

厚生労働科学研究費補助金
ヒトゲノム・再生医療等研究事業

SLE を中心とした自己免疫疾患 感受性遺伝子の解明

平成14年度 総括・分担研究報告書

平成15（2003）年3月

主任研究者

笹月 健彦

目 次

I. 研究組織	1
II. 総括研究報告書	
「SLE を中心とした自己免疫疾患感受性遺伝子の解明に関する研究」	
笹月 健彦	3
III. 分担研究報告書	
1. 「SLE を中心とした自己免疫疾患感受性遺伝子の解明 －同胞発症例を中心とした検体収集システムの確立－」	
小池 隆夫	11
2. 「'high-throughput' ゲノム解析システムを用いた自己免疫疾患感受性遺伝子の同定」白澤 専二	15
3. 「臓器特異的自己免疫疾患からのアプローチによる自己免疫疾患感受性遺伝子の同定」原田 晴仁	18
4. 「SLE 孤発例を対象とした検体収集システムの確立」	
三森 明夫	21
5. 「候補遺伝子アプローチによる SLE 疾患感受性遺伝子の探索」	
土屋 尚之	22
6. 「多発家系を用いた自己免疫疾患感受性遺伝子の解明」	
中村 道子	31
IV. 班会議開催概要	33
V. 研究成果の刊行に関する一覧表	35

I. 研究組織

平成 14 年度厚生労働省科学研究費補助金ヒトゲノム・再生医療等研究事業
「SLE を中心とした自己免疫疾患感受性遺伝子の解明」

<研究班名簿>

主任研究者	
笹月 健彦	国立国際医療センター研究所・所長 〒162-8655 東京都新宿区戸山 1-21-1 Phone.03-5273-6844 Fax.03-5273-4526 E-mail. sasazuki@ri.imcj.go.jp
分担研究者	
小池 隆夫	北海道大学大学院医学研究科 分子病態制御学講座・第二内科・教授 〒060-8638 札幌市北区北15条西7丁目 Phone. 011-706-5915 Fax. 011-706-7710 E-mail. tkoike@med.hokudai.ac.jp
白澤 専二	国立国際医療センター研究所・臨床病理研究部・部長 〒162-8655 東京都新宿区戸山 1-21-1 Phone.03-3202-7181 内 2833 Fax.03-3202-7364 E-mail. sshirasawa@ri.imcj.go.jp
原田 晴仁	国立国際医療センター研究所・臨床病理研究部・室長 〒162-8655 東京都新宿区戸山 1-21-1 Phone.03-3202-7181 内 2730 Fax.03-3202-7364 E-mail. haradah@ri.imcj.go.jp
三森 明夫	国立国際医療センター・膠原病内科・医長 〒162-8655 東京都新宿区戸山 1-21-1 Phone. 03-3202-7181, PHS:5252 Fax.03-3207-1038 E-mail. amimori@imcj.hosp.go.jp
土屋 尚之	東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学教室・助教授 〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1 Phone.03-5841-3693 Fax.03-5802-8619 E-mail. tsuchiya-ky@umin.ac.jp
中村 道子	東邦大学医学部附属大橋病院・精神神経科 〒153-8515 東京都目黒区大橋 2-17-6 Phone. 03-3468-1251 内 3346 Fax.03-3468-3756 E-mail. mitinaka@med.toho-u.ac.jp, michi@qf6.so-net.ne.jp

II. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
総括研究報告書

SLE を中心とした自己免疫疾患感受性遺伝子の解明に関する研究

主任研究者 笹月 健彦（国立国際医療センター研究所・所長）

研究要旨

この研究は、SLE を中心とした自己免疫疾患の疾患感受性遺伝子とその遺伝子変異を同定し病因を解明することを目的とする。本年度は、各研究施設においてヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理方針（平成 13 年 3 月 29 日）に基づいて、各倫理審査委員会での承認を得、以下のことを行った。

- 1) SLE 検体の収集：“All Japan”の協力体制が構築され、SLE 弧発例に関しては 30 例/月のペースで検体収集が開始され、罹患同胞対に対しても情報収集と検体収集が開始された。
- 2) SLE 多発家系の収集：同胞 4 人中 3 人が SLE を中心とした自己免疫疾患を発症している近親婚の大家系のうち、3 世代にわたる 9 人よりの採血が行われた。
- 3) SLE 候補遺伝子の解析：LIR-1、BAFF-R の多数の新規多型を検出し、相関解析を行った。
- 4) ゲノム解析システムの構築：国立国際医療センター研究所に、DNA 解析を high-throughput で行えるゲノム解析システムを構築した。

【分担研究者】

小池隆夫

北海道大学大学院医学研究科・教授

白澤専二

国立国際医療センター研究所・部長

原田晴仁

国立国際医療センター研究所・室長

三森明夫

国立国際医療センター・医長

土屋尚之

東京大学大学院医学系研究科・助教授

中村道子

東邦大学医学部・助教授

治療法の確立は現代医療に課せられた急務である。本研究では、全身性自己免疫疾患の代表である全身性エリテマトーデス(SLE)を中心とした自己免疫疾患の疾患感受性遺伝子とその遺伝子変異の同定を行い病因を解明し、それに立脚した病態の解明と先駆的診断・治療法の開発に資することを目的とする。この成果は、リウマチ、Graves 病、橋本病なども含めた自己免疫疾患に共通の病因の解明にもつながり、国民の保険・福祉・医療の向上に貢献できると考えられる。

B. 研究方法

1) SLE の検体収集

小池（北大）は、厚労省「自己免疫疾患に関する調査研究」班（代表：小池隆夫）の組織を活用することにより、“All Japan”の協力体制のもとに検体の収集に関わるシステムを構築し、検体収集を行い、DNA の抽出・保存を行う。三森および研究協力者の伊藤健司（国際医療センター）は、国立国際医療センターにおいて、SLE の罹患同胞対および弧発例の検体の収集のシステムを樹立し、サンプルの

A. 研究目的

免疫システムにおける“自己寛容”の破綻した状態としてとらえられる自己免疫病の病因はいまだに明らかにされていない。自己免疫疾患を広義にとらえるとその有病率は約 4%にもおよび、ときには致死的経過をとる病態であること、難治性であり慢性の経過をたどること、QOL の著しい低下を伴うことを考慮すると、その病因の解明とそれに立脚した

収集を行う。中村（東邦大）は、SLE の大家系の検体の収集を行う。

2) SLE 多発家系の解析

同胞 4 人中 3 人が SLE を発症し、患者の父方祖母と母親がはとこである近親婚の大家系の 9 人に対して全ゲノムに対する約 400 個のマイクロサテライトマーカーについて笹月・白澤・原田（国際医療センター）は解析を行う。

