

201024162A

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患克服研究事業

ウエルナー症候群の病態把握、**診療**指針作成と  
新規治療法の開発を目的とした全国研究

平成22年度 総括・分担研究報告書

千葉大学大学院医学研究院細胞治療内科学

研究代表者 横手 幸太郎

平成23年3月

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

ウエルナー症候群の病態把握、治療指針作成と  
新規治療法の開発を目的とした全国研究

総括研究報告書

研究代表者 横手 幸太郎  
千葉大学大学院医学研究院細胞治療内科学

分担研究者

五十嵐 雅彦 みゆき会病院  
森 聖二郎 東京都健康長寿医療センター  
葛谷 雅文 名古屋大学大学院医学研究科  
三木 哲郎 愛媛大学大学院プロテオ医学研究センター  
吉本 信也 昭和大学医学部形成外科学  
田中 康仁 奈良県立医科大学整形外科学教室  
嶋本 顕 広島大学大学院医歯薬学総合研究科  
竹本 稔 千葉大学医学部附属病院

研究協力者

谷口 晃 奈良県立医科大学整形外科学教室  
本城 聡 日本赤十字社成田赤十字病院  
永嶋 良太 済生会習志野病院・千葉関節外科センター

(順不同)

## 平成 22 年度 事業経過の概要

### 平成22年

- 4月 1日 国立保健医療科学院より、平成22年度厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)の交付基準額通知の発行
- 4月 27日 班員へ第3回班会議の通知
- 5月 27日 国立保健医療科学院より、補助金交付決定通知書の通知が届く
- 6月 7日 研究費補助金入金
- 6月 19日 ウェルナー症候群患者会の発足(中野サンプラザ)
- 7月 9日 第3回班会議 コンファレンススクエア M プラス ルーム A  
18:30~20:30
- 9月 1日 二次調査アンケート発送
- 10月 31日 二次調査アンケート受付締め切り
- 11月 14日 第2回患者会(千葉大学)
- 12月 2日 班員へ第4回班会議の通知
- 12月 15日 平成23年度継続公募課題申請

### 平成23年

- 1月中旬 ウェルナー症候群に関する共同通信社の取材記事が全国紙に掲載
- 2月 2日 第4回班会議 東京ステーションコンファレンス ルーム 402-A  
18:30~20:30

## 目 次

I.	総括研究報告書	研究代表者 横手 幸太郎	… 1
II.	分担研究報告書		
1.	ウェルナー症候群と悪性腫瘍	五十嵐 雅彦	… 9
2.	ウェルナー症候群に合併する肝機能異常の臨床的特徴に関する研究	森 聖二郎	… 13
3.	Werner 症候群における内分泌ホルモン	葛谷 雅文	… 19
4.	ウェルナー症候群の難治性皮膚潰瘍の治療	吉本 信也	… 25
5.	ウェルナー症候群患者におけるアキレス腱骨化の出現と特徴について	谷口 晃、 田中 康仁	… 29
6.	iPS 細胞を用いた Werner 症候群患者の治療法の開発	嶋本 顕	… 33
7.	ウェルナー症候群と動脈硬化性疾患	竹本 稔、三木 哲郎	… 37
III.	研究成果の刊行に関する一覧表		… 43
IV.	研究成果の刊行物・別刷		… 47
V.	参考資料		… 57

# I. 総括研究報告書

ウエルナー症候群の病態把握、診療指針作成と新規治療法の開発を目的とした全国研究

千葉大学大学院医学研究院細胞治療内科学  
千葉大学医学部附属病院 糖尿病・代謝・内分泌内科  
横手 幸太郎

研究要旨 代表的な遺伝的早老症として知られるウエルナー症候群 (WS) は、海外に比べ日本人に発症頻度が高いとされる。我が国では、昭和 59 年に厚生省の尾形悦郎班による実態調査が行われ、診断の手引きが作成されたが、社会的認知度が低く、内容的にもその後の研究の進歩が反映されていない。そこで、診断基準の改訂と診療指針作成を行うべく、日本における WS 患者の実情把握調査を企画した。平成 21 年度に、アンケート形式で全国 200 床以上の病院を対象に調査を行った所、およそ 400 症例近くの WS 患者を把握することができた。本年度は一次調査で明らかになった症例に対して二次アンケート調査を施行し、192 症例の詳細な臨床所見を得ることができた。この臨床所見を基に、新しい診断基準(案)を作成した。またこれまでの多くの治療経験をまとめることにより、世界初の WS の診療指針(案)の骨子を作成した。さらに社会活動の一環として患者会の設立にも携わった。これらの研究、活動を通して我が国に頻度が高い WS 患者の生活の質の向上や予後の改善に大きく貢献することが期待される。

#### A. 研究目的

ウエルナー症候群 (Werner syndrome : 以下、WS) は我が国に多い代表的遺伝的早老化症である<sup>1</sup>。1984 年に厚生省特定疾患ホルモン受容体機構調査研究班 (尾形悦郎班長)<sup>2</sup>による本疾患の診断の手引きが作成されたが、それ以降は、我が国における WS の現状は把握されておらず、さらに近年の基礎的、臨床的な進歩が必ずしも WS の診断、治療に反映されていない。こういった状況を受け、我々は、厚生省難治性疾患研究事業の一環として、WS の病態把握、診療指針作成と新規治療法の開発を本献研究の目的とした。

#### B. 研究方法

フィージビリティ・スタディとして施行した平成 21 年度のアンケート調査にて明らかとなった WS 396 症例 (302 施設、現在通院中の確定例 150 症例、過去に通院歴のあった症例 196 症例、疑い例 50 症例) に対して臨床症状の詳細調査をアンケート形式で各施設に郵送した。(参考資料 1)。

