



後縦靭帯骨化症のゲノム解析

辻 崇*¹⁾ 戸山 芳 昭*²⁾

要旨：後縦靭帯骨化症は変形性膝関節症，椎間板ヘルニア，糖尿病，高血圧などと同様に，複数の疾患感受性遺伝子と環境因子によって発症する多因子遺伝病といえる。近年のゲノム医学の進歩に伴い疾患感受性遺伝子の解析が進んできているものの，過去の研究は症例数が十分とはいえず確証が得られたとは言いがたい。脊柱靭帯骨化症に関する調査研究班では214 罹患同胞対（410 例）の解析から，1p21，2p22-2p24，7q22，16q24，20p12 の領域の連鎖を明らかにした。さらに，孤発例 1,678 例を用いた全ゲノムレベルでの相関解析（GWAS；genome-wide association study）を施行し，genome-wide の閾値（ $p < 1 \times 10^{-8}$ ）を超える新規遺伝子座を明らかにし，骨化に伴って発現が変化する5つの遺伝子を同定している。今後は，これらの成果をもとに機能解析・病態解明がさらに推進されることが期待されている。

はじめに

後縦靭帯骨化（ossification of the posterior longitudinal ligament；OPLL）は1838年にKeyが初めて報告したとされているが，疾患概念が本邦で確立されたという歴史的経緯や発生頻度が日本において高いこと，さらに1975（昭和50）年に「後縦靭帯骨化症調査研究班」が発足し，現在の「脊柱靭帯骨化症に関する調査研究班」に至る一連の研究体制が維持されてきた歴史的経緯もあり，後縦靭帯骨化症に関する研究（疾患感受性遺伝子研

究を含めて）の多くは本邦から発信されてきた。

当初は，OPLLが日本人特有の疾患と考えられた時期もあったが，東アジアにおいても日本と同程度の頻度であることが明らかになるにつれ，近年アジア諸国からの研究報告も目立ってきている。

本稿では，最近の研究成果を含めたOPLLの疾患感受性遺伝子研究の成果をまとめさせていただく。

I. 病態と遺伝的素因

靭帯骨化の発現に関与する因子や疾患として，糖代謝異常¹⁾，肥満²⁾，副甲状腺ホルモン³⁾，成長ホルモン結合蛋白⁴⁾，レプチン⁵⁾，ビタミンA⁶⁾，植物性蛋白，塩分⁷⁾，エストロゲン⁸⁾，筋緊張性ジストロフィ⁹⁾などが報告されているが，その詳細なメカニズムは明らかとなっていない。

一方，過去の疫学的研究より，OPLLに遺伝的素因が関与することは明らかとなっている。Terayama¹⁰⁾は頸椎OPLLの347家族（1,030人）

*¹⁾ Takashi TSUJI, 北里大学北里研究所病院, 整形外科

*²⁾ Yoshiaki TOYAMA, 慶應義塾大学医学部, 整形外科教室

Genomic analysis of ossification of the posterior longitudinal ligament

Key words : Ossification of the posterior longitudinal ligament (OPLL), Susceptibility gene, Genome-wide association study

表 1 主な既報の後縦靭帯骨化症に関する疾患感受性遺伝子

遺伝子	対象	症例数 (患者)	発表年	発表者
<i>ACE</i> ; angiotensin 1 converting enzyme	韓国人	95	2014	Kim DH
<i>BID</i> ; BH3 interacting domain death agonist	韓国人	157	2014	Chon J
<i>BMP2</i> ; bone morphogenic protein 2	中国人	57	2008	Wang H
<i>BMP2</i>	中国人	420	2013	Yan L
<i>BMP4</i> ; bone morphogenic protein 4	日本人	126 sib-pair	2002	Furushima K
<i>BMP4</i>	中国人	179	2010	Meng XL
<i>BMP4</i>	中国人	450	2012	Ren Y
<i>BMP9</i> ; bone morphogenic protein 9	中国人	450	2012	Ren Y
<i>COL11A2</i> ; collagen 11A2	日本人	91 sib-pair	1996	Koga H
<i>COL6A1</i> ; collagen 6A1	日本人	142 sib-pair	2003	Tanaka T
<i>COL6A1</i>	中国人	122	2007	Kong Q
<i>ESR1</i> ; estrogen receptor	日本人	120	2002	Ogata N
<i>FGFR1</i> ; FGF receptor 1	韓国人	157	2012	Jun JK
<i>HLA</i> haplotype	日本人	24	1999	Matsunaga S
<i>IFNG</i> ; interferon gamma	韓国人	135	2013	Kim KT
<i>IL-15RA</i> ; interleukin 15 receptor alpha	韓国人	166	2011	Kim DH
<i>IL-1β</i> ; interleukin 1 beta	日本人	120	2002	Ogata N
<i>NPPI</i> ; nucleotide pyrophosphatase phosphodiesterase 1	中国人	95	2013	He Z
<i>NPPI</i> (ENPPI); nucleotide pyrophosphatase	日本人	323	1999	Nakamura I
<i>NPPI</i>	日本人	180	2001	Koshizuka Y
<i>RUNX2</i> ; runt-related transcription factor 2	中国人	82	2010	Liu Y
<i>RXRβ</i> ; retinoic X receptor beta	日本人	134	1999	Nurasawa T
<i>TGFβ1</i> ; transforming growth factor beta 1	日本人	46	2001	Kamiya M
<i>TGFβ3</i> ; transforming growth factor beta 3	日本人	711	2006	Horikoshi T
<i>TGFβ2</i> ; TGF β receptor 2	韓国人	21	2013	Jekarl DW
<i>TLR5</i> ; toll-like receptor 5	韓国人	166	2011	Chung WS
<i>VDR</i> ; vitamin D receptor	日本人	63	2008	Kobashi
<i>VKORC1</i> ; vitamin K epoxide reductase complex subunit 1	韓国人	98	2013	Chin DK

