

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 8 日現在

機関番号： 12601

研究種目： 基盤研究 (C)

研究期間： 2009～2011

課題番号： 21590755

研究課題名(和文) ウェルナー症候群の重複癌の臨床的特長とその原因遺伝子変異の起源に関する研究

研究課題名(英文) The research on the clinical characters of malignant neoplasm and the origin of the causative-gene mutation in Werner's syndrome.

研究代表者

竹内 二士夫 (TAKEUCHI FUJIO)

東京大学・医学部付属病院・講師

研究者番号： 70154979

研究成果の概要(和文)：ウェルナー症候群原因遺伝子による発癌と変異の起源について研究した。症例報告からデータベース(WELTAC1)を作成した。血族結婚も家族歴もない例が認められ、これを必須診断項目とすべきでない。胃癌、肺癌、乳癌等の推定頻度、間葉系腫瘍の発症年齢は一般集団とあまり変わらなかった。多重悪性腫瘍 20 例中 15 例が非上皮例だった。SNP の検討ではハプロタイプ頻度に民族差があり変異の起源との関連が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The clinical characters of the malignant neoplasm caused by the causative gene of Werner's syndrome and the origin of the mutation of the gene were investigated. The database (WELTAC1) was constituted of case-reports in Japan. Several cases showed neither consanguineous marriage nor familial history, and it indicates these two items are not suitable as mandatory fields for the diagnosis of the disease. The estimated-frequencies of gastric cancer, lung cancer, breast cancer, et al., and the estimated-age of onset for mesenchymal tumors were almost equal to those in general population. Fifteen cases in 20 cases of multiple neoplasm showed non-epithelial neoplasm. The SNP analysis revealed the ethnical differences in haplotype distribution and it would be relevant to the origin of the mutation of causative gene.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：内科、リウマチ学、臨床遺伝学、  
 科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内科学一般（含心身医学）

キーワード：ウエルナー症候群、症例報告、データベース、発癌、民族差、WRN 遺伝子、ハプロタイプ、変異起源

## 1. 研究開始当初の背景

Werner 症候群 (WS) は、高発癌性、若年発症の強皮症と白内障を特長とし、心筋梗塞や特殊な悪性腫瘍により平均 47 歳で死亡する遺伝性早老症の代表的疾患であり、リウマチ性疾患の一つとして分類されている。その報告例の 70% は日本人であり、日本においては常染色体劣性疾患の中で最も頻度の高い疾患と考えられているが、日本以外の東アジアの国では報告されていない。これまでに、臨床所見をまとめた研究としては、Epstein, Martin 等の研究があり、本邦では後藤等の研究がある。しかし癌を中心に、臨床所見をまとめたデータベースは必ずしも十分に整備されていない。最近 20 年間に、本症として約 500 の学会抄録や論文での発表があるが、これらの報告には多くの発癌症例が含まれていて、中には重複癌も多く存在する。ウエルナー症例のデータベースを作り、その発癌について詳細に検討する事は、ウエルナー症候群の変異遺伝子の表現型としての機能を明らかにする事となり、ひいては発癌のメカニズムを明らかにしていく手がかりを得ることとなる。

いっぽう 1996 年本症の原因遺伝子 (WRN) がクローニングされ、常染色体 8 番の短腕 8p12 に存在する RecQ 型 DNA ヘリカーゼである事が判明し、遺伝子診断が可能となり、これまでに WRN 遺伝子の変異型は 20 種類以上が見つかっている。本邦ではそのうち変異 1、4、6 の 3 つの型で全体の 80% を占めている。しかし、その変異の起源は明らかではなく、したがってなぜ本邦に多く報告されているかという点も明らかに放っていない。また、WRN 近傍には D8S2144, 2174, 2180, 2186 等の microsatellite や TSC0705061, 0546203,

1206081, 1135726 等の SNP、又 WRN 内にも 744, 1074, 1336, 2592 位等の SNP など多型を示すマーカー遺伝子が存在する。これらのマーカーと WRN 遺伝子変異の連鎖分析は、WRN 変異の起源を調べる上で有用な研究方法になると考えられる。

これらの事を踏まへ、過去 20 年間の学会抄録や論文での症例報告をまとめて、癌を中心とした臨床像のデータベースを作成し、高発癌因子としてのウエルナー原因遺伝子の働きを臨床的な発癌の特長という面から明らかにするというのが本研究であり、又、東アジアの各国で WS についての紹介、啓蒙活動を行い WRN 遺伝子近傍のマーカー遺伝子を比べて本症の起源を検討する研究でもある。

