

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15年度 総括・分担研究報告書

平成16（2004）年3月

主任研究者

笹 月 健 彦

目 次

I. 研究班名簿	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	
－同胞発症および孤発例 SLE のゲノム DNA 検体収集－	
小池 隆夫	13
2. 「‘high-throughput’ ゲノム解析システムを用いた SLE 感受性遺伝子の同定」	
白澤 専二	17
3. 「SLE の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
4. 「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
5. 「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	29
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	31

I. 研究班名簿

平成 15 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 1 5 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
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) 検体収集に関しては“All Japan”の協力体制が構築され、SLE 孤発例に関しては合計で、444 例の収集が行われた。SLE 罹患同胞対に関しては、これまでに 26 組の同胞対サンプル収集が行われたが、さらに『検体収集のお願い』を SLE の診療に従事する日本全国の医療関係者に対して行った。一方、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が改めて行われた。
- 2) 患者 3 人を含む 9 人の家系構成員に対して、全ゲノムに均等に存在する 400 個のマイクロサテライトマーカーを用いて homozygous mapping を行い、これまでに SLE 感受性遺伝子座領域として報告された領域と一致する 2 つの遺伝子座（4p16 と 16q13）を感受性遺伝子座として同定した。
- 3) 4p16 候補領域に対して、マイクロサテライトマーカー、SNPs を用いた患者一対照群による相関解析で感受性遺伝子座の狭小化を試みた結果、2 候補領域を同定したが、その領域にはそれぞれ gene A と gene B が存在した。更に、免疫システムに関与すると推定される 4p16 領域の候補遺伝子に対して、SNP による相関解析を行った結果、gene C と gene D を候補遺伝子として同定した。
- 4) 候補遺伝子解析により FCGR2B との相関（I232T）を日本人のみならずタイ人、中国人においても見だし、更に CD72 多型と SLE における腎症との相関を見いだした。

【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

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

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、ときには致死性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。

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

B. 研究方法

SLE を中心とした自己免疫疾患患者の末梢血採取とゲノムDNA抽出・保存を行う研究グループとそれらのDNAを利用したゲノム解析による感受性遺伝子同定を行うグループにより研究を効率よく進行させる。

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ほど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（国際医療センター）は解析を行う。

3) SLE 弧発例の解析：笹月・白澤はH14年度に構築した“high throughput”なゲノム解析システムを利用し、マイクロサテライトマーカーと SNPs を駆使して、感受性遺伝子座の絞り込みと感受性遺伝子の同定を行う。

4) 候補遺伝子からの解析：土屋（東大）は独自に収集した SLE 弧発例を利用して、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。

<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。全ての研究機関において、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)にのっとり倫理委員会により、研究は承認されている。

C. 研究結果

1)SLE 検体の収集：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）およびリウマチ学会員の協力を得て、弧発例を 348 例収集した。三森（国際医療センター）は、96 例の弧発例の収集を行った。合計として、444 例の弧発例の収集がなされた。SLE 罹患同胞対に関しては、これまでに26組の同胞対サンプル収集が行われたが、さらに『検体収集のお願い』を SLE の診療に従事する日本全国の医療関係者に対して行った。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改めて行った。

2)SLE 多発家系の解析：笹月・白澤（国際医療センター）は共同で、患者 3 人を含む 9 人の家系構成員に対して、全ゲノムに均等に存在する 400 個のマイクロサテライトマーカーを用いて homozygous mapping を行い、これまでに SLE 感受性遺伝子座領域として報告された領域と一致する 2 つの遺伝子座（4p16 と 16q13）を感受性遺伝子座として同定した。

3) SLE 弧発例の解析

4p16 候補領域に対して、マイクロサテライトマーカー、SNPs を用いた患者一対照群による相関解析で感受性遺伝子座の狭小化を試みた結果、2 候補領域を同定したが、その領域にはそれぞれ gene A と gene B が存在した。更に、免疫システムに関与すると推定される 4p16 領域の候補遺伝子に対して、SNP による相関解析を行った結果、gene C と gene D を候補遺伝子として同定した。

4)SLE 候補遺伝子の解析：土屋（東大）は FCGR2B との相関 (I232T) を日本人のみならずタイ人、中国人においても見だし、更に CD72 多型と SLE における腎症との相関を見いだした。

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効率的な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)により平成14年度に“All Japan”の協力体制の下でのシステムが構築され、それを利用することによりこれまでに348例の弧発例が収集されたこと、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96例の弧発例を収集し、合計で444例の弧発例が収集されたことは、目標を十分に到達したと評価される。しかしながら、相関解析の信頼性を高めるために、当初の目標を超える600-800例の検体収集を平成16年度に達成すべく、検体収集に関しては一層の努力を継続する予定である。又、中村(東邦大)が収集したSLE多発家系の3世代にわたる9人のゲノム解析から、候補遺伝子領域として4p16と16q13が同定されたことも評価に値すると考えられる。実際に、その情報をもとに、弧発例に対して4p16領域の解析を進行させた。SLE同胞対収集に関しては、今後の一層の努力が必要となってくる。弧発例に対する候補遺伝子解析では土屋(東大)がFCGR2Bとの相関(I232T)を日本人のみならずタイ人、中国人においても相関を見だし、更にCD72多型とSLEにおける腎症との相関を見いだした。今後は、これらの相関に関して、この研究で収集されたSLE検体に関しても、相関解析を行い再現性を確認する必要がある。

