

平成 26 年 9 月 30 日

<研究課題> 非同義置換一塩基多型の網羅的エクソン解析による骨粗鬆症・サルコペニア関連遺伝子の探索

代表研究者 東京都健康長寿医療センター 臨床研究推進センター 部長 森 聖二郎  
共同研究者 同研究所 老年病態研究チーム 非常勤研究員 (生活習慣病) 周 赫英

【まとめ】

非同義置換一塩基多型の網羅的エクソン解析による骨粗鬆症・サルコペニア関連遺伝子の探索を当センター連続剖検 1632 例で行った。その結果、ウェルナー症候群の病因遺伝子 WRN の非同義置換 SNP である rs2230009 と骨粗鬆症との有意な関連性が示された。本 SNP は WRN 遺伝子のエクソヌクレアーゼ領域に位置する。本症候群の多彩な早老徴候の一つである骨粗鬆症の発症に、本 SNP が関わっている可能性が示唆された。

1. 研究の目的

ウェルナー症候群では、早老徴候として骨粗鬆症を発症することが知られている。病因遺伝子である WRN の機能喪失変異のホモ接合体が本症を発症するが、一方、WRN 遺伝子の一塩基多型と心筋梗塞など各種疾患との関連性も報告されている。そこで本研究では、WRN 遺伝子の非同義置換 SNP と骨粗鬆症との関連性を検討した。

2. 研究の方法・経過

連続剖検 1632 例 (平均年齢 81 歳、男 924 例、女 708 例) の DNA を用いて WRN の既知の非同義置換 8 SNP (V114I、R369X、E510D、L628V、R711W、L1074F、A1260T、

C1367R) のタイピングを行い、大腿骨骨折罹患率との関連解析を行った。さらに、閉経後骨粗鬆症患者 251 例 (平均年齢 71 歳)、地域住民 269 名 (平均年齢 75 歳、男 133 名、女 136 名) から得られた DNA を用いて骨密度との関連解析を行った。

3. 研究の成果

表 1 に今回タイピングした 8 種類の非同義置換 SNP の特徴を示す。マイナーアレル頻度 (MAF) が極めて低い SNP に関しては、通常の統計学的解析が困難と判断されたので、今回の検討では MAF が 1%以上であった 4 SNP について解析した。

表 2 に、MAF が 1%以上であった 4 SNP と大腿骨骨折との関係を示す。大腿骨骨折と有意に相関した SNP は rs2230009 のみで、本 SNP の AA 型では骨折頻度 50%、AG 型では 16.4%、GG 型では 8.3%と、本 SNP の A アレルが優性モデルで骨折リスクとなっていた。

表 3 に、性別と年齢を調整した多重ロジスティック回帰分析の結果を示す。rs2230009 の AA 型ないし AG 型を有する場合、GG 型と比較して、大腿骨骨折のオッズ比は 2.528 倍と有意に高くなった。ちなみに女性は男性の 2.983 倍、年齢は 10 歳ごとに 1.746 倍骨折リスクが増加すること

も明らかとなった。

大腿骨骨折との有意な関連性を見いだした rs2230009 に関して、二次コホートを用いたバリデーションを行った。まず閉経後骨粗鬆症患者を対象に、rs2230009 の遺伝子型と各種臨床指標との関連性を検討した。その結果、表 4 に示すとおり、大腿骨頸部骨密度が、GG 型に比較して AG 型では有意に低値を示すことが明らかとなった。

続いて地域住民を対象に、rs2230009 の遺伝子型と体組成との関連性を検討した。表 5 に示すように、GG 型に比較して AG 型では、全身骨密度が有意に低値であることが明らかとなった。ちなみに四肢筋肉量ならびに骨格筋指数 SMI には、遺伝子型による差は認められなかった。

#### 4. 今後の課題

本研究では、WRN 遺伝子の非同義置換 SNP である rs2230009 と骨粗鬆症との有意な関連性が示された。本 SNP は WRN 遺伝子のエクソヌクレアーゼ領域に位置するが、現時点ではエクソヌクレアーゼ活性と骨折との関連性は不明である。ウェルナー症候群の多彩な表現形質の全てを WRN 遺伝子のヘリカーゼ機能喪失から統一的に説明できるのか、あるいは WRN 遺伝子が有する複数の機能がそれぞれ独立して個々の早期老化徴候をもたらしているのか、本研究を含めて WRN 遺伝子多型と各種疾患との関連解析は、その点に関して重要な示唆を与える研究といえる。

#### 5. 研究結果の公表方法

本研究内容は原著論文にまとめて現在 *Journal of Bone and Mineral Metabolism*

に投稿中である (Heying Zhou, Seijiro Mori, et al. A missense single nucleotide polymorphism, V114I of the Werner syndrome gene, is associated with risk of osteoporosis and femoral fracture in the Japanese population)。

