

厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

（分担）研究報告書

骨粗鬆症における原因遺伝子の検索と遺伝疫学的解析

（分担）研究者 江見 充（日本医科大学老人病研究所 教授）

研究要旨

骨粗鬆症の遺伝的要因を解明するため、成人女性の骨密度規定遺伝子を網羅的に同定する試みとして体系的 SNP 解析を行なった。効率的な SNP 解析のため、2段階からなる大規模スクリーニングの計画を立て、これまでに日本人の SNP データベースからアミノ酸置換を伴う翻訳領域 SNP（cSNP）と、遺伝子上流領域にある制御領域 SNP（rSNP）を合計 727 個選別し、発症の有無（質的形質）と補正骨密度値（量的形質）の二つの観点から解析した。量的形質のスクリーニング選別基準は、2つの異なる一般人集団から選ばれた 96 例ずつの血液 DNA における 314 種類の SNP 解析から補正骨密度値との相関の分散分析・直線回帰分析により、両群で共に危険率 5%以下を満たすものと決定した。また大規模な SNP 解析に有効なタイピング法として、アレイハイブリダイズ法、インベーター法、パイロシーケンス法の正確性と出力効率を検討した。新たな方法として、意図的ミスマッチ塩基の導入と付加的塩基の追加をくわえた新たなアレル特異的 PCR 法（Sd-PCR）を開発した。384 例の第一次スクリーニングの検体について月間 100 種類以上の SNP のタイピングを 99%の精度で行ない、F-検定の危険率 1%を基準として有意な相関傾向を示す 20 SNP を同定した。さらに第二段階目の、確定スクリーニングで数千検体のタイピングを行なえる DNA チップ形式のアレイハイブリダイズ法の正確性を検討し、99.9%の成功率と精度を確認した。

A. 研究目的

骨粗鬆症とは骨量の減少により骨の脆弱性が進み、骨折の危険性が増す疾患である。急速に高齢化社会を迎える我が国においては、その成因解明、発症前診断、新しい治療法の開発は急務である。骨粗鬆症の発症には複数の遺伝子の関与が示唆されており、疾患関連遺伝子を同定するためには、近年、進歩の著しい遺伝子多型の体系的解析が有力な手段となる。我々は、ゲノム上の数万種類の多型マーカーを用いることにより、発症、進展および種々の薬剤感受性に関与する遺伝子を探索し、早期の予防、治療へ応用が期待される。本研究ではゲノム上の多型マーカーを用いることにより、骨量の減少機序、骨粗鬆症の発症、進展に関与する遺伝子を探索し、早期の予防、治療へ用いることを目指している。

B. 研究方法

骨粗鬆症の遺伝素因を明らかにする目的で、内分泌および骨代謝に関わる種々の候補遺伝子に注目しその近傍の CA 反復配列多型マーカーを用いて、遺伝子型とその頻度を検出した。遺伝子型とその頻度を検出したのち、骨密度と遺伝子型との相関を統計的に解析する相関研究を行った。疾患とマーカーとの相関は、患者集団と健常集団とでマーカー対立遺伝子の頻度を比較検討することにより検出される。次に連鎖解析の一つである「sib-pair（同胞対）解析」を行い、連鎖を示す遺伝子座の同定を試みた。姉妹対 192 組 297 人について、候補遺伝子座近

傍の CA 反復配列は PCR によって増幅し、電気泳動によって各々の対立遺伝子の CA 反復配列多型マーカーの遺伝子型を決定した。各マーカーごとに 2つの対立遺伝子の遺伝子型を決定し、その頻度を検出して骨密度との相関を行っている。女性姉妹対の集団ではそれぞれ、非患者対、非患者・患者対、患者対とに分類し、この遺伝子座における姉妹対の CA 反復配列多型マーカーの遺伝子型を利用して、ノンパラメトリック連鎖解析を program package S.A.G.E. の SIBPAL にて解析を行った。骨粗鬆症患者どうしの姉妹対において共有している同じ遺伝子型のマーカー対立遺伝子数の増加(>0.5)、または非患者・患者の姉妹対における共有する同じ遺伝子型のマーカー対立遺伝子数の減少(<0.5)はその候補遺伝子近傍のマーカー遺伝子座と骨粗鬆症との連鎖を示す。骨密度は橈骨遠位端骨を DTX-200 にて DXA 法（2重エネルギー X 線吸収測定法）を用いて測定している。骨粗鬆症患者は日本骨代謝学会の診断基準に基づき、圧迫骨折などが認められない女性において骨密度が若年成人平均値の 70%未満が骨粗鬆症、70-80%を骨量減少とした。

