Table 1 Reported cases of lung cancer in patients with Werner syndrome

	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4	Case 5	Present case
Age, sex	54, female	51, female	52, male	52, female	55, male	52, male
Consanguinity	None	None	First cousins	First cousins	First cousins	None
Other neoplasms	None	None	None	Osteosarcoma	None	Pharyngeal cancer
Histology	Squamous cell carcinoma	Well-differenciated adenocarcinoma	Well-differenciated	Bronchio-alveolar	Squamous cell carcinoma	Well-differenciated adenocarcinoma
Stage (TNM)	1b (T2N1M0)	1b (T2NXM0)	1a (T1NXM0)	1a (T1N0M0)	1a (T1N0M0)	1a (pT1N0m0)
Treatment	Irradiation	Local chemotherapy	Left lower lobectomy	Right upper lobectomy	Left lower lobectomy	Left upper lobectomy
Outcome	14 months, died	4 months, died	Unknown	44 months, survived	47 month, survived	24 months, died
Reference	8	9	10	11	12	

Postoperative wound healing is one of the major issues considered by surgeons before deciding on surgical management in the case of patients with WS. In our patient, despite the patient's present condition and the history of refractory skin ulcers in the extremities, the lung cancer was successfully resected, without any skin-related problems. The skin and soft tissue of the extremities tend to be atrophic and comified in WS, whereas the skin of the trunk is normal.[25] In addition, subcutaneous fat tissue in the extremities of WS patients was reported to be lipoatrophic, whereas tissue of the trunk was normal. Moreover, there are possible systemic metabolic effects of regional adiposity in a patient with WS.[26] It has also been reported that not only lung cancer, but also meningiomas[27] and pancreatic cancer[28] can be successfully operated on without any skin-related problems. Therefore, there might be no difference in the wound-healing ability of the skin of the trunk between patients with WS and the normal population of the same age group. It appears that skin ulceration might not be a potential problem of surgical treatment of the trunk, as in our case and previous reports.

In summary, we report a case of WS associated with primary lung cancer that was successfully resected. As the life expectancy of patients with WS is increasing, we need to pay attention not only to rare non-epithelial malignancies, but also to epithelial cancer. Furthermore, the shorter life expectancy of patients with WS than the general population, as well as the possibility of skin-related problems after surgery, should not be a deciding factor when considering whether to carry out surgery in the case of malignancy.

Acknowledgments

We thank Mrs Aki Watanabe and Reiko Kimura (Department of Clinical Cell Biology and Medicine, Chiba University Graduate School of Medicine) for their valuable technical assistance. This work was supported by Health and Labour Sciences Research Grants from the Minstry of Health, Labour and Welfare of Japan for the Research on Measures for Intractable Diseases.

References

1 Yu CE, Oshima J, Fu YH *et al.* GD. Positional cloning of the Werner's syndrome gene. *Science* 1996; **272**: 258–262.
2 Matsumoto T, Imamura O, Yamabe Y *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* 1997; **100**: 123–130.
3 Goto M, Miller RW, Ishikawa Y, Sugano H. Excess of rare cancers in Werner syndrome (adult progeria). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996; **5**: 239–246.

4 Goto M. Hierarchical deterioration of body systems in Werner's syndrome: implications for normal ageing. *Mech Ageing Dev* 1997; **98**: 239–254.
5 Epstein CJ, Motulsky AG. Werner syndrome: entering the helicase era. *Bioessays* 1996; **18**: 1025–1027.
6 Opresko PL, Sowd G, Wang H. The Werner syndrome helicase/exonuclease processes mobile d-loops through branch migration and degradation. *PLoS One* 2009; **4**: e4825.
7 Crabbe L, Jauch A, Naeger CM, Holtgreve-Grez H, Karlseder J. Telomere dysfunction as a cause of genomic instability in Werner syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; **104**: 2205–2210.
8 Laud PR, Multani AS, Bailey SM *et al.* Elevated telomere-telomere recombination in WRN-deficient, telomere dysfunctional cells promotes escape from senescence and engagement of the ALT pathway. *Genes Dev* 2005; **19**: 2560–2570.
9 Wyllie FS, Jones CJ, Skinner JW *et al.* Telomerase prevents the accelerated cell ageing of Werner syndrome fibroblasts. *Nat Genet* 2000; **24**: 16–17.
10 Chang S, Multani AS, Cabrera NG *et al.* Essential role of limiting telomeres in the pathogenesis of Werner syndrome. *Nat Genet* 2004; **36**: 877–882.
11 Jemal A, Travis WD, Tarone RE, Travis L, Devesa SS. Lung cancer rates convergence in young men and women in the United States: analysis by birth cohort and histologic type. *Int J Cancer* 2003; **105**: 101–107.
12 Suruta H, Yonezawa Y, Matsumoto M *et al.* An autopsy case of Werner's syndrome with lung cancer. *Nippon Naika Gakkai Zasshi* 1982; **71**: 374–375.
13 Yoshioka R, Kuwabara T, Hiraoka T. A case of Werner's syndrome with lung cancer. *Nippon Kyobu Shikkan Gakai Zasshi* 1984; **22**: 450.
14 Ohtake Y, Hirai T, Yamanaka A *et al.* A surgical case of lung cancer compolicating with Werner syndrome. *Nippon Haigan Gakkai* 1994; **34**: 69–73.
15 Yamanaka A, Hirai T, Ohtake Y, Kitagawa M. Lung cancer associated with Werner's syndrome: a case report and review of the literature. *Jpn J Clin Oncol* 1997; **27**: 415–418.
16 Naramoto A, Honda T, Fujimoto K *et al.* A case of Werner's syndrome with lung cancer. *Roka To Shikkan* 1992; **5**: 1828–1832 (supplement, in Japanese).
17 Goto M, Matsuura M. Secular trends towards delayed onsets of pathologies and prolonged longevities in Japanese patients with Werner syndrome. *Biosci Trends* 2008; **2**: 81–87.
18 Yokote K, Saito Y. Extension of the life span in patients with Werner syndrome. *J Am Geriatr Soc* 2008; **56**: 1770–1771.
19 Yokote K, Honjo S, Kobayashi K *et al.* Metabolic improvement and abdominal fat redistribution in Werner syndrome by pioglitazone. *J Am Geriatr Soc* 2004; **52**: 1582–1583.
20 Yeong EK, Yang CC. Chronic leg ulcers in Werner's syndrome. *Br J Plast Surg* 2004; **57**: 86–88.
21 Harada T, Kawakami M, Saito Y, Odaka M, Sato S, Akiba T. Incidental Analysis of primary lung cancer in autopsy cases (The initail report). *Jikeikai Med J* 2005; **120**: 109–120.
22 Yamamoto K, Imakiire A, Miyagawa N, Kasahara T. A report of two cases of Werner's syndrome and review of the literature. *J Orthop Surg* 2003; **11**: 224–233.
23 Leone A, Costantini AM, Brigida R, Antoniol OM, Antonelli-Incalzi R, Bonomo L. Soft-tissue mineralization in Werner syndrome. *Skeletal Radiol* 2005; **34**: 47–51.
24 Faragher RG, Kill IR, Hunter JA, Pope FM, Tannock C, Shall S. The gene responsible for Werner syndrome may be a cell division "counting" gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; **90**: 12030–12034.
25 Ellison DJ, Pugh DW. Werner's syndrome. *Br Med J* 1955; **2**: 237–239.
26 Smith U, Digirolamo M, Blohme G, Kral JG, Tisell LE. Possible systemic metabolic effects of regional adiposity in a patient with Werner's syndrome. *Int J Obes* 1980; **4**: 153–163.
27 Tsurubuchi T, Yamamoto T, Tsukada Y, Matsuda M, Nakai K, Matsumura A. Meningioma associated with Werner syndrome – case report. *Neurol Med Chir* 2008; **48**: 470–473.
28 Shimaoka Y, Hatamochi A, Hamasaki Y *et al.* Case of Werner's syndrome with pancreatic carcinoma. *J Dermatol* 2007; **34**: 674–676.

Biochemical and Biophysical Research Communications 407 (2011) 68–73

Contents lists available at ScienceDirect

Biochemical and Biophysical Research Communications

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ybbrc

The roles of transforming growth factor-β and Smad3 signaling in adipocyte differentiation and obesity

Yuya Tsurutani [a], Masaki Fujimoto [b], Minoru Takemoto [b,*], Hiroki Irisuna [a], Masaya Koshizaka [a], Shunichiro Onishi [a], Takahiro Ishikawa [a], Morito Mezawa [a], Peng He [a], Satoshi Honjo [a], Yoshiro Maezawa [a], Yasushi Saito [c], Koutaro Yokote [a,b]

[a] Department of Clinical Cell Biology and Medicine, Chiba University Graduate School of Medicine, Japan
[b] Department of Medicine, Division of Diabetes, Metabolism and Endocrinology, Chiba University Hospital, Chiba, Japan
[c] Chiba University, Chiba, Japan

ARTICLE INFO

Article history:
Received 16 February 2011
Available online 26 February 2011

Keywords:
TGF-β
Smad3
Adipogenesis
Obesity
Insulin resistance

ABSTRACT

We aimed at elucidating the roles of transforming growth factor (TGF)-β and Smad3 signaling in adipocyte differentiation (adipogenesis) and in the pathogenesis of obesity. TGF-β/Smad3 signaling in white adipose tissue (WAT) was determined in genetically obese (ob/ob) mice. The effect of TGF-β on adipogenesis was evaluated in mouse embryonic fibroblasts (MEF) isolated both from WT controls and Smad3 KO mice by Oil red-O staining and gene expression analysis. Phenotypic analyses of high-fat diet (HFD)-induced obesity in Smad3 KO mice compared to WT controls were performed. TGF-β/Smad3 signaling was elevated in WAT from ob/ob mice compared to the controls. TGF-β significantly inhibited adipogenesis in MEF, but the inhibitory effects of TGF-β on adipogenesis were partially abolished in MEF from Smad3 KO mice. TGF-β inhibited adipogenesis independent from the Wnt and β-catenin pathway. Smad3 KO mice were protected against HFD-induced insulin resistance. The size of adipocytes from Smad3 KO mice on the HFD was significantly smaller compared to the controls. In conclusion, the TGF-β/Smad3 signaling pathway plays key roles not only in adipogenesis but also in development of insulin resistance.

