

200400805A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

ベーチェット病に関する調査研究

平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 金子 史男

平成17年（2005）年 3月

目 次

I 班員名簿	1
--------	---

II 総括研究報告

ベーチェット病に関する調査研究	3
主任研究者 金子史男 (福島県立医科大学医学部皮膚科学)	

III 分担研究報告

ベーチェット病はどのようなルートで日本にもたらされたか	9
分担研究者 猪子英俊 (東海大学医学部分子生命科学系遺伝情報部門)	

ゲノムワイドなマイクロサテライトマッピングによるベーチェット病の原因遺伝子の検索に関する研究	13
分担研究者 水木信久 (横浜市立大学大学院医学研究科視覚器病態学)	

ベーチェット病の細菌感染における免疫反応と細菌の熱ショック蛋白質(HSP)の役割に関する研究	17
分担研究者 小熊恵二 (岡山大学大学院医歯学総合研究科病原細菌学)	

ベーチェット病の皮膚粘膜病変部における熱ショック蛋白質の発現について	22
分担研究者 岩月啓氏 (岡山大学大学院医歯学総合研究科皮膚粘膜結合織学)	

ベーチェット病における連鎖球菌 HSP 由来のペプチドに関する研究	24
分担研究者 小林和人 (福島県立医科大学生体情報伝達研究所生体機能研究部門)	

ベーチェット病における抗菌蛋白質 granulysin の関与についての研究	26
分担研究者 岩月啓氏 (岡山大学大学院医歯学総合研究科皮膚粘膜結合織学)	

ベーチェット病症例における Toll like receptor 9 遺伝子変異・多型の検索	30
研究協力者 佐藤由紀夫 (福島県立医科大学医学部内科学第二講座)	

Behcet 病における IL-12p40 プロモーター領域の遺伝子多型解析	33
分担研究者 金子史男 (福島県立医科大学医学部皮膚科学)	

ベーチェット病の病態形成における Th1 細胞の関与に関する研究	35
分担研究者 鈴木 登 (聖マリアンナ医科大学免疫学・病害動物学)	
ベーチェット病患者末梢血における細胞傷害性 T 細胞の活性化の経時的解析	39
分担研究者 桑名正隆 (慶應義塾大学医学部先端医科学研究所細胞情報研究部門)	
ベーチェット病における血清 IL-8 遺伝子多型	43
分担研究者 中村晃一郎 (福島県立医科大学医学部皮膚科学)	
ぶどう膜炎患者の血清中 soluble CD44 濃度	45
分担研究者 川島秀俊 (さいたま赤十字病院)	
塩基性抗菌蛋白(CAP18/LL37)抗菌ペプチドによるヒト活性化 T 細胞の アポトーシス誘導	51
分担研究者 磯貝恵美子 (北海道医療大学歯学部口腔衛生学)	
ラットエンドトキシン誘発ぶどう膜炎における human cationic antimicrobial protein18 の治療効果	55
分担研究者 大野重昭 (北海道大学大学院医学研究科視覚器病学)	
HO-1 発現誘導によるザイモザン惹起性炎症の抑制—ベーチェット病の治療応用を見据えて—	57
分担研究者 石ヶ坪良明 (横浜市立大学大学院医学研究科病態免疫制御内科学)	
α -メラノサイト刺激ホルモン関連制御性 T 細胞を用いた同種異系網膜移植生着に関する研究	60
分担研究者 大野重昭 (北海道大学大学院医学研究科視覚器病学)	
腸管ベーチェット病の診療実態 —診療ガイドライン作成に向けて—	62
分担研究者 石ヶ坪良明 (横浜市立大学大学院医学研究科病態免疫制御内科学)	
ベーチェット病に対するステロイド使用症例の検討	65
分担研究者 川島秀俊 (さいたま赤十字病院)	
ベーチェット病患者のシクロスポリン感受性に関する研究	70
分担研究者 水木信久 (横浜市立大学大学院医学研究科視覚器病態学)	
ベーチェット病におけるシクロスポリンの治療効果と遺伝的多型性	72
研究協力者 太田正穂 (信州大学医学部法医学)	

ベアチェット病に対する第一選択薬コルヒチン使用中に CK 値の上昇を認めた 5 例	75
分担研究者 川島秀俊 (さいたま赤十字病院)	
ラットエンドトキシン誘発ぶどう膜炎におけるアロニア抽出物の治療効果	79
分担研究者 大野重昭 (北海道大学大学院医学研究科視覚器病学)	
ラットエンドトキシン誘発ぶどう膜炎におけるイチヨウ葉抽出物の治療効果	82
分担研究者 大野重昭 (北海道大学大学院医学研究科視覚器病学)	
ベアチェット病動物モデルを用いた免疫制御療法の標的分子探索	84
分担研究者 小野江和則 (北海道大学遺伝子病制御研究所免疫生物分野)	
ベアチェット病全国疫学調査 一患者数の推計一	89
研究協力者 稲葉 裕 (順天堂大学医学部衛生学)	
ベアチェット病全国疫学調査 一臨床疫学像一	91
研究協力者 稲葉 裕 (順天堂大学医学部衛生学)	
ベアチェット病の症例対照研究に関する研究	95
研究協力者 稲葉 裕 (順天堂大学医学部衛生学)	
ベアチェット病患者の口腔関連 QOL に関する研究	97
研究協力者 福原俊一 (京都大学大学院医学研究科医療疫学)	
IV 研究成果の刊行に関する一覧表	101
V 班会議プログラム	109

I. 班員名簿

ベーチェット病に関する調査研究班

<区分>	<氏名>	<所属>	<職名>
主任研究者	金子 史男	福島県立医科大学医学部皮膚科学	教授
分担研究者	大野 重昭	北海道大学大学院医学研究科視覚器病学分野	教授
	猪子 英俊	東海大学医学部分子生命科学系遺伝情報部門	教授
	小野江 和則	北海道大学遺伝子病制御研究所免疫生物分野	教授
	鈴木 登	聖マリアンナ医科大学免疫学・病害動物学	教授
	磯貝 恵美子	北海道医療大学歯学部口腔衛生学	講師
	桑名 正隆	慶應義塾大学医学部先端医科学研究所細胞情報研究部門	講師
	石ヶ坪 良明	横浜市立大学大学院医学研究科病態免疫制御内科学	教授
	水木 信久	横浜市立大学大学院医学研究科視覚器病態学	教授
	川島 秀俊	さいたま赤十字病院眼科	第二眼科部長
	岩月 啓氏	岡山大学大学院医歯学総合研究科皮膚粘膜結合織学	教授
	小熊 恵二	岡山大学大学院医歯学総合研究科病原細菌学	教授
	小林 和人	福島県立医科大学医学部附属生体情報伝達研究所 生体機能部門	教授
	中村 晃一郎	福島県立医科大学医学部皮膚科学	助教授
	研究協力者	福原 俊一	京都大学大学院医学研究科医療疫学分野
佐藤 由紀夫		福島県立医科大学医学部内科学第二講座	教授
太田 正穂		信州大学医学部法医学	講師
稲葉 裕		順天堂大学医学部衛生学	教授
事務局	尾山 徳孝	福島県立医科大学医学部皮膚科学教室 〒960-1295福島県福島市光が丘1番地 TEL (024) 547-1309 FAX (024) 548-5412 E-mail : bd-re-gr@fmu.ac.jp	講師

