

〔システマテックレビュー〕

変形性関節症に関連する遺伝子多型についてのシステマテックレビュー

金澤 香, 柴田 考典

北海道医療大学歯学部口腔外科学第1講座

Systematic review of polymorphisms related to osteoarthritis

Kaoru KANAZAWA and Takanori SHIBATA

First Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

Abstract

Osteoarthritis (OA) is the complex multifactorial disease of which the etiology is not yet well defined, and recently increasing attention has focused on the genetic risk factors of OA. The purpose of this study was to analyze the published literature on the association between genetic polymorphisms and OA by a systematic review method.

Papers published from 1995 to March 2005 with the keywords cytokines, polymorphisms and OA, as well as papers among the references in these papers were obtained from PubMed. The inclusion criteria were papers on the relationship between genetic polymorphisms of the Interleukin (IL)-1, IL-1 receptor antagonist (RA), or the Tumor Necrosis Factor (TNF)-alpha and OA, and the paper includes retrospective studies that compare the prevalence of genetic polymorphisms of OA and healthy controls. Studies with fewer than ten subjects were excluded. Only three papers met the selection criteria, and these were reviewed. Evidence-based medicine data tables were drawn for each of the three papers respectively. There were significant differences ($P=0.0007$) in the frequencies of the T allele of IL-1 β C3954T in the genetic polymorphism between OA patients with total hip or knee replacement and healthy controls.

The evidence from the articles reviewed indicated a statistically significant correlation between OA and some specific polymorphisms of IL-1, but some of the reports showed bidirectional results. Further rigorous studies based on well-defined disease and control criteria will be required to contribute to the prevention and management of OA.

Keywords : Cytokine, Polymorphism, Osteoarthritis, Interleukin-1 (IL-1), Interleukin-1 receptor antagonist (IL-1RA)

緒 言

顎関節における変形性関節症 (Osteoarthritis, OA) は、関節軟骨、関節円板などの退行性変性から関節軟骨の破壊と同時に骨・軟骨のリモデリングをきたし、関節形態が変化する疾患で、退行性関節疾患 (DJD: degenerative joint disease) とも呼ばれる。

一般に変形性関節症は、関節表面に加わる負荷 (おもに剪断力) と負荷に耐える能力やリモデリングによる代償との平衡関係がくずれるのが原因と考えられている。

特に、顎関節における変形性関節症では円板障害を伴わないそれが比較的稀であることから、円板障害に継発する関節負荷の増大と滑膜炎が引き金になると考えられているが、個々の症例の発症および増悪を制御している因子については不明である。

最近、顎関節症患者の顎関節滑液を用いた生化学的分析から、顎関節でも身体他部の滑膜関節と同様に、サイトカインIL-1 β , TNF- α が関節破壊に重要な役割を果たしていることが示されている (Kubota et al., 1997; Yamamori et al., 2000)。

受付: 平成17年3月31日

これらシグナル伝達タンパクにおいては遺伝子多型が多く、それらが変形性関節症の発症あるいは増悪に関与しているとの報告がある (Smith et al., 2004; Stern et al., 2003).

そこで本研究では、変形性顎関節症の発症あるいは増悪に関与している遺伝子多型を探索することの一助とするため、まず変形性関節症の発症あるいは増悪に関与している遺伝子多型を推定するため、メタアナリシスを行った (丹後, 2002).

方 法

1. 一次検索

1995年から2005年3月までのPub Medデータベースを用い、キーワードとしてCytokines (cytokines.mp. あるいは exp *CYTOKINES), Polymorphism (polymorphism. mp. または exp *POLYMORPHISM, RESTRICTION FRAGMENT LENGTH または exp *POLYMORPHISM, SINGLE-STRANDED CONFORMATIONAL または exp *POLYMORPHISM, GENETIC または exp *POLYMORPHISM, SINGLE NUCLEOTIDE), OA (exp *OSTEOARTHRITIS, HIP または osteoarthritis.mp. または exp *OSTEOARTHRITIS または exp *OSTEOARTHRITIS, KNEE) を選択し、記述用語が英語、かつ研究対象がヒトに限定して検索を行った。

2. 二次選択

検索された論文の二次選択の基準として、以下の4条件を設定し絞り込んだ。

- 1) OA診断基準が明示されていること
- 2) IL-1, IL-1RA, あるいはTNF- α の遺伝子多型の解析がなされていること
- 3) 健常者対照群の設定があること
- 4) 対象患者数が10名以上であること

