

201024264A

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患克服研究事業

遺伝性多発性外骨腫の実態把握と  
遺伝子多型に関する基盤研究

(H22—難治一般—209)

平成 22 年度 総括 研究報告書

研究代表者 清水 克時

平成 23 (2011) 年 4 月

# 目 次

## 1. 研究者名簿

## 2. 統括研究報告

遺伝性多発性外骨腫の実態把握と遺伝子多型に関する基盤研究	1
研究代表者 清水 克時 (岐阜大学医学部整形外科 教授)	
分担研究者 松本 和 (岐阜大学医学部整形外科 臨床講師)	
分担研究者 松本 嘉寛 (九州大学整形外科 助教)	
分担研究者 高山真一郎 (独立行政法人国立成育医療研究センター外科系専門診療部 部長)	
分担研究者 小崎 里華 (独立行政法人国立成育医療研究センター内科系専門診療部 遺伝診療科 医長)	
分担研究者 成松 久 (独立行政法人産業技術総合研究所・糖鎖医工学研究センター, 糖鎖遺伝子機能解析 糖鎖医工学研究センター長)	
分担研究者 木全 弘治 (愛知医科大学・医学部・先端医学医療研究拠点 拠点長)	
分担研究者 高橋 厚子 (患者会『ぼ～んゆいま～る』 代表)	

## 3. 分担個別研究報告

1) 遺伝性多発性外骨腫の実態把握と遺伝子多型に関する基盤研究	9
分担研究者 松本 和 (岐阜大学医学部整形外科 臨床講師)	
2) 遺伝性多発性外骨腫の実態把握と遺伝子多型に関する基盤研究	12
分担研究者 松本 嘉寛 (九州大学整形外科 助教)	
3) 遺伝性多発性外骨腫の実態把握と遺伝子多型に関する基盤研究	16
国立成育医療研究センターにおける遺伝性多発性外骨腫の実態把握	
分担代表者 小崎 里華 (国立成育医療研究センター内科系専門診療部 遺伝診療科 医長)	
4) 先天性多発性外骨腫の外科的治療 前腕・手関節を中心に	19
分担代表者 高山 真一郎 (国立成育医療研究センター外科系専門診療部 部長)	
5) 遺伝性多発性外骨腫の実態把握と遺伝子多型に関する基盤研究	27
分担研究者 成松 久 (産業技術総合研究所 糖鎖医工学研究センター センター長)	
研究協力者 後藤 雅式 (産業技術総合研究所 糖鎖医工学研究センター, 糖鎖遺伝子機能解析)	
6) 遺伝性多発性外骨腫の実態把握と遺伝子多型に関する基盤研究	33
分担研究者 木全 弘治 (愛知医科大学医学部・先端医学医療研究拠点 拠点長)	
7) 第一回報告書に寄せて	40
分担研究者 高橋 厚子 (患者会『ぼ～んゆいま～る』 代表)	
4. 別添資料	47

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業

『遺伝性多発性外骨腫の実態把握と遺伝子多型に関する基盤研究』

(H22-難治一般-209)

平成22年度研究者名簿

研究代表者	清水 克時	岐阜大学医学部整形外科 教授
分担研究者	松本 和	岐阜大学医学部整形外科 臨床講師
	松本 嘉寛	九州大学整形外科 助教
	高山真一郎	独立行政法人国立成育医療研究センター外科系専門診療部 部長
	小崎 里華	独立行政法人国立成育医療研究センター内科系専門診療部 遺伝診療科 医長
	成松 久	独立行政法人産業技術総合研究所・糖鎖医工学研究センタ ー, 糖鎖遺伝子機能解析 糖鎖医工学研究センター長
	木全 弘治	愛知医科大学・医学部・先端医学医療研究拠点 拠点長
	高橋 厚子	患者会『ぼ〜んゆいま〜る』 代表
研究協力者	後藤 雅式	独立行政法人産業技術総合研究所・糖鎖医工学研究センタ ー, 糖鎖遺伝子機能解析
	野原 憲子	患者会『ぼ〜んゆいま〜る』 関東代表
	森 裕幸	患者会『ぼ〜んゆいま〜る』 東海代表
	鈴木 聡	患者会『ぼ〜んゆいま〜る』 関西代表
	松本 義明	患者会『ぼ〜んゆいま〜る』 九州代表
	門屋研一郎	患者会『ぼ〜んゆいま〜る』 四国代表

