

由度 $m-1$ の χ^2 分布に従うと期待される。 t 世代後の非心パラメタは $\gamma(t) = 2NG^2(t) = 2N \sum_{i=1}^m \frac{(x_i(t) - y_i(t))^2}{x_i(t) + y_i(t)}$

で表され、 $x_i(t)$ と $y_i(t)$ はそれぞれ

$$\left(P(M_i M_j | \text{case}, t) + \sum_{j=1}^m P(M_i M_j | \text{control}, t) \right) / 2 \text{ と}$$

$$\left(P(M_i M_j | \text{control}, t) + \sum_{j=1}^m P(M_i M_j | \text{control}, t) \right) / 2 \text{ である。}$$

簡単のため、 $t=0$ においては、マーカー対立遺伝子 M_k のみがハイリスク対立遺伝子 D と正の連鎖不平衡状態にあると仮定する。数学的には、 $H_{Dk}(0) = p$, $H_i(0) = 0 (i \neq k)$, $H_{ik}(0) = q_k - p$, $H_{ii}(0) = q_i (i \neq k)$ で表される。当然、 q_k は p より大きい必要がある。したがって、本研究はハイリスク対立遺伝子が比較的低頻度で存在する場合のみしか扱えないことになる。 $t=0$ において、あるマーカー対立遺伝子がハイリスク対立遺伝子と正の連鎖不平衡状態にある確率は、そのマーカー対立遺伝子頻度に比例すると仮定すれば (M_k が D と正の連鎖不平衡にある確率は q_k に比例すれば)、マイクロサテライトマーカーの場合の $G^2(t)$ の期待値は $G^2(t) = \sum_{k=1}^m q_k G_k^2(t)$ で表される。ここで、 $G_k^2(t)$ は $t=0$

において M_k が D と正の連鎖不平衡にある場合の t 世代後の G^2 の値である。SNP マーカーでも同様に、ハイリスク対立遺伝子と正の連鎖不平衡にある確率がマーカー対立遺伝子頻度に依存するとすると、頻度が Q 以上の SNP マーカー中からランダムに選ばれたマーカーが、 $t=0$ において対立遺伝子頻度が q と $q+dq$ の間の値をとり、ハイリスク対立遺伝子と正の連鎖不平衡状態にある確率は、 $C_c q \left(\frac{1}{q} + \frac{1}{1-q} \right) dq$ で表される。ここで、 $C_c^{-1} = \int_0^{1-q} q \left(\frac{1}{q} + \frac{1}{1-q} \right) dq$ である。SNP では、 M_1 と M_2 のうち M_1 のみが D と正の連鎖不平衡にあると仮定しても一般性を失わないので、

$$G^2(t) = C_c^{-1} \int_0^{1-q} G^2_1(t) q \left(\frac{1}{q} + \frac{1}{1-q} \right) dq \text{ が成立する。}$$

・検出力の計算

ゲノムワイド連鎖不平衡検定では、多数の遺伝子マーカーで検定が行われる。ここで問題となるのが検定の多重性である。検定を多数回行うことで

第一種の過誤が起こる確率が上昇するため、一般的には、Bonferroni の補正を行う必要がある。いま n 個の遺伝子マーカーを調べるとすると、言い換えれば、 n 回の独立な検定を行うと、研究の有意水準 α は $0.05/n$ に設定されるべきである。 n 個の遺伝子マーカーをゲノムの L cM 上に均等に配置させたとすると (例えば、ゲノム全体であれば L は 3000 である)、疾患感受性遺伝子とそれに最も近接した遺伝子マーカーとの間の遺伝子距離はせいぜい $L/2n$ cM である (図 2)。

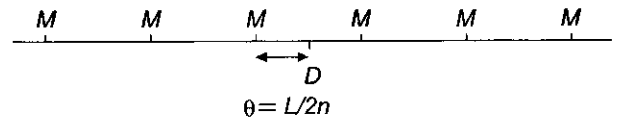


図 2 疾患感受性遺伝子座と遺伝子マーカーとの間の遺伝子距離

遺伝子マーカー間にも連鎖不平衡は存在するため、検定の独立性は成り立たないが、その点についてはここでは考慮しない。また本研究では、疾患感受性遺伝子に最も近接するマーカーで期待される検出力のみを解析対象とし、他のマーカーでの検出力については考察しない。有意水準 α で検定を行った場合の検出力 $1-\beta$ は、近似的に $\text{Prob}[\chi^2_{m-1}(\gamma) \geq \chi^2_{m-1, 1-\alpha}(\gamma)]$ により計算される。

(2)大規模 SNP タイピングデータ解析のためのアルゴリズムの開発

2SNP ペアワイズハプロタイプの集団内頻度を個人タイピングデータから計算するプログラムの開発を行った。具体的には、以下のような処理を行うプログラムである。各個体のタイピング結果を以下のような Excel の sheet ファイルに記録する。

同一染色体上の m 個の SNP をタイピングすれば、 $m(m-1)/2$ 組の組み合わせを考慮することになる。プログラムは、上記のデータから $m(m-1)/2$ 組の以下のような表を作成する。

この表をもとに、EM アルゴリズムによって 4 種類ある (AC, AA, GC, GA) ハプロタイプの頻度を推定し、推定されたハプロタイプ頻度をもとに、各種の尺度 (連鎖不平衡の指標) を計算する。現在は、case-control データに対してハプロタイプ頻度を推定し、両者のハプロタイプ頻度に統計学上有意な差が存在するか否かを検定するプログラムの開発を試みている。

ID	SNP1	SNP1	SNP2	SNP2	SNP3	SNP4	SNP4
1	A	A	C	C	G	G	G
2	A	A	C	C	C	G	G
3	A	A	C	C	G	G	G
4	G	G	C	C	G	T	G
5	G	G	A	A	C	G	G
6	A	A	C	C	C	G	G
7	A	G	A	C	G	T	G
8	A	G	C	C	G	G	G
9	A	A	C	C	G	T	T
10	A	A	A	C	G	G	G
11	A	A	C	C	C	G	G
12	A	A	C	A	G	G	G
13	A	G	A	C	G	G	G
14	A	A	C	C	G	G	G
15	A	G	C	C	G	T	G
16	G	G	A	C	G	G	G

図3 個人タイピング結果

		SNP2			
		CC	CA	AA	Total
SNP1	AA	10	15	2	27
	AG	18	30	5	53
	GG	2	24	10	36
	Total	30	69	17	116

図4 2つのSNPによって規定される遺伝子型頻度表

C. 研究成果

(1) 研究デザインの新規統計的評価法の開発

(i) 適切な研究デザイン(サンプルサイズ)の設定

表4に、患者-対照研究とTDTにおいて、0.8の検出力を達成するのに必要なサンプルサイズを示す。ここでは、優性、劣性、相乗、相加の4つの遺伝様式を仮定してある。患者-対照研究に対しては、患者と対照のサンプル数は等しいとし、その合計数を示す。TDTに対しては、1家系に3人いることから、必要な家系数に3を乗じた総人数を示す。なお、TDTに対する結果はRischとMerikangasの方法をもとにCampが発展させた方法に従って計算したものである。患者-対照研究の場合と異なり、TDTの場合は、浸透率の絶対値ではなく、相対値(遺伝子型相対危険度のこと。ここでは、 f_2/f_0 と f_1/f_0 で定義される。)によって必要な家系数が計算される点は注意すべきである。

表4 0.8の検出力を達成するのに必要なサンプル数

二つの対立遺伝子に対して片側検定を行ったと考え $\alpha=0.025$ を採用してある。($Z_{1-\alpha}=1.96$, $Z_{1-\beta}=-0.84$). 患者-対照研究に対しては、患者群と対照群のサンプルサイズは等しいと仮定してその合計数をTDTに対しては、家系数に3を乗じて全体のサンプル数を計算した。

遺伝様式 (相対危険度)	P	患者-対照研究		TDT
		$f_0=0.1$	$f_0=0.01$	
優性 ($f_2/f_0=4, f_1/f_0=4$)	0.01	210	264	708
	0.1	46	66	138
	0.5	122	274	420
劣性 ($f_2/f_0=4, f_1/f_0=1$)	0.01	1,431,790	1,733,334	2,691,858
	0.1	1,700	2,078	3,552
	0.5	56	80	129
相乗 ($f_2/f_0=4, f_1/f_0=2$)	0.01	1,458	1,794	3,597
	0.1	476	224	429
	0.5	84	132	207
相加 ($f_2/f_0=4, f_1/f_0=2.5$)	0.01	704	870	1,911
	0.1	108	142	279
	0.5	96	164	255

(ii) ゲノムワイド連鎖不平衡検定における研究の検出力の事前評価

図5と図6は、幾つかのパラメタに対する検出力とマーカー数との関係を示している。マイクロサテライトマーカーは全ゲノム中で数万種類しか見つかっていないため、10万個以上のマイクロサテライトマーカーに対しては計算を行っていない。SNPマーカーはゲノム中に数100万個発見されているが、100万個以上のSNPを調べる研究は行われないと予想されるため計算を行っていない。