#### C. 研究結果

396 通のアンケートを全国へ発送し、196 通 (48%) の回答を得た。これまでの診断基準 (昭和 59 年) と照らし合わせて、その陽性率を検討した。

##### 主要兆候の陽性率

これまでの診断基準の主要兆候は

1. 早老性顔貌（白髪、禿頭など）、2. 白内障、3. 皮膚の萎縮、硬化または難治性潰瘍形成であり、陽性率を「所見あり」と答えた人数÷（「所見あり」と答えた人数+「所見なし」と答えた人数）として算出した。その結果、1: 98.5%、2: 95.7%（その内 両側白内障 95.7%）、3: 96.9%であった。

#### その他の兆候の陽性率

その他の兆候と所見としてこれまで 4. 原発性性腺機能低下、5. 低身長及び低体重、6. 音声の異常、7. 骨の変形などの異常、8. 糖同化障害、9. 早期に現れる動脈硬化、10. 尿中ヒアルロン酸増加、11. 血族結婚が記載されており、それぞれの陽性率を同様に検討した。その結果、4 の原発性性腺機能低下に関しては、子供の有無を調査した所、39%に子供を有していた。5 の身長、体重に関しては WS 男性の平均身長、平均体重は 158kg、45.8kg、女性はそれぞれ 146.4cm、36.1kg であり、50~59 歳の日本人の平均身長、体重（男性 167.8cm、67.1kg、女性 154.5cm、54.8kg 平成 19 年度 厚生労働省調査 国民健康・栄養調査）に比較して低身長、低体重であった。6 音声の異常に関しては 88.1%、7 骨の変形などの異常に関しては、22%に骨粗しょう症を認めた。8. 糖同化障害に関しては、境界型糖尿病を 19%に、糖尿病を 67%に認め、WS の 85%に何らかの糖代謝異常を有していた。9. 早期に現れる動脈硬化に関しては、脳出血 0.9%、脳梗塞 5%、狭心症、心筋梗塞を含む冠動脈疾患 16%、閉塞性動脈硬化症を 23%に合併していた。10. 尿中ヒアルロン酸増加に関しては、196 症例中、12 症において測定されていたが、尿中ヒアルロン酸値に明らかな基準値が設けられておらず評

価は困難であった。11. 血族結婚に関しては、43%に血族結婚を認めた。

#### その他の調査項目

その他の調査項目としては、鳥様顔貌 94.5%、脂質異常症 67.9%、腫瘍性病変(甲状腺腫等の良性も含める)を 39%（五十嵐分担研究参照）、脂肪肝 48%（森 分担研究参照）、高血圧 35%、また遺伝子診断は 37 例に施行されていた。さらに年齢分布を検討した結果、50 代が 89 例と一番多く、続いて 40 代の 35 例であった。これまで WS の平均寿命は 43 歳と報告されており、本研究の結果からして、日本における WS の平均寿命は確実に延長していることが明らかとなった。

#### アキレス腱の石灰化

これまでの WS の診断には、主観的かつ非特異的なものが多く用いられてきた。その為、客観的でかつ感度、特異度の高い項目の追加が必要と思われた。

我々は WS に多く認められるアキレス腱部の石灰化に着目して調査を行った。その結果、実に 78.9%の症例にアキレス腱の石灰化が陽性であった。今回の調査を通して、30 症例のアキレス腱のレントゲン写真を収集することができ、WS 以外のアキレス腱部の石灰化の頻度や石灰化様式に関して詳細な調査を行った所、分節型や火焰状の石灰化は WS に特異度の高い所見であることが明らかとなった（田中、谷口 分担研究参照）。

#### 新しい診断基準（案）

以上の調査結果より、新しい WS 症候群の診断基準(案)を作成した(参考資料 2)、主な変更点として、主要兆候の一つとしてアキレス腱の石灰化を加えたこと。さらに

尿中ヒアルロン酸は明らかな基準値がなく、診断基準から除外しこと。さらに皮膚繊維芽細胞の分裂能低下を除外し、新しく遺伝子診断の項目を増やした。

#### WSの診療指針(案)

また、これまでのWSの治療経験や文献検索に基づいて、治療指針(案)の骨子を作成した(参考資料3)。治療指針では特に合併率が高い糖代謝異常の内科的治療法、また難治性皮膚潰瘍に対する内科的、外科的(分担研究参照)な治療指針を作成し、エビデンスレベルに関しても検討を行った(参考資料4)

#### D. 考察

フィージビリティ・スタディとして平成21年度に全国調査を実施し、1996年の尾形班の成績を上回る全国3094(アンケート回収率45%)の医療機関から第一次アンケートを回収、新規に375症例の情報を得ることができた。同時に、WSのホームページ開設(<http://www.m.chiba-u.jp/class/clin-cellbiol/werner/index.html>)、学会誌(眼科)や各種医学雑誌や新聞報道によって、症例数は増加し、396症例の情報が集まっている。一次、二次調査が終了後も全国医療機関からのWSの診断や治療、患者紹介に関する問い合わせがきており、老化の本質に関わると予想される本疾患への関心と、有効な治療法確立への期待が社会的に大きいものと強く感じている。

WSは常染色体劣性的遺伝的早老症である。1997年のMatsumotoらの報告では、これまで全世界で1,300名程度のWS患者が報告され、そのうち800名以上が日本人とわが国で特に頻度の高い疾患である<sup>1</sup>。現

