

B. 臨床経過、診断基準各疾患の詳細

大まかな症例の経過を記載後、診断基準各疾患に分けて詳述する。

[臨床経過]

51 歳、男性。152cm、52kg（低身長・低体重）、未婚。

28 歳時に白内障を指摘され、33 歳時に白内障の手術をうけた。その頃、元来高調であった声が、しわがれてきたことを自覚。35 歳時には白髪を自覚した（白髪染め使用開始）。40 歳時白内障に対して眼内レンズ挿入、また右外反母趾手術を施行。その際に糖尿病を指摘された。43 歳時より経口血糖降下薬（ピオグリタゾン(Pio)) 内服開始。同時に脂質異常症を指摘されピタバスタチン内服開始。このころより右足底に胼胝ができやすくなったことを自覚した。自身、本を読んで、Werner 症候群であることを自覚した。44 歳より声が出にくくなり、46 歳時声帯ポリープ切除。47 歳時、千葉大学で入院精査を行い、WRN ヘリカーゼ遺伝子異常認め、Werner 症候群が遺伝子的に確定した。入院中に左足底部の胼胝が存在していたことより免荷靴を作成。また両側アキレス腱の分節型の石灰化も確認された。50 歳時から左踵皮膚潰瘍発症。現在、外来通院にて、糖尿病・脂質異常症、皮膚潰瘍に対する加療を受けている。

[各診断基準疾患]

(1) 糖尿病

Werner 症候群患者に特徴的な、強いインスリン抵抗性(HOMA-IR 4.19)、インスリン分泌過剰(HOMA- β 143、尿 CPR 175-278 μ g/日)を呈する糖尿病である。47 歳時に、インスリン抵抗性主体の糖尿病であることより、Pio と並んで抵抗性を改善するメトホ

ルミン (Met) に Pio から変更したが、変更当初数か月は良好だったものの次第に悪化し、1 年後には HbA1c (NGSP) 値は 1.5% 上昇 (6.4% \rightarrow 7.9%) した。その後、Pio 非投与時および投与下で行ったグルコースクランプ法での検討 (49 歳時に施行) では、非投与時 GIR (glucose infusion rate) 1.9、投与時 2.3 と、いずれも正常人の GIR (7 前後) よりも低値であるが、Pio による改善効果を認め、実際に HbA1c 値も Pio 再開後 7.0% 未満で経過している。現在は、Pio、Met、ビルダグリプチン投与および食事療法にて HbA1c (NGSP) 6.7% 前後のコントロールを得ている。

(2) 脂質異常症

ピタバスタチンのみでは中性脂肪値の改善効果に乏しく、現在はベザフィブラートも併用して加療中である。併用にて良好なコントロールを得ている。

(3) 白内障

両眼、すでに手術後。

(4) 悪性疾患

48 歳時に便潜血陽性であったが大腸検査では異常を認めず。甲状腺エコーでは多発のう胞を認めるが、経年的検査で変化は認めていない。年に一回行っている人間ドックでは腹部エコー検査 (脂肪肝) も行って経過観察をしている。PET 検査によるスクリーニングが推奨されるが、現在の医療制度では PET 検査費は自己負担となってしまう、患者も受けることができない状況にある。

(5) 皮膚潰瘍

元来、左足底部の胼胝が悪化し、免荷靴を調達・使用していたにもかかわらず、49 歳時に左踵皮膚潰瘍を発症。靴底に軟らかい綿花を敷いたり、パットを 2 重においたり

して対応しているものの、疼痛は強く、電撃痛も走ることあるとのこと。本報告書記載時点では肉芽の盛り上がり認められ、治癒方向に向かっていると考えられるが、Werner 症候群の潰瘍は難治性と考えられ、一旦治癒したとしても再発のリスクが高い。また、胼胝による痛みも存在している。

(6) 早発性冠動脈疾患

47 歳時に千葉大学で入院し、その際精査施行。大動脈弁硬化、頸動脈プラークを認めるが心筋シンチなどでは異常を認めず、現在危険因子を管理しながら経過観察中である。

(倫理面への配慮)

本報告は、日常臨床におけるその経過を鑑みながらの診断基準・重症度分類の考察であり、薬剤介入あるいは特殊検査を行うものではなく、特に倫理的な問題は生じない。なお、上記に記したグルコースクランプ法を用いた検討に関しては、平成 23 年に院内の倫理審査で承認され平成 24 年に患者の同意を取得して行った研究の一環であり、本研究との関連はない。

C&D. 結果、考察

(1) 糖尿病

Werner 症候群における糖尿病のベースにはインスリン抵抗性が存在する。これは、早老に伴う内臓脂肪の増加と筋肉量の低下に基づくと考えられる。薬物としては Pio の有効性が報告されており、また Pio 投与時にアディポネクチン値の上昇を伴うことも報告されている。近年では DPP4 阻害薬の有効性も報告されている。

肝臓からのグルコース分泌を抑制するのに十分な量のインスリンを投与しながら、

一定の血糖値を維持するためのブドウ糖注入スピードを測定し、そのインスリン感受性を評価するグルコースクランプ法は、末梢すなわち筋肉でのインスリン感受性を反映する検査法である。本症例で Pio 投与前後に行ったグルコースクランプ法での検討では、投与後に感受性の改善を認めており、Pio の効果はアディポネクチン改善に伴う筋肉での抵抗性改善によるところがあると推察される。

さて、インスリン抵抗性を改善する薬剤として Pio と Met が日常臨床で広く使われているが、本症例では Pio から Met に変更した後血糖コントロールはやや悪化した。Pio は脂肪細胞からのアディポネクチンを介した血糖改善作用、一方 Met は筋肉・肝臓に直接作用しての AMPK 活性化による血糖改善作用、が主とした作用であると考えられており、Werner 症候群の耐糖能悪化の主原因が内臓脂肪肥満、そしてアディポカイン異常に負う部分が強いことが示唆される。

表 1 Werner 症候群の重症度分類 (2014. 6. 23. 案)