1. Introduction

Obesity, defined as an excess amount of body fat, is associated with metabolic disorders, such as type 2 diabetes, dyslipidemia, and hypertension [1], which eventually increase morbidity and mortality all over the world. Previously, the adipose tissue was considered as a storage organ for excessive energy; however, recent scientific progress has shed light on the crucial roles of adipocytes in not only whole body insulin sensitivity but also energy homeostasis [2].

White adipose tissue (WAT), a predominant type of fat distributed throughout the body, secretes a number of molecules that are now defined as adipokines [3]. In obesity, adipocytes undergo hypertrophy, which leads to dysregulation of WAT-mediated glucose and lipid disposal and an imbalanced secretion of adipokines, contributing to the development of hyperglycemia, insulin resistance, and dyslipidemia.

Adipocyte differentiation is controlled by a complex network of transcriptional factors, including members of the CCAAT/enhancer-binding protein (C/EBPs) and peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) family [4]. Indeed, elucidating the molecular mechanisms underlying adipogenesis is crucial for the development of more effective therapies for obesity in order to prevent metabolic diseases.

The transforming growth factor beta (TGF-β) plays important roles in the progression of a variety of diseases such as diabetic complications [5,6], atherosclerosis [7], and cancer [8]. TGF-β exerts its biological functions mainly through its downstream signaling molecules, the Smads [9]. It has been reported that TGF-β has a broad spectrum of biological functions and actions in a variety of cell types, but its role in the process of adipogenesis has not been fully elucidated.

In the present study, we aimed to investigate the pathophysiological roles of TGF-β/Smad3 signaling in adipocyte differentiation. For this purpose, we first examined the expression of TGF-β signaling in adipose tissue of genetically obese mice (ob/ob mice). We then investigated the role of TGF-β in adipogenesis both *in vitro* and *in vivo* using Smad3 knockout (KO) mice.

2. Materials and methods

2.1. Reagents, animals and tissue preparation

Reagents used are described in the expanded Materials and Methods section.

* Corresponding author. Fax: +81 43 226 2095.
E-mail address: minoru.takemoto@faculty.chiba-u.jp (Minoru Takemoto).

0006-291X/$ - see front matter © 2011 Elsevier Inc. All rights reserved.
doi:10.1016/j.bbrc.2011.02.106

2.2. Real-time quantitative PCR and reverse transcription PCR

Real-Time quantitative PCR (real-time PCR) and reverse transcription PCR (RT-PCR) were performed as described previously [10]. See expanded Materials and Methods section for details.

2.3. Immunohistochemistry and immunocytochemistry

See the expanded Materials and Methods section.

2.4. Nuclear extraction and immunoblotting

See expanded Materials and Methods section for details.

2.5. Cell culture

Mouse embryonic fibroblasts (MEF) cells were established from E13.5 embryos. See expanded Materials and Methods section for details.

2.6. Measurement of triglyceride (TG) contents in MEF

The TG content of MEF was measured with a Triglyceride Quantification kit (BioVision, USA) according to the manufacturer's instructions.

2.7. Retroviral infection

Immortalized white pre-adipocyte HW cells were kindly provided by Prof. Masayuki Saito (Tenshi College, Sapporo, Japan) and differentiated into mature adipocytes as described previously [11]. See expanded Materials and Methods section for details.

2.8. Insulin tolerance test (ITT)

Eight-week-old male Smad3 KO and littermate controls were placed on a HFD for 8 weeks. An intraperitoneal ITT using 5 units of insulin/kg was performed in mice fasted for 16 h. Blood samples were collected at 0, 15, 30, 60, 90, and 120 min after insulin injection.

2.9. Statistical analysis

Results were presented as mean ± SEM. Statistical analyses used a 2-tailed unpaired Student *t*-test.

3. Results

3.1. TGF-β/Smad3 signaling pathway is activated in the WAT from ob/ob mice

In order to investigate the roles of TGF-β signaling in obesity and adipogenesis, we initiated our study by analyzing the expression of TGF-β in WAT from genetically obese mice (ob/ob mice). Epididymal fat pad were dissected from 12-week-old ob/ob mice and WT control mice and subjected to real-time PCR and immunohistochemisty. As shown in Fig. 1A, the expression of TGF-β mRNA was 2.3-fold higher in ob/ob mice than in the WT controls. We could also localize the TGF-β protein to the crown-like structure seen in ob/ob mice but not in WT controls, as confirmed by immunohistochemistry (Fig. 1B). On the other hand, there was no significant difference in the mRNA expression of TGF-β type 1 receptor (Alk-5) and type 2 receptor in WAT between ob/ob mice and controls (Fig. 1C). Next, we examined the phosphorylation of Smad3 (p-Smad3) in order to evaluate the activation of TGF-β signaling in WAT. The nuclear fractions of WAT were extracted and subjected to immunoblotting using a specific antibody against p-Smad3 protein. As shown in Fig. 1D, p-Smad3 was 8-fold higher in WAT of ob/ob mice compared to WT controls. These results indicated that activation of TGF-β/Smad3 signaling might play a role in the pathogenesis of obesity and/or adipogenesis.

3.2. TGF-β/Smad3 signaling inhibits adipogenesis in vitro

Next, we examined the effects of TGF-β signaling on adipogenesis. For this purpose, we isolated MEF both from WT and Smad3 KO mice. Adipocyte differentiation was then induced in these cells by a hormonal stimulus in the presence or absence of 1 ng/mL TGF-β. Eight days after hormonal stimulation, the adipocyte differentiation was evaluated by Oil Red-O staining. As shown in Fig. 2A, TGF-β completely inhibited the accumulation of lipids in MEF from WT, whereas the inhibitory effects of TGF-β on lipid accumulation were attenuated by the lack of Smad3 in MEF. Consistent with this observation, TGF-β profoundly decreased the amounts of TG contents in MEF from WT after the induction of adipocyte differentiation; however, the inhibitory effects of TGF-β on the accumulation of TG in MEF was significantly abolished by the lack of Smad3 as shown in Fig. 2B. These results indicated that TGF-β inhibited adipogenesis partially through the Smad3-dependent pathway. Next, we examined the expression of transcriptional factors that have been reported to regulate adipogenesis, such as C/EBPα, C/EBPβ, C/EBPδ, PPARγ and aP2 by RT-PCR. C/EBPβ and C/EBPδ are expressed in earlier phases of adipogenesis and cooperate in inducing expression of C/EBPα, PPARγ, and aP2, which are known to be involved in terminal differentiation. As shown in Fig. 2C, the expression of C/EBPα, PPARγ and aP2 were significantly suppressed in the presence of TGF-β in WT controls, while the expression of neither C/EBP β nor C/EBP δ was changed (data not shown). In the Smad3 KO MEF, the inhibitory effects of TGF-β on the expression of C/EBPα, PPARγ, and aP2 were attenuated significantly.

3.3. TGF-β inhibits adipogenesis independent from Wnt and β-catenin signaling

Among several pathways known to inhibit adipogenesis, we examined the functional relationship between the Wnt/β-catenin pathway and TGF-β signaling, since the cross-talk between TGF-β/Smad3 and Wnt/β-catenin signaling pathways had been reported during chondrocyte development [12]. Wnts are a family of proteins that affect cell fate and differentiation, including myogenesis, neurogenesis, and mammary development [13]. When Wnt signaling is activated, the kinase activity of glycogen synthase kinase 3 (GSK3) is inhibited, which allows cytosolic β-catenin to accumulate and translocate to the nucleus and activate transcription of Wnt target genes.

At first, we evaluated the effects of TGF-β on the translocation of β-catenin in MEF. As shown in Fig. 3A and B, the cytoplasmic β-catenin translocated into the nucleus in the presence of 1 ng/mL TGF-β in MEF from WT controls but not from the Smad3 KO mice. Next, we examined the effects of TGF-β on adipocyte differentiation in the presence of Chibby, which has been reported to inhibit β-catenin-mediated transcriptional activation [14]. Over-expression of Chibby in HW cells was confirmed by RT-PCR (Fig. 3C). Next, Chibby-infected HW cells were induced to differentiate in the presence or absence of TGF-β, and the adipocyte differentiation was evaluated by Oil Red-O staining. TGF-β significantly inhibited HW cell differentiation regardless of the presence of Chibby (Fig. 3D). These results indicated that the TGF-β/Smad3 pathway might physically interact with β-catenin in the course of its translocation into the nucleus; however, TGF-β inhibited adipocyte differentiation independent from the Wnt/β-catenin pathway.

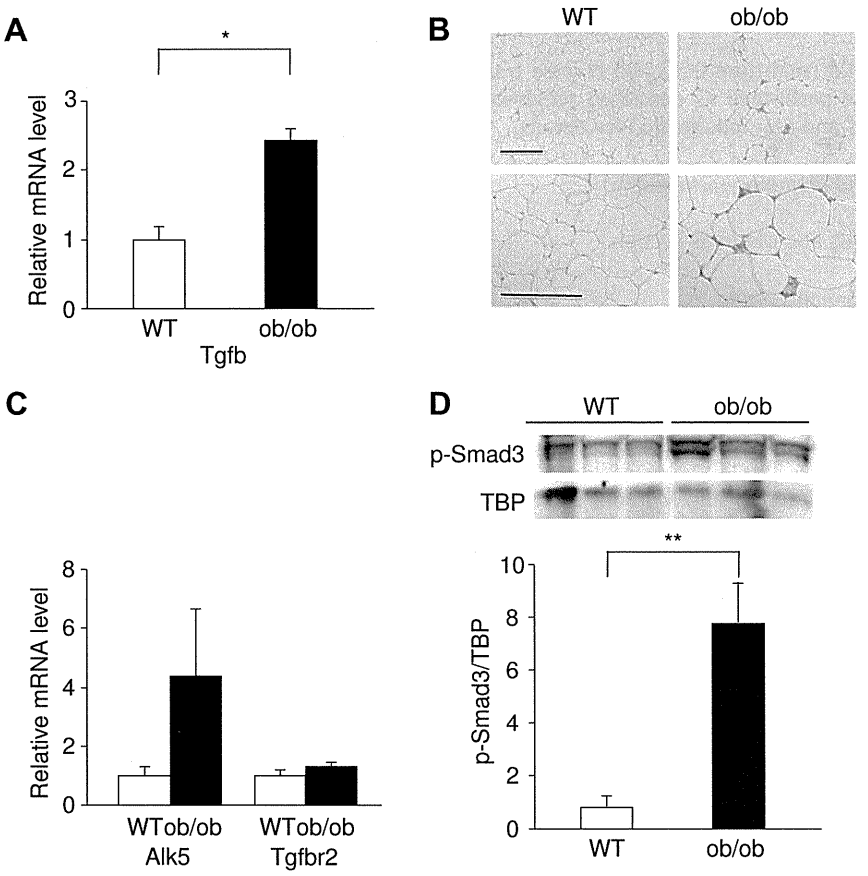


Fig. 1. TGF-β/Smad3 signaling is increased in WAT from ob/ob mice. Epididymal fat fad were dissected from 12-week-old ob/ob mice and control mice and subjected to gene expression analysis (A and C) and immunohistochemistry using an anti-TGF-β-specific antibody (B). The nuclear fractions of WAT were extracted and subjected to immunoblotting using a specific antibody against phospho-Smad3 (D). Anti TATA box binding protein (Tbp) was used as a control for estimating sample loading. Bars, 200 μM. $^{*}p < 0.01$, $^{**}p < 0.05$.