笹月・白澤は国立国際医療センターに“high-throughput”なゲノム解析システムをH14年度に構築し、そのシステムを利用することにより、多発家系の解析を行い、感受性遺伝子座候補として、4p16を同定し、さらにこの領域に対して、弧発例に対して、マイクロサテライトマーカーによる候補遺伝子座の絞り込みを行い、2つの遺伝子(gene Aとgene B)を同定し、更に免疫関連遺伝子に対するSNP解析により、別個にgene Cとgene Dを候補遺伝子として同定した。今後は、さらなる検体収集を待って、これらの4つの遺伝子に対して密な相関解析を行うことにより、感受性遺伝子と病因に関与するSNPの同定を行う予定である。

一方、同胞対収集に関しては困難が伴っているが、今後も積極的に行い、日本人ではまだ行われていない罹患同胞対法の連鎖解析による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2年目として、当初の目的は十分に達成でき

たと考えられる。

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うことにより病因を解明し、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しているが、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。

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弧発例に関しては合計で、444例が収集がされた。SLE罹患同胞対に関しては、これまでに26組の同胞対サンプル収集が行われたが、さらに『検体収集のお願い』をSLEの診療に従事する日本全国の医療関係者に行った。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改めて行われた。
- 2)患者3人を含む9人の家系構成員に対して、全ゲノムに均等に存在する400個のマイクロサテライトマーカーを用いてhomozygous mappingを行い、これまでにSLE感受性遺伝子座領域として報告された領域と一致する2つの遺伝子座(4p16と16q13)を感受性遺伝子座として同定した。
- 3) 4p16候補領域に対して、マイクロサテライトマーカー、SNPsを用いた患者一対照群による相関解析で感受性遺伝子座の狭小化を試みた結果、2候補領域を同定したが、その領域にはそれぞれgene Aとgene Bが存在した。更に、免疫システムに関与すると推定される4p16領域の候補遺伝子に対して、SNPによる相関解析を行った結果、gene Cとgene Dを候補遺伝子として同定した。
- 4) 候補遺伝子解析によりFCGR2Bとの相関(I232T)を日本人のみならずタイ人、中国人においても見だし、更にCD72多型とSLEにおける腎症との相関を見いだした。

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. Furugaki K, Shirasawa S, Ishikawa N, Ito K, Ito K, Kubota S, Kuma K, Tamai H, Akamizu T, Hiratani H, Tanaka M, Sasazuki T. Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with Graves' disease and autoimmune thyroid disease in the Japanese. *J Hum Genet.*, in press, 2004
2. Kunisaki Y, Masuko S, Noda M, Inayoshi A, Sanui T, Harada M, Sasazuki T, Fukui Y. Defective fetal liver erythropoiesis and T-lymphopoiesis in mice lacking phosphatidylserine receptor. *Blood*, in press, 2004
3. Yamamoto K, Sonoda M, Inokuchi J, Shirasawa S, Sasazuki T. Polycomb group suppressor of zeste 12 links heterochromatin protein 1alpha and enhancer of zeste 2. *J Biol Chem.* 279: 401-6, 2004.
4. Inokuchi J, Komiya M, Baba I, Naito S, Sasazuki T, Shirasawa S. Deregulated expression of KRAP, a novel gene encoding actin-interacting protein, in human colon cancer cells. *J. Hum. Genet.*, 49: 46-52, 2004
5. Kato N, Nabika T, Liang YQ, Mashimo T, Inomata H, Watanabe T, Yanai K, Yamori Y, Yazaki Y, Sasazuki T. Isolation of a chromosome 1 region affecting blood pressure and vascular disease traits in the stroke-prone rat model. *Hypertension*, 42: 1191-7, 2003
6. Klampfer L, Huang J, Corner G, Mariadason J, Arango D, Sasazuki T, Shirasawa S, Augenlicht L. Oncogenic Ki-ras inhibits the expression of interferon-responsive genes through inhibition of STAT1 and STAT2 expression. *J. Biol. Chem.*, 278: 46278-87, 2003
7. Sanui T, Inayoshi A, Noda M, Iwata E, Stein JV, Sasazuki T, Fukui Y. Related DOCK2 regulates Rac activation and cytoskeletal reorganization through interaction with ELMO1. *Blood*, 102: 2948-50, 2003.
8. Klampfer L, Huang J, Sasazuki T, Shirasawa S, Augenlicht L. Inhibition of interferon gamma

signaling by the short chain fatty acid butyrate. *Mol. Cancer Res.*, 1: 855-62, 2003

9. Sanui T, Inayoshi A, Noda M, Iwata E, Oike M, Sasazuki T, Fukui Y. DOCK2 is essential for antigen-induced translocation of TCR and lipid rafts, but not PKC-theta and LFA-1, in T cells. *Immunity*. 19: 119-29, 2003
10. Long IS, Han K, Li M, Shirasawa S, Sasazuki T, Johnston M, Tsao MS. Met receptor overexpression and oncogenic Ki-ras mutation cooperate to enhance tumorigenicity of colon cancer cells in vivo. *Mol. Cancer Res.*, 1: 393-401, 2003
11. Kaburagi Y, Satoh S, Yamamoto-Honda R, Ito Y, Akanuma Y, Sekihara H, Yasuda K, Sasazuki T, Kadowaki T, Yazaki Y. Protection of insulin receptor substrate-3 from staurosporine-induced apoptosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 300: 371-7, 2003

