

- with microscopic polyangiitis. *Arthritis Rheum* 46 (Suppl): S188, 2002.
44. 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.
 45. 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.
 46. 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.
 47. 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.
 48. 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.
 49. 京極千恵子、土屋尚之、松多邦雄、渋谷司、徳永勝士：日本人関節リウマチ(RA)における Fcγ 受容体ファミリーおよび *TNFR2*(*TNFRSF1B*)遺伝子多型の関連研究。日本人類遺伝学会第47回大会(2002年11月13日-15日、名古屋)。P113, 2002.
 50. 黒木喜美子、土屋尚之、松多邦雄、深沢 徹、十字猛夫、橋本博史、徳永勝士：Leukocyte immunoglobulin-like receptor 1 (LIR1)多型と日本人関節リウマチ疾患感受性との関連。日本人類遺伝学会第47回大会(2002年11月13日-15日、名古屋)。P115, 2002.
 51. 宮下リサ、土屋尚之、氷上光輝、黒木喜美子、屋部登志雄、徳永勝士：ヒト NKG2-C 遺伝子欠失の分子遺伝学的解析。日本人類遺伝学会第47回大会(2002年11月13日-15日、名古屋)。P141, 2002.
 52. 櫻井大祐、山口晃弘、大槻祐頼、津野寛和、土屋尚之、徳永勝士：ID 遺伝子強制発現による血管内皮細胞の活性化および増殖誘導。日本人類遺伝学会第47回大会(2002年11月13日-15日、名古屋)。P172, 2002.
 53. 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.
 54. 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.
 55. 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.
 56. 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.
 57. 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.
 58. 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.
 59. 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)

60. 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.
61. 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.
62. 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.
63. 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.
64. 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.
65. 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。
66. 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。
67. 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。
68. 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。
69. 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。
70. 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。
71. 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.
72. 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.
73. 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.
74. 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 in Caucasians: a family-based association study. *Arthritis Rheum* 48 (Suppl); S380, 2003.
75. 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.
76. 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.
77. 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.
78. Kyogoku C, Kono H, Tsuchiya N, Suzuki T, Yamamoto K, Tokunaga K, Honda Z-I. SLE-associated polymorphism of *FcγRIIB* Ile232Thr affects localization at lipid rafts and attenuation of BCR signaling. *Arthritis Rheum* 48 (Suppl); S647, 2003.
79. 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.
80. 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.
81. 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 *FcγRIIB* 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.
82. 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.
83. 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.
84. 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.
85. 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.
86. 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.
87. 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。
88. 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 15～17 日、岡山。
89. 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 15～17 日、岡山。
90. 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 15～17 日、岡山。
91. 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 15～17 日、岡山。
92. 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 15~17 日、岡山。
93. 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 15~17 日、岡山。
 94. 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 12~15 日)。
 95. 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 12~15 日)。
 96. 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.
 97. 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.
 98. 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.
 99. 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.
 100. 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 BAFF(BLyS)発現。第 34 回日本免疫学会 (学術集会記録 p162) , 2004.
 101. 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.
 102. 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.
 103. 人見祐基、土屋尚之、川崎綾、鈴木毅、深沢徹、Bejrachandra S, Chandanayingyong 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.
 104. 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.
 105. 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.
 106. 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 多型性と骨髓移植成績への影響。第 34 回日本免疫学会 (学術集会記録 p331) , 2004.
 107. 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.
108. 黒木喜美子、白石充典、ラズバラリンド、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
109. 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
110. 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
111. 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
112. 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
113. 羽田兼吾, 長汐千秋, 大久保光, 伊藤健司, 三森明夫: Lupus膀胱炎5症例の治療経過。第47回日本リウマチ学会, 東京, 4月, 2003
114. 長汐千秋, 羽田兼吾, 大久保光, 伊藤健司, 三森明夫: SLE経過中に進行性多発性白質脳症を発症した3例。第47回日本リウマチ学会, 東京, 4月, 2003
115. 竹石美智雄, 三森明夫, 中嶋京一, 三村俊英: 血栓症を有する第12因子低下者の免疫学的検討。第47回日本リウマチ学会, 東京, 4月, 2003
116. 大川雅子, 青塚新一, 伊藤健司, 三森明夫: 膠原病患者末梢血単核細胞による抗U-IRNP抗体産生と免疫抑制剤添加の検討。第47回日本リウマチ学会, 東京, 4月, 2003
117. 松田寿久, 大久保光, 羽田兼吾, 長汐千秋, 伊藤健司, 三森明夫: シェーグレン症候群に併発した腹水とDICを結核と診断した1例。第506回 内科学会関東地方会 東京, 2月, 2003
118. 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: 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。2002.8.23. 横浜
119. 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
120. 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, 2004.7.21~23. 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
該当なし

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病態内科学講座・第二内科・教授）
天崎 吉晴 （北海道大学大学院医学研究科病態内科学講座・第二内科・助手）
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、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 ゲノム検体の収集を開始した。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、集積が困難であると考えられることから、全国的な検体収集が必要となる。このため、当施設を中心として検体収集を行っている。平成 14 年度は当施設における遺伝子解析実施に関する研究倫理審査申請および承認を得た。平成 15 年度より検体収集を開始し、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 組の収集が行えている。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いる。今後、罹患同胞対法用検体は計 100 組、患者対照群用検体は計 1000 症例を目標に検体収集を継続中である。

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した。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している。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している。

全国的な検体収集については、まず困難が予想される SLE 同胞発症例を 100 例を目標に集積中である。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 例を初期目標とした。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、検体収集を継続中である。

(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。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。