在、日本の患者数は約2,000名と推定されるが、その多くは見過ごされていると考えられ、なお多くの患者が、難治性皮膚潰瘍に伴う下肢切断、全身の悪性腫瘍、高頻度に合併するメタボリックシンドローム様病態のため、日々、生命の危機あるいは死を免れても重篤な後遺症に直面している。WSのこれまでの臨床的経験、知識の積み重ねに加えて、最新の医療技術に基づいた診断基準や治療ガイドラインを作成することは、全世界のおよそ3分の2のWS患者を抱える我が国の学術的、国際的、社会的な義務である。これまでも、我が国の医師、研究者は個人レベルの努力によって、本疾患に合併する糖尿病や高脂血症、軟部組織石灰化などに対して有効な薬剤や治療法が開発、報告され、国際社会において貢献してきている<sup>3,5</sup>。さらに、少しずつではあるが本疾患の成因と直接的、間接的に関わる基礎医学的知見も集積し始めている<sup>6</sup>。今こそこれらの知見を集約し、重点的かつ効率的に研究を推進、日本人に有病率の多いWSの進行阻止、機能回復、再生を目指した画期的な診断・治療法を開発、広く日本国内および海外へと情報を発信し、患者の福音となすべきである。

#### E. 次年度に向けた今後の展望

##### 短期目標

今回提案した新しい診断基準を196症例の臨床データをさらに詳細に検討することにより確固たるものとする。WSを早期に診断し適切な治療介入を実施することによって、その生命予後を改善できることが近年相次いで報告されている。このため、一般の実地医家にも実施可能な簡便かつ特異

性の高い臨床診断法を確立し、診断基準に取り入れ、広く我が国の医療関係者へ周知することが望ましい。今回提案したアキレス腱部の特徴的な異所生石灰化は、同部位の単純 X 線撮影と簡単な病歴聴取とを組み合わせることにより、早期の WS の簡便なスクリーニングに役立つと考えており、その感度、特異度に関して明らかにする予定である。

治療指針の作成にあたっては、これまで WS 患者の治療は、症例を担当する医師の個々の経験と判断に基づき実施されてきた。このため、担当医の知識や技量によって、患者の生命予後や日常生活活動度 ADL が左右されてきたことが否めない。WS 患者の 2 大死因は動脈硬化性疾患と悪性腫瘍である。前者の誘因として、本症には、従来知られてきたインスリン抵抗性糖尿病のほか脂質異常症、内臓脂肪蓄積、アディポサイトカイン異常など、いわゆるメタボリックシンドロームに類似した病態が合併しやすいこと、その治療に PPAR $\gamma$  アゴニストやスタチンなどの薬剤が有効であることが、過去 10 年間の研究から明らかにされている<sup>5,9-11</sup>。そして、これらの介入を早期から実施することにより、WS 患者の寿命延長が確認されている。また悪性腫瘍についても、早期に発見できれば、非 WS 患者と何ら変わることなく手術治療を受け、良好な予後を得られることが示唆されている<sup>12</sup>。さらに、WS 患者の ADL 低下の主要因となる難治性皮膚潰瘍に対し、皮弁を用いた形成外科的治療技術が進歩しているが、全国的な知見の集積はこれまででなされていなかった。本研究から提案した難治性皮膚潰瘍の治療指針は多くの WS 患者の QOL や

ADL の改善に貢献することが期待される。外科的治療方法に関しての情報をさらに収集する。これらの結果に基づき、エビデンスに則った治療指針を平成 23 年度に完成させる。

#### 中・長期的な課題とそれを達成するための研究方針

WS の診療と研究における長期的な課題は「根治療法の確立」に尽きる。上述のように、過去 20 年間で WS の原因遺伝子が発見され、確定診断の手法は確立したものの、この遺伝子変異がなぜ老化や種々の代謝異常をもたらすかは諸説あるものの、まだ十分には明らかとなっていない。また四肢末梢の皮膚には萎縮や潰瘍が好発するものの、体幹の皮膚には異常が見られないなど症状には部位特異性もある。長期的には、罹患遺伝子の修復や罹患細胞の置換、薬剤による機能回復などの実現を目指す。その理論的根拠となる病態の解明および治療応用の第一歩として、本研究では WRN 患者由来 iPS 細胞の樹立に着手している。患者由来 iPS 細胞の確立を通じて、老化メカニズムの解明、新規薬剤の薬効・毒性解析、細胞移植に基づく皮膚潰瘍の新しい治療法を実現できると考えている。このことを踏まえて、平成 22 年度からの研究計画申請には、“WS の病態把握と治療指針作成”に加え、“新規治療法の開発”を明記している。

一方、根治療法の確立に年余の期間を要することは想像に難しくなく、その間にも WS 患者は死亡や機能低下の危険に曝され続ける。このため、中期的には、次年度以降の詳細な全国調査を手がかりに新しい治療のターゲットを探索し、有効な治療法に結びつけていきたい。例えば本研究では、

WS 患者に見られる皮下異所性石灰化の原因として、Pit-1 と呼ばれる Na-Pi 共輸送体の過剰発現を見出し、エチドロネートという第一世代ビスフォスフォネート製剤（骨粗鬆症治療薬）が少なくとも部分的にこの石灰化の退縮と疼痛軽減をもたらすことを見出している<sup>4,13</sup>。これらの治療法を応用することで、皮膚潰瘍の形成や四肢切断を予防し、患者の QOL（生活の質）を向上させることができるか、プロスペクティブな解析を実施し、エビデンスを得たい。

#### 国際協力

今後の発展には国際協力体制の構築も重要と考えられる。世界的には、米国ワシントン大学で WS 登録組織を開設し、独自の診断基準を提案しているため、これら海外の研究者とも連携し、ユニバーサルなガイドライン作成にも貢献していく。その第一歩として次年度には国際会議の開催を予定している。