(分担研究者)

1. Li N, Nakamura K, Jiang Y, Tsurui H, Matsuoka S, Abe M, Ohtsuji M, Nishimura H, Kato K, Kawai T, Atsumi T, Koike T, Shirai T, Ueno H, Hirose S. Gain-of-function polymorphism in mouse and human Ltk: implications for the pathogenesis of lupus erythematosus. *Hum. Mol. Genet.*, 13:171-179 2004
2. Endo T, Nakao S, Koizumi K, Nishio M, Fujimoto K, Sakai T, Kuwano K, Obara M, Koike T. Successful treatment with rituximab for autoimmune hemolytic anemia concomitant with proliferation of Epstein-Barr virus and monoclonal gammopathy in a post-nonmyeloblastic stem cell transplant patient. *Ann Hematol.* 83:114-116, 2004
3. Amengual O, Atsumi T, Koike T. Specificities, properties, and clinical significance of antiprothrombin antibodies. *Arthritis Rheum*, 48(4):886-895 2003
4. Hashimoto S, Shiroshita K, Sakurai T, Takeda A, Kawata T, Koike T, Sato H, Ueda T. Unilateral renal cortical necrosis with contralateral hydronephrosis after surgery for uterus carcinoma. *Clin. Exp. Nephrol.*, 7:72, 2003
5. Higuchi M, Ishizu A, Ikeda H, Hayase H, Fugo K, Tsuji M, Abe A, Sugaya T, Suzuki A,

- Takahashi T, Koike T, Yoshiki T. Functional alteration of peripheral CD25 (+) CD4 (+) immunoregulatory T cells in a transgenic rat model of autoimmune diseases. *J. Autoimmun.*, 20:143-49 2003
6. Kawakubo K, Endo T, Koizumi K, Nishio M, Fujimoto K, Sakai T, Sawada K, Koike T. Granular lymphocyte proliferative disorder after autologous peripheral blood stem cell transplantation for multiple myeloma. *Eur. J. Haematol.*, 71:124-127, 2003
 7. Kobayashi K, Kishi M, Atsumi T, Bertolaccini ML, Makino H, Sakairi N, Yamamoto I, Yasuda T, Khamashta MA, Hughes GR, Koike T, Voelker DR, Matsuura E. Circulating oxidized LDL forms complexes with beta2-glycoprotein I: implication as an atherogenic autoantigen. *J. Lipid. Res.*, 44 (4):716-726, 2003
 8. Koizumi K, Nakao S, Haseyama Y, Kato H, Ohi M, Motohara T, Endo T, Sawada K, Koike T. Severe aplastic anemia associated with thymic carcinoma and partial recovery of hematopoiesis after thymectomy. *Ann Hematol*, 82(6): 367-370 2003
 9. Oku K, Atsumi T, Furukawa S, Horita T, Sakai Y, Jodo S, Amasaki Y, Ichikawa K, Amengual O, Koike T. Cerebral imaging by magnetic resonance imaging and single photon emission computed tomography in systemic lupus erythematosus with central nervous system involvement. *Rheumatology*, 42(6): 773-777, 2003
 10. Sakai Y, Atsumi T, Itoh T, Koike T. Uveitis, pancarditis, haemophagocytosis, and abdominal masses. *Lancet*. 361:9360,834, 2003.
 11. Shoenfeld Y, Krause I, Kvapil F, Sulkes J, Lev S, Landenberg P, Font J, Zacek J, Cervera R, Piette J, Boffa M, Khamashta M, Bertolaccini M, Hughes G, Youinou P, Meroni P, Pengo V, Alves J, Tincani A, Szegedi G, Lakos G, Sturfelt G, Jonsen A, Koike T, Sanmarco M, Ruffatti A, Ulcova-gallova Z, Praprotnic S, Rozman B, Lorber M, Vriezman V. Prevalence and Clinical Correlations of Antibodies Against Six b2-Glycoprotein-I-Related Peptides in the Antiphospholipid Syndrome. *J. Clin. Immunol.*, 23 (5): 375, 2003
 12. Wu R, Shoenfeld Y, Sherer Y, Patnaik M, Matsuura E, Gilburd B, Koike T, Peter JB. Anti-idiotypes to oxidized LDL antibodies in intravenous immunoglobulin preparations--possible immunomodulation of atherosclerosis. *Autoimmunity*, 36:2d91-97, 2003
 13. Furugaki K, Shirasawa S, Isikawa N, Ito K, Ito K, Kubota S, Kuma K, Tamai H, Akamizu T, Hiratani H, Tanaka M, Sasazuki T. Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with Graves' disease and autoimmune thyroid disease in the Japanese. *J.Hum.Genet.*, 2004 in press
 14. Inokuchi J, Komiya M, Baba I, Naito S, Sasazuki T, Shirasawa S. Deregulated expression of KRAP, a novel gene encoding actin-interacting protein, in human colon cancer cells. *J.Hum.Genet.*, 49: 46-52, 2004
 15. Yamamoto K, Sonoda M, Inokuchi J, Shirasawa S, Sasazuki T. Polycomb group. Suppressor of Zeste 12, links heterochromatin protein 1alpha and enhancer of Zeste 2. *J. Biol. Chem.*, 279 (1):401-406, 2004
 16. Parisi MA, Baldessari AE, Iida MH, Clarke CM, Doggett B, Shirasawa S, Kapur RP. Genetic background modifies intestinal pseudo-obstruction and the expression of a reporter gene in Hox11L1-/-mice. *Gastroenterology*, 125(5):1428-40, 2003
 17. Klampfer L, Huang J, Corner G, Mariadasi J, Arango D, Sasazuki T, Shirasawa S, Augenlicht L. Oncogenic k-ras inhibits the expression of IFN-responsive genes through inhibition of STAT1 and STAT2 expression. *J. Biol. Chem.*, 278(47):46278-87, 2003
 18. Klampfer L, Huang J, Sasazuki T, Shirasawa S, Augenlicht L. Inhibition of IFN-gamma signaling by the short chain fatty acid butyrate. *Mol. Cancer Res.*, 1(11):855-62, 2003
 19. Long IS, Han K, Li M, Shirasawa S, Sasazuki T, Johnston M, Tsao MS. Met Receptor Overexpression and Oncogenic Ki-ras Mutation. Cooperate to Enhance Tumorigenicity of Colon Cancer Cells in Vivo. *Mol. Cancer Res.*, 1(5):393-401, 2003
 20. Takeishi M, Mimori A, et al:Reduction of factor XII in antiphospholipid antibody positive patients with thrombotic events in

