

表5 関節リウマチ感受性・抵抗性および病型と Shared Epitope

Shared Epitope	全体	少関節型	多関節進行型	ムチランス型
S1				
P value	1.08e-06	0.0260	1.06e-05	1
OR	0.627	0.655	0.531	0.934
95% CI	0.515 - 0.761	0.451 - 0.950	0.388-0.716	0.369 - 2.36
S2				
	5.77e-05	0.163	0.00159	1
	3.00	2.00	3.23	0
	1.71- 5.22	0.699 - 5.73	1.49-6.53	0 - 16.3
S3D				
	0.227	0.5894	0.221	0.716
	0.832	1.15	0.752	0.476
	0.611 - 1.12	0.693 - 1.90	0.461 - 1.18	0.064 - 3.54
S3P				
	4.71e-15	4.88e-06	1.32e-07	0.332
	1.93	2.07	1.90	1.63
	1.64 - 2.28	1.51-2.84	1.49 -2.41	0.693 - 3.81
X				
	0.000643	0.00584	0.231	0.834
	0.758	0.639	0.870	0.873
	0.644 - 0.891	0.465 - 0.878	0.688 -1.10	0.381 - 2.00

表6 関節リウマチ感受性・抵抗性および病型と Shared Epitope 遺伝子型*

Shared Epitope	全体	少関節型	多関節進行型	ムチランス型
S1/S1				
P value	0.00010	0.148	0.000440	0.706
OR	0.309	0.407	0.291	0.716
95% CI	0.160 – 0.598	0.127 – 1.31	0.134 – 0.633	0.182 – 2.82
S1/X				
	9.72e-07	0.00057	0.000050	0.339
	0.453	0.296	0.477	1.61
	0.316 – 0.637	0.136 – 0.645	0.328 – 0.694	0.693 – 3.76
S2/S3P				
	0.00014	0.0406	0.000280	1
	5.14	4.79	5.45	1.14
	2.21 – 12.0	1.28 – 18.0	2.24 – 13.3	0.311 – 4.17
S3D/S3D				
	0.00084	0.0140	0.00335	0.582
	1.98	2.35	1.96	0.834
	1.35 – 2.92	1.23 – 4.48	1.28 – 3.00	0.413 – 1.68
S3D/X				
	0.00021	0.251	0.000330	0.378
	1.61	1.31	1.67	1.27
	1.26 – 2.05	0.819 – 2.11	1.27 – 2.19	0.760 – 2.12

