

200400048A

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16年度 総括・分担研究報告書

平成17（2005）年3月

主任研究者

笹月健彦

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16年度 総括・分担研究報告書

平成17（2005）年3月

主任研究者

笹 月 健 彦

目 次

<研究班名簿>	1
総括研究報告書	
笹月 健彦 (国立国際医療センター・総長)	3
分担研究報告書	
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・教授)	15
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)	19
三森 明夫 (国立国際医療センター・膠原病科・医長)	27
土屋 尚之 (東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野・助教授)	29
中村 道子 (東邦大学医学部・精神神経科・助教授)	37
研究成果の刊行に関する一覧表	39

I. 研究班名簿

平成 16 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・総長 〒162-8655 東京都新宿区戸山 1-21-1 Phone.03-3202-7181 内線 2006 Fax.03-5273-0113 E-mail. sasazuki@nciryu.hosp.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

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（国立国際医療センター・総長）

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。各研究施設においてヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理方針（平成 13 年 3 月 29 日：文科省・厚労省・経産省）に基づいて、各倫理審査委員会での承認を得、本年度は以下の結果を得た。

1) SLE 検体の収集：

孤発例 467 例と SLE 罹患同胞対 20 組のサンプルが収集された。

2) 4p16 候補領域の SLE 感受性遺伝子の同定：

4p16 候補領域に対して密にマイクロサテライトマーカーと SNP を設定し、SLE467 例、対照群 889 例に対して相関解析を行った結果、WHSC2 遺伝子、BST1 遺伝子および STK32B 遺伝子を SLE 感受性遺伝子の候補として同定した。

3) 1q21-q23 候補領域の新規感受性遺伝子 FcRH3 の同定：

FcRH3 (Fc receptor homolog 3) の SNP:-169C/T を SLE に対して解析を行い、C/C 遺伝子型は C/T, T/T の遺伝子型より有意に SLE に感受性を示す (OR = 1.49 (95%CI:1.16-1.92), P = 0.0017) ことを明らかにした。さらに、SLE 患者の抗 DNA 抗体価は C/C 遺伝子型において C/T+T/T 遺伝子型より有意に高い (P<0.026) ことを明らかにした。

4) 候補遺伝子 CD72, APRIL の解析：

B 細胞の抑制型受容体である CD72 遺伝子の第 8 イントロンに 1 3 塩基の反復配列と 4 塩基挿入を持つハプロタイプが、SLE における腎症合併に対し抵抗性に働くことを見出した。さらに、この多型は Fcγ 受容体 IIb (FCGR2B)-232Thr 多型の SLE 発症リスクを、有意に減少させることを見出した。また、APRIL (TNFSF13) の c.199A/A (p.67Arg/Arg) 遺伝子型の SLE における有意な減少を確認した。

【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

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。

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

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・保存を行った。三森 (国際医療センター) は、国立国際医療センターにおいて、SLE の孤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った。中村 (東邦大) は、SLE の大家系の検体の収集を行った。

2) 4p16 候補領域の SLE 感受性遺伝子の同定 :

笹月・白澤 (国立国際医療センター) は“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、4p16 領域の感受性遺伝子座の絞り込みと感受性遺伝子の同定を行った。

3) FcRH3 遺伝子の解析 :

笹月・白澤は SLE 感受性遺伝子座である 1 番染色体長腕 1q21-q23 領域に存在する FcRH3 (Fc receptor homolog 3) に対する解析を行った。

4) 機能的候補遺伝子の解析 :

土屋 (東大) は独自に収集した SLE 孤発例を利用して、二つの候補遺伝子 CD72, APRIL について相関解析を行った。

<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 :

小池、三森が中心となり SLE 検体収集に関するシステムを構築し、合計 467 例の孤発例が収集され、SLE 罹患同胞対に関しては、20

組の SLE 同胞対サンプルが収集された。

2) 4p16 候補領域の感受性遺伝子の同定 :

笹月・白澤は 4p16 候補領域に対してマイクロサテライトマーカーを用いた相関解析によるスクリーニングで感受性遺伝子座として 2 領域を、また、免疫システムに關与すると推定される 4p16 領域の 10 個の候補遺伝子に対する SNP を用いた相関解析より 2 つの遺伝子を候補遺伝子として同定した。さらに、この 4 つの絞り込まれた遺伝子座に対して、SLE467 例、対照群 889 例に対して解析した結果、WHSC2、BST1、STK32B 遺伝子が SLE 感受性と相関した。

3) 新規感受性遺伝子 FcRH3 の同定 :

1 番染色体長腕 1q21-q23 領域は SLE、関節リウマチ (RA) を含む複数の自己免疫疾患に共通の感受性遺伝子が存在すると考えられている。笹月・白澤は RIKEN・東大との共同研究により、感受性遺伝子として FcRH3 (Fc receptor homolog 3) を同定した。相関を示した SNP の内、FcRH3 の転写開始点より 153bp 上流に存在する SNP: -169C/T は強く相関し、感受性アリルである -169C は非感受性アリルである -169T に比較し、より強固に免疫応答の重要な転写因子である NF-kappaB が結合することが明らかとなった。この SNP: -169C/T を SLE に対して解析した結果、C/C 遺伝子型は C/T, T/T の遺伝子型より有意に SLE に感受性を示す (OR = 1.49 (95%CI: 1.16-1.92), P = 0.0017) ことが明らかとなった。さらに、系時的に臨床データのある 120 例の SLE 患者の抗 DNA 抗体価は C/C 遺伝子型で 294.1 (IU/ml), C/T+T/T 遺伝子型で 145.1 (IU/ml) と有意に高い (P < 0.026) 事を明らかにした。さらに、-169C は自己免疫性甲状腺疾患 (AITD) とも相関することを明らかにした。これらの結果から FcRH3 は SLE のみならず、RA, AITD の複数の自己免疫疾患感受性遺伝子であること、および、自己抗体産生に關与することが示唆された。