C. 研究結果

種々の候補遺伝子に注目しその多型マーカーを用いて、遺伝子型とその頻度を検出したのち、骨密度と遺伝子型との相関を統計的に解析する相関研究を行った。骨密度は橈骨遠位端骨を DTX-200 にて DXA 法（2重エネルギー X 線吸収測定法）を用いて測定した。骨粗鬆症患者は日本骨代謝学会の診断基準に基づき、圧迫骨折などが認められない女性において

8)岩崎公典、江面陽一、石田良太、梶田満子、小平美奈、江見 充：11mer オリゴ・マイクロアレイによるハイブリダイゼーション法を用いた SNP タイピングの正確性についての検討. 日本人類遺伝学会第46回大会 2001. 10. 3-5. 大宮

9)江面陽一、岩崎公典、大塚秀文、石田良太、白木正孝¹⁾、井上 聡²⁾、細井孝之³⁾、鈴木隆雄⁴⁾、江見 充^{(1) 成人病診療研、^{2) 東大・老年科、^{3) 都老人医療セ、^{4) 都老人総合研)}}：骨粗鬆症の SNP 解析. Medical Genetics 研究会 2001. 6. 28-29. 東京}}

19) Iwasaki, H., Ezura, Y., Ishida, R., Kodaira, M., Kajita, M., Knight, J. ¹⁾, Daniel, S. ¹⁾, Shi, M. ¹⁾, Emi, M. (¹⁾ Genometrix Inc., The Woodlands): Accuracy of Genotyping for Single Nucleotide Polymorphism Typing Method Involving hybridization of Short Allele-Specific Oligonucleotides. DNA Reserch. 2002; (in press)

20) Ogawa, S. ¹⁾, Emi, M., Shiraki, M. ²⁾, Hosoi, T. ¹⁾³⁾, Orimo, H. ³⁾, Ouchi, Y. ¹⁾, Inoue, S. ¹⁾ (¹⁾ Univ. Tokyo, ²⁾ Reseach Institute and Practice for Involutional Diseases, ³⁾ Tokyo Metropol. Geriat. Hosp.): Association of amino acid variation (Yrp64Arg) in the beta3-adrenergic Receptor Gene with Bone Mineral Density. An. Hum. Biol. 2002; (in press)

21) Harada, H., Kimura, A. ¹⁾, Fukino, K., Yasunaga, S. ²⁾, Nishi, H. ³⁾, Emi, M. (¹⁾ Med. Res. Inst., ²⁾ Tsukumi Central Hosp., ³⁾ Kurume Univ.): Genomic structure and eight novel exonic polymorphisms of human N-cadherin gene. J. Hum. Genet. 2002; (in press)

〈総説〉

1) 岩崎公典、江面陽一、江見 充：骨粗鬆症の関連遺伝子群の同定法 (特集：ポストゲノム医学：患者) BIO Clinica 2001; 16: 45-50.

2) 江面陽一、岩崎公典、江見 充：慢性関節リウマチに伴う骨粗鬆症における遺伝子マーカーの意義 Clinical Calcium 2001; 11: 60-63.

3) 江面陽一、岩崎公典、石田良太、江見 充：骨粗鬆症の SNP 解析—関連遺伝子群の同定— 医学のあゆみ 2001; 198: 665-670.

4) 太田信孝、中島敏晶、江見 充：骨粗鬆症予防のための遺伝子マーカーの開発 老年医学雑誌 2001; 38: (印刷中)

5) 江面陽一、岩崎公典、石田良太、白木正孝、井上 聡、細井孝之、吉田英世、鈴木隆雄、折茂 肇、江見 充：骨粗鬆症の SNP 解析—関連遺伝子群の同定 Journal of Nippon Medical School 2001; 68: (印刷中)

6) 江面陽一、岩崎公典、石田良太、江見 充：SNP の解析—解析法の技術的進歩と疾患遺伝子の解析

ゲノム医学 2001; 1: 85-89.

