

201324154A

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等克服研究事業(難治性疾患克服研究事業)

早老症の病態解明、診断・治療法の確立と  
普及を目的とした全国研究

平成25年度 総括・分担研究報告書

平成26年3月

研究代表者 横手 幸太郎  
千葉大学大学院医学研究院 細胞治療内科学講座

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等克服研究事業(難治性疾患克服研究事業)

早老症の病態解明、診断・治療法の確立と  
普及を目的とした全国研究

平成25年度 総括・分担研究報告書

平成26年3月

研究代表者 横手 幸太郎  
千葉大学大学院医学研究院 細胞治療内科学講座

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等克服研究事業(難治性疾患克服研究事業)

早老症の病態解明、診断・治療法の確立と  
普及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 細胞治療内科学講座

分担研究者

竹本 稔 千葉大学大学院医学研究院 細胞治療内科学講座  
清水孝彦 千葉大学大学院医学研究院 先進加齢医学寄附講座

## 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.	糖尿病を合併したコケイン症候群の治療経験	竹本 稔	… 15
2.	Werner症候群患者皮膚繊維芽細胞由来iPS細胞の樹立と治療薬の探索	清水 孝彦	… 22
III.	研究成果の刊行に関する一覧表		… 31
IV.	研究成果の刊行物・別刷		… 35
V.	参考資料		… 39

# I. 総括研究報告書

「早老症の病態解明、診断・治療法の確立と普及を目的とした全国研究」

研究代表者：横手 幸太郎

千葉大学大学院医学研究院 細胞治療内科学講座 教授

#### 研究要旨

早老症は全身に老化徴候が早発する疾患の総称である。ハッチンソンギルフォード症候群（以下、HG P S と略）、ウエルナー症候群（WS と略）、コケイン症候群（C S と略）など、早老の程度に差のある約 10 疾患を含むが、それぞれ希少であり、治療法はもとより我が国における患者実態も不明である。うちWSは思春期以降に発症し、がんや動脈硬化のため 40 歳半ばで死亡する常染色体劣性疾患で、国内推定患者数は約 2,000 名、世界の報告の 6 割が日本人と我が国に多い。原因遺伝子は 1994 年に同定されたが、早老機序は未解明、根治療法も未確立であり、多くの患者が難治性皮膚潰瘍に伴う下肢切断、悪性腫瘍や糖尿病のため、生命の危機や重篤な後遺症に苦悩している。このような背景の下、平成 21～23 年度の厚生労働科学研究により、我々は 385 症例のWS患者を新規に同定、その解析成果を基に治療ガイドラインを完成した。

他の早老症についても、WSの経験をもとに、日本における実態解明と診断・治療法確立を全国規模で進めることが肝要であり、平成 25 年度までの本研究により小児期発症のHG P Sに関して、我が国における実態を解明した。さらに革新的治療への糸口としてWS患者由来 iPS 細胞を樹立した。

#### 研究分担者

竹本 稔 千葉大学大学院医学研究院

細胞治療内科学講座 准教授

清水 孝彦 千葉大学大学院医学研究院

先進加齢医学寄附講座 准教授

#### A. 研究目的

早老症は全身に老化徴候が早発する疾患の総称である。ハッチンソンギルフォード症候群（以下、HG P S と略）、ウエルナー症候群（以下、WS と略）、アクロジェリア、ロスムンドトムソン症候群、ブルーム症候群、コケイン症候群、色素性乾皮症など、早老の程度に差のある約 10 疾患を包むが、各々が希少であり、治療法はもとより患者の実態も不明である。うちWSは思春期以降に発症し、がんや動脈硬化のため 40 歳半ばで死亡する常染

色体劣性疾患で、国内推定患者数は約 2,000 名、世界の報告の 6 割が日本人と我が国に多い。原因遺伝子は 1994 年に同定されたが、早老機序は未解明、根治療法も未確立であり、多くの患者が難治性皮膚潰瘍に伴う下肢切断、悪性腫瘍や糖尿病のため、生命の危機または死を免れても重篤な後遺症に直面する。平成 21～23 年度の厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業により、我々は日本全国で 385 症例のWS患者を新規に同定、その解析成果をもとに新たな診断基準を作成し、世界初の治療ガイドラインを完成した。これを普及・検証・発展させ、真に患者の予後改善に役立てる必要がある。さらに未だ研究が進んでいない他の早老症についても、WS の経験をもとに、日本における実態解明と診断・治療法確

立を全国規模で進めることが肝要である。

そこで、平成 24、25 年度は、WS の診療ガイドラインの普及、新たな患者の同定と疾患 iPS 細胞樹立に取り組むとともに、我が国における HGPS 患者の実情把握調査を計画した。小児期発症の稀少かつ重篤な老年症である HGPS はこれまで全世界でおよそ 150 症例が報告されているが、我が国における実情やその臨床的特徴は明らかでない。

## B. 研究方法

### 【HGPS 患者全国研究】

全国の 200 床以上の病院の小児科を対象にして一次アンケート調査を行い、HGPS 患者数の把握を行った。アンケート調査は各診療科に過去 10 年間に経験された症例のうち、遺伝子診断が行われた症例を「確定」例、臨床症状から診断された症例を「疑い」例として回答を依頼した。

一次アンケート調査で明らかとなった HGPS 患者に対して、二次アンケート調査(参考資料 ①)を行い臨床的特徴に関する調査を行った。

### 【老年症患者由来 iPS 細胞樹立】

WS の皮膚由来線維芽細胞 (WSCU01) に Oct-4, Sox2, Klf4, c-Myc の山中 4 因子をレトロウイルスベクターで導入し、無

限分裂能を有する細胞株を単離する。また多分化能を示す ES 細胞で高発現が認められる未分化マーカー遺伝子 (Oct-3/4, Sox2, hTert, Nanog) の発現量を調べる。さらに免疫不全マウス (SCID マウス) 精巣に候補細胞を接種し、2 ヶ月後に精巣を解剖、組織レベルで、奇形腫形成を確認することにより三胚葉系細胞への分化能を検討した。また、樹立した WSiPS 細胞を ES 培地で 3 日間浮遊培養し胚様体を形成させた後、HEF 培地とゼラチンコートシャーレ上で培養させ、可逆性を評価した。さらに継代培養を 4-5 回重ねて線維芽細胞に分化させ、元の WS 患者由来線維芽細胞と細胞形質を比較した。