#### 社会活動

さらに我々は社会活動の一環として、W の患者、家族会の設立に携わり、既に 2 回の会合を開いた。

(<http://www.justmystage.com/home/8nkazoku/>) こういった社会活動を通して、WS 患者の社会的、精神的なサポートのバックアップをしてゆく予定である。

#### E. 結論

WS のような難治性疾患に対して有効な診療を実現し、その結果、患者が最大限幸福を享受できるためには、医療サイドの充実だけでなく、患者サイドにも十分な情報を提供し、サポートしていくしくみが必要と思われる。本研究課題に携わったことを

契機に、本年度 我が国における WS 患者会の設立に参画することができた。このような機会を活用しながら、本研究によって得られる最新知見を患者へと還元しつつ、患者の新しいニーズを発掘し、WS の予後・QOL 改善、そして根治療法の確立へ向け、着実に歩みを進めていきたい。

#### 参考文献

1. Matsumoto, T. et al. Mutation and haplotype analyses of the Werner's syndrome gene based on its genomic structure: genetic epidemiology in the Japanese population. *Hum Genet* **100**, 123-30 (1997).
2. 厚生省特定疾患 ホルモン受容機構異常調査研究班 昭和 59 年度総括研究事業報告書 p 13-19.
3. Yokote, K. et al. Dysadipocytokinemia in werner syndrome and its recovery by treatment with pioglitazone. *Diabetes Care* **27**, 2562-3 (2004).
4. Honjo, S. et al. Etidronate ameliorates painful soft-tissue calcification in Werner syndrome. *J Am Geriatr Soc* **53**, 2038-9 (2005).
5. Yokote, K. et al. Metabolic improvement and abdominal fat redistribution in Werner syndrome by pioglitazone. *J Am Geriatr Soc* **52**, 1582-3 (2004).
6. Muftuoglu, M. et al. The clinical characteristics of Werner syndrome: molecular and biochemical diagnosis. *Hum Genet* **124**, 369-77 (2008).
7. Faragher, R. G. et al. The gene

- responsible for Werner syndrome may be a cell division "counting" gene. *Proc Natl Acad Sci USA* **90**, 12030-4 (1993).
8. Yu, C. E. et al. Positional cloning of the Werner's syndrome gene. *Science* **272**, 258-62 (1996).
  9. Yokote, K. & Saito, Y. Extension of the life span in patients with Werner syndrome. *J Am Geriatr Soc* **56**, 1770-1 (2008).
  10. Honjo, S. et al. Early amelioration of insulin resistance and reduction of interleukin-6 in Werner syndrome using pioglitazone. *J Am Geriatr Soc* **56**, 173-4 (2008).
  11. Goto, M. & Matsuura, M. Secular trends towards delayed onsets of pathologies and prolonged longevity in Japanese patients with Werner syndrome. *Biosci Trends* **2**, 81-7 (2008).
  12. Takemoto, M. et al. Large-scale identification of genes implicated in kidney glomerulus development and function. *Embo J* **25**, 1160-74 (2006).
  13. Honjo, S. et al. Clinical outcome and mechanism of soft tissue calcification in Werner syndrome. *Rejuvenation Res* **11**, 809-19 (2008).
- F. 研究発表  
 1. 論文発表
- Ohnishi, S., Fujimoto, M., Oide, T., Nakatani, Y., Tsurutani, Y., Koshizaka, M., Mezawa, M., Ishikawa, T., Takemoto, M., and Yokote, K. (2010) Primary lung cancer associated with Werner syndrome. *Geriatr Gerontol Int.* **10**(4)319-323.
- Suzuki S, Tanaka T, Poyurovsky MV, Nagano H, Mayama T, Ohkubo S, Lokshin M, Hosokawa H, Nakayama T, Suzuki Y, Sugano S, Sato E, Nagao T, Yokote K, Tatsuno I, Prives C. (2010) Phosphate-activated glutaminase (GLS2), a p53-inducible regulator of glutamine metabolism and reactive oxygen species. *Proc Natl Acad Sci USA* **107**:7461-7466.
- Isose S, Misawa S, Sakurai K, Kanai K, Shibuya K, Sekiguchi Y, Nasu S, Noto Y, Fujimaki Y, Yokote K, Kuwabara S. (2010) Mexiletine suppresses nodal persistent sodium currents in sensory axons of patients with neuropathic pain. *Clin Neurophysiol.* **121**:719-724.
- Ogiwara Y, Mori S, Iwama M, Sawabe M, Takemoto M, Kanazawa N, Furuta K, Fukuda I, Kondo Y, Kimbara Y, Tamura Y, Chiba Y, Araki A, Yokote K, Maruyama N, Ito H. (2010) Hypoglycemia due to ectopic secretion of insulin-like growth factor-I in a patient with an isolated sarcoidosis of the spleen. *Endocr J.* **57**:325-330.
- Kimura K, Shimano H, Yokote K, Urashima M, Teramoto T. (2010) Effects of Pitavastatin (LIVALO Tablet) on the Estimated Glomerular Filtration Rate (eGFR) in Hypercholesterolemic Patients with Chronic Kidney Disease. *J Atheroscler Thromb.* **17**:601-6
- Shimoyama, T., Hiraoka, S., Takemoto, M., Koshizaka, M., Tokuyama, H.,

Tokuyama, T., Watanabe, A., Fujimoto, M., Kawamura, H., Sato, S., Tsurutani, Y., Saito, Y., Perbal, B., Koseki, H., Yokote, K. (2010) CCN3 Inhibits Neointimal Hyperplasia Through Modulation of Smooth Muscle Cell Growth and Migration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*30:675-682