7) 江面陽一、岩崎公典、石田良太、江見 充：骨粗鬆症の遺伝医学 遺伝子医学 2002; (印刷中)

(学会発表)

1) Emi, M.: Genetic Analysis of Human Cancer & Common Polygenic Disease at Nippon Medical School. Seminar at University of Hawaii (Hawaii), 2001. 7. 5-6.

2) 江面陽一、岩崎公典、石田良太、江見 充：骨粗鬆症の SNP 解析. 第 11 回日本医科大学医学学会シンポジウム 2001. 6. 9. 東京

3) 江面陽一：骨系細胞の分化増殖制御と骨代謝疾患との関連. 第 24 回日本分子生物学会年会 2001. 12. 9-12. 横浜

4) Iwasaki, H., Ishida, R., Otsuka, H., Suzuki, T. ¹⁾, Hosoi, T. ²⁾, Inoue, S. ³⁾, Shiraki, M. ⁴⁾, Ezura, Y., Emi, M. (¹⁾ Tokyo Metropol. Inst. Gerontol., ²⁾ Tokyo Metropol. Geriat. Hosp., ³⁾ Univ. Tokyo, ⁴⁾ Res. Inst. Practice for Involutional Dis.) Genome-wide epidemiological Approaches for Osteoporosis Susceptible Genes in Japanese Population. ASBMR 23rd Annual Meeting (Arizona). 2001. 10. 12-16.

5) 石田良太、伊藤博元 ¹⁾、岩崎公典、梶田満子、江面陽一、江見 充 (¹⁾ 整形外科)：骨粗鬆症の遺伝診断. 日本医科大学医学部第 104 回例会 2001. 5. 19. 東京

6) Feng Dongyun¹⁾²⁾, 腰原康子²⁾、石橋英明³⁾、山本精三³⁾、太田信孝、江見 充、細井孝之³⁾、折茂 肇³⁾ (¹⁾ 埼玉大、²⁾ 東京都老人総合研究所、³⁾ 東京都医療センター)：ヒト骨髄細胞培養系における IL-6 産生と骨量について—とくに IL-6 遺伝子多型との関連. 第 19 回日本骨代謝学会 2001. 8. 8-11. 名古屋

7) 江面陽一、岩崎公典、石田良太、江見 充、白木正孝 ¹⁾、井上 聡 ²⁾、細井孝之 ³⁾、折茂 肇 ³⁾、吉田英世 ⁴⁾、鈴木隆雄 ⁴⁾ (¹⁾ 成人病診療研、²⁾ 東大・老年科、³⁾ 都老人医療セ、⁴⁾ 都老人総合研)：骨粗鬆症の体系的 SNP 解析. 日本人類遺伝学会第 46 回大会 2001. 10. 3-5. 大宮

Receptor LXR Alpha: Upregulation of LXRA mRNA During Monocyte to Macrophage Differentiation. *J. Atheroscler. Thromb.* 2001; 7: 145-151.

7) Shinohara, Y.¹⁾, Ezura, Y., Iwasaki, H., Nakazawa, I., Ishida, R., Nakajima, T., Kodaira, M., Kajita, M., Shiba, T.¹⁾, Emi, M. (¹Kitasato Univ.): Human Tumor necrosis factor A gene: three single nucleotide polymorphisms among Japanese and ethnic difference of their allele frequencies. *Annals Hum. Bio.* 2002; (in press)

8) Ota, N., Nakajima, T., Ezura, Y., Iwasaki, H., Suzuki, T.²⁾, Hosoi, T.²⁾, Orimo, H.²⁾, Inoue, S.³⁾, Ito, H.¹⁾, Emi, M. (¹Dept. Orthoped., ²Tokyo Metropol. Inst. Gerontol. Hosp., ³Univ. Tokyo): Association of a single nucleotide variant in the human tumor necrosis factor alpha promoter region with decreased bone mineral density. *Annals Hum. Bio.* 2002; (in press)

9) Hirano, A., Nagai, H., Harada, H., Terada, Y., Haga, S.¹⁾, Kajiwara, T.¹⁾, Emi, M. (¹Tokyo Women's Med. Univ.): Nine novel single-nucleotide polymorphisms of the Intergrin beta4 gene in the Japanese population. *J. Hum. Genet.* 2001; 46: 35-37.

