

ANCA 関連血管炎発症に寄与する、という解釈が可能かも知れない。

このほか、CSS, WG についても、*TNFR2*, *FCGR2B*, *CTLA-4* と関連の傾向が認められたが、今後多数の症例における検討が必要である。

E. 結論

日本人において、MPA と *HLA-DRB1*0901* との関連が見られることを多施設共同研究により確認した。

謝辞

患者検体および臨床情報をご提供くださった以下の各施設の諸先生方に深く感謝申し上げます。

国立療養所下志津病院、順天堂大学(膠原病内科、浦安病院)、天理よろず相談所病院、杏林大学、岡山大学、東京都老人医療センター、東京女子医大、兵庫医大、仙台社会保険病院、東京医大八王子医療センター、群馬大学、杏雲堂病院、国立大蔵病院、川崎市立川崎病院

また、研究協力施設のとりまとめにご尽力くださった小林茂人先生(順天堂大学膠原病内科)、多くの遺伝子タイピングを中心になって行った川崎綾、京極千恵子(東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学教室)に深謝いたします。

【参考文献】

1) Shibue T, Tsuchiya N, Komata T,

Matsushita M, Shiota M, Ohashi J, Wakui M, Matsuta K, Tokunaga K: Tumor necrosis factor α 5'-flanking region, TNF receptor II and HLA-DRB1 polymorphisms in the Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 43: 753-757, 2000.

2) Tsuchiya N, Kawasaki A, Tsao BP, Komata T, Grossman JM, Tokunaga K: Analysis of the association of *HLA-DRB1* and *TNFA* promoter polymorphisms with SLE using transmission disequilibrium test. *Genes Immun* 2:317-322, 2001.

3) Kyogoku C, Dijkstra HM, Tsuchiya N, Hatta Y, Kato H, Yamaguchi A, Fukazawa T, Jansen MD, Hashimoto H, van de Winkel JGJ, Kallenberg CGM, Tokunaga K: Association of Fc γ receptor gene polymorphisms in Japanese patients with systemic lupus erythematosus: Contribution of *FCGR2B* to the genetic susceptibility to SLE. *Arthritis Rheum* (in press)

4) Kawasaki A, Tsuchiya N, Hagiwara K, Takazoe M, Tokunaga K. Independent contribution of *HLA-DRB1* and TNF α promoter polymorphisms to the susceptibility to Crohn's disease. *Genes Immun*. 1: 351-357, 2000.

5) Komata T, Tsuchiya N, Matsushita M, Hagiwara K, Tokunaga K: Association of tumor necrosis factor receptor 2 (*TNFR2*)

polymorphism with susceptibility to systemic lupus erythematosus. *Tissue Antigens* 53: 527-533, 1999.

6) Huang D, Giscombe R, Zhou Y, Lefvert AK: Polymorphisms in CTLA-4 but not tumor necrosis factor- α or interleukin 1 β genes are associated with Wegener's granulomatosis. *J Rheumatol* 27: 397-401, 2000.

7) Nakamaru Y, Maguchi S, Takizawa M, Fukuda S, Inuyama Y. The association between human leukocyte antigens (HLA) and cytoplasmic - antineutrophil cytoplasmic antibody (cANCA) - positive Wegener's granulomatosis in a Japanese population. *Rhinology* 34: 163-165, 1996.

8) Fujii A, Tomizawa K, Arimura Y, Nagasawa T, Ohashi YY, Hiyama T, Mizuno S, Suzuki K. Epitope analysis of myeloperoxidase (MPO) - specific anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA) in MPO-ANCA-associated glomerulonephritis. *Clin Nephrol* 53: 242-252, 2000.

F. 健康危険情報 特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Wakui M, Yamaguchi A, Sakurai D, Ogasawara K, Yokochi T, Tsuchiya N,

Ikeda Y, Tokunaga K: Upregulated genes in the early phase of murine graft-versus-host reaction. *Biochem Biophys Res Commun* 282: 200-206, 2001.

2) Hagiwara K, Yamaguchi A, Tsuchiya N, Kitamura S, Iwadare J, Sahara R, Yamamoto K, Tokunaga K: Identification of genes differentially expressed in the inflamed colonic lesions of Crohn's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 283: 130-135, 2001.

3) 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: 436-442, 2001.

3). 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: 276-279, 2001.

4) Tsuchiya N, Kawasaki A, Tsao BP, Komata T, Grossman JM, Tokunaga K: Analysis of the association of *HLA-DRB1* and *TNFA* promoter polymorphisms with SLE using transmission disequilibrium test. *Genes Immun* 2:317-322, 2001.

5) Miyamasu M, Sekiya T, Ohta K, Ra C, Yoshie O, Yamamoto K, Tsuchiya N, Tokunaga K, Hirai K: Variations in the human CC chemokine eotaxin gene. *Genes*

Immun 2: 461-463, 2001.

6) 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. *Tissue Antigens* 58: 255-258, 2001.

7) Sirikong M, Tsuchiya N, Chandanayingyong D, Bejrachandra S, Suthipinittharm P, Luangtrakool K, Srinak D, Thongpradit R, Siriboonrit U, Tokunaga K: Association of *HLA-DRB1*1502 - DQB1*0501* haplotype with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Thais. *Tissue Antigens* (in press)

8) Kyogoku C, Dijstelbloem HM, Tsuchiya N, Hatta Y, Kato H, Yamaguchi A, Fukazawa T, Jansen MD, Hashimoto H, van de Winkel JGJ, Kallenberg CGM, Tokunaga K: Association of Fcγ receptor gene polymorphisms in Japanese patients with systemic lupus erythematosus: Contribution of *FCGR2B* to the genetic susceptibility to SLE. *Arthritis Rheum* (in press)

9) 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Fcγレセプター遺伝子の関連。蛋白質核酸酵素 46: 2337-2341, 2001.

2. 学会発表

1) 京極千恵子、土屋尚之、徳永勝士、山

口晃弘、深沢徹、橋本博史: ヒト Fcγ受容体 IIB(*FCGR2B*)多型と全身性エリテマトーデスの関連。日内会誌 90(Suppl.): 175, 2001.

