

2008年7月12日

独立行政法人 理化学研究所

## 膝の変形性関節症の原因遺伝子「DVWA」を同定

### - 新遺伝子の発見、発症を引き起こす新経路の解明に -

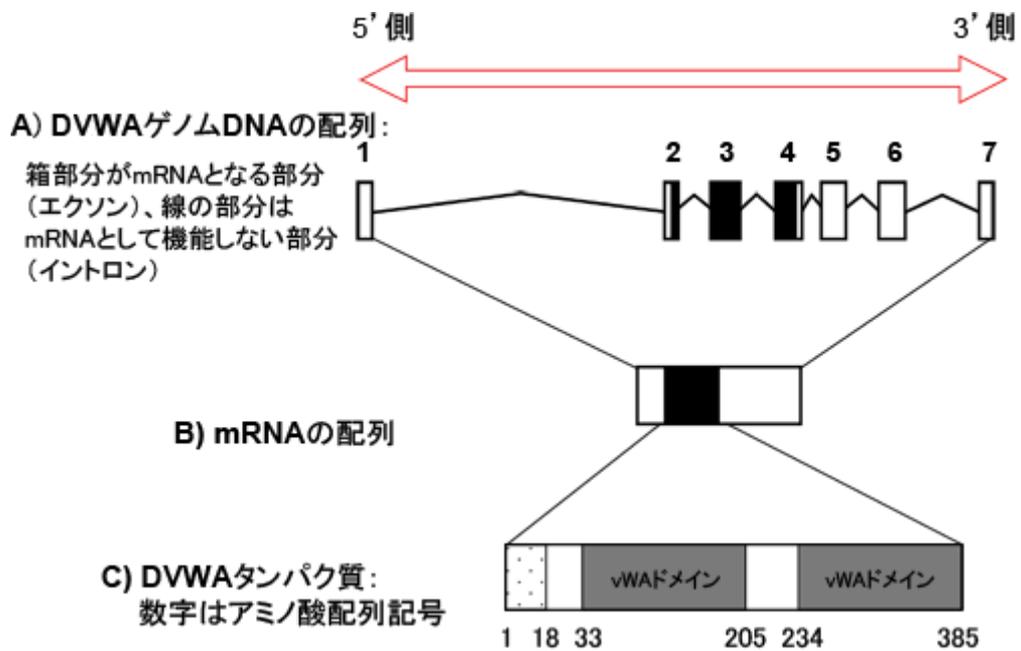
関節の軟骨が変性、消失し、関節の痛みや機能障害を引き起こす変形性関節症(OA)は、日本人だけでも1,000万人以上の患者がいるとされる骨・関節の疾患の中で最も発症頻度が高い病気です。罹患すると膝、股、手、脊髄など、全身のさまざまな関節で、痛み、関節に水がたまる腫れ、歩行機能の障害などを引き起こします。中・高年者の日常生活の質を低下させる最大の原因で、高齢化社会の大きな課題となっています。

疫学調査などから、このOAが、遺伝的な因子と環境因子の相互作用で発症することが明らかとなっています。理研ゲノム医科学研究センター骨関節疾患研究チームでは、OAの原因遺伝子を見つけ、その働きを解明する研究を精力的に展開しています。既に「アスロリン」、「GDF5」を世界に先駆けて発見してきました。しかし、まだ関連する遺伝子は多く、原因遺伝子を見つけだすための新たな方法の開発が課題となっていました。

今回研究チームは、日本人特有の一塩基多型(SNP)を体系的に調べたデータベースを利用して相関解析を行い、OAの原因遺伝子をゲノム全体でスクリーニングして、新たな遺伝子「DVWA」を発見しました。この遺伝子の発見により、OA発症の新たな経路がわかり、より正確な病態の解明が進むことで、新しいタイプの治療薬の開発が可能になると期待できます。また、ゲノムレベルの相関解析による遺伝子発見は世界で初めてのことで、今後、ゲノムの機能を発見する新たな道を開くことにもなりました。



図 変形性膝関節症（上）と DVWA の構造（下）



2008年7月12日  
独立行政法人 理化学研究所

## 膝の変形性関節症の原因遺伝子「DVWA」を同定

- 新遺伝子の発見、発症を引き起こす新経路の解明に -

### ◇ポイント◇

- ・ 相関解析をきっかけに、未知の遺伝子「DVWA」を発見
- ・ 「DVWA」遺伝子内の SNP が変形性膝関節症と強く相関
- ・ 「DVWA」と変形性膝関節症の相関が、日本人、中国人に共通することを確認