## C. 研究結果

### 【HGPS 患者全国研究】

1173 施設にアンケート調査を郵送し、768 施設からの回答を得た (回答率 65%)。その結果、診断確定症例は男性 3 名、女性 2 名、不明 1 名、疑い症例は男性 3 名、女性 5 名、不明 1 名の計 15 名であった (表 1)。続いて、15 名の HGPS 患者の臨床症状に関するアンケート調査を行った (参考資料②)。その結果、5 名の HGPS 患者の臨床所見に関する結果を得ることができた (表 2)

表 1 全国 HGPS アンケート調査の結果

	確定			疑い		
	男性	女性	不明	男性	女性	不明
秋田	1					
福島			1			1
埼玉				1	2	
東京					1	
滋賀		1				
愛知					1	
鳥取					1	
福岡	1			2		
佐賀		1				
大分	1					
合計	3	2	1	3	5	1

表2 HGPS 二次アンケート調査結果

症例	1	2	3	4	5
性別	男性	男性	女性	女性	女性
年齢	10	4	3	17	13
死亡時年齢	10	4	不明	17	存命中
身長	95	70	76.3	105.6	107.5
体重	10.9	7.2	7.68	12.8	12.3
BMI	12.1	14.7	13.2	11.5	10.6
最終診察時の年齢	10	4	3	17	13
出生時体重	2580g	不明	2550g	不明	2838g
早老顔貌					
白髪または脱毛	有	有	有	有	有
前額突出	有	無	不明	有	有
小顎症	有	有	有	有	有
皮膚の変化					
萎縮	有	有	有	有	有
潰瘍	無	無	無	無	無
硬化	有	有	有	有	有
足の変化					
鶏眼や胼胝	有	無	無	無	不明
扁平足	有	有	不明	不明	不明
足の変形	有	有	無	有	有
白内障	無	有	無	不明	無
骨異常	無	有	無	不明	無
関節の拘縮	有	有	有	有	有
血族結婚	無	無	無	無	無
月経の有無			無	無	無
糖代謝異常	無	無	無	無	無
脂質異常症	無	無	無	有	無
脂肪肝	無	不明	無	不明	無
高血圧	有	有	無	無	無
動脈硬化性疾患					
脳出血	有	無	無	無	無
脳梗塞	有	有	無	無	有
狭心症または心筋梗塞	有	無	無	無	有
閉塞性動脈症	有	無	無	無	無
骨粗鬆症	無	無	無	無	無
尿中ヒアルロン酸の増加	不明	無	無	不明	無
遺伝子変異 (LMNA 変異)	有	不明	有	不明	有
尿蛋白の有無	有	不明	有	不明	有
腫瘍性病変	無	無	無	無	無



### 【iPS 細胞樹立】

WS の皮膚由来線維芽細胞に Oct-4, Sox2, Klf4, c-Myc の山中 4 因子をレトロウイルスベクターで導入し、典型的な iPS 細胞の形態を示す株を樹立した (図 1)。

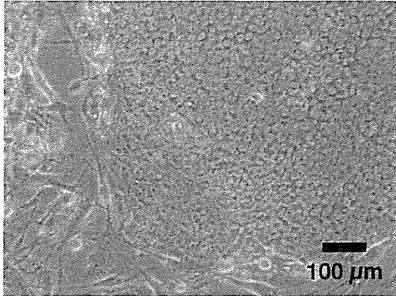


図 1 : WS iPS 細胞 (WSCU iPS02)

この細胞は、ES 細胞に特徴的な未分化マーカー (Oct-3/4, Sox2, hTert, Nanog) を発現し (図 2)、老化関連  $\beta$  ガラクトシダーゼ活性低下や無限分裂能の獲得を確認した。また免疫不全マウス (SCID マウス) の精巣への移植により三胚葉系細胞への分化 (奇形腫形成) を確認し得た。以上の結果から、リプログラミングにより WS 患者由来 iPS 細胞を得ることができたと判断した。

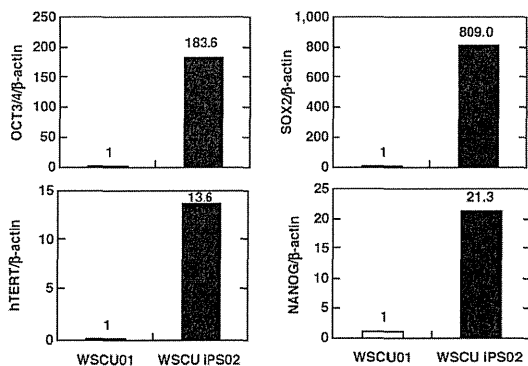


図 2 : WS iPS 細胞 (右 : WSCU iPS02) はもとの WS 由来線維芽細胞 (左 : WSCU01) に比較して、未分化マーカー (Oct-3/4, Sox2, hTert, Nanog) の発現が顕著に亢進していた。

さらに、WS iPS 細胞を胚様態形成と線維芽細胞分化培地で培養することで、逆に線維芽細胞に分化させた。(図 3)