II. 総括研究報告

厚生科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総括研究報告書

ベーチェット病に関する調査研究

主任研究者 金子史男 福島県立医科大学医学部皮膚科学講座教授

研究要旨 平成15年度(2003年)に改訂されたベーチェット病診断基準をもとに診断されたベーチェット病(BD)患者の試料を用いて検討を行った。研究方法は前年度を踏襲し、発展させて、BD患者の病因・病態の解析を行うとともに、新しい治療法の開発を試みた。また、疫学調査では一次調査で回答のあった施設を二次調査対象として患者の数、予後、QOL調査の分析を開始した。一方では、口腔内アフタに対するQOL調査についても検討した。

BD患者の発症に関する病因を内因子(責任感受性遺伝子)と引き金となる外因子の面から検討した。地中海沿岸を中心とする中東人、東洋人、日本人のBD患者における内因子としてHLA-B*510101アリルを選び出し、その遺伝子解析から系統樹を作製すると、本症が中東地域に発症し、東方に伝播した可能性が示された。

発症外因子のひとつであるBD患者の口腔内細菌*S.sanguis*は新しい分類では*S.sanguinis*に属する。この菌と関連するheat shock protein (HSP)-65に対して、ヒトホモログHSP-60との6ヶ所の相同部ペプチドはBD患者のT細胞エピトープとも対応し、それらの合成ペプチドを抗原としてBD患者の末梢血単核球(PBMC)を刺激すると、炎症性サイトカインの産生を抑制した。このことから、HSP-60相同部ペプチドはBD患者に免疫寛容を誘導できる可能性を示唆した。

BD病変部およびPBMCには病勢の活動期にはCD8⁺CD69⁺T細胞、CD69⁺γδT細胞が増加し、治療により低下する。BD患者のTh1系反応によるTNF-α、IFN-γは細胞内のSTAT-1を発現させた。また、ケモタキシスレセプターCCR5、CXCR3が亢進していた。

BD患者の樹状細胞(DC)は微生物由来CpG-DNAを加えると細胞増殖を起こし、そのレセプターとしてtoll-like receptor(TLR)-9の関与が示唆された。

腸管型BD患者についての報告は比較的少なく、その診断と治療法については未だ確立されていないため、診療ガイドラインの作成が重要であり、その試案を作成した。

新しい治療への挑戦では経口ステロイド剤使用の見直しと、局所使用として眼内挿入徐放療法の効果とシクロスポリンの感受性に関する遺伝子多型の検討を行った。また、マウスおよびラットの実験的自己免疫性ぶどう膜炎を利用して、その新しい治療法の試みが行われた。

BD患者の疫学調査から2002年に15,000人の患者が受療し、発症年齢は男女とも30才代で、1972年本研究班の調査による発症年齢と比較すると10才高くなっていた。

A. 研究目的

平成 15 年 (2003 年) 度に改訂されたベーチエット病診断基準をもとに、ベーチエット病 (以下 BD と略す) 患者の病勢を見直し、昨年度までの研究方法を踏襲するとともに、発展させ、新しい観点から BD の病因・病態の解析し、治療法の確立を目的とした。

倫理面への配慮：研究推進に先立って、次のことに留意した。病因・病態に関する BD の発症内因子における遺伝子の検索、疫学、患者の予後と QOL 調査に関してはプライバシーの尊重に注意し、趣旨を十分説明した上で協力を求め、秘密は厳守した。BD 患者の検体を利用する場合には目的・方法を本人に説明し、同意を得た上で患者材料を採取して実験に用いた。結果については秘密を厳守した。動物実験では詳細な計画を立て、最小限の動物を用いることとし、動物に余分な苦痛を与えないように注意した。

B. 研究方法

I. BD の病因・病態に関する研究

1. 発症内因子としての疾患責任遺伝子の検索

BD 患者では、HLA-B*51 の近傍領域に疾患感受性遺伝子が存在するとして推定されている。猪子、水木らは昨年度に引き続き、日本人、イラン、トルコ、ヨルダン人の血液から DNA を抽出し HLA タイピングを行って、HLA-A、B、C 遺伝子のハプロタイプを sequence based typing (SBT) 法で決定した。HLA-B*510101 をホモにもつサンプルを選び出し、HLA-B 遺伝子をエクソンのみならずイントロンを含めて解析を進めた。日本人の遺伝子解析では全染色体、全ゲノムを対象として従来の single nucleotide polymorphism (SNP) 法に対してゲノムワイドなマイクロサテライト (MS) において、ゲノム上に散在する塩基単位の反復性 (多型性) について検討するため、BD 患者の pooled DNA を MS マッピング法にて測定した。

2. 発症外因子としての原因検索

1) BD 患者の口腔内では、健康人の細菌叢と異なる *Streptococcus* (S.) 113-20 株が検出頻度が増加している。その多くは新しい分類では *S. oralis* と *S. sanguinis* に分類されたが、昨年度報告書に述べたようにその主

たるものは *S. sanguinis* であった。以後、*S. sanguinis* を用いて BD 病変出現機序について、局所の炎症増強因子 granulysin の発現とともに検討した。

2) *S. sanguinis* 由来熱ショック蛋白 (heat shock protein:HSP) -65 とヒトホモログ HSP-60 の相同性塩基配列部ペプチドは BD 患者の T 細胞エピトープとも 6ヶ所が対応するペプチドであった。この相同部の合成ペプチドを抗原として用いて BD 患者末梢血単核細胞 (PBMC) と健康人 PBMC を刺激し、その反応性について検討を行った。

3. BD 患者の免疫状態の検討

1) BD 患者の T 細胞と樹状細胞 (dendritic cell; DC) の役割については、本症患者の免疫異常を知る上で重要である。しかも、活動期の患者では Th 1 タイプの炎症性サイトカインが過剰に産生されている。すなわち、Th 1 細胞を活性化するアジュバンド作用を示す機序が働いていることから、自然免疫における BD 患者の DC 機能をみるために微生物由来の CpG-DNA に対する反応について検討したところ、BD 患者 PBMC の増殖反応をみた。その結果から、DC の CpG-DNA に対する toll-like-receptor (TLR)-9 の関与について検討するとともに、細胞傷害性 T 細胞の活性の検討を行った。