D. 考察

(1) 研究デザインの新規統計的評価法の開発

(i) 適切な研究デザイン(サンプルサイズ)の設定

表4から、患者-対照研究はTDTよりも常にサンプル数が少なく済むこと、遺伝子型相対危険度が同じでも、浸透率の絶対値が大きければ、患者-対照研究はより少ないサンプル数で同じ検出力が達成できることが分かる。なお、遺伝子型相対危険度が同じであれば、 f_0 を0.01以下にしても、患者-対照研究のサンプルサイズはほとんど影響を受けず、 $f_0=0.01$ の場合とほぼ等しい。関連研究の中でも、患者-対照研究は強力な方法といえる。

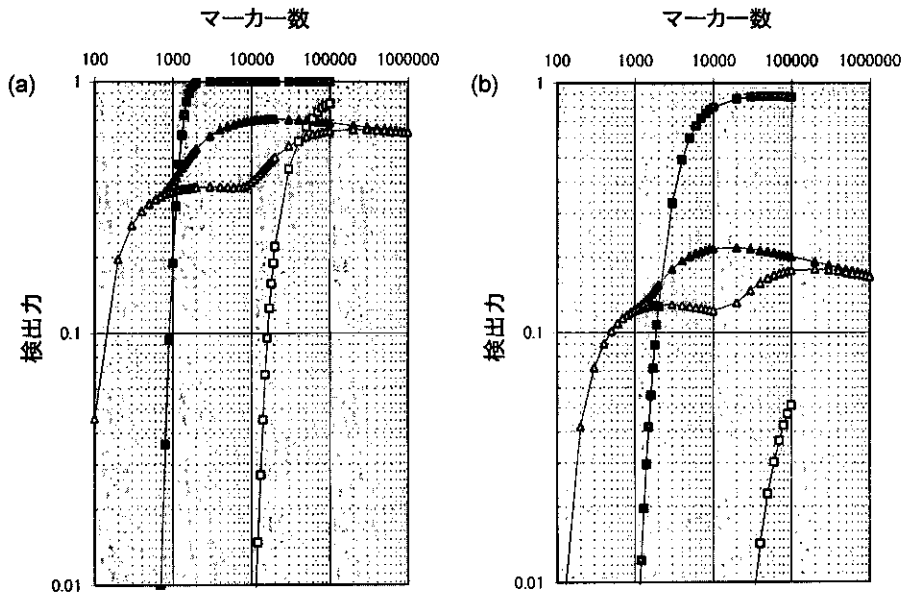


図5 case を 1000 人, control を 1000 人解析した場合に達成される検出力とマーカー数との関係
 浸透率は, (a) $f_2=0.16$, $f_1=0.16$, and $f_0=0.01$; (b) $f_2=0.16$, $f_1=0.04$, and $f_0=0.01$ のように設定. ハイ
 リスク対立遺伝子の頻度は 0.05, SNP マーカーでの Q は 0.1 としてある.
 ■は $t=100$, $u=10^{-3}$ であるマイクロサテライトマーカーの場合,
 □は $t=1000$, $u=10^{-3}$ であるマイクロサテライトマーカーの場合,
 ▲は $t=100$, $u=0$ である SNP マーカーの場合,
 △は $t=1000$, $u=0$ である SNP マーカーの場合.

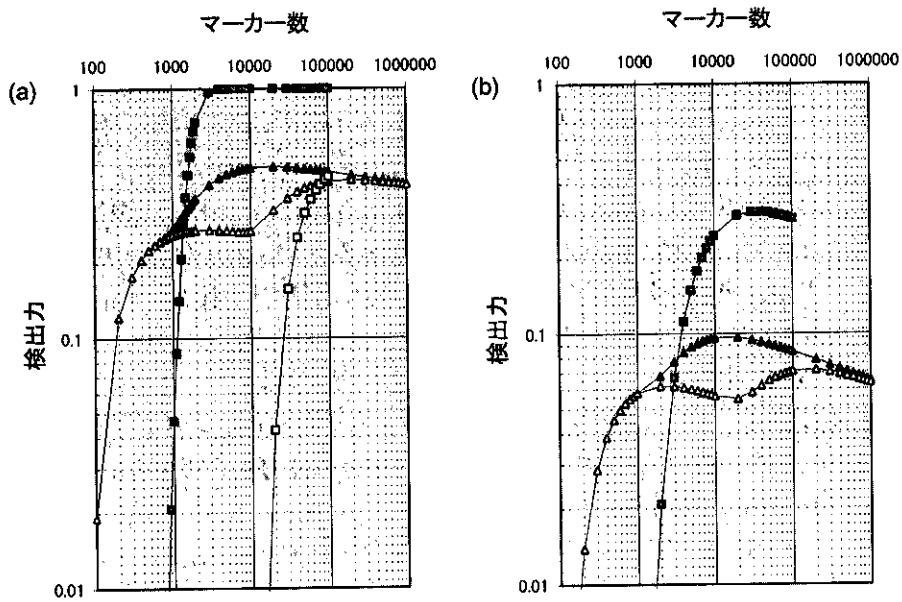


図6 case を 1000 人, control を 1000 人解析した場合に達成される検出力とマーカー数との関係
 浸透率は, (a) $f_2=0.09$, $f_1=0.09$, and $f_0=0.01$; (b) $f_2=0.09$, $f_1=0.03$, and $f_0=0.01$ のように設定. ハ
 イリスク対立遺伝子の頻度は 0.05, SNP マーカーでの Q は 0.1 としてある.
 ■は $t=100$, $u=10^{-3}$ であるマイクロサテライトマーカーの場合,
 □は $t=1000$, $u=10^{-3}$ であるマイクロサテライトマーカーの場合,
 ▲は $t=100$, $u=0$ である SNP マーカーの場合,
 △は $t=1000$, $u=0$ である SNP マーカーの場合.

(ii) ゲノムワイド連鎖不平衡検定における研究の検出力の事前評価

図5および図6から、浸透率が検出力に与える影響は大きく、ある程度の浸透率を示す感受性遺伝子でなければ、ゲノムワイド連鎖不平衡検定によって同定することは困難なことが分かる。SNPマーカーを用いた場合は、あるマーカー数を越えると検出力が顕著に下がり始める。これは、マーカーと感受性遺伝子座との遺伝距離が小さくなる以上に(そのことで連鎖不平衡が強くなる以上に)、Bonferroniの補正によって検出力が下がるためと考えられる。マイクロサテライトマーカーとSNPマーカーとの大きな違いは、マイクロサテライトマーカーでは、あるマーカー数を越えると急激に検出力が増加し、SNPは比較的少ないマーカー数でもそこそこの検出力が達成される点である。さらに、多くの世代が経過すると、マイクロサテライトマーカーによって疾患感受性遺伝子とマーカーとの連鎖不平衡を検出できる確率が極めて低くなることが理解できる。図6(b)は、1000世代経過するとマイクロサテライトマーカーでは0.01の検出力すら達成できないことを示している。これは、マイクロサテライトマーカーでの突然変異率が高く、世代数の増加によりその影響が無視できなくなるためと思われる。なお、突然変異率が世代あたり 10^{-5} であるとして計算を行うと、1000世代経過しても高い検出力が達成されることが確認された。対立仮説を決めなければ、どちらのマーカーをどの程度調べる必要があるのかについて明確に答えることはできないが、比較的若いハイリスク対立遺伝子(例えば、集団特異的な感受性遺伝子など)の同定を目的とし、ゲノム上にほぼ等間隔にマーカーを設定して連鎖不平衡検定を行うのであれば、マイクロサテライトマーカーを用いて研究を行う方が効率的といえる。ただし、等間隔ではなく、遺伝子座内に密にSNPマーカーを設定することは可能であり(マイクロサテライトマーカーの場合は不可能)、その場合はSNPマーカーであっても高い検出力が達成されるであろう。

E. 結 論

(1) 研究デザインの新規統計的評価法の開発

本研究によって、患者一対照研究によって候補遺伝子アプローチを行う際に必要なサンプルサイズの計算アルゴリズムを確立することができた。これにより、研究者は、意義ある研究を行うために必要なサンプルサイズを事前に評価することが可能となった。また、多数のマーカーを利用して行われる、ゲノムワイド連鎖不平衡検定の効率的な戦略を立てる(マーカーの種類選択や最適なマーカー数などに関する事前評価を行う)ことが可能となった。

(2) 大規模 SNP タイピングデータ解析のためのアルゴリズムの開発

2SNPペアワイズハプロタイプの集団内頻度を個人タイピングデータから計算するプログラムの開発を行った。Excelのsheetファイルに記録されたタイピング結果から計算をすることができ、大規模なタイピング結果に対しても(計算時間はかかるが)、対応可能な点がこのプログラムの特徴である。今後、盛んに行われると予想されるSNP研究を、実質的にサポートしうるアルゴリズムを開発できたと考えている。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

(1) 論文発表

- 1) Sato M. Ohashi J. Tsuchiya N. Kashiwase K. Ishikawa Y. Arita H. Hanaoka K. Tokunaga K. Yabe T. Association of HLA-A*3303-B*4403-DRB1*1302 haplotype, but not of TNF α promoter and NKp30 polymorphism, with postherpetic neuralgia (PHN) in the Japanese population. *Genes and Immunity* (in press).
- 2) Sato M. Ohashi J. Tsuchiya N. Tadokoro K. Juji T. Hanaoka K. Tokunaga K. Yabe T. Identification of novel single nucleotide substitutions in the NKp30 gene expressed in human natural killer cells. *Immunogenetics* (in press).
- 3) Ohashi J. Naka I. Patarapotikul J. Hananantachai H. Looareesuwan S. Tokunaga K. Lack of