3) 候補遺伝子からの解析

土屋（東大）は独自に収集した SLE 孤発例を利用して、複数の候補遺伝子について相関解析を行い感受性遺伝子を同定する。

4) ゲノム解析システムの構築

笹月・白澤・原田は大量の検体を迅速に解析できる“high throughput”なゲノムシステムを構築する。

<倫理面への配慮>

これらの研究では、研究機関において、ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針（平成 13 年 3 月 29 日；文科省・厚生省・経済産業省告示第 1 号）にのっとった倫理委員会により、研究は承認されている。

C. 研究結果

1) SLE 検体の収集：

全ての研究実施機関において、研究課題について倫理審査委員会で承認を得た。小池（北大）は、厚生省「自己免疫疾患に関する調査研究班」（代表：小池隆夫）およびリウマチ学会の協力を得て、既に孤発例を 30 症例/月のペースで収集するシステムを確立した。また、三森（国際医療センター）は、既に 70 例の孤発例の収集を行った。一方、中村（東邦大）は、近親婚において同胞 4 人中 3 人が SLE を発症している大家系で、3 世代にわたる 9 人より末梢血液採取、血液・生化学的データの収集を行った。

2) SLE 多発家系の解析

笹月・白澤・原田（国際医療センター）は、

患者 3 人を含む 9 人の家系構成員に対して、400 個のマイクロサテライトマーカーにより genotyping を開始した。

3) SLE 候補遺伝子の解析

土屋（東大）は *LIR1*, *BAFF-R* に多数の新規多型を検出し、それぞれ他の遺伝子多型で層別化した場合には、RA との関連を検出した。また、タイ人 SLE において、*HLA-DRB1*1502*, *FCGR2B*, *3B* の関連を見出し、日本人との比較を通じて、一義的な疾患感受性遺伝子を同定するための有用な情報を得た。

4) ゲノム解析システムの構築

笹月・白澤・原田（国際医療センター）は、マイクロサテライトマーカーの genotyping を最大で 1 万 genotyping/日可能な“high-throughput”なシステムを構築した。そのゲノムシステム構築は、自己免疫性甲状腺疾患のゲノム解析を通じて行った。

D. 考察

多因子疾患感受性遺伝子を同定するには、検体収集システムの樹立とゲノム解析システムの構築が必要である。検体収集に関しては、小池（北大）により“All Japan”の協力体制の下に孤発例が 30 例/月で収集できるシステムが樹立されたこと、及び、三森（国際医療センター）が国立国際医療センターにおいて既に 70 例の孤発例を収集したことは、本年度の目標に十分に到達したと評価される。又、中村（東邦大）が SLE 多発家系の 3 世代にわたる 9 人から採血および検査データを収集できたことも今後の解析が期待される。しかしながら、SLE 同胞対に関しては未だ情報収集の段階であり、今後の一層の努力が必要となってくる。孤発例の DNA 解析では土屋（東大）が *CD19* と *FCGR2B* との相関を日本人において報告したが、これからこの研究課題で収集される孤発例での解析で再現性を確認する予定である。

笹月・白澤・原田は国立国際医療センターにマイクロサテライトマーカーのタイピングが 1 万/日できる“high-throughput”なシステムを構築し、既に多発家系の解析をスタートした。このタイピングセンターを樹立したこと

により今後の解析を迅速に大量に行えるようになった点で評価できると思われる。

今後は、人種を超えて連鎖解析（多発家系・同胞対）により SLE 感受性遺伝子座として報告されている候補領域に対し、弧発例-対照群により解析をスタートさせる予定であり、その解析結果が待たれる。又、一方で同胞対収集を積極的に行い、罹患同胞対法の連鎖解析により日本人における候補領域の同定が非常に重要になってくると考えられる。3 年計画の 1 年目としては、倫理審査承認後スタートとして考えると、検体収集の確立、及びゲノム解析システムの構築をした点で当初の目的は達成できたと考えられる。2 年目から本格的にゲノム解析を開始することになる。

E. 結論

各研究においてヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に基づいて、各倫理審査委員会での承認を得、以下のことを行った。

1) “All Japan”の協力体制が構築され、SLE 弧発例に関しては 30 例/月のペースで検体収集が開始され、罹患同胞対に関しても情報収集と検体収集が開始された。

2) 同胞 4 人中 3 人が SLE を中心とした自己免疫疾患を発症している近親婚の大家系のゲノム解析を開始した。

3) LIR-1、BAFF-R の多数の新規の多型を検出した。

4) 国立国際医療研究センター研究所に、DNA 解析を high-throughput で行えるゲノム解析システムを構築した。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

(主任研究者)

1) Tsunoda T, Inokuchi J, Baba I, Okumura K,

Naito S, Sasazuki T, Shirasawa S. A novel mechanism of nuclear factor kB activation through the binding between inhibitor of nuclear factor -kB α and the processed NH₂-terminal region of Mig-6. *Cancer Research*. 62(20):5668-71.2002

2) Morishima Y, Sasazuki T, Inoko H, Juji T, Akaza T, Yamamoto K, Ishikawa Y, Kato S, Sao H, Sakamaki H, Kawa K, Hamajima N, Asano S, Kodera Y, for the Japan Marrow Donor Program. The clinical significance of HLA allele compatibility in patients transplanted with marrow from a serologically HLA-A, B and DR matched unrelated donor. *Blood*. 99: 4200-4206, 2002

3) Ishikawa Y, Kashiwase K, Akaza T, Morishima Y, Inoko H, Sasazuki T, Kodera Y, Juji T. Polymorphisms in TNFA and TNFR2 affect outcome of unrelated bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation*. 29(7):569-75. 2002

(分担研究者)

1) Horita T, Tsutsumi A, Takeda T, Yasuda S, Takeuti R, Amasaki Y, Ichikawa K, Atsumi T, Koike T. Significance of magnetic resonance imaging in diagnosis of nodular regenerative hyperplasia of the liver complicated with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 11:193-196. 2002

2) Okamoto T, Tanaka S, Stan CA, Koike T, Kas M, Makita Z, Sawa H, Nagashima K. Advanced glycation end products induce angiogenesis in vivo. *Mol Res.* 3:186-195. 2002

3) Atsumi T, Koike T. Clinical relevance of antiprothrombin antibodies. *Autoimmunity Reviews.* 1:49-53. 2002

