

## Wolfram 病と気分障害

### **SUMMARY**

Wolfram 病は糖尿病、視神経萎縮を来す常染色体劣性遺伝疾患であるが、罹患者のみならず、保因者でうつ病、自殺が高率に見られることから、その原因遺伝子 WFS1 の気分障害における病因的意義が検討されている。多くの気分障害における遺伝子研究で、気分障害と WFS1 変異に関連はないことが明らかとなった。今後は WFS1 の下流にある分子カスケードの解析が期待される。

## 1 Wolfram 病とその精神症状

Wolfram 病(別名 DIDMOAD 症候群)は、10 歳未満に始まる若年性糖尿病、進行性両側性視神経萎縮を主徴とし、多臓器を侵す常染色体劣性遺伝病である。その後加齢と共に、尿崩症、難聴、神経因性膀胱、小脳失調、ミオクローヌスなどの多彩な症状を呈する。

1940 年代より、「情動不安定」「焦燥性うつ病」などの精神症状も記載されていたが、他にも精神遅滞、けいれんなど種々の神経症状が時に見られることもあってか、あまり注目されてはいなかったようである。

1990 年、Swift ら<sup>1)</sup>は、Wolfram 病では精神疾患が多いのではないかという臨床観察に基づき、全米の主な病院の内分泌内科・眼科の専門医と、全ての盲学校に手紙を送り、このまれな疾患の患者を 68 名集めた。その結果、41 名(60%)が、重症うつ病、精神病、「器質性精神症候群」、衝動的な攻撃性など

の精神症状を持っており、うち 17 名は精神科入院歴や自殺未遂歴があった<sup>1)</sup>。同じ頃日本でも、この疾患と躁うつ病様の精神症状を伴う 1 家系が見出されている<sup>2,3)</sup>。

しかしながら、精神症状を伴う身体疾患は多数あり、この所見だけではそれほど関心を引くものとは言えない。この疾患の原因遺伝子と気分障害の関連が疑われた理由は、1)この疾患の保因者 (heterozygote) で精神疾患が多いこと、2)原因遺伝子が双極性障害の候補部位 (1つの大家系でロッドスコア4.1) にマップされた<sup>4)</sup>ことの 2つであろう。

Swift ら<sup>5)</sup>は、Wolfram 病が重症、慢性で長期の治療を必要とするにもかかわらず、両親が外来に来なくなってしまうことが多いこと、家系研究をしようとする、音信不通の者がいたり、参加を渋る家族が多かったりすることに気づき、この変異遺伝子のキャリア (heterozygote) にも精神障害があるのではないかと疑った。そこで彼らは、Wolfram

病患者の親族と、患者の配偶者で、精神疾患の頻度を調べた<sup>5)</sup>。その結果、精神科入院歴と自殺未遂が有意に親族で多く、

heterozygote では、一般人口に比べ、精神科入院が 26 倍多いと見積もられた。症状を詳しく調べると、うつ病が最も特徴的であることがわかった。Wolfram 病の heterozygote は人口の 1%を占めると考えられることから、彼らは、自殺企図やうつ病での入院患者中、25%はこの遺伝子変異の保因者であると見積もった。

こうしたことから彼らは連鎖解析を開始し、1994 年に、4 番染色体上に原因遺伝子が存在することをつきとめた<sup>7)</sup>。

## 2 Wolfram 病とミトコンドリア遺伝子

Wolfram 病は、症状が多臓器にわたり、LHON(Leber 遺伝性視神経炎)や MIDD (母系遺伝性糖尿病・難聴)などのミトコンドリ

ア病である可能性が検討されてきた。もちろん、この疾患は母系遺伝ではなく常染色体劣性遺伝するが、LHON のように、mtDNA 変異と X 染色体の遺伝子の相互作用が疑われるミトコンドリア病もあることから、Wolfram 病でも、mtDNA について検討された。その結果、LHON の原因変異である mtDNA 11778A を持つ Wolfram 病症例が報告された<sup>8)</sup>。従って、mtDNA 変異によって発症する Wolfram 病も一部に存在する可能性が考えられた。また mtDNA の 4216/11251 ハプロタイプが患者では 8 名中 6 名に見られ、対照群の 67 名中 12 名に比し有意に多かったとの報告<sup>9)</sup>があったが、その後の研究では再現されず<sup>10)</sup>、mtDNA の点変異が Wolfram 病の主な原因である可能性は否定された。