3.4. Smad3 KO mice improve insulin sensitivity on HFD and show smaller-size adipocytes compared to WT

Finally, in order to investigate the roles of TGF-β/Smad3 signaling in obesity and adipogenesis *in vivo*, 8-week-old WT and Smad3 KO mice were placed on a HFD for 8 weeks. Body weight and the amounts of food intake were measured every week. Smad3 KO mice were smaller in size than the littermate controls. As shown in Fig. 4A, the net body weight gain was significantly increased in Smad3 KO mice and caught up to the same body weights compared to the controls after 8-week-HFD, while there was no difference in the amounts of food intake between the 2 groups (data not shown).

We evaluated insulin sensitivity with an ITT and found that insulin sensitivity, especially at 30 min, was significantly better in Smad3 KO mice than in the controls (Fig. 4B). In order to investigate how Smad3 KO mice improved insulin sensitivity on HFD, we dissected WAT out from both Smad3 KO and controls, analyzed it histologically, and examined gene expression by RT-PCR. The weighs of WAT were similar in Smad3 KO and WT (data not shown). Histological analysis revealed that adipocytes from Smad3 KO mice were significantly smaller in size compared to the controls (Fig. 4C and D). However, mRNA expression of adipocyte markers related to differentiation was not changed significantly in the 2 groups (data not shown).

4. Discussion

In the present study, we showed that the expression of p-Smad3 was increased in WAT from ob/ob mice. TGF-β inhibited adipogenesis partially through the Smad3-dependent pathway and independent from the Wnt/β-catenin pathway. Further, we showed that Smad3 KO mice were protected against HFD-induced insulin resistance and the adipocytes from Smad3 KO mice were smaller than the WT controls when they were fed HFD *in vivo*.

TGF-β is a multi-functional growth factor. We have previously reported the important roles of TGF-β/Smad3 signaling in the development of atherosclerosis [7] and diabetic nephropathy [5,6]. In this report, we further analyzed the roles of TGF-β/Smad3 signaling in adipogenesis. The expression of TGF-β mRNA and protein were significantly increased in WAT from ob/ob mice. Moreover, we showed that p-Smad3 was significantly elevated in WAT from obese mice, confirming that the elevated expression of TGF-β functionally activated Smad3 within the obese fat tissues.

Adipogenesis is a complex process dependent on the interplay between extracellular signals and transcriptional cascades. Some factors act promoting adipogenesis, while the others act anti-adipogenic. We showed that TGF-β inhibited adipogenesis partially through the Smad3-dependent pathway. It has been reported that Smad3, which is activated by TGF-β, binds to C/EBPβ and C/EBPδ, inhibits their transcriptional activity. This in turn leads to decreased transcription of PPARγ, a master regulator of adipogenesis, and resulting in inhibition of the process of adipogenesis [15,16]. Since TGF-β was still able to inhibit adipogenesis in Smad3 KO MEF, we assumed that another pathway was involved in the inhibition of adipogenesis independent from the physical interaction of Smad3 and C/EBPs. TGF-β activates not only Smad3 but also Smad2; however, it has already been confirmed that TGF-β inhibited adipogenesis independent from Smad2 [16].

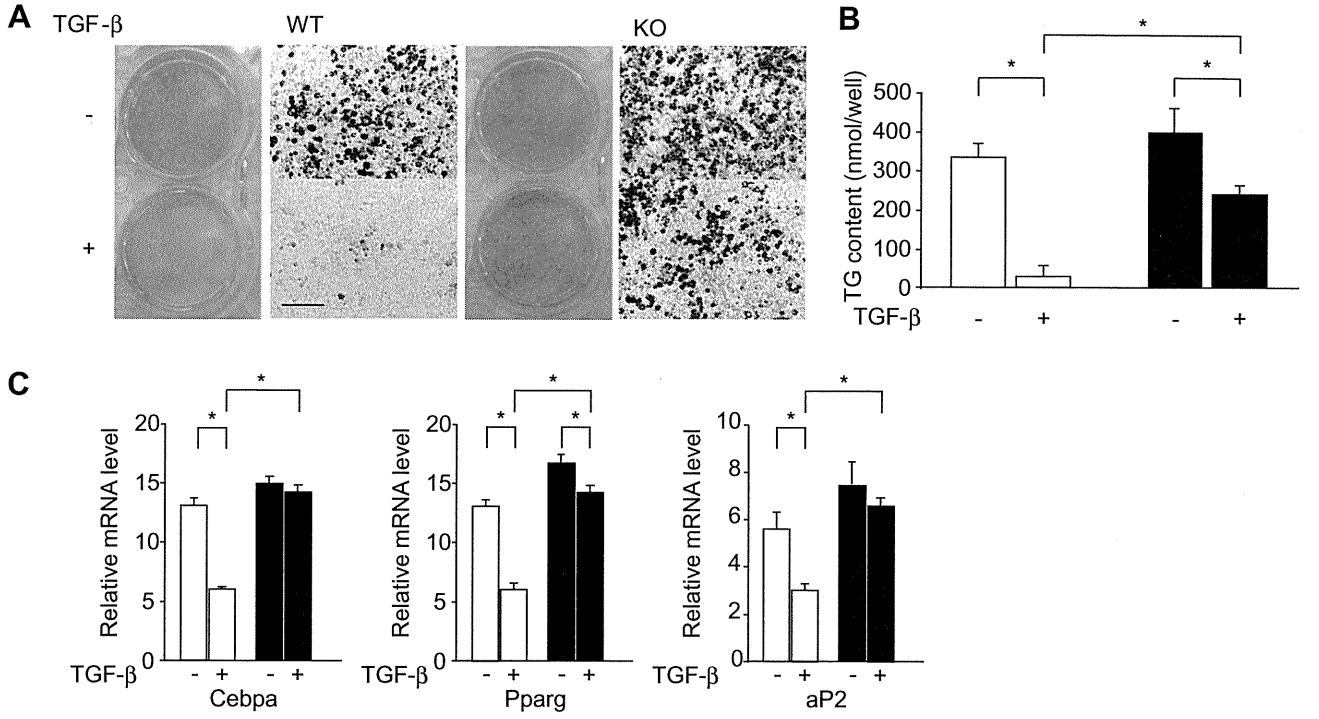


Fig. 2. TGF-β/Smad3 signaling inhibits adipocyte differentiation in MEF. Primary MEF were isolated both from Smad3 KO mice and WT controls. MEF were induced to differentiate by hormonal stimulation in the presence or absence of TGF-β. Lipid accumulation was evaluated by Oil Red-O staining (A) and the TG contents were evaluated (B) The expression of adipocyte differentiation markers was also evaluated by RT-PCR at day 8 after the initiation of adipogenesis (C). Open squares indicated MEF from WT and closed squares indicated MEF from Smad3 KO (B and C). $^{*}p < 0.01$.

