

# 第 3 節 早老症にみる細胞，個体の老化と寿命の延長

千葉大学 前澤 善朗 千葉大学 越坂 理也  
千葉大学 加藤 尚也 千葉大学 横手 幸太郎

## 1. はじめに

Hutchinson-Gilford progeria syndrome (HGPS) と Werner syndrome (WS) は最もよく知られている遺伝子異常による早老症である。HGPS は幼児期に発症し強い動脈硬化の進行を示し、平均 14.6 歳で心筋梗塞や脳梗塞で死亡する。WS は思春期以降に発症し種々の老化徴候が進展、50 歳代に心血管イベントや悪性腫瘍をきたす。両疾患ともにヒト老化のモデル病態と考えられているが、近年の基礎医学と臨床医学の進歩により、新規治療法の開発や寿命延伸が期待されている。

## 2. Hutchinson-Gilford progeria syndrome (HGPS)

HGPS は極めて稀な早老症で、日本に 10 名程度、世界で 300 人程度の患者がいると推定されている。強い動脈硬化を示し、死因の多くは冠動脈疾患や脳梗塞である<sup>1)2)</sup>。核膜裏打ちタンパクである LaminA の変異により、Progerin と呼ばれる異常なタンパクが核膜に蓄積し、これにより老化徴候を呈する。

### 2.1 症 状

HGPS の患者は出生時は正常であるが、年齢を重ねるとともに多彩な早期老化徴候を呈する。乳児期から成長障害、脱毛、皮下脂肪の減少が見られ、多くは 2～3 歳ごろに診断される。脱毛、顔面骨に比べて大きな頭蓋骨、周囲の脂肪組織の減少による目の突出などが見られる。また、顔貌として鼻梁の狭小化と鉤鼻、皮膚の菲薄化による唇のしわ、小さな顎、耳たぶのない大きな耳、甲高い声が特徴的である。知的障害や精神症状はなく、患児の多くは明るく活発である。末梢組織においては皮下脂肪と筋肉は少なく、関節の拘縮も認められる。10 歳以上、特に成人期に至る長期生存例には悪性腫瘍が認められることがある。動脈硬化性疾患による重篤な脳血管障害および心血管疾患は年齢とともに顕在化する。心血管イベントは 5 歳以降に発症することが多く、徐々に心不全や虚血性心疾患による呼吸困難や、脳卒中による麻痺が出現する。心筋梗塞と心不全で死亡原因の 80% を占める。その他の死因としては、頭蓋内出血、脳梗塞、感染症、心臓血管外科手術による合併症などが報告されている<sup>1)3)</sup>。

## 2.2 Progerin 蓄積の分子機序

ラミンは核膜の裏打ち構造であるラミナの構成成分の1つである。ラミンにはラミンA、B、Cの3種類があり、核膜の安定性を確保し、クロマチンや転写因子を核膜に固定することでDNAの転写、複製、修復、核へのシグナル伝達制御に関与している。ラミンの異常が原因となる疾患には、HGPSや筋ジストロフィー、ニューロパチー、非定型ウェルナー症候群などがあり<sup>5)</sup>、これらは総称してラミノパチーと呼ばれている<sup>4)5)</sup>。ラミンA/Cは、12個のエクソンから構成されるLMNA遺伝子から、スプライシングを介して生成される。まず、LMNA遺伝子からプレラミンAが翻訳される。このプレラミンAは、C末端にCAAXモチーフと呼ばれる配列を持ち、この部位のシステイン残基がファルネシルトランスフェラーゼによりファルネシル化される。さらに、メタロプロテアーゼであるZmpste24がこのファルネシル基を含むC末端を切断し、さらにプロセシングの結果、成熟したラミンAが形成される。一方で、大多数のHGPS患者はLMNAのエクソン11に変異(c.1824C>T, G608G)を有している。この変異により、異常なスプライシングが起こりZmpste24による切断部位を含む50個のアミノ酸が欠損する。この結果、C末端のファルネシル化部位が切断されず、異常なタンパク質であるProgerinが生成される<sup>6)</sup>。このファルネシル化部位は核膜に親和性を有するため、細胞周期のM期であっても核膜に結合することで正常な有糸分裂を阻害する<sup>7)</sup>。プロジェリンの蓄積は、核の形態異常、遺伝子発現プロファイルの変化、DNA修復機構の破綻、テロメアの短縮、ゲノムの不安定性、ミトコンドリアの機能異常などを引き起こし、早期細胞老化を引き起こす<sup>4)</sup>。Progerinは正常の高齢者においても蓄積していることが報告されており、HGPSのヒト老化モデルとしての意義を裏付けるものである<sup>8)</sup>。

## 2.3 HGPSの治療開発と寿命延長への展望

2020年11月にファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤であるロナファルニブがHGPSに対するファーストインクラスの薬剤としてFDAにて承認された<sup>9)10)</sup>。Progerinのファルネシル化を抑制することで、核膜への結合を軽減する効果が期待されている。治療期間の中央値が2.2年の観察研究では、63人中17人が未治療群で死亡したのに対し、治療群の死亡は63人中4人であり、ハザード比は0.23であった<sup>3)</sup>。ロナファルニブは心血管イベント軽減に有用と考えられ、さらに<sup>11)</sup>プラバスタチンとゾレドロン酸を追加することで、筋と骨の障害の軽減が期待される<sup>12)13)</sup>。

実験レベルではあるが、*in vivo*における遺伝子修復も注目されている。HGPSモデルであるG609Gマウスで、CRISPR/CAS9システムを用いてLmnaをノックアウトした2本の報告では、寿命の延長、心筋線維化の抑制、大動脈中膜における血管平滑筋の表現型改善が観察された<sup>14)15)</sup>。別の報告では、ヒトHGPS患者の変異(LMNAG608G)を持つマウスを、Base Editorと呼ばれる次世代の核酸編集により修復した<sup>16)</sup>。Base Editorは、*in vitro*のHGPS iPS細胞由来の内皮細胞において、プロジェリンの発現を低下させ、細胞内の一酸化窒素レベルを上昇させることで、血管新生能を回復させることが示されている。

