

F.健康危険情報

特になし

G.研究発表

1. 論文発表

1.) Shirasawa S. Sasazuki T: The impact of oncogenes on tumor maintenance.

Oncogene-Directed Therapies (Rak JW. Ed., Human Press Inc., Totowa):229-243. 2002

2) Tsunoda T. Inokuchi J. Baba I. Okumura K. Naito S. Sasazuki T. Shirasawa S. A novel mechanism of nuclear factor κB activation through the binding between inhibitor of nuclear factor-κBa and the processed NH₂-terminal region of Mig-6. *Cancer Res.* 62(20):5668-5671, 2002

3) 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.

4) 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

2. 学会発表

1) 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回国際医療協力シポジム、国立国際医療センター、2002年11月7日

2) 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

3) 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。日本人類遺伝学会第47回大会、名古屋、2002年11月13～15日

4) 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

5) 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、東京国際フォーラム、2002年10月3日

H.知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

1.特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

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（国立国際医療センター研究所・臨床病理研究部・室長）

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作製し、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) “high-throughput”で行えるゲノム解析システムを構築した。
- 4) 臓器特異的な自己免疫疾患であり、SLE の経過中に出現する橋本病で連鎖を示した 5q31-q33 領域についてマイクロサテライトマーカーでの narrowing を行った。

A. 研究目的

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）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) 5q31-q33 領域の解析：

臓器特異的な自己免疫疾患であり、SLE の経過中に出現する橋本病（HT）の解析で連鎖を示した 5q31-q33 領域についてマイクロサテライトマーカーでの narrowing を行う。

<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献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・厚生省・経済産業省告示第 1 号）のの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) 5q31-q33 領域の解析：

HT および AITD 全体と強い連鎖を示す疾患感受性遺伝子領域として罹患同胞対法で同定した 5q31-q33 領域(約 26Mb)に存在する 300 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 86.7kb 間隔)。これらの 300 個のマーカーを用い、AITD198 例と対照群 260 例の間で相関解析を行った結果、P-value:10-2-10-3 と強い相関を示す一群の CA リピートマーカーが存在する、2.95Mb の領域を同定した。

D. 考察

マイクロサテライトマーカーのタイピングが 1 万/日できるシステムを構築したことは、今後の研究の遂行上非常に重要なことであると考えられる。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、AITD の疾患感受性遺伝子領域 5q31-q33 領域を 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 において P-value:10-2-10-3 と強い相関を示す一群の CA リピートマーカーが存在する 2.95Mb の領域を同定したので、今後は SNPs による解析で感受性遺伝子座の narrowing を行う予定である。

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) 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) 臓器特異的な自己免疫疾患であり、SLE の経過中に出現する橋本病で連鎖を示した 5q31-q33 領域についてマイクロサテライトマーカーでの narrowing を行った。

F.健康危険情報

特になし

G.研究発表

1. 論文発表

1) 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.

2) 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.

3) 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.

4) 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.

5) 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.

2. 学会発表

1) 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

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。日本人類遺伝学会第 47 回大会、名古屋、2002 年 11 月 13～15 日

H.知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

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（国立国際医療センター・膠原病科・医長）

研究要旨

SLE の疾患感受性遺伝子を探索する前提として、臨床形質の分類を試みる。
国立国際医療センターにおいて、SLE 患者 95 例の末梢血採血と臨床データを、
倫理審査で承認された研究計画を遵守して採取した。

A. 研究目的

SLE は不均一な疾患の可能性があるので、
疾患感受性遺伝子探索のために血液を採取し
た症例の病型を分類する。

分類する意義が示唆されたので、この分類法の
検討を今後も継続する。

B. 研究方法

施設内倫理委員会の承認を得た書式で文書お
よび口頭で説明し、理解と承諾を得て採血を行
い、番号によって匿名化した症例の臨床形質を
記録した。

F. 健康危険情報
特になし

<倫理面への配慮>

ヒトゲノム研究倫理指針に従った。

G. 研究発表

1. 論文発表

Takeishi M. Mimori A. et al: Reduction of factor XII
in antiphospholipid antibody positive patients with
thrombotic events in rheumatology clinic. *Clin.
Rheumatol.*, in press. 2003