その結果、線維芽細胞様の細胞分化に成

功した。また本細胞は、元の線維芽細胞と比較して増殖速度が速まっていたことから、iPS 化によって細胞老化表現型の軽減したことが明らかとなった (成績未提示)。

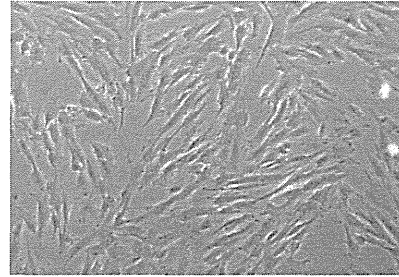


図 3 : 線維芽細胞に分化誘導した WS iPS 細胞。継代 5 回で典型的な線維芽細胞様の形態を示した。

### D. 考察

#### 【HGPS 患者全国研究】

HGPS (OMIM # 17667) は、1886年に Jonathan Hutchinson が「毛髪や乳腺の先天的欠如と、皮膚ならびにその付随器の萎縮を伴った 3 歳時症例」として世界で初めて報告し [1]、その後 Hasting Gilford によって 1904 年に命名された疾患である [2]。

その頻度は 400~800 万人に 1 名とされ [3]、これまでの症例報告の殆どが白人である。遺伝形式は常染色体優性遺伝であり、疾患の発症には突然変異 (*de novo* mutation) が関与していると考えられている。原因遺伝子は Eriksson らによってポジショナルクローニング法を用いて同定され [4]、核内中間フィラメントの一種である lamin A をコードする *LMNA* における変異であることが明らかにされている。多くの患者ではエクソン 11 内の点突然変異 (G608G, GGC>GGT) が生じ、スプライシング異常に伴い、N 末の 50 アミノ酸が欠損した変異 lamin A タンパク (progerin) が生じる [5]。

通常の lamin A は 664 アミノ酸からなる prelamin A として産生される。Prelamin A は C 末端に CAAX box を有し、この部位に翻訳後ファルネシル化が生じる。ファル

ネシル化の後に、C末のメチル化が生じアミノ酸の一部が切断されることによって最終的に646アミノ酸からなる成熟型のLamin Aが生じる。HGPSにおける遺伝子変異で産生される変異タンパクprogerinは、翻訳後のプロセッシング異常に伴いタンパクのファルネシル化が持続し、核膜や核内マトリックスに異常を生じることが明らかになっている。

HGPSの患児は正常に出生するものの、生後1～2年より水頭症様顔貌、禿頭、脱毛、怒張した頭皮静脈、両眼の突出、少顎、強皮症などの特徴的な臨床所見を呈する。成長遅延、低身長を呈するが、精神運動機能や知能は正常である。脳梗塞、冠動脈疾患、末梢動脈性疾患等の動脈硬化性疾患、心臓弁膜症、高血圧、耐糖能障害、性腺機能障害を合併し、心筋梗塞や心不全の発症に伴い平均寿命は13歳（7歳～27歳）と報告されている。診断はその特徴的な身体所見、皮膚生検による異常な核形態の検出や遺伝子検査（LMNA）によってなされる。

現時点で根本的な治療法はなく、少量のアスピリン投与やファルネシル化抑制を期待してfarnesyltransferase inhibitor [6], [7]やスタチン[8]、ビスホスホネート[9]の投与が期待されているが、その効果に関する検証はまだ十分ではない。このようにHGPSの病態に関しては少しずつ明らかになってきているが、我が国におけるHGPSの実態に関しては依然不明のままであった。

今回、我々が実施した全国一次アンケート調査により、少なくとも15名のHGPSの患者が同定され、うち5名については臨床所見を収集することができた。5名の内訳は男性2名、女性3名、3名が死亡、1名は不明、1名は現在も存命中であった。死亡例3名の平均寿命は9歳であったが、症例が少なく我が国のHGPS患者が海外の報告の平均年齢13歳に比し短命とは断定できない。HGPSの患児は正常に出生するこ

とが報告されているが、情報を得た3名の平均出生体重は2656gと我が国の平均出生体重 3020g（厚生労働省大臣官房統計情報部、平成21年度統計）に比し低出生体重であった。

身体的な特徴としては脱毛、前額突出、小顎、皮膚の萎縮、硬化、関節拘縮はほぼ全例に観察された。代謝疾患に関してはHGPSではインスリン抵抗性を示すが明確な糖尿病は発症しないと報告されており、我々の検討でも糖尿病症例はなく、脂質異常症は1例、高血圧は2例に観察された。動脈硬化性疾患に関しては脳出血 1例、脳梗塞 3例、狭心症/心筋梗塞 2例、閉塞性動脈硬化症 1例とこれまでの報告通りに動脈硬化性疾患の高有病率を示した。ただし症例4に関しては17歳で死亡しているが動脈硬化性疾患の記載はなく、その死因に関して現在調査を行っている。腫瘍性病変に関してもこれまでの報告通りに観察された例はなかった。

動脈硬化や腫瘍の発症・進展には細胞老化が深く関与することが知られている。HGPSと同様に遺伝性早老症の一つであるWSにおいても高率に動脈硬化性疾患を合併するが、WSにおいてはHGPSと異なり腫瘍性病変の合併が多く観察される。平成21～23年度の厚生労働科学研究 難治性疾患克服事業の一環として行った我々の検討では、185症例のWS患者のうち、1.1%に脳出血、2.7%に脳梗塞、10.3%に虚血性心疾患、17.3%に閉塞性動脈硬化症を合併していた。さらに、これらの動脈硬化性疾患はWSに高率に合併する高血圧、脂質異常症、糖尿病といった代謝異常の罹患率と有意に相関することを報告している[10], [11]。

WSでは20歳前後で白髪・禿頭、皮膚の硬化などの身体的な老化徴候が出現し、動脈硬化性疾患や腫瘍性病変が40歳以降に出現する。WSはWRN遺伝子変異により生じる。WRN遺伝子がコードするRecQ型 DNAヘリケース（WRNタンパク）は、二重鎖DN