*P 値が低い方から 5 種類のみを示した。

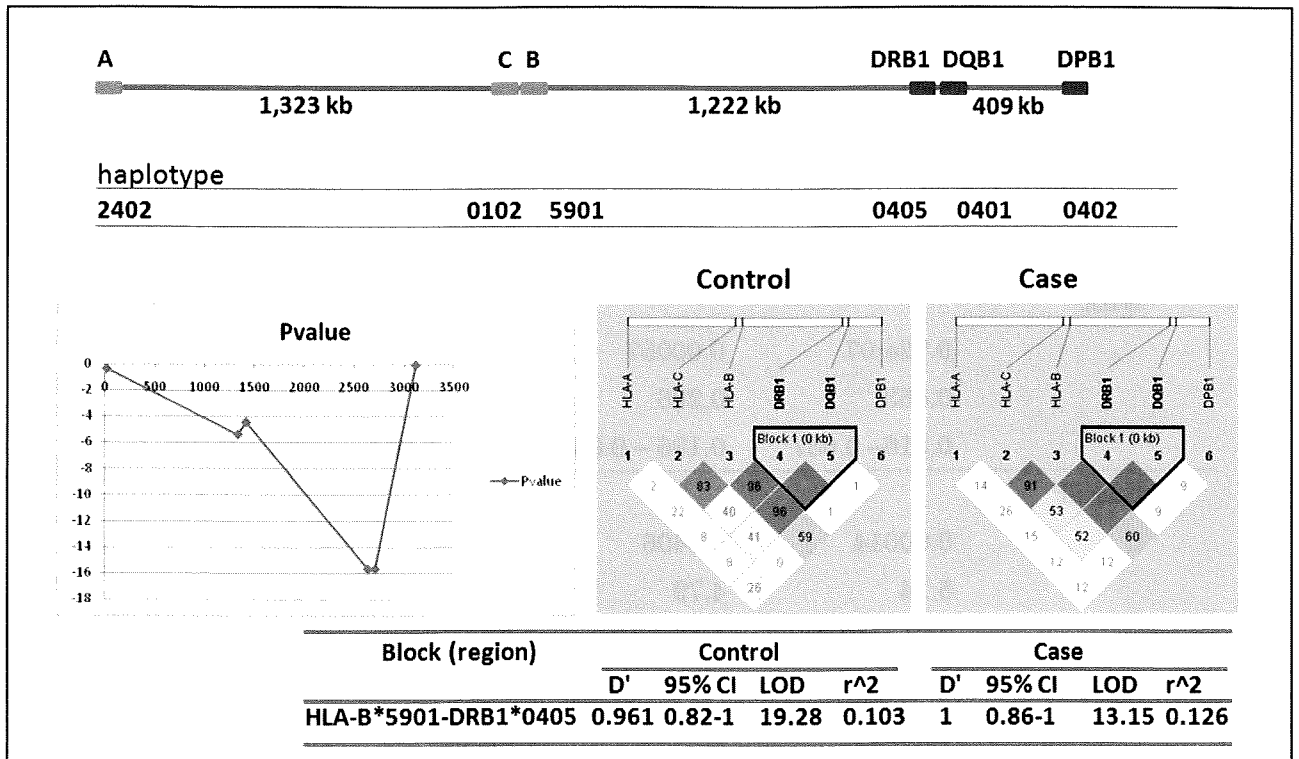


図1 関節リウマチ感受性アリルDRB1*04:05とそのハプロタイプ

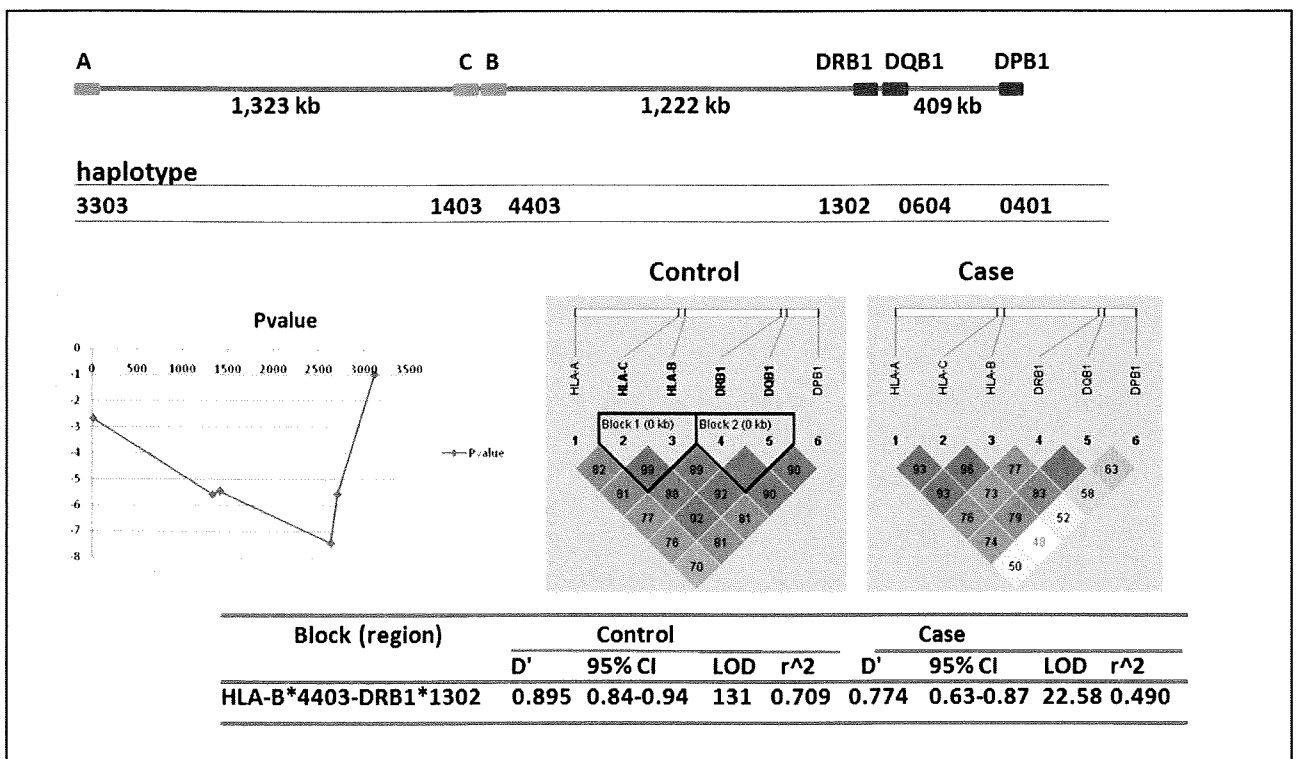


図2 関節リウマチ抵抗性アリルDRB1*13:02とそのハプロタイプ

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
分担研究報告書

等温増幅法による多型解析法の開発に関する研究

分担研究者	光永 滋樹	東海大学医学部基礎医学系分子生命科学	教授
協力者	奥平 裕子	東海大学医学部基礎医学系分子生命科学	
協力者	吉川 枝里	財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団	
分担研究者	太田 正穂	信州大学医学部法医学	准教授
分担研究者	木下 健司	武庫川女子大学薬学部ゲノム機能解析学	教授
研究代表者	猪子 英俊	東海大学医学部基礎医学系分子生命科学	教授

研究要旨

昨年度報告した等温増幅法の一つである Loop-mediated isothermal amplification (LAMP)を改変した方法により HLA のタイピングを行った場合、サンプルの状態により非特異的反応・増幅が起こり間違った結果が出る場合があることが分かった。検討の結果、この非特異的反応の多くはサンプル DNA 中にランダムに存在するニックが原因であると推定された。反応液組成を再検討し、非特異的反応を低減して本法の分解精度・信頼性を高めた。この系を用いて、反応の終了後に、インターカラーである SYBR Green I の添加による発色で増幅の有無を確認することにより判定する HLA-DRB1 の low resolution タイピング系を開発した。同法により SNP タイピングも可能であった。この系は増幅の有無により判定するシングルプレックスであるので、プラスチック基板上に複数のプローブ（プライマー）を固定しマルチプレックス化を行い、可能であることを示した。これらにより、関節リウマチの病型・病態進行予測ツールで必要となる HLA-DRB1 と SNP の情報を、同一のプラットフォーム上でタイピングすることが可能となった。

A. 研究目的

本研究班の研究課題は「関節リウマチをモデルとした病型・病態進行予測ツールおよび遺伝子検査システムの開発に関する研究」であり、我々は病型・病態進行予測ツールを実用化していく上で必要となる遺伝子検査システムの開発を目的としている。関節リウマチ（以下 RA）は多因子疾患であり、発症の原因は遺伝要因が約 6 割であり、その 1/3 は HLA であるといわれている (1)。そのため、必要となる遺伝子検査システムは、HLA

特に DRB1 と SNP を同時に、同一プラットフォーム上で解析できる必要がある。さらに、特殊な機器を必要とせず、医療機関全般で使われ得ることが望ましい。以上を勘案し等温増幅でマルチプレックス化可能な方法の開発を目的とした。

B. 研究方法

1) DNA 検体

文書によるインフォームドコンセントを取得した関節リウマチ患者または健康人から得た末梢血から QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, Tokyo, Japan) あるいは Quick-Gene 610L and QuickGene DNA whole blood kit L (FUJIFILM, Tokyo, Japan) を用いて DNA を抽出し、以後の研究に用いた。あるいは同様に文書によるインフォームドコンセントを取得した健康人から得た末梢血白血球を EBV で不死化した B-LCL から QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, Tokyo, Japan) により DNA を抽出した。