2) T 細胞の病変部への遊走機序に関して、これまでに BD 患者では PBMC 中に CXCR3 陽性細胞の出現が明らかで、病変部では Th 1 細胞の浸潤が優位な状態になっている。Interleukin (IL)-8 の発現遺伝子多型についても検討した。また、Th 1 細胞からの interferon (IFN)- γ および IP-10 の刺激による細胞内伝達の活性化経路である signal transducer and activator of transcription (STAT)-1 が活性化され、NF κ B の転写活性がみられる。これに関する BD の SNP について検討した。

BD 患者の病変部は Th 1 型サイトカインの発現亢進がみられ、その Th 1 型細胞の遊走に Txk 受容体の発現と TLR-2 および HSP-60 の発現が明らかになっていることから、腸管型 BD 患者の病変部においても

- 同様の変化がみられるかについて検討した。
- 3) BD 患者の血清抗体と補体についても異常が指摘されていることから、血清抗体と補体のマンノース結合レクチン経路の検討とその遺伝子多型性についての検討を行った。
 - 4) 生体内の抗炎症性徴候について

BD 患者病変部には多数の好中球浸潤とそれによって粘膜・表皮細胞の傷害を受けるが、この刺激から低分子の感染防御に重要な cathelicidin family に属する cationic antimicrobial protein (CAP)-18 が発現する。この CAP-18 は *S.sanguinis* に対する強い抗菌作用のあることが明らかにされてきた。この CAP-18 の活性化 T 細胞に対する作用についての抑制効果を検討し、マウスの実験的自己免疫ぶどう膜炎(EAU)に対する作用と BD 患者の治療への応用について検討した。

生体がストレスを受けたときに、heme oxygenase(HO)-1 はヘムを CO とビリベルジン、Fe²⁺に分解し、それぞれの成分は抗酸化作用と抗炎症作用を示す。このため、HO-1 発現の誘導は生体内の自然体を利用した炎症の制御作用になることから HO-1 mRNA の発現を調べ、治療への応用を検討した。

4. 腸管型 BD の診療とそのガイドラインの作成

腸管型 BD は臨床的に他の炎症性腸疾患の鑑別および治療に考慮が必要である。このことから、厚生労働科学研究 難治性炎症性腸疾患に関する調査研究班(主任研究者 日比紀文)における診療ガイドラインを参考に、腸管型 BD における診療ガイドラインの作成を検討した。

II. 新しい治療法へのアプローチ

1. シクロスポリン(CYA)の感受性に関する遺伝子発現の検討
 - 1) シクロスポリン(CYA)の有効性の指標を AUC(area under the curve) 0-12 による AUC-4 と AUC-12 の二点で測定し、BD 患者に対する治療効果の判定を試みた。
 - 2) CYA の代謝に関与する CYP3A4、CYP3A5 の遺伝子多型について検討した。

2. ステロイドの全身投与および局所治療の工夫

従来、経口ステロイド療法は BD 患者に眼発作を誘発するとされ、使用を躊躇する傾向があった。しかし、これまでの報告と治療成績をまとめると他剤との低量併用療法が有効であることから、あらためてその治療効果の評価を試みた。
3. 生体からの反応性に出現する HSP-60 の免疫寛容作用、CAP-18、HO-1、alpha-melanocyte-stimulating hormone (α MSH)による抗炎症作用を利用した治療への応用
4. マウスにおける実験的自己免疫性ぶどう膜炎(EAU)の誘導とその治療について、生物活性因子を用いて試行とその準備を行った。

III. 疫学調査と BD 患者の QOL に関する調査法の検討

疫学調査と患者の予後は 2002 年の調査のまとめと 2003 年 1 月より全国の内科、眼科、皮膚科を有する 20 床以上の医療機関を対象に調査した。一方、BD 患者の口腔内アフタに対する QOL に関しては General Oral Health Assessment Index (GOHAI)をもとに新しい尺度の開発を行った。

C. 研究結果と考察

I. BD の病因・病態について

1. 疾患感受性責任遺伝子(内因子)について
 - 1) 全ての外国人を含む BD 患者の遺伝子 HLA-B*510101 アリルのホモサンプルでは HLA-B51 遺伝子はプロモーター、エクソン 1~7、イントロンの全ての遺伝子領域で塩基配列が一致していることが明らかにされた。この結果から系統樹を作製すると、BD の伝播に関してはその古さから中東諸国から東方に伝播された可能性が強い(猪子)。
 - 2) 日本人の BD 患者のゲノムワイドな MS 法を用いた検索では 1、2、6、17、19 番の 5 本の染色体のスクリーニングで約 10%の陽性率を得た(水木)。
2. 発症外因子について
 - 1) BD 患者口腔内分離菌 *Streptococcus* 113-20 株は新しい分類の *S.sanguinis*(旧 *S.sanguis*)で、その由来の HSP-65 は BD

患者のPBMCからTNF- α 、IL-8の産生を誘導したが、その反応性に出現するヒトHSP-60との相同性の高い領域が6ヶ所存在し、それらの領域ペプチドはBD患者のT細胞のエピトープに対応している。そのことからHSP-60の合成ペプチド(α -HSP-60)を抗原としてBD患者のPBMCを刺激した結果、LO1(p249-264)によってIL-12の産生が増強し、LO2(p480-499)によるTNF- α 、UK(p311-326)によるIL-8産生を抑制した。これらの反応は健常者コントロールに比べても低下していた(小林)。

- 2) BD患者の*S.sanguinis*に対するIgA抗体価は高値であり、またBD患者のPBMCにはIL-12とIFN- γ の強い産生をみた。一方、BD患者の中には*Helicobacter pylori*由来のHSP-60にも高いIgG抗体を有するものがあつた(小熊)。
- 3) BD病変部にはHSP-60の存在が報告されていたが、今回の免疫組織抗体法では皮膚・粘膜病変部にはHSP-60、-70の発現を検出できなかった(岩月)。これはHSP-60が病変形成に直接関与していない可能性を示している。

