

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

我が国におけるウェルナー症候群の最近の遺伝子型変異頻度に関する検討

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

旗持 淳 獨協医科大学 皮膚科

花岡 英紀 千葉大学・医学部附属病院 臨床試験部

研究要旨

ウェルナー症候群（WS）は RecQ 型ヘリケースの変異により生じる我が国多い遺伝性早老症である。1978 年～1981 年の研究により常染色体劣性様式で遺伝することが明らかとなり、1997 年には我が国では mut4 のホモ型変異が最も多いことが報告されている。一方、最近の WS の遺伝子変異頻度のトレンドや各遺伝子型と表現型との関連に関しては不明である。そこで、平成 21 年以降当施設で遺伝子検査を行った 67 症例の遺伝子型ならびに 1997 年以降の日本人 WS の症例報告の遺伝子型を解析するとともに、遺伝子型と表現型との関連についても検討を行った。

A. 研究目的

ウェルナー症候群（WS）は RecQ 型ヘリケースの変異により生じる我が国多い遺伝性早老症である。平成 21～25 年度の厚生労働科学研究により、我々は WS の診断基準改定と治療指針を完成し、平成 26 年度の政策研究事業では WS 重症度分類を作成した。この間、日本全国から遺伝子診断の依頼があり、67 症例の遺伝子診断をしてきた。本研究は平成 21 年から我々が行った遺伝子診断の結果ならびに、平成 9 年（1997 年）以降からこれまでに報告された WS 症例の遺伝子診断結果をまとめて、最近の WS の遺伝子型変異頻度のトレンドならびに遺伝子型と表現型との相関に関して検討した。

B. 研究方法

対象：平成 21 年～平成 26 年 10 月まで当施設で遺伝子診断を行った 67 症例。

文献検索は medical online database

(<http://mol.medicalonline.jp/library/>)

と PubMed

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>)

を用いて検索した。検索キーワードは、

“Werner syndrome” [All Fields] AND

{Case Reports (ptyp) AND か[“1996/01/01”

(PDAT): “3000/12/31” (PDAT)]}であり、

平成 9 年以降に発表され、かつ我々が遺伝子診断を行った症例報告は除外した。

遺伝子診断：EDTA 2Na 採血からゲノム DNA を QIAamp DNA Blood Mini Kit を用いて抽出した。ウェルナー遺伝子をコードするエクソンは既報の方法に基づいて増殖しダイレクトシーケンス法にて塩基配列を検討

した(1)。これまでわが国で報告がある11か所の遺伝子部位を最初に検討し、その部位に変異を認めなかった場合には全エクソンシーケンスを行った。

統計解析：二群間比較は χ^2 テストを用いてp values 0.05未満を統計学的有意とした。解析はJMP Pro12 software (SAS Institute Japan, Tokyo, Japan)を用いた。

C. 研究結果

26都道府県から計67症例の遺伝子検査の依頼があった。依頼は内科からが多く(32.8%)、続いて皮膚科(19.4%)であった。67症例中50症例にウェルナー遺伝子(WRN)変異を認めた。Medical online databaseを用いた検索では186症例の症例報告中、49症例が日本人症例であり、その内の6症例に遺伝子型が報告されており、3症例は我々が遺伝子診断した症例であった。一方、Pubmedでは151症例の報告があり、日本人症例51症例のうち15症例に遺伝子診断がなされていた。同一症例の報告と思われるものはマニュアルで省いた。結果、13症例が残り、計16症例の遺伝子型と臨床情報を得た。

表1に遺伝子型の内訳を示す。41症例がホモ型変異、21症例が複合型ヘテロ変異、4症例がヘテロ変異(一アレルの変異しか同定できなかった症例)であった。

表1に平成9の我が国の報告(2)との比較を示す。ホモ型変異の割合は変わらないが、複合型ヘテロ変異の割合は統計学的有意差をもって増加していた。(31.8% vs. 14.2%, $P = 0.023$)。また、今回の検討により新しい遺伝子変異も同定することができた(表1)。

続いて、複合型ヘテロ変異とホモ型変異の表現型の違いに関して検討した。WSでは多くの臨床症状が40歳までに出現することから40歳以上の症例で比較検討した。表現型に関しては診断基準で用いられている項目に関して検討した。その結果、糖代謝異常の頻度が複合型ヘテロで多い傾向にあったが、有意差なく、他の表現型出現頻度に関しても複合型ヘテロ変異とホモ型と間で差がなかった(表2)。

D. 考察

1978年~1981年の研究によりWSは常染色体劣性様式で遺伝することが明らかとなった(3)。また神奈川県在住の1000人を対象としてWRN遺伝子検査の出現頻度が検討された(2)。その結果、6名のヘテロ変異が同定され、計算上、毎年23名のホモ接合体が我が国で出生すると推定されている。

これまでWRN遺伝子のナンセンス変異、スプライシングやフレームシフト変異など合わせて83種類の変異が報告されている。

国によりドミナントな遺伝子変異型が異なり、我が国ではエクソン26の直前の塩基がGからCへ変異することによるスプライシング異常(mut4)が多く、mut6が続く。

今回の調査においてもmut4が48%と最多であり、以前の報告とほぼ変わらない。ホモ型変異は近親婚によって生じる。一方、複合型ヘテロ変異の増加は近親婚以外の発症の増加を示唆する。以前の報告ではWS患者両親の70%に近親婚を認めたが、近年の我々の調査では43%に低下していた(4)。この近親婚の減少を反映して複合型ヘテロ変異が増加していると考えられる。