2) HLA の genotyping

PCR-SSOP-Luminex 法 (2) (LABTyping 101, VERITAS, Tokyo, Japan、またはジェノサーチ HLA-DRB1 Ver.2, MBL, Nagoya, Japan) あるいは Sequence based typing (SBT) 法 (AlleleSEQR HLA, Abbott Japan) を用いて行った。

3) プライマーおよびプローブデザイン
プライマーおよびプローブは Nearest neighbor method (3) により T_m を計算し、等温増幅反応の温度である 65°C 付近になるようにした。また、プライマーの F2 および F3 の 3'末端近傍、F1 の 5'末端近傍に多型領域がくるようにプライマーを設計した。プローブは 5'末端を C6 アミノ化してプラスチック基板に固定した。

4) 等温増幅反応 (Loop-mediated isothermal amplification, LAMP 反応)

20 ng の DNA を含む全量 20 μL の反応液で LAMP (4) を行った。プラスチック基

板上での LAMP の場合以外は、SYBR Green I 存在下で ABI 社の PRISM7000 または PRISM7500 を使用し、増幅した二本鎖 DNA に SYBR Green I がインターカレートして増大する蛍光強度をモニターすることにより増幅の有無を判定した。

5) プラスチック基板上での等温増幅反応

アミノ修飾オリゴ DNA 用固定化基板キット (住友ベークライト) を使い、96 穴プレート の各 well に 5'末端を C6 アミノ化したプローブをプラスチック基板上に固定化した。その後 biotin-dUTP 存在下、各 well 中で LAMP 反応を行った。プラスチック基板上のプローブから LAMP 反応により伸長した DNA、すなわち陽性プローブ、の検出はストレプトアビジン-AP (バイオ・ラッド) を反応させ、BCIP/NBT 溶液 (パーキンエルマー) により発色させた。

6) 倫理的配慮

本研究は東海大学医学部の「医の倫理委員会」の承認を受け、3 省合同の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を初めとする関連ガイドライに従い実施した。

C. 結果

LAMP 反応により HLA のタイピングを行った場合、サンプルの状態により非特異反応が起こる場合があることが分かった。このサンプルを ligase 処理すると増幅反応そのものが起こらなくなるが、それに DNase I を加えニックを生じさせると、用量依存的に特異反応から非特異反応の増加と変化した (図 1)。これらの結果から LAMP 反応に

においては、サンプル DNA 中にランダムに存在するニックから strand displacement により生じた 1 本鎖にプライマーがアニールして伸長反応が起こり、標的 DNA 領域が増幅されると考えられた。一方、高濃度のベタインが存在すると 2 本鎖 DNA の部分的解離が起こり、DNA の熱変性による解離がなくても LAMP 反応は進行するとの報告がある (5)。よってベタイン存在下で増幅を行う通常の LAMP 反応においては、ベタインにより部分的に解離した DNA にプライマーがアニールして伸長反応が起こる特異的反応と、ランダムに存在するニックからの非特異反応が同時平行的に起こるため、サンプルの状態により結果にバラツキが生じると考えられる。

これらの結果をもとに反応液組成の再検討を行った。その結果を図 2 に示した。反応液組成を改良することにより非特異反応を抑制できることが分かった。図 2 B では二つの非特異的増幅が消失していることが分かる。

次にこの反応系を用いて、HLA-DRB1 の low-resolution typing system を開発した。これは日本人集団でみられる DRB1 アリル 31 種類を 11 群に分け、各群の特異的増幅を行い、増幅の有無により DRB1 の血清学的レベルでのタイピング (low-resolution typing) を行うものである。60 分の反応終了後に、2 本鎖 DNA へのインターカラーターである SYBR Green I を滴下し、増幅の有無を調べることにより肉眼的に判定が可能となる。図 3 にその例を示した。11 群全てが特異的に増幅し、肉眼的に判定できることが分かった。LAS (富士フイルム) によりフィルターをかけて励起光を遮断して撮影し

たものを図 3 B に示したが、容易に判定が可能であった。

この反応系では SNP のタイピングも可能であった。関節リウマチ感受性遺伝子の一つである MRPL48 (6) の SNP rs7935825 の結果を例として図 4 に示した。この SNP は A と T であるので、 T_m の差が小さいが、明瞭にタイピングが可能であった。

以上の方法は増幅の有無によりタイピングを行うので、HLA の場合はアリルあるいはアリルグループ (群) の数だけ、biallelic な SNP の場合は 2 種類の増幅が必要である。よって、実用化して行くにはマルチプレックス化が必要であると考え、プラスチック基板上に複数のプローブ (プライマー) を固定した系で反応を行った。等温増幅の増幅産物はプラスチック基板上の特異的プローブ (プライマー) により捕捉され、Bst DNA polymerase の strand displacement 活性によりプローブ (プライマー) からの伸長反応が起こり、そのときに取り込まれる biotin-dUTP を利用して発色させるものである。HLA-DRB1 の全アリルを増幅させるプライマーセットを用いて増幅し、複数の特異的プローブ (プライマー) を固定しておけば、HLA タイピングが可能となる。SNP の場合も同様にしてタイピング可能である。図 5 にその例を示した。一部未だ非特異的に反応するプローブ (プライマー) がみられるが、原理的にはこの方法で HLA と SNP が同一プレート上でタイピング可能と考えられた。

D. 考察

「関節リウマチの病型・病態進行予測ツール」を実用化していくには、HLA と SNP

の情報を得る必要がある。必要な SNP の数はおそらく 10~30 個程度、プローブの数としてはその 2 倍の 20~60 個程度であると予想される。HLA は特定の DRB1 アリルだけをタイピングするとしても、10~20 個程度のプローブが必要であると予想される。合計 30~80 個程度のプローブを用いたタイピングシステムが必要となる。現在 HLA のタイピングや SNP のタイピングに使われているシステムは特殊な機器を必要とし、別々の機器でタイピングされる。