一方、発端者及びその両親、同胞でリンパ球に 8.5kb の mtDNA 欠失を認めた家系<sup>11)</sup>、4p16 に連鎖する常染色体劣性遺伝を示し、死後脳組織で mtDNA の多重欠失が見られた 2

家系<sup>12)</sup>の報告から、mtDNA の維持に関連した常染色体の遺伝子変異が関与している可能性が考えられた。

その後、mtDNA の多重欠失を伴う常染色体遺伝疾患の原因遺伝子が続々とクローニングされている。MNGIE (Mitochondrial neurogastrointestinal encephalomyopathy) の原因遺伝子 Thymidine phosphorylase<sup>13)</sup>、常染色体優性遺伝進行性外眼筋麻痺(adPEO) の原因遺伝子 Twinkle<sup>14)</sup>、adenine nucleotide translocator (ANT1)<sup>15)</sup>、および polymerase<sup>16)</sup> は、いずれも mtDNA の維持に関与すると考えられている。

### 3 WFS1/Wolframin のクローニング

1998 年になって、Swift らとは別の日独 2 つのグループより、その原因遺伝子、WFS1/Wolframin がそれぞれ独立にクローニングされた。

Inoue ら<sup>17)</sup>は、日本の3家系、ヨーロッパの2家系で連鎖解析を行い、D4S827、D4S394の2つのマーカーでlodスコア6.0を得た。ハプロタイプを詳細に検討し、近傍に組み替えが生じた家系の所見から、D4S500とD4S431の間に絞り込んだ。この領域を含むBACクローンから、エクソントラッピングによりprotein phosphatase 2Aのサブユニットを得たが、この遺伝子には変異がなかった。一方、この領域を180kbにわたってシーケンスした結果、ESTの一部を得た。この断片を指標としてNorthern Blotを行ったところ、膵臓に多く発現していたことから、彼らはこの遺伝子のcDNA全長を得て、患者でホモ接合の欠失を見出し、この遺伝子をWFS1と命名した。

一方、Strom ら<sup>18)</sup>は、3家系と9名の孤発例で分析を行い、ほぼ同様の過程でこの領域に5つの候補遺伝子を同定し、ホモ接合で欠失を認めた遺伝子を原因遺伝子と結論し、

wolframin と名付けた。

Inoue ら<sup>17)</sup>によると、WFS1は8つのエクソンよりなる3688bpの遺伝子で、うち最大はエクソン8(171-2843)(2672bp)である。イントロンを含めると全長33.4kbにわたる。890アミノ酸よりなる100kDaの蛋白をコードしており、ホモロジーを持つ既知遺伝子はない。親水性のN末端、C末端に、疎水性の中心部が挟まれた構造から、10の膜貫通領域を持つ膜蛋白と思われた。Strom ら(1998)によると、脳、胎盤、肺、膵などに多く、Zooプロットでは、ほ乳類には認められたが、ショウジョウバエや酵母では認められなかった。

その後Takeda ら<sup>19)</sup>はWFS1抗体を作成し、細胞内および脳内分布を調べた。WFS1は、遠心勾配による分画法では、小胞体(ER)蛋白と同じ分画に存在しており、過剰発現させた細胞でもERに分布していた。免疫組織化学およびin situ hybridizationにより脳内分布を調べたところ、最も強い免疫活性が見ら

れたのは海馬と扁桃体で、海馬ではCA1の錐体細胞に強い免疫活性が見られた。その他、大脳皮質（第2層）、中脳、脳幹、基底核、小脳などの、主として細胞体と近位樹状突起に免疫活性が見られた。

WFS1が辺縁系に強く発現していることは、精神疾患との関連で特に興味深い。一方、予想に反してWFS1はミトコンドリアではなく小胞体に局在しており、mtDNA多重欠失所見との関連については謎が残った。

