

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（国立国際医療センター・膠原病科・医長）

研究要旨

SLEゲノム解析に用いる血液を収集し、臨床形質を分類した。病態と自己抗体の頻度は、SLE一般における頻度にほぼ一致したので、SLE症例が偏りなく収集され、ゲノム統計解析に適したものと考えられた。

A. 研究目的

ゲノムデータと比較する資料として SLE 症例の臨床形質を分類する。

B. 研究方法

匿名化した症例の臨床形質を記録した。

<倫理面への配慮>

ヒトゲノム研究倫理指針に従った。

C. 研究成果

ゲノム解析計画のための血液採取した97例の、下記の各項目からなる臨床形質を調査分類した（SLE94例、健常同胞3例）。

なお、1例において、ループス腎炎と血小板減少が、プレドニゾン治療で軽快しつつある経過中に広範囲の皮膚血管炎を生じ、同力価のデキサメサゾンに置き換えて軽快した。一般に、ステロイド製剤による有効性に個人差があることはしばしば観察され、遺伝的差異の可能性を暗示するが、本例の結果からは、病態の差が影響する可能性も示唆された。

病態の表現型

ループス腎炎56例（生検実施34、再生検6例／組織型の改善1例）；ループス腎炎例の抗DNA抗体陽性率96%、中枢神経ループス7例、自己免疫性血小板減少30例、自己免疫性溶血性貧血2例、皮膚血管炎3例、間質性肺炎4例、肺高血圧症2例（抗RNP抗体陽性1、不明1）、心筋障害2例、ループス膀胱炎4例。

シェーグレン症候群合併；あり 21、なし 43；合併率 21/64（33%）。

自己抗体

抗DNA抗体；活動期における陽性率；71/83例（86%）。活動期を過ぎてから当院に紹介された症例の多くにおいて、記録が不明であった。抗リン脂質抗体；いずれかの時点での陽性；23/54例（43%）

抗Sm抗体；いずれかの時点での陽性；12/30（40%）、すべて抗RNP抗体陽性

家族歴

自己免疫性疾患の家族歴あり；6例（姉妹にSLEあり；5例、重複算定はせず。この5例中1例は母にRAあり。ほかに姉に自己免疫性肝炎あり；1例）。

D. 考察

ループス腎炎を含む臨床像の各頻度、各種自己抗体の陽性率は、従来のSLE集計とよく一致した。したがって採取した血液サンプルは、SLEという疾患を偏りなく集めたと考えられる。

E. 結論

血液採取した症例集団は、ゲノムの統計解析に適したものと考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

<論文発表>

1. 竹石美智雄，三森明夫，阿達大介，鈴木輝彦：劇症A群連鎖球菌感染症を伴った結節性多発動脈炎の1成人例，リウマチ

42:682-686, 2002

2. Takeishi M, Mimori A, Nakajima K, Mimura T, Suzuki T. Reduction of factor XII in antiphospholipid antibody positive patients with thrombotic events in rheumatology clinic. Clin Rheumatol 22:40-44, 2003
3. 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

<学会発表>

1. 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
2. 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
3. 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-1RNP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
4. 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
5. 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
6. 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
7. 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
8. 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
9. 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

H. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
分担研究報告書

候補遺伝子アプローチによる SLE 疾患感受性遺伝子の探索

土屋 尚之（東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野 助教授）

研究要旨

われわれは、全身性エリテマトーデス(SLE)の疾患感受性遺伝子を見出す目的で、多数の免疫系機能遺伝子を候補遺伝子とした系統的多型スクリーニングと関連解析を施行してきた。平成 14～16 年度の本研究班においては、われわれが世界に先駆けて SLE との関連を報告した *FCGR2B-Ile232Thr* 多型につき、中国、タイ、ヨーロッパ系アメリカ人集団における関連を検討し、232Thr アリルはアジア 3 集団における共通の感受性遺伝子であるが、ヨーロッパ系アメリカ人集団ではアリル頻度が少なく、有意な関連も認められないことから、集団特異的な感受性遺伝子である可能性を示した。また、同様に B 細胞抑制型受容体である *CD72* 多型と SLE における腎症の有無との有意な関連が存在することと、この多型がスプライシング・アイソフォームの量比に関連することを見いだした。このことから、*CD72* 多型がスプライシングに対する影響を介して、SLE 腎症の発症に関連する可能性が示唆された。B 細胞の抑制型受容体である *CD72* 遺伝子の多型解析と関連研究を施行したところ、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、選択的スプライシングの結果細胞外領域の約 40 アミノ酸が変化するアイソフォームの産生増加と関連し、かつ、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、やはり B 細胞の抑制型受容体であり、われわれが過去に SLE との関連を報告した *Fcγ* 受容体 *IIB(FCGR2B)-232Thr* 多型の SLE 発症リスクを、遺伝子間相互作用により有意に減少させることを見出した。また、ミニジーン・アッセイにより、*CD72* 第 8 イントロンに存在する 13 塩基の反復配列と 4 塩基挿入のいずれもがスプライシング効率に関与することを見出した。一方、新たな候補遺伝子として、*BAFF(BLyS, TNFSF13B)* およびその関連分子群の多型解析と関連研究を進め、*APRIL(TNFSF13)-67Arg/Arg* 遺伝子型の SLE における有意な減少を確認するとともに、3'非翻訳領域の SNP(c.*263C>T)と抗 Sm 抗体陽性 SLE との関連を新たに検出した。

A.研究目的

われわれは、機能的および位置的情報をもとに選択した免疫系機能遺伝子を候補遺伝子として、系統的な多型解析と関連研究により、全身性エリテマトーデス(SLE)感受性遺伝子の検出を試みてきた。前年度までに、II 型 TNF 受容体(*TNFR2, TNFRSF1B*)-*Met196Arg*、*CD19-3'* 非翻訳領域 (UTR) *GT* リピート多型、*FcγRIIb-Ile232Thr* と SLE との関連を世界に先駆けて報告してきた。