- ・1 度 皮膚潰瘍 (症状) が、片方の肘、踵のみの状態で、日常生活への影響はまだ極めて軽微。
- ・2 度 症状が両方の肘、踵に見られるが、まだ障害は軽く、日常生活は多少の不自由はあっても従来通り可能であり、歩行障害はあっても軽微である。
- ・3 度 症状が両方の肘、踵にみられ、日常生活は自立しているが、痛みのためかなりの制約を受けている。
- ・4 度 ベッドまたは車椅子の生活。日常生活でもかなり介助を要する。
- ・5 度 ベッドまたは車椅子の生活でほとんど寝たきり。全面的介助を要する。

(2) 皮膚潰瘍と重症度分類

Werner 症候群の予後および QOL を決定する病態として、悪性疾患、冠動脈疾患、難治性皮膚潰瘍とそれに伴う感染・下肢切断、が重要である。2012 年に横手らにより本症候群の新たな診断基準が作成されたものの、未だ難病指定を受ける段階には至っていない。検査にかかる費用、患者自身の心理的負担（情報社会による疾患予後の患者自身の認識）を考慮すれば、公費負担をすべき状態の基準作成が火急の課題である。

当初、表 1 の案が第 1 回班会議で提出された。その後、主任研究者らの全国調査に基づくデータ解析、共同研究者らとの協議により、表 2 の案が最新案として策定されている。

本症例は、49 歳時に左踵部の潰瘍を発症し、現在は治癒傾向にはあるものの疼痛が強く、歩行にも制限がかかっている状態である。治癒傾向にはあるものの、正常人の皮膚潰瘍と比較して長期にわたる加療（す

でに 4 か月以上経過）を継続中であり、たとえ一旦改善したとしても再発するリスクは非常に高い。

表 1 の重症度分類であれば本症例は 1 度に分類されることとなり、前述のような QOL 低下が存在するにもかかわらず公的医療支援を得られないこととなる。その後の討議により改訂された最終案表 2 の重症度分類であれば 3 度に該当し、公費負担の申請が可能となる。

最後に、悪性疾患スクリーニング検査には医療費がかさむ。本症例では、福利厚生が整った企業に勤務しているが故に会社から提供されるかなり充実した人間ドックを受診できているが、Werner 症候群患者すべてがこのような企業に勤務しているわけではなく、また、3 度以上に進行した場合には、その状態ゆえに職を失っているケースもあると推察される。また、2 度以前の状態においても、悪性疾患のスクリーニングは重要である。今回の重症度分類は、四肢症状に重点を置いた重症度分類となっているが、今後は、悪性疾患スクリーニングが必要な患者に対する医療援助をどのように整備していくのか、についての議論が必要となると考えられる。

E. 結論

本研究分担者が外来にて診察している Werner 症候群の臨床経過、今までに行った検査、現在の病勢を鑑みながら、考察を行った。糖尿病に関しては、その薬剤の効果から、内臓脂肪肥満に伴うアディポサイトカイン異常が強く関与していることが考察された。また、今回の本課題として議論し練り上げられた重症度分類は、本症例の現

表 2 Werner 症候群の重症度分類(2015. 2. 7. 案)

- ・1 度 皮膚の硬化や萎縮が四肢のいずれかに見られるが、日常生活への影響はまだ極めて軽微。
- ・2 度 皮膚の硬化や萎縮が四肢のいずれかに見られるが、まだ障害は軽く、日常生活は多少の不自由はあっても従来通り可能であり、歩行障害はないか、あっても軽微である。
- ・3 度 日常生活は自立しているが、皮膚潰瘍または疼痛のために制約を受けている、あるいは受けたことがある。
- ・4 度 両下肢に強い症状があり、歩行は自立では不可能だが、介助下では歩行可能。日常生活でも部分的介助を要する。
- ・5 度 ベッドまたは車椅子の生活でほとんど寝たきり。全面的介助を要する。もしくは悪性腫瘍を発症している。

在の病状を考慮して、適切なものであると
考えられ、今回提唱する重症度分類に基づ
いて、速やかに難病指定・公費負担とする
必要性が考えられた。今後は、Werner 症候
群患者において、悪性疾患スクリーニング
にかかる費用をどのように公費で負担すべ
きか、についての検討・議論・整備が必要
であろうと考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を
含む）

特になし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業）

分担研究報告書

早老症の皮膚潰瘍治療薬臨床試験に向けた調査 に関する研究

研究分担者 中神 啓徳 大阪大学大学院連合小児発達学研究科

健康発達医学寄附講座教授

研究要旨

ウエルナー症候群などの早老症においては難知性皮膚潰瘍が生活の QOL を著しく低下させることが知られている。皮膚潰瘍の成因は血流不全、骨格異常による物理的な圧迫、繊維芽細胞の増殖能低下など多因子であるが、アキレス腱部、足底部など圧のかかる部位に好発するため創傷被覆材が用いられる。この難治性潰瘍の増悪要因の一つは細菌感染による創傷治癒の遅延であるが、既存の消毒・抗菌作用をもつ薬剤は創傷治癒を遅らせる作用があり、創傷に対して治癒の促進と感染の防御との間で最適環境を整えることは難しい課題である。そのため、創傷治癒も感染防御も妨げることのない薬剤として、我々は SR-0379 液の創修復作用と抗菌活性の両方の特性を活かしながら、難治性潰瘍に対する外用薬として開発を進めている。非臨床試験・製剤・臨床試験に関連する書類の整理・ファイル化を行い、次年度以降の臨床試験のデザインを統計学的解析から立案した。

A. 研究目的

ウエルナー症候群などの早老症においては難知性皮膚潰瘍が生活の QOL を著しく低下させることが知られている。皮膚潰瘍の成因は血流不全、骨格異常による物理的な圧迫、繊維芽細胞の増殖能低下など多因子であるが、アキレス腱部、足底部など圧のかかる部位に好発するため創傷被覆材が用いられる。この難治性潰瘍の増悪要因の一つは細菌感染による創傷治癒の遅延であるが、既存の消毒・抗菌作用をもつ薬剤は創傷治癒を遅らせる作用があり、創傷に対して治癒の促進と感染の防御との間で最適環境を整えることは難しい課題である。そのため、創傷治癒も感染防御も妨げることのない薬剤の開発は、未だに誰も着手してい