- rheumatology clinic. *Clin Rheumatol.*, 22:40-44, 2003
21. 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.*, 4: 160-167, 2003.
 22. 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*, 61: 374-383, 2003.
 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-DRB1*0901 with microscopic polyangiitis. *J Rheumatol.*, 30:1534-1540, 2003.
 24. Karassa FB, Bijl M, Davies KA, Kallenberg CGM, Khamashta MA, Manger K, Michel M, Piette J-C, Salmon JE, Song YW, Tsuchiya N, Yoo D-H, Ioannidis JPA*: The role of the FcγRIIA polymorphism in the antiphospholipid syndrome. An international meta-analysis. *Arthritis Rheum.* 48:1930-1938, 2003.
 25. Chu ZT, Tsuchiya N, Kyogoku C, Ohashi J, Qian YP, Xu SB, Mao CZ, Chu JY, Tokunaga K: Association of Fcγ receptor IIB polymorphism with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Chinese: a common susceptibility gene in the Asian populations. *Tissue Antigens*, 63:21-27, 2004.
 26. Miyashita R, Tsuchiya N, Hikami K, Kuroki K, Fukazawa T, Bijl M, Kallenberg CGM, Hashimoto H, Yabe T, Tokunaga K: Molecular genetic analyses of human NKG2C (KLRC2) gene deletion. *Int. Immunol.*, 16:163-168, 2004.
 27. Kyogoku C, Tsuchiya N, Wu H, Tsao BP, Tokunaga K: Association of Fcγ receptor IIA, but not of IIB and IIIA, polymorphisms with systemic lupus erythematosus: A family-based association study in Caucasians. *Arthritis Rheum.*, 50:671-673, 2004.
 28. Hase H, Kanno Y, Kojima M, Hasegawa K, Sakurai D, Kojima H, Tsuchiya N, Tokunaga K, Masawa N, Azuma M, Okumura K, Kobata T: BAFF/BLyS can potentiate B-cell selection with the B-cell co-receptor complex. *Blood* (in press)
 29. 中村道子、片桐直之、黒木良幸、菅原道哉：自己免疫疾患同胞発症例の精神症状と経過について。臨床精神医学, 32 (11)、1465-1474、2003
2. 学会発表
(主任研究者)
 1. 柳内和幸、竹内史比古、森居俊行、柳内圭子、猪又兵衛、渡辺岳博、安田和基、笹月健彦、加藤規弘。6つの主要な候補遺伝子座における2型糖尿病の網羅的関連研究。第40回日本臨床分子医学会学術総会(東京、学術総合センター)平成15年7月
 2. 猪口淳一、馬場賀、内藤誠二、笹月健彦、白澤専二。新規脂質キナーゼ LK-X の同定とその機能解析。第62回日本癌学会、名古屋、9月、2003
 3. 小宮美砂子、猪口淳一、馬場賀、濱崎裕子、笹月健彦、白澤専二。新規分子 SEPT の発現解析及び会合分子の同定。第62回日本癌学会、名古屋、9月、2003
 4. 馬淵麗子、角田俊之、猪口淳一、濱崎裕子、笹月健彦、白澤専二。アダプター分子 Mig-6 の限定分解機構の解析。第62回日本癌学会、名古屋、9月、2003
 5. 竹内史比古、森居俊行、柳内和幸、柳内圭子、長野忍、安田和基、笹月健彦、加藤規弘。動脈硬化候補遺伝子に関する大規模 SNP 探索とハプロタイプ構築。第48回日本人類遺伝学会大会、長崎、平成15年10月
 6. 柳内和幸、竹内史比古、森居俊行、柳内圭子、猪又兵衛、渡辺岳博、安田和基、笹月健彦、加藤規弘。6つの主要な候補遺伝子座における2型糖尿病の網羅的関連研究。第48回日本人類遺伝学会大会(長崎、長崎ブリックホール)平成15年10月
 7. 松尾恵、原田晴仁、安田和基、加藤規弘、笹月健彦、白澤専二。染色体20番に存在する2型糖尿病疾患感受性遺伝子の検索。日本人類遺伝学会第48回大会、長崎、10月、2003.
 8. 古垣浩一、白澤専二、原田晴仁、伊藤国彦、