- association between interleukin-10 gene promoter polymorphism, -1082G/A, and severe malaria in Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* (in press)
- 4) Omi K. Ohashi J. Naka I. Patarapotikul J. Hananantachai H. Looareesuwan S. Tokunaga K. Polymorphisms of CD36 in Thai malaria patients. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* (in press)
- 5) Osawa H. Onuma H. Murakami A. Ochi M. Nishimiya T. Kato K. Shimizu I. Fujii Y. Ohashi J. Makino H. Systematic search for single nucleotide polymorphisms in the resistin gene. The absence of evidence for the association of three identified single nucleotide polymorphisms with Japanese type 2 diabetes. *Diabetes* 51: 863-6, 2002.
- 6) Osawa H. Ochi M. Nishimiya T. Onuma H. Nakamaru K. Murakami A. Kato K. Shimizu I. Fujii Y. Ohashi J. Makino H. A systematic search for single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the insulin receptor gene: Association of an sSNP with hyperlipidemia in Japanese type 2 diabetic subjects. *Clinical Genetics* 60: 479-81, 2001.
- 7) Ohashi J. Naka I. Patarapotikul J. Hananantachai H. Looareesuwan S. Tokunaga K. Absence of association between the allele coding methionine at position 29 in the N-terminal domain of ICAM-1 (ICAM-1^{K119I}) and severe malaria in the northwest of Thailand. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 54: 114-6, 2001.
- 8) Osawa H. Onuma H. Murakami A. Ochi M. Nishimiya T. Kato K. Shimizu I. Fujii Y. Ohashi J. Makino H. Systematic search for single nucleotide polymorphisms in the Insulin gene: evidence for a high frequency of -23T>A in Japanese subjects. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 286: 451-5, 2001.
- 9) Ohashi J. Tokunaga K. Power of genomewide association studies of complex disease genes: Statistical limitation of indirect approaches using SNP markers. *Journal of Human Genetics* 46: 478-82, 2001.
- 10) Ohashi J. Yamamoto S. Tsuchiya N. Hatta Y. Komata T. Matsushita M. Tokunaga K. Comparison of statistical power between 2 × 2 allele frequency and allele positivity tables in case-control studies of complex disease genes. *Annals of Human Genetics* 65: 197-206, 2001.
- 11) Hananantachai H. Patarapotikul J. Looareesuwan S. Ohashi J. Naka I. Tokunaga K. Lack of association of -308A/G TNFA promoter and 196R/M TNFR2 polymorphisms with disease severity in Thai adult malaria patients. *American Journal of Medical Genetics* 102: 391-2, 2001.
- (2) 学会発表
- 1) Ohashi J. Tokunaga K. A comparison of cost-effectiveness between microsatellite and single nucleotide polymorphism markers in genomewide linkage disequilibrium testing. *American Society of Human Genetics 2001 annual meeting*. San Diego.
- H. 知的財産権の出願
なし

慢性閉塞性肺疾患の感受性遺伝子の研究 —慢性気管支炎とヒト β デフェンシン 1 遺伝子変異との関連性

松下 育美 国立国際医療センター研究所呼吸器疾患研究部
長谷川京子 国立国際医療センター研究所呼吸器疾患研究部, 東京大学呼吸器内科
分担研究者 中田 光 国立国際医療センター研究所呼吸器疾患研究部
分担研究者 徳永 勝士 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学教室
主任研究者 慶長 直人 国立国際医療センター研究所呼吸器疾患研究部

研究要旨 慢性閉塞性肺疾患は、主に喫煙と喫煙感受性を規程する因子との相互作用により、比較的高齢者に発症する慢性難治性呼吸器疾患である。本研究では、気道の粘膜免疫に関与する β デフェンシンの遺伝子多型についての変異スクリーニングと、症例 60 名、対照群合計 213 名による関連解析を施行した。変異の同定は直接シーケンス法、SSCP 法により行い、同定された変異は、SSCP 法および RFLP 法によりタイピングした。その結果、5', 3' 非翻訳領域に 4 つの塩基置換が、またコード領域に 2 つの非同義置換が存在することが明らかになった。これらの 6 つの塩基置換のうち、新規に発見された Ile38 変異は対照群 2.8% に患者群で 15.0% に保有されていた (オッズ比 6.1, 95% 信頼限界 2.0-18.3, p 値 = 0.0012)。Ile38 保有者の 80% 以上は、観察期間中、3 か月以上、喀痰の持続排出がみられ、この変異は、慢性閉塞性肺疾患の中でも中枢気道の炎症が強い群、すなわち慢性気管支炎型の症例との関連性がある可能性が示唆された。

A. 研究目的

慢性閉塞性肺疾患は、可逆性のない気流閉塞が徐々に進行していく慢性難治性呼吸器疾患であり、世界的に見ても高齢者の主要死因の一つとして認識されている¹⁾。喫煙習慣が、発症の最も大きな危険因子であることが知られているが、喫煙者の 10~20% のみが臨床的に問題となる慢性閉塞性肺疾患を発症することから、喫煙感受性を規定する遺伝要因の関与が推測されている²⁾。家族発症例の検討などにより、 $\alpha 1$ アンチトリプシン欠損症が唯一明らかに証明された遺伝要因として知られるものの、それ以外の候補遺伝子については、統一した結果を見ていないのが現状である。一方、気道感染症は慢性閉塞性肺疾患の増悪要因であり、また小児期の呼吸器感染症自体が成人の慢性閉塞性肺疾患発症の危険因子となることも疫学的に知られている³⁾。このため、気道粘膜免疫に関わる遺伝子群は、本疾患発症の候補遺伝子と考えられる。 β デフェンシンは気道を含む上皮細胞に主に発現していて、細菌、真菌、ウイルスの一部に抗菌活性を発揮する内因性抗菌ペプチドであり⁴⁾、以前

よりドイツのグループから、非翻訳領域の遺伝子変異の存在が報告されていたが⁵⁾、コーディング領域に遺伝子変異は報告されていなかったため、エクソンとコアプロモーターの変異スクリーニングを行い、慢性閉塞性肺疾患との関連を検討することとした。

B. 研究方法

対象となる疾患群は、呼吸機能検査上、 β 刺激剤による可逆性の認められない一秒率 70% 以下の、慢性閉塞性肺疾患患者 60 名で、うち 38 例については詳細な臨床情報が取得可能であった。対照群は独立に集められた 94 名、および 119 名の一般日本人集団のパネルであり、対照群については喫煙歴については情報が得られていない。

β デフェンシン 1 遺伝子を構成する二つのエクソンとコアプロモーターの領域にプライマーを設定し、PCR を行ったのち、SSCP および ABI PRISM 377 DNA シーケンサー (Applied Biosystems) を用いた直接シーケンス法により、変異解析を行った。特に注目される変異については、簡便に PCR-RFLP

法の系を構築して、その後の解析を行った。すなわち、ミスマッチプライマーによる PCR 増幅により、Hinc II 制限酵素認識部位を導入して、Hinc II による消化の有無により、一塩基多型の対立遺伝子型を判定した。タイピング後の統計解析には、カイ二乗検定を用い、それぞれのマーカーにおけるアリル数で補正した。期待値 5 以下となるアリルについては、Fisher's exact 検定を行った。

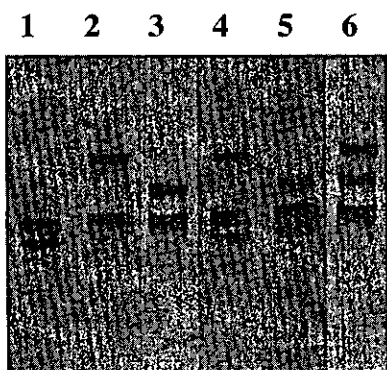
(倫理面への配慮)

本研究における遺伝子解析に関しては、三省合同の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に準拠した当センターの遺伝子解析に係わる倫理委員会の承認を受けている。

C. 研究結果

エクソン 1 の 5' 非翻訳領域に存在する -52 G/A, -44 C/G, -20 G/A については 3 種のハプロタイプを構成することが知られていたため⁵⁾, SSCP 系により解析を行い、直接シーケンス法で確認した結果、図 1 のようにそれぞれのハプロタイプを分離することができた。直接シーケンス上、その他のハプロタイプを示唆するパターンは見いだされなかった。疾患、対象群における関連解析の結果を表 1 に示す。3 種のハプロタイプ頻度はいずれも症例、対照群の間で有意差を認めなかった。