3. 抽出論文の評価と解析

選択された文献をevidence-based medicine data table (以下EDTと略す) を用いて評価した (森實, 2004). EDTの主な項目は、仮説、疾患、診断法、症例群や対照群の総数、男女比、年齢、結果、結論とした。

なお、各論文中遺伝子型の頻度についてのみ検討し、アレル頻度についての検討を加えていない論文については、遺伝子型の頻度をアレル頻度に換算した上で、さらに統計処理を実施した。

4. 統計処理

統計処理には χ^2 独立性の検定法を適応し、 $P < 0.05$ をもって有意差ありと判定した。

結 果

1. 一次検索

Pub Medによる一次検索でCytokines, Polymorphism, OAを選択したところ、それぞれ150,596件, 63,773件および13,095件が抽出され、3キーワードの複合により14件が抽出された。抽出された14論文は、すべて症例対照研究であった。さらに、記述用語を英語、かつ研究対象をヒトに限定しても抽出件数に変化はなかった。ついで、これら14論文のフルテキストを入手し以下の検討を行った。

2. 二次選択

二次選択によって、3論文 (Stern et al., 2003; Loughlin et al., 2002; Moos et al., 2000.) が抽出された。除外論文の内訳は、診断基準の不明示 (1編), 異なるサイトカイン遺伝子多型の検索 (8編), 対象患者数の不足 (2編) であった。

3. EDT

抽出された3論文について、それぞれEDTを作成した (表1, 2, 3)。

4. 評価・解析結果

1) IL-1 α 多型

C-889Tにおいてマイナーアレルを持つ健常者と膝関節全置換OA患者との間で $P=0.03$ を示していた (Loughlin et al., 2002) が、遺伝子多型の記載がTからCへの一塩基置換となっており信頼性に欠けた。

2) IL-1 β 多型

C3954T, G5810A, C-511T, C1423T, T1903C, C5887Tの6多型について検索され、C3954TおよびG5810Aについてのみ何らかの有意差を認める報告が認められた。

C3954Tでは、膝または股関節全置換OA患者群におけるTホモタイプが健常者群より有意に大きな値を示していた ($P=0.00062$) という報告 (Moos et al., 2000) と、膝および/または股関節全置換OA患者と健常者間において、Tアレル数に有意差はなかった ($P=0.83$) とする相反する報告 (Loughlin et al., 2002) がある。そこで、膝または股関節全置換OA患者に限定し、アレル頻度に換算し再計算を行ったところ、Moosら患者群ではTアレルが健常者群より有意に多かったが ($P=0.0007$), Loughlinらの患者群および両者を合算した患者群では、ともに健常者群と差が見られなかった ($P=0.76$, および $P=0.43$)。

また、Moosらは膝または股関節全置換OA患者群をさらに軟骨細胞のTNF- α 産生能の高低により2群に分

表1 EDT Stern et al., 2003.

番号	# 1
疾患/病態	糜爛性手関節 非糜爛性手関節
疾患/病態の診断法	American college of rheumatology Clinical Criteria
民族性	白人
採用基準	OA, IL-1 β polymorphism, 健常者の対象有り, 対象患者数10名以上
除外基準	なし
総症例数	68 (糜爛性26人, 非糜爛性42人)
男性/女性	14/54 (糜爛性 5/21, 非糜爛性 9/33)
年齢: 中央値、範囲	(糜爛性 男73 \pm 6.6 女71 \pm 7.1 非糜爛性 男69 \pm 6.4 女65 \pm 10.8) 平均 \pm SD
対照群症例数	51
男性/女性	6/45
年齢: 中央値、範囲	男 (72 \pm 6.7) 女 (69 \pm 10.0)
マッチング(有意差のある項目)	IL-1 B5810AA統計学的に糜爛性hand OAのグループと関係があった。相対危険度3.8p=0.007。これはまた糜爛性と非糜爛性OAのグループでも関連があった(相対危険度4.01p=0.008)
結果	IL-1A-889, IL-1B5887, IL-1B1903, IL-1B5810, IL-1B1423, IL-1RN8006, IL-1RN VNTR, IL-1RN11100を検索した。hand OAのグループと関係があった。相対危険度3.8P=0.007。これはまた糜爛性IL-1B5810遺伝子型ではハーディー-ヴァインベルグ平衡ではなかった。IL-1B5810AA遺伝子型は統計学的に糜爛性と非糜爛性OAのグループでも関連があった(相対危険度4.01p=0.008)
統計学的解析法	chi-square tests
結論	糜爛性hand OAとアメリカ白人のIL-1B5810SNPを含むゲノム領域において関連の統計学的証拠を示す。これは、hand OAの重篤度表現型の病因におけるIL-1の潜在的役割をサポートする。糜爛性手関節OAと健常者で、IL-1 β 5810とは関連がある。