2) 土屋尚之、徳永勝士: 候補遺伝子アプローチによる SLE 感受性遺伝子の検討。リウマチ 41: 336, 2001.

3) 市川奈緒美、小竹茂、箱田雅之、樋上謙士、川崎綾、土屋尚之、徳永勝士、鎌谷直之: 日本人慢性関節リウマチ(RA)患者における TNFα-promoter 領域の多型について。リウマチ 41: 484, 2001.

4) 山口晃弘、土屋尚之、山本一彦、徳永勝士: 慢性関節リウマチ患者滑膜における Id 遺伝子の発現。リウマチ 41: 507, 2001.

5) 川崎綾、土屋尚之、深沢徹、橋本博史、徳永勝士: BCMA(TNFRSF17)の変異解析と SLE および RA との関連の検討。リウマチ 41: 509, 2001.

6) 京極千恵子、土屋尚之、山口晃弘、深沢徹、橋本博史、徳永勝士: ヒト Fcγ受容体 IIB(*FCGR2B*)多型と全身性エリテマトーデス(SLE)の関連。リウマチ 41: 510, 2001.

7) 氷上光輝、土屋尚之、屋部登志雄、徳永勝士: ヒト NKG2-A 遺伝子の変異解析とリウマチ性疾患との関連の検討。リウマチ 41: 510, 2001.

8) Kawasaki A, Tsuchiya N, Fukazawa T, Hashimoto H, Tokunaga K: Presence of four major haplotypes in human BCMA gene: lack of association with SLE and RA. Presented at "B cells & Autoimmunity: New concepts & therapeutic perspectives"

- 19th - 21st July, Bergen, Norway. Abstract 48, p109.
- 9) Kuroki K, Tsuchiya N, Tsao BP, Grossman JM, Fukazawa T, Kano H, Iwata T, Hashimoto H, Tokunaga K. Association of *CD19* polymorphisms with SLE in Japanese. Presented at "B cells & Autoimmunity: New concepts & therapeutic perspectives" 19th - 21st July, Bergen, Norway. Abstract 29, p71.
- 10) Kyogoku C, Dijstelbloem HM, Tsuchiya N, Hatta Y, Kato H, Yamaguchi A, Fukazawa T, Jansen MD, Hashimoto H, van de Winkel JGJ: Association of Fcγ receptor IIB polymorphism with the susceptibility to human systemic lupus erythematosus (SLE). Presented at "B cells & Autoimmunity: New concepts & therapeutic perspectives" 19th - 21st July, Bergen, Norway. Abstract 30, p73.
- 11) Kawasaki A, Tsuchiya N, Fukazawa T, Hashimoto H, Tokunaga K: Lack of association of human *BCMA* polymorphisms with susceptibility to systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. Scand. J. Immunol. 54, Supplement 1, Tue512, 2001.
- 12) Kyogoku C, Dijstelbloem HM, Tsuchiya N, Hatta Y, Kato H, Yamaguchi A, Fukazawa T, Jansen MD, Hashimoto H, van de Winkel JGJ: Association of Fcγ receptor IIB polymorphism with the susceptibility to human systemic lupus erythematosus (SLE). Scand. J. Immunol. 54, Supplement 1, Tue523, 2001.
- 13) Hikami K, Tsuchiya N, Yabe T, Tokunaga K: New variations of human *NKG2* and *CD94* gene: lack of association with RA or SLE. Scand. J. Immunol. 54, Supplement 1, Tue532, 2001.
- 14) Kuroki K, Tsuchiya N, Tsao BP, Grossman JM, Fukazawa T, Kano H, Iwata T, Hashimoto H, Tokunaga K. Association of *CD19* polymorphisms with SLE in Japanese. Scand. J. Immunol. 54, Supplement 1, Tue534, 2001.
- 15) 氷上光輝、土屋尚之、屋部登志雄、徳永勝士: ヒトNKG2/CD94 遺伝子の変異スクリーニングと、リウマチ性疾患との関連の解析。日本人類遺伝学会第46回大会、p89, 2001.
- 16) 櫻井大祐、山口晃弘、土屋尚之、山本一彦、徳永勝士: 慢性関節リウマチ患者滑膜におけるFOSB 遺伝子の発現。日本人類遺伝学会第46回大会、p146, 2001.
- 17) 京極千恵子、Deijstelbloem HM, 土屋尚之、八田陽子、加藤仁、山口晃弘、深沢徹、Jansen MD, 橋本博史、van de Winkel JGJ, Kallenberg CGM, 徳永勝士: 日本人全身性エリテマトーデスにおける Fcγ受容体遺伝子群多型の解析: *FCGR2B* と *FCGR3* の関連。日本人類遺伝学会第46回大会、p151, 2001.
- 18) Tokunaga K, Tsuchiya N: Search for

susceptibility genes to SLE. The fourth cardiovascular genomics symposium. P19. 2001. 10.26. (Seoul)

19) Kyogoku C, Dijkstra HM, Tsuchiya N, Hatta Y, Kato H, Yamaguchi A, Fukazawa T, Jansen MD, Hashimoto H, van de Winkel JGJ, Kallenberg CGM, Tokunaga K: Association of Fc γ receptor gene polymorphisms in the Japanese patients with SLE: Independent contributions from *FCGR2B* and *FCGR3A*. *Arthritis Rheum* 44 (Suppl.): S179, 2001.

20) Sakurai D, Yamaguchi A, Tsuchiya N, Yamamoto K, Tokunaga K: Expression of ID family genes in the synovia from patients with rheumatoid arthritis, *Arthritis Rheum* 44 (Suppl.): S181, 2001.

21) 関谷剛、宮増美里、義江修、土屋尚之、徳永勝士、羅智靖、松島綱治、山本一彦、平井浩一：CCL17:TARC(thymus and activation-regulated chemokine) & CCL22:MDC (macrophage-derived chemokine)の遺伝子多型解析。日本免疫学会総会学術集会記録 31: 32, 2001.

22) 櫻井大祐、山口晃弘、土屋尚之、山本一彦、徳永勝士：慢性関節リウマチ患者滑膜におけるFOSB遺伝子の発現。日本免疫学会総会学術集会記録 31: 57, 2001.