なかでも、B 細胞の抑制型受容体である *FcγRIIb* は、遺伝子欠損マウスなどの研究から予測された重要な候補遺伝子であり、本研究成果を確立することは、SLE の病因・病態解明上、きわめて重要と思われる。ヒト *Fcγ* 受容体遺伝子群は、互いに高度の相同性を有し、縦列して

存在する複数の *Fcγ* 受容体遺伝子群(*FCGR2A, 2B, 2C, 3A, 3B*)から構成される。機能的多型を有する *2A, 3A, 3B* については、過去にたびたび SLE との関連が報告されている。このために、*FCGR2B* について観察された関連が、他の *FCGR* 遺伝子群との連鎖不平衡による二次的な関連であることを否定する必要がある。

以上の背景のもとに、本研究では、日本人に比較的近い遺伝的背景を持つアジア集団と、日本人と遠い背景のヨーロッパ系アメリカ人集団において、*FCGR2A, 2B, 3A, 3B* の関連解析を行い、*2B* の関連の一義性とその集団特異性を検討した。

また、*FcγRIIB* 同様、B 細胞の抑制型受容体である *CD72* の多型解析と関連研究を、*FcγRIIB* との遺伝子間相互作用を念頭におきつつ解析

し、さらに、CD72 多型の機能についても検討した。

さらに、ヒトおよびマウス SLE において、BAFF (BLyS, TNFSF13B)の機能的重要性が注目されているが、われわれは、BAFF およびその受容体である TACI (TNFRSF13B), BCMA (TNFRSF17)の多型解析とその関連研究を順次進めてきた。本研究班においては、BAFF の活性化型受容体である BAFF-R (TNFRSF13C)および BAFF の類縁分子である APRIL (TNFSF13)について解析した。

このような研究は、SLE の病因・病態解明を介して診断・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礎となるものである。

B.研究方法

タイ (バンコク) および中国 (雲南省) の SLE 患者、対照健常者の *FCGR2A*, *2B*, *3A*, *3B* 遺伝子型を決定し、患者対照法により SLE との関連を検討し、さらに、われわれ自身の過去の日本人集団の結果と合わせてメタアナリシスを施行した。また、米国 Los Angeles にて研究に参加した SLE 患者およびその両親からなる 94 家系につき、*FCGR2A*, *2B*, *3A* 遺伝子型を決定し、transmission/disequilibrium test (TDT)および pedigree disequilibrium test (PDT)を用いて SLE との関連を検討した。*FCGR3B* 欠失ハプロタイプ、重複ハプロタイプの存在のため、*FCGR3B* については TDT, PDT を用いた解析は困難であった。

CD72 の関連解析は、日本人 SLE 患者 160 例、対照健常者 277 例、タイ SLE 患者 87 例、対照健常者 187 例につき、患者対照法で施行した。

末梢血単核球より得た RNA を RT-PCR にて検討し、CD72 のスプライシング・アイソフォームを存在と、その通常型との量比を解析した。

CD72 第 8 イントロン多型と選択的スプライシングとの関連を明らかにするために、第 7 エクソンから第 9 エクソンまでの遺伝子断片を組み込んだミニジーンを作製し、COS-7 細胞に導入し、RT-PCR によりスプライシング産物を解析した。

通常型(common)および選択的スプライシング型(alternatively spliced, AS)アイソフォームの蛋白産物の存在を、両者に相当する cDNA を

COS-7 細胞に導入し、両者に共通する細胞内領域に対する抗体を用いた western blotting により解析した。

BAFF-R, APRIL および TWEAK については、日本人 SLE, 対照健常者を用いた患者対照研究を施行した。また、ヘテロ接合体供血者の末梢血を用いた RNA difference plot (RDP)法により、mRNA 量をアリル特異的に比較した。

(倫理面への配慮)

これらの研究は、東京大学大学院医学系研究科および共同研究施設の研究倫理審査委員会の承認を得た研究計画に従い、匿名化した検体を用いて行われた。

C.研究結果

1) *FCGR2B*

タイ集団においては *FCGR2B*-232Thr, *3B*-NA2 の、中国集団では *2B*-232Thr, *3A*-176Phe の SLE における増加が検出された。日本、タイ、中国集団の結果をメタアナリシスを用いて解析すると、*FCGR2B*-232T アリルの SLE における関連は高度な有意差に到達した (表 1)。二座位解析の結果、*FCGR2B*, *FCGR3A*, *FCGR3B* のいずれもが SLE 発症に寄与する可能性が示唆された。

一方、ヨーロッパ系アメリカ人集団では、*FCGR2B*-232T アリル頻度は少なく、*2B*, *3A* ともに有意な関連は検出できなかったのに対し、*FCGR2A*-131R アリルの有意な関連が検出された (表 2)。

2) *CD72*

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た。これら 4 個所の多型部位は、ほぼ完全な連鎖不平衡により、日本人集団では 2 種の主要ハプロタイプを形成して存在した (図 1)。以後の解析では、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 (表 3)。タイ人集団においても、ほぼ同様の傾向が検出された。

4個所の多型部位のうちの2個所(13塩基反復配列、4塩基欠失)が第8イントロンに位置していたため、これらの多型がスプライシングに影響する可能性を、末梢血単核球を用いたRT-PCR法により解析したところ、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)が検出された。AS型は、通常型アイソフォームにおいてはストップコドンを持つ第8エクソンの欠失により、C末端側42アミノ酸が、新たな49アミノ酸に変化した蛋白をコードすると予測され、実際に蛋白として翻訳されることが、AS型cDNA導入COS-7細胞において確認された(図2)。