3. BD病変出現に関与する免疫現象

- 1) BD病変の出現に関してはTh1型の反応が優位であることは、多くの研究者に指摘されている。

鈴木、桑名はBD患者のPBMC、病変部の結節性紅斑様皮疹および腸管型BDの生検組織からHSP-60、Th1細胞の転写因子Txk蛋白の発現について検討した。PBMCおよび病変部にはHSP-60の過剰な発現とIL-12、IFN- γ 、TNF- α の出現およびCCR5、CXCR3の発現の亢進を認めた。一方、BD患者のPBMC中では活動期にはCD3⁺T細胞のうちCD8⁺CD69⁺T細胞が多く、また本来粘膜組織に存在するCD69⁺ γ δ T細胞が増加していることが明らかになった。しかし、CD4⁺CD69⁺T細胞の比率には活動期と非活動期とにおいて変化がみられなかった。このCD69⁺CD8⁺ γ δ T細胞ではその受容体は γ δ 1/ γ δ 2の比が活動期では増加していた。このことから、BD活動期に細胞傷害性のCD8⁺、 γ δ T細胞は病態形成に関与

すると考えられた。

- 2) DCは抗原情報伝達細胞(antigen present cell; APC)として重要な役割を演じている。このAPCを通じて自然免疫の獲得が行われる。既に、BD患者では*S.sanguinis*の抗原性を獲得し、異常な過敏反応を呈することが明らかにされている。しかしながら、この抗原性獲得に関する詳細な機序は不明である。微生物ゲノム中に存在するCpG-DNAは直接哺乳類のB細胞、DC、単球を活性化してTh1型炎症性サイトカインを産生させるアジュバンド効果が明らかになっている。このことからBD患者のPBMCにCpG-DNAを加えて培養したところ、健常人コントロールに比べて過剰な細胞増殖がみられた。すなわち、DCを含むBD患者のPBMCはAPCとしてのTLR-9を介した細胞活性化が行われたことを示唆している(佐藤)。
- 3) BD患者は免疫遺伝学的にHLA-B51を60%以上有するが、この遺伝子と免疫系細胞の反応性との関連については不明の域を出ない。特に、活動期患者ではTh1型サイトカイン産生が増加し優勢であるので、免疫細胞系のIL-12、IFN- γ 産生に重要な領域であるinterferon regulatory factor (IRF)-1とIL-12 p40の発現について、HLA-B51との関連を検討した。その結果、IL-12 p40のalleleはBD患者(n=85)ではallele A:80、allele C:94、健常人ではallele A:66、allele C:64であり、この遺伝子多型はBD患者にやや高い傾向であった。一方、IL-12p40プロモーター領域における多型解析では健常者と比較して統計学的にも明らかな相違がみられた。(小林)。

BD患者の浸潤細胞は単核球のみならず好中球も認められる。この好中球の浸潤機序に関しては、従来よりIL-8をはじめとするケモカイン(CCR5、CXCR3発現)の分泌が指摘されている。また、浸潤しているT細胞、NK細胞による組織の細胞傷害性が活性化されていると推定される。IL-8遺伝子(-353領域)の多型性の検討では、検討例が少ないことから多型性を証明し得なかった。

岩月らは、その浸潤細胞の傷害活性化

の指標として *granulysin* の発現が口腔内アフタ性病変および毛嚢炎部にみられ、CD4⁺T細胞に発現されていることを示した。これらの浸潤細胞活性によって Th 1 細胞系からは TNF- α 、IFN- γ が産生されるが、これにより影響を受けた周辺の細胞では STAT-1 が発現されていることが予想される。また、Th 1 系炎症細胞の局所への遊走には IP-10/CXCL10 の発現も重要である。培養表皮細胞を用いてこれらの発現レベルを観察したところ、やはり STAT-1 の発現、NF κ B 転写活性、さらには IP-10/CXCL10 の発現が亢進していた(中村)。

4) BD 患者の血清内 soluble(s)CD44

CD44 は白血球の表面マーカーである。一般に白血球が活性化され血管遊走、細胞外基質に接着するとその消化産物である sCD44 が血中に上昇してくる。この現象を応用して BD 患者のぶどう膜炎とサルコイドーシスのぶどう膜炎例に比較検討を行ったところ、前者ではほとんど上昇しないが、後者では著明に上昇した。このことから、臨床的に両者のぶどう膜炎を鑑別可能である可能性が示唆された。

5) CAP-18 は好中球、粘膜上皮細胞から分泌される低分子殺菌ペプチドであり、*S.sanguinis* に対する抗菌作用を示す。このたびは合成 CAP-18 を使用して活性リンパ球に対する抑制効果を検討した。CAP-18 を添加すると活性化 T 細胞の断片化がみられ、アポトーシスを呈した。CAP-18 誘導に伴う抗炎症作用について BD の治療への応用性を示した(磯貝)。

大野らはラットのエンドトキシン誘導ぶどう膜炎(EIU)に CAP-18 を投与したところ、EIU 進行の抗炎症効果がみられることを明らかにした。

6) 生体内に存在する抗炎症因子と炎症

HO-1 については、BD 患者の末梢血多核白血球に HO-1 mRNA と HO-1 が発現している。BD では多くの病変部に多数の多核白血球が浸潤する特徴があり、HO-1 の出現は病変形成に何らかの役割を演じている可能性が示唆された(石ヶ坪)。

生体の眼前房内に α MSH が存在し、免疫抑制作用を示すことが知られているこ

とから、大野らは α MSH が自然の抑制反応として作用していることと、治療への応用の可能性を示した。EAU を誘導したマウスでは、シクロオキシゲナーゼ(COX-2)を発現するが、 α MSH の投与によって COX-2 の発現低下が見られた。これにより、 α MSH は抗原特異性制御性 T 細胞を誘導することができる。この T 細胞を用いて、GFP トランスジェニックマウスへの網膜移植片の生着を検討したところ、延長効果がみられた。

4. 腸管型ベーチェット病の診断ガイドライン

BD はしばしば腸管症状を招来するが、その診断と治療指針についてはこれまで詳細に示されていない。一般に不全型 BD に腸管型が起こることが多いが、その治療はサラゾピリン 15-ASA およびステロイド療法が効果的であった(石ヶ坪)。したがって、これまでの報告と症例から診断と治療指針の作成を試みた。

II. 新しい治療開発へのアプローチ

1. BD 患者のぶどう膜炎の治療

BD 患者のぶどう膜炎の調査から、他の疾患では眼サルコイドーシス、原田病に続いて、続発性の緑内障に移行する例が多く、26.9% の患者にみられた。このように、BD 患者のぶどう膜炎の招来は本症の重要な合併症であり、患者の予後と QOL に大きな影響を与える。

1) BD 患者のステロイド療法

これまで BD 患者に対する経口ステロイド療法に関しては、副作用の点からその使用に賛否両論の意見があり、臨床効果について問題を投げかけていた。そのため、ぶどう膜炎に対する眼発作抑制療法としてコルヒチン、CYA などの免疫抑制剤の投与が行われてきた。しかしながら、ステロイド単独長期内服群では、治療前後の眼発作頻度は逆に増加していた。

