

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患政策研究事業)

ホルモン受容機構異常に関する調査研究

分担研究報告書

Wolfram 症候群の検討(実態調査に基づく早期診断法の確立と治療指針作成)

研究分担者 谷澤 幸生 山口大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨:平成 22-23 年度厚生労働省難治性疾患克服研究事業「Wolfram 症候群の実態調査に基づく早期診断法の確立と治療指針作成のための研究」により調査した症例の再検討及び、その後、遺伝子検査の依頼等により蓄積された症例の解析により、診断基準改定に関する要否の確認を行った。同時に、引き続き Wolfram 症候群、Wolfram 症候群関連疾患について、自経例や海外での症例報告を含め文献調査を行い、日本人の疫学調査の結果と合わせて考察を加え、WFS1 遺伝子異常による疾患の多様性を明らかにすることを試みた。剖検例について、膵内分泌の病理を詳細に検討した。また、成人典型例の1例で糖尿病に対する GLP-1 受容体作動薬の臨床効果を検討した。

遺伝子解析および臨床情報に基づき日本人 Wolfram 症候群は多様であり、臨床的には典型例と考えられても WFS1 遺伝子変異が同定されない症例や、変異が同定されても糖尿病や視神経萎縮を欠く非定型例や糖尿病に比し視神経萎縮の発症が遅く、診断が遅れる症例が存在する。また、海外において優性遺伝する WFS1 遺伝子異常症も報告され、WFS-like syndrome とも呼ばれている。これまでに我々が解析した症例でも一方の対立遺伝子の変異が同定された症例が 3 例存在し、家族歴がない事から、優性形質を与える変異の孤発例である可能性があるが、エクソン以外の解析範囲外に変異が存在する可能性は完全には否定できない。典型的な Wolfram 症候群例では、今回新たに遺伝子解析を行った患者を含めて疾患発症年齢は 1 才未満から最高齢で 29 才と幅広い。そのため、30 歳未満で発症した糖尿病と視神経萎縮合併及び遺伝子診断を併用する診断基準からの改定は現時点では必要ないと判断した。希少疾患ゆえ症例数が少なく、さらに根本的治療法もないため診療指針は概略にとどまり、今後さらに症例を蓄積しながら詳細にする必要がある。一方、剖検例での解析より、膵β細胞消失についてβ細胞の脱分化を含む細胞可塑性との関連が示唆された。また、1例での観察ではあるが、インスリン分泌が残存する典型例において GLP-1 受容体作動薬がインスリン分泌能と血糖コントロールが部分的に改善することを確認した。膵内分泌の病理や GLP-1 受容体作動薬の臨床効果に対する理解を深めていくことで今後の治療法の開発につながる可能性がある。

A. 研究目的

我が国における Wolfram 症候群の実態を解明し、日本における疫学調査と海外を含めた文献調査により、診断基準の妥当性を検証する。Wolfram 症候群(WFS)は一般には常染色体劣性遺伝であるが、海外からは

優性遺伝する例や、WFS1 遺伝子異常を持つが、典型的症候のうち糖尿病を欠くなど、「不全型」が報告されている。しかしながら、その実態や disease entity は定まっていないため、日本で行った全国疫学調査結果を見直し、新たに登録される不全型を含む患者

で同意が得られたものに対する遺伝診断、国内外での文献検索により、WFS-like syndrome の概念と日本での頻度を明らかにすることも合わせて目的とする。このことにより、Wolfram 症候群および関連疾患の疾患概念を明確にし、診断基準の精緻化をめざす。また、Wolfram 症候群の主要徴候である糖尿病の病態をより明確にし、将来の治療法開発の基礎とするため、患者剖検臓の組織学的解析および典型例 1 例における GLP-1 受容体作動薬の臨床効果を解析した。

## B. 研究方法

平成 22-23 年度厚生労働省難治性疾患克服研究事業「Wolfram 症候群の実態調査に基づく早期診断法の確立と治療指針作成のための研究」により調査および遺伝子解析の依頼などにより蓄積された疫学調査結果の再分析、新たに依頼された症例の臨床記録および遺伝子検査結果を解析した。合わせて、海外を含む症例報告の文献調査を行った。患者剖検臓の病理組織学的検討は、通常の HE 染色に加えて、膵ホルモン(インスリン、グルカゴン、ソマトスタチン、膵ポリペプチド)、クロモグラニン A に対する抗体を用いた免疫組織学的検討を行った。