次に、遺伝子型とスプライシング効率の関連を検討したところ、腎症抵抗性の²ハプロタイプに、遺伝子量依存的にAS型mRNAが増加することが見出された(図3)。第7エクソンから第9エクソンまでの遺伝子断片導入COS-7細胞を用いたミニジーン・アッセイにより、第8イントロンの13塩基反復配列、4塩基欠失のいずれもがスプライシング効率に影響することが確認された。

最後に、CD72同様B細胞の抑制型受容体であるFcγ受容体IIB(*FCGR2B*)遺伝子において、われわれが昨年度までにSLEとの関連を報告したIle232Thrについて、*CD72*の²アレル陽性例では、*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(表4)。

3) BAFF-R, APRIL

BAFF-Rについては、5個所の変異が検出され、うち2個所が多型の頻度に到達していたが、単独でも、BAFFとの組み合わせにおいても、SLEとの有意な関連は検出されなかった。

APRILについては、翻訳領域に既報の2個所の非同義置換Gly67Arg、Asn96Serが検出され、さらに、プロモータ領域、非翻訳領域、イントロンに計4個所の多型が検出された。67Arg/Arg遺伝子型の有意な減少が観察され、Koyamaら(2003)の報告を独立に確認し得た。臨床病型との関連を検討したところ、抗Sm抗体陽性SLE群において、3'非翻訳領域に位置するc.²⁶³Tの有意な増加が観察された。

TWEAKには6個所の多型部位が検出され、APRIL多型との間に連鎖不平衡が認められたが、SLEとの有意な関連は認められなかった。

APRIL多型とmRNA発現量の関連を検討したところ、c.²⁶³TアレルのmRNA量が、Cアレルに対し有意に増加していた。

D. 考察

FCGR2B-232TアレルとSLEの関連は、日本、タイ、中国集団を通じて検出され、メタアナリシスの結果、高度に有意であったことから、東～東南アジア集団に共通のSLE感受性遺伝子であることが示唆された。これに対し、ヨーロッパ系アメリカ人集団では、このアレルの頻度は少なく、SLEとの関連は検出されず、逆に、アジア集団では頻度が少なく、関連が検出されない*FCGR2A*-131Rアレルの関連が検出された。このように、*FCGR*遺伝子群のSLE遺伝素因における関与は複雑で、集団の遺伝的背景により異なる*FCGR*遺伝子が発症に関連する可能性が示され、アジア集団、日本人集団における独自の研究の重要性が再確認された。

CD72とFcγRIIbはいずれもB細胞受容体(BCR)からのシグナルに抑制的に作用する分子であるが、FcγRIIb活性化のためにはBCRからの陽性シグナルが必要であるため、CD72のAS型アイソフォーム産物がBCR近位においてBCRシグナルを抑制することにより、FcγRIIb多型の効果を消失させる可能性が考えられる。CD72はII型膜結合蛋白であるため、AS型産物では、細胞外領域の42アミノ酸が全く新たな49アミノ酸に置換される。これがリガンドとの結合や細胞における局在に影響し、抑制効果増強する可能性を、現在検討中である。

APRIL-Gly67Arg多型とSLEとの関連は、Koyamaら(九大)によって2003年に報告されている。今回、われわれの研究により、独立に確認されたことにより、日本人集団におけるSLE感受性遺伝子の一つである可能性がきわめて高くなったと考えられる。当該部位は、APRIL分泌時に、切断され、細胞側に残る部分であるために、その機能的意義は不明である。今回、連鎖不平衡の可能性も考え、隣接するTWEAKをも含めた多型解析を行ったが、Gly67Arg自体が第一義的である可能性が高いと考えられた。興味深いことに、Gly67Argとは連鎖不平衡にない3'非翻訳領域のSNPが、mRNA量の増加を介して、抗Sm抗体陽性SLEと有意に関連することが示された。われわれは

以前、BAFF の発現亢進と関連する SNP が抗 Sm 抗体陽性 SLE 群に増加傾向にあることを報告したこととあわせ、BAFF/APRIL 系の自己抗体産生における寄与が示唆された。

本研究は、集団による疾患感受性遺伝子の差違、疾患感受性における転写後修飾と遺伝子多型間相互作用といった、ゲノムネットワークの視点の重要性を示した点で、今後、ポストシークエンス自体の疾患関連研究の一つのモデルを提示したものと考えられる。

E. 結論

FCGR2B-232Thr は東～東南アジア集団共通の SLE 感受性遺伝子であることが強く示唆された。*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が明らかになった。また、日本人集団における APRIL と SLE との関連が確認されたことから、APRIL が日本人 SLE における疾患感受性遺伝子である可能性が強く示唆された。さらに、APRIL 発現増加を伴う多型と、抗 Sm 抗体陽性 SLE との関連が見出され、BAFF/APRIL 系の自己抗体産生における重要性が示唆された。

(研究協力者) 人見祐基、川崎綾、大橋順、徳永勝士(東大人類遺伝)、京極千恵子(Univeiristy of Minnesota)、鈴木毅、河野肇、本田善一郎(東大アレルギーリウマチ内科)、深沢徹、草生真規雄、橋本博史(順天堂大膠原病内科)、村上善則(国立がんセンター研究所)、Bejrachandra S, Siriboonrit U, Chandanayingyong D, Suthipinittharm P (Mahidol University)、Chu ZT, Qian YP, Xu SB, Chu JY (Chinese Academy of Medical Science)、Mao CZ (Kunming Medical College) , Betty P. Tsao (UCLA)

