

KIR2DL2/3はC2エピトープ(Cw1, 3, 7, 8に共通)と結合する。非血縁者間移植では、ドナーと患者のHLA-C型が異なる場合に、このligand結合が外れる症例がある。GVHD方向(ドナーのエフェクター細胞は活性化される組み合わせ)のみの不適合は4.6%の症例、拒絶方向のみの不適合は5.8%の症例、両方向の不適合は0.5%の症例に認められた。

統計解析はCox regression modelsによる多変量解析法を使用し、変数として各HLA型の適合度とKIR ligand適合度、さらに患者・ドナーの年齢、性、性適合、疾患、移植病期、TBIの有無、GVHD予防法などを用いた。

C. 研究結果

1) HLAとKIR ligand適合と急性GVHD発症リスクとの関連(表1)。

HLA-A, B, C不適合に加えて、HLA-DPB1不適合とKIR-L-MMが有意な急性GVHD発症因子であった。

2) HLAとKIR ligand適合度と白血病再発リスクとの関連(表2、3)

HLA-C不適合とDPB1不適合が白血病再発を有意に低下させていた。とくにHLA-Cは急性リンパ性白血病(ALL)で著明で、HLA-DPB1は慢性骨髄性白血病(CML)で著明であった。

KIR-L-MMは白血病再発率を高めていた。急性骨髄性白血病(AML)ではその傾向はなかったが、ALLで著明で、CMLでもその傾向にあった。

3) HLAとKIR ligand適合度と死亡(mortality)のリスクとの関連(表4)

白血病症例で解析すると、HLA-A, B, C

の不適合に加え、KIR-L-MMとHLA-DQB1が有意に生存率を低下させていた。

D. 考察

今年度はHLA-A, B, C, DRB1, DQB1の遺伝子型に、レトロスペクティブにタイピングされたHLA-DPB1型データを加えて解析することができた。さらに、KIR-L-MMも同時に加えた多変量解析を行うことにより、HLAとKIRの影響を同時に解析することができた。

その結果、HLA-C適合度の解析結果がより客観的に明らかになった。第1にHLA-C不適合は抗白血病効果(GVL効果)があること。第2にHLA-C不適合の一部症例に生じるKIR-L-MMは逆に白血病再発を高める。第3には上記1, 2の効果はALLに著明であり、AMLでは有意差がないなど病型により違いがあった。HLA-DPB1不適合でGVL効果が認められたこともはじめての知見であり、CMLでその効果が高かった。

多数症例での多変量解析により、このようにHLA型、KIRとGVL効果との関連が明らかになったことは、GVL効果の機序解明への道が開かれたことを意味している。

KIR-L-MM症例は全症例の数%ではあるが、移植にとり何ら良い影響は与えていない。T細胞除去法を用いない、ATGを用いない非血縁者間移植においてKIR-L-MMドナーは選択すべきではない。KIR ligand適合度と移植成績について海外では、我々が示した成績とは相反する成績、とくに白血病再発と生存の報告が散見されるが、GVHD予防法の違い、不十分なデー

タなど慎重な評価が必要である。

最後に、今年度の本研究の成果は、HLA-C型の検査をドナー登録HLA検査ならびにコーディネートにおける照合検査に必須検査として導入することが不可欠であることを示している。

E. 結論

ドナーと患者の HLA 遺伝子型を本研究班においてレトロスペクティブに同定・解析することにより、組織適合性から見て最適のドナーを選択するための新しい知見、とくに HLA-C と HLA-DPB1、KIR と GVL 効果や生存との関連、を集積することができた。骨髄バンクにおける HLA-C 検査の早期導入を答申することができた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1: Imamura M, Asano S, Harada M, Ikeda Y, Kato K, Kato S, Kawa K, Kojima S, Morishima Y, Morishita Y, Nakahata T, Okamura J, Okamoto S, Shiobara S, Tanimoto M, Tsuchida M, Atsuta Y, Yamamoto K, Tanaka J, Hamajima N, Kodera Y. Current status of hematopoietic cell transplantation for adult patients with hematologic diseases and solid tumors in Japan. *Int J Hematol.* 2006 Feb;83(2):164-78.
- 2: Oshiro A, Tagawa H, Ohshima K, Karube K, Uike N, Tashiro Y, Utsunomiya A, Masuda M, Takasu N, Nakamura S, Morishima Y, Seto M. Identification of subtype-specific genomic alterations in aggressive adult T-cell leukemia/lymphoma. *Blood.* 2006 Feb 16; [Epub ahead of print]
- 3: Demachi-Okamura A, Ito Y, Akatsuka Y, Tsujimura K, Morishima Y, Takahashi T, Kuzushima K. Epstein-Barr virus (EBV) latent membrane protein-1-specific cytotoxic T lymphocytes targeting EBV-carrying natural killer cell malignancies. *Eur J Immunol.* 2006 Mar;36(3):593-602.
- 4: Terakura S, Murata M, Nishida T, Emi N, Akatsuka Y, Morishima Y, Kodera Y, Naoe T. Increased risk for treatment-related mortality after bone marrow transplantation in GSTM1-positive recipients. *Bone Marrow Transplant.* 2006 Feb;37(4):381-6.
- 5: Atsuta Y, Suzuki R, Yamamoto K, Terakura S, Iida H, Kohno A, Naoe T, Yano K, Wakita A, Taji H, Hamaguchi M, Kodera Y, Sao H, Morishima Y, Hamajima N, Morishita Y. Risk and prognostic factors for Japanese patients with chronic graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2006 Feb;37(3):289-96.
- 6: Suzuki T, Matsuo K, Ito H, Hirose K, Wakai K, Saito T, Sato S, Morishima Y, Nakamura S, Ueda R, Tajima K. A past history of gastric ulcers and