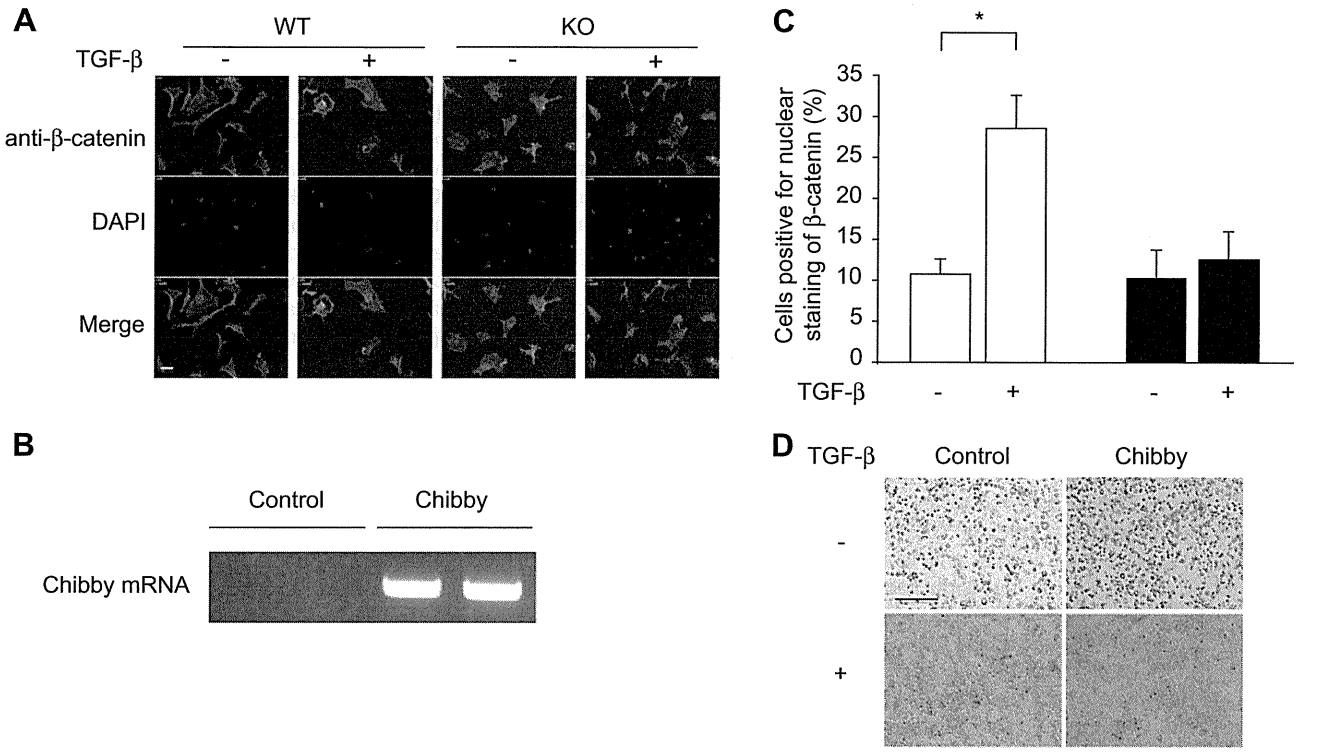


Fig. 3. TGF-β/Smad3 inhibits adipogenesis independent from the Wnt-β/catenin signaling pathway. (A) The effect of TGF-β on the translocation of β-catenin was evaluated in WT MEF and Smad3 KO MEF. The cells were stimulated with 1 ng/mL TGF-β for 1 h, fixed with ice-cold methanol, and subjected to immunocytochemistry using an anti-β-catenin-specific antibody. Cells with nuclear β-catenin were counted and compared among the groups (B). A pre-adipocyte cell line, HW cell, was transfected with Chibby, an inhibitor of β-catenin signaling (C), and differentiation was induced in the presence or absence of 1 ng/mL TGF-β for 8 days. Lipid accumulation was evaluated by Oil Red-O staining (D).

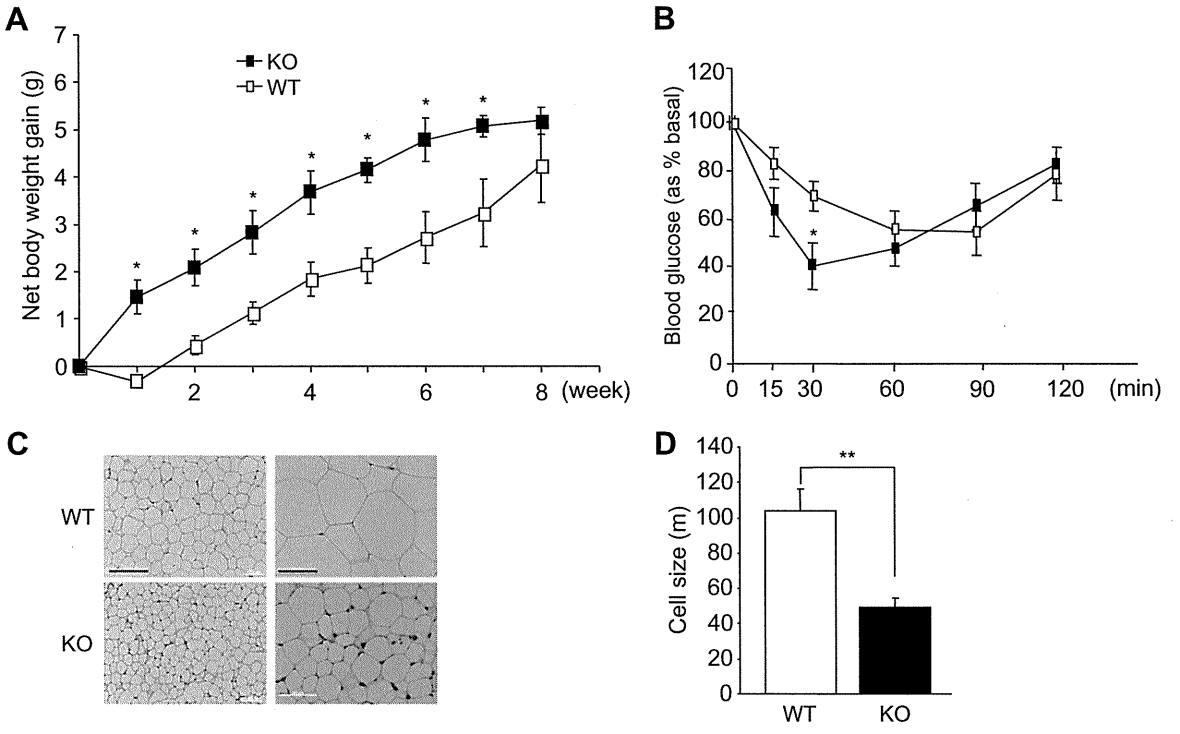


Fig. 4. Smad3 KO mice are protected against HFD-induced insulin resistance and show smaller-size adipocytes after administration of the HFD. Eight-week-old Smad3 KO mice ($n = 5$) and WT controls ($n = 5$) were placed on the HFD for 8 weeks. The body weights (A) was evaluated every week. After 8 weeks on the HFD, ITTs were performed (B). After 8 weeks on the HFD, the epididymal fat fad were dissected out and subjected to histological and gene expression analysis. C: H&E staining. The size of adipocytes was estimated under the light microscope. At least 10 high power fields were selected at random in each animal, the size was measured (D). Bar, 200 μM (C, left) and 50 μM (C, right). $^{*}p < 0.05$, $^{**}p < 0.01$.

Many transcriptional factors have been reported to repress adipogenesis, including GATA2, ETO/MTG8, GLIZ, DIPA, CHOP10, KLF2, and FOXO1 [4]. There are also extracellular signalings, such as Wnt [17] and sonic hedgehog [18], which inhibit adipogenesis. In human mesenchymal stem cells, TGF-β induces nuclear translocation of β-catenin, a major downstream molecule of canonical Wnt signaling, in a Smad3-dependent manner [19]. Thus, we examined the involvement of the Wnt/β-catenin pathway in TGF-β/Smad3 signaling-dependent anti-adipogenesis. In the presence of Chibby, TGF-β was still able to inhibit adipogenesis completely. This result indicated that the Wnt/β-catenin pathway was not involved in anti-adipogenic effects induced by the TGF-β/Smad3. It has been reported that retinoic acid, which is known as a strong inhibitory factor of adipocyte differentiation, also acts in cooperation with Smad3 in adipocytes [20]. Furthermore, a Smad3-independent TGF-β signaling pathway has also been reported [21]. Therefore, TGF-β may be able to inhibit adipogenesis independent from Smad3.

Increased expression of TGF-β in obese mice suggested that the TGF-β/Smad3 signaling contributes to insulin resistance in obesity. Therefore, we investigated the roles of TGF-β/Smad3 signaling in adipogenesis and insulin resistance *in vivo* using Smad3 KO mice. It has been reported that fasting blood glucose levels do not differ between Smad3 KO and WT [5]. However, under HFD conditions, the Smad3 KO mice tended to gain more body weight showing better insulin sensitivity compared to the controls. Histological analysis revealed that the size of the adipocytes was smaller than the control. Consistent with previous reports, small-size adipocytes are more insulin-sensitive than large-size adipocytes [22]. Moreover, it is known that administration of pioglitazone, a PPARγ ligand, improves insulin sensitivity and weight gain in humans and rodents. It is reasonable to speculate that the lack of inhibitory cue, TGF-β/Smad3, made adipocytes differentiate further and improved insulin sensitivity. Surprisingly, while the Smad3 KO mice showed higher insulin sensitivity and smaller adipocytes, there was no significant difference in adipocyte markers between the Smad3 KO and control. Because even with the lack of Smad3 some adipocytes showed inhibited differentiation in the presence of TGF-β, the HFD-induced WAT from Smad3 might be heterogeneous. This might make it difficult to detect a difference in adipocyte markers when we analyzed whole adipose tissues. It has also been reported that C/EBPβ and C/EBPα double KO mice exhibited impairment of fat tissue development, whereas there were no changes in the differentiated adipocyte markers [23]. Therefore, there might be a discrepancy between the adipocyte morphology and its marker expressions. It has been reported that TGF-β increased the pre-adipocyte proliferation in many species [24,25]. However, we were not able to detect proliferation marker expression (Ki-67) in neither Smad3 KO nor WT controls under the HFD conditions (data not shown).

There are some limitations to the present study. First, we still do not know whether the elevated TGF-β signaling in obese mice causes obesity and insulin resistance as a primary or a secondary effect. Second, we do not completely understand the molecular mechanism by which TGF-β/Smad3 signaling inhibited adipogenesis.

Nonetheless, we showed that Smad3 KO mice exhibited improvement of HDF-induced insulin sensitivity when they were fed HFD *in vivo*. Taken together with the *in vitro* data, the inhibition of TGF-β/Smad3 might be a new drug target to prevent obesity and improve insulin resistance.

Acknowledgments

We thank Dr. Masayuki Saito (Tenshi College, Sapporo, Japan) and Dr. Yuko Okamatsu (Hokkaido University, Sapporo, Japan) for

providing the HW adipocyte cell line and Dr. Ken-ichi Takemaru (SUNY at Stony Brook, USA) for providing the retroviral vector containing Chibby. We wish to thank Mrs. Aki Watanabe for her valuable technical assistance. This study was supported by grants from the Japanese Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology, and a Takeda Scientific Foundation.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.bbrc.2011.02.106.