23) 川崎綾、土屋尚之、深沢徹、松多邦雄、橋本博史、徳永勝士：BCMA(TNFRSF17), BlyS(TNFSF13B)の変異解析とSLEおよび

RAとの関連の検討。日本免疫学会総会学術集会記録 31: 59, 2001.

24) Kyogoku C, Dijkstra HM, Tsuchiya N, Yamaguchi A, Fukazawa T, Jansen MD, Hashimoto H, van de Winkel JGJ, Kallenberg CGM, Tokunaga K: Fc γ receptor gene polymorphisms in the Japanese patients with SLE: Association of *FCGR2B* and *FCGR3A*. 日本免疫学会総会学術集会記録 31: 66, 2001.

25) Kuroki K, Tsuchiya N, Fujimoto M, Tsao BP, Grossman JM, Fukazawa T, Hashimoto H, Tokunaga K: Association of dinucleotide repeat polymorphism within the CD19 3'UTR with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Japanese. 日本免疫学会総会学術集会記録 31: 73, 2001.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

申請につき検討中。

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表1 患者背景

Diagnosis	n ¹	male : female	age	P-ANCA (+)	C-ANCA (+)
Microscopic polyangiitis	50	19:31	66.1 ± 11.4	50	3
Churg–Strauss syndrome	10	7:3	65.1 ± 10.7	9	1
Wegener’s granulomatosis	8	5:3	45.8 ± 15.8	3	7
Classical polyarteritis nodosa	6	5:1	63.3 ± 14.2	3	0
Others	8	5:3	62.2 ± 6.9	5	3

¹1名の症例は、MPA と CSS 両方の診断基準を満足した。

表2. 日本人 ANCA 関連血管炎における *HLA-DRB1* 陽性率

	MPA (%)		P-ANCA (%)		対照(%)	
	(n = 50)		(n = 71)		(n = 265)	
0101	5	(10.0)	8	(11.3)	26	(9.8)
0401	3	(6.0)	4	(5.6)	6	(2.3)
0403	2	(4.0)	3	(4.2)	13	(4.9)
0405	8	(16.0)	11	(15.5)	65	(24.5)
0406	2	(4.0)	4	(5.6)	19	(7.2)
0407	3	(6.0)	4	(5.6)	6	(2.3)
0410	2	(4.0)	2	(2.8)	5	(1.9)
0802	4	(8.0)	5	(7.0)	18	(6.8)
0803	9	(18.0)	13	(18.3)	37	(14.0)
0901	25	(50.0) ¹	35	(49.3) ²	77	(29.1)
1101	4	(8.0) ³	7	(9.9) ⁴	5	(1.9)
1201	1	(2.0)	1	(1.4)	19	(7.2)
1202	1	(2.0)	1	(1.4)	11	(4.2)
1302	5	(10.0)	8	(11.3)	51	(19.2)
1401	1	(2.0)	2	(2.8)	13	(4.9)
1403	2	(4.0)	3	(4.2)	10	(3.8)
1405	0	(0)	0	(0) ⁵	17	(6.4)
1406	1	(2.0)	1	(1.4)	7	(2.6)
1501	8	(16.0)	11	(15.5)	29	(10.9)
1502	9	(18.0)	10	(14.1)	54	(20.4)
1602	0	(0)	0	(0)	8	(3.0)
others	1	(2.0)	2	(2.8)	13	(4.9)

¹P=0.0037, Pc=0.074, ²P=0.0013, Pc=0.026, ³P=0.039, Pc=0.79, ⁴P=0.0046, Pc=0.092,
⁵P=0.029, Pc=0.58

P 値に検出されたアリル数 20 を乗じたものを補正 P 値(Pc)とした。

表3. *HLA-DRB1*0901* と P-ANCA との関連

	n	<i>DRB1*0901</i> (+) (%)	P ¹
MPA ²	50	25 (50.0)	0.0037
CSS	10	6 (60.0)	0.046
WG	8	2 (25.0)	

total P-ANCA(+)	71	35 (49.3)	0.001
P-ANCA(+), 腎症状 (+)	49	25 (51.0)	0.0025
P-ANCA(+), 呼吸器症状(+)	37	16 (43.2)	
P-ANCA(+), 腎・呼吸器症状 (+)	29	13 (44.8)	

P-ANCA(+), MPA 以外の血管炎 ³	21	10 (47.6)	0.08
P-ANCA(-) 血管炎 ⁴	7	2 (28.6)	

対照群	265	77 (29.1)	

¹P 値は対照群との比較。

²MPA 患者は全例 P-ANCA 陽性であった。

³CSS (9), WG (3) それ以外 (12).

⁴WG (4), classical PN (2), CSS (1).

表 4. 日本人 AAV における TNF α プロモータ・ハプロタイプと TNFR2 (TNFRSF1B) - 196M/R 遺伝子型頻度.

	MPA (n = 50)	CSS (n=10)	WG (n=8)	P-ANCA(+) (n = 71)	対照 (n = 265)
TNF α promoter					
Carrier frequency					
<i>TNFA-U01</i> ¹	47 (94.0)	10 (100)	7 (87.5)	67 (94.4)	232 (87.5)
<i>TNFA-U02</i>	15 (30.0)	0 (0) ²	3 (37.5)	20 (28.2)	83 (31.3)
<i>TNFA-U03</i>	9 (18.0)	2 (20.0)	2 (25.0)	13 (18.3)	69 (26.0)
<i>TNFA-U04</i>	2 (4.0)	0 (0)	0 (0)	4 (5.6)	14 (5.3)
Haplotype frequency					
<i>TNFA-U01</i>	72 (72.0)	18 (90.0)	11 (68.8)	103 (72.5)	349 (65.8)
<i>TNFA-U02</i>	16 (16.0)	0 (0)	3 (18.8)	21 (14.8)	94 (17.7)
<i>TNFA-U03</i>	10 (10.0)	2 (10.0)	2 (12.5)	14 (9.9)	73 (13.8)
<i>TNFA-U04</i>	2 (2.0)	0 (0)	0 (0)	4 (2.8)	14 (2.6)