エクソン 2 については、3' 非翻訳領域に、1 つ、+5 G/A と、コーディング領域に 2 つの非同義置換、



Exon1 fragment

Lane1 : homozygote of 01 allele

Lane2 : homozygote of 02 allele

Lane3 : homozygote of 03 allele

Lane4 : heterozygote of 01 and 02 alleles

Lane5 : heterozygote of 01 and 03 alleles

Lane6 : heterozygote of 02 and 03 alleles

図 1 SSCP patterns of amplified fragment of the hBD1 exon1

表 1 Frequencies of Variations within Exon-1 of hBD-1 in the Patients and Control

Genotype	Frequency (%)	
	COPD (n=60)	Control (n=94)
Allele Frequency (Position: -52/-44/-20)		
01 (G-C-A)	46 (75.4)	64 (68.1)
02 (A-C-G)	41 (67.2)	65 (69.1)
03 (G-G-G)	14 (23.0)	22 (23.4)
Genotype Frequency		
01/01	8 (13.3)	15 (16.0)
01/02	27 (45.0)	36 (38.3)
01/03	11 (18.3)	13 (13.8)
02/02	11 (18.3)	21 (22.3)
02/03	2 (3.3)	8 (8.5)
03/03	1 (1.7)	1 (1.1)

合計 3 つの一塩基置換が検出された (図 2)。このうちコーディング領域の Ala48Val 変異は最近報告された変異であり⁶⁾、一方、Val38Ile は今回初めて見いだされた変異である。前 2 者は疾患との関連はなかったが (データ非表示)、新規多型 Val38Ile は、一般日本人集団では、2 から 3% に保有され、疾患群では、15% に保有されていた (p 値 = 0.004)。この変異の存在とアリル頻度をさらに確認する目的で、RFLP 法によりタイピングしたところ、直接シーケンス法と同様の結果が得られた (図 3)。最終的に Ile38 の保有者は、オッズ比 6.1、95% 信頼限界 2.0-18.3、p 値 = 0.0012 で、有意に疾患と関連性が認められた (表 2)。

慢性閉塞性肺疾患は、慢性気管支炎型と肺気腫型に分けられるため、Ile38 の保有者が、これらの亜集団と関連しているか否かを調べる目的で、さらに臨床情報との関係について検討した (表 3)。その結果、Ile-38 の保有者では、有意差はないが (p 値 = 0.08)、喫煙歴が若干乏しい傾向にあった。追加して詳細な臨床情報を得ることが可能であった 38 例について、初発症状、喀痰排出の持続期間について検討したところ、Ile38 保有者の症例数が少ないので、有意差は全く見られなかったが、咳痰を初発症状とするものが多く、3 か月以上の喀痰症状を持続するものが多い傾向にあった。

β デフェンシン 1 のコアプロモーターの部分には検討した範囲で変異は認められなかった。

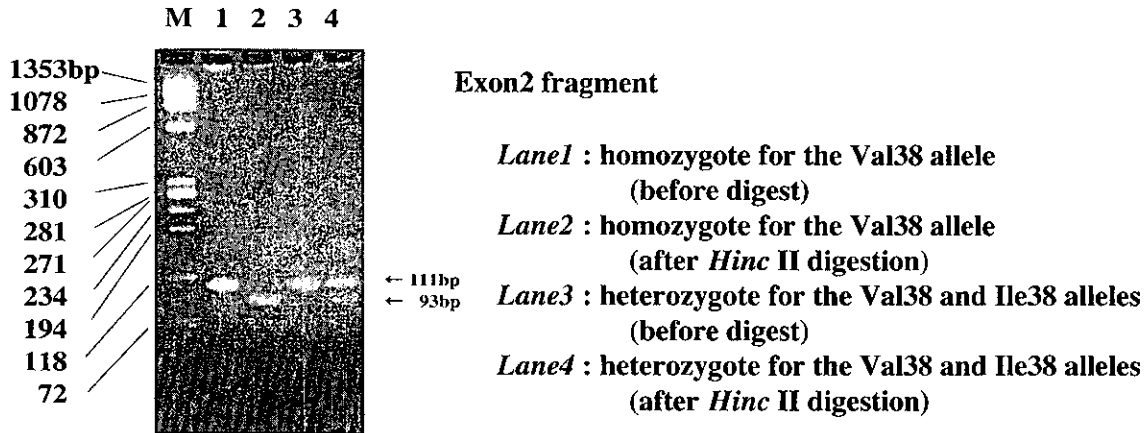
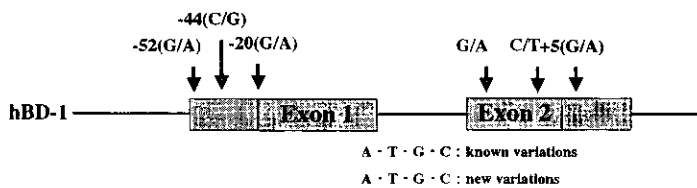


図2 RFLP patterns of amplified fragment of the hBD1 exon2



Novel Amino Acid Substitutions of hBD-1

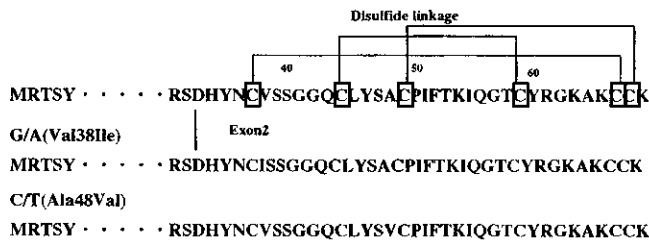


図3 variations of hBD-1 Gene

表2 Frequencies of Val38Ile of the hBD-1 exon 2

Genotype	COPD (n = 60)	control-1 (n = 94)	control-2 (n = 119)	controls (total n = 213)
	[number of individuals (%)]			
Val38/Val38	51 (85.0)	92 (97.9)	115 (96.6)	207 (97.2)
Val38/Ile38*	9 (15.0)	2 (2.1)	4 (3.4)	6 (2.8)
Ile38/Ile38	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Allele frequency				
Val38 allele	0.92	0.99	0.98	0.99
Ile38 allele†	0.08	0.01	0.02	0.01

* p = 0.004 between COPD and control-1; p = 0.01 between COPD and control-2 by Fisher's exact test.

† p = 0.004 between COPD and control-1; p = 0.01 between COPD and control-2 by Fisher's exact test.

D. 考 案

本検討では、βデフェンシン1の遺伝子変異解析を行い、既知の変異の他に、疾患と関連する新たな変異を見いだした。これは JSNP データベースにも登録されていない変異であった（平成14年3月現在）。ヒトの疾患とデフェンシンの変異との関連性が報告されたのは、本研究が初めてと思われる。デフェンシンを含む自然免疫に関わる遺伝子群は、古くから病原微生物の侵入に対し、最初に抵抗す

る生体の防御反応をつかさどるものであり⁷⁾、感染症が人類の進化の歴史の中で、強力な自然選択力として働いてきたことを考慮すると、アミノ酸の変異を伴う、自然免疫関係の遺伝子変異は、程度の差はあるにせよ、機能的に意味があることが多いのではないかと推測される。

非翻訳領域の既知の一塩基置換はいずれも疾患と関連性を示さなかったが、新規に同定された Ile38 が慢性閉塞性肺疾患と有意な関連性を示した。この変異は、一般日本人集団では、2から3%にしか存在しない、比較的稀なものである。しかしながら、このような比較的稀な変異が、疾患群では高頻度に存在することはありうることと思われるので、注意が必要と思われる。

慢性閉塞性肺疾患は、従来より、慢性気管支炎型と肺気腫型に分けられ、その成因の異同については、議論のあるところである。このような比較的稀な変異は、疾患全体の発症に貢献しているというよりは、このような亜集団の病態形成に強く影響している可能性があり、興味深い。実際に、症例数が少ないものの、Ile38 は息切れを主訴として来院する患者ではなく、喀痰を主訴とする患者に多く見られるということは、βデフェンシン1が気道上皮に構成的に発現していることと無関係ではないと思われる。実際に、βデフェンシンの機能低下が欧米に見られる遺伝性慢性気道感染症の代表である囊胞性線維症の発症に関与しているという報告がなされている⁸⁾。また直接の抗菌効果のみならず、βデフェンシンが、樹状細胞の遊走活性を有している事から⁹⁾、獲得免疫との関連性も興味深い。

疾患群で、Ile38 が Val38 とのヘテロの遺伝子型を

表3 Clinical features of the patients with and without Ile-38

	Genotype	
	Val38/Ile38 (n = 9)	Val38/Val38 (n = 51)
Age at examination (yr)	68.7±10.3	68.5±9.7
Smoking history (pack-years)	41.7±28.9	68.0±42.3
pack-years <20 [n (%)]	3*	1
FEV1/FVC (%)	49.2±12.1	44.0±11.3
FEV1 (% predicted) features of the patients with Val38/Ile38	41.3±16.0	48.2±20.5
Age at onset (yr) †	59.8±11.9	64.7±9.2
Initial symptoms [n (%)] †		
Dyspnea	3 (50.0)	26 (81.3)
Chronic cough and sputum	2 (33.3)	3 (9.4)
Dyspnea with wheezing	1 (16.7)	1 (3.1)
None	0 (0.0)	2 (6.3)
Sputum production of more than three months [n (%)] †	5 (83.3)	11 (34.4)

* P = 0.01 by Fisher's exact test.

† The information about these items was available only in 38 of 60 COPD patients.