# 統括研究報告

## 総括研究報告

### 遺伝性多発性外骨腫の実態把握と遺伝子多型に関する基盤研究

岐阜大学大学院医学研究科 整形外科 教授

清水 克時

#### A. 研究目的

遺伝性多発性外骨腫 (MHE) は常染色体優性遺伝であり, 長管骨の骨幹端部に発生する骨腫瘍を特徴とする. MHE は稀な疾患で, 海外での罹患率は 1:50,000 との報告がある (Schmale GA et al. JBJS. 1994 76(7):986-92) が本邦での患者数は把握されていない. McComick らはその原因遺伝子が *EXT1* 及び *EXT2* であることを発見したものの, これらの遺伝子の異常が骨腫瘍の発生にどのように関与しているかは全く不明のままである. また, 未だ手術以外の効果的な治療法が確立されておらず, 幼少期~思春期にかけての多数回の手術は, 患者自身のみならずその家族にも多大な負担を強いる. さらに, *EXT1* 或いは *EXT2* に変異が見つからない場合も多く, 診断の精度を上げることが今後の課題である. また, 多型と表現型 (具体的にはヘパラン硫酸の量など) との相関についての情報はほとんど無い. そこで本研究では, 患者組織, 医療機関, 研究機関が三位一体となり, 本邦での患者数の把握, 効率よい検体の収集を行うシステム作りを第一の目標とし, さらに得られたサンプルを用いて病的組織の生化学的および病理学的解析を行う. また, 一部で軟骨肉腫を発生する患者が見られるが, その原因も明らかになっていない. 我々は, 悪性化する患者の頻度と部位, そしてその原因となる多型を見出し, その表現型としてのヘパラン硫酸の異常を生化学的に解析することも目的とする.

#### B. 研究方法

本研究では, 患者組織, 医療機関, 研究機関が三位一体となり, 本邦での患者数の把握, 効率よい検体の収集を行うシステム作りを第一の目標とする. まず, 我々医療機関と患者組織が検体の収集を行い, 匿名化したのち, 産業技術総合研究所, 愛知医科大学で多型解析並びに生化学的解析を実施する (図1).

平成 22 年度は、患者の実態調査、検体の収集と塩基配列解析を開始する。さらに収集したデータを元に、遺伝子多型と生化学解析結果の相関についての分析を加える。特に悪性化した検体に関しては全遺伝子の解析を行い詳細な情報収集を行うこととする。

## 1. 患者数の実態把握と検体の収集

(医療機関並びに患者が担当)

患者会、および各医療施設が中心となり、遺伝性多発性外骨腫の患者または検体を同施設へ集約し、患者数の実態把握と検体の収集に務める。患者会においては居住地、年齢、性別などを匿名化した後、申請者施設へ送付する。新入会患者が発生した場合は随時データを送付する。さらに医療施設者は患者の基礎データ収集を行い、これを申請者施設でデータベース化する。さらに医療施設へ来院した患者組織の中のボランティア、或いは医療機関を受診した患者にインフォームドコンセントを実施する。これらの患者から下記の検体を収集し、匿名化ののち産業技術総合研究所に送付する。

## 2. 遺伝子多型、および生化学的・組織学的解析

(産業技術総合研究所、愛知医科大学担当)

ヘパラン硫酸合成に関与する遺伝子の増幅・塩基配列プライマーをデザインし、解析準備を行う。その後、集まった血液等の検体から順次、塩基配列解析を行う。また、患者から得られた血液サンプルを用いて血中ヘパラン硫酸を定量し、マーカーとしての可能性を検討する。さらに手術的に得られたサンプルを用いて組織学的解析を加える。

(倫理面への配慮)

本研究の開始にあたり、研究対象者に対し下記に示す説明事項について十分説明した上で、本研究への参加について自由意思による同意を文書で得る。【説明事項; (1) 研究の目的および方法 (2) 予想される研究成果 (3) 研究試料の採取方法など (4) 研究への参加に同意しない場合であっても不利益は受けない旨 (5) 研究の参加に同意した場合でも何時でもこれを撤回できる旨 (6) 人権の保護に関する配慮 (7) 研究担当者の氏名および連絡先など】