10) Kajita, M., Iwasaki, H., Ota, N., Shinohara, Y., Kodaira, M., Nakajima, T., Emi, M.: Novel single nucleotide polymorphisms of the human Colony-stimulating factor 2 (CSF2) identified by sequencing entire gene. *J. Hum. Genet.* 2001; 46: 48-49.

11) Shinohara, Y., Iwasaki, H., Ota, N., Nakajima, T., Kodaira, M., Kajita, M., Shiba, T.¹⁾, Emi, M. (¹Kitasato Univ.): Novel single nucleotide polymorphisms of human nuclear factor kappa-B 2 identified by sequencing the entire gene. *J. Hum. Genet.* 2001; 46: 50-52.

12) Ota, N., Nakajima, T., Suzuki, T.²⁾, Hosoi, T.²⁾, Orimo, H.²⁾, Inoue, S.³⁾, Shirai, Y.¹⁾, Emi, M. (¹Dept. Orthoped., ²Tokyo Metropol. Inst. Gerontol., ³Univ. Tokyo): A nucleotide variant in the promoter region of the interleukin-6 gene associated with decreased

bone-mineral density. *J. Hum. Genet.* 2001; 46: 267-272.

13) Nakazawa, I., Nakajima, T., Ishigami, T.¹⁾, Umemura, S.¹⁾, Emi, M. (¹Yokohama City Univ.): Human calcitonin receptor-like receptor for Adrenomedullin: genomic structure, eight single nucleotide polymorphisms, and haplotype analysis. *J. Hum. Genet.* 2001; 46: 132-136.

14) Hirano, A., Nagai, H., Harada, H., Haga, S.¹⁾, Kajiwara, T.¹⁾, Emi, M. (¹Tokyo Women's Med. Univ.): Two novel single-nucleotide polymorphisms of the Caspase-9 (CASP9) gene in the Japanese population. *Genes, Immunity.* 2001; 2: 117-118.

15) Hattori, H.¹⁾, Hirayama, T., Nobe, Y., Nagano, M.¹⁾, Kujiraoka, T.¹⁾, Egashira, T.¹⁾, Ishii, J.²⁾, Tsuji, M.²⁾, Emi, M. (¹R&D Center, BML, ²Hokkaido Cent. Hosp.): Eight Novel Mutations and Functional Impairments of the LDL Receptor in Familial Hypercholesterolemia in the North of Japan. *J. Hum. Genet.* 2002; 47: 80-87.

16) Harada, H., Yoshida, S., Nobe, Y., Ezura, Y., Atake, T., Koguchi, T., Emi, M.: Genomic Structure of the Human NLK (nemo-like kinase) Gene and Analysis of its Promoter Region. *Gene* 2002; (in press)

17) Nakajima, T., Jorde, BL.¹⁾, Ishigami, T.¹⁾, Umemura, S.²⁾, Emi, M., Lalouel, JM.¹⁾, Inoue, I. (¹Univ. Utah Health Sciences Ctr, ²Yokohama City Univ.): Molecular variants, haplotypes, and linkage disequilibrium within the human angiotensinogen gene. *Am. J. Hum. Genet.* 2002; 70: 108-123.