有する例が増加している点については、β デフェンシン類が8量体を形成して機能を発揮すると推測されていることから¹⁰⁾、優性ネガティブ効果によるものかもしれない。

E. 結 論

β デフェンシンの新規遺伝子多型が慢性閉塞性肺疾患と関連性を示した。特に慢性気管支炎型の亜集団の発症に関与する可能性がある。不均一な疾患集団を対象にする場合、比較的稀な変異についても考慮すべきと考えられた。

参考文献

- 1) Pauwels, R. A., Buist, A. S., Calverley, P. M., Jenkins, C. R., and Hurd, S. S. (2001) Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) Workshop summary. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 163, 1256-1276.
- 2) Sandford, A. J., Weir, T. D., and Pare, P. D. (1997) Genetic risk factors for chronic obstructive pulmonary disease. *Eur. Respir. J.* 10, 1380-1391.
- 3) Tager, I. B., Segal, M. R., Speizer, F. E., and Weiss, S. T. (1988) The natural history of forced expiratory volumes. Effect of cigarette smoking and respiratory symptoms. *Am. Rev. Respir. Dis.* 138, 837-849.
- 4) Ganz, T. (1999) Defensins and host defense.

Science 286, 420-421.

- 5) Dork, T., and Stuhmann, M. (1998) Polymorphisms of the human β -defensin-1 gene. *Mol. Cell Probes.* 12, 171-173.
 - 6) Vatta, S., Boniotto, M., Bevilacqua, E., Belgrano, A., Pirulli, D., Crovella, S., and Amoroso, A. (2000) Human beta defensin 1 gene six new variants. *Hum. Mutat.* 15, 582-583.
 - 7) Medzhitov, R., and Janeway, C. Jr. (2000) Innate immunity. *N. Engl. J. Med.* 343, 338-344.
 - 8) Goldman, M. J., Anderson, G. M., Stolzenberg, E. D., Kari, U. P., Zasloff, M., and Wilson, J. M. (1997) Human beta-defensin-1 is a salt-sensitive antibiotic in lung that is inactivated in cystic fibrosis. *Cell* 88, 553-560.
 - 9) Yang, D., Chertov, O., Bykovskaia, S. N., Chen, Q., Buffo, M. J., Shogan, J., Anderson, M., Schroder, J. M., Wang, J. M., Howard, O. M. Z., and Oppenheim, J. J. (1999) Beta-defensins: linking innate and adaptive immunity through dendritic and T cell CCR6. *Science* 286, 525-528.
 - 10) Hoover, D. M., Rajashankar, K. R., Blumenthal, R., Puri, A., Oppenheim, J. J., Chertov, O., and Lubkowski, J. (2000) The structure of human beta-defensin-2 shows evidence of higher order oligomerization. *J. Biol. Chem.* 275, 32911-32918.
- ## F. 健康危険情報 (略)
- ## G. 研究発表
1. 論文発表
 - 1) Matsushita, I., Hasegawa, K., Nakata, K., Yasuda, K., Tokunaga, K., Keicho, N. : Genetic Variants of Human beta Defensin-1 and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Biochem Biophys Res Commun.* 291 (1) : 17-22., 2002.
 - 2) Ishii, T., Keicho, N., Teramoto, S., Azuma, A., Kudoh, S., Fukuchi, Y., Ouchi, Y., Matsuse, T. : Association of Gc-globulin variation with susceptibility to COPD and diffuse panbronchiolitis. *Eur Respir J*, 18 (5) : 753-757, 2001.
 - 3) Keicho, N., Emi, M., Kajita, M., Matsushita,

- I., Nakata, K., Azuma, A., Ohishi, N., Kudoh, S. : Overestimated frequency of a possible emphysema-susceptibility allele when microsomal epoxide hydrolase is genotyped by the conventional polymerase chain reaction-based method. *J Hum Genet*, 46 (2) : 96-98, 2001.
- 4) 松下育美, 中田 光, 慶長直人: 病態解析と SNP, 呼吸器疾患 (慢性閉塞性肺疾患). *血液・免疫・腫瘍*, 6 (4) : 56-62, 2001.
- 5) 松下育美, 中田 光, 慶長直人. : COPD 発症につながる危険因子. *Medical Practice*, 19 (4) : 621-625, 2002.
- 6) 慶長直人, 松瀬 健: アデノウイルスの潜伏感染と COPD の発症機序. *THE LUNG perspectives*, 9: 302-307, 2001.

2. 学会発表

- 1) Matsushita, I., Hasegawa, K., Nakata, K., Ishii, T., Matsuse, K., Tokunaga, S., Kudoh, S., Keicho, N. Variation screening of beta-defensins in patients with chronic inflammatory airway diseases. American Thoracic Society, 2001 International Conference, May 18-23, 2001, San Francisco, USA.
- 2) 松下育美, 長谷川京子, 中田 光, 石井健男, 松瀬 健, 吾妻安良太, 徳永勝士, 工藤翔二, 慶長直人. 慢性気道感染症に於ける β -defensin の変異解析. 第 41 回日本呼吸器学会総会, 2001 年 4 月 4-6 日, 東京.

H. 知的財産権 (略)

肺サルコイドーシスの病態に関与する候補遺伝子群の 変異スクリーニングに関する検討

田中 剛 国立国際医療センター研究所呼吸器疾患研究部, 東京大学呼吸器内科
松下 育美 国立国際医療センター研究所呼吸器疾患研究部
分担研究者 中田 光 国立国際医療センター研究所呼吸器疾患研究部
折津 愈 日本赤十字社医療センター呼吸器内科
分担研究者 徳永 勝士 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学教室
主任研究者 慶長 直人 国立国際医療センター研究所呼吸器疾患研究部

研究要旨 サルコイドーシスは厚生労働省公費対象 46 特定疾患のひとつに指定されており, 肺に主病変を形成することで知られている. 発症頻度や重症度に明らかな人種差を認め, 家族集積性があることから, 複数の遺伝素因の関与する多因子疾患と考えられる. Th1 系の免疫応答が病態形成に重要であることが知られているが, 現状では分子病態から, その候補遺伝子を十分に絞り込むことは困難である. そこで, 我々は, 疾患感受性遺伝子の探索のために, ゲノムデータベース上から, 候補遺伝子周辺のマイクロサテライトマーカーを拾い出して, 遺伝子変異の探索を行うことを計画した. Th1 系免疫に関わるサイトカインのレセプター遺伝子 4 つ, そのシグナルを伝達する転写因子をコードする遺伝子を 2 つの合計 6 種類を候補遺伝子とした. 初めに, 各候補遺伝子近傍に同定されるマイクロサテライトの多型性を検討し, 次にサルコイドーシス患者 83 例, 健常者 96 例で関連解析を行った. 解析に用いられたマーカーはいずれも 2~4 塩基の繰り返し配列を有し, 関連解析により, STAT4 遺伝子座に相当する領域のマイクロサテライトマーカーのアリル保有頻度に疾患, 対照で明らかな有意差を認めた. これらの結果より, 連鎖不平衡の及ぶ範囲で, STAT4 遺伝子座の遺伝子変異とサルコイドーシス発症との間に関連が見られるものと推測された.

A. 研究目的

サルコイドーシスは原因不明の慢性肉芽腫性疾患であり, その発症には, 同一の居住地でも, 人種間で発症頻度や重症度に有意な違いを認めることや, 家族集積性がみられることより, 従来より遺伝素因の関与が指摘されてきた^{1,2)}. 病変形成の機序の中心となるものとして, 未知の病原微生物などの異物の刺激により, マクロファージと T 細胞が集積し, 活性化され, そして類上皮細胞肉芽腫を形成していくという, Th1 系免疫応答の亢進が認められる. 本研究では, この Th1 免疫に関わるサイトカインのレセプター及びそのシグナルを伝達する分子に着目し, これらの遺伝子の変異がサルコイドーシスの発症に関連するか否か検討する目的で, ゲノムデータベースを検索することにより見いだされる, 候補遺伝子周辺の短い縦列繰

り返し配列の遺伝的多型性, すなわちマイクロサテライトマーカーに注目し, 解析を進めることとした.