さらに研究対象者のプライバシーの保護と識別のため対象者の同定や照会は、

登録時に発行される症例登録番号、患者イニシャル、生年月日を用いて行われ、患者名など第三者が直接患者を識別できる情報が本研究のデータベースに登録されることはない。研究機関（産業技術総合研究所／愛知医科大学）は、本研究実施計画書および研究対象者への説明文書・同意書について倫理委員会に諮る。本研究に参加する研究者は、当該説明文書・同意書を用いて研究対象者への説明と同意を受けた後、検体を採取し、検体を研究機関に送付する。組換えDNA実験を行う場合には、産業技術総合研究所ライフサイエンス実験に関する倫理及び安全管理規程に従い実施する。

文部科学省・厚生労働省・経済産業省「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成16年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号）」、遺伝医学関連10学会より提案された「遺伝学的検査に関するガイドライン」、厚生労働省・文部科学省「疫学研究に関する倫理指針」を遵守する。本研究は多施設共同研究によって行う。

### C. 研究結果

今回研究に参加した期間は、臨床機関は岐阜大学、九州大学、国立成育医療研究センターの3施設、研究機関は産業技術総合研究所、愛知医科大学先端医学医療研究拠点の2施設、そして患者会『ぼ～んゆいま～る』である。本研究の第一目標は、効率よい検体の収集を行うシステム作りであったが、短期間の間に目標は達成できたと考えられる。特に岐阜大学では『外骨腫専門外来』を設立し効率的な集約に勤めている。外骨腫専門外来では疫学調査のため外骨腫アンケートを実施し、患者背景の情報取得につとめている。現在、44例のアンケート結果を取得した。本調査により患者背景が浮き彫りにされている。また、九州大学、国立成育医療研究センターでは、現在遺伝子サンプルの採取を進めるとともに、九州大学では二次性軟骨肉腫の悪性かメカニズムに関する研究を、国立成育医療研究センターでは、小児前腕変形に関する治療、および実態把握を調査中である。

遺伝子検査に関しては、各機関では本研究を倫理委員会へ申請し、承認を得た施設から順次、患者への遺伝子検査のインフォームドコンセントを行い臨床データ、および血液サンプルの採取を開始している。研究開始が9月18日であり、ごく短期間ではあるが平成23年2月28日現在、合計23家族50人（本年度の目標は20例であった）の遺伝子サンプルを採取し解析中である。

遺伝子検査結果では、現時点（平成23年2月28日）で17家族38名の遺伝子検査結果が判明している。今回の解析対象は *EXT1*, *EXT2* 遺伝子であるが、*EXT1*, *EXT2* 遺伝子に異常が見つかった患者は17家族中12家族（71%）であり、5家族には *EXT1*, *EXT2* 遺伝子の多型は発見されなかった。また、発見された遺伝子多型を Multiple Osteochondroma Mutation Database ([http://medgen.ua.ac.be/LOVDv.2.0/home.php?select\\_db=EXT1](http://medgen.ua.ac.be/LOVDv.2.0/home.php?select_db=EXT1)) で検索すると、12家族のうち7家族（Family 1, 2, 7, 8, 11, 13, 16）に新たな多型が発見された。

生化学的解析では、現在分担研究者の木全らが、健常者の血液サンプルを用い血中コンドロイチン硫酸 (CS) /ヘパラン硫酸 (HS) 量の計測を試みている。健常者での血清 CS/HS ratio はサンプル間で比較的均一であり（図2）、今後更なる検討を加えバイオマーカーとしての可能性を探ることに成る。

組織学的解析については生化学的解析を踏まえ、組織切片を作成し順次解析を行っていく予定である。

#### D. 考察

患者会、臨床機関、研究機関が三位一体と成った本研究では、効率的な検体収集のシステム作りを第一の目標としている。本研究を開始したのが平成22年9月18日であり、5ヶ月というごく限られた期間の中で、年間目標である20検体を達成し、23家族50検体を収集できたことは、この三位一体のシステムがいかに優れた方法であることを示している。本研究システムは、他の難治性疾患や希少疾患にも応用可能であり、汎用性も含め極めて貴重なモデル研究となりうる。今後は産業総合研究所での遺伝子解析、愛知医科大学での生化学的・組織学的解析を進めていくことにより、新たな病態の解明へとつながるものと期待している。