4) 候補遺伝子 CD72, APRIL の解析 :

CD72 には 10 個所の変異が検出され、うち 4 個所が多型の定義に相当する頻度で認められ、ハプロタイプ・タグ多型として、第 8 イントロンの 13 塩基反復配列 (1 回を*1, 2 回を*2) を解析に利用した。SLE との関連解析では、SLE 全体との関連は検出されなかったが、SLE

群を腎症の有無により層別化すると、腎症を有する群において、*2 アリルおよび*2/*2 ハプロタイプの有意な減少が認められた。タイ人集団においても、ほぼ同様の傾向が検出された。腎症抵抗性の*2 ハプロタイプに、遺伝子量依存的に第8エクソンを欠失した新規スプライシング・アイソフォーム(AS)型 mRNA が増加することが見出された。また、CD72 の*2 アリル陽性例では、FCGR2B-232Thr 多型による発症リスクが有意に減弱することが見出された。APRIL の 67Arg/Arg 遺伝子型の有意な減少が確認された。

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、“All Japan”の協力体制の下でのシステムが構築され、合計で qbc 例の弧発例が収集されたことは評価される。SLE に関してこれだけ多数の検体を用いての解析は日本には存在せず、国際的にみても top-level の検体数である。今後は、SLE を含む自己免疫疾患感受性遺伝子の探索に利用・提供できるものであり、SLE・自己免疫疾患の病因・病態解明を介した診断・治療に貢献しうるとともに、日本人を対象とした個別化医療の実現の基盤を与えると考えられる。

感受性遺伝子座の候補領域である1番染色体長腕1q21-q23領域からSLE、関節リウマチ(RA)、AITDの複数の自己免疫疾患に共通の感受性遺伝子としてFcRH3を同定したことは高く評価されると思われる。また、その感受性SNPが自己抗体産生と相関することも興味深い。

4p16領域のマイクロサテライトマーカー、SNPを用いたdense mappingによりWHSC2遺伝子を受感性遺伝子として同定した。今後は、原因となるSNPを同定し、遺伝子機能や発現にどのような影響を与えるのかを解析していく必要がある。候補遺伝子解析では、CD72イントロン多型が、スプライシング効率に影響することにより、細胞外領域に位置する約40アミノ酸の置換を伴う新たなアイソフォームの産生を増加させ、それ自体で腎症抵抗性と関連し、かつ、遺伝子間相互作用により、FCGR2B多型のSLE発症リスクを修飾することを明らかにしたことは興味深い。

“high-throughput”なゲノム解析システムが国立国際医療センターに構築されたことは、自己免疫疾患のみならずその他の難病を含む多因子疾患にこのゲノム解析システムを利用し複数の疾患感受性遺伝子を同定することにつながると考えられる。

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きたが、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) SLE 検体の収集：

小池(北大)、三森(国際医療センター)が中心となりSLE検体収集に関するシステムを構築し、467例の弧発例が収集された。SLE罹患同胞対に関しては、20組のSLE同胞対サンプルが収集された。

2) 4p16 候補領域の SLE 感受性遺伝子の同定：

多発家系の解析より得られた4p16候補領域に対して、笹月・白澤(国際医療センター)はマイクロサテライトマーカー、SNPを用いSLE467例、対照群889例に対して相関解析を行った結果、WHSC2、BST1、STK32B 遺伝子をSLE感受性遺伝子の候補として同定した。

3) 新規感受性遺伝子 FcRH3 の同定：

笹月・白澤はFcRH3(Fc receptor homolog 3)に存在し関節リウマチと相関を示すSNP:-169C/TのC/C遺伝子型はC/T、T/Tの遺伝子型より有意にSLEに感受性を示す(OR=1.49)ことを明らかにした。さらに、抗DNA抗体価はC/C遺伝子型においてC/T+T/T遺伝子型より有意に高いことを明らかにした。

4) 候補遺伝子 CD72, APRIL の解析：

CD72, APRIL 候補遺伝子に対する解析を土

屋（東大）が行い以下の結果を得た。CD72 遺伝子の第8イントロンに13塩基の反復配列と4塩基挿入を持つハプロタイプが、SLEにおける腎症合併に対し抵抗性に働くこと、また、この多型はFCGR2B-232Thr多型のSLE発症リスクを有意に減少させることを見出した。さらに、APRIL(TNFSF13)のc.199A/A(p.67Arg/Arg)遺伝子型のSLEにおける有意な減少を確認した。