B. 研究方法

旧厚生省特定疾患びまん性肺疾患調査研究班の診断基準により診断されたサルコイドーシス患者 83 例, 対照者 96 例を対象として解析を行った. 候補遺伝子としては, Th1 系免疫に関わるサイトカインのレセプターとして代表的な IFN- γ R1, IFN- γ R2, IL-12R β 1, IL-12 β 2 及びそのシグナルを伝達する転写因子 STAT1, STAT4 を選択した. 初めに, 各遺伝子及びその近傍 100 kb のゲノム塩基配列を得, RepeatMasker ソフトウェアにより, 短い繰り返し配列の位置情報を検索した. 次に, その配列の前後に, 分散型繰り返し配列を避けながら, 新規にプライマーを設計し, PCR 増幅し, 還元状態

で、5% アクリルアミドゲル電気泳動を行い、銀染色により泳動パターンを可視化し、多型性の有無を確認した。多型性を示したマーカーについては片側プライマーを蛍光標識し、ABI PRISM 377 DNA シーケンサー (Applied Biosystems) および Genotyper ソフトウェアを使用して、各検体ごとにマイクロサテライトマーカーのアリルサイズを決定した。タイピング後の統計解析には、カイ二乗検定を用い、それぞれのマーカーにおけるアリル数で補正した。期待値5以下となるアリルについては、Fisher's exact 検定を行った。

(倫理面への配慮)

尚、本研究における遺伝子解析に関しては、三省合同の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に準拠した当センターの遺伝子解析に係わる倫理委員会の承認を受けている。

C. 研究結果

患者の背景を表1に示す。男性27例、女性56例で、発症年齢は平均37.1才、平均観察期間は15.6年で、最低でも3年以上経過観察されていた。5年以上の経過で寛解していないものを遷延と定義したが、今回、対象とした患者集団の63%が遷延症例であった。

解析に用いたマイクロサテライトマーカーは、それぞれ2塩基あるいは4塩基の繰り返し配列であり、アリルの数は3~11個(平均7.1個)、集団での多型性を示すヘテロ接合度は0.50~0.78であった(表2)。

症例と対象でこれらのマーカーについて関連解析を行った。それぞれ、カイ二乗値が最大の値をとるアリルを表3に示す。IL-12Rβ2 遺伝子座のマーカーは対象群が Hardy-Weinberg 平衡より偏位していたため、他の健常者検体で再解析したとこ

表1 解析対象症例の臨床的特徴

性別(男性/女性)	27 / 56		
発症年齢(歳)	37.1 (18-68)		
観察期間(年)	15.6 (3-40)		
初診時の胸部X線	0 (4)	(49)	(20)
所見(病期分類)	(6)	(0)	不明 (4)
肺外病変	眼 (63)	皮膚 (9)	神経 (6) 心 (3)
予後*	自然寛解 (17)	治療後寛解 (1)	
	遷延 (59)	不明 (2)	

* 5年以上の観察期間がある症例のみ

ろ、このマーカーでは最終的に有意差が見られないことが明らかになった。一方、STAT4 遺伝子座のマーカーアリルについては、オッズ比 3.8 (95% 信頼区間 1.6~9.4)、カイ二乗 p 値 =0.0022 で、疾患、対象群の間に明らかな有意差を認めた。このアリルを、患者群では、83例中76例、対照群では96例中71例、保有しており、この遺伝子座のアリル数で補正しても、p 値 0.05 以下で有意であった(表4)。

表2 解析に用いたマイクロサテライトマーカー

候補遺伝子(座)	繰り返し配列	対立遺伝子数	ヘテロ接合度
IFN-γR1 (6q24.1)	(CA)n	11	0.78
IFN-γR2 (21q22.11)	(TAAA)n	8	0.73
	(CA)n	3	0.53
IL-12Rβ1 (19p13.1)	(TGGA)n	3	0.67
IL-12Rβ2 (1p31.2)	(CA)n	10	0.66
	(TAAA)n	5	0.50
STAT1 (2q32.2)	(CA)n	8	0.66
STAT4 (2q32.2)	(CA)n	9	0.67

表3 サルコイドーシスと遺伝マーカーとの関連解析

遺伝子座	繰り返し配列	χ ² 値(最大値)	P値	補正P値
IFN-γR1	(CA)n	1.12	0.29	NS
IFN-γR2	(TAAA)n	1.95	0.16	NS
	(CA)n	2.67	0.10	NS
IL-12Rβ1	(TGGA)n	2.30	0.12	NS
IL-12Rβ2	(CA)n	—	0.098†	—
	(TAAA)n	1.01	0.31	NS
STAT1	(CA)n	1.87	0.17	NS
STAT4	(CA)n	9.40	0.0022	0.020

† 対照群が Hardy-Weinberg 平衡からはずれている

表4 サルコイドーシスと STAT4 マーカーの対立遺伝子型との関連解析*

対立遺伝子	症例 (n=83)	対照 (n=96)
254 / 254, 254 / 254 以外	76 (0.92)	71 (0.74)
254以外 / 254以外	7 (0.08)	25 (0.26)

*オッズ比 (95%信頼区間); 3.82 (1.56-9.39)
χ²値; 9.40, P値; 0.0022, 補正P値; 0.020

D. 考案

サルコイドーシスでは、病変部の類上皮細胞や肺胞洗浄により得られる細胞で、IFN- γ 、IL-12をはじめとするTh1系サイトカインやレセプターのmRNAの発現亢進がみられること³⁶⁾が知られており、これらのサイトカインは未知の病原微生物などの異物の刺激により、病変部にマクロファージとT細胞が集積する際に放出され、病変形成に重要な役割を担っていると推測されている。今回、疾患群と対照群の間でアレル保有頻度に有意差を認めたSTAT4遺伝子の遺伝子産物は、IL-12がそのレセプターに結合することにより活性化され、IFN- γ の発現を誘導する転写因子として知られている。今回のデータより、STAT4遺伝子座の未知の遺伝子変異とサルコイドーシス発症との間にも、連鎖不平衡の及ぶ範囲で、有意差が認められる可能性が考えられる。

サルコイドーシスのような原因不明の慢性炎症性肺疾患で、疾患感受性遺伝子を探索する場合、病態形成にTh1免疫応答が重要だというだけでは、候補となる遺伝子が多いため、すべての遺伝子のプロモーター、全エクソン解析を行うことは実際上、コストおよび労力の面で引き合わない可能性がある。またそれら遺伝子群の中から、特定の遺伝子を絞り込む方法も明らかでない場合、従来の候補遺伝子アプローチ単独では、なかなか有意な結果を得るまでには至らないものと思われる。より客観的なアプローチとして、全ゲノムスキャンのような網羅的解析法が考えられるが、このように比較的頻度の低い疾患においては、数100症例を集積することは容易ではない。ある候補遺伝子について、その近傍のマイクロサテライトを含む遺伝子全域に連鎖不平衡が及ぶ場合、マイクロサテライトはアレル数が多いため、いずれかのアレルが、疾患に関連した未知の機能的遺伝子変異とハプロタイプを組んでいる可能性が高いものと推察される⁷⁾。したがって、今回のように関連解析を主体とする候補遺伝子アプローチを効率よく展開する目的で、マイクロサテライトが候補遺伝子の主要な変異を代表するマーカーとして利用できるかもしれないと考えられる。実際に、検討した6つの遺伝子いずれの領域についても十分な多型性に富むマーカーを1つ以上同定することができた。また、マイクロサテライトマーカーのタイピング

技術は、罹患同胞対解析や連鎖解析など候補遺伝子領域の絞り込みの最初の段階に用いられることが多いため、新たな機器を購入しなくとも、比較的容易に、同じ技術と設備で、引き続き、位置情報に基づく候補遺伝子アプローチを展開できる利点がある。したがって、本法は、さらに偽陰性を減らすための改良を加えることにより、候補遺伝子群の疾患感受性変異を同定する効果的な方法のひとつとなるのではないかと期待される。

E. 結論

Th1免疫応答関連遺伝子周辺のマイクロサテライトマーカーを用いた関連解析の結果、STAT4遺伝子座に相当する領域のマイクロサテライトマーカーのアレル保有頻度に疾患、対照で明らかな有意差を認めた。STAT4遺伝子の未知の遺伝子変異が、サルコイドーシスの病態に関わる機能的意義、すなわち、Th1系免疫の賦活化や持続に影響を与える、あるいは細胞内殺菌能に影響を及ぼすなど、疾患の発症に直接関与しているかどうかについては、さらに症例を集積して今回の解析結果の再現性を確認するとともに、病型や予後などとの関連を解析した後、検討する必要がある。同様の手法を用い、細胞内殺菌に関わる遺伝子群など、他の候補遺伝子についても解析することが可能である。

参考文献

- 1) Rybicki BA, Major M, Popovich J Jr, Malariik MJ, Iannuzzi MC. Racial differences in sarcoidosis incidence: a 5-year study in a health maintenance organization. *Am J Epidemiol* 145: 234-41, 1997
- 2) Rybicki BA, Iannuzzi MC, Frederick MM, Thompson BW, Rossman MD, Bresnitz EA, Terrin ML, Moller DR, Barnard J, Baughman RP, DePalo L, Hunninghake G, Johns C, Judson MA, Knatterud GL, McLennan G, Newman LS, Rabin DL, Rose C, Teirstein AS, Weinberger SE, Yeager H, Cherniack R; The ACCESS Research Group. Familial aggregation of sarcoidosis. A case-control etiologic study of sarcoidosis (ACCESS). *Am J Respir Crit Care Med* 164: 2085-91, 2001
- 3) Moller DR, Forman JD, Liu MC, Noble PW, Greenlee BM, Vyas P, Holden DA, Forrester JM, Lazarus A, Wysocka M, Trinchieri G, Karp C.