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Sirikong M, Tsuchiya N, Chandanayingyong D, Bejrachandra S, Suthipinittharm P, Luangtrakool K, Srinak D, Thongpradit R, Siriboonrit U, Tokunaga K: Association of *HLA-DRB1*1501-DQB1*0602* haplotype with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Thais. *Tissue Antigens* 59: 113-117, 2002.
2. Kyogoku C, Dijkstra HM, Tsuchiya N, Hatta Y, Kato H, Yamaguchi A, Fukazawa T, Jansen MD, Hashimoto H, van de Winkel JGJ, Kallenberg CGM, Tokunaga K: Association of Fcγ receptor gene polymorphisms in Japanese patients with systemic lupus erythematosus: Contribution of *FCGR2B* to the genetic susceptibility to SLE. *Arthritis Rheum* 46: 1242-1254, 2002.
3. Kuroki K, Tsuchiya N, Tsao BP, Grossman JM, Fukazawa T, Hagiwara K, Kano H, Takazoe M, Iwata T, Hashimoto H, Tokunaga K: Polymorphisms of human CD19 gene: Possible association with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Japanese. *Genes Immun* 3 Suppl 1:S21-30, 2002.
4. Kawasaki A, Tsuchiya N, Fukazawa T, Hashimoto H, Tokunaga K: Analysis on the association of human *BLYS (BAFF, TNFSF13B)* polymorphisms with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Genes Immun* 3: 424-429, 2002.
5. Kyogoku C, Tsuchiya N, Matsuta K, Tokunaga K: Studies on the association of Fcγ receptor IIA, IIB, IIIA and IIIB polymorphisms with rheumatoid arthritis in Japanese: Evidence for a genetic interaction between HLA-DRB1 and FCGR3A. *Genes Immun* 3: 488-493, 2002.
6. Sato M, Ohashi J, Tsuchiya N, Kashiwase K, Ishikawa Y, Arita H, Hanaoka K, Tokunaga K, Yabe T: Association of *HLA-A*3303-B*4403-DRB1*1302* haplotype, but not of *TNFA promoter* and *NKp30* polymorphism, with postherpetic neuralgia (PHN) in the Japanese population. *Genes Immun* 3: 477-481, 2002.
7. Tsuchiya N, Ohashi J, Tokunaga K. Variations in immune response genes and their

- associations with multifactorial immune disorders. *Immunol Rev* 190: 169-181, 2002.
8. Kyogoku C, Tsuchiya N, Shibue T, Tokunaga K, Matsuta K. TNFR2 position 196 polymorphism in Japanese patients with rheumatoid arthritis: comment on the article by Dieudé et al [letter]. *Arthritis Rheum* 48: 273-274, 2003.
 9. Hikami K, Tsuchiya N, Yabe T, Tokunaga K: Variations of human killer cell lectin-like receptors : common occurrence of *NKG2-C* deletion in the general population. *Genes Immun* 4: 160-167, 2003.
 10. 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.
 11. Tsuchiya N, Kobayashi S, Kawasaki A, Kyogoku C, Arimura Y, Yoshida M, Tokunaga K, Hashimoto H: Genetic background of Japanese patients with ANCA-associated vasculitis: Association of *HLA-DRB1*0901* with microscopic polyangiitis. *J Rheumatol* 30:1534-1540, 2003.
 12. 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.
 13. 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.
 14. 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.
 15. 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.
 16. 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.
 17. 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.
 18. 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.
 19. 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.
 20. 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.
 21. 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.
22. 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
1. 土屋尚之、京極千恵子、黒木喜美子、氷上光輝、川崎綾、深沢徹、橋本博史、徳永勝士：全身性エリテマトーデス疾患感受性遺伝子の検討。リウマチ 42: 237, 2002.
 2. 山口晃弘、櫻井大祐、土屋尚之、徳永勝士、山本一彦：慢性関節リウマチ滑膜における特異的発現遺伝子の検討。リウマチ 42: 285, 2002.
 3. 京極千恵子、土屋尚之、松多邦雄、徳永勝士：日本人慢性関節リウマチ患者における Fcγ受容体遺伝子群多型の解析。リウマチ 42: 363, 2002.
 4. 川崎綾、土屋尚之、深沢徹、橋本博史、徳永勝士：BLyS(TNFSF13B)の変異解析と SLE および RA との関連の検討。リウマチ 42: 367, 2002.
 5. 黒木喜美子、土屋尚之、深沢徹、橋本博史、徳永勝士：ヒト CD19 遺伝子 3'非翻訳領域内反復配列多型と日本人 SLE 感受性との関連。リウマチ 42: 367, 2002.
 6. 櫻井大祐、山口晃弘、土屋尚之、山本一彦、徳永勝士：慢性関節リウマチ患者滑膜における *FOSB* 遺伝子の発現。リウマチ 42: 424, 2002.
 7. Sato M, Ohashi J, Tsuchiya N, Kashiwase K, Ishikawa Y, Arita H, Hanaoka K, Tokunaga K, Yabe T: HLA haplotype, A*3303-B*4403-DRB1*1302 associates with postherpetic neuralgia (PHN). *Tissue Antigens* 59 (Suppl): 67, 2002.
 8. Wakui M, Yamaguchi A, Sakurai D, Ogasawara K, Yokochi T, Hatta-Ohashi Y, Karaki S, Kurata K, Nishida N, Suyama A, Ikeda Y, Tsuchiya N, Tokunaga K: Differential display method-based gene expression analysis and development of a novel oligonucleotide array assay in GvHR. *Tissue Antigens* 59 (Suppl): 141, 2002.
 9. Sakurai D, Yamaguchi A, Tsuchiya N, Tsuno N, Okaji Y, Tokunaga K: Induction of proliferation and activation of human endothelial cells by overexpression of *ID* gene. *Arthritis Rheum* 46 (Suppl): S43, 2002.
 10. Kyogoku C, Tsuchiya N, Matsuta K, Shibue T, Tokunaga K: Analyses on the association of Fcγ receptor family and *TNFR2 (TNFRSF1B)* polymorphisms with susceptibility to rheumatoid arthritis in Japanese. *Arthritis Rheum* 46 (Suppl): S98, 2002.
 11. Tsuchiya N, Kobayashi S, Kawasaki A, Kyogoku C, Arimura Y, Yoshida M, Tokunaga K, Hashimoto H: Genetic background of Japanese patients with ANCA-associated vasculitis: Association of *HLA-DRB1*0901* with microscopic polyangiitis. *Arthritis Rheum* 46 (Suppl): S188, 2002.
 12. Siriboonrit U, Kyogoku C, Sirikong M, Tsuchiya N, Bejrachandra S, Suthipinittharm P, Luangtrakool K, Srinak D, Thongpradit R, Chandanayingyong D, Tokunaga K. Association of Fcγ receptor IIB, IIIA and IIIB polymorphisms with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Thais. *Arthritis Rheum* 46 (Suppl): S287, 2002.
 13. Kawasaki A, Tsuchiya N, Fukazawa T, Hashimoto H, Tokunaga K: Studies on the association of human *BLyS (BAFF, TNFSF13B)* and *BAFF-R* polymorphisms with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 46 (Suppl): S288, 2002.
 14. Sakurai D, Yamaguchi A, Tsuchiya N, Tokunaga K: Elevated level of FosB mRNA and FosB/DeltaFosB ratio in the synovial tissues of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 46 (Suppl): S502, 2002.
 15. Kuroki K, Tsuchiya N, Matsuta K, Fukazawa T, Juji T, Hashimoto H, Tokunaga K: Association of Leukocyte Immunoglobulin-like Receptor 1 (LIR1, ILT2, LILRB1)

