

厚生科学研究（特定疾患対策研究事業）

ベーチェット病に関する研究

平成13年度 総括研究報告書

主任研究者 大野重昭

平成14（2002）年 3月

目次

I. 班員名簿

II. 総括研究報告

III. 分担研究報告

1. 『ベーチェット病患者における HLA-B 遺伝子領域および MICA 遺伝子領域のシーケンシング解析』
分担研究者 猪子英俊（東海大学医学部分子生命科学系遺伝情報部門）
2. 『ベーチェット病における MICA アリル解析』
分担研究者 水木信久（横浜市立大学医学部眼科学教室）
3. 『ベーチェット病モデルマウスの開発』
分担研究者 木村 穰（東海大学医学部分子生命科学系遺伝情報部門）
4. 『イラン・トルコ人のベーチェット病患者における CTLA4 遺伝子多型解析』
分担研究者 太田正穂（信州大学医学部法医学教室）
5. 『ベーチェット病における MICA 膜貫通部分ペプチドと反応する T 細胞の解析』
分担研究者 桑名正隆（慶応大学医学部先端医学研究所細胞情報研究部門）
6. 『末梢血形質細胞様樹状細胞を用いた抗原特異的免疫応答の制御』
分担研究者 桑名正隆（慶応大学医学部先端医学研究所細胞情報研究部門）
7. 『ベーチェット病における Th1 型炎症と T_H17』
分担研究者 岳野光洋（聖マリアンナ医科大学 免疫学・病害動物学）
8. 『ベーチェット病の自然免疫と獲得免疫』
分担研究者 岳野光洋（聖マリアンナ医科大学 免疫学・病害動物学）
9. 『ベーチェット病における T 細胞遊走性ケモカインの関与』
分担研究者 藤野 雄次郎（東京厚生年金病院眼科）

10. 『ベーチェット病患者末梢血白血球におけるケモカイン受容体発現の関与について』
分担研究者 金子史男（福島県立大学皮膚科）
11. 『ベーチェット病でモデル動物を用いた免疫制御に関する研究』
分担研究者 小野江和則
（北海道大学遺伝子病制御研究所病態研究部門免疫応答分野）
12. 『前房水免疫抑制物質により誘導される調節性 T 細胞の投与による自己免疫性網膜ぶどう膜炎の抑制』
分担研究者 小竹 聡（北海道大学大学院医学研究科視覚器病学分野）
13. 『ベーチェット病による難治性ぶどう膜炎のあたらしい治療に関する研究』
分担研究者 中村 聡（横浜市立大学医学部眼科学教室）
14. 『ELISPOT 法によるベーチェット病患者末梢血のサイトカインの動態の解析—抗 TNF α 抗体療法前後のサイトカイン産生細胞の動態—』
分担研究者 石ヶ坪良明（横浜市立大学医学部第一内科）
15. 『ベーチェット病に関する調査研究—ファージクローンによる IL-6 阻害分子の開発—』
分担研究者 吉崎和幸（大阪大学健康体育学部健康医学第一部門，
大阪大学大学院医学研究科分子病態医学専攻生理病態学）
16. 『ベーチェット病皮膚病変部における Bes1DNA 検出の意義について』
分担研究者 金子史男（福島県立医科大学皮膚科）
17. 『Bes-1 抗原を発現する大腸菌の作製』
分担研究者 木村浩一（北海道工業大学福祉生体工学科）
18. 『*Streptococcus sanguis* 感染ノトパイオートマウスにおける口腔粘膜障害の重症度と全身応答との関連性』
分担研究者 磯貝恵美子（北海道医療大学歯学部口腔衛生）

19. 『合成抗菌ペプチドCap18活性ドメインおよびその誘導体の粘膜感染症への応用』
分担研究者 磯貝恵美子（北海道医療大学歯学部口腔衛生学教室）
20. 『ペーチェット病患者口腔由来 *Streptococcus sanguis* に対する Cap18 活性ドメインおよびその誘導体の殺菌活性』
分担研究者 磯貝恵美子（北海道医療大学歯学部口腔衛生）
21. 『ペーチェット病のネオーラル®治療』
分担研究者 小竹 聡（北海道大学大学院医学研究科視覚器病学分野）
22. 『ペーチェット病に対するシクロスポリン MEPC 製剤の臨床成績』
分担研究者 藤野雄次郎（東京厚生年金病院眼科）
23. 『ペーチェット病眼症に対する硝子体手術－特に血管増殖を伴うものについて－』
分担研究者 藤野雄次郎（東京厚生年金病院眼科）
24. 『ペーチェット病患者におけるシクロスポリン療法と神経症状との関連』
分担研究者 福原俊一（京大大学院医学研究科社会健康医学専攻理論疫学分野）