一方、コルヒチン、CYA で抑制できない難治性 BD には長期に免疫抑制剤と低用量のステロイド薬併用療法(プレドニン 7.5~40mg/day)を行うと眼発作回数を有意に減少し得ることが示された(川島)。また、ステロイドのぶどう膜炎局所に点眼、結膜下注射、後部テノン下注射なども従来行わ

れてきたが、フルオシノロンアセトニド眼内埋植（インプラント）が最近注目されている。すなわち、トリアムシノロン 4mg を硝子体内に注入し、ステロイドの緩徐な放出による抗炎症効果を期待したものである。特に網膜炎、脈絡膜炎への有効性が高く、安全に使用できることが明らかになった。

- 2) CYA は強力な免疫抑制作用による治療効果を期待できるが、その効果には個人差がみられる。CYA の血中効果濃度としてトラフ値が広く利用されているが、CYA 有効例と無効例を薬物動態学的モニタリング法として AUC(area under the curve) 0-12 による AUC-4 と AUC-12 の二点で測定した。用法・用量が同一な症例間では効果の差と AUC-4 値で差がみられたが、薬剤効果がみられない例も AUC-4 低値例がみられたことから、さらに検討が必要である(水木)。

薬剤感受性に関与する遺伝子多型を解析するため、薬物代謝酵素チトクロム p450(CYP)のサブファミリーで CYA の代謝に関与する CYP3A4、CYP3A5 の遺伝子多型について SNP 法で検討した。結果は CYA 感受性患者と非感受性患者とに遺伝子多型の明らかな相違はみられなかった(太田)。

- 3) コルヒチン治療と副作用

BD 患者にとってコルヒチンは第一選択薬であるが、消化器症状などの副作用は知られている。このたびクリアチニン・クリアランス(CK)の上昇とミオパチーを示した副作用があった(川島)。コルヒチンの効果とともに副作用の見直しも必要である。

2. 実験的自己免疫性ぶどう膜炎(EAU)の誘導と治療

大野らはマウスに誘導した EAU 後に出現した制御性 T 細胞を脾臓より抽出し、誘導に用いた抗原として視細胞間レチノイド結合蛋白ペプチド(IRBPp)で T 細胞を活性化した後、EAU 誘導マウスに養子移入した。それによって EAU は養子移入しない群に比べて軽症であった。すなわち、EAU 誘導マウスには脾細胞中に CD4⁺T 抑制細胞が出現し、この作用が関与していたと推定した。

この結果を確認すべく、制御性 CD4⁺T 細胞誘導は前房関連疫偏位(ACAID)機構によるも

のか、 α -MSH が関与しているためか、またメラノマルチン 5 受容体欠損(MC5rKO)に関してその出現について検討した。

そのほか、アロニア抽出物(ACE)には抗酸化作用が知られているところから、ACE の治療効果についても検討した。さらにフラボノイドおよびテンペノイド類を含有するイチヨウ葉エキス(GBE)についても検討を加えた。また、抗酸化剤 N-acetylcysteine (NAC) についても検討した(小野江)。これらの実験から実験マウス EAU 後にはいずれも制御性 CD4⁺T 細胞が出現することが示された。

III. BD の疫学調査と QOL

1. 全国の多施設を対象に、一次調査による BD の患者数の推計と二次調査によって得られた結果から、予後と QOL の分析を行った。その調査から 2002 年 1 年間に 15,000 人の受療した患者が存在するものと推定された。再度 2003 年に調査を開始した。調査の分析から、1972 年時の調査と比較すると、BD 発症年齢は男女とも 30 才代後半で、10 才高くなっていた(稲葉)。

2. BD 患者には口腔内アフタ性潰瘍の出現は必発に近いが、この出現によって摂食・発音など口腔関連機能障害が起きる。患者の日常生活に与える影響は無視できない。このようなことから、口腔内アフタ性潰瘍の出現に対する QOL の研究は大切である。

福原らはその QOL の尺度として GOHAI の日本語版を作製している。BD 患者の口腔内 QOL に関する調査の中間報告では、調査対象となったサブスタディの 32 名(平均年齢 49.5 ± 16.0 才)について、CPITN(community periodontal index for treatment needs)の評価で検定した。この値は GOHAI スコアと SF-8 と正の相関が認められ、口の困りごとと精神面の QOL の間に関連性があることを示唆していた。

III. 分担研究報告

ベーチェット病はどのようなルートで日本にもたらされたか

分担研究者 猪子 英俊 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

研究要旨

ベーチェット病はシルクロード沿いに患者が多く分布することで知られている。そこで、我々は日本人ベーチェット病患者と外国人ベーチェット病患者の遺伝的背景を比較検討し、ベーチェット病がどのようなルートで日本にもたらされたかを明らかにするため、日本、イラン、トルコ、ヨルダンのベーチェット病患者のDNAをもとにHLAタイピングを行い、HLA-B*510101アリルを持つサンプルを選びだした。これらのサンプルについて、マイクロサテライト解析を行ったところ、HLA-B 遺伝子に有意な連鎖不平衡が見られたが、民族による偏りは見られなかった。そこで、long PCR を用いてイントロンも含めた HLA-B 遺伝子の全長とその周囲の塩基配列を比較検討した。その結果、イントロンやプロモーター領域を含む HLA-B 遺伝子の全遺伝子領域が民族にかかわらず完全に一致したが、HLA-B 遺伝子の下流に多型が認められた。これらの結果から系統樹を作成したところ、中東の各国で見られる多型のハプロタイプが最も古いことがわかり、ベーチェット病は中東から東側および西側に分岐して伝播していったと推測された。

A. 研究目的

ベーチェット病の原因遺伝子がHLA-B51自身であることは、これまでの我々の研究で強く示唆されているため、日本人及び外国人のベーチェット病患者の遺伝的背景をHLA領域で比較検討する。

また、比較検討の結果から、ベーチェット病がどのようなルートで日本にもたらされたかを明らかにする。

B. 研究方法

1. 日本、イラン、トルコ、ヨルダンのベーチェット病患者から採取した血液からDNAを抽出した。
2. HLA-A、BおよびC遺伝子のハプロタイプをSequence Based Typing(SBT)法を用いて決定し、HLA-B*510101のサンプルを選びだした。ヘテロのサンプルに関してはTopo XL PCR Cloning Kit(Invitrogen社)を用いてクローニングを行い、HLA-B*510101を含むクローンを選出した。
3. マイクロサテライトの多型解析を行い、遺伝子型の違いや、ハプロタイプの分布を比較検討した。