独立行政法人理化学研究所（野依良治理事長）は、変形性関節症（OA：OsteoArthritis）の新たな未知の原因遺伝子 *DVWA* を発見しました。理研ゲノム医科学研究センター（中村祐輔センター長）骨関節疾患研究チームの池川志郎チームリーダーを中心とする国際共同研究<sup>\*1</sup>による成果です。

OAは、関節軟骨が変性、消失する特徴のある疾患です。骨・関節の疾患の中で最も発症頻度が高く、日本だけでも1,000万人以上の患者が発生しているとされており、その原因の解明が待ち望まれています。研究チームは、全ゲノムレベルでケース・コントロール相関解析<sup>\*2</sup>を行い、OAのなり易さ（疾患感受性）を決定する遺伝子の1つ、*DVWA*を発見しました。

日本人特有の一塩基多型（SNP：Single Nucleotide Polymorphism）<sup>\*3</sup>をゲノム全体で調べたところ、あるSNPと膝の変形性関節症（膝OA）が強く相関することがわかりました。しかし、このSNP周辺のゲノム上には、既知の遺伝子がまったく存在しませんでした。そこで、このSNP周辺のゲノム上に存在する未知の遺伝子を検索したところ、軟骨に特異的に発現する新たな遺伝子が発見されました。この遺伝子の作るタンパクがvon Willebrand factor A domain<sup>\*4</sup>という領域を2つ持つことから、この遺伝子を*DVWA*（*Double von Willebrand factor A domains*）と名づけました。

*DVWA*遺伝子領域に存在するSNPを同定し、OAとの相関を調べたところ、*DVWA*が作るタンパク質にアミノ酸置換を起こすあるSNPが、最も強い相関を示すことがわかりました。南京大学の協力を得て、中国人集団でも同様の相関解析を行ったところ、このSNPの強い相関を再現できました。日本人と中国人を合わせると、その相関は、P値<sup>\*2</sup>が $10^{-11}$ （10のマイナス11乗）レベルと非常に高いものでした。さらに*DVWA*の機能やこのSNPによるOA発症のメカニズムを検討すると、*DVWA*タンパク質はチュブリンという細胞骨格を構成するタンパク質と結合すること、そしてこのSNPによるアミノ酸置換により、その結合が低下することを突き止めました。

本研究は、ゲノムレベルでの相関解析による未知の遺伝子が発見した世界で最初の例となります。今後、相関解析を出発点にして、機能や医学・生物学上の意義のわからなかったヒトのゲノム領域で、新しい遺伝子が発見できるかと考えています。また、*DVWA*の発見によって示されたOA発症の新たな経路を、さらに詳しく調べることで、より正確なOAの病態の理解が進み、これまでになかった新しいタイプのOA治療薬の開発が可能になります。今回の発見により、OAのオーダーメイド医療に向けての新たな展開が期待されます。

本研究成果は、米国の科学雑誌『*Nature Genetics*』に掲載されるに先立ち、オンライン版（7月11日付け：日本時間7月12日）に掲載されます。

## 1. 背景

OAは関節の軟骨が変性、消失し、関節の痛みや機能の障害を引き起こす疾患です（図1）。骨や関節の疾患の中で、最も発症頻度の高い疾患の1つで、日本だけでも約1,000万人以上の患者がいると推定されています。OAは、膝、股、手、脊椎など全身のさまざまな関節を冒し、痛み、腫れ（関節水腫＝俗に言う、『関節に水が溜まる』という状態）、可動域（関節の動きの範囲）の低下、歩行機能の障害などの症状を引き起こします。中・高年者の日常生活動作（ADL: Activities of Daily Living）、生活の質（QOL: Quality of Life）の障害を引き起こす最大の原因の1つで、その有病率は中年以降年齢と共に増加し、70歳以上では30%以上の方がOAに罹（かか）っているという統計もあり、高齢化社会の大きな課題の1つです。町で、杖をついて、痛そうに歩いているお年寄りを見たら、この疾患と考えて、ほぼ間違いありません。すでに、高齢者が要介護支援となる原因の中で、疾患の第1位は関節症となっており（厚生労働省『平成16年国民生活基礎調査』）、介護予防、要重度化防止の点から緊急の課題です。しかし、OAの発症の根本的な原因や病態はほとんど研究が進んでおらず、有効な治療法がないのが現状です。