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. Kochi Y, Yamada R, Suzuki A, Harley JB, Shirasawa S, Sawada T, Bae S-C, Tokunishi S, Chang X, Sekine A, Takahashi A, Tsunoda T, Ohnishi Y, Kaufman KM, Kang CP, Kang C, Otsubo S, Yumura W, Mimori A, Koike T, Nakamura Y, Sasazuki T, Yamamoto K. A functional variant in *FcRH3*, encoding Fc Receptor Homolog 3, is associated with rheumatoid arthritis and several autoimmunities. *Nature Genet.*, in press, 2005
2. Ishii E, Ueda I, Shirakawa R, Yamamoto K, Horiuchi H, Ohga S, Furuno K, Morimoto A, Imayoshi M, Ogata Y, Zaitzu M, Sako M, Koike K, Sakata A, Takada H, Hara T, Imashuku S, Sasazuki T, Yasukawa M. Genetic subtypes of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis: correlations with clinical features and cytotoxic T lymphocyte/natural killer cell functions. *Blood*, in press, 2005
3. Pollock CB, Shirasawa S, Sasazuki T, Kolch W, Dhillon AS. Oncogenic K-RAS is required to maintain changes in cytoskeletal organization, adhesion, and motility in colon cancer cells. *Cancer Res.*, 65(4):1244-1250, 2005
4. Caron RW, Yacoub A, Li M, Zhu X, Mitchell C, Hong Y, Hawkins W, Sasazuki T, Shirasawa S, Kozikowski AP, Dennis PA, Hagan MP, Grant S, Dent P. Activated forms of H-RAS and K-RAS differentially regulate membrane association of PI3K, PDK-1, and AKT and the effect of therapeutic kinase inhibitors on cell survival. *Mol. Cancer Ther.*, 4(2):257-270, 2005
5. Caron RW, Yacoub A, Zhu X, Mitchell C, Han SI, Sasazuki T, Shirasawa S, Hagan MP, Grant S, Dent P. H-RAS V12-induced radioresistance in HCT116 colon carcinoma cells is heregulin dependent. *Mol. Cancer Ther.*, 4(2):243-255, 2005
6. Mabuchi R, Sasazuki T, Shirasawa S. Mapping of the critical region of mitogene-inducible gene-6 for NF-kappaB activation. *Oncol. Rep.*, 13(3):473-476, 2005
7. Caron RW, Yacoub A, Mitchell C, Zhu X, Hong Y, Sasazuki T, Shirasawa S, Hagan MP, Grant S, Dent P. Radiation-Stimulated ERK1/2 and JNK1/2 Signaling Can Promote Cell Cycle Progression in Human Colon Cancer Cells. *Cell Cycle*, 4(3), 2005
8. Aoki M, Yamamoto K, Noshiro H, Sakai K, Yokota J, Kohno T, Tokino T, Ishida S, Ohyama S, Ninomiya I, Uesaka K, Kitajima M, Shimada S, Matsuno S, Yano M, Hiratsuka M, Sugimura H, Itoh F, Minamoto T, Maehara Y, Takenoshita S, Aikou T, Katai H, Yoshimura K, Takahashi T, Akagi K, Sairenji M, Yamamura Y, Sasazuki T. A full genome scan for gastric cancer. *J. Med. Genet.*, 42(1):83-87, 2005
9. Shichijo S, Keicho N, Long HT, Quy T, Phi NC, Ha LD, Ban VV, Itoyama S, Hu CJ, Komatsu N, Kirikae T, Kirikae F, Shirasawa S, Kaji M, Fukuda T, Sata M, Kuratsuji T, Itoh K, Sasazuki T. Assessment of synthetic peptides of severe acute respiratory syndrome coronavirus recognized by long-lasting immunity. *Tissue Antigens*, 64(5):600-607, 2004
10. Nawata H, Shirasawa S, Nakashima N, Araki E, Hashiguchi J, Miyake S, Yamauchi T, Hamaguchi K, Yoshimatsu H, Takeda H, Fukushima H, Sasahara T, Yamaguchi K, Sonoda N, Sonoda T, Matsumoto M, Tanaka Y, Sugimoto H, Tsubouchi H, Inoguchi T, Yanase T, Wake N, Narazaki K, Eto T, Umeda F, Nakazaki M, Ono J, Asano T, Ito Y, Akazawa S, Hazegawa I, Takasu N, Shinohara M, Nishikawa T, Nagafuchi S, Okeda T, Eguchi K, Iwase M, Ishikawa M, Aoki M, Keicho N, Kato N, Yasuda K, Yamamoto K, Sasazuki T. Genome-wide linkage analysis of type 2 diabetes mellitus reconfirms the susceptibility

- locus on 11p13-p12 in Japanese. *J. Hum. Genet.*, 49(11): 629-634, 2004
11. Yamamoto K, Ishii E, Sako M, Ohga S, Furuno K, Suzuki N, Ueda I, Imayoshi M, Yamamoto S, Morimoto A, Takada H, Hara T, Imashuku S, Sasazuki T, Yasukawa M. Identification of novel MUNC13-4 mutations in familial haemophagocytic lymphohistiocytosis and functional analysis of MUNC13-4-deficient cytotoxic T lymphocytes. *J. Med. Genet.*, 41(10):763-767, 2004
 12. Itoyama S, Keicho N, Quy T, Phi NC, Long HT, Ha le D, Ban VV, Ohashi J, Hijikata M, Matsushita I, Kawana A, Yanai H, Kirikae T, Kuratsuji T, Sasazuki T. ACE1 polymorphism and progression of SARS. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 323(3): 1124-1129, 2004
 13. Shirasawa S, Sugiyama S, Baba I, Inokuchi J, Sekine S, Ogino K, Kawamura Y, Dohi T, Fujimoto M, Sasazuki T. Dermatitis due to epiregulin deficiency and a critical role of epiregulin in immune-related responses of keratinocyte and macrophage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 101(38):13921-13926, 2004
 14. Kaburagi Y, Yamashita R, Ito Y, Okochi H, Yamamoto-Honda R, Yasuda K, Sekihara H, Sasazuki T, Kadowaki T, Yazaki Y. Insulin-induced cell cycle progression is impaired in chinese hamster ovary cells overexpressing insulin receptor substrate-3. *Endocrinology*, 145(12):5862-5874, 2004
 15. Shirasawa S, Harada H, Furugaki K, Akamizu T, Ishikawa N, Ito K, Ito K, Tamai H, Kuma K, Kubota S, Hiratani H, Tsuchiya T, Baba I, Ishikawa M, Tanaka M, Sakai K, Aoki M, Yamamoto K, Sasazuki T. SNPs in the promoter of a B cell-specific antisense transcript, SAS-ZFAT, determine susceptibility to autoimmune thyroid disease. *Hum. Mol. Genet.*, 13 (19):2221-2231, 2004
 16. Klampfer L, Huang J, Sasazuki T, Shirasawa S, Augenlicht L. Oncogenic Ras promotes butyrate-induced apoptosis through inhibition of gelsolin expression. *J. Biol. Chem.*, 279(35):36680-36688, 2004
 17. Qi X, Tang J, Pramanik R, Schultz RM, Shirasawa S, Sasazuki T, Han J, Chen G. p38 MAPK activation selectively induces cell death in K-ras-mutated human colon cancer cells through regulation of vitamin D receptor. *J. Biol. Chem.*, 279(21):22138-22144, 2004
 18. 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.*, 49(3):166-168, 2004
 19. 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 the phosphatidylserine receptor. *Blood*, 103(9): 3362-3364, 2004
 20. 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(1):46-52, 2004.
 21. 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
- (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(2):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 monoclonalgammopathy in a post-non myeloblastic stem cell transplant patient. *Ann. Hematol.*, 83:114-116, 2004
 3. Yasuda S, Atsumi T, Ieko M, Matsuura E, Kobayashi K, Inagaki J, Kato H, Tanaka H, Yamakado M, Akino M, Saitou H, Amasaki Y, Jodo S, Amengual O, Koike T. Nicked