ない領域である。我々は SR-0379 液の創修復作用と抗菌活性の両方の特性を活かしながら、難治性潰瘍に対する外用薬として開発を進めている。

創に対する治療法として、創傷治癒を促進するための湿潤環境を作る湿潤療法が提唱されている。他方、創部では皮膚のバリア機構が破綻しているために種々の細菌が繁殖することが多く、創の治りに関与しない汚染あるいは繁殖（コロニゼーション）の状態か、又は創の治癒を遅延させる感染の状態かを正確に見極めて、適切な治療を行うことが重要とされる。

難治性皮膚潰瘍では局所感染兆候（発熱・発赤・腫脹・疼痛）の判定が困難なことが多く、その感染に至る前段階（クリテ

イカルコロニゼーション) での見極めが難しい。

我々が同定した新規抗菌性ペプチド AG30 を用いた難治性皮膚潰瘍治療薬の開発は、早期探索型臨床試験拠点のシーズとし選定されたことを契機に、医師主導型治験あるいは将来的な企業への導出を念頭におき改変体を作成し、AG30/5C ペプチドが血清によって分解される代謝産物の機能解析から、20 残基のアミノ酸で一部 D 体にアミノ酸を置換した低コストで活性のあるペプチドの作成に成功した (SR ペプチド)。このペプチドを用いた同疾患への医師主導型治験を計画しており、臨床試験が滞りなく進むために疾患レジストリーを参考にしながら次年度以降の臨床試験を立案する。

B. 研究方法

(1) 医師主導治験の書類整備

これまで行ってきた以下の試験を申請書類用に整理しファイル化を行う。

非臨床試験：ラット全層欠損モデルでの創傷治癒促進作用、各種細菌に対する抗菌活性、薬物動態試験 (LC/MS)、毒性試験 (ラット 4 週間反復毒性試験)、安全性薬理試験 (中枢神経・呼吸・心血管)、刺激性・感作性試験 (ウサギ単回および反復皮膚累積刺激性試験、モルモット皮膚感作性試験)、安全性薬理試験

治験薬管理：原薬の分析試験・安定性試験、出荷試験

臨床試験：健常人での皮膚刺激性試験 (パッチテスト) の実施計画書、患者同意説明文書、症例報告書

(2) 臨床試験のプロトコール立案

次年度に予定している皮膚潰瘍患者の試験デザイン立案を行う。類薬の臨床試験を参考に統計学的必要症例数の算出、毒性試験などのデータから初期投与量の算出・設定を行う。

(倫理面への配慮)

本研究のすべての動物実験は下記の国のガイドライン・法律などを遵守し、実施する。

- ・ 「動物の愛護および管理に関する法律」 (昭和 48 年法律第 105 号)
- ・ 「研究機関などにおける動物実験等の実施に関する基本指針」 (平成 18 年度厚生労働省告示第 71 号)

非臨床試験は、非臨床試験は薬事法の「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」に則り GLP 基準で遂行する。

医師主導治験は、「医薬品の臨床試験の実施に関する基準 (Good Clinical Practice: GCP)」に準拠し、適切な説明に基づく被験者の同意の確保、及び被験者の人権保護に配慮することにより実施される。また、実施医療機関の治験審査委員会の審査、承認を経て、自ら治験を実施しようとする者から厚生労働大臣宛てに治験計画届書が提出される。

C. 研究結果

(1) 医師主導治験の書類整備

非臨床試験の最終報告書、CMC に関する資料、臨床試験に関する資料を試験毎にまとめてファイル・保存した。パッチテストの実施施設である信濃坂クリニックでの書類保管整理の確認を行った。

(2) 臨床試験のプロトコール立案

1 初期評価試験の立案

1-1 症例数

今回計画している SR-0379 の医師主導治験(初期評価試験: フェーズ I/IIa 臨床試験)は、皮膚潰瘍患者に対し初めて SR-0379 を適用する臨床試験である。本治験では、難治性潰瘍患者に SR-0379 を 5 噴霧/回/日、創部に 4 週間連続噴霧し、噴霧部位の局所反応及び全身的な安全性を評価するとともに、創部に対する治療効果の探索的評価および薬物動態評価をすることを目的としている。フェーズ I 試験での健康成人に対する被験者あたりの SR-0379 総投与量に比較し、本治験における患者あたりの SR-0379 の総投与量が増加すること、また難治性潰瘍患者では皮膚のバリア機能が障害されている場合が多く、SR-0379 の全身的な影響も慎重に評価する必要があることから、SR-0379 を濃度段階的に漸増し、治療の忍容性を評価しながら安全性確認する 3 例コホートによる用量漸増法を基本とした臨床試験デザインを採用することとした。なお、SR-0379 との因果関係の否定できない Grade 3 以上の有害事象 (CTCAE v4.0) が認められた場合は、当該濃度群に更に 3 例を追加する。本治験では、SR-0379 の用量段階を 0.02%、0.1%、0.5% の 3 用量段階を予定していることから、本治験の患者数は最低 9 例、最大 18 例となる。

1-2 用法・用量の適切性

- ・用量: 0.02%、0.1%、0.5%のSR-0379液
- ・用法: 潰瘍面を清拭後、治験薬専用の噴霧器を用い、潰瘍面から約 5 cm 離して 1

日 1 回、5 回噴霧する。治験薬は、4 週間連続投与する。

治験薬の濃度は、非臨床試験の結果から効果が期待される初期用量を 0.02% と推定し、健康成人男性での第 I 相試験 (皮膚安全性試験) の結果から、SR-0379 の濃度を 0.02、0.1 及び 0.5% の 3 濃度を設定した。

本治験での治験薬の投与期間は、トラフェルミン製剤の治験の投与期間を参考に、4 週間に設定した。動物モデルを用いた薬効薬理試験の結果から、SR-0379 はトラフェルミン製剤と同等又はそれを上回る効果が期待されると期待できると考えている。