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

V. 第一回班会議プログラム

VI. 第二回総会プログラム

I. 班員名簿

<区分>	<氏名>	<所属>	<役職>
主任研究者	大野 重昭	北海道大学大学院医学研究科 視覚器病学分野	教授
分担研究者	猪子英俊	東海大学医学部 分子生命科学系遺伝情報部門	教授
	木村 穰	東海大学医学部 分子生命科学系遺伝情報部門	教授
	小野江和則	北海道大学遺伝子病制御研究所 免疫応答分野	所長・教授
	藤野雄次郎	東京厚生年金病院 眼科	部長
	吉崎和則	大阪大学健康体育部健康医学第一部門	教授
	岳野光洋	聖マリアンナ医科大学免疫学・病害動物学教室	講師
	太田正穂	信州大学医学部 法医学教室	講師
	磯貝恵美子	北海道医療大学歯学部口腔衛生学	助手
	小竹 聡	北海道大学医学部附属病院眼科	講師
	福原俊一	京都大学大学院医学研究科 理論疫学分野	教授
	桑名正隆	慶應義塾大学医学部先端医学研究所細胞情報研究部門	講師
	石ヶ坪良明	横浜市立大学医学部第一内科学教室	教授
	金子史男	福島県立医科大学医学部皮膚科学教室	教授
	水木信久	横浜市立大学医学部眼科学教室	助手
中村 聡	横浜市立大学医学部眼科学教室	講師	
木村浩一	北海道工業大学 福祉生体工学科福祉医療科学部門	助教授	
研究協力者	稲葉 裕	順天堂大学医学部衛生学教室	教授
事務局	陳 進輝	北海道大学医学部附属病院眼科 〒060-8638 札幌市北区北15条西7丁目 北海道大学大学院医学研究科視覚器病学分野内 TEL: (011)706-5944 直通 FAX: (011)736-0952	助手

Ⅱ. 総括研究報告

厚生科学研究費補助金特定疾患対策研究事業総括研究報告

研究課題名

ベーチェット病に関する研究

主任研究者

大野重昭 北海道大学大学院医学研究科視覚器病学分野

分担研究者名

猪子英俊	東海大学医学部分子生命科学系遺伝情報部門
小野江和則	北海道大学遺伝子病制御研究所病態研究部門免疫応答分野
木村 穰	東海大学医学部分子生命科学系遺伝情報部門
藤野雄次郎	東京厚生年金病院
吉崎和幸	大阪大学健康体育部健康医学第一部門
岳野光洋	聖マリアンナ医科大学免疫学・病害動物学教室
太田正穂	信州大学医学部法医学教室
磯貝恵美子	北海道医療大学歯学部口腔衛生学
小竹 聡	北海道大学医学部附属病院
福原俊一	京都大学大学院医学研究科社会健康医学専攻理論疫学分野
桑名正隆	慶應義塾大学医学部先端医学研究所細胞情報研究部門
石ヶ坪良明	横浜市立大学医学部第1内科学教室
金子史男	福島県立医科大学医学部皮膚科学教室
水木信久	横浜市立大学医学部眼科学教室
中村 聡	横浜市立大学医学部眼科学教室
木村浩一	北海道工業大学福祉生体工学科福祉医療科学部門

研究目的と方法

課題 I ベーチェット病の疾患成立に関わる因子の解明、および病態形成に関する免疫応答の解析

これまでに本分科会分担研究者によってベーチェット病の遺伝的素因が HLA-B51 であることが明らかにされ、その近傍に位置する MICA 遺伝子を発見し、この関与の可能性を示した。そこでこれらの遺伝子を導入したトランスジェニックマウスを作成し、個々の遺伝子の個体レベルでの機能、発症との関連を研究する。さらに、最新の分子生物学的手法により新たなベーチェット病の責任遺伝子を発見するための方法を確立する。

これまでにベーチェット病患者のリンパ球からのケモカイン、炎症性サイトカインの産生が亢進していることが示されてきたが、ケモカイン受容体、サイトカインについて患者 T 細胞を用いて検討する。また、これまでベーチェット病の外因の候補として連鎖球菌抗原が示唆されているが、連鎖球菌抗原を発現するマウスを作成しベーチェット病との関連を明らかにする。