4) Ieko M, Nakabayashi T, Takeda T, Naitoh S, Atsumi T, Koike T. The inhibition of protein C antithrombotic activity by anti- β 2-glycoprotein I(β 2GPI)antibodies isolated from patients with antiphospholipid syndrome by chromatography methods. *Mod Rheumatol.* 12:44-49. 2002

5) Matsuura E, Kobayashi K, Kasahara J, Yasuda

- T. Makino H. Koike T. Shoenfeld Y. Anti- β 2-glycoprotein I antibodies and atherosclerosis. *Int. Rev. Immunol.*, 21:51-66, 2002
- 6) Yasuda S. Tsustumi A. Astumi T. Bertolaccini ML. Ichikawa K. Khamashta MA. Huges RV. Koike T. Gene polymorphisms of tissue plasminogen activator and plasminogenactivator inhibitor-1patients with antiphospholipid antibodies. *J. Rheumatol.*, 29:6, 1192-1197, 2002
- 7) Koizumi K. Haseyama Y. Machino R. Sato Y. Sawada K. Koike T. The hemophagocytic syndrome in prostate cancer revealed by disseminated carcinomatosis of the bone marrow. *J. Urology.* 168:1101-1102, 2002
- 8) Yamaguchi M. Hirayama F. Murahashi H. Azuma H, Sato N. Miyazaki H, Fukazawa K. Sawada K, Koike T. Ikeda H. Ikebuchi K. Ex vivo expansion of human UC blood primitive hematopoietic progenitors and transplantable stem cells using human primary BM stromal cells and human AB serum. *Cytherapy.*, 4:2, 109-118, 2002
- 9) Tyndall A, Koike T. High-dose immunoablative therapy with hematopoietic stem cell support in the treatment of severe autoimmune disease: current status and future direction. *Int. Med.*, 41:8,608-612, 2002
- 10) Miyoshi H, Taguchi T, Sugiura M, Takeuchi M, Yanagisawa K, Watanabe Y, Miwa I, Makita Z, Koike T. Aminoguanidine pyridoxal adduct is superior to aminoguanidine for preventing diabetic nephropathy in mice. *Horm Metab Res.*, 34: 371-377, 2002
- 11) Takeuchi R, Atsumi T, Ieko M, Amasaki Y, Ichikawa K, Koike T. Suppressed intrinsic fibrinolytic activity by monoclonal anti-beta2 glycoprotein I autantibodies:possible mechanism for thrombosis in patients with antiphospholipid syndrome. *Brit. J. Hematol.*, 118: 781-788, 2002
- 12) Ambrozic A, Avicin T, Ichikawa K, Kvedar T, Matsuura E, Hojnik M, Atsumi T, Rozman B, Koike T. Anti- β 2-glycoprotein I antibodies in children with atopic dermatitis. *Int Immunol.*, 14:823-830, 2002
- 13) Shirasawa S, Sasazuki T: The impact of oncogenes on tumor maintenance. *Oncogene-Directed Therapies* (Rak JW. Ed., Human Press Inc., Totowa):229-243, 2002
- 14) Tsunoda T, Inokuchi J, Baba I, Okumura K, Naito S, Sasazuki T, Shirasawa S. A novel mechanism of nuclear factor kB activation through the binding between inhibitor of nuclear factor-kBa and the processed NH₂-terminal region of Mig-6. *Cancer Res.* 62(20):5668-5671, 2002
- 15) Kanai M, Numakura C, Sasaki A, Shirahata, E, Akaba, K, Hashimoto M, Hasegawa, H, Shirasawa S, Hayasaka K. Congenital central hypoventilation syndrome: a novel mutation of the RET gene in an isolated case. *Tohoku J. Exp. Med.*, 196:241-246, 2002.
- 16) Qian Y, Shirasawa S, Chen C, Cheng L, Ma Q. Proper development of relay somatic sensory neurons and D2/D4 interneurons requires homeobox genes Rnx/Tlx-3 and Tlx-1. *Genes Dev.*, 16: 1220-1233, 2002
- 17) Yoshida S, Harada H, Nagai H, Fukino K, Teramoto A, Emi M. Head-to-head juxtaposition of Fas-associated phosphatase-1 (FAP-1) and c-Jun NH2-terminal kinase 3 (JNK3) genes: genomic structure and seven polymorphisms of the FAP-1 gene. *J Hum Genet.* 47(11):614-619, 2002.
- 18) Harada H, Nagai H, Ezura Y, Yokota T, Ohsawa I, Yamaguchi K, Ohue C, Tsuneizumi M, Mikami I, Terada Y, Yabe A, Emi M. Down-regulation of a novel gene, DRLM, in human liver malignancy from 4q22 that encodes a NAP-like protein. *Gene.* 296(1-2):171-177, 2002.
- 19) 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 multiplication in breast cancer. *Ann Hum Biol.* 29(4):457-460, 2002.
- 20) Harada H, Kimura A, Fukino K, Yasunaga S, Nishi H, Emi M. Genomic structure and eight novel exonic polymorphisms of the human N-cadherin gene. *J Hum Genet.* 47(6):330-332, 2002.
- 21) 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.* 285(1-2):175-182, 2002.
- 22) Takeishi M, Mimori M, et al: Reduction of factor XII in antiphospholipid antibody positive patients with thrombotic events in rheumatology clinic. *Clin. Rheumatol.*, in press, 2003
- 23) 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* 59: 113-117, 2002.
- 24) 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 Fcγ receptor gene polymorphisms in Japanese patients with systemic lupus erythematosus: Contribution of *FCGR2B* to the genetic susceptibility to SLE. *Arthritis Rheum* 46: 1242-1254, 2002.
- 25) Kuroki K, Tsuchiya N, Tsao BP, Grossman JM, Fukazawa T, Hagiwara K, Kano H, Takazoe M, Iwata T, Hashimoto H, Tokunaga K: Polymorphisms of human *CD19* gene: Possible association with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Japanese. *Genes Immun* 3 Suppl 1:S21-30, 2002.
- 26) Kawasaki A, Tsuchiya N, Fukazawa T, Hashimoto H, Tokunaga K: Analysis on the association of human *BLYS (BAFF, TNFSF13B)* polymorphisms with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Genes Immun* 3: 424-429, 2002.
- 27) 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 Immun* 3: 477-481, 2002.
- 28) Kyogoku C, Tsuchiya N, Matsuta K, Tokunaga K: Studies on the association of Fcγ receptor IIA, IIB, IIIA and IIIB polymorphisms with rheumatoid arthritis in Japanese: Evidence for a genetic interaction between *HLA-DRB1* and *FCGR3A*. *Genes Immun* 3: 488-493, 2002.
- 29) Tsuchiya N, Ohashi J, Tokunaga K. Variations in immune response genes and their associations with multifactorial immune disorders. *Immunol Rev* 190: 169-181, 2002.
- 30) Kyogoku C, Tsuchiya N, Shibue T, Tokunaga K, Matsuta K. *TNFR2* position 196 polymorphism in Japanese patients with rheumatoid arthritis: comment on the article by Dieudé et al [letter]. *Arthritis Rheum* 48: 273-274, 2003.
- 31) Hikami K, Tsuchiya N, Yabe T, Tokunaga K. Variations of human killer cell lectin-like receptors : common occurrence of *NKG2-C* deletion in the general population. *Genes Immun* (in press)
- 32) Tsuchiya N, Kobayashi S, Kawasaki A, Kyogoku C, Arimura Y, Yoshida M, Katsushi Tokunaga K, Hashimoto H. Genetic background of Japanese patients with ANCA-associated vasculitis: Association of *HLA-DRB1*0901* with microscopic polyangiitis. *J. Rheumatol.* (in press)