我々が開発しているプラスチック基板上での等温増幅反応によるタイピングシステムは、等温増幅であるので特殊な機器を必要としない。また本研究で示したように、HLA と SNP を同一のプラットフォーム上でタイピング可能であり、短時間でタイピング可能である。これらにより、比較的広範囲の医療施設で使われ得ると考えられる。よって、「関節リウマチの病型・病態進行予測ツール」を実用化していく上で貢献できるだろうと考えている。

E. 文献

1. Raychaudhuri S, Remmers EF, Lee AT, et al. Common variants at CD40 and other loci confer risk of rheumatoid arthritis. *Nat Genet.* 40, 1216, 2008
2. Itoh Y, Mizuki N, Shimada T, Azuma F, Itakura M, Kashiwase K, Kikkawa E, Kulski JK, Satake M, Inoko H. High-throughput DNA typing of HLA-A, -B, -C, and -DRB1 loci by a PCR-SSOP-Luminex method in the

Japanese population. *Immunogenetics.* 2005; 57: 717-29.

3. SantaLucia J Jr: A unified view of polymer, dumbbell, and oligonucleotide DNA nearest-neighbor thermodynamics. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998; 95:1460-5.
4. Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, Hase T. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res* 2000; 28: E63.
5. Nagamine K, Watanabe K, Ohtsuka K, Hase T, Notomi T: Loop-mediated isothermal amplification reaction using a non-denatured template. *Clin Chem.* 47, 1742, 2001.
6. Tamiya G, Shinya M, Imanishi T et al.: Whole genome association study of rheumatoid arthritis using 27 039 microsatellites. *Hum Mol Genet.* 14, 2305, 2005.

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
奥平裕子、光永滋樹、山口香織、吉川枝里、岡 晃、猪子英俊：プラスチック基板上での等温増幅反応による HLA タイピング。第 18 回日本組織適合性学会大会（名古屋），2009.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