- β 2-glycoprotein I: a marker of cerebral infarct and a novel role in the negative feedback pathway of extrinsic fibrinolysis. *Blood*. 103(10): 3766-3772, 2004
4. Yamamoto S, Tsuji T, Matsuzaki J, Zhange Y, Chamoto K, Kosaka A, Togashi Y, Sekikawa K, Sawada K, Takeshima T, Koike T, Nishimura T. Unexpected role of TNF- α in graft versus host reaction (GVHR): donor-derived TNF- α suppresses GVHR via inhibition of IFN- γ -dependent donor type-1 immunity. *Int Immunol*. 16: 811-817. 2004
 5. Endo T, Mogi Y, Koizumi K, Nishio M, Fujimoto K, Sakai T, Kumano K, Obara M, Ikeda H, Koike T. Peripheral blood stem cell mobilization following plus rituximab therapy combined with G-CSF in patients with B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transpl*. 33:703-707. 2004
 6. Yasuda S, Ogura N, Horita T, Yasuda I, Hioka T, Kondo N, Fujisaku A. Abacterial prostatitis and primary biliary cirrhosis with Sjogren's syndrome. *Mod. Rheumatol.*, 14:70-72, 2004
 7. Das H, Atsumi T, Fukushima Y, Shibuya H, Ito K, Yamada Y, Amasaki Y, Ichikawa K, Amengual O, Koike T. Diagnostic value of antiagalactosyl IgG antibodies in rheumatoid arthritis. *Clin. Rheumatol.*, 23:218-222, 2004
 8. Ieko M, Tarumi T, Takeda M, Nito S, Nakabayashi T, Koike T. Synthetic selective inhibitors of coagulation factor Xa strongly inhibit thrombin generation without affecting initial thrombin forming time necessary for platelet activation in hemostasis. *J. Thromb. Haemost.*, 2: 612-622, 2004
 9. Amengual O, Atsumi T, Koike T. Antiprothrombin antibodies and the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *Clin. Immunol.*, 112:144-149, 2004
 10. Yang L, Hakoda M, Iwabuchi K, Takeda T, Koike T, Kamatani N, Takada K. Rheumatoid Factors Induce Signaling from B cells, leading to Epstein-barr virus and B-cell activation. *J. Viol.*, 78(18):9918-9923.2004
 11. Kataoka H, Koike T. Lupus mortality in Japan. *Autoimmun. Rev.*, 3: 421- 422.2004
 12. Xiao S, Deshmukh SU, Jodo S, Koike T, Sharma R, Furusaki A, Sung JS, Ju Shyr-Tu. Novel negative regulator of expression in Fas Ligand (CD178) Cytoplasmic tail:Evidence for Translational Regulation and against Fas Ligand Retention in secretory lysosomes. *J. Immunol.*, 173: 5095- 5102.2004
 13. Yasuda S, Atsumi T, Ieko M, Koike T. β 2-glycoprotein I, anti- β 2-glycoprotein I, and fibrinolysis. *Thromb Res* 114: 461- 465.2004
 14. Astumi T, Amengual O, Yasuda S, Koike T. Antiprothrombin antibodies-are they worth assaying? *Thromb. Res.*, 114: 533-538.2004
 15. Hashimoto S, Ogawa Y, Ishida T, Mochizuki T, Koike T, Sato H, Ueda T. Steroid-sensitive nephrotic syndrome associated with positive C1q immunofluorescence. *Clin. Exp. Nephrol.*, 8: 266- 269.2004
 16. Bohgaki M, Atsumi T, Yamashita Y, Yasuda S, Sakai Y, Furusaki A, Bohgaki T, Amengual O, Amasaki Y, Koike T. The p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway mediates induction of the tissue factor gene in monocytes stimulated with human monoclonal anti- β 2Glycoprotein I antibodies. *Int. Immunol.*, 16(11):1633- 1641.2004
 17. Yasuda S, Atsumi T, Matsuura E, Kaihara K, Yamamoto D, Ichikawa K, Koike T. Significance of valine/leucine²⁴⁷ polymorphism of β 2-glycoprotein I in antiphospholipid syndrome: increased reactivity of anti- β 2-glycoprotein I autoantibodies to the valine²⁴⁷ β 2-glycoprotein I variant. *Arthritis Rheum* 52:1.212-218.2004
 18. Sugiura-ogasawara M, Atsumi T, Ozaki Y, Koike T, Suzumori K. Phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibodies are not useful markers for high-risk woman with recurrent miscarriages. *Fertil. Steril.*, 82:51440-1442.2004
 19. Klampfer L, Swaby L-A, Huang J, Sasazuki T, Shirasawa S, Augenlicht L. Oncogenic Ras increases sensitivity of colon cancer cells to 5-FU-induced apoptosis. *Oncogene*, in press, 2005
 20. Hiratani H, Bowden DW, Ikegami S, Shirasawa S, Shimizu A, Iwatani Y, Akamizu T. Multiple SNPs in intron 7 of thyrotropin receptor are associated with Graves' disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, in press, 2005
 21. Kochi Y, Yamada R, Suzuki A, Harley JB, Shirasawa S, Sawada T, Bae S-C, Tokuhiko S,