の調査を行い、患者の両親では26%、同胞（兄弟姉妹）では29%に靭帯骨化を認め、一般住民調査の発生頻度（2~4%）と比較して、罹患率が高いことを報告し、遺伝的素因の関与を明らかにしている。

よって、OPLLは変形性膝関節症、椎間板ヘルニア、糖尿病、高血圧などと同様に、遺伝因子である複数の疾患感受性遺伝子と環境因子によって

発症する多因子遺伝病といえる¹¹⁾。

II. 疾患感受性遺伝子研究

疾患の発症にどの遺伝子が関わっているか、ゲノム全体を解析して調べるには、「連鎖解析」と「相関解析」の2つの主要な方法がある。

「連鎖解析」とは患者とその同胞（兄弟姉妹:sib-pair）のサンプルを集め、同じ病気に罹っている

表 2 関連の再現されなかった遺伝子

遺伝子	対象	症例数 (患者)	発表年	発表者
<i>BMP2</i>	韓国人	162	2014	Kim KH
<i>COL11A2</i>	日本人	711	2006	Horikoshi T
<i>COL6A1</i>	韓国人	162	2014	Kim KH
<i>LeptinR</i>	日本人	172	2005	Tahara M
<i>NPPS</i>	日本人	172	2005	Tahara M
<i>NPPS</i>	日本人	711	2006	Horikoshi T
<i>TGFβ1</i>	日本人	369	2003	Kawaguchi Y
<i>TGFβ1</i>	日本人	711	2006	Horikoshi T
<i>TGFβ1</i>	韓国人	98	2013	Han IB

同胞であれば、親から病気に関連した遺伝子を受け継いで共有している割合が一般集団より高くなることを利用して、疾患感受性遺伝子の存在部位を絞り込み、染色体上であらかじめ目途をつけた場所を中心に解析する方法で、「相関解析」とは孤発例患者 (sporadic case) と健常人の集団を多数集めてサンプルを比較解析することを基盤にした解析法といえる。これらの手法を単独または複合して用いて、実際の疾患感受性遺伝子の探索が行われている。

近年のゲノム医学の進歩に伴い、1996年以降 OPLL に関しても疾患感受性遺伝子の解析が進んできており、表 1 に示すように病態解明に繋がることが期待される疾患感受性遺伝子は数多く報告され、その一部は人種をまたいで再現されているが、いずれも確証が得られたとは言いがたい。現在までのところ、最も症例数が多い Horikoshi ら¹²⁾ の症例 711 例およびコントロール 896 例から導き出された結果でも、新たに *TGFβ3* の関与が示唆されたものの、既報の *COL11A2*, *NPPS*, *TGFβ1* といった遺伝子に関する再現性は得られていない。

連鎖の指摘された遺伝子に関する追試実験で、関連が再現されなかった遺伝子も複数報告されており (表 2)、過去の研究成果に疑問を投げかけられている。既報の研究の最大の問題点は症例数が少ない点であり、統計学的な相関が十分でない点

が指摘されている¹²⁾。

現在、ゲノム解析の手法は全ゲノムレベルでの相関解析 (GWAS; genome-wide association study) が中心となっており、OPLL についても GWAS 解析が必要であると考えられている。

Ⅲ. 脊柱靭帯骨化症に対する調査研究班のゲノム解析

厚生労働省科学研究補助金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 (研究代表者: 中村耕三および戸山芳昭) では、理化学研究所・統合生命医科学研究センター・骨関節疾患研究チーム (チームリーダー: 池川志郎) との共同研究を行ってきた。

収集した頸椎 OPLL 患者 196 家族 (410 例; 214 対) について全ゲノムをカバーする 392 マイクロサテライトマーカーを用いて連鎖解析を行ったところ、優位な連鎖を示すマーカーは見いだすことができなかった。そこで、変形性頸椎症と紛らわしい症例を排除するために 2 椎間以上の OPLL に絞って解析を行ったところ、対象症例数は 297 例にまで減少したものの、1p21, 2p22-2p24, 7q22, 16q24, 20p12 の領域に連鎖を認め、さらに OPLL の重症度、発症年齢、糖尿病の合併の有無等を用いたサブグループ層別化解析を行ったところ、3 椎体以上の重度 OPLL では 2p22-2p24 に強い連鎖を認め、65 歳以下の若年齢 OPLL では 16q24

