

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09404

研究課題名(和文) ジャポニカアレイを用いた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) Exploration of disease susceptibility genes for hip dysplasia using the Japonica Array

研究代表者

千葉 大介 (Chiba, Daisuke)

東北大学・大学病院・講師

研究者番号：20649727

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000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。中高年期以降にDDHを背景にした変形性股関節症(OA)を呈する患者が多く、股関節の疼痛や変形のため日常生活動作が著しく障害される。OAの予防は超高齢社会の日本において重要な課題である。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。DDH患者238人と健常人2044人のデータを比較して、いくつかの有意なSNPsが同定された。OAの軟骨標本のトランスクリプトーム解析により、フェロトシスシグナル経路がDDHの発症機序に関連している可能性が分かった。

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。変形が進行すれば人工関節手術が必要になり、介助を要することもあるので、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OA発症予測を可能とする礎となる。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。さらにはそれらの遺伝子がコードするタンパクに対するアプローチができれば、従来不可能であったDDHに対する薬物治療の開発が期待される。結果として、中高年齢層の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 85% 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 disease susceptibility genes for DDH using Japonica array, which is a genome-wide association analysis tool optimized for Japanese. Comparing data from 238 patients with DDH and 2044 healthy subjects, several significant SNPs were identified. Transcriptome analysis of cartilage specimens from OA revealed that the ferotosis signaling pathway may be related to the pathogenesis of DDH.

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

## 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 the hip: DDH) とは、生下時に関節包内で大腿骨頭が寛骨臼から逸脱した状態を示す。かつては先天性股関節脱臼 (congenital dislocation of the hip: CDH) と言われていたが、寛骨臼形成不全や亜脱臼の状態から出生後に脱臼となることもあり、現在では完全脱臼に加えて寛骨臼形成不全や亜脱臼を含めて DDH と称されるようになっている。本邦での DDH の発生頻度は約 0.3% である。

DDH に起因して、中高年齢になってから変形性股関節症 (osteoarthritis: OA) を呈する患者が多い。股関節 OA とは、さまざまな原因で関節軟骨の変性が惹起され、引き続き関節周囲の骨変化および二次性の滑膜炎を生じて股関節の変形が徐々に進行するに伴い、疼痛、可動域制限などの症状を生じる疾患である。股関節の疼痛や変形のため、歩行困難を生じ、日常生活動作が著しく障害され、場合によっては寝たきりになることもある。股関節 OA の有病率は 1~4% との報告があり、本邦においてその原因の 80% は DDH であると言われている。近年の高齢化社会に伴い、股関節 OA の患者数も増加している。股関節 OA の治療として、人工股関節の手術がある。本邦では現在、年間に約 5 万件が行われている。20 年前は年間約 1 万件であったことから、股関節 OA 患者が急増していることが分かる。

DDH の要因としては、遺伝的要因、出生前後の環境的要因があげられている。DDH は同一家系内での発生が多い (30~40%) ことから遺伝的要因があげられているが、DDH 関連遺伝子についての報告は少ない。

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て、DDH の遺伝子的素因についての網羅的ゲノム解析を行い、DDH に関連する遺伝子群を同定すること。

### 3. 研究の方法

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 度以上かつ CE 角 20 度以下を DDH と定義した。

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/ l 以上の濃度で、20 l 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ー上で 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。

DDH 患者 238 人と健常者 2044 人を対象にゲノムワイド関連研究 (GWAS) を行った。健常人コントロールは東北大学東北メディカル・メガバンクのストックデータを利用した。また、英国バイオバンクのデータからの 3315 人の患者の GWAS 結果も分析した。DDH に関連する股関節 OA および大腿骨頭頸部骨折の軟骨標本のトランスクリプトーム解析を行った。

