

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10994

研究課題名(和文)日本人ゲノム解析ツールによる股関節形成不全の疾患感受性遺伝子の探索

研究課題名(英文)Elucidation of the causative gene of developmental dysplasia of the hip using Japonica array

研究代表者

千葉 大介 (Chiba, Daisuke)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：20649727

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：股関節形成不全(DDH)は日本人に好発し、発生頻度は約0.3%である。DDHを背景にした変形性股関節症(OA)を呈する患者が多く、疼痛や変形のため日常生活動作が著しく障害される。OAの予防は重要な課題である。日本人に最適化されたゲノムワイド関連解析ツールであるジャポニカアレイを用いてDDHの原因遺伝子の解明を目的とした。健康人データと比較して、ジャポニカアレイの解析結果で、DDHに有意に出現頻度が高いSNPが157個同定された。特にUQCC1遺伝子が日本人におけるDDH発症への関与が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

DDHによって変形性股関節症となり症状を発症するのは多くが高齢になってからである。高齢者で関節変形が起これば、介助を要するようになり、医療経済も悪化させる可能性がある。DDHに関連する遺伝子群を同定することで、将来の変形性股関節症の発症予測を可能とする礎となり、その素因者に対して、若年期のうちから将来の発症予防を啓発する診断システムの構築が可能となる。その結果として、高齢者の関節変形を予防し、ADL維持・改善に寄与し、広く国民の健康増進・維持に貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：Developmental dysplasia of the hip (DDH) is common in Japanese with a frequency of approximately 0.3%. About 80% of patients with osteoarthritis of the hips (OA) are caused by DDH. The pain and deformity of the hip joint make walking difficult and the activities of daily living are significantly impaired. Prevention of OA is important. The purpose of this study is to elucidate the causative gene of DDH using Japonica array, which is a genome-wide association analysis tool optimized for Japanese. The data of healthy subjects and those of DDH patients were compared. As a result of Japonica array analysis, 157 SNPs with a significantly high frequency in DDH were identified. In particular, it was suggested that the ubiquinol-cytochrome c reductase complex chaperone (UQCC) 1 gene is involved in the development of DDH in Japanese.

研究分野：整形外科股関節学

キーワード：股関節形成不全 遺伝子解析 ゲノム

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

発育性股関節形成不全 (Developmental dysplasia of hip: DDH) は出生時に関節内で寛骨臼から大腿骨頭が逸脱した状態を示す。DDH は日本人に好発し、本邦での発生頻度は 0.3% である。男女比はおおよそ 1:9 で、圧倒的に女性に多いことが特徴である。DDH 患者のなかには、中高年期以降に変形性股関節症 (OA) を発症する患者が多い。股関節の痛みや変形のため歩行困難となり、日常生活動作が著しく障害される。日本人における股関節 OA の有病率 1~4% と推定されており、そのうち約 80% が DDH に由来する二次性の股関節 OA であるとされる。DDH に対する原因療法はないため、関節破壊が進行した場合には人工股関節置換術により関節機能の改善や痛みの軽減を図るのが一般的である。

DDH の発症原因としては、遺伝的要因、出生前との環境因子が挙げられている。事実、DDH は同一家系内での発症が多いことから (30-40%)、遺伝的要因の関与が強く疑われている。OA 関連遺伝子の CALM1 やアスポリンの遺伝子多型の報告がある一方で、DDH 関連遺伝子についての報告は少ない。DDH 集積発症の一家族の解析から、Mabuchi らが 13q22 染色体上の遺伝子多型が関連することを報告しているが、DDH の発症、重症化予測の手がかりはいまだ明らかになっていない。

