

Table 3 Distribution of scores for domains in the JOACMEQ; cervical spine function

Cervical spine function	Male	20–29	30–39	40–49	50–59	60–69	70–79	80–89	Female	20–29	30–39	40–49	50–59	60–69	70–79	80–89
Number	Valid	115	120	117	113	118	106	102	Valid	119	115	118	121	121	115	109
	Invalid	0	2	0	0	0	3	2	Invalid	1	2	2	2	1	2	3
Average		96.9	98.4	97.0	93.8	95.0	86.9	74.9*		98.1	97.6	97.1	94.9	93.1	87.4	79.7*
Median		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	85.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	90.0
Standard deviation		12.2	6.7	8.5	12.6	10.0	21.5	27.7		6.3	5.6	8.1	10.3	15.6	21.5	22.6
Percentile	10.0	90.0	100.0	85.0	80.0	75.0	57.0	31.5	10.0	90.0	88.0	85.0	80.0	75.0	58.0	40.0
	25.0	100.0	100.0	100.0	87.5	97.5	85.0	55.0	25.0	100.0	100.0	100.0	95.0	90.0	80.0	65.0
	50.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	85.0	50.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	90.0
	75.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	75.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
	90.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	90.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

* $p < 0.05$; the average scores were significantly lower than those in the young generations in their 20s to 60s in both genders

Table 4 Distribution of scores for domains in the JOACMEQ; upper extremity function

Upper extremity function	Male	20–29	30–39	40–49	50–59	60–69	70–79	80–89	Female	20–29	30–39	40–49	50–59	60–69	70–79	80–89
Number	Valid	115	121	116	113	117	107	103	Valid	120	114	120	122	122	117	109
	Invalid	0	1	1	0	1	2	1	Invalid	0	3	0	1	0	0	3
Average		99.0	99.7	99.6	99.2	99.0	96.9	88.4*		100.0	99.8	99.9	98.9	98.5	96.3	88.1*
Median		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	95.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	95.0
Standard deviation		6.3	1.6	1.7	2.6	3.9	9.2	16.4		0.5	1.6	0.6	3.1	5.3	10.6	16.0
Percentile	10.0	100.0	100.0	100.0	95.0	100.0	89.0	65.0	10.0	100.0	100.0	100.0	95.0	95.0	89.0	68.0
	25.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	84.0	25.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	95.0	81.5
	50.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	95.0	50.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	95.0
	75.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	75.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
	90.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	90.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

* $p < 0.05$; the average scores were significantly lower than those in the young generations in their 20s to 70s in both genders

Table 5 Distribution of scores for domains in the JOACMEQ; lower extremity function

Lower extremity function	Male	20–29	30–39	40–49	50–59	60–69	70–79	80–89	Female	20–29	30–39	40–49	50–59	60–69	70–79	80–89
Number	Valid	115	121	117	112	116	109	103	Valid	119	113	118	121	120	114	111
	Invalid	0	1	0	1	2	0	1	Invalid	1	4	2	2	2	3	1
Average		98.6	97.8	97.9	96.3	95.8	90.4*	73.2*		97.0	97.9	96.9	94.4	94.5	88.0*	63.7*
Median		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	77.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	95.0	68.0
Standard deviation		4.1	6.7	5.5	8.0	10.0	15.6	25.6		7.0	6.1	7.6	9.9	11.2	17.4	27.0
Percentile	10.0	95.0	95.0	91.0	83.2	80.5	68.0	27.0	10.0	86.0	92.6	82.0	77.0	77.0	66.0	23.0
	25.0	100.0	100.0	100.0	96.3	95.0	86.0	59.0	25.0	100.0	100.0	100.0	95.0	95.0	82.0	45.0
	50.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	77.0	50.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	95.0	68.0
	75.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	95.0	75.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	86.0
	90.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	90.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.0

* $p < 0.05$; the average scores were significantly lower than those in young generations in their 20s to 60s in both genders

Table 6 Distribution of scores for domains in the JOACMEQ; bladder function

Bladder function	Male	20–29	30–39	40–49	50–59	60–69	70–79	80–89	Female	20–29	30–39	40–49	50–59	60–69	70–79	80–89
Number	Valid	113	120	114	112	117	108	102	Valid	118	116	120	120	120	113	106
	Invalid	2	2	3	1	1	1	2	Invalid	2	1	0	3	2	4	6
Average		97.1	94.9	94.1	90.1*	87.5*	83.2*	72.1*		97.5	97.5	95.2	91.2*	89.6*	84.2*	75.1*
Median		100.0	100.0	100.0	94.0	94.0	88.0	75.0		100.0	100.0	100.0	94.0	94.0	88.0	81.0
Standard deviation		6.5	8.0	9.2	10.3	12.9	15.5	22.2		6.7	5.3	6.8	9.4	10.2	13.8	20.0
Percentile	10.0	88.0	81.0	81.0	75.0	69.0	62.0	38.0	10.0	88.0	88.0	88.0	81.0	75.0	64.8	44.0
	25.0	100.0	88.0	94.0	82.8	81.0	75.0	62.0	25.0	100.0	100.0	88.0	88.0	81.0	81.0	62.0
	50.0	100.0	100.0	100.0	94.0	94.0	88.0	75.0	50.0	100.0	100.0	100.0	94.0	94.0	88.0	81.0
	75.0	100.0	100.0	100.0	100.0	97.0	94.0	94.0	75.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	94.0	94.0
	90.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	94.0	90.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	94.0

* $p < 0.05$; the average scores were significantly lower than those in young generations in their 20s to 40s in both genders

Table 7 Distribution of scores for domains in the JOACMEQ; quality of life

Quality of life	Male	20–29	30–39	40–49	50–59	60–69	70–79	80–89	Female	20–29	30–39	40–49	50–59	60–69	70–79	80–89
Number	Valid Invalid	113 2	121 1	116 1	112 1	117 1	106 3	103 1	Valid Invalid	114 6	114 3	117 3	120 3	118 4	112 5	108 4
Average		75.7	70.6	68.5	66.2	70.3	68.5	60.2*		73.0	70.5	65.7	64.2	67.5	64.3	58.9*
Median		77.0	70.0	69.5	65.5	72.0	72.0	61.0		73.5	69.0	64.0	65.0	67.5	63.0	57.0
Standard deviation		16.0	14.6	13.2	16.3	14.0	15.9	18.5		15.8	13.0	13.4	13.6	14.4	16.3	17.2
Percentile		51.4	53.0	52.0	46.0	49.8	46.7	38.4	10.0	54.0	55.0	49.0	49.1	48.0	45.0	38.9
		65.5	62.0	60.0	56.3	60.5	57.8	46.0	25.0	64.0	61.0	57.5	54.0	57.8	52.0	47.0
		77.0	70.0	69.5	65.5	72.0	72.0	61.0	50.0	73.5	69.0	64.0	65.0	67.5	63.0	57.0
		86.0	82.0	76.0	77.0	80.5	79.3	74.0	75.0	83.3	79.3	74.5	73.0	77.0	77.0	71.0
		97.0	88.8	84.0	88.7	89.0	89.3	83.0	90.0	95.5	89.0	83.2	80.9	88.0	85.7	82.0

* $p < 0.05$; the average scores were significantly lower than those in young generations in their 20s to 60s in both genders

50s in both genders; the average score decreased to 80 points in those in their 60s and 70s and to 70 points in their 80s in both genders (Table 6). There were significant differences in the average scores between the younger generations in their 20s to 40s and elderly generations in their 50s to 80s in both genders. The average quality of life score of each generation was approximately 70 points in the generations in their 20s to 60s in both genders and decreased to the 60–70 points in their 70s in males and at 70s and 80s in females (Table 7). There were significant differences in the average scores between the younger generations and elderly generation in their 80s in both genders. With regard to the age trend on the Jonckheere–Terpstra test, scores tended to decrease in the five domains as age increased in both genders.

The scores for each domain in the VAS for pain or stiffness in the neck or shoulders, tightness in the chest, pain or numbness in the arms or hands, and pain or numbness from the chest to toe are shown in Tables 8, 9, 10, and 11. The volunteers recorded the VAS scores as a mark on the bar scale as a value according to the instructions in the attached document. However, if both a mark on the bar scale and a numerical value on the sheet were present, the former was used for the analysis. The VAS scores for all domains increased with age; however, the score for pain or stiffness in the neck or shoulders in females tended to decrease with age (Table 8). The scores of the generation in their 40s and 50s for females were significantly higher than those of the elderly in their 70s and 80s. Tightness in the chest was not a frequent complaint in either gender (Table 9), and there were no significant differences in the scores among different generations in either gender. The VAS score for pain or numbness in the arms or hands was more frequent in males in those who were in their 60s and above and in their 50s and above in females, and it was a common complaint in the 80s in both genders (Table 10). There were significant differences in the scores between the younger generation and elderly in their 80s in both genders. Also, the score for pain or numbness from the chest to toe was more frequent in those over 60 years in males and over 50 years in females, with a particularly high incidence in those in their 80s in both genders (Table 11). In male volunteers, there were significant differences in the scores between the younger generations in their 20s to 50s and elderly generations in their 60s to 80s, and in females, there were significant differences in the scores between the younger generations in their 20s to 60s and elderly in their 70s and 80s. Regarding age trends among the VAS scores, the scores tended to increase with age in both genders across all domains, except neck stiffness in women, which showed a tendency to decrease with an increase in age.