- polymorphism with susceptibility to rheumatoid arthritis in Japanese. *Arthritis Rheum* 46 (Suppl): S550, 2002.
16. Furuya T, Kotake S, Hakoda M, Ichikawa N, Nanke Y, Yamanishi Y, Kawasaki A, Tsuchiya N, Tokunaga K, Kamatani N: TNFA 5'-flanking region polymorphisms in 84 Japanese patients with myositis. *Arthritis Rheum* 46 (Suppl): S611, 2002.
 17. 京極千恵子、土屋尚之、松多邦雄、渋谷司、徳永勝士：日本人関節リウマチ(RA)における Fcγ受容体ファミリーおよび *TNFR2(TNFRSF1B)* 遺伝子多型の関連研究。日本人類遺伝学会第47回大会(2002年11月13日-15日、名古屋)。P113, 2002.
 18. 黒木喜美子、土屋尚之、松多邦雄、深沢徹、十字猛夫、橋本博史、徳永勝士：Leukocyte immunoglobulin-like receptor 1 (LIR1)多型と日本人関節リウマチ疾患感受性との関連。日本人類遺伝学会第47回大会(2002年11月13日-15日、名古屋)。P115, 2002.
 19. 宮下リサ、土屋尚之、氷上光輝、黒木喜美子、屋部登志雄、徳永勝士：ヒト NKG2-C 遺伝子欠失の分子遺伝学的解析。日本人類遺伝学会第47回大会(2002年11月13日-15日、名古屋)。P141, 2002.
 20. 櫻井大祐、山口晃弘、大槻祐頼、津野寛和、土屋尚之、徳永勝士：ID 遺伝子強制発現による血管内皮細胞の活性化および増殖誘導。日本人類遺伝学会第47回大会(2002年11月13日-15日、名古屋)。P172, 2002.
 21. 宮下リサ、土屋尚之、黒木喜美子、屋部登志雄、徳永勝士：ヒト NKG2-C 遺伝子欠失の分子遺伝学的解析。日本免疫学会総会学術集会記録 32: 136, 2002.
 22. 川崎綾、土屋尚之、松多邦雄、深沢徹、長谷英徳、小端哲二、橋本博史、徳永勝士：BlyS(TNFSF13B), BAFF-R の変異解析と SLE および RA との関連の検討。日本免疫学会総会学術集会記録 32: 210, 2002.
 23. Kyogoku C, Tsuchiya N, Matsuta K, Shibue T, Tokunaga K: Analyses on the association of Fcγ receptor family and *TNFR2(TNFRSF1B)* polymorphisms with susceptibility to rheumatoid arthritis in Japanese. 日本免疫学会総会学術集会記録 32: 298, 2002.
 24. Kuroki K, Tsuchiya N, Matsuta K, Fukazawa T, Juji T, Hashimoto H, Tokunaga K: Association of Leukocyte Immunoglobulin-like Receptor 1 (LIR1, ILT2, LILRB1) polymorphism with susceptibility to rheumatoid arthritis (RA) in Japanese. 日本免疫学会総会学術集会記録 32: 298, 2002.
 25. Sakurai D, Yamaguchi A, Tsuchiya N, Tsuno N, Okaji Y, Tokunaga K: Induction of proliferation and activation of human endothelial cells by overexpression of *ID* gene. 日本免疫学会総会学術集会記録 32: 301, 2002.
 26. 山口晃弘、櫻井大祐、土屋尚之、田中良哉、徳永勝士、山本一彦：関節リウマチにおける follistatin related protein の滑膜線維芽細胞増殖への関与。日本免疫学会総会学術集会記録 32: 298, 2002.
 27. 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)
 28. Sakurai D, Yamaguchi A, Tsuchiya N, Tokunaga K. Induction of proliferation of endothelial cells by overexpression of *ID3* gene. *リウマチ* 43:252, 2003.
 29. 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.
 30. 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.
 31. 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.
 32. 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.