### 4. 研究成果

日本人患者を対象とした GWAS により、rs11802858、rs2554380、rs79657649、rs17699467 の 4 つが有意な SNPs として新たに同定された。英国バイオバンクデータセットの GWAS から 81 遺伝子、日本人 DDH 患者の GWAS から 42 遺伝子を機能マッピングとアノテーション (FUMA) を用いて、それらの SNP に遺伝子を割り当てた。2 つの遺伝子セット間に類似性は見られなかった。FUMA と ingenuity pathway analysis (IPA) を用いたオントロジー解析により、日本人 DDH 患者の遺伝子セットに重要な経路が特定され、フェロトーシスシグナル経路がその頂点にあった。トランスクリプトーム解析により、フェロトーシスの経路に参与する遺伝子である GTP cyclohydrolase-1 (GCH1; chr14:55,306,723-55,371,542) が軟骨細胞で発現しており、その発現は DDH 関連 OA 群で低下していることが示された。

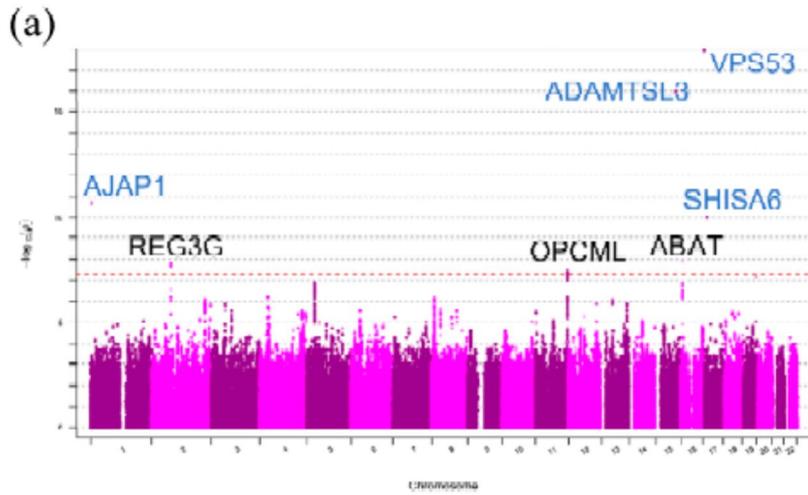


図 1 : 日本人の DDH 患者の Manhattan plot  
青色は SNPs の直接ジェノタイピングによる結果

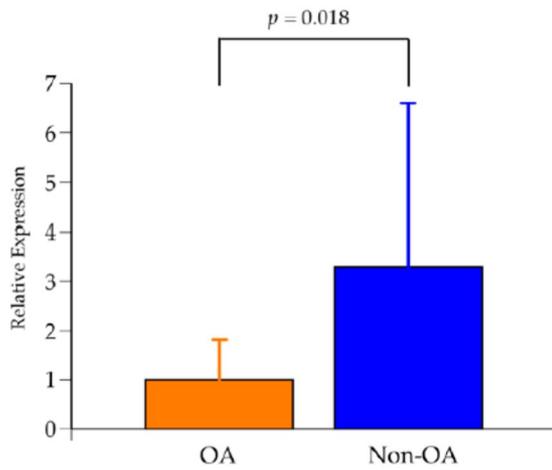


図 2 : GCH1 発現の qualitative real-time PCR

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.*

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Mori Yu, Ueno Kazuko, Chiba Daisuke, Hashimoto Ko, Kawai Yosuke, Baba Kazuyoshi, Tanaka Hidetatsu, Aki Takashi, Ogasawara Masanori, Shibasaki Naoto, Tokunaga Katsushi, Aizawa Toshimi, Nagasaki Masao	4. 巻 24
2. 論文標題 Genome-Wide Association Study and Transcriptome of Japanese Patients with Developmental Dysplasia of the Hip Demonstrates an Association with the Ferroptosis Signaling Pathway	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 5019 ~ 5019
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms24055019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔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	橋本 功  (Hashimoto Ko)  (00718497)	東北大学・医学系研究科・講師   (11301)	
研究分担者	森 優  (Mori Yu)  (70634541)	東北大学・大学病院・講師   (11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------