Table 8 Distribution of scores in VAS scales for pain or stiffness in the neck or shoulders

Pain or stiffness in the neck or shoulders	Male	20–29	30–39	40–49	50–59	60–69	70–79	80–89	Female	20–29	30–39	40–49	50–59	60–69	70–79	80–89
Number	Valid	106	119	111	106	106	101	91	Valid	118	113	115	117	114	105	109
	Invalid	9	3	6	7	12	8	13	Invalid	2	4	5	6	8	12	3
Average		17.2	23.4	28.5	27.2	20.1	21.5	29.2		28.1	33.0	36.1*	41.2*	31.0	22.2	24.6
Median		9.5	15.0	20.0	17.5	15.5	11.0	26.0		20.0	28.0	31.0	39.0	24.0	13.0	15.0
Standard deviation		21.6	25.3	27.8	27.0	22.0	26.4	28.3		28.0	27.8	25.1	30.6	26.2	24.9	27.5
Percentile	10.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	10.0	0.0	0.0	6.2	0.0	0.0	0.0	0.0
	25.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	25.0	3.8	11.0	15.0	13.5	9.5	0.0	0.0
	50.0	9.5	15.0	20.0	17.5	15.5	11.0	26.0	50.0	20.0	28.0	31.0	39.0	24.0	13.0	15.0
	75.0	25.0	35.0	50.0	49.3	31.3	35.5	49.0	75.0	49.3	50.0	57.0	68.0	51.0	41.5	44.0
	90.0	54.6	65.0	74.8	70.3	49.3	63.6	72.2	90.0	75.0	74.4	72.8	80.0	72.0	61.4	69.0

* $p < 0.05$; the average scores were significantly higher than those in the elderly in their 70s and 80s in females

Table 9 Distribution of scores in VAS scales for tightness in the chest

Tightness in the chest	Male	20–29	30–39	40–49	50–59	60–69	70–79	80–89	Female	20–29	30–39	40–49	50–59	60–69	70–79	80–89
Number	Valid	108	120	114	107	105	101	94	Valid	120	115	119	117	111	106	110
	Invalid	7	2	3	6	13	8	10	Invalid	0	2	1	6	11	11	2
Average		3.7	3.1	5.9	5.1	2.4	4.9	8.1		2.4	3.1	2.9	3.9	3.8	3.2	7.9
Median		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Standard deviation		8.6	10.7	14.8	10.2	7.2	12.6	17.1		9.4	10.0	9.8	12.5	11.9	11.0	16.8
Percentile	10.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	10.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	25.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	25.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	50.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	50.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	75.0	0.0	0.0	3.0	6.0	0.0	0.0	8.0	75.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	8.0
	90.0	18.0	7.9	19.0	21.0	8.0	19.8	36.0	90.0	8.0	10.0	10.0	11.6	12.6	5.3	28.5

Table 10 Distribution of scores in VAS scales for pain or numbness in the arms or hands

Pain or numbness in the arms or hands	Male	20–29	30–39	40–49	50–59	60–69	70–79	80–89	Female	20–29	30–39	40–49	50–59	60–69	70–79	80–89
Number	Valid	106	121	112	106	102	102	92	Valid	118	116	120	121	112	108	108
	Invalid	9	1	5	7	16	7	12	Invalid	2	1	0	2	10	9	4
Average		3.5	4.3	6.6	6.8	9.9	12.7	20.4*		3.1	4.3	6.4	10.5	10.7	11.3	16.7*
Median		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.0		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Standard deviation		10.8	12.0	17.8	13.3	17.7	22.3	29.0		8.2	12.9	13.6	18.8	18.6	23.0	25.7
Percentile	10.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	10.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	25.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	25.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	50.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.0	50.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	75.0	0.0	0.0	5.0	9.0	10.8	17.8	30.0	75.0	0.0	0.0	4.8	11.5	15.0	9.3	29.0
	90.0	11.0	17.4	19.4	26.0	39.0	46.0	68.8	90.0	12.1	12.6	26.6	44.4	38.5	53.1	50.1

* $p < 0.05$; the average scores were significantly larger than those in young generations in their 20s to 40s in both genders

Table 11 Distribution of scores in VAS scales for pain or numbness from chest to toe

Pain or numbness from chest to toe	Male	20–29	30–39	40–49	50–59	60–69	70–79	80–89	Female	20–29	30–39	40–49	50–59	60–69	70–79	80–89
Number	Valid	105	122	115	106	105	99	94	Valid	119	115	120	119	111	108	107
	Invalid	10	0	2	7	13	10	10	Invalid	1	2	0	4	11	9	5
Average		2.3	3.3	6.1	5.5	11.0*	11.9*	24.4*		1.9	3.6	4.7	10.2	9.8	14.0*	19.1*
Median		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	14.5		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Standard deviation		9.5	10.0	16.9	13.9	19.7	21.2	29.1		9.0	10.6	14.1	19.3	18.9	25.2	25.3
Percentile	10.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	10.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	25.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	25.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	50.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	14.5	50.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
	75.0	0.0	0.0	2.0	4.5	18.5	13.0	43.5	75.0	0.0	0.0	0.0	16.0	11.0	19.8	38.0
	90.0	4.0	11.7	20.4	17.0	34.2	46.0	74.5	90.0	0.0	14.0	17.9	50.0	33.6	64.3	56.2

* $p < 0.05$; the average scores were significantly larger than those in young generations in their 20s to 50s in males and in their 20s to 60s in females

Discussion

Spinal cord function related to cervical myelopathy was assessed by the JOA (Japanese Orthopaedic Association) score, which was established in 1975 [2] and revised in 1994 [3]. The original JOA score was used as a functional assessment for cervical myelopathy worldwide, and the high inter- and intraobserver reliability of the score was demonstrated [7]. Although the JOA score attaches importance to the physical function of the upper and lower extremities and bladder dysfunction, the score does not include cervical spine function, including neck pain, a stiff neck, patient satisfaction, disability, or QOL.

The JOACMEQ was developed as a new self-administered questionnaire to measure outcomes in patients with cervical myelopathy [1] to solve problems of the original JOA score. With this new score, specific outcome measures of patient satisfaction, disability, handicaps, and general health, which are necessary information to evaluate patients with cervical myelopathy, are obtained. However, the influence of age and gender on the score has not been examined, and concern exists that the age-related decline may influence the evaluation.

In the current study, 1,629 healthy volunteers were recruited in 23 institutions to establish the standard values of the JOACMEQ by age using data obtained from healthy volunteers in their 20s to 80s.

In the elderly healthy volunteers, the JOACMEQ scores decreased with age. As for upper and lower extremity function, there was a relatively weak influence of age and gender; however, there was a strong influence of aging on bladder function. The bladder function scores were retained only up to 40 years of age, then declined significantly after 50 years. Also in the QOL score, even in the younger volunteers, the average score did not reach the full score of 100.

The authors believe that the standard scores for cervical spine function, upper extremity function, and lower extremity function should be regarded as 95 points for relatively young patients under the age of 60, and for bladder function, the lower limits of the score for healthy subjects should be regarded as 80 points. The QOL scores may not be altered with age or gender, and the standard value should be regarded as over 70 points. There was a significant decrease in the JOACMEQ score in those in their 80s in the current study. These results indicate that persons older than 80 years of age might have accompanying age-related degeneration of the central and/or peripheral nervous systems, impairment of motor functions, and other general complications even if they look healthy.

As for the VAS, an influence of age was also found in the healthy volunteers. Most domains in the VAS were influenced by age-related degenerative diseases of the

cervical spine. In the domain of pain or numbness in the arms or hands, the scores in the elderly generation were significantly higher than those in the younger generations. These results may be induced by peripheral arterial diseases or neuropathy that may exist in the elderly population. The VAS in most domains tended to increase with age; however, in females, the VAS for pain or stiffness in the neck or shoulders decreased with age. These findings suggest that pain or stiffness in the neck or shoulders may not be affected by age-related degenerative conditions of the cervical spine, but may be caused by muscular or posture distress related to office work or household work in relatively younger female generations.

The JOACMEQ was designed as a self-administered questionnaire to evaluate spinal functions in myelopathy patients and may be suitable for a relative evaluation in each case and may not be suitable for direct comparison with other patients. We can judge that a treatment is “effective” for a patient if: (1) the patient answers all questions necessary to calculate the score of a domain and an increase of ≥ 20 points is obtained for that score, or (2) the functional score after treatment is >90 points even if the answers for the unanswered questions were supposed to be the worst possible choice. The effectiveness of the treatment can be evaluated based only on the two above-mentioned conditions [8]. Although these criteria were chosen based on the extensive analysis of a considerable amount of data, which was obtained in a series of previous studies, by the statistics expert, a revision may be necessary for the elderly populations. According to our results, the average functional scores of most domains in normal healthy volunteers were <90 points in the elderly population in the 70s and 80s. In the JOACMEQ, exceptional attention to judgment about the treatment or relative evaluation in the assessment for elderly individuals over 70 years old might be needed.

As for limitations of this study, the detailed medical history and general health of the volunteers were not fully assessed; therefore, potentially unhealthy subjects might have been included in the study group, especially in the elderly generations. Also, the mental status was not investigated to exclude psychiatric diseases. These physical and mental conditions may have affected the score.

In conclusion, the standard values for the five domains of the JOACMEQ were established using healthy volunteers. Physicians should be aware that there are differences in the scores among different generations. Patients with cervical myelopathy should be evaluated with this new self-administered questionnaire, JOACMEQ, taking the standard value in each generation into account. This new self-administered questionnaire can be used to evaluate the outcomes in patients with cervical myelopathy more efficiently and will be helpful to identify the most appropriate

surgical and medical treatments, thereby improving medical skills.