伊藤公一、石川直文、隈寛二、窪田純久、赤水尚史、酒井健司、山本健、笹月健彦。自己免疫性甲状腺疾患の疾患感受性遺伝子の同定。5q31-q33 を中心として、日本人類遺伝学会第 48 回大会、長崎、10 月、2003

9. 森居俊行、竹内史比古、柳内和幸、長野忍、柳内圭子、矢崎義雄、笹月健彦、加藤規弘。高血圧における大規模候補遺伝子アプローチ。第 26 回日本高血圧学会総会、宮崎、平成 15 年 10 月

(分担研究者)

1. 白澤専二。自己免疫性甲状腺疾患感受性遺伝子の解明。日本人類遺伝学会第 48 回大会、長崎、10 月、2003。
2. 松尾恵、原田晴仁、安田和基、加藤規弘、笹月健彦、白澤専二。染色体 20 番に存在する 2 型糖尿病疾患感受性遺伝子の検索。日本人類遺伝学会第 48 回大会、長崎、10 月、2003。
3. 古垣浩一、白澤専二、原田晴仁、伊藤国彦、伊藤公一、石川直文、隈寛二、窪田純久、赤水尚史、酒井健司、山本健、笹月健彦。自己免疫性甲状腺疾患の疾患感受性遺伝子の同定。5q31-q33 を中心として、日本人類遺伝学会第 48 回大会、長崎、10 月、2003
4. 猪口淳一、馬場賀、内藤誠二、笹月健彦、白澤専二。新規脂質キナーゼ LK-X の同定とその機能解析。第 62 回日本癌学会、名古屋、9 月、2003
5. 小宮美砂子、猪口淳一、馬場賀、濱崎裕子、笹月健彦、白澤専二。新規分子 SEPT の発現解析及び会合分子の同定。第 62 回日本癌学会、名古屋、9 月、2003
6. 馬淵麗子、角田俊之、猪口淳一、濱崎裕子、笹月健彦、白澤専二。アダプター分子 Mig-6 の限定分解機構の解析。第 62 回日本癌学会、名古屋、9 月、2003
7. 原田晴仁、土屋朋子、古垣浩一、馬場賀、石川直文、伊藤公一、伊藤國彦、窪田純久、隈寛二、赤水尚史、酒井健司、山本健、笹月健彦、白澤専二。自己免疫性甲状腺疾患(AITD)感受性遺伝子の同定。第 40 回日本臨床分子医学会学術総会、7 月、2003
8. 竹石美智雄、三森明夫ほか：血栓症を有する第 12 因子低下者の免疫学的検討。リウマチ 43:300, 2003

9. 徳永勝士、橋本博史、土屋尚之：膠原病感受性遺伝子の探索。第 26 回日本医学会総会。2003 年 4 月、福岡。(要旨 p179)

10. Sakurai D, Yamaguchi A, Tsuchiya N, Tokunaga K. Induction of proliferation of activation of endothelial cells by overexpression of *ID3* gene. リウマチ 43:252, 2003

11. Kuroki K, Tsuchiya N, Matsuta K, Fukazawa T, Hashimoto H, Tokunaga K. Association of Leukocyte Immunoglobulin-like Receptor 1 (LIR1, ILT2, LILRB1) polymorphism with susceptibility to RA and SLE in Japanese. リウマチ 43:254, 2003

12. 京極千恵子、河野肇、土屋尚之、鈴木毅、山本一彦、徳永勝士、本田善一郎：SLE に関連する FcγRIIB 多型の B 細胞受容体シグナル抑制機能の検討。リウマチ 43:304, 2003。

13. 川崎綾、土屋尚之、松多邦雄、深沢徹、橋本博史、徳永勝士：BAFF-R、TACI 遺伝子の多型解析と SLE および RA との関連の検討。リウマチ 43:307, 2003。

14. 宮下リサ、土屋尚之、氷上光輝、黒木喜美子、徳永勝士：ヒト NKG2C 遺伝子欠失の分子遺伝学的解析。リウマチ 43:319, 2003。

15. 櫻井大祐、土屋尚之、大槻祐頼、津野寛和、高橋孝喜、徳永勝士：血管内皮細胞活性化および血管新生誘導における Id 遺伝子の役割。第 62 回日本癌学会総会、2003 年 9 月、名古屋。

16. 櫻井大祐、土屋尚之、山口晃弘、大槻祐頼、津野寛和、高橋孝喜、徳永勝士：Crucial role for Id in the induction of activation and angiogenic property of endothelial cells. 日本人類遺伝学会第 48 回大会抄録集 p118、2003 年 10 月、長崎。

17. 人見祐基、土屋尚之、川崎綾、深沢徹、松多邦雄、Betty Tsao、橋本博史、徳永勝士：ヒト CD72 遺伝子の多型解析と、全身性エリテマトーデスおよび関節リウマチとの関連の検討。日本人類遺伝学会第 48 回大会抄録集 p139、2003 年 10 月、長崎。

18. 江原幸和、土屋尚之、櫻井大祐、山口晃弘、徳永勝士：ヒト follistatin-related protein (FRP) 遺伝子多型の関節リウマチとの関連の検討。日本人類遺伝学会第 48 回大会抄録集 p139、2003 年 10 月、長崎。