## 2. 学会発表

石川崇弘、竹本稔、藤本昌紀、葛谷雅文、森聖二郎、横手幸太郎 ウェルナー症候群の病態把握、診療指針作成と新規治療法の開発を目的とした全国研究 第 52 回日本老年病医学会学術集会 2010 年 6 月 25 日、神戸。

田守義和、高橋哲也、中島進介、西本祐希、大野恭太、竹本稔、横手幸太郎、喜多哲也 WRN 遺伝子に複合型ヘテロ接合体変異を同定したウェルナー症候群の一例 第 191 回日本内科学会近畿地方会 2010 年 6 月 12 日、京都。

Fujimoto, M., Yokote, K.(2010) Twist-1: A new negative-feedback regulator of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma co-activator-1. The 14th International Congress of Endocrinology (ICE2010). March 29, Kyoto.

Yokote, K. (2010) Trends in guidelines overseas. Special symposium: Update for JAS guideline on management of Atherosclerosis. The 42nd Annual scientific Meeting of the Japan Atherosclerosis Society. July 15, 2010, Gifu

横手幸太郎 (2010) 我が国における脂質関連大規模臨床試験。第 53 回日本糖尿病

学会年次学術集会、5 月 28 日、岡山。

横手幸太郎 (2010) 糖尿病・IGT におけるスタチンの役割：臨床的立場から。第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会、ランチョンセミナー25、5 月 28 日、岡山。

横手幸太郎 (2010) 早老症から学ぶ血管のアンチエイジング。第 10 回日本抗加齢医学会総会、6 月 13 日、京都。

横手幸太郎 (2010) (質異常から見た CKD へのアプローチ。第 53 回日本腎臓学会学術総会ランチョンセミナー6、6 月 16 日、神戸。

横手幸太郎 (2010) 高脂血症。第 52 回日本老年医学会学術集会、6 月 24 日、神戸。

横手幸太郎 (2010) 日本におけるスタチン治療のエビデンス。第 42 回日本動脈硬化学会総会・学術集会、7 月 16 日、岐阜。

横手幸太郎 (2010) 新しい診断基準における合併症の考え方。第 31 回日本肥満学会、10 月 1 日、群馬。

横手幸太郎 (2010) 動脈硬化予防の現状と展望。第 31 回日本肥満学会、10 月 1 日、群馬。

横手幸太郎 (2010) 新たな抗肥満薬とその展望。第 31 回日本肥満学会、10 月 2 日、群馬。

## G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
なし

## II. 分担研究報告

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

ウェルナー症候群と悪性腫瘍

特定医療法人社団 みゆき会病院 診療部長

分担研究者 五十嵐 雅彦

研究要旨 ウェルナー症候群は、代表的な遺伝性早老症のひとつで、その原因として第 8 染色体短腕上に存在する RecQ 型 DNA ヘリカーゼのひとつである *WRN* の変異によることが明らかにされている。本症は、外見的な早老の特徴に加え、代謝性疾患や早発性動脈硬化症、難治性皮膚潰瘍などを併発する。そして、動脈硬化性疾患とともに良性や悪性の腫瘍の合併例も多く、それが生命予後を左右する大きな原因となっている。この発症機序については、未だ十分に解明されてはいないが、ゲノムの恒常性維持に重要な *WRN* の異常に伴い DNA の複製や修復などが正常に行われず、結果的にゲノムの不安定化による影響が大きいと考えられている。また、ウェルナー症候群の悪性腫瘍のタイプは、通常とは異なり、肉腫や間葉系の腫瘍が多いという傾向が報告されている。今年度の本研究班 2 次調査においても、甲状腺腫や軟部腫瘍、髄膜腫などが上位を占め、上皮性の固形癌などの発症頻度はあまり高くないことが明らかにされた。そこで、本研究では、ウェルナー症候群になぜ腫瘍の合併が多いのかという発症のメカニズムについて、これまでの文献的報告を基に本研究班の 2 次調査の結果も踏まえて考察する。

A. 研究目的

ウェルナー症候群は、1904 年にドイツの内科医オットー・ウェルナーにより初めて報告された遺伝性早老症候群のひとつで、常染色体劣性で思春期以降に様々な老化徴候の発症を特徴とする疾患である。

本症は、外見的な特徴として若年時より嚙声や白髪、禿頭、皮膚萎縮などが出現し、糖尿病や脂質異常症、早発性動脈硬化症、白内障、骨粗鬆症、性腺機能低下などの老化徴候とともに難治性皮膚潰瘍を併発する。そして、動脈硬化性疾患とともに良性や悪性の腫瘍を合併し、それらが本症の生命予後を左右する大きな原因となっている。

近年、ウェルナー症候群の原因として第 8 染色体短腕上に存在する RecQ 型 DNA/RNA ヘリカーゼのひとつである *WRN*（ウェルナーヘリカーゼ）のホモ接合体変異によることが明らかにされた。しかし、なぜ本症が腫瘍性疾患、特に肉腫や間葉系の腫瘍を合併しやすいのかという機序については未だ十分に解明されてはいない。

そこで、本研究では、ウェルナー症候群になぜ腫瘍の合併が多いのかという発症のメカニズムについて、これまでの文献的報告を基に本研究班の 2 次調査の結果も踏まえて考察する。

## B. 研究方法

本邦を含め、これまでに報告されたウェルナー症候群と悪性腫瘍の関連性に関する文献を基に、今年度の本研究班 2 次調査の結果も踏まえ、その発症に至るメカニズムとどのようなタイプの悪性腫瘍が発症するのかを総合的に検討した。

