

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

ウェルナー症候群に合併する骨粗鬆症の遺伝素因と環境因子との関わりについて

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が、それが遺伝素因によるものか、あるいは環境因子の影響か、未だ不明である。我々が経験したウェルナー症候群 10 例では、腰椎で評価すると骨粗鬆症レベルの骨密度を示したのは 1 例のみであったが、大腿骨頸部で評価すると 6 例が骨粗鬆症レベルの骨密度を示した。すなわち本症候群の骨粗鬆症は、腰椎に比較して大腿骨において重症となることが明らかとなった。さらに、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 遺伝子の非同義置換 SNP である rs2230009 (340G>A, V114I) と大腿骨骨折罹患率との関連解析を行ったところ、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。さらに閉経後骨粗鬆症患者 251 例（平均年齢 71 歳）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<sup>2</sup>, 95% CI:  $-0.08 \sim -0.00$ ,  $p < 0.05$ ) であった。以上の結果から、rs2230009 と、大腿骨骨折ならびに大腿骨頸部骨密度との有意な関連性が示された。本 SNP は WRN 遺伝子のエクソヌクレアーゼ領域に位置するが、現時点ではエクソヌクレアーゼ活性と骨粗鬆症との関連性は不明である。本症候群に合併する骨粗鬆症が腰椎に比較して大腿骨において重症となる理由に関しては、本症候群の特徴である四肢の筋萎縮や皮膚潰瘍形成などによる身体活動量の減少、すなわち廃用の影響が考えられた。一方、WRN 遺伝子多型が主として大腿骨骨折ならびに大腿骨骨密度と関連していたことから、遺伝的素因の関与も否定できない。

A. 研究目的

ウェルナー症候群は代表的な遺伝性早老症候群の一つであり、ヒト加齢に伴う様々な変化と類似した病態を若年期より呈する。その中で骨粗鬆症は、本症候群に見られる特徴的な早期老化兆候の一つとされている。

我々は、平成 26 年度の研究成果として、病因遺伝子 WRN の非同義置換一塩基多型 (nsSNP) である rs2230009 と骨粗鬆症との有意な関連性を示した。さらに、平成 28 年度の研究成果として、自験例ならびに報告例をもとに、本症候群における骨粗鬆症

の臨床像を明らかにした。そこで本研究では、これまでの研究成果を統合して、本症候群に合併する骨粗鬆症の環境因子と遺伝素因との関わりについて検討を加えた。

## B. 研究方法

千葉大学医学部附属病院に通院する本症候群患者 10 例を対象とした。表 1 に示すとおり、女性 5 例、男性 5 例であった。本症候群の診断は特徴的な臨床症状に加え、末梢血白血球より抽出した DNA を用いた遺伝子診断によって決定した (表 1)。骨密度は DXA (dual energy x-ray absorptiometry) 法によって測定した。

東京都健康長寿医療センター連続剖検 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

伝子上の nsSNP である rs2230009 (340G>A、V114I) 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。さらに当センター閉経後骨粗鬆症患者 251 例 (平均年齢 71 歳) 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) 本研究は匿名化されたデータに基づいて行った。データ解析は診療録に記載されている通常診療にて得られたデータのみを用いて行い、本研究のために特別に行った検査はない。対象者からは、診療情報ならびに生体サンプル (DNA を含む) を将来の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。本研究は千葉大学医学部附属病院ならびに東京都健康長寿医療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

表1 ウェルナー症候群10例の骨密度

症例	性別	年齢 (歳)	WRN 変異	腰椎骨密度(L <sub>2-4</sub> )			大腿骨頸部骨密度		
				g/cm <sup>2</sup>	T-score SD	%YAM	g/cm <sup>2</sup>	T-score SD	%YAM
1	男	57	6/6	0.730	-2.7	70	0.601	-2.1	70
2	女	60	6/6	0.804	-2.1	78	0.452	-3.1	57
3	女	57	4/6	0.790	-1.9	78	0.351	-4.0	45
4	男	40	4/11	1.116	0.6	107	-	-	-
5	女	60	4/4	0.803	-1.8	79	0.533	-2.3	68
6	女	40	11/11	0.983	-0.2	97	0.582	-1.9	74
7	男	51	4/7	0.971	-0.6	93	0.508	-2.8	59
8	女	42	4/4	0.892	-1.0	88	0.598	-1.7	76
9	男	43	4/4	0.890	-1.3	85	0.697	-1.3	81
10	男	53	4/-	0.901	-1.1	85	0.606	-2.0	70