疫学<sup>\*5</sup>調査などから、OAは遺伝的因子と環境因子の相互作用により発症する多因子遺伝病、生活習慣病であることが明らかになっています。研究チームでは、このOAの遺伝的因子、すなわちOAの疾患感受性遺伝子を特定し、その働きを解明しようと研究を続けてきました。疾患感受性遺伝子としてはこれまでに候補遺伝子アプローチ<sup>\*6</sup>により、「アスポリン」（2005年1月10日プレスリリース：変形性関節症の原因遺伝子を世界で初めて発見）、「GDF5」（2007年3月26日プレスリリース：変形性関節症の新たな原因遺伝子「GDF5」を発見）を世界に先駆けて発見し、報告しています。しかし、多因子遺伝病であるOAには、この2つ以外にも多くの遺伝子が関与しており、それらの遺伝子を見つけ出すことが大きな課題となっていました。そのためには、既存の知識、情報を出発点とする候補遺伝子アプローチに限界があるのは明らかでした。

## 2. 研究手法と成果

理研遺伝子多型研究センター（現、ゲノム医科学研究センター）では、ミレニアムプロジェクト<sup>\*7</sup>の一環として、東京大学医科学研究所などと協力し、日本人集団の遺伝子多型を同定、そのデータを蓄積したデータベース「JSNP : [http://snp.ims.u-tokyo.ac.jp/index\\_ja.html](http://snp.ims.u-tokyo.ac.jp/index_ja.html)」を公開しています。このデータベースは、世界で初めての人種特異的な遺伝子多型データベースで、日本人特有のSNPを集積しています。

理研骨関節疾患研究チームはこれを用いて、OAの疾患感受性遺伝子のゲノム上の存在部位を相関解析で調べました。約10万個のSNPを用いてゲノム全体をスクリーニングすると、3番染色体上の、あるSNPと膝OAが強く相関していることがわかりました。しかし、既存の遺伝子のデータベースには、このSNP周辺には遺伝子は存在しませんでした。そこで、研究チームは、あらためてこのSNP周辺にある未知の遺伝子を探索しました。この領域に存在する遺伝子の断片の情報や、コンピュータープログラムによる予測などをもとに、さまざまな分子遺伝学的手法を駆使することで、新たな遺伝子*DVWA*を発見しました。

*DVWA*は、発現量が非常に少なく、その発現部位は、軟骨、前立腺などの一部の

組織に限られており、また、多くのsplicing<sup>\*\*8</sup> patternを持つことがわかりました。そして、*DVWA*は、通常1つのエクソン<sup>\*\*8</sup>内に収まる3'側の非翻訳領域（non-coding領域）が4つ（図2Aのエクソン4,5,6,7）に分かれるという非典型的な遺伝子構造をしており、385個のアミノ酸からなるタンパク質を転写していることがわかりました。このタンパク質は von Willebrand factor A domain (vWA domain) といわれるドメインを2つ持っていますが、それ以外にまったく特徴がなく、既知の遺伝子との類似性もない機能未知のタンパク質でした（図2Bアミノ酸の構造）。*DVWA*がこれまで発見されなかったのは、こうした特徴のためと考えられます。

次に、*DVWA*遺伝子領域に存在するSNPを網羅的に同定し、962人の日本人の膝OA患者集団と1,726人の非膝OA集団で相関解析を行い、*DVWA*遺伝子の作るタンパク質（*DVWA*タンパク質）にアミノ酸置換を起こすあるSNPが、膝OAに非常に強い相関を示すことがわかりました。中国・南京大学の協力を得て、417人の中国人膝OA患者集団と413人の非膝OA集団でも同様の相関解析を行った結果、このSNPの強い相関を再現できました。日本人と中国人を合わせると相関はP値が  $7.3 \times 10^{-11}$ とこれまでのOAの遺伝子の中で最も強いものでした。*DVWA*は、少なくとも東アジア人の、膝OAの疾患感受性遺伝子の1つであるといえます。日本人では、*DVWA*のOAになり易いタイプのSNPを持っていると約1.6倍、膝OAのリスクが増加します。

