasmid or  $\Delta$ ATF6 $\alpha$  with a WFS1 plasmid together with the following luciferase reporter genes: ATF6 $\alpha$  binding site reporter gene ATF6GL3, ATF6 $\alpha$  mutant site reporter ATF6m1GL3, and GRP78 promoter reporter gene ERSE. Relative intensity of luciferase was then measured ( $n = 3$ ). **(B)** Protein lysates from the luciferase assay were analyzed by IB using anti-HA (ATF6 $\alpha$ ), anti-Flag (WFS1), and anti-actin antibodies. ATF6 $\alpha$  and  $\Delta$ ATF6 $\alpha$  are denoted by single and double asterisks, respectively. **(C)** COS7 cells were transfected with a full-length ATF6 $\alpha$  expression plasmid with a BiP expression plasmid, WFS1 expression plasmid, or WFS1 and BiP expression plasmid together with the GRP78 reporter gene ( $n = 3$ ). **(D)** An anti-WFS1 antibody was used to IP WFS1 protein from INS1 832/13 cells untreated (UT) or treated with the ER stress inducer DTT (1 mM) for 0.5, 1.5, or 3 hours. IPs were then subject to IB analysis using anti-ATF6 $\alpha$ , anti-WFS1, and anti-actin antibodies ( $n = 3$ ). **(E)** INS1 832/13 cells were treated with DTT (1 mM) for 2 hours and then chased in normal media for 0, 1, or 2 hours. WFS1 was subjected to IP from cell lysates, and IPs were analyzed by IB using anti-ATF6 $\alpha$ , anti-WFS1, and anti-actin antibodies ( $n = 3$ ).

components. Transcriptional activity of a transmembrane transcription factor and master regulator of the UPR, ATF6 $\alpha$ , is attenuated by WFS1 expression. Under ER stress, the N-terminal DNA binding domain of ATF6 $\alpha$  is cleaved and released from the ER to upregulate UPR target genes in the nucleus (3–5). As expected, when full-length ATF6 $\alpha$  was transfected with the ATF6 $\alpha$  binding site reporter gene ATF6GL3, this reporter was induced 12-fold by ATF6 $\alpha$  (20), an induction reduced to 3-fold by cotransfection with WFS1 (Figure 1A). ATF6 $\alpha$  has also been shown to strongly activate the BiP/GRP78 promoter (4). To confirm that WFS1 regulates ATF6 $\alpha$  transcriptional activity on the BiP/GRP78 promoter, full-length ATF6 $\alpha$  or cleaved ATF6 $\alpha$  ( $\Delta$ ATF6 $\alpha$ ) was cotransfected with WFS1 and a rat GRP78 promoter reporter gene containing the ER stress response

element (ERSE). This reporter was induced by both full-length ATF6 $\alpha$  and  $\Delta$ ATF6 $\alpha$ ; however, only full-length ATF6 $\alpha$  activity was suppressed by WFS1 expression (Figure 1A). In addition, full-length ATF6 $\alpha$  protein expression decreased when it was coexpressed with WFS1 (Figure 1B). BiP has previously been shown to anchor full-length ATF6 $\alpha$  to the ER membrane and prevent ATF6 $\alpha$  activation (6, 21). To compare the ability of WFS1 to suppress ATF6 $\alpha$  with that of BiP, the GRP78 promoter reporter was cotransfected with full-length ATF6 $\alpha$  and BiP, with full-length ATF6 $\alpha$  and WFS1, or with full-length ATF6 $\alpha$ , BiP, and WFS1. Suppression of ATF6 $\alpha$  activity by WFS1 was stronger than that by BiP (Figure 1C). Collectively, these results indicate that WFS1 suppresses ATF6 $\alpha$  transcriptional activity before its translocation to the nucleus.