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、これらについては当施設の研究倫理審査においても承認されている。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 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. 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
3. Amengual O, Atsumi T, Koike T. Antiprothombin antibodies and the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *Clin. Immunol.*, 112: 144-149, 2004
4. 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: 1633- 1641, 2004
5. 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: 212-218, 2004.
6. 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. autoimmunity* 20. 43-49.2003.
7. Amengual O, Atsumi T, Koike T. Specificities properties and clinical significance of antiprothronbin antibodies. *Arthrit Rheum.*, 48:4.886-895, 2003.
8. Sakai Y, Atsumi T, Itoh T, Koike T. Uveitis, pancardotos, haemophagocytosis, and abdominal masses. *Lancet*, 361:834, 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. *Rheumatol.*42:773-777, 2003.
10. Kobayashi, K., Kishi, M., Atumi, T., Bertolaccini LM, Makino H, Sakairi N, Yamamoto I, Yasuda T, Khamashta AM, Hughes RVG, Koike T, Voelkr RD, Matsuura E. Circulating oxidized LDL forms complexes with β 2-glycoprotein I: implication as an atherogenic autoantigen. *J. Liposome Res.*, 44:716-726, 2003
11. 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.
12. 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.
13. Yasuda S, Tsustumi A, Astumi T, Bertolaccini ML, Ichikawa K, Khamashta MA, Huges RV, Koike T. Gene polymorphisms of tissue plasminogen activator and plasminogenactivator inhibitor-1patients with antiphospholipid antibodies. *J. Rheumatol.*, 29:1192-1197, 2002.
14. Amborozic A, Avicin T, Ichikawa K, Kveder T, Mastuur E, Hojnik M, Astumi T, Rozman B, Koike T. Anti- β 2-glycoprotein I antibodies in children with atopic dermatitis. *Int. Immunol.*, 14:823-830, 2002.
15. Takeuchi R, Atsumi T, Ieko M, Amasaki Y, Ichikawa K, Koike T. Suppressed intrinsic fibrinolytic activity by monoclonal anti-beta2 glycoprotein I antibodies: possible mechanism for thrombosis in patients with antiphospholipid syndrome. *Brit. J. Hematol.*, 119:781-788, 2002.

2. 学会発表

1. Koike T. "Antiphospholipid Syndrome." 7rd

- International Congress SLE and Related conditions. New York,U.S.A. May 9-13, 2004
2. Koike T. "Antiphospholipid Syndrome, mechanism of thrombus and complication of reproductive system." 11rd European Congress on Reproductive Immunology. Pilzen, Czech. June 30-July 3, 2004
 3. Koike T. "Antiphospholipid Syndrome." 11rd Asia Pacific League Associations for Rheumatology Congress. Jeju, Korea . September 11- 15, 2004
 4. Atsumi T, Koike T. "Antiprothrombin-is it worth assaying?" 11rd International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Sydney, Australia. November 12-19, 2004
 5. Koike T. "Pathogenesis of antiprothrombin antibody." 4rd International Congress on Autoimmunity. Budapest, Hungary. November 3-7, 2004
 6. Atsumi T, Ieko M, Jodo S, Amasaki Y, Koike T. "Sensitivity of semiquantitative lupus anticoagulant test for the diagnosis of antiphospholipid syndrome." 19th Congress of The International Society on Thrombosis and Haemostasis. Birmingham, UK. July 12-18, 2003
 7. Bohgaki T, Amasaki Y, Bohgaki M, Furusaki A, Sakai Y, Furukawa S, Fukae J, Matsumura K, Atsumi T, Koike T. "Hematopoietic stem cell transplantation for three patients with systemic sclerosis." The 5th Korea-Japan combined meeting of rheumatology (KJCMR). Seoul, Korea. May 22, 2003
 8. Koike T. "Anticardiolipin and anti-β2-glycoprotein I antibodies:application in the clinic." 3rd International Congress on Autoimmunity. Geneva, Switzerland. February 20-24, 2002.
 9. Koike T. "Antiphospholipid antibodies; in arterial thrombosis." The 1st Tuzing Antiphospholipid Conference. Tuzing, Germany, April 22-25, 2002.
 10. Koike T. "Antiphospholipid antibodies; recent progress and future prospect." SLE Respons Criteria Meeting. Dusseldorf, Germany, May 9-11, 2002.
 11. Koike T. "Anti-prothronbin antibodies; pathojenesis and specificity." 6th Dresden symposium on Autoaintibodies. Dresden, Germany. September 4-7, 2002

H. 知的財産権の出願・登録

'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。主任研究者と共同で以下のことを行った。

1) SLE 多発家系の解析：

同胞4人中3人が SLE を中心とした自己免疫疾患を発症し、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うち、3世代にわたる9人からゲノムDNAを抽出し、この大家系に対して、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、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 候補領域の SLE 感受性遺伝子の同定：

4p16 候補領域に対してマイクロサテライトマーカーと 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 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) 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、系時的な臨床データのある 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) ことを明らかにした。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。

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った。

2) SLE 孤発例に対する候補遺伝子座からの感受性遺伝子の同定：

"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、多発家系の解析から得られた感受性遺伝子座の絞り込みと感受性遺伝子の同定を、SLE467 例、対照群 889 例を用いた相関解析で行った。

3) SLE 感受性遺伝子座 1q21-q23 領域からの SLE 感受性遺伝子の同定： SLE467 例、対照群 889 例に対する SNPs を利用した相関解析で行った。

<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。また、解析に送られてくる検体は既に匿名化がなされている。この研究はヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成13年3月29日：文科省・厚労省・経済産業省告示第1号）にのっとった倫理委員会により承認されている。