18) Sugiyama, H.¹⁾, Ogawa, S.¹⁾, Emi, M., Shiraki, M.²⁾, Hosoi, T.³⁾, Orimo, H.³⁾, Ouchi, Y.¹⁾, Inoue, S.¹⁾ (¹Univ. Tokyo, ²Res. Inst. Prac. Invol. Dis., ³Tokyo Metropol. Geriatr. Hosp.): Ethnic difference in contribution of alleles of the Interleukin-1 Receptor Antagonist (IL-1RA) gene to predisposition to osteoporosis. *Geriatr. Gerontol. Int.* 2002; (in press)

骨密度が若年成人平均値の70%未満が骨粗鬆症、70-80%を骨量減少、80%以上を正常群とした。都会部(2集団)および農村部(2集団)でそれぞれインフォームドコンセントの取れた者から血液DNAを収集した(合計2千例)。これらの4群の対象DNAについて遺伝子多型の解析を行い、被検者骨密度との関連解析を4群で個別に行うことにより感受性遺伝子の候補遺伝子群のスクリーニングを行っている。検討される遺伝子多型は、日本人24人を対象としてゲノムワイドに同定された1塩基多型のうち、アミノ酸置換を伴う遺伝子翻訳領域中のSNPおよび遺伝子転写調節領域にあるSNPを主体としたすべてのSNPであり、最終的には数万種類を目標にしている。こうして選出された遺伝子の中から、骨粗鬆症の発症に関わる感受性遺伝子を同定するため、患者および対照群を用いた関連解析を行った。このため、共通した診断基準と設備を有する6つの施設から骨粗鬆症患者の血液DNAと骨密度を含めた臨床データの収集を、政府3省庁の遺伝子研究ガイドラインに従い収集した。現在、384例の対象DNAについてSNP解析を進めている。高速SNP解析法として、ダイレクト・リシーケンシング法、蛍光ラベール塩基伸長法、DNAチップ法、インベーターアッセイ法、DNAチップ形式のアレルハイブリダイズ法などについて効率・正確性を中心に多型解析の検討を行った。現在までに終えたSNPのスクリーニングの結果、多型マーカーを用いた骨密度を測定した患者・健常者集団の遺伝子タイピングと相関解析によるスクリーニングの結果、20個の遺伝子上のアミノ酸置換を伴うSNPについて、候補骨密度規定遺伝子多型として、2群の集団DNA解析において遺伝子座と骨密度との間に相関を見出ししていた。

D.E. 考察・結論

今後も検討を進め、最終的に数十個の感受性候補遺伝子が同定されれば、臨床診断に応用される遺伝子多型のセットが確立され得ると予測される。これらのSNPのうち4群に共通して関連・相関・連鎖の示されるSNPを有する遺伝子が、最も重要な骨密度規定遺伝子と推定される。また、同朋対検定法も平行して進めており、骨粗鬆症との間に遺伝的連鎖を見出ししている。さらに骨代謝関連細胞の発生分化・病態生理に関わる遺伝子のネットワークの解明を目指して、cDNAマイクロアレイ法による遺伝子発現プロファイル解析を可能とした。さらに骨粗鬆症発症の分子メカニズムが明らかにされることにより有効な治療戦略が検討されるものと考えられる。

研究業績

(論文発表)

- 1) Nakazawa, I., Nakajima, T., Ishigami, T., Umemura, S.¹⁾, Emi, M. (¹⁾Yokohama City Univ.): Linkage disequilibrium and haplotype analysis among eight novel single nucleotide polymorphisms of human Tissue-type plasminogen activator gene. *J. Hum. Genet.* 2001; 46: 367-371.
- 2) Iwasaki, H., Shinohara, Y., Ezura, Y., Kodaira, M., Kajita, M., Nakajima, T., Shiba, T.¹⁾, Emi, M. (¹⁾Kitasato Univ.): Thirteen single nucleotide polymorphisms of human osteopontin identified by sequencing of the entire gene in Japanese. *J. Hum. Genet.* 2001; 46: 544-546.
- 3) Shinohara, Y., Ezura, Y., Iwasaki, H., Nakazawa, I., Ishida, R., Kodaira, M., Kajita, M., Shiba, T.¹⁾, Emi, M. (¹⁾Kitasato Univ.): Linkage disequilibrium and haplotype analysis among ten single nucleotide polymorphisms of interleukin 11 identified by sequencing of the gene. *J. Hum. Genet.* 2001; 46: 494-497.
- 4) Tsuneizumi, M., Nagai, H., Harada, H., Kazui, T.¹⁾, Emi, M. (¹⁾Hamamatsu Univ. Sch. Med.): A highly polymorphic CA repeat marker at the EBAG9/RCAS1 locus on 8q23 that detected frequent amplification in breast cancer. *Annals Hum. Bio.* 2001; (in press)
- 5) Ishida, R., Ezura, Y., Iwasaki, H., Nakazawa, I., Kajita, M., Kodaira, M., Ito, H.¹⁾, Emi, M. (¹⁾Dept. Orthop.): Linkage disequilibrium and haplotype analysis among novel four single nucleotide polymorphisms in human Leukemia inhibitory factor (LIF) gene. *J. Hum. Genet.* 2001; 46: 557-559.
- 6) Kohro, T.¹⁾, Nakajima, T., Wada, Y.¹⁾, Sugiyama, A.¹⁾, Ishii, M.¹⁾, Tsutsumi, S.¹⁾, Aburatani, H.¹⁾, Imoto, I.²⁾, Inazawa, J.²⁾, Hamakubo, T.¹⁾, Kodama, T.¹⁾, Emi, M. (¹⁾Univ. Tokyo, ²⁾Tokyo Med. Dent. Univ.): Genomic Structure and Mapping of Human Orphan