#### 4 患者における変異検索

##### Wolfram 病

Wolfram病患者では既に51個もの変異が見出されたが<sup>20)</sup>、その多くはフレームシフト、ストップコドンの消失または生成、大欠失など、機能が失われる変異であった。大きさから考えて当然であるが、ほとんどがエクソン8の変異であった。複数の家系で見いだされ

た変異は2つだけで、ほとんどはその家系固有の変異であった。約90%のWolfram病患者で変異が見つかり、残りの変異が見つからない患者ではWFS1のイントロンやプロモーターの変異か、別の遺伝子の異常が疑われる。

##### 糖尿病・難聴

糖尿病患者における検索では、R456H、H611R、I720Vとの関連が報告された<sup>21)</sup>。一方、進行性の難聴では、Wolfram病原因変異のheterozygoteが見出されている<sup>22,23)</sup>。

##### 気分障害

気分障害における変異検索については多くの報告がある。上記の糖尿病と関連していたR456H、H611R、I720Vは、いずれも気分障害とは関連がなかった<sup>24,25)</sup>。

Furlongら<sup>26)</sup>は、158名の双極I型障害患者、163名の双うつ病患者、および316名の対照群で、H611Rおよびサイレント変異V395についてRFLP法で検討したところ、

関連は見られなかった。この際、偶然見出された A559T は、患者（双極性障害 3 名、うつ病患者 1 名）のみで見られ、対照群では 1 名もなかったことから、気分障害との関連が疑われた。

Otsuki ら<sup>24)</sup>は、30 名の入院歴のある大うつ病患者、47 名の双極性障害患者で、SSCP 法によりエクソン 8 の変異を検索し、3 つの新規変異を含む 5 つのミスセンス変異を見いだした。G576S の関連研究では、双極性障害（49 名中 12 名）と対照群（54 名中 10 名）の間に有意な差はなかった。

Evans ら<sup>25)</sup>は、4p との連鎖を認めた 5 家系の発端者で、WFS1 の coding region 全域をシーケンスした。2 つの既知のミスセンス変異（I333V、H611R）を認めたが、双極性障害と連鎖はしていなかった。

Middle ら<sup>27)</sup>は、312 名の双極 I 型障害患者と対照群 301 名で、サイレント多型 A1832G との関連研究を行い、有意な関連を

認めなかった。

Torres ら<sup>28)</sup>は、統合失調症患者 119 名、分裂感情病患者 1 名、双極性障害患者 12 名、大うつ病患者 15 名（合計 147 名）で、エクソン 8 のシーケンス解析を行った。その結果、17 のミスセンス変異を含め、24 の新規変異を見いだした。このうち、A602V は、分裂病患者 6 名で見られた。他にも、R818C が 3 名、V871M、G576S、L432V が 2 名で見られた。A559T も、統合失調症患者 1 名、うつ病患者 1 名で見いだされた。168 名の対照群では、R818C が 2.2%に見られた他は、すべて 1%以下であった。Wolfram 病の原因となる変異が見られず、精神疾患と Wolfram 病の heterozygote に関連はないと結論した。

Crawford ら<sup>29)</sup>の研究は、自殺既遂者という Wolfram 病との関係が最も確立した表現型に関し、エクソンの全領域を検索し、160 名という十分な数の対照群と比較した点で、最も確実な所見である。彼らは、自殺者 100

名でWFS1エクソン全長をSSCPによりスクリーニングし、60名の既往歴不明の対照群および、100名のうつ病がないことを確認した対照群と比較した。その結果、Wolfram病の原因変異は自殺者中1人も見られず、全てのミスセンス変異は対照群と差がなかった。

我々も<sup>30)</sup>、184名の双極性障害患者および207名の対照者で、A559T、A602V、G576S、H611Rの4つの変異について双極性障害との関連を検討したが、いずれも関連はなかった。また、双極性障害患者11名、うつ病患者11名、統合失調症患者13名、対照群15名の死後脳の前頭前野において、WFS1のmRNA発現量を検討したが、群間で有意な差は見られなかった。