33) Siriboonrit U, Tsuchiya N, Sirikong M, Kyogoku C, Bejrachandra S, Suthipinittharm P, Luangtrakool K, Srinak D, Thongpradit R, Fujiwara K, Chandanayingyong D, Tokunaga K. Association of Fcγ receptor IIB, IIIA and IIIB polymorphisms with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Thais. *Tissue Antigens* (in press).

2. 学会発表

1) 古垣浩一、白澤専二、原田晴仁、土屋朋子、馬場賀、石川直文、伊藤公一、伊藤国彦、窪田純久、隈寛二、赤水尚史、酒井健司、山本健、笹月健彦「橋本病の疾患感受性遺伝子の同定-8q23-q24 を中心として」第 47 回日本人類遺伝学会、2002 年 11 月 13~15 日、ヒルトン名古屋

2) 古垣浩一、白澤専二、原田晴仁、土屋朋子、馬場賀、石川直文、伊藤公一、伊藤国彦、窪田純久、隈寛二、赤水尚史、酒井健司、山本健、笹月健彦「橋本病の疾患感受性遺伝子の同定-8q23-q24 を中心として」第 9 回日本遺伝子診療学会、2002 年 10 月 18~19 日、京都国際会館

3) Koichi Furugaki, Senji Shirasawa, Haruhito Harada, Tomoko Tsuchiya, Iwai Baba, Naofumi Ishikawa, Koichi Ito, Kunihiko Ito, Sumihisa Kubota, Kanji Kuma, Naofumi Akamizu, Kenji Sakai, Ken Yamamoto, Takehiko Sasazuki. "Identification of a susceptibility gene for Hashimoto thyroiditis on chromosome 8q23-q24" 25th Annual Meeting of Korean Society of Medical Genetics. 2002.11.21., Seoul National University

(分担研究者)

1) Koike.T. : " Anticardiolipin and anti- β2-glycoprotein I antibodies:application in the clinic" 3rd International Congress on Autoimmunity, Geneva, Switzerland. February, 20~24, 2002.

2) Koike.T. : " Antiphospholipid antibodies in arterial thrombosis." 1st Tuzing Antiphospholipid,

Conference. Tuzing, Germany. April , 22~25, 2002.

3) Koike.T. : " Anti-prothronbin antibodies: pathogenesis and specificity." 6th Dresden symposium on Autoantibodies, Dresden, Germany. September , 4~7, 2002.

4) 小池隆夫：「抗リン脂質抗体症候群：最近の話題」第 166 回日本内科学会東北地方会生涯教育講演会、仙台市、2002 年 2 月 9 日

5) 小池隆夫：「膠原病と幹細胞移植」厚生労働省ヒトゲノム・再生医療等研究事業五班合同公開シンポジウム会、東京都、2002 年 2 月 16 日

6) 小池隆夫：「1 型糖尿病と研究の流れと問題点」第 45 回日本糖尿病学会、東京都、2002 年 5 月 16-19 日

7) 小池隆夫：「抗リン脂質抗体症候群」第 3 2 回日本臨床免疫学会学術総会、東京都、2002 年 12 月 4~6 日

8) 白澤専二、笹月健彦：ポジショナルクローニング法による自己免疫性甲状腺疾患感受性遺伝子の解明。第 11 回国際医療協力シンポジウム、国立国際医療センター、2002 年 11 月 7 日

9) 原田晴仁、土屋朋子、馬場賀、古垣浩一、笹月健彦、白澤専二：8q23-q24 領域に存在する自己免疫性甲状腺疾患感受性遺伝子の同定。日本人類遺伝学会第 47 回大会、名古屋、2002 年 11 月 13~15 日

10) 角田俊之、猪口淳一、馬場賀、奥村幸司、内藤誠二、笹月健彦、白澤専二：Mig-6 による NF-κB 活性化の分子機構の解析。第 61 回日本癌学会総会、東京国際フォーラム、2002 年 10 月 3 日

11) 猪口淳一、角田俊之、馬場賀、馬淵麗子、小宮美砂子、内藤誠二、笹月健彦、白澤専二：RING finger ドメインを有する MigBP3 の機能解析。第 61 回日本癌学会総会、東京国際フォー

ーラム、2002年10月3日

12) 三森明夫他：MCTD71 例の臨床像と治療経過。リウマチ、42：335、2002

13) 土屋尚之、京極千恵子、黒木喜美子、氷上光輝、川崎綾、深沢徹、橋本博史、徳永勝士：全身性エリテマトーデス疾患感受性遺伝子の検討。リウマチ 42: 237、2002.

14) 山口晃弘、櫻井大祐、土屋尚之、徳永勝士、山本一彦：慢性関節リウマチ滑膜における特異的発現遺伝子の検討。リウマチ 42: 285、2002.

15) 京極千恵子、土屋尚之、松多邦雄、徳永勝士：日本人慢性関節リウマチ患者におけるFcγ受容体遺伝子群多型の解析。リウマチ 42: 363、2002.

16) 川崎綾、土屋尚之、深沢徹、橋本博史、徳永勝士：BLyS(TNFSF13B)の変異解析とSLEおよびRAとの関連の検討。リウマチ 42: 367、2002.

17) 黒木喜美子、土屋尚之、深沢徹、橋本博史、徳永勝士：ヒトCD19 遺伝子3'非翻訳領域内反復配列多型と日本人SLE感受性との関連。リウマチ 42: 367、2002.

18) 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。リウマチ 42: 424、2002.