19. 宮下リサ、土屋尚之、屋部登志雄、徳永勝士；関節リウマチにおける KIR 遺伝子プロファイルの解析。日本人類遺伝学会第 48 回大会抄録集 p139、2003 年 10 月、長崎。
20. 黒木喜美子、土屋尚之、前仲勝実、Linda Rasubala、白石充典、山下由美、松多邦雄、深沢徹、神田大輔、小池隆夫、十字猛夫、橋本博史、徳永勝士；Leukocyte immunoglobulin-like receptor (LIR) 遺伝子群多型と日本人 RA、SLE との関連。日本人類遺伝学会第 48 回大会抄録集 p140、2003 年 10 月、長崎。
21. Kusaoi M, Fukazawa T, Hirashima M, Morita Y, Morita T, Okamoto K, Ikuta T, Tamiya G, Tsuchiya N, Tokunaga K, Inoko H, Hashimoto H. Genome-wide association study of systemic lupus erythematosus on chromosome 1. *Arthritis Rheum.*, 48 (Suppl); S226, 2003.
22. Kuroki K, Tsuchiya N, Maenaka K, Rasubala L, Shiroishi M, Yamashita Y, Matsuta K, Fukazawa T, Kohda D, Koike T, Juji T, Hashimoto H, Tokunaga K. Distinct associations of the leukocyte immunoglobulin-like receptor (*LIR*)1 and *LIR6* polymorphisms with susceptibility to rheumatoid arthritis (RA) and systemic lupus erythematosus (SLE). *Arthritis Rheum.*, 48 (Suppl); S197, 2003.
23. Chu ZT, Tsuchiya N, Kyogoku C, Qian YP, Xu SB, Mao CZ, Chu JY, Tokunaga K. Association of Fc gamma receptor IIb polymorphism with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Chinese: a common susceptibility gene in the Asian populations ? *Arthritis Rheum* 48 (Suppl); S380, 2003.
24. Kyogoku C, Tsuchiya N, Wu H, Tsao BP, Tokunaga K. Association of Fcg receptor IIA, but not of IIB and IIIA, polymorphisms with systemic lupus erythematosus in Caucasians: a family-based association study. *Arthritis Rheum* 48 (Suppl); S380, 2003.
25. Sakurai D, Tsuchiya N, Yamaguchi A, Tsuno NH, Okaji Y, Tokunaga K, Takahashi K. Crucial role for Id in the induction of activation and angiogenic property of endothelial cells. *Arthritis Rheum* 48 (Suppl); S340, 2003.
26. Kawasaki A, Tsuchiya N, Fukazawa T, Matsuta K, Hase H, Kobata T, Hashimoto H, Tokunaga K. Association of *TACI* polymorphisms with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 48 (Suppl); S383, 2003.
27. Miyashita R, Tsuchiya N, Hikami K, Kuroki K, Fukazawa T, Bijl M, Kallenberg CGM, Hashimoto H, Yabe T, Tokunaga K. Molecular genetic analyses of human *NKG2C* gene deletion. *Arthritis Rheum* 48 (Suppl); S473, 2003.
28. Kyogoku C, Kono H, Tsuchiya N, Suzuki T, Yamamoto K, Tokunaga K, Honda Z-I. SLE-associated polymorphism of FcgRIIB Ile232Thr affects localization at lipid rafts and attenuation of BCR signaling. *Arthritis Rheum* 48 (Suppl); S647, 2003.
29. 人見祐基、土屋尚之、川崎綾、深沢徹、松多邦雄、Betty Tsao、橋本博史、徳永勝士；ヒト CD72 遺伝子の多型解析と、全身性エリテマトーデスおよび関節リウマチとの関連の検討。日本免疫学会総会学術集会記録 33:196, 2003.
30. 川崎綾、土屋尚之、深沢徹、松多邦雄、長谷英徳、小端哲二、橋本博史、徳永勝士；TACI、APRIL 遺伝子多型と RA および SLE 疾患感受性の関連。日本免疫学会総会学術集会記録 33:196, 2003.
31. 河野肇、京極千恵子、鈴木毅、土屋尚之、山本一彦、徳永勝士、本田善一郎；SLE に関連するヒト FcgRIIB 多型の脂質ラフト会合および B 細胞受容体信号伝達抑制への影響。日本免疫学会総会学術集会記録 33:197, 2003.
32. 宮下リサ、土屋尚之、松多邦雄、屋部登志雄、徳永勝士；日本人関節リウマチと KIR 遺伝子多型との関連の検討。日本免疫学会総会学術集会記録 33:213, 2003.
33. Kuroki K, Tsuchiya N, Maenaka K, Rasubala L, Shiroishi M, Yamashita Y, Matsuta K, Fukazawa T, Kohda D, Koike T, Juji T, Hashimoto H, Tokunaga K. Distinct associations of the leukocyte immunoglobulin-like receptor (*LIR*)1 and *LIR6* polymorphisms with susceptibility to RA and SLE. 日本免疫学会総会学術集会記録 33:214, 2003.
34. 江原幸和、土屋尚之、櫻井大祐、山口晃弘、松多邦雄、徳永勝士；ヒト follistatin-related protein (FRP) 遺伝子多型の関節リウマチとの関連の検討。日本免疫学会総会学術集会記録 33:214, 2003.
35. Sakurai D, Tsuchiya N, Yamaguchi A, Okaji Y,

Tsuno NH, Takahashi K, Tokunaga K:
Induction of proliferation and activation of
endothelial cells by overexpression of ID gene.
日本免疫学会総会学術集会記録 33:224,
2003.