<i>TNFR2</i>					
196M/M	42 (84.0)	6 (60.0)	6 (75.0)	56 (78.9)	205 (78.5)
196M/R	8 (16.0)	4 (40.0)	2 (25.0)	14 (19.7)	54 (20.4)
196R/R	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1.4)	3 (1.1)

¹*TNFA-U01 - U04* は、プロモータ領域-1031, -863, -857 の 3 個所の SNP によって形成されるハプロタイプである。*U01*: TCC, *U02*: TCT, *U03*: CAC, *U04*: CCC (1,2). なお、日本人集団では-308A の頻度は非常に低く、患者中 1 例のみであった。

²P=0.035

表 5. 日本人 AAV 患者の *FCGR2A*, *2B*, *3A*, *3B* 遺伝子型

遺伝子型		MPA (n = 50)	CSS (n=10)	WG (n=8)	P-ANCA(+) (n = 71)	対照 (n = 303)
<i>FCGR2A</i>	131H/H	36 (72.0)	6 (60.0)	4 (50.0)	49 (69.0)	197 (65.0)
	131H/R	14 (28.0)	4 (40.0)	3 (37.5)	22 (31.0)	95 (31.4)
	131R/R	0 (0)	0 (0)	1 (12.5)	0 (0)	11 (3.6)
<i>FCGR2B</i>	232 I/I	32 (64.0)	7 (70.0)	3 (37.5)	45 (63.4)	183 (60.4)
	232 I/T	16 (32.0)	3 (30.0)	3 (37.5)	23 (32.4)	104 (34.3)
	232 T/T	2 (4.0)	0 (0)	2 (25.0)	3 (4.2)	16 (5.3)
<i>FCGR3A</i>	176F/F	30 (60.0)	4 (40.0)	3 (37.5)	39 (55.0)	145 (47.8)
	176F/V	18 (36.0)	5 (50.0)	5 (62.5)	28 (39.4)	132 (43.6)
	176V/V	2 (4.0)	1 (10.0)	0 (0)	4 (5.6)	26 (8.6)
<i>FCGR3B</i>	NA1/1	21 (42.0)	3 (30.0)	2 (25.0)	29 (40.9)	116 (38.3)
	NA1/2	26 (52.0)	7 (70.0)	4 (50.0)	38 (53.5)	145 (47.8)
	NA2/2	3 (6.0)	0 (0)	2 (25.0)	4 (5.6)	42 (3.9)

遺伝子型組み合わせ						
<i>FCGR2A</i> H/H かつ <i>3A</i> F/F						
		23 (46.0)*	1 (10.0)	1 (12.5)	27 (38.0)	91 (30.0)

*P=0.025. ほかの組み合わせでは、有意差はみられなかった。

表 6. 日本人 AAV における CTLA-4 3' 非翻訳領域 (AT)_n アリル頻度

アリル (bp)	MPA (2n = 98)	CSS (2n=20)	WG (2n=16)	P-ANCA (+) (2n = 140)	対照 (2n = 222)
86	27 (27.6)	4 (20.0)	3 (18.8)	33 (23.6)	50 (22.5)
100	1 (1.0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)	2 (1.9)
102	16 (16.3)	3 (15.0)	1 (6.3)	23 (16.4)	40 (18.0)
104	34 (34.7)	7 (35.0)	8 (50.0)	50 (35.7)	70 (31.5)
106	4 (4.1)	5 (25.0)*	2 (12.5)	11 (7.9)	21 (9.5)
108	7 (7.1)	0 (0)	1 (6.3)	9 (6.4)	19 (8.6)
110	0 (0)	0 (0)	1 (6.3)	0 (0)	4 (1.8)
116	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)
118	1 (1.0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.4)	3 (1.4)
122	4 (4.1)	0 (0)	0 (0)	4 (2.9)	4 (1.8)
124	0 (0)	1 (5.0)	0 (0)	2 (1.4)	0 (0)
126	1 (1.0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.4)	5 (2.3)
128	3 (3.1)	0 (0)	0 (0)	3 (2.1)	1 (0.5)
130	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (0.9)

*P=0.048, Pc=NS

21. 高安動脈炎の新たな遺伝要因

分担研究者 小林 靖 東京医科歯科大学大学院 循環制御学科

研究要旨

高安動脈炎はその成因が不明な難治性の大型血管炎である。一卵性双生児例などの研究から、その発症には遺伝要因の関与が示唆されている。これまで免疫抑制遺伝子である HLA-B52 や B39.2 と高安動脈炎発症との強い関与が示された。さらに新たな遺伝要因の同定を行うため、HLA 遺伝子群周囲の領域をマイクロサテライトマーカーを用いて解析を行ったところ、上述した HLA-A 遺伝子に加え、C-1-2-A*218 マーカーとの相関が明らかになった。そこで、この周囲の遺伝子を塩基レベルで検討したところ、IKB 類似蛋白 (IKBL1) として報告されており遺伝子プロモーター上の多型が有意に本症と相関していることが明らかになった。本蛋白の機能は全く明らかでないが、新たな遺伝要因として注目される。

A. 研究目的

高安動脈炎は若い女性に好発する難治性の大型血管炎である。その成因は不明であるが、一卵性双生児例などの存在から、本症の発症には遺伝要因の存在が示唆されている。遺伝要因は複数の遺伝子から構成されていると考えられる。

これまで我々は免疫制御遺伝子 HLA が高安動脈炎と強く相関していることを見いだしてきた。本邦においては HLA クラス I 分子 HLA-B52 ならびに B39.2 が本症発症と強く結びついていることが明らかになって

いる。

本研究では、高安動脈炎の新たな遺伝要因を検討するため、リンケージ解析を行い、さらに塩基レベルで解析を通じて、高安動脈炎発症と強く相関する多型を検討する。

B. 研究方法

高安動脈炎の新たな遺伝要因を検討するため、マイクロサテライトマーカーを用いて、染色体 6 番上 HLA 遺伝子群周囲領域についてリンケージ解析を行った。さらに、有意に相関するマーカー周囲を塩基レベルで