## 2. 研究の目的

本研究ではこれまでの学会抄録や論文での本症の症例報告をまとめて、発癌を中心とした臨床像のデータベースを作成する事を目的の一つとしているが、それは高発癌因子としてのウエルナー原因遺伝子の働きを臨床的な発癌の特長という面から明らかにする事をでもある。本症のデータベースを作り、その発癌について詳細に検討する事は、ウエルナー症候群の変異遺伝子の表現型としての機能を明らかにする事となり、ひいては発癌のメカニズムを明らかにしていく手がかりを得る事となる。またこのデータベースは、臨床的診断基準作成の基としても利用され得る。本研究よるデータベースの作成は、本症の 70% が日本で報告されている事を考えると、本邦が世界に率先して行うべき研究であり、データベースを臨床像の根拠として世界の臨床家の診療や、発癌研究に

役立てたい。又、本症のような民族差のある疾患では遺伝子の比較により変異の起源の糸口を見つけ得る可能性がある。日本人WS患者のWRN遺伝子近傍のハプロタイプを東アジアの民族と比較検討する事は、日本人WRN遺伝子変異の起源を明らかにする事を目的とした研究である。

具体的には、1)本症の症例報告を学会報告、論文より調査し、資料としてそろえる事、2)その資料から、同一患者と考えられる報告をまとめて、症例データベースを作成する事である。そのデータベースから 3)WSの癌の臨床的特長を明らかにして 4)発癌遺伝としてのWRNの作用を臨床的に推定する。また、5)WS遺伝子の起源を推定するために、遺伝マーカーを検討してハプロタイプを推定する。更に 6)東アジアで本症の紹介、啓蒙活動、患者調査をするともに、7)正常人サンプルを収集し、日本人との比較から 8)日本人のWS遺伝子の起源を推定し、東アジアの他の民族に少ない理由を推測する等を本研究の目的とする。これらを通じて発癌のメカニズムや変異の起源を明らかにし、将来の検査、診断法の改良、開発に役立てようというのが、本研究の大きな目的である。

### 3. 研究の方法

#### (1) Werner 症候群 (WS) の症例報告リスト作成

医学中央雑誌から、約25年間の学会抄録、論文による症例報告をリストアップし、それ等の資料をすべて収集する。そこから、Excelを用いて症例報告リストを作成する。

#### (2) 全症例報告の収集と症例別データベースの作成

症例報告リストを利用して、すべての症例報告を収集する。集めた学会報告や論文の内容から、症例別のデータベースを作成する。データベースに用いるべきアイテムは、指

検討を行なって決めるとともに、随時改変し、最終的なデータベースを作成した。

#### (3) データベース作成

データベースのアイテム毎に変数を作成し、その変数を用いて入力シートを作成した。それを基に、症例別に予備的なデータベースを作成し、先に作成した症例報告リストと統合した。その後、同一症例の検討を行い、同一症例はまとめて同じケースとし、同一ケース毎のデータベース、WELTAC1を作成した。

#### (4) WSの一般臨床像の解析

WELTAC1を用いて、一般的なWSの臨床像についての基本的な統計量を解析した。

#### (5) WS悪性腫瘍についての解析

WELTAC1を用いて、WSの悪性腫瘍についての基本統計な統計データを解析した。更に、がん研究振興財団のデータベースを中心に、日本人のデータベースと比較検討した。

#### (6) サンプルングと診断指針の検討

大学の研究倫理委員会の承認を得た後、日本人正常人とWS患者のサンプルングを開始した。本研究では、海外共同研究のための基盤整備もその目的の一つである。WSは東アジアでは見つかっていないため、東アジアで本症の紹介、啓蒙活動、患者調査の依頼を行なった。また、診断の指針として、厚生省研究班作成の診断基準を中心に、これまで各国で提唱されている診断指針を紹介した。

#### (7) WRN近傍の多型を示す遺伝子の検討:

大学の研究倫理委員会の承認を得た後、WRN近傍のSNPを調べ、ハプロタイプの解析を行なった。SNPはエクソン6, 20, 32, 34 (SNP1, 3-5)とイントロン18 (SNP2)を検討した。

### 4. 研究成果

#### (1) Werner 症候群 (WS) の症例リスト

医学中央雑誌のデータベースに、1982年7月から2006年末までの間リストアップされているWSの症例報告569 Reportsを集めた。この中から、WSではなかったReportsや疑い症例のReport、症例が書かれていないもの等のReportを除く553 Reportsを用いてデータベースを作成する事とした。1988のReports数が36報と最も多く、2006年は12報であり、平均22.1報であった。総症例数は689人であった。症例ごとに元の報告から変数を取り出してリストを作成し、そのリストに医学中央雑誌の情報を加えた。