2. 学会発表

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

C. 研究成果

現在までに 95 例の SLE 患者血液と、そのう
ち 3 例の同胞かつ SLE である症例の血液を採
取した。ループス腎炎の 2 例の同胞にループス
腎炎がみられた。全体の症例で比較的一定した
病態を示すことが分かった。

H. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

D. 考察

今回血液採取した SLE 症例の臨床病態には
中枢神経症状の反復、ループス腎炎の再燃反復、
長期にわたって皮疹のみを示す症例が見られた
ことは、疾患感受性遺伝子の検索にあたり、臨
床形質を分類しておく意義があることを示唆し
た。SLE が重複する MCTD の病型も検討し、
患者ごとに一定する傾向が見られた。

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

E. 結論

SLE 感受性遺伝子研究において、臨床形質を

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（東京大学大学院医学系研究科・人類遺伝学・助教授）

研究要旨

全身性エリテマトーデス(SLE)の疾患感受性遺伝子を見出す目的で、これまでに、20 以上の候補遺伝子について、系統的多型スクリーニングと関連解析を施行し、*FCGR2B-I232T*, *TNFR2-M196R*, *CD19 3'非翻訳領域の(GT)₁₅₋₁₈* リピートと SLE との関連を世界に先駆けて報告した。本年度は、新たな候補遺伝子として、*LIR1(ILT2, LILRB1)*, *BAFF-R* の多型スクリーニングと関連解析を完了するとともに、以前 SLE との関連を報告した *HLA-DRB1* および Fcγ受容体 IIb 遺伝子の関連をタイ人集団において検討し、それぞれ *DRB1*1502*, *FCGR2B-232T* および *3B-NA2* の関連が検出された。これらの知見と日本人集団との比較は、疾患感受性遺伝子をさらなる限局化や、疾患との関連の機序の検討のうえで、有用な情報を与えらる。

A.研究目的

全身性エリテマトーデス(SLE)の病因は未解明であるが、ある程度の遺伝的背景の存在が知られている。疾患感受性遺伝子の同定は、病因・病態解明につながり、本質的治療法の開発、早期診断、予防など、あらゆる診療の場面において、有用な情報を提供する。また、疾患感受性遺伝子は、各集団に共通なもの、集団の遺伝的・環境的背景によって異なるものがある可能性が高く、特に日本人集団における疾患感受性遺伝子を見出すことが重要である。

多因子疾患感受性遺伝子同定に至るアプローチには、大別して位置的アプローチと候補遺伝子アプローチがあり、緊密な連携のもとに両者を並行して進めることが理想的である。候補遺伝子アプローチは、検出感度が高く、比較的寄与の低い疾患感受性遺伝子をも検出する利点があり、また、SLE においては、SLE を発症するトランスジェニックマウス、ノックアウトマウスが多数知られているのみならず、多因子遺伝様式で SLE を自然発症するモデルマウスの連鎖解析による候補領域も多数見出されていることから、多くの多因子疾患のなかでも、特に候補遺伝子アプローチの占める意義が大きい疾患であると考えられる。

われわれは、これまでに、20 以上の候補遺伝子について、系統的な多型スクリーニング

を施行し、多数の新規多型を記載するとともに、*TNFR2-M196R*, *CD19 3'非翻訳領域の GT* リピート多型、*FCGR2B-I232T* と SLE との新規の関連を報告した（表 1, 2）。

今回の研究班では、このようなアプローチをさらに継続し、新たな関連の検出を試みるとともに、これまでに統計学的な関連を検出した多型について、機能解析や、他集団における共通性の検討を通じて、疾患感受性遺伝子であることの確立や、疾患発症に関連する機序の解明を目的とする。

本年度は、新たな候補遺伝子として、**leukocyte immunoglobulin-like receptor 1 (LIR1, LILRB1, ILT2)**, **BAFF-R** の解析を行った。LIR1 は、血球系細胞に広範に発現し、HLA-class I 抗原を認識する抑制性受容体である。SLE の感受性候補領域の一つでもある 19q13.4 にクラスターを形成する **leukocyte receptor complex (LRC)**内に遺伝子座が存在する。