33. 櫻井大祐、土屋尚之、大梶祐頼、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。
34. 櫻井大祐、土屋尚之、山口晃弘、大梶祐頼、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。
35. 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。
36. 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。
37. 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。
38. 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。
39. 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.
40. 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.
41. 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.
42. 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.
43. 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.
44. Kawasaki A, Tsuchiya N, Fukazawa T, Matsuta K, Hase H, Kobata T, Hashimoto H, Tokunaga K. Association of *TAC1* polymorphisms with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 48 (Suppl); S383, 2003.
45. 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.
46. 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.
47. 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.
48. 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.
 49. 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.
 50. 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.
 51. 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.
 52. 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.
 53. 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.
 54. 申栄吉、土屋尚之、櫻井大祐、川崎綾、長谷英徳、大梶祐頼、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.
 55. 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。
 56. 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。
 57. 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。
 58. 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。
 59. 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。
 60. 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。
 61. 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。
 62. 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, Dasnayane 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)。
 63. 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)。
64. 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.
65. 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.
66. 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.
67. 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.
68. 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 3 4 回日本免疫学会 (学術集会記録 p162) , 2004.
69. 黒木喜美子、土屋尚之、白石充典、ラズバラリンダ、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 3 4 回日本免疫学会 (学術集会記録 p162) , 2004.
70. 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 3 4 回日本免疫学会(学術集会記録 p279), 2004.
71. 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
72. 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.
73. 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.
74. 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.
75. 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.
76. 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

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

表1 日本、タイ、中国集団 SLE における FCGR 遺伝子群の関連 (メタアナリシス)

比較	SLE vs controls		腎症合併 SLE vs 非合併 SLE	
	odds ratio (95%CI)	P	odds ratio (95%CI)	P
<i>FCGR2A</i>				
R vs H	1.12 (0.92-1.36)	0.28	1.01 (0.70-1.44)	0.97
RR vs HH	1.10 (0.68-1.78)	0.69	0.93 (0.40-2.14)	0.86
RH vs HH	1.18 (0.91-1.54)	0.22	1.19 (0.44-3.20)	0.73
<i>FCGR2B</i>				
T vs I	1.47 (1.19-1.81)	0.0004	1.39 (0.65-2.97)	0.39
TT vs II	2.45 (1.49-4.02)	0.0004	2.26 (0.54-9.44)	0.26
TI vs II	1.26 (0.95-1.68)	0.11	1.10 (0.41-2.96)	0.85
<i>FCGR3A</i>				
F vs V	1.43 (1.18-1.73)	0.0003	0.87 (0.47-1.61)	0.67
FF vs VV	2.20 (1.36-3.55)	0.001	0.85 (0.30-2.38)	0.76
FV vs VV	1.49 (0.92-2.40)	0.10	1.14 (0.48-2.64)	0.77
<i>FCGR3B</i>				
NA2 vs NA1	1.30 (1.09-1.55)	0.004	1.48 (1.11-1.96)	0.007
NA2/2 vs NA1/1	1.79 (1.22-2.63)	0.002	2.73 (1.41-5.24)	0.003
NA1/2 vs NA1/1	1.23 (0.93-1.62)	0.14	1.09 (0.70-1.69)	0.70

表2 ヨーロッパ系アメリカ人集団における FCGR2A, 2B, 3A 遺伝子と SLE との関連解析

	TDT				PDT	
	T	NT	χ^2	P	χ^2	P
<i>FCGR2A</i>						
131R	49	33	3.12	0.08	8.04	0.005
131H	33	49				
<i>FCGR2B</i>						
232T	18	16	0.12	0.73	2.47	0.12
232I	16	18				
<i>FCGR3A</i>						
176F	29	35	0.56	0.45	1.26	0.26
176V	35	29				

TDT: transmission/disequilibrium test

PDT: pedigree disequilibrium test

T: transmitted, NT: non transmitted

表3 日本人 SLE および健常対照者における CD72 遺伝子型

	全 SLE (n=160)	腎症合併 SLE(n=92)	腎症非合併 SLE (n=65)	健常対照群 (n=277)
遺伝子型頻度				
*1/*1	51 (31.9)	34 (37.0)	16 (24.6)	98 (35.4)
*1/*2	82 (51.3)	47 (51.1)	33 (50.8)	125 (45.1)
*2/*2	27 (16.9)	11 (12.1)	16 (24.6)	54 (19.6)
アリル頻度				
*1	184 (57.5)	115 (62.5)	65 (50.0)	321 (57.8)
*2	136 (42.5)	69 (37.5)	65 (50.0)	233 (42.2)
アリル保有者頻度				
*1	133 (83.1)	81 (88.0)	49 (75.4)	223 (80.5)
*2	109 (68.1)	58 (63.0)	49 (75.4)	179 (64.6)

腎症合併 SLE と腎症非合併 SLE の比較::

遺伝子型頻度: $\chi^2=5.08$, $P=0.024$ (Armitage's test for trend), アリル頻度: $\chi^2=4.87$, $P=0.027$,

*1 アリル陽性率: $\chi^2=4.29$, $P=0.038$.

表4 CD72 と FCGR2B の遺伝子型の組み合わせによる SLE 感受性。

FCGR2B	CD72		
	*1/*1	*1/*2	*2/*2
Thr/Thr	4.63(1.47-14.6)	1.60(0.67-3.86)	1.58(0.32-7.90)
Ile/Thr	0.80(0.41-1.55)	1.33(0.73-2.42)	0.77(0.26-2.34)
Ile/Ile	0.89(0.49-1.61)	0.91(0.52-1.58)	1

日本人集団、タイ人集団におけるデータをメタアナリシスの方法で統合した。表の数値は、FCGR2B-Ile/Ile, CD72 *2/*2 の組み合わせと比較した場合の、各遺伝子型の組み合わせのオッズ比と95%信頼区間である。いずれの集団においても FCGR2B Thr/Thr 遺伝子型は単独で有意な関連を示すが、CD72 遺伝子型と組み合わせた場合、関連は CD72 *1/*1 の存在下においてのみ有意差に到達する。