疫学的調査については患者の集約と同時に行っているアンケートをもとに患者背景を知ることができる。現在までに44例ではあるが、その結果を示した。年齢分布は各年代にわたっており、男女比はやや男性の方が多かった（理論上は1:1）。これまでの手術回数はかなり個人差があり、この理由として主治医の手術加療による適応の違いが影響しているのかもしれない。そのためにもエビデンスに基づく治療方針の確立が必須であろう。確定診断に関しては臨床症状にて多発性外骨腫が有るかどうかにて診断されるが、概ね10歳までには診



断が可能であると思われた。本研究での遺伝子診断法が確立すれば、更に早期に確定診断が可能となる。骨格変形の有無に関してはおおむね60%程度の患者が何らかの変形を抱えており、今後はより詳細な検討を加えて治療指針の確立に尽力したいと考えている。

軟骨肉腫の発生については、海外での文献報告によると約1%以下と稀であるとされているが今回のアンケート調査では家族歴を有する患者が30%を超えていた。その理由として欧米と本邦での遺伝子変異の相違や、治療法や診断指針の相違が影響を及ぼしている可能性があり、九州大学の2次性軟骨肉腫発生のメカニズムの研究に期待したい。

遺伝子解析に関しては、岐阜大学、九州大学、国立成育医療研究センターでの効率の良い患者集約の成果が見られ、現時点では23家族50名の検体を得ている。順次解析が進む予定であるが、これまでに17家族中、12家族(71%)に *EXT1*, *EXT2* 遺伝子に異常が見つかっており、5家族には *EXT1*, *EXT2* 遺伝子の多型は発見されなかった。また、発見された遺伝子多型の12家族のうち7家族 (Family 1, 2, 7, 8, 11, 13, 16) に新たな多型が発見されたこと意義深い。今後はこの結果を踏まえ、生化学的な手法を用いた機能的解析を加え、これらの遺伝子多型が、どのようにヘパラン硫酸の合成に影響を与え、また表現型とどのように相関があるのかを検討していく必要がある。

今後は遺伝子的解析、生化学的・組織学的解析に加え疫学的調査を継続して行っていく必要があり、これらのデータを総合的に解析していくことで、本疾患のさらなる原因究明につながるものと思われる。また本研究スタイルは、他の難治性疾患の研究にも応用可能であり、厚生労働省の指導のもと、各疾患に日本での拠点施設を設けることで効率よく診断、治療が可能となる。

## E. 結語

本研究はスタートして短期間ではあるが、患者会、臨床機関、研究機関が三位一体となり効率の良い研究体制を確立している。本研究スタイルは、他の難治性疾患にも応用可能であり、極めて貴重な研究スタイルとなりうる。

## F. 研究発表

### 論文発表

1. Ogawa H, Sumi H, Sumi Y, Shimizu K. Glenohumeral dislocations in snowboarding and skiing. *Injury*. 2011 Feb 16. *In Press*

2. Hioki A, Miyamoto K, Hosoe H, Sugiyama S, Suzuki N, Shimizu K. Cantilever transforaminal lumbar interbody fusion for upper lumbar degenerative diseases (minimum 2 years follow up). *Yonsei Med J.* 2011 Mar 1;52(2):314-21.
3. Nagano A, Ohno T, Nishimoto Y, Hirose Y, Miyake S, Shimizu K. Lipoblastoma mimicking myxoid liposarcoma: a clinical report and literature review. *Tohoku J Exp Med.* 2011;223(1):75-8.
4. Ishimaru D, Ogawa H, Ito Y, Shimizu K. Surgical treatment of an infant with Bacille Calmette-Guérin osteomyelitis extending across the growth plate. *Orthopedics.* 2011 Jan 3;34(1):55.
5. Komura S, Miyamoto K, Hosoe H, Fushimi K, Iwai C, Nishimoto H, Shimizu K. Anterior cervical multilevel decompression and fusion using fibular strut as revision surgery for failed cervical laminoplasty. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2010 Dec 30.
6. Ogura H, Miyamoto K, Fukuta S, Naganawa T, Shimizu K. Comparison of magnetic resonance imaging and computed tomography-myelography for quantitative evaluation of lumbar intracanal cross-section. *Yonsei Med J.* 2011 Jan 1;52(1):137-44.
7. Naganawa T, Miyamoto K, Hosoe H, Suzuki N, Shimizu K. Hemilaminectomy for removal of extramedullary or extradural spinal cord tumors: medium to long-term clinical outcomes. *Yonsei Med J.* 2011 Jan 1;52(1):121-9.
8. Kato Z, Kondo N, Kato H, Morita H, Teramoto T, Miyamoto K, Shimizu K. Selective pontine hypoplasia: A possible common feature in 5p monosomy syndrome. *Brain Dev.* 2010 Dec 8.
9. Inoue T, Suzuki K, Maehara H, Shimizu K. Human growth plate contains aggrecan fragments that can be generated by m-calpain. *Connect Tissue Res.* 2010 Nov 30.
10. Masuda T, Miyamoto K, Hosoe H, Shimizu K. Comparative study on the efficacy of two-staged (posterior followed by anterior) surgical treatment using spinal instrumentation on pyogenic and tuberculous spondylitis. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2010 Nov 11.
11. Hirakawa A, Shimizu K, Fukumitsu H, Soumiya H, Iinuma M, Furukawa S. 2-Decenoic acid ethyl ester, a derivative of unsaturated medium-chain fatty acids, facilitates functional recovery of locomotor activity after spinal cord injury. *Neuroscience.* 2010 Dec 29;171(4):1377-85.