典型例成人患者に対して、インスリン治療に GLP-1 受容体作動薬を併用し、その臨床効果を解析した。

(倫理面への配慮)

ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成 29 年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号)、人を対象とする医学研究に関する倫理指針(平成 29 年文部科学省・厚生労働省告示第 3 号)に従い、山口

大学医学部・医学部附属病院の倫理審査委員会において審査・承認を受けて研究を行った。研究対象者に対して、必要な人権擁護上の配慮、研究方法による不利益、危険性の排除を行い、説明と同意(インフォームド・コンセント)を得て研究を実施した。

## C. 研究結果

Wolfram 症候群には遺伝的多様性が存在することは明らかであるが、新たに遺伝子診断を行った 6 歳と 7 歳の男児兄弟例では糖尿病、視神経萎縮を合併し、臨床的には定型例と考えられたが、WFS1 遺伝子異常を認めなかった。また、小児期発症の糖尿病と視神経萎縮により本症が考えられた 26 歳女性では、無ガンマグロブリン血症、低身長および Pelger-Huet 異常を伴う好中球分葉異常を合併しており、WFS1 遺伝子異常を認めなかった。一方、WFS1 遺伝子変異を持つ患者にも臨床徴候や経過に多様性が見られる。WFS1 遺伝子において Gly674Arg と Gln14Arg の複合ヘテロ変異が同定された 50 歳の女性では、8 歳で糖尿病を発症し、約 40 年後に視神経萎縮を診断されている。この症例では、最近急激な小脳失調の進展も認めている。このような症例では、若年での糖尿病発症のみでは、遺伝子検査を行われる可能性は少なく、診断が遅れる。また、非定型例も確認されており、WFS1 遺伝子において Arg456His と Gly576Ser の複合ヘテロ変異が同定された 13 歳の男児例では、中枢性尿崩症、感音性難聴、腎尿路異常とともに中枢神経症状を呈したが主要徴候の糖尿病と視神経萎縮が未発症であった。

海外では WFS1 遺伝子の変異が dominant な形質を与え、優性遺伝している例が報告され Wolfram-like syndrome と称さ

れている。これまでに我々が解析した症例でも一方の対立遺伝子の変異が同定された症例が3例存在し、家族歴がないことから、優性形質を与える変異の孤発例である可能性があるが、エクソン以外の解析範囲外に変異が存在する可能性は完全には否定できない。

典型的な臨床症状を有する Wolfram 症候群の2症例(内、1症例は遺伝子診断済み)の3剖検臓の解析を続けている。インスリン抗体により陽性に染まる細胞は著減していた。この所見は既報の通りである。1例ではグルカゴン陽性細胞の増加とともに膵島内にホルモン非産生の内分泌細胞(クロモグラニン A 陽性)を多数認めたが、他の1例ではクロモグラニン陽性内分泌細胞が著減していた。内分泌細胞が著減している例では、膵島様の構造を取りながらアミラーゼ陽性細胞で構成され、多くの膵島細胞で間葉細胞系マーカーであるビメンチンを発現する。このことから、Wolfram 症候群では膵島細胞の分化異常が糖尿病の病態形成に関与することが推察される。

インスリン分泌能がわずかに残存する典型例の26歳女性症例(WFS1 遺伝子診断済み)でインスリン治療に GLP-1 受容体作動薬を併用し、その臨床効果を解析した。併用開始より6ヶ月間の観察において内因性インスリン分泌が増加し、併用前に比しインスリン投与量が20%減量された。さらに、併用により低血糖発作が減少、患者 QOL 改善に寄与することが見込まれた。この患者では、GLP-1 受容体作動薬の投与を継続しており、今後、長期投与による膵内分泌機能および中枢神経などに対する保護効果を確認していく予定である。GLP-1R 受容体作動薬の使用は倫理審査会の審査・承認後、患者より