## C. 研究結果

### 腫瘍のタイプについて

ウェルナー症候群に伴う腫瘍の発症に関しては、特に有意な臓器特異性は見られない。しかし、一般人の場合とは異なる点として、悪性黒色腫や骨肉腫や髄膜腫などを主とした間葉系腫瘍の発症が多いという傾向があり、これまでも多数の症例報告がなされている。

また、上皮性腫瘍としては、甲状腺癌、乳癌、膵癌、骨髄異形成症候群に続発した白血病などが症例報告されており、重複例も少なくない。また、興味深い点としては、ウェルナー症候群の場合には、甲状腺癌でも一般的には頻度が多いような、女性、乳頭型は少なく、むしろ男性、小胞型が多い。さらに、骨肉腫でも一般的には発症が非常に稀な部位である足根骨／足関節などに見られることが多い。しかし、その組織型や発症部位に関しては、何が原因かは現在でもわかっていない。

今年度の本研究班 2 次調査においても、腫瘍の合併が確認された 37 例は 50 歳台での発症が中心であった。さらに、腫瘍のタイプとしては甲状腺腫や軟部腫瘍、髄膜腫などが上位を占めており、これまでの報告と同様に上皮性由来の固形癌などの発症頻度があまり高くはないことが明らかにされた。

表. ウェルナー症候群の病態把握と治療指針作成に関する調査研究班二次調査によるウェルナー症候群に併発した腫瘍のタイプと例数について

腫瘍性病変	症例数
甲状腺腫 (内 甲状腺癌 1例)	7
軟部肉腫 (悪性繊維性組織球腫を含む)	6
髄膜腫	5
骨肉腫	3
肺がん (内 高分化腺癌 1例)	2
乳癌	2
膵癌	2
咽頭癌	1
再生不良性貧血	1
骨髄異形成症候群	1
子宮癌	1
胃癌	1
平滑筋肉腫	1
多発性骨髄腫	1
白血病	1
肝内胆管癌	1
不明	1

## D. E. 考察及び結論

### 腫瘍発症のメカニズムについて

ウェルナー症候群は、DNA-DNA や DNA-RNA の二本鎖を一本鎖に巻き戻す時に働く DNA ヘリカーゼのひとつであるウェルナーヘリカーゼの変異によって発症する早老症である。DNA ヘリカーゼは、ゲノムの維持に極めて重要な DNA の複製や修復を司る重要な酵素のひとつであり、このウェルナーヘリカーゼの変異により巻き戻し能力が低下し、DNA の複製時に染色体末端にある老化時計の機能を有する「テロメア」が損傷しやす

くなることが明らかにされている。

これまでの研究により、ゲノム DNA は常時放射線を始めとするさまざまな外的な要因に加え、細胞内の活性酸素などによる酸化ストレスにさらされていることが知られている。これらの傷害因子に対して、ゲノム DNA はもし損傷が生じた場合には p53 や p21 を活性化させ細胞周期を停止し、同時に DNA を修復することにより、変異した遺伝情報を誤って継承しないように制御されている。そして、傷害が大きい場合にはアポトーシスを誘導し、発癌などの誘導する異常な細胞増殖を阻止することにより、ゲノムの恒常性を維持している。

ウエルナー症候群は、良性や悪性を含めた腫瘍の合併が多いことが特徴のひとつである。過去の報告例では、本症の 8.8～15.7 の頻度でなんらかの腫瘍性疾患が発症することが明らかにされている。この原因としては、本症ではゲノム DNA の防御機構がウエルナーヘリカーゼの変異により DNA の複製や修復、組み換え、転写などの基本動作が正常に機能していない。そのために、ゲノム DNA 本体が不安定となり、DNA の複製速度が低下し DNA が傷害されたとしてもアポトーシスが誘導されず、細胞増殖が停止し染色体自体が不安定となることが推測される。そして、その結果、老化の促進とともに腫瘍の発症を惹起する可能性が高くなると考えられた。

さらに、ウエルナー症候群における併発腫瘍の多くは癌腫よりも非上皮性の肉腫などの間葉系腫瘍の発症が多い。この背景は未だ解明されてはいないが、皮膚や皮下組織の萎縮が機械的刺激に対する保護（あるいは防御）作用を低下させ、非上皮性腫瘍の

惹起を助長する可能性が考えられる。

ウェルナー症候群に合併する肝機能異常の臨床的特徴に関する研究

研究分担者 森 聖二郎 東京都健康長寿医療センター臨床研究推進センター部長

研究要旨 ウェルナー症候群に合併する肝機能異常の臨床的特徴について、自験例ならびに報告例をもとに検討を加えた。自験例 10 例では、腹部超音波検査にて全例に脂肪肝が認められた。これら 10 例には高インスリン血症が認められ、腹部 CT 検査を施行し得た 4 例では内臓脂肪が相対的に増加しており、著明なインスリン抵抗性が脂肪肝の主たる原因と推察された。すなわち本症候群の肝機能異常は、非アルコール性脂肪肝 (non-alcoholic fatty liver disease; NAFLD) とほぼ同等の病態と考えられた。実際、著明なインスリン抵抗性を伴い、肝生検で組織学的に NASH (non-alcoholic steatohepatitis) と診断された本症候群 3 例の報告がある。本症候群に合併するインスリン抵抗性は、特徴的な体組成の変化、すなわち皮下脂肪の減少、四肢筋の萎縮、内臓脂肪の相対的増加といった変化に伴う二次性の病態である可能性がある。一方、本症候群の責任遺伝子である WRN 遺伝子を欠如させたマウスを用いた実験では、インスリン抵抗性が WRN 遺伝子の異常によって直接的にもたらされている可能性も示唆されている。今後、さらなる研究により、本症候群に合併する脂肪肝と NAFLD との関連性を明らかにし、加齢に伴うインスリン抵抗性の疾患モデルとなりうる早期老化兆候なのか否かを明らかにして行かねばならない。