BAFF-R は、単球や樹状細胞に主に発現し、B細胞の生存、分化にきわめて重要な役割を果たし、近年 SLE, RA や Sjögren 症候群の病態における関与が大きな注目を集めている **BLyS (BAFF)**の主要な受容体であり、遺伝子座は 22q13.2 に位置する。なお、われわれはすでに BLyS の多型解析を終了し、プロモーター領域 -871C>T 多型が単球の mRNA レベルと関連し、抗 Sm 抗体陽性 SLE に増加傾向にあることを

報告している。

また、ある多型と疾患の統計学的関連が検出されたとき、その多型が一義的に疾患と関連するのか、連鎖不平衡にある近傍の遺伝子が重要であるのかを検討する上で、機能解析とともに、連鎖不平衡の異なる他集団における検討を加えることが有用である。今回、過去に日本人 SLE との関連を報告した HLA-DRB1 および Fcγ受容体遺伝子群について、他集団における関連を検討する目的で、タイ集団の検討を施行した。

B. 研究方法

LIRI および BAFF-R の多型スクリーニングは、直接塩基配列決定法および PCR-SSCP 法を用いて行った。LIRI については、家系検体を用いて、ハプロタイプを決定した。検出された多型部位については、非血縁患者・健常者検体を用い、患者対照法による関連分析を施行した。

タイ患者・健常者の HLA-DRB1, DQB1 は PCR-SSOP 法により、FCGR2A は PCR-RFLP, 2B は、nested PCR 産物を LightCycler™ (Roche Diagnostics) を用いた ASO 法により、3A は PCR-SSCP 法により、3B は PCR-SSP 法により、それぞれ、遺伝子型を決定した。

(倫理面への配慮)

これらの研究は、東京大学大学院医学系研究科および共同研究施設の研究倫理審査委員会の承認を得た研究計画に従って、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守し、試料提供者の同意のもとに、匿名化した検体を使用して行われた。

C. 研究結果

1) LIRI

系統的多型スクリーニングにより、LIRI 遺伝子に 17 個所の SNP が検出され、うち 5 個所は非同義置換であった。これらの多型の大部分は、SNP データベース(dbSNP, JSNP)に登録されていないものであった。家系試料を用いた検討から、これらの細胞外領域のアミノ酸置換を伴う SNPs が主として 3 種類のハプロタイプを形成して存在することが見出され、これらを暫定的に、LIRI.01, .02, .03 と命名した。これらのうち、LIRI.01/01 遺伝子型のホ

モ接合体が、HLA-DRB1 の疾患感受性アリルを有しない群(shared epitope 陰性群)において、関節リウマチ(RA)に有意に増加していたが、SLE との関連は見出されなかった(表 3)。

2) BAFF-R

多型スクリーニングにより、5 個所の変異が検出され、うち 2 個所は一般集団における頻度が高く、多型と考えられた。なお、BAFF-R の多型は、これまでに dbSNP, JSNP に登録されていない。これらは単独では SLE, RA との関連が見られなかったものの、BLyS -871C>T との組み合わせを検討すると、BLyS -871T 非保有者において、BAFF-R の 3'非翻訳領域(UTR) c*120 T>C の保有者が RA に有意に少ないことが見出された。SLE では、関連は検出されなかった(表 4)。

3) タイ人集団における SLE と HLA-DRB1, FCGR 遺伝子群の関連分析

タイ人集団においては、SLE に DRB1*1501, 1502, 1602 の増加が見出されたが、これらのうち、多重検定の補正を行っても有意差が保たれたのは、DRB1*1502 のみであった。DQB1 では、DRB1*1502 と連鎖不平衡にある DQB1*0501 の増加が認められた(表 5)。

FCGR に関しては、日本人集団同様、FCGR2B と 3B の強い連鎖不平衡が見られ、FCGR2B-232T, 3B-NA2 の有意な関連が検出された。3A についても関連が検出されたが、これは、2B, 3B との連鎖不平衡による二次的な関連と考えられた(表 6)。