表2 EDT Loughlin et al., 2002.

番号	# 2
疾患/病態	股関節, 膝関節
疾患/病態の診断法	臨床的な評価, 代謝的な原因はのぞく, 患者は関節置換術経験あり
民族性	Caucasian
採用基準	OA, IL-1 β polymorphism, 健常者の対象有り, 対象患者数10名以上
除外基準	なし
総症例数	557 OA CASE THR total hip replacement (390), TKR total knee replacement (136), THR&TKR (31)
男性/女性	(342/215) THR (146/244), TKR (58/78), THR&TKR (11/20)
年齢: 中央値、範囲	男74 (61-88) 女72 (56-90) 平均 (range)
対照群症例数	557 (215W, 342M)
男性/女性	(342/215)
年齢: 中央値、範囲	男74 (61-89) 女71 (59-88) 平均 (range)
マッチング(有意差のある項目)	4 SNPs (IL-1RN9589, IL-1A-889, IL-1B3954, IL-1B5810)
結果	IL-1A-889, IL-1B3954, IL-1B5810, IL-1B-31, IL-1B-511, IL-1RN VNTR, IL-1RN9589, IL-1RN11100を検索した。IL-1B-31と-511; IL-1RNA9589とVNTRは完全連鎖していた。膝関節 (136) と、男性膝関節 (58) について有意差を認めた。
統計学的解析法	chi-square tests
結論	IL-1リガンドは、男性の膝関節OAの罹病率に関係がある。

表3 EDT Moos et al., 2000.

番号	# 3
疾患/病態	膝関節, 股関節
疾患/病態の診断法	臨床的な評価, 代謝的な原因はのぞく, 患者は関節置換術経験あり
民族性	白人
採用基準	OA, IL-1RA, IL-1 β polymorphism, 健常者の対象あり, 対象患者数10名以上
除外基準	なし
総症例数	関節置換術経験があるhip or kneeのend stage OA患者61人
男性/女性	記載なし
年齢: 中央値、範囲	記載なし
対照群症例数	254
男性/女性	記載なし
年齢: 中央値、範囲	記載なし
マッチング(有意差のある項目)	IL-1 β 3954, IL-1RA VNTR
結果	IL-1 β 3954では、アレル1ホモは、コントロールで61%, OAで42%。アレル2ホモは、コントロール5%, OAで20%。P=0.00062 オッズ比5.687 95%区間 (2.12-15.26) IL-1 β 3954では、軟骨細胞の低TNF- α 産生能グループにおいて、Cアレルを持つ者とTアレルをもつものとにP=0.0096で有意差あり。IL-1RA VNTRでは、軟骨細胞の高TNF- α 産生能グループにおいて、2回繰り返し配列をもつ割合が高い (p=0.0058)
統計学的解析法	chi-square tests
結論	IL-1 β 多型 (3954) とTNF- α high (-308) のphenotype, IL-1RA多型 (VNTR) とTNF- α lowのphenotypeの間にはOAにおいて関連がある

け、低産生能患者群では健常者群よりTTおよびTCの発現頻度が有意に高かった ($P=0.0096$) と報告している。

G5810Aでは、手関節にエロージョンを認めるOA患者群においてハプロタイプのうちホモタイプAAのみが、健常者群より有意に高い値を示した ($P=0.007$) (Stern et al., 2003) という報告がある一方、膝かつ/または股関節全置換OA患者群のAアレル頻度は健常者群と差はなかったとする報告もあった ($P=0.80$) (Loughlin et al., 2002). そこで、アレル頻度の再計算を行ったところ、Sternらの患者群においても有意差は認められなかった ($P=0.0784$).