- Chang X, Sekine A, Takahashi A, Tsunoda T, Ohnishi Y, Kaufman KM, Kang CP, Kang C, Otsubo S, Yumura W, Mimori A, Koike T, Nakamura Y, Sasazuki T, Yamamoto K. A functional variant in FcRH3, encoding Fc Receptor Homolog 3, is associated with rheumatoid arthritis and several autoimmunities. *Nature Genet.*, in press, 2005
22. Caron RW, Yacoub A, Mitchell C, Zhu X, Hong Y, Sasazuki T, Shirasawa S, Hagan MP, Grant S, Dent P. Radiation-stimulated ERK1/2 and JNK1/2 signaling can promote cell cycle progression in human colon cancer cells. *Cell Cycle*. 28:4(3), 2005
23. Caron RW, Yacoub A, Li M, Zhu X, Mitchell C, Hong Y, Hawkins W, Sasazuki T, Shirasawa S, Kozikowski AP, Dennis PA, Hagan MP, Grant S, Dent P. Activated forms of H-RAS and K-RAS differentially regulate membrane association of PI3K, PDK-1 and AKT and the impact of therapeutic kinase inhibitors on cell survival. *Mol. Cancer Ther.* , 4(2):257-70, 2005
24. Caron RW, Yacoub A, Zhu X, Mitchell C, Han SI, Sasazuki T, Shirasawa S, Hagan MP, Grant S, Dent P. H-RAS V12-induced radioresistance in HCT116 colon carcinoma cells is heregulin dependent. *Mol. Cancer Ther.* , 4(2):243-55, 2005
25. Mabuchi R, Sasazuki T, Shirasawa S. Mapping of the critical region of mitogene-inducible gene-6 for NK- κ B activation. *Oncol. Rep.*, 13(3):473-6, 2005
26. Yu JL, May L, Lhotak V, Shahrzad S, Shirasawa S, Weitz JI, Coomber BL, Mackman N, Rak JW. Oncogenic events regulate tissue factor expression in colorectal cancer cells: Implications for tumor progression and angiogenesis. *Blood*, 105(4):1734-41, 2005
27. Onimaru H, Arata A, Arata S, Shirasawa S, Cleary ML. In vitro visualization of respiratory neuron activity in the newborn mouse ventral medulla. *Brain Res Dev Brain Res.*, 153(2): 275-279, 2004
28. Nawata H, Shirasawa S, Nakashima N, Araki E, Hashiguchi J, Miyake S, Yamauchi T, Hamaguchi K, Yoshimatsu H, Takeda H, Fukushima H, Sasahara T, Yamaguchi K, Sonoda N, Sonoda T, Matsumoto M, Tanaka Y, Sugimoto H, Tsubouchi H, Inoguchi T, Yanase T, Wake N, Narazaki K, Eto T, Umeda F, Nakazaki M, Ono J, Asano T, Ito Y, Akazawa S, Hazegawa I, Takasu N, Shinohara M, Nishikawa T, Nagafuchi S, Okeda T, Eguchi K, Iwase M, Ishikawa M, Aoki M, Keicho N, Kato N, Yasuda K, Yamamoto K, Sasazuki T. Genome-wide linkage analysis of type 2 diabetes mellitus reconfirms the Susceptibility locus on 11p13-p12 in Japanese. *J. Hum. Genet.*, 49:629-634, 2004
29. Shichijo S, Keicho N, Long HT, Quy T, Phi NC, Ha LD, Ban VV, Itoyama S, Hu CJ, Komatsu N, Kirikae T, Kirikae F, Shirasawa S, Kaji M, Fukuda T, Sata M, Kuratsuji T, Itoh K, Sasazuki T. Assessment of synthetic peptides of severe acute respiratory syndrome coronavirus recognized by long-lasting immunity. *Tissue antigens*, 64(5):6007-607, 2004
30. Shirasawa S, Sugiyama S, Baba I, Inokuchi J, Sekine S, Ogino K, Kawamura Y, Dohi T, Fujimoto M, Sasazuki T. Dermatitis due to epiregulin deficiency and a critical role of epiregulin in immune-related responses of keratinocyte and macrophage. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* , 101(38):13921-13926, 2004
31. Shirasawa S, Harada H, Furugaki K, Akamizu T, Ishikawa N, Ito K, Ito K, Tamai H, Kuma K, Kubota S, Hiratani H, Tsuchiya T, Baba I, Ishikawa M, Tanaka M, Sakai K, Aoki M, Yamamoto K, Sasazuki T. SNPs in the promoter of a B cell-specific antisense transcript, SAS-ZFAT , determine susceptibility to autoimmune thyroid disease. *Hum. Mol. Genet.*, 13(19):2221-2231, 2004
32. Cheng L, Arata A, Mizuguchi R, Qian Y, Karunaratne A, Gray PA, Arata S, Shirasawa S, Bouchard M, Luo P, Chen CL, Busslinger M, Goulding M, Onimaru H, Ma Q. TLx3 and TLx1 are post-mitotic selector genes determining glutamatergic over GABAergic cell fates. *Nature Neurosci.*, 7(5):510-517, 2004
33. Klampfer L, Huang J, Sasazuki T, Shirasawa S, Augenlicht L. Oncogenic Ras Promotes butyrate-induced apoptosis through inhibition of gelsolin expression. *J. Biol. Chem.*, 279(35):36680-36688, 2004