D. 考察

われわれの候補遺伝子アプローチでは、原則として、すべてのエクソンと、上流約 1kb の多型スクリーニングを施行している。現在、いくつかの SNP データベースが使用可能であるが、これまでの経験では、登録された SNP 以外に多数の多型部位が検出されている。日本人におけるハプロタイプ・ブロックが完全に決定されていない現状では、既存のデータベースのみに依存せず、なお系統的な多型スクリーニングが必要であることを示す知見であると考えられる。

また、過去に SLE との関連を報告した FCGR2B 多型の場合、イントロンも含めて、非常の相同性の高い遺伝子が存在するため、

long PCR, nested PCR, real time PCR を用いた ASO がタイピングに必要であった。特に免疫系には、相同性の高い遺伝子ファミリーが多いため、なお、きめ細かな候補遺伝子アプローチが必要であると考えられる。

今年度新たに解析した2つの候補遺伝子では、SLE との関連は検出されなかったものの、RA との関連が検出された。*LIRI* の多型は、リガンドである *HLA-class I* との結合部位近傍に位置するアミノ酸置換を伴う多型であり、また、*BAFF-R* 多型は、遺伝子発現に影響すると思われる3'UTR に位置する。現在、過去に SLE との関連を検出した *FCGR2B-I232T* 多型とともに、これらの多型に由来する機能的な差違の検討を行っている。

疾患感受性遺伝子を限局化していく上で、連鎖不平衡が異なる可能性がある複数の集団を比較して、共通性を探ることは、一つの有用な手段である。今回、タイ人集団において、*HLA-DRB1* と *FCGR* につき、日本人 SLE と類似しているが異なる関連が観察された。すなわち、*HLA-DRB1* においては、日本人集団では *DRB1*1501* の関連が見られたのに対し、タイ人では、*DRB1*1502* がもっとも強く関連していた。過去の報告では、*DRB1*1501* は、東アジアを含め、ほぼ世界中で SLE との関連が報告されているのに対し、*DRB1*1502* は、台湾において関連が報告されている。この結果から、*DRB1*1502* は、東南アジアにおける SLE の感受性アリルである可能性が示唆される。*DRB1*1501*、**1502* のいずれもが日本、タイのいずれの集団でも一般集団中で比較的頻度の高いアリルであり、アミノ酸配列上もきわめて近縁でありながら、疾患との関連にこのような微妙な差違が生じることに対する解釈は、現時点では明確でない。*DQB1*、*TNFA* との連鎖不平衡でも、現時点では一元的な説明は困難であり、両集団におけるほかの遺伝的背景との相互作用、環境要因の違いなどが関与するものかもしれない。

一方、*FCGR* については、われわれ自身の先行研究で、日本人では *FCGR2B*、*3A* がそれぞれ独立に SLE に関連する可能性が示唆されたが、今回、タイ人集団では、互いに連鎖不平衡にある *2B*、*3B* の関連が検出され、*3A* の関連は二次的と思われる。この結果から、*FCGR*

クラスターには、複数の疾患感受性遺伝子座があり、少なくともアジア集団においては、その一つは *FCGR2B* である可能性が強く示唆される。今後、多型の機能解析を含め、さらに検討を進める予定である。

E. 結論

LIRI、*BAFF-R* に多数の新規多型を検出し、ともに、他の遺伝子多型で層別化した場合に、RA との関連が検出された。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。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 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.

2) 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 *Fcy* 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.

3) 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.

4) 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.

5) 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.

6) 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.

7) Tsuchiya N, Ohashi J, Tokunaga K. Variations in immune response genes and their associations with multifactorial immune disorders. *Immunol Rev* 190: 169-181. 2002.

8) 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 Dicuđe et al [letter]. *Arthritis Rheum* 48: 273-274. 2003.

9) 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)

10) 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)

11) 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) 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.

2) 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.

3) 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.

4) 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.

5) 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.

6) 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.