1-3 主要・副次評価項目の適切性

主要評価項目及び副次評価項目は、以下のとおり設定する予定である。

<主要評価項目>

- ・本治験薬の忍容性及び安全性評価
- ・潰瘍縮小評価

<副次評価項目>

- ・創評価
- ・疼痛軽減評価
- ・創部培養定性評価

2. 次相の試験の立案

次相の試験デザインを今回の試験結果をもとに解析ソフト (Prism6) を用いて統計学的考察を行った。

皮膚潰瘍患者対象の試験 (①試験) において、何例で試験を行い、そのうち何例が有効である、といったデータを得たとする (ただし、有効率は 50% 以上を仮定)。

このデータを用いて有効率を推定し、これを次相の試験 (②試験) の症例数計算に用いるとすると、次相にどれくらい症例数が

必要か算出した結果を示す。

<①試験>

シナリオ 1 : 1 群 3 例

有効例	有効率	80%信頼区間	95%信頼区間
2 例	67%	20~97%	9~99%
3 例	100%	46~100%	29~100%

上記の①試験における有効率の推定値を用いて、この試験の必要症例数を算出する(カイ二乗分布近似)。このとき、プラセボ群の有効率は 10%及び 15%を想定する。被験薬群の有効率については、上記のシナリオ 1 及び 2 における信頼区間の下限値を用いた場合を計算した。これは、有効率を保守的に見込むことで試験成功の確率を上げるためである。なお、検出力は 80%とした。

【有効例が 2 例の場合】

有意水準 (両側)	プラセボ群	被験薬群	必要症例数 (1 群)
5%	10%	20%	199 例
	15%	20%	906 例
10%	10%	20%	157 例
	15%	20%	714 例

【有効例が 3 例の場合】

有意水準 (両側)	プラセボ群	被験薬群	必要症例数 (1 群)
5%	10%	46%	24 例

	15%	46%	34 例
10%	10%	46%	19 例
	15%	46%	27 例

D. 考察

初期評価試験をもとにして、次相の試験ではSR-0379最大用量群とプラセボ群との二重盲検試験を行う予定である。対象は早老症を含む皮膚潰瘍患者であり、基礎疾患別の層別解析を行い、その試験結果によっては早期承認を目指した開発プランを考えたい。

E. 結論

早老症に合併する難治性皮膚潰瘍の新規治療薬開発を目指して、非臨床試験・CMC・臨床試験に向けた書類整備、臨床試験の立案を行なった。

F. 研究発表

特になし

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

特になし

分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業））

症例レジストリー体制の構築と運用

分担研究者 花岡英紀（千葉大学医学部附属病院臨床試験部長・教授）

研究要旨：症例レジストリー体制の構築と運用について本邦で「ウェルナー症候群の診断・治療ガイドライン」が2012年に完成し、本疾患の科学的評価およびその治療方針について一定の方法が確立したところであるが、一方で、本疾患は希少疾病であり病態解明や長期予後に関する調査などの研究は、不可欠である。そこで、本研究ではウェルナー症候群の病態の長期予後を解明することを目的としてレジストリーを構築する。初年度は、レジストリー構築のための評価項目の特定を行った。また、ハッチンソン・ギルフォード症候群についても一部検討をおこなった。

A. 研究目的

本邦でウェルナー症候群の診断・治療ガイドラインが2012年に完成し、本疾患の科学的評価およびその治療方針について一定の方法が確立したところである。この中で、2009年度および2010年度にかけて全国疫学調査が実施されており、400名近い症例の調査が実施された。本調査から、本疾患の症状、進行度等に関してさまざまな点が明らかとなった。主要症状の陽性率やその他の項目の陽性率についても明確になったとともに、いくつかの特徴的な症状（糖代謝異常、動脈硬化、アキレス腱の石灰化）についても科学的見知を得ることができた。一方で、本疾患の年齢分布を検討した結果では、50代が62.7%と一番症例数が多く、続いて40代の22.7%であり、

平均寿命46歳という従来の状況とは明らかにことなり、本疾患の長期予後とその病態の進行について明らかにすることが不可欠となっている。

ハッチンソン・ギルフォード症候群は、若年で心筋梗塞や脳卒中によって死にいたる疾患である。

本研究では、ウェルナー症候群の患者のレジストリー研究を計画するとともにハッチンソン・ギルフォード症候群についても一部検討をおこなう。

B. 方法

ウェルナー症候群のレジストリー研究*を計画するために、本研究では、調査を行う項目の特定を検討し決定する。同様にハッチンソン・ギルフォード症候群についても

検討を行う。

*レジストリー研究について

全国疫学調査を基盤とし、ウェルナー症候群の患者さんの症状等の経時的変化をアンケート調査を用いて行う。前回の調査項目に加え、その活動性および重症度についての評価を合わせて実施をし、病態の進行度を調査する。

調査期間は、疾患発病時から、死亡までの長期の解明が必要のため数年ごとの調査とする。

C. 結果

ウェルナー症候群調査票に必要と考えられる項目と進行度の評価について（調査票は別紙）以下に示す。

1 調査項目の特定

主症状

1 早老性顔貌（白髪，禿頭）（早老性毛髪変化）

2 白内障（両側）

3 皮膚の変化

皮膚の萎縮

潰瘍

鶏眼や胼胝

扁平足

足の変形

その他の徴候

副症状

1 原発性性腺機能低下（子供の有無）

2 低身長，低体重

3 音声の異常

4 鳥様顔貌

5 骨の変形などの異常（骨粗鬆症）

6 糖代謝異常

境界型糖尿病

糖尿病

7 脂質代謝異常

高 LDL-C 血症

高 TG 血症

低 HDL-C 血症

8 脂肪肝

9 高血圧

10 早期に現れる動脈硬化

脳出血

脳梗塞

狭心症または心筋梗塞

閉塞性動脈硬化症

11 悪性腫瘍

12 血族結婚

13 アキレス腱の石灰化

14 尿中ヒアルロン酸

15 遺伝子検査

2 重症度に関する調査

1 度：皮膚の硬化や萎縮が四肢のいずれかにみられるが、日常生活への影響はまだ極めて軽微。

2 度：皮膚の硬化や萎縮が四肢のいずれかにみられるが、まだ障害は軽く、日常生活は多少の不自由はあっても従来通り可能であり、歩行障害はないか、あっても軽微である。

3 度：日常生活は自立しているが、皮膚潰瘍注1）または疼痛のために制約をうけている、あるいはうけたことがある。

4 度：両下肢に強い症状があり、歩行は自立では不可能だが介助下では歩行が可能。日常生活でも部分的介助を要する。

5 度：ベットまたは車椅子の生活でほとんど寝たきり。全面的介助を要する。

もしくは悪性腫瘍を発症している注4)