A. 研究目的

ウェルナー症候群は常染色体劣性遺伝形式を示す代表的な早老症候群の一つであり、RecQ タイプの DNA ヘリカーゼ (WRN、Werner syndrome protein) の変異によって発症する。様々な早期老化兆候を呈するが、著明なインスリン抵抗性を伴う耐糖能異常、脂質代謝異常、脂肪肝といった病態は、本症候群に特徴的な合併症である<sup>1, 2)</sup>。

近年、非アルコール性脂肪肝 (non-alcoholic fatty liver disease; NAFLD) と呼ばれる疾患概念が提唱されている<sup>3)</sup>。従来は良性疾患と認識されていた脂肪肝であるが、中には重篤な慢性肝炎か

ら肝硬変に至る例があり (non-alcoholic steatohepatitis; NASH)、これは NAFLD の重症型と見なされている。病理学的にはアルコール性肝炎と同様、肝細胞の脂肪変性、炎症性細胞浸潤、肝細胞の空胞化と壊死、マロリー小体、肝細胞周囲の線維化を呈するが<sup>4)</sup>、臨床的にはインスリン抵抗性を伴う耐糖能異常、中心性肥満、メタボリックシンドロームを呈することが特徴である<sup>3)</sup>。

ウェルナー症候群に合併する脂肪肝は著明なインスリン抵抗性を伴い、一方、NAFLD もインスリン抵抗性を伴うことから、両者は成因論的に類似した病態である

可能性がある。そこで本研究では、自験例ならびに報告例をもとに、本症候群に合併する肝機能異常の臨床像を明らかにし、NAFLDとの関連性について検討することを目的とした。

## B. 研究方法

対象は千葉大学医学部附属病院にて経験したウェルナー症候群患者 10 例である。本症候群の診断は特徴的な臨床症状の存在によった (表 1)。男性 5 例、女性 5 例、本研究に関わる検査を行った時点での平均年齢は 41 歳 (31~48 歳) であった。遺伝子検査を行い得た 4 例 (症例 1、2、6、7) は WRN 変異 4 のホモ接合体であった<sup>5)</sup>。脂肪肝の診断は腹部超音波検査、皮下脂肪ならびに内臓脂肪の測定は腹部 CT 検査にて行った。

## C. 研究結果

表 1 に示すとおり、これら 10 症例は、身長  $153 \pm 12$  cm (平均値  $\pm$  標準偏差、以下同様)、体重  $40 \pm 12$  kg、BMI  $17.0 \pm 2.1$  kg/m<sup>2</sup> と、身長に比し体重が少なかった。四肢には末梢優位の皮下脂肪組織の萎縮を認めたが、体幹部の皮下脂肪組織は良く保たれており、四肢が細く腹部の膨満した特有の体型を呈していた。

表 2 に示すとおり、全例とも ALT 優位の軽度の血清トランスアミナーゼ値の上昇を認め、全例とも腹部超音波検査にて脂肪肝と診断された。なお、膵および胆道系には異常所見を認めなかった。空腹時血糖値は 4 例 (症例 1、2、8、10) が 126 mg/dL 以上、75gOGTT 負荷後 2 時間血糖値は 4 例 (症例 2、6、8、10) が 200 mg/dL 以上で

あり、10 例中 5 例 (症例 1、2、6、8、10) は糖尿病と診断された。空腹時 IRI 値は 6 例 (症例 1、4、6、7、8、9) が  $15 \mu$  U/mL 以上の高値を示し、75gOGTT 負荷後 2 時間 IRI 値は調べ得た 7 例 (症例 2、3、5、6、7、8、10) では全例が著明な高値を示した。空腹時 C ペプチドも調べ得た 2 例 (症例 1、2) とも高値であった。すなわち本研究の対象となった 10 例全員に、高インスリン血症の存在が確認された。

腹部 CT 検査を施行し得た 4 例 (症例 1、2、6、7) において、膈レベルのスライスで脂肪面積を計測した。表 2 に示すとおり、2 例 (症例 2、7) では内臓脂肪面積が 100 cm<sup>2</sup> 以上と高値を示した。また内臓脂肪と皮下脂肪との面積比、すなわち V/S 比を計算すると、4 例とも正常上限の 0.7 を超えていた。以上のことから、これら 4 例は皮下脂肪に比較して、内臓脂肪が相対的に増加していることが明らかとなった。

## D. 考察

本研究の対象となったウェルナー症候群 10 例は、全例とも脂肪肝を合併していると診断された。我々の経験した本症候群患者では極めて高頻度に脂肪肝を合併していたにもかかわらず、本症候群における肝機能異常の詳細な報告は少ない。1941 年、Oppenheimer ら<sup>6)</sup> は本症候群 2 例の報告をしており、うち 1 例には肝腫大を合併していたとしている。1966 年、Epstein ら<sup>7)</sup> の報告した本症候群 125 例の総説によると、うち数例に肝機能検査が施行されていたが、その結果は肝機能異常の存在を示唆するものではなかったとしている。しかし、1982 年、Murata ら<sup>8)</sup> は、本邦にて経験した本