近年のヒトゲノム解析技術の発達により、ヒト全ゲノムデータベースを用いた疾患特異的な SNP の網羅的解析、すなわち genome-wide association study (GWAS) が可能となってきた。これにより特定の疾患に関連する複数の遺伝子座の SNP を網羅的に解析・同定することが広く行われている。整形外科疾患に限っても、この手法によって変形性関節症 (OA) に関わる GDF5、思春期特発性側弯症 (AIS) に関わる LBX1、および後縦靭帯骨化症 (OPLL) に関わる複数遺伝子の SNP が同定されている。DDH については、Sun らのグループが中国の漢民族を対象にして、386 名の DDH 患者と 558 名の健常者に対して、中国人向け SNP 解析ツールを用いた GWAS の解析結果を報告した。その結果 DDH 患者には、骨格の形態発生と成長に関わるタンパクである Ubiquinol-cytochrome c reductase complex chaperone (UQCC) をコードする遺伝子に、健常人と比較して有意な遺伝子多型があることが示した (Sun et al., 2015a)。

ジャポニカアレイは日本人に最適化されたゲノムワイド関連解析ツールである (Kawai et al., 2015)。本ツールでは日本人に特異的な塩基配列を持つ約 66 万箇所の SNP を解析する。さらに、東北メディカル・メガバンク機構で作成している全ゲノムリファレンスパネルなどを用いて、約 30 億塩基の全ゲノム構造を擬似的に再構成 (インピュテーション) し、約 800 万箇所の SNP やコピー数変異 (CNV) を解析することができる。東北大学メディカル・メガバンク機構で蓄積している約 1000 名の健常日本人の SNP データを比較対照にして、日本人の DDH 患者に特徴的な SNP の検索を行う。日本人に特化した SNP 解析ツールも用いることにより、日本人患者に対して信頼性が高い SNP 解析が行うことが可能となる。

## 2. 研究の目的

ジャポニカアレイを用いた DDH の原因遺伝子の解明である。具体的には DDH 症例について網羅的ゲノム解析を行い、発症に関連する疾患感受性遺伝子群を探索することである。

## 3. 研究の方法

本研究は東北大学倫理委員会の承認のもとに、対象患者に対する十分な informed consent を得たうえで行った。両股関節単純 X 線写真で Sharp 角 45° 以上かつ CE 角 20° 以下の状態を

DDH と定義し、レントゲン画像で確認した DDH の 400 症例から検体を採取した。全血 7ml の採血を EDTA 入りの採血管に行い、核酸抽出までの間 -20℃ で保管した。ゲノム DNA の抽出は QIAGEN 社の DNeasy Blood Mini Kit を用いて行った。抽出したゲノム DNA は 50ng/μl 以上の濃度で、20μl 以上となるように調整した。SNP 解析は、東芝の Japonica Array システム<sup>®</sup>を用いて行った。本システムでは全ゲノム中の 86 万箇所の SNP をマイクロチップ上で解析し、日本人ゲノム情報を元にスーパーコンピュータ上で imputation を加え、約 600 万箇所の SNP 情報の推定が可能なシステムである。DNA 抽出を行った。200 症例についてジャポニカアレイでの Single nucleotide polymorphism (SNP) 解析 (挿入欠失含む) を行っている。健常人コントロールは東北大学東北メディカル・メガバンクの 1070 人のストックデータを健常成人群として利用した。ジャポニカアレイでは、1070 名の健常人データと本研究対象の DDH 患者データを比較し、 $p < 1.0 \times 10^{-4}$  となる SNP を有意とした。また、ジャポニカアレイでの解析を行った症例とは異なる DDH の 200 症例について 400 人の健常者を対照にして、ジャポニカアレイで同定された SNP について RT-PCR を用いたジェノタイプ頻度の検討を行った。