References

[1] B.M. Spiegelman, J.S. Flier, Obesity and the regulation of energy balance, Cell 104 (2001) 531–543.
[2] E.D. Rosen, B.M. Spiegelman, Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis, Nature 444 (2006) 847–853.
[3] D.C. Lau, B. Dhillon, H. Yan, P.E. Szmitko, S. Verma, Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis, Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 288 (2005) H2031–H2041.
[4] E.D. Rosen, O.A. MacDougald, Adipocyte differentiation from the inside out, Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 7 (2006) 885–896.
[5] M. Fujimoto, Y. Maezawa, K. Yokote, K. Joh, K. Kobayashi, H. Kawamura, M. Nishimura, A.B. Roberts, Y. Saito, S. Mori, Mice lacking Smad3 are protected against streptozotocin-induced diabetic glomerulopathy, Biochem. Biophys. Res. Commun. 305 (2003) 1002–1007.
[6] S. Sato, H. Kawamura, M. Takemoto, Y. Maezawa, M. Fujimoto, T. Shimoyama, M. Koshizaka, Y. Tsurutani, A. Watanabe, S. Ueda, K. Halevi, Y. Saito, K. Yokote, Halofuginone prevents extracellular matrix deposition in diabetic nephropathy, Biochem. Biophys. Res. Commun. 379 (2009) 411–416.
[7] K. Kobayashi, K. Yokote, M. Fujimoto, K. Yamashita, A. Sakamoto, M. Kitahara, H. Kawamura, Y. Maezawa, S. Asaumi, T. Tokuhisa, S. Mori, Y. Saito, Targeted disruption of TGF-beta-Smad3 signaling leads to enhanced neointimal hyperplasia with diminished matrix deposition in response to vascular injury, Circ. Res. 96 (2005) 904–912.
[8] E. Meulmeester, P. Ten Dijke, The dynamic roles of TGF-beta in cancer, J. Pathol. 223 (2010) 205–218.
[9] J. Massague, D. Wotton, Transcriptional control by the TGF-beta/Smad signaling system, EMBO J. 19 (2000) 1745–1754.
[10] T. Shimoyama, S. Hiraoka, M. Takemoto, M. Koshizaka, H. Tokuyama, T. Tokuyama, A. Watanabe, M. Fujimoto, H. Kawamura, S. Sato, Y. Tsurutani, Y. Saito, B. Perbal, H. Koseki, K. Yokote, CCN3 inhibits neointimal hyperplasia through modulation of smooth muscle cell growth and migration, Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 30 (2011) 675–682.
[11] N. Nakano, N. Miyazawa, T. Sakurai, T. Kizaki, K. Kimoto, K. Takahashi, H. Ishida, M. Takahashi, K. Suzuki, H. Ohno, Gliclazide inhibits proliferation but stimulates differentiation of white and brown adipocytes, J. Biochem. 142 (2007) 639–645.
[12] M. Zhang, M. Wang, X. Tan, T.F. Li, Y.E. Zhang, D. Chen, Smad3 prevents beta-catenin degradation and facilitates beta-catenin nuclear translocation in chondrocytes, J. Biol. Chem. 285 (2010) 8703–8710.
[13] H. Inadera, A. Shimomura, S. Tachibana, Effect of Wnt-1 inducible signaling pathway protein-2 (WISP-2/CCN5), a downstream protein of Wnt signaling, on adipocyte differentiation, Biochem. Biophys. Res. Commun. 379 (2009) 969–974.
[14] F.Q. Li, A.M. Singh, A. Mofunanya, D. Love, N. Terada, R.T. Moon, K. Takemaru, Chibby promotes adipocyte differentiation through inhibition of beta-catenin signaling, Mol. Cell. Biol. 27 (2007) 4347–4354.
[15] L. Choy, R. Derynck, Transforming growth factor-beta inhibits adipocyte differentiation by Smad3 interacting with CCAAT/enhancer-binding protein (C/EBP) and repressing C/EBP transactivation function, J. Biol. Chem. 278 (2003) 9609–9619.
[16] L. Choy, J. Skillington, R. Derynck, Roles of autocrine TGF-beta receptor and Smad signaling in adipocyte differentiation, J. Cell Biol. 149 (2000) 667–682.
[17] S.E. Ross, N. Hemati, K.A. Longo, C.N. Bennett, P.C. Lucas, R.L. Erickson, O.A. MacDougald, Inhibition of adipogenesis by Wnt signaling, Science 289 (2000) 950–953.
[18] S. Spinella-Jaegle, G. Rawadi, S. Kawai, S. Gallea, C. Faucheu, P. Mollat, B. Courtois, B. Bergaud, V. Ramez, A.M. Blanchet, G. Adelmant, R. Baron, S. Roman-Roman, Sonic hedgehog increases the commitment of pluripotent mesenchymal cells into the osteoblastic lineage and abolishes adipocytic differentiation, J. Cell Sci. 114 (2001) 2085–2094.
[19] H. Jian, X. Shen, I. Liu, M. Semenov, X. He, X.F. Wang, Smad3-dependent nuclear translocation of beta-catenin is required for TGF-beta1-induced proliferation of bone marrow-derived adult human mesenchymal stem cells, Genes Dev. 20 (2006) 666–674.
[20] F. Marchildon, C. St-Louis, R. Akter, V. Roodman, N.L. Wiper-Bergeron, Transcription factor Smad3 is required for the inhibition of adipogenesis by retinoic acid, J. Biol. Chem. 285 (2010) 13274–13284.
[21] A.A. Kulkarni, T.H. Thatcher, K.C. Olsen, S.B. Maggirwar, R.P. Phipps, P.J. Sime, PPAR-gamma ligands repress TGFbeta-induced myofibroblast differentiation by targeting the PI3K/Akt pathway: implications for therapy of fibrosis, PLoS One 6 (2011) e15909.
[22] A. Okuno, H. Tamemoto, K. Tobe, K. Ueki, Y. Mori, K. Iwamoto, K. Umesono, Y. Akanuma, T. Fujiwara, H. Horikoshi, Y. Yazaki, T. Kadowaki, Troglitazone increases the number of small adipocytes without the change of white adipose tissue mass in obese Zucker rats, J. Clin. Invest. 101 (1998) 1354–1361.
[23] T. Tanaka, N. Yoshida, T. Kishimoto, S. Akira, Defective adipocyte differentiation in mice lacking the C/EBPbeta and/or C/EBPdelta gene, EMBO J. 16 (1997) 7432–7443.
[24] R. Bortell, A.J. van Wijnen, A.L. Ramsey-Ewing, G.S. Stein, J.L. Stein, Differential regulation of H4 histone gene expression in 3T3-L1 pre-adipocytes during arrest of proliferation following contact inhibition or differentiation and its modulation by TGF beta 1, J. Cell Biochem. 50 (1992) 62–72.
[25] S.C. Butterwith, C.D. Peddie, C. Goddard, Effects of transforming growth factor-alpha on chicken adipocyte precursor cells in vitro, J. Endocrinol. 134 (1992) 163–168.

*WRN*遺伝子に複合型ヘテロ接合体変異を同定したWerner症候群の1例

田守　義和[1)]　高橋　哲也[1)]　中島　進介[1)]　西本　祐希[1)]
大野　恭太[1)]　竹本　　稔[2)]　横手幸太郎[2)]　喜多　哲也[1)]
筒泉　正春[1)]

要　旨

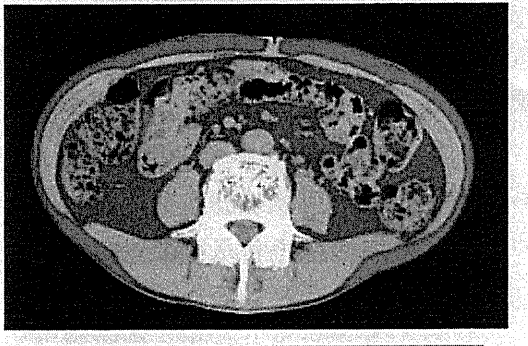
Werner症候群はRecQ型DNAヘリカーゼである*WRN*遺伝子の異常に起因する遺伝性の早老症で，日本における報告例が多い．今回，我々は*WRN*遺伝子にMutation4およびMutation6の複合型ヘテロ接合体変異を有するWerner症候群を見出した．合併する糖尿病に対しては，チアゾリジン薬を投与することで，血糖コントロールが改善するとともに，インスリン抵抗性や炎症状態を示す指標が軽快した．

〔日内会誌　100：1642～1644，2011〕

Key words　Werner症候群，早老症，糖尿病

症　　例

患者：51歳，女性．主訴：血糖のコントロール．既往歴：特記すべきものなし．家族歴：糖尿病なし．血族結婚なし．現病歴：高校生の頃から頭髪が白髪になるとともに，同時期から足底の鶏眼や胼胝が出現しだした．30歳代には白内障で手術を受けた．月経は12歳から40歳頃までであり，女児を1人出産している．40歳頃から肘頭部に難治性の皮膚潰瘍が出現し，皮膚移植術を受けた．また40歳頃から尿糖を指摘され，現在，経口血糖降下薬の処方を受けている．現症：身長155 cm，体重29.5 kg，BMI 12.3．顔貌はやや鼻梁が突出した鳥様顔貌で全身の皮下脂



図．腹部CT（臍高）による内臓脂肪と皮下脂肪の面積

〔第191回近畿地方会（2010/10/05）推薦〕〔受稿2010/12/03，採用2010/12/17〕

1) 千船病院・内科，2) 千葉大学大学院医学研究院・細胞治療内科学

Case Report；A case of Werner syndrome with compound heterozygous mutations of *WRN* gene.

Yoshikazu Tamori[1)], Tetsuya Takahashi[1)], Shinsuke Nakajima[1)], Yuki Nishimoto[1)], Kyota Ohno[1)], Minoru Takemoto[2)], Koutaro Yokote[2)], Tetsuya Kita[1)] and Masaharu Tsutsumi[1)]：[1)]Department of Internal Medicine, Chibune Hospital, Japan and [2)]Department of Clinical Cell Biology and Medicine, Chiba University Graduate School of Medicine, Japan.