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

References

1. Fukui M, Chiba K, Kawakami M, Kikuchi S, Konno S, Miyamoto M, Seichi A, Shimamura T, Shirado O, Taguchi T, Takahashi K, Takeshita K, Tani T, Toyama Y, Wada E, Yonenobu K, Tanaka T, Hirota Y. Japanese Orthopaedic Association Cervical Myelopathy Evaluation Questionnaire (JOACMEQ): part 1. *J Orthop Sci.* 2007;12:227–40.
2. Japanese Orthopaedic Association score for cervical spondylotic myelopathy. *J Jpn Orthop Assoc.* 1975;99 (prefatory note in Japanese).
3. Revised Japanese Orthopaedic Association scores for cervical myelopathy. *J Jpn Orthop Assoc.* 1994;68:490–503 (in Japanese).
4. Fukui M, Chiba K, Kawakami M, Kikuchi S, Konno S, Miyamoto M, Seichi A, Shimamura T, Shirado O, Taguchi T, Takahashi K, Takeshita K, Tani T, Toyama Y, Wada E, Yonenobu K, Tanaka T, Hirota Y. Japanese Orthopaedic Association Cervical Myelopathy Evaluation Questionnaire (JOACMEQ): part 2. Endorsement of the alternative item. *J Orthop Sci.* 2007;12:241–8.
5. Fukui M, Chiba K, Kawakami M, Kikuchi S, Konno S, Miyamoto M, Seichi A, Shimamura T, Shirado O, Taguchi T, Takahashi K, Takeshita K, Tani T, Toyama Y, Yonenobu K, Wada E, Tanaka T, Hirota Y. Japanese Orthopaedic Association Cervical Myelopathy Evaluation Questionnaire (JOACMEQ): part 3. Determination of reliability. *J Orthop Sci.* 2007;12:321–6.
6. Fukui M, Chiba K, Kawakami M, Kikuchi S, Konno S, Miyamoto M, Seichi A, Shimamura T, Shirado O, Taguchi T, Takahashi K, Takeshita K, Tani T, Toyama Y, Yonenobu K, Wada E, Tanaka T, Hirota Y. Japanese Orthopaedic Association Cervical Myelopathy Evaluation Questionnaire (JOACMEQ): part 4. Establishment of equations for severity scores. *J Orthop Sci.* 2008;13:25–31.
7. Yonenobu K, Abumi K, Nagata K, Taketomi E, Ueyama K. Interobserver and intraobserver reliability of the Japanese Orthopaedic Association Scoring system for evaluation of cervical compression myelopathy. *Spine.* 2001;26:1890–5.
8. Fukui M, Chiba K, Kawakami M, Kikuchi S, Konno S, Miyamoto M, Seichi A, Shimamura T, Shirado O, Taguchi T, Takahashi K, Takeshita K, Tani T, Toyama Y, Yonenobu K, Wada E, Tanaka T, Hirota Y. JOA Back Pain Evaluation Questionnaire (JOABPEQ)/JOA Cervical Myelopathy Evaluation Questionnaire (JOACMEQ). The report on the development of revised versions. *J Orthop Sci.* 2009;14:348–65.

頸椎後縦靱帯骨化症の疫学と自然経過

Epidemiology and Natural History of Ossification of the Posterior Longitudinal Ligament of the Cervical Spine

松永俊二

Shunji Matsunaga

要旨

頸椎後縦靱帯骨化症の疫学調査と成因として重要な遺伝子的背景についての厚生労働省特定疾患調査研究班を中心として行われた研究についてレビューした。遺伝子解析の結果、現在本症の病因遺伝子の解明に近づきつつある。病因解明後の課題は本症の自然経過の究明である。本稿では本症の自然経過と脊髄症状発症予測因子についての厚生労働省特定疾患調査研究班で施行された多施設研究の成果についても紹介した。

Abstract

The study aimed for epidemiology and pathogenesis of ossification of the posterior longitudinal ligament of the cervical spine (OPLL) has been continued by The Investigation Committee of Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare till now. As a result, the number of patients and frequency in Japan were clarified, and the epidemiology in foreign countries came to be reported, too. The association of various factors to development of OPLL was reported, but a hereditary factor is most important as the pathogenesis of OPLL. Genetic analysis with participation of all Japan research institutes has started and it is expected to elucidate pathogenic gene of OPLL in the near future. The author also introduced the study for the natural history of OPLL and risk factors for development of myelopathy in patients with OPLL which was performed by The Investigation Committee of Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare.

Key words : 後縦靱帯骨化症 (ossification of the posterior longitudinal ligament), 脊髄症状 (myelopathy), 自然経過 (natural history), 遺伝的背景 (genetic background)

はじめに

頸椎後縦靱帯骨化症は脊髄症状を惹起する疾患として広く知られている。文献的にみると後縦靱帯骨化症に関して初めて記載したのは、1838年に本症による脊髄麻痺の症例を報告した Key¹⁾であるとされている。本邦では1960年に月本²⁾が本症の剖検例の報告をして以来、本症は脊髄症状を惹起する疾患として注目されるようになった。月本

の報告以後日本における後縦靱帯骨化症の報告が、世界の他の国々に比べ著しく多いため、本症は一時期外国の研究者から『Japanese disease』と呼ばれたこともある。しかし、最近では非日本人における本症の報告も海外で多数報告されており、本症は脊髄症状を惹起する疾患として海外でも既に認識されている。本症は成因が全く解明されていない難病であったので1975年に厚生省特定疾患に指定され調査研究班が設立された。初期の班研

今給黎総合病院副院長 (〒892-8502 鹿児島市下竜尾町4-16) Imakiire General Hospital

*本論文の内容は厚生労働省科学研究費補助金(難治疾患克服研究事業)を受け実施された研究に基づいたものである。

表1 国内の外来患者における頸椎 OPLL の頻度

報告者(報告年)	調査地	対象者	年齢	OPLL(n)	頻度(%)
岡本(1967)	岡山	1,000	ND	21	2.1
柳(1967)	名古屋	1,300	>20	31	2.4
恩地(1967)	大阪	1,800	ND	31	1.7
篠田(1971)	札幌	3,747	>10	55	1.5
原田(1976)	弘前	2,275	ND	33	1.5
酒匂(1978)	沖縄	1,969	>30	30	1.5
栗原(1978)	神戸	9,349	>15	183	2.0
伊沢(1980)	東京	6,944	>20	143	2.1

(筆者論文 Clin Calcium 19 : 1415-2, 2009より転載許諾済み)

表2 海外の外来患者における頸椎 OPLL の頻度

	報告者(年)	報告地	対象	年齢	OPLL(n)	頻度(%)
アジア	山内(1978)	韓国	529	>20	5	1.0
	黒川(1978)	台湾	395	>40	12	3.0
		香港	498	>40	2	0.4
	山浦(1978)	フィリッピン	332	ND	5	1.5
	手束(1980)	台湾	661	>20	14	2.1
	Lee(1991)	シンガポール	5,167	>30	43	0.8
ヨーロッパ &アメリカ	山内(1979)	西ドイツ	1,060	>27	1	0.1
	寺山&大塚(1984)	イタリア	1,258	>35	22	1.7
		U. S. A. (Minnesota)	840	>30	1	0.1
	伊沢(1980)	U. S. A. (Hawaii)	490	>20	3	0.6
		U. S. A. (New York)	1,000	>20	7	0.7
	井尻(1996)	U. S. A. (Utah)	599	>30	8	1.3

(筆者論文 Clin Calcium 19 : 1415-2, 2009より転載許諾済み)

究の重要課題は全国調査による本症の有病者数の把握であった。その後全国的な家系調査も実施され、本症が家系内で高率に発生していることがわかり、成因として遺伝的背景の関与があることが知られるようになった。最近では遺伝子解析の手法が進歩し本症に対しても『All Japan』で検体の収集と解析が行われ成果が期待されている。

本稿ではこれまで脊柱靭帯調査研究班を中心として行われてきた頸椎後縦靭帯骨化症に関する疫学についてレビューし、また本症の自然経過における脊髄症状発症の予測因子についての多施設共同研究の成果についても触れたい。

1. 疫学

①全国患者実態調査

日本における患者実態調査として全国の大学病院と整形外科標榜病院の880施設を対象として昭

和49年度受診の後縦靭帯骨化症患者数が調査された。この結果2142名の後縦靭帯骨化症患者が発見された。この全国調査結果から年齢補正と地域別補正を行い全国の推定患者数を求めると4200名となり、人口100万人あたり約19.8人の患者が存在すると推定された。また昭和59年に200床以上の医療機関3358施設に対して再度全国患者実態調査が実施された。その結果5818名の患者が発見され、推定患者数は7400名であり、推定有病者は人口100万人あたり63.3人とされた。しかし、この昭和59年の調査以後本症に関する全国調査はなされておらず、現在の本症推定患者数については正確なデータはなく再調査を施行する必要がある。

②国内外における疫学調査⁹⁾

外来患者における後縦靭帯骨化症の頻度については国内外で多くの調査が実施されている(表1, 2)日本での調査では頸椎疾患外来の患者の

表3 国内一般住民疫学調査における頸椎 OPLL の頻度

報告者(報告年)	調査地	調査対象(M, F)	年齢	OPLL(n)	頻度(%)
井形, 酒匂(1979)	徳島	696(330,366)	>20	21	3.0
大谷(1980)	八重山	1,046(578,468)	>20	21	2.0
山内(1982)	鴨川	787(408,379)	>40	20	2.5
	甲府	383(169,214)	>40	13	3.4
酒匂(1982)	鹿児島	585(195,390)	>30	11	1.9
大塚(1984)	八千穂	1,058(440,618)	>50	34	3.2
井形(1985)	徳島	415(122,293)	>30	18	4.3

1.5%-2.4%に後縦靭帯骨化症が認められ、この値は伊沢、山内らの報告による韓国0.1%、北米0.1%、西ドイツ0.01%と比べると著しく高い。しかし台湾では3.0%であるとする黒川らの報告もあり、また寺山らのイタリアのボローニャでの調査では1.7%であり必ずしも日本で著しく高いというわけではない。一般住民を対象にした後縦靭帯骨化症の疫学調査は厚生省脊柱靭帯骨化症調査研究班により日本の各地で実施された(表3)。これらの疫学調査によると30歳以上の一般住民の後縦靭帯骨化症の頻度は1.9%-4.3%であった。しかし、海外での一般住民を対象にした疫学調査は数少なく海外での本症の一般住民における頻度は明らかにはされていない。