Osorioらは、G609Gマウスにモルフォリノアンチセンスオリゴを投与して異常スプライシ

ングを抑制すると、寿命が延びることを報告している<sup>17)</sup>。最近では、ヒト G608 変異を持つトランスジェニックマウスにおいても、アンチセンスオリゴを用いて異常スプライシングを抑制することで、最大 61.6% の寿命延長と、大血管における血管平滑筋の減少を抑制できることが報告されている<sup>18)19)</sup>。

このように、HGPS は予後の悪い重篤な早老症候群であるが、治療薬の進歩や *in vivo* における遺伝子修復やスプライシング制御により、予後改善が可能な兆しが見られつつある。特に、アンチセンスオリゴを用いた核酸医薬は筋ジストロフィーや小児の脊髄筋萎縮症などではすでに臨床実装されており、今後は早老症の治療にも応用可能なストラテジーと期待される。

### 3. Werner syndrome (ウェルナー症候群, WS)

WS は、1904 年にドイツの眼科医オットー・ウェルナーによって初めて報告された常染色体劣性遺伝疾患である。思春期以降に白髪、白内障、糖尿病、皮膚潰瘍などのさまざまな老化徴候が早発することから、代表的な早老症候群であると考えられている。20～30 代で発症、糖尿病や動脈硬化を呈し、多くは 50 代半ばで心筋梗塞や悪性腫瘍などにより死亡する。日本での患者数は 700～2,000 人と推定されており、世界の報告の 6 割が日本からのものであることから、日本に多い疾患と考えられている。WS の原因は、1996 年に第 8 染色体に存在する RECQ ヘリカーゼである WRN 遺伝子の変異であることが判明した。さまざまな研究により、本症候群は DNA 損傷修復の低下とゲノムの不安定性、テロメアの短縮、細胞老化と老化関連分泌現象 (SASP) による慢性炎症、ミトコンドリア機能の低下と酸化ストレスの蓄積、幹細胞の老化、エピジェネティックな変化などと関連していることが明らかになっている。また、近年の日本における全国調査や患者登録システムなどの解析から、以前は動脈硬化と心血管イベント、悪性腫瘍により 40 歳代で死亡する疾患であったが、動脈硬化性疾患の頻度が減少し、50 歳代まで寿命が延長されていることがわかっている。

#### 3.1 WS の臨床症候と診断基準

日本では 1984 年に WS の診断指針が作成された。この改定が行われたのち、2012 年に最初の治療ガイドラインが作成された。現行の診断基準 (下に記載) は 2009 年から 2011 年にかけて実施された全国疫学調査に基づいて改定されたものである。遺伝子変異で確認された症例の 85% 以上に早老顔貌、両側白内障、皮膚萎縮、胼胝や扁平足、鳥様顔貌 (図 1)<sup>20)</sup>、高調性嗶声<sup>20)</sup>が認められた。アキレス腱の石灰化は高頻度に見られ、80% がこの症状を呈した。さらに、石灰化の分節状や炎のようなパターンは、WS に特異的であった<sup>20)</sup>。

##### WS の診断基準 (2012 年改訂)

- I. 主要徴候 (10 才以後～40 才まで出現)
  - 1 早老性毛髪変化 (白髪、禿頭など)
  - 2 白内障 (両側)
  - 3 皮膚の萎縮・硬化 (鶏眼や胼胝等)、難治性皮膚潰瘍形成
  - 4 軟部組織の石灰化 (アキレス腱等)

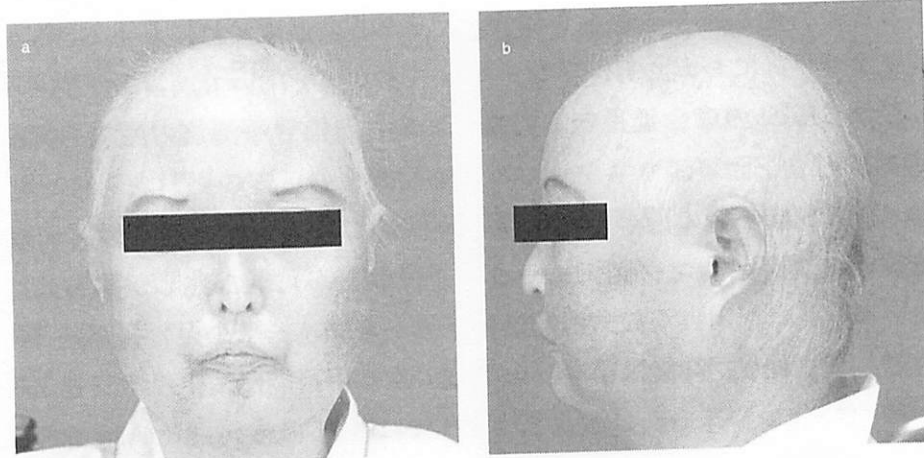


図1 WS患者に見られる鳥様顔貌。鼻梁が細く，周囲の皮下組織が萎縮して尖って見える  
(文献20)より引用改変)

5 鳥様顔貌

6 音声の異常 (かん高いしわがれ声)

II. その他の徴候と所見

- ・糖，脂質代謝異常
- ・骨の変形などの異常 (骨粗鬆症等)
- ・非上皮性腫瘍または甲状腺がん
- ・血族結婚
- ・早期に現れる動脈硬化 (狭心症，心筋梗塞等)
- ・原発性性腺機能低下
- ・低身長および低体重

III. 遺伝子変異

診断方法

確定：主要徴候の全て。もしくは3つ以上の主要徴候に加え，遺伝子変異を認めるもの。

疑い：主要徴候の1，2に加えて主要徴候やその他の徴候から2つ以上。

3.2 WSレジストリに見る臨床症候

日本におけるWSレジストリは，2017年に設立され43名の患者が登録されている。表1は，2020年時点での登録患者の症候を示す<sup>21)</sup>。ほぼすべての患者が，白髪，脱毛，白内障，皮膚萎縮，軟部組織の石灰化といった診断基準上の主要徴候を示した。約90%の患者は，鳥様顔貌と高調性嗄声を呈し，患者の半数以上は糖尿病，耐糖能異常 (67.5%)，脂質異常症 (65.0%)，脂肪肝 (52.5%) といった代謝性疾患を呈していた。