注1) 皮膚潰瘍：ウェルナー症候群は、四肢末梢における皮膚の硬化・萎縮に伴い、下腿や足部、肘部に皮膚潰瘍を好発する。皮膚の萎縮、線維芽細胞の老化による再生能力の低下や血行障害のため、保存的にも観血的にも治癒の困難な場合が多い。疼痛や関節可動域の低下により、下肢潰瘍は歩行障害をもたらし、肘部潰瘍は食事や洗顔に支障をきたすなど、日常生活動作が著しく制限される。潰瘍部への感染併発により、しばしば四肢切断に至る。

注2) 難治性潰瘍のため四肢切断に至った場合は4度以上に分類される。

注3) なお、症状の程度が上記の重症度分類等で一定以上に該当しない者であるが、高額な医療を継続することが必要な者については、医療費助成の対象とする。

注4) ウェルナー症候群では、若年より悪性腫瘍（固形ならびに造血器腫瘍）を高率に発症し、その日常生活活動度と生命予後を左右する。

ハッチンソン・ギルフォード症候群について

本疾患に認められる症状として以下のようなものがある。

1 心血管、中枢神経系

血圧上昇、血管コンプライアンスの低下、足関節上腕血圧比の低下、外膜肥厚、

2 その他の症状

皮膚硬化、関節拘縮、骨異常、脱毛、成長障害 プロトロンビン時間の延長、血小板数増加、血清リン値の上昇、関節可動域の低下、低周波数での伝音性難聴、口腔機能障害

D. まとめ

レジストリー研究を計画するために、本研究では、調査を行う項目を検討した。これらの項目については、具体的な評価指標についても今後検討が必要である。長期の予後を評価するにあたっては適切な評価項目とその程度についてデジタル化することも必要であり、これにより長期の予後についての評価も可能となる。また、長期予後を予想する予後因子についても検討も同時に必要である。たとえば、既に遺伝しマーカー等の検討がされているが、これの因子と予後との関連を検討する必要がある。

E. 研究発表

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし

ウェルナー症候群調査票(案)Ver0.1

被験者匿名化番号		医療機関名		調査日
調査回数	年齢			
主症状	早老性顔貌(白髪, 禿頭)(早老性毛髪変化)			
副症状	白内障(両側)			
	皮膚の変化		程度/疼痛	部位
	皮膚の萎縮 潰瘍 鶏眼や胼胝 扁平足 足の変形 その他の徴候			
	1 原発性性腺機能低下(子供の有無)			
	2 低身長, 低体重		cm	kg
	3 音声の異常			
	4 鳥様顔貌			
	5 骨の変形などの異常(骨粗鬆症)			
	6 糖代謝異常 境界型糖尿病 糖尿病			
	7 脂質代謝異常 高LDL-C 血症 高TG 血症 低HDL-C 血症			
	8 脂肪肝			
	9 高血圧			
	10 早期に現れる動脈硬化 脳出血 脳梗塞 狭心症または心筋梗塞 閉塞性動脈硬化症			
	11 悪性腫瘍			
	12 血族結婚			
	13 アキレス腱の石灰化			
	14 尿中ヒアルロン酸			
15 遺伝子検査				
16 日常生活の障害				
重症度	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5
その他(自由記載)				

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業）
分担研究報告書

早老症の実態把握と予後改善を目指す集学的研究
ウェルナー症候群の病因遺伝子 WRN の遺伝子多型と骨粗鬆症との関連性について

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

ウェルナー症候群では早老徴候として骨粗鬆症を発症する。病因遺伝子 WRN の機能喪失変異ホモ接合体が本症を発症するが、本研究では WRN の非同義置換 SNP と骨粗鬆症との関連性を検討した。連続剖検 1632 例（平均年齢 81 歳、男 924 例、女 708 例）の DNA を用いて WRN の既知の非同義置換 8 SNP（V114I、R369X、E510D、L628V、R711W、L1074F、A1260T、C1367R）のタイピングを行い、大腿骨骨折罹患率との関連解析を行った。さらに閉経後骨粗鬆症患者 251 例（平均年齢 71 歳）、地域住民 269 名（平均年齢 75 歳、男 133 名、女 136 名）から得られた DNA を用いて骨密度との関連解析を行った。その結果、タイピングした 8 SNP のうち V114I（340G>A）のみが大腿骨骨折と有意な関連性を示した。すなわち、大腿骨骨折罹患率は本 SNP の AA 型 2 例中 1 例（50 %）、AG 型 55 例中 9 例（16 %）、GG 型 1574 例中 130 例（8 %）であり、本 SNP の A アレルは優性モデルで大腿骨骨折を増加させた（Cochran-Armitage 傾向検定 $p < 0.01$ ）。また年齢と性別を調整したロジスティック解析では、AA/AG 型は GG 型に比較して大腿骨骨折リスクが高値（OR: 2.5、95% CI: 1.2 ~ 5.4、 $p < 0.05$ ）であった。さらに骨粗鬆症患者において AA/AG 型は GG 型に比較して有意に大腿骨頸部骨密度が低値（差 -0.04 g/cm^2 、95% CI: $-0.08 \sim -0.00$ 、 $p < 0.05$ ）であり、また地域住民においても AA/AG 型は GG 型に比較して有意に全身骨密度が低値（差 -0.07 g/cm^2 、95% CI: $-0.12 \sim -0.02$ 、 $p < 0.01$ ）であった。以上の結果から、WRN の SNP（V114I）と骨粗鬆症との関連性が示された。本 SNP は WRN のエクソヌクレアーゼ領域に位置する。本症の多彩な表現形質の全てを WRN ヘリカーゼ機能喪失から統一的に説明できるのか、あるいは WRN が有する複数の機能がそれぞれ独立して個々の早老徴候をもたらしているのか、本研究はその点に関して示唆を与える結果といえる。