さらに、*DVWA*の機能や、問題となるSNPによるOA発症のメカニズムを検討しました。*DVWA*タンパク質は、多くが細胞内に局在するので、*DVWA*タンパク質と結合する細胞内タンパク質を調べました。その結果、*DVWA*タンパク質はチュブリンという軟骨細胞の細胞骨格を構成するタンパク質と結合していることがわかりました。さらに、膝OAと強い相関を示すSNPによる、*DVWA*タンパク質とチュブリンとの結合力への影響を調べたところ、OA患者に多いSNPに由来する*DVWA*タンパク質では、その結合が低下することを突き止めました。これまでの研究から、チュブリンの減少は、OAにつながるということが報告されています。このため、*DVWA*は軟骨細胞の細胞骨格の制御を通じて、OAの病態に関与すると考えています。

### 3. 今後の展開

新たな遺伝子の発見をきっかけに、OAの発症につながる新たな代謝経路の同定、およびそれに関連する遺伝子を一網打尽に捉えることが期待できます。さらに研究チームは、プロテオミクス的手法<sup>\*\*9</sup>を用いて*DVWA*タンパク質と結合する細胞内のタンパク質を網羅的に調べ、チュブリン以外にもいくつかのタンパク質を発見しています。これらの成果をもとに、*DVWA*とOAの関係をさらに詳しく調べることで、これまでにない新しいタイプのOA治療薬の開発が可能になると考えています。

今回、相関解析を利用して未知の遺伝子を発見することができました。*DVWA*のように、非典型的な遺伝子構造や低い発現量、特異的な発現パターンなどのために発見されていない遺伝子は、まだまだたくさん存在すると考えられます。今後はさらに、ヒトのゲノムの領域における解明できていない機能、医学・生物学上の意義が、相関解析を出発点に明らかになってくるでしょう。

（問い合わせ先）

独立行政法人理化学研究所 横浜研究所

ゲノム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 (いけがわ しろう)  
Tel : 03-5449-5393 / Fax : 03-5449-5393

横浜研究推進部 企画課  
Tel : 045-503-9117 / Fax : 045-503-9113

(報道担当)

独立行政法人理化学研究所 広報室 報道担当  
Tel : 048-467-9272 / Fax : 048-462-4715  
Mail : koho@riken.jp

## <補足説明>

### ※1 国際共同研究

本研究は、南京大学・医学院附属鼓楼医院（蔣青教授、史冬泉研究員）、三重大学・整形外科（内田淳正教授、須藤啓広准教授）、杏林大学・整形外科（小谷明弘准教授）、国立相模原病院臨床研究センター病態総合研究部（福井尚志部長）ほかとの共同研究による。

### ※2 ケース・コントロール相関解析/P 値

疾患の感受性遺伝子を見つける方法の1つ。疾患を持つ群と疾患を持たない群とで遺伝子多型の頻度に差があるかどうかを統計学的に比較する解析方法。検定の結果得られたP値（偶然にそのようなことが起こる確率）が低いほど、相関が高いと判定できる。

### ※3 1塩基多型(SNP: Single Nucleotide Polymorphism)

ヒトゲノムは30億塩基対のDNAからなるとされているが、個々人を比較するとそのうちの0.1%の塩基配列の違いがあると見られており、これを遺伝子多型と称す。遺伝子多型の内、1つの塩基が、他の塩基に変わるものを1塩基多型(SNP: Single Nucleotide Polymorphism)と称する。遺伝子多型は遺伝的な個人差を知る手がかりとなるが、その多くはSNPである。そのタイプにより遺伝子をもとに体内で作られる酵素などのタンパク質の働きが微妙に変化し、病気のかかりやすさや医薬品への反応に変化が生じる。