- Helicobacter pylori infection increase the risk of gastric malignant lymphoma. *Carcinogenesis*. 2006 Jan 7; [Epub ahead of print]
- 7: Ito Y, Kondo E, Demachi-Okamura A, Akatsuka Y, Tsujimura K, Tanimoto M, Morishima Y, Takahashi T, Kuzushima K. Three immunoproteasome-associated subunits cooperatively generate a cytotoxic T-lymphocyte epitope of Epstein-Barr virus LMP2A by overcoming specific structures resistant to epitope liberation. *J Virol*. 2006 Jan;80(2):883-90.
- 8: Tobinai K, Watanabe T, Ogura M, Morishima Y, Ogawa Y, Ishizawa K, Minami H, Utsunomiya A, Taniwaki M, Terauchi T, Nawano S, Matsusako M, Matsuno Y, Nakamura S, Mori S, Ohashi Y, Hayashi M, Seriu T, Hotta T. Phase II study of oral fludarabine phosphate in relapsed indolent B-Cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol*. 2006 Jan 1;24(1):174-80.
- 9: Kasugai Y, Tagawa H, Kameoka Y, Morishima Y, Nakamura S, Seto M. Identification of CCND3 and BYSL as candidate targets for the 6p21 amplification in diffuse large B-cell lymphoma. *Clin Cancer Res*. 2005 Dec 1;11(23):8265-72.
- 10: Ogawa Y, Hotta T, Tobinai K, Watanabe T, Sasaki Y, Minami H, Morishima Y, Ogura M, Seriu T. Phase I and pharmacokinetic study of oral fludarabine phosphate in relapsed indolent B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol*. 2006 Feb;17(2):330-3.
- 11: Kanda Y, Sakamaki H, Sao H, Okamoto S, Kodera Y, Tanosaki R, Kasai M, Hiraoka A, Takahashi S, Miyawaki S, Kawase T, Morishima Y, Kato S; Japan Marrow Donor Program. Effect of conditioning regimen on the outcome of bone marrow transplantation from an unrelated donor. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2005 Nov;11(11):881-9.
- 12: Shimada K, Yokozawa T, Atsuta Y, Kohno A, Maruyama F, Yano K, Taji H, Kitaori K, Goto S, Iida H, Morishima Y, Kodera Y, Naoe T, Morishita Y. Solid tumors after hematopoietic stem cell transplantation in Japan: incidence, risk factors and prognosis. *Bone Marrow Transplant*. 2005 Jul;36(2):115-21.
- 13: Tagawa H, Suguro M, Tsuzuki S, Matsuo K, Karnan S, Ohshima K, Okamoto M, Morishima Y, Nakamura S, Seto M. Comparison of genome profiles for identification of distinct subgroups of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2005 Sep 1;106(5):1770-7.
- 14: Terakura S, Murata M, Nishida T, Emi N, Akatsuka Y, Riddell SR, Morishima Y, Kodera Y, Naoe T. A UGT2B17-positive donor is a risk factor for higher transplant-related

- mortality and lower survival after bone marrow transplantation. *Br J Haematol.* 2005 Apr;129(2):221-8.
- 15: Imai Y, Chou T, Tobinai K, Tanosaki R, Morishima Y, Ogura M, Shimazaki C, Taniwaki M, Hiraoka A, Tanimoto M, Koike T, Kogawa K, Hirai H, Yoshida T, Tamura K, Kishi K, Hotta T; CliniMACS Study Group. Isolation and transplantation of highly purified autologous peripheral CD34+ progenitor cells: purging efficacy, hematopoietic reconstitution in non-Hodgkin's lymphoma (NHL): results of Japanese phase II study. *Bone Marrow Transplant.* 2005 Mar;35(5):479-87.
- 16: Tagawa H, Karnan S, Suzuki R, Matsuo K, Zhang X, Ota A, Morishima Y, Nakamura S, Seto M. Genome-wide array-based CGH for mantle cell lymphoma: identification of homozygous deletions of the proapoptotic gene BIM. *Oncogene.* 2005 Feb 17;24(8):1348-58.
3. 学会発表
Morishima Y: Clinical significance of HLA alleles and KIR matching in patients transplanted non-T cell depleted marrow from unrelated donor. :Japan Marrow Donor Program. 14th International HLA and Immunogenetics Workshop. Nov. 2005. Melbourne Australia.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

表1. HLA と KIR ligand 適合と急性 GVHD 発症リスク
(Multivariate analysis by Cox regression models)

	A-GVHD (grade 2-4)		A-GVHD (grade 3-4)	
	HR	p	HR	p
KIR ligand mismatch				
GVH vector	1.42	0.005	1.79	<0.001
HVG vector	0.98	0.879	1.24	0.229
Significant HLA allele mismatch				
HLA-A	1.26	0.004	1.38	0.004
HLA-B	1.39	0.004	1.44	0.012
HLA-C	1.32	<0.001	1.51	<0.001
HLA-DPB1	1.38	<0.001	1.24	0.038
Significant clinical factor	Pt. age Donor age Stage of leukemia GVHD prophylaxis		Pt. age Donor age Disease Stage of leukemia GVHD prophylaxis	

表2. HLA と KIR ligand 適合度と白血病再発リスク
(Multivariate analysis by Cox regression models)

	HR	(95% CI)	p
KIR ligand mismatch			
GVH vector	1.66	(1.01-2.71)	0.045
HVG vector	0.72	(0.38-1.31)	0.278
Significant HLA allele mismatch			
HLA-C	0.72	(0.53-0.96)	0.027
HLA-DPB1	0.69	(0.56-0.86)	0.001
Significant clinical factor		Disease Stage of Transplant	

表 3. 白血病病型別リスク

	AML(n=536)		CML(n=627)		ALL(n=657)	
	HR	p	HR	p	HR	p
KIR mismatch						
GVH vector	0.98	0.979	1.99	0.165	2.31	0.025
HVG vector	0.53	0.307	0.53	0.334	1.08	0.852
Significant HLA allele mismatch						
HLA-A		ns	1.97	0.017		ns
HLA-B		ns		ns		ns
HLA-C		ns		ns	0.52	0.007
HLA-DPB1		ns	0.39	<0.001		ns
Significant clinical factor						
	Pt. age Stage*		Pt. age Stage*		Stage*	

* 1st CR or 1st CP versus more advanced stage at transplantation

表 4. HLA と KIR ligand 適合度と死亡(mortality)のリスク
(Multivariate analysis by Cox regression models)

	HR	p
KIR mismatch		
GVH vector	1.66	(1.29-2.13)
HVG vector	1.04	(0.79-1.36)
Significant HLA allele mismatch		
HLA-A	1.37	(1.17-1.58)
HLA-B	1.37	(1.11-1.68)
HLA-C	1.18	(1.01-1.39)
HLA-DQB1	1.27	(1.04-1.55)
Significant clinical factor	Pt. age Donor age Leukemia risk GVHD prophylaxis	

表 5. HLA と KIR ligand 適合のまとめ

	Acute GVHD	Leukemia relapse	Survival
KIR ligand mismatch in GVH vector	↑	↑ ALL	↓
Patient missing KIR ligand	↑→	→	↓
HLA-C mismatch	↑	↓ ALL	↓
HLA-DPB1 mismatch	↑ G2	↓ CML	→

厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学研究ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
分担研究報告書