表. 抗糖尿病薬による治療経過での各種代謝指標の変化

	グリメピリド 1 mg/day	ピオグリタゾン 30 mg/day ×16週間
空腹時血糖（mg/dL）	102	98
HbA1c（JDS値）（%）	7.1	6.8
（HbA1c（国際標準値）（%）	7.5	7.2）
空腹時IRI（μU/mL）	12.7	4.5
空腹時CPR（ng/mL）	3.74	1.48
HOMA-R	3.2	1.1
高感度CRP（ng/mL）	1,280	486
IL-6（pg/mL）	5.1	1.7
Adiponectin（μg/mL）	2	6.4
レプチン（ng/mL）	3.8	3.3

肪は極めて少なく四肢が非常に細い．両足底は皮膚の硬化があり，胼胝や鶏眼が多発し，右踵底部には潰瘍とピンホール瘻孔を認める．神経学的所見に異常を認めず．検査所見：尿所見，末梢血液所見，一般生化学所見に異常なし．糖尿病はグリメピリド1 mg/dayを投与され，空腹時血糖値102 mg/dl，HbA1c 7.1%（JDS値）であった．血中CA19-9 88.3 U/ml，CEA 16.9 ng/mlと腫瘍マーカーの上昇を認めた．腹部CT検査では皮下脂肪量に比して，腹腔内脂肪量の相対的な増加が認められた（V/S比1.83）（図）．足部X線撮影では，アキレス腱の石灰化を認めた．

臨床経過

特徴的な徴候と検査成績から臨床的にWerner症候群と診断した．遺伝子検査を行ったところ，*WRN*遺伝子にMutation6（エクソン9内で1336番目の塩基がCからTへ変異することによる切断型変異蛋白の形成）とMutation4（エクソン26の直前の塩基がGからCへ変異することによる切断型変異蛋白の形成）の複合型ヘテロ接合体変異を見いだし，各種の病態がこの遺伝子異常に由来することを確認した．腫瘍マーカーが増加していたことから，悪性腫瘍の発症を疑い，全身の検索を行ったが，現在のところ，明らかな悪性腫瘍の合併は認めていない．Werner症候群は全身の脂肪が減少し，やせ型を呈するが，インスリン抵抗性が認められる．本症例でもHOMA-Rは3.2とインスリン抵抗性があり，SU薬（グリメピリド1 mg/day）よりもインスリン抵抗性改善薬（ピオグリタゾン30 mg/day）のほうが病態に適合すると考え，変更を行ったところ，血中アディポネクチン濃度が増加するとともにインスリン抵抗性が軽減し，血糖コントロールも改善傾向にある（表）．

考　察

Werner症候群は第8染色体短腕に位置するRecQ型DNAヘリカーゼ遺伝子異常のため，DNAの複製，修復，組み換え，テロメアの維持などに障害を来す結果，遺伝子の不安定化が起こり，成人期になって様々な早老化が出現する常染色体劣性遺伝疾患である[1]．患者はやせ型で皮下脂肪組織が少なく，鳥様顔貌，白髪，白内障，皮膚硬化，足底の鶏眼や胼胝，難治性皮膚潰瘍，糖尿病を高頻度に合併し，悪性腫瘍や心血管疾患によって50歳代で死亡することが多い．日本人ではMutation4あるいはMutation6のホモ接合

体変異による発症が多く，本症例に認められるMutation4/6の複合型ヘテロ接合体変異による発症は約5%程度である[2]．Werner症候群では全身の炎症病態の亢進が認められる．また皮下脂肪組織は萎縮傾向にあるものの，内臓脂肪量は保たれ相対的な内臓脂肪の増加を来すことが多い[3]．こういった特徴的な病態がWerner症候群に認められるインスリン抵抗性と密接に関連するものと考えられる．それ故，Werner症候群に併発する糖尿病の治療薬としては，インスリン抵抗性改善薬であるビグアナイド薬やチアゾリジン薬が効果的であると報告されている[4~8]．全身の慢性炎症がインスリン抵抗性や動脈硬化の発症進展に関連していることや，Werner症候群の死亡原因として心血管疾患が多いことを考慮すると，抗炎症効果も期待できるチアゾリジン薬は[9]，Werner症候群に伴う糖尿病治療に適していると考えられる．本症例においても，チアゾリジン薬を投与することによって血糖値の改善とともに血中高感度CRPやIL-6の低下といった炎症病態の改善が確認された（表）．

著者のCOI (conflicts of interest) 開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

文　献

1) Yu CE, et al: Positional cloning of the Werner's syndrome gene. Science 272: 258–262, 1996.
2) 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: 123–130, 1997.
3) Mori S, et al: Metabolic improvement and abdominal fat redistribution in Werner syndrome by pioglitazone. Int J Obes Relat Metab Disord 25: 292–295, 2001.
4) 三崎麻子，他：Metforminで血糖，インスリン抵抗性が改善したWerner症候群の1例．糖尿病　51: 635–638, 2008.
5) Yasuda H, et al: Biguanide, but not thiazolidinedione, improved insulin resistance in Werner syndrome. J Am Geriatr Soc 58: 181–182, 2010.
6) 松本一成，他：CS-045（Troglitazone）が著効したWerner症候群に伴う糖尿病の一例．糖尿病　38: 805–810, 1995.
7) 中谷嘉寿，他：Pioglitazoneによりインスリン抵抗性および血糖コントロールが改善したWerner症候群の一例．糖尿病　42: 467–470, 1999.
8) Yokote K, et al: Metabolic improvement and abdominal fat redistribution in Werner syndrome by pioglitazone. J Am Geriatr Soc 52: 1582–1583, 2004.
9) Tontonoz P, Spiegelman BM: Fat and beyond: the diverse biology of PPARgamma. Annu Rev Biochem 77: 289–312, 2008.

今日の診断指針　第6版

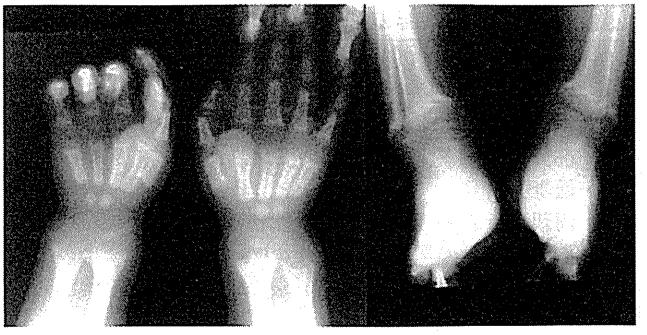


図2 くる病のX線所見

体重減少，尿意頻繁，嘔吐，不機嫌，さらに腎臓や動脈にカルシウムが沈着して異常石灰化を起こして死亡することもある。

11ビタミンE欠乏症：歩行障害，腱反射，振動感覚消失，眼球運動麻痺，網膜症を発現する。フリーラジカル捕捉障害と考えられる溶血性貧血，乳児皮膚硬化症および血小板凝集能の異常などもある。

12ビタミンK欠乏症：肝疾患やクマリン誘導体療法，胆道閉塞，腸管疾患による吸収不全により起こり，出血傾向を示す。

検査とその所見の読みかた(表1)

1ビタミンB_1欠乏症では，血中ビタミンB_1濃度の低下，赤血球トランスケトラーゼ活性の低下，血中ピルビン酸および乳酸値の増加がみられる。

2ビタミンB_{12}欠乏症では，血中ビタミンB_{12}濃度低下，LDH増加，尿中メチルマロン酸排泄量増加，巨赤芽球の出現，白血球および血小板の形成障害がみられる。

3血中25-水酸化ビタミンD(25-OHD)濃度は15～40 ng/mLで，ビタミンDの栄養状態を示す。ビタミンD欠乏では血中カルシウムやリン濃度は低下し，副甲状腺ホルモン(PTH)やアルカリホスファターゼ活性は上昇する。

4ビタミンK欠乏では，異常プロトロンビンであるPIVKA-Ⅱ(proteins induced by vitamin K absence or antagonist)が血液中に増加する。

治療法ワンポイント・メモ(表1)

1イソニアジド，ペニシラミン，サイクロセリンはビタミンB_6拮抗剤が含まれているので，使用時はビタミンB_6を1日に30～100 mg投与によって予防する。

2ビタミン剤の補給により症状だけでなく，予備能まで回復させる。

3発症の原因を解決しておく。

4生活習慣を改めるなどである。

さらに知っておくと役立つこと

1成長・妊娠・授乳・発熱などによる必要量の増大

2飢餓，アルコール常用者や菜食主義など食品摂取の偏りや摂取量の不足

3新生児の腸管，抗菌薬投与や下痢による腸内細菌叢の変化

4肝臓や腎臓障害によるビタミンの活性化障害

5胃腸障害，胆嚢・肝臓・膵臓障害，胃腸切除などによる吸収障害などである。

Werner症候群**

Werner Syndrome

横手 幸太郎　千葉大学大学院教授・細胞治療内科学

診断のポイント

1若年性両側性白内障。30歳代までに指摘されることが多い。

2四肢末梢，特に足部の角化性皮膚変化。胼胝・鶏眼が好発。難治性潰瘍を生じやすい。

3毛髪変化。白毛や脱毛を認める。

4高調性の嗄声。

5軟部組織(特にアキレス腱)の石灰化。

症候の診かた

20歳前後より上述の諸症状がみられるようになる。このほか，低身長，鳥様顔貌(鼻や口先が尖って見え，鳥の嘴を連想させる)，体幹に比べ四肢が著しく細い，などの特徴がある。全身像を図1に示す。

検査とその所見の読みかた

1臨床所見から本症を疑った場合，アキレス腱のX線撮影で踵骨付着部近傍に石灰化を認めれば，ほぼ本症と診断できる(図2)。

2高インスリン血症を伴う糖尿病や脂質異常症を50%以上の症例で認める。

3四肢末梢の骨密度低下を示しやすい。

確定診断のポイント

原因となるWRN DNAヘリケースの変異を確認

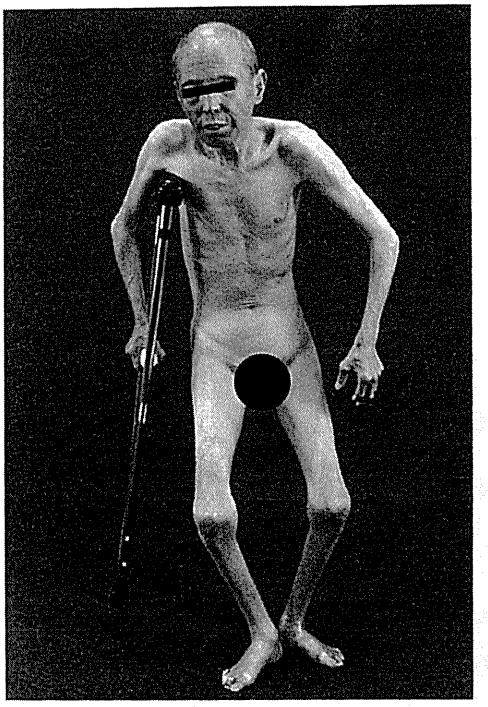


図1 全身像
(51歳男性)