検討し、本症発症と相関する多型を検討した。

C. 研究結果

HLA 遺伝子群周囲の領域をマイクロサテライトマーカーを用いて解析を行ったところ、上述した HLA-A 遺伝子に加え、C-1-2-A*218 マーカーとの相関が明らかになった。そこで、この周囲の遺伝子を塩基レベルで検討したところ、IKB 類似蛋白 (IKBL1) として報告されており遺伝子プロモーター上の多型が有意に本症と相関していることが明らかになった。

D. 考察

本研究の結果、これまで知られていた HLA クラス I 分子以外に新たな遺伝要因が存在する可能性が示された。今回報告された IKB 類似蛋白 (IKBL1) は炎症制御転写因子 NF- κ B の活性を制御する I κ B と一次構造が類似するものとして単離されてきた遺伝子であるが、今のところその機能は全く明らかではない。

今回見いだされた多型はプロモーター上に存在するため、この IKBL1 の発現制御に大きく影響を与えることが想像される。

本邦の高安動脈炎発症と有意に相関する HLA-B52 について、この B52

を持つ患者と持たない患者を比較検討すると B52 陽性例は有意に炎症が強く、治療に要したステロイドが多く、さらに大動脈弁閉鎖不全などの重篤な合併症の割合も有意に多い。このように遺伝要因は本症の重要な成因であることが明らかになっている。

E. 結論

今回、本邦高安動脈炎の新たな遺伝要因の存在が明らかになった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. Takahashi M, Kobayashi Y, Ichiki M, Ouchi H, Numano F, Kimura A: HLA-linked susceptibility and resistance to Bueger's disease in Japanese. MHC 5:7-12, 1999
2. Numano F, Kobayashi Y: Takayasu arteritis - beyond pulselessness Internal Medicine 38: 226-232, 1999
3. Brown M, Ramprasad M, Umeda P, Tanaka A, Kobayashi Y, Watanabe T, Shimoyamada H, Kuo W, Li R, Song R, Bradley W, Gianturco S: A macrophage

receptor for apolipoprotein B48: cloning, expression, and atherosclerosis. Proc. Natl.Acad. Sci. USA 97: 7488-7493, 2000

4. Gustavo M, Hashimoto Y, Kobayashi Y, Maruyama Y, Numano F: Usefulness of β blocker therapy in patients with Takayasu arteritis and moderate or severe regurgitation. Japanese Heart Journal 41: 325-337, 2000

5. Tamura M, Tanaka A, Kobayashi Y, Nihei Z, Numano F: Expression of Apolipoprotein B-100 in isolated human small intestinal epithelium. Hormone and Metabolic Research.32:343-349, 2000

6. Numano F, Kishi Y, Tanaka A, Ohkawara M, Kakuta T, Kobayashi Y : Inflammation and atherosclerosis Atherosclerotic lesions in Takayasu arteritis. Atherosclerosis V Annals of the New York Academy of Science 904 : 65-76, 2000

7. Numano F, Okawara M, Inomata H, Kobayashi Y: Takayasu's arteritis. Lancet 356: 1023-1025, 2000

8. Yokoseki O, Suzuki J, Kitabayashi H, Watanabe N, Wada Y., Futamatsu H, Kobayashi Y,

Isobe M: cis Element "Decoy" Against Nuclear Factor-kappa B Attenuates Development of Experimental Autoimmune Myocarditis in Rats. Circulation Research, in press

9. Haraguchi G, Kobayashi Y, Tanaka A, Isobe M, Brown ML, William A. WA, Gianturco SH: Peroxisome proliferator-Activated receptor-a and g Ligands Inhibit Expression of the Monocyte-Macrophage Apolipoprotein B-48 Receptor in Human Monocytes and THP-1 Cells. Circulation, in press

10. Kobayashi Y, Numano F: Takayasu Arteritis. Internal Medicine, in press.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

22. 自然発症モデルマウスにおける MPO-ANCA 産生感受性遺伝子の解析

分担研究者 濱野慶朋 順天堂大学医学部第二病理学

研究要旨：MPO-ANCA はヒト多発性動脈炎の発症や活動性と相関する。(NZB x NZW) F1 マウスには多発性動脈炎の発症と MPO-ANCA の産生が認められるので、今回我々は (NZB x NZW) F1 x NZW 退交配マウスを用い、血清 ANCA 力価を形質としてその感受性遺伝子のマッピングを行った。雌(NZB x NZW) F1 x NZW 退交配マウス 220 匹を作製し、8 ヶ月齢の血清抗ヒト MPO-ANCA および抗マウス MPO-ANCA を ELISA にて測定し、148 個のマイクロサテライトマーカーを用いてタイピングを行い、MapManager QT ソフトによるマッピングを行った。その結果、(1)抗ヒトおよび抗マウス MPO-ANCA 力価は有意に相関した。(2)第 7 染色体に抗ヒト MPO-ANCA 産生感受性領域の存在が示唆されたが、抗マウス MPO-ANCA 産生感受性領域の存在は認められなかった。(3)抗マウス MPO-ANCA は IgM クラス自己抗体レベルと相関するに留まるのに対し、抗ヒト MPO-ANCA は IgM、IgG 両クラスの抗 dsDNA、抗 ssDNA、抗クロマチン抗体と有意に相関し、血管炎を有する個体群で有さない群より高値であった。(4)抗マウス MPO-ANCA は退交配マウスの H-2 (マウスの MHC) ハプロタイプと相関しなかったが、抗ヒト MPO-ANCA は、他の自己抗体と同様に H-2 と有意な相関が認められた。本モデルにおいては標的抗原としてヒト MPO を用いた解析が有用であり、その産生感受性遺伝子は我々が見出した BXSB マウスの半月体形成性腎炎発症感受性遺伝子と連鎖していることから、これらの位置的候補遺伝子との関連を検討していきたい。

A. 研究目的

抗好中球細胞質自己抗体 (ANCA) は、P-ANCA と C-ANCA に分類される。前者は対応抗原として好中球中の myeloperoxidase (MPO) が同定されて、現在 MPO-ANCA として定量測定されている。MPO-ANCA は当初、多発性動脈炎、特に顕微鏡的多発性動脈炎の発症との関連が重視されていたが、最近ではそれらに加え半月体形成性腎炎の一部や川崎病、SLE に伴う動脈炎との関連が注目されている。一方、New Zealand Black (NZB) マウスでは自己抗体の産生や自己免疫性溶血性貧血といった自己免疫現象が認められるが、NZB と New Zealand White (NZW) との雑種第一代 (NZB x NZW) F1 マウスでは、ヒトの SLE に酷似した病態を示すことが知られている。興味深いことに (NZB x NZW)