HLA-DNA タイピングの意義に関する研究

分担研究者 笹月健彦（国立国際医療センター）

分担研究者 森島泰雄（愛知県がんセンター）

研究協力者 山本 健（九州大学）

研究要旨

非血縁者間骨髄移植における HLA-DNA マッチングの意義を詳細に解析することを目的として、これまでに移植を施行された 2423 症例について、HLA-クラス I および II 遺伝子座マッチングと急性 GvHD 発症、白血病再発、生存について多変量解析を実施した。その結果、急性 GvHD 発症については、従来報告した結果と同様に、HLA-A, B, C 遺伝子座のミスマッチが危険因子として採択され、また、新たに、DPB1 座のミスマッチが軽度-中等度の GvHD 発症について危険因子となることが明らかとなった。また、HLA-C 座および DPB1 座のミスマッチが白血病再発を抑制する傾向を示した。さらに生存については、クラス I 遺伝子座 (A, B, C) に加え、新たに DQB1 座のミスマッチが有意な危険因子として採択された。

A. 研究目的

HLA クラス I (A, B, C 座) および II (DRB1, DQB1, DPB1 座) の DNA レベルでのマッチングが、急性 GvHD 発症や白血病再発、生存におよぼす影響を多変量解析により検討する。

例、FK506+Thymocyte 抗体によるものが 259 例であった。また多変量解析には、HLA マッチングのほか、患者年齢、ドナー年齢、性、性別のマッチング、GvHD 予防法、Total body irradiation の有無、疾患、白血病リスク（移植時病期）などの因子も加えた。

B. 研究方法

これまでに本研究班において上記 HLA クラス I、II 遺伝子座のタイピングが終了した 2423 症例を対象とした。患者の平均年齢は 25 歳 (0-59 歳)、ドナーの平均年齢は 35 歳 (20-52 歳)、患者の疾患内訳は、急性骨髄性白血病 602 例、急性リンパ性白血病 658 例、慢性骨髄性白血病 627 例、骨髄異形成症候群 204 例、再生不良性貧血 173 例、悪性リンパ腫 97 例、ホジキン病 62 例であり、GvHD 予防法は、CsA ベースが 1563 例、FK506 ベースが 601

C. 研究結果

1) HLA-DNA マッチング

2423 症例において、ドナーとの DNA 型ミスマッチが、A, B, C, DRB1, DQB1, DPB1 遺伝子座について、それぞれ、19%、9%、34%、21%、24%、75%に認められた。血清学的に A, B, DR がマッチしているペアであるため、A, B, DRB1 および DRB1 と強い連鎖不平衡にある DQB1 においては 10-20% のミスマッチであったが、C 座、特に DPB1 座においては高頻

度でミスマッチを認めた。

2) 急性 GvHD

急性重症 GvHD では、これまでの結果と同様に HLA-A, B, C のミスマッチが危険因子として採択された (HR がそれぞれ、1.36 (P=0.007)、1.44 (P=0.011)、1.75 (P<0.001))。さらに新しく DPB1 のミスマッチが危険因子として同定された (HR、1.25 (P=0.036))。DPB1 のミスマッチは、Kaplan-Meier の推定曲線によって、P=0.01 の有意差をもって危険因子となることが確認された。さらに DPB1 のミスマッチは軽症 GvHD においてより強い危険因子となることが示唆された (HR、1.38 (P<0.001))。

3) 白血病再発

これまで、HLA-DNA ミスマッチと GvL 効果、および白血病再発抑制効果については不明であった。今回の多変量解析では、C および DPB1 座ミスマッチが有意に再発率を下げる影響を与えることが示唆された。C ミスマッチでは、HR が 0.72 (P=0.013)、DPB1 ミスマッチでは HR が 0.70 (P=0.001) であった。また、C ミスマッチは ALL において、DPB1 ミスマッチは CML においてより強い抑制効果を示した。

4) 生存

これまでの報告と同様に、A, B, C 座ミスマッチが生存に関して有意な危険因子となることが明らかとなった (HR がそれぞれ、1.36 (P<0.001)、1.39 (P=0.002)、1.30 (P<0.001))。さらに今回新しく、DQB1 ミスマッチが有意な危険因子として同定された (HR : 1.25 (P=0.027))。

D. 考察

日本人においては、クラス I 遺伝子座のミスマッチが急性 GvHD 発症や生存について危険因子となることがこれまで示されていた。本解析において

もこれらの結果が確認され、クラス I 遺伝子座の重要性が確認された。また DPB1 ミスマッチが GvHD 特に軽症例の危険因子となることが示され、生存に影響を与えるという結果は示されなかったものの、生存を含めた今後のさらなる解析を実施し、重要な危険因子となるか否かを結論付ける必要がある。今回新しく白血病再発に関して、C や DPB1 座のミスマッチがむしろ抑制的に影響することが示唆された。これについては、GvL 誘導による抑制効果が想定されるが、今後の遺伝学的な確認がまず必要である。生存については今回新たに DQB1 ミスマッチが危険因子となることが示された。DRB1 は DQB1 と強い連鎖不平衡にあるものの危険因子として同定されなかったことから、DQB1 の対立遺伝子レベルでの解析が必要となる。DQB1 のみがミスマッチとなる症例は少数であり、症例の集積が待たれる。

E. 結論

非血縁者間骨髄移植における HLA-DNA マッチングの影響を解析し、1) HLA-A, B, C, DPB1 ミスマッチが急性 GvHD の危険因子となること、2) HLA-C, DPB1 ミスマッチが白血病再発に抑制的な影響を与える可能性があること、3) A, B, C, DQB1 ミスマッチが生存の危険因子となること、などが示された。

F. 健康危険情報

特に無し

F. 研究発表

論文発表

Marsh SG, Albert ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B, Erlich HA, Geraghty DE, Hansen JA, Hurley CK, Mach B, Mayr WR, Parham P, Petersdorf

EW, Sasazuki T, Schreuder GM, Strominger JL, Svejgaard A, Terasaki PI, Trowsdale J. Nomenclature for Factors of the HLA System, 2004. **Hum Immunol.** 2005 May; 66 (5): 571-636.

Marsh SG, Albert ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B, Erlich HA, Geraghty DE, Hansen JA, Hurley CK, Mach B, Mayr WR, Parham P, Petersdorf EW, Sasazuki T, Schreuder GM, Strominger JL, Svejgaard A, Terasaki PI, Trowsdale J. Nomenclature for factors of the HLA system, 2004. **Tissue Antigens.** 2005 Apr; 65 (4): 301-369.

Marsh SG, Albert ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B, Erlich HA, Geraghty DE, Hansen JA, Hurley CK, Mach B, Mayr WR, Parham P, Petersdorf EW, Sasazuki T, Schreuder GM, Strominger JL, Svejgaard A, Terasaki PI, Trowsdale J. Nomenclature for factors of the HLA system, 2004. **Int J Immunogenet.** 2005 Apr; 32 (2): 107-159.