C. 研究結果

1) 多発家系による候補領域の絞込み- : 4p16-p15 領域の同定

全ゲノム上に平均で100 kb 間隔で存在する約400個の多型マーカーを用い、同胞4人中3人が精神神経症状を伴う自己免疫疾患を発症している血族婚を有する一多発家系に対して homozygous mapping を行い、その中で過去に三報以上で SLE と連鎖が報告されている領域として、4p15、16q13、19q13、11p15 の4領域を同定した。これらの領域の中で、11p15 領域は、アフリカ系アメリカ人に特有であること、また、19q13 もヨーロッパ系アメリカ人、アイスランド人のヨーロッパ人種に特有であることから対象から除外した。残りの二領域の中で、4p15 はアフリカ系アメリカ人、ヨーロッパ系アメリカ人、アイスランド人とアジア人種やヒスパニア系を含むその他の人種において連鎖が報告されており、また 16q13 はアフリカ系アメリカ人、ヨーロッパ系アメリカ人、メキシコ系アメリカ人とアジア人種やヒスパニア系を含むその他の人種において連鎖が報告されていた。さらに、SLE の精神神経症状と強い連鎖を示し、複数の報告で LOD 値が3を超えている 4p16-p15 候補領域を今回の対象領域として選定した (図1)。

2) マイクロサテライトマーカーを用いた患者-対照群相関解析による 4p16-p15 候補領域の絞込み : MS#129, MS#136 との相関

マイクロサテライトマーカーは、4p16-p15 候補領域のゲノム配列 20Mb に対して、最小繰り返し単位が二塩基から五塩基からなる繰り返し配列 498 マーカーを設定した (図2)。

各マイクロサテライトマーカーについて、健常者8人のゲノム DNA を用いた PCR 増幅確認および多型性確認を行い、アレル数が3アレル以上あることが確認できた 308 多型マーカー (平均間隔約 65kb) を抽出した (図3)。アレルの同定は、NED、PET、VIC、FAM のいずれかの蛍光色素で蛍光ラベルしたプライマーを用い、Applied Biosystems 社の ABI3730xl を用いた GeneScan プログラムにてデータを取り、Applied Biosystems 社の GeneMapper 解析ソフトにて行った。

患者184人、対照250人から成る 1st SET 検体を対象に、多型を示した 308 マイクロサテライトマーカーのタイピングを行い、患者-対照相関解析を行った (表1)。患者におけるアレル頻度が5%以上で、なおかつ P 値が 0.05 以下のマーカーは 308 マーカー中に 44 マーカー認められた (表2)。また、P 値を 0.1 以下と条件を緩くすると 74 マーカーが抽出できた (表3)。この 74 マーカーをさらに詳細に検討し、PCR 増幅確実で、タイピング時のアレル波形がスタッター波形と容易に区別でき、タイピングにおいて特に信頼性が高くかつ擬陽性が無いと思われる 25 マーカーを選出した (図4)。この信頼性が高い 25 マーカーを用いて患者177人、対照192人から成る 2nd SET 検体を対象に関連解析を行った。2nd SET 検体に関連解析においては、p 値 0.1 以下では、MS#17、MS#150、MS#298、MS#336 の4つのマーカーが選出できたが、p 値 0.05 以下では MS#150 と MS#336 の2マーカーがそれぞれ p 値 0.00293 と 0.00263 で有意であった (表4)。25 マーカーについて、1st SET 検体と 2nd SET 検体を合わせた合計患者361人、対照442人で患者-対照相関解析を行った結果 (表5)、患者におけるアレル頻度が5%以上で p 値 0.05 以下の有意差を認めるマーカーを選出したところ、25 マーカーの内、MS#129、MS#150、MS#275、MS#336、MS#344、MS#364、MS#367、MS#494 の8マーカーが有意であった (表6)。

1st SET 検体と 2nd SET 検体の統合解析においては、有意差を認める 8 マーカーの中で 2つのマーカーが特に低い P 値を示した。MS#129 はそのアレル 08 の頻度において、対照 10.67% が患者では 6.25% と減少し、P 値は 0.00173 であった。また、このマーカーは予測遺伝子 STK32B (非受容体型セリン・スレオニンキナーゼ機能を有すると考えられる蛋白) の第3イントロンに位置していた。MS#336 は、そのアレル 07 頻度において対照 60.72% から

患者では 66.99%と増加しており、P 値は 0.00949 を示した (図 5)。MS[#]336 は当初、KIAA1327 遺伝子の第 8 インtron に位置することが報告されていた。しかしながら、最新のデータベース (build35.1) によると、KIAA1327 は削除されており、MS[#]336 は、予測遺伝子 LOC285548 と FLJ33215 の遺伝子間領域約 38kb のほぼ中間に位置することになった。MS[#]494 マーカーも 1st SET 検体と 2nd SET 検体の統合解析においてそのアレル 07 頻度が対照 18.68%から患者では 23.82%と増加しており、P 値は 0.01159 で有意差を認めたが、4p16-p15 領域の連鎖領域からは外れていることから、今回の解析では更なる詳細な検討は行わなかった。

3) 候補領域 4p16-p15 の 20Mb に存在する免疫関連遺伝子の SNP 解析 : WHSC2 と BST1 との相関

4p16-p15 領域の 20Mb 内に存在する免疫関連遺伝子を疾患感受性候補遺伝子として解析した。候補遺伝子内およびその近傍に存在する SNP を用いて患者—対照相関解析を行い疾患感受性遺伝子の同定を試みた。SNP のアレル同定は Applied Biosystems 社の Assays-on-Demand プロダクトによる TaqMan 法を用いて、ABI7900HT にて行った。免疫関連遺伝子 MAEA (macrophage erythroblast attacher) に 6SNPs、WHSC1 (Wolf-Hirschhorn syndrome candidate1) と WHSC2 (Wolf-Hirschhorn syndrome candidate2) に 8 SNPs、LRPAP1 (low-density lipoprotein receptor-related protein associated protein1) に 7 SNPs、C17 (cytokine-like protein C17) に 2 SNPs、PGR1 (T-cell activation protein) に 2 SNPs、C1QTNF7 (C1q and tumor necrosis factor related protein 7) に 13 SNPs、BST1 (bone marrow stromal antigen 1) に 4 SNPs、CD38 (CD38 antigen) に 10 SNPs、KSP37 (Killer-specific secretory protein, 37-kD) に 6 SNPs、合計で 10 免疫関連遺伝子に 58 個の SNP (表 14: Probe no. #1-#58) を用いて患者 174 人、対照 247 人から成る 1st SET 検体の解析を行った (図 6)。