12. Masatani T, Ito N, Shimizu K, Ito Y, Nakagawa K, Abe M, Yamaoka S, Sugiyama M. Amino acids at positions 273 and 394 in rabies virus nucleoprotein are important for both evasion of host RIG-I-mediated antiviral response and pathogenicity. *Virus Res.* 2011 Jan;155(1):168-74.
13. Ogawa H, Sumi H, Shimizu K. Posterior cruciate ligament mediated avulsion fracture of the lateral tibial condyle: a case report. *J Orthop Surg Res.* 2010 Sep 8;5:67.
14. Takigami I, Ohno T, Kitade Y, Hara A, Nagano A, Kawai G, Saitou M, Matsuhashi A, Yamada K, Shimizu K. Synthetic siRNA targeting the breakpoint of EWS/Fli-1 inhibits growth of Ewing sarcoma xenografts in a mouse model. *Int J Cancer.* 2011 Jan 1;128(1):216-26.
15. Ogawa H, Ito Y, Takigami I, Shimizu K. Revision Total Hip Arthroplasty for a Vancouver Type B3 Periprosthetic Fracture Using an Allograft-Cemented Stem Composite by the Telescoping Technique. *J Arthroplasty.* 2010 Jul 14.
16. Fukuta S, Miyamoto K, Hosoe H, Shimizu K. Kidney-type Intervertebral Spacers Should be Located Anteriorly in Cantilever Transforaminal Lumbar Interbody Fusion: Analyses of Risk Factors for Spacer Subsidence for a Minimum of 2 Years. *J Spinal Disord Tech.* 2010 Jul 14.
17. Naganawa T, Miyamoto K, Ogura H, Suzuki N, Shimizu K. Comparison of magnetic resonance imaging and computed tomogram-myelography for evaluation of cross sections of cervical spinal morphology. *Spine (Phila Pa 1976).* 2011 Jan 1;36(1):50-6.
18. Terabayashi N, Ohno T, Nishimoto Y, Oshima K, Takigami I, Yasufuku Y, Shimizu K. Nonunion of a first rib fracture causing thoracic outlet syndrome in a basketball player: a case report. *J Shoulder Elbow Surg.* 2010 Sep;19(6):e20-3.
19. Yamauchi K, Wakahara K, Fukuta M, Matsumoto K, Sumi H, Shimizu K, Miyamoto K. Characteristics of upper extremity injuries sustained by falling during snowboarding: a study of 1918 cases. *Am J Sports Med.* 2010 Jul;38(7):1468-74.
20. Takigami I, Ohara A, Matsumoto K, Fukuta M, Shimizu K. Functional bracing for delayed union of a femur fracture associated with Paget's disease of the bone in an Asian patient: a case report. *J Orthop Surg Res.* 2010 May 12;5:33.