また，WS患者の3分の2は難治性の皮膚潰瘍を有する。2017年の全国調査では，WS患者の報告は形成外科 (7.7%) と皮膚科の専門医 (7.9%) から多くなされていた。WS患者の多くが難治性皮膚潰瘍から骨髓炎をきたし，手足の切断に至るが，今回の検討では15.0%の患者に下肢切断が見られた。



表1 WS患者における症候の頻度と使用薬剤

	%	該当患者数	総患者数
Major signs			
Graying of hair, hair loss	97.5	39	40
Cataracts	100	40	40
Skin changes	97.5	39	40
Intractable skin ulcers	67.5	27	40
Soft-tissue calcification	87.5	35	40
Bird-like face	90	36	40
High-pitched voice	87.5	35	40
Clinical symptoms			
Diabetes, IGT	67.5	27	40
Dyslipidemia	65	26	40
Hypertension	42.5	17	40
Fatty liver	52.5	21	40
Cerebral bleeding	0	0	40
Cerebral infarction	0	0	40
AP or MI	2.5	1	40
ASO	15	6	40
Amputation	15	6	40
Malignant tumor	20	8	40
Medications			
Diabetes, IGT			
DPP-4 inhibitor	37	10	27
Biguanide	33.3	9	27
Thiazolidine	48.1	13	27
alpha GI	7.4	2	27
Sulfonylurea	11.1	3	27
SGLT2 inhibitor	3.7	1	27
Glinide	0	0	27
GLP-1 analog	3.7	1	27
Insulin	14.8	4	27

	%	該当患者数	総患者数
Dyslipidemia			
Statin	65.4	17	26
Fibrate	3.8	1	26
Ezetimibe	0	0	26
EPA	11.5	3	26
Resin	0	0	26
Nicotinic acid	19.2	5	26
Probucol	0	0	26
Hypertension, among others			
Ca blocker	47.1	8	17
ARB	35.3	6	17
ACE inhibitor	0	0	17
Alpha1 blocker	0	0	17
Beta blocker	11.8	2	17
Diuretics	0	0	17
Antiplatelet	5	2	40
Anticoagulant	12.5	5	40

また、患者の両親の約30%が血族結婚であった。

患者の登録時の平均年齢は  $50.1 \pm 7.5$  歳であった。WS 発症時の平均年齢は  $26.1 \pm 9.5$  歳であったが、診断時の年齢は  $42.5 \pm 8.6$  歳であった (表2)。このような傾向は、2006年に国際WSレジストリでも報告されている<sup>22)</sup>。今回の解析では、白内障発症時の年齢は31歳、診断または紹介時の年齢は43歳であった。WSの発症は、通常、両側白内障または白髪や脱毛が最初の症状となる<sup>20)</sup>が、WSの紹介は難治性皮膚潰瘍を生じてからの皮膚科医や形成外科医からが多いことから、より広い疾患症候の啓蒙が必要と考えられた。

### 3.3 WSの寿命延長

1900年代では、WS患者の死亡時平均年齢は30歳台と報告されていた<sup>23)</sup>。しかし、日本人のWS患者の平均寿命は、20年前<sup>24)</sup>、あるいは10年前<sup>20)21)</sup>に比べて着実に延伸している。1997年から2006年の平均死亡年齢は51.8歳であったが、2007年時点で本学での存命患者の平均年齢が54.8歳と、以前の平均寿命をすでに上回っていることがわかっており、現状でのWSの平均寿命は59歳程度と推察されている (未発表データ)。

表2 WS レジストリ患者背景, 身体所見など

	Total			Men			Women		
	Mean	SD	n	Mean	SD	n	Mean	SD	n
Patients' backgrounds									
Age(years)	50.1	± 7.5	40	49.4	± 7.6	22	50.9	± 7.5	18
Onset age(years)	26.1	± 9.5	30	28.2	± 8.5	16	23.7	± 10.2	14
Diagnosed age(years)	42.5	± 8.6	39	42.0	± 6.4	21	43.2	± 10.8	18
Physical findings									
Height(cm)	154.0	± 10.7	40	159.7	± 8.6	22	147.2	± 9.0	18
Body weight(kg)	44.1	± 9.5	40	49.0	± 9.3	22	38.1	± 5.4	18
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	18.5	± 3.1	40	19.2	± 3.5	22	17.6	± 2.5	18
Waist circumference (cm)	77.3	± 12.0	24	80.4	± 12.2	14	73.0	± 10.8	10
Visceral fat area(cm <sup>2</sup> )	102.3	± 61.4	10	112.4	± 81.5	4	95.6	± 51.7	6
SMI(kg/m <sup>2</sup> )	4.3	± 0.8	9	4.5	± 0.9	5	4.1	± 0.6	4
Physical function									
Mean grip strength (right)(kg)	17.1	± 8.7	23	20.8	± 8.6	13	12.3	± 6.3	10
Mean grip strength (left)(kg)	16.0	± 7.6	23	19.5	± 7.3	13	11.4	± 5.3	10
Mean walking speed (m/sec)	0.8	± 0.6	13	0.9	± 0.6	6	0.8	± 0.6	7

BMI; body mass index, SMI; skeletal muscle mass index, SD; standard deviation.

### 3.3.1 動脈硬化の減少

2020年のWSレジストリの解析では脳梗塞(0%), 狭心症や心筋梗塞(2.5%), 閉塞性動脈硬化症(15.0%)など、動脈硬化の既往歴を持つ患者がわずかに存在した。狭心症・心筋梗塞は、2009年の前回調査(20)と比較して、有意に減少していた(2.5% vs. 14.8%,  $P=0.049$ )。この結果は、HMG-CoA還元酵素阻害剤(スタチン)やペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 $\gamma$ (PPAR $\gamma$ )アゴニストなどの治療介入により、糖尿病、脂質異常症、高血圧などの動脈硬化リスクファクターを総合的にコントロールできるようになり、WS患者の動脈硬化の予防に成功したためと考えられる<sup>25)-27)</sup>。