課題 II ベーチェット病の診断、治療、予防に関して新しい方法の確立

これまでに行った全国疫学調査と予後調査、QOL 調査の結果を参考に、厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班によって作成された診断基準の見直しやこれまでの治療法の効果や副作用を調査する。また、抗サイトカイン療法を初めとする新しい治療法について検討する。ぶどう膜炎の活動性と TNF- α 産生能が相関を有することが明らかになり、抗 TNF- α 抗体による治療がベーチェット病の治療に有効であることが示されてきた。抗 TNF- α 抗体の治療を受けた患者での末梢血サイトカインの産生を検討し、その効果と考える副作用について検討する。

また、新たな期待できる治療法の基礎研究をおこないベーチェット病への応用への可能性について検討する。

結果と考察

課題 I ベーチェット病の疾患成立に関わる因子の解明、および病態形成に関する免疫応答の解析

ベーチェット病の責任遺伝子の候補である MICA, MICB, HLA-B 遺伝子を導入したトランスジェニックマウス (Tgm) を検討したところ、貧血、IgG 増加、低体重、白血球増多、角化異常が見られ、これらの遺伝子はマウスに対

しなんらかの炎症を引き起こすことがわかった。今後これらのトランスジェニックマウスを研究することによりベーチェット病の病態解明が期待される。また、MICA 分子の膜貫通領域のペプチド A6 を認識する T 細胞は HLA-B51 拘束性で疾患活動性と相関があることが判明し、ベーチェット病の病態との関連が示された。現在、新たなベーチェット病の責任遺伝子を発見する手法として、多型マイクロサテライトを設定し、その中からベーチェット病と相関のあるものをプールド DNA 法を用いて責任遺伝子を決定するという手法が確立されつつある。今後、患者からの DNA を収集し新たなベーチェット病の責任遺伝子の発見が期待される。日本人以外（トルコ人、イラン人）のベーチェット病患者においても MICA009 アリルが疾患との相関が示されたが、これは HLA-B51 との連鎖によるものであり、本病の主要な責任遺伝子は HLA-B51 である可能性が高いと思われた。また、ベーチェット病患者と健常人の HLA-B51 の塩基配列について調べたところ、患者特異的な多型はみられなかった。同様に、昨年 CTLA-4 遺伝子のエクソン I 領域内の多型が日本人のベーチェット病患者と相関があることがあきらかとなったが、

本年度はイラン人、トルコ人においても同様の相関がみられることが判明し、CTLA-4 遺伝子がベーチェット病感受性遺伝子の一つである可能性が示唆された。

ベーチェット病では Th1 型へ免疫が偏倚していることが知られているが、病変部へ浸潤した T 細胞における IFN- γ 遺伝子の転写に関与する Txk の発現が亢進していること、また、末梢血 T 細胞の IL-12R の発現がベーチェット病の活動性と相関あることが判明した。また、HSP60 が自己免疫異常の責任抗原である可能性が示唆された。ケモカインに注目した研究によるとベーチェット病患者において CD4 陽性細胞中のケモカインレセプターの CXCR3 の発現亢進が認められ、また、血清中のケモカインの一つである IP-10 の高値がみられ、ケモカインの病態への関与が伺われた。また、マウスでの実験的自己免疫性網膜ぶどう膜炎 (EAU) においてケモカインの一つである MCP-1 が EAU の発症に関与していることが示唆され、ぶどう膜炎の治療の一つとして、ケモカインの働きを阻害させるような方法が今後期待される。

これまでベーチェット病の外因の候補として連鎖球菌の関与が示されてきたが、連鎖球菌の抗原である BesI 抗

原の DNA がベーチェット病皮膚病変から検出された。また、BesI 抗原を発現する大腸菌を作成しマウスに感染させ、そのマウスにおけるぶどう膜炎の発症に関する研究が始まっている。この研究により BesI 抗原のベーチェット病への関与が明らかになるものと期待される。また、無菌マウスに連鎖球菌を感染させることによりベーチェット病と同様の口腔粘膜病変を作り出すことから連鎖球菌と本疾患との関与が強く示唆された。この連鎖球菌の殺菌方法としてヒト好中球から単離されたペプチド CAP18 が有効である可能性がある。

課題 II ベーチェット病の新しい薬物療法の開発

まず、現在ベーチェット病の眼発作を抑制するために主要な役割を果たしているシクロスポリンの製剤がマイクロエマルジョン製剤へと変わったことに対する検討が行われ、従来の脂溶性製剤よりも血中濃度がより安定し製剤を変更した効果が確認されたと共に、眼発作回数の抑制効果には差がないことが分かった。また、シクロスポリンが神経ベーチェット病との関連性が明