Kochi Y, Yamada R, Suzuki A, Harley JB, Shirasawa S, Sawada T, Bae SC, Tokuhira 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 FCRL3, encoding Fc receptor-like 3, is associated with rheumatoid arthritis and several autoimmunities. **Nat Genet.** 2005 May; 37 (5): 478-485.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究報告書

非血縁者間骨髄移植におけるゲノムワイドなマイナー組織適合遺伝子の検索に関する研究

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

研究協力者 鬼塚 真仁 東海大学医学部内科学系血液内科学

研究協力者 菊地 智樹 札幌医科大学病理学

研究協力者 李 素雲 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

研究要旨

我々は HLA 以外に造血幹細胞移植に影響する遺伝子多型に関して、主にマイクロサテライトマーカーを用いた解析を行ってきた。今回、重症 GVHD 発症に関するマイクロサテライトマーカーを用いた解析として、22番染色体に対するゲノムワイドな解析と HLA 類似構造を持つ候補遺伝子に対する遺伝子多型解析を行った。また、移植後合併症として致死率の高い肺合併症の発症に関してドナーおよびレシピエントの ACE 遺伝子多型が関与していることを示した。

A. 研究目的

造血幹細胞移植の成否に最も重要な因子として HLA の一致度があげられるが、HLA haplo-identical な同胞間移植であっても、ときに重篤な移植後合併症を経験する。我々は HLA 以外の移植関連遺伝子多型性として、マイナー組織適合抗原およびサイトカイン・ケモカインなどの移植後免疫応答に深く関わるタンパクの遺伝子多型性により、移植経過が左右されるかどうかを検討している。

B. 研究方法

ゲノムワイドなマイクロサテライトマーカーによる多型解析; 遺伝子配列の中に2塩基~6塩基程度の短い反復配列で散在するマイクロサテライト配列は高度な多型性を示し、全ゲノム中約120万個存在する。我々の教室ではこ

のマイクロサテライトマーカーを約 30,000 個(1個/100kb) 収集・設定するプロジェクトを完了させており、全染色体にマイクロサテライトマーカーを配置したゲノムワイドな遺伝的相関解析を可能とした。このマイクロサテライトマーカーを利用して、疾患遺伝子座周辺で距離に依存した一様な連鎖不平衡パターンを期待し、GVHD 発症と関連して有意差を示したマーカー近傍に目的とする原因遺伝子の存在を予測した。今年度の研究では22番染色体に約200のマイクロサテライトマーカーを設定し検討した。対象症例は、HLA 6 抗原一致の GVHD 非発症群として Grade 0 症例 40 症例と Grade III to IV 症例 30 症例を対象としてマイクロサテライト多型を解析した。HLA 類似遺伝子のマイクロサテライトマーカーによる多型解析; *CD1a*, *CD1b*, *CD1c*, *CD1d*,

CD1e, MR1, AZGP1, FCGRT, LILRA1, LILRB1, EPCR, RAET1E~*N*といった構造上 HLA に類似した遺伝子についてマイクロサテライトマーカーを用い、ドナー・レシピエント間の多型の相違を検討した。対象症例は急性 GVHD Grade 0 to I 症例 200 例と Grade II to IV 症例 150 症例を対象として解析を行った。

移植後肺合併症と遺伝子多型性について；肺合併症の発症の背景として炎症性サイトカイン・ケモカインの関与が認められていることから、HLA 一致の同胞間造血幹細胞移植症例において、これらの遺伝子プロモーター領域の多型と肺合併症の発症に関して検討した。また、移植後肺合併症の組織像で繊維化を認める症例が大多数であることから、ACE, Angiotensinogen, PAI-1, といった組織の繊維化に関わる遺伝子に関して SNP、Insertion/Deletion といった多型と発症率を解析した。

C. 研究結果

ゲノムワイドなマイクロサテライトマーカーによる多型解析；

22番染色体に存在する約545 個の遺伝子に対してマイクロサテライトマーカーを用いて、造血幹細胞移植後 GVHD 関連遺伝子を探査した結果を Table1 に示す。注目すべきは、ドナーレシピエント間でマイクロサテライト多型が一致している群で重症 GVHD 発症が有為に効率である多型が存在することである。

HLA 類似遺伝子のマイクロサテライトマーカーによる多型解析；7q22.1 の AZGP1 について一致症例で再発が多い傾向を認めた。6 番染色体の RAET1 遺伝子はセントロメアを挟み HLA とちょうど反体側に存在する HLA 類似遺伝子

であるが、Fig1 で示すように RAET1 遺伝子近傍のマイクロサテライト多型が一致している群での重症 GVHD 発症率が有為に高率であった($P=0.0034$)。

移植後肺合併症と遺伝子多型性について；686 症例の HLA-A, B, DR 一致非血縁間骨髄移植症例において 66 症例で非感染性移植後肺合併症と診断されていた。この 686 症例の ACE 遺伝子 Insertion/Deletion 多型性を解析したところ Table3 で示すようにドナーおよびレシピエントの両方で D/D の遺伝子型を有する症例での発症率が効率であることが判明した。

D. 考察

造血幹細胞移植後合併症の発症に最も多く関わる因子が HLA であることは既に数々の報告で証明されている。我々は、HLA 以外の遺伝的背景の移植経過に及ぼす影響を検討しているが、今回、いくつかの遺伝子多型性でその関与が伺われるものが存在した。しかし、いずれの研究においても、比較的少数の単一のコホートでの検討であり、さらに症例数を増やすか、別のコホートでの検討が必要である。特に、22番染色体に対するマイクロサテライト多型解析については、疾患関連遺伝子を特定するための一時スクリーニングと考えており、この結果を持ってしてさらに別のコホートでの検討を行う予定である。

また、RAET1 遺伝子、ACE 遺伝子多型に関しては、機能解析を加えることにより、移植後の免疫応答におけるこれらの遺伝子の影響を検討してゆく予定である。特に、RAET1 遺伝子多型に関してはドナーレシピエント間で多型が一致している症例に GVHD 発症が多い結果で

あることから、特定の対立遺伝子に固有の現象である可能性があり、RAET1 が KIR リガンドであることから重要な知見であると考えられる。

E. 結論

移植後合併症に影響する非 HLA 遺伝子多型を検討した。

●22番染色体上に移植関連遺伝子の候補を見いだした。

●RAET1 遺伝子近傍のマイクロサテライト多型では、ドナーレシipient間で多型が一致する症例で高率に重症 GVHD が発症した。

●移植後肺合併症発症症例では ACE 遺伝子 Deletion/Insertion 多型において、D/D の遺伝子型をドナーレシipientで有している症例に発症率が高いことが判明した。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1.論文発表

1) M Onizuka, M Kasai, T Oba, Y Atsuta, S Terakura, R Suzuki, K Kitaori, K Miyamura, T Hotta and Y Kodera. Increased frequency of the angiotensin-converting enzyme gene D-allele is associated with non-infectious pulmonary dysfunction following allogeneic stem cell transplant. 2005 36,617-620

2) 鬼塚真仁、吉川枝里、猪子英俊. 臓器移植とHLA タイピング. 日本臨床. 2005

Nov;63(11):1945.