III. 研究成果の刊行に関する一覧

論文発表

1. Orimo H, Hayashi Y, Fukunaga M, Sone T, Fujiwara S, Shiraki M, Kushida K, Miyamoto S, Soen S, Nishimura J, Oh-Hashi Y, Hosoi T, Gorai I, Tanaka H, Igai T, Kishimoto H. Diagnostic criteria for primary osteoporosis: year 2000 revision. *J Bone Miner Metab.* 2001;19(6):331-7.
2. Nishizawa Y, Nakamura T, Ohata H, Kushida K, Gorai I, Shiraki M, Fukunaga M, Hosoi T, Miki T, Nakatsuka K, Miura M. Guidelines on the use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis (2001). *J Bone Miner Metab* 2001;19(6):338-44.
3. Hosoi T. Perspectives of post-genomic medical care in osteoporosis *Nippon Rinsho.* 2001 Jan;59(1):175-9.
4. Ogata N, Shiraki M, Hosoi T, Koshizuka Y, Nakamura K, Kawaguchi H. A polymorphic variant at the Werner helicase (WRN) gene is associated with bone density, but not spondylosis, in postmenopausal women. *J Bone Miner Metab.* 2001;19(5):296-301.
5. Ota N, Nakajima T, Nakazawa I, Suzuki T, Hosoi T, Orimo H, Inoue S, Shirai Y, Emi M. A nucleotide variant in the promoter region of the interleukin-6 gene associated with decreased bone mineral density. *J Hum Genet* 2001;46(5):267-72.
6. Ota N, Hunt SC, Nakajima T, Suzuki T, Hosoi T, Orimo H, Shirai Y, Emi M. Linkage of human tumor necrosis factor- α to human osteoporosis by sib pair analysis. *Genes Immun.* 2000;1(4):260-4.
7. Ezura Y, Iwasaki H, Ishida R, Shiraki M, Inoue S, Hosoi T, Yoshida H, Suzuki T, Orimo H, Emi M. Genome-wide SNP scanning for identification of susceptibility genes of osteoporosis *J Nippon Med Sch.* 2001 Oct;68(5):426-9. Japanese.
8. Uenishi K, Ishida H, Kamei A, Shiraki M, Ezawa I, Goto S, Fukuoka H, Hosoi T, Orimo H. Calcium requirement estimated by balance study in elderly Japanese people. *Osteoporos Int.* 2001;12(10):858-63.
9. Kaneki M, Hedges SJ, Hosoi T, Fujiwara S, Lyons A, Crean SJ, Ishida N, Nakagawa M, Takechi M, Sano Y, Mizuno Y, Hoshino S, Miyao M, Inoue S, Horiki K, Shiraki M, Ouchi Y, Orimo H. Japanese fermented soybean food as the major determinant of the large geographic difference in circulating levels of vitamin K2: possible implications for hip-fracture risk. *Nutrition.* 2001 Apr;17(4):315-21.
10. Kim H, Yoshida H, Suzuki T, Ishizaki T, Hosoi T, Yamamoto S, Orimo H. The relationship between fall-related activity restriction and functional fitness in elderly women. *Nippon Ronen Igakkai Zasshi.* 2001 Nov;38(6):805-11.
11. Nakazawa, I., Nakajima, T., Ishigami, T., Umemura, S., Emi, M. Linkage disequilibrium and haplotype analysis among eight novel single nucleotide polymorphisms of human Tissue-type plasminogen activator gene. *J. Hum. Genet.* 2001; 46: 367-371.
12. Iwasaki, H., Shinohara, Y., Ezura, Y., Kodaira, M., Kajita, M., Nakajima, T., Shiba, T., Emi, M. Thirteen single nucleotide polymorphisms of human osteopontin identified by sequencing of the entire gene in Japanese. *J. Hum. Genet.* 2001; 46: 544-546.
13. Shinohara, Y., Ezura, Y., Iwasaki, H., Nakazawa, I., Ishida, R., Kodaira, M., Kajita, M., Shiba, T., Emi, M. Linkage disequilibrium and haplotype analysis among ten single nucleotide polymorphisms of interleukin 11 identified by sequencing of the gene. *J. Hum. Genet.* 2001; 46: 494-497.