表 3 脊柱靱帯骨化症に関する調査研究班の遺伝子解析

遺伝子	対象	症例数 (患者)	発表年	発表者
染色体 1p21, 2p22-24, 7q22, 16q24, 20p12	日本人	214 sib-pair	2013	Karasugi & Nakajima
<i>RSPH9, STK38L, HAO1, RSPO2, CCDC91</i>	日本人	1,678	2014	Nakajima

と連鎖し、糖尿病合併無し OPLL では 1p21, 7q22, 20p12 との連鎖が認められ、OPLL 患者内の遺伝的異質性も明らかとなった¹³⁾ (表 3)。

上記結果を受けて、研究班 (研究代表者: 戸山芳昭) では、平成 23 年から 25 年の 2 年間 (2011~2013) に全国の分担協力施設 (21 施設およびその関連病院) と協力して 1,500 例を超える孤発例サンプルを収集し、理化学研究所・骨関節疾患研究チーム (チームリーダー: 池川志郎) と連携して、全ゲノムレベルでの相関解析; GWAS を施行した。頸椎 OPLL (1,130 例) とコントロール (7,135 例) の解析および独立した頸椎 OPLL (548 例) とコントロール (6,469 例) の再現実験の解析をしたところ、genome-wide の閾値 ($p < 1 \times 10^{-8}$) を超える 6 つの新規遺伝子座が明らかとなり、さらに、線維芽細胞、骨芽細胞および軟骨細胞を用いて候補遺伝子の機能解析を行い、5 つの遺伝子 (*RSPH9, STK38L, HAO1, RSPO2, CCDC91*) の発見が骨化に伴って変化することを明らかにしている¹⁴⁾。

今後はこれらの成果をもとに平成 26 (2014) 年度から難治性疾患克服研究事業「後縦靱帯骨化症の病態解明・治療法開発に関する研究」班が組織されており、研究班が中心となって機能解析・病態解明がさらに推進されることが期待されている。

おわりに

OPLL に関する疾患感受性遺伝子の最新の進歩について述べさせていただいた。これまでに集積された候補遺伝子に対する機能解析が望まれる一方で、おそらく存在するであろう OPLL のサブタイプ別の遺伝子解析、また近年報告が増えているアジア諸国などとの情報を共有して、人種をまた

いだ疾患感受性遺伝子の特定も必要である。

さらに真の病態解明のためには遺伝要因と環境要因の双方の解明も必要になる。縦断的研究等による「遺伝子ごとの環境要因の関わり」の解明など解決すべき研究課題は多く残されている。

[本稿で紹介した脊柱靱帯骨化症に関する調査研究班に関連した研究は厚生労働科学研究補助金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」の助成によって行われた。

また研究班の sib-pair 研究および GWAS 研究メンバー、さらに遺伝子研究にあたり血液サンプル提供にご協力いただきました全国脊柱靱帯骨化症患者家族連絡協議会をはじめ多くの患者さんに感謝申し上げます。]

文 献

- 1) Akune T et al : Insulin secretory response is positively associated with the extent of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine. *J Bone Joint Surg* 83-A : 1537-1544, 2001
- 2) Shingyouchi Y et al : Ligamentous ossification of the cervical spine in the late middle-aged Japanese men ; its relation to body mass index and glucose metabolism. *Spine* 21 : 2474-2478, 1996
- 3) 佐藤光三ほか : 副甲状腺機能低下症と脊柱靱帯骨化との関連性の検討. *日骨代謝誌* 3 : 151-160, 1986
- 4) 池川志郎ほか : 後縦靱帯骨化症の内分泌学的検討—血中成長ホルモン, 成長ホルモン結合蛋白, インスリン様成長因子-1,2 について. *関東整災誌* 24 : 23-24, 1993
- 5) Ikeda Y et al : Association between serum leptin and bone metabolic markers, and the development of heterotopic ossification of the spinal ligament in female patients with ossification of the posterior longitudinal ligament. *Eur*

後縦靭帯骨化症の病態解明・治療法開発に関する研究
事務局

岩波明生 慶應義塾大学医学部整形外科
安室 薫

〒160-8582
東京都新宿区信濃町 35
TEL 03-5363-3812
FAX 03-3353-6597
e-mail iwanami@1998.jukuin.keio.ac.jp
k-yasm@z6.keio.jp

辻 崇 北里大学北里研究所病院整形外科・脊椎センター

〒108-8642
東京都港区白金 5-9-1
TEL 03-3444-6161
FAX 03-3448-0553
e-mail tsuji9@insti.kitasato-u.ac.jp

経理事務担当者

光永明弘 慶應義塾大学医学部信濃町研究支援センター

岡見浩史

TEL 03-5363-3879
FAX 03-5363-3507
e-mail ras-shinanomachi-kourou@adst.keio.ac.jp