2. 遺伝的背景の研究

OPLLの成因については、これまで多くの研究がなされており成因に関係すると思われるいくつかの全身あるいは局所的因子が挙げられてきた。全身的骨化素因については後縦靭帯骨化症が前縦靭帯骨化や黄色靭帯骨化をしばしば合併していることから本症を脊柱靭帯骨化症の一表現型であるとする意見がある。Resnick⁷⁾はdiffuse idiopathic skeletal hyperostosis (DISH)という概念を提唱し脊柱靭帯のみならず、全身の腱、靭帯の骨化素因を指摘した。このDISHの約50%に後縦靭帯骨化症が見られると報告している⁸⁾。本症の成因に関する研究で最も注目されているのは遺伝的背景の検索であり、最近の先端的研究として本症の病因候補遺伝子の検索が行われて成果が挙げられている。

①家系調査

後縦靭帯骨化症患者347名を対象とした全国家

系調査¹¹⁾により患者の兄弟の約30%にレ線上後縦靭帯骨化が認められ、遺伝形式は常染色体優性遺伝であろうと推定された。しかし、本症は多因子疾患である可能性が高く古典的遺伝形式には当てはまらない遺伝形式であろうと考えられている。

②双生児調査

脊柱靭帯調査研究班による全国的双生児調査⁵⁾により後縦靭帯骨化症患者のなかで8例の一卵性双生児と2例の二卵性双生児が見出された。一卵性双生児では8例中6例でその兄弟に後縦靭帯骨化が見出されたが、二卵性双生児では2例中1例にしか後縦靭帯骨化は見出すことができず遺伝形式を決定することは出来なかった。

③Human leukocyte antigen (HLA)ハプロタイプ解析

疾患の遺伝的背景を検討する有効な手段としてHLA解析がある。鹿児島を中心に弘前、徳島、沖縄の47名の患者および家族の201名から得られたリンパ球を用いたHLAハプロタイプ解析¹⁰⁾が行われた。その結果HLAハプロタイプが二本とも患者と一致している兄弟では高率にレントゲン上後縦靭帯骨化が見出されており後縦靭帯骨化症の発生に遺伝が関係していることが明らかとなった。

④遺伝子解析

本症の病因遺伝子を解明しようとして精力的な研究が現在も続けられている。研究の当初は第6染色体のHLA遺伝子近傍に存在する第11コラーゲン遺伝子については後縦靭帯骨化症患者と一般健常人とに有意な差異が見出された²⁾。しかし、その後の研究でNucleotide pyrophosphatase (NPPS)遺伝子多型⁹⁾が病因遺伝子として報告され後縦靭帯骨化症の病因遺伝子は多数ある可能性が高いことがわかった。現在までに本症に関係するとされている疾患関連遺伝子が数多く報告されている。

更に脊柱靱帯骨化症調査研究班では全国から後縦靱帯骨化症兄弟発生例の検体を収集し最新の手法を用いた遺伝子解析が行われ、有意な連鎖が見出されており本症の遺伝子異常の本態が解明される日も近いと考えている。

3. 本症の自然経過について

本症は脊髄症状を惹起する疾患として知られているが、本症の自然経過をみると、頸椎後縦靱帯骨化があっても脊髄症状は必ず出現するのではないことは既に報告されている³⁾。臨床的には一目瞭然の大きな骨化のみられる症例でも長期間脊髄症状が出現しないこともあれば、逆に分節型の比較的小さな骨化でも脊髄症状を呈する患者もある。明らかな脊髄症状のない患者を発見した際にその患者が将来脊髄症状を発生するか否かを知ることができれば本症の治療方針を立てる際に有用な情報となる。著者らは厚生労働省難治性疾患克服研究事業脊柱靱帯骨化症に関する調査研究班における多施設共同研究で頸椎後縦靱帯骨化患者における脊髄症状発現の画像上の予測因子について調査をしたので紹介する¹⁾。

①対象と方法

厚生労働省難治性疾患克服研究事業脊柱靱帯骨化症に関する調査研究班の班員の17研究施設から頸椎にレントゲン上の明らかな頸椎後縦靱帯骨化がみられ脊髄症状のみられない患者で最短5年間毎年経過を追跡できた対象を登録した。研究参加の全施設において臨床研究に関する倫理委員会で承認を得た。対象は計109名(男性66名,女性43名)であり各研究施設で脊髄症状の発現の有無について調査しその結果を回収して集積解析した。脊髄症状の発現は痙性歩行,筋萎縮,筋力低下,巧緻運動障害,膀胱直腸障害などの自覚症状や上下肢の腱反射亢進,病的反射,クローヌスの出現,知覚障害などの他覚所見を参考にして日常生活動作に支障がみられた場合を脊髄症状出現として判定した。頸部の凝りや頸椎可動域制限などの局所症状のみの症例は脊髄症状なしと判定した。対象の年齢は41歳~84歳であり平均59.8歳であった。頸椎後縦靱帯骨化症の分類は分節型33例,連続型38例,混合型38例であった。追跡期間は5年から26

年の平均11.3年であった。それぞれの症例で初診時に撮影された頸椎レントゲン写真とCTあるいはMRI撮影写真の画像を評価した。頸椎レントゲン写真では頸椎後縦靱帯骨化側面写真における最大屈曲位と最大伸展位から頸椎可動域を測定した。累積非脊髄症状出現率はKaplan-Meierの方法で算出した。以上の対象について頸部の外傷歴,性別,年齢,追跡期間,単純レントゲンにおける骨化型,最大脊柱管狭窄率,頸椎全可動域,および頸椎CTあるいはMRIにおける横断面での頸椎後縦靱帯骨化のタイプと脊髄症状発現の関係について解析した。統計解析はSAS Release 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.)を使用した。

②結果

追跡期間中に109例中27例(24.8%)に脊髄症状の出現がみられた。残りの82例では最短5年の追跡で明らかな脊髄症状の出現はみられなかった。脊髄症状の発現がみられた27例中6例は頸部の外傷を原因として脊髄症状が出現していた。この外傷誘因で脊髄症状が出現した6例のOPLL骨化型は混合型5例,分節型1例であった。最大残余脊柱管径が60%以上の5症例は全例脊髄症状が発現していた。最大脊柱管狭窄率が60%未満の104症例での累積脊髄症状非発現率をKaplan-Meier法で計算すると最長26年の追跡で66%であった(図1)。この最大脊柱管狭窄率が60%未満の104例において脊髄症状発現がみられた症例は脊髄症状がみられない症例に比べて有意に頸椎全可動域が大きかった(図2)。頸椎のCTもしくはMRI横断面像における後縦靱帯骨化の形態を中央型と外側偏倚型に分類した(図3)。最大脊柱管狭窄率が60%未満でかつ頸部の外傷歴のない98例でこの横断面の骨化形態を分類すると中央型が50例,外側偏倚型が48例であった。この98例における解析では外側偏倚型は脊髄症状発症予測因子としての感度は94%,特異度は60%であった。脊髄症状発現予測因子として初診時年齢,性別,レントゲン側面写真でOPLL骨化型,外傷有無,最大脊柱管狭窄率,頸椎全可動域,横断面でOPLL型についてロジスティック回帰分析を行った結果脊髄症状発現に関係する因子は最大脊柱管狭窄率60%以上,レントゲン側面写真でのOPLL骨化型が混合型骨

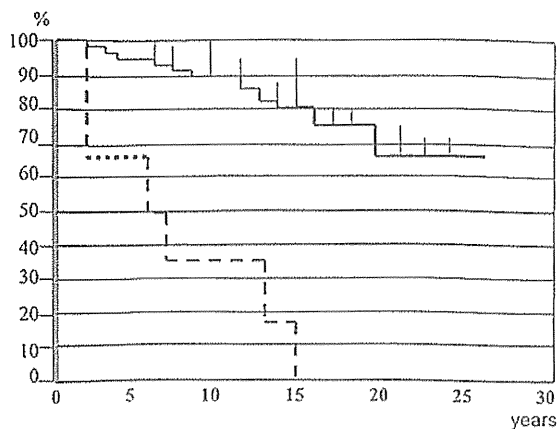


図1 初診時無神経症状患者における累積脊髄症状非発現率(Kaplan-Meier法解析による) 実線は最大脊柱管狭窄率60%未満患者(N=104)点線は最大脊柱管狭窄60%以上患者(N=5)

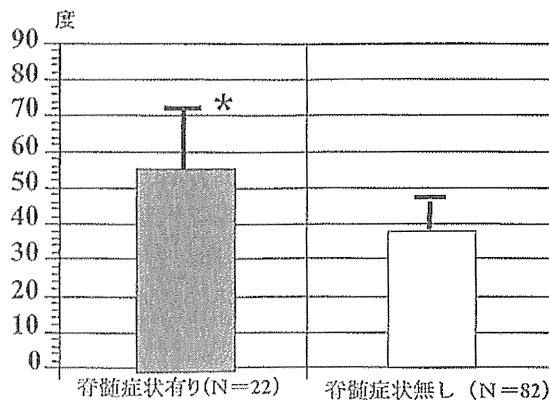


図2 最大脊柱管狭窄率60%未満症例における脊髄症状発現と頸椎全可動域の関係 脊髄症状発現群では頸椎全可動域が脊髄症状非発現群に比べ有意に大きかった。p<0.05