### 3.3.2 悪性腫瘍

悪性腫瘍は、登録された患者の20.0%に認められた。悪性腫瘍の罹患率は、WS患者では依

然として高い。WS患者のがん診断年齢は、一般人口と比較して20年程度、早いと言われている<sup>28)</sup>。腫瘍性病変は若年層から発生するため、WSの確定例には定期的な悪性腫瘍のスクリーニングが必要である。上皮性腫瘍と非上皮性腫瘍は、一般人口で観察される10:1(上皮性と非上皮性)の比率とは対照的に、WSの症例では同等で、相対的に非上皮性腫瘍が多いことが知られている。糖尿病を持つWS患者では、がんの発生率が有意に高い。したがって、このサブグループでは、日常的ながん検診が特に重要である。高い頻度で発生する上皮性腫瘍には、甲状腺がん、肺がん、胃がん、肝がん、膵臓がんなどがある。非上皮性腫瘍では、悪性線維性組織球腫、メラノーマ、髄膜腫、骨髄異形成症候群などが高頻度で見られた<sup>29)</sup>。

## 4. WSの基礎研究の現状

### 4.1 Werner 遺伝子とタンパク

前述のように、WSの原因遺伝子WRNは1996年にクローニングされた(WRN遺伝子: OMIM 604611)<sup>30)</sup> RecQ型DNA helicaseであり、1,432個のアミノ酸から構成されている。現在までに83種類の変異が報告され、さらに新規変異が同定されている<sup>31)</sup>。日本人における遺伝子変異のほとんどが変異1, 4, 6と呼ばれる3種類の変異により占められ、なかでもタイプ4変異(エクソン26の直前の塩基がGからCへの変異による切断変異タンパクの形成:c.3139-1G>C)は日本人WSの約7割が保有している(図2)。

WRNはDNAの修復、複製、組換え、転写など、種々の核の機能において、重要な役割を果たす。WRNタンパクはATPの存在下で3'→5'方向にDNAの二重螺旋を解いて1重鎖にする。さらにWRNタンパクのN末端には3'→5'方向に塩基を1つずつ取り除くエクソヌクレアーゼドメインが存在する。構造解析によりWRNタンパクのwinged-helix motifと呼ばれる突起構造が、DNAの2本鎖の間に入り込んで「分子ナイフ」のように働き、特にテロメア周辺において、G4量体やホリデージャンクションなどの特異な構造を持つDNAの二本鎖を解きほぐすことが報告されている<sup>32)</sup>。WRNタンパクのC末端には核移行シグナルが存在しWRNタンパクは核内で働くと考えられている。いままでに報告された変異アレルから産生されるWRNタンパクはC末を形成しないtruncated proteinとなり核移行シグナルを欠損するため、核移行が阻害され機能障害をきたす。このことが、少なくとも今までの検討では、WSにおいて明らかな変異と症候の相関が見られない原因であるとされている。

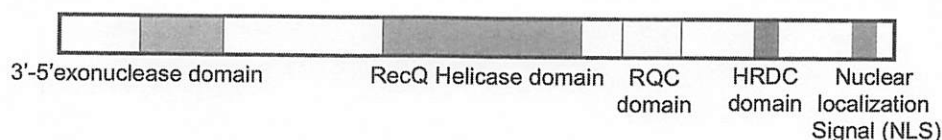


図2 WRNタンパク質の模式図。WRNはC末端にエクソヌクレアーゼドメイン、RecQヘリカーゼドメイン、核局在シグナルを持つ



## 4.2 WRN と DNA 損傷修復

WRN 遺伝子の DNA 損傷修復における役割は多く報告されている。特に double strand break (DSB) 後の修復についての報告が多い。WRN 欠損線維芽細胞は DNA 修復異常とゲノム不安定性を呈する。WRN 欠損細胞は大きな染色体変異を生ずることが報告されている。WS 患者由来線維芽細胞にエキソヌクレアーゼドメイン欠損 WRN タンパク、ヘリカーゼドメイン欠損 WRN タンパク、両者を欠損する WRN タンパクを発現させると、興味深いことに、DNA 損傷修復はどちらか片方を欠損しているとあまり回復しないが、両ドメインを欠損する WRN タンパクを発現させた場合に最もよく改善する。すなわち、二つのドメインがバランスよく存在することが重要のようである。DSB 後の修復にはゲノムの相同配列を用いる相同組換え (homologous recombination: HR) と損傷された両末端をつなぐ非相同末端結合 (non-homologous end joining: NHEJ) という2つの修復形態がある。WRN は HR と NHEJ の双方において、これらの過程を制御する分子と結合し、重要な役割を果たすことが数多くの研究により判明している。NHEJ の中でも、修復エラーの少ない classical-NHEJ を促進し、修復エラーが起こりやすい alternative-NHEJ を抑制することが近年報告され<sup>33)</sup>、WRN は DSB 後の修復過程を最適化する機能を有することが示唆されている。HR と NHEJ における WRN の分子機構の模式図を図3に示す。

## 4.3 WRN とテロメア

また、WRN タンパクはテロメア維持にも関与する。テロメアは TTAGGG の特徴的な配列と、シェルタリン複合体と呼ばれるタンパクによって構成される染色体末端の複合体であり、