A. 研究目的

ウェルナー症候群では早老徴候として骨粗鬆症・サルコペニアを発症する。病因遺伝子 WRN の完全機能喪失変異のホモ接合体が本症を発症するが、一方、WRN 遺伝子の一塩基多型 (SNP)

である C1367R と心筋梗塞との相関も報告されている。そこで本研究では、WRN 遺伝子の非同義置換 SNP (nsSNP) と、骨粗鬆症・サルコペニアの主要なアウトカムである大腿骨骨折との関連性を検討した。

B. 研究方法

生涯の骨折情報を有する連続剖検 1632 例（平均年齢 81 歳、男 924 例、女 708 例）から得られた DNA を用いて、WRN 遺伝子の既知の 8 nsSNPs (V114I、R369X、E510D、L628V、R711W、L1074F、A1260T、C1367R) のタイピングを行い、大腿骨骨折罹患率との関連性を検討した。さらに、閉経後骨粗鬆症患者 251 例（平均年齢 71 歳）、地域住民 269 名（平均年齢 75 歳、男 133 名、女 136 名）から得られた DNA を用いて骨密度との関連解析を行った。

（倫理面への配慮）本研究の対象者の遺族からは、当センターで行われた剖検例の診療情報ならびに生体サンプル（DNA を含む）は、将来の疾患遺伝子解析を含む医学的研究に用いる旨、文書による説明と同意を得ている。また、閉経後骨粗鬆症患者ならびに地域住民については本人から、臨床情報ならびに生体サンプル（DNA を含む）を、疾患遺伝子解析を含む医学的研究に用いる旨、文書による説明と同意を得ている。本研究は当センター倫理委員会にて倫理的に問題ないことが確認され承認されている。

C. 研究結果

（1）WRN 遺伝子上に存在する 8 種類の非同義置換 SNP

表 1 に今回タイピングした 8 種類の非同義置換 SNP の特徴を示す。マイナーアレル頻度 (MAF) が極めて低い SNP に関しては、通常の統計学的解析が困難と判断されたので、今回の検討では MAF が 1 % 以上であった 4 SNP について解析した。

表 1 WRN 遺伝子上に存在する 8 種類の非同義置換 SNP

rs	タイプ	塩基置換	アミノ酸置換	エクソン	機能	MAF
2230009	ミスセンス	340G>A	V114I	4	エクソヌクレアーゼ	0.018
17847577	ナンセンス	1105C>T	R369X	9		0.00031
113811718	ミスセンス	1530A>T	E510D	12		0.0074
77969734	ミスセンス	1882C>G	L628V	16	ヘリカーゼ	0.017
34560788	ミスセンス	2131C>T	R711W	19	ヘリカーゼ	0.00031
1801195	ミスセンス	3222T>G	F1074L	26		0.42
201107091	ミスセンス	3778G>A	A1260T	32		0.00061
1346044	ミスセンス	4099T>C	C1367R	34		0.067

（2）WRN 遺伝子上の各 SNP と大腿骨骨折との関係

表 2 に、MAF が 1 % 以上であった 4 SNP と大腿骨骨折との関係を示す。大腿骨骨折と有意に相関した SNP は rs2230009 のみで、本 SNP の AA 型では骨折頻度 50 %、AG 型では 16.4 %、GG 型では 8.3 % と、本 SNP の A アレルが優性モデルで骨折リスクとなっていた。

表 2 WRN 遺伝子上の各 SNP と大腿骨骨折との関係

rs	タイプ	大腿骨骨折		n	P (Cochran-Armitage)
		頻度 (%)	人数		
rs2230009	AA	1 (50.0%)	2	1574	0.0066*
	AG	9 (16.4%)	55		
	GG	130 (8.3%)	1574		
rs77969734	CC	133 (8.4%)	1577	1577	0.3043
	CG	7 (13.5%)	52		
	GG	0 (%)	2		
rs1801195	GG	25 (8.4%)	299	780	0.4713
	GT	62 (7.9%)	780		
	TT	52 (9.5%)	548		
rs1346044	CC	0 (0%)	6	205	0.2409
	CT	14 (6.8%)	205		
	TT	126 (8.9%)	1418		

（3）rs2230009 (340G>A) と大腿骨骨折との関係

表 3 に、性別と年齢を調整した多重ロジスティック回帰分析の結果を示す。rs2230009 の AA 型ないし AG 型を有する場合、GG 型と比較して、大腿骨骨折のオッズ比は 2.528 倍と有意に高値であった。ちなみに、女性は男性の 2.983 倍、年齢

は10歳ごとに1.746倍骨折リスクが増加することも明らかとなった。

表3 rs2230009 (340G>A) と大腿骨骨折との関係

因子	オッズ比(95%信頼区間)	P
遺伝子型, AA/AG vs GG	2.528 (1.194-5.350)	0.0154*
性別, 女性 vs 男性	2.983 (1.988-4.776)	<0.0001*
剖検時年齢, 10歳毎	1.746 (1.396-2.185)	<0.0001*

(4) WRN 遺伝子多型 rs2230009 (340G>A) と各種臨床指標との関係

大腿骨骨折との有意な関連性を見いだした rs2230009 に関して、二次コホートを用いたバリデーションを行った。閉経後骨粗鬆症患者を対象に、rs2230009 の遺伝子型と各種臨床指標との関連性を検討した成績を表4に示す。有意差検定は年齢、体重、身長は Student's t-test、その他は線形回帰分析(年齢補正)で行った。その結果、大腿骨頸部骨密度は GG 型に比較して AG 型では有意に低値を示すことが明らかとなった。