36. 申栄吉、土屋尚之、櫻井大祐、川崎綾、長
谷英徳、大槻祐頼、津野寛和、高橋孝喜、
小端哲二、徳永勝士：ヒト臍帯静脈由来血
管内皮細胞(HUVEC)における BLyS の発
現：日本免疫学会総会学術集会記録 33:319,
2003.

37. 中村道子、菅原道哉：自己免疫疾患同胞
発症例の精神症状と遺伝子解析について。
城南クリニカルニューロサイエンス研究会
2004.2.13. 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含 む）

1. 特許取得 （分担研究者）

土屋尚之：出願番号2001-258594：全身性エ
リテマトーデスの感受性遺伝子およびその使
用（平成13年8月28日）

2. 実用新案登録 該当なし

3. その他 該当なし

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
— 同胞発症および孤発例 SLE のゲノム DNA 検体収集 —

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
免疫病態分野・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疾患感受性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本邦で数百例以内にとどまると推測され集積の困難が予想されるため、全国的な検体収集が必要となる。当施設はこのための検体収集を行い、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。平成 15 年度は検体収集を開始し、罹患同胞対法用の検体収集については、日本リウマチ学会会員および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検体採取と集積を実施中である。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、当施設膠原病外来を中心とした SLE 患者を第一対象とした初期解析用ゲノム DNA 検体の例数集積を行い、さらに全国の施設に協力を依頼し検体数の増加を目指している。特に家系内発症例の検体集積は努力と工夫が重要であり、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 SLE は単一遺伝子の異常による疾患ではないと考えられ、そ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、Fc γ 受容体各遺伝子の変異と 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解明されていない。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 SLE 同胞発症例の集積を優先し、100 例を目標とする。また、SLE 患者・対照群による相関解析のための症例集積については、まず当研究科の孤発症例を対象として検体の採取抽出を行い、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 1000 例を目標とする。これらの検体は当施設に送付され、匿名化処理のうえでゲノム 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：

前年度中に北海道大学研究倫理審査委員会において研究実施の承認を得た。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. 検体収集の目標と集積状況：

目標例数は(1)SLE 同胞発症例として 100 組、(2)孤発例 1000 例を設定している。SLE 患者の診療では、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・基幹施設が各地での中核となっている。同学会の協力を得て全国の学会評議員の全員に採血の協力を呼びかけ、現在までに約 100 施設の採血協力の承諾を得ている。ネットワークの拡充のため現在も個別に問い合わせを継続しており、また各施設独自の倫理審査がさらに必要な施設ではその対応に協力している。検体からの DNA 抽出方法につい

ては、QIAGEN FlexiGene kit を使用する現行プロトコルで安定した収量が得られている。

(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。厚生労働省特定疾患研究班における SLE の特定疾患受給票申請数の約 3 万人をアクセス可能な SLE 集団の規模とし、第一度近親における SLE 有病率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。現在までに 48 検体が集積されており、他にも現在各地の家族発症例の連絡を受けている。さらに呼びかけを反復し回収に努めていく必要がある。

(2) については昨年度より集積を開始し、当教室の専門科の外来および関連施設で初期解析のための 200 例を目標とした検体集積を終え、現在さらに増加をはかるべく全国のリウマチ学会評議員および学会員所属施設に依頼を行い、各施設からの検体集積と発送をしている。これまで孤発症例約 300 を提出しており、さらに例数を増やしていく。採血および患者同意取得の負担を考慮し一施設あたりの負担を軽減するため、より多くの施設に採血協力を呼びかけていく必要がある。

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、平成 15 年より実際の SLE 患者検体収集が開始された。精度の高い解析の実施のため、前述の目標症例数すなわち同胞発症例 100 組、孤発例最終 1000 例を目標に設定しており、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を中心としたネットワークを利用するとともに、厚生労働省自己免疫疾患研究会議を通じた協力依頼の呼びかけを行い依頼を継続中である。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、その対応を行っている。

集積の途中から検体集積のペースダウンがあり、日常の診療中に説明と同意を取得する時間に制約があることが診療現場の医師の声として聞かれている。しかしながら患者と現場医師の理解と協力を求めていく以外に検体入手の方法はなく、可能な限り各施設の事情に

協力し検体集積に務めている。このため依頼状による網羅的な研究協力依頼に加え、現場への電話等による地道な直接依頼を反復し、より多くの罹患同胞対症例を確保する。また孤発例検体回収については1施設あたりの負担を減らすため、より多くの施設への採血協力依頼を行うことで、目標例数の達成を目指し各施設への連絡活動を継続している。

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検体集積を継続中であり、目標例数の確保を目指す。

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、個人情報保護に十分に配慮する体制を敷いており、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. Li N, Nakamura K, Jiang Y, Tsurui H, Matsuoka S, Abe M, Ohtsuji M, Nishimura H, Kato K, Kawai T, Atsumi T, Koike T, Shirai T, Ueno H, Hirose S. Gain-of-function polymorphism in mouse and human *Ltk*: implications for the pathogenesis of lupus erythematosus. *Hum Mol Genet.*, 13: 171-179, 2004
2. Endo T, Nakao S, Koizumi K, Nishio M, Fujimoto K, Sakai T, Kuwano K, Obara M, Koike T. Successful treatment with rituximab for autoimmune hemolytic anemia concomitant with proliferation of Epstein-Barr virus and monoclonal gammopathy in a post-nonmyeloblastic stem cell transplant patient. *Ann Hematol.* 83:114-116. 2004
3. Amengual O, Atsumi T, Koike T. Specificities, properties, and clinical significance of antiprothrombin antibodies. *Arthritis Rheum* 48(4):886-895 2003