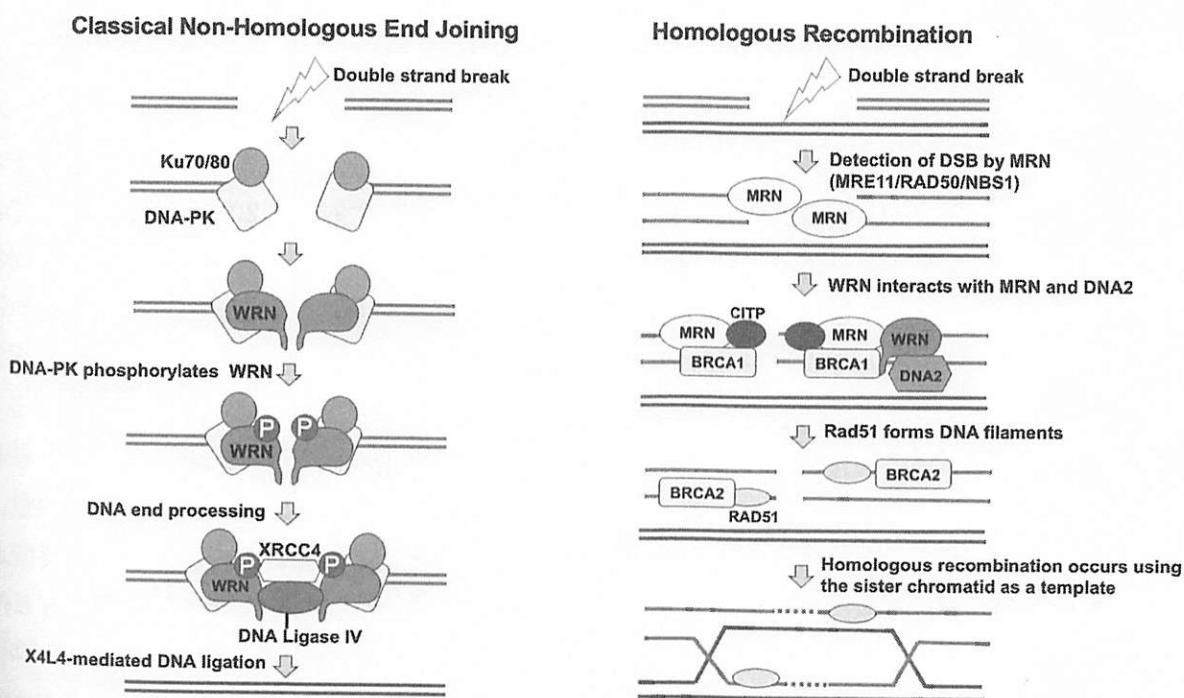


図3 WRN の NHEJ と HR における役割

染色体の DNA 末端を保護している。老化とともにテロメアは短縮し、テロメアが一定の長さをこえて短くなると、細胞は不可逆に増殖を停止し、細胞老化に至ると考えられている。シェルトリン複合体は主に TRF1, TRF2, RAP1, TIN2, TPP1, POT1 という 6 つのタンパクからなるが、WRN は POT1 や TRF2 と結合し、テロメアを維持する<sup>34)</sup>。WS の 40 ~ 60 歳の患者では、WS の 30 歳未満の患者や年齢が一致する非 WS の患者よりテロメアの短縮が見られる<sup>35)</sup>ことから、WRN の喪失によりテロメア短縮が加速すると考えられる。WS 患者由来の線維芽細胞や血球、WRN 遺伝子欠損細胞などでは、染色体の癒合や分離不全が認められ、これはテロメアの機能不全に起因すると考えられている<sup>36)</sup>。WRN に変異があると、テロメア複製の際に生成されるグアニン 4 量体を解きほぐすことができず、DNA 合成の Lagging strand が停止し複製ができなくなることで、テロメアの短縮が加速すると推察されている<sup>37)</sup>。実際に、テロメラゼ活性を再導入することにより WS 患者由来の細胞のテロメア欠損や細胞老化を抑制できると報告されており<sup>38)</sup>、WS の表現系の少なくとも一部はテロメア障害によるものと考えられる。一方、WS 患者由来の肝細胞ではテロメアの短縮は観察されず、皮膚のケラチノサイトもテロメラゼ活性を保持し、継代老化を示さなかったとの報告もあり<sup>39)</sup>、WRN 欠損によるテロメア障害は組織により異なるようである。近年当研究室では、WS における四肢と体幹の線維芽細胞の変化に着目した検討を行った。WS では、体幹は比較的ふくよかであるが、四肢の萎縮が非常に強く難治性皮膚潰瘍に至る。検討の結果、腹部の線維芽細胞と比較し、末梢の線維芽細胞においては細胞老化の亢進とテロメアの短縮を認めた。興味深いことに、末梢の線維芽細胞は、骨分化能を有し、脂肪分化能が著しく減弱しており、WS の病態を反映していた<sup>40)</sup>。

#### 4.4 WRN KO マウスの表現型

WS はヒトにおいては顕著な表現型を呈するが、欠損マウスの表現型がほとんど無いことも WRN の特徴である。最初の WRN 変異マウスは 1998 年に helicase ドメインの触媒サイトのみ欠損する形で作成されたが、13 ヶ月程度の検討では白髪、短命などの老化徴候を示さず、一方でヘテロ同士を交配した場合の出生率は野生型 : ヘテロ : ホモ = 1:1.9:0.6 と、KO マウスの出生率が低下していた。また、KO マウス由来の ES 細胞はカンプトテシンなどのトポイソメラーゼ阻害薬への感受性が上昇した<sup>41)</sup>。このマウスを長期観察すると、20 ヶ月以降に軽度の寿命短縮がみられ、肝臓における活性酸素の蓄積と脂肪肝を呈した<sup>42)</sup>。一方、Guarente らのグループは WRN 遺伝子のエクソン 18 以降 (helicase ドメインの C 末の大部分) を欠損するマウスを作成したが、このマウスは全く老化徴候を示さず、しかし、DNA 傷害からゲノムを保護する分子である P53 KO マウスとのダブル KO マウスで寿命の短縮が認められた<sup>43)</sup>。

また、興味深いことに WRN KO マウスは、テロメア維持複合体の non-coding RNA である Terc (Telomere RNA component) 欠損マウスとの double KO により、5 ~ 6 世代後に白髪、白内障、亀背、短命といった老化表現系を生ずる<sup>44)</sup>。このように WRN KO マウスの表現型が軽微であるメカニズムははっきりしていないが、WRN の欠損を補完する機構の存在、もともと短命であることから、蓄積する DNA 損傷自体が十分でない可能性、WS の表現型がテロメア依存性であり、マウスではテロメラゼ活性が比較的高いことで表現型がマスクされているといった理由が考えられている。