3) IL-1RA多型

T8006C, T11100Cの多型について検索されていた

が、いずれも有意差は認められなかった。

IL-1RA VNTR (variable-number of tandem repeats) については、Loughlinら、Moosら、およびSternらは、各患者群と健常者群との間で有意差は認められなかったと述べている。

なお、Moosらは軟骨細胞の高TNF- α 産生能グループの膝または股関節全置換OA患者群では、2回繰り返し配列を持つ頻度が健常者群と比べて有意に高い ($P=0.0058$) と報告している。

4) TNF- α 多型

TNF- α G-308Aは、膝または股関節全置換OA患者群と健常者群の間に有意な関連性は認められなかった (Moos et al., 2000). (表4)

表4 解析結果

遺伝子多型	文献	患者 多型なし/あり	対照 多型なし/あり	
IL-1 β C3954T	# 2-1	膝または/かつ股関節症患者 842/260	841/267	$P=0.83$
	# 2-2	膝または股関節症患者 795/245	841/267	$P=0.76$
	# 3	膝または股関節症患者 55/35	368/104	$P=0.0007$
	(# 2-2)+(# 3)	850/280	1209/371	$P=0.43$
IL-1 β G5810A	# 1-1	エロージョンがある 手関節症患者のみ 26/26	66/36	$P=0.078$
	# 1-2	手関節症患者 81/55	66/36	$P=0.42$
	# 2	膝または/かつ股関節症患者 691/399	708/398	$P=0.80$
	(# 1-2)+(# 2)	772/454	774/434	$P=0.57$
IL-1RA VNTR 4回配列/その他	# 1	手関節症患者 90/46	67/33	$P=0.86$
	# 2	膝または股関節症患者 763/263	795/315	$P=0.15$
	# 3	膝または股関節症患者 72/20	358/80	$P=0.44$
	計	925/329	1220/428	$P=0.86$

1 Stern et al., 2003. # 2 Loughlin et al., 2002. # 3 Moos et al., 2000

考 察

1. 遺伝子多型について

ヒト遺伝子の塩基配列は個人ごとに多部位で差異があり、一般に、この違いを遺伝子多型と呼ぶ。全人口中1%以上の頻度で存在する塩基配列の差異を、遺伝子多型と定義している。これら遺伝子多型には以下のような種類がある。

1) 1個の塩基 (C, T, A, G) が他の塩基に置き換わっているもの (single nucleotide polymorphism, SNP) で、一般に数百から一千塩基対に約1か所の割合で存在し、全ゲノムでは300万~1000万個のSNPがあるとされ

ている。

2) 1塩基から数十塩基の欠損や挿入があるもの

3) 2塩基から数十塩基の配列が一つの単位を構成し、それらが繰り返し発現する部位において、その繰り返し回数が個々で異なるもの。1単位が数塩基から数十塩基のものをVNTR、1単位が2から4塩基のものはマイクロサテライト多型と呼ばれている。

これら遺伝子多型は、疾患の発症を決定する因子ではなく、疾患の易罹患性を高めたり、病態の継続や進行に関与する危険因子として作用するものがあることが知られている。特に、糖尿病、高血圧、肥満、などの生活習慣病の場合には複数の危険因子の重複により易罹患性が

異なる。変形性関節症は生活習慣病の一つと考えられることから、遺伝子多型の影響を受け易罹患性が異なることが予測される。

2. 方法について

一次検索では、データベースとしてPub Medを用い、1995年から2005年3月までの期間、3キーワード(Cytokines, Polymorphism, OA)の複合により14件が抽出された。なお、前述のキーワードにTMJを追加した場合には、該当論文はなかった。

また、1985年から1994年までの期間で同様の検索を行ったところ、該当論文は皆無であった。

今回の検索では、Bogardusら(1999)に基づき10例以上を採用したが、最近の悪性腫瘍に関する遺伝子多型の解析では症例および対照それぞれ最低200症例以上、計400症例以上が必要とされる傾向がある(湯浅ら, 2003)。今後の遺伝子多型研究では、研究サンプルサイズをより大きなものにすることが必要となるであろう。

また、すべての選択基準に該当したのは3論文と少なく、すべての研究が白人を対象として行われていた。蒙古人種におけるOA患者のサイトカイン遺伝子多型の研究および顎関節OAに関する同様の研究は、われわれが渉猟した限りでは報告されていない。