34. Asano N, Fujimoto M, Yazawa N, Shirasawa S, Hasegawa M, Okochi H, Tamaki K, Tedder TF, Sato S. B Lymphocyte Signaling Established by the CD19/CD22 Loop Regulates Autoimmunity in the Tight-Skin Mouse. *Am. J. Pathol.*, 165:641-650, 2004.
35. Qi X, Tang J, Pramanik R, Schultz RM, Shirasawa S, Sasazuki T, Han J, Chen G. p38 MAPK activation selectively induces cell death in K-ras mutated human colon cancer cells through regulation of vitamin D receptor. *J. Biol. Chem.*, 279(21):22138-22144, 2004
36. 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.*, 49 (3):166-168, 2004
37. 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 (1): 46-52, 2004
38. 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
39. Kimura H, Komatsuda A, Sawada K, Mimori A, Baba S, Minota S. Rapidly progressed secondary amyloidosis in a patient with mixed connective tissue disease. *Int Med* 43:878-882, 2004
40. 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* 103:2257-2265, 2004.
41. Sakurai D, Tsuchiya N, Yamaguchi A, Okaji Y, Tsuno NH, Kobata T, Takahashi K, Tokunaga K: Crucial role of inhibitor of DNA binding/differentiation in the vascular endothelial growth factor-induced activation and angiogenic processes of human endothelial cells. *J Immunol* 173:5801-5809, 2004.
42. Hitomi Y, Tsuchiya N, Kawasaki A, Kyogoku C, Ohashi J, Suzuki T, Fukazawa T, Bejrachandra S, Siriboonrit U, Chandanayingyong D, Suthipinittharm P, Tsao BP, Hashimoto H, Honda Z, Tokunaga K. *CD72* polymorphisms associated with alternative splicing modify susceptibility to human systemic lupus erythematosus through epistatic interaction with *FCGR2B*. *Hum Mol Genet* 13: 2907-2917, 2004.
43. Tsuchiya N, Kuroki K, Fujimoto M, Murakami Y, Tedder TF, Tokunaga K, Takehara K, Sato S. Association of functional *CD19* polymorphism with susceptibility to systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 50: 4002-4007, 2004.
44. Ehara Y, Sakurai D, Tsuchiya N, Nakano K, Tanaka Y, Yamaguchi A, Tokunaga K: Follistatin-related protein gene (*FRP*) is expressed in the synovial tissues of rheumatoid arthritis, but its polymorphisms are not associated with genetic susceptibility. *Clin Exp Rheumatol* 22: 707-712, 2004.
45. Okaji Y, Tsuno NH, Kitayama J, Saito S, Takahashi T, Kawai K, Yazawa K, Asakage M, Tsuchiya T, Sakurai D, Tsuchiya N, Tokunaga K, Takahashi K, Nagawa H. A novel method for isolation of endothelial cells and macrophages from murine tumors based on Ac-LDL uptake and CD16 expression. *J Immunological Methods* 295:183-193, 2004.
46. Tsuchiya N, Kyogoku C: Role of Fcγ Receptor IIb polymorphism in the genetic background of systemic lupus erythematosus: Insights from Asia. *Autoimmunity* (in press)

2. 学会発表
(主任研究者)

1. 杉山滋, 馬場賀, 猪口淳一, 関根さやか, 荻野景子, 河村由紀, 土肥多恵子, 藤本学, 笹月健彦, 白澤専二. Epregrulin のケラチノサイトとマクロファージにおける免疫関連機能の解明. 日本分子生物学会, 神戸, 2004年12月8日-11日
2. 柳内和幸, 竹内史比古, 松尾恵, 長野忍, 猪又兵衛, 渡邊岳博, 森居俊行, 柳内圭子, 安田和基, 白澤専二, 笹月健彦, 加藤規弘. 染色体 20 番長腕での 2 型糖尿病感受性遺伝子の網羅的探索. 日本人類遺伝学会第 49 回大会, 東京, 2004 年 10 月 12-15 日
3. 原田晴仁, 石川繭子, 天崎吉晴, 小池隆夫,