この結果、58SNPs の内で、WHSC1 の 3SNPs、LRPAP1 の 1SNP と C1QTNF7 の 1SNP の 5SNPs は Hardy-Weinberg 平衡からはずれ、WHSC1 の 2SNPs は single-allele であり、LRPAP1 の 1SNP はタイピングできなかつた。解析可能であった合計 50SNPs のなかで、WHSC1 と WHSC2 の 3SNPs、C1QTNF7 の 2SNPs、の 5SNPs がアレ

ル頻度、あるいは疾患相関アレルの優性モデルか劣性モデルのいずれかにおいて P 値 0.05 未満で有意であった。BST1 の 1SNP は、有意差は認めなかつたものの比較的低い P 値を示した。C_2232232(G/A) SNP は G アレル頻度が対照の 70.98%から患者では 78.25%と増加し P 値は 0.016 で、odds 比(OR)は 1.47 (95%CI; 1.07-2.01)であった。G アレルの優性モデルでは、対照の 90.59%から患者では 97.18%と増加し P 値 0.00714 と有意で odds 比(OR)は 3.57 (95%CI; 1.33-9.55)であった。G アレルの優性モデルでは、有意差は認めなかつた。C_11282796(T/C) SNP は T アレル頻度が対照の 70.20%から患者では 77.68%と増加し P 値は 0.014 で、OR は 1.47 (95%CI; 1.08-2.02)であった。T アレルの優性モデルでは、対照の 90.59%から患者では 97.18%と増加し P 値 0.0071 と有意で OR は 3.57 (95%CI; 1.33-9.55)であった。T アレルの優性モデルでは、有意差は認めなかつた。C_521842(G/A) SNP は G アレル頻度が対照の 74.11%から患者では 82.20%と増加し p 値は 0.0052 で、OR は 1.61 (95%CI; 1.15-2.26)であった。G アレルの優性モデルでは、対照の 92.49%から患者では 99.44%と増加し P 値 0.00076 と有意で OR は 14.291 (95%CI; 1.895-107.771)であった。G アレルの優性モデルでは、有意差は認めなかつた。C_2672499(T/C) SNP は T アレル頻度が対照の 76.27%から患者では 83.62%と増加し P 値は 0.0088 で、OR は 1.58(95%CI; 1.121-2.247)であった。T アレルの優性モデルでは、対照の 92.55%から患者では 98.31%と増加し P 値 0.0074 と有意で OR は 4.66 (95%CI; 1.36-16.02)であった。T アレルの優性モデルでは、有意差は認めなかつた。C_2672540(T/C) SNP は C アレルの劣性モデルにおいて、対照の 9.45%から患者では 16.00%と増加し P 値 0.041 と有意で OR は 1.82 (95%CI; 1.01-3.27)であった。C アレル頻度および C アレルの優性モデルでは、有意差は認めなかつた。C_1223818(T/A) SNP は、有意差は認めなかつたものの、A アレル頻度が対照の 30.02%から患者では 36.16%と増加し P 値は 0.0661 と傾向を示した。また A アレルの劣性モデルでも、対照の 8.24%から患者では 13.56%と増加し P 値 0.0748 と傾向を示した (表 7)。

この有意差を認めた 5SNPs および BST1 の 1SNP の合計 6SNPs で、2nd SET (患者 176 人、対照 369 人) 検体を解析し、1st SET とあわせて合計患者 350 人、対照 616 人で解析したとこ

ろ、3個の SNP で有意差が認められた。SNP C-11282796(T/C)は WHSC2 遺伝子イントロン4 にあり、T アレルが患者では対照の 73.00% から 78.93% へ増加し P 値は 0.00346 で有意差を認め、OR は 1.38 (95%CI; 1.11-1.72)であった。T アレルの優性モデルでは、対照の 94.41% から患者では 98.60% と増加し P 値 0.0014、OR 4.15 (95%CI; 1.61-10.71)で、T アレルの劣勢モデルでも対照の 51.60% から 59.27% へ増加し P 値 0.020、OR 1.36 (1.04-1.77)と共に有意差を認めた。SNP C-521842(G/A)は WHSC2 遺伝子のイントロン1 にあり、G アレル頻度が対照の 75.60% から患者では 81.46% と増加し P 値は 0.0027 で有意差を認め、OR は 1.41 (95%CI; 1.12-1.78)であった。G アレルの優性モデルでは、対照の 94.06% から患者では 96.91% と増加し P 値 0.047 と有意で OR は 1.98 (95%CI; 0.99-3.93)であり、また、G アレルの劣性モデルでも対照の 57.14% から患者では 66.01% と増加し P 値 0.0063、OR 1.45 (95%CI; 1.11-1.909)であった。SNP C-1223818(A/T)は BST1 遺伝子のイントロン1 にある SNP でスプライシングドナーサイトからは 1834 bp、アクセプターサイトからは 347 bp 離れている。1st SET 検体の解析の解析においては、p 値は低値を示したものの有意差は認められない SNP であった。ところが、検体数を増やして解析したところ、A アレル頻度が患者では対照の 30.41% から 35.11% へ増加し P 値は 0.032 で有意差を認め、OR は 1.238 (95%CI; 1.01-1.50)であった。A アレルの劣勢モデルでも P 値 0.0054、OR 1.80 (95%CI; 1.18-2.74)で有意差を認めたが、A アレルの優性モデルでは、有意差は認めなかった (表 8)。

4) WHSC2 領域の詳細な解析:

WHSC2 にはこれまでの解析で SNP C-11282796(T/C)と C-521842(G/A)の二つの SNP が有意差を認めていた。WHSC2 周囲の SNP についてさらに詳細に解析するために新たに 27 SNPs (表 14: Probe no. WHSC1/2-xxxx シリーズ)を設定したが、27 SNPs のなかで解析に利用できた SNP は 8 SNPs だけであった (11 SNPs は多型のない SNP で、8 SNPs は TaqMan probe の合成が成功しなかった)。解析可能であった 8 SNPs に有意差を認めた C-11282796(T/C)と C-521842(G/A)の二つの SNP を加えて、10 SNPs で、解析対象は SLE 患者 350 人に 117 人増やし、また対照は 616 人に 273 人増やして、合計、SLE 患者 467 人、

対照 889 人で患者—対照関連解析を行った。新たに有意差を認めた SNP はなかったが、先の有意差を認めた二つの SNP において、SNP C-11282796(T/C)は、T アレルが患者では対照の 72.07% から 76.86% へ増加し P 値は 0.0069 で有意差を認め、OR は 1.28 (95%CI; 1.07-1.54)であった。T アレルの優性モデルでは、対照の 90.52% から患者では 94.06% と増加し P 値 0.024、OR 1.65 (95%CI; 1.06-2.57)で、T アレルの劣勢モデルでも対照の 53.62% から 59.66% へ増加し P 値 0.032、OR 1.27 (1.02-1.60)と共に有意差を認めた。SNP C-521842(G/A)は、G アレル頻度が対照の 75.81% から患者では 81.61% と増加し P 値は 0.00051 で有意差を認め、OR は 1.41 (95%CI; 1.16-1.72)であった。G アレルの優性モデルでは、対照の 93.33% から患者では 97.04% と増加し P 値 0.0038 と有意で OR は 2.34 (95%CI; 1.29-4.24)であり、また、G アレルの劣性モデルでも対照の 58.29% から患者では 66.17% と増加し P 値 0.0044、OR 1.40 (95%CI; 1.11-1.76)で有意であった。WHSC2 は SLE 感受性候補遺伝子としての可能性が高いと考えられた (表 9、図 7、図 8)。

5) BST1 領域の詳細な解析:

これまでの解析で、BST1 遺伝子の SNP C_1223818(A/T)はイントロン1 に位置する SNP が有意差を認めていた。BST1 遺伝子周囲の SNP についてさらに詳細に解析するために新たに 25 SNPs (表 14: Probe no. BST1-xxxx シリーズ、BST1-009、BST1-019、BST1-022、BST1-023 は既に解析していた SNPs で新規設定 SNP からは外している)を設定した。25 SNPs のなかで解析に利用できた SNP は 17 SNPs であった (7 SNPs は多型のない SNP で、1 SNP はタイピングが成功しなかった)。多型を認めた 17 SNPs に、有意差を認めていた C_1223818(A/T) (表 14: BST1-009)の一つの SNP を加えて、合計 18 SNPs を用いて、SLE 患者 467 人、対照 889 人で患者—対照関連解析を行った。有意差を認めていた C_1223818(A/T)と新たな 5 SNPs の合計 6SNPs で有意差を認めた。C_1223818(A/T)は、A アレルが患者では対照の 30.70% から 35.38% へ増加し P 値は 0.012 で有意差を認め、OR は 1.23 (95%CI; 1.04-1.46)であった。A アレルの劣性モデルでは、対照の 7.74% から患者では 12.50% と増加し P 値 0.00406、OR 1.70 (95%CI; 1.18-2.45)で有意差を認めたが、A アレルの優性モデルでは有意差を認めなかった。BST1 遺伝子のイントロン5 に

存在する IMS-JST078833(A/G)は、G アレルが患者では対照の 56.65%から 61.33%へ増加し P 値は 0.018 で有意差を認め、OR は 1.21 (95%CI; 1.03-1.42)であった。G アレルの劣性モデルでは、対照の 30.16%から患者では 36.02%と増加し P 値 0.02718、OR 1.304 (95%CI; 1.03-1.65)で有意差を認めたが、G アレルの優性モデルでは有意差を認めていない。BST1 遺伝子の下流約 6.5Kb に存在する IMS-JST175825(A/C)は、A アレルが患者では対照の 33.20%から 40.19%へ増加し P 値は 0.00027 で有意差を認め、OR は 1.35 (95%CI; 1.149-1.591)であった。A アレルの優性モデルでは、対照の 55.99%から患者では 64.35%と増加し P 値 0.0027、OR 1.41 (95%CI; 1.12-1.78)で有意差を認めた。また A アレルの劣性モデルにおいても対照の 10.42%から患者では 16.03%と増加し P 値 0.0026、OR 1.64 (95%CI; 1.18-2.27)で有意差を認めた。BST1 遺伝子の下流約 6.8Kb に存在する IMS-JST037558(T/C)は、C アレルが患者では対照の 38.83%から 43.87%へ増加し P 値は 0.010 で有意差を認め、OR は 1.23 (95%CI; 1.05-1.44)であった。C アレルの優性モデルでは、対照の 62.39%から患者では 70.19%と増加し P 値 0.00393、OR 1.41 (95%CI; 1.11-1.80)で有意差を認めたが、C アレルの劣性モデルでは有意差を認めなかった。BST1 遺伝子の下流約 7Kb に存在する IMS-JST037557(A/G)は、G アレルが患者では対照の 63.83%から 67.69%へ増加し P 値は 0.043 で有意差を認め、OR は 1.18 (95%CI; 1.00-1.40)であった。G アレルの劣性モデルでは、対照の 39.93%から患者では 45.76%と増加し P 値 0.0037、OR 1.26 (95%CI; 1.01-1.58)で有意差を認めたが、G アレルの優性モデルでは有意差を認めなかった (表 10、図 9)。C_1223789 (A/T)は、LOC285550 遺伝子の上流約 3.5Kb にあり、BST1 遺伝子からは上流約 24.8Kb に存在する遺伝子間領域に存在する SNP である。この SNP は、アレル頻度および T アレルの優性モデルでは有意差を認めなかったが、T アレルの劣性モデルにおいて、対照の 0.22%から患者では 1.27%と増加し P 値 0.015、OR 5.75 (95%CI; 1.15-28.63)で有意差を認めた。これらの有意差を認めた 6 つの SNP はいずれもイントロンあるいは遺伝子間領域に存在する SNP であるが C_1223789 (A/T)を除く 5 つの SNP は、約 35Kb 以内に集積しており、BST1 も候補遺伝子としての可能性が示唆された。