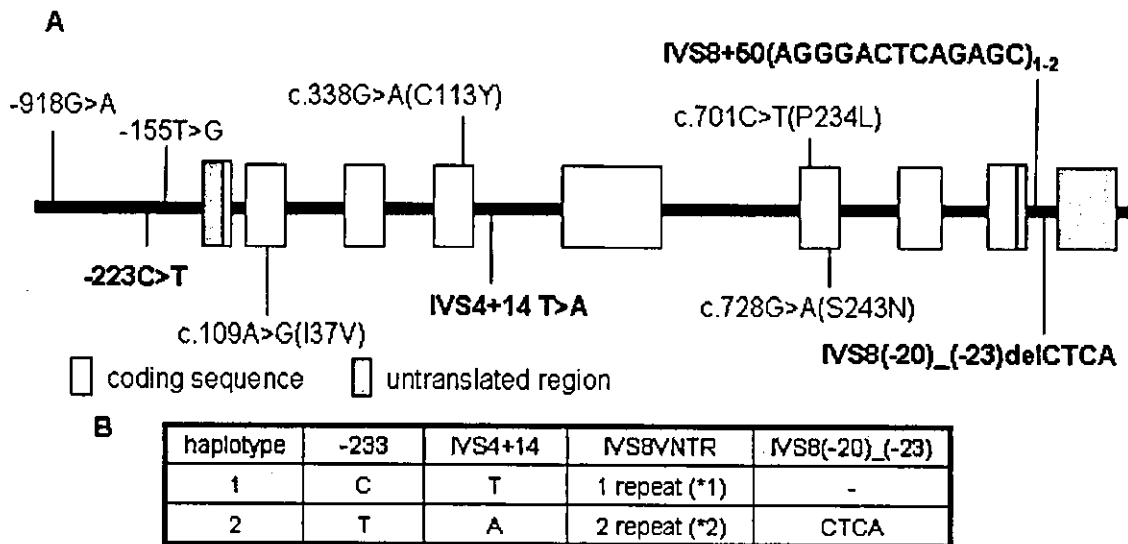


図1 (A) ヒト *CD72* に検出された変異。太字は多型に相当する頻度で認められたもの。
 (B) 4個所の多型部位によって形成されるハプロタイプ。日本人 *CD72* 遺伝子型は、大部分がこの2つの主要ハプロタイプによって説明された。

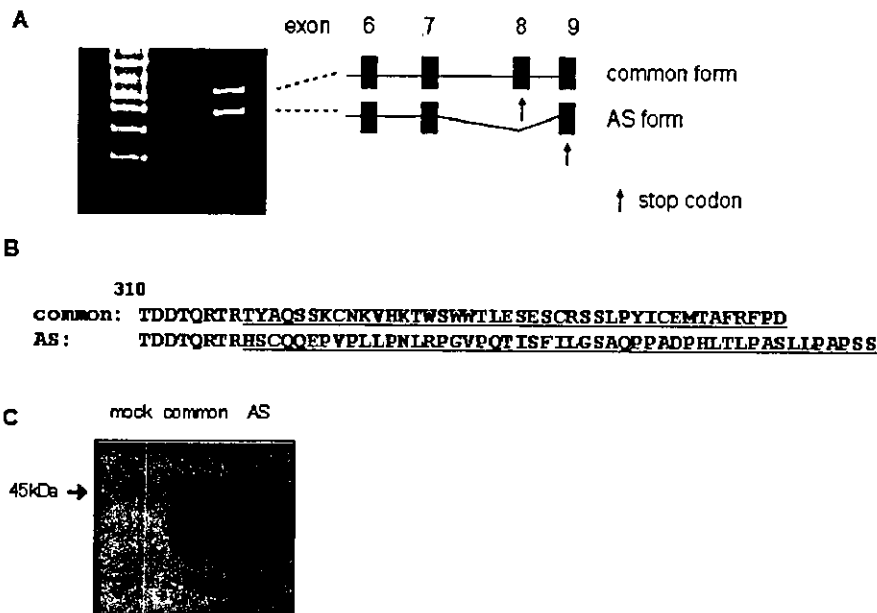


図2 *CD72* に見出された新規のスプライシング・アイソフォーム。(A) ヒト末梢血単核球の由来の RNA を用いた RT-PCR。短い断片の塩基配列決定により、第8エクソンを欠失したアイソフォームであることが確認された。(B) 通常型および第8エクソン欠失型(AS 型)アイソフォームの予測されるアミノ酸配列。置換される部分を下線で示す。(C) 通常型および AS 型 *CD72* cDNA 全長を COS-7 細胞に導入し、細胞質領域を認識する抗体による免疫プロット法で蛋白産物を確認した。それぞれの2本のバンドは、糖鎖修飾の違いによるものと思われる。

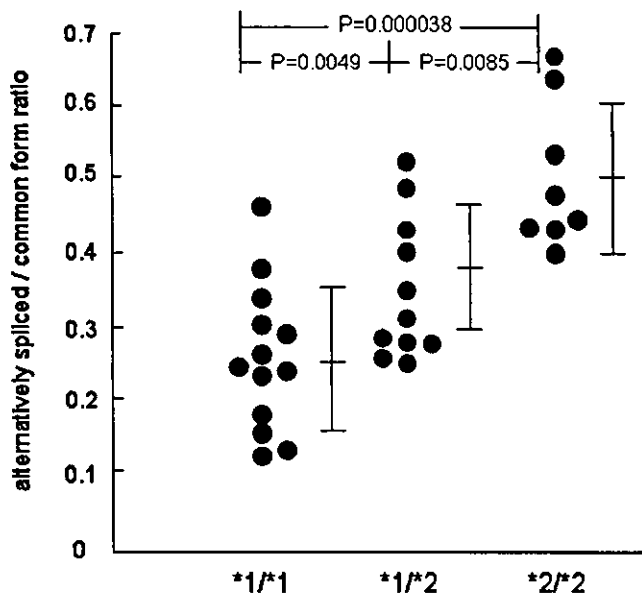


図3 *CD72* 遺伝子型とスプライシング効率の関連。末梢血単核球の RT-PCR により、AS 型/通常型比を算出し、プロットした。

多発家系を用いた自己免疫疾患感受性遺伝子の解明

中村 道子 （東邦大学医学部・精神神経科・助教授）

研究要旨

同胞 4 人中 3 人が SLE または SLE 近縁の自己免疫疾患を発症し、患者の母親と父方祖母がハトコ同士である近親婚の家系がある。その発症同胞について臨床経過及び検査結果について精神医学的に詳細に検討した。また当家系について国立国際医療センターにおいて遺伝子解析プログラム HOMOZ を用いて、homozygous mapping を行ない解析した。この家系での SLE 疾患感受性遺伝子座として 4p15 (D4S403) と 16q13 (D16S503) が考えられた。