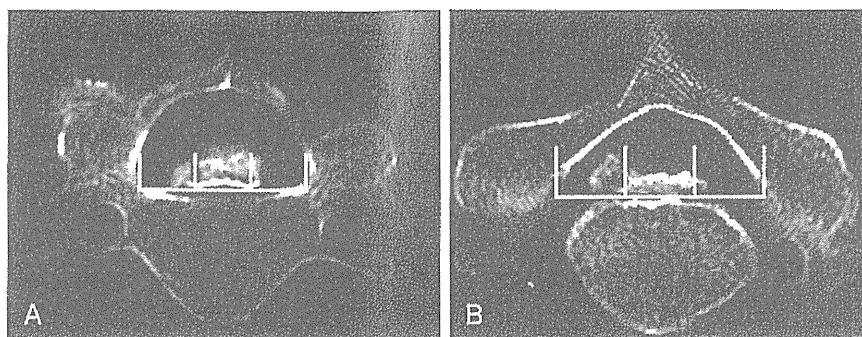


図3 CTによるOPLLの分類 A:中心型 B:外側偏倚型 椎体後面を3等分しOPLLのは厚さが最大部分が中1/3に位置する場合を中央型、左右いずれかに偏倚する場合を外側偏倚型と定義した。

化、頸椎全可動域、横断面のOPLL型が外側偏倚型であった(表4)。初診時無脊髄症状の頸椎後縦靭帯骨化の対象において先述の脊髄症状発現予測因子による脊髄症状発現予測は87%の症例で正しく予測できていた。

考察およびまとめ

以上頸椎後縦靭帯骨化症の疫学と自然経過について概説した。本症は厚生労働省難治性疾患克服研究事業で指定された特定疾患であり病因解明と予防・治療の確立が求められている。しかし、政策として本症治療の重要性を妥当なものにするには国内に本症患者がどの程度存在するかについての正確な情報が必要である。その意味で国内の本

症患者数についての疫学調査はきわめて重要である。しかし、本症に対する全国疫学調査は昭和59年実施されてから以後は約30年間実施されておらず、現在における本症患者数を正確に把握することはできていない。本症の病因については脊柱靭帯骨化症調査研究班によりall Japanでの遺伝子解析により疾患関連遺伝子が同定されつつあり将来本症の発症予防や治療について飛躍的展開が期待されている。正確な患者数把握のための疫学調査の実施は今後必ず重要になると考える。また、従来の疫学調査は本症の存在をレントゲン写真の評価で行っていたが現在でCTにより本症の評価がより正確にできるようになっており、今後の疫学調査にもCTによる評価が追加できれば良いが費用や被曝の問題などをどのように解決するかが課

表4 初診時無神経症状患者における脊髄症状発現の予測因子に関する多変量ロジスティック回帰分析

Parameter	Analysis of Maximum Likelihood Estimates					Odds Ratio		
	DF	Estimate	SE	Wald ChiSq	Pr> ChiSq	Estimate	95% Wald CI	
切片	β_0 1	-17.003	3.682	21.325	<.0001			
骨化型	混合型 β_1 1	1.004	0.444	5.108	0.0238	3.863	0.641-23.269	
	連続型 β_2 1	-0.656	0.517	1.614	0.2039	0.734	0.099-5.462	
頸椎可動域(度)	β_3 1	0.153	0.040	14.556	0.0001	1.165	1.077-1.260	
CT OPLL	外側型 β_4 1	1.001	0.405	6.119	0.0134	7.396	1.515-36.101	
最大狭窄率(%)	β_5 1	0.186	0.047	15.716	<.0001	1.205	1.099-1.321	

(筆者論文 Clin Calcium 19 : 1415-20, 2009より転載許諾済み)

題である。疫学調査とともに重要な問題は本症の自然経過である。頸椎後縦靭帯骨化が認められても必ずしも治療を必要とするような脊髄症状を呈さないからである。頸椎後縦靭帯骨化のみられる対象と頸椎後縦靭帯骨化による脊髄症状を呈する患者との区別は本症の治療上大きな意味合いがある。頸椎後縦靭帯骨化に起因した頸椎可動域制限や頸部痛などの局所症状も軽視はできないが、厚生労働省難治性疾患克服研究事業としての治療の対象になるのはやはり脊髄症状による重度の日常生活動作に支障がある患者である。本研究により初診時頸椎後縦靭帯骨化のみられる患者がその後の追跡で新たに脊髄症状を呈する頻度は約30%であることはわかった。また、脊髄症状発症の予測危険因子として幾つかの因子を見出したが、その因子を用いても脊髄症状発現予測は87%の確率でしかなく完全な予測は未だ困難である。更に今後解決しなくてはならない問題は、頸椎後縦靭帯骨化を有する患者の外傷誘因の頸髄損傷の予防である。現在は頸椎後縦靭帯骨化のみられる対象に対する外傷誘因の頸髄損傷予防のための予防的手術の妥当性の根拠はない。今後外傷誘因で頸髄損傷を発生するリスクを頸椎後縦靭帯骨化症患者それぞれについて示すことができればこのような予防的手術も妥当性も持つと言えるだろう。最後に頸椎後縦靭帯骨化症は日本においてその重要性が見出された疾患であり今後海外に先んじて病因や根本的治療法の確立が達成されることを期待したい。

参考文献

1) Key GA : On paraplegia depending on the ligament of the

spine. Guy Hospital Report. 1839 : 3 : 17-34
 2) Koga H, Hayashi K, Taketomi E et al : Restriction fragment length polymorphism of gene of $\alpha 2$ (X1) collagen, bone morphogenetic protein-2, alkaline phosphatase and tumor necrosis factor- α among ossification of posterior longitudinal ligament patients and control Japanese population. Spine. 1996 : 21 : 469-473
 3) Matsunaga S, Sakou T, Taketomi E, et al : The natural course of myelopathy caused by ossification of the posterior longitudinal ligament in the cervical spine. Clin Orthop Relat Res. 1994 : 305 : 168-177
 4) Matsunaga S, Tsuji T, Toyama Y, et al. : Risk factors for development of myelopathy in patients with asymptomatic ossification of the posterior longitudinal ligament. Journal of Spine Research. 2013 : 4 : 116-122
 5) 三浦幸雄, 古庄敏行, 茨木邦夫・他 : 双生児調査分科会経過報告. 厚生省脊柱靭帯骨化症調査研究班昭和63年度研究報告書1989 : 5-7
 6) Nakamura I, Ikegawa S, Okawa A, et al : Association of the human NPPS gene with ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine (OPLL). Hum Genet. 1999 : 104 : 492-497
 7) Resnick D, Shaul SR, Robinsons JM : Diffuse idiopathic skeletal hyperostosis (DISH) : Forestier's disease with extraspinal manifestations. Radiology. 1975 : 115 : 513-524
 8) Resnick D, Niwayama G. Radiographic and pathologic features of spinal involvement in diffuse idiopathic skeletal hyperostosis (DISH). Radiology. 1976 : 119 : 559-568
 9) Sakou T, Taketomi E, Matsunaga S et al : Ossification of posterior longitudinal ligament-Hereditary investigation. In : Takahashi HE ed. Spinal disorders in growth and aging. Springer-Verlag, Tokyo, pp223-232, 1995
 10) Sakou T, Taketomi E, Matsunaga S et al : Genetic study of ossification of the posterior longitudinal ligament in the cervical spine with human leukocyte antigen haplotype. Spine 1991 : 6 : 1249-1252
 11) Terayama K : Genetic studies on ossification of then posterior longitudinal ligament of the spine. Spine. 1989 : 14 : 1184-1191
 12) 月本裕岡 : 頸椎後縦靭帯骨化により脊髄圧迫症候を呈した1剖検例. 日外宝1960 : 29 : 1003-1007

頸椎後縦靭帯骨化症の自然経過^{*1}

松永 俊二^{*2} 小宮 節郎^{*3} 戸山 芳昭^{*4}

はじめに

頸椎後縦靭帯骨化症 (ossification of the posterior longitudinal ligament : OPLL) は、脊椎症状を惹起する疾患として国内外において広く知られている。OPLL に関して初めて記載した文献は、1838 年に本症による脊髄麻痺の症例を報告した Key の論文⁵⁾であるとされている。本邦では 1960 年に月本¹⁾が本症の剖検例の報告をして以来、本症は脊椎症状を惹起する疾患として注目されるようになった。しかし、本症の自然経過については不明な点も多い。一目瞭然の大きな骨化のみられる症例でも長期間脊椎症状が出現しないこともあれば、逆に分節型の比較的小さな骨化でも脊椎症状を呈する患者もある。明らかな脊椎症状のない患者を発見した際に、その患者が将来脊椎症状を発生するか否かを知ることができれば本症の治療方針を立てる際に有用な情報となる。著者らは、厚生労働省難治性疾患克服研究事業脊柱靭帯骨化症に関する調査研究班における多施設共同研究

表 1 登録患者の内訳

登録施設	17
登録患者	109 名
性別	男性 66 名, 女性 43 名
初診時年齢	41~84 歳 (平均 59.8 歳)
追跡調査期間	5~26 年 (平均 11.3 年)
骨化型 (X 線分類)	
	分節型 33 名
	連続型 38 名
	混合型 38 名

で、本症の自然経過と脊椎症状発現の画像上の予測因子について調査したので紹介する¹⁾。

対象と方法

厚生労働省難治性疾患克服研究事業脊柱靭帯骨化症に関する調査研究班の班員の所属する 17 研究施設から、頸椎に X 線上の明らかな OPLL がみられるにもかかわらず脊椎症状のみられない患者のうち最短 5 年間毎年経過を追跡できた対象を登録した。研究参加の全施設において臨床研究に関する倫理委員会で承認を得た。対象は計 109 名 (男性 66 名, 女性 43 名) (表 1) であり、各研究施設で脊椎症状の発現の有無について調査しその結

Key words

脊椎症状 (myelopathy)
自然経過 (natural history)
多施設共同研究 (multi-center study)