近親婚減減少の要因の一つに交通機関の発達や都市化により人の移住が活発になったことが挙げられる。

以前の報告ではヘテロ変異は56症例中7症例であったのに対し、今回は66症例中4例と統計学的な有意差はないが、実数は減少している。また新規の遺伝子変異の同定もできた。そのため今回の結果には、遺伝子のシーケンス技術向上が影響している可能性もある。

多くの遺伝子変異型がWSにおいて報告されているが、特定の遺伝子型に特徴的な表現型の報告は殆どなく、一部の遺伝子型で甲状腺がんの組織型に違いがある可能性が報告されている。今回の我々の検討においても複合型ヘテロ変異とホモ型変異の表現型に明らかな差を認めなかった。しかし、今回の検討事項は診断基準に記載されている出現頻度の高い臨床症状のみの検討であり、悪性腫瘍の組織型などの詳細な検討はできていない。また症例報告では全ての臨床所見は記載不可能であり、今回の検討の限界の一つである。

今後は多数例を長期に前向きに観察することにより特定の遺伝子変異に特徴的な表現型を明らかにすることができる可能性がある。特にWSでは悪性腫瘍や動脈硬化性疾患により生命予後が左右されるため、遺伝型と腫瘍の種類、進行度や動脈硬化性疾患の疾患感受性の違いを明らかにすることは臨床的な意義は大きい。

今回、新規遺伝子変異を同定した一方で、全エクソンシーケンスを行ってもヘテロ変異しか同定できなかった症例があった。

今後は *WRN* 遺伝子以外の、*LMNA* 遺伝子などの検討も必要と思われる、このような検討を継続することにより新しい遺伝性早老症の同定につながる可能性がある。

E. 結論

我が国では複合型ヘテロ変異のWSが増加している。

表1 遺伝子変異の内訳

	Number of patients from this report (%)	Number of patients from previous report (%)	P value
Mutation (homozygote)	42 (63.6)	41 (73.2)	0.19
Mut 1/1	0 (0)	1 (1.8)	0.8
Mut 4/4	31 (47.0)	26 (46.4)	0.95
Mut 5/5	0 (0)	1 (1.8)	0.28
Mut 6/6	9 (15.1)	9 (16.1)	0.71
Mut 7/7	1 (1.5)	1 (1.8)	0.91
Mut 8/8	0 (0)	1 (1.8)	0.28
Mut 9/9	0 (0)	1 (1.8)	0.28
Mut 10/10	0 (0)	1 (1.8)	0.28
Mutation	21 (31.8)	8 (14.2)	
(compound heterozygote)			0.023
Mut 4/6	6 (9.1)	3 (5.4)	0.43
Mut 4/7	5 (7.6)	0 (0)	0.04
Mut 1/4	2 (3.0)	5 (8.9)	0.16
Mut 4/11	3 (4.5)	0 (0)	0.11
Mut 4/ IVS 14+1 G>A	1 (1.5)	0 (0)	0.36
Mut 1/11	1 (1.5)	0 (0)	0.36
Mut 1/6	1 (1.5)	0 (0)	0.36
Mut 1/	1 (1.5)	0 (0)	
3030-3033delAACC			0.36
Mut 6/ 2772delA (Nobel mutation)	1 (1.5)	0 (0)	0.36
Mutation (heterozygote)	4 (6.1)	7 (12.5)	0.22
1/?	2 (3.0)	2 (3.6)	0.87
4/?	2 (3.0)	4 (7.1)	0.30
6/?	0 (0)	1 (1.8)	0.28
Total	66	56	

表2 遺伝子型と表現型との関係

Genotype	Homozygote		Compound heterozygote		P value
	+	-	+	-	
I Cardinal signs and symptoms					
1. Progeroid changes of hair	22	1	12	1	0.68
2. Cataract	26	0	14	0	N/A
3. Changes of skin. Intractable skin ulcers	25	1	14	0	0.35
4. Soft-tissue calcification	18	0	11	0	N/A
5. Bird-like face	19	3	9	1	0.77
6. Abnormal voice	16	5	9	1	0.34
II Other signs and symptoms					
1. Abnormal glucose and/or lipid metabolism	16	11	12	2	0.07
2. Deformation and abnormality of the bone	13	3	9	0	0.09
3. Malignant tumors	7	14	1	9	0.14
4. Parental consanguinity	14	11	0	12	0.001
5. Premature atherosclerosis	3	11	4	4	0.17
6. Hypogonadism	1	8	1	4	0.65
7. Short stature and low body weight	13	13	6	6	1

参考論文

1. Yu CE, Oshima J, Wijsman EM, et al. Mutations in the consensus helicase domains of the Werner syndrome gene. Werner's Syndrome Collaborative Group. Am J Hum Genet. 1997;60:330-341.
2. Goto M, Tanimoto K, Horiuchi Y, Sasazuki T. Family analysis of Werner's syndrome: a survey of 42 Japanese families with a review of the literature. Clin Genet. 1981;19:8-15.
3. 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.
4. Takemoto M, Mori S, Kuzuya M, et al. Diagnostic criteria for Werner syndrome based on Japanese nationwide epidemiological survey. Geriatr Gerontol Int. 2013;13:

475-481.

F. 研究発表

1. 論文発表

Recent Trends in WRN Gene Mutation Patterns in Individuals with Werner Syndrome. Yamaga M, Takemoto M, Takada-Watanabe A, Koizumi N, Kitamoto T, Sakamoto K, Ishikawa T, Koshizaka M, Maezawa Y, Yokote K. J Am Geriatr Soc. 2017

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。