承認されている。

### C. 研究結果

本症候群10例の骨密度を表1に示す。わが国の骨粗鬆症の診断基準は骨密度が若年成人平均値 (YAM) の 70%以下または Tスコア-2.5 SD 以下とされている。そこで腰椎骨密度で評価すると、骨粗鬆症レベルの骨密度を示したのは症例 1 のみであった。椎骨レントゲン所見は 6 例で得られたが、明らかな骨粗鬆症性の脆弱性骨折は認めなかった。一方、大腿骨頸部骨密度で評価すると、骨粗鬆症レベルの骨密度を示したのは 6 例 (症例 1、2、3、5、7、10) であった。

続いて連続剖検例における rs2230009 (340G>A) と大腿骨骨折との関係を検討した。表 2 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。

表2 WRN遺伝子多型(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

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。

大腿骨骨折との有意な関連性を見いだした rs2230009 に関して、さらに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

表3 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 <sup>2</sup> )	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 <sup>2</sup> )	5.51	0.54	5.55	0.52	0.03 (-0.31 - 0.37)	0.850
腰椎骨密度(g/cm <sup>2</sup> )	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/m <sup>2</sup> )	0.63	0.08	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

た成績を表 3 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。

#### D. 考察

ウェルナー症候群に合併する骨粗鬆症は、腰椎に比較して大腿骨において重症となることが明らかとなった。さらに、WRN 遺伝子の nsSNP である rs2230009 と、大腿骨折ならびに大腿骨頸部骨密度との有意な関連性が示された。本 SNP は WRN 遺伝子のエクソヌクレアーゼ領域に位置するが、現時点ではエクソヌクレアーゼ活性と骨粗鬆症との関連性は不明である。

#### E. 結論

本症候群に合併する骨粗鬆症が腰椎に比較して大腿骨において重症となる理由に関しては、本症候群の特徴である四肢の筋萎縮や皮膚潰瘍形成などによる身体活動量の減少、すなわち廃用が影響している可能性がある。一方、WRN 遺伝子多型が主として大腿骨骨折ならびに大腿骨骨密度と関連していたことから、遺伝的素因の関与も考えられた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Thu, K.S., Sato, N., Ikeda, S., Naka-Mieno, M., Arai, T., Mori, S., Sawabe, M., Muramatsu, M., Tanaka, M.: Association of polymorphisms of the transporter associated with

antigen processing (TAP2) gene with pulmonary tuberculosis in an elderly Japanese population. *APMIS*, 124: 675-80, 2016

2. Zhou, H., Mori, S., Ishizaki, T., Takahashi, A., Matsuda, K., Koretsune, Y., Minami, S., Higashiyama, M., Imai, S., Yoshimori, K., Doita, M., Yamada, A., Nagayama, S., Kaneko, K., Asai, S., Shiono, M., Kubo, M., Ito, H.: Genetic risk score based on the prevalence of vertebral fracture in Japanese women with osteoporosis. *Bone Rep.*, 5: 168-172, 2016
3. Tamura, Y., Izumiyama-Shimomura, N., Kimbara, Y., Nakamura, K., Ishikawa, N., Aida, J., Chiba, Y., Matsuda, Y., Mori, S., Arai, T., Fujiwara, M., Poon, S.S., Ishizaki, T., Araki, A., Takubo, K., Ito, H.: Telomere attrition in beta and alpha cells with age. *Age (Dordr)*. 2016 Jun;38(3):61. Epub 2016 May 24
4. Tanisawa, K., Arai, Y., Hirose, N., Shimokata, H., Yamada, Y., Kawai, H., Kojima, M., Obuchi, S., Hirano, H., Yoshida, H., Suzuki, H., Fujiwara, Y., Ihara, K., Sugaya, M., Arai, T., Mori, S., Sawabe, M., Sato, N., Muramatsu, M., Higuchi, M., Liu, Y.W., Kong, Q.P., Tanaka, M.: Exome-wide association study identifies CLEC3B missense variant p.S106G as being associated with extreme longevity in east Asian