4. HLA-B 遺伝子をエクソンのみならず、イントロンも含めてdirect sequence法を用いて解析した。

5. 以上の結果を元に系統樹を作成した。(倫理面への配慮)試料提供者には全て遺伝子研究に対する同意を得た上で、採血を行った。

C. 研究結果

HLA-B*510101のサンプルで、HLA遺伝子領域のマイクロサテライト多型を調べたところ、C 1-2-5_212とHLA-C*0102に $\chi^2 = 12.7$ 、 $P=2.88 \times 10^{-3}$ 、C 1-2-5_202とHLA-C*140201の間に $\chi^2 = 26.6$ $P=2.04 \times 10^{-6}$ 、C 1-2-5_188とHLA-C*1602に $\chi^2 = 20.7$ 、 $P=4.29 \times 10^{-5}$ の優位な相関が見られた。

一方、direct sequencing法の結果、HLA-B51遺伝子はプロモーター、エクソン1-7、イントロンの全て遺伝子領域で塩基配列が完全に一致した。しかし、HLA-B51遺伝子のごく近傍の下流領域に7ヶ所の一塩基多型が見つかった。これらの1塩基多型は5つのハプロタイプに分類された。以上の結果をもとに系統樹を作成することが出来た(図1)。

D. 考察

マイクロサテライト多型の解析結果では3つの優位な相関が見られたが、これらの相関は民族に関係なく見られ、日本にどのようなルートでベーチェット病がもたらされるかを推察することは出来なかった。

一方、direct sequencing法を行った結果、民族にかかわらず遺伝子領域の塩基配列がすべて一致したことからHLA-B*510101の起源は一つであると考えられた。また、得られた塩基配列をもとに作成した系統樹から、トルコやイランで見られるハプロタイプがもっともHLA-B*5102などの他のアレルと遺伝距離が近いことがわかる。これは、これらの中東で見られるハプロタイプが古くから現れたハプロタイプであることを示唆している。逆に日本や白人で見られるハプロタイプはB*510101以外のアレルとの遺伝距離が遠いため、比較的新しく現れたハプロタイプと考えられる。

今後は、系統樹の結果より、ベーチェット病がいつ頃日本にもたらされたのか、その年代を検討する。

また、これらのハプロタイプと臨床病型との比較検討を行うことで、新しい治療法の開発や治療方法の選択の際の指針とならるか否かの検討を進めていく。

E. 結論

HLA-B*510101の起源は一つであると考えられた。また、系統樹の結果よりベーチェット病は中東地域から西側と東側に分かれて、伝播していったと考えられた。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Okamoto K, Bahram S, Inoko H, *et al*: Identification of IkbL as the second Major Histocompatibility Complex-Linked susceptibility locus for rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet.* 72: 303-312, 2003.
2. Tsuji H, Tamiya G, Inoko H, *et al*: SLURP-2, a novel member of the human Ly-6 superfamily that is up-regulated in psoriasis vulgaris(small star, filled). *Genomics.* 81: 26-33, 2003.

3. Oka A, Tamiya G, Inoko H, *et al*: Localization of a non-melanoma skin cancer susceptibility region within the major histocompatibility complex by association analysis using microsatellite markers. *Tissue Antigens* 61: 203-210, 2003.

4. Hashiguchi K, Nishikawa T, Inoko H, *et al*: A clinical feature associated with polymorphisms of the TNF region in Japanese patients with palmoplantar pustulosis. *Hum Immunol.* 264: 530-537, 2003.

5. Nomura A, Ohno S, Kimura M, *et al*: Hypekeratosis and leukocytosis in transgenic mice carrying MHC class I chain-related gene b (MICB). *Tissue Antigens* 61: 300-307, 2003.

6. Anzai T, Inoko H, *et al*: Comparative sequencing of human and chimpanzee MHC class I regions unveils insertions/deletions as the major path to genomic divergence. *Proc Nat Acad Sci* 100: 7708-7713, 2003.

7. Taniguchi Y, Inoko H, Kimura M, *et al*: HOXD3 mediates the swithover of cadherin 4 to α 3 integrin gene expression in human erythroleuemia HEL cells. *Biomedical Research* 24: 133-140, 2003.

8. Niizeki H, Inoko H, Hashigucci K, *et al*: Lack of association of the interleukin-1 receptor antagonist gene with palmoplantar pustulosis in Japanese. *European Journal of Immunogenetics* 30: 249-252, 2003.

9. Dunn SD, Inoko H, Kulski JK: Dimorphic Alu element located between the TFIIF and CDSN genes within the major histocompatibility complex. *Electrophoresis* 2003, 24: 2740-2748, 2003.

10. Romphruk AV, Leelayuwat C, Inoko H, *et al*: Corneodesmosin gene: no evidence for PSORS 1 gene in North-eastern Thai psoriasis patients. *Tissue Antigens* 62: 217-224, 2003.

11. Dunn DS, Ota M, Inoko H, Kulski JK: Association of MHC dimorphic Alu insertions with HLA class I and MIC genes in Japanese HLA-B48 haplotypes. *Tissue Antigens* 62: 259-262, 2003.