らかとなり、投与中は神経症状の有無につき注意深く観察すべきであることが再確認された。

網膜ぶどう膜炎を有するベーチェット病患者でシクロスポリン治療の効果が不十分、あるいは副作用により投与が不可能になった症例において、抗 TNF- α 抗体の投与が行われ、ぶどう膜炎の改善が見られた。そのような症例でのサイトカイン産生を検討した結果、抗 TNF- α 抗体治療後には IFN- γ 産生細胞数は増加し、TNF- α 産生細胞は増加していた。また、IL-12R の発現が増えていることが判明した。この意義については副作用の点も含めて今後の検討が必要である。

新しい治療法としては、調節性 T 細胞をうまく利用した治療法の可能性が示唆された。IL-6 を阻害するペプチドには細胞増殖阻止能があることが確認され治療への応用の可能性が示唆された。また、形質細胞様樹状細胞による T 細胞アナジの誘導が可能であることが示され、T 細胞が病態に関わっているとされるベーチェット病の治療に応用できる可能性が示された。

Ⅲ. 分担研究報告

ベーチェット病患者における HLA-B 遺伝子領域および
MICA 遺伝子領域のシーケンシング解析

分担研究者

猪子英俊 1)、佐野和美 1)、椎名隆 1)、矢吹和朗 2)、今川由加利 3)、
水木信久 2)、大野重昭 5)

- 1) 東海大学医学部分子生命科学 2
- 2) 横浜市立大学医学部眼科学教室
- 3) 横浜市立大学医学部耳鼻咽喉科学教室
- 4) 北海道大学大学院医学研究科視覚器病学分野

研究要旨

我々はマイクロサテライト等を用いた相関解析により、ベーチェット病の感受性遺伝子を、MICA~HLA-B 遺伝子間の約 50kb に絞り込んできた。これまでに、ベーチェット病患者および健常成人における HLA-B51 遺伝子領域の塩基配列を決定し、両者間における塩基配列を比較することで、ベーチェット病特異的な変異部位を探索してきた。その結果、イントロン領域、およびエンハンサー/プロモーター領域にいくつかの一塩基多型 (SNP) を見い出したが、患者特異的、あるいは健常者特異的な多型箇所は認められなかった。よって、HLA-B51 アリルそのものを特徴付ける SNP 多型それ自身が、疾患発症に関与しているということが明らかになった。

しかし、本症は単因子性の疾患ではないことから、現在、多型マイクロサテライトを用いた相関解析をゲノムワイドに応用し、ベーチェット病関連遺伝子を全ゲノムより見い出すために、ヒトゲノムから 3 万個の多型マイクロサテライトの収集を行っている。

本年度はそれと同時に、感受性遺伝子候補領域に存在するもう 1 つの遺伝子 MICA 遺伝子についての詳細な解析を行った。

A. 研究目的

我々はこれまでに、マイクロサテライト等を用いた解析を行い、ベーチェット病の感受性遺伝子候補領域を HLA-B~MICA 遺伝子間約 50kb に絞り込んできた。中でも、HLA-B 遺伝子のハプロタイプの一つである HLA-B51 と高い相関関係にあることを報告してきた。そのため、HLA-B 遺伝子がベーチェット病発症に関与

している可能性が非常に高いことから、ベーチェット病患者および健常成人の DNA を用いて、HLA-B51 遺伝子領域の塩基配列を決定し、その塩基配列を両者間で比較することにより、ベーチェット病特異的な変異部位を探索することを目的とした。次に、ベーチェット病の病変部位や、発作の発症機構とも関連するとも思われる、MICA 遺伝子においても、

より詳細な塩基配列解析を行うこととした。

B. 研究方法

HLA-B51 抗原陽性のベーチェット病患者 3 検体、および HLA-B51 抗原陽性の健常成人 3 検体の DNA を用いて PCR 反応を行った。PCR 反応は、目的の HLA-B 領域をホモロジーの高い HLA-C 領域と分けて特異的に増幅させるために、nested-PCR 法を用いて行った。まず、HLA-B 遺伝子領域を含む 9.5Kb を増幅し、その産物を用いて HLA-B 領域を含む 4.2Kb を増幅させた。この 4.2Kb の PCR 産物を GATEWAY のクローニングシステムを用いてクローニングした。これらのクローンから HLA-B51 を有するクローンを選別し、プライマーウォーキング法にてシークエンシング解析を行った。得られた塩基配列データを DNA データバンクに登録されている配列、ならびに患者群、健常者群で比較した。

また、ベーチェット病患者 2 検体の DNA を用いて MICA 遺伝子のエクソン 1~エクソン 5 までを含む約 11.7kb を PCR 法にて増幅し、プライマーウォーキング法にて塩基配列を決定した。

(倫理面への配慮)