#### 4.5 WRN と幹細胞老化, Epigenome 制御

WS は幹細胞の老化や Epigenetic 制御にも関与する。細胞は老化すると細胞質の肥大と核の膨化をきたし、従来見られる転写不活性型の Heterochromatin 構造が緩み、転写が起こりやすい構造である Euchromatin 優位となると言われている<sup>45)</sup>。2015年に Salk 研究所の Belmonte らのグループは、WRN 欠損 ES 細胞を作成したところ、内胚葉、中胚葉、外胚葉への分化能、ならびに ES 細胞の増殖などには全く異常は見られなかった。興味深いことに、この WRN 欠損 ES 細胞から間葉系幹細胞 mesenchymal stem cell (MSC) を分化誘導すると、増殖の低下、老化関連 Beta-Gal 染色や p16, p21 などの細胞周期抑制性の老化マーカー、IL6 や IL8 といった senescence associated secretory phenotype (SASP, 老化関連分泌現象) と呼ばれる炎症性サイトカインの増加を呈し、細胞老化をきたしていた。さらに WRN タンパクは Histone methyltransferase である SUV39H1, LAP2beta, HP1alpha といったタンパクと相互作用しヒストンのメチル化を制御するが、WRN 欠損株においてはこの機構が障害され、結果として、H3K9me3 や H3K27me3 が減少し老化形質を呈していることが判明した<sup>46)</sup>。実際の WS 患者におけるエピゲノムの知見も報告されている。Steve Horvath らは、ゲノムの 391 個の CpG 領域の DNA メチル化解析により細胞や組織の老化を推算する、DNA メチル化年齢 (Epigenetic Clock) を提唱している。この方法を用いて WS 患者の全血の DNA メチル化を解析すると、WS は健常群と比較して平均 6.4 年メチル化年齢が高い<sup>47)</sup>。しかしながら更なる解析により、WS における DNA のメチル化は LMNA1, POLD1 など、WS での発現変化が報告されている領域に変化を生じており、一方で LINE1 や ALU といった老化に伴って変化するレトロトランスポゾン領域には変化をきたさないことから、WS の老化は正常老化のエピゲノムと一部異なっていると考えられている<sup>48)</sup>。

#### 4.6 WRN とミトコンドリア, mTOR, オートファジー

WS 患者の細胞や遺伝子組換えによる WRN 欠損細胞は、ミトコンドリア機能不全の表現型を示す。WRN を欠損させると、エネルギー産生や酸化還元を制御する遺伝子発現が大きく変化する。この変化は、抗酸化防御機能を低下させ、ミトコンドリアの酸素消費量を増加させ、活性酸素種 (ROS) や酸化的 DNA 損傷を増加させる。がん細胞では、この代謝変化がワールブルグ効果を打ち消し、細胞増殖の抑制や老化に似た表現型をもたらす。この効果は、がんの現場では好ましいものであると考えられ、WRN 欠損細胞が後述する合成致死を示す理由でもある<sup>49)</sup>。WRN を欠損させた細胞では、8-OHdG, FapyG, FapyA などの酸化性塩基や、二本鎖切断マーカーである  $\gamma$  H2AX が蓄積されることから、WRN がゲノムの酸化的損傷修復に機能していることがわかる。2019年、Fang らは、WS 患者の細胞や WRN 欠損無脊椎動物において、マイトファジーの障害、活性酸素の蓄積、サーチュインや多くの代謝酵素の補酵素である NAD<sup>+</sup> の枯渇を報告した。ニコチンアミドリボシド (NR) を用いて NAD<sup>+</sup> を補充すると、WRN 欠損無脊椎動物のトランスクリプトームプロファイルが改善され、DCT と ULK1 依存性のマイトファジーによってミトコンドリアの質が向上する。さらに、NR は、線虫およびショウジョウバエの WS モデルの寿命を延ばす。このように、ミトコンドリア機能不全は、WS の



老化表現型を加速させる重要なメカニズムであると同時に、潜在的な治療標的となると考えられている<sup>50)</sup>。

哺乳類ラパマイシン標的タンパク質 (mTOR) は、複数の代謝経路のハブを形成する必須のシグナル分子であり、WRN はこの経路とオートファジーに関与している可能性がある。WRN をノックダウンした初代線維芽細胞では、オートファジーの増加が観察された<sup>51)52)</sup>。mTOR を阻害する短期のラパマイシン処理ではオートファジー活性が上昇したが、長期のラパマイシン処理では、細胞増殖の改善、DNA 損傷マーカー 53 BP1 の蓄積量の減少、核形態の改善、オートファジーマーカー LC3II と P62 の減少が認められた<sup>51)</sup>。早期のオートファジーの促進によるタンパク質凝集体の減少が、細胞機能の向上につながったと推測される。

#### 4.7 WS 患者由来 iPS 細胞

前述のように WRN を欠損した ES 細胞は明らかな表現系を示さない。一方、WS 患者細胞から作成した iPS 細胞ではどうだろうか。この細胞では、患者の一生における DNA 傷害が蓄積しているはずである。2014 年に嶋本らは、WS 患者の皮膚線維芽細胞から iPS 細胞を樹立した。この iPS 細胞は、2 年以上にわたって無限増殖能を有し、未分化状態を保持し、培養期間に染色体異常の増加もみられなかった。一方で、体細胞への分化誘導を行うと、早期老化徴候が見られ、この表現型の一部は、リプログラミングによるテロメアの変化によるものと推察された<sup>53)</sup>。同時期に米国の National Institute of Health においても WS 特異的 iPS 細胞が樹立され、MSC へ誘導すると早期老化が見られるが、外胚葉である神経前駆細胞へ分化させても老化は見られなかった。WS 特異的 iPS 細胞から誘導した MSC はさまざまな増殖因子の発現低下をきたし、軟骨や骨、脂肪への分化能が減弱していた<sup>54)</sup>。このような MSC での異常と、他の胚葉由来組織が比較的保たれるという知見は、WS において皮下組織の萎縮、内臓脂肪蓄積、心筋梗塞、間葉系肉腫をきたすが、認知機能低下は来し難いという、間葉系組織に異常が集中する症候と一致している。近年、MSC は皮膚潰瘍、糖尿病を含むさまざまな病態における細胞治療として期待されており、WS においても潜在的な治療戦略となる可能性がある。

#### 4.8 悪性腫瘍と WRN

WS 患者は悪性腫瘍を高率に合併する。その機構としては、WRN の欠損によるゲノム不安定性から、DNA 傷害が蓄積して腫瘍化に至ると考えられている。その一方で、一見全く逆の事象のように見えるが、WRN はがん治療における合成致死性の遺伝子として注目されている。合成致死 (synthetic lethality) とは、1 つの遺伝子の欠損では細胞に致死性を示さないが、2 つ以上の経路が同時に欠損、障害されることで細胞死が惹起される現象をさす。2019 年に、CRISPR あるいは RNAi を使用したスクリーニングにより、DNA ミスマッチ修復機構の不全によって起こる microsatellite instability (マイクロサテライト不安定性, MSI) を示す腫瘍は、数ある遺伝子の中で WRN を欠損あるいは抑制すると細胞生存が著しく減少すると報告された。これらの細胞では WRN 欠損により、DNA 切断、アポトーシスが起こる。一方で MSI のないがん細胞では、WRN が減少しても生存は変わらない<sup>55)56)</sup>。さらに 2021 年に入って、60 の MSI を有する前臨床がんモデルを用いた検討で、WRN を欠損するとがん細胞が死