4. Hashimoto S, Shiroshita K, Sakurai T, Takeda A, Kawata T, Koike T, Sato H, Ueda T. Unilateral renal cortical necrosis with contralateral hydronephrosis after surgery for uterus carcinoma. *Clin Exp Nephrol.*, 7:72, 2003
5. Higuchi M, Ishizu A, Ikeda H, Hayase H, Fugo K, Tsuji M, Abe A, Sugaya T, Suzuki A, Takahashi T, Koike T, Yoshiki T. Functional alteration of peripheral CD25(+)CD4(+)immunoregulatory T cells in a transgenic rat model of autoimmune diseases. *J Autoimmun* 20:43-49 2003
6. Kawakubo K, Endo T, Koizumi K, Nishio M, Fujimoto K, Sakai T, Sawada K, Koike T. Granular lymphocyte proliferative disorder after autologous peripheral blood stem cell transplantation for multiple myeloma. *Eur. J. Haematol.* 71:124-127 2003
7. Kobayashi K, Kishi M, Atsumi T, Bertolaccini ML, Makino H, Sakairi N, Yamamoto I, Yasuda T, Khamashta MA, Hughes GR, Koike T, Voelker DR, Matsuura E. Circulating oxidized LDL forms complexes with beta2-glycoprotein I: implication as an atherogenic autoantigen. *J Lipid Res.* 44(4):716-726 2003
8. Koizumi K, Nakao S, Haseyama Y, Kato H, Ohi M, Motohara T, Endo T, Sawada K, Koike T. Severe aplastic anemia associated with thymic carcinoma and partial recovery of hematopoiesis after thymectomy. *Ann Hematol.* 82(6):367-370, 2003
9. Oku K, Atsumi T, Furukawa S, Horita T, Sakai Y, Jodo S, Amasaki Y, Ichikawa K, Amengual O, Koike T. Cerebral imaging by magnetic resonance imaging and single photon emission computed tomography in systemic lupus erythematosus with central nervous system involvement. *Rheumatology.* 42(6):773-777, 2003
10. Sakai Y, Atsumi T, Itoh T, Koike T. Uveitis, pancarditis, haemophagocytosis, and abdominal masses. *Lancet.* 361:9360,834, 2003.
11. Shoenfeld Y, Krause I, Kvapil F, Sulkes J, Lev S, Landenberg P, Font J, Zaech J, Cervera R, Piette J, Boffa M, Khamashta M, Bertolaccini M, Hughes G, Youinou P, Meroni P, Pengo V, Alves J, Tincani A, Szegedi G, Lakos G,

- Sturfelt G, Jonsen A, Koike T, Sanmarcp M, Ruffatti A, Ulcova-gallova Z, Praprotnic S, Rozman B, Lorber M, Vriezman V. Prevalence and Clinical Correlations of Antibodies Against Six b2-Glycoprotein-I-Related Peptides in the Antiphospholipid Syndrome. *J. Clin. Immunol.*, 23(5):375, 2003
12. Wu R, Shoenfeld Y, Sherer Y, Patnaik M, Matsuura E, Gilburd B, Koike T, Peter JB. Anti-idiotypes to oxidized LDL antibodies in intravenous immunoglobulin preparations--possible immunomodulation of atherosclerosis. *Autoimmunity*, 36: 91-97, 2003

H. 知的財産権の出願・登録
該当無し

'high-throughput'ゲノム解析システムを用いたSLE感受性遺伝子の同定

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）

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) 患者3人を含む9人の家系構成員に対して、全ゲノムに均等に存在する400個のマイクロサテライトマーカーを用いて homozygous mapping を行い、これまでに SLE 感受性遺伝子座領域として報告された領域と一致する2つの遺伝子座 (4p16 と 16q13) を感受性遺伝子座として同定した。

2) 4p16 候補領域に対して、マイクロサテライトマーカー、SNPs を用いた患者-対照群による相関解析で感受性遺伝子座の狭小化を試みた結果、2候補領域を同定したが、その領域にはそれぞれ gene A と gene B が存在した。

3) 免疫システムに関与すると推定される 4p16 領域の候補遺伝子に対して、SNP による相関解析を行った結果、gene C と gene D を候補遺伝子として同定した。

4) C 遺伝子の2つの SNP、MS#129、MS#336、D 遺伝子の SNP の合計5つのマーカーと SLE との相関を認めたが、これらのマーカー間はそれぞれ約 3.3Mb、8.0Mb、2.1Mb 離れていることからこれらマーカー近傍の新たな SNP を用いた密な相関解析を行うことにより真の疾患感受性遺伝子と疾患感受性 SNP の同定を目指す。

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) 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 homozygous mapping を行い、感受性遺伝子座の同定を行う。

2) SLE 弧発例に対する候補遺伝子座の絞り込み：

H14年度に構築した"high throughput"なゲノム解析システムを利用し、マイクロサテライトマーカーとSNPsを駆使して、感受性遺伝子座の絞り込みと感受性遺伝子の同定を行う。

3) SLE 弧発例に対する候補遺伝子座に存在する候補遺伝子の解析：

4p16領域に存在する免疫系に機能的に関与すると推定される遺伝子についてSNPを用いて相関解析を行う。

<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検体は既に匿名化がなされて