3. OA関連遺伝子多型について

IL-1 β C3954T, G5810A, およびIL-1RA VNTRについてメタアナリシスを行った結果、IL-1 β C3954TのみがOA発症と有意に関連があると考えられた。しかし、この遺伝子多型をもつOA患者群と健常者群の間にOA発症について有意差を認める報告がある一方で相反する報告もあり、これらの症例を合算し解析したところ、患者群と健常者群においてOA発症に有意な差は認められなかった。これはIL-1 β C3954TがOA発症に関与していると仮定しても、この多型がOA発症の危険因子としての寄与率が低いためと考えられた。

また、IL-1 β G5810Aについては、OA発症に関連するという報告とないとする相反する報告があり、この多型単独ではOA発症の危険因子としての寄与率が低いことを示唆していると思われる。

IL-1RA VNTRはいずれも各患者群と健常者群との間で、OA発症に差はみられなかった。

なお、IL-1 β C3954T, IL-1RA VNTRについて、軟骨細胞のTNF- α の産生能の高低により患者群を分けた場合、健常者群との間にOA発症に有意差がみられたという報告は、OA発症に関する危険因子として複数の遺伝子多型が関与していることを示唆する傍証ではないかと

考えられた。

以上より、OA発症に関する危険因子としてIL-1 β C3954Tを始めとする複数の遺伝子多型が関与しているものと考えられた。

結 語

顎関節OAの発症あるいは増悪に関与している遺伝子多型を探索するため、OA発症あるいは増悪に関与している遺伝子多型の推定を目的としてメタアナリシスを行った。データベースPub Medより14論文を選択し、二次選択基準より抽出された3論文について、評価し解析を行った。

その結果、各文献における遺伝子多型をアレル頻度に換算したところ、OA発症の危険因子としてIL-1 β C3954Tが何らかの関与を果たしていることが判明した。また、OA発症の危険因子として複数の遺伝子多型が関連している可能性が示唆された。

以上より、顎関節OAの発症においても、危険因子としてIL-1 β C3954Tを含む複数の遺伝子多型の関与の可能性が考えられた。

文 献

- Bogardus ST Jr, Concato J and Feinstein AR. Clinical epidemiological quality in molecular genetic research—the need for methodological standards—. *JAMA*26 : 1919–1926,1999.
- Kubota E, Imamura H, Kubota T, Shibata T and Murakami K. Interleukin 1 β and Stromelysin (MMP3) activity of synovial fluid as possible markers of osteoarthritis in the temporomandibular joint. *J Oral Maxillofac Surg* 55 : 20–27, 1997.
- Loughlin J, Dowling B, Mustafa Z and Chapman K. Association of the interleukin-1 gene cluster on chromosome 2q13 with knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 46 : 1519–1527, 2002.
- Moos V, Rudwaleit M, Herzog V, Hohlig K, Sieper J and Muller B. Association of genotypes affecting the expression of interleukin-1 beta or interleukin-1 receptor antagonist with osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 43 : 2417–2422, 2000.
- 森實敏夫・EBMデータテーブル (EDT) の作成, EBM実践のための医学文献評価選定マニュアル, ライフサイエンス出版 : 2004, 32–33.
- Smith AJ, Keen LJ, Billingham MJ, Perry MJ, Elson CJ, Kirwan JR, Sims JE, Doherty M, Spector TD and Bidwell JL. Extended haplotypes and linkage disequilibrium in the IL1R1=IL1A-IL1B-IL1RN gene cluster : association with knee osteoarthritis. *Genes Immun* 5 : 451–460, 2004.
- Stern AG, de Carvalho MR, Buck GA, Adler RA, Rao TP, Disler D, Moxley G and I-NODAL Network. Association of erosive hand osteoarthritis with a single nucleotide polymorphism on the gene encoding interleukin-1 beta. *Osteoarthritis Cartilage* 11 : 394–402, 2003.
- 丹後俊郎. メタ・アナリシス入門. 朝倉書店 : 2002, 1–5.

Yamamori I, Shibata T, Murakami K, Kubota E and Yoshizawa N.

Detection of tumor necrosis factor- α in TMJ synovial fluid. *J Dent Res* 79 : 1235, 2000.

湯浅秀道, 浜島信之, 内藤徹, 横田誠. 歯周病と遺伝子多型に関する論文に基づくシステマティックレビュー. *日歯周誌* 45 : 150-162, 2003.