Aを解きほぐす酵素であり、細胞分裂の際などにATPの存在下に3′→5′方向あるいは5′→3′方向に二重鎖DNAを巻き戻し一本鎖にする作用を有する。またWRNタンパクは、他のRecQ型DNAヘリケースにはない、3′→5′方向へのエクソヌクレアーゼ活性を有するという特徴がある[12]。このエクソヌクレアーゼ活性はDNAの修復に重要とされる。WRNタンパクは二重鎖DNAのみならず、ホリデージャンクションやdisplacement loops (D-loops)などの三重鎖、四重鎖DNA基質にも特異度が高い[13]。さらにDNA二重鎖切断修飾や塩基除去修復に関与するXRRC4/Ligase IV[14]、DNA polymerase  $\beta$  [15]、topoisomerase I [16]やDNAの相同組換えに関与するRAD54B[17]、RAD52、細胞の大きな二重鎖切断部の修飾に関与するMRN complex[18]やKu 70/80[19]とも相互作用があることが報告されている。これらの実験的観察は、WSタンパクがDNA複製中に生じるエラーの修復に重要であることが示唆する。その事実を裏付けるように、WS患者由来細胞においては細胞寿命の短縮と細胞周期におけるS期の延長が観察され、ゲノムの不安定性を象徴するように染色体レベル転位等の異常が観察される[20]、[21]。また、WRNタンパクは細胞のDNA障害時や複製時のストレスを感知する上で重要なコンポーネントであるATM kinaseやATR kinaseによってリン酸化を受けることも報告されており、DNA障害時のチェックポイントシグナルの一端を担っていることが示唆されている[22]。さらにWRNタンパクの重要な機能として染色体末端のテロメアの維持を通してゲノムの安定性に関与していることが挙げられる[23]。WS患者由来の繊維芽細胞を培養するとテロメアが加速度的に短縮することや、これまで作成された、いくつかのWRN遺伝子ノックアウトマウス単独では老化の表現型に乏しいものの、テロメア伸長酵素の欠損マウスとのダブルノックアウトマウスに

おいて老化徴候を示すこと[24]、WRNタンパクがTRF1、TRF2といったテロメアを保護するシェルトリンタンパクと結合することからも裏付けられる[25]。このようにWRNタンパクはヘリケース活性やエクソヌクレアーゼ活性を有し、DNA鎖の修復やテロメアの維持を担っており、WRNタンパクの機能不全がゲノムの不安定性を来とし、老化徴候が促進するものと推測されている。

HGPSの病因に関してもテロメアの機能異常が深く関与していることが報告されている[26]一方で、WSとHGPSでは老化の表現型や動脈硬化の表現型の発現時期に大きな差がある。代謝異常の観点では両疾患においてインスリン抵抗性を伴うことが報告されている点で類似しているものの、HGPSは糖尿病や脂質異常症を伴わずに動脈硬化性疾患を発症する。HGPS患者に観察される変異タンパクprogerinが血管の壁構成細胞全てに観察されることが報告されており、それぞれの遺伝子の血管壁構成細胞における発現様式や血管機能に対する遺伝子機能の差が、動脈硬化の発症様式の差につながっている可能性がある。特にWRNに関しては遺伝子変異そのものが動脈硬化の発症につながるというよりは、WRN遺伝子の変異に伴い、血管壁構成細胞の代謝性疾患に対する感受性が亢進することが動脈硬化の発症に関与しているのかもしれない。

腫瘍に関して、WSでは上皮性腫瘍は47.2±8.5歳、非上皮性腫瘍は45.2±10.9歳、悪性腫瘍全体では45.8±10.2歳で発症することを我々は報告している[27]。WSでは10代で非上皮性腫瘍、20代で観察される上皮性腫瘍の出現が観察されるが、HGPSでは一般的に腫瘍の合併の報告はなく、今回我々の検討でも良性、悪性ともに腫瘍の合併は観察されなかった。HGPSにおける身体的な老化徴候は1~2歳で出現し、平均寿命が13年、WSでは20代で身体的な老化徴候が出現し、平均寿命は50代であ

る。HGPSでは加速された「老化期間」がおよそ10年以上あるにも関わらず、腫瘍の発生がないことも興味深い。この点においても同じ早老症ではあるが、HGPSとWSでは老化関連疾患の発症・進展様式が異なり、今後さらに両疾患の研究を推進することにより、一般的な老化関連疾患の理解が進むことも期待される。

### 【iPS細胞樹立】

WS由来iPS細胞は、正常人由来iPS細胞を細胞レベルでの特性に差異が認められないことから、iPS細胞レベルでは、WRN遺伝子の欠損が多分化能や細胞増殖能に大きな影響を示さないことが示唆された。また、細胞老化マーカーである老化関連βガラクトシダーゼ活性も顕著に低下することから、iPS化は細胞老化を抑制し、細胞増殖能を可逆的に回復したことが示された。さらに、WS由来iPS細胞から線維芽細胞への細胞分化実験を行ったところ、形態的に線維芽細胞に酷似した細胞が得られた(図1-3)。詳細な細胞表現型の解析が待たれるが、本WS iPS細胞は多分化能を有するiPS細胞であることが強く示唆された。今後、複数のWS患者由来のiPS細胞の樹立や、clonal variationの差異の検討が必要ではあるが、皮膚線維芽細胞に加えて、血管内皮細胞や脂肪細胞等への分化実験時に、遺伝子発現やプロテオミクス解析を行い、健常者由来iPS細胞との比較により、早発性老化に関わる新規候補遺伝子の同定が期待される。

## E. 評価

### 1) 達成度について

当初の計画通り、HGPSの全国調査を実施し、新たに15症例を同定し、さらに詳細な臨床調査を実施した。その成果に基づき、診断基準作成に向け活動を開始している。

同様に計画通りに、世界初となるWSのiPS細胞を作成し、無限分裂能と多能性を

確認した。さらに線維芽細胞への分化を実施するなど確実に研究を進めている。

また、ホームページや論文、学会発表を通じて本研究の成果や作成したWSの診断・診療ガイドラインを広く医療関係者や一般に公表し、周知を図っている。その結果、読売新聞や地方新聞において当研究に関する報道がなされた。