F1 マウスは IgG クラス抗 DNA 抗体の産生やループス腎炎に加え、多発性壊死性動脈炎もしばしば合併し、しかも血清 MPO-ANCA が高値を示す。これらはいずれも遺伝的に規定され自然発症する形質なので、New Zealand マウスのゲノムには動脈炎発症や MPO-ANCA 産生の関連遺伝子が存在すると考えられる。今回我々は、ヒトおよびマウスの MPO を標的とした血清 MPO-ANCA レベルを形質とし、連鎖解析により MPO-ANCA 関連遺伝子のマッピングを試み、また、MPO-ANCA と他の自己免疫関連形質との関わりを解析した。

B. 研究方法

(1)雌(NZB x NZW) F1 x NZW 退交配マウス 220 匹を作製し、8 ヶ月齢で末梢血を採取し、

白血球数を測定した後、血清を採取した。

(2)血清 MPO-ANCA 値は ELISA にて測定した。即ち 96 穴プレートに鈴木らにより作製されたヒトまたはマウスのリコンビナント MPO 抗原を固相化し、50 倍希釈した血清を室温で 1 時間反応させた。洗浄後、alkaline phosphatase を結合した抗マウス IgG 抗体と反応させ、さらに洗浄後、*p*-nitrophenylphosphate disodium を加え検出した。スタンダードとして 10 倍希釈した 8 か月齢の (NZB x NZW) F1 マウス血清を用いた。ANCA レベルはスタンダードを 1000unit/ml とした。

(3)血清自己抗体 (IgM および IgG クラスの抗 dsDNA 抗体、抗 ssDNA 抗体、抗クロマチン抗体) 力価を ELISA で測定した。

(4)NZB と NZW の間に多型の存在するマイクロサテライトマーカー (プライマー対) 148 個を用い、隣接するマーカー間が 20 センチモルガン以下になるよう計画して全ゲノムスキャンを行った。

(5)遺伝子型と形質、および形質相互の統計解析には StatView ソフトを、QTL マッピングには MapManager QT ソフトを用いた。

C. 結果

(1) 8 ヶ月齢の退交配マウスの血清抗ヒト MPO-ANCA レベルは 61.3 ± 187 unit/ml であった。そのヒストグラムを図 1 に示す。また、抗マウス MPO-ANCA レベルは 95.7 ± 336 unit/ml であった。

(2)図 2 に示すように、血清抗ヒト MPO-ANCA レベルを量的形質とし、220 匹の退交配マウスと 148 個のマーカーにより QTL 解析を MapManager QT ソフトを用いて行ったところ、第 7 染色体セントロメアに存在する *D7MIT21* の座位に尤度比のピークを認め、10 を底とした尤度比対数スコアは 2.2 であった。しかし抗マウス MPO-ANCA を形質とした同様の解析では、形質感受性遺伝

子は認められなかった。

(3)(2)で検出されたマウス第 7 染色体セントロメアに存在するマーカー (*D7MIT21*) の遺伝子型により、退交配マウスを WW 型 (NZW/NZW ホモ型) と BW 型 (NZB/NZW ヘテロ型) の 2 群に分類したところ、WW 型群退交配マウスで有意に高い ($P < 0.005$) ANCA レベルを示した。また、病理組織学的に血管炎の認められた群では血管炎のない群より有意に MPO-ANCA が高値であった (図 3)。

(4)MPO-ANCA は退交配マウスのうち H-2 ハプロタイプ d/z 型の群で、z/z 型の群より有意に高値であった。また、退交配マウスを H-2 ハプロタイプと *D7MIT21* により 4 群に分類すると、H-2 が d/z 型かつ *D7MIT21* が WW 型の群で MPO-ANCA は最高値を示し (図 4)、図 1 における MPO-ANCA が極めて高値の個体は全てこの群に含まれた。

(4)表に示すように、抗マウス MPO-ANCA は IgM クラス抗 dsDNA 抗体、抗 ssDNA 抗体、抗クロマチン抗体と有意に相関を示したが、IgG クラスの自己抗体とは相関しなかった。一方、抗ヒト MPO-ANCA は IgM、IgG 両クラスの抗 dsDNA 抗体、抗 ssDNA 抗体、抗クロマチン抗体及び血管炎と有意に相関した。

D. 考察と結論

(NZB x NZW) F1 マウスには、高力価の IgG クラス自己抗体の産生やループス腎炎の発症など、ヒトの SLE に類似した自己免疫現象が認められるが、血管周囲の炎症細胞浸潤、細動脈の硝子様変性・PAS 陽性物質の沈着、フィブリノイド変性、癒痕化などを特徴とする多発性動脈炎も自然発症する。一方、ANCA はヒトの血管炎の発症との関連性が認められ、現在その力価は病勢の指標としても重要視されている。モデルマウスにおいても、血管炎及び半月体形成性腎炎の病因として ANCA