19) Sato M, Ohashi J, Tsuchiya N, Kashiwase K, Ishikawa Y, Arita H, Hanaoka K, Tokunaga K, Yabe T: HLA haplotype, A*3303-B*4403-DRBI*1302 associates with postherpetic neuralgia (PHN). Tissue Antigens 59 (Suppl): 67, 2002.

20) Wakui M, Yamaguchi A, Sakurai D, Ogasawara K, Yokochi T, Hatta-Ohashi Y, Karaki S, Kurata K, Nishida N, Suyama A, Ikeda Y, Tsuchiya N, Tokunaga K: Differential display method-based gene expression analysis and

development of a novel oligonucleotide array assay in GvHR. Tissue Antigens 59 (Suppl): 141, 2002.

21) Sakurai D, Yamaguchi A, Tsuchiya N, Tsuno N, Okaji Y, Tokunaga K: Induction of proliferation and activation of human endothelial cells by overexpression of ID gene. Arthritis Rheum 46 (Suppl): S43, 2002.

22) Kyogoku C, Tsuchiya N, Matsuta K, Shibue T, Tokunaga K: Analyses on the association of Fcγ receptor family and TNFR2 (TNFRSF1B) polymorphisms with susceptibility to rheumatoid arthritis in Japanese. Arthritis Rheum 46 (Suppl): S98, 2002.

23) Tsuchiya N, Kobayashi S, Kawasaki A, Kyogoku C, Arimura Y, Yoshida M, Tokunaga K, Hashimoto H: Genetic background of Japanese patients with ANCA-associated vasculitis: Association of HLA-DRBI*0901 with microscopic polyangiitis. Arthritis Rheum 46 (Suppl): S188, 2002.

24) Siriboonrit U, Kyogoku C, Sirikong M, Tsuchiya N, Bejrachandra S, Suthipinittharm P, Luangtrakool K, Srinak D, Thongpradit R, Chandanayingyong D, Tokunaga K: Association of Fcγ receptor IIB, IIIA and IIIB polymorphisms with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Thais. Arthritis Rheum 46 (Suppl): S287, 2002.

25) Kawasaki A, Tsuchiya N, Fukazawa T, Hashimoto H, Tokunaga K: Studies on the association of human BLYS (BAFF, TNFSF13B) and BAFF-R polymorphisms with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 46 (Suppl): S288, 2002

26) Sakurai D, Yamaguchi A, Tsuchiya N, Tokunaga K: Elevated level of FosB mRNA and FosB/DeltaFosB ratio in the synovial tissues of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 46 (Suppl): S502, 2002.

27) Kuroki K, Tsuchiya N, Matsuta K, Fukazawa T, Juji T, Hashimoto H, Tokunaga K: Association of Leukocyte Immunoglobulin-like Receptor 1 (LIR1, ILT2, LILRB1) polymorphism with susceptibility to rheumatoid arthritis in Japanese. *Arthritis Rheum* 46 (Suppl): S550, 2002.

28) Furuya T, Kotake S, Hakoda M, Ichikawa N, Nanke Y, Yamanishi Y, Kawasaki A, Tsuchiya N, Tokunaga K, Kamatani N: TNFA 5'-flanking region polymorphisms in 84 Japanese patients with myositis. *Arthritis Rheum* 46 (Suppl): S611, 2002.

29) 京極千恵子、土屋尚之、松多邦雄、渋谷司、徳永勝士：日本人関節リウマチ(RA)における Fcγ 受容体ファミリーおよび TNFR2(TNFRSF1B)遺伝子多型の関連研究。日本人類遺伝学会第47回大会(2002年11月13日-15日、名古屋)。P113, 2002.

30) 黒木喜美子、土屋尚之、松多邦雄、深沢徹、十字猛夫、橋本博史、徳永勝士：Leukocyte immunoglobulin-like receptor 1 (LIR1)多型と日本人関節リウマチ疾患感受性との関連。日本人類遺伝学会第47回大会(2002年11月13日-15日、名古屋)。P115, 2002.

31) 宮下リサ、土屋尚之、氷上光輝、黒木喜美子、屋部登志雄、徳永勝士：ヒト NKG2-C 遺伝子欠失の分子遺伝学的解析。日本人類遺伝学会第47回大会(2002年11月13日-15日、名古屋)。P141, 2002.

32) 櫻井大祐、山口晃弘、大槻祐頼、津野寛和、土屋尚之、徳永勝士：ID 遺伝子強制発現による血管内皮細胞の活性化および増殖誘導。日本人類遺伝学会第47回大会(2002年11月13日-15日、名古屋)。P172, 2002.

33) 宮下リサ、土屋尚之、黒木喜美子、屋部登志雄、徳永勝士：ヒト NKG2-C 遺伝子欠失の分子遺伝学的解析。日本免疫学会総会学術集会記録 32: 136, 2002.

34) 川崎綾、土屋尚之、松多邦雄、深沢徹、

長谷英徳、小端哲二、橋本博史、徳永勝士：BLyS(TNFSF13B)、BAFF-R 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 32: 210, 2002.

35) Kyogoku C, Tsuchiya N, Matsuta K, Shibuc T, Tokunaga K: Analyses on the association of Fcγ receptor family and TNFR2 (TNFRSF1B) polymorphisms with susceptibility to rheumatoid arthritis in Japanese. 日本免疫学会総会学術集会記録 32: 298, 2002.

36) Kuroki K, Tsuchiya N, Matsuta K, Fukazawa T, Juji T, Hashimoto H, Tokunaga K: Association of leukocyte immunoglobulin-like receptor 1 (LIR1, ILT2, LILRB1) polymorphism with susceptibility to rheumatoid arthritis (RA) in Japanese. 日本免疫学会総会学術集会記録 32: 298, 2002.

37) Sakurai D, Yamaguchi A, Tsuchiya N, Tsuno N, Okaji Y, Tokunaga K: Induction of proliferation and activation of human endothelial cells by overexpression of ID gene. 日本免疫学会総会学術集会記録 32: 301, 2002.

38) 山口晃弘、櫻井大祐、土屋尚之、田中良哉、徳永勝士、山本一彦：関節リウマチにおける follistatin related protein の滑膜線維芽細胞増殖への関与。日本免疫学会総会学術集会記録 32: 298, 2002.