定期的開催されるWS患者会活動を支援し、確実に研究成果を患者へとフィードバックしている。

また本研究班発足後、全国から43例の遺伝子診断の依頼があり、新たに35症例を診断した。依頼件数も年々増加している。この結果は本研究が全国の医療機関に認識されていることを示している。

当初の計画に照らして、達成できなかった点としては、本研究では早老症全般の頻度と実態を解明することを目的としているが、アクロジェリア、ロスムンドトムソン症候群、ブルーム症候群、コケイン症候群、色素性乾皮症などの希少疾患の調査には至らなかった点が挙げられる。しかしながら、WSやHGPSの調査やガイドラインの作成で得た経験に基づき着実に目的の達成に向け研究を進めている。

### 2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

平成21～23年度の研究事業により、世界で初めて早老症WSの治療ガイドラインを完成することができた。今回の研究計画は、この指針を机上の産物に終わらせることなく普及・検証し、WS患者の予後改善へ向けたエビデンスを構築するとともに、そのノウハウを基に広く早老症全般へと展開、疾患由来iPS細胞の樹立も含め新たな根治的治療法開発へ発展させるものであった。具体的には、我が国に頻度の高いWSの治療ガイドラインの普及により患者の生命予後およびQOL改善が期待される。また、患者由来iPS細胞は早老病態のメカニズム解明や根本

治療法の開発につながる。早老症は 現在介護保険の特定疾病に認定されているが、当該研究により標準的な診断と治療法を全国に普及させれば、本研究全体の長期的な成果として患者の予後が改善し、介護対象者の減少が期待される。また、HGPS など、我が国においてはその数さえ把握されていなかった早老症に新たな光を当てたことは、人知れず苦しみ命を落とす患者への救いとなることが期待される。加齢やアンチエイジングが広く興味を集めている今日、早老症の病態・診断・治療の包括的研究を世界に先駆けて推進することの一般社会に与えるインパクトも大きい。

### 3) 今後の展望について

本研究班においてすでに診療ガイドラインを作成した WS については、エビデンスの集積に基づく改訂や重症度分類の作成が急務である。さらに、これらの経験をもとに、HGPS や WS 以外の早老症、すなわち、アクロジェリア、ロスマンドトムソン症候群、ブルーム症候群、コケイン症候群、色素性乾皮症など、早老症全般の実態を把握し、疾患毎の特徴を明らかとする道筋を拓きたい。そのような取り組みを通じ、この分野における研究を世界的にリードしながら、希少疾患のため日々苦しんでいる患者の福音とすべく研究を進めることが重要であり、将来的には基礎研究との融合により、一般的な老化の理解や老化関連疾患の新たな治療法の開発へと繋げたい。

### 4) 研究内容の効率性について

WS の診療ガイドラインの普及、HGPS のアンケート調査、iPS 細胞の樹立など計画し期間内に効率よく実施し得たと考えている。

## F. 結論

WS の診療ガイドラインの普及、新たな

患者の同定と疾患 iPS 細胞樹立に取り組むとともに今回の全国一次、二次アンケート調査により我が国における HGPS の実態を明らかにした。今後も本研究を継続発展させることにより早老病態のメカニズム解明や根本治療法の開発へとつながることが期待される。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- ① Watanabe K, Kobayashi K, Takemoto M, Ishibashi R, Yamaga M, Kawamura H, Fujimoto M, Ishikawa T, Onishi S, Okabe E, He P, Yokote K. (2013) Sitagliptin improves postprandial hyperglycemia by inhibiting glucagon secretion in Werner syndrome with diabetes. *Diabetes Care* 36:e119
- ② Takemoto M, Mori S, Kuzuya M, Yoshimoto S, Shimamoto A, Igarashi M, Tanaka Y, Miki T, Yokote K. (2013) Diagnostic criteria for Werner syndrome based on Japanese nationwide epidemiological survey. *Geriatr Gerontol Int.* 13:475-81
- ③ 横手幸太郎 (2013) エビデンスを使う医療と創る医学。内科医の道、医学書院、2 巻 1 号、1290-1290 (ISID:1103100073)
- ④ 横手幸太郎 (2013) 第 9 回国際糖尿病連合西太平洋地区会議(IDF-WPR)/第 4 回アジア糖尿病学会(AASD) メタボリックシンドロームに新たな視点～早老症ウエルナー症候群～MetS と共通する危険因子重積。Medical Tribune、メディカルトリビューン、Vol.46 No.6、6。
- ⑤ 横手幸太郎、竹本稔 (2013) 早老症 Werner 症候群の診療ガイドライン。日本老年医学会雑誌、Vol.50 No.4、日本老年医学会、417～427。
- ⑥ 横手幸太郎 (2013) 高齢者の糖尿病治療とインクレチン製剤の位置づけ。日本臨床内科医会誌、第 28 巻 第 2 号、

日本臨床内科医会、228～238。

- ⑦ 横手幸太郎 (2013) 早老症から学ぶ生活習慣病と動脈硬化。動脈硬化 Update2013、ライフサイエンス出版、19～25。
- ⑧ 田中知明、横手幸太郎 (2013) エピジェネティクスと老化。BIO Clinica、Vol.29 No.1、19～23。