^{*1} Natural History of Ossification of the Posterior Longitudinal Ligament of the Cervical Spine

^{*2} 今給黎総合病院整形外科 [〒892-8502 鹿児島市下竜尾町 4-16] / Shunji MATSUNAGA : Department of Orthopaedic Surgery, Imakiire General Hospital

^{*3} 鹿児島大学大学院運動機能修復学講座整形外科学 / Setsuro KOMIYA

^{*4} 慶應義塾大学医学部整形外科 / Yoshiaki TOYAMA

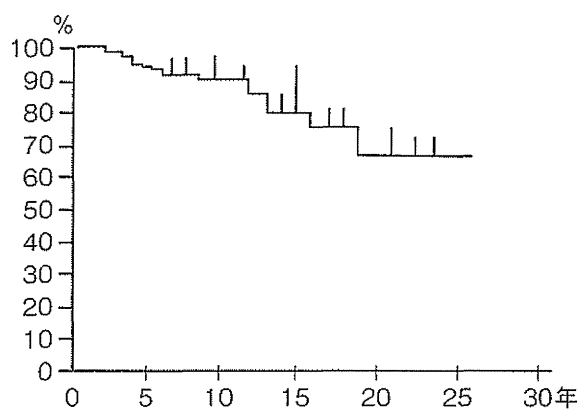


図 1 初診時無神経症状患者における累積脊髄症状非発現率 (Kaplan-Meier 法解析による) (文献 11 より改変)
最大脊柱管狭窄率 60% 未満患者 (n=104) を対象とした。

果を回収して集積解析した。脊髄症状の発現は、痙性歩行、筋萎縮、筋力低下、巧緻運動障害、膀胱直腸障害などの自覚症状や上下肢の腱反射亢進、病的反射、クローヌスの出現、知覚障害などの他覚所見を参考にして、日常生活動作に支障がみられた場合を脊髄症状出現として判定した。頸部の凝りや頸椎可動域制限などの局所症状のみの症例は脊髄症状なしと判定した。対象の年齢は 41~84 歳であり、平均 59.8 歳であった。頸椎 OPLL の分類は、分節型 33 例、連続型 38 例、混合型 38 例であった。追跡期間は 5~26 年の平均 11.3 年であった。それぞれの症例で初診時に撮影された頸椎 X 線と CT あるいは MRI の画像を評価した。頸椎 X 線では、頸椎 OPLL 側面写真における最大屈曲位と最大伸展位から頸椎可動域を測定した。累積非脊髄症状出現率は Kaplan-Meier の方法³⁾で算出した。以上の対象について、頸部の外傷歴、性別、年齢、追跡期間、単純 X 線における骨化型、最大脊柱管狭窄率、頸椎全可動域、および頸椎 CT あるいは MRI における横断面での頸椎 OPLL のタイプと脊髄症状発現の関係について解析した。統計解析は SAS Release 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) を使用した。

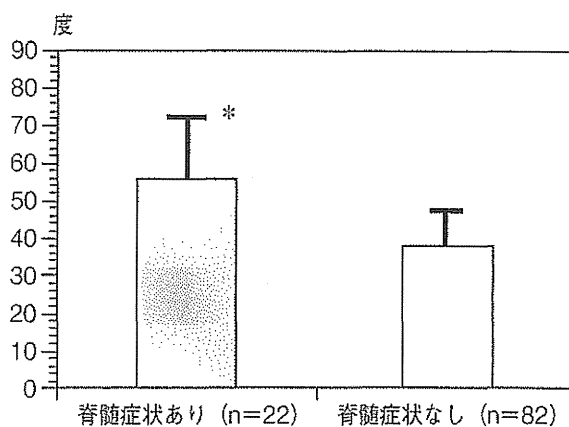


図 2 最大脊柱管狭窄率 60% 未満症例における脊髄症状発現と頸椎全可動域の関係 (文献 11 より改変)
脊髄症状発現群では頸椎全可動域が脊髄症状非発現群に比べ有意に大きかった。
*p<0.05

結 果

追跡期間中に 109 例中 27 例 (24.8%) に脊髄症状の出現がみられた。残りの 82 例では最短 5 年の追跡で明らかな脊髄症状の出現はみられなかった。脊髄症状の発現がみられた 27 例中 6 例は、頸部の外傷を原因として脊髄症状が出現していた。この外傷誘因で脊髄症状が出現した 6 例の OPLL 骨化型は、混合型 5 例、分節型 1 例であった。最大脊柱管狭窄率が 60% 以上の 5 症例は全例脊髄症状が発現していた。最大脊柱管狭窄率が 60% 未満の 104 症例での累積脊髄症状非発現率を Kaplan-Meier 法で計算すると、最長 26 年の追跡で 66% であった (図 1)。この最大脊柱管狭窄率が 60% 未満の 104 例において脊髄症状発現がみられた症例は、脊髄症状がみられない症例に比べて有意に頸椎全可動域が大きかった (図 2)。頸椎の CT もしくは MRI 横断面像における OPLL の形態を中央型と外側偏倚型に分類した (図 3)。最大脊柱管狭窄率が 60% 未満でかつ頸部の外傷歴のない 98 例でこの横断面の骨化形態を分類すると、中央型が 50 例、外側偏倚型が 48 例であった。この 98 例における解析では、外側偏倚型は脊髄症状発症予測因子としての感度は 94%、特異度は 60% であった。脊髄症状発現予測因子として初診

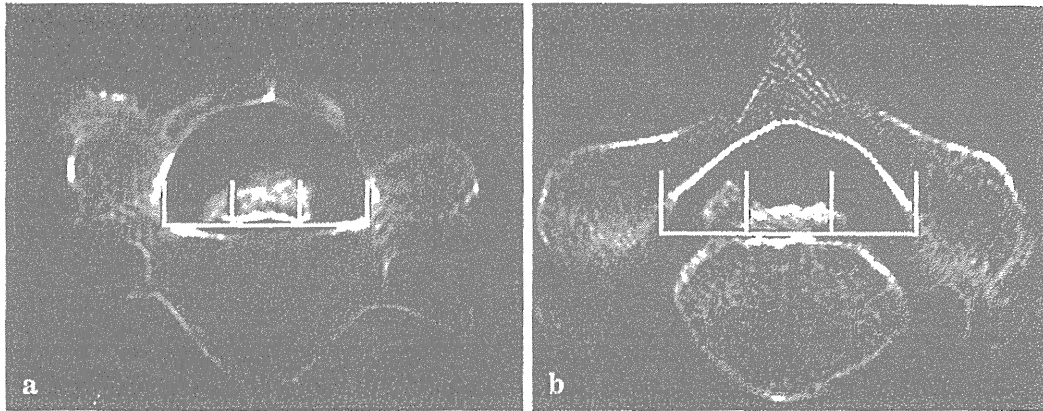


図 3 CTによるOPLLの分類(文献11より改変)

a : 中心型, b : 外側偏倚型.

椎体後面を3等分し, OPLLの厚さが最大となる部分が中1/3に位置する場合を中央型, 左右いずれかに偏倚する場合を外側偏倚型と定義した.

表 2 初診時無神経症状患者における脊髄症状発現の予測因子に関する多変量ロジスティック回帰分析(著者論文¹⁰⁾*Clin Calcium* 19:1415-1420, 2009より転載許諾済み)

Parameter	Analysis of maximum likelihood estimates						Odds ratio		
	DF	Estimate	SE	Wald ChiSq	Pr>ChiSq	Estimate	95% Wald CI		
切片	β_0	1	-17.003	3.682	21.325	< .0001			
骨化型	混合型	β_1	1	1.004	0.444	5.108	0.0238	3.863	0.641-23.269
	連続型	β_2	1	-0.656	0.517	1.614	0.2039	0.734	0.099-5.462
頸椎可動域(度)	β_3	1	0.153	0.040	14.566	0.0001	1.165	1.077-1.260	
CT OPLL 外側型	β_4	1	1.001	0.405	6.119	0.0134	7.396	1.515-36.101	
最大狭窄率(%)	β_5	1	0.186	0.047	15.716	< .0001	1.205	1.099-1.321	

DF : degree of freedom, SE : standard error

時年齢, 性別, X線側面写真でOPLL骨化型, 外傷有無, 最大脊柱管狭窄率, 頸椎全可動域, 横断面でOPLL型についてロジスティック回帰分析を行った結果, 脊髄症状発現に関係する因子は, 最大脊柱管狭窄率60%以上, X線側面写真でのOPLL骨化型が混合型骨化, 頸椎全可動域, 横断面のOPLL型が外側偏倚型であった(表2). 外傷誘因については, 外傷誘因で脊髄症状が発生した患者が6例しかなく, 危険因子としての評価はできなかった. 初診時無脊髄症状の頸椎OPLLの患者において, 上記の脊髄症状発現予測因子による脊髄症状発現予測は87%の症例で正しく予測できていた.