同意取得を得て行なわれた。

#### D. 考察

現時点においては我が国での診断基準の改定の必要はないと考えられる。しかし、疾患の多様性を考慮し、一部の症候の発症が遅れる患者に対しては、診断の感度を上げるための診断基準の精緻化が求められる。一方、非定型例を含め、WFS1 遺伝子異常症、それ以外の原因による Wolfram 症候群を適切に診断できる診断基準、亜分類が必要であり、遺伝子診断や、臨床徴候に基づいてさらに亜分類が必要になる可能性がある。その際には診断基準の改定が必要になるが、さらなる症例の蓄積とその詳細な分子遺伝学的、臨床的研究が必要である。

患者の剖検臓を用いた解析より Wolfram 症候群の成因および病態を考える上で重要な知見が得られつつある。近年、糖尿病における $\beta$ 細胞不全のメカニズムとして $\beta$ 細胞の脱分化、さらには別のリニエージへの再分化(運命転換)の可能性が示唆されており、Wolfram 症候群患者の $\beta$ 細胞では、このような細胞可塑性が $\beta$ 細胞喪失(表現型の喪失)に繋がっている可能性が示唆される。Wolfram 症候群では従来、小胞体ストレスを中とする慢性ストレスが負荷された状態の $\beta$ 細胞がアポトーシスによって消失すると考えられてきたが、今回の解析結果はアポトーシス以外の可能性を示唆するものであり、今後の治療法の開発に繋がることが期待される。

Wolfram 症候群に対する発症や進行を遅らせる治療法は確立されていない。患者で確認された GLP-1 受容体作動薬の臨床効果より、糖尿病に対して少なくとも短期間でのベネフィットが期待できることが示唆された。GLP-1 受容体作動薬は糖尿病病態におい

て膵  $\beta$  細胞での小胞体ストレスを軽減することが報告されており、Wolfram 症候群の病態改善にもつながる可能性がある。今後、さらに膵内分泌機能および中枢神経に対する長期効果を明らかにすることで、Wolfram 症候群に対する本剤の有用性を明らかにすることができれば、本剤による補助療法の開発につながる可能性がある。

#### E. 結論

日本では糖尿病、視神経萎縮の発症(診断)を 30 歳未満とする診断基準の改定は現時点では必要ないと考える。しかし、今後、疾患亜分類などに伴い改定が必要となる可能性がある。広義の WFS1 遺伝子異常症の実態を含め、今後明らかにすべき点は多い。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Kondo M, Tanabe K, Amo-Shiinoki K, Hatanaka M, Morii T, Takahashi H, Seino S, Yamada Y, Tanizawa Y. Activation of GLP-1 receptor signaling alleviates cellular stresses and improve beta cell function in a mouse model of Wolfram syndrome. *Diabetologia* 61; 2189-2201, 2018

##### 2. 学会発表

- 1) Tanizawa Y. Medical and Genetic alleviation of cellular stress restore  $\beta$ -cell function in Wolfram syndrome. 7th International Workshop on Wolfram Syndrome, Paris, France, June 11th to

12th 2018

- 2) Amo-Shiinoki K, Tanabe K, Hatanaka M, Tanizawa Y. Amo-Shiinoki K, Tanabe K, Hatanaka M, Tanizawa Y. Metabolic insufficiency caused by cellular stresses is implicated to  $\beta$  cell dedifferentiation in the mouse model of Wolfram Syndrome. 78th American Diabetes Association Scientific Sessions. Orlando, FL, USA, June 22-26
- 3) 椎木幾久子, 田部勝也, 幡中雅行, 西村 渉, 佐藤吉彦, 駒津光久, 増谷弘, 谷澤幸生 Wolfram 症候群をモデルとした細胞内ストレスによる膵  $\beta$  細胞可塑性制御の解明 第 61 回日本糖尿病学会年次学術集会、東京、2018 年 5 月 24 日、25 日、26 日
- 4) 椎木 幾久子、田部 勝也、幡中雅行、谷澤幸生 Wolfram 症候群をモデルとした細胞内ストレスによる膵  $\beta$  細胞可塑性制御の解明 日本糖尿病学会中国四国地方会第 56 回総会、下関市、2018 年 10 月 26 日、27 日

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

該当なし

##### 2. 実用新案登録

該当なし

##### 3. その他

特記事項なし