## 2. 学会発表

- ① Yokote K. (2013) (招待講演) Achievement of Healthy Aging: from a Japanese Medical Point of View. China Medical University, Nov 5, Shenyang, China.
- ② Yokote K. (2013) (招待講演) Multidisciplinary approach for the treatment of diabetes in the elderly. 4<sup>th</sup> International Association of Gerontology and Geriatrics Master Class on Ageing-Kyoto, Oct 30, Kyoto.
- ③ Yokote K. (2013) (シンポジスト) New diagnostic criteria and treatment guideline for werner syndrome. The 20<sup>th</sup> IAGG World Congress of Gerontology and Geriatrics, June 25, Seoul.
- ④ Shimizu T., Koyama H., Shibuya S., Shimamoto A., Takemoto M., Yokote K. Oxidative stress, aging and progeric syndrome. Recent progress in basic and clinical research on progeroid syndrome. The 20th IAGG World Congress of Gerontology and Geriatrics (IAGG 2013), Seoul, June 23-27 (2013).
- ⑤ Onishi S., Takemoto M., Ishikawa T., Okabe E., Ishibashi R., Peng He., Kobayashi K., Fujimoto M., Kawamura H., Yokote K. Japanese diabetic patients with Werner syndrome exhibit high incidence of cancer 20th World Congress of the International Association of Gerontology and Geriatrics (IAGG2013) 2013.6.23-27, Seoul, Korea
- ⑥ Okabe E., Takemoto M., Onishi S.,

Ishikawa T., Ishibashi R., Peng He., Kobayashi K., Fujimoto M., Kawamura H., Yokote K. Incidence and characteristics of metabolic disorders and vascular complications in Werner syndrome patients in Japan. 20th World Congress of the International Association of Gerontology and Geriatrics (IAGG2013) 2013.6.23-27, Seoul, Korea.

- ⑦ Yokote K. (2013) Achievement of healthy aging: from a Japanese medical point of view. The 1st meeting for JST-VINNOVA Scoping Group for university-industry collaboration program, May 21-22, Tokyo.
- ⑧ 横手幸太郎 (2013) (講演) 早老症の病態と幹細胞。第13回日本抗加齢医学会総会 ベーシックサイエンス3、6月28日、横浜。
- ⑨ 大西俊一郎、竹本稔、小林一貴、藤本昌紀、河村治清、石川崇広、岡部恵見子、石橋亮一、賀鵬、横手幸太郎、遺伝子性早老症 Werner 症候群における糖尿病と悪性腫瘍の関連。第56回日本糖尿病学会年次学術集会 熊本 2013年5月16-18日
- ⑩ 藤本昌紀、大西俊一郎、竹本稔、岡部恵見子、小林一貴、河村治清、石川崇広、石橋亮一、賀鵬、久野響子、横手幸太郎。糖尿病合併 Werner 症候群におけるピオグリタゾンと悪性腫瘍との関連に関する検討。第56回日本糖尿病学会年次学術集会 熊本 2013年5月16-18日
- ⑪ 小林一貴、大西俊一郎、岡部恵見子、竹本稔、藤本昌紀、河村治清、石川崇広、石橋亮一、賀鵬、横手幸太郎。Werner 症候群の糖尿病合併例におけるピオグリタゾンと悪性腫瘍に関する検討。第55回日本老年医学会学術集会 2013年6月4-6日 大阪
- ⑫ 小山浩史、澁谷修一、嶋本颯、横手幸太郎、清水孝彦。ウエルナー症候群患者由来細胞に対するビタミンCの細胞老化

改善作用. 日本農芸化学会 2013 年度大会、仙台、2013 年 3 月 25-27 日

- ⑬ 横手幸太郎、清水孝彦、竹本稔. 早老症の病態と幹細胞. 「幹細胞と老化」シンポジウム. 第 13 回日本抗加齢医学会総会、横浜、2013 年 6 月 28-30 日

H. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

- 1 特許取得 なし
- 2 実用新案登録 なし
- 3 その他

参考文献

- [1] J. Hutchinson, Congenital absence of hair and mammary gland with atrophic condition of skin and its appendages in a boy whose mother had been almost totally bald from alopecia areata from the age of six, *Medicochir. Trans.* 69 (1886) 473-477.
- [2] Y M. Gilford, Progeria – a form of senilism, *Practitioner* 73 (1904)188-217.
- [3] F.L. DeBusk, The Hutchinson-Gilford progeria syndrome. Report of 4 cases and review of the literature. *J Pediatr* 80 (1972)697-724.
- [4] M. Eriksson, W.T. Brown, L.B. Gordon, M.W. Glynn, J. Singer, L. Scott, M.R.Erdos, C.M. Robbins, T.Y. Moses, P. Berglund, A. Dutra, E. Pak, S. Durkin, A.B. Csoka, M. Boehnke, T.W. Glover, and F.S. Collins, Recurrent de novo point mutations in lamin A cause Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature* 423 (2003) 293-8.
- [5] A. De Sandre-Giovannoli, R. Bernard, P. Cau, C. Navarro, J. Amiel, I. Boccaccio, S. Lyonnet, C.L. Stewart, A. Munnich, M. Le Merrer, and N. Levy, Lamin a truncation in Hutchinson-Gilford progeria. *science* 300 (2003) 2055.
- [6] J.I. Toth, S.H. Yang, X. Qiao, A.P. Beigneux, M.H. Gelb, C.L. Moulson, J.H. Miner, S.G. Young, and L.G. Fong, Blocking protein farnesyltransferase improves nuclear shape in fibroblasts from humans with progeroid syndromes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102 (2005) 12873-8.
- [7] S.H. Yang, M.O. Bergo, J.I. Toth, X. Qiao, Y. Hu, S. Sandoval, M. Meta, P. Bendale, M.H. Gelb, S.G. Young, and L.G. Fong, Blocking protein farnesyltransferase improves nuclear blebbing in mouse fibroblasts with a targeted Hutchinson-Gilford progeriasyndrome mutation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102 (2005) 10291-6.
- [8] M. Columbaro, C. Capanni, E. Mattioli, G. Novelli, V.K. Parnaik, S. Squarzone, N.M. Maraldi, and G. Lattanzi, Rescue of heterochromatin organization in Hutchinson-Gilford progeria by drug treatment. *Cell Mol Life Sci* 62 (2005) 2669-78.
- [9] I. Varela, S. Pereira, A.P. Ugalde, C.L. Navarro, M.F. Suarez, P. Cau, J. Cadinanos, F.G. Osorio, N. Foray, J. Cobo, F. de Carlos, N. Levy, J.M. Freije, and C. Lopez-Otin, Combined treatment with statins and aminobisphosphonates extends longevity in a mouse model of human premature aging. *Nat Med* 14 (2008) 767-72.
- [10] Okabe E, Takemoto M, Onishi S, Ishikawa T, Ishibashi R, He P, Kobayashi K. Fujimoto M, Kawamura H, Yokote K. Incidence and characteristics of metabolic disorders and vascular complications in individuals with Werner syndrome in Japan. *J Am Geriatr Soc.* 60 (2012) :997-8
- [11] ウェルナー症候群の診断・診療ガイドライン 2012 版  
<http://www.m.chiba-u.jp/class/clin-cellbiol/werner/index.html>
- [12] S. Huang, B. Li, M.D. Gray, J. Oshima, I.S. Mian, and J. Campisi, The premature