考 察

すべての疾患において手術適応とそのタイミン

グを決定するためにはまず, その疾患の自然経過を知る必要がある. 外來初診時における頸椎OPLL患者の有脊髄症状率は, 片岡ら⁴⁾が30%, 関ら¹²⁾が51%と報告している. これらの報告はある一時点での横断的解析によるものであり, このような研究では本症の自然経過を知ることはできない. 山浦ら¹⁵⁾は, 初診時脊髄症状のみられなかった22例中3例(14%)に脊髄症状が新たに発現したと報告している. 著者も過去において鹿児島大学の脊椎外來で初診時脊髄症状のない頸椎OPLL患者323名に対して平均17.6年の追跡調査を行い, 新たに脊髄症状が発現した患者は55名(17%)であったと報告した⁹⁾. 頸椎OPLLが認められた場合, その患者が脊髄症状を発症するかどうかを予測することは本症の治療上大きな意味合いがある. 頸椎OPLLがみられても大部分の患者は日常生活に支障のあるような脊髄症状をきたさないと

すれば、本症に対する予防的手術は妥当性を欠くといえる。しかし、一方では、頸椎 OPLL では潜在性の脊柱管狭窄により非骨傷性の頸髄損傷を引き起こすことはよく知られており¹³⁾、予防的手術を勧める意見もある。外傷誘因による脊髄症状例は非外傷誘因による脊髄症状発症例の手術成績より劣るとする報告があり^{1,2,6)}、予防的手術を推奨する根拠はこれらの報告によるものであろう。われわれが以前に報告した頸椎 OPLL 患者についての前向き調査⁷⁾で外傷による脊髄症状発現の頻度は約 2% であり、これを根拠に予防的手術を行うことを支持することはできない。ゆえに、頸椎 OPLL のある患者の自然経過を知り脊髄症状発生の予測ができれば、手術適応を含めた治療方針決定にとって有益な情報となる。このような背景でわれわれは、厚生労働省難治性疾患克服研究事業脊柱靭帯骨化症に関する調査研究班の多施設共同研究で本症患者の長期的追跡調査を施行した。本症の自然経過に関する初めての多施設研究である。その結果、初診時頸椎 OPLL がみられる患者がその後の追跡で新たに脊髄症状を呈する頻度は約 25% であることがわかった。また、脊髄症状発症の予測危険因子として、いくつかの因子を見出すことができた。この因子を用いて、87% の症例で脊髄症状発現を予測できていた。しかし、脊髄症状発現の完全な予測は現在のところ困難である。また、本研究で重要な研究目標であった、どのような頸椎 OPLL が外傷誘因の頸髄損傷を発生するのかについても、危険因子を見出すことはできていない。今後、外傷誘因で頸髄損傷を発生するリスクを頸椎 OPLL 患者それぞれについて示すことができれば、予防的手術も妥当性をもつといえるだろう。今回の研究では、最大脊柱管狭窄率が 60% 以上の症例は全例脊髄症状を呈しており、靭帯骨化による脊柱管狭窄の程度はやはり重要な因子であるといえる。しかし、脊髄症状の発生は骨化靭帯による圧迫因子のみが関与しているわけではない。骨化型では比較的高度の圧迫があるにもかかわらず脊髄症状を呈していない症例は、ほとんどが連続型の骨化であり前縦靭帯の骨

化も合併しており、頸椎の可動性が著明に制限されていた。一方、混合型の骨化で分節型と連続型の骨化の間で不安定性のある症例や分節型で大きな可動域のある症例では、比較的軽度の靭帯骨化でも脊髄症状を呈する場合がみられた。最大脊柱管狭窄率は、ある一定の臨界点を超えると脊髄症状を惹起する最も重要な因子ではある⁸⁾が、臨界点以下の状態では動的因子が関与する部分がかなり大きいと考える。今回の調査では、CT による横断面での頸椎 OPLL の評価を行い、外側に偏倚した骨化は脊髄症状の発現危険因子であることがわかった。中央に隆起した骨化より外側に偏倚した骨化でなぜ脊髄症状が発現しやすいかについては断定できないが、骨化靭帯による脊髄圧迫の形態も今後脊髄症状発現に関係する因子として研究の必要があると考えている。

今回の研究結果から、著者は本症の治療方針について次のように考えている。まず、靭帯骨化が存在しても症状が軽度かあるいはまったく認められない場合の予防的手術については、積極的に推奨する根拠がなく慎重であるべきと考える。しかし、最大脊柱管狭窄率が 60% 以上の症例や最大脊柱管狭窄率 60% 未満でも混合型骨化で動的因子による脊髄症状発現や増悪のリスクが高い症例は、患者にその点を十分説明し、より慎重な診察を続ける必要があると考えている。以上述べたように、本症の自然経過についての知見は手術適応を含めた治療方針決定に有益な情報となるため、今後さらなる研究が重要であると考えている。

謝辞

本論文の内容は厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）を受け実施された研究に基づいたものである。

文献（太字番号は重要文献）

- 1) Fujimura Y, Nakamura M, Toyama Y: Influence of minor trauma on surgical results in patients with cervical OPLL. *J Spinal Disord* 11: 16-20, 1998
- 2) 林 協司, 吉国長利, 武富榮二, 他: 非骨傷性頸髄損傷の治療成績の検討. *西日本脊椎研究会誌* 20: 40-43,

- 1994
- 3) Kaplan EL, Meier P : Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc* 53 : 457-481, 1958
 - 4) 片岡 治, 広畑和志, 栗原 章, 他 : 頸椎後縦靱帯骨化の臨床像とその推移. 厚生省特定疾患後縦靱帯骨化症調査研究班昭和 52 年度研究報告書. 1978. pp 102-110
 - 5) Key GA : On paraplegia depending on the ligament of the spine. *Guy Hosp Rep* 3 : 17-34, 1839
 - 6) Katoh S, Ikata T, Hirai N, et al : Influence of minor trauma to the neck on the neurological outcome in patients with ossification of the posterior longitudinal ligament (OPLL) of the cervical spine. *Paraplegia* 33 : 330-333, 1995
 - 7) Matsunaga S, Sakou T, Hayashi K, et al : Trauma-induced myelopathy in patients with ossification of the posterior longitudinal ligament. *J Neurosurg* 97(2 Suppl) : 172-175, 2002
 - 8) Matsunaga S, Kukita S, Hayashi K, et al : Pathogenesis of myelopathy in patients with ossification of the posterior longitudinal ligament. *J Neurosurg* 96(2 Suppl) : 168-172, 2002
 - 9) Matsunaga S, Sakou T, Taketomi E, et al : Clinical course of patients with ossification of the posterior longitudinal ligament : a minimum 10-year cohort study. *J Neurosurg* 100(3 Suppl Spine) : 245-248, 2004
 - 10) Matsunaga S : Updates on ossification of posterior longitudinal ligament. Epidemiology and pathogenesis of OPLL. *Clin Calcium* 19 : 1415-1420, 2009 [Article in Japanese]
 - 11) Matsunaga S, Tsuji T, Toyama Y, et al : Risk factors for development of myelopathy in patients with asymptomatic ossification of the posterior longitudinal ligament. *J Spine Res* 4 : 116-122, 2013
 - 12) 関 寛之, 津山直一, 林浩一郎 他 : 頸椎後縦靱帯骨化症 185 例の臨床的検討. *整形外科* 25 : 704-710, 1974
 - 13) 竹田 毅, 有馬 亨 : 軽微な機転により四肢麻痺を来した頸椎後縦靱帯骨化症の症例. *臨整外* 7 : 949-953, 1972
 - 14) 月本裕國 : 頸椎後縦靱帯化骨により脊髄圧迫症候を呈した 1 剖検例. *日外宝函* 29 : 1003-1007, 1960
 - 15) 山浦伊勢吉, 藤井紘三, 斎藤 俊, 他 : 頸椎後縦靱帯骨化症の臨床的観察. *整形外科* 25 : 253-267, 1974

次 | 号 | 予 | 告

脊椎脊髄ジャーナル Vol.27 No.10

胸腰仙椎後方 instrumentation の進歩

特集にあたって	日本大学整形外科	徳 橋 泰 明
Cortical bone trajectory (CBT)	東京歯科大学市川総合病院整形外科	二 宮 研, 他
腰仙椎固定の進歩	名城病院整形外科	小 原 徹 哉, 他
椎弓根スクリューの進歩	千葉労災病院整形外科	山 縣 正 庸
経皮的椎弓根スクリュー固定の進歩	練馬総合病院整形外科	塩 野 雄 太, 他
ロッドシステムの進歩	東海大学整形外科	酒 井 大 輔
Growing rod の進歩と現状	国立病院機構神戸医療センター整形外科	宇 野 耕 吉
Dynamization PLIF と固定隣接椎間障害について	関西医科大学滝井病院整形外科	齋 藤 貴 徳
Mobile stabilization の現状と問題点	大分整形外科病院整形外科	大 田 秀 樹

Nomade

アアソウダッタノカ!	JCHO 大阪病院脊椎外科	細 野 昇
イラストレイテッド・サージェリー		
神経鞘腫—被膜内摘出	東京慈恵会医科大学脳神経外科	磯 島 晃
症例から学ぶ : 画像診断トレーニング		
	三重大学附属病院中央放射線部	前 田 正 幸

編集上の都合により内容が若干異なる場合がありますので、ご了承ください。

Mutations in *PCYT1A*, Encoding a Key Regulator of Phosphatidylcholine Metabolism, Cause Spondylometaphyseal Dysplasia with Cone-Rod Dystrophy

Julie Hoover-Fong,^{1,2,16,*} Nara Sobreira,^{3,16} Julie Jurgens,^{3,4} Peggy Modaff,⁵ Carrie Blout,¹ Ann Moser,⁶ Ok-Hwa Kim,⁷ Tae-Joon Cho,⁸ Sung Yoon Cho,⁹ Sang Jin Kim,¹⁰ Dong-Kyu Jin,¹¹ Hiroshi Kitoh,¹² Woong-Yang Park,^{13,14} Hua Ling,¹⁵ Kurt N. Hetrick,¹⁵ Kimberly F. Doheny,¹⁵ David Valle,^{2,3} and Richard M. Pauli⁵

The spondylometaphyseal dysplasias (SMDs) are a group of about a dozen rare disorders characterized by short stature, irregular, flat vertebrae, and metaphyseal abnormalities. Aside from spondylometaphyseal dysplasia Kozlowski type (MIM 184252) caused by mutations in *TRPV4* (MIM 605427) and spondyloenchondrodysplasia (MIM 607944) resulting from mutations in *ACPS5* (MIM 171640), the genetic etiologies of SMDs are unknown.¹ Two of these unexplained SMDs have ophthalmologic manifestations: SMD with cone-rod dystrophy (SMD-CRD [MIM 608940]) and axial SMD with retinal degeneration (MIM 602271).