症候群 24 例の報告をしており、その中で、血清 GOT 値は平均 34 IU/dL、GPT 値は 36 IU/dL であり、GOT 高値 (69~91) を示した例が 24 例中 10 例、GPT 高値 (51~143) を示した例が 24 例中 9 例みられたとしている。これら 24 例中、著明な高トリグリセリド血症を呈した 3 例を Murata ら<sup>9)</sup> は別に報告しており、それら 3 例の検査所見をみると、血清トランスアミナーゼ値の上昇に加え、全例とも血清タンパク値 (8.4~8.9 g/dL) およびコリンエステラーゼ値 (1.4~1.6 ΔpH) が高値であり、脂肪肝の存在が推測される。また、1985 年、Imura ら<sup>10)</sup> は、本邦における本症候群 102 例のアンケート調査結果を報告しており、そのうち 35.4% に軽度の肝機能異常を認め、脂肪肝の存在が示唆されたとしている。以上のことから、本症候群では、今回呈示した 10 例ほど高頻度ではないとしても、かなりの頻度で脂肪肝を合併していると考えられる。腹部超音波といった簡便な肝臓の形態学的検査方法の進歩により、おそらく以前は見過ごされていた本症候群の脂肪肝が、近年になって確定診断される頻度が増加した可能性が高い。

呈示した本症候群 10 例では、全例とも明らかな高インスリン血症の存在が確認されており、著明なインスリン抵抗性が脂肪肝ならびに内臓脂肪増加の主たる原因と推察される。すなわち、本症候群の肝機能異常は NAFLD とほぼ同等の病態と言える。実際、Hashizume ら<sup>11)</sup> は、肝生検で組織学的に NASH と診断し得た本症候群 3 例を報告している。これら 3 例では、ALT 優位の血清トランスアミナーゼ値の上昇が認められ、空腹時 IRI 値が 36、22、29 μU/mL

と明らかな高インスリン血症を呈しており、著明なインスリン抵抗性を伴っていた。自験例 10 例では残念ながら肝生検を実施しておらず、NAFLD との関連性を組織学的に検討することは現時点では困難であるが、臨床像としては Hashizume らの報告した 3 例と極めて類似している。

ウェルナー症候群に合併する著明なインスリン抵抗性は、本症候群患者に特徴的な体組成の変化、すなわち皮下脂肪の減少、四肢筋の萎縮、内臓脂肪の相対的増加といった変化に伴う二次性の病態である可能性も考えられるが、一方、本症候群の遺伝子異常によって直接的にもたらされている可能性も否定できない。実際、WRN 遺伝子を欠如させた 4 ヶ月齢マウスに高脂肪

(36%)・高蔗糖 (33%) 食を摂取させると、野生型マウスに比較して明らかに高インスリン血症を呈し、グルコースクランプ法でのグルコース処理能が低下していたと報告されている<sup>12)</sup>。さらに Massip ら<sup>13)</sup> は、WRN 遺伝子のヘリカーゼドメインを変異させたマウスでは野生型に比較して、血中インスリン、グルコース、トリグリセリド、コレステロール、ヒアルロン酸、内臓脂肪が増加していたと報告している。

## E. 結論

ウェルナー症候群 10 例の肝機能異常について臨床的に検討を加えた。全例とも脂肪肝を合併しており、著明なインスリン抵抗性が脂肪肝の主たる原因と推察された。すなわち本症候群の肝機能異常は NAFLD とほぼ同等の病態と考えられた。

## 参考文献

1. Mori S, Morisaki N, Murano S, et al: Fatty liver as a complication of patients with Werner's syndrome. *Jpn J Geriatr* 25: 626-631, 1988.
2. Mori S, Murano S, Yokote K, et al: Enhanced intra-abdominal visceral fat accumulation in patients with Werner's syndrome. *Int J Obes Relat Metab Disord* 25: 292-295, 2001.
3. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, et al: Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 116: 1413-1419, 1999.
4. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, et al: Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 94: 2467-2474, 1999.
5. Yu CE, Oshima J, Fu YH, Wijsman EM, et al: Positional cloning of the Werner's syndrome gene. *Science* 272: 258-262, 1996.
6. Oppenheimer BS, Kugel VH: Werner's syndrome: report of the first necropsy and of findings in a new case. *Am J Med Sci* 202: 629-638, 1941.
7. Epstein CJ, Martin GM, Schultz AL, et al: Werner's syndrome a review of its symptomatology, natural history, pathologic features, genetics and relationship to the natural aging process. *Medicine (Baltimore)* 45: 177-221, 1966.
8. Murata K, Nakashima H: Werner's syndrome: twenty-four cases with a review of the Japanese medical literature. *J Am Geriatr Soc* 30: 303-308, 1982.
9. Murata K, Nakashima H: Clinical and metabolic studies on Werner's syndrome: with special reference to disorders of lipid and liver function. *Adv Exp Med Biol* 190: 285-304, 1985.
10. Imura H, Nakao Y, Kuzuya H, et al: Clinical, endocrine and metabolic aspects of the Werner syndrome compared with those of normal aging. *Adv Exp Med Biol* 190: 171-185, 1985.
11. Hashizume H, Sato K, Takagi H, et al: Werner syndrome as a possible cause of non-alcoholic steatohepatitis. *J Clin Pathol* 62: 1043-1045, 2009.
12. Moore G, Knoblauch S, Gollahon K, et al: Hyperinsulinemia and insulin resistance in *Wrn* null mice fed a diabetogenic diet. *Mech Ageing Dev* 129: 201-206, 2008.
13. Massip L, Garand C, Turaga RV, et al: Increased insulin, triglycerides, reactive oxygen species, and cardiac fibrosis in mice with a mutation in the helicase domain of the Werner syndrome gene homologue. *Exp Gerontol* 41: 157-168, 2006.