すべての血液提供者に対して研究の目的、使用法を説明し、同意を得た上で採血を行っている。

C. 研究結果

データベース検索の結果、ベー

チェット病患者 3 検体、健常者 3 検体とも、HLA-B*51011 であった。すなわち、患者群、健常者群の、すべての検体の HLA-B 遺伝子の塩基配列が、エクソンについてはデータベースに登録されている塩基配列と同一であり、エクソン領域内に多型箇所は認められなかった。これに対して、イントロン領域内には、患者群で 18 箇所の SNP (一塩基多型: single nucleotide polymorphism)、6 塩基の挿入多型が 1 箇所みられ、健常者群では 11 箇所の SNP が見られた。プロモーター/エンハンサー領域には患者群で 4 箇所の SNP、2 塩基の欠失多型が 1 箇所見られ、健常者群では 13 箇所に SNP が見られた。

また、MICA 遺伝子の解析に用いた検体では、2 検体とも、エクソン 5 に存在する細胞膜貫通領域領域のアラニン繰り返し回数が 5 回の A5.1 アリルであることがわかった。エクソン内の塩基配列は、データベースに登録されている塩基配列と同一であった。イントロン内には両検体共通に見られた塩基挿入多型が 1 箇所、1 検体にのみ見られた塩基挿入多型が 1 箇所見られた。

D. 考察

ベーチェット病発症に HLA-B51 遺伝子が関与する可能性が示唆されていたので、これまでに HLA-B51 のどの SNP 変異あるいは多型が疾患に関与しているのかを調べるため、塩基配列解析を行ってきた。今回、HLA-B51 アリルを特徴付ける SNP 多型それぞれ自身が、ベーチェット病発症の第

一義的な要因であることが明らかになった。しかしながら、ベーチェット病患者における HLA-B51 陽性率が 64% であることから、HLA-B51 陰性のベーチェット病患者に対しても、HLA-B 遺伝子の塩基配列を解析していく必要があると思われる。更には、HLA-B 遺伝子以外の宿主要因を見いだすために、引き続き、MICA 遺伝子の解析を行っていくと共に、ゲノムワイドでの相関解析による HLA-B51 以外の感受性遺伝子のマッピングが重要になってくるものと考えられる。

E. 結論

ベーチェット病患者および健常成人の HLA-B51 対立遺伝子全長を含む約 4.2kb の塩基配列を決定した。両者間では、エクソン内の塩基配列に違いは見られなかった。イントロン内およびプロモーター／エンハンサー領域には両群とも複数箇所にも多型が見られたが、患者特異的、あるいは健常者特異的な多型は認められなかった。これらの事実より、HLA-B51 アリルそのものが、疾患発症に第一義的に関与していることが明らかになった。また、ベーチェット病患者の MICA 遺伝子エクソン 1~5 までを含む約 11.7kb の塩基配列を決定したが、患者特異的な多型箇所は見いだされなかった。

ベーチェット病のような多因子性疾患の場合、その病因遺伝子を見出すためには、多型マイクロサテライトを用いたゲノムワイドでの相関解析が重要であると考えられる。

F. 研究発表

論文発表

1. 松坂恭成、猪子英俊：DNA 解析と機能的ゲノム学が生む技術、医療機器センター 15 周年記念誌、財団法人医療機器センター、東京、2001；p32-35.

2. 岡本浩一、田宮本元、猪子英俊：ポストゲノム時代の遺伝統計学（鎌谷直之編、ゲノムワイド相関解析による乾癬感受性遺伝子の検索、羊土社、東京、2001；p47-68.

3. Ikewaki I, Tamauti H, Yamada A, Aoki M, Yamamoto R, Sawada A, Inoko H : A microfilament formation inhibitor, cytochalasin strongly enhances the low-affinity Fc receptor II (CD23) expression on the human monocyte-like cell line, U937. *J.Clinical Immunology* 20 : 424-433, 2001.

4. Deguchi R, Takagi A, Kawata H, Inoko H, Miwa T: Association between CabA+ Helicobacter pylori infection and p53, BAX and TGFb-RII gene mutations in gastric cancer patients. *International J Cancer* 91 : 481-485, 2001.