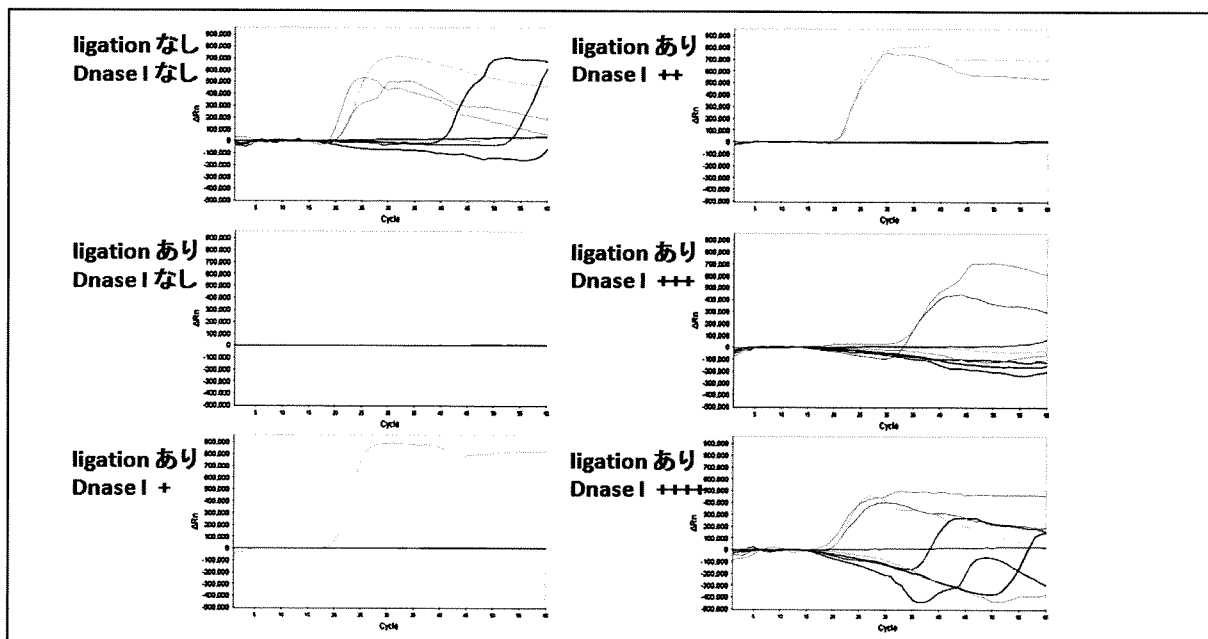


図1 LAMP 反応に対する Ligation と Dnase I の効果

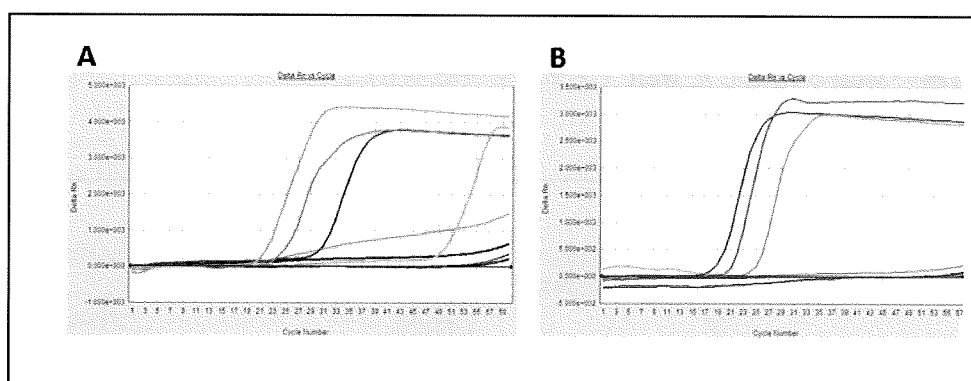


図2 LAMP 反応液組成の改良。A:改良前、B:改良後。同一のサンプルを用い、同一のプレートで行った。二つの非特異的増幅が消失している。

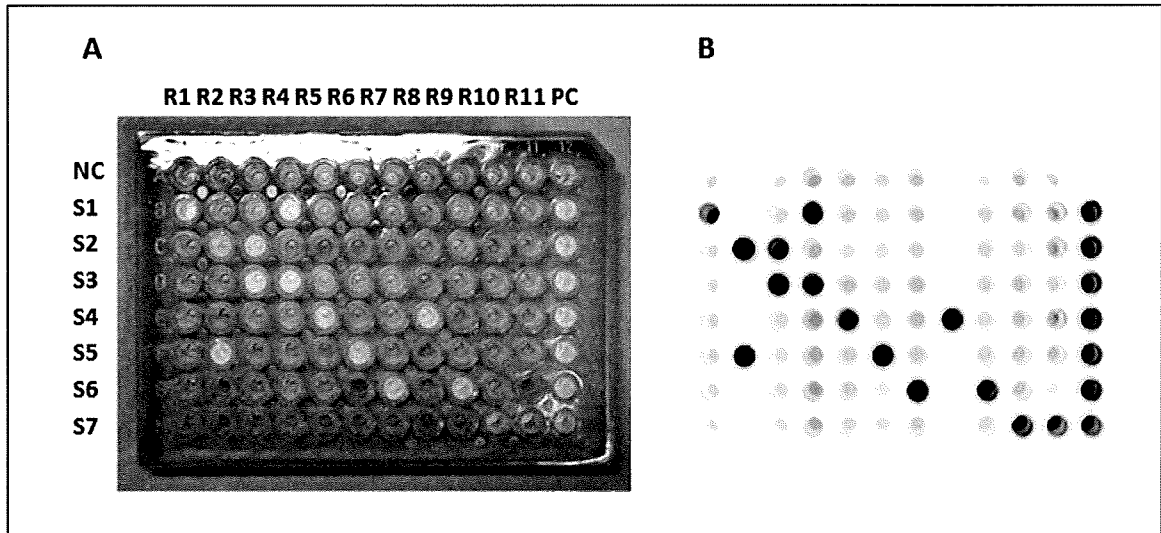


図3 HLA-DRB1の low-resolution typing. Aは通常の写真、Bは同じものをLAS（富士フィルム）を用いてSYBR Green Iの蛍光を撮影したもの。NC: negative control (DW), S1-S7: サンプル1～サンプル7, R1-R11: HLA-DRB1アレルの群特異的増幅を行うプライマーセット1～11を含むもの、PC: positive control（すべてのDRB1アレルを増幅するプライマーセットを含むもの）。1サンプルにはR1～R11およびPCのプライマーセットを用いるので、12 wellでの反応が必要となる。各wellでの増幅の有無によりDRB1のタイピングを行う。Aでは白いwell、Bでは黒いwellが増幅したwell（プライマーセット）。

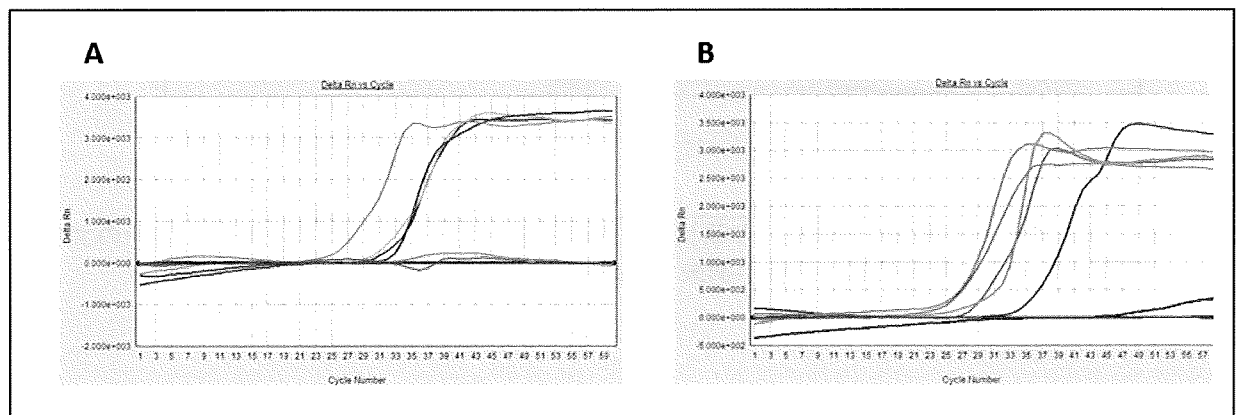
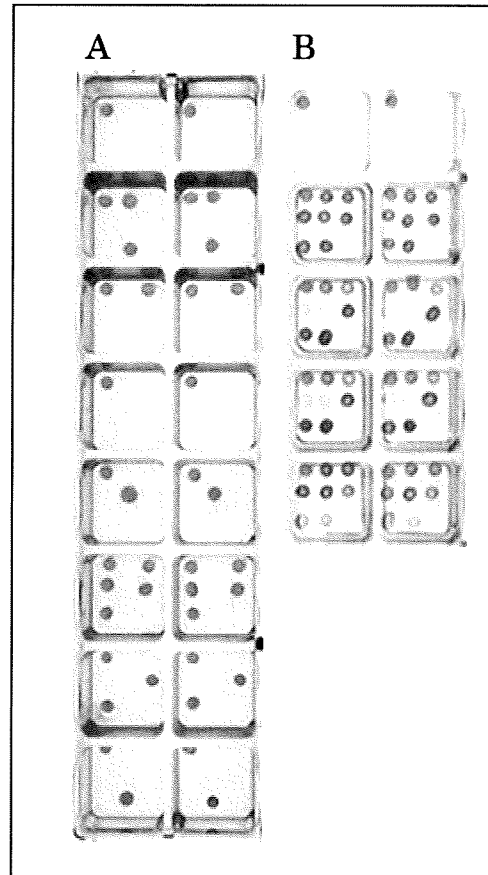