3) 鬼塚真仁、成瀬妙子、猪子英俊. 臓器移植とHLA. 日本臨床. 日本臨床. 2005 Apr;63 Suppl 4:653.

2.学会発表

1) M Onizuka, K Ando, K Kishi, H Kawada, Y Morishima, T Hotta, H Inoko. An Analysis of Angiotensin Converting Enzyme Gene Polymorphisms and Non-infectious Pulmonary Dysfunction after Hematopoietic Stem Cell Transplantation. The American Society of Hematology □47th Annual Meeting and Exposition.2005, Atlanta.

2) Onizuka M, Kishi K, Ando K, Hotta T, Miyamura K, Kodera Y, Suyun Li, Inoko H. Non-infectious Pulmonary Complication after Stem Cell Transplantation and Genetic Background. Asia and Pacific Bone Marrow Transplantation annual meeting. 2005, Shanghai.

3) 鬼塚真仁、岸賢治、安藤潔、堀田知光、猪子英俊、稲本賢弘、大庭拓、宮村耕一、小寺良尚. 移植後肺合併症と遺伝子多型性. 第28回日本造血細胞移植学会総会 2006. 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

特記事項なし

Table 2. Candidate genes analysis

Position	Target Gene	association
1q21-25	CD1a, CD1b, CD1c, CD1d, CD1e, MR1	n.s
7q22.1	AZGP1	relapse rate
19q13.3	FCGRT	n.s
19q13.4	LILRA1, LILRB1	n.s
20q11.2	EPCR	n.s
6q25	RAET1E~N	GVHD

Table 1. Statistically Significant markers about mismatch

Marker	Position	aGVHD grade0		aGVHD gradeIII+IV		Odds Ratio(95% CI)	P
		Match	Mismatch	Match	Mismatch		
D22S267i	22q11.21	38	2	23	7	5.78(1.10-30.24)	0.028
D22S0152i	22q11.23	25	15	29	1	0.05(0.01-0.41)	0.0005
D22S0145i	22q11.23	8	32	14	16	0.29(0.10-0.82)	0.017
Z66750	22q12.1	28	12	28	2	0.17(0.03-0.81)	0.014
D22S0085i	22q12.3	6	34	11	19	0.30(0.10-0.96)	0.035
D22S0220i	22q12.3	17	23	4	26	4.80(1.41-16.35)	0.008
D22S683	22q12.3	6	34	0	30	11.86(0.64-219.35)	0.027
D22S0197i	22q13.33	16	24	22	8	0.24(0.087-0.67)	0.005

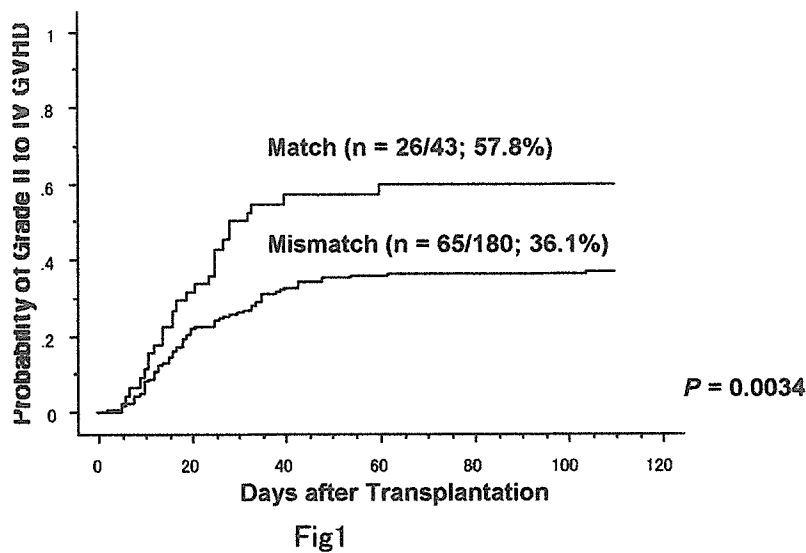


Table 3. An analysis of both donor and recipient polymorphism

Recipient genotype	All subjects				NIPD patients			
	n	Donor genotype			n (%)	Donor genotype		
		D/D	I/D	I/I		D/D	I/D	I/I
D/D	21	62	42	5 (23.8)	5 (8.1)	1 (2.4)		
I/D	61	197	130	5 (8.2)	14 (7.1)	14 (10.8)		
I/I	49	130	80	5 (10.2)	15 (11.5)	9 (11.3)		

The frequency of NIPD was significantly higher when donor and recipient had D/D genotype. *p=0.05

造血幹細胞移植における NK 細胞受容体多型性の解析

分担研究者	屋部登志雄	（東京都赤十字血液センター技術部）
分担研究者	森島泰雄	（愛知県がんセンター血液・細胞療法部）
研究協力者	柏瀬貢一	（東京都赤十字血液センター検査部）
研究協力者	平安恒幸	（東京都赤十字血液センター技術部）

研究要旨 日本骨髄バンク (JMDP) を介した非血縁者間骨髄移植において患者、ドナー間の HLA 抗原不適合が移植成績に影響を及ぼすことが示されている。HLA-C 抗原は抗体や T 細胞受容体のみならず、NK 細胞受容体 KIR (Killer Cell Ig-like Receptor) からも認識され患者ドナー間での C 抗原 KIR リガンド型不適合が急性 GVHD 発症など移植成績を悪化させることを森島らが報告している。本研究では KIR 自体の移植反応における関わりを調べるために患者、ドナーの KIR 遺伝子型を判定し多型性と移植成績の相関を調べてきた。昨年度までに患者、ドナーの KIR 遺伝子 16 種類の有無を PCR-SSP 法で 186 症例解析したが、今年度は新たに 89 症例を解析し計 275 症例ペアの KIR 型を決定した。その中から GVHD 予防法としてシクロスポリン及び短期メトトレキサート投与群 201 症例について急性 GVHD 発症率との統計解析を行った。ドナーが活性化型 KIR2DS2 陽性の場合では陰性例に比べ高率に急性重症度 GVHD を発症することが症例数を増やした解析からも確認された。これよりドナー活性化型 KIR 遺伝子の有無が移植成績に影響すること、特に抑制型 KIR が働かない KIR リガンド不適合時により顕著であることが判明した。HLA-C 抗原タイピングにより KIR リガンド特異性を適合させること及び KIR 遺伝子型タイピングを行いリガンド特異性との適合性を検討することが移植成績向上に重要と考えられる。