Sugimura K, Ota M, Matsuzawa J, Katsuyama Y, Ishizuka K, Mochizuki T, Mizuki N, Seki S, Honma T, Inoko H, Asakura H: A close relationship of triplet polymorphism in MHC class I chain-related gene A (MICA) to the disease susceptibility and behavior in ulcerative colitis. *Tissue Antigens* 57 : 9-14,

5. Ota M, Katsuyama Y, Kimura A, Tsuchiya K, Kondo M, Naruse T, Mizuki N, Sasazuki T, Inoko H : A second susceptibility gene for developing rheumatoid arthritis in the human MHC is localized within a 70 kb interval telomeric of the TNF genes in the HLA class III region. *Genomics* 71 : 263-270, 2001.
6. Mizuki N, Yabuki K, Ota M, Verity D, Katsuyama Y, Ando H, Onari K, Goto K, Imagawa Y, Mandnat W, Fayyad F, Stanford M, Ohno S, Inoko H : Microsatellite mapping of a susceptible locus within the HLA region for Behcet's disease using Jordanian patients. *Hum Immunol* 62 : 186-190, 2001.
7. Shiina T, Ando A, Suto Y, Kasai , 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, Bahram S, Inoko H : Genomic anatomy of a premier Major Histocompatibility Complex paralogous region on chromosome 1q21-22. *Genome Research* 11 : 789-802, 2001.
8. Matsuzaka K, Makino S, Nakajima K, Tomizawa M, Oka A, Bahram S, Kulski JK, Tamiya G, Inoko H : New microsatellite markers in the human MHC class III region. *Tissue Antigens* 57 : 397-404, 2001.
9. Mizuki N, Ota M, Katsuyama Y, Yabuki K, Ando H, Yoshida M, Katsuhiko O, Nikbin B, Davatchi F, Chams H, Ghaderi AA, Ohno S, Inoko H : HLA class I genotyping including HLA-B*51 allele typing in the Iranian patients with Behcet's disease. *Tissue Antigens* 57 : 457-462, 2001.
10. Gasper JA, Shiina T, Inoko H, Edwards SV : Songbirds genomics: Analysis of 45 kb upstream of a polymorphic Mhc class II gene in red-winged blackbirds (*Agelaius phoeniceus*). *Genomics* 75: 26-34, 2001.
11. Ando A, Kawata H, Murakami T, Shigenari A, Shiina T, Sada M, Tsuji T, Toriu A, Nakanishi Y, Mitsuhashi T, Sekikawa K, Inoko H : cDNA cloning and genetic polymorphism of the swine major histocompatibility complex (SLA) class II DMA gene. *Anim Genet.* 32 : 73-77, 2001.
12. Holland LZ, Rached LA, Tamme R, Holland ND, Inoko H, Shiina T, Burgtorf C, Lardelli M : Characterization and developmental expression of the amphioxus homolog of Notch (AmphiNotch): evolutionary conservation of multiple expression domains in amphioxus and vertebrates. *Dev Biol.* 232 : 493-507, 2001.

13. Obuchi N, Takahashi M, Nouchi T, Satoh M, Arimura T, Ueda K, Akai J, Ota M, Naruse T, Inoko H, Numano F, Kimura A : Identification of MICA alleles with a long Leu-repeat in the transmembrane region and no cytoplasmic tail due to a frameshift-deletion in exon 4. *Tissue Antigens* 57 : 520-535, 2001.
14. Arai T, Yoshida K, Kaburaki J, Inoko H, Ikeda Y, Kawakami Y, Kuwana M : Autoreactive CD4(+) T-cell clones to beta(2)-glycoprotein I in patients with antiphospholipid syndrome: preferential recognition of the major phospholipid-binding site. *Blood*. 98 :1889-1896., 2001.
15. Kulski JK, Martinez P, Longman-Jacobsen N, Wang W, Williamson J, Dawkins RL, Shiina T, Naruse T, Inoko H : The association between HLA-A alleles and an Alu dimorphism near HLA-G. *J Mol Evol*. 53 :114-123, 2001.
16. Tsuda TT, Tsuda M, Naruse T, Kaata H, Ando A, Shiina T, Fukuda M, Kurita M, KeMaho I, Kuliski JK, Inoko H: Phylogenetic analysis of penguin (Spheniscidae) species based on sequence variation in MHC class II gene. *Immunogenetics* 53 : 712-716, 2001.
17. Taniguchi Y, Sato M, Tanaka O, Sekiguchi M, Inoko H, Kimura M : HOXD3 regulates expression of JAGGED1, a ligand for Notch receptors. *Nuclei Acids Reserach Supplement No.1* : 43-44, 2001.
18. Taniuchi Y, Suzuki H, Ohtsuka M, Kikuchi N, Kimura M, Inoko H : Isolation and characteriation of three gemnes paralogus to mouse Ring3. *Nuclei Acids Reserach Supplement No.1* : 247-248, 2001.
19. Seki SS, Sugimura K, Ota M, Matsuzawa J, Katsuyama Y, Ishizuka K, Mochizuki T, Suzuki K, Yomeyama Y, Mizuki N, Honma T, Inoko H, Asakura H: A stratification analysis of MICA triplet repeat polymorphisms and HLA-antigens associated with ulcertive colitis. *Tissue Antigens* 58 : 71-76, 2001.
20. Sano K, Yabuki K, Imagawa Y, Shiina T, Mizuku N, Ohno S, KulskinJK, Inoko H : The absence of disease-specific polymorphisms within the HLA-B*51 gene taht is teh susceptible locus for Behcet's disease. *Tissue Antigens* 58 : 77-82, 2001.
21. Romphruk, AV, Naruse TK, Romphruk A, Kawata T, Pauapairoj, Kulski JK, Leelayuwat, Inoko H : Diversity of MICA (PERB11.1) and HLA haplotypes in Northeastern Thais. *TissueAntigens* 58 : 83-89.
22. Mizuki N, Ota M, Katsuyama Y, Yabuki K, Ando H, Shiina T, Nomura E, Onari K, Ohno S, Inoko H. HLA-B*51 allele analysis by the PCR-SBT method