12. Ikewaki N, Yamada A, Inoko H:

- Depolymerization of actin filament by cytochalasin E induces interleukin8 production and up-regulates CD54 in the Hela epithelial cell line. *Microbiol. Immunol.* 47: 775-783, 2003.
13. Zierhut M, Onoe K, Isogai E, *et al*: Human genome and disease: Immunology and functional genomics of Behcet's disease. *Cell Mol Life Sci* 60: 1903-1922, 2003.
 14. Toda T, Hattori N, Inoko H, *et al*: Toward identification of susceptibility for sporadic Parkinson's disease, *J Neurol* 250: III/40-III/43, 2003.
 15. Takeshima S, Inoko H, Aida T, *et al*: The diversity of bovine MHC class II DRB3 genes in Japanese Black, Japanese Shorthorn, Jersey and Holstein cattle in Japan. *Gene* 316: 111-118, 2003.
 16. Vienne A, Inoko H, Pontarotti P, *et al*: Evolution of the proto-MHC ancestral region: more evidence for the plesiomorphic organisation of human chromosome 9q34 region. *Immunogenetics* 55: 429-436, 2003.
 17. Ando A, Gojobori T, Inoko H, *et al*: Genetic polymorphism of the swine major histocompatibility complex (SLA) class I genes, SLA-1, -2 and -3. *Immunogenetics* 55: 583-593, 2003.
 18. Okamoto K, Tamiya G, Inoko H, *et al*: Identification of NAD(+)-dependent isocitrate dehydrogenase 3 gamma-like (IDH3GL) gene and its genetic polymorphisms. *Gene* 323: 141-148 2003.
 19. Shigenari A, Yasue H, Inoko H, *et al*: Nucleotide sequencing analysis of the swine 433-kb genomic segment located between the non-classical and classical SLA class I gene clusters. *Immunogenetics* 55:695-705, 2004.
 20. Hui J, Tamiya G, Inoko H, *et al*: Identification of two new C4 alleles by DNA sequencing and evidence for a historical recombination of serologically defined C4A and C4B alleles. *Tissue Antigens* 63: 263-269, 2004.
 21. Li S, Naruse T, Inoko H, *et al*: Association of polymorphic MHC microsatellites with GVHD, survival, and leukemia relapse in unrelated hematopoietic stem cell transplant donor/recipient pairs matched at five HLA loci. *Tissue Antigens* 63: 362-368, 2004.
 22. Koishi S, Inomata J, Inoko H, *et al*: Notch4 gene polymorphisms are not associated with autism in Japanese population. *Am J Med Genet* 125B: 61-62, 2004.
 23. Ohtsuka M, Ozato K, Kimura M, *et al*: Rapid screening of a novel arrayed medaka (*Oryzias latipes*) cosmid library. *Mar Biotechnol (NY)* 4: 173-178, 2004.
 24. Hurt P, Inoko H, , Himmelbauer H, *et al*: The genomic sequence and comparative analysis of the rat major histocompatibility complex. *Genome Research* 4: 631-639, 2004.
 25. Imanishi T, Sumio Sugano, *et al*: Integrative Annotation of 21,037 Human Genes Validated by Full-Length cDNA Clones. *PLoS Biology* 2: 1-20, 2004.
 26. Shiina T, Kulski JK, Inoko H, *et al*: Comparative genome analysis of two avian (Quail and Chicken) MHC regions. *J Immunol* 172: 6751-6763, 2004.
 27. Mano S, Tamiya G, Gojobori T, *et al*: Notes on the maximum likelihood estimation of haplotype frequencies. *Annals of Human Genetics* 68: 257-264, 2004.
 28. Ohtsuka M, Inoko H, Kimura M, *et al*: Comparative analysis of a 229 kb medaka genomic region, containing that *zic1* and *zic4* genes, with Fugu, and mouse. *Genomics* 83: 1063-1071, 2004.
 29. Ohtsuka M, Kimura M, Inoko H, *et al*: CHOP: Visualization of 'wobbling' and isolation of highly conserved regions from aligned DNA sequences. *Nucleic Acids Research* 32: W53-W58, 2004.
 30. Shimizu S, Kulski JK, Inoko H, *et al*: MHC class IIB gene sequences and expression in quails (*Coturnix japonica*) selected for high and low antibody responses. *Immunogenetics* 56: 280-191, 2004.
 31. Ohtsuka M, Inoko H, Kimura M, *et al*: Possible roles of *zic1* and *zic4*, identified

within the medaka Double anal fin (Da) locus, in dorsoventral patterning of the trunk-tail region (related to phenotypes of the Da mutant). *Mech Dev* 121: 873-882, 2004.

32. Kulski JK, Anzai T, Shiina T, Inoko H: Rhesus Macaque Class I Duplicon Structures, Organization and Evolution within the Alpha Block of the Major Histocompatibility Complex. *Mol Biol Evol.* 11: 2079-2091, 2004.

33. Niizeki H, Inoko H, Streilein JW, *et al.*: The MICA5.1 allele is not associated with susceptibility to effects of ultraviolet-B radiation on induction of contact hypersensitivity. *J Dermatol Sci.* 35: 221-223, 2004.

34. Matsuzaka Y, Kulski JK, Inoko H, *et al.*: hRDH-E2 gene polymorphisms, variable transcriptional start sites, and psoriasis. *Mamm Genome.* 15: 668-675, 2004.

35. Romphruk AV, Inoko H, Leelayuwat C, *et al.*: Major histocompatibility complex class I chain-related gene A in Thai

psoriasis patients: MICA association as a part of human leukocyte antigen-B-Cw haplotypes. *Tissue Antigens* 63: 547-554, 2004.

36. Farjadian S, Bahram S, Inoko H, *et al.*: Molecular analysis of HLA allele frequencies and haplotypes in Baloch of Iran compared with related populations of Pakistan. *Tissue Antigens* 64: 581-577, 2004.

2.学会発表

XI.International Conference on Behcet's Disease において発表した。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

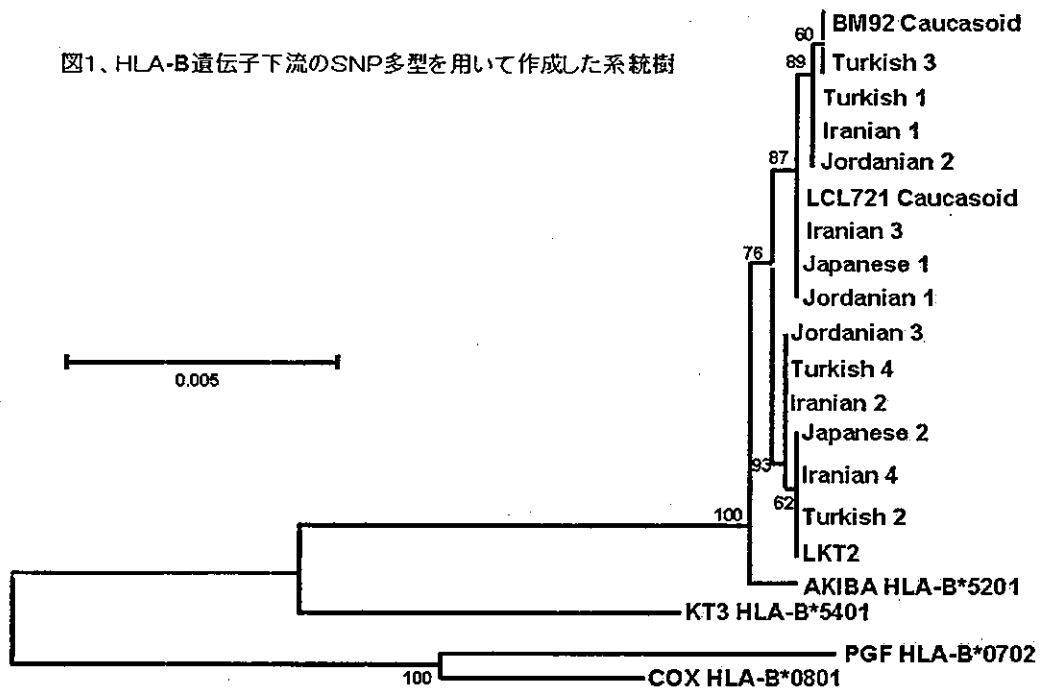
EP 03103543.9、Gene mapping method using microsatellite genetic polymorphism markers