- ageing syndrome protein, WRN, is a 3'→5' exonuclease. *Nat Genet* 20 (1998) 114-6.
- [13] R.M. Brosh, Jr., P.L. Opresko, and V.A. Bohr, Enzymatic mechanism of the WRN helicase/nuclease. *Methods Enzymol* 409 (2006) 52-85.
- [14] R. Kusumoto, L. Dawut, C. Marchetti, J. Wan Lee, A. Vindigni, D. Ramsden, and V.A. Bohr, Werner protein cooperates with the XRCC4-DNA ligase IV complex in end-processing. *Biochemistry* 47 (2008) 7548-56.
- [15] J.A. Harrigan, D.M. Wilson, 3rd, R. Prasad, P.L. Opresko, G. Beck, A. May, S.H. Wilson, and V.A. Bohr, The Werner syndrome protein operates in base excision repair and cooperates with DNA polymerase beta. *Nucleic Acids Res* 34 (2006) 745-54.
- [16] M. Lebel, E.A. Spillare, C.C. Harris, and P. Leder, The Werner syndrome gene product co-purifies with the DNA replication complex and interacts with PCNA and topoisomerase I. *J Biol Chem* 274 (1999) 37795-9.
- [17] M. Otterlei, P. Bruheim, B. Ahn, W. Bussen, P. Karmakar, K. Baynton, and V.A. Bohr, Werner syndrome protein participates in a complex with RAD51, RAD54, RAD54B and ATR in response to ICL-induced replication arrest. *J Cell Sci* 119 (2006) 5137-46.
- [18] W.H. Cheng, C. von Kobbe, P.L. Opresko, L.M. Arthur, K. Komatsu, M.M. Seidman, J.P. Carney, and V.A. Bohr, Linkage between Werner syndrome protein and the Mre11 complex via Nbs1. *J Biol Chem* 279 (2004) 21169-76.
- [19] B. Li, S. Navarro, N. Kasahara, and L. Comai, Identification and biochemical characterization of a Werner's syndrome protein complex with Ku70/80 and poly(ADP-ribose) polymerase-1. *J Biol Chem* 279 (2004) 13659-67.
- [20] D. Salk, K. Au, H. Hoehn, and G.M. Martin, Cytogenetics of Werner's syndrome cultured skin fibroblasts: variegated translocation mosaicism. *Cytogenet Cell Genet* 30 (1981) 92-107.
- [21] C.E. Ogburn, J. Oshima, M. Poot, R. Chen, K.E. Hunt, K.A. Gollahon, P.S. Rabinovitch, and G.M. Martin, An apoptosis-inducing genotoxin differentiates heterozygotic carriers for Werner helicase mutations from wild-type and homozygous mutants. *Hum Genet* 101 (1997) 121-5.
- [22] P. Pichierri, F. Rosselli, and A. Franchitto, Werner's syndrome protein is phosphorylated in an ATR/ATM-dependent manner following replication arrest and DNA damage induced during the S phase of the cell cycle. *Oncogene* 22 (2003) 1491-500.
- [23] L. Crabbe, A. Jauch, C.M. Naeger, H. Holtgreve-Grez, and J. Karlseder, Telomere dysfunction as a cause of genomic instability in Werner syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104 (2007) 2205-10.
- [24] S. Chang, A.S. Multani, N.G. Cabrera, M.L. Naylor, P. Laud, D. Lombard, S. Pathak, L. Guarente, and R.A. DePinho, Essential role of limiting telomeres in the pathogenesis of Werner syndrome. *Nat Genet* 36 (2004) 877-82.
- [25] P.L. Opresko, Telomere ResQue and preservation--roles for the Werner syndrome protein and other RecQ helicases. *Mech Ageing Dev* 129 (2008) 79-90.
- [26] Cao K, Blair CD, Faddah DA, Kieckhaefer JE, Olive M, Erdos MR, Nabel EG, Collins FS. Progerin and telomere dysfunction collaborate to



trigger cellular senescence in normal human fibroblasts. *J Clin Invest.* 121 (2011) :2833-44.