- 中村道子, 三森明夫, 笹月健彦, 白澤専二. 4 番染色体短腕上の SLE 疾患感受性遺伝子の解明. 日本人類遺伝学会第 49 回大会, 東京, 2004 年 10 月 12-15 日
4. 石川繭子, 小牧元, 摂食障害遺伝子研究協力者会議, 猪子英俊, 田宮元, 笹月健彦, 白澤専二. ABI3730DNA アナライザを用いた全ゲノムスクリーニング法における摂食障害感受性遺伝子の探索. 日本人類遺伝学会第 49 回大会, 東京, 2004 年 10 月 12 日 -15 日
5. 馬淵麗子, 角田俊之, 笹月健彦, 白澤専二. Mig-6 の NF κ B 活性化誘導に関わる領域の同定. 第 63 回日本癌学会学術総会, 福岡, 2004 年 9 月
- (分担研究者)
1. Koike T. "Antiphospholipid Syndrome" 7th International Congress SLE and Related conditions. New York, USA, May 9-13, 2004
2. Koike T. "Antiphospholipid Syndrome, mechanism of thrombus and complication of reproductive system." 11th European Congress on Reproductive Immunology. Praha, Czech, June 30- July 3, 2004
3. Koike T. "Antiphospholipid Syndrome, mechanism of thrombus and complication of reproductive system." 11th Asia Pacific League Associations for rheumatology Congress, Jeju, Korea, September 11- 15, 2004
4. Koike T. "Antiprothrombin-is it worth assaying?" 11th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Sydney, Australia, November 12-19, 2004
5. Koike T. "Pathogenesis of antiprothrombin antibody." 4th International Congress on Autoimmunity. Budapest, Hungary, November 3-7, 2004
6. Shirasawa S. "Genetic analysis on autoimmune thyroid disease." "Genome analysis and Medicine"-The 13th Takeda Science Foundation Symposium on Bioscience, Tokyo, December 6-8, 2004
7. 杉山滋, 馬場賀, 猪口淳一, 関根さやか, 荻野景子, 河村由紀, 土肥多恵子, 藤本学, 笹月健彦, 白澤専二. Epiregulin のケラチノサイトとマクロファージにおける免疫関連機能の解明. 日本分子生物学会, 神戸, 2004 年 12 月 8 日-11 日
8. 白澤専二. 自己免疫疾患および拒食症のゲノム解析—罹患同胞対解析および pooled DNA 法を用いた全ゲノムスクリーニング—. 第 33 回遺伝医学研究会 (東京女子医大), 東京, 2004 年 11 月 26 日
9. 柳内和幸, 竹内史比古, 松尾恵, 長野忍, 猪又兵衛, 渡邊岳博, 森居俊行, 柳内圭子, 安田和基, 白澤専二, 笹月健彦, 加藤規弘. 染色体 20 番長腕での 2 型糖尿病感受性遺伝子の網羅的探索. 日本人類遺伝学会第 49 回大会, 東京, 2004 年 10 月 12-15 日
10. 原田晴仁, 石川繭子, 天崎吉晴, 小池隆夫, 中村道子, 三森明夫, 笹月健彦, 白澤専二. 4 番染色体短腕上の SLE 疾患感受性遺伝子の解明. 日本人類遺伝学会第 49 回大会, 東京, 2004 年 10 月 12-15 日
11. 石川繭子, 小牧元, 摂食障害遺伝子研究協力者会議, 猪子英俊, 田宮元, 笹月健彦, 白澤専二. ABI3730DNA アナライザを用いた全ゲノムスクリーニング法における摂食障害感受性遺伝子の探索. 日本人類遺伝学会第 49 回大会, 東京, 2004 年 10 月 12 日 -15 日
12. 白澤専二. Pooled DNA 法を用いた全ゲノムスクリーニングによる摂食障害感受性遺伝子の解明. JBIC2004 プロジェクト成果報告会, 東京, 2004 年 10 月
13. 馬淵麗子, 角田俊之, 笹月健彦, 白澤専二. Mig-6 の NF κ B 活性化誘導に関わる領域の同定. 第 63 回日本癌学会学術総会, 福岡, 2004 年 9 月
14. 白澤専二. 自己免疫性甲状腺疾患のゲノム解析. 第 11 回日本遺伝子診療学会大会, 東京, 2004 年 9 月 (シンポジウム)
15. 大川雅子, 青塚新一, 長汐千秋, 狩野俊和, 伊藤健司, 三森明夫: 関節リウマチ患者における血中抗環状シトルリンペプチド抗体価の経時的変動. 第 48 回日本リウマチ学会総会 岡山, 4 月, 2004
16. 長汐千秋, 松田寿久, 狩野俊和, 伊藤健司, 青塚新一, 三森明夫: 狭窄を伴わず拡張のみで発症した高安動脈炎の一例. 第 48 回日本リウマチ学会総会 岡山, 4 月, 2004
17. 長汐千秋, 松田寿久, 狩野俊和, 伊藤健司, 青塚新一, 三森明夫: 血管炎による難治性皮膚潰瘍の治療. 第 48 回日本リウマチ学会総会 岡山, 4 月, 2004
18. 狩野俊和, 松田寿久, 長汐千秋, 伊藤健司, 青塚新一, 三森明夫: CMV に伴う血小板減