表4 WRN 遺伝子多型 rs2230009 (340G>A) と各種臨床指標との関係

	GG (n=236)		AG (n=15)		Difference (95% CI)	P
	mean	SD	mean	SD		
年齢(歳)	70.9	8.09	71.7	6.83	0.76 (-3.43 - 4.94)	0.724
体重(kg)	48.0	6.81	44.7	5.00	-3.33 (-6.97 - 0.32)	0.074
身長(m)	150	11.4	140	38.5	-11.2 (-32.6 - 10.1)	0.279
BMI(kg/m ²)	21.0	2.88	20.1	2.51	-0.92 (-2.46 - 0.61)	0.240
四肢筋肉量(kg)	12.7	1.52	12.4	1.48	-0.24 (-1.18 - 0.71)	0.620
SMI(kg/m ²)	5.51	0.54	5.55	0.52	0.03 (-0.31 - 0.37)	0.850
腰椎骨密度(g/cm ²)	0.79	0.14	0.73	0.17	-0.07 (-0.14 - 0.00)	0.068
大腿骨頸部骨密度(g/cm ²)	0.63	0.05	0.59	0.08	-0.04 (-0.08 - -0.00)	0.041
血清カルシウム(mg/dL)	9.65	0.41	9.53	0.31	-0.12 (-0.33 - 0.09)	0.270
血清25水酸化ビタミンD (ng/mL)	21.5	6.45	19.4	5.15	-2.02 (-5.35 - 1.30)	0.230

(5) WRN 遺伝子多型 rs2230009 (340G>A) と脊椎骨折との関係

さらに閉経後骨粗鬆症患者を対象に、rs2230009 の遺伝子型と脊椎骨折との関連性を検討すると、表5に示すとおり、統計学的に有意で

はなかったが、rs2230009 の GG 型に比較して AG 型では、脊椎骨折の総数ならびに重症な脊椎骨折の頻度が高いことが明らかとなった。なお、多発性骨折は2椎体以上、重症骨折は SQ グレード3、有意差検定はロジスティック回帰分析(年齢補正)で行った。

表5 WRN 遺伝子多型 rs2230009 (340G>A) と脊椎骨折との関係

	GG (n=236)	AG (n=15)	OR (95% CI)	P
脊椎骨折(全体)	70 (30%)	7 (47%)	2.09 (0.70-6.23)	0.19
多発性脊椎骨折	40 (17%)	3 (20%)	1.21 (0.32-4.62)	0.78
重症脊椎骨折	24 (10%)	3 (20%)	2.51 (0.60-10.4)	0.23
大腿骨頸部骨折	8 (3%)	0 (0%)	0.00 (0.00-NA)	0.34

(6) WRN 遺伝子多型 rs2230009 (340G>A) と体組成との関係

続いて地域住民を対象に、rs2230009 の遺伝子型と体組成との関連性を検討した。表6に示すとおり、GG 型に比較して AG 型では、全身骨密度が有意に低値であることが明らかとなった。一方、四肢筋肉量ならびに骨格筋指数 SMI には、遺伝子型による差は認められなかった。有意差検定は線形回帰分析(全例では性別・年齢補正、男女別では年齢補正)で行った。

表6 WRN 遺伝子多型 rs2230009 (340G>A) と体組成との関係

	GG		AG		Difference (95% CI)	P
	mean	SD	mean	SD		
全例 (n=269)						
全身骨密度(g/cm ²)	0.87	0.10	0.80	0.06	-0.07 (-0.12 - -0.02)	0.0079
四肢筋肉量(kg)	18.1	3.72	17.8	3.30	-0.48 (-1.89 - 0.94)	0.52
SMI (kg/m ²)	7.40	0.97	7.20	0.85	-0.21 (-0.71 - 0.28)	0.40
女性 (n=136)						
全身骨密度(g/cm ²)	0.81	0.08	0.76	0.03	-0.05 (-0.12 - 0.03)	0.20
四肢筋肉量(kg)	15.2	1.82	15.4	1.39	0.06 (-1.54 - 1.67)	0.94
SMI (kg/m ²)	6.83	0.72	6.90	0.90	0.10 (-0.55 - 0.76)	0.76
男性 (n=133)						
全身骨密度(g/cm ²)	0.93	0.08	0.84	0.05	-0.09 (-0.16 - -0.02)	0.016
四肢筋肉量(kg)	21.1	2.68	20.1	2.98	-0.89 (-3.23 - 1.45)	0.46
SMI (kg/m ²)	7.98	0.85	7.49	0.77	-0.47 (-1.21 - 0.28)	0.22

D. 考察

本研究では、WRN 遺伝子の非同義置換 SNP である rs2230009 と、骨粗鬆症との有意な関連性が示された。本 SNP は WRN 遺伝子のエクソスクレアーゼ領域に位置するが、現時点ではエクソスクレアーゼ活性と骨折との関連性は不明である。

ウェルナー症候群の多彩な表現形質の全てを WRN 遺伝子のヘリカーゼ機能喪失から統一的に説明できるのか、あるいは WRN 遺伝子が有する複数の機能がそれぞれ独立して個々の早期老化徴候をもたらしているのか、本研究を含めて WRN 遺伝子多型と各種疾患との関連解析は、その点に関して重要な示唆を与える研究といえる。

E. 結論

ウェルナー症候群の病因遺伝子 WRN のエクソスクレアーゼ領域に位置する非同義置換 SNP (rs2230009) と骨粗鬆症との関連性が示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Yamada M, Sato N, Ikeda S, Arai T, Sawabe M, Mori S, Yamada Y, Muramatsu M, Tanaka M: Association of the chromodomain helicase DNA-binding protein 4 (CHD4) missense variation p.D140E with cancer: potential interaction with smoking. *Genes Chromosomes Cancer*. 2014 Nov 19. doi: 10.1002/gcc.22227. [Epub ahead of print]
2. Mieno MN, Sawabe M, Tanaka N, Nakahara K, Hamamatsu A, Chida K, Sakurai U, Arai T, Harada K, Mori S, Inamatsu T, Ozawa T, Honma N, Aida J, Takubo K, Matsushita S: Significant association between

hypolipoproteinemia(a) and lifetime risk of cancer: an autopsy study from a community-based geriatric hospital. *Cancer Epidemiology* 38: 550-555, 2014