- [27] Onishi S, Takemoto M, Ishikawa T, Okabe E, Ishibashi R, He P, Kobayashi K, Fujimoto M, Kawamura H, Yokote K. Japanese diabetic patients with Werner syndrome exhibit high incidence of cancer. *Acta Diabetol.* 49 (2012) :S259-60

## Ⅱ. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業(難治性疾患克服研究事業)）  
糖尿病を合併したコケイン症候群の治療経験

分担研究者 竹本 稔

千葉大学大学院医学研究院 細胞治療内科学講座 准教授

研究要旨

コケイン症候群 (Cockayne syndrome: CS) は希少な遺伝性早老症の一つである。臨床的には精神、身体発達遅延、小頭症、皮下脂肪の萎縮、光線過敏症や進行性の聴力、視力障害が特徴とされる。CS では時に糖尿病を合併することが報告されているが、その病態や治療法に関しては不明な点が多い。今回我々は 24 歳の糖尿病を合併した CS の一例を経験したため若干の考察を加えて報告する。

A. 研究目的

コケイン症候群 (Cockayne syndrome: CS) は 1936 年に視神経萎縮と難聴を伴った小人症の一例として初めて報告された希少疾患である(1)。常染色体劣性遺伝形式の遺伝性早老症の一つであり、臨床的には身体、精神発達遅延、小頭症、感音性難聴、齲歯、光線過敏症などを特徴とする。CS は色素性乾皮症 (Xeroderma pigmentosum: XP) や硫黄欠乏性毛髪発育異常症 (Trichothiodystrophy: TTD) と同様にヌクレオチド除去修復 (Nucleotide excision repair: NER) 障害が病因の一つとして考えられており、殆どの患者が Cockayne syndrome B (CSB) (もしくは Excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group 6: ERCC6) や Cockayne syndrome A (CSA) (もしくは Excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group

8: ERCC8) 遺伝子の変異によって生じると報告されている(2)。

典型的には CS 患者はほぼ正常の大きさで生まれ、生後しばらくは正常に成長・発達するものの、2歳前後より身長、体重や頭囲の発達遅延が生じ、進行性に視力、聴力障害や中枢、末梢神経障害が生じる。またほとんどの症例で齲歯が観察され、重篤な光線過敏を生じるが、皮膚がんは生じない。臨床的な重症度により CS type I、II、III と分類される。CS type I は古典的「classical」とも分類され、上述の症状を来し、平均死亡年齢は 12 歳である。CS type II は重症型で先天性白内障や生後すぐに脊柱後彎、側彎などを生じ7歳前後で死亡する。CS type III は軽症型であり CS に関連した臨床症状を呈するも精神、身体の発達は正常と報告されている。また CS では時に糖尿病を合併することが報告されているが、その病態やその治療経験に関する報告は殆どない。

今回我々は糖尿病を合併した24歳のCSの一例を経験したため報告する。

50mg、ウラリット U 1g

【検査所見】

B. 研究方法

耐糖能は75gGTT検査(胃瘻から注入)で評価した。内臓脂肪面積は臍高部CT検査にて評価した。

C. 研究結果

【症例】 24歳 男性

【現病歴】 妊娠42週、吸引分娩にて3076gで出生。

1歳半の健診時に歩行ができず、頭部CT検査にて脳萎縮を指摘され脳性麻痺との診断を受けた。その後、3歳時に遠視、乱視、白内障、網膜色素変性などの視力障害、6歳時には感音性難聴などの症状が出現し、8歳時にコケイン症候群の診断となった。11歳より肝機能障害、高尿酸血症、22歳時には嚥下困難となり胃瘻が造設され経腸栄養が開始となった。23歳頃より徐々に血糖上昇あり、2013年4月(24歳)HbA1c 8.6%と高値を認めたため当科紹介となった。

【家族歴】 特記すべきことなし、血族結婚なし

【既往歴】 11歳時に肝機能障害に対し肝生検施行されるも軽度の肝脂肪のみ

【身体所見】 身長 106cm、体重 17kg、BMI 15.1kg/m<sup>2</sup>  
コケイン症候群に典型的な顔貌(窪んだ眼・頬、尖った鼻・顎)、齲歯、胸腹部異常なし。四肢末梢に冷感を認める。

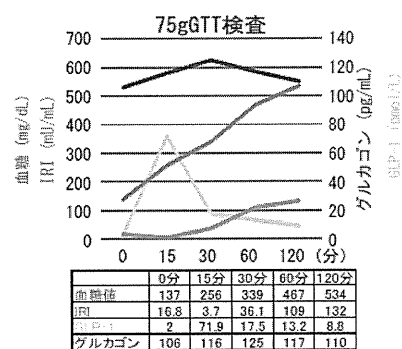
【内服薬】 ウルソ 150mg、ユリノーム

検査所見		
WBC 8000 / $\mu$ L	TP 7.4 g/dL	TCHO 261 mg/dL
RBC 414 万/mL	Alb 3.8 g/dL	TG 319 mg/dL
Hb 12.0 g/dL	AST 124 IU/L	HDL-C 72 mg/dL
Ht 36.5 %	ALT 196 IU/L	LPL 43 ng/mL
Plt 195 万/mL	LDH 240 IU/L	MDA-LDL 153 U/L
PPG 253 mg/dL	ALP 520 IU/L	Hs-CRP 2670 ng/mL
HbA1c 8.6 %	UN 12 mg/dL	FFA 853 mceq/L
CPR 9.91 ng/mL	Cre 0.68 mg/dL	TSH 0.915 $\mu$ IU/mL
抗GAD抗体 0.3 未満U/mL	Na 134 mEq/L	FT3 2.75 pg/mL
	K 5.7 mEq/L	FT4 1.18 ng/mL
	Cl 101 mEq/L	ACTH 21.0 pg/mL
	Ca 10.0 mg/dL	CS 14.3 $\mu$ g/mL
		HGH 0.92 ng/mL

画像



- ・窪んだ眼・頬、尖った鼻など皮下脂肪の萎縮による特徴的な早老様顔貌を認める
- ・頭部CT: 両側歯状核に著明な石灰化や全脳にわたる強い萎縮を認める
- ・腹部CT: 内臓脂肪面積 13.7cm<sup>2</sup>、V/S=0.25 軽度の脂肪肝



HOMA-R 5.68、HOMA- $\beta$  81.7  
Insulinogenic Index 0.11  
インスリン抵抗性  
インスリン初期分泌の低下  
グルカゴン分泌異常