6) MS#336 近傍に存在する遺伝子の SNP 解

析：

I)1 次スクリーニング：

MS#336 は、KIAA1327 遺伝子のイントロン 8 に位置していたことから、KIAA1327 遺伝子、およびその周囲に存在する 3 遺伝子を候補遺伝子と考え SNP 解析を行った。RAB28 (member RAS oncogene family) 遺伝子に 11SNPs (内 JSNP 3 個)、BAPX1 (bagpipe homeobox homology 1) に 7SNPs (内 JSNP 4 個)、KIAA1327 に 7SNPs (内 JSNP 3 個)、FLJ33215 (hypothetical protein) に 5 SNPs の合計 30 SNPs (表 14 Probe no. #59-#88) について患者 350 人、対照 616 人で患者—対照相関解析を行った。SNP のアレル同定は Applied Biosystems 社の Assays-on-Demand プロダクトおよび JSNP に関しては Assays-by-Design サービスによる TaqMan 法にて行った。しかしながら、これら 30SNPs の内で解析に有用な SNP は僅かに、C_1640220(G/A)、C_1640193(G/A)、C_1640184(G/A)、C_2810330(G/A)、C_2967265(T/G)、の 5 つの SNP と 3 つの JSNP JST002403(G/A)、JST154777(G/A)、JST087232(A/G)の合計 8SNPs のみであった。残りの 22SNPs の内、16SNPs (内 7SNPs は JSNP) は多型性のない単一アレルで、5SNPs は患者における minor allele 頻度が 5%以下の rare allele、また 1SNP はタイピングできないものであった。解析可能であった 8SNPs の内、1st SET 検体の患者 187 人、対照 255 人の解析時点では、BAPX1 遺伝子のイントロン 1 にある JSNP JST002403(A/G)で A アレル頻度が、患者において対照の 53.15%から 57.79%へ増加しており、P 値 0.0453、OR 1.20 (95%CI; 1.00-1.45)で有意差を認めていたが、解析対象数を上記に増やして検討すると、P 値 0.0652 と有意差は認められなくなった。しかしながら、1st SET 検体では認められなかったが、解析対象数を増やすことにより、RAB28 遺伝子内のイントロン 4 に存在する C_1640220(G/A)SNP において、アレル頻度および G アレルの劣性モデルでは有意差は認められないものの、G アレルの優性モデルにおいて、対照の 97.58%から患者では 99.44%と増加し P 値 0.033、OR 4.36 (95%CI; 0.99-19.19)を新たに認めた (表 11、図 10)。

MS#336 は当初、KIAA1327 遺伝子の第 8 イントロンに位置することが報告されていたが、最新のデータベース (build35.1) では KIAA1327 は削除されており、MS#336 は、予測遺伝子 LOC285548 と FLJ33215 の遺伝子間

領域約 38kb のほぼ中間に位置することになった。RAB28 遺伝子は MS[#]336 の比較的近傍に存在する候補遺伝子として選出してきた遺伝子であるが、LOC285548 と FLJ33215 の遺伝子間ゲノム上に存在する MS[#]336 と有意差を認めた RAB28 遺伝子内のイントロン 4 に存在する C_1640220(G/A)SNP は約 179Kb 離れている。また、C_1640220(G/A)SNP は、RAB28 遺伝子のエクソン 4 からは約 55.2Kb、エクソン 5 からは約 24Kb 離れており、特に mRNA のスプライシング等に関与する可能性はないと考えられた。

II) 2 次スクリーニング :

MS[#]336 周囲に存在する SNP をさらに詳細に検討するため、新たに 40 SNPs を追加設定した。解析対象人数も、SLE 患者 467 人、対照 889 人で患者—対照関連解析を行った。新たに設定した 40 SNPs の中で解析可能であったのは 20 SNPs (表 14: Probe no. MS336-xxxx シリーズ) で、4 SNPs は TaqMan probe の合成ができず、また 16 SNPs は多型性のないものであった。解析可能であった新たな 20 SNP に、1st SET 検体の患者 187 人、対照 255 人の解析において有意差を認めた JSNP、JST002403(A/G) (表 14: MS336-038) を加えた合計 21 SNPs で解析を行った。JST002403(A/G) は SLE 患者 467 人、対照 889 人の解析においては、A アレル頻度は対照 53.05%、SLE 患者 55.49% と有意差を認めなかった ($P=0.2231$)。C_2652896(G/T) SNP は、MS[#]336 からは約 320Kb 離れており、予測遺伝子 LOC391634 の上流約 73Kb の遺伝子間領域に存在する SNP であるが、新たに設定した SNP の中ではこの C_2652896(G/T) SNP のみが、G アレルの優性モデルにおいてのみ対照の 17.28% から患者では 21.73% と増加し P 値 0.044、OR 1.32 (95%CI; 1.00-1.75) で弱い有意差を認めた (表 12、図 11)。MS[#]336 周囲の SNP を用いた患者—対照関連解析において、強い相関を示す SNP は認めなかった。また、ハプロタイプ解析で有意差を認めたと仮定しても、MS[#]336 周囲に候補となるような遺伝子は存在しないことを考慮すると、SLE 感受性遺伝子は MS[#]336 周囲には存在しない可能性が示唆される。しかしながら、今回解析できた有用な SNP は非常に少なかったため、これら遺伝子近傍や有意差が認められたマーカー近傍の解析に有用な SNP を独自に探索する必要があると思われた。