39) 中村道子、片桐直之、五十嵐雅文、黒木良幸、石島英樹、菅原道哉(2002.8.23) 精神症状が長年先行した自己免疫疾患の兄妹発症例。第10回日本精神・行動遺伝医学会、横浜

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定も含む)

なし

Ⅲ. 分担研究報告書

厚生科学研究費補助金（厚生労働省ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
分担研究報告書

SLE を中心とした自己免疫疾患感受性遺伝子の解明
- 同胞発症例を中心とした検体収集システムの確立 -

小池 隆夫（北海道大学大学院医学研究科分子病態制御学・第二内科・教授）
天崎 吉晴（北海道大学医学部附属病院第二内科・助手）

研究要旨

全身性エリテマトーデス（SLE）をはじめとする自己免疫疾患患者の中には、頻度は少ないながら家系内発症を認める例が知られており、こうした例の解析により宿主側の因子を究明できる可能性がある。本研究は、全身性自己免疫疾患の代表である SLE の原因遺伝子とその遺伝子変異の同定を行い、病因の解明や将来の先駆的診断・治療法の開発に資することを目的とする。患者由来ゲノム DNA を用いた全ゲノムスキャンによる解析を実施するにあたり、SLE ゲノム検体の収集が重要で、特に家系内発症例は数百例以内にとどまると推測され困難が予想されるため、全国的な検体収集が重要となる。当施設はこのための検体収集システムを担当、平成 14 年度は本学における遺伝子解析実施に関する研究倫理審査申請を行い、承認された。次に検体収集の全国組織網として、罹患同胞対法用の検体収集については、日本リウマチ学会評議員を中心としたネットワークで全国への検体収集協力の依頼を行い、100 組を目標に各施設での倫理審査も経て検体を集積中である。また患者対照群による相関解析のための検体については、当施設膠原病外来の SLE 患者を第一対象としてゲノム DNA 検体の収集を実施し、初期解析用の 200 例の集積を目指している。特に家系内発症例の検体集積努力が重要となり、各種の方法でひきつづき全国的に協力を依頼し集積を継続中である。

A. 研究目的

全身性自己免疫疾患の代表である全身性エリテマトーデス（SLE）では、血縁者間で同疾患を発症する例の存在が知られている。家系内での SLE の発症頻度は報告により異なるが、第一度近親で 1～4%以内とされており、一般集団における SLE の有病率 0.01～0.1%と比較して明らかに高い。また、一卵性双生児における発症一致率は 30%程度とされる。これらより SLE の発症要因については、複数の疾患感受性遺伝子の存在と、何らかの後天的環境要因の両者の関与が従来推測されてきた。

これまでの SLE の疾患感受性遺伝子の候補については、特定の HLA ハプロタイプとの相関が早くから指摘されていたが、報告・人種間で必ずしも一致しない。また C1q、C4 の欠損や、Fcγ 受容体遺伝子の変異と SLE の発症の関連が示唆されてきたが、肯定的または否定的な報告が相半ばする状況である。研究が実施された時期の解析技術の限界、あ

るいは特に連鎖解析による研究については、SLE の家系内発症例の例数確保の困難さの問題が背景と推測され、その疾患感受性遺伝子の全貌については未だ結論されていない。そこで人種的に比較的均一性が期待できる本邦において、“All Japan”体制で家系内 SLE 発症例を集積し、そのゲノムスキャンにより包括的に疾患感受性遺伝子の探索を行う意義が生じる。報告者は国立国際医療センター研究所との共同で、SLE を中心とする自己免疫疾患の原因遺伝子の解明を目的に本研究を行うこととし、特に全国的な検体収集のシステムづくりとその実施を行う。

B. 研究方法

研究対象患者は、SLE を中心とし、SLE 同士またはその他の自己免疫疾患の患者とその同胞である。北海道大学医学部付属病院、または共同研究者の研究施設に入院または通院中の上記疾患患者、および研究の趣旨に文書で賛同を得られた他施設にて入院または通院

中の上記疾患患者を対象とする。本学の倫理審査機構における審査を取得し、これを踏まえて全国の膠原病診療施設への研究用採血への協力を依頼する。全ての採血例につき、インフォームド・コンセントに基づく同意取得のための説明および同意取得書式を作成し、検体回収の手順も定めて研究協力機関に配布する。

全国的な献体収集については、まず困難が予想される同胞発症例の集積を優先し、100例以上を目標とする。また、平行して行う孤発 SLE 患者・対照群による相関解析のための孤発例集積については、当面当研究科の症例を対象として検体の集積を行い、200例を初期目標とする。検体集積の進行とともに関連施設にも協力を依頼し、最終的に 600 例を目標とする。これらの検体は当施設に送付され、匿名化处理のうえでゲノム DNA を抽出し、国立国際医療センター研究所にゲノム DNA 解析のために順次送付される。

C. 研究結果

1) 研究開始のための倫理審査申請：

必要書式を準備し北海道大学研究倫理審査委員会へ、研究計画書、被採血者への同意取得関連文書等の関連書類を提出し、実施に関し承認を得た。また、DNA 解析を実施する国立国際医療センター研究所においても倫理審査を終了している。

2) 検体収集の目標と推定患者数：

目標例数は(1) SLE 同胞発症例として 100 組程度、(2)孤発例 600 例程度を目標とする。(2)については当科を含む数施設での専門外来で十分確保可能な例数であり、現在初期解析を行うための 200 例を目標とし採血の実施と DNA 抽出・集積を行っている。

(1)について、採血対象となる同胞発症例 SLE 患者の実数は、現状では正確な推計が存在しない。ただし厚生労働省特定疾患研究班において SLE 患者としての申請数は平成 12 年で約 3 万人強であり、この数をアクセス可能な SLE 母集団の規模とし、第一度近親における SLE 有病率 1.7-4 % をもとに推定した場合、家族内発症は単純計算では 1000 人程度が見込まれる。そのうち同胞発症例はおそらく 200~300 組程度にとどまると思われる。よっ

て 100 組以上の集積は不可能ではない反面、全国規模での検体収集努力が必要と考えられる。

3) 全国での検体収集ネットワーク：

SLE を初めとする膠原病の症例の診療では、日本リウマチ学会評議員、または学会員のうち内科系の医師の所属する大学病院・基幹施設が各地でその中核となっている。同学会評議員数は平成 14 年度で内科系・整形外科系医師を含め 588 名であり、報告者らも同学会役員を務める。そこで同学会の協力を得て全国の同評議員の全員に採血の協力を呼びかけ、現在までに約 90 施設の採血協力の承諾を得た。また、この段階で 20 件余の同胞発症例の申告も得ている。実際の同胞発症例の検体は平成 15 年初頭より少しずつ集積されるようになっており、また各施設独自の倫理審査が進行中の所もある。報告書の時点で、同胞発症例 18 例、孤発 80 例が集積されている。なお、検体からの DNA 抽出方法については、報告者の研究室において標準的な抽出プロトコールで行い、特に問題なく実施できている。