14. Tsuneizumi, M., Nagai, H., Harada, H., Kazui, T., Emi, M. A highly polymorphic CA repeat marker at the EBAG9/RCAS1 locus on 8q23 that detected frequent amplification in breast cancer. *Annals Hum. Bio.* 2001; (in press)
15. Ishida, R., Ezura, Y., Iwasaki, H., Nakazawa, I., Kajita, M., Kodaira, M., Ito, H., Emi, M. Linkage disequilibrium and haplotype analysis among novel four single nucleotide polymorphisms in human Leukemia inhibitory factor (LIF) gene. *J. Hum. Genet.* 2001; 46: 557-559.
16. Kohro, T., Nakajima, T., Wada, Y., Sugiyama, A., Ishii, M., Tsutsumi, S., Aburatani, H., Imoto, I., Inazawa, J., Hamakubo, T., Kodama, T., Emi, M. Genomic Structure and Mapping of Human Orphan Receptor LXR Alpha: Upregulation of LXRA mRNA During Monocyte to Macrophage Differentiation. *J. Atheroscler. Thromb.* 2001; 7: 145-151.
17. Shinohara, Y., Ezura, Y., Iwasaki, H., Nakazawa, I., Ishida, R., Nakajima, T., Kodaira, M., Kajita, M., Shiba, T., Emi, M. Human Tumor necrosis factor A gene: three single nucleotide polymorphisms among Japanese and ethnic difference of their allele frequencies. *Annals Hum. Bio.* 2002; (in press)
18. Ota, N., Nakajima, T., Ezura, Y., Iwasaki, H., Suzuki, T., Hosoi, T., Orimo, H., Inoue, S., Ito, H., Emi, M. Association of a single nucleotide variant in the human tumor necrosis factor alpha promoter region with decreased bone mineral density. *Annals Hum. Bio.* 2002; (in press)
19. Hirano, A., Nagai, H., Harada, H., Terada, Y., Haga, S., Kajiwara, T., Emi, M. Nine novel single-nucleotide polymorphisms of the Intergrin beta4 gene in the Japanese population. *J. Hum. Genet.* 2001; 46: 35-37.
20. Kajita, M., Iwasaki, H., Ota, N., Shinohara, Y., Kodaira, M., Nakajima, T., Emi, M.: Novel single nucleotide polymorphisms of the human Colony-stimulating factor 2 (CSF2) identified by sequencing entire gene. *J. Hum. Genet.* 2001; 46: 48-49.
22. Shinohara, Y., Iwasaki, H., Ota, N., Nakajima, T., Kodaira, M., Kajita, M., Shiba, T., Emi, M. Novel single nucleotide polymorphisms of human nuclear factor kappa-B 2 identified by sequencing the entire gene. *J. Hum. Genet.* 2001; 46: 50-52.
23. Nakazawa, I., Nakajima, T., Ishigami, T., Umemura, S., Emi, M. Human calcitonin receptor-like receptor for Adrenomedullin: genomic structure, eight single nucleotide polymorphisms, and haplotype analysis. *J. Hum. Genet.* 2001; 46: 132-136.
24. Hirano, A., Nagai, H., Harada, H., Haga, S., Kajiwara, T., Emi, M. Two novel single-nucleotide polymorphisms of the Caspase-9 (CASP9) gene in the Japanese population. *Genes, Immunity.* 2001; 2: 117-118.
25. Hattori, H., Hirayama, T., Nobe, Y., Nagano, M., Kujiraoka, T., Egashira, T., Ishii, J., Tsuji, M., Emi, M. Eight Novel Mutations and Functional Impairments of the LDL Receptor in Familial Hypercholesterolemia in the North of Japan. *J. Hum. Genet.* 2002; 47: 80-87.
26. Harada, H., Yoshida, S., Nobe, Y., Ezura, Y., Atake, T., Koguchi, T., Emi, M.: Genomic Structure of the Human NLK (nemo-like kinase) Gene and Analysis of its Promoter Region. *Gene* 2002; (in press)
27. Nakajima, T., Jorde, B.L., Ishigami, T., Umemura, S., Emi, M., Lalouel, J.M., Inoue, I. Molecular variants, haplotypes, and linkage disequilibrium within the human angiotensinogen gene. *Am. J. Hum. Genet.* 2002; 70: 108-123.