Delineated clinically a decade ago, SMD-CRD is a presumed autosomal-recessive disorder with postnatal growth deficiency leading to profound short stature; rhizomelia with bowing of the lower extremities; platyspondyly with anterior vertebral protrusions; progressive metaphyseal irregularity and cupping with shortened tubular bones; and early-onset, progressive visual impairment associated with a pigmentary maculopathy and electroretinographic evidence of cone-rod dysfunction.^{2–5} In contrast to retinitis pigmentosa, the CRDs have early involvement of cone photoreceptors.⁶

Here, we report loss-of-function mutations in *PCYT1A* (MIM 123695) as the cause of SMD-CRD. *PCYT1A* encodes CTP:phosphocholine cytidylyltransferase (CCT α),^{7,8} a key enzyme in the CDP-choline or Kennedy pathway for de novo phosphatidylcholine biosynthesis.

We used whole-exome and targeted sequencing of members of six unrelated families with eight individuals with SMD-CRD (Figure 1). Three families were submitted to the Baylor-Hopkins Center for Mendelian Genomics

(BHCMG) through the online submission portal PhenDB⁹ and, to confirm our observations in the first three families, we recruited three additional families for targeted candidate gene sequencing. Local approval for this study was provided by the Johns Hopkins Institutional Review Board, and all participants signed an informed consent. The clinical features of these individuals are summarized in Table 1 and briefly reviewed here. Six of the subjects have been described in previous publications.^{2,5}

Subject 1 (BH2265_1; family 1; Figure 2A) was reported when she was 20 years old.² Now age 29, she has done well with continued linear growth to an adult height of 93.9 cm (–10.7 SD) and modest progression of limitation of range of motion. Visual impairment has not progressed since around age 10. Subject 2 (BH2283_1; family 2, Figure 2E), originally described at age 11 years, is now 20 years old with a current adult height of 139 cm (–5.3 SD) and some progression of joint stiffening. His visual function declined during his second decade and he now requires low-vision aids. Subject 3 (BH2233_1; family 3) is a previously unreported 61-year-old female who was first seen at age 51. Although her skeletal phenotype is similar to that of the others described here, she had a late-onset retinal phenotype (Figure 2B). Radiographs from childhood were reported to show platyspondyly and metaphyseal changes; adult radiographs show hypoplasia of the posterior vertebral bodies but no anterior vertebral protrusions. Adult height (measured at age 54) is 108.3 cm (–8.4 SD). Visual symptoms were not apparent until middle age. An ERG at age 43 (performed because she had a brother with visual impairment) was said to be normal. By age

¹McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Greenberg Center for Skeletal Dysplasias, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD 21287, USA; ²Department of Pediatrics, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD 21205, USA; ³McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD 21205, USA; ⁴Predoctoral Training Program in Human Genetics, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD 21205, USA; ⁵Department of Pediatrics, University of Wisconsin-Madison, Madison, WI 53705, USA; ⁶Department of Neurogenetics, Kennedy Krieger Institute, Baltimore, MD 21205, USA; ⁷Department of Radiology, Ajou University Hospital, Suwon, Kyunggi 443-721, Korea; ⁸Division of Pediatric Orthopaedics, Seoul National University Children's Hospital, Seoul 110-744, Korea; ⁹Department of Pediatrics, Hanyang University Guri Hospital, Hanyang University College of Medicine, Guri, Gyeonggi-Do 471-701, Korea; ¹⁰Department of Ophthalmology, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul 135-710, Korea; ¹¹Department of Pediatrics, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul 135-710, Korea; ¹²Department of Orthopaedic Surgery, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Aichi 466-8550, Japan; ¹³Samsung Genome Institute, Samsung Medical Center, Seoul 135-710, Korea; ¹⁴Department of Molecular Cell Biology, Sungkyunkwan University School of Medicine, Suwon 440-746, Korea; ¹⁵Center for Inherited Disease Research, McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD 21224, USA

¹⁶These authors contributed equally to this work

*Correspondence: jhoover2@jhmi.edu

http://dx.doi.org/10.1016/j.ajhg.2013.11.018. ©2014 by The American Society of Human Genetics. All rights reserved.

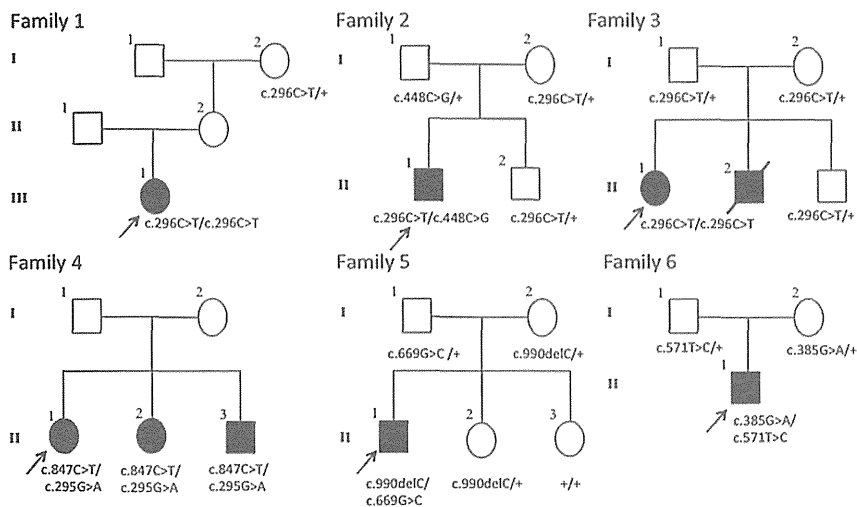


Figure 1. Pedigrees of Families 1–6 Showing the Segregation of *PCYT1A* Mutant Alleles

Alleles with the wild-type genotype indicated by plus sign. Samples were not available for individuals lacking a genotype designation.

51, however, her ERG showed evidence of cone-rod dysfunction and her current vision is limited (Table 1). At age 54, her examination showed short stature, rhizomelic limb shortening, brachydactyly, stiffness of large joints, and internal tibial torsion. Her family history includes an affected brother, who died at age 45 and was known to have short stature and a confirmed CRD. Her parents may be distantly related. Subjects 4–6 were reported by Walters et al.² as their cases 3–5 and have not been formally assessed since that time but provided updated information regarding visual function (Table 1, Figures 2C and 2D). Subject 7 (family 5) was previously described.⁵ Subject 8 (family 6) is a 23-month-old previously unreported Korean male referred for evaluation of growth failure and disproportionate shortening of the limbs. He has an increased antero-posterior thoracic diameter, rhizomelic shortening of his extremities, bilateral bowing of the legs, and mildly limited elbow extension, knee extension, and hip abduction. No visual or hearing impairment was noted at his first examination. Linear growth was impaired (by North American standards): at 23 months he was 68.4 cm (–5.2 SD) and at 48 months, 71.2 cm (–7.4 SD). From age 2 years he had frequent pneumonias with episodes of desaturation and O₂ dependency thought to be due to chest wall deformity. He had a waddling gait because of coxa vara deformity. Radiographs at 23 months showed short, bowed long bones with flared, cupped, and spurred metaphyses, and the adjacent epiphyses were large and rounded. In the hands and feet, the metaphyses of the short tubular bones had mild cupping, widening, and flaring and the diaphyses were short. The vertebral bodies were ovoid, mildly flattened, with anterior projections. These radiographic abnormalities were more severe at age 45 months. Mild scoliosis developed. Although no visual impairment was noted at age 23 months, by age 45 months fundus examination showed hypopigmented macular atrophy in both eyes with markedly decreased photopic and moderately decreased scotopic ERGs.

genome-wide level among 199 samples from unrelated white individuals (defined by PCA) after LD pruning (PLINK). The inbreeding coefficient was 0.1535, –0.007, and 0.035 for subjects 1, 2, and 3, respectively, suggesting that subject 1 (BH2265_1) is the product of an unrecognized consanguineous union. Although subject 3 is also homozygous for p.Ala99Val mutation, B allele frequency plot showed multiple loss-of-heterozygosity segments across genome for subject 1 but not subject 3. This result suggests that homozygosity for p.Ala99Val in subject 1 is a result of consanguinity whereas in subject 3 it is the result of recurrent mutation (see below).

For WES, we captured the CCDS exonic regions and flanking intronic regions totaling ~51 Mb by using the Agilent SureSelect Human All Exon V4 51Mb Kit and performed paired end 100 bp reads on subjects 1–3 with the Illumina HiSeq2000 platform. We aligned each read to the reference genome (NCBI human genome assembly build 37; Ensembl core database release 50_361¹⁰) with the Burrows-Wheeler Alignment (BWA) tool¹¹ and identified single-nucleotide variants (SNVs) and small insertion-deletions (indels) with SAMtools.¹² We also performed local realignment and base call quality recalibration by using GATK.^{13,14} We identified potentially causal variants by standard filtering criteria: SNV and indel minimal depth of 8×, root mean square mapping quality of 25, strand bias p value below 10^{–4}, end distance bias below 10^{–4}, and filtering out SNVs within 3 bp of an indel and indels within 10 bp of each other; followed by the use of the Analysis Tool of PhenoDB⁹ to design the prioritization strategy (N.S., unpublished data). We prioritized rare functional variants (missense, nonsense, splice site variants, and indels) that were homozygous or compound heterozygous in each of the three subjects and excluded variants with a MAF > 0.01 in dbSNP 126, 129, and 131 or in the Exome Variant Server (release ESP6500SI-V2) or 1000 Genomes Project.¹⁵ We also excluded all variants found in our in-house controls (CIDRVar 51Mb). We generated a homozygous and a compound heterozygous variant list