図4 等温増幅法によるSNPのタイピング。MRPL48遺伝子中に存在するrs7935825をタイピングしたもので、AはSNPのaをもつもの、Bはtをもつものがそれぞれ特異的に増幅されている。

図5 プラスチック基板上での等温増幅反応による HLA および SNP のタイピング。
A:HLA, B:SNP 各スポットには異なるプローブが固定してある。各 well は異なるサンプルで、全アリルを増幅するプライマーセットを用いて duplicate で行った。最上段は DW で発色のコントロールだけが発色している。



III. 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kulski JK, Shigenari A, Shiina T, Inoko H.	Polymorphic major histocompatibility complex class II Alu insertions at five loci and their association with HLA-DRB1 and -DQB1 in Japanese and Caucasians.	Tissue Antigens			in press
Morishima S, Ogawa S, Matsubara A, Kawase T, Nannya Y, Kashiwase K, Satake M, Saji H, Inoko H, Kato S, Koderu Y, Sasazuki T, Morishima Y	Impact of highly conserved HLA haplotype on acute graft-versus-host disease.	Blood			in press
Murakami K, Meguro A, Ota M, Shiota T, Nomura N, Kashiwagi K, Mabuchi F, Iijima H, Kawase K, Yamamoto T, Nakamura M, Negi A, Sagara T, Nishida T, Inatani M, Tanihara H, Aihara M, Araie M, Fukuchi T, Abe H, Higashide T, Sugiyama K, Kanamoto T, Kiuchi Y, Iwase A, Ohno S, Inoko H, Mizuki N	Analysis of microsatellite polymorphisms within the GLC1F locus in Japanese patients with normal tension glaucoma.	Mol Vis.	16	462	2010
Ikewaki N, Nakaichi M, Mizuno T, Takamura N, Tokunaga J, Ogata K, Inoko H, Otsu R.	Anti-human very late antigen-alpha4 (CD49d) monoclonal antibody (BU49) cross-reacts with the canine B-cell leukemia cell line GL-1, resulting in the induction of homotypic cell aggregation.	Cell Immunol.	263	55	2010
Xu S, Kangwanpong D, Seielstad M, Srikumool M, Kampuansai J, Jin Li; HUGO Pan-Asian SNP Consortium.	Genetic evidence supports linguistic affinity of Mlabri-a hunter-gatherer group in Thailand.	BMC Genet.	11	18	2010

Matsuzaka Y, Kikuti YY, Izumi S, Suzuki T, Cai LY, Goya K, Inoko H, Makino T, Kulski JK, Kimura M.	Mapping of susceptibility locus for endometriosis within the HLA region using microsatellite markers in Japanese women.	Tissue Anti-gens.	75	65	2010
Kulski JK, Shigenari A, Inoko H.	Polymorphic SVA retrotransposons at four loci and their association with classical HLA class I alleles in Japanese, Caucasians and African Americans.	Immunogenetics.	62	211	2010
Kohno T, Kunitoh H, Shimada Y, Shiraishi K, Ishii Y, Goto K, Ohe Y, Nishiwaki Y, Kuchiba A, Yamamoto S, Hirose H, Oka A, Yanagitani N, Saito R, Inoko H, Yokota J.	Individuals susceptible to lung adenocarcinoma defined by combined HLA-DQA1 and TERT genotypes.	Carcinogenesis.			in press
Nakamura J, Meguro A, Ota M, Nomura E, Nishide T, Kashiwagi K, Mabuchi F, Iijima H, Kawase K, Yamamoto T, Nakamura M, Negi A, Sagara T, Nishida T, Inatani M, Tanihara H, Aihara M, Araie M, Fukuchi T, Abe H, Higashide T, Sugiyama K, Kanamoto T, Kiuchi Y, Iwase A, Ohno S, Inoko H, Mizuki N.	Association of toll-like receptor 2 gene polymorphisms with normal tension glaucoma.	Mol Vis.	15	2905	2009
Asukata Y, Ota M, Meguro A, Katsuyama Y, Ishihara M, Namba K, Kitaichi N, Morimoto S, Kaburaki T, Ando Y, Takenaka S, Inoko H, Ohno S, Mizuki N.	Lack of association between toll-like receptor 4 gene polymorphisms and sarcoidosis-related uveitis in Japan.	Mol Vis.	15	2673	2009
HUGO Pan-Asian SNP Consortium, Abdulla MA, Ahmed I, Assawamakin A, Bhak J, Brahmachari SK, Calacal GC, Chaurasia A, Chen CH, Chen J, Chen YT, Chu J, Cutiongco-de	Mapping human genetic diversity in Asia.	Science.	326	1541	2009

<p>la Paz EM, De Ungria MC, Delfin FC, Edo J, Fuchareon S, Ghang H, Gojobori T, Han J, Ho SF, Hoh BP, Huang W, Inoko H, Jha P, Jinam TA, Jin L, Jung J, Kangwanpong D, Kampuansai J, Kennedy GC, Khurana P, Kim HL, Kim K, Kim S, Kim WY, Kimm K, Kimura R, Koike T, Kulawonganunchai S, Kumar V, Lai PS, Lee JY, Lee S, Liu ET, Majumder PP, Mandapati KK, Marzuki S, Mitchell W, Mukerji M, Naritomi K, Ngamphiw C, Niikawa N, Nishida N, Oh B, Oh S, Ohashi J, Oka A, Ong R, Padilla CD, Palittapongarnpim P, Perdigon HB, Phipps ME, Png E, Sakaki Y, Salvador JM, Sandraling Y, Scaria V, Seielstad M, Sidek MR, Sinha A, Srikummool M, Sudoyo H, Sugano S, Suryadi H, Suzuki Y, Tabbada KA, Tan A, Tokunaga K, Tongsimasima S, Villamor LP, Wang E, Wang Y, Wang H, Wu JY, Xiao H, Xu S, Yang JO, Shugart YY, Yoo HS, Yuan W, Zhao G, Zilfalil BA; Indian Genome Variation Consortium.</p>					
<p>Yonezawa T, Kurata R, Hosomichi K, Kono A, Kimura M, Inoko H.</p>	<p>Nutritional and hormonal regulation of uncoupling protein 2.</p>	<p>IUBMB Life.</p>	<p>61</p>	<p>1123</p>	<p>2009</p>
<p>Averdam A, Petersen B, Rosner C, Neff J, Roos C, Eberle M, Aujard F, Münch C,</p>	<p>A novel system of polymorphic and diverse NK cell receptors in primates.</p>	<p>PLoS Genet.</p>	<p>5</p>	<p>e1000688</p>	<p>2009</p>