表 1 WRN 遺伝子上に存在する 8 種類の非同義置換 SNP

rs	タイプ	塩基置換	アミノ酸置換	エクソン	機能	MAF
2230009	ミスセンス	340G>A	V114I	4	エクソヌクレアーゼ	0.018
17847577	ナンセンス	1105C>T	R369X	9		0.00031
113811718	ミスセンス	1530A>T	E510D	12		0.0074
77969734	ミスセンス	1882C>G	L628V	16	ヘリカーゼ	0.017
34560788	ミスセンス	2131C>T	R711W	19	ヘリカーゼ	0.00031
1801195	ミスセンス	3222T>G	F1074L	26		0.42
201107091	ミスセンス	3778G>A	A1260T	32		0.00061
1346044	ミスセンス	4099T>C	C1367R	34		0.067

表 2 WRN 遺伝子上の各 SNP と大腿骨骨折との関係

		大腿骨骨折	n	<i>P</i> (Cochran-Armitage)
rs2230009	AA	1 (50.0%)	2	0.0066*
	AG	9 (16.4%)	55	
	GG	130 (8.3%)	1574	
rs77969734	CC	133 (8.4%)	1577	0.3043
	CG	7 (13.5%)	52	
	GG	0 (%)	2	
rs1801195	GG	25 (8.4%)	299	0.4713
	GT	62 (7.9%)	780	
	TT	52 (9.5%)	548	
rs1346044	CC	0 (0%)	6	0.2409
	CT	14 (6.8%)	205	
	TT	126 (8.9%)	1418	

表 3 rs2230009 (340G>A) と大腿骨骨折との関係  
—性別・年齢を多重ロジスティック回帰分析にて調整—

因子	オッズ比(95%信頼区間)	<i>P</i>
遺伝子型, AA/AG vs GG	2.528 (1.194–5.350)	0.0154*
性別, 女性 vs 男性	2.983 (1.988–4.776)	<0.0001*
剖検時年齢, 10歳毎	1.746 (1.396–2.185)	<0.0001*

表 4 WRN 遺伝子多型 rs2230009 (340G>A) と各種臨床指標との関係  
 —閉経後骨粗鬆症患者での検討—

	GG (n=236)		AG (n=15)		Difference (95% CI)	P
	mean	SD	mean	SD		
年齢(歳)	70.9	8.09	71.7	6.83	0.76 (-3.43 - 4.94)	0.724
体重(kg)	48.0	6.81	44.7	5.00	-3.33 (-6.97 - 0.32)	0.074
身長(m)	150	11.4	140	38.5	-11.2 (-32.6 - 10.1)	0.279
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	21.0	2.88	20.1	2.51	-0.92 (-2.46 - 0.61)	0.240
四肢筋肉量(kg)	12.7	1.52	12.4	1.48	-0.24 (-1.18 - 0.71)	0.620
SMI(kg/m <sup>2</sup> )	5.51	0.54	5.55	0.52	0.03 (-0.31 - 0.37)	0.850
腰椎骨密度(g/cm <sup>2</sup> )	0.79	0.14	0.73	0.17	-0.07 (-0.14 - 0.00)	0.068
大腿骨頸部骨密度(g/cm <sup>2</sup> )	0.63	0.08	0.59	0.08	-0.04 (-0.08 - -0.00)	0.041
血清カルシウム(mg/dL)	9.65	0.41	9.53	0.31	-0.12 (-0.33 - 0.09)	0.270
血清25水酸化ビタミンD (ng/mL)	21.5	6.45	19.4	5.15	-2.02 (-5.35 - 1.30)	0.230

表 4 脚注：有意差検定：年齢、体重、身長は Student' s t-test、その他は線形回帰分析（年齢補正）

表 5 WRN 遺伝子多型 rs2230009 (340G>A) と体組成との関係  
 —地域住民での検討—

	GG		AG		Difference (95% CI)	P
	mean	SD	mean	SD		
<b>全例 (n=269)</b>						
全身骨密度(g/cm <sup>2</sup> )	0.87	0.10	0.80	0.06	-0.07 (-0.12 - -0.02)	0.0079
四肢筋肉量(kg)	18.1	3.72	17.8	3.30	-0.48 (-1.89 - 0.94)	0.52
SMI (kg/m <sup>2</sup> )	7.40	0.97	7.20	0.85	-0.21 (-0.71 - 0.28)	0.40
<b>女性 (n=136)</b>						
全身骨密度(g/cm <sup>2</sup> )	0.81	0.08	0.76	0.03	-0.05 (-0.12 - 0.03)	0.20
四肢筋肉量(kg)	15.2	1.82	15.4	1.39	0.06 (-1.54 - 1.67)	0.94
SMI (kg/m <sup>2</sup> )	6.83	0.72	6.90	0.90	0.10 (-0.55 - 0.76)	0.76
<b>男性 (n=133)</b>						
全身骨密度(g/cm <sup>2</sup> )	0.93	0.08	0.84	0.05	-0.09 (-0.16 - -0.02)	0.016
四肢筋肉量(kg)	21.1	2.68	20.1	2.98	-0.89 (-3.23 - 1.45)	0.46
SMI (kg/m <sup>2</sup> )	7.98	0.85	7.49	0.77	-0.47 (-1.21 - 0.28)	0.22

表 5 脚注：有意差検定：線形回帰分析（全例では性別・年齢補正、男女別では年齢補正）