21. Ito N, Moseley GW, Blondel D, Shimizu K, Rowe CL, Ito Y, Masatani T, Nakagawa K, Jans DA, Sugiyama M. Role of interferon antagonist activity of rabies virus phosphoprotein in viral pathogenicity. *J Virol.* 2010 Jul;84(13):6699-710.
22. Hioki A, Miyamoto K, Sakai H, Shimizu K. Lumbar axial loading device alters lumbar sagittal alignment differently from upright standing position: a computed tomography study. *Spine (Phila Pa 1976).* 2010 Apr 20;35(9):995-1001.
23. Masatani T, Ito N, Shimizu K, Ito Y, Nakagawa K, Sawaki Y, Koyama H, Sugiyama M. Rabies virus nucleoprotein functions to evade activation of the RIG-I-mediated antiviral response. *J Virol.* 2010 Apr;84(8):4002-12.
24. Hirakawa A, Miyamoto K, Masuda T, Fukuta S, Hosoe H, Iinuma N, Iwai C, Nishimoto H, Shimizu K. Surgical outcome of 2-stage (posterior and anterior) surgical treatment using spinal instrumentation for tuberculous spondylitis. *J Spinal Disord Tech.* 2010 Apr;23(2):133-8.
25. Ogawa H, Sumi H, Sumi Y, Shimizu K. Pelvic fractures resulting from snowboarding. *Am J Sports Med.* 2010 Mar;38(3):538-42.
26. Ogawa H, Sumi H, Sumi Y, Shimizu K. Skill level-specific differences in snowboarding-related injuries. *Am J Sports Med.* 2010 Mar;38(3):532-7.

#### G. 知的所有権の取得状況

- |           |    |
|-----------|----|
| 1, 特許取得   | なし |
| 2, 実用新案登録 | なし |
| 3, その他    | なし |

# 分担個別研究報告

厚生労働科学研究費補助金研究事業（清水班）  
「遺伝性多発性外骨腫の実態把握と遺伝子多型に関する基盤研究」  
分担研究員 岐阜大学整形外科 松本 和

## A. 研究目的

多発性遺伝性外骨腫症(Multiple Hereditary Exostosis: MHE)の本法における遺伝子多型および病態把握。

## B. 研究方法

### 1) 外骨腫外来の現況

岐阜大学にて2010年9月より、外骨腫患者を集約するために開設された『外骨腫外来』の現況を把握する。

### 2) MHE のアンケート調査による実体把握

『外骨腫外来』受診時に患者にアンケート調査（別添）を行い、患者背景を把握する。

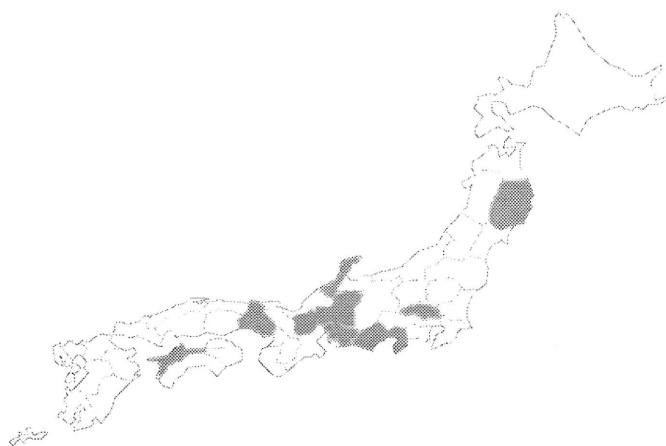
### 3) 遺伝子多型解析のための検体収集

2010年9月より開設した『外骨腫外来』にて多発性外骨腫患者を集約し、遺伝子検査を実施する。外来受診時に採血を行い、血液より白血球を分離、その後ゲノムDNAの回収を行う。採取した検体は匿名化の後、産業総合技術研究所へ送付する。

## C. 研究結果

### 1) 外骨腫外来の現況

2010年9月から2011年2月末日までに合計41名の外骨腫患者が受診した。内訳は、単発性5名、多発性36名であった。平均年齢は25.95歳(2~76歳)、男性21名、女性20名であった。患者は東海地区を中心に、9県にわたって分布していた。



## 2) MHE のアンケート調査による実体把握。

患者会の協力を得て別添のアンケート調査を行った患者は、多発性外骨腫患者44名で男性28名、女性16名であった。アンケート結果では、これまでの手術回数、確定診断年齢、上下肢変形の有無、脊柱側弯症、臼蓋形成不全の有無、家族に軟骨肉腫の既往の有無が調査された。結果、これまで手術的加療を受けたことのある患者が約60%を占めていた。確定診断年齢は約75%が11歳までに確定診断されていた。また、確定診断年齢が40歳という患者も存在した。上下肢の変形では約6割の患者がその変形を自覚しており、脊柱側弯症(5%)、臼蓋形成不全(14%)は頻度の低いものであった。軟骨肉腫の既往が血縁者にあるかどうかの質問では、約1/4の患者が「ある」と回答していた。その他、MHEの患者は、『疲れやすいと感じる』『腕立て伏せが出来ない』『筋力が弱い』という症状を約1/4が自覚していた。