3. Tamura Y, Izumiya-Shimomura N, Kimbara Y, Nakamura K, Ishikawa N, Aida J, Chiba Y, Mori S, Arai T, Aizawa T, Araki A, Takubo K, Ito H: β -cell telomere attrition in diabetes: inverse correlation between HbA1c and telomere length. *J Clin Endocrinol Metab* 99: 2771-2777, 2014
4. Zhou H, Mori S, Tanaka M, Sawabe M, Arai T, Muramatsu M, Naka Mieno M, Shinkai S, Yamada Y, Miyachi M, Murakami H, Sanada K, Ito H: A missense single nucleotide polymorphism, V114I of the Werner syndrome gene, is associated with risk of osteoporosis and femoral fracture in the Japanese population. *J Bone Miner Metab*, in press
5. Kim M, Shinkai S, Murayama H, Mori S: Comparison of segmental multi-frequency bioelectrical impedance analysis with dual-energy X-ray absorptiometry for the assessment of body composition in community-dwelling older population. *Geriatr Gerontol Int*, in press
6. 森聖二郎: ビスフォスフォネートは大腿骨の非定型骨折のリスクを高める. *新研究情報. Aging&Health*, 22 (68), 4, 2014
7. 森聖二郎: シスタチン C は大腿骨頸部骨折リスクのバイオマーカー? 最新研究情報. *Aging&Health* 22 (69), 4, 2014
8. 森聖二郎: ビタミン D 補充は虚弱高齢者の運動機能を改善する. 最新研究情報. *Aging&Health*, 22 (69), 4, 2014

9. 森聖二郎: 骨粗鬆症性骨折後の死亡率の増加には再骨折も大きく関わる. 最新研究情報. *Aging&Health*, 22 (70), 4, 2014
 10. 森聖二郎: 高感度 CRP は男性でも骨粗鬆症性骨折の独立したリスク因子. 最新研究情報. *Aging&health*, 22 (70), 4, 2014
 11. 稲葉雅章, 寺内公一, 萩野浩, 森聖二郎: 骨粗鬆症治療薬の使い分け—それぞれの薬効に基づいて—. 座談会. *Osteo Lipid Vascular & Endocrinology*, 4, 8-15, 2014
 12. 森聖二郎: カルシウム補充は頸動脈の動脈硬化を促進しない. 最新研究情報. *Aging&Health*, 22 (71), 4, 2014
 13. 森聖二郎: 2 型糖尿病では骨強度が低下しているため骨折頻度が高い. 最新研究情報. *Aging&Health*, 22 (71), 4, 2014
 14. 森聖二郎: 縦断研究でも心肺機能低下は認知機能低下のリスクである. 最新研究情報. *Aging&Health*, 22 (72), 4, 2014
 15. 森聖二郎: 大腿骨頸部骨折のリスクは大動脈石灰化の重症度と関連する. 最新研究情報. *Aging&Health*, 22 (72), 4, 2014
 16. 森聖二郎: 遺伝子多型に基づいた骨粗鬆症のテーラーメイド診療の可能性について. *ビタミン* 88, 566-568, 2014
 17. 森聖二郎: 転倒. すぐに使える高齢者総合診療ノート (大庭建三編集), pp160-164, 日本医事新報社, 2014
 18. 森聖二郎: Werner 症候群. 今日の診断指針 (第 7 版) (金澤一郎, 永井良三編集), 医学書院, 印刷中
 19. 森聖二郎: 骨粗鬆症. すぐに使える入院高齢者の総合診療ノート (神崎恒一編集), 文光堂, 印刷中
2. 学会発表
 1. 森聖二郎, 周赫英, 佐藤謙, 坪井由紀, 小寺玲美, 金原嘉之, 田村嘉章, 千葉優子, 荒木厚, 井藤英喜: ウェルナー症候群の病因遺伝子 WRN の遺伝子多型と骨粗鬆症との関連性について. 第 111 回日本内科学会講演会, 東京, 2014.4.12
 2. 周赫英, 森聖二郎, 佐藤謙, 坪井由紀, 小寺玲美, 金原嘉之, 田村嘉章, 千葉優子, 荒木厚, 井藤英喜: ウェルナー症候群の病因遺伝子 WRN の遺伝子多型と骨粗鬆症との関連性について. 第 57 回日本老年医学会学術集会・総会, 福岡, 2014.6.12
 3. 森聖二郎: 遺伝子多型に基づいた骨粗鬆症のテーラーメイド診療の可能性について. 日本ビタミン学会第 66 回大会シンポジウム 2「栄養と臨床におけるビタミンの遺伝子多型に基づいたテーラーメイド摂取の有用性」, 兵庫, 2014.6.14
 - G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
 1. 特許取得
該当なし
 2. 実用新案登録
該当なし
 3. その他
特記すべきことなし。

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Takemoto M, Yamaga M, Furuichi Y, <u>Yokote K.</u>	Astaxantin improved non-alcoholic fatty liver disease in Werner syndrome with diabetes	J Am Geriat Soc	-	in press	2015
Shimamoto A, Yokote K, Tahara H	Werner Syndrome-specific induced pluripotent stem cells: recovery of telomere function by reprogramming.	Frontiers in Genetics	-	in press	2015
Toda N, Ihara K, Takemoto M, Yokote K, Hara T	Endocrine and metabolic abnormalities in a patient with childhood Werner syndrome.	J Am Geriatr Soc	62(7)	1404-1405	2014
Ochiai M, Kinjo T, Takahata Y, Iwayama M, Abe T, Ihara K, Ohga S, Fukushima K, Kato K, Taguchi T, Hara T	Survival and neurodevelopmental outcome of preterm infants born at 22-24 weeks of gestational age.	Neonatology	105(2)	79-84	2014
Shimamoto A, Kagawa H, Zensho K, Sera Y, Kazuki Y, Osaki M, Oshimura M, Ishigaki Y, Hamasaki K, Kodama Y, Yuasa S, Fukuda K, Hirashima K, Seimiya H, Koyama H, Shimizu T, Takemoto M, Yokote K, Goto M, Tahara H	Reprogramming Suppresses Premature Senescence Phenotypes of Werner Syndrome Cells and Maintains Chromosomal Stability over Long-Term Culture.	PLOS One	9(11)	e112900	2014

IV. 研究成果の刊行物・別刷