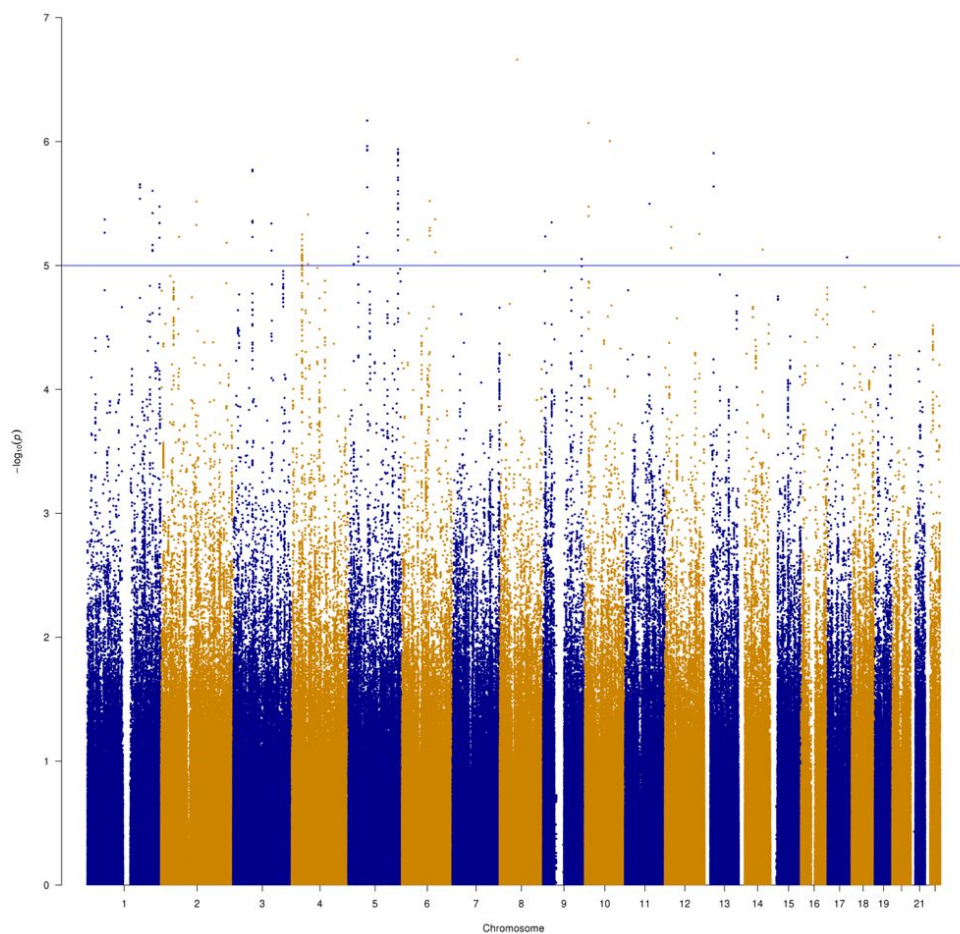
#### 4 . 研究成果

ジャポニカアレイの解析の結果をプロット図で示す(図 1)。p 値が  $10^{-4}$  以下の DDH に有意に出現頻度が高い SNP が 157 個同定された。またこれとは別に p 値が  $10^{-3}$  の SNP が 800 個同定された。Sun らの漢民族での DDH についての報告にある(Sun et al., 2015b)、*UQCC1* 遺伝子の SNP である rs6060355 のジャポニカアレイでのアレル頻度の検討では  $p = 5.01 \times 10^{-5}$  であった。本研究の結果から *UQCC1* 遺伝子は日本人の DDH についても発症への関連が示唆された。ジャポニカアレイで同定された SNP について、新しい疾患感受性遺伝子の同定を目標にして今後もジェノタイプ頻度の検討を継続していく予定である。

Kawai, Y., Mimori, T., Kojima, K., Nariyai, N., Danjoh, I., Saito, R., Yasuda, J., Yamamoto, M., and Nagasaki, M. (2015). Japonica array: improved genotype imputation by designing a population-specific SNP array with 1070 Japanese individuals. *J. Hum. Genet.*

Sun, Y., Wang, C., Hao, Z., Dai, J., Chen, D., Xu, Z., Shi, D., Mao, P., Teng, H., Gao, X., et al. (2015a). A Common Variant Of Ubiquinol-Cytochrome c Reductase Complex Is Associated with DDH. *PLOS ONE* 10, e0120212.

図1 日本人 DDH 症例のジャポニカアレイを用いたゲノムワイド関連解析



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	森 優  (Yu Mori)  (70634541)	東北大学・大学病院・助教    (11301)	
研究分担者	橋本 功  (Ko Hashimoto)  (00718497)	東北大学・医学系研究科・講師    (11301)	