- 少. 第48回日本リウマチ学会総会 岡山, 4月, 2004
19. 土屋尚之: 顕微鏡的多発血管炎の疾患感受性遺伝子解析. 第48回日本リウマチ学会総会・学術集会 抄録集 p105. 2004年4月15日~17日、岡山。
 20. 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. 第48回日本リウマチ学会総会・学術集会 抄録集 p152. 2004年4月15日~17日、岡山。
 21. 人見祐基、土屋尚之、川崎綾、深沢徹、松多邦雄、Betty P. 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. 第48回日本リウマチ学会総会・学術集会 抄録集 p175. 2004年4月15日~17日、岡山。
 22. 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: 白血球免疫グロブリン様受容体 LILRA1(LIR6) 遺伝子多型と日本人 SLE との関連. 第48回日本リウマチ学会総会・学術集会 抄録集 p175. 2004年4月15日~17日、岡山。
 23. 川崎綾、土屋尚之、深沢徹、松多邦雄、橋本博史、徳永勝士: APRIL 遺伝子多型と関節リウマチ、全身性エリテマトーデスとの関連の検討. 第48回日本リウマチ学会総会・学術集会 抄録集 p181. 2004年4月15日~17日、岡山。
 24. 申栄吉、櫻井大祐、土屋尚之、川崎綾、小端哲二、徳永勝士: ヒト臍帯静脈由来血管内皮細胞における BLYS(BAFF) 発現. 第48回日本リウマチ学会総会・学術集会 抄録集 p284. 2004年4月15日~17日、岡山。
 25. 櫻井大祐、土屋尚之、山口晃弘、小端哲二、徳永勝士: VEGF 誘導性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48回日本リウマチ学会総会・学術集会 抄録集 p299. 2004年4月15日~17日、岡山。
 26. 人見祐基、土屋尚之、川崎綾、京極千恵子、大橋順、鈴木毅、深沢徹、Sasitorn Bejrachandra, Dasnayanee Chandanayingyong, Puan Suthipinittharm, Betty P. Tsao, 橋本博史、本田善一郎、徳永勝士: SLE 感受性におけるヒト CD72 遺伝子多型およびヒト FcγR2B 遺伝子多型の遺伝子間相互作用. 日本人類遺伝学会第49回大会抄録集 p107(2004年10月12日~15日)。
 27. 土屋尚之、黒木喜美子、村上善則、藤本学、Thomas F. Tedder, 徳永勝士、竹原和彦、佐藤伸一: CD19 の機能的多型と全身性強皮症との関連. 日本人類遺伝学会第49回大会抄録集 p148(2004年10月12日~15日)。
 28. Tsuchiya N, Kuroki K, Murakami Y, Fujimoto M, Tedder TF, Tokunaga K, Takehara K, Sato S: Association of functional *CD19* promoter polymorphism with susceptibility to systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 50(Suppl.): S125, 2004.
 29. Kawasaki A, Tsuchiya N, Fukazawa T, Matsuta K, Murakami Y, Hashimoto H, Tokunaga K. APRIL (TNFSF13) polymorphisms: in systemic lupus erythematosus: Independent confirmation of association with susceptibility and new association with clinical characteristics. *Arthritis Rheum* 50(Suppl.): S120, 2004. *Arthritis Rheum* 50(Suppl.): S203, 2004.
 30. Hitomi Y, Tsuchiya N, Kawasaki A, Kyogoku C, Ohashi J, Suzuki T, Fukazawa T, Bejrachandra S, Chandanayingyong D, Suthipinittharm P, Tsao BP, Hashimoto H, Honda Z, Tokunaga K: Epistatic interaction between *CD72* and *FCGR2B* polymorphisms in conferring susceptibility to human systemic lupus erythematosus (SLE). *Arthritis Rheum* 50(Suppl.): S120, 2004.
 31. Kusaoi M, Fukazawa T, Hirashima M, Morita Y, Morita T, Tsuchiya N, Tokunaga K, Inoko H, Hashimoto H: Genomic screening with high density microsatellite markers for systemic lupus erythematosus on chromosome 1. *Arthritis Rheum* 50(Suppl.): S121, 2004.
 32. 申栄吉、土屋尚之、櫻井大祐、長谷英徳、津野寛和、高橋孝喜、小端哲二、徳永勝士 血管内皮細胞および血管平滑筋細胞における BLYS(BLyS) 発現. 第34回日本免疫学会(学術集会記録 p162), 2004.
 33. 黒木喜美子、土屋尚之、白石充典、ラズバラリング、山下由美、小池隆夫、神田大輔、徳永勝士、前仲勝実 関節リウマチ(RA)関連 Leukocyte Immunoglobulin-like receptor (LIR)

- 1 ハプロタイプの構造・発現解析。第34回日本免疫学会(学術集会記録 p162), 2004.
34. 川崎綾、土屋尚之、深沢徹、橋本博史、徳永勝士 APRIL(TNFSF13)遺伝子多型と SLE 発症および病態との関連の解析。第34回日本免疫学会(学術集会記録 p279), 2004.
35. 人見祐基、土屋尚之、川崎綾、鈴木毅、深沢徹、Bejrachandra S, Chandadnayingyong D, Suthipinittharm P, Tsao BP, 橋本博史、本田善一郎、徳永勝士 SLE 感受性におけるヒト CD72 遺伝子多型およびヒト FCGR2B 遺伝子多型の遺伝子間相互作用。第34回日本免疫学会(学術集会記録 p279), 2004.
36. 土屋尚之、黒木喜美子、藤本学、Tedder TF, 徳永勝士、佐藤伸一 ヒト CD19 多型と強皮症との関連。第34回日本免疫学会(学術集会記録 p284), 2004.
37. 宮下リサ、土屋尚之、屋部登志雄、小林茂人、橋本博史、尾崎承一、徳永勝士 KIR 遺伝子多型と顕微鏡的多発血管炎(MPA)との関連の検討。第34回日本免疫学会(学術集会記録 p284), 2004.
38. 屋部登志雄、宮下リサ、八幡真人、八幡信代、Parham P, 土屋尚之、徳永勝士 ヒトNK細胞受容体KIR, LIR多型性と骨髄移植成績への影響。第34回日本免疫学会(学術集会記録 p331), 2004.
39. 草生真規雄、深沢徹、平島美賀、守田優子、頭山尚子、土屋尚之、徳永勝士、猪子英俊、橋本博史 高密度のマイクロサテライトマーカーを用いた1番染色体における全身性エリテマトーデスの疾患感受性遺伝子の解析。第34回日本免疫学会(学術集会記録 p256), 2004.
40. 黒木喜美子、白石充典、ラズバラリンダ、土屋尚之、徳永勝士、神田大輔、前仲勝実 関節リウマチ(RA)関連 Leukocyte Immunoglobulin-like Receptor (LIR) 1 ハプロタイプの構造・発現解析。第27回日本分子生物学会(抄録集 p995, 3PB-407), 2004.
41. 中村道子、片桐直之、五十嵐雅文、辻野尚久、黒木良幸、菅原道哉、白澤専二、笹月健彦: 近親婚家系における自己免疫疾患同胞発症例の精神医学的検討と遺伝子連鎖解析。第26回日本生物学的精神医学会 東京 2004年7月21日~23日

1. 特許取得
(分担研究者)
なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定も含む)

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）

坊垣 暁之（北海道大学大学院医学研究科病態内科学講座・第二内科・大学院生）

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、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 年度は当施設における遺伝子解析実施に関しての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、現在までに 56 組の収集が行えており、計 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 200 症例の収集が終了しており、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、Fcγ 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

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。当施設の倫理審査機構

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。

全国的な検体収集については、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、まず当施設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：

平成 14 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 56 組が集積されており、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、当施設の専門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行っている。昨年度報告時より現在まで新たに 52 検体の登録、検体収集を得ている。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班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