#### (2) データベース WELTAC1

689症例を比較して、同一症例についての報告をまとめて同一Caseとした。Caseとして497Caseを登録した。症例ベースのデータベースをWELTAC1-Fとした。そこから、CaseベースのデータベースWELTAC1-Cを作成した。他に文献参照用のデータベースWELTAC1-Bを作成した。Caseは、女215名、男271名、不明11名であり、平均年齢45.4才で、40-50才が最も多かった。Case別で見ると、英文原著でも報告されているものが13Case、和文原著だけの報告が221報、抄録だけのものが263報であった。初めて報告された年度をCaseでみると、1987-1988年が最も多く年度別の平均は19.9Caseであった。今後WELTAC1を修正し解析結果を発表し、簡易版WELTAC1-Aを利用に供す予定である。

#### (3) WSの一般臨床像について

現時点でのWELTAC1の解析結果として(3)及び(4)を記す。確定診断は39.1才で、初発症状出現は18.3才、身長は男154.4、女143.6cm、体重は男42.3、女34.4Kg、BMIは男17.7、女16.7だった。WRN変異は39Caseで示されており、homoが80%以上であった。剖検例は29Caseだった。血族結婚は156Caseにみられ、家族内発症は131Case、疑いを含

めると164Caseであり、兄弟姉妹の発症が多い。血族結婚も家族歴もないCaseが10Caseあり、これを診断基準の必須項目とする事には問題がある。糖尿病は境界型を含め311Caseでインスリン抵抗性が多く、高脂血症95Case中IIb、IV型が各々約25%を占めている。70Caseに認めた動脈硬化は冠、腎、下肢動脈が多く、冠不全は30Caseあった。31Caseで内分泌障害がみられ甲状腺機能低下が14Case、副腎機能亢進、低下が各3Caseみられた。性機能障害は144Caseで報告され、原発性性腺機能低下が58Caseであった。精神症状の報告は32Caseあり、知能障害18Case、統合失調8Caseで、うつ病の1Caseと比べて高頻度であった。難治性皮膚潰瘍は221Caseあり足部、下腿、肘に多かった。軟部組織の石灰化はアキレス腱、膝周囲、大動脈弁に多く見られた。関節変形は114Caseの報告中45Caseが外反母趾で、扁平足は21Caseであった。白内障は平均29.9才で、手術は34.2才であった。

#### (4) WS 悪性腫瘍について

悪性腫瘍は133Caseあり、各悪性腫瘍の数と平均発症年齢は、胃癌4Case(平均48.3才)、肺癌3(53.3)、肝癌6(46.4)、胆嚢・胆管癌4(46.2)、膀胱癌4(48.3)、乳癌3(40.3)であった。これらの癌の10万人・年あたりの頻度を仮説を置いて検討すると、各16.3、12.2、24.5、16.3、16.3、24.5となり、2005年の日本人の頻度と比べて高くはなかった。悪性黒色腫は25Caseで平均45.6才であり、鼻腔発症が9Caseと最も多く、足底、足ゆびが各4Caseであった。甲状腺癌も25Caseあり平均39.0才であった。白血病・AML・ALL・AMoLは11Caseで平均44.4才であった。骨肉腫は16Case、悪性繊維性組織球症は12Caseの報告があり、各々平均46.1才、46.9才であった。また、平滑筋肉腫、神経鞘起源の肉腫が

各々6、6Case 報告されていた。WS では間葉系の悪性腫瘍が増加していた。多重悪性腫瘍症例は20Caseあり、二重の症例は16Caseであった。多重癌例の中の15Caseが非上皮性悪性腫瘍（悪性黒色腫、脳腫瘍を含む）との重複であった。家系内のWSでも7Caseで肉腫が報告されていた。良性腫瘍では甲状腺腫瘍を19、髄膜腫17、MDS12Case認めた。

#### (5) 診断指針と東アジアでの症例の検討

検討した診断指針については、WS確定例で近親婚、兄弟発症のない症例が見られたことから、それを必須とする指針は的確でない可能性が示唆され、より現実的な指針が必要である。東アジア各国でWSの臨床像や各種診断指針紹介をしたが、ベトナムで強く疑われる症例が見つかっている。

#### (6) WRN近傍の多型を示す遺伝子の検討

SNP3では、日本人ではGアリルがタイ人と比べて優位に増加していた ( $p=0.000175$ )。ハプロタイプでは、TTGTT, TTGTC, TTTT, TTTGT が各々18.1, 17.7, 17.0, 16.7%の頻度であった。TTTGTはタイと比べて優位に減少していた ( $OR=0.58-0.61$ )。WSでは特殊なハプロタイプはまだ見つからないが、今後症例数を増やして更に検討を進めていく予定である。