28. Sugiyama, H. , Ogawa, S. , Emi, M. , Shiraki, M. , Hosoi, T. , Orimo, H. , Ouchi, Y. , Inoue, S. Ethnic difference in contribution of alleles of the Interleukin-1 Receptor Antagonist (IL-1RA) gene to predisposition to osteoporosis. *Geriatr. Gerontol. Int.* 2002; (in press)
29. Iwasaki, H. , Ezura, Y. , Ishida, R. , Kodaira, M. , Kajita, M. , Knight, J. , Daniel, S. , Shi, M. , Emi, M. Accuracy of Genotyping for Single Nucleotide Polymorphism Typing Method Involving hybridization of Short Allele-Specific Oligonucleotides. *DNA Reserch.* 2002; (in press)
30. Ogawa, S. , Emi, M. , Shiraki, M. , Hosoi, T. , Orimo, H. , Ouchi, Y. , Inoue, S Association of amino acid variation (Yrp64Arg) in the beta3-adrenergic Receptor Gene with Bone Mineral Density. *An. Hum. Biol.* 2002; (in press)
31. Harada, H. , Kimura, A. , Fukino, K. , Yasunaga, S. , Nishi, H. , Emi, M. Genomic structure and eight novel exonic polymorphisms of human N-cadherin gene. *J. Hum. Genet.* 2002; (in press)
32. Inada M, Nagai R, Nabeshima Y, Nakamura K, Sinclair AM, Scheuermann RH, and Kuro-o M: Connection between B-lymphocyte and osteoclast differentiation pathways. *J Immunol* 167: 2625-2631, 2001.
33. Kawano K, Ogata N, Chiano M, Molloy H, Kleyn P, Spector TD, Uchida M, Hosoi T, Suzuki T, Orimo H, Inoue S, Nabeshima Y, Nakamura K, Kuro-o M, and Kawaguchi H: *Klotho* gene polymorphisms associated with bone density of aged postmenopausal women. *J Bone Miner Res* (in press).
34. 湯川晴美, 鈴木隆雄, 吉田英世, 熊谷修, 岩間範子, 柴田博: 都市部在住の健康高齢者におけるエネルギー充足率に及ぼす社会・心理・生活身体状態の影響. *栄養学雑誌*, 59:117-125, 2001
35. Suzuki, T.: Risk factors for osteoporosis in Asia. *J Bone Miner Metab*, 19: 133-141, 2001
36. 鈴木隆雄: 地域高齢者の余命に規定要因—学際的縦断研究 TMIG-LISA から—. *日老医誌*, 38: 338-340, 2001

20010183

以降のページは雑誌/図書等に掲載された論文となりますので
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。