A. 研究目的

同胞 4 人中 3 人が SLE または SLE 近縁の自己免疫疾患を発症し、患者の両親が近親婚である大家系が存在する。

平成 14 年度はその患者・家族から検体を収集する事、患者の臨床症状や検査結果の経過に基づき診断を確定する事、全ゲノムスキャンを開始する準備を行った。

平成 15 年度はその発症同胞患者について精神医学的に詳細に検討を行なうことと国立国際医療センターにおいて当家系の遺伝子解析を行うことを目的にした。

平成 16 年度においては家系全体の構成員を面接し、精神医学的検討を行う事を目的の一つにした。また当家系以外の精神症状を呈している SLE および SLE 近縁の自己免疫疾患を発症している患者を精神医学的に面接し、患者の血液を採取し DNA を抽出することを開始した。相当数の患者 DNA を集め、相関研究を行うことを目的にしている。

B. 研究方法

東邦大学医学部倫理指針にのっとり、患者・家族より各々末梢血 30ml を採取し、DNA 解析の為に 15ml を冷凍保存し、国立国際医療センターに送付した。残りの 15ml で種々の自己抗体価を測定した。

患者についてはそれぞれに面接を行い、臨床経過及び検査結果について詳細に精神医学的に検討を行い報告した。またこの家系について国立国際医療センターにおいて、LMS-MD10

(ABI) を用いて genotyping が行われた。遺伝子解析プログラム HOMOZ により、homozygous mapping を行ない解析した。

また当家系以外に SLE または SLE 近縁の自己免疫疾患を発症している患者で精神症状を呈している患者を面接し、同意を得て採血し、DNA を採取した。

C. 研究結果

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

それらの血液において自己抗体や補体について検査を行なった。検査を行なった項目は以下の通りである。；抗核抗体、抗 DNA 抗体、抗 SS-DNAIgM 抗体、抗 DS-DNAIgG 抗体、抗 CL.β2GP1 抗体、カルジオリピン抗体 IgG、抗 RNP 抗体 ELISA、抗 Sm 抗体 ELISA、抗 SS-A 抗体 ELISA、抗 SS-B 抗体 ELISA、ループス AC(APTT)、ループス AC(dRVVT)、抗リボソーム P 抗体、抗サイログロブリン抗体、抗 TPO 抗体、C3、C4、血清補体価、C1Q を測定した。

患者 3 名については臨床症状と検査結果の経過に基づき、詳細に精神医学的に検討し、診断を確定した。

長男は抗リン脂質抗体症候群及び SLE に基づく症状精神病、長女は橋本病及びシェーグレン症候群に基づく症状精神病、次女は深在性ループス (SLE の可能性) を基礎疾患とする産褥期うつ病が最も可能性が高いと考えられた。ただし長男、長女については精神医学的臨床経過

のみの判断では統合失調症にも罹患している可能性は否定できなかった。

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

この家系の9名について400個のマイクロサテライトマーカー(LMS-MD10(ABI))を用いた全ゲノムスキャンが行われた。そして HOMOZ を用いた Homozygous Mapping の結果、LOD スコアが0以上で、長男、長女、次女の3人で Homo のマイクロサテライトマーカーが12存在した。その中で、過去の SLE 連鎖解析3報以上で疾患と相関があるとされた領域は 4p15, 11p15, 16q13, 19q13 であった。さらに、本家系で、ホモアレルを共有している人数が6人以下の領域としては 4p15, 11p15, 16q13 であり、このうち、11p15 は African-American に特有の領域らしいので除外し、この家系での SLE の疾患感受性遺伝子座としては 4p15(D4S403)と 16q13(D16S503)が考えられた。

D. 考察

この家系の同胞は SLE、抗リン脂質抗体症候群、シェーグレン症候群、橋本病、深在性ループスと自己免疫疾患を発症しており、また近親婚の家系である為、この家系を解析することにより、SLE の疾患感受性遺伝子座および自己免疫性疾患に共通の原因遺伝子の解明につながる手掛りを得ることが可能であると考えた。

この自己免疫疾患発症同胞3人は3人ともに精神症状を呈しており、その精神症状について詳しく分析を行った結果、特に長男と長女については統合失調症の罹患も否定できなかった。

国立国際医療センターにおける genotyping の結果、この家系の連鎖候補領域と考えられた12の領域は統合失調症の連鎖候補領域とは異なり、SLE と相関があるとされた領域と主として、重なっていた。そして結果に述べたように、4p15(D4S403)と 16q13(D16S503)がこの家系における SLE の疾患感受性遺伝子座と考えられた。

この結果を受けて、精神症状を呈する SLE および SLE 近縁の自己免疫疾患を発症している患者の血液を採取して、相関研究を行なう必要があると考え、検体の収集を開始した。

E. 結論

近親婚の家系で、同胞発症例である患者・家族9名について400個のマイクロサテライトマーカーを用いて、homozygous-mapping を行なった。その結果、この家系での疾患感受性遺伝子座としては 4p15(D4S403)と 16q13(D16S503)が考えられた。この家系における連鎖候補領域は統合失調症の候補領域とは異なり、この同胞の精神症状は症状精神病の可能性がより濃厚であると考えられた。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

<論文発表>

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

<学会発表>

1. 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
2. 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
3. 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

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表