7) Sato M, Ohashi J, Tsuchiya N, Kashiwase K, Ishikawa Y, Arita H, Hanaoka K, Tokunaga K, Yabe T: HLA haplotype, *A*3303-B*4403-DRB1*1302* associates with postherpetic neuralgia (PHN). *Tissue Antigens* 59 (Suppl): 67. 2002.

8) 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.
- 9) 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.
- 10) 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.
- 11) 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-DRB1*0901* with microscopic polyangiitis. *Arthritis Rheum* 46 (Suppl): S188, 2002.
- 12) 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.
- 13) 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.
- 14) 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.
- 15) 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.
- 16) 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.
- 17) 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 4 7 回大会(2002 年 11 月 13 日-15 日、名古屋)。P113, 2002.
- 18) 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 4 7 回大会(2002 年 11 月 13 日-15 日、名古屋)。P115, 2002.
- 19) 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 4 7 回大会(2002 年 11 月 13 日-15 日、名古屋)。P141, 2002.
- 20) 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 4 7 回大会(2002 年 11 月 13 日-15 日、名古屋)。P172, 2002.
- 21) 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.

22) 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.

23) 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. 日本免疫学会総会学術集会記録 32: 298, 2002.

24) 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.

25) 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.

26) 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.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表1 われわれがこれまでに SLE との関連を解析した候補遺伝子

位置	遺伝子	位置	遺伝子
1p36	<i>TNFR2</i>	6p21.3	<i>HLA-DRB1*</i> , <i>TNF*</i>
1q23	<i>FCGR2A*</i> , <i>2B</i> , <i>3A*</i> , <i>3B*</i>	12p13	<i>SHP-1</i> , <i>NKG2A</i> , <i>NKG2C</i> , <i>CD94</i>
1q25	<i>OX40L</i>	13q32-34	<i>BLYS</i>
2q33-34	<i>CD28</i> , <i>CTLA-4</i>	16p13.1	<i>BCMA</i>
2q35	<i>CXCR1</i> , <i>CXCR2</i>	16p11.2	<i>CD19</i>
3p24	<i>CCR4</i>	19q13	<i>CD22</i> , <i>LIR1</i>
3p21.3	<i>CCR3</i>	22q13	<i>BAFF-R</i>
3q21	<i>CD80</i> , <i>CD86</i>	Xq13	<i>CXCR3</i>

*は、既知の多型部位において、日本人 SLE との関連を解析した遺伝子。ほかは、系統的多型スクリーニングから施行した遺伝子。

表2 これまでにわれわれが疾患との関連を検出した多型

遺伝子	多型	疾患	他集団	機能解析
新規の多型				
<i>TNFR2</i>	M196R	SLE RA	日本*、 ヨーロッパ*	IL-6 産生亢進*
<i>FCGR2B</i>	I232T	SLE	タイ	解析中
<i>CD19</i>	3'UTR (GT) ₁₅₋₁₈	SLE	なし (米国白人、 タイ)	発現レベル低下
<i>BLYS</i> , <i>BAFF-R</i>	promoter, 3'UTR	RA	未検討	発現レベル上昇
<i>LIR1</i>	細胞外 3 アミノ酸置換	RA	未検討	解析中

既知の多型				
<i>HLA-DRB1</i>	Shared epitope <i>DRB1*1501</i> <i>DRB1*1502</i>	RA SLE SLE	多数* 多数 タイ、台湾*	
<i>FCGR3A</i>	F176V	SLE RA	多数*	免疫複合体クリアランス 低下*
<i>CTLA-4</i>	A17G	RA	日本*、 ヨーロッパ*	

*は他研究グループによる報告

表3 SLE および RA における *LIR1 (ILT2)* 細胞外領域ハプロタイプ

<i>LIR1(ILT2)</i>	RA (n=559)	(%)	SLE (n=170)	(%)	controls (n=409)	(%)
haplotype carrier frequency						
.01	357	(63.7)	109	(64.1)	246	(60.1)
.02	423	(75.7)	141	(82.9)	325	(79.5)
.03	89	(15.9)	25	(14.7)	76	(18.6)
haplotype frequency						
.01	451	(40.3)	127	(37.4)	300	(36.7)
.02	571	(51.1)	187	(55.0)	440	(53.8)
.03	96	(8.6)	26	(7.6)	78	(9.5)