- and a strong association of HLA-B*5101 with Japanese patients with Behcet's disease. *Tissue Antigens* 58 :181-184, 2001.
23. Kulski JK, Dunn DS, Gaudieri S, Shiina T, Inoko H : Genomic and phylogenetic analysis of the human CD1 and HLA class I multicopy genes. *J Mol Evol.* 53 :642-650, 2001.
24. Ishikawa Y, Kashiwase K, Okai M, Ogawa A, Akaza T, Morishima Y, Inoko H, Sasazuki T, Kodera Y, Juji T. Polymorphisms in the coding region of mtDNA and effects on clinical outcome of unrelated bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 28 :603-607, 2001.
25. Yabuki K, Mizuki N, Ota M, Verity D, Goto K, Kimura T, Nomura E, Madanat W, Katsuyama Y, Kimura M, Stanford M, Inoko H, Ohno S : A strong association between MICA gene and Behcet's disease in Jordanin. *J. Ophthalmology* in press
26. Ando A, Kawata T, Murakami T, Shigenari A, Shiina T, Sada M, Tsuji T, Toriu A, Nakanishi Y, Mitushashi T, Sekikawa K, Inoko H : cDNA clone and genetic polymorphisms of the swine major histocompatibility complex (SLA) class II DMA gene. *Animal Genetic* in press
27. Kulski JK, Martinez P, Longman-Jacobsen N, Wang W, Williamson J, Dawkins RL, Shiina T, Naruse T, Inoko H : The association between HLA-A alleles and an Alu dimorphisms near HLA-G. *J Mol Evol* in press
28. Kuwana M, Arai T, Yoshida K, kaburaki J, Inoko H, Ikeda Y, Kawakami Y: Autoreactive CD4+ T cell clones to b2-glycoproteinI in patients with antiphospholipid syndrome: Preferential recognition of the major phospholipid-binding site. *Blood* in press
29. L. Abi-Rached, A Gilles, T Shiina, P Pontarotti, H Inoko: Large scale duplications in vertebrate evolution: insights from amphioxus. *Nature Genetics* in press
30. Kulski JK, Inoko H : Alu MICB, *Immunogenetics* in press
31. Niizeki Polymorphisms in the TNF genes *Tissue Antigens* in press
32. Suemizu H, S Bharam, H Inoko: A basolateral sorting motif in the MICA cytoplasmic tail. *Proc Natl Acad Sci USA* in press
33. Horiki T, Ichikawa Y, Moriuchi J, Hoshina Y, Yamada C, Wakabayashi T, Jackson K, Inoko H : HLA class I and II haplotypes associate with pulmonary interstitial lesions of polymyositis/dermatomyositis in

Japanese patients. *J Rheumatol*.

34. Moribe T, Hirai H, Kimura M, Inagawa A, Nakatani S, Kaneshige T, Inoko H : Rapid and simultaneous HLA class I (-A, -B and -C loci) DNA typing using microtiter plate-reverse hybridization assay (MRHA). *Eur J Immunogenetics*

35. Tamiya G, S psoriasis vulgaris Kulski, JK, Gaudieri S, Martinez P, Inoko H, Dawkins RL : Identification and characterization of two human endogenous retrovirus elements within the major histocompatibility complex.

36. Okumura K, Hishida K, Nogami M, Taguchi H, Fukagawa T, Sugaya K, Matsumoto K, Ando A, Inoko H, Ikemura T : Fine analysis of DNA replication timing within human MHC region by fluorescence in situ hybridization : Temporal order of DNA replication closely correlates with G+C% gradient based on genomic sequences. *Human Molecular Genetics*

37. Niizeki H, T Naruse, K Hashigucci, M Yokoyama, Y Yamasaki, T Urushibara, Y Yamazaki, Inoko H, Nishikawa T : The IL-1 receptor antagonist gene confers susceptibility to palmoplantar pustulosis among the patients who carry a specific haplotype of the TNF region.