が示唆されている¹⁾。我々は、(NZB x NZW) F1 マウスにも ANCA の産生が認められることを見いだしたので、その産生感受性遺伝子の同定と、これと動脈炎発症との関連の有無を調べるため本研究を計画した。MPO-ANCA は、ヒト MPO およびマウス MPO を抗原としたものを同一の検体を用いて測定した。Lander²⁾らの区間マッピングに基づいた量的遺伝子解析ソフト MapManager QT を用いて、血清 ANCA を量的形質として全ゲノムを検索したところ、ヒト MPO を標的としたとき NZW の第 7 染色体セントロメア側に尤度比対数スコア (ロッドスコア) 2.2 のピークを認めた。この領域に ANCA 関連遺伝子の存在する可能性は、この遺伝子領域を持つ退交配マウスに有意に ANCA レベルが高いという事実で裏付けられた。一方、マウス MPO を抗原とした抗マウス MPO-ANCA を形質として QTL 解析を行ったが、その産生感受性遺伝子は見い出せず、第 7 染色体上のロッドスコアも 1 に満たなかった。そこで、抗マウス及び抗ヒト MPO-ANCA と自己抗体を含む他の形質との関連を解析したところ、抗マウス MPO-ANCA が相関したのは IgM クラスの自己抗体レベルのみなのに対し、抗ヒト MPO-ANCA は IgM・IgG 両クラスの自己抗体レベル及び血管炎の有無と有意な相関を認めた。(NZB x NZW) F1 マウスにおいて自己免疫疾患をひきおこすのは主に高力価の IgG クラス自己抗体であり、そのほとんどが H-2 ハプロタイプの影響を強く受けている³⁾。今回検討した 2 種類の MPO-ANCA では、ヒト MPO には病的 ANCA 抗原決定基が含まれていると考えられたが、マウス MPO にはこれが含まれていなかった可能性があり、病的 ANCA 抗原決定基の解析が必要と考えられた。

興味深いことに、今回第 7 染色体セントロメア側に同定された座位は我々が見出した BXSB マウスにおける半月体形成性腎炎素因遺伝子と強く連鎖している⁴⁾。この腎炎素因

遺伝子は *Yaa* に依存しない、NZW 由来の修飾因子であり、半月体形成性腎炎が MPO-ANCA 関連疾患であることを考慮すると今回の MPO-ANCA 産生感受性遺伝子の本態と密接に関連している可能性がある。これらの近傍には位置的候補遺伝子として *Cd22*、*Tgfb1*、*Il11*、*Cd79a*、*Idd7* などの免疫調節性遺伝子や自己免疫疾患関連遺伝子が存在するので、今後腎炎や動脈炎、ANCA との関係の検索が必要である。

[文献]

1. Kinjoh K, Good RA, Jennette JC et al. SCG/Kj mice develop crescentic glomerulonephritis, vasculitis, and MPO-specific P-ANCA. *Clin Exp Immunol* 1995;101(suppl): 53.
2. Lander ES and Botstein D. Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 1989; 121:186-199.
3. Hirose S, Jiang Y, Hamano Y and Shirai T. Genetic Aspects of Inherent B-cell abnormalities associated with SLE and B-cell malignancy: lessons from New Zealand mouse models. *Intern Rev Immunol* 2000;19:389-421.
4. 小寺ほか. ループス腎炎感受性遺伝子群の解析. SLE モデル(NZW x BXSB)F1 モデルにおける性差. *順天堂医学* 1998;44:152-166.

E. 研究発表

1. 論文発表

Hirose S, Jiang Y, Hamano Y and Shirai T. Genetic aspects of inherent B-cell abnormalities associated with SLE and B-cell malignancy in New Zealand mouse

strains. *Int Rev Immunol* 2000; 19: 389-421.

Fujii H, Yoshida M, Gong ZX, Matsumoto, T, Hamano Y, Fukunaga M, Hruban RH, Gabrielson E and Shirai T. Frequent genetic heterogeneity in the clonal evolution of gynecological carcinosarcoma and its influence on phenotypic diversity. *Cancer Research* 2000; 60: 114-120.

Jiang Y, Hirose S, Abe M, Sanokawa-Akakura R, Ohtsuji M, Mi X, Li N, Xiu Y, Zhang D, Shirai J, Hamano Y, Fujii H and Shirai T. Polymorphisms in IgG Fc receptor IIB regulatory regions associated with autoimmune susceptibility. *Immunogenetics* 2000; 51:429-435.

2. 学会発表

濱野慶朋、広瀬幸子、白井俊一 B細胞性慢性リンパ性白血病の発症機序の解析 第31回日本免疫学会総会・学術集会 2001 大阪国際会議場、大阪。

Proceedings of the Japanese Society for Immunology 2001; 31: 174.

Hamano Y, Hirose S, Fujii H and Shirai T. Genetic Basis of B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL) in a spontaneous model of NZW mice. 5th Joint Conference of the American Association for Cancer Research and the Japanese Cancer Association, February 12-16, 2001, Maui Marriott Hotel, Maui, Hawaii.