RA, SLE との有意な関連は検出されなかった。しかし、*HLA-DRB1* shared epitope 陰性患者・健常者の比較では、RA に *LIR1.01/.01* の有意な増加が検出された(P=0.037)。

表4 RA および SLE における *BLyS*, *BAFF-R* 多型の組み合わせ

	<i>BLyS</i> -871T positive						<i>BLyS</i> -871T negative					
	RA (n=132)	(%)	SLE (n=102)	(%)	control (n=149)	(%)	RA (n=64)	(%)	SLE (n=47)	(%)	control (n=68)	(%)
<i>BAFF-R</i> c.*120T>C												
T/T	108	(81.8)	87	(85.3)	120	(80.5)	59	(92.2)	31	(66.0)	50	(73.5)
T/C	23	(17.4)	15	(14.7)	29	(19.5)	4	(6.2)	15	(31.9)	16	(23.5)
C/C	1	(0.8)	0	(0)	0	(0)	1	(1.6)	1	(2.1)	2	(2.9)
C+	24	(18.2)	15	(14.7)	29	(19.5)	5	(7.8) ^a	16	(34.0)	18	(26.5)

^a P=0.006 (Fisher's exact test) vs. control. SLE との有意な関連は検出されなかった。

表5 タイ人における SLE と *HLA-DRB1*, *DQB1* 遺伝子型との関連

<i>HLA</i>	SLE (2n=170)		controls (2n=374)		P	Pc	OR	95% CI
		(%)		(%)				
<i>DRB1</i>								
*1501	22	(12.9)	25	(6.7)	0.016	NS	2.08	1.15-3.78
*1502	41	(24.1)	46	(12.3)	0.0005	0.009	2.27	1.43-3.59
*1602	16	(9.4)	16	(4.3)	0.018	NS	2.32	1.15-4.67
<i>DQB1</i>								
*0501	37	(21.8)	37	(9.9)	0.0002	0.002	2.53	1.56-4.11
<i>DRB1-DQB1</i>								
*1502-*0501	33	(19.4)	29	(7.8)	0.0001	0.002	2.87	1.70-4.83

表6 タイ人における SLE と *Fcγ*受容体遺伝子群の関連

gene	SLE (n=79)		controls (n=165)		c ²	P	OR	95%CI
		(%)		(%)				
<i>FCGR2B</i>								
allele frequency								
232T	53	(33.5)	80	(24.2)	4.66	0.03	1.58	1.04-2.38
232I	105	(66.5)	250	(75.8)				
allele carrier frequency								
232T+	41	(51.9)	68	(41.2)	2.47	0.12		
232I+	67	(84.8)	153	(92.7)	3.78	0.05	0.44	0.19-1.01
<i>FCGR3B</i> (n=87) (n=187)								
allele carrier frequency								
NA2+	57	(65.5)	102	(54.6)	2.94	0.09		
NA1+	69	(79.3)	167	(89.3)	4.97	0.03	0.46	0.23-0.91

FCGR3B については、null allele、2つの *FCGR3B* loci を含む haplotype が存在するため、allele carrier frequency のみを示す。

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 （東邦大学医学部・精神神経科・助教授）

研究要旨

同胞 4 人中 3 人が SLE または SLE 近縁の自己免疫疾患を発症し、患者の母親と父方祖母がハトコ同士である近親婚の家系について、検体の収集を行なった。患者について診断を確定し、家系図について確かなものとした。

A. 研究目的

同胞 4 人中 3 人が SLE または SLE 近縁の自己免疫疾患を発症し、患者の両親が近親婚である大家系が存在する。平成 14 年度はその患者・家族から検体を収集する事、患者の臨床症状や検査結果の経過に基づき診断を確定し、全ゲノムスキャンを開始することを目的とした。