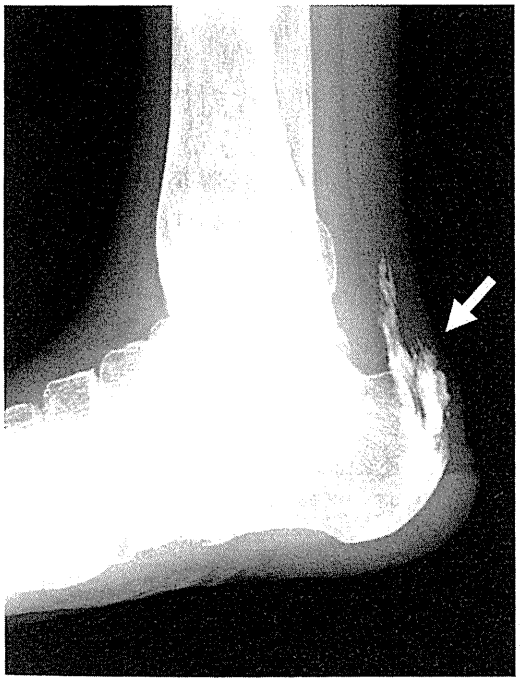


図2 アキレス腱石灰化像(右踵部側面X線撮影，50歳女性)
石灰化部位を矢印で示す。

する。末梢血を用いた遺伝子・蛋白の検査を，千葉大学およびジーンケア研究所(神奈川)において実施可能である。

表1 Werner症候群の診断基準

Ⅰ 主要徴候(10歳以上での発症)
1. 白内障(両側性)
2. 特徴的な皮膚変化(硬化，萎縮，色素沈着，潰瘍，角化，部分的な皮下組織の萎縮)と顔貌(鳥様顔貌)
3. 低身長
4. 両親の近親婚または兄弟の罹患
5. 白髪や脱毛の早期出現
6. 24時間尿中ヒアルロン酸試験陽性(実施可能な場合)

Ⅱ そのほかの徴候
1. 糖尿病
2. 性腺機能低下(二次性徴未発達，不妊，精巣や卵巣の萎縮)
3. 骨粗鬆症
4. 手指・足趾末節骨の硬化(X線診断)
5. 軟部組織の石灰化
6. 早発性動脈硬化(例：心筋梗塞の既往)
7. 間葉系新生物，希少なまたは多発性の新生物
8. 音声変化(高調のきいきいした嗄声)
9. 24時間尿中ヒアルロン酸試験陽性(実施可能な場合)
10. 扁平足

Ⅲ 判定
確実例：Ⅰのすべてと Ⅱの2つ以上
疑い例：Ⅰの1，2，3とそれ以外の徴候2つ以上
可能性あり：白内障または皮膚変化のいずれかとそれ以外の徴候2つ以上
否定的：思春期以前の症状出現(ただし，身長を除く)

〔Werner症候群国際登録組織(International Registry of Werner syndrome)，http://www.wernersyndrome.org/registry/diagnostic.html より引用・和訳・一部改変〕

鑑別すべき疾患と鑑別のポイント

全身硬化症(強皮症)(⇨1550頁)。毛髪変化や白内障の存在などから鑑別が可能。国際的に提唱されている診断基準の一つを表1に示す。

予後判定の基準

悪性腫瘍と冠動脈疾患の合併が生命予後に影響する。一方，潰瘍を代表とする足部の皮膚病変は疼痛のほか感染を伴いやすく，車いす生活への移行や下肢切断など，患者の生活予後/QOLを左右する。

合併症・続発症の診断

1 悪性黒色腫，骨肉腫，骨髄異形成症候群，髄膜腫などの間葉系腫瘍，そして甲状腺癌の合併が多く，膀胱癌や肺癌もみられる。早期発見により根治も可能である。

2 内臓脂肪蓄積，耐糖能障害，脂質異常症など，メ

タボリックシンドロームに似た病態を呈し，その結果として動脈硬化性疾患を生じやすい。

治療法ワンポント・メモ

1 合併する糖尿病には，通常，チアゾリジン誘導体が著効を示す。

2 冠動脈疾患のハイリスク群と考え，脂質，血糖，血圧の適切な管理を行う。高 LDL コレステロール血症にはスタチンが有効である。

手術適応のポイント

1 足部や肘部の難治性皮膚潰瘍に対して，しばしば皮膚移植が奏効する。

2 四肢末梢と異なり，体幹部の皮膚は柔軟性や再生能が保たれているため，通常，胸腹部の手術実施には支障がない。

さらに知っておくと役立つこと

1 平均寿命は，従来 40 歳代といわれてきたが，近年 50 歳代半ばへと延長し，60 歳を超える患者も存在する。生命予後を左右する悪性腫瘍の早期発見と治療，冠動脈疾患を予防するためのリスク管理，足部潰瘍の適切な処置が予後改善に重要である。

2 40 歳頃より性腺機能低下を認めるが，通常，20〜30 歳代には生殖可能である。

3 "早老症"と呼ばれるものの，全身があまねく老化徴候を示すわけではなく，例えば認知症の合併は多くない。

4 日本における有病率は 5〜10 万人に 1 人。常染色体劣性遺伝形式をとる。

〔執筆協力：本城 聡　千葉大学大学院・細胞治療学〕

Ⅴ.参考資料

参考資料　目次

資料１．共同通信社取材 新聞掲載記事

共同通信社取材 新聞記事

2011年1月16日 福島民報
2011年1月16日 徳島新聞
2011年1月18日 宮崎日日新聞
2011年1月21日 高知新聞
2011年1月22日 下野新聞
2011年1月23日 千葉日報
2011年1月25日 京都新聞
2011年1月27日 山陰中央新報
2011年1月29日 岐阜新聞
2011年2月 8日 佐賀新聞
2011年2月 9日 岩手日報
2011年2月15日 山陽新聞
2012年3月12日 東奥日報
2012年3月13日 琉球新聞
2012年3月15日 日本海新聞
2012年3月25日 千葉日報
2012年3月30日 高知新聞
2012年3月31日 岐阜新聞
2012年4月27日 神戸新聞

2011年1月16日　福島民報

日本人に多い早老症

厚労省の全国調査　早期治療が効果

ウェルナー症候群の診断基準（改訂案）概要
●主要兆候（10歳以後、40歳までに出現）
1 早老性顔貌（白髪、はげ頭など）
2 白内障（両側）
3 皮膚の萎縮、硬化、または難治性潰瘍
4 アキレスけんの石灰化
（その他の兆候、遺伝子変異などもある）

若くして老化が急速に進んでしまう早老症（ウェルナー症候群）は、患者数は少ないが、世界の中でも日本人の患者が多数を占めており、厚生労働省研究班による二〇〇九年からの全国調査で、新たに三百三十九人の患者の存在が判明した。また早期に発見し、適切な治療を行えば、かなりの効果が得られることも分かってきた。

ウェルナー症候群は、自分では気付きにくいが、成人になるころから白髪や白内障が多くなり、動脈硬化が急速に進んで、さまざまな疾患にかかりやすくなる。これまで平均寿命は四十代半ばとされてきた。早老症そのものの治療法はまだない。

原因は常染色体劣性遺伝で、DNA修復に関係するヘリカーゼと呼ばれる遺伝子の変異であることが分かっている。両親の片方の遺伝子が正常であれば病気にはならないので、遺伝子の変異が似ている血族同士の結婚に多いとされている。しかし、約半数は血族結婚とは無関係であることが分かってきた。

「十年前のデータでは、患者は世界で計約千三百人、うち六割強の約八百人が日本人だった。中国では一人もおらず、なぜ日本にこんなに多いのかは分からない」と研究班代表の横手幸太郎千葉大大学院教授（細胞治療内科学）は話す。

遺伝子診断はできるが、そこに行き着くまでの診断が難しい。研究班は、患者の実態をつかむため、〇九年から二百床以上の病院六千八百七十九診療科を対象に全国調査をしたところ、約半数から回答があり、計三百八十五人の新規患者が見つかった（うち確定三百三十九人、疑い四十六人）。地域別では長崎、徳島、長野県などで患者が多かった。

調査から、患者は足の難治性皮膚潰瘍やアキレスけんの石灰化が進み、皮膚科や形成外科を受診しているケースが多いことも分かった。

「今回、患者の八割でアキレスけんの石灰化が進むという新たな特徴が判明したので、診断基準に加えたい。まだ見つかっていない患者がかなりいそうだ」（同教授）

患者は、外見的な急速な老化に加え、内臓脂肪がたまり、メタボリック症候群のような状態になる。このため、糖尿病や心筋梗塞、さらに肉腫などの悪性腫瘍も起きやすいが、早めに早老症に気付いて手当てしていけば、治療がかなり有効なことが分かってきている。

〇七年で患者の平均寿命は、ほぼ五十四歳以上となり、今は最年長の患者で六十三歳の人もいるという。

「糖尿病には、インスリン抵抗性を改善する治療薬がよく効くことが多い。皮膚潰瘍には皮膚移植、悪性腫瘍にも積極的に治療していくなど、包括的な管理をしていけば寿命はさらに延ばしていけそう」（同教授）

研究班は今年度内に新たな診断基準を作り、一一年度中には世界に先駆けて診療指針を発表したいとしている。

横手教授は「早老症のことをもっと知ってもらい、早めに治療を始めたい。患者・家族会もできて、患者同士の交流も始まった。この研究が進めば、老年病や生活習慣病の新たな治療法の確立にも役立つと思う」と話している。

2011年1月16日　徳島新聞

多数が邦人　診断難しく

急速に老化進む「ウェルナー症候群」

若くして老化が急速に進んでしまう早老症（ウェルナー症候群）は、患者数は少ないが、世界の中でも日本人の患者が多数を占めており、厚生労働省研究班による2009年からの全国調査で、新たに339人の患者の存在が判明した。また早期に発見し、適切な治療を行えば、かなりの効果が得られることも分かってきた。

ウェルナー症候群の診断基準（改訂案）概要
●主要兆候（10歳以後、40歳までに出現）
1 早老性顔貌（白髪、はげ頭など）
2 白内障（両側）
3 皮膚の萎縮、硬化、または難治性潰瘍
4 アキレスけんの石灰化
（その他の兆候、遺伝子変異などもある）

ウェルナー症候群は、自分では気付きにくいが、成人になるころから白髪や白内障が多くなり、動脈硬化が急速に進んで、さまざまな疾患にかかりやすくなる。これまで平均寿命は40代半ばとされてきた。早老症そのものの治療法はまだない。