F. 健康危険情報、知的財産権の出願等

なし。

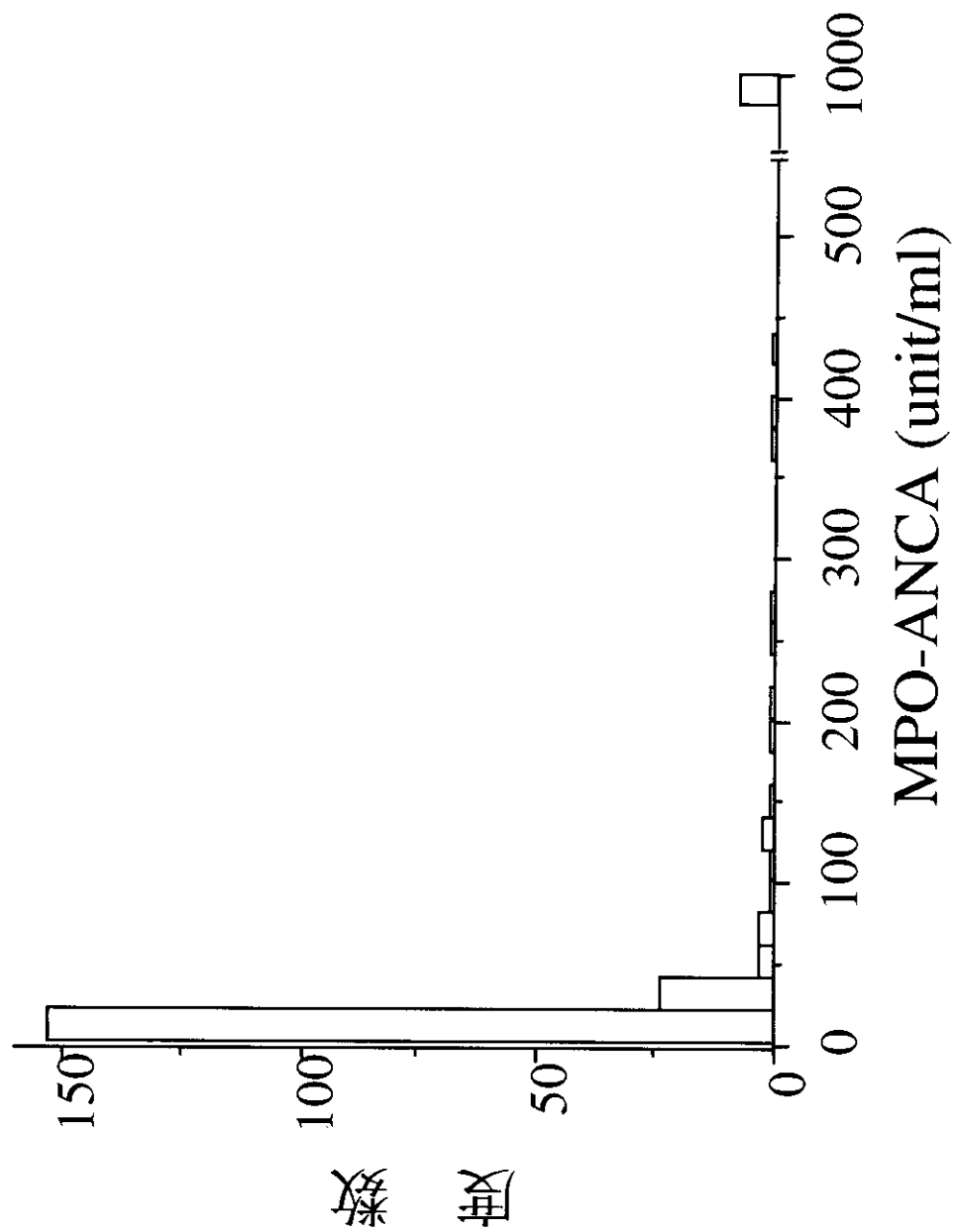


図1 (NZB x NZW) F1 x NZW 退交配マウスにおける抗ヒトMPO-ANCAレベル.

Chromosome 7

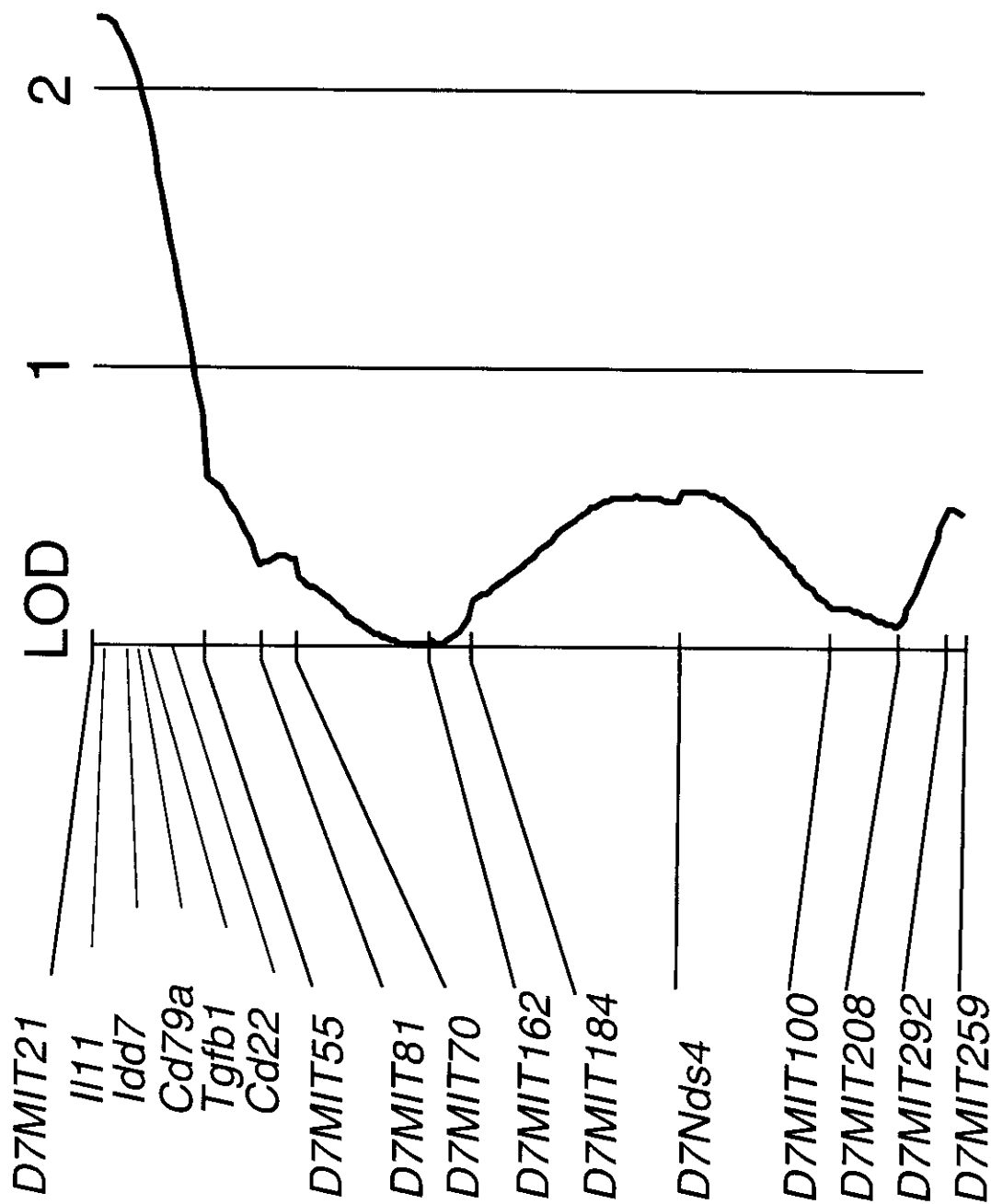


図2 抗ヒトMPO-ANCA産生感受性遺伝子のマッピング. 抗ヒトMPO-ANCAを量的形質としてMapManager QTを用いてマッピングを行ったところ、マウス第7染色体セントロメア側にMPO-ANCA産生感受性遺伝子の存在が示唆された。