### ※4 von Willebrand factor A domain(vWA domain)

タンパク質のモチーフの1つ。細胞接着などに関係するタンパク質によく見られる。正確な機能は分かっていない。

### ※5 疫学

人間集団を対象として、健康および疾病にかかわる要因を特定し、因果関係を明ら

かにすることを旨とする学問。

#### ※6 候補遺伝子アプローチ

相関解析の手法の1つ。特定の遺伝子に的を絞って、調べていく方法。

#### ※7 ミレニアムプロジェクト

故小渕首相のイニシアチブで始まった国家プロジェクト。新しいミレニアム（千年紀）の始まりを目前に控え、人類の直面する課題に応え、新しい産業を生み出す大胆な技術革新に取り組むことを目標とした。理研遺伝子多型センター（現、ゲノム医科学研究センター）は、このプロジェクトにより設立された。

#### ※8 splicing／エクソン

ゲノム上の遺伝子を mRNA に転写する過程の1つ。ゲノム上の遺伝子はエクソンとイントロンからなるが、mRNA が形成される過程でイントロン配列が削除され、エクソン配列のみが mRNA として残る。同じ遺伝子からでも異なったエクソンの組み合わせの mRNA が作られることがあり、これを **alternative splicing** と称する。

#### ※9 プロテオミクスの手法

タンパク質を網羅的に解析する研究方法。



図 1 変形性膝関節症

左：患者の外観。膝の腫れ、痛みと O 脚変形を伴う。患者は、痛みや関節機能障害のため、杖を使うようになることが多い。

右：患者の左膝の X 線写真。内側の関節軟骨がすり減り、関節のすき間が無くなっている（矢印）。また骨の変形・出っ張りも見られる。

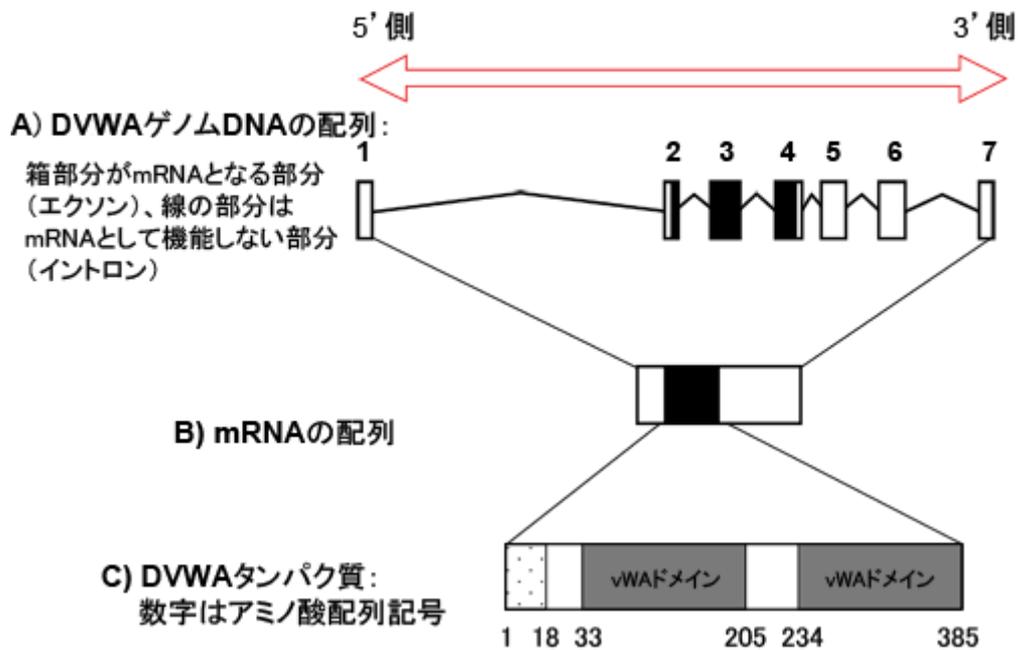


図2 DVWAとタンパク質の構造

A) DVWA 遺伝子の構造

7つのエクソンで構成される。白箱はタンパク質の配列情報を持たない非翻訳領域 (non-coding 領域)、黒箱はタンパク質の配列情報を持つ翻訳領域 (coding 領域) を表す。通常1つのエクソン内に収まる3'側の non-coding 領域が、4つ (エクソン4から7) に分かれているため、非典型的な遺伝子構造をしている。

B) DVWA 遺伝子の成熟 mRNA の配列模式図

イントロンが splicing され、エクソンだけが残り、タンパク質の配列情報を指定する mRNA となる。

C) タンパク質の構造の模式図

von Willebrand factor A domain (vWA)といわれるドメインを2つ持っている。