B. 研究方法

東邦大学医学部にて倫理指針にのっとり、患者・家族より各々末梢血 30 ml を採取し、DNA 解析の為に 15 ml を冷凍保存し、国立国際医療センターに送付した。残りの 15 ml で種々の自己抗体価を測定した。患者についてはそれぞれの診療録に基づき、臨床症状や検査結果の経過を調べ、診断を確定した。家族と面接を行い、家系図について聴取し、家族歴について調査した。

C. 研究結果

患者・家族 9 名から末梢血を採取した。9 名は患者 3 名と健常者 1 名を含む同胞 4 名、両親、両祖母及び伯父 1 名である。

それらの血液において、自己抗体や補体について検査を行なった。検査を行なった項目は以下の通りである；抗核抗体、抗 DNA 抗体、抗 SS-DNA IgM 抗体、抗 DS-DNA IgG 抗体、抗 CL β 2GPI 抗体、カルジオリピン抗体 IgG、抗 RNP 抗体 ELISA、抗 Sm 抗体 ELISA、

抗 SS-A 抗体 ELISA、抗 SS-B 抗体 ELISA、ループス AC (APTT)、ループス AC (dRVVT)、抗リポゾーム P 抗体、抗サイログロブリン抗体、抗 TPO 抗体、C3、C4、血清補体価、C1Q。

また患者 3 名については臨床症状と検査結果の経過に基づき、診断を確定した。長男は抗リン脂質抗体症候群及び SLE、長女は橋本病及びシェーグレン症候群、次女は深在性ループス (SLE の可能性) と診断された。長男と次女には脳萎縮が認められる。

精神医学的には長男と長女は症状性精神病と診断され、次女は産褥期うつ病と診断された。

また家族と面接を行い、家族歴を聴取し、家系図を確かなものとした。それによると父方祖母と母親がハトコ同士であり、父方祖父母もハトコ同士という近親婚の家系である。

これら 9 名について 400 個のマイクロサテライトマーカーを用いた全ゲノムスキャンを開始した。

D. 考察

今年度は当家系の家族から検体を収集し、診断を確定し、家系図を確かなものとした。この家系の兄妹は SLE、抗リン脂質抗体症候群、シェーグレン症候群、橋本病、深在性ループスと自己免疫疾患を発症しており、また近親婚の家系である為、この家系を解析することにより、SLE の疾患感受性遺伝子座および自己免疫疾患に共通の原因遺伝子の解明に

つながる手掛りを得ることが可能であると考
える。

E. 結論

近親婚の家系で、同胞発症例である患者・
家族から末梢血を採取し、患者の臨床診断を
確定し、家系図を確かなものとした。そして
400 個のマイクロサテライトマーカーを用い
て、homozygous-mapping を開始した。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

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)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

IV. 班會議開催概要

厚生労働科学研究ヒトゲノム・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」 第一回研究会議
＜概 要＞

日時： 平成15年1月28日（火） 15：00～17：00

場所： 国立国際医療センター研究所・地下1F 中会議室

出席者： 笹月健彦、小池隆夫、天崎吉晴（研究協力者）、土屋尚之、
三森明夫、中村道子、白澤専二、原田晴仁、松尾恵（研究協力者）

議題：

1. 笹月健彦：検体収集の重要性、緊急性の認識及びゲノム解析の方法論について
2. 小池隆夫/天崎吉晴：検体収集状況・今後の方針・検体収集目標について
3. 土屋尚之：候補遺伝子解析の現状について
4. 三森明夫：国立国際医療センターでの検体収集について
5. 中村道子：多発家系について
6. 白澤専二/原田晴仁/松尾恵：IMCJ ゲノム解析室の解析能力について
7. 総合討論

V. 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	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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
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
Atsumi T, Koike T.	Clinical relevance of antiprothrombin antibodies.	Autoimmunity Reviews.	1	49-53	2002
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
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
Yasuda S, Tsutsumi A, Atsumi 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
Koizumi K, Haseyama Y, Machino R, Sato Y, Sawada K, Koike T.	The hemophagocytic syndrome in prostate cancer renealed by disseminated carcinomatosis of the bone marrow.	J.Urology.	168	1101-1102.	2002
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
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
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
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
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