38. Niizeki H, Amagai M, Hashimoto T, Ishii K, Naruse T, Inoko H, Nishikawa T :

HLA-DQA1, -DQB1 and -DRB1 genotyping in Japanese pemphigus foliaceus patients by PCR-RFLP method.

39. Pitchon L, Shiina T, Tamiya G, Oka A, Elshof AT, Inoko H, Chorney M : A minimal, reiterated DNA element underlying the generation of the class I region of the human MHC. *Immunogenetics*

40. Ozawa A, Miyahara M, Naruse T, Ando H, Sugai J, Iizuka M, Kawakubo Y, Matsuo I, Ohkido M, Kobayashi H, Ohkawara A, Takahashi H, Iizuka H, Morita E, Yamamoto S, Hide M, Taniguchi Y, Shimizu M, Inoko H : HLA class I and II alleles, and the susceptibility to generalized pustular psoriasis : Significant associations with HLA-Cw1 and HLA-DQB1*0303. *J. Dermatology*

41. Nakanishi K, Kobayashi T, Murase T, Naruse T, Nose Y, Inoko H : Independent and additive contributions of HLA-A24 and HLA-DQA1*0301 to susceptibility and degree of b-cell destruction in IDDM.

42. Ikewaki N, Inoko H: spread formation
Ikewaki N, Inoko : new monoclonal Ab
Dai KZ, Vergnaud G, Ando A, Inoko H, Spurkland A : The SH2D2A gene encoding the T cell specific adapter protein (TSAd) is localized centromeric to the CD1 gene cluster on human chromosome 1. *Genomics*
Tateno Y, Yamazaki M, Inoko H : Neutral and

- selective evolutionary aspects of an HLA class I genomic region. *Gene*
43. Mizuki N, Inoko H, Ohno S : Recent advance in the pathogenesis of Behcet's disease,
44. Mastumori A, Ohashi N, Ito H, Furukawa Y, Hasegawa K, Naruse T, Inoko H, Sasayama S : Genes of the major histocompatibility complex class II determine the phenotype of hepatitis C virus-associated cardiomyopathies. *Circulation*
45. Gasper JS, Shiina T, Inoko H, Edwards SV : Songbird genomics: analysis of 45 kb upstream of a polymorphic Mhc class II gene in red-winged blackbirds (*Agelaius phoeniceus*). *Genomics*
46. Arai T, Yoshida K, kaburaki J, Inoko H, Ikeda Y, Kawakami Y, Kuwana M : Autoreactive Th cell clones to b2-glycoprotein I in patients with antiphospholipid syndrome : preferential recognition of the major phospholipid-binding site. *J Immunology*
47. Abi-Rached L, Gilles A, Inoko H, Pontarotti P, Shiina T: Large scale duplications in vertebrate evolution: insights from amphioxus.
48. Morishima Y, Sasazuki T, Inoko H, Juji T, Akaza T, Yamamoto K, Ishikawa Y, Katao S, Sao S, Sakamaki H, Kawa K, Hamajima N, Asano S, Kodera Y : The clinical significance of matching of HLA class I alleles in patients transplanted with marrow from a serologically HLA-A, B and DR matched unrelated donor. *Blood*.
49. Kuwana M, Inoko H, Kameda H, Nojima T, Sato S, Nakamura K, Ogaswara T, Hirakata M, Ohosone Y, Kaburaki J, Okano Y, Mimori T : Association of HLA class II genes with autoantibody profiles, but not with disease susceptibility in Japanese patients with systemic sclerosis. *Internal Medicine* 38 : 336-344, 1999.
50. Matsuzaka Y, Kagotani K, Okumura K, Kimura M, Inoko H, Taniguchi Y : Isolation and structural analysis of the mouse NAT (RING3) gene in the MHC class II region. Kakusan Kagaku Akisaka M, Suzuki M, Inoko H : Genetic Influence of HLA-DR on longevity in Okinawan people. *Ryukyu Igaku Zasshi* in press
51. Shiina T, Tamiya G, Oka A, Takishima N, Inoko H : Genome sequencing analysis of the 1.8 Mb entire human MHC class I region. *Immunological Reviews* in press
52. Mizuki N, Inoko H, Ohno S : Molecular genetics (HLA) of Behcet's disease.
53. Yabuki K, Inoko H, Ohno S :