D. 考察

平成 14 年度は血液検体収集のための倫理審査、体制づくりを行い、また実際の SLE 患者検体収集も開始した。精度の高い解析の実施には、前述の目標症例数すなわち 同胞発症例 100 組、孤発例最終 600 例を設定しており、今後さらに症例を増やす必要がある。このため、日本リウマチ学会評議員への再度の呼びかけを行うとともに、厚生省研究班会議会員を通じた協力依頼の呼びかけを本年 1 月末の厚生労働省班会議において行い、またリウマチ学会会員中の内科および小児科系会員（約 3000 人）を対象に、学会の承諾を得て学会員名簿をもとに研究協力の依頼を継続中である。また、各施設ごとの規定により当該施設での倫理審査が追加必要な場合も多く、そうした場合は書類準備など個別に対応し協力を依頼しており、今後一層の検体収集努力を行っている。また、同胞発症例については随時、孤発例については、国立国際医療センター研究所において 200 例が蓄積されるつど、DNA 解析を段階的に開始していく計画である。

E. 結論

全身性自己免疫疾患の代表である SLE の疾患関連遺伝子変異の同定を目的とし、患者由来ゲノム DNA を用いた全ゲノムスキャン解析実施のため、特に家系内発症例を重視し全国的な検体収集のためのシステムづくりを開始し、検体収集を開始した。現在各種のアプローチでひきつづき検体集積を継続中である。

F. 健康危険情報

検体収集は、依頼施設での通常の診療時の採血とともに行われる約 10ml の静脈血採血であり、危険はほとんど伴わない。また、検体は匿名化管理とする等、個人情報の保護に十分に配慮する体制を敷き、これらについては本学の研究倫理審査においても承認されている。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Horita T, Tsutsumi A, Takeda T, Yasuda S, Takeuti R, Amasaki Y, Ichikawa K, Atsumi T, Koike T. Significance of magnetic resonance imaging in diagnosis of nodular regenerative hyperplasia of the liver complicated with systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 11:193-196, 2002
- 2) Okamoto T, Tanaka S, Stan CA, Koike T, Kas M, Makita Z, Sawa H, Nagashima K. Advanced glycation end products induce angiogenesis in vivo. *Mol Res.*, 3:186-195, 2002
- 3) Atsumi T, Koike T. Clinical relevance of antiprothrombin antibodies. *Autoimmunity Reviews.*, 1:49-53, 2002
- 4) Ieko M, Nakabayashi T, Takeda T, Naitoh S, Atsumi T, Koike T. The inhibition of protein C anticoagulant activity by anti- β 2-glycoprotein I(β 2GPI)antibodies isolated from patients with antiphospholipid syndrome by chromatography methods. *Mod Rheumatol.*, 12:44-49, 2002
- 5) Matsuura E, Kobayashi K, Kasahara J, Yasuda T, Makino H, Koike T, Shoenfeld Y. Anti- β 2-glycoprotein I antibodies and atherosclerosis. *Int. Rev. Immunol.*, 21:51-66, 2002
- 6) Yasuda S, Tsutsumi A, Astumi T, Bertolaccini ML, Ichikawa K, Khamashta MA, Huges RV, Koike T. Gene polymorphisms of tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1patients with antiphospholipid antibodies. *J. Rheumatol.*, 29:6, 1192-1197, 2002
- 7) Koizumi K, Haseyama Y, Machino R, Sato Y, Sawada K, Koike T. The hemophagocytic syndrome in prostate cancer revealed by disseminated carcinomatosis of the bone marrow. *J. Urology*, 168:1101-1102, 2002
- 8) Yamaguchi M, Hirayama F, Murahashi H, Azuma H, Sato N, Miyazaki H, Fukazawa K, Sawada K, Koike T, Ikeda H, Ikebuchi K. Ex vivo expansion of human UC blood primitive hematopoietic progenitors and transplantable stem cells using human primary BM stromal cells and human AB serum. *Cytotherapy.*, 4:2, 109-118, 2002
- 9) Tyndall A, Koike T. High-dose immunoablative therapy with hematopoietic stem cell support in the treatment of severe autoimmune disease: current status and future direction. *Int. Med.*, 41:8.608-612, 2002
- 10) Miyoshi H, Taguchi T, Sugiura M, Takeuchi M, Yanagisawa K, Watanabe Y, Miwa I, Makita Z, Koike T. Aminoguanidine pyridoxal adduct is superior to aminoguanidine for preventing diabetic nephropathy in mice. *Horm Metab Res.*, 34: 371-377, 2002
- 11) Takeuchi R, Atsumi T, Ieko M, Amasaki Y, Ichikawa K, Koike T. Suppressed intrinsic fibrinolytic activity by monoclonal anti-beta2 glycoprotein I aut antibodies: possible mechanism for thrombosis in patients with antiphospholipid syndrome. *Brit. J. Hematol.*, 118: 781-788, 2002
- 12) Ambrozic A, Avicin T, Ichikawa K, Kvedar T, Matsuura E, Hojnik M, Atsumi T, Rozman B, Koike T. Anti- β 2-glycoprotein I antibodies in

children with atopic dermatitis. *Int Immunol.*,
14:823-830, 2002

2. 学会発表

①国外発表

- 1) Koike, T. : " Anticardiolipin and anti- β 2-glycoprotein I antibodies: application in the clinic" 3rd International Congress on Autoimmunity, Geneva, Switzerland, February, 20~24, 2002.
- 2) Koike, T. : " Antiphospholipid antibodies in arterial thrombosis." 1st Tuzing Antiphospholipid, Conference, Tuzing, Germany, April, 22~25, 2002.
- 3) Koike, T. : " Anti-prothronbin antibodies: pathogenesis and specificity." 6th Dresden symposium on Autoantibodies, Dresden, Germany, September, 4~7, 2002.

