

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:現在の診断基準を用いて Wolfram 症候群と診断される患者のうち、WFS1 遺伝子変異が検出される患者は約 7 割に止まる。また、診断基準を満たすものの糖尿病と視神経萎縮の他に非典型徴候を示す症例も存在する。そのよう中で、今回、免疫不全、低身長等の Wolfram 症候群には通常見られない特異な症候を合併する症例を解析し、WFS1 以外の遺伝子異常(NBAS 遺伝子変異)を同定した。このような事例も考慮し、WFS1 遺伝子異常症とそれ以外の原因による Wolfram 症候群・類縁疾患を適切に診断するために除外基準を追加した診断基準と亜分類についての検討を進めるとともに遺伝子診断法の改良による検証を引き続き行っている。剖検脾の組織学的解析を継続し、膵内分泌機能の廃絶が Wolfram 症候群における糖尿病の病態の本質であることを明らかにした。一方、すでにインスリン依存状態となっている典型成人例1例においてGLP-1 受容体作動薬の糖尿病に対する臨床効果は限定的であったが、中枢神経に対する保護効果の可能性が示唆され、さらなる長期投与による保護効果の検証が必要である。

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)には遺伝的多様性が存在し、臨床的には典型例であっても WFS1 遺伝子異常に寄らない症例も存在する。また、本疾患は一般には常染色体劣性遺伝であるが、海外から優性遺伝する例や、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。そのため、日本で行った全国疫学調査結果を見直し、新たに登録される非定型例や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、非定型例や不全型を含め、WFS1 遺伝子異常症と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、亜分類を作成することも合わせて目的とする。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、Wolfram 症候群患者および非糖尿病患者剖検脾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の解析を継続した。

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、追跡が可能な症例のフォローアップを行い臨床情報のアップデートを行った。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。剖検脾の病理組

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 および WFS1 に対する抗体を用いて免疫組織染色を行った。

(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。糖尿病、視神経萎縮を合併し WFS1 遺伝子異常が同定されなかった 6 歳と 7 歳の男児兄弟例(現 8 歳と 9 歳)では、遺伝子診断時には尿崩症を認めなかったもののその後相次いで発症しており、臨床的には典型例であることを確認した。一方、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-Huët 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。この症例で認める低身長、視神経萎縮および Pelger-Huët 異常は劣性遺伝性疾患である Short stature with Optic nerve atrophy and Pelger-Huët anomaly (SOPH) syndrome に合致しており、さらに本患者では小児急性肝不

全のサブグループである Infantile Liver Failure Syndrome 2 (ILFS2) で合併頻度が高い無ガンマグロブリン血症と小児期の発熱誘発性肝不全のエピソードも認めたため、SOPH 症候群と ILFS2 共通の原因遺伝子である神経芽細胞腫増幅配列(NBAS) 遺伝子の解析を行なった。片側アリの Exon43 に 25bp(+15~+39) 欠失と欠失部位への 2 塩基挿入、さらに intron 内配列 23bp の重複挿入(-28~-6) が同定され、結果的にフレームシフトによる Exon43 の機能的欠失が推定された。加えて、Exon45 において SOPH 症候群で同定されている変異と同じ部位に 1914 番目のアルギニン(R)がロイシン(L)に変化を生じる点変異が同定され、複合ヘテロ変異による NBAS 遺伝子異常症と診断した。NBAS 蛋白は 2371 個のアミノ酸より構成され、その分子機能はゴルジ体から小胞体への小胞輸送に関わることが想定されている。そのため NBAS 遺伝子異常症でも Wolfram 症候群と同様に病態形成への小胞体機能異常の関連が推察される。NBAS 機能不全と糖尿病発症との関連について、非糖尿病成人膵組織における NBAS 蛋白の局在を解析した。膵組織において NBAS 蛋白は膵島内クロモグラニン A 陽性内分泌細胞特異的な局在を示し、NBAS 機能不全と膵島機能障害の関連性が推察された。

昨年報告した典型例の 26 歳女性症例(WFS1 遺伝子診断済み)における GLP-1 受容体作動薬併用の臨床効果について観察を継続した。投薬開始後 6 ヶ月までに観察された内因性インスリン分泌増強効果はその後持続せず、投与開始 1 年後において血清 C ペプチドレベルは投与開始前と同等であり、その後上昇を認めていない。しかし、C ペプチドは依然として検出可能であり、内因性

インスリン分泌能保持にGLP-1が寄与している可能性も考えられる。一方、脳MRIよりGLP-1開始前に比し小脳脳幹萎縮の進行を認めず、明らかな神経学的症状の出現も認めない。このことからGLP-1受容体作動薬が中枢神経変性の進行を抑制し患者QOL維持に寄与できる可能性がある。今後、さらに長期投与による中枢神経への保護効果を確認していく予定である。GLP-1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ている。

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)から得た剖検膵の解析より、本質的にβ細胞に限らず膵内分泌細胞が分化異常をきたし分化転換していることが示された。さらに、非糖尿病患者剖検膵の膵島ではクロモグラニンA陽性内分泌細胞の大部分にWFS1蛋白発現を認め、各膵ホルモンとWFS1の共染色よりインスリン陽性細胞のみならず、グルカゴン陽性細胞およびソマトスタチン陽性細胞にもWFS1が発現していることを明らかにした。すなわち、WFS1が膵内分泌細胞の分化維持に重要であり、Wolfram症候群における糖尿病の病態の本質が膵内分泌の廃絶であることが推察された。