## 3) 遺伝子多型解析のための検体収集

これまでに、18家族47名より同意を得た上に採血、全例ゲノムDNAを採取した後に匿名化、産業総合技術研究所へ送付した。ゲノム解析結果は分担研究者、成松・後藤グループの報告を参照。

## D. 考察

### 1) 外骨腫外来の現況

2010年9月より、効率の良い患者収集を目指し開設した、第1, 3週木曜日の『外骨腫外来』であるが、現在までに41名の患者が来院した。本邦での患者数は不明であるが、これまでの欧米での発生頻度が1/50,000であることを考えると、ひとまず『効率の良い患者収集』は行われていると思われる。現在、臨床拠点として九州地区では九州大学、中部地方では岐阜大学、関東では成育医療研究センターの3施設が存在するが、今後は患者の交通の便も考慮し、各地方での臨床拠点の整備を進めていく必要があるものと思われる。

### 2) MHE のアンケート調査による実体把握

『外骨腫外来』受診時に患者にアンケート調査(別添)を行い、患者背景の把握をおこなった。これまでにMHE患者では、骨腫瘍以外に、前腕や下肢の変形が存在することが知られている。今回のアンケート結果では、上下肢の変形

は約6割の患者が自覚していた。上下肢の変形に対しては骨腫瘍の切除手術同様、変形矯正手術などの外科的治療が有効であるが、これまでにどの年齢で、どの程度の変形に対して手術が有効かは不明のままである。分担研究者の高山らは現在これらについて検討中である。側弯症、臼蓋形成不全に関しては、数%~20%程度とそれほど認識されていないが、分担研究者の九州大学、松本の報告によると、14名中9名に10°を超える側弯症が存在することから、いまままで注意が払われてこなかった可能性があり、級外形成不全を含め今後の検討項目であると考えられた。

### 3) 遺伝子多型解析のための検体収集

現状のシステムで問題なく検体収集が可能であり、遺伝子多型解析に必要な良質の試料が作製可能であった。

## E. 結語

外骨腫外来開設、臨床病態の把握、MHE 血液検体の収集および遺伝子解析のための基盤研究を行い、上述のように有望な結果を得た。

## G. 発表

### 1. 論文

1) **松本和**. 『整形外科/知ってるつもり』患者組織を交えた多施設共同研究—遺伝性多発性外骨腫症. 臨床整形外科, 投稿中.

### 2. 発表

1) 第18回プロテオグリカンフォーラム (2011.2.19 東京)

**松本和**. 骨格形成におけるヘパラン硫酸の役割—*Ext1* コンディショナルノックアウトマウスの解析から—

2) 2011 Orthopedic Research Society Annual Meeting (2011.1.13.~1.16. Long Beach, CA)

**Kazu Matsumoto**, Fumitoshi Irie, Satoshi Nozawa, Susan Mackem, Yu Yamaguchi. Nobel mice models provide the new insights of pathogenesis for multiple hereditary exostoses.



厚生労働科学研究費補助金研究事業（清水班）  
「遺伝性多発性外骨腫の実態把握と遺伝子多型に関する基盤研究」

分担研究員

九州大学大学院整形外科

松本 嘉寛

A. 研究目的

多発性遺伝性外骨腫症(Multiple Hereditary Exostosis: MHE)の本法における遺伝子多型および病態把握、および二次性悪性化の要因の解明

B. 研究方法

1) 遺伝子多型解析のための検体収集

外来もしくは入院時に採血を行い、血液より白血球を分離、その後にゲノム DNA の回収を行う。採取した検体は匿名化の後、岐阜大学整形外科へと郵送する。

2) MHE の臨床病態の実態把握

カルテおよび各種検査所見より MHE 症例の臨床病態を解析する。今回はとくに MHE における脊椎側彎症の罹患状態および、MHE に生じた二次性軟骨肉腫の病態に関して検討した。