Schempp W, Carrington M, Shiina T, Inoko H, Knaust F, Coghill P, Sehra H, Beck S, Abi-Rached L, Reinhardt R, Walter L.					
Romphruk AV, Romphruk A, Naruse TK, Raroengjai S, Puapairoj C, Inoko H, Leelayuwat C.	Polymorphisms of NKG2D ligands: diverse RAET1/ULBP genes in northeastern Thais.	Immunogenetics.	61	611	2009
Meguro A, Inoko H, Ota M, Katsuyama Y, Oka A, Okada E, Yamakawa R, Yuasa T, Fujioka T, Ohno S, Bahram S, Mizuki N.	Genetics of Behçet disease inside and outside the MHC.	Ann Rheum Dis.	69	747	2010
Nakabayashi K, Komaki G, Tajima A, Ando T, Ishikawa M, Nomoto J, Hata K, Oka A, Inoko H, Sasazuki T; Japanese Genetic Research Group for Eating Disorders (JGRED), Shirasawa S.	Identification of novel candidate loci for anorexia nervosa at 1q41 and 11q22 in Japanese by a genome-wide association analysis with microsatellite markers.	J Hum Genet.	54	531	2009
Nakamura K, Ota M, Meguro A, Nomura N, Kashiwagi K, Mabuchi F, Iijima H, Kawase K, Yamamoto T, Nakamura M, Negi A, Sagara T, Nishida T, Inatani M, Tanihara H, Aihara M, Araie M, Fukuchi T, Abe H, Higashide T, Sugiyama K, Kanamoto T, Kiuchi Y, Iwase A, Ohno S, Inoko H, Mizuki N.	Association of microsatellite polymorphisms of the GPDS1 locus with normal tension glaucoma in the Japanese population.	Clin Ophthalmol.	3	307	2009
Kamio M, Meguro A, Ota M, Nomura N, Kashiwagi K, Mabuchi F, Iijima H, Kawase K, Yamamoto T, Nakamura M, Negi A, Sagara T, Nishida T, Inatani M, Tanihara H, Aihara M, Araie M, Fukuchi T, Abe H, Higashide T, Sugiyama K, Kanamoto T,	Investigation of the association between the GLC3A locus and normal tension glaucoma in Japanese patients by microsatellite analysis.	Clin Ophthalmol.	3	183	2009

Kiuchi Y, Iwase A, Ohno S, Inoko H, Mizuki N.					
Kita YF, Hosomichi K, Kohara S, Itoh Y, Ogasawara K, Tsuchiya H, Torii R, Inoko H, Blancher A, Kulski JK, Shiina T.	MHC class I A loci polymorphism and diversity in three Southeast Asian populations of cynomolgus macaque.	Immunogenetics.	61	635	2009
Yonezawa T, Kurata R, Kimura M, Inoko H.	PKC delta and epsilon in drug targeting and therapeutics.	Recent Pat DNA Gene Seq.	3	96	2009
Hinohara K, Nakajima T, Yasunami M, Houda S, Sasaoka T, Yamamoto K, Lee BS, Shibata H, Tanaka-Takahashi Y, Takahashi M, Arimura T, Sato A, Naruse T, Ban J, Inoko H, Yamada Y, Sawabe M, Park JE, Izumi T, Kimura A.	Megakaryoblastic leukemia factor-1 gene in the susceptibility to coronary artery disease.	Hum Genet.	126	539	2009
Katsuyama Y, Yoshida K, Miura T, Ota M, Asukata Y, Inoko H, Mizuki N, Ishida S, Ohno S, Horie Y, Kitaichi N,	Evaluation of PTPN22 polymorphisms and Vogt-Koyanagi-Harada disease in Japanese patients.	Mol Vis.	15	1115	2009
Kongmaroeng C, Romphruk A, Ruangwerayut R, Paupairoj C, Leelayuwat C, Inoko H, Romphruk A.	HLA-B*15 subtypes in Burmese population by sequence-based typing.	Tissue Antigens.	74	164	2009
Shojima J, Tanaka G, Keicho N, Tamiya G, Ando S, Oka A, Inoue Y, Suzuki K, Sakatani M, Okada M, Kobayashi N, Toyota E, Kudo K, Kajiki A, Nagai H, Kurashima A, Oketani N, Hayakawa H, Takemura T, Nakata K, Ito H, Morita T, Matsushita I, Hijikata M, Sakurada S, Sasazuki T, Inoko H.	Identification of MICA as a susceptibility gene for pulmonary Mycobacterium avium complex infection.	J Infect Dis.	199	1707	2009