- populations. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2016 May 6. pii: glw074. [Epub ahead of print]
5. Zhou, H., Mori, S., Ishizaki, T., Tanaka, M., Tanisawa, K., Mieno, M.N., Sawabe, M., Arai, T., Muramatsu, M., Yamada, Y., Ito, H.: Genetic risk score based on the lifetime prevalence of femoral fracture in 924 consecutive autopsies of Japanese males. *J. Bone Miner. Metab.*, 34: 685-691, 2016
  6. Mori, S., Zhou, H., Yamaga, M., Takemoto, M., Yokote, K.: Femoral osteoporosis is more common than lumbar osteoporosis in patients with Werner syndrome. *Geriatr. Gerontol. Int.*, in press
  7. Zaw, K.T.T., Sato, N., Ikeda, S., Thu, K.S., Mieno, M.N., Arai, T., Mori, S., Furukawa, T., Sasano, T., Sawabe, M., Tanaka, M., Muramatsu, M.: Association of ZFH3 gene variation with atrial fibrillation, cerebral infarction, and lung thromboembolism: an autopsy study. *J. Cardiol.*, in press
  8. Mori, S., Zhou, H.: Implementation of personalized medicine for fracture risk assessment in osteoporosis. *Geriatr. Gerontol. Int.*, 16 (Suppl. 1): 57-65, 2016
  9. 森聖二郎: 2型糖尿病では血糖管理の良否と骨折リスクが関連している. 最新研究情報. *Aging&Health*, 24 (76), 4, 2016
  10. 森聖二郎: 骨粗鬆症. Common disease の GWAS. *CLINICAL CALCIUM*, 26, 537-543, 2016
  11. 森聖二郎: 新規骨粗鬆症治療薬ブロソツマブ (抗スクレロスチン抗体) . 最新研究情報. *Aging&Health*, 25 (77), 4, 2016
  12. 森聖二郎: 果物と野菜の日常的摂取は大腿骨頸部骨折の予防にも有益. 最新研究情報. *Aging&Health*, 25 (77), 4, 2016
  13. 森聖二郎: 骨形成不全症原因遺伝子のレアバリエントと骨粗鬆症との関係. 最新研究情報. *Aging&Health*, 25 (78), 4, 2016
  14. 森聖二郎: カロリー制限は寿命を延長する可能性はあるが骨は大丈夫か? 最新研究情報. *Aging&Health*, 25 (78), 4, 2016
  15. 森聖二郎: 生活習慣病診療における骨粗鬆症への対応. だより (練馬区医師会発行), 第 577 号 (4 月) , 1-8, 2016
  16. 森聖二郎: ウェルナー症候群の最新知見. *小児科* 57, 1113-1119, 2016
  17. 森聖二郎: カルシウムの経口摂取のみでは骨折抑制効果は期待できない? 最新研究情報. *Aging&Health*, 25 (79), 4, 2016
  18. 森聖二郎: ADMA はサルコペニアのバイオマーカーにもなりうる? 最新研究情報. *Aging&Health*, 25 (79), 4, 2016
  19. 森聖二郎: 血中 IGFBP-1 は骨粗鬆症性骨折の新規バイオマーカーか? 最新研究情報. *Aging&Health*, 25 (80), 4, 2017

20. 森聖二郎: 総合診療医に求める骨粗鬆症の診療, 内分泌専門医の立場から. Gノート, 4 (1), 2017, 印刷中
21. 森聖二郎: 転倒. すぐに使える高齢者総合診療ノート改訂第2版 (日本医事新報社) (大庭建三編集), 印刷中
2. 学会発表
1. Zhou, H., Mori, S., Kubo, M., Ito, H.: Genetic risk score based on the prevalence of vertebral fracture in Japanese women with osteoporosis. Oral Presentation at the IOF Regionals 6th Asia-Pacific Osteoporosis Meeting, Singapore, 2016.11.5. Osteoporos. Int., 27 (Suppl. 3): S703–S704, 2016.
2. 森聖二郎, 田中雅嗣, 山岡巧弥, 小寺玲美, 佐藤謙, 坪井由紀, 田村嘉章, 千葉優子, 荒木厚, 井藤英喜: 閉経後骨粗鬆症患者ならびに地域住民においてサルコペニアに関わる遺伝子多型について. 第113回日本内科学会講演会, 東京, 2016.4.16
3. 周赫英, 森聖二郎, 山岡巧弥, 佐藤謙, 坪井由紀, 小寺玲美, 田村嘉章, 千葉優子, 荒木厚, 井藤英喜: 閉経後骨粗鬆症において脊椎骨折と関連する遺伝子多型について. 第59回日本老年医学会学術集会・総会, 金沢, 2016.6.8
4. 沢辺元司, 荻島創一, 周赫英, 森聖二郎, 田中雅嗣, 三重野牧子, 新井富生, 前田裕子, 村松正明: 喫煙関連腹部大動脈瘤の遺伝子セットエンリッチメント解析. 第59回日本老年医学会学術集会・総会, 金沢, 2016.6.9
- 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。