3) 軟骨肉腫の悪性化メカニズムの解析

MHE に生じる二次性軟骨肉腫の新規治療法の開発のため、まず軟骨肉腫細胞株 NDCS1(脱分化型、新潟大学整形外科 生越先生よりご供与)を用いた。NDCS1 を二次元および三次元の状態で培養、それぞれの細胞より mRNA を抽出した。その後、標本を約 40,000 遺伝子を搭載したマイクロアレイチップ (Agilent 社)を用いて解析、発現に変化のある遺伝子を同定した。

C. 研究結果

1) これまでに、5 家族 8 名より同意を得た上に採血、全例ゲノム DNA を採取した後に匿名化、岐阜大学へ送付した。

2) MHE の臨床病態の実態把握

a. MHE における脊椎側彎症の罹患状態

MHE 症例 14 名中 9 名、64%に 10° 以上の側彎を認めた。平均 18.2°、右凸カーブが 3 名、左凸カーブが 6 名であった。

b. MHE に生じた二次性軟骨肉腫の病態

当科にて過去に手術を行った、MHE における二次性軟骨肉腫の症例は 5 名、男性 4 名、女性 1 名であった。発生部位は脊椎 2 例、骨盤 2 例、肩甲骨 1 例でありすべて体幹発生であった。全例に腫瘍広範切除を行った。最終観察時、全例で無病生存していた。

3) 軟骨肉腫の悪性化メカニズムの解析

細胞を三次元で培養することにより、生体内での環境が模倣されることが予想され、軟骨肉腫の悪性化を制御する因子が同定可能と思われる。二次元培養および 10 回の継代を繰り返した NDCS1 細胞における遺伝子発現の差異をマイクロアレイ法にて検討した。今回の検討では三次元培養により、糖鎖関連、細胞外基質、幹細胞に関与する遺伝子が同定可能であった。以下に代表的な遺伝子を記す。

糖鎖関連遺伝子(三次元培養で上昇)

N-sulfoglucosamine sulfohydrolase  
biglycan  
chondroitin sulfate N-acetylgalactosaminyltransferase 1  
cytokine-like 1  
sulfatase 2

幹細胞関連遺伝子(三次元培養で上昇)

KIT ligand  
S100 calcium binding protein A4  
transforming growth factor, beta receptor III

細胞外基質関連遺伝子(三次元培養で低下)

bone morphogenetic protein 6  
bone morphogenetic protein 8b

collagen, type XI, alpha 2  
noggin  
parathyroid hormone 1 receptor

## 考察

### 1) 遺伝子多型解析のための検体収集

現状のシステムで問題なく検体収集が可能であり、遺伝子多型解析に必要な良質の試料が作製可能であった。

### 2) MHE の臨床病態の実体把握

我々は、脊椎疾患を持たない 1,200 名の X 線写真の検討より、側彎の平均値は  $3^{\circ}$  程度であることを報告している(文献 1 参照)。今回の検討では、MHE 症例の 64%に  $10^{\circ}$  以上の側彎を認め、MHE の動物モデルの表現型と合わせ(Matsumoto K et al., 2010)、MHE におけるヘパラン硫酸量の減少と脊椎側彎症には何らかの因果関係があると推察され今後さらなる検討が必要である。また、二次性軟骨肉腫は体幹発生例が主であったが、適切な手術により予後は良好であった。しかしながら、脱分化を来たし予後不良な症例の報告もあり、軟骨肉腫発生メカニズムの解明および、手術以外に新規治療法の解析が必要である。

### 3) 軟骨肉腫の悪性化メカニズムの解析

今回の解析により、軟骨肉腫の悪性化に関与すると予想される複数の因子が同定された。今後は各遺伝子について細胞生物学および分子生物学的に検討し、詳細な解析をすすめる。

## E. 結語

MHE 血液検体の収集、臨床病態の把握および新規治療法の開発のための基盤研究を行い、上述のように有望な結果を得た。

## G. 発表

## 1. 論文

1) Doi T, Harimaya K, Mitsuyasu H, Matsumoto Y, Masuda K, Kobayakawa K, Iwamoto Y. Right thoracic curvature in the normal spine. J Orthop Surg Res. 2011;6(1):4

## 2. 発表

第 22 回日本整形外科学会骨系統疾患研究会 (2010. 11. 26～27 徳島)  
多発性遺伝性骨軟骨腫症の病因および二次性軟骨肉腫の病態と治療