- Enhanced expression of IL-12 associated with Th1 cytokine profiles in active pulmonary sarcoidosis. *J Immunol* 156: 4952-60, 1996
- 4) Minshall EM, Tsicopoulos A, Yasrael Z, Wallaert B, Akoum H, Vorng H, Tonnel AB, Hamid Q. Cytokine mRNA gene expression in active and nonactive pulmonary sarcoidosis. *Eur Respir J* 10: 2034-9, 1997
- 5) Shigehara K, Shijubo N, Ohmichi M, Takahashi R, Kon S, Okamura H, Kurimoto M, Hiraga Y, Tatsuno T, Abe S, Sato N. IL-12 and IL-18 are increased and stimulate IFN-gamma production in sarcoid lungs. *J Immunol* 166: 642-9, 2001
- 6) Taha RA, Minshall EM, Olivenstein R, Ihaku D, Wallaert B, Tsicopoulos A, Tonnel AB, Damia R, Menzies D, Hamid QA. Increased expression of IL-12 receptor mRNA in active pulmonary tuberculosis and sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 160: 1119-23, 1999
- 7) Nakajima T, Jorde LB, Ishigami T, Umemura S, Emi M, Lalouel JM, Inoue I. Nucleotide diversity and haplotype structure of the human angiotensinogen gene in two populations. *Am J Hum Genet* 70:108-23, 2002
- F. 健康危険情報 (略)
- G. 研究発表
1. 論文発表
- 1) 慶長直人: 疾患感受性遺伝子の探求ーびまん性汎細気管支炎からサルコイドーシスまで. 日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会雑誌, 21:13-19, 2001.
2. 学会発表
- 1) 田中 剛, 松下育美, 土屋尚之, 徳永勝士, 森田 寛, 折津 愈, 中田 光, 慶長直人. サルコイドーシスの発症に関わる遺伝因子の探索. 日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会 第21回総会, 2001年10月18-19日, 東京.
- H. 知的財産権 (略)

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌	巻名	ページ	出版年
Keicho N, Kudoh S	Diffuse panbronchiolitis: role of macrolides in therapy	Am J Respir Med	1 (2)	119-131	2002
Kanai T, Fujii T, Keicho N, Tokunaga K, Yamashita T, Hyodo H, Miki A., Unno N, Kozuma S, Taketani Y	Polymorphism of human leukocyte antigen-E gene in the Japanese population with or without recurrent abortion	Am J Reprod Immunol	45 (3)	168-173	2001
Azuma A, Keicho N, Furukawa H, Yabe T, Kudoh S	Prolonged survival of a bare lymphocyte syndrome type I patient with diffuse panbronchiolitis treated with erythromycin	Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis	18 (3)	312-313	2001
Matsuzaka Y, Tounai K, Denda D, Tomizawa M, Makino S, Okamoto K, Keicho N, Oka A, Kulski JK, Tamiya G, Inoko H	Identification of novel candidate genes in the diffuse panbronchiolitis (DPB) critical region of the class I human major histocompatibility complex (MHC)	Immunogenet			in press
Matsushita I, Hasegawa K, Nakata K, Yasuda K, Tokunaga K, Keicho N	Genetic variants of human beta defensin-1 and chronic obstructive pulmonary disease	Biochem Biophys Res Commun	291 (1)	17-22	2002
Ishii T, Keicho N, Teramoto S, Azuma A, Kudoh S, Fukuchi Y, Ouchi Y, Matsuse T	Association of Gc-globulin variation with susceptibility to COPD and diffuse panbronchiolitis	Eur Respir J	18 (5)	753-757	2001
Keicho N, Emi M, Kajita M, Matsushita I, Nakata K, Azuma A, Ohishi N, Kudoh S	Overestimated frequency of a possible emphysema-susceptibility allele when microsomal epoxide hydrolase is genotyped by the conventional polymerase chain reaction-based method	J Hum Genet	46 (2)	96-98	2001
Katoh K, Mano S, Ikuta T, Munkhbat B, Tounai K, Ando H, Munkhtuvshin N, Imanishi T, Inoko H, Tamiya G	Genetic isolates in East Asia: A study of linkage disequilibrium in the X chromosome	Am J Hum Genet			in press
Nagayasu E, Nagakura K, Akaki M, Tamiya G, Makino S, Nakano Y, Kimura M, Aikawa M	Association of a determinant on mouse chromosome 18 with experimental severe Plasmodium berghei malaria	Infect Immun	70 (2)	512-516	2002
Matsuzaka Y, Makino S, Nakajima K, Tomizawa M, Oka A, Bahram S, Kulski JK, Tamiya G, Inoko H	New polymorphic microsatellite markers in the human MHC class III region	Tissue Antigens	57 (5)	397-404	2001
Shiina T, Ando A, Suto Y, Kasai F, Shigenari A, Takishima N, Kikkawa E, Iwata K, Kuwano Y, Kitamura Y, Matsuzawa Y, Sano K, Nogami M, Kawata H, Li S, Fukuzumi Y, Yamazaki M, Tashiro H, Tamiya G, Kohda A, Okumura K, Ikemura T, Soeda E, Mizuki N, Kimura M	Genomic anatomy of a premier major histocompatibility complex paralogous region on chromosome 1q21-q22	Genome Res	11 (5)	789-802	2001
Nieda M, Nicol A, Koczuka Y, Kikuchi A, Lapteva N, Tanaka Y, Tokunaga K, Suzuki K, Kayagaki N, Yagita H, Hirai H, Juji T	TRAIL expression by activated human CD4 (+) V alpha 24 NKT cells induces <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> apoptosis of human acute myeloid leukemia cells	Blood	97 (7)	2067-2074	2001

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌	巻名	ページ	出版年
Hagiwara K, Yamaguchi A, Tsuchiya N, Kitamura S, Iwadare J, Sahara R, Yamamoto K, Tokunaga K	Identification of genes upregulated in the inflamed colonic lesions of Crohn's disease	Biochem Biophys Res Commun	283 (1)	130-135	2001
Ohashi J, Yamamoto S, Tsuchiya N, Hatta Y, Komata T, Matsushita M, Tokunaga K	Comparison of statistical power between 2 × 2 allele frequency and allele positivity tables in case-control studies of complex diseases genes	Ann Hum Genet	65 (2)	197-206	2001
Hohjoh H, Tokunaga K	Allele-specific binding of the ubiquitous transcription factor OCT-1 to the functional single polymorphism (SNP) sites in the tumor necrosis factor-alpha gene (TNFA) promoter	Genes Immun	2	105-109	2001
Sakurai D, Yamaguchi A, Tsuchiya N, Yamamoto K, Tokunaga K	Expression of ID family genes in the synovia from patients with rheumatoid arthritis	Biochem Biophys Res Commun	284 (2)	436-442	2001
Lapteva N, Nieda M, Ando Y, Ide K, Hatta-Ohashi Y, Dymshits G, Ishikawa Y, Juji T, Tokunaga K	Expression of renin-angiotensin system genes in immature and mature dendritic cells identified using human cDNA	Biochem Biophys Res Commun	285 (4)	1059-1065	2001
Lapteva N, Ando Y, Nieda M, Hohjoh H, Okai M, Kikuchi A, Dymshits G, Ishikawa Y, Juji T, Tokunaga K	Profiling of genes expressed in human monocytes and monocyte-derived dendritic cells using cDNA expression array	Br J Haematol	114 (1)	191-197	2001
Ohashi J, Tokunaga K	The power of genome-wide association studies of complex disease genes: Statistical limitations of indirect approaches using SNP markers	J Hum Genet	46 (8)	478-482	2001
Ohashi J, Naka I, Patarapotikul J, Hananantachai H, Looareesivan S, Tokunaga K	Absence of association of the allele coding methionine at position 29 in the N-terminal domain of ICAM-1 (ICAM-1Kilifi) with Severe Malaria in the northwest of Thailand	Jpn J Infect Dis	54 (3)	114-116	2001
Kawasaki A, Tsuchiya N, Fukazawa T, Hashimoto H, Tokunaga K	Presence of four major haplotypes in human BCMA gene: Lack of association with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis	Genes Immun	2 (5)	276-279	2001
Hananantachai H, Patarapotikul J, Looareesuwan S, Ohashi J, Naka I, Tokunaga K	Lack of association of -308A/G TNFA promoter and 196R/M TNFR2 polymorphisms with disease severity in Thai adult malaria patients	Am J Med Genet	102 (4)	391-392	2001
Tsuchiya N, Kawasaki A, Tsao BP, Komata T, Grossman JM, Tokunaga K	Analysis of the association of HLA-DRB1, TNFA promoter and TNFR2 (TNFRSF1B) polymorphisms with SLE using transmission disequilibrium test	Genes Immun	2 (6)	317-322	2001
Lapteva N, Nieda M, Ando Y, Nicol A, Ide K, Yamaura A, Hatta-Ohashi Y, Egawa K, Juji T, Tokunaga K	Gene expression analysis in human monocytes, monocyte-derived dendritic cells, and alpha-galactosylceramide-pulsed monocyte-derived dendritic cells	Biochem Biophys Res Commun	289 (2)	531-538	2001