A. 研究目的

近年 NK 細胞受容体 KIR (Killer Cell Ig-like Receptor) ファミリー分子がクラス I 抗原、特に HLA-C を認識することが明らかとなり移植成績との関連性が注目されるようになった。HLA-C は KIR により 2 種類のエピトープ C1;Cw1,w3,w7,w8, および C2;Cw2,w4,w5,w6 に認識され (これらを KIR リガンド特異性と呼ぶ)、患者ド

ナー間の KIR リガンド適合性が造血幹細胞移植成績に影響することが示されている (Ruggeri ら Science 2002. 295:2097)。森島らは GVHD 方向 KIR リガンド不適合症例で急性重症 GVHD 発症が高率で生存率が低下すること、拒絶方向不適合で移植片生着率が低下することを見出している (本研究班一昨年度報告)。本研究では昨年度に引き続き、患者、ドナーの 16 種類の

KIR 遺伝子型を決定しリガンド適合性と合わせて KIR 遺伝子型適合性と移植成績との関連を解析した。

B. 方法

骨髄バンクを経由した HLA-A,-B,-DR 血清型一致非血縁者間骨髄移植約 2500 症例のうち T 細胞除去例を除き、HLA-C の KIR リガンド不適合症例を中心に昨年度までに解析した 186 症例以外から新たに 89 症例を選択し KIR 遺伝子型を決定した。KIR 遺伝子の有無は昨年度までと同様に Gomez-Lozano らによる PCR-SSP 法 (Tissue Antigens 59:184, 2002) を用いて 16 種類の KIR (2DL1, 2DL2, 2DL3, 2DL4, 2DL5, 2DS1, 2DS2, 2DS3, 2DS4, 2DS5, 3DL1, 3DL2, 3DL3, 3DS1, 2DP1, 3DP1) について解析し、KIR プロファイル型を決定し昨年までの解析症例と合わせた 275 症例から GVHD 予防法としてシクロスポリン及び短期メトトレキサート投与のもの 201 症例を選択しその結果と平成 17 年 6 月 1 日現在で見直しを行った移植成績データを用いて関連を検討した。疾患の内訳は ALL(65), CML(51), AML(43), MDS(20), NHL(8), SAA(11), HD(3)であった。

C. 研究結果

275 ペアの患者、ドナー KIR 遺伝子頻度は昨年までの 186 ペアの結果とほぼ同様であり各 KIR の頻度は患者、ドナー間で差は見られなかった (データ非提示)。次にこれらの KIR 遺伝子の組み合わせである KIR プロファイルを決定した。昨年度の結果と同様に患者、ドナー共に半数近くの検体が #1 型であり他集団と比べて日本人での頻

度が最も高い。KIR プロファイルでも患者、ドナー間で有意な差は認められなかった。201 症例の患者、ドナーの KIR 型およびプロファイル型と移植成績との相関を検討したところ ATG 非投与群でドナーが 2DS2 陽性者の場合に急性重度 (III-IV 度) GVHD 発症が高率であった (図 1A)。さらに HLA-C 不一致に絞る患者、ドナー間の KIR リガンド適合性別に比較したところ GVH 方向不適合時 (抑制性 KIR が機能しない組み合わせ) において急性 GVHD 発症率が有意に高いことが判明した (図 1B)。白血病再発、生存率との相関は見られなかった。

D. 考察

前年度に引き続き患者、ドナーの KIR 遺伝子型を解析し移植成績との相関を検討した。森島らはこれらの症例を解析し KIR リガンド GVH 方向不適合時に急性重症 GVHD 発症が高く、白血病再発率が高く、生存率が低下していることを見出している。昨年度と同様に KIR ジェノタイプ解析からリガンド適合性に加えて、患者ドナーの活性化型 KIR 遺伝子の有無が移植成績に影響を及ぼす結果が得られた。

E. 結論

患者、ドナー間での KIR 遺伝子型と KIR リガンドとの適合性が移植成績に影響を及ぼすことが判明し、ドナー選択時での HLA-C 抗原タイピング、KIR ジェノタイプによる適合性検討の重要性が示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1、Miyashita R, Tsuchiya N, Yabe T, Kobayashi S, Hashimoto H, Ozaki S, and Tokunaga K. Association of killer cell immunoglobulin-like receptor genotypes with microscopic polyangiitis. *Arthritis and Rheumatism*. 2006;54(3):992-7

2、Hirayasu K, Ohashi J, Kashiwase K, Takanashi M, Satake M, Tokunaga K, and Yabe T. Long-term persistence of both functional and non-functional alleles at the leukocyte immunoglobulin-like receptor A3 (LILRA3) locus suggests balancing selection. *Human Genetics* 2006 (in press).

1. 屋部登志雄、「造血幹細胞移植および輸血におけるNK細胞の役割」第23回日本輸血学会北陸支部総会特別講演(平成17年11月19日、金沢)

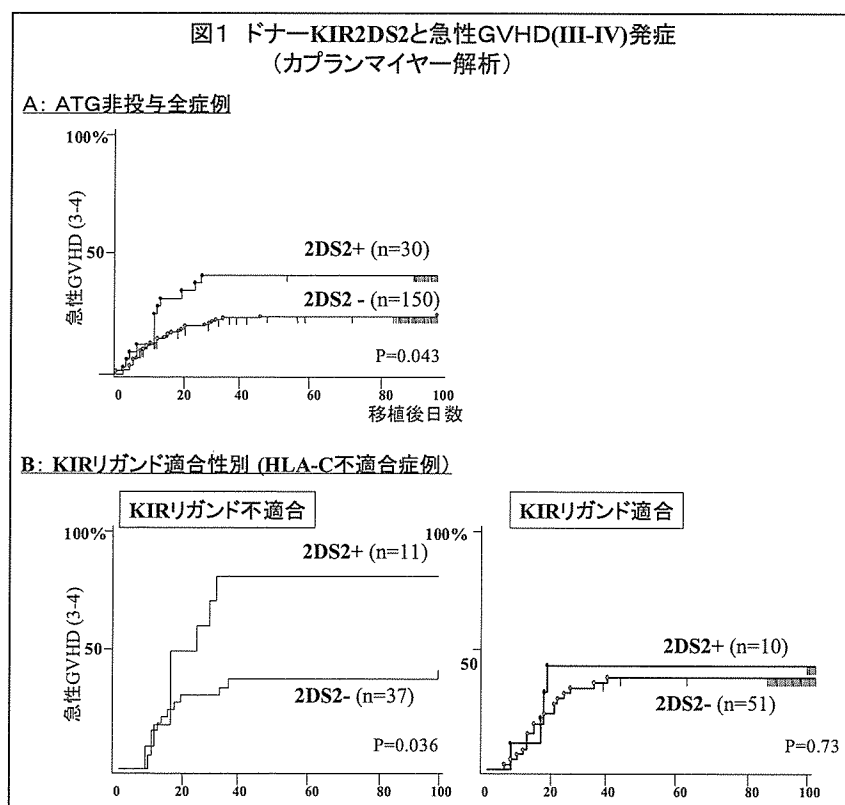
2. Morishima Y. Clinical Significance of HLA and Killer Ig-like Receptor (KIR) Matchihng in Patients Transplanted Non-T Cell Depleted Marrow from Unrelated Donor.: Japan Marrow Donor Program (JM DP). 14th International HLA workshop 2005. (Melbourne,.Nov 29,)