Horie Y, Meguro A, Ota M, Kitaichi N, Katsuyama Y, Take-moto Y, Namba K, Yoshida K, Song YW, Park KS, Lee EB, In-oko H, Mizuki N, Ohno S.	Association of TLR4 poly-morphisms with Beh-cet's disease in a Korean population.	Rheumatology (Oxford).	48	638	2009
Ohtsuka M, Warita T, Sakurai T, Watanabe S, Inoko H, Sato M.	Development of CRTEIL and CETRIZ, Cre-loxP-based systems, which allow change of ex-pression of red to green or green to red fluorescence upon transfection with a cre-expression vector.	J Biomed Bio-technol.	2009	985140	2009
Tabeta K, Shimada Y, Tai H, Ishihara Y, Noguchi T, Soga Y, Takashiba S, Suzuki G, Kobayashi T, Oka A, Kobayashi T, Ya-mazaki K, Inoko H, Yoshie H.	Assessment of chromo-some 19 for genetic asso-ciation in severe chronic periodontitis.	J Periodontol.	80	663	2009
Kikkawa EF, Tsuda TT, Sumiyama D, Naruse TK, Fukuda M, Kurita M, Wilson RP, LeMaho Y, Miller GD, Tsuda M, Murata K, Kulski JK, Inoko H.	Trans-species polymor-phism of the Mhc class II DRB-like gene in banded penguins (genus Sphe-niscus).	Immunogenetics.	61	341	2009
Mano S, Endo TA, Oka A, Ozawa A, Go-jobori T, Inoko H.	Detecting linkage between a trait and a marker in a random mating population without pedigree record.	PLoS One.	4	e4956	2009
Kulski JK, Shigenari A, Shiina T, Hosomi-chi K, Yawata M, In-oko H.	HLA-A allele associations with viral MER9-LTR nucleotide sequences at two distinct loci within the MHC alpha block.	Immunogenetics.	61	257	2009
Shichi D, Ota M, Katsuyama Y, Inoko H, Naruse TK, Ki-mura A.	Complex divergence at a microsatellite marker C1_2_5 in the lineage of HLA-Cw/*B haplotype.	J Hum Genet.	54	224	2009
Yasuno K, Bilguvar K, Bijlenga P, Kee ALS, Kirschek B, Au burger G, Simon M, Krex D, Arlier Z, Na yak N, Ruigrok Y, N	Genome-wide associatio-n study of intracranial aneurysms identifies 5 risk loci.	Nat Genet			Online-publi-sh ed.

iemela M, Tajima A, Frauberg M, Tamas D, Wirjatijasa F, Hata A, Jordi B, Oszwald A, Kasuya H, Gulam Z, Schoch B, Pankaj S, Stuer C, Roflof R, Beck J, Sola T, Ricciardi F, Aromaa A, Illig T, Schreiber S, Duijin CM, Berg LH, Claire P, Carole P, Roder C, Ozturk A, Gaal E, Jeremy W, Berg D, Geisen C, Christoph F, Paul S, Alex F, State MW, Wichmann HE, Breteler MMB, Wijmenga C, Mane S, Juan JE, Sandalcioglu IE, Meyer B, Raabe A, Daniel R, Jaaskelainen A, Hemesniemi J, Rinkel GJE, Zewnbutsu H, Inoue I, Palotie A, Cambien F, Nakamura Y, Lifton RP, Guenel M.					
Yoshihara K, Tajima A, Yahata T, Kodama S, Fujiwara H, Suzuki M, Onishi Y, Hatae M, Sueyoshi K, Fujiwara H, Kudo Y, Kotera K, Masuzaki H, Tashiro H, Katabuchi H, Inoue I, Tanaka K.	Gene expression profile for predicting survival in advanced-stage serous ovarian cancer across two independent data bases.	PLoS One	5	e9615	2010
Imaizumi T, Tanaka H, Tajama A, Tsuruga K, Oki E, Sashinami H, Matsumiya T, Yoshida H, Inoue I, Ito E.	Retinoic acid-inducible gene-I (RIG-I) is induced by IFN-gamma in human mesangial cells in culture: possible involvement of RIG-I in the inflammation in lupus nephritis.	Lupus			in press.
Yoshihara K, Tajima A, Komata D, Yamamoto T, Kodama S, Fujiwara H, Suzuki M, Onishi Y, Hatae M, Sueyoshi K, Fujiwara H, Kudo Y, Inoue I, Tanaka K.	Gene expression profiling of advanced-stage serous ovarian cancers distinguishes novel subclasses and implicates ZEB2 in tumor progression and prognosis.	Cancer Sci	100	1421-1428	2009

Nakaoka H, Inoue I.	Meta-analysis of genetic association studies: methodologies, between-study heterogeneity and winner's curse.	J Hum Genet	54	615-623	2009
Brookes AJ, Lehvaslahti H, Muilu J, Shigemoto Y, Oroguchi T, Tomiki T, Mukaiyama A, Konagaya A, Kojima T, Inoue I, Kuroda M, Mizushima H, Thorisson GA, Dash D, Rajeevan H, Darlison MW, Wilson M, Fredman D, Smith AV, Senger M, Naito K, Sugawara H.	The phenotype and genotype experiment object model (PaGE-OM): a robust data structure for information related to DNA variation.	Hum Mutat	30	968-977	2009
Ruigrok YM, Rinkel GJ, Wijmenga C, Kasuya H, Tajima A, Takahashi T, Hata A, Inoue I, Krischek B.	Association analysis of genes involved in the maintenance of the integrity of the extracellular matrix with intracranial aneurysms in a Japanese cohort.	Cerebrovasc Dis	28	131-134	2009
Koike A, Nishida N, Inoue I, Tsuji S, Tokunaga K.	Genome-wide association database developed in the Japanese Integrated Database Project.	J Hum Genet	54	543-546	2009
Tomoyasu Y, Yamaguchi T, Tajima A, Inoue I, Maki K.	Further evidence for an association between mandibular height and the growth hormone receptor genes in a Japanese population.	Am J Orthod Dentofacial Orthop	136	536-541	2009
Kang E-H, Yamaguchi T, Tajima A, Nakajima T, Tomoyasu Y, Watanabe M, Yamaguchi M, Park S-B, Maki K, Inoue I.	Association of the growth hormone receptor gene polymorphisms with mandibular height in a Korean population.	Arch Oral Biol	54	556-562	2009
Sekigawa T, Tajima A, Hasegawa T, Hasegawa Y, Inoue H, Sano Y, Matsune S, Kurono Y, Inoue I.	Gene-expression profiles in human nasal polyp tissues and identification of genetic susceptibility in aspirin intolerant asthma.	Clin Exp Allergy	39	972-981	2009
Murakami Y, Aly H, Tajima A, Inoue I, Shimotohno K.	Regulation of the hepatitis C virus genome replication by miR-199a.	J Hepatol	50	453-460	2009

IV. 研究成果の刊行物・別刷