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌	巻名	ページ	出版年
Sato M, Yabe T, Ohashi J, Tsuchiya N, Tadokoro K, Hanaoka K, Tokunaga K, Juji T	Identification of novel single nucleotide substitutions in the NKp30 gene expressed in human natural killer cells	Tissue Antigens	58 (4)	255-258	2001
Miyamasu M, Sekiya T, Ohta K, Ra C, Yoshie O, Yamamoto K, Tsuchiya N, Tokunaga K, Hirai K	Variation in the human CC chemokine cotaxin gene	Genes Immun	2 (8)	461-463	2001
Sato M, Ohashi J, Tsuchiya N, Kashiwase K, Ishikawa Y, Arita H, Hanaoka K, Tokunaga K, Yabe T	Association of HLA-A*3303-B*4403-DRB1*1302 haplotype, but not of TNFa promoter and NKp30 polymorphism, with postherpetic neuralgia (PHN) in the Japanese population	Genes Immun			in press
Sato M, Ohashi J, Tsuchiya N, Tadokoro K, Juji T, Hanaoka K, Tokunaga K, Yabe T	Identification of novel single nucleotide substitutions in the NKp30 gene expressed in human natural killer cells	Immunogenet			in press
Ohashi J, Naka I, Patarapotikul J, Hananantachai H, Looareesuwan S, Tokunaga K	Lack of association between interleukin-10 gene promoter polymorphism, -1082G/A, and severe malaria in Thailand	Southeast Asian J Trop Med Public Health			in press
Omi K., Ohashi J, Naka I, Patarapotikul J, Hananantachai H, Looareesuwan S, Tokunaga K	Polymorphisms of CD36 in Thai malaria patients	Southeast Asian J Trop Med Public Health			in press
Osawa H, Onuma H, Murakami A, Ochi M, Nishimiya T, Kato K, Shimizu I, Fujii Y, Ohashi J, Makino H	Systematic search for single nucleotide polymorphisms in the resistin gene. The absence of evidence for the association of three identified single nucleotide polymorphisms with Japanese type 2 diabetes	Diabetes	51	863-866	2002
Osawa H, Ochi M, Nishimiya T, Onuma H, Nakamaru K, Murakami A, Kato K, Shimizu I, Fujii Y, Ohashi J, Makino H	A systematic search for single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the insulin receptor gene: Association of an sSNP with hyperlipidemia in Japanese type 2 diabetic subjects	Clin Genet	60	479-481	2001
Ohashi J, Naka I, Patarapotikul J, Hananantachai H, Looareesuwan S, Tokunaga K	Absence of association between the allele coding methionine at position 29 in the N-terminal domain of ICAM-1 (ICAM-1Kilifi) and severe malaria in the northwest of Thailand	Jpn J Infect Dis	54	114-116	2001
Osawa H, Onuma H, Murakami A, Ochi M, Nishimiya T, Kato K, Shimizu I, Fujii Y, Ohashi J, Makino H	Systematic search for single nucleotide polymorphisms in the Insulin gene: evidence for a high frequency of -23T>A in Japanese subjects	Biochem Biophys Res Commun	286	451-455	2001
Ohashi J, Yamamoto S, Tsuchiya N, Hatta Y, Komata T, Matsushita M, Tokunaga K	Comparison of statistical power between 2 × 2 allele frequency and allele positivity tables in case-control studies of complex disease genes	Ann Hum Genet	65	197-206	2001
Hananantachai H, Patarapotikul J, Looareesuwan S, Ohashi J, Naka I, Tokunaga K	Lack of association of -308A/G TNFA promoter and 196R/M TNFR2 polymorphisms with disease severity in Thai adult malaria patients	Am J Med Genet	102	391-392	2001

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌	巻名	ページ	出版年
Eishi Y, Suga M, Ishige I, Kobayashi D, Yamada T, Takemura T, Takizawa T, Koike M, Kudoh S, Costabel U, Guzman J, Rizzato G, Gambacorta M, du Bois R, Nicholson AG, Sharma OP, Ando M	Quantitative analysis of mycobacterial and propionibacterial DNA in lymph nodes of Japanese and European patients with sarcoidosis	J Clin Microbiol	40 (1)	198-204	2002
Uematsu K, Yoshimura A, Gemma A, Mochimaru H, Hosoya Y, Kunugi S, Matsuda K, Seike M, Kurimoto F, Takenaka K, Koizumi K, Fukuda Y, Tanaka S, Chin K, Jablons DM, Kudoh S	Aberrations in the fragile histidine triad (FHIT) gene in idiopathic pulmonary fibrosis	Cancer Res	61 (23)	8527-8533	2001
Takahashi T, Azuma A, Abe S, Kawanami O, Ohara K, Kudoh S	Significance of lymphocytosis in bronchoalveolar lavage in suspected ocular sarcoidosis	Eur Respir J	18 (3)	515-521	2001
Matsuda S, Kudoh S, Katayama S	Enhanced formation of azoxymethane-induced colorectal adenocarcinoma in gammadelta T lymphocyte-deficient mice	Jpn J Cancer Res	92 (8)	880-885	2001
Usuki J, Enomoto T, Azuma A, Matsuda K, Aoyama A, Kudoh S	Influence of hyperglycemia to the severity of pulmonary fibrosis	Chest	120 (1 Suppl)	71S	2001
Fukuda Y, Mochimaru H, Terasaki Y, Kawamoto M, Kudoh S	Mechanism of structural remodeling in pulmonary fibrosis	Chest	120 (1 Suppl)	41S-43S	2001
Azuma A, Li Y, Usuki J, Aoyama A, Enomoto T, Kudoh S	Fourteen-membered ring macrolides inhibit vascular cell adhesion molecule-1 messenger RNA induction preventing neutrophil-induced lung injury and fibrosis in bleomycin-challenged mice	Chest	120 (1 Suppl)	20S-22S	2001
Yamada K, Kida K, Takasaki Y, Kudoh S	A clinical study of the usefulness of assessing dyspnea in healthy elderly subjects	J Nippon Med Sch	68 (3)	246-252	2001
土屋朋子, 慶長直人	びまん性汎細気管支炎の疾患感受性遺伝子	最新医学	56	1680-1683	2001
田中 剛, 慶長直人	びまん性汎細気管支炎	臨床医増刊号	27	993-997	2001
川名明彦, 慶長直人	マクロライド耐性菌の現状と課題	呼と循	49	897-902	2001
神尾孝一郎, 慶長直人	DPB 関連遺伝子異常	分子呼吸器病	5	531-535	2001
慶長直人, 土屋朋子, 中田 光, 松下育美, 田中 剛, 神尾孝一郎	呼吸器炎症性疾患の分子医学：びまん性汎細気管支炎のゲノム解析	日本胸部臨床	60	S81-S84	2001
慶長直人	びまん性汎細気管支炎：人種特異性と疾患感受性遺伝子	最新医学	56	2580-2585	2001
慶長直人, 松瀬 健	慢性呼吸器疾患の抗菌薬治療：マクロライド系抗菌薬の使い方	Medical Practice	18	1351-1353	2001
慶長直人, 土屋朋子, 中田 光	びまん性汎細気管支炎と HLA	血液フロンティア	11	39-46	2001
松下育美, 中田 光, 慶長直人	病態解析と SNP：呼吸器疾患（慢性閉塞性肺疾患）	血液・免疫・腫瘍	6 (4)	56-62	2001

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌	巻名	ページ	出版年
松下育美, 中田 光, 慶長直人	COPD 発症につながる危険因子	Medical Practice	19 (4)	621-625	2002
慶長直人, 松瀬 健	アデノウイルスの潜伏感染と COPD の発症機序	THE LUNG perspectives	9	302-307	2001
慶長直人	疾患感受性遺伝子の探求:びまん性汎細気管支炎からサルコイドーシスまで	肉芽腫性疾患学会雑誌	21	13-19	2001
櫻井大祐, 土屋尚之, 徳永勝士	リウマチ 膠原病の遺伝子診療に向けて	医学のあゆみ	197 (13)	1094-1100	2001
大橋 順, 徳永勝士	多因子疾患の遺伝疫学的解析法	ゲノム医学	1 (2)	159-166	2001
京極千恵子, 土屋尚之, 徳永勝士	全身性エリテマトーデスと Fcg レセプター遺伝子の関連. 「ゲノムサイエンスの新たな挑戦」	蛋白質核酸酵素	46 (16)	2337-2341	2001
榎本達治, 村田 朗, 持丸博, 福田 悠, 工藤翔二	肺聴診所見が診断のきっかけとなった閉塞性細気管支炎の1例	日本呼吸器学会雑誌	39 (11)	882-887	2001
松本慶蔵, 工藤翔二, 菅谷憲夫, 鈴木 宏	ザナミビル治療に対する患者からの評価 2000/2001年インフルエンザシーズンにザナミビルを処方されたインフルエンザ患者調査	感染症学雑誌	75 (9)	800-807	2001
神尾孝一郎, 吾妻安良太, 工藤翔二, 吉村邦彦, 慶長直人	びまん性気管支拡張を呈し DPB と診断しえた若年者で CFTR 遺伝子の異常を認めた1例	THERAPEUTIC RESEARCH	22 (7)	1593-1597	2001
石井健男, 慶長直人, 寺本信嗣, 吾妻安良太, 工藤翔二, 福地義之助, 大内尉義, 松瀬 健	NADPH/NADH oxidase の遺伝子多型とびまん性汎細気管支炎 (DPB):慢性閉塞性肺疾患 (COPD)との関連についての検討	日本呼吸器学会雑誌	39 (5)	328-332	2001

雑 誌

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
徳永勝士, 大橋 順	疾患遺伝子の探索	菅野純夫	わかる実験医学シリーズ「ゲノム医学がわかる」	羊土社	東京	2001	48-55
徳永勝士	遺伝子多型と SNP 解析	山本 雅	わかる実験医学シリーズ「遺伝子工学がわかる」	羊土社	東京	2001	110-114