D. 考察

Wolfram症候群には遺伝的多様性が存在し、本研究で同定した小児兄弟例のように臨床的に典型例であってもWfs1遺伝子異常によらない症例が存在する。また、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ており、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例存在した(平成30年度分担研究報告

書)。これらには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もあるが、先述のWFS1遺伝子異常を認めなかった兄弟例を含めエクソン以外の解析範囲外に変異が存在する可能性も否定できないため、このことを含めWfs1遺伝子以外の原因の同定を目的に全ゲノム解析やエクソーム解析を行う必要がある。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、亜分類は現時点では無く、症例ごとに検討を要する。その具体例として今回NBAS遺伝子異常症の症例を解析する機会を得た。この症例ではWolfram症候群の診断基準を満たすものの非定型な臨床徴候を複数認めたため鑑別ができNBAS遺伝子異常の診断に至った。一方、NBAS遺伝子異常症での糖尿病合併の報告はあるものの合併頻度は不明であり、病態に関する報告もない。NBAS蛋白はゴルジ体から小胞体への小胞輸送制御に重要な分子であることが明らかにされており、小胞体機能維持に関わることが想定される。さらに膵組織では膵内分泌細胞への局在が示されたことから糖尿病の分子病態におけるNBAS遺伝子異常症とWolfram症候群の共通性が推察される。

剖検膵の解析より膵内分泌組織の病態に関する多くの知見を得た。従来想定されてきた小胞体ストレス亢進による膵β細胞アポトーシス増強に加えて膵内分泌細胞の分化転換を伴う細胞分化異常が病態形成に重要であることが明らかになった。このことは病態がすでに進行した患者においてGLP-1受容体作動薬が糖尿病に対して限定的な効果しか示せなかったことを説明する可能性があり、膵内分泌機能が十分残存する時期に開始

すればより明らかな臨床効果が得られる可能性も考えられる。一方、中枢神経に対する GLP-1 受容体作動薬の保護効果の可能性が示唆され、今後、さらなる長期投与による保護効果を明らかにすることで、本剤による補助療法の開発につながる可能性がある。

現時点における我が国での診断基準の改定の必要ないと考えられる。しかし、疾患の多様性を考慮し、診断の感度および特異度を上げるための診断基準の精緻化が求められる。さらに、非定型例を含め、WFS1 遺伝子異常症とそれ以外の原因による Wolfram 症候群を適切に診断するためには遺伝子診断方法の改良とともにさらなる症例の蓄積とその詳細な分子遺伝学的、臨床的研究を行い、診断基準を見直していく必要がある。

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する。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) Suetomi R, Ohta Y, Akiyama M, Matsumura T, Taguchi A, Yamamoto K, Kamatani T, Tanizawa Y. Adrenomedullin has a cytoprotective role against endoplasmic reticulum stress for pancreatic β -cells in autocrine and

paracrine manners. *J Diabetes Investig.* 2020 (in press)

2. 学会発表

- 1) Tanizawa Y, Tanabe K, Amo-Shinoki K. Metabolic dysregulation by cellular stress is implicated in the dedifferentiation and dysfunction of pancreatic beta cells. 55th EASD Annual Meeting (Posters 452). Barcelona, Spain, Sep 16-20, 2019.
- 2) Tanabe K, Amo-Shinoki K, Kondo M, Hatanaka M, Masatani M, Tanizawa Y. Activation of GLP-1 receptor signalling prevents beta cell dedifferentiation in a mouse model of Wolfram syndrome through modulating Txnip expression. 79th American Diabetes Association Scientific Sessions. San Francisco, CA, USA, June 7-11, 2019.
- 3) 谷澤幸生, 田部勝也, 椎木幾久子, 松永仁恵 Wolfram 症候群 UP TO DATE 第 62 回日本糖尿病学会年次学術集会 仙台 2019 年 5 月 23 日、24 日、25 日
- 4) 谷澤幸生, 太田康晴, 田部勝也, 田口昭彦, 椎木幾久子, 秋山優, 幡中雅行 WFS1 and β -cell function 第 62 回日本糖尿病学会年次学術集会 仙台 2019 年 5 月 23 日、24 日、25 日
- 5) 田部勝也, 椎木幾久子, 幡中雅行, 西村渉, 増谷弘, 谷澤幸生 Pancreatic β -cell plasticity as a mechanism of β -cell failure caused by Wfs1 deficiency 第 62 回日本糖尿病学会年次学術集会 仙台 2019 年 5 月 23 日、24 日、25 日
- 6) 椎木幾久子, 田部勝也, 西村渉, 幡中雅行, 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 β 細胞可塑性制御

の解明 第 62 回日本糖尿病学会年次学術集会 仙台 2019年5月23日、24日、25日

- 7) 谷澤幸生 糖尿病克服への体質医学の挑戦-β細胞不全をめぐって- 第 69 回日本体質医学会総会(令和元年 8 月 31 日 海峡メッセ下関)
- 8) 椎木幾久子、田部勝也、佐藤吉彦、駒津光久、谷澤幸生 膵β細胞脱分化は糖尿病患者の膵β細胞不全に関連する 第 69 回日本体質医学会総会(令和元年 9 月 1 日 海峡メッセ下関)

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