7) MS[#]129 近傍に存在する遺伝子の SNP 解析:

MS[#]129 はそのアレル 08 頻度において、対照 10.67% が患者では 6.25% と減少し、P 値は 0.0017 を示したマーカーで、HSA250839 のイントロン 3 に位置している。最近のデータベース (build35.1) では HSA250839 は非受容体型セリン・スレオニンキナーゼをコードする STK32B 遺伝子と再登録されている。STK32B は 12 のエクソンから成り、cDNA の長さは 3224 bp で、414 アミノ酸をコードする遺伝子であるが、ゲノム上では 400Kb を超える遺伝子である。MS[#]129 マーカーはそのほぼ中央に位置しており、周囲 200kb の範囲には STK32B 以外の他の遺伝子はデータベース上登録されていない。STK32B の約 32Kb 上流には免疫関連遺伝子である cytokine-like protein C17 (C17) 遺伝子が存在するが、C17 遺伝子上の 2 つの SNP、C_376560(G/C) SNP および C_376558(T/G) SNP には有意差を認めていない。以上のことを考えると、STK32B の相補鎖側に未知の遺伝子の存在は否定できないが、STK32B 遺伝子は現在のところ MS[#]129 に関連するの唯一の候補遺伝子であると考えられる。MS[#]129 近傍の STK32B 遺伝子内に 50 SNPs を設定した。この内 1 SNP は TaqMan probe の合成ができなかったため、49 SNPs (内 JSNP 8 SNPs) を対象にタイピングを行った。49 SNPs の中で 4 SNPs は多型性のない単一アレルであったため 45 SNPs が解析可能であり、SLE 患者 467 人、対照 889 人で患者—対照関連解析を行った。C_2160652(C/G) SNP は、STK32B 遺伝子イントロン 1 内にあり、スプライシングドナーサイトから約 19.3Kb 離れており、C アレルの優性モデルにおいてのみ対照の 77.74% から患者では 82.98% と増加し P 値 0.022、OR 1.39 (95%CI; 1.04-1.86) で有意差を認めた。C_2160746(A/G) SNP も、STK32B 遺伝子イントロン 1 内にあり、スプライシングアクセプターサイトから約 13Kb 離れており、G アレル頻度が患者では対照の 17.1% から 20.5% へ増加し P 値は 0.029 で有意差を認め、OR は 1.24 (95%CI; 1.02-1.52) であった。G アレルの優性モデルにおいては対照の 30.7% から患者では 36.8% と増加し P 値 0.022、OR 1.31 (95%CI; 1.04-1.66) で有意差を認めたが、G アレルの劣性モデルにおいては有意差を認めなかった。C_2160833(A/G) SNP は、イントロン 3 内にあり、スプライシングドナーサイトから約 46.7Kb 離れている。G アレルの優性モデルにおいてのみ対照の 0.55% から患者では 1.68% と増加し P 値 0.038、OR 3.08 (95%CI; 1.00-9.46) で有意差を認めたが、G アレル頻度および G アレルの劣性モ

デルにおいては有意差を認めなかった。C_2160835(A/C) SNPも、イントロン3内にあり、スプライシングドナーサイトから約48.8Kb離れている。Aアレル頻度においてのみ対照の60.8%から患者では65.0%と増加しP値0.031、OR 1.19 (95%CI; 1.01-1.41)で有意差を認めたが、Aアレルの優性モデルおよび劣性モデルにおいては有意差を認めなかった。C_15939130(A/G) SNPも、イントロン3内にあり、スプライシングドナーサイトから約49.2Kb離れている。Aアレル頻度において対照の61.2%から患者では65.9%と増加しP値0.017、OR 1.22 (95%CI; 1.03-1.44)で有意差を認め、またAアレルの優性モデルにおいても対照の83.4%から患者では88.2%と増加しP値0.017、OR 1.49 (95%CI; 1.07-2.08)で有意差を認めたが、Aアレル劣性モデルにおいては有意差を認めなかった。C_2972041(A/G) SNPは、イントロン4内にあり、スプライシングアクセプターサイトから約4Kb離れている。Gアレルの劣性モデルにおいてのみ対照の76.7%から患者では81.4%と増加しP値0.045、OR 1.32 (95%CI; 1.00-1.75)で有意差を認めたが、Gアレル頻度およびGアレルの優性モデルにおいては有意差を認めなかった。C_2972030(A/G) SNPは、イントロン5内にあり、スプライシングアクセプターサイトから約8.2Kb離れている。Gアレルの優性モデルにおいてのみ対照の96.6%から患者では98.7%と増加しP値0.024、OR 2.66 (95%CI; 1.09-6.43)で有意差を認めたが、Gアレル頻度およびGアレルの劣性モデルにおいては有意差を認めなかった。以上のように、MS#129が存在するSTK32B遺伝子内の七つのSNPに有意差を認めたがいずれもイントロン内のSNPであった。(表13、図12)。

8) 1q21-q23 候補領域の感受性遺伝子の同定: FcRH3の同定

一番染色体長腕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。RIKENとの共同研究により、RAと対照群によるSNP解析により感受性遺伝子の候補として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がRAと最も強く相関し、感受性アレルである-169Cは非感受性アレルである-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NFkappaB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(表A)。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(表B)。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(表A)。これらの結果からFcRH3はRAのみならず、SLE、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、自己抗体産生に関与することが示唆された。

D. 考察

WHSC2は、成長障害、精神発達障害、小脳症、口唇口蓋裂、心臓中隔欠損症などを引き起こす奇形症候群の候補遺伝子として知られている。WHSC2は、その構造において、デルタ肝炎ウイルスのデルタ抗原と類似配列を持っており、RNA転写において、RNA polymerase IIの抑制因子として作用することが報告されている。WHSC2の二つのSNP、C_11282796およびC_521842において、いずれのSNPもそれぞれイントロン4およびイントロン1とイントロンに存在するSNPではあるが、アレル頻度、疾患感受性アレルの優性モデルおよび劣性モデルのいずれの解析においても有意差を認めていることから、SNPの塩基変化がWHSC2自体の発現量などに影響し、自己免疫疾患の発症に関与する遺伝子の転写に関与している可能性も考えられる。