原因は常染色体劣性遺伝で、DNA修復に関係するヘリカーゼと呼ばれる遺伝子の変異であることが分かっている。両親の片方の遺伝子が正常であれば病気にはならないので、遺伝子の変異が似ている血族同士の結婚に多いとされている。しかし、約半数は血族結婚とは無関係であることが分かってきた。

短い平均寿命　早期発見・治療が有効

「10年前のデータでは、患者は世界で計約1300人、うち6割強の約800人が日本人だった。中国では1人もおらず、なぜ日本にこんなに多いのかは分からない」と研究班代表の横手幸太郎千葉大大学院教授（細胞治療内科学）は話す。

遺伝子診断はできるが、そこに行き着くまでの診断が難しい。研究班は、患者の実態をつかむため、09年から200床以上の病院6879診療科を対象に全国調査をしたところ、約半数から回答があり、計385人の新規患者が見つかった（うち確定339人、疑い46人）。地域別では徳島、長崎、長野県などで患者が多かった。

調査から、患者は足の難治性皮膚潰瘍やアキレスけんの石灰化が進み、皮膚科や形成外科を受診しているケースが多いことも分かった。

「今回、患者の8割でアキレスけんの石灰化が進むという新たな特徴が判明したので、診断基準に加えたい。まだ見つかっていない患者がかなりいそうだ」（同教授）

患者は、外見的な急速な老化に加え、内臓脂肪がたまり、メタボリック症候群のような状態になる。このため、糖尿病や心筋梗塞、悪性腫瘍も起きやすいが、早めに早老症に気付いて手当てすれば、治療がかなり有効なことが分かってきた。

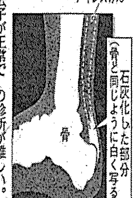
07年で患者の平均寿命は、ほぼ54歳以上となり、今は最年長の患者で63歳の人もいるという。

「皮膚潰瘍には皮膚移植、悪性腫瘍にも積極的に治療していくなど、包括的な管理をしていけば寿命はさらに延ばしていけそう」（同教授）

研究班は今年度内に新たな診断基準を作り、11年度中には世界に先駆けて診療指針を発表したいとしている。

横手教授は「早老症のことをもっと知ってもらい、早めに治療を始めたい。この研究が進めば、老年病や生活習慣病の新たな治療法の確立にも役立つと思う」と話している。

ウェルナー症候群の患者に特徴的なアキレスけんの石灰化



かかとのエックス線写真

2011年1月18日　宮崎日日新聞

若くして急速に老化、病気を併発

早老症知っていますか？

早期発見で治療有効

日本人患者　世界の6割

…09年からの全国調査で、新たに339人の患者の存在が判明した。また早期に発見し、適切な治療を行えば、かなりの効果が得られることも分かってきた。

ウェルナー症候群の診断基準（改訂案）概要
●主要兆候（10歳以後、40歳までに出現）
1 早老性顔貌（白髪、はげ頭など）
2 白内障（両側）
3 皮膚の萎縮、硬化、または難治性潰瘍
4 アキレスけんの石灰化
（その他の兆候、遺伝子変異などもある）

ウェルナー症候群は、自分では気付きにくいが、成人になるころから白髪や白内障が多くなり、動脈硬化が急速に進んで、さまざまな疾患にかかりやすくなる。これまで平均寿命は40代半ばとされてきた。早老症そのものの治療法はまだない。

原因は常染色体劣性遺伝で、DNA修復に関係するヘリカーゼと呼ばれる遺伝子の変異であることが分かっている。両親の片方の遺伝子が正常であれば病気にはならないので、遺伝子の変異が似ている血族同士の結婚に多いとされている。しかし、約半数は血族結婚とは無関係であることが分かってきた。

「10年前のデータでは、患者は世界で計約1300人、うち6割強の約800人が日本人だった。中国では1人もおらず、なぜ日本にこんなに多いのかは分からない」と研究班代表の横手幸太郎千葉大大学院教授（細胞治療内科学）は話す。

遺伝子診断はできるが、そこに行き着くまでの診断が難しい。研究班は、患者の実態をつかむため、09年から200床以上の病院6879診療[illegible]り、計385人の新規患者が見つかった（うち確定339人、疑い46人）。地域別では長崎、徳島、長野県などで患者が多かった。

調査から、患者は足の難治性皮膚潰瘍やアキレスけんの石灰化が進み、皮膚科や形成外科を受診しているケースが多いことも分かった。

「今回、患者の8割でアキレスけんの石灰化が進むという新たな特徴が判明したので、診断基準に加えたい。まだ見つかっていない患者がかなりいそうだ」（同教授）

患者は、外見的な急速な老化に加え、内臓脂肪がたまり、メタボリック症候群のような状態になる。このため、糖尿病や心筋梗塞、さらに肉腫などの悪性腫瘍も起きやすいが、早めに早老症に気付いて手当てしていけば、治療がかなり有効なことが分かってきている。

07年で患者の平均寿命は、ほぼ54歳以上となり、今は最年長の患者で63歳の人も。「糖尿病には、インスリン抵抗性を改善する[illegible]ていくなど、包括的な管理をしていけば寿命はさらに延ばしていけそう」（同教授）

研究班は今年度内に新たな診断基準を作り、11年度中には世界に先駆けて診療指針を[illegible]

[illegible]をもっと知ってもらい、早めに治療を始めたい。患者・家族会もできて、患者同士の交流も始まった。この研究が進めば、老年病や生活習慣病の新たな治療法の確立にも役立つと思う」と話している。

ウェルナー症候群の患者に特徴的なアキレスけんの石灰化

かかとのエックス線写真

妊娠中に喫煙経験の女性　23％「吸わない」とうそ

米機関発表

妊娠中にたばこを吸っている女性のほぼ4人に1人が、健康調査で「吸っていない」と虚偽の回答をしていたと、米疾病対策センター（CDC）の研究チームが米専門誌に発表した。

妊娠中の喫煙は子どもの健康に悪影響を及ぼすため、妊婦の喫煙率把握は公衆衛生上の重要な課題となっている。研究チームは約千人の妊婦を対象に、たばこに含まれるニコチンが体内で変化したコチニンの血中濃度を測定、喫煙の有無を尋ねた質問票と対照した。

その結果、妊婦のうち13％が喫煙していると推定され、そのうち23％は「吸ってない」とうそをついていた。妊娠していない喫煙女性約千人のうちで「吸ってない」と答えたのは9％だった。

茶の間　小さな幸せ

児玉美佐子

朝起きて畑を見た。霜にぬれた野菜の緑が美しい。育てているのは大根、カブ、チンゲンサイ。去年は白菜もあったけど、害虫で、移植していく作業をさせたくなくて、「白菜が欲しい時は、買ってくるから」と、今年は、白菜作りを諦めてもらった。

今日は、カブを3個と大根を1本畑から抜いてきて、早速、カブの甘酢あえと大根おろしを作った。すぐにそれが[illegible]

2011年1月21日　高知新聞

早老症　日本が突出

遺伝子変異で急速に老化　早期治療で延命も

若くして老化が急速に進んでしまう早老症（ウェルナー症候群）は、患者数は少ないが、世界の中でも日本人の患者が多数を占めており、厚生労働省研究班による2009年からの全国調査で、新たに339人の患者の存在が判明した。また早期に発見し、適切な治療を行えば、かなりの効果が得られることも分かってきた。

ウェルナー症候群の診断基準（改訂案）概要
●主要兆候（10歳以後、40歳までに出現）
1 早老性顔貌（白髪、はげ頭など）
2 白内障（両側）
3 皮膚の萎縮、硬化、または難治性潰瘍
4 アキレスけんの石灰化
（その他の兆候、遺伝子変異などもある）

白髪や白内障増

ウェルナー症候群は、自分では気付きにくいが、成人になるころから白髪や白内障が多くなり、動脈硬化が急速に進んで、さまざまな疾患にかかりやすくなる。これまで平均寿命は40代半ばとされてきた。早老症そのものの治療法はまだない。

原因は常染色体劣性遺伝で、DNA修復に関係するヘリカーゼと呼ばれる遺伝子の変異であることが分かっている。両親の片方の遺伝子が正常であれば病気にはならないので、遺伝子の変異が似ている血族同士の結婚に多いとされている。しかし、約半数は血族結婚とは無関係であることが分かってきた。

「10年前のデータでは、患者は世界で計約1300人、うち6割強の約800人が日本人だった。中国では1人もおらず、なぜ日本にこんなに多いのかは分からない」と研究班代表の横手幸太郎千葉大大学院教授（細胞治療内科学）は話す。

遺伝子診断はできるが、そこに行き着くまでの診断が難しい。研究班は、患者の実態をつかむため、09年から200床以上の病院6879診療科を対象に全国調査をしたところ、約半数から回答があり、計385人の新規患者が見つかった（うち確定339人、疑い46人）。地域別では長崎、徳島、長野県などで患者が多かった。

調査から、患者は足の難治性皮膚潰瘍やアキレスけんの石灰化が進み、皮膚科や形成外科を受診しているケースが多いことも分かった。

「今回、患者の8割でアキレスけんの石灰化が進むという新たな特徴が判明したので、診断基準に加えたい。まだ見つかっていない患者がかなりいそうだ」（同教授）

平均寿命54歳以上

患者は、外見的な急速な老化に加え、内臓脂肪がたまり、メタボリック症候群のような状態になる。このため、糖尿病や心筋梗塞、さらに肉腫などの悪性腫瘍も起きやすいが、早めに早老症に気付いて手当てしていけば、治療がかなり有効なことが分かってきている。

07年で患者の平均寿命は、ほぼ54歳以上となり、今は最年長の患者で63歳の人もいるという。

「糖尿病には、インスリン抵抗性を改善する治療薬がよく効くことが多い。皮膚潰瘍には皮膚移植、悪性腫瘍にも積極的に治療していくなど、包括的な管理をしていけば寿命はさらに延ばしていけそう」（同教授）

研究班は10年度内に新たな診断基準を作り、11年度中には世界に先駆けて診療指針を発表したいとしている。

横手教授は「早老症のことをもっと知ってもらい、早めに治療を始めたい。患者・家族会もできて、患者同士の交流も始まった。この研究が進めば、老年病や生活習慣病の新たな治療法の確立にも役立つと思う」と話している。

ウェルナー症候群の患者に特徴的なアキレスけんの石灰化

かかとのエックス線写真