3、平安恒幸、徳永勝士、屋部登志雄、「日本人集団における特徴的なLILRA3遺伝子の多型性」第35回日本免疫学会総会学術集会(平成17年12月、横浜)

H. 知的財産権の出願、登録状況

なし

学会発表



同種造血幹細胞移植における遺伝子多型の与える影響に関する研究

分担研究者 村田 誠 名古屋大学医学部附属病院 血液内科 助手

研究要旨

患者またはドナーにおける代謝酵素 glutathione S-transferase (GST) M1 および GSTT1 の欠損が造血幹細胞移植の成績に与える影響について検討した。対象は日本骨髄バンクの HLA 適合ドナーから移植を行った 373 例の骨髄移植患者で、保存 DNA に対し PCR 法を用いて GSTM1、GSTT1 遺伝子の両アリル欠損を決定し、Cox proportional-hazard model を用いて移植予後との相関を解析した。GSTM1 と GSTT1 の両アリル欠損はそれぞれ患者の約 56% と 45%、ドナーの約 57% と 46% に認められた。多変量解析の結果、GSTM1 陽性患者群では TRM が有意に高く (OR, 1.49; 95% CI, 1.03-2.16; P=0.036)、無病生存率 (OR, 1.50; 95% CI, 1.08-1.97、P=0.013)、全生存率 (OR, 1.41; 95% CI, 1.04-1.92、P=0.030) とともに有意に低かった。機序として、GSTM1 が存在することにより毒性を持つ薬剤中間代謝産物が蓄積したり、移植後の様々な炎症反応が亢進したりする可能性が考えられる。我々の得た結果はさらに多数例での解析で確認する必要がある。

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植における治療関連死亡 (TRM) は支持療法が進歩した現在でも主要な死因である。その原因として、抗癌剤、免疫抑制剤、抗ウイルス剤など様々な薬剤の副作用や、感染症、移植片対宿主病 (GVHD) などがある。今までに移植後の臨床経過に影響を与えると報告された薬物代謝酵素には、5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)、UDP glycosyltransferase 2 family, polypeptide B17 (UGT2B17)、glutathione S-transferase (GST) M1 があり、MTHFR が患者で欠損していると移植後口内炎が重症化し、UGT2B17 がドナーで存在すると非特異的

な TRM が増加し、GSTM1 が β サラセミア患者で欠損すると VOD が増加すると報告されている。

GST は、薬剤や酸化ストレスに伴う副産物をグルタチオン抱合し、またロイコトリエンやプロスタグランジンの生合成にも関与する。GSTM1 と GSTT1 は日本人において一定の頻度で欠損しており、それらの多型性は β サラセミア患者に限らず日本人患者の移植後の TRM や生存率に影響を与える可能性がある。そこで、GSTM1 および GSTT1 の欠損が移植予後に与える影響を明らかにすることを目的として、以下の研究を行った。

B. 研究方法

対象は、HLA-A、B、C、DRB1 適合非血縁

ドナーから骨髄移植を受けた患者で、サイクロスポリン A またはタクロリムスを GVHD 予防として投与され、解析可能な DNA が保存されていた 373 例。年齢は 1-51 歳 (中央値 24 歳)。スタンダードリスク (第一寛解期急性白血病、第一慢性期慢性骨髄性白血病、不応性貧血-骨髄異形成症候群) が 164 例、その他の腫瘍性疾患が 184 例、再生不良性貧血が 25 例。前処置にブスルファンを含むものが 105 例、シクロフォスファミドを含むものが 333 例。

PCR 法で各遺伝子の両アレル欠損を調べた。また統計学的解析は χ^2 test、Cox proportional-hazard model (backward, stepwise)、Kaplan-Meier 法を用いて行った。

(倫理面への配慮)

本研究は名古屋大学医学部倫理審査委員会にて承認を得た (承認番号 54)。

C. 研究結果

GSTM1 と GSTT1 の両アレル欠損はそれぞれ患者の 55.5% と 45.0%、ドナーの 56.5% と 46.3% で、患者・ドナー間に欠損率の差は認めなかった。

多変量解析の結果、GSTM1 陽性患者群では TRM が有意に高く (OR, 1.49; 95%CI, 1.03-2.16; P=0.036)、Kaplan-Meier 法による解析でも GSTM1 陽性患者群の TRM が 42.9% (n=166)、陰性患者群の TRM が 29.3% (n=201) で有意な差を認めた (P=0.04)。GSTM1 陽性群と陰性群の死因について検討したが、偏りはなかった。

また GSTM1 陽性患者群では生存率が有意に低く (無病生存率: OR, 1.50; 95% CI, 1.08-1.97, P=0.013) (全生存率: OR, 1.41; 95% CI, 1.04-1.92, P=0.030)、Kaplan-Meier 法による解析でも GSTM1 陽性患者群の無病生存率が 38.3% (n=152)、陰性患者群の無病生存率が 54.0%

(n=192)、GSTM1 陽性患者群の全生存率が 41.1% (n=152)、陰性患者群が 55.1% (n=191) と有意な差だった。その他、GSTM1 の欠損と GVHD 発症率、再発率との間に相関は認めなかった。

一方、GSTT1 の欠損はいずれの予後因子とも相関を示さなかった。

D. 考察

GSTM1 酵素を有する患者で TRM が高かった。その機序として、GSTM1 が存在することにより毒性を持つ薬剤中間代謝産物が蓄積したり、あるいは移植後の様々な炎症反応が亢進したりする可能性が考えられる。我々の得た結果はさらに多数例での解析で確認する必要がある。

E. 結論

患者における GSTM1 酵素の存在は、非血縁者間骨髄移植後の TRM、無病生存率、全生存率の危険因子である。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

論文発表

1. Murata M, Emi N, Izumisawa Y, Inaki A, Saitoh M, Naoe T.

Identification and frequency of a new HLA-A allele, A*030104. *Tissue Antigens*, 65 (4): 391-392 (2005).