BST1遺伝子のSNP C-1223818(A/T)はBST1遺伝子のイントロン1にあるSNPで、スプライシングドナーサイトからは1834bp、アクセプターサイトからは347bp離れており直接スプライシングに関与する位置ではないが、遺伝子発現に関与する可能性も示唆される。また、IMS-JST078833(A/G)はイントロン5に存在するが、スプライシングアクセプターサイトから8bpしか離れておらずmRNAのスプライシングに影響する可能性は否定できない。IMS-JST175825(A/C) IMS-JST037558(T/C)、IMS-JST037557(A/G)の三つのSNPはいずれもBST1遺伝子の下流10Kb以内に存在するが、イントロンに存在する有意差を認めたC_1223818(A/T)、IMS-JST078833(A/G)の二つ

の SNP を含めた 5 SNPs は BST1 遺伝子を含む 34 Kb の範囲に集積している。BST1 遺伝子は pre-B-cell growth に関与する可能性が報告されており、約 46kb 離れて存在する CD38 遺伝子とアミノ酸配列上相同遺伝子の関係にあることが知られている。また、BST1 遺伝子は、SLE と同じ自己免疫疾患である関節リウマチ患者由来の骨髄間質細胞株において、その発現が増加しているとの報告がある。BST1 遺伝子上のゲノム多型により、BST1 遺伝子の機能や発現量に変化が生じ、このことが SLE 発症に関与している可能性は否定できない。WHSC2 および BST1 領域の解析においては複数の SNP において有意差を認めたが、更なる解析対象および解析 SNP 数の増加とハプロタイプ解析が有用であると思われる。

MS#336 近傍の SNP 解析では RAB28 遺伝子の一つの SNP C_1640220(G/A) で相関を認めたが、MS#336 から約 179k 離れていること、また、RAB28 遺伝子のエクソン 4 からは約 55.2Kb、エクソン 5 からは約 24Kb 離れており、特に mRNA のスプライシング等に関与する可能性は低いこと、P 値が 0.0335 とそれほど低値ではないこと、G アレルの優性モデルだけしか有意差が認められないこと、近傍の SNP では有意差が認められないこと等を考慮すると、RAB28 の候補遺伝子としての可能性は高くないと思われる。また、C_2652896(G/T) SNP も G アレルの優性モデルにおいてのみ極弱い相関をみとめたが、MS#336 からは約 320 Kb 離れ、最も近い遺伝子 LOC391634 の約 73 Kb 上流の遺伝子間領域に存在していることから、MS#336 が直接関与する可能性は低いと思われた。MS#336 自体は、予測遺伝子 LOC285548 と FLJ33215 の遺伝子間領域約 38kb のほぼ中間に位置しており、相補鎖上に未知の遺伝子が存在する可能性は否定できないが、現在のところ MS#336 が直接関与すると考えられる候補遺伝子は存在しないと思われた。

MS#129 近傍の候補遺伝子は現在のところ STK32B のみと思われる。STK32B は非受容体型セリン・スレオニンキナーゼであることから、標的蛋白の活性やシグナル伝達に関与していることが予想され、SLE 発症に関係する可能性が機能上示唆される (図 13)。STK32B 遺伝子内の SNP 解析において、7つの SNP に有意差を認めたが、いずれの SNP もイントロン内にあり、またいずれも mRNA のスプライシングに直接影響

するような位置ではなかった。しかしながら、ゲノム上約 450Kb の範囲で存在する STK32B 遺伝子内には MS#129 も含めると、合計 8 つのマーカーに有意差を認めたことになる。これら有意差を認めたイントロン内の SNP あるいはそれらと連鎖不平衡にある別の SNP が STK32B の発現・機能に関与している可能性は否定できず、更なる詳細な解析が必要と考えられた。

FcRH3 が RA のみならず、SLE、AITD の複数の自己免疫疾患感受性遺伝子であること、さらに、自己抗体産生に関与する現象は興味深く、複数の自己免疫疾患に関与する共通の遺伝子が存在することが示唆された。

E. 結論

1) SLE 多発家系の解析:

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 を行った結果、SLE 感受性遺伝子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 候補領域の SLE 感受性遺伝子の同定: 4p16 候補領域に対して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: 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。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

<論文発表>

1. 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
2. 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
 3. 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
 4. 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
 5. Caron RW, Yacoub A, Li M, Zhu X, Mitchell C, Hong Y, Hawkins W, Sasasuki 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
 6. 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
 7. 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
 8. 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
 9. 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
 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.*, 49:629-634, 2004
 11. 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
 12. 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
 13. 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

14. 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
15. 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
16. 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.
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, 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
19. 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
20. 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
21. 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
22. Klampfer L, Huang J, Corner G, Mariadasin 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
23. 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
24. 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
25. Shirasawa S, Sasazuki T: The impact of oncogenes on tumor maintenance. *Oncogene-Directed Therapies* (Rak JW. Ed., Human Press Inc., Totowa):229-243, 2002
26. Tsunoda T, Inokuchi J, Baba I, Okumura K, Naito S, Sasazuki T, Shirasawa S. A novel mechanism of nuclear factor κ B activation through the binding between inhibitor of nuclear factor- κ B α and the processed NH₂-terminal region of Mig-6. *Cancer Res.* 62(20):5668-5671, 2002
27. 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.
28. 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

<総説・図書一和文>

1. 白澤専二, 笹月健彦. 自己免疫性甲状腺疾患の遺伝要因「よくわかる甲状腺疾患のすべて」: pp316-319 編集: 伴 良雄. 永井書店, 2003