これらの結果から、「うつ病の入院患者中、25%はこの遺伝子変異の保因者である」というSwiftの予想は完全に否定された。WFS1の多型による機能や発現量の個人差と気分障害の脆弱性の関連も完全に否定された。

## 5 今後の研究の展開

一般の気分障害患者の多くがWFS1変異の保因者であるという仮説が否定されたからといって、精神疾患研究におけるWFS1の意義が否定されたわけではない。Wolfram病が精神疾患以外の表現型が中心の疾患であることを考えると、むしろWFS1の下流の分子カスケードが精神疾患と関連していると考えた方がよさそう。

WFS1の機能については、まだほとんど何もわかっていないが、mtDNAの維持に関与するのではないかという事前の予想と、この蛋白が小胞体に局在するというデータは矛盾しており、mtDNA多重欠失自体、アーチファクトだったのではないかという見方もあると思われる。しかしながら、近年小胞体とミトコンドリアの間に、密接な接触および機能的相互作用が明らかになりつつあり、いずれこれらの所見を統一的に理解できるように

なる可能性もある。

今後、WFS1 のかかわる分子カスケードの  
解明、気分障害の遺伝的モデル動物としての  
WFS1 変異動物の解析などに期待がかかっ  
ている。

## 文献

- 1) Swift RG, Sadler DB, Swift M:  
Psychiatric findings in Wolfram  
syndrome homozygotes. *Lancet* **336**:  
667-669, 1990
- 2) 横山秀克、星野仁彦、八島祐子、他: 躁  
うつ病を合併した DIDMOAD 症候群の 1  
症例. *精神医学* **31**: 769-771, 1989
- 3) Nanko S, Yokoyama H, Hoshino Y, et al:  
Organic mood syndrome in two siblings  
with Wolfram syndrome. *Br J*  
*Psychiatry* **161**: 282, 1992
- 4) Blackwood DHR, He L, Morris SW, et  
al: A locus for bipolar affective disorder  
on chromosome 4p. *Nature Genet* **12**:  
427-435, 1996
- 5) Swift M, Swift RG: Psychiatric  
disorders and mutations at the Wolfram  
syndrome locus. *Biol Psychiatry* **47**:  
787-793, 2000

- 6) Swift RG, Perkins DO, Chase CL, et al: Psychiatric disorders in 36 families with Wolfram syndrome. *Am J Psychiatry* **148**: 775-9, 1991
- 7) Polymeropoulos MH, Swift RG, Swift M: Linkage of the gene for Wolfram syndrome to markers on the short arm of chromosome 4. *Nat Genet* **8**: 95-7, 1994
- 8) Pilz D, Quarrell OW, Jones EW: Mitochondrial mutation commonly associated with Leber's hereditary optic neuropathy observed in a patient with Wolfram syndrome (DIDMOAD). *J Med Genet* **31**: 328-30, 1994
- 9) Hofmann S, Bezold R, Jaksch M, et al: Wolfram (DIDMOAD) syndrome and Leber hereditary optic neuropathy (LHON) are associated with distinct mitochondrial DNA haplotypes.

- Genomics* **39**: 8-18, 1997
- 10) Barrett TG, Scott-Brown M, Seller A, et al: The mitochondrial genome in Wolfram syndrome. *J Med Genet* **37**: 463-6, 2000
- 11) Barrientos A, Casademont J, Saiz A, et al: Autosomal recessive Wolfram syndrome associated with an 8.5-kb mtDNA single deletion. *Am J Hum Genet* **58**: 963-70, 1996
- 12) Barrientos A, Volpini V, Casademont J, et al: A nuclear defect in the 4p16 region predisposes to multiple mitochondrial DNA deletions in families with Wolfram syndrome. *J Clin Invest* **97**: 1570-1576, 1996
- 13) Nishino I, Spinazzola A, Hirano M: Thymidine phosphorylase gene mutations in MNGIE, a human mitochondrial disorder. *Science* **283**:

689-92, 1999

- 14) Spelbrink JN, Li FY, Tiranti V, et al: Human mitochondrial DNA deletions associated with mutations in the gene encoding Twinkle, a phage T7 gene 4-like protein localized in mitochondria. *Nature Genet.* **28**: 223-31, 2001
- 15) Kaukonen J, Juselius JK, Tiranti V, et al: Role of adenine nucleotide translocator 1 in mtDNA maintenance. *Science* **289**: 782-5, 2000
- 16) Van Goethem G, Dermaut B, Lofgren A, et al: Mutation of POLG is associated with progressive external ophthalmoplegia characterized by mtDNA deletions. *Nature Genet* **28**: 211-2, 2001
- 17) Inoue H, Tanizawa Y, Wasson J, et al: A gene encoding a transmembrane protein is mutated in patients with diabetes

mellitus and optic atrophy (Wolfram syndrome). *Nature Genetics* **20**: 143-148, 1998

- 18) Strom TM, Hoernagel K, Hofmann S, et al: Diabetes insipidus, diabetes mellitus, optic atrophy and deafness (DIDMOAD) caused by mutations in a novel gene (wolframin) coding for a predicted transmembrane protein. *Human Molecular Genetics* **7**: 2021-2028, 1998
- 19) Takeda K, Inoue H, Tanizawa Y, et al: WFS1 (Wolfram syndrome 1) gene product: predominant subcellular localization to endoplasmic reticulum in cultured cells and neuronal expression in rat brain. *Human Molecular Genetics* **10**: 477-484, 2001
- 20) Khanim F, Kirk J, Latif F, et al: WFS1/wolframin mutations, Wolfram

syndrome, and associated diseases.

*Human Mutation* **17**: 357-367, 2001

21) Awata T, Inoue K, Hurihara S, et al:

Missense variants of the gene responsible for Wolfram syndrome (WFS1/wolframin) in Japanese: possible contribution of the arg456his mutation to type 1 diabetes as a nonautoimmune genetic basis. *Biochem Biophys Res Commun* **268**: 612-616, 2000

22) Young TL, Ives E, Lynch E, et al:

Non-syndromic progressive hearing loss DFNA38 is caused by heterozygous missense mutation in the Wolfram syndrome gene WFS1. *Hum Mol Genet* **10**: 2509- 2514, 2001

23) Bernalova IN, Van Camp G, Bom SJH, et al: Mutations in the Wolfram syndrome 1 gene (WFS1) are a common cause of low frequency sensorineural

hearing loss. *Hum Mol Genet* **10**: 2501 – 2508, 2001

24) Otsuki T, Ishiguro H, Yoshikawa T,

Arinami T (2000) WFS1 gene mutation search in depressive patients: detection of five missense polymorphisms but no association with depression or bipolar affective disorder. *J Affect Disord* **58**: 11-17

25) Evans KI, Lawson D, Meitinger T, et al:

Mutational analysis of the Wolfram syndrome gene in two families with chromosome 4p-linked bipolar affective disorder. *Am J Med Genet* **96**: 158-160, 2000

26) Furkong RA, Ho LW, Rubinsztein JS, et

al: A rare coding variant within the wolframin gene in bipolar and unipolar affective disorder cases. *Neuroscience Letters* **277**: 123-126, 1999

- 27) Middle F, Jones I, McCandless F, et al:  
Bipolar disorder and variation at a  
common polymorphism (A1832G) within  
exon 8 of the Wolfram gene. *Am J Med  
Genet* **96**: 154-157, 2000
- 28) Torres R, Leroy E, Hu X, et al: Mutation  
screening of the Wolfram syndrome  
gene in psychiatric patients. *Molecular  
Psychiatry* **6**: 39-41, 2001
- 29) Crawford J, Zielinski MA, Fisher LJ, et  
al: Is there a relationship between  
Wolfram syndrome carrier status and  
suicide? *Am J Med Genet* **114**: 343-6,  
2002
- 30) Kato T, Iwamoto K, Washizuka S, et al:  
No association of mutations and mRNA  
expression of WFS1/wolframin with  
bipolar disorder. *Neuroscience Letters*  
(in press)