2. Terakura S, Murata M, Nishida T, Emi N, Akatsuka Y, Riddell SR, Morishima Y, Kodera Y, Naoe T.

A UGT2B17-positive donor is a risk factor for higher transplant-related mortality and lower survival after bone marrow trans-

transplantation. *Br J Haematol*, 129 (2):221-228 (2005).

3. Terakura S, Murata M, Nishida T, Emi N, Akatsuka Y, Morishima Y, Kodera Y, Naoe T.

Increased risk for treatment-related mortality after marrow bone transplantation in GSTM1-positive recipients. *Bone Marrow Transplant*, 37 (4): 381-386 (2006).

4. Hishida A, Terakura S, Emi N, Yamamoto K, Murata M, Nishio K, Sekido Y, Niwa T, Hamajima N, Naoe T.

GSTT1 and GSTM1 deletions, NQO1 C609T polymorphism and risk of chronic myelogenous leukemia in Japanese. *Asian Pac J Cancer Prev*, 6(3): 251-255 (2005).

学会発表

1. Terakura S, Murata M, Nishida T, Emi N, Akatsuka Y, Riddell SR, Morishima Y, Kodera Y, Naoe T.

Increased risk for treatment-related mortality of bone marrow transplantation in GSTM1-positive recipients.

The 47th annual meeting of the American Society of Hematology, in Atlanta, Georgia. December 2005. Abstract accepted for poster presentation.

2. Terakura S, Murata M, Warren EH, Sette A, Naoe T, Riddell SR.

A single minor histocompatibility antigen AELLNIPFLY encoded by UGT2B17 is presented by HLA-A*2902, B*4402 and B*4403. 2006 BMT Tandem Meetings, Honolulu. February 2006.

Abstract accepted for Best Abstract Awards.

3. 寺倉精太郎, 村田 誠, 西田徹也, 恵美宣彦, Warren EH, Riddell SR, 直江知樹.

HLA-B*4403 上に提示される UGT2B17 遺伝子由来マイナー抗原の同定. 第 67 回日本血液学会総会・第 47 回日本臨床血液学会総会・合同総会 2005 年 9 月 於: 横浜. Work shop.

4. 寺倉精太郎, 村田 誠, 西田徹也, 恵美宣彦, 赤塚美樹, 森島泰雄, 小寺良尚, 直江知樹.

代謝酵素 GSTM1 陽性患者に対する非血縁者間骨髄移植では治療関連死亡リスクが増加する. 第 28 回日本造血細胞移植学会総会. 2006 年 2 月 於: 東京. Work shop.

- H. 知的財産権の出願・登録状況
特許申請なし

分担研究報告書

SNP 解析を用いた移植後合併症関連遺伝子の同定とその臨床応用に関する研究

分担研究者 小川誠司

東京大学医学部附属病院造血再生医療寄付講座 客員助教授

研究要旨 本分担研究では、造血幹細胞移植の重篤な合併症に関わる遺伝的な背景をあきらかにする目的で、日本骨髄移植推進財団を通じて行われた 2000 組のドナー・レシピエントについて Affymetrix 社の GeneChip 500K アレイを用いた大規模 SNP タイピングを行い、全ゲノム関連解析の手法を用いて移植合併症の発症に関わる遺伝的多型を探索する。本年度は、公開された国際 HapMap 計画のデータを用いて研究の feasibility を検討するとともに、500 組のドナーレシピエントペアについて上記のアレイを用いて 50 万 SNP の遺伝子型を解析した。

A. 研究目的

造血幹細胞移植は難治性造血器疾患に対する現時点で最も強力な治療手段である一方、移植前処置に伴う臓器障害や移植片対宿主病 (GVHD) は、患者の予後や QOL に深刻な影響を及ぼす重篤な合併症である。移植成績向上の観点からは、これらの合併症のコントロールが重要な課題であることはいうまでもない。一方、これらの移植に伴う合併症の出現には個人差があり、同一の前処置においても、合併症の発症の有無は患者ごとに異なっており、これらは放射線や薬剤に対する感受性などの遺伝的な背景によって影響されると考えられる。さらに、GVHD においては、ドナーとレシピエントの遺伝的背景の差異が決定的に重要である。

そこで、本研究では、これらの合併症に対する効果的な予防手段を開発することを目的として、種々の移植合併症の発症に関わる遺伝的多型を全ゲノム関連解析により同定することを試みる。

B. 研究方法

日本骨髄バンク (JMDP) を通じて行われた 2000 組のドナー・レシピエントペアを解析の対象とし、JMDP で保存されているドナー・レシピエント由来のゲノム DNA それぞれについて Affymetrix® GeneChip® 500K アレイを用いて 50 万 SNP 座の遺伝子型のタイピングを行う。得られた SNP データに基づいて、合併症の有無と相関する SNP を全ゲノム関連解析により探索する。500K アレイを用いた SNP タイピングによる全ゲノム関連解析によって得られる解析力を国際 HapMap 計画により公開された 110 万 SNP の遺伝子型データに基づいて理論的に算出し、研究の

実現可能性について検討した。

(倫理面への配慮)

本件急は、ヒトゲノム遺伝子解析研究に関する倫理指針、疫学研究に関する倫理指針および臨床研究に関する倫理指針に基づき、日本骨髄移植推進財団のデータ試料利用委員会および東京大学医学部倫理委員会の承認を得て行われている。

C. 結果

解析の対象を頻度の高い合併症 (20%) とし、Multiplicative model の遺伝様式を仮定し、ケース・コントロールのサンプル数をそれぞれ 200 例・1800 例として HapMap データを用いて、全ゲノム関連解析で得られる理論的のパワーを種々の相対危険度およびマーカー SNP 数について算出した結果、25 万から 30 万個以上の SNP マーカー数を用いた場合、パワーはほぼプラトーに達することが示された。解析のパワーは相対危険度に強く影響され、本研究に用いるサンプルサイズにおいては、 γ 値 2.0 以上では、十分な解析力が得られる一方、 γ 値 1.5 以下では標的 SNP の同定は極めて困難であることが示された。

以上の結果に基づいて、本年度より大規模 SNP タイピングを開始した。現時点で、約 500 移植、計 1000 例のドナー・レシピエントについて 50 万 SNP のタイピングを完了した。

D. 考察

HapMap データを用いた全ゲノム関連解析の理論的な検討について、連鎖不平衡の観点からは、今回解析に用いる 500K アレイによる 50 万 SNP