んでいくという現象は、幅広く認められることが報告された。すなわち、MSIを有する悪性腫瘍において、最初のあるいは抗がん剤耐性獲得後といった幅広い状況において、WRNを標的とした治療が有効である可能性がある<sup>57)</sup>。これらは、WRN遺伝子が抑制されることに一定の状況下では生物学的アドバンテージがありうることを示しており、WRN変異をheteroで有するpopulationが相当数存在することの意義を示しているのかもしれない。

## 5. おわりに

前述のように、WSは疫学データにより近年の寿命延長が確認されており、少なくとも一部は動脈硬化性疾患のこの20年における減少が寄与していると考えられる。一般日本人人口においても、2001年から2016年にかけて約2年の寿命延伸が見られているが、WSにおける寿命延長は、一般人口のそれよりも大きいと考えられる。包括的な心血管リスク介入を含む医療レベルの全体的な向上によるものと推察される。

HGPS、WS両方について、これまで病態解明研究は一定の進歩を見せてきたが、治療介入については遅々として進まないという状況が長く続いていた。しかしながら、最先端の*in vivo*遺伝子改変技術や核酸医薬、あるいはNADや原因タンパクをターゲットとした低分子化合物により、今まで重かった遺伝性早老症の根本治療への扉が開かれつつある。今後、現在は実験レベルにあるこれらの治療法が臨床実装され、遺伝性早老症患者の寿命が延伸、予後が改善し、QOLが向上することが強く期待される。

## 文献

- 1) R. C. Hennekam: Hutchinson-Gilford progeria syndrome: review of the phenotype, *Am. J. Med. Genet. A*, 140, 2603 (2006).
- 2) L. B. Gordon et al.: The progeria research foundation 10th international scientific workshop: researching possibilities, ExtENDING lives – webinar version scientific summary, *Aging*, 13, 9143 (2021).
- 3) L. B. Gordon et al.: Association of lonafarnib treatment vs no treatment with mortality rate in patients with Hutchinson-Gilford progeria syndrome, *JAMA*, 319, 1687 (2018).
- 4) S. Gonzalo et al.: Hutchinson-Gilford progeria syndrome: A premature aging disease caused by LMNA gene mutations, *Ageing Res. Rev.*, 33, 18 (2017).
- 5) L. Chen et al.: LMNA mutations in atypical Werner's syndrome, *Lancet*, 362, 440 (2003).
- 6) B. C. Capell et al.: Inhibiting farnesylation of progerin prevents the characteristic nuclear blebbing of Hutchinson-Gilford progeria syndrome, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 102, 12879 (2005).
- 7) K. Cao et al.: A lamin A protein isoform overexpressed in Hutchinson-Gilford progeria syndrome interferes with mitosis in progeria and normal cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 104, 4949 (2007).
- 8) P. Scaffidi and T. Misteli: Lamin A-dependent nuclear defects in human aging, *Science*, 312, 1059 (2006).
- 9) T. Misteli: Farnesyltransferase inhibition in HGPS, *Cell*, 184, 293 (2021).
- 10) R. Voelker: First progeria drug is approved, *JAMA*, 325, 20 (2021).
- 11) S. H. Yang et al.: A farnesyltransferase



- inhibitor improves disease phenotypes in mice with a Hutchinson-Gilford progeria syndrome mutation, *J. Clin. Invest.*, 116, 2115 (2006).
- 12) L. B. Gordon et al.: Clinical trial of the trotein farnesylation inhibitors lonafarnib, pravastatin, and zoledronic acid in children with Hutchinson-Gilford progeria syndrome, *Circulation*, 134, 114 (2016).
  - 13) M. B. Cubria et al.: Evaluation of musculo skeletal phenotype of the G608G progeria mouse model with lonafarnib, pravastatin, and zoledronic acid as treatment groups, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 117, 12029 (2020).
  - 14) E. Beyret et al.: Single-dose CRISPR-Cas9 therapy extends lifespan of mice with Hutchinson-Gilford progeria syndrome, *Nat. Med.* 25, 419 (2019).
  - 15) O. Santiago-Fernandez et al.: Development of a CRISPR/Cas9-based therapy for Hutchinson-Gilford progeria syndrome, *Nat. Med.* 25, 423 (2019).
  - 16) L. W. Koblan et al.: In vivo base editing rescues Hutchinson-Gilford progeria syndrome in mice, *Nature*, 589, 608 (2021).
  - 17) F. G. Osorio et al.: Splicing-directed therapy in a new mouse model of human accelerated aging, *Sci. Transl. Med.*, 3, 106ra107 (2011).
  - 18) M. R. Erdos et al.: A targeted antisense therapeutic approach for Hutchinson-Gilford progeria syndrome, *Nat. Med.*, 27, 536 (2021).
  - 19) M. Puttaraju et al.: Systematic screening identifies therapeutic antisense oligonucleotides for Hutchinson-Gilford progeria syndrome, *Nat. Med.*, 27, 526 (2021).
  - 20) M. Takemoto et al.: Diagnostic criteria for Werner syndrome based on Japanese nationwide epidemiological survey, *Geriatr. Gerontol. Int.*, 13, 475 (2013).
  - 21) M. Koshizaka et al.: Time gap between the onset and diagnosis in Werner syndrome: a nationwide survey and the 2020 registry in Japan, *Aging (Albany NY)*, 12, 24940 (2020).
  - 22) S. Huang et al.: The spectrum of WRN mutations in Werner syndrome patients, *Hum. Mutat.* 27, 558 (2006).
  - 23) M. Goto and M. Matsuura: Secular trends towards delayed onsets of pathologies and prolonged longevities in Japanese patients with Werner syndrome, *Biosci. Trends*, 2, 81 (2008).
  - 24) M. Goto: Werner's syndrome: from clinics to genetics, *Clin. Exp. Rheumatol.*, 18, 760 (2000).
  - 25) K. Yokote and Y. Saito: Extension of the life span in patients with Werner syndrome, *J. Am. Geriatr. Soc.*, 56, 1770 (2008).
  - 26) K. Yokote et al.: Metabolic improvement and abdominal fat redistribution in Werner syndrome by pioglitazone, *J. Am. Geriatr. Soc.*, 52, 1582 (2004).
  - 27) H. Yasuda et al.: Biguanide, but not thiazolidinedione, improved insulin resistance in Werner syndrome, *J. Am. Geriatr. Soc.*, 58, 181 (2010).
  - 28) J. M. Lauper et al.: Spectrum and risk of neoplasia in Werner syndrome: a systematic review, *PLoS One*, 8, e59709 (2013).
  - 29) S. Onishi et al.: Japanese diabetic patients with Werner syndrome exhibit high incidence of cancer, *Acta Diabetol*, 49 Suppl 1, S259 (2012).
  - 30) C. E. Yu et al.: Positional cloning of the Werner's syndrome gene, *Science*, 272, 258 (1996).
  - 31) K. Yokote et al.: WRN Mutation Update: Mutation Spectrum, Patient Registries, and Translational Prospects, *Hum. Mutat.* 38, 7 (2017).
  - 32) K. Kitano et al.: Structural basis for DNA strand separation by the unconventional winged-helix domain of RecQ helicase WRN, *Structure*, 18, 177 (2010).