2004-97934、関節リウマチ検査用マーカー遺伝子

2. 実用新案登録

登録はなし

図1、HLA-B遺伝子下流のSNP多型を用いて作成した系統樹



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

ゲノムワイドなマイクロサテライトマッピングによる
ベーチェット病の原因遺伝子の検索に関する研究

分担研究者 水木 信久 横浜市立大学医学部眼科学教室 教授
研究協力者 目黒 明¹⁾ 伊藤良樹¹⁾ 笠井健一郎¹⁾ 伊藤亜紀子¹⁾
伊藤典彦¹⁾ 西田朋美¹⁾ 勝山善彦²⁾ 太田正穂³⁾
竹本裕子⁴⁾ 南場研一⁴⁾ 大野重昭⁴⁾ 岡 晃⁵⁾ 猪子英俊⁵⁾

- 1) 横浜市立大学医学部眼科学 2) 信州大学付属病院薬剤部
3) 信州大学医学部法医学 4) 北海道大学大学院医学研究科視覚器病学
5) 東海大学医学部分子生命科学2

研究要旨 ベーチェット病は人種を超えて HLA-B51 抗原と相関することが知られているが、本病発症には HLA-B51 対立遺伝子以外に他の遺伝子も関与している可能性が示唆される。そこで私達は全ゲノムを網羅する多型性豊富なマイクロサテライト (MS) マーカー約 3 万個を用いて、ゲノムワイドに疾患遺伝子スクリーニングを行うことにより、HLA-B51 以外の本病感受性遺伝子の同定を試みた。現在までに 1 番、2 番、6 番、17 番、19 番の 5 本の染色体について 1 次スクリーニングが終了し、約 10% の陽性マーカーが得られた。今後、他の染色体も解析し、本病の疾患感受性遺伝子のスクリーニングをすすめていく予定である。

A. 研究目的

ベーチェット病は全身の諸臓器に急性の炎症を繰り返す原因不明の難治性疾患である。本病は内的遺伝因子の関与のもとに何らかの外的環境因子が働いて発症すると考えられている。内的遺伝因子として HLA-B51 抗原との顕著な相関が知られている。しかしながら、本病患者の HLA-B51 抗原陽性頻度はどの民族においても 60% 前後であり、残りの 40% 前後は HLA-B51 抗原以外の他の HLA-B 抗原を有している。また、HLA-B51 抗原陽性者はどの民族においても 10-30% で、そのうち本病を発症するのはほんのわずかである。し

たがって、本病発症には HLA-B51 対立遺伝子以外の他の遺伝子も関与する可能性が示唆される。そこで私達は全ゲノムを網羅する多型性豊富なマイクロサテライトマーカー約 3 万個を用いて、ゲノムワイドに全染色体をスクリーニングすることにより、HLA-B51 以外の他の本病感受性遺伝子を同定することを目的としている。

B. 研究方法

疾患感受性遺伝子のスクリーニング法として全ゲノムを対象としたマイクロサテライトマッピング法を用いる。マイクロサテラ

イト (MS) とはゲノム上に散在する数塩基 (2-5 塩基) 単位の反復配列のことで、この反復配列はその反復回数に多型性 (個人差) が存在することが知られている。すなわち、患者群と対照群で各マーカーにおけるアリル分布を比較することにより、疾患感受性遺伝子の存在する位置を正確にマッピングすることが可能である。既に、東海大学分子生命科学遺伝情報部門 (猪子英俊教授) にて、全ゲノムをカバーする多型性豊富な MS マーカー約 3 万個の収集を完了している。したがって、これらの MS マーカーを用いて、全染色体をゲノムワイドにスクリーニングする。

横浜市立大学附属病院眼科、北海道大学附属病院眼科または湯浅眼科にてベーチェット病と診断された本病患者およびベーチェット病友の会で本病として登録された患者の内、かかりつけ医師に病態の確認が取れた 294 人を対象とした。この中から、患者 100 人を抽出して一次スクリーニングを開始した。正確なスクリーニングを行うため、患者群は①完全型、②眼症状有りの不全型、③主症状有りの不全型の①~③の病型のサンプルのみを用いた。患者群の 100 サンプルは全サンプルの病型、性別および B51 陽性頻度の割合を反映するように抽出した。一次スクリーニング用患者群 100 人の内訳は、男性 57 人、女性 43 人、平均発症年齢 33.2 歳、病型分類は完全型 46 人、不全型 54 人であった。B51 陽性者は 56 人であった (図 1)。また、対照群は患者群と性比をマッチングさせた健常人 100 人を用いた。対照群の B51 陽性者は 15 人であった。

文書による同意を得た後、末梢から 20ml を採血した。QIAamp DNA Blood Maxi Kit を使用して DNA を抽出し、PicoGreen 定量キット (PicoGreen dsDNA Quantification

Reagent and Kit 200-2000 assays) を用いて DNA 濃度を定量した。両群ともに各個人個人の DNA 量が均一になるように 100 サンプル分を混合・調整して pooled DNA を作成した。pooled DNA を鋳型として約 3 万個の MS マーカーについて PCR を行った。PCR 産物はキャピラリー式蛍光自動シーケンサー (ABI PRISM 3700 DNA Analyzer) で電気泳動し、波形は GeneScan ソフトウェアにて解析後、MS のアリル分布を決定した。マーカー毎に患者群と健常群のアリル分布を統計学的に解析、疾患遺伝子と相関する陽性マーカーを決定した。統計学的検定は Fisher の直接法による P 値検定を行い、P 値が 0.05 未満を示すマーカーを陽性マーカーとした (一次スクリーニング)。

(倫理面への配慮)

本研究は横浜市立大学倫理委員会にて審査され、承認されたものである。対象患者には研究の目的、研究の期間と方法、予測される効果及び危険性、協力しない場合であっても不利益を受けないこと、研究への参加に同意した場合であっても、随時これを撤回できること等を十分説明し、インフォームドコンセントを得た上で研究に参加して戴いた。得られた個人情報に連結匿名化の上、本研究に関与しない個人情報管理者により厳重に管理されている。

C. 研究結果

ベーチェット病の原因遺伝子の強さ (λ_s) から判断し、本病の疾患感受性遺伝子スクリーニングに必要な患者数は 500 人程度と推察され、それを目標としている。ベーチェット病友の会からのご協力もあり、現在までに総計 374 の患者サンプルを収集した (表 1)。その内、294 サンプルで病型の確認が終了し、274 サン