②国内発表

- 1) 小池隆夫：「抗リン脂質抗体症候群：最近の話題」第166回日本内科学会東北地方会生涯教育講演会、仙台市、2002年2月9日
- 2) 小池隆夫：「膠原病と幹細胞移植」厚生労働省ヒトゲノム・再生医療等研究事業五班合同公開シンポジウム会、東京都、2002年2月16日
- 3) 小池隆夫：「1型糖尿病と研究の流れと問題点」第45回日本糖尿病学会、東京都、2002年5月16-19日
- 4) 小池隆夫：「抗リン脂質抗体症候群」第32回日本臨床免疫学会学術総会、東京都、2002年12月4~6日

H. 知的財産権の出願・登録

該当無し

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
分担研究報告書

'high-throughput'ゲノム解析システムを用いた自己免疫疾患感受性遺伝子の同定

白澤 專二（国立国際医療センター研究所・臨床病理研究部・部長）

研究要旨

この研究は、SLE を中心とした自己免疫疾患の疾患感受性遺伝子とその遺伝子変異を同定し病因を解明することを目的とする。この目的を達成するために本年度は以下のことを行った。

- 1) 各共同研究施設（北大、東邦大、国際医療センター）と協力して「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理方針」（平成 13 年 3 月 29 日）に基づいて研究計画を立案し、国際医療センターの倫理審査委員会で承認された。
- 2) 近親婚が原因であると推定される SLE 多発家系に対して、全ゲノムに対するマイクロサテライトマーカークでのタイピングを開始した。
- 3) 国立国際医療センター研究所に、DNA 解析を high-throughput で行えるゲノム解析システムを構築した。
- 4) SLE, RA, IDDM, AITD の自己免疫疾患で共通に連鎖が報告されている 18q12-q21 領域についてマイクロサテライトマーカークでの narrowing を行った。

A. 研究目的

自己免疫疾患を広義にとらえるとその有病率は約 4%にもおよび、難治性であり慢性の経過をたどることを考慮すると、その病因の解明とそれに立脚した治療法の確立は現代医療に課せられた急務である。本分担研究では、全身性自己免疫疾患の代表である全身性エリテマトーデス(SLE)を中心とした自己免疫疾患の疾患感受性遺伝子とその遺伝子変異の同定を行うために、high throughput なゲノム解析システムを構築すること、およびそれを活用して自己免疫疾患感受性遺伝子を同定することを目的としている。この成果は、SLE のみならず関節リウマチ、Graves 病、橋本病なども含めた自己免疫疾患に共通の病因の解明にもつながり、国民の保険・福祉・医療の向上に貢献できると考えられる。

B. 研究方法

1) 倫理審査委員会での承認：

SLE 検体の収集およびDNAの抽出・保存を行う北大（小池隆夫）、SLE 多発家系の収集を行う東邦大（中村道子）、およびSLE 検体の収集を行う国際医療センター（三森明夫）

と協調して、国立国際医療センターにおいてゲノム解析が行えるように、研究計画書を作製し、倫理審査委員会での承認を受ける。

2) SLE 多発家系の解析：

同胞 4 人中 3 人が SLE を発症し、患者の父方祖母と母親がはとこである近親婚の大家系の 9 人に対して全ゲノムに対する約 400 個のマイクロサテライトマーカークについて解析を行う。

3) ゲノム解析システムの構築：

大量の検体を迅速に解析できる“high throughput”なゲノムシステムを構築する。

4) 18q12-q21 領域の解析：

SLE のみならずその他の自己免疫疾患（AITD, RA, IDDM）で連鎖が報告され、かつ、国際医療センターの研究でも AITD で連鎖が確認された 18q12-q21 領域の narrowing を AITD のサンプルを用いて行う。

<倫理面への配慮>

これらの研究では、研究対象者に対する人権擁護に関しては最大の配慮を行い、また、

研究による不利益・危険性の可能性とそれらを可能な限り排除する方法等についても、十分な説明を行い、理解して頂いたのちにインフォームド・コンセントの書式で各説明事項にチェックと署名をしてもらう。また、解析に送られてくる検体は既に匿名化がなされている。この研究はヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成 13 年 3 月 29 日：文科省・厚労省・経済産業省告示第 1 号）にのっとった倫理委員会により承認されている。

C. 研究結果

1) SLE 検体の収集：

北大（小池隆夫）、東邦大（中村道子）、および国際医療センター（三森明夫）が収集した検体についてゲノム解析を行う研究に関して、倫理審査委員会での承認を得た。

2) SLE 多発家系の解析：

患者 3 人を含む 9 人の家系構成員に対して、400 個のマイクロサテライトマーカーにより **genotyping** を開始した。

3) ゲノム解析システムの構築：

マイクロサテライトマーカーの **genotyping** を最大で 1 万 **genotyping**/日可能な “**high-throughput**” なシステムを構築した。

4) 18q12-q21 領域の解析：

AITD の罹患同胞対を用いた全ゲノム連鎖解析の結果、これまでに SLE を含むその他の自己免疫疾患との連鎖が報告されている IDDM6 領域内のマーカー D18S487 において AITD 全体で $MLS:1.12$ と連鎖を認めた。以上のことより同領域内に AITD のみならず自己免疫疾患全般に共通した疾患感受性遺伝子の存在が考えられたため、IDDM6 領域(約 25Mb) に存在する 180 個の多型性を有する CA リピートマーカーを設定した(平均 140kb 間隔)。これらの 180 個のマーカーを用い、AITD198 例と対照群 288 例の間で相関解析を行った結果、 $P\text{-value}: 10^{-2}\text{-}10^{-3}$ と強い相関を示す CA リピートマーカーが複数個同定された。

D. 考察

多因子疾患感受性遺伝子を迅速に効率よく同定するには、検体収集システムの樹立とゲノム解析システムの構築が必要であるが、マイクロサテライトマーカーのタイピングが 1 万/日できる “**high-throughput**” なシステムを構築したことは 1 年目としては目標を達成したと考えられる。今後、このシステムを用いて、自己免疫疾患感受性遺伝子同定を精力的に行うが、既に近親婚が原因と考えられる SLE 多発家系の解析は開始したので、そのデータをもとに **homozygous mapping** の理論によりこの家系における原因遺伝子座を同定する予定である。また、自己免疫疾患に共通な疾患感受性遺伝子領域 (IDDM6) 18q12-q21 領域に対して CA マイクロサテライトマーカーにより絞り込みを行い、AITD では $P\text{-value}: 10^{-2}\text{-}10^{-3}$ と有意な相関を示す CA リピートマーカーが複数個同定されたので、今後は AITD-2nd セット、および SLE 検体での相関の確認を行い、そして SNPs による解析で感受性遺伝子を同定する予定である。

E. 結論

1) 各共同研究施設（北大、東邦大、国際医療センター）と協力して「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理方針」（平成 13 年 3 月 29 日）に基づいて作製した研究計画が国際医療センターの倫理審査委員会承認された。

2) 近親婚が原因であると推定される多発家系に対して、全ゲノムに対するマイクロサテライトマーカーでのタイピングを開始した。

3) 国立国際医療センター研究所に、DNA 解析を **high-throughput** で行えるゲノム解析システムを構築した。

4) SLE, RA, IDDM, AITD の自己免疫疾患で共通に連鎖が報告されている 18q12-q21 領域についてマイクロサテライトマーカーでの **narrowing** を行い、統計学的に有意な相関を示す複数個のマーカーを同定した。