- 33) R. A. Shamanna et al.: WRN regulates pathway choice between classical and alternative non-homologous end joining, *Nat. Commun.*, 7, 13785 (2016).
- 34) P. L. Opresko et al.: The Werner syndrome helicase and exonuclease cooperate to resolve telomeric D loops in a manner regulated by TRF1 and TRF2, *Mol. Cell*, 14, 763 (2004).
- 35) N. Ishikawa et al.: Accelerated in vivo epidermal telomere loss in Werner syndrome, *Aging (Albany NY)*, 3, 417 (2011).
- 36) L. Crabbe et al.: Telomere dysfunction as a cause of genomic instability in Werner syndrome, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 104, 2205 (2007).
- 37) A. Shimamoto, et al.: Werner syndrome-specific induced pluripotent stem cells: recovery of telomere function by reprogramming, *Front. Genet.*, 6, 10 (2015).
- 38) F. S. Wyllie et al.: Telomerase prevents the accelerated cell ageing of Werner syndrome fibroblasts, *Nat. Genet.*, 24, 16 (2000).
- 39) M. Tokita et al.: Werner syndrome through the lens of tissue and tumour genomics, *Sci. Rep.*, 6, 32038 (2016).
- 40) H. Kato et al.: Fibroblasts from different body parts exhibit distinct phenotypes in adult progeria Werner syndrome, *Aging (Albany NY)*, 13, 4946 (2021).
- 41) M. Lebeland P. Leder: A deletion within the murine Werner syndrome helicase induces sensitivity to inhibitors of topoisomerase and loss of cellular proliferative capacity, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 95, 13097 (1998).
- 42) L. Massip et al.: Vitamin C restores healthy aging in a mouse model for Werner syndrome, *FASEB J.*, 24, 158 (2010).
- 43) D. B. Lombard et al.: Mutations in the WRN gene in mice accelerate mortality in a p53-null background, *Mol. Cell. Biol.*, 20, 3286 (2000).
- 44) S. Chang et al.: Essential role of limiting telomeres in the pathogenesis of Werner syndrome, *Nat. Genet.*, 36, 877 (2004).
- 45) W. Zhang et al.: The ageing epigenome and its rejuvenation, *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 21, 137 (2020).
- 46) W. Zhang et al.: Aging stem cells. A Werner syndrome stem cell model unveils heterochromatin alterations as a driver of human aging, *Science*, 348, 1160 (2015).
- 47) A. Maierhofer et al.: Accelerated epigenetic aging in Werner syndrome, *Aging (Albany NY)*, 9, 1143 (2017).
- 48) A. Maierhofer et al.: Epigenetic signatures of Werner syndrome occur early in life and are distinct from normal epigenetic aging processes. *Aging Cell*, 18, e12995 (2019).
- 49) B. Li et al.: Downregulation of the Werner syndrome protein induces a metabolic shift that compromises redox homeostasis and limits proliferation of cancer cells, *Aging Cell*, 13, 367 (2014).
- 50) E. F. Fang et al.: NAD<sup>(+)</sup> augmentation restores mitophagy and limits accelerated aging in Werner syndrome, *Nat. Commun.*, 10, 5284 (2019).
- 51) B. Saha et al.: Rapamycin decreases DNA damage accumulation and enhances cell growth of WRN-deficient human fibroblasts, *Aging Cell*, 13, 573 (2014).
- 52) F. Talaei et al.: Hydrogen sulfide restores a normal morphological phenotype in Werner syndrome fibroblasts, attenuates oxidative damage and modulates mTOR pathway, *Pharmacol. Res.* 74, 34 (2013).
- 53) A. Shimamoto et al.: Reprogramming suppresses premature senescence phenotypes of Werner syndrome cells and maintains chromosomal stability over long-term culture, *PLoS One*, 9, e112900 (2014).
- 54) J. Tu et al.: Genetic correction of Werner syndrome gene reveals impaired pro-angiogenic

- function and HGF insufficiency in mesenchymal stem cells, *Aging Cell*, 19, e13116 (2020).
- 55) N. van Wietmarschen et al.: Repeat expansions confer WRN dependence in microsatellite-unstable cancers, *Nature*, 586, 292 (2020).
- 56) E. M. Chan et al.: WRN helicase is a synthetic lethal target in microsatellite unstable cancers, *Nature*, 568, 551 (2019).
- 57) G. Picco et al.: Werner helicase is a synthetic-lethal vulnerability in Mismatch Repair-Deficient Colorectal Cancer Refractory to Targeted Therapies, Chemotherapy and Immunotherapy, *Cancer Discov.*, 11, 1923 (2021).