尚、研究結果は順次論文にて発表予定であり、データベースはホームページでの紹介又は公開を予定している。本研究は、研究組織欄の先生方に加えて、簗持淳、竹内真純、田久保海誉、森正樹、大野木由加、Mui H、Kasitanon N、Lee EB、Wu CS他の国内外の諸先生や研究補助員の方の御助言、御協力をいただいで遂行した研究である。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計8件)

①Tsunoda K, Harihara S, (他2名、2番目):

Polymorphism of the Apolipoprotein B Gene and Association with Plasma Lipid and Lipoprotein Levels in the Mongolian Buryat. *Biochem Genet.* 50:249-268. 2012. 査読有. DOI: 10.1007/s10528-011-9468-y

②Ryu HJ, Takeuchi F (他5名、2番目): The diagnostic utilities of anti-agalactosyl IgG antibodies, anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, and rheumatoid factors in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 31(3):315-9, 2011, 査読有. DOI:10.1007/s00296-009-1260-5

③Kang EH, Takeuchi F (他8名、3番目): Associations between the HLA-A polymorphism and the clinical manifestations of Behcet's disease. *Arthritis Res Ther* 24:13(2):R49, 2011, 査読有. DOI: 10.1186/ar3292

④Louthrenoo W, Takeuchi F (他7名、9番目): Lack of CTGF\*-945C/G dimorphism in Thai patients with systemic sclerosis. *Open Rheumatol J* 5: 59-63, 2011, 査読有. DOI: 10.2174/1874312901105010059

⑤Yuasa I, Harihara S, (他7名、2番目): Distribution of OCA2\*481Thr and OCA2\*615Arg, associated with hypopigmentation, in several additional populations. *Leg Med* 13. 215-217, 2011. 査読有. DOI:10.1016/j.legalmed.2011.04.003

⑥Louthrenoo W, Takeuchi F (他5名、7番目): Anti-agalactosyl IgG antibodies in Thai patients with rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, and systemic sclerosis. *Clin Rheumatol* 29: 241-246, 2010, 査読有. DOI:10.1007/s10067-009-1284-y

⑦Kaburaki T, Harihara S, Takeuchi F (他6名、7,9番目): Genetic Association of HLA-A\*2601 with Ocular Behçet's Disease in Japanese Patients. Clin Exp Rheumatol 28 (Supple. 60): S39-S44, 2010, 査読有. <http://www.clinexprheumatol.org/abstract.asp?a=3782>

⑧Yuasa I, Harihara S (他8名、5番目): HERC1 polymorphisms: population-specific variations in haplotype composition. Cell Biochem Funct. 27(6):402-405. 2009, 査読有. DOI:10.1002/cbf.1582

[学会発表] (計5件)

①Harihara S, Takeuchi F (他5名、1,6番目): Clinical features of 2 diabetes mellitus patients with high tissue level mitochondrial DNA A3243G mutation. 5<sup>th</sup> The Society for Free Radical Research-Asia, 8<sup>th</sup> The Asian Society for Mitochondrial Research and Medicine, 11<sup>th</sup> The Japanese Society of Mitochondrial Research and Medicine 2011. 鹿児島, 2011年8月31日.

②Louthrenoo W, Takeuchi F (他6名、8番目): No association of CTGF\*-945G/C dimorphism in Thai patients with Systemic Sclerosis. 2010 Annual European Congress of Rheumatology, Rome (Italy), 2010年6月16日.

③Louthrenoo W, Takeuchi F (他6名、8番目): Association of HLA-DRB5\*0101 gene with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Thai patients. The 14<sup>th</sup> Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress, Hong Kong, 2010年6月11日.

④Louthrenoo W, Takeuchi F (他6名、8番目): Association of HLA-DRB1\*0405 and \*1001 alleles with the development of rheumatoid arthritis in Thai patients. The 14<sup>th</sup> Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress, Hong Kong, 2010年6月11日.

⑤Kaburaki T, Harihara S, Takeuchi F (他6名、7,9番目): Possible genetic association of HLA-A\*2601 and B39 with Ocular Behçet's Disease in Japan. 73<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of American College of Rheumatology, Philadelphia, USA, 2009年10月16日.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

竹内 二士夫 (TAKEUCHI FUJIO)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号: 70154979

### (2) 研究分担者

針原 伸二 (HARIHARA SHINJI)

東京大学・大学院理学系研究科・助教

研究者番号: 40198932

### (3) 連携研究者

#### (4) 海外研究協力者

Park Myoung Hee (韓国ソウル大学・医学部・教授)

Song Yeong Wook (韓国ソウル大学・医学部・教授)

Yu Chia-Li (台湾台湾大学・医学部・教授)

Worawit Louthrenoo (タイチェンマイ大学・医学部・教授)

Sa-nga Pattanakitsul (タイマヒドン大学・医学部・准教授